블루베리 추출물의 항산화 활성

오재영*, 강나래*, 강성웅*, 송현용*, 김현아**, 황은영**, 전유진*
*제주대학교 해양의생명과학부
**제주대학교 화학과

Antioxidant activity of extracts from Blueberry

Jae-Yeong O*, Na-Lae Kang*, Seong-Woong Kang*, Hyung-Yong Song*,
Hyeon-A Kim**, Eun-Yeong Hwang**, You-Jin Jeon*
*School of Marine Biomedical Science, Jeju National University
**Dept of Chemistry, Jeju National University

Abstract

In this study, antioxidant activity of enzymatic, ethanolic and aqueous extract from Blueberry were evaluated by measuring the scavenging activity on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Enzymatic extract were prepared by enzymatic hydrolysis of Blueberry using food grade five different carbohydrases (Viscozyme, celluclast, AMG, Termarmyl, Ultraflo) and five proteases (Protamex, Kojizyme, Neutrase, Flavourzyme, Alcalase). The ethanol extract were lower than enzymatic extracts in yield, but higher in ployphenolic contents. The 70% ethanolic extract of Blueberry exhibited better DPPH radical scavenging activity compared to those of other extracts. These results suggest that Blueberry would be a good raw materials for antioxidant.

1. 서론

최근 경제성장과 함께 삶의 질이 향상됨에 따라 건강과 아름다움을 추구하는 것에 대한 관심이 늘고 있으며, 이에 따른 천연 식물자원을 이용한 기능성 식품, 기능성 화장품 등에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 주름개선, 자외선 차단, 미백의 효과가 있는 기능성 화장품은 여성뿐만 아니라 남성들로부터의 수요도 늘어가고 있는 추세이므로 사람들의 요구에 부합하는 연구가 절실히 필요한 부분이다.

산소는 생체 내 물질대사에 관여하는 생물의 생존에 있어 가장 중요한 역할을 담당한다. 그러나 과도한 운동, 흡연, 스트레스, 서구화된 식습관으로 인해 반응성이 매우 큰 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)으로 변환되면 지질, 단백질, 핵산 등을 파괴하고 효소의 기능을 저하시켜 각종 질병을 유발하며 세포를 파괴하여 노화를 촉진한다[1-3].

블루베리는 진달래과(Ericaceae) 산앵두나무속(Vaccinium)에 속하는 식물로써 주로 동남아시아에 분포하고 있다. 현재 원산지인 북아메리카에서 90%를 생산하고 있고 캐나다, 남미, 뉴질랜드, 유럽, 아시아에서도 재배 농가가 증가하는 추세이며 전 세계적으로 연간 42,000톤이 생산되고 있다. 현재 국내 시중에 판매되고 있는 블루베리 종은 주로 하이부시 블루베리(*V.corymbosum*), 로우부시(*V.angustifolium*), 레빗아이 블루베리(*V.ashei*)이며 블루베리가 함유하고 있는 Anthocyanin, flavonoid, lycopene은 항산화능, 시력강화, 면역시스템증진 및 뇌졸중 방지에 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있으며 뉴욕타임지에서 선정한 세계 10대 슈퍼 푸드로 선정되어 많은 관심을 받고 있다.

이에 본 연구는 제주산 블루베리를 증류수, 에탄올, 효소적 추출법으로 추출하고 DPPH radical 소거활성을 측정하여 제주산 블루베리의 항산화 활성을 확인하고, 기능성 식품 또는 기능성 화장품의 원료의 가능성을 확인하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 블루베리

본 실험에 사용된 블루베리는 제주도 내의 블루베리 농장에서 수확된 것으로 농장에서 직접 구매하였으며, 흐르는 물로 수세하여 협잡물을 제거하고 동

결건조한 후 실험에 사용하였다.

2.2 시약

당 분해효소(Viscozyme, Celluclast, AMG, Termamyl, Ultraflo)와 단백질 분해효소(Protamex, Kojizyme, Neutrase, Flavourzyme, Alcalase)는 Novozyme 사(Novozymes Nordisk, Bagsvaerd, Denmark)에서 구입하여 사용하였고, 1,1-diphenyl-2-pricrylhydrazyl (DPPH)는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 모든 시약은 분석용 특급 시약을 사용하였다.

2.3 추출물의 조제

블루베리를 동결 건조하여 마쇄한 후, 시료 1g에 100 mL의 용매(물, 30%, 50%, 70% 에탄올)를 각각 첨가하고, Shaking incubator를 이용하여 상온에서 24시간 동안 추출하였고, 효소적 추출은 시료 1 g과 각 효소에 적합한 버퍼 100 mL를 혼합한 후 시료 대비 1%의 당 분해효소(Viscozyme, Celluclast, AMG, Termamyl, Ultraflo)와 단백질 분해효소(Protamex, Kojizyme, Neutrase, Flavourzyme, Alcalase)를 각각 첨가한 후 Shaking incubator에서 24시간 동안 각 효소의 최적의 조건에서 추출하였다. 각각의 추출물은 3,000 × g에서 20분 동안 원심분리하여 잔사를 제거한 상층액을 취한 후 감압여과하여 실험의 실험에 사용하였다.

2.4 추출수율 측정

추출수율의 측정은 추출에 사용한 시료의 양에 대한 추출물의 총 고형분 함량의 %로 계산하였다.

2.5 총 polyphenol 함량 측정

블루베리의 총 polyphenol 함량 측정은 Ko[4] 등에 준하여 수행하였다. 각 추출물 1 mL에 95% 에탄올 용액 1 mL와 증류수 5 mL를 넣어 혼합한 후 50% Folin-Ciocalteu reagent (Sigma Chemical, St. Louis, MO) 0.5 mL를 넣고 5분간 반응시켰다. 여기에 5% $NaCO_3$ 용액 1 mL를 가하여 어두운 상태에서 1시간 동안 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 표준물질로 Tannic acid를 사용하여 동일한 방법으로 작성된 표준곡선으로부터 총 polyphenol 함량으로 환산하였다.

2.6 DPPH radical 소거활성 측정

각 추출물의 free radical 소거활성은 Blois의 방법을 변형하여 측정하였다. 에탄올 에 용햐시킨 4 X 10^{-4} M DPPH용액 2.9mL에 각 추출물 0.1mL를 넣고 혼합하여 30분간 반응시킨 후 516nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH free radical 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

DPPH free radical 소거활성(%) = [1-(대조구흡광도-시료흡광도) / 대조구흡광도] X 100

2.7 통계처리

본 실험의 결과 자료는 3회 반복 측정하여 얻은 결과를 평균±표준편차로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1 추출 수율

제주산 블루베리를 이용한 각각의 추출물의 유효성분 즉, 수율은 Table 1에 나타내었다. 모든 추출물에서 40% 이상의 비교적 높은 수율을 보였다. 105℃ dry oven에서 한 번 더 건조시킨 블루베리 1 g을 처음과 동일한 방법으로 추출 및 필터링하여 잔사의 무게를 확인하였다. 그 결과추출 용매의 종류별로 비교할 경우 50% EtOH (49.5%)과 70% EtOH(50.5%)이 가장 높은 수율을 나타내었다. 에탄올의 농도가 높을수록 추출수율이 높아지는 것을 보아 블루베리는 수용성 성분보다 유기용매에 잘 녹는 성분이 많을 것으로 추정된다.

또한 추출 효소의 종류별로 비교할 경우 Neutrase 추출물(64.5%)이 가장 높은 값을 나타내었고, Protamex 추출물(62.7%)과 Kojizyme 추출물(62.5%)이 다른 효소 추출물보다 높은 수율을 나타내었다.

[Table 1] Yield of extracts from Blueberry

	Extracts	Yield (%)
Enzyme	Viscozyme	51[1)]
	Celluclast	53.3
	AMG	51.3
	Termamyl	60.6
	Ultraflo	58
	Protamex	62.7
	Kojizyme	62.5
	Neutrase	64.5
	Flavourzyme	55
	Alcalase	47.7
EtOH	30% EtoH	40.5
	50% EtOH	49.5
	70% EtOH	50.5
Aqueous		39.5

[1)]The values are averages of triplicate determinations.

3.2 총 polyphenol 함량

폴리페놀의 hydroxyl group은 유지의 유리기 수용체로서 유지 산패의 초기단계에 생성된 유리기들이 안정된 화합물을 형성하도록 하여 항산화작용을 한다.

제주산 블루베리의 추출조건에 따른 총 Polyphenol의 함량은 Table 2에 나타내었다. 추출용매의 종류별로 비교할 경우 50% 에탄올과 70% 에탄올 추출물에 각각 2015.8 mg과 2320.1 mg의 폴리페놀이 함유되어 있었다. 에탄올 농도가 높아질수록 폴리페놀 함량이 증가하는 것은 극성 유기용매에 잘 용해되는 성질에 의한 결과라고 볼 수 있다.

추출효소의 종류별로 비교할 경우 Flavourzyme 추출물과 Protamex 추출물이 각각 1247.8 mg과 1203.6 mg으로 가장 높은 값을 나타내었고, Termamyl 추출물도 1126.8 mg으로 비교적 높은 값을 나타내었다.

[Table 2] Polyphenolic content of extracts from Blueberry

	Extracts	Polyphenolic content (mg/100 g) dried sample
Enzyme	Viscozyme	761.7[1)]
	Celluclast	703.7
	AMG	888.5
	Termamyl	1126.8
	Ultraflo	783.6
	Protamex	1203.6
	Kojizyme	992.8
	Neutrase	677.6
	Flavourzyme	1247.8
	Alcalase	990.9
EtOH	30% EtoH	1354.5
	50% EtOH	2015.8
	70% EtOH	2320.1
Aqueous		358.7

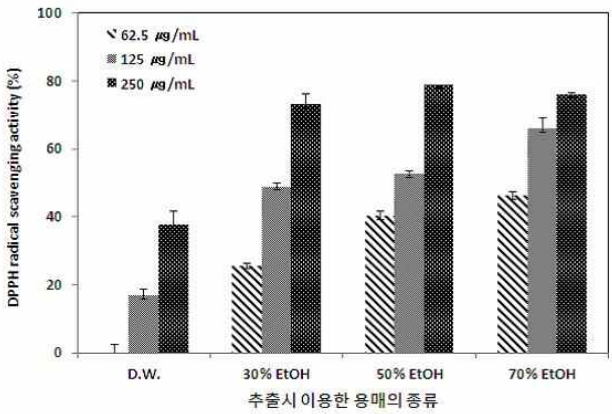
[1)]The values are averages of triplicate determinations.

3.3 DPPH radical 소거활성

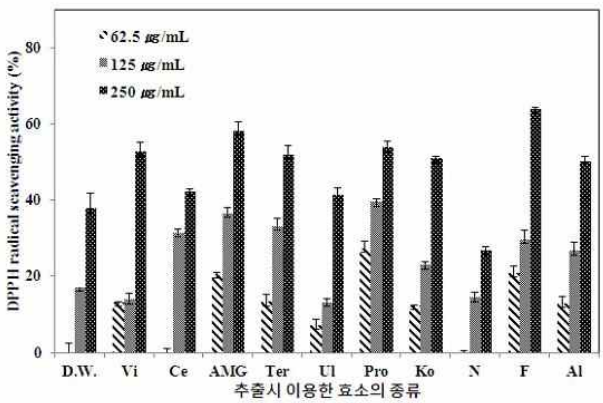
Free radical은 생물학적 손상의 주요 요인으로 잘 알려져 있는데, DPPH는 천연 항산화제의 free radical 소거활성을 평가하는데 일반적으로 사용된다. 따라서 제주산 블루베리의 추출조건에 따른 DPPH radical 소거활성 결과를 Figure 1과 Figure 2에 나타내었다.

추출용매의 종류별로 비교할 경우 250 ㎍/mL로 측정한 값은 30%, 50%, 70% 에탄올 추출물이 약 73~78%로 거의 비슷하게 보였지만, 125 ㎍/mL로 측정한 값은 30%, 50% 에탄올 추출물이 약 48~52%의 소거활성을 보이는 데에 반해 70% 에탄올 추출물이 약 66%의 소거활성을 보여 용매의 에탄올 농도에 따른 차이를 나타내었다.

추출효소의 종류별로 비교할 경우 250 ㎍/mL로 측정한 값은 Flavourzyme 추출물이 약 63%의 가장 높은 소거 활성을 보였고, Viscozyme, AMG, Termamyl, Protamex, Kojizyme의 5가지 효소 추출물도 50% 이상의 활성을 보였다. 그러나 125 ㎍/mL로 측정하였을 때 Flavourzyme 추출물은 29%의 소거활성을 나타내는 데에 반해 Protamex 추출물이 39%로 가장 높은 소거활성을 나타내었다. 이어 AMG와 Termamyl 추출물이 각각 36%와 33%의 소거활성을 보였다. **이와 같은 결과를 보면 Protamex, AMG 추출물이 가장 좋은 DPPH radical 소거활성이 있다고 여겨진다.**



[Fig 1] DPPH radical scavenging activity of aqueous and ethanol extracts from Blueberry.



[Fig 2] DPPH radical scavenging activity of enzyme extracts from Blueberry.

4. 요 약

본 연구에서는 제주산 블루베리의 항산화활성을 알아보기 위하여 블루베리로부터 에탄올과 효소적 가수분해를 이용하여 각각의 추출물을 제조한 후 이들로부터 활성산소종의 소거활성을 측정하였다. 여기에서 효소 추출물보다 에탄올 추출물이 추출수율은 낮았으나, 폴리페놀 함량과 DPPH radical 소거활성이 모두 높게 나타났다. 특히 70% 에탄올 추출물은 효소추출물보다 폴리페놀 함량은 1000 mg 이상 높게 나타났으며, DPPH radical 소거활성은 125 ㎍/mL sample로 측정하였을 때에 크게는 53%작게는 27%높게 나타났다.

참고문헌

[1] Choi SH, Kim EK, Lee SJ, Jeon YJ, Moon SH, Lee CH, Jeon BT, Park IS, Park TK, Kim B, Park SH, Park PH. 2008.ESR spectroscopy investigation of antioxidant activity and protective effect on hydroyl radical-induced DNA demage of enzymatic extraxt from *Picrorrhiza Kurroa* *J Food biochem* 32: 708-724

[2] Lee SH, Kim KN, Cha SH, Ahn GN, Jeon YJ. 2006. comparison of anatioxidant activities of enzymatic and methanolic extracts from *Ecklonia cava* stem and leave *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 1139-1145

[3] Wiseman H. 1996. Dietary influences on membrane function;important in protection against oxidative demage and disease. *Nutr Biochem* 7: 2-6

[4] Ko SC, Kang SM, Ahn GN, Yang HP, Kim KN and Jeon YJ. Antioxidant activity of enzymatic extracts from *Sargassum coreanum*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* :39 494-499

※ 본 과제(결과물)는 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 광역경제권 선도산업 인재양성사업의 연구결과입니다.