

결명자 추출물의 추출특성 및 항산화 효과

나경민 · 한호석 · 예수향 · 김현구

한국식품개발연구원

(2004년 9월 7일 접수)

Extraction Characteristics and Antioxidative Activity of *Cassia tora* L. Extracts

Gyung-Min Na, Ho-Suk Han, Su-Hyang Ye, and Hyun-Ku Kim

Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

(Received September 7, 2004)

Abstract

The present study was conducted to investigate extraction characteristics and antioxidative activity of *Cassia tora* L. extracts. *Cassia tora* L. was extracted by reflux extraction under different extraction conditions including solvent. The solid yield, turbidity, color value, titratable acidity, free sugar contents, electron donating ability and superoxide dismutase-like ability of *Cassia tora* L. extracts were determined. The highest solid yield value was obtained with water of 10 fold. No significant difference in turbidity and color value were found among the extracts prepared with various extraction solvents, 75% ethanol, 50% ethanol and water. The highest titratable acidity was obtained with 50% ethanol of *Cassia tora* L.. The free sugar contents of *Cassia tora* L. extracted with water showed the highest value. *Cassia tora* L. extracts with water included higher contents of free sugar compared with those of the other solvent extracts, 50% ethanol and 75% ethanol extracts. The total polyphenol compound content of *Cassia tora* L. extracted with 50% ethanol showed the highest value. *Cassia tora* L. extracts with 50% ethanol included higher contents of total polyphenol compound compared with those of the other solvent extracts, water and 75% ethanol extracts.

Key Words : *Cassia tora* L., electron donating ability, superoxide dismutase(SOD)- like ability

I. 서론

국내 식품 산업에 있어서 생약자원의 이용은 민간 전통요법에서 비롯되었기 때문에 민간에서 전해 오던 생약재를 산업화하기 위한 기초연구 및 제품화 연구가 활발히 진행되어 돌연변이 억제¹⁾, 항염증²⁾, 항산화, 항보체 활성화³⁾, 항 고혈압⁴⁾, 해독작용⁵⁾, 콜레스테롤 및 혈청 지질 저하물질⁶⁾ 등 다양한 생

리 활성물질이 함유되어 있음이 구명되었다.

생약재 중 본 실험에 사용한 결명자(*Cassia tora* L.)는 콩과에 속하는 한해살이풀인 결명초의 성숙한 씨를 말린 것으로 달고 쓰며, 짜고 성질은 약간 차고 독은 없으며 간과 대장에 작용한다. 또한 간의 열기를 제거하고 대장의 연동운동을 활발히 하여 눈이 충혈되어 붓고 아프며 햇빛을 꺼리고 눈물이 흐르는 데나 시력감퇴, 야맹증이나 기타 두통, 어지

림증 가슴이 답답한 증상, 또는 변비에 좋다. 주성분으로는 chrysophanol, emodin, rhein, obstusin, rubrofusarin, gentiobioside, anthraquinone, glycoside 등이 보고되고 있다⁷⁻¹⁰⁾.

인체의 노화와 질병을 유발하는 free radical은 인체 내에서 정상적인 대사과정 중 생물학적 반응으로 형성되며, 세포와 조직에 해로운 독성을 일으켜 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다¹¹⁾. 이러한 유해 free radical을 억제하는 생리작용으로는 전자공여작용, SOD 유사활성 등이 있으며, 전자공여능은 산화성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제하며, SOD 유사활성은 생체 내에서 생성되며, 전자환원으로 반응성과 파괴성이 매우 큰 superoxide anion radical을 제거하기 위해 분비되는 superoxide dismutase(SOD)와 유사한 역할을 하여 superoxide anion radical을 정상상태의 산소로 전환시켜 주는 역할을 하는 것으로 알려져 있다¹²⁾. 결명자의 항산화 효과에 관한 연구 보고로는 결명자 추출물의 산화적 스트레스 억제효과¹³⁾ free radical 소거작용¹⁴⁾ 등이 보고되고 있다. 따라서 생약재 내의 이러한 작용을 하는 유효물질들을 섭취함으로써 산화적 장해를 방지하고 노화를 억제하는 효과를 기대할 수 있다¹⁵⁾. 본 연구에서는 결명자 추출액의 추출 특성과 추출액의 항산화 효과를 검토하여 결명자의 추출 조건을 결정함으로써 결명자 유효성분의 식품 소재화를 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 결명자는 경동시장에서 구입하여 4°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 생약재 적정 추출 용매비

결명자의 적정추출 용매비를 결정하기 위하여 결명자에 대한 water의 비율을 8배, 10배, 12배, 14배로 달리하고, 환류 냉각 추출 장치를 이용하여 100°C로 3시간 동안 가열 추출하면서 가용성 고형분량을 측정하여 적정 용매 비율을 결정하였다.

3. 추출액 제조

결명자 일정량에 water, 50% ethanol, 75% ethanol 용액을 각각 적정 비율로 가하여 100°C에서 3시간 동안 추출한 후 Whatman No. 2 여과지로 여과하여 시료로 사용하였다.

4. 가용성 고형분 함량

결명자 등에 적정 용매비의 water, 50% ethanol, 75% ethanol을 각각 가하여 100°C에서 3시간 동안 추출하면서 가용성 고형분량의 변화를 측정하였다. 가용성 고형분(soluble solid)은 굴절당도계(Hand refractometer, model NI, range : 0~35%, Atago, Japan)를 사용하여 상온에서 3회 측정후 °Brix로 나타내었다.

5. 탁도 및 색도 측정

추출액의 탁도(turbidity)는 water, 50% ethanol, 75% ethanol 추출한 시료를 spectrophotometer (V-550, Jasco, Japan)를 이용하여 650nm에서 측정하여 흡광도로 나타내었다. 색도는 색차계(Color difference meter, Color QUEST II Sphere System, USA)를 이용하여 water, 50% ethanol, 75% ethanol 추출한 시료의 L(명도), a(적색도), b(황색도)값을 측정하였다. 이때 표준 백색판의 L, a, b값은 99.93, -0.09, -0.02 이었다.

6. 적정 산도 및 유리당 함량

추출액의 산도는 water, 50% ethanol, 75% ethanol 추출 시 추출 완료 시점에서 산도를 측정하였다. 적정 용액으로는 0.1N NaOH용액을 사용하였으며, 적정시 pH 8.3의 종말점까지 소비된 0.1N NaOH 용액의 양을 측정하여 사과산(malic acid)함량으로 환산하였다.

유리당 함량은 HPLC(TCM, Waters, Japan)를 사용하여 측정하였다. 이때 이동상은 78% acetonitrile 이었고, flow rate는 1.0ml/min 이었으며, 분석에 사용한 column은 carbohydrate column(4.60×250mm, Waters, U.S.A.), 검출기는 RI detector(RI-903, Jasco,

JAPAN)를 사용하였다.

7. 총 폴리페놀의 함량 측정

총 폴리페놀의 함량(total polyphenol content)은 분석방법으로 널리 사용되고 있는 Folin-Denis방법¹⁶⁾으로 측정하였으며, 각각의 추출조건에 따라 제조된 추출액의 2배희석액을 사용하였다. 즉, 희석액 5ml에 Folin reagent 5ml를 가하고 3분간 정치한 다음 5ml의 10% Na₂CO₃용액을 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 정치한 후 분광광도계를 사용하여 760nm에서 흡광도를 측정하고 (+)catechin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

8. 전자공여능

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 강등의 방법¹⁷⁾을 변형하여 각각의 추출물에 대한 DPPH(α , α -diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여 효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 0.2ml에 4×10⁻⁴M DPPH용액(99.9% EtOH에 용해) 0.8ml, 0.1M phosphate buffer(pH 6.5) 2ml와 99.9% EtOH 2ml를 가하여 총액의 부피가 5ml가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 10분 방치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 525nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 추출물의 첨가 전·후의 차이를 백분율로 나타내었다.

$$EDA(\%) = (1 - \frac{A}{B}) \times 100$$

A : 추출물 첨가구의 흡광도

B : 추출물 무첨가구의 흡광도

9. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD 유사활성의 측정은 Marklund와 Marklund의 방법을 변형한 Kim 등¹⁸⁾의 방법을 이용하여 실시하였다. 즉, 각 추출물을 감압농축한 Tris-HCl buffer(50mMtris[hydroxy- methyl]amino-methane + 10mM EDTA, pH 8.5)를 이용하여 pH 8.5로 조절된 시료액을 만들었다. 각 시료 0.2ml에 pH 8.5로 보정

한 Tris-HCl buffer(50mMtris[hydroxymethyl] aminomethane + 10mM EDTA) 3ml와 7.2mM pyrogallol 0.2ml를 가하고 25°C에서 10분간 방치 후 1N HCl 1ml로 반응을 정지시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 이용하여 420nm에서의 흡광도를 측정하여 시료 첨가 및 무첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$SOD유사\ 활성화(\%) = (1 - \frac{A}{B}) \times 100$$

A : 추출물 첨가구의 흡광도

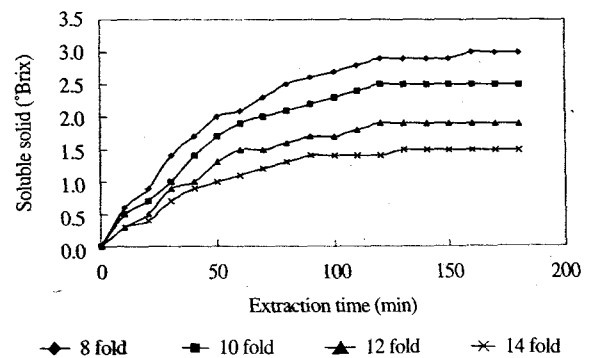
B : 추출물 무첨가구의 흡광도

단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

III. 결과 및 고찰

1. 추출 용매 비율

용매와의 비율을 결정하기 위하여 결명자에 대한 water의 비율을 8배, 10배, 12배, 14배로 달리하여 환류냉각 추출장치로 가열 추출하면서 시간별로 추출되어 나오는 가용성 고형분량을 측정하였으며, 그 결과를 <Fig. 1>에 나타내었다. 8배, 10배, 12배, 14배의 water를 가했을 때 120분까지 급격하게 상승하다가 120분 이후에는 평형에 도달하였으며, 각 시료의 8배, 10배, 12배, 14배 처리구별 추출 수율은 각각 24.0%, 25.0%, 22.8%, 21.0%. 나타나 물과의 비율이 10배일 때 추출 수율이 가장 좋은 것으로 나타났다. 이는 상황버섯 분말의 추출에서 추출시간이 증가할수록 가용성 성분이 증가하다가 추출평형 시점이



<Fig. 1> Changes in soluble solid contents of Cassia tora L. with water extraction ratio

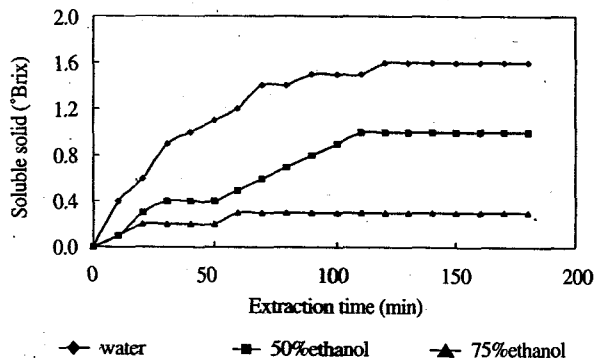
후부터는 일정하였다¹⁹⁾는 연구 보고와 가수량이 10 배수 일 때 가용성 성분의 함량이 가장 높았다²⁰⁾는 연구 보고와 유사한 결과를 보여 주었다.

2. 가용성 고형분 함량

결명자에 10배의 water, 50% ethanol, 75% ethanol 을 가하여 3시간 동안 추출하면서 가용성 고형분량의 변화를 측정하여 <Fig. 2>에 나타내었다. 전반적으로 다른 두 용매에 비해 water 추출에서 1.6 °Brix 로 가장 높은 가용성 고형분 함량을 나타내었고, 75% ethanol 추출에서는 0.3 °Brix로 현저하게 낮은 가용성 고형분 함량을 나타내었으며, 추출 완료 시점은 120분이내 인 것으로 나타났다.

3. 탁도 및 색도

결명자 추출액의 탁도 측정결과를 <Fig. 3>에 나타내었다. 탁도는 water 추출액에서 가장 높았으며, 추출용매의 ethanol 농도가 증가할수록 낮아져 추출액이 투명함 맑은 노란색을 띠었다. <Fig. 4>는 추출액의 색도 변화를 나타낸 것으로 L값은 용매의 영향을 받지않아 거의 변화가 없었지만 a값과 b값은



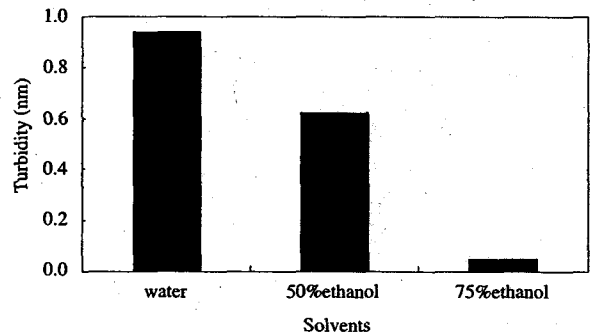
<Fig. 2> Changes in soluble solid contents of Cassia tora L. extraction with various solvents

75% ethanol 추출에서 급격한 감소를 보였으며, a값은 -값을 나타내었다.

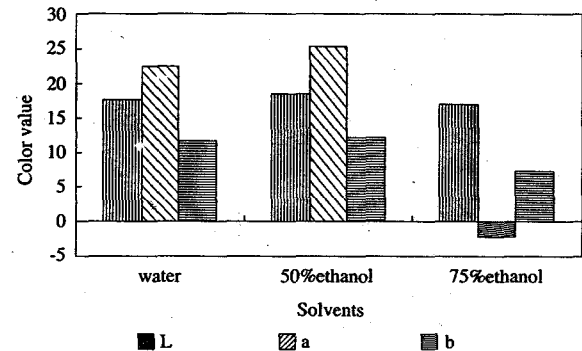
4. 적정산도 및 유리당 함량

결명자 추출액의 적정산도와 유리당 함량을 측정 한 결과는 <Table 1>에 나타내었다. 적정산도는 추출용매의 50% ethanol에서 가장 높았으나, 전체적으로 산도가 매우 낮았다.

유리당 함량은 fructose 0.08~0.11mg%, glucose 0.09~0.32mg%, sucrose 0.08~1.26mg%로 나타났다. 추출 용매별 유리당의 함량은 water가 다른 추출



<Fig. 3> Changes in turbidity of Cassia tora L. extraction with various solvents



<Fig. 4> Changes in Hunter's value of Cassia tora L. extraction with various solvents

<Table 1> Titratable acidity and free sugar contents in Cassia tora L. extractions with various solvent

Solvents	Free sugar(%)			Titratable acidity(mg%)
	fructose	glucose	sucrose	
Water	0.11	0.32	1.26	0.08
Cassia tora L. 50% ethanol	0.08	0.30	0.87	0.10
75% ethanol	0.09	0.09	0.08	0.05

용매에 비해 높게 나타났으며, ethanol 함량이 증가할수록 유리당 함량은 감소하는 것으로 나타났다.

5. 총 폴리페놀의 함량 측정

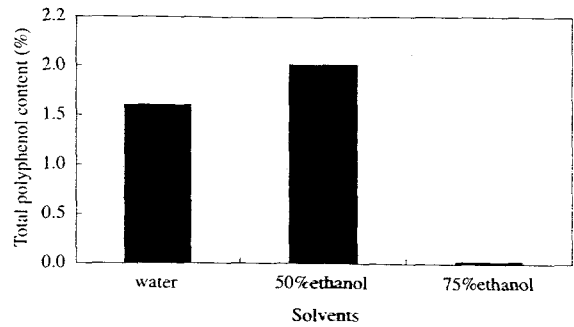
Polyphenol계 물질들은 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 산화-환원 반응시 기질로 작용하며²¹⁾, 분자내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가진 방향족 화합물들을 가리킨다. <Fig. 5>는 결명자 추출액의 총 폴리페놀 함량을 나타낸 것으로 50% ethanol 추출액에서 2.03%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 75% ethanol 추출액은 0.02%로 다른 용매에 비해 현저하게 낮은 함량을 나타내었다. 페놀화합물들은 수소공여작용에 따른 환원 활성에 의하여 지질의 산화를 억제시키거나 지연시키는 것으로 알려져 있다²²⁾. 따라서 결명자 추출액도 항산화 효과를 나타낼 것이라 사료되며, 특히 다른 용매에 비해 50% ethanol 추출액이 높은 효과를 나타낼 것으로 판단된다.

6. 전자공여능

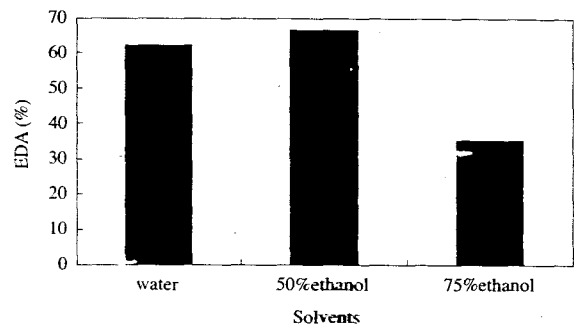
전자공여능이 시료의 flavonoids 및 polyphenol성 물질 등에 대한 항산화 작용의 지표라 하였으며²³⁾, 이러한 물질들이 free radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체내에서 free radical에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다²⁴⁾. 결명자 추출액의 전자공여능 측정 결과를 <Fig. 6>에 나타내었으며, 결명자 추출액은 50% ethanol에서 66.39%로 나타나 다른 용매에 비해 높은 전자공여 효과를 보여주었으며, 폴리페놀 함량과 비슷한 경향을 나타내었다. 이 등²⁵⁾의 함초 추출물의 전자공여능에 관한 연구 보고에서 함초 열수추출물의 500ppm에서 약 60%의 전자공여 효과를 보인 것과 비교할 때 결명자의 50% ethanol 추출액이 우수한 전자공여 효과를 나타냄을 알 수 있다.

7. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

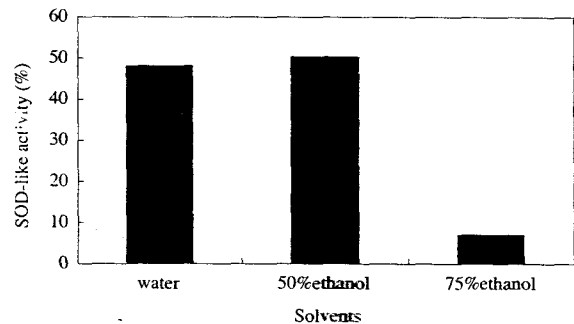
<Fig. 7>은 결명자 추출액의 SOD 유사활성 측정



<Fig. 5> Total polyphenol content of *Cassia tora* L. extraction with various solvents



<Fig. 6> Electron donating ability of *Cassia tora* L. extraction with various solvents



<Fig 7> Superoxide dismutase(SOD)-like activity of *Cassia tora* L. extraction with various solvents

결과를 나타낸 것으로 50% ethanol 추출액에서 50.56%로 가장 높은 활성을 나타냈었으며, 이는 Hong 등²⁶⁾의 과실, 과채류의 착즙액의 SOD 유사활성에 관한 보고에서 사과 14.6%, 케일 26.7%, 키위 27.6%, 무 24.1%의 활성에 비해 높은 활성을 나타내었다. 또한 추출 용매별 활성은 총 폴리페놀 함량과 전자공여능 측정 결과와 비슷한 경향으로, 50% ethanol 추출액이 다른 두 용매 보다 우수한 것으로 나타났다. 송 등²⁷⁾은 찔레 영지버섯 추출물의 생리

활성 연구에서 폴리페놀 성분과 단백질 다당체 등에 의해 SOD 유사활성이 나타난 것으로 보고하였는데, 본 실험의 결과도 이와 같이 폴리페놀 성분이 SOD 유사활성을 나타내는 것으로 사료된다.

IV. 요약

결명자 추출액의 추출 특성과 추출액의 항산화성을 검토하여 결명자의 추출 조건을 결정함으로써 결명자 유효성분의 식품 소재화를 위한 기초자료를 얻고자 하였다. 용매와의 비율을 결정하기 위해 8배, 10배, 12배, 14배의 water를 가하여 추출 수율을 비교한 결과 water와의 비율이 10배일 때 추출 수율이 가장 좋은 것으로 나타났다. 타도는 water 추출액에서 가장 높았으며, 추출용매의 ethanol 농도가 증가할수록 낮아졌다. 적정산도는 추출용매의 50% ethanol에서 가장 높았으나, 전체적으로 산도가 매우 낮았다. 유리당 함량은 fructose 0.08~0.11mg%, glucose 0.09~0.32mg%, sucrose 0.08~1.26mg%로 나타났다. 총 폴리페놀 함량을 나타낸 것으로 50% ethanol 추출액에서 2.03%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 75% ethanol 추출액은 0.02%로 다른 용매에 비해 현저하게 낮은 함량을 나타내었다. 전자공여능은 50% ethanol에서 66.39%로 나타나 다른 용매에 비해 높은 전자공여 효과를 보여 주었으며, 폴리페놀 함량과 비슷한 경향을 나타내었다. SOD 유사활성 측정 결과는 50% ethanol 추출액에서 50.56%로 가장 높은 활성을 나타냈었으며, 총 폴리페놀 함량과 전자공여능 측정 결과와 비슷한 경향으로, 50% ethanol 추출액이 다른 두 용매 보다 우수한 것으로 나타났다.

■ 참고문헌

- 1) Song GS, Ahn BY, Lee KS, Maeng IK, Choi DS. Effect of hot water extracts from medicinal plants on the mutagenicity of indirect mutagens. *Korean J. Food Sci Technol.* 29(6): 1288-1294, 1997.
- 2) Choi SI, Lee, YM, Heo TR. Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity in vitro of traditional herbal

- medicine extracts. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 18(4): 282-288, 2003.
- 3) Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee, YC, Lee, BY. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci Technol.* 27(1): 80-85, 1995.
- 4) Do JR, Kim SB, Park YH, and Kim DS. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity by the component of traditional tea material. *Korean J. Food Sci Technol.* 25(5): 456-460, 1993.
- 5) Park KM, Hwang JK, Shin KM, Kim HS, Song JH. Detoxicating effects of oriental herb extract mixtures on nicotine and dioxin. *Korean J. Food Sci Technol.* 35(5): 980-987, 2003.
- 6) 박종대, 위재준, 김만옥, 이형주, 인삼의 에칠아세테이트 추출분획의 조혈 활성 특성 및 구성 성분 동정. *한국농화학회지*, 32: 137, 1989.
- 7) Takahashi P, and Takido M. Studies on the constituents of the seeds of *Cassia tora* L. II. On the purgative crude drugs. The structure of the new naphtho- α -pyrene derivative, tolerance. *Yakugaku Zasshi.* 93: 261-267, 1973.
- 8) Kaneda M, Morishita E, and Shibata S. Chemical studies on the oriental plant drugs. The constituents of *Cassia tora* L. A glycoside of rubrofusarin. *Chem. Pharm. Bull.* 17: 458-461, 1969.
- 9) Choi JS, Jung JH, Lee HJ, Lee JH, and Kang SS. A naphthalene glycoside from *Cassia tora*. *Phytochemistry.* 40: 997-999, 1995.
- 10) Shibata S, Morishita E, Kaneda M, Kimura Y, Takide M, and Takahashi S. Chemical studies on the oriental plant drugs. The constituents of *Cassia tora* L. The structure of torachryson. *Chem. Pharm. Bull.* 17: 454-457, 1969.
- 11) Halliwell B, and Gutteridge JMC. *Free radicals in Biology and Medicine.* Oxford. *Clarendon Press*, 1989.
- 12) Devy C, and Gautier R. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. *Biochem. Pharmacol.*, 39: 399-405, 1990.
- 13) Choi JS, Lee HJ, Park KY, Ha JO, and Kang SS. In

- in vitro antimutagenic effects of anthraquinone aglycones and naphthopyrone glycosides from *Cassia tora* *Planta Med.* 63: 11-14, 1997.
- 14) Choi JS, Lee HJ, and Kang SS. Alaternin, cassiaside and rubrofusarin gentiobioside, radical scavenging principles from the seed of *Cassia tora* on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. *Arch. Pharm. Res.* 17: 462-469, 1994.
 - 15) Kuramoto T. Development and application of food materials from plant extract such as SOD. *Upto date Food Processing*, 27(3): 22-23, 1992.
 - 16) Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* 12: 239-249, 1912.
 - 17) Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 232-239, 1996.
 - 18) Kim SM, Cho YS, Sung SK. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 626-632, 1996.
 - 19) Song HN, Oh SW. Optimization of extraction and clarification condition for preparation of liquid extract tea from artificially cultivated *Phellinus linteus*. *J. Korean Sci. Nutr.* 31(4): 636-641, 2002.
 - 20) Lee KE, Oh NS, Park WJ, and Ryu GH. Changes in extraction pattern and yield of bamboo leaf powder at different extraction conditions. *Food Industry and Nutrition.* 9(1): 46-52, 2004.
 - 21) Park NA, Jo HB, Cho IS, Kim HJ, Cho SJ, and Kim DI. The analysis of phenolic compounds and vitamin C content in brewed green tea and determination of EDA in catechines(II). Report of S.I.H.E., 37:98-104, 2001.
 - 22) Belitz HD, and Grosch W. : *Food chemistry*. Springer-Verlag, Berlin, p.175, 1987.
 - 23) Torel J, Gillard J, Gillard P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry.* 25: 383-385, 1986.
 - 24) An BJ, Lee JT, Lee SA, Kwak JH, Park JM, Lee JY, and Son JH. Antioxidant effects and application as natural ingredients of Korean *sanguisorbae officinalis* L. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 47(2): 244-250, 2004.
 - 25) Lee JT, and An BJ. Detection of physical activity of *Salicornia herbacea*. *Kor. J. Herbology.* 17: 61-69, 2002.
 - 26) Hong HD, Kang NK and Kim SS. Superoxid dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J. Food Sci Technol.* 30: 1484-1487, 1998.
 - 27) Song JH, Lee HS, Hwang JK, Chung TY, Hong SR, and Park KM. Physiological activities of *Phellinus ribis* extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 690-695, 2003.