

## 구기자(Lycium chinense Miller) 첨가 요구르트의 항산화 활성과 ACE 저해 및 $\alpha$ -glucosidase 저해 효과

배형철<sup>1</sup> · 조임식<sup>2</sup> · 남명수<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 농업생명과학대학 동물자원학부, <sup>2</sup>충청남도농업기술원

### 서 론

유산균 발효유는 오랜 역사를 두고 이용되어온 건강발효식품으로서 최근의 과학적인 논문과 증거로서 널리 알려진 발효유제품의 일종이다. 이러한 발효유제품을 이용하여 다양한 식품의 개발이 진행되고 있으며 특히 성인병을 유발을 억제하는 다양한 첨가제와 혼합 제조하여 그 특성을 유산균에 의한 Probiotic 특성과 첨가제에 의한 Prebiotic 특성을 동시에 충족한 제품으로 출시되어 고부가가치의 발효유제품으로 국민건강 증진에 앞장서고 있다. 이에 따라 본 실험실에서는 우리나라 고유 특산물 중 청양의 구기자를 이용한 발효유제품을 개발하여 그 특성을 발표하였고, 본보에서는 구기자의 특성중 항산화 효과와 ACE 저해 효과 및  $\alpha$ -glucosidase 활성저해 효과를 검토하므로서 구기자 요구르트의 성인병 예방에 효과를 시험하고자 하였다.

### 재료 및 방법

시험에 사용된 구기자 추출물 및 구기자 첨가 요구르트의 제조방법은 Cho 등<sup>(1)</sup>과 Bae 등<sup>(2)</sup>의 방법에 따라 제조하였다. 사용된 스타터 균주는 상업용로서 *B. longum*, *L. acidophilus*, *S. thermophilus*의 3가지 혼합균주(Nocks Co., Japan)를 사용하였다.

구기자 첨가 발효유의 항산화 활성 효과는 각 시료의 methanol로 추출하여 항산화 시료로 사용하였다. 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD), peroxidase(POD), catalase(CAT)는 린산 완충액으로 추출하여 효소 활성 측정용 시료로 사용하였다. 전자공여능에 의한 측정은 Blois(1958)<sup>(3)</sup> 법에 의하여 시료의 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)에 대한 free radical 소거에 따른 환원활성으로 측정하였다. 즉 각 시료를 4 ml (1,000 $\mu$ g/ml)의 메탄올에 녹여 1.5 X 10<sup>-4</sup> M의 DPPH/MeOH 용액 1 ml를 첨가하고, vortex에서 10초간 진탕한 후 실온에서 30분간 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 100 - (시료첨가구의 흡광도/시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도) X 100으로 나타내었다.

구기자 첨가 발효유의 ACE(angiotensin converting enzyme) 저해 효과는 Cushman 등, (1977)<sup>(4)</sup>의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 시료 50  $\mu$ l에 ACE 조효소액 150  $\mu$ l (2.8 unit)와 100 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 100  $\mu$ l를 가한 후, 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 preincubation 시켰다. 여기에 기질로서 hippuryl-His-Leu 용액 50  $\mu$ l를 가하여 다시 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 250  $\mu$ l를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1  $\mu$ l를 가하여 30초간 vortexing한 다음 3,000 $\times$ g으로 15분동안 원심분리한 후 상층액 0.8  $\mu$ l를 취하였다. 이 상층액을 speed vac concentrator(EYELA Co., Japan)을 이용하여 완전히 건조시킨 뒤 동일조건인 sodium borate buffer 1  $\mu$ l를 가하여 용해시킨 다음 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해 활성을 계산하였다. ACE inhibitory activity (%) = (C-T/C-B)  $\times$  100 (C : 시료 대신 증류수 첨가시의 흡광도, T : 시료 첨가시의 흡광도, B : 반응정지 후 시료 첨가시의 흡광도)

구기자 첨가 발효유의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성은 Pan과 Ghidon의 방법(1993)<sup>(5)</sup>을 일부 변형하여 측정하였다. 1.5 U  $\alpha$ -glucosidase와 각각의 추출물을 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 배양한 후 5mM maltose를 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응 시켰고 이곳에 DNS을 가해서 100 $^{\circ}$ C에서 3분간 끓이고 525nm에서 흡광도를 측정하였다.  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity (%) = {1-(B-C/A)}  $\times$  100 (A : 시료 대신 증류수 첨가시의 흡광도, B : 시료 첨가시의 흡광도, C : enzyme 무첨가 시료의 흡광도)

## 결과 및 고찰

구기자 첨가 발효유의 항산화 활성(Antioxidants activity) 효과

생체내의 유해 활성산소, 유리기 등은 불포화지방산을 공격하여 alcohol류, aldehyde류, keton류 등의 과산화물( Peroxide)을 만들어 피로와 노화를 촉진시킨다. 이러한 원인물질의 생성을 억제하기 위해 연쇄반응 차단 항산화제(chain breaking antioxidants)로 산패의 기본물질인 lipid radical과 반응하여 안정한 물질로 전환 시키거나 방어산화제(preventive antioxidant)로서 연쇄반응 개시 속도를 지연시키는데 구기자에서 항산화 활성을 Table 1의 원재료에서 보면 메탄올 추출물이 물 추출물 보다 50% 정도 활성이 높았는데 이는 항산화 활성이 강한 flavonoid 성분 등은 물보다는 비극성 물질임으로 메탄올 추출 보다 이행율이 낮기 때문으로 보인다. 그러나 약 50% 내외로 항산화 활성이 유지됨을 알 수 있었다. 메탄올 추출의 경우 각 부위별 요구르트에서의 항산화 활성은 구기엽 요구르트에서 83.85%의 높은 활성능을 나타냈는데 이것은 항산화 활성 성분인 페놀 성분 및 폴리아세틸렌(polyacetylene) 성분의 함량이 많은 것으로 생각되며 구기자과 지골피 요구르트에서는 각각 47%와 54% 내외의 활성능을 나타냈는데 지골피 요구르트의 경우에는 원재료보다 더 많은 활성능을 보여 원재료와의 상승효과가 있다고 판단된다. 물추출의 경우에는 요구르트 제조 후 원재료에 비해 구기자는 31%, 구기엽은 71% 그리고 지골피는 57%로 항산화활성이 줄어들었는데 이것은 방어산화제(preventive antioxidant)로서 여러 기작에 의하여 연쇄

반응 개시 속도를 지연시키는 물질이 물 추출물 보다는 메탄올 추출물에서 많이 생성된 것으로 보인다.

Table 1. Antioxidative activities of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex* yogurt (%)

Extract Methods	Control	Extracts			Yogurt		
		<i>Lycii fructus</i>	<i>Lycii folium</i>	<i>Lycii cortex</i>	<i>Lycii fructus</i>	<i>Lycii folium</i>	<i>Lycii cortex</i>
70% MeOH	11.42	75.67	88.84	51.91	47.69	83.85	54.36
D. W	4.36	32.17	51.16	23.22	10.26	36.57	13.27

구기자 첨가 발효유의 ACE(angiotensin converting enzyme) 저해 효과  
 구기자 요구르트의 angiotensin converting enzyme(ACE) 활성 저해능을 시험한 결과는 Table 2와 같다. 원료의 ACE 활성에서 메탄올 추출물 보다는 물 추출물의 ACE 저해활성이 구기자와 지골피가 높은 반면 구기엽은 메탄올 추출물이 더 높았는데 이는 구기엽중의 여러 polyphenol flavinoid계 화합물과 tannin계 화합물이 상대적으로 열매나 뿌리보다는 많기 때문으로 판단된다. 그리고 구기자 요구르트의 ACE 활성저해도가 메탄올 추출물과 물 추출물 모두에서 70%정도의 저해능을 보이고 있으나 지골피 요구르트는 43~44%, 구기엽 요구르트는 methanol 추출물에서 65%로 나타났고 물 추출물에서는 22%를 보였다. 따라서 구기자 요구르트에는 ACE활성을 저해하는 효능이 큰 것으로 나타났다. 일반적으로 ACE는 동물체에 널리 분포되어 있으며, angiotensin I을 생리적 혈압상승 물질인 angiotensin II로 전환시키거나 혈관 이완작용이 있는 bradykinin을 분해시키는 효소이다(오원근 등, 1997)<sup>(6)</sup>. angiotensin II는 동맥 혈관을 수축하며 혈압을 상승시키고 부신에서의 aldosterone의 분비를 촉진하여 신장의 Na 및 수분의 재흡수를 증가시킴으로서 고혈압의 발병에 관여한다(Cushman 등, 1977)<sup>(4)</sup>. 그러므로 angiotensin II가 감소되면 혈중 catecholine이 감소되어 혈관이 확장되고, 항이뇨 호르몬인 aldosterone 분비가 억제되어 혈압이 감소된다.

Table 2. Inhibitory effect of ACE(angiotensin converting enzyme) of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex* yogurt (%)

Extract Methods	Control	Extracts				Yogurt	
		<i>Lycii fructus</i>	<i>Lycii folium</i>	<i>Lycii cortex</i>	<i>Lycii fructus</i>	<i>Lycii folium</i>	<i>Lycii cortex</i>
70% methanol	13.72	38.94	43.24	34.48	68.47	65.03	43.78
D.W	10.25	74.05	27.65	44.89	70.53	22.69	44.48

구기자 첨가 발효유의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성

배당체를 가수분해하는 효소인  $\alpha$ -glucosidase는 소장에서 이당류를 단당류로 분해시키는 작용을 하는 효소이며 혈당상승의 중요한 역할을 한다. 당 분해효소인  $\alpha$ -glucosidase의 활성 저해능을 이당류인 maltose를 기질로 검토한 결과는 Table 3과 같다. Table 3과 같이 구기자, 구기엽 및 지골피 4% 추출물을 첨가한 요거트에서 각각 8.2%, 5.6%, 7.3%의 효소활성 저해율을 나타냈고 모두 원료보다 높은 활성저해율을 보였는데 이는 구기자의 추출물내에 존재하는 특정성분의 기질이  $\alpha$ -glucosidase의 활성을 저해하는 저해제(inhibitors)로 작용하기 보다는 구기자의 특정성분과 발효유가 혼합되어 정상적인 효소의 작용을 억제하기 때문인 것으로 생각된다. 원재료인 구기자와 비교해보면 활성이 비슷하지만 구기엽과 지골피는 오히려 7.3%, 8.8%로 각각 증가하였다. 이는 발효 과정에서  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성이 대폭 증가되는 것으로 박 등(2001)<sup>(7)</sup>이 발표한 혈당량 감소효과에 대한 보고와 유사한 결과를 보였으나 물 추출물의 경우에는 활성이 거의 나타나지 않았다.

Table 3. Inhibitory effect to  $\alpha$ -glucosidase of *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex* yogurt (%)

Extract Methods	Control	Extracts				Yogurt	
		<i>Lycii fructus</i>	<i>Lycii folium</i>	<i>Lycii cortex</i>	<i>Lycii fructus</i>	<i>Lycii folium</i>	<i>Lycii cortex</i>
70% MeOH	2.4	8.2	5.6	7.3	8.6	7.3	8.8
D. W	0.4	0.1	0.3	2.3	2.9	0.5	3.2

## 요 약

구기자, 구기엽, 지골피 추출물을 이용한 요구르트를 제조하여 항산화효과, ACE (angiotensin converting enzyme) 저해 효과 및  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성을 시험하였다. 구기자 첨가 발효유의 Antioxidants activity는 물 추출물보다 methanol 추출물에서 더 많은 항산화 활성능을 보였으며 특히 구기엽 요구르트에서 83.85%의 높은 활성능을 보였다. 구기자와 지골피 요구르트에서는 각각 47%와 54%내외의 활성능을 나타냈다. 구기자 첨가 발효유의 ACE(angiotensin converting enzyme) 저해 효과는 원재료에서는 물 추출물이 angiotensin converting enzyme 저해능이 높았고, 구기자 요구르트의 경우 물 추출물과 methanol 추출물 모두가 angiotensin converting enzyme 저해능이 높은 것으로 나타났다. 구기자 첨가 발효유의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성은 구기자, 구기엽 및 지골피 4% 첨가 요구르트에서 methanol 추출물의 경우 각각 8.2%, 5.6%, 7.3%의  $\alpha$ -glucosidase 저해능을 나타냈는데 이들 모두 원재료 보다는 활성 저해능이 큰 것으로 나타났으나 물 추출물의 경우에는 활성 저해능이 거의 나타나지 않았다.

## 참 고 문 헌

1. Cho, I. S. et al. (2003) *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, 23(3), 250-261.
2. Bae, H. C. et al. (2004) *Korean J. Anim Sci. & Technol.*, 46(4), 687-700.
3. Blois, M.S. (1958) *Nature*. 181, 1199-1202.
4. Cushman, D.W. et al. (1977) *Biochemistry*. 16, 54-84.
5. Pan, Y.T. et al (1993) *Arch. Biochem. Biophys.* 303, 134.
6. 오원근 등. (1997) *생약학회지*. 28, 26-34.
7. 박 등. (2001) *생약학회지*. 32, 248-252.