

구기자 추출물 제조 시 백삼 및 홍삼 첨가에 의한 항산화활성 및 안지오텐신 전환효소에 대한 저해활성 효과

성봉재* · 김선익* · 지무근* · 김수동* · 권아름* · 김현호* · 원준연** · 이기순*[†]

*충남농업기술원 인삼약초연구소, **중부대학교 한방건강관리학과

Antioxidative Activity and Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme by *Lycii fructus* Extracts Prepared by Adding White Ginseng and Red Ginseng

Bong Jae Seong*, Sun Ick Kim*, Moo Geun Jee*, Soo Dong Kim*, A Reum Kwon*,
Hyun Ho Kim*, Jun Yeon Won** and Ka Soon Lee*[†]

*Ginseng and Medicinal Plant Research Institute, CNARES, Geumsan, 32723, Korea.

**Department of Oriental healthcare, Joongbu University, Geumsan 32713, Korea.

ABSTRACT

Background: To enhance the taste and physiological characteristics of *Lycii fructus* (Gugija) extracts, we investigated the changes in the physiological characteristics of Gugija extracts caused by adding white ginseng (WG) and red ginseng (RG)

Methods and Results: Gugija extracts, including 10G10, 10GW-G8 : 2, -G6 : 4, -G4 : 6, -G2 : 8, and -G0 (mixtures made by replacing 0, 20, 40, 60, 80, and 100% of Gugija with WG), as well as 10G10, 10GR-G8 : 2, -G6 : 4, -G4 : 6, -G2 : 8, and -G0 (mixture made by replacing 0, 20, 40, 60, 80, and 100% of Gugija with RG) were extracted with water at 10 times the respective mixture's volume. The antioxidant activities of Gugija extracts were investigated by assessing their 1,1-diphenyl-2-picryldrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis(3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity, ferric reducing antioxidant potential (FRAP) activity, nitrite scavenging activity, and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity. As the amount of WG added increased, the DPPH, and, ABTS radical scavenging activity, and FRAP activity of the Gugija extract decreased. The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value of 10G10, 10GW-G6 : 4, 10GR-G6 : 4, and 10GR-G0 for DPPH radical scavenging activity were 25.50 ± 1.04, 52.06 ± 1.46, 16.87 ± 1.24, and 9.50 ± 0.16 μl/ml, respectively. On the other hand, the physiological activity of Gugija extract increased with the addition of increasing amounts of RG. However, ACE inhibitory activity was the highest (50.25 ± 2.58%) in the Gugija 10-fold extract without any added RG.

Conclusions: From the above results, we suggest that adding RG to Gugija extracts increase their antioxidant, FRAP, and nitrite scavenging activities.

Key Words: *Lycii fructus* Extracts, White Ginseng, Red Ginseng, Antioxidative Activity, Inhibitory of Angiotensin Converting Enzyme

서 언

구기자 (*Lycii fructus*)는 허수오, 인삼과 함께 3 대 명약으로 여겨지는 것으로 생약재로 한방에서는 인삼과 함께 독성이 없는 120 종의 상약군으로 취급하고 있다 (Cho *et al.*, 2005).

구기자에는 콜린대사물질의 하나인 베타인이 풍부해서 간에 지방이 축적되는 것을 억제하는 효과가 있는 대표적인 작물이다 (Odetti *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 1998; Hwang *et al.*, 2009). Betaine을 제외한 구기자의 주요성분으로 rutin, kukoamine, p-coumaric acid, cerebroside, carotenoid, β-

[†]Corresponding author: (Phone) +82-41-635-6473 (E-mail) lkasn@korea.kr

Received 2018 July 24 / 1st Revised 2018 August 15 / 2nd Revised 2018 August 29 / 3rd Revised 2018 September 3 / Accepted 2018 September 10
This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

sitosterol 등 의 다양한 성분이 함유되어 있다 (Amagase and Farmsworth, 2011).

이에 따라 구기자의 생리기능성에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있는데 이들의 대부분이 구기자 추출물에 대한 항산화 효과 (Lee, 2016), 혈중지질 저하효과 (Kim *et al.*, 1998), 알코올 해독효과 (Yoon *et al.*, 2001), 간독성보호효과 (Kang *et al.*, 2006) 등으로 보고되고 있다.

이전까지의 연구는 주로 구기자 추출물에 대한 기능성을 검토한 것으로 건조 구기자를 단독으로 추출하여 항산화 활성을 측정한 결과, 구기자 에탄올 추출물보다 물 추출물에서 DPPH 전자소거능 및 ABTS 라디칼 소거능 및 ACE저해활성이 더 높았으며 (Cho *et al.*, 2005), 구기자 추출물 제조 시 볶음 처리한 구기자와 생구기자를 이용하여 추출물을 제조한 후 구기자 추출물간의 간독성 보호효과를 측정된 결과 추출 전 생구기자나 건조 혹은 볶음처리에 의한 구기자 간에는 크게 효과에 차이가 나지 않다 (Kang *et al.*, 2006)고 보고하는 등 구기자 시료만의 추출물에 대한 추출효과를 보고하는 것이 대부분이다.

그러나 구기자는 홍삼 등과 같이 열수 추출하여 추출액을 제조할 경우 구기자의 향기성분인 ester성분과 ethanone류 성분이 다량 함유되어있는데 이들 성분 중 주로 고추장에서 불쾌취를 내는 성분으로서 구기자를 열수 추출하게 되면 구기자 특유의 냄새를 내는 특성을 가지고 있어 소비자들의 기호도를 떨어뜨리는 특징을 갖고 있다 (Yi *et al.*, 1996; Park *et al.*, 1997).

이와 같이 구기자는 추출액 제품 이외에 구기자분말을 첨가하여 전통주 (Lee *et al.*, 2005), 생면 (Lim *et al.*, 2003), 고추장 (Kim *et al.*, 2003), 쿠키 (Park *et al.*, 2005) 제조 등의 제품개발에 대한 보고가 있으며, 추출액을 첨가하여 나박김치 제조특성 (Kim *et al.*, 2006) 및 요쿠르트 제조 (Bae *et al.*, 2005) 등으로 구기자를 이용한 가공품으로는 분말이나 추출물을 일부분 첨가하여 제조하는 것이 주를 이루고 있다.

또한 구기자 등을 포함한 11 종의 약용작물 추출물에 대하여 항산화활성 및 항염활성 등을 측정하여 기능성이 우수한

약재를 선발하여 기능성 음료개발에 이용가능성을 보고 (Lee *et al.*, 2013)한 바가 있지만 구기자에 첨가하여 추출혼합물에 대한 기능성 상승효과에 대한 연구는 없다.

최근 피로회복, 면역증진, 혈행개선, 감기예방 등의 효과에 대표적인 기능성 식품인 백삼 (MFDS, 2015)과 홍삼 (MFDS, 2017)을 구기자 추출물 제조 시 대체 첨가하여 기능성이 더 향상된 구기자 추출물 제품을 개발하기 위하여 추출액을 제조한 결과, 백삼 및 홍삼 첨가에 의하여 구기자 추출액이 항산화활성, 아질산염소거능 및 안지오펜신 전환효소 (angiotensin converting enzyme)에 대한 저해활성이 향상되는 결과를 확인하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 인삼은 충남농업기술원 인삼약초연구소에서 재배한 4년근 재래종 수삼을 수확한 후 세척하여 이용하였다. 백삼은 세척한 수삼을 동결 건조하였으며 홍삼은 2 번 증숙 건조한 것을 사용하였다. 구기자 (*Lycii fructus*)는 충남농업기술원 청양구기자시험장 포장에서 재배한 구기자를 55°C의 온도에서 수분이 14%이하 되도록 건조한 것을 사용하였다.

건조된 백삼, 홍삼 및 구기자는 각각 30 mesh의 입자로 분쇄하여 추출시료로 하였으며 인삼 첨가에 따른 구기자의 추출물 제조 시 혼합비는 Table 1과 같이 혼합한 다음 10 배수의 물을 첨가한 다음 추출온도가 고온일 경우 백삼은 홍삼화 되는 경향을 배제하기 위하여 70°C의 온도에서 6 시간 추출한 후 원심분리하여 상등액을 생리기능성 측정용 시료로 사용하였다 (Lee *et al.*, 2011).

2. 추출물의 수율 및 당도

백삼 및 홍삼의 대체 혼합에 따른 구기자 추출물의 수율은 추출물을 감압농축한 후 가용성 고형분의 중량을 구하여 시료 제조에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 나타내었으며, 10 배 추출물의 당도는 당도계 (N-3E, ATAGO, Tokyo, Japan)

Table 1. Formulas of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng.

Extract	10G10 ³⁾	10GW ⁴⁾					10GR ⁵⁾				
		G8:2	G6:4	G4:6	G2:8	G0	G8:2	G6:4	G4:6	G2:8	G0
Gugija (g)	100	80	60	40	20	0	80	60	40	20	0
WG ¹⁾ (g)	0	20	40	60	80	100	0	0	0	0	0
RG ²⁾ (g)	0	0	0	0	0	0	20	40	60	80	100
Water (g)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

¹⁾WG; White ginseng, ²⁾RG; Red ginseng, ³⁾10G10; 10 times extract of Gugija without white ginseng and red ginseng, ⁴⁾10GW (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added white ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of white ginseng on Gugija), ⁵⁾10GR (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added red ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of red ginseng on Gugija).

를 사용하여 측정하였다.

3. DPPH radical 소거능 측정

2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능은 DPPH free radical 소거법을 변형하여 측정하였다 (Brand-Williams *et al.*, 1995).

백삼 및 홍삼의 대체 혼합에 따른 구기자 추출물 0.5 ml 를 1.5×10^{-4} M DPPH용액 2 ml 에 가하여 혼합한 뒤 10, 20, 30 분간 방치하면서 517 nm 에서 흡광도를 측정하여 초기 흡광도의 값에 대한 차이값을 백분율로 환산하여 DPPH 라디칼 소거능을 비교 검토하였다.

이 때, 구기자와 홍삼의 혼합 추출물에서는 구기자와 백삼의 혼합 추출물에 비하여 전자소거능이 높아 혼합비율에 따른 소거능의 차이를 볼 수 있도록 구기자와 홍삼의 혼합 처리구에서는 10 배 추출물을 희석하여 50 배 및 100 배 추출물이 되도록 한 다음 전자소거능을 측정 비교 검토하였다. 또한 구기자에 백삼과 홍삼을 첨가함으로써 DPPH 전자라디칼 소거능이 50%가 되는 농도인 IC₅₀도 구하여 비교하였다.

4. ABTS radical 소거능 측정

ABTS (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) radical 소거능은 ABTS radical cation decolorization assay (Re *et al.*, 1999)를 이용하여 측정하였다.

즉, 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulfate (Daejung, Siheung, Korea)을 1:1 (v/v)로 혼합하여 실온의 암소에서 15 시간 방치하여 양이온 (ABTS⁺)을 형성시킨 다음, 흡광도가 732 nm 에서 1.0이하가 되도록 phosphate saline buffer (PBS, pH 7.4)을 이용하여 희석한 후 측정용 시약으로 이용하였다.

희석된 ABTS⁺용액 2 ml 에 백삼 및 홍삼을 대체 혼합에 따른 구기자 추출물 0.2 ml를 첨가한 후 실온에서 10 분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS라디칼 소거능 (%)은 1에서 시료첨가구의 흡광도를 시료 무첨가구의 흡광도로 나눈 수치를 뺀 후 100을 곱하여 나타내었다.

5. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 측정

FRAP법에 의한 항산화활성은 Benzie와 Strain (1996)의 방법에 따라 pH 3.6의 0.3 M acetate buffer, 0.04 M HCl에 용해한 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)용액 및 0.02 M FeCl₃·6H₂O를 각각 10:1:1 (v/v/v)의 비율로 미리 혼합한 후 37°C의 수용액에서 5 분 동안 가온한 다음 FRAP 측정용 기질로 사용하였다.

FRAP용액 2 ml 에 백삼 및 홍삼의 대체 혼합에 따른 구기자 추출물 0.5 ml 및 증류수 2.5 ml을 가한 후 30°C의 항온기에서 10 분간 반응시킨 후 593 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

추출액에 대한 환원력은 FeSO₄·7H₂O 시약을 이용하여 0-1.25 mM 범위의 표준액에 대한 흡광도를 측정하여 검량곡선을 만든 후 각 추출액의 흡광도를 FeSO₄·7H₂O uM로 환산한 값으로 환원력을 나타내었다.

6. 아질산염 소거능

아질산염 소거능은 Kato 등 (1987)의 방법을 변형하여 측정하였다.

즉, 1 mM NaNO₂ 용액 1 ml에 시료추출물 1 ml을 첨가한 후 0.1 N HCl용액과 0.2 M citrate buffer용액으로 pH를 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정하여 전체 액이 10 ml이 되도록 하였다.

이 용액을 37°C에서 1 시간 반응시킨 후 각 반응액을 1 ml 씩 취하여 25% acetic acid 5 ml 와 griess reagent (30% acetic acid로 용해한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine 을 1:1로 혼합) 0.4 ml를 가하여 잘 혼합하였다. 이 혼합액을 실온에서 15 분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였고, 공시험은 Griess reagent 대신 증류수를 0.4 ml 가하여 동일하게 실시하여 흡광도를 측정된 후 다음 식에 의하여 아질산염 소거율을 나타내었다.

$$\text{Nitrite scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

A: absorbance of 1 mM NaNO₂ added sample after standing for 1 hour

B: absorbance of 1 mM NaNO₂

C: absorbance of blank

7. Angiotensin-converting enzyme (ACE) 저해활성

Angiotensin-converting enzyme (ACE) 저해활성은 Cushman과 Cheung (1971)의 방법에 준하였다.

즉 시료추출물 50 μl 에 ACE 조효소액 50 μl, 10 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 10 μl 를 가하여 37°C에서 5 분간 shaking incubator에서 pre-incubation한 다음 hippuryl-histidyl-leucine용액 (HHL, 27 mg/25 ml in sodium borate buffer) 50 μl 를 가하여 37°C에서 30 분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 μl 를 가하여 반응을 종료시킨 후 ethyl acetate 1.5 ml 를 가하여 vortex mixer로 15 초간 진탕한 다음 원심분리하여 그 상등액 중 1 ml 를 취한 다음 Temp-Blok module heater로 건조하고 이를 증류수 3 ml 로 용해하여 228 nm에서 흡광도를 측정하였다.

대조구로는 시료대신 증류수로 사용하였고, 시료에 대한 공시료는 반응액과 1 N HCl을 미리 혼합하여 위와 똑같이 행한 다음 대조 비교하여 다음 식에 의하여 저해활성을 계산하였다. 양성대조군으로는 ACE저해제로 널리 사용되는 Captopril

을 Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

$$\text{ACE inhibition rate(\%)} = \frac{(\text{O.D. of control} - \text{O.D. of control blank})}{(\text{O.D. of control} - \text{O.D. of control blank})} \times 100$$

8. 추출물의 베타인 및 사포닌 함량

백삼 및 홍삼을 대체 혼합에 따라 제조된 구기자 추출물 내에 인삼 및 구기자의 생리활성 성분인 베타인 및 사포닌의 함량을 조사하였다.

성분 함량을 분석하기 위하여 추출물은 각 처리구 추출물을 membrane filter (0.20 μm pore size, Whatman Co., Kent, England)로 여과하여 사용하였다. 분석에 사용한 기기는 HPLC (Agilent 1200, Santa Clara, CA, USA)이었으며, 베타인 분석에 사용한 칼럼은 Prevail carbohydrate ES (5 μm, 4.6 × 250 mm, Altech, Deerfield, IL, USA)이었고, 컬럼온도는 35°C를 유지하였다. 유출용매는 70% acetonitrile를 0.7 ml/min로 흘려보냈으며, 검출은 ELSD detector (Altech, Deerfield, IL, USA)를 50°C의 온도에서 1.4 l/min의 유속으로 N₂ 가스를 흘려보내는 조건으로 베타인을 분석하였다.

또한 사포닌 분석에 사용한 칼럼은 YMC Pro C₁₈ RS (YMC Co., Ltd, Kyoto, Japan)이었으며, 검출기는 DAD detector (203 nm, Agilent 1200, Santa Clara, CA, USA)을 이용하여 분석하였고, 분석조건은 이동상으로 용매 A (water)와 용매 B (acetonitrile)를 이용하여 용매 B를 0 분 (20%), 10 분 (20%), 25 분 (24%), 30 분 (33%), 42 분 (37%), 57 분 (80%), 58 분 (100%), 68 분 (60%), 70 분 (20%)의 조건하에 유속 1.0 ml/min으로 흘려주었다. 진세노사이드 표준시약으로는 Rg₃ (Chengdu Biopurify Biochemicals Ltd., Chengdu, Sichuan, China)등 20 종의 사포닌을 이용하였다 (Jo et al., 2011).

9. 추출물의 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀함량은 Coseteng과 Lee (1987)의 방법을 이용하여 실험하였다.

즉, 추출물의 일정량을 80% ethanol을 10 배 가하여 희석한 후 시료로 사용하였다. 그 희석액 1.0 ml에 Folin-ciocalteu 시약 3.0 ml을 가하고 10 분간 방치한 다음 7.5% NaCO₃ 1 ml을 첨가하여 30 분간 실온에 방치한 후 분광광도계로 760 nm에서 흡광도 측정하였고, 표준물질로는 tannic acid를 이용하여 환산 정량하였다.

10. 통계처리

모든 실험은 3 회 이상 반복 실시하였으며 실험으로부터 얻은 결과는 SPSS Statistics (ver. 21, IBM Inc., Armonk, NY, USA)을 사용하여 분석하였다.

결과치는 실험군당 평균 ± 표준편차로 표시하였고, 추출물간의 유의성은 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)를 실시하여 p < 0.05 수준에서 검정하였다. 베타인함량, 총진세노사이드함량 및 총폴리페놀함량과 DPPH radical 소거능, ABTS radical소거능, FRAP, 아질산염소거능 및 ACE저해효과 등에 대한 상관관계를 알아보기 위하여 Pearson's correlation분석을 하였다.

결과 및 고찰

1. 추출물의 수율 및 당도

백삼 및 홍삼을 대체 혼합에 따라 제조된 구기자 (*Lycii fructus*) 10 배 추출물에 대한 수율, 수분함량 및 당도를 측정 한 결과, Table 2와 같았다.

구기자, 백삼 및 홍삼 각각 10 배 추출물의 수율은 32.56%, 28.24% 및 39.87%로 홍삼이 가장 수율이 높았으며 백삼이 가장 낮게 나타났다. Sohn 등 (2008)은 구기자를 용매 별로 추출한 결과, 물로 추출하였을 때 추출수율이 35.5%로 가장 높았다고 보고하였는데 본 실험 결과와 비슷한 수율을 보여주었다. 따라서 백삼을 대체하여 제조한 구기자 추출물은 구기자 100%추출물에 비하여 백삼을 대체할 경우는 수율이 낮아지는 경향을 보였고 홍삼을 대체할 경우는 수율이 높아지는 결과를 보여주었다.

본 실험에서 홍삼이 백삼보다 수율이 높은 것은 홍삼 제조

Table 2. Yield and brix of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng.

Extract	10G10 ¹⁾	10GW ²⁾					10GR ³⁾				
		G8:2	G6:4	G4:6	G2:8	G0	G8:2	G6:4	G4:6	G2:8	G0
Yield (%)	32.56	31.99	31.03	30.85	29.68	28.24	34.14	36.22	37.42	39.07	39.87
Brix (°)	5.50	5.20	4.90	4.50	4.20	3.90	5.70	5.90	6.20	6.30	6.60

¹⁾10G10; 10 times extract of Gugija without white ginseng and red ginseng, ²⁾10GW (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added white ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of white ginseng on Gugija), ³⁾10GR (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added red ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of red ginseng on Gugija).

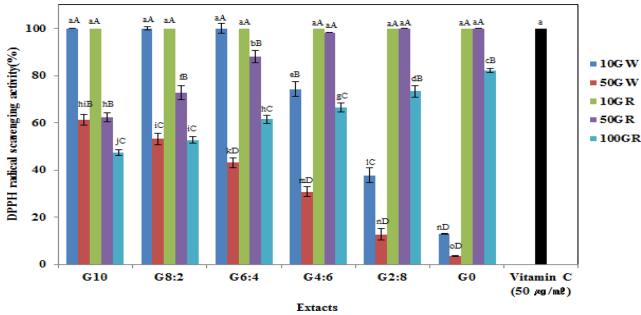


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng. 10GW and 50GW; 10 and 50 times extracts of Gugija and white ginseng mixture, 10GR, 50GR and 100GR; 10, 50 and 100 times extracts of Gugija and red ginseng mixture, respectively, G10, G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0; extract of Gugija added by replacing 0, 20, 40, 60, 80 and 100% of ginseng on Gugija, Each value presents the means \pm SD ($n = 3$), Means with different small letters (a-o) are significantly different by Duncan's Multiple Range Test ($p < 0.05$). Means with different capital letters (A-D) in the same mixing ratios of Gugija and ginseng are significantly different by Duncan's Multiple Range Test ($p < 0.05$).

과정 중 고열에 의하여 증숙 건조를 하는 동안 당 함량이 높아짐과 동시에 세포벽 파괴 등에 의한 물리적 현상의 변화로 추출효율이 높아짐을 볼 수 있었다 (Lee *et al.*, 2012). 구기자, 백삼 및 홍삼 각각 10 배 추출물의 당도는 5.0 °brix, 3.9 °brix 및 6.6 °brix이었다. 이는 추출수율과 비슷하게 당도도 홍삼이 가장 높았고 구기자, 백삼 순이었다.

2. DPPH radical 소거능

백삼 및 홍삼의 대체 혼합에 따른 구기자 추출물의 DPPH radical 소거능에 대한 결과는 Fig. 1과 같았다.

백삼 대체 혼합에 따른 구기자 10 배 추출물 (10GW)에서는 홍삼을 첨가하지 않은 구기자 100%추출물 (10G10) 대비 백삼을 구기자 대체 20% (G8 : 2) 및 40% (G6 : 4) 혼합으로 추출하였을 경우에는 10G10추출물과 거의 비슷한 결과를 보였지만 그 이상의 백삼 첨가량에서는 첨가량이 증가할수록 DPPH radical 소거능이 감소함을 볼 수 있었고, 50 배 추출물 (50GW)에서는 백삼 혼합 첨가량이 증가함에 따라 감소함

을 볼 수 있었다.

그러나, 홍삼을 구기자에 혼합하여 추출한 추출물 (GR)의 경우, 10 배 추출물 (10GR)에서는 홍삼 혼합첨가량에 관계없이 모두 소거능이 100%를 보였다. 따라서 GR추출물에서는 50 배 및 100 배가 되도록 희석한 후 소거능을 본 결과 50 배 추출물 (50GR)에서는 G10에 비하여 홍삼을 첨가함에 따라 소거능이 증가하였고, G4 : 6, G2 : 8 및 G0에서는 거의 비슷한 소거능을 보여주었다. 또한 100 배 추출물 (100GR)에서는 G10추출물에서의 소거능이 47.47%인데 비하여 홍삼 첨가량이 증가함에 따라 소거능이 증가하는 경향을 보였다.

G10추출물의 DPPH radical 소거능은 50 배 추출물에서 83.32%이었고, 100G0 (100% 홍삼 100 배 추출물)에서는 82.08%, 10G0 (100% 백삼 10 배 추출물)에서는 12.80%를 나타냈다. 이와 같이 구기자 추출물은 백삼 추출물보다는 우수하였으며 홍삼 추출물 보다는 낮음을 볼 수 있었다.

또한 각 혼합추출물의 추출배수에 따라 50% 전자소거활성을 나타내는 농도 (IC₅₀)를 비교하기 위하여 DPPH용액에 첨가량을 달리하여 반응을 한 결과 Table 3과 같았다. 구기자만의 10 배 추출물 (10G10), 백삼 대체 혼합 추출물인 GW-10G0, GW-10G6:4와 홍삼 대체 혼합추출물인 GR-10GR6:4, GR-10G0의 IC₅₀은 각각 25.50 µl/ml, 455.01 µl/ml, 49.06 µl/ml, 16.87 µl/ml, 및 9.50 µl/ml 를 나타내어 DPPH radical 소거능이 우수한 홍삼을 첨가할 경우 구기자 추출물의 radical 소거능이 높아짐을 볼 수 있었다.

Kim 등 (2011)은 백삼과 3 회 증숙하여 제조한 흑삼으로 65°brix의 추출농축액을 만든 후 10 배 희석하여 IC₅₀을 본 결과 백삼은 14.09 mg/ml, 홍삼은 8.55 mg/ml 라고 보고하였으며, Lee 등 (2012)은 80% 에탄올 추출물로 IC₅₀을 본 결과 백삼은 4.30 mg/ml, 홍삼은 2.11 mg/ml 라고 보고한 것과 같은 경향을 보여주었다.

3. ABTS radical 소거능

백삼 및 홍삼 첨가혼합비율에 따른 구기자 추출물에 대한 ABTS radical 소거능의 결과는 Fig. 2와 같았다.

10 배 추출물에서 GW-G10은 99.28%를 보였고 백삼 혼합량이 증가함에 따라 소거능이 낮아져서 G0에서는 0.90 \pm

Table 3. IC₅₀ value of Gugija extracts on DPPH radical scavenging activity by adding white ginseng and red ginseng.

Extract ¹⁾	IC ₅₀ (µl/ml, extract)					
	10G10	G8 : 2	G6 : 4	G4 : 6	G2 : 8	G0
GW ²⁾	25.50 \pm 1.04 ^f	35.84 \pm 12.14 ^e	49.06 \pm 9.47 ^d	168.23 \pm 10.05 ^c	325.46 \pm 8.98 ^b	455.01 \pm 7.13 ^{a*}
GR ³⁾	25.50 \pm 1.04 ^a	21.96 \pm 0.97 ^b	16.87 \pm 1.24 ^c	13.62 \pm 0.88 ^d	10.40 \pm 1.04 ^e	9.50 \pm 0.16 ^f

¹⁾10G10, G8 : 2, G6 : 4, 4 : 6, G2 : 8 and G; 10 times extract of Gugija added by replacing 0, 20, 40, 60, 80 and 100% of white and red ginseng on Gugija, respectively), ²⁾GW; 10 times extract of Gugija added by replacing white ginseng on Gugija), ³⁾GR; 10 times extract of Gugija added by replacing red ginseng on Gugija). Each value represents the means \pm SD ($n = 3$), *Means with different lletters (a-f) of the same column are significantly different mixing ratios of Gugija and ginseng at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

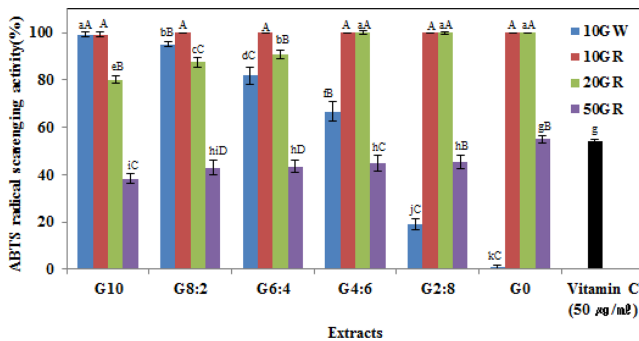


Fig. 2. ABTS radical scavenging activities of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng. 10GW; 10 times extracts of Gugija and white ginseng mixture, 10GR, 20GR and 50GR; 10, 20 and 50 times extracts of Gugija and red ginseng mixture, respectively. G10, G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0; extract of Gugija added by replacing 0, 20, 40, 60, 80 and 100% of ginseng on Gugija, Each value presents the means \pm SD ($n = 3$), and was determined by adding the same amount of extracts and vitamin C ($50 \mu\text{g/ml}$), respectively. Means with different small letters (a-k) are significantly different by Duncan's Multiple Range Test ($p < 0.05$). Means with different capital letters (A-D) in the same mixing ratios of Gugija and ginseng are significantly different by Duncan's Multiple Range Test ($p < 0.05$).

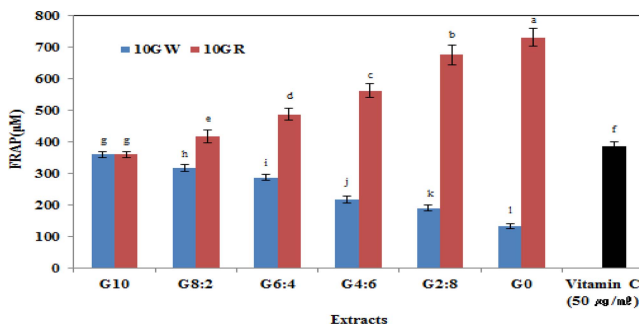


Fig. 3. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng. 10GW; 10 times extracts of Gugija and white ginseng mixture, 10GR; 10 times extracts of Gugija and red ginseng mixture, respectively. G10, G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0; extract of Gugija added by replacing 0, 20, 40, 60, 80 and 100% of ginseng on Gugija, each value presents the means \pm SD ($n = 3$), and was determined by adding the same amount of 10 times extracts and vitamin C ($50 \mu\text{g/ml}$), respectively. Means with different small letters (a-l) are significantly different by Duncan's Multiple Range Test ($p < 0.05$).

1.01%로 거의 소거능이 나타나지 않음을 볼 수 있었다. 그러나, 홍삼 대체 혼합 구기자 10 배 추출물인 10GR에서는 G8:2를 포함하여 홍삼 혼합량에 관계없이 모두 소거능이 100%를 나타내었다.

따라서 홍삼 첨가량에 따라 차이를 검토하기 위하여 20 배 및 50 배 추출물이 되도록 희석한 20GR 및 50GR 추출물에

대한 소거능을 본 결과, 20GR10 및 50GR10 추출물에서는 각각 $80.05 \pm 1.57\%$ 및 $38.30 \pm 2.04\%$ 의 소거능을 보였으며, 홍삼 혼합량이 증가함에 따라 증가하여 20G0 및 50G0 추출물에서는 각각 100% 및 $55.07 \pm 1.65\%$ 를 보여주었다. 이와 같이 홍삼 추출물이 백삼 및 구기자에 비하여 ABTS radical 소거능이 우수함을 볼 수 있었다.

이는 Jang 등 (2016)이 백삼, 홍삼 및 흑삼 추출물을 이용하여 ABTS radical 소거능을 본 결과 증포수가 많은 흑삼이 가장 소거능이 높았다고 보고한 것과 같은 경향을 보여주었다. 또한 Lee (2016)이 구기자를 물과 에탄올 농도별로 추출시간과 온도에 따라 추출한 후 소거능을 본 결과, 에탄올 보다 물로 추출할 경우 소거능이 더 높았다고 하였으며 건조 구기자를 물 20 배량으로 5 시간 추출한 액에 대한 소거능이 76.62%이었다고 하였고, Sohn 등 (2008)은 5 배 물 추출물에 대한 소거능을 본 결과 85%이었다고 하였으며 Cho 등 (2005)이 구기자 물 추출물에서 76.7%의 소거능을 보였다고 보고한 것과 비슷한 결과를 보여주었다.

4. Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

FRAP법에 의한 항산화력을 측정된 결과 Fig. 3과 같다.

백삼 대체 혼합 구기자 10 배 추출물인 10GW에서 G10에서 G0까지의 백삼 혼합첨가량에 따른 추출물의 FRAP값은 $359.99 - 132.91 \mu\text{M}$ 를 보였고, 홍삼 대체 혼합 구기자 10 배 추출물인 G10에서 G0까지의 홍삼 혼합첨가량에 따른 추출물은 $359.99 - 731.17 \mu\text{M}$ 를 보였다. 이는 구기자 추출물 제조 시 백삼혼합 처리 시는 낮아지는 경향이있으며 홍삼 혼합 처리 시는 증가하는 경향을 보여주어 ABTS radical 소거능과 비슷한 경향을 보여주었지만 10 배 추출액에 의한 추출조건만으로도 혼합비율에 따른 FRAP값에 유의적 차이를 보여주었다. 또 구기자만의 추출물에 의한 FRAP값을 백분율로 볼 때 백삼 추출액에 비하여 2.7 배 정도 높은 것을 볼 수 있으며, 홍삼 추출물에 비하여서는 약 1/2 배 정도 낮은 값을 볼 수 있었다.

Lee (2016)가 구기자를 에탄올 농도별로 추출한 후 50 배 희석한 액에 대한 Fe^{2+} chelating 활성을 본 결과 0.76% 에탄올 농도에서 3.39 시간 추출한 액에서 58.54%를 나타냈다고 보고한 것 등을 고려하면 구기자에 백삼보다는 홍삼을 혼합 추출할 경우 Fe^{2+} chelating 활성이 상당히 높아질 것으로 생각된다.

5. 아질산염 소거능

아질산염은 식육제품에 첨가되어 발색제 및 보존제로 이용되고 있으나 식품 중에 함유되어있는 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosoamine을 생성하는데 이 과정은 pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다 (Gray and Dugan, 1975).

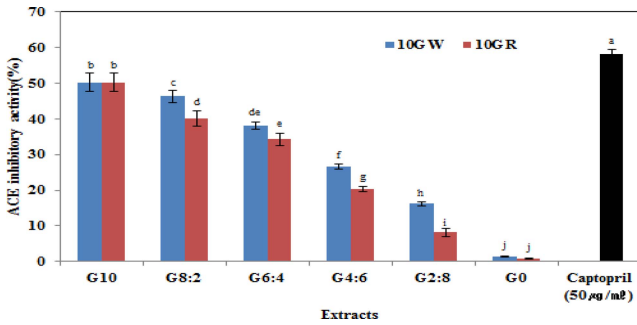


Fig. 4. Angiotensin converting enzyme inhibitory activities of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng. 10GW; 10 times extracts of Gugija and white ginseng mixture, 10GR; 10 times extracts of Gugija and red ginseng mixture, respectively. G10, G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0; extract of Gugija added by replacing 0, 20, 40, 60, 80 and 100% of ginseng on Gugija. Each value presents the means \pm SD (n = 3), and was determined by adding the same amount of 10 times extracts and vitamin C (50 μ g/ml), respectively. Means with different small letters (a-j) are significantly different by Duncan's Multiple Range Test ($p < 0.05$).

따라서 인체 부위별 pH를 고려하여 pH 조건별 (1.2, 3.0, 4.2 및 6.0) 백삼 및 홍삼 첨가혼합비율에 따른 구기자 추출물에 대한 아질산염 소거능의 결과는 Table 4와 같았다.

인체 조직 내 위의 조건과 같은 pH 1.2에서는 아질산염 소거능이 우수하게 나타나 구기자 추출액을 섭취하였을 때 위장 기관 내에서 아질산염 소거능이 우수하게 이루어질 수 있음을 보였다. 또 백삼 및 홍삼의 대체에 의한 추출물 중에서는 구기

자에 백삼의 혼합첨가량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였고 홍삼의 혼합 첨가량이 증가할수록 증가하는 경향을 보였다. pH 3.0에서 백삼 대체 혼합 구기자 10 배 추출물인 10GW 추출물은 22.78 - 1.31%를 보였고, 홍삼 대체 혼합 구기자 10 배 추출물인 10GR 추출물에서는 22.78 - 37.57%를 보여 홍삼 첨가 혼합에 의하여 아질산염 소거능이 증가하는 것을 볼 수 있었다. pH 6.0에서는 극히 낮은 소거능을 보였으며 홍삼 첨가 혼합구에서는 혼합비율별로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

구기자의 항산화활성은 백삼보다는 우수하고 홍삼보다는 낮은 결과를 보여주었으나 아질산염 소거능은 홍삼 첨가에 의하여 크게 증가하지 않을 정도로 홍삼 추출액과 거의 비슷한 소거능을 보여주어 아질산염이 이용되는 가공제품의 소재로 이용하는 것에 도움이 될 수 있을 것으로 생각되었다.

6. Angiotensin-converting enzyme (ACE) 저해활성

ACE저해제는 ACE의 작용을 저해함으로써 angiotensin II의 생성을 저해하고 aldosterone의 분비를 감소시키며 혈관확장제인 bradkinin의 증가 등의 과정을 통해 신장혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진시킴으로서 혈압을 낮추는 기능을 한다 (Lee *et al.*, 2004).

구기자가 약초류 중에 ACE저해활성이 50% 이상이 되는 약초류로 밝혀진 바 (Lee *et al.*, 2004), 백삼 및 홍삼을 혼합 대체하여 만든 구기자 추출물이 ACE저해활성에 어떠한 영향을 미치는지 검토한 결과 Fig. 4와 같았다. 본 실험은 백삼 및 홍삼의 혼합첨가량에 따른 구기자 10 배 추출물을 일정량

Table 4. Nitrite scavenging activities of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng.

Extracts	Nitrite scavenging activities (%)				
	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0	
10G10 ¹⁾	95.90 \pm 2.05 ^b	22.78 \pm 2.92 ^f	10.04 \pm 1.22 ^{ef}	2.51 \pm 0.30 ^{bc*}	
G8:2	95.12 \pm 1.27 ^b	16.87 \pm 2.42 ^g	9.07 \pm 1.12 ^f	2.37 \pm 0.34 ^{bc}	
G6:4	94.87 \pm 1.80 ^{bc}	15.38 \pm 1.84 ^h	7.42 \pm 0.91 ^g	2.09 \pm 0.26 ^c	
10GW ²⁾	G4:6	89.74 \pm 1.64 ^c	13.06 \pm 1.63 ^d	5.59 \pm 0.84 ^h	1.10 \pm 0.14 ^d
G2:8	77.44 \pm 1.71 ^d	5.92 \pm 2.38 ^j	3.02 \pm 1.20 ⁱ	0.24 \pm 0.11 ^e	
G0	72.31 \pm 1.33 ^e	1.31 \pm 1.05 ^k	1.01 \pm 0.82 ^j	0.00 \pm 0.00 ^e	
G8:2	96.92 \pm 2.93 ^{ab}	23.37 \pm 1.94 ^f	10.16 \pm 1.69 ^{ef}	2.64 \pm 0.21 ^b	
G6:4	97.97 \pm 1.96 ^a	24.56 \pm 1.50 ^e	10.71 \pm 0.82 ^e	2.77 \pm 0.38 ^b	
10GR ³⁾	G4:6	98.46 \pm 0.74 ^a	28.45 \pm 1.74 ^d	12.16 \pm 1.21 ^d	2.85 \pm 0.32 ^b
G2:8	98.92 \pm 0.46 ^a	35.21 \pm 2.06 ^c	13.74 \pm 2.02 ^c	2.92 \pm 0.30 ^b	
G0	98.97 \pm 0.50 ^a	37.57 \pm 3.54 ^b	15.18 \pm 1.46 ^b	2.95 \pm 0.23 ^b	
Vitamin C (100 μ g/ml)	98.74 \pm 0.59 ^a	40.21 \pm 1.25 ^a	20.14 \pm 0.76 ^a	6.78 \pm 1.07 ^a	

¹⁾10G10; 10 times extract of Gugija without white ginseng and red ginseng, ²⁾10GW (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added white ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of white ginseng on Gugija), ³⁾10GR (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added red ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of red ginseng on Gugija). Each value represents the means \pm SD (n = 3), and was determined by adding the same amount of 10 times extracts and vitamin C (100 μ g/ml), respectively. *Means with different letters (a-k) of the same column are significantly different mixing ratios of Gugija and ginseng at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

Table 5. Ginsenosides content of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng.

Extracts	10G10 ¹⁾	10GW ²⁾					10GR ³⁾				
		G8 : 2	G6 : 4	G4 : 6	G2 : 8	G0	G8 : 2	G6 : 4	G4 : 6	G2 : 8	G0
Total ⁴⁾	ND	0.591±0.042 ⁱ	1.192±0.076 ^g	1.710±0.048 ^d	2.233±0.038 ^c	2.639±0.052 ^b	0.726±0.018 ^h	1.442±0.079 ^f	2.184±0.074 ^c	2.870±0.062 ^b	3.490±0.054 ^{a*}
Rg1	ND	0.058±0.012 ⁱ	0.111±0.031 ^h	0.165±0.045 ^g	0.215±0.047 ^e	0.257±0.052 ^d	0.097±0.009 ^h	0.191±0.029 ^f	0.285±0.071 ^c	0.386±0.058 ^b	0.459±0.026 ^a
Re	ND	0.132±0.024 ^h	0.257±0.061 ^f	0.382±0.054 ^d	0.496±0.041 ^b	0.594±0.037 ^a	0.090±0.021 ⁱ	0.174±0.048 ^g	0.265±0.026 ^f	0.362±0.032 ^e	0.451±0.033 ^c
Rf	ND	0.022±0.007 ^f	0.046±0.012 ^e	0.064±0.020 ^d	0.076±0.022 ^c	0.085±0.019 ^b	0.029±0.003 ^f	0.047±0.009 ^e	0.069±0.012 ^d	0.088±0.018 ^b	0.116±0.012 ^a
Rb ₁	ND	0.233±0.031 ^h	0.514±0.050 ^f	0.796±0.063 ^c	1.097±0.058 ^b	1.329±0.073 ^a	0.223±0.016 ^h	0.388±0.041 ^g	0.516±0.077 ^f	0.552±0.055 ^{ef}	0.611±0.046 ^d
Rc	ND	0.072±0.006 ^g	0.147±0.007 ^{ef}	0.154±0.004 ^{ef}	0.178±0.010 ^e	0.190±0.014 ^e	0.128±0.022 ^f	0.274±0.014 ^d	0.429±0.054 ^c	0.587±0.039 ^b	0.682±0.030 ^a
Rg ₂	ND	0.007±0.001 ^g	0.011±0.002 ^g	0.018±0.003 ^{df}	0.025±0.004 ^d	0.029±0.003 ^d	0.015±0.002 ^f	0.029±0.005 ^d	0.049±0.006 ^c	0.069±0.010 ^b	0.078±0.024 ^a
Rh ₁	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.040±0.010 ^f	0.088±0.002 ^d	0.136±0.002 ^c	0.193±0.007 ^b	0.234±0.006 ^a
Rb ₂	ND	0.042±0.005 ^d	0.071±0.005 ^b	0.086±0.003 ^{ab}	0.092±0.002 ^a	0.094±0.006 ^a	0.014±0.003 ^f	0.025±0.003 ^e	0.042±0.003 ^d	0.060±0.005 ^c	0.074±0.007 ^b
Rb ₃	ND	0.006±0.002 ^{bc}	0.012±0.001 ^b	0.015±0.001 ^{ab}	0.018±0.003 ^{ab}	0.021±0.002 ^a	0.003±0.001 ^d	0.007±0.001 ^{bc}	0.011±0.001 ^b	0.016±0.002 ^{ab}	0.025±0.012 ^a
F ₁	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.003±0.001 ^c	0.008±0.002 ^{bc}	0.013±0.002 ^b	0.018±0.002 ^{ab}	0.023±0.003 ^a
Rd	ND	0.019±0.003 ^g	0.023±0.002 ^{fg}	0.030±0.001 ^{ef}	0.036±0.003 ^e	0.040±0.002 ^e	0.040±0.009 ^e	0.085±0.011 ^d	0.131±0.009 ^c	0.175±0.007 ^b	0.231±0.006 ^a
Rg ₆	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.001±0.001 ^b	0.003±0.001 ^b	0.006±0.002 ^{ab}	0.008±0.001 ^a	0.011±0.001 ^a
F ₄	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.004±0.001 ^e	0.011±0.003 ^d	0.020±0.002 ^c	0.029±0.001 ^b	0.035±0.002 ^a
Rh ₄	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.006±0.002 ^e	0.015±0.006 ^d	0.028±0.002 ^c	0.043±0.002 ^b	0.103±0.003 ^a
Rg ₃	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.007±0.002 ^f	0.018±0.004 ^d	0.033±0.004 ^c	0.050±0.003 ^b	0.061±0.002 ^a
Rg ₃ -S	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.004±0.002 ^d	0.011±0.007 ^c	0.020±0.004 ^b	0.029±0.002 ^{ab}	0.035±0.001 ^a
Rg ₃ -R	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.002±0.001 ^c	0.005±0.002 ^{bc}	0.009±0.002 ^b	0.013±0.002 ^{ab}	0.016±0.001 ^a
Rk ₁	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.004±0.001 ^e	0.014±0.004 ^d	0.028±0.005 ^c	0.046±0.003 ^b	0.060±0.002 ^a
Rg ₅	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.016±0.003 ^e	0.049±0.010 ^d	0.093±0.014 ^c	0.144±0.009 ^b	0.182±0.008 ^a
Rh ₂	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.001±0.00	0.002±0.001	0.003±0.001

¹⁾10G10; 10 times extract of Gugija without white ginseng and red ginseng, ²⁾10GW (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added white ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of white ginseng on Gugija), ³⁾10GR (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added red ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of red ginseng on Gugija), ⁴⁾Total; Total ginsenosides (mg/ml). Each value represents the means ± SD (n = 3), and was determined by adding the same amount of 10 times extracts. *Means with different letters (a-k) of the same column are significantly different mixing ratios of Gugija and ginseng at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

첨가하여 ACE저해활성을 비교 검토한 결과 100% 구기자 10 배 추출물인 G10은 $50.25 \pm 2.58\%$ 를 보였고 백삼 및 홍삼 혼합첨가량이 증가함에 따라 활성은 감소하는 경향을 보였다. 본 실험 결과, 100% 백삼 10 배 추출물인 10GW-G0과 100% 홍삼 10 배 추출물인 10GR-G0에서는 유의차가 없었지만 구기자와 대체 혼합에 의하여 추출할 경우는 백삼의 대체 혼합 추출물에서 홍삼의 대체 혼합 추출물보다 더 높은 저해활성을 보여주었다.

이는 Lee 등 (2003)이 백삼을 용매 추출별로 ACE저해활성을 본 결과 물 추출물이 낮았다고 보고한 것과 Lee 등 (1996)이 6년근 홍삼과 백삼의 조산성다당체에 대한 ACE저해 효과를 본 결과 백삼이 홍삼보다 저해효과가 더 높았다고 하는 것과 비슷한 결과를 보여주었다. 이어 구기자와 인삼 혼합 첨가 추출물에서 혼합에 의한 추출에 의한 영향이 미침을 볼 수 있었다.

7. 추출물의 베타인, 진세노사이드 및 총폴리페놀 함량

구기자와 인삼의 생리활성을 띠는 주된 물질은 베타인과 진세노사이드이다 (Amagase and Farnsworth, 2011; Jo *et al.*, 2011; Lee, 2016; Jang and Seung, 2016). 따라서 백삼 및 홍삼의 대체 혼합에 따라 제조한 구기자 추출물에서 각각 주된 생리물질인 베타인 및 진세노사이드를 분석 정량한 결과 Table 5와 Table 6과 같다.

10G10 추출물에서 베타인 함량은 0.735 ± 0.025 mg/ml 이었고 백삼과 홍삼 혼합첨가량이 증가할수록 추출물에서 베타인 함량은 비례적으로 감소하였으며 구기자에 인삼을 혼합 첨가하여 추출할 경우, 백삼의 혼합첨가 추출물인 10GW에서 G8 : 2 및 G6 : 4에서는 GR에서 G8 : 2 및 G6 : 4보다 베타인 함량이 더 높았고, 홍삼의 혼합첨가량이 많은 10GR에서 G4 : 6과 G2 : 8 추출물에서는 GW-G4 : 6 및 GW-G2 : 8 추출물보다 베타인 함량이 더 높아졌는데 이는 인삼의 혼합 첨가 추출 시 백삼이나 홍삼의 성분이 성분 추출에 영향을 미치는 것을 볼 수 있었다.

총 진세노사이드 함량은 10GR-G0 (홍삼 추출물)이 3.490 ± 0.054 mg/ml로 가장 높았고 10GW-G0 (백삼추출물)은 2.639 ± 0.052 mg/ml 를 나타내었다.

상기 항산화활성 및 기타 생리기능성이 10GR에서 홍삼혼합 첨가량이 더 많아질수록 더 우수한 것을 보면 총사포닌 함량에 의한 영향보다는 기능성에 미치는 영향은 10GW추출물에 없는 홍삼 특유사포닌도 영향을 끼칠 것으로 생각된다.

이는 인삼은 홍삼을 만드는 과정에서 증숙과 건조과정에 의하여 인삼이 가지고 있는 사포닌 구조의 변화를 가져온다 (Rho and Park, 2008; Kim *et al.*, 2011; Lee, 2016). 따라서 본 실험에 사용한 홍삼은 백삼에 비하여 배당체 구조를 가진 사포닌의 구조가 개열되어 Rg₃, Rg₅, Rg₆, Rh₂, Rh₄ 및

Table 6. Betaine and total phenolic compound content of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng.

Extracts	Betaine (mg/ml)	Total phenolic compounds (mg/ml)
10G10 ¹⁾	0.735 ± 0.025^a	$0.845 \pm 0.094^{a*}$
10GW ²⁾	G8:2	0.605 ± 0.022^b
	G6:4	0.583 ± 0.024^c
	G4:6	0.421 ± 0.018^f
	G2:8	0.334 ± 0.030^h
	G0	ND
10GR ³⁾	G8:2	0.586 ± 0.031^c
	G6:4	0.558 ± 0.027^d
	G4:6	0.443 ± 0.020^e
	G2:8	0.361 ± 0.018^g
	G0	ND

¹⁾10G10; 10 times extract of Gugija without white ginseng and red ginseng, ²⁾10GW (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added white ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of white ginseng on Gugija), ³⁾10GR (G8 : 2, G6 : 4, G4 : 6, G2 : 8, and G0); 10 times extract of Gugija added red ginseng (10 times extract of Gugija added by replacing 20, 40, 60, 80 and 100% of red ginseng on Gugija). Each value represents the means \pm SD (n = 3), and was determined by adding the same amount of 10 times extracts. *Means with different letters (a-g) of the same column are significantly different mixing ratios of Gugija and ginseng at p < 0.05 by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

Rk₁ 등의 홍삼 및 흑삼 특유의 사포닌 구조물질이 생성된 것을 볼 수 있었다.

또한 총 폴리페놀함량은 구기자 추출물인 10G10, 백삼 추출물인 10GW-G0 및 홍삼 추출물인 10GR-G0에서 각각 0.845 ± 0.094 mg/ml, 0.216 ± 0.004 mg/ml, 및 0.583 ± 0.006 mg/ml를 보여 구기자 추출액이 총 페놀함량이 가장 높음을 알 수 있었다.

8. 베타인, 총진세노사이드 및 총폴리페놀함량과 생리기능성 간의 상관관계

인삼을 혼합비율별로 대체한 구기자 추출물에서 구기자의 주요성분인 베타인, 인삼의 주요성분인 진세노사이드 및 항산화효과에 영향을 주는 총폴리페놀함량과 생리기능성 간의 pearson상관관계를 분석한 결과 Table 7과 같았다.

인삼의 첨가량이 높아질수록 베타인 함량이 낮아지고 진세노사이드 함량이 높아지는 결과로 베타인과 진세노사이드의 함량은 음의 상관관계를 보였으며 10GW추출물에서는 베타인과 총폴리페놀함량이 생리기능성 효과에 강한 상관관계를 보였으며 총진세노사이드의 함량에서는 음의 관계를 보였다.

이는 Sohn 등 (2008)은 구기자 추출물에서 폴리페놀성물질의 함량이 높은 추출조건에서 항산화활성이 높았다고 보고한

Table 7. Correlation coefficient among betaine, total ginsenosides, total phenolic compound content, and physiological activities of Gugija extracts by adding white ginseng and red ginseng.

GW extract	Bioactive components			Physiological activities ¹⁾				
	Betaine	Total ginsenoside	Total polyphenol	DPPH	ABTS	FRAP	ACE	Nitrite
Betaine	1.000	-	-	-	-	-	-	-
Total ginsenoside	-0.904**	1.000	-	-	-	-	-	-
Total polyphenol	0.953**	-0.943**	1.000	-	-	-	-	-
DPPH	0.919**	-0.387	0.990**	1.000	-	-	-	-
ABTS	0.946**	-0.541	0.905**	0.942**	1.000	-	-	-
FRAP	0.867*	-0.612	0.923**	0.988**	0.951**	1.000	-	-
ACE	0.959**	-0.652	0.882*	0.591	0.779*	0.890*	1.000	-
Nitrite	0.840*	-0.718*	0.917**	0.959**	0.993**	0.927**	0.862*	1.000

GR extract	Bioactive components			Physiological activities ²⁾				
	Betaine	Total ginsenoside	Total polyphenol	DPPH	ABTS	FRAP	ACE	Nitrite
Betaine	1.000	-	-	-	-	-	-	-
Total ginsenoside	-0.932**	1.000	-	-	-	-	-	-
Total polyphenol	0.950**	-0.998**	1.000	-	-	-	-	-
DPPH	-0.945**	0.995**	-0.997**	1.000	-	-	-	-
ABTS	-0.802	0.945**	-0.933**	0.920**	1.000	-	-	-
FRAP	-0.932**	0.994**	-0.992**	0.991**	0.916**	1.000	-	-
ACE	0.931**	-0.995**	0.993**	-0.786*	-0.836*	-0.779*	1.000	-
Nitrite	-0.822*	0.963**	-0.952**	0.945**	0.975**	0.937**	-0.941**	1.000

¹⁾DPPH; DPPH radical scavenging activity on 50 times Gugija extracts by replacing white ginseng, and ABTS, FRAP, ACE and nitrite (nitrite scavenging activity, at pH 1.2); activity on 10 times Gugija extracts by replacing white ginseng, ²⁾DPPH; DPPH radical scavenging activity on 100 times Gugija extracts by replacing red ginseng, ABTS; radical scavenging activity on 20 times Gugija extracts by replacing red ginseng, FRAP, ACE and nitrite (nitrite scavenging activity, at pH 1.2); activity on 10 times Gugija extracts by replacing red ginseng, *Asterisks indicate significant differences at $p < 0.05$ by DMRT, **Asterisks indicate significant differences at $p < 0.01$ by DMRT.

것을 고려하면 구기자의 항산화능은 폴리페놀성물질에 좌우됨을 알 수 있었다.

반면에 10GR추출물에서는 베타인과 총폴리페놀함량이 생리 기능성에 음의 상관관계를 보였으며 총진세노사이드의 함량은 ACE저해활성만을 제외하고는 양의 상관관계를 보였다. Table 5에서 보는 바와 같이 총진세노사이드의 함량에서는 백삼과 홍삼의 차이는 크게 차이를 주지 않았지만 생리 기능성에서는 백삼과 홍삼의 첨가를 달리 하였을 경우 크게 차이를 주었다.

이는 Kim 등 (2011)이 인삼을 증숙과 건조과정을 반복하여 흑삼을 제조하는 동안 신생사포닌이 생성함과 동시에 DPPH radical소거능, FRAP, ABTS radical소거능이 증가하였다고 하는 것과 Lee 등 (2001)에 의하면 홍삼의 수용성 갈변물질이 아질산염소거능 및 돌연변이억제능이 있다고 보고한 것과 같은 경향을 보여주었다. 이와 같이, 구기자에 백삼을 대체하여 추출물을 제조할 경우는 대부분의 기능성이 감소함을 볼 수 있었고, 홍삼을 대체할 경우는 ACE저해활성을 제외하고는 기능성이 향상됨을 볼 수 있어 구기자 추출물 제조 시 홍삼을 20%만 대체하여도 구기자 추출물의 기능성이 향상된 제품 개

발이 가능할 것으로 생각된다.

REFERENCES

Amagase H and Farmsworth NR. (2011). A review of botanical characteristics, phytochemistry clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit(Goji). Food Research International. 44:1702-1717.

Bae HC, Cho IS and Nam MS. (2005). Effects of biological function of yogurt added with *Lycium chinensis* Miller extract. Korean Journal of Animal Science and Technology. 47:1051-1058.

Benzie IFF and Strain JJ. (1996). The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of "antioxidant powder": The FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239:70-76.

Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science Technology. 28:25-30.

Cho YJ, Chun SS, Cha WS, Park JH, Lee KH, Kim JH, Kwon HJ and Yoon SJ. (2005). Antioxiditive and antihypertensive effects of Lycii fructus extracts. Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition. 34:1308-1313.

- Coseteng MY and Lee CY.** (1987). Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. *Journal of Food Science.* 52:985-989.
- Cushman DW and Cheung HS.** (1971). Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology.* 20:1637-1648.
- Gray JI and Dugan Jr LR.** (1975). Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *Journal of Food Science.* 40:981-984.
- Hwang EY, Hong JH, Choi JH, Lee EJ and Lee IS.** (2009). Study on anti-obesity and hypoglycemic effect of *Lycium chinense* Mill extracts. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition.* 38:1528-1534.
- Jang AY, Sueng YC and Ji JG.** (2016). The comparative study on physiological activity of white ginseng, red ginseng and black ginseng extracts. *Journal of Digital Convergence.* 14:459-471.
- Jo HK, Sung MC and Ko SK.** (2011). The comparison of ginseng prosapogenin composition and contents in red and black ginseng. *Korean Journal of Pharmacognosy.* 42:361-365.
- Kang KI, Jung JY, Koh KH and Lee CH.** (2006). Hepatoprotective effects of *Lycium chinense* mill fruit extracts and fresh fruit juice. *Korean Journal of Food Science and Technology.* 38:99-103.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB and Hayase F.** (1987). Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agricultural and Biological Chemistry.* 51:1333-1338.
- Kim DH, Ahn BY and Park BH.** (2003). Effect of *Lycium chinensis* fruit on the physicochemical properties of *Kochujang*. *Korean Journal of Food Science and Technology.* 35:461-469.
- Kim HJ, Lee JY, You BR, Kim HR, Choi JE, Nam KY, Moon BD and Kim MR.** (2011). Antioxidant activities of ethanol extracts from black ginseng prepared by steaming-drying cycles. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition.* 40:156-162.
- Kim KS, Shim SH, Jeong GH, Cheing CS, Ko KH, Park JH, Hub H, Lee BJ and Kim BK.** (1998). Anti-diabetic activity of constituents of *Lycii fructus*. *Korean Journal of Applied Pharmacology.* 6:378-382.
- Kim MJ, Chung KJ and Jang MS.** (2006). Effect of Kugija(*Lycium chinensis* Miller) extract on the physicochemical properties of *nabak kimchi* during fermentation. *Korean Journal of Food and Cookery Science.* 22:832-839.
- Lee DH, Park WJ, Lee BC, Lee JC, Lee DH and Lee JS.** (2005). Manufacture and physiological functionality of Korean traditional wine by using Gugija(*Lycii fructus*). *Journal of Food Science and Technology.* 37:789-794.
- Lee GD.** (2016). Monitoring of antioxidant activities with dried *Gigija(Lycium chinensis* Mill) extraction. *Korean Journal of Food Preservation.* 23:859-865.
- Lee JW, Bae YI and Shim KH.** (2001). Biofunctional characteristics of the water soluble browning reaction products isolated from Korean red ginseng-study on the antimutagenic and nitrite scavenging activities. *Journal of Ginseng Research.* 25:118-121.
- Lee MR, Yun BS and Sung CK.** (2012). Comparative study of white and steamed black *Panax ginseng*, *P. Quinquefolium*, and *P. notoginseng* on cholinesterase inhibitory and antioxidative activity. *Journal of Ginseng Research.* 36:93-101.
- Lee NR, Han JS, Kim JS and Choi JE.** (2011). Effects of extraction temperature and time on ginsenoside content and quality in ginseng(*Panax ginseng*) flower water extract. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 19:271-275.
- Lee SD, Hwang WI and Okuda H.** (1996). Effect of acidic polysaccharide components of Korean ginseng on lipolytic action of toxohormone-L and on activity of angiotensin converting enzyme. *Korean Journal of Ginseng Research.* 20:248-288.
- Lee SE, Bang JK, Song J, Seong NS, Park HW, Chung HG and Kim GS and An TJ.** (2004). Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme(ACE) of Korean medicinal herbs. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 12:73-78.
- Lee SE, Seong NS, Bang JK, Kang SW, Lee SW and Chung TY.** (2003). Inhibitory effect against angiotensin converting enzyme and antioxidant activity of *Panax ginseng* C. A. Meyer extracts. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 11:236-245.
- Lee SJ, Shin JH, Lee HJ, Tak HM, Kang MJ and Sung NJ.** (2013). Antioxidant and anti-inflammatory activities of functional plant materials. *Journal of Life Science.* 23:869-878.
- Lim YS, Cha WJ, Lee SK and Kim YJ.** (2003). Quality characteristics of wet noodle with *Lycii fructus* powder. *Korean Journal of Food Science and Technology.* 35:77-83.
- Ministry of Food and Drug Safety(MFDS).** (2015). Standards and specifications of health functional foods. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju, Korea. https://www.foodsa.fetykorea.go.kr/portal/board/boardDetail.do?menu_no=2660&bbs_no=bbs987&ntctxt_no=1048710&menu_grp=MENU_NEW01 (cited by 2015 Nov 17).
- Ministry of Food and Drug Safety(MFDS).** (2017). Standards and specifications of health functional foods. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju, Korea. https://www.foodsa.fetykorea.go.kr/portal/board/boardDetail.do?menu_no=2660&bbs_no=bbs987&ntctxt_no=1062817&menu_grp=MENU_NEW01 (cited by 2017 May 1).
- Odetti PR, Borgoglio A, de Pascale E, Rolandi R and Adezati L.** (1990). Prevention of diabetes-increased aging effect on rat collagen-linked fluorescence by aminoguanidine and rutin. *Diabetes.* 39:796-801.
- Park BH, Cho HS and Park SY.** (2005). A study on the antioxidative effect and quality characteristics of cookies made with *Lycii fructus* powder. *Korean Journal of Food and Cookery Science.* 21:94-102.
- Park WJ, Bock JY, Baik SO, Han SB and Ju HK.** (1997). Volatile components of *Lycium chinensis* Miller. *Korean Journal of Food and Nutrition.* 10:1-5.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evans C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine.* 26:1231-1237.
- Rho SS and Park JH.** (2008). The effects of ginseng radix preparata extract on anti-thrombotic activity. *Journal of East West Medicine.* 33:47-61.
- Shon HK, Lee YS, Park YH, Kim MJ and Lee KA.** (2008). Physico-chemical properties of Gugija(*Lycii fructus*) extracts.

구기자 추출물 제조 시 백삼 및 홍삼 첨가 효과

Korean Journal of Food and Cookery Science. 24:905-911.
Yi SD, Lee MH, Son HJ, Bock JY, Sung CK, Oh MJ and Kim CJ. (1996). Changes of chemical constituents in extract of *Lycii fructus* by various heat treatment. Agricultural Chemistry and Biotechnology. 38:268-273.

Yoon CK, Kim HH, Joh HS, Chae SN, Oh MJ and Lee GH. (2001). Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diets supplemented with *Lycium chinense* ethanol extract. Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition 30:668-672.