

상업 추출물을 이용한 항당뇨 음료의 개발 (I) - 상업 추출물의 제제화 탐색 -

구성자[†] · 윤기주* · 김근풍**

경희대학교 식품영양학과, 원주국립대학 간호학과*,
신동방 메디스 늘원연구소**

Development of An Anti-Diabetic Functional Drink (I) - Screening of the Manufacturing of Mulberry Leaf Extract -

Koo Sung-Ja[†], Yoon Ki-Ju*, Kim Gun-Pung**

*Dept. of Food & Nutrition, Kyunghee University,
Dept. of Nursing Science, Wonju National College*
Sindongbang Medix, Nulwon Institute***

Abstract

Mulberry leaves are believed to be a potent inhibitor of intestinal α -glycosidase and the digestion of sucrose in the small intestine. Mulberry leaves are also known to help prevent the postprandial hyperglycemia. The objective of this study was to elucidate the functionality and anti-hyperglycemic effect of mulberry leaves, and to develop a functional drink using mulberry leaf, silk peptide and oriental medicine. Several mixtures of mulberry leaf extract, silk peptide and oriental medicine were made for the purpose of manufacture and formulation of products. These mixtures were tested to check the α -glycosidase inhibition effect to find the best formula. The optimum conditions for a mulberry leaf hot water extract were that the size of leaf was under 3mm, the amount of leaf needed 50~100 g/L, extraction temperature 90°C and extraction time 2 hr. The yield of extraction was 20~25%. The anti-hyperglycemic effect of mulberry leaves was at maximum when the concentrations of mulberry leaf extract and silk peptide were 1% and 0.1%, respectively.

Key words: mulberry leaves, anti-diabetic functional drink.

I. 서론

최근 급속한 고령화에 따른 만성질환의 증가로 건강에 대한 욕구가 더 한층 증대되고 있으며 이러한

사회적 요구에 따라 식품의 3차 기능인 생체조절기능이 중요시되고 있다. 또한 생명과학의 발달로 민간에서 이용되어 오던 식물성, 약용, 식용 및 미식용 자원에서 경쟁력 있는 신약, 기능성 식품소재 및 기능성 식품개발이 적극적으로 추진되고 있으며 이들

[†]Corresponding author: Koo Sung-Ja, Dept. of Food and Nutrition, College of Home Economic Science, Kyunghee University, 1, Hoiki-dong, Dongdeamoon-gu, Seoul 130-701, Korea, Tel: 82-2-961-0709, Fax: 82-2-961-0260, E-mail: sjkoo@khu.ac.kr

을 이용한 기능성 식품이 식품 산업계에 급속도로 신장되고 있다. 만성 소모성 대사성 질환인 당뇨병은 전세계적으로 1억 이상의 사람들이 앓고 있는 질병으로 특히 당뇨병 환자들의 혈당 조절이 잘 안되어 초래되는 당뇨 합병증으로 인해 치명적인 이상이 올 수 있다. 따라서 당뇨 환자의 고혈당을 정상 혈당으로 낮추어 주는 일은 매우 중요하다. 심한 환자의 경우 임상 치료를 받고 있지만 유병 기간이 긴 당뇨병 환자는 약제 외에 한약이나 민간요법을 시도하는 사례가 늘고 있어서 이로 인해 발생하는 문제도 적지 않다. 이러한 점을 감안하여 민간 또는 전통 의약에서 소갈증에 사용하는 약제들을 검토하던 중 상엽이나 상백피, 누에, 오디, 등글레 등이 혈당 강하 활성을 나타냄을 알 수 있었다¹⁻⁴⁾. 상엽은 '신농본초경'에 소갈증, 소담성, 이노, 완하, 진해, 거담제 등으로 수록되어 있으나 생약의 범주에는 들어있지 않다. 그러나 상엽에는 cholesterol 흡수 저해 작용이 있다고 알려진 phytosterol 류의 식물 성분을 함유할 뿐만 아니라 식이 섬유나 단백질이 풍부하다. 또한 지질 저하 작용이 보고되어 있는 quercetin도 함유하고 있으므로 지질 대사에 미치는 효과가 예상된다⁵⁾고 하였으며⁶⁾ 정 등⁶⁾은 상엽에 다량의 myo-inositol이 함유되어 있는 것으로 확인하였는데 이는 당뇨병성 신경병증에 치료 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. Basent 등은⁷⁾ 뽕잎으로부터 ethylacetate, butanol 분획에서도 혈당강하 활성을 가진 물질이 2-aryl-benzofuran 유도체였다고 보고하였다. 또한, 상엽의 water soluble 분획에서 혈당 강하 활성 물질이 acarbose(의약품)와 마찬가지로 탄수화물 소화와 관여하는 효소인 α -glucohydrolase 억제 작용에 기인한다고 보고하였으며 누에, 누에분말(5령 3일제)로부터 혈압 강하 활성을 보고한 연구들이 있다⁸⁻¹⁰⁾. 상엽은 식품으로 이용되는 것은 아니지만 칼슘, 칼륨 등의 전해질, pectin, cellulose 등의 식이 섬유나 amino acid, protein 등이 풍부하고 봄부터 가을에 걸쳐 채취 가능하다는 이점을 가지고 있으므로 식품 소재로서 널리 이용될 가능성을 가지고 있다.

따라서 본 연구에서는 천연 자원인 뽕나무에서 혈당강하 효능을 가진 뽕잎(상엽)의 열수 추출법을 이

용하여 상엽 추출물의 공정화를 확립하였다. Formulation 개발을 위해 상엽 추출물과 혈당강하 효과가 있다고 알려진 silk peptide 및 등글레를 첨가한 시제품을 동물실험을 통하여 Formulation을 최종 결정하여 제제화하여 기능성 음료를 개발하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용한 건조 상엽(Mulberry Leaves)과 silk peptide는 농촌 진흥청 잠사 곤충 연구소로부터, 오디(오디 주스 100%)는 신동방 메디스 늘원 연구소에서 제조한 것을 제공 받았고 등글레는 경동시장에서 구입하였으며, polydextrose 및 기타 시약은 Sigma, Co(USA)을 사용하였다.

2. 추출장치 제조

용기 용량은 2 L로서 2중 자켓 형태로 온도 조절을 용이하게 하고 하단부에 추출 후 이물질 제거를 위해 filter를 설치하고 온도계 설치구, valve 등을 장착시키고 실험 도중의 내부 관찰을 위해 모든 부분을 초차로 제작하였다.

3. 상엽의 전처리 및 추출

상엽을 바로 물에 추출할 경우 풀 냄새가 심하여 조향에 어려움이 있어 풀 냄새 제거를 위해 온도(80, 90°C)와 시간(0, 20, 60 min)을 달리하여 전처리하였다. 추출 조건은 면자루 사용 여부, 온도(80, 90°C), 시간(0.5~4시간), 추출 횟수(1~3회), 용량(50~200g/L), 상엽 분말의 크기(1×1~10×50mm) 등 대량 추출 조건을 설정하여 추출하였다.

4. 실험 동물

체중 20 g 전후(5주령)의 ICR계 웅성 마우스는 삼육실험동물에서 구입하였으며 고형사료(삼양유지(주) 소형동물용)와 물을 충분히 공급하면서 온도 23°C, 습도 50%의 환경에서 사육하였다.

5. 정상 마우스에서 sucrose 부하에 따른 혈당강하 활성 검색

14시간 절식시킨 5주령의 ICR계 웅성 마우스에 상업 추출물 400 mg/kg(body weight)과 함께 sucrose 1 g/kg을 경구투여하였다. 1차 실험에서는 투여 전과 투여 후 0~6 시간동안 매 시간마다, 2차 실험에서는 0, 1, 3, 5 시간 후에 안와 채혈하여 5,000rpm에서 10분간 원심분리 후 혈장 5 μ 를 취해 Trinder 시약 (Sigma, Co) 1mL를 가하여 실온에서 18분 방치 후 505nm에서 흡광도를 측정하였으며 glucose 표준 곡선을 이용하여 혈당을 계산하였다.

6. 자료 분석

모든 실험결과와 통계처리는 SAS 통계 프로그램 (SAS institute, 1990)을 이용하여 분석하였으며, 그 결과는 평균값과 표준오차로 표시하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 상업 추출 과정

1) 상업의 전처리 조건 설정

상업을 바로 추출할 경우 풀냄새가 심하여 조향이 어려움이 있으므로 풀냄새 제거를 위해 전처리하였다. 상업의 전처리 조건은 온도 80°C와 90°C에서, 추출시간은 0, 20 및 60분간 추출하였을 때 90°C에서 20분간 전처리한 경우 풀 냄새 대부분이 제거되어 조향 작업에 큰 어려움이 없었다. 따라서 이러한 조건으로 전처리한 후 실험에 사용하였다.

2) 포장사용 여부에 따른 상업 추출물의 수율

포장 및 비포장에 의한 상업 추출물의 수율을 비교하였다. 추출조건으로 중량, 온도 및 가열시간을 각각 100 g/L, 90°C 및 1.5 시간(hr)으로 하였을 때 수율은 포장하지 않은 경우가 23.2%였고, 포장한 경우는 21.7%였다. 포장 여부에 따라 수율에 큰 차이가 없었으므로 작업성을 고려할 때 포장하여 추출하는 것이 바람직하다고 사료되었다.

3) 추출 온도에 따른 고형분 수득량

전처리한 상업의 추출 온도에 따른 고형분 수득량

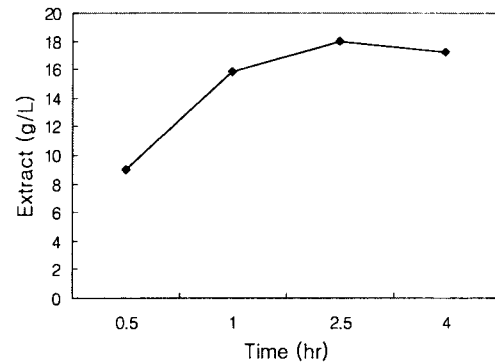


Fig. 1. Effect of extraction temperature on yield at 90°C.

을 비교한 결과는 Fig. 1과 같다. 50 g/L 용량에서 추출온도를 80°C로 하여 20분(min) 가열하였을 때 고형분 농도는 12.6 g/L였고, 90°C에서는 15.3 g/L였으며, 100 g/L 용량에서 추출온도를 80°C로 하여 20분(min) 가열하였을 때 고형분 농도는 22.5 g/L였고 90°C에서는 27.6 g/L였다. 90°C에서 추출 수율이 향상되었으므로 이후 추출조건은 90°C로 하여 실시하였다.

4) 추출 시간에 따른 고형분 수득량

상업의 추출 시간에 따른 고형분 수득량을 비교한 결과는 Fig. 1과 같다. 추출 시간을 0.5, 1, 2.5 및 4 시간으로 증가시키에 따라 고형분 수득량은 각각 9, 15.8, 18 및 17.2 g/L의 값을 나타내었다. 추출시간은 1~2 시간 정도면 거의 대부분 추출되므로 이후 추출시간은 1.5 시간으로 정하여 추출하였다.

5) 추출 횟수에 따른 고형분 수득량

추출 횟수에 따른 고형분 수득량은 50 g/L, 90°C, 1.5 시간의 조건으로 1회 추출한 경우 고형분 수득량은 15.7 g/L였고, 추출 후 남은 잔사를 재추출하였을 때 고형분 수득량은 0.3 g/L였으며, 2회 추출 후 남은 잔사를 다시 추출한 경우 고형분 수득량은 0.22 g/L였다(Fig. 2). 1회 추출로서 거의 대부분 추출되므로 상업의 추출 횟수는 1회로 하였다.

6) 상업 사용량에 따른 고형분 수득량

상업 사용량에 따른 고형분 수득량은 Table 1에

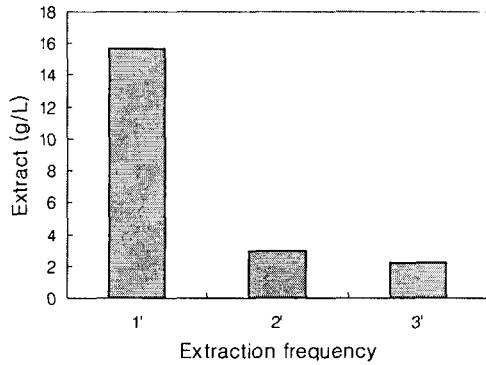


Fig. 2. Effect of extraction frequency of mulberry leaves(50g/L) on yield at 90°C for 1.5hr.

Table 1. Effect of the amount of mulberry leaves used on extraction

Mulberry leaves (g/L)	Extract (g/100ml)	Recovery volume(ml)	Yield (%)
50	1.60	850	26.4
100	3.14	710	21.7
150	4.81	530	16.5
200	6.25	470	11.0

Extraction condition : 90°C, 1.5 hr.

나타난 바와 같이 추출조건 90°C, 1.5시간에서 상엽 중량이 50 g/L일 때 고형분 농도는 1.6 g/L였고, 추출 수율은 26.4%였다. 상엽중량 100 g/L에서 고형분 농도는 3.14 g/100mL, 추출 수율은 21.7%였다. 상엽 중량 150 g/100mL에서 고형분 농도는 4.81 g/100mL, 추출 수율은 16.5%였으며, 상엽 중량 200 g/L에서 고형분 농도는 6.25 g/100mL, 추출 수율은 11%였다. 추출 수와 상엽 사용량은 수율과 향후 음료수 제조시 고형분 함량을 고려할 때 50~100 g/L에서 추출하는 것이 바람직하다고 사료되었다.

7) 상엽 원료의 크기 및 사용량

상엽 크기별 겉보기 비중은 Table 2와 같다. 상엽 크기가 1×1 mm일 때 bulk density는 0.5 g/ml, bulkiness는 2 ml/g이었고, 3×3mm 크기일 때 bulk density는 0.25 g/ml, bulkiness는 4 ml/g이었다. 5×5mm 크기일 때 bulk density는 0.125 g/ml, bulkiness는 8 ml/g

Table 2. Apparent density of mulberry leaves according to size

Size (mm)	Bulk density (g/ml)	Bulkiness (ml/g)
1×1	0.500	2
3×3	0.250	4
5×5	0.125	8
10×50	0.040	25

Table 3. Number of packing bag according to mulberry leaves/water ratio

Mulberry leaves/water	Mulberry leaves (kg)	Number of packing bag			
		Mulberry leaves size (mm)			
		<1	<3	<5	<10×50
1/10	200	20	30	66	100
1/20	100	10	15	33	50
1/40	50	5	8	16	25

Weight of one bag: 1mm(10kg), 3mm(6.5kg), 5mm(3kg), 10×50mm(2kg).

Water: 2 Ton, Bag size: 40×70cm.

이었으며, 10×50mm 크기일 때 bulk density는 0.04 g/ml, bulkiness는 25 ml/g이었다. 또한 3톤 추출조를 기준한 상엽 사용량을 선정하기 위해 상엽/물 비율에 따른 상엽크기별 자루수를 나타낸 결과는 Table 3과 같다. 상엽은 면자루(40×70cm)에 넣어 추출하였으며 자루에 상엽을 70~80%를 채우고 정제수는 2 Ton을 사용하였다. 상엽/물 비율이 1/10(상엽 200kg)일 때 상엽 크기별 자루수는 1mm, 3mm, 5mm, 및 10×50mm에서 각각 20, 30, 66, 및 100 자루였고 비율이 1/20(상엽 100kg)일 때 상엽 크기별 자루수는 각각 10, 15, 33, 및 50 자루였고, 비율이 1/40(상엽 50kg)일 때 상엽 크기별 자루수는 각각 5, 8, 16, 및 20 자루였다.

이상에서 생산 공정에는 3mm 이하 크기의 상엽을 사용하고, 3Ton 추출조에 사용하는 적정자루수는 7~12개, 상엽 사용량을 1/20(상엽/water)를 사용하는 것이 좋다고 사료되었다.

따라서 최종 상엽 추출 조건은 상엽 크기는 3mm 이하로 하고, 2/3 정도 packing된 자루로 포장된 상엽을 사용하며 상엽 사용량은 50~100 g/L, 추출 온도는 90°C, 추출 시간은 2 hr으로 하였으며 이때 수율은 20~25%였다.

2. 상엽 추출물과 silk peptide의 혼합비에 따른 혈당 강하 효과

상엽 추출물과 silk peptide의 혼합비는 예비실험을 거쳐 Table 4와 같은 비율로 혼합하여 제조한 추출물 400 mg/kg과 함께 sucrose 1g/kg을 마우스에 경구 투

Table 4. Composition ratio of sample at first screening test

Sample	Mulberry leaves extract (g)	Silk peptide (g)
1	0.25	0.125
2	0.5	0.125
3	1.0	0.125
4	0.5	0
5	0.5	0.25

Water : Total 100ml.

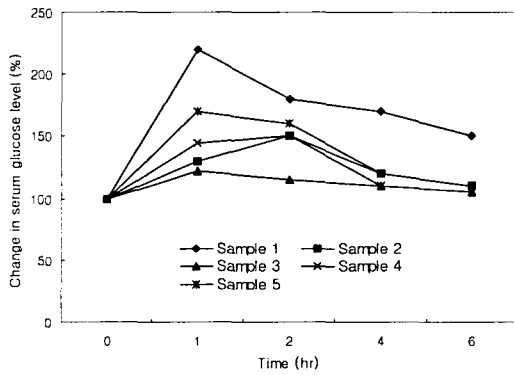


Fig. 3. Serum glucose response of mulberry leaves extract (M) and silk peptide (S) by time.

Sample 1: M/S=0.25/0.125, Sample 2: M/S=0.5/0.125, Sample 3: M/S=1/0.125, Sample 4: M/S=0.5/0, Sample 5: M/S=0.5/0.25.

Table 5. Composition ratio of sample at second screening test

Sample	Mulberry leaves extract (g)	Silk peptide (g)	Mulberry fruits juice (g)	Polygonatum odoratum extract (g)	Polydextrose (g)
1	1.0	0.1	-	-	-
2	1.0	0.1	3	-	-
3	1.0	0.1	6	-	-
4	1.0	0.1	-	0.1	-
5	1.0	0.1	-	0.5	-
6	1.0	0.1	3	0.1	1.0
7	1.0	0.1	-	-	1.0

Water : Total 100ml.

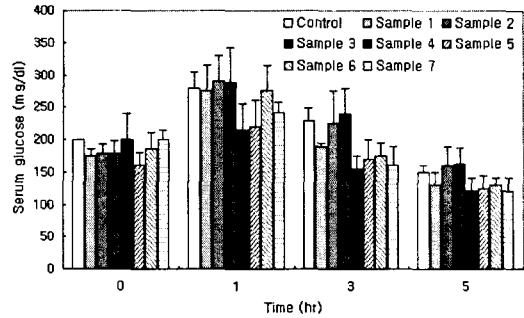


Fig. 4. Serum glucose response of mulberry leaves extract and silk peptide according to addition of mulberry fruits, Polygonatum odoratum and polydextrose on time. Sample composition is illustrated in Table 5.

여하여 sucrose의 소장을 통한 흡수 과정에 대한 억제 활성 유무를 시험하여 본 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 상엽 추출물의 함량을 증가시키기에 따라 혈당 감소 효과가 커짐을 알 수 있었으며, silk peptide 함량을 증가시키기에 따라 혈당은 오히려 증가하였다. 따라서 silk peptide의 농도는 0.1%로 하였다.

3. 부원료 (오디, 둥글레, polydextrose) 첨가에 따른 혈당 강하 효과

상엽 추출물과 silk peptide의 농도를 고정시킨 후 부재료로 오디즙, 둥글레 추출물 및 polydextrose 첨가에 따른 시료의 혈당강하 효과를 살펴보기 위해 Table 5와 같이 시료를 다양한 비율로 혼합하여 제조한 추출물 400 mg/kg을 sucrose와 동시에 경구 투여한 후 시간 경과에 따른 혈당 상승 억제 정도는 Fig. 4와 같다. 1시간 후에 대조군보다 혈당이 높은 시료

가 sample 2, 3, 6이고, 대조군보다 낮은 시료는 sample 1, 4, 5, 7이며 sample 4가 혈당억제 효과가 가장 컸다. 따라서 부원료인 오디 주스에는 free glucose 나 fructose가 많이 함유되어 있으므로 이들이 혈당을 높여주는 것으로 추측되므로 오디 주스를 첨가하지 않는 것이 바람직하며, 둥글레(추출물)은 상엽추출물의 10% 첨가하는 것이 바람직하며, ploydextrose도 혈당강하 효과가 있음이 확인되었다.

IV. 요약

본 연구는 천연 자원인 뽕나무에서 혈당강하 효능을 가진 뽕잎(상엽)의 열수 추출법을 이용하여 상엽 추출물의 공정화 확립과 Formulation 개발을 위해 상엽 추출물과 silk peptide 및 한약재를 첨가한 시제품을 동물실험을 통하여 Formulation을 최종 결정하여 제품화하여 기능성 음료를 개발하고자 하였다.

연구 결과, 상엽 추출의 최적 조건은 상엽 크기는 3mm 이하로 하고, 2/3 정도 packing된 면포자루로 포장된 상엽을 사용하며, 상엽 사용량은 50~100 g/L, 추출 온도는 90°C, 추출 시간은 2 hr으로 하였으며 이때 수율은 20~25%였다. 또한 시료 배합에 따른 혈당강하 실험을 통하여 상엽 추출물과 silk peptide의 농도는 각각 1%, 0.1%일 때 혈당강하 작용이 가장 우수하였으며 부재료로 사용된 둥글레는 상엽추출물의 10% 첨가한 경우가 혈당강하작용이 가장 컸으며, ploydextrose도 효과가 있으므로 첨가하는 것이 바람직하다고 사료된다.

V. 문헌

1. Ditzel J (1976) : Oxygen transport impairment in diabetes, *Diabetes* 25, suppl 2: 832.
2. Arky RA (1983) : Nutritional management of diabetic IN: *Diabetes Mellitus: Theory and practice*, 3rd Ed, Medical Examination Publishing Co NY, pp.539-566.
3. Fujin C, Noboru N, Ikuko K (1995) : Hypoglycemic activity & mechanism of extracts from mulberry leaves & cortex *Mori radidis* in streptozotocin-induced diabetic mice, *Yakugaku Zasshi* 115: 476-482.
4. Hikino H, Mizuno T, Oshima Y, Konno C (1985) : Isolation and hypoglycemic activity of Moran A, a glycoprotein of *Morus alba* root bark, *Planta Medica* 159-160.
5. Kayo D, Takashi K, Masaoki H, Yosgiya H (1994) : Effect of mulberry leaves on lipid metabolism in rabbits fed a cholesterol diet, *Japanese J Nutr Food* 47(1): 15-22.
6. Jung SH, Choi MH, Yu JH (1996) : Inhibitory activity of aqueous fraction of mulberry leaves on rat intestinal α -glycosidase, *Genetic Engineering Thesis* 8: 38-44.
7. Basnet P, Kodota S, Terashima S, Shimizu M, Namba, T (1993) : Two new 2-aryl-benzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing of *Morus insignis*. *Chem Pharm Bull* 41(7): 1238.
8. Lee JS (1995) : Blood glucose-lowering effect of *Mori folium*. *Yakhakhoeji* 39: 367-372.
9. Kim MS, Jung SH, Jo RW (1997) : Effect of *Mori folium* column fraction on intestinal α -glycosidase activity in mice administered with a high carbohydrate containing diet. *Yakhakhoeji* 41: 484- 491.
10. Kim YY (1998) : Anti-hyperglycemic effect of Cortex *Mori radidis* in db/db mice. Kyunghee Univ. (Korea) Thesis for the Degree of Master.