

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*) 발효액의 화학적 성분과 자궁경부암 세포주에 대한 항암작용

최화정¹ · 박승춘² · 홍태희^{3*}

¹서울대학교 협동과정 농업생물공학

²경북대학교 수의과대학 약리학실험실

³대전보건대학 식품영양과

Anti-tumor Activity of Fermented Liquid *Opuntia humifusa* in Cervical Cancer Cells and Its Chemical Composition

Hwa-Jung Choi¹, Seung-Chun Park² and Tae-Hee Hong^{3*}

¹Dept. of Interdisciplinary Program in Agricultural Biotechnology,
Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

²College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

³Dept. of Food & Nutrition, Daejeon Health Sciences College, Daejeon 300-711, Korea

Abstract

The purpose of this study is to investigate anti-tumor activities, general composition, elemental composition and mineral contents of fermented liquid stem, root and fruit of *Opuntia humifusa*. In the general composition, the energy, crude protein, crude lipid and crude carbohydrate contents of fermented liquid stem were 86.21 Kcal, 0.92%, 0.12%, and 20.34%, respectively. Fermented liquid fruit showed 65.32 Kcal, 1.04%, 0.08%, and 15.15%. In mineral analysis, fermented liquid stem and fruit showed 1,800 and 388 mg of calcium per 100 g. The ferrous concentrations of fermented liquid stem and fruit were 21 and 10 mg per 100 g, respectively. Methanol, ethanol and water extracts of nonfermented liquid stem and fruit did not inhibit the proliferation in human cervical cancer cells (CaSki, SiHa and HaCaT), but the fermented liquid fruit showed the inhibition of proliferation with dose-response manner in CaSki and SiHa cells, but not HaCaT. Therefore, it suggests that fermented cactus may be used as one of potential adjuvant for the treatment of cervical carcinomas.

Key words: *Opuntia humifusa*, chemical composition, anti-tumor activity, fermented cactus fruit, adjuvant

서 론

최근에 식생활에서 가장 큰 변화는 육류 섭취와 인스턴트 식품 소비의 급격한 증가로 질병의 유형이 선진국화 되고 있다. 이러한 가운데 성인병 예방을 위한 자연 건강식의 개발과 기능성을 갖는 식품에 대한 요구가 커지고 있다. 식품과 기능성식품의 차이점이 모호한 면이 있으나 생리활성을 갖고 있는 기능성 식품에 대한 규제가 엄격해지면서 기능성 식품개발이 최근 학계의 최대의 관심사가 되어왔다(1).

식용 선인장은 기능성식품 개발의 주요한 소재의 하나로 비타민, minerals, polyphenol류 등 건강유지에 중요한 광합성 대사산물이 포함되어 있으며(2), 이러한 식용 선인장은 주로 항산화 활성이 보고되고 있으며(3-5), 이러한 천연 항산화제는 화장품과 의약품 등에 널리 이용되고 있다(6-8). 국내에서 식용으로 사용되는 선인장으로는 현재 알로에와

손바닥 선인장을 들 수가 있다.

손바닥 선인장(*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*)은 선인장과(Cactaceae)에 속하는 열대성 식물로 우리나라의 제주도 등지에서 자생하고 있는 귀화식물로 백년초라는 이름으로 널리 알려져 있다. 한방에서는 선인장의 뿌리와 줄기를 약용으로 하여 이질, 치질, 해수, 인후통, 폐용, 유옹, 정창, 화상 등의 치료에 이용되고 있다(9). 한편, 손바닥 선인장은 다양한 형태의 기호 식품으로 개발되어 시판되고 있으며 성분 분석 결과 식이섬유, 비타민 및 플라보노이드 성분 등이 다량 함유하고 있다(11). 국내에서 재배되는 손바닥 선인장 중 *Opuntia ficus-indica*는 소화기능의 향상, 창상치유 효과 및 류마치스 관절염에 효능이 알려지면서 기능성 식물로 재조명되고 있다(12). 선인장에 대한 생리활성에 관한 연구로 최근에 Paik(13)은 *Opuntia ficus-indica* 열매 분말을 생쥐에 부여한 결과 항산화기능을 확인하였을 뿐만 아니라 *Opun-*

*Corresponding author. E-mail: thhong@hit.ac.kr
Phone: 82-42-670-9242. Fax: 82-42-670-9240

*tia ficus-indica*에 의한 항궤양작용을 증명한 바 있다(11).

*Opuntia humifusa*는 *Opuntia ficus-indica*와 유사한 손바닥 선인장으로 충남지역을 중심으로 전국적으로 재배가 되는 작물로서 식품원료 혹은 화장품원료로 이용된다. *Opuntia ficus-indica*와는 다르게 *Opuntia humifusa*는 세포내 구성 성분의 차이(14)로 영하 20°C에서도 얼지 않는 특성을 지니고 있어 강원도에서도 재배가 가능하다.

*Opuntia humifusa*은 *Opuntia ficus-indica*와 마찬가지로 항산화작용 및 항균작용 등이 보고되고 있으나 연구논문은 극히 제한적이다. 특히 선인장 발효액을 이용한 생리활성에 대한 연구는 아직 저조한 실정이며 선인장 열매의 가공방법, 발효법, 기능성 식품개발 방법 등을 통하여 산업에 경제적으로 가치가 있다고 판단된다.

그러므로 본 연구에서는 손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)에 대한 작물의 부가가치를 높이기 위하여 미생물 발효를 이용하여 항암활성을 부여하고자 하였다. 미생물 발효 후 손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)의 발효액에 대한 일반성분 및 미네랄 함량을 알아보고 그 발효액을 갖고 자궁경부암 세포주에 대한 세포독성에 미치는 항암효과를 구명하였다.

재료 및 방법

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*) 추출물의 제조

이 실험에서 사용된 선인장은 충남지역 일대에서 4년 동안 재배한 손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)로서 그 줄기, 뿌리 그리고 열매를 각각 이용하였다. 분쇄한 줄기 및 열매를 각 20 g에 메탄올 및 에탄올 200 mL(1:10 v/w)로 선인장을 추출하였으며, 물 추출액은 물을 각각 200 mL 첨가한 후 분쇄하여 분쇄액을 filter paper(whatmann No. 2)를 이용하여 여과하였다. 각각의 여과액을 진공농축하였고 물 추출액은 동결 건조하였다. 농축 및 동결 건조물은 dimethyl sulphate(DMSO; Sigma)에 100 µg/mL(final concentration)로 하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*) 발효액의 제조

본 연구에서 사용한 효모 균주인 *Saccaromyces cerevisiae* (ATCC 7754)는 미국 ATCC(American Type Cell Collections, USA)에서 구입하였으며, 보관용 균주는 -70°C에서 25%(w/v) glycerol stock으로 보관하면서 사용하였다. 손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*) 10 kg을 분쇄기를 사용하여 2.0×2.0 mm 이하의 크기로 손바닥 선인장 분쇄액을 제조하였다. 분쇄액 1 kg에 흑설탕 5%(w/v)를 첨가한 후 효모(*Saccaromyces cerevisiae*) 10%(v/v; 10⁹ CFU/mL)를 첨가한 다음 30°C에서 10일 배양한 다음 그 발효액을 여과하지 않고 동결 건조한 분말가루와 규조토로 여과하여 동결 건조한 분말가루를 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

일반성분 분석

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)의 발효액을 동결 건조

한 분말 100 g에 대한 일반성분은 AOAC법(15) 분석하였다. 시료의 조섬유는 산 및 알칼리 분해법을 이용하여 조섬유 분석 장치(Fibertec system, Sweden)로 측정하였다. 수분은 적외선 수분측정기(Kett, FD-240, Japan)로 3회 측정하였고, 조단백질의 함량은 Kjeltec-1035(Auto sampler system, Sweden)를 사용하여 켈달법으로 총질소 함량을 구한 후 단백질 계수 6.25를 곱하여 산출하였다. 조지방 그리고 조회분은 AOAC법(15)에 따라 측정하였다. 식이섬유는 건조분말 0.5 g에 α -amylase(*Bacillus species*, St. Louis, MO, USA) 50 µL(15,000 units/mL)를 가하여 끓는 물(95~100°C)에서 15분 가열처리 후 0.2 N 염산(pH 1.5) 10 µL를 가하고 pepsin (Porcine Pancreas, St. Louis, MO, USA) 150 µL(50,000 units/mL)을 처리하여 40°C에서 6시간 가수분해하였다. 효소처리 후 0.275 N 수산화나트륨을 가하여 pH 7.5±0.2로 중화한 후 pancreatin(Porcine Pancreas, St. Louis, MO, USA) 80 µL(5,000 units/mL)을 가하여 40°C에서 1시간 진탕하였다. 분해가 끝난 반응액 10 mL에 95% 에탄올 10 mL을 가하여 1시간 동안 정치시켰다. 정치동안 생성된 불용성 침전물을 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 총 식이섬유를 분리하였다. 침전물을 증류수에 용해한 후 3,000 rpm에서 원심 분리하여 침전물을 100°C에서 건조하여 불용성 식이섬유(insoluble dietary fiber)로 하고, 상층액에는 95% 에탄올을 가하여 1시간 동안 재 정치시켜 형성된 침전물을 원심 분리하여 분리한 후 건조하여 가용성 식이섬유(soluble dietary fiber)로 하였고 불용성 및 가용성 식이섬유의 합계를 총 식이섬유(total dietary fiber)량으로 하였다. 조지방을 분석하기 위해서 시료를 미리 90°C로 1~2시간 건조 후 에테르를 추출용매로 해서 Soxhlet 지방추출기를 사용하여 16~32 시간 동안 식품에서 지질을 연속 추출한 뒤 추출액에서 에테르를 제거하고 다시 95~100°C로 건조해서 얻어진 잔류물을 조지방으로 사용하는 Soxhlet 추출법을 이용하였다. 열량(energy)은 에트워터 계수를 사용하여 측정시료 100 g중의 조단백질, 조지방 및 탄수화물 또는 당질의 함량에 단백질 4, 지방 9, 당질 4의 계수를 곱하여 각각의 에너지를 kcal로 산출하였다.

C, H, O, N, S 원소분석

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*) 발효액에 대한 원소분석비(15)를 비교하고자 여과하지 않고 동결 건조된 발효액을 분말화하여 경북대학교 공동실습관으로부터 Elemental Analyzer(FISONS, EA 1110)를 지원받아 carbon(C), oxygen(O), hydrogen(H), nitrogen(N) 그리고 sulfur(S)를 정량 분석 하여 비교하였다.

무기성분의 분석

무기성분의 비교·분석을 위하여 한국기초과학지원연구원 부산분소로부터 분석·지원을 받았다. 분석방법은 전식법으로 전 처리 과정은 발효액을 여과하지 않고 동결건조한

후 건조분말로 만든 다음 각각의 시료 0.2~0.3 g를 Teflon vessel 용기에 취하여 HNO₃(고순도, Merck사 GR Grade) 5 mL를 가한 후 마개를 열은 상태로 100~150°C에서 가열한다. 이 과정을 통해 산을 완전히 날려 보낸 다음 여기에 다시 HNO₃ 3 mL와 HCl 0.5 mL를 취하여 마개를 닫고 가압상태로 100°C 부근에서 하루 정도 가열한다. 용기를 완전히 식힌 다음 마개를 열고 시료가 완전히 산에 녹은 것을 확인한 다음 마개를 연 상태에서 산이 1 mL 정도 남을 때까지 다시 가열한다. 증류수로 희석(×100)하여 ICP 분석기(Jobin-Yvon, JY 38 Plus, France)(16)를 이용해 ICP-AES으로 calcium(Ca), magnesium(Mg), zinc(Zn), ferrous(Fe) 그리고 phosphorus(P)를 각각 비교 분석하였다.

세포주 배양 및 성장 저해효과 측정

본 실험에 사용된 암세포주는 자궁경부암 세포주 CaSki (KCLB 21550), SiHa(KCLB 30035)와 keratinocyte세포 HaCaT로 Korea Cell line Bank(KCLB)로부터 분양받아 Dulbecos modified Eagle medium(DMEM)에 10% fetal bovine serum(FBS)와 1% antibiotic-antimycotic을 첨가하여 5% CO₂ incubator에서 계대 배양하였다.

시료의 세포 성장 저해 정도는 SRB 법(17)으로 측정하였다. SRB 법은 세포독성에 의해 독성을 나타내지 않고 살아 있는 세포의 단백질에 염색되는 방법이다. 즉, DMEM/10% FBS에 유지시킨 자궁경부암 세포주 CaSki, SiHa와 keratinocyte세포 HaCaT을 96 well plate에 1×10⁴/well씩 넣은 후 1일 동안 CO₂ incubator에 배양한 후 새로운 배지로 갈아 주고 여러 가지 농도로 희석시킨 추출물을 각각 처리한 다음 24시간 후 70% 아세톤 용액으로 -20°C에서 세포를 고정시킨 후 건조하여 0.4% SRB 용액을 사용하여 well에 남아있는 세포를 염색시킨 후 세척, 건조하여 10 mM Trizma base 용액으로 SRB를 용출시켜 562 nm에서 흡광도를 ELISA reader(Molecular Devices, Model E-max)로 측정하였다.

결과 및 고찰

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*) 발효액의 일반성분

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)의 추출액에 대한 성분 분석에 대한 보고는 있으나 발효액에 대한 성분 분석에 대한 결과가 없어 본 실험에서는 기초적인 성분 분석 결과를 얻고자 실험을 실시하였다. 손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)의 일반성분 분석 결과는 Table 1과 같다. 줄기의 열량은 86.20 kcal, 조단백질은 0.92%, 조지방은 0.12%, 조회분은 20.36%로 나타났으며, 열매의 열량은 65.36 kcal, 조단백질은 1.04%, 조지방은 0.08%, 조회분은 15.12%로 나타나 줄기와 열매의 일반성분은 큰 차이가 없었으나, 뿌리는 줄기 및 열매에 비해 조단백질이 약 2배 정도 더 많이 함유됨을 알 수 있었다. 에너지 열량을 비교시 열매보다 줄기 및 뿌리가 1.3배 및 1.9배로 높은 열량을 보여주었다. 탄수화물은 줄기와 뿌

Table 1. Chemical composition in fermented liquid of *Opuntia humifusa*

	Energy (kcal/100 g)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Crude carbohydrate (%)
Stem	86.21±0.98	0.92±0.34	0.12±1.87	20.34±1.21
Root	121.11±1.09	2.40±1.02	0.12±0.99	28.14±0.14
Fruit	65.32±0.35	1.04±0.76	0.08±1.11	15.15±1.41

Each experiment was performed in triplicate. The data shown are means±standard deviations (n=3).

리는 유사하였으나 열매는 15% 정도로 낮은 함량을 보여주었다.

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*) 발효액의 C, H, O, N, S 원소 분석

식물체의 세포막은 탄소, 수소, 산소로 구성되어 있으며 세포질의 주요 성분인 단백질은 탄소, 수소, 산소, 질소 그리고 세포핵의 대부분은 탄소, 수소, 산소, 질소, 인으로 구성되어 있다. 또한 세포 내용물의 대부분을 차지하는 탄수화물과 지방은 탄소, 수소, 산소로 구성되어 있다. 따라서 식물체를 구성하는 C, H, O, N, S 원소성분비에 대한 기초 결과를 발효액에서 얻고자 하였다.

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)의 각 부위별로 발효를 시킨 뒤 발효액을 동결 건조하여 C, H, O, N, S 원소 함량의 구성비를 비교하여 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에서 보여주는 것처럼 부위별 원소함량을 보면 차이점을 발견할 수가 없었다. C는 38.4%에서 39.6%, O는 43.3%에서 44.4%, H는 5.6%에서 6.2% 그리고 N은 0.9%에서 1.8% 등으로 차이점은 발견되지 않았다. 모든 부위별 발효액에서 S의 함량은 측정되지 않았다. 따라서 손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)의 각 부위별 발효건조물의 C, H, O, N, S 원소성분비에는 큰 차이점이 없는 것으로 나타났다.

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*) 발효액의 무기성분 분석

부위별 발효액에 대하여 C, H, O, N, S 원소분석과 일반조성을 비교하였을 경우 특별한 차이점은 인정되지 않았다. 부위별 조성은 같을 수 있으나 실제로 다양한 식품을 개발할

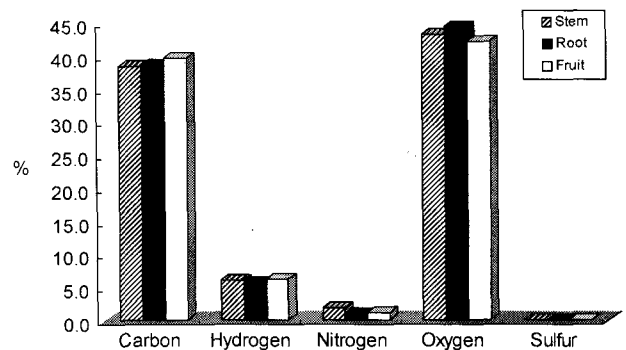


Fig. 1. Comparison of inorganic compositions in the fermented liquid stem, root and fruit of *Opuntia humifusa*.

경우 무기성분은 중요한 변수가 될 수가 있다. 따라서 부위별 무기성분을 ICP로 분석하여 Table 2에 나타내었다. Ca의 경우 뿌리에서 2,520 ppm이 검출되어 열매와 비교 시 6.5배의 높은 칼슘(calcium)함량을 보여주었다. 그러나 아연(zinc)의 경우는 오히려 열매에서 2.6배 높은 함유량을 보여주었다. 따라서 어느 한 부위를 갖고 이용하기보다는 적절한 비율로 혼합한 식품의 개발이 유리하다는 결론을 얻을 수 있었다. 일반적으로 감, 다래, 생딸기의 칼슘(calcium)함량이 14

mg, 2~3 mg, 13~20 mg/100 g로 이들 작물보다 많은 칼슘함량이 함유되어 있어 신체발달에 도움을 주어 음료 및 가공식품, 의약품 등이 개발될 가능성이 큰 생물자원으로 생각된다.

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*) 추출물 및 발효물의 항암활성

손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)의 발효 전 추출물과 발효 후 발효액에 대하여 자궁경부암 세포주에 대한 항암활성에 관한 연구는 보고된 적이 없다. 본 연구에서는 바이러스 감염에 의하여 발병하는 자궁경부암 세포주 CaSki, SiHa와 비감염성 암세포주인 keratinocyte HaCaT를 배양하여 실험실내에서 세포독성을 조사하였다. 먼저 손바닥선인장(*Opuntia humifusa*)의 열매를 메탄올, 에탄올 및 물로 추출한 추출물 농도별로 50 µg/mL까지 처리한 결과 CaSki, SiHa 그리고 keratinocyte HaCaT 세포주 모두에서 항암활성을 관찰할 수가 없었다(Fig. 2A, 2B, 2C). 손바닥선인장(*Opuntia*

Table 2. Mineral concentrations in fermented liquid of *Opuntia humifusa*

Samples	Concentration (ppm)						
	AS	Ca	Cd	Fe	Mg	Pb	Zn
Stem	ND	1,800	ND	21	497	ND	10
Root	ND	2,520	ND	12	1,319	ND	8
Fruit	ND	388	ND	10	781	ND	21

ND: not detected.

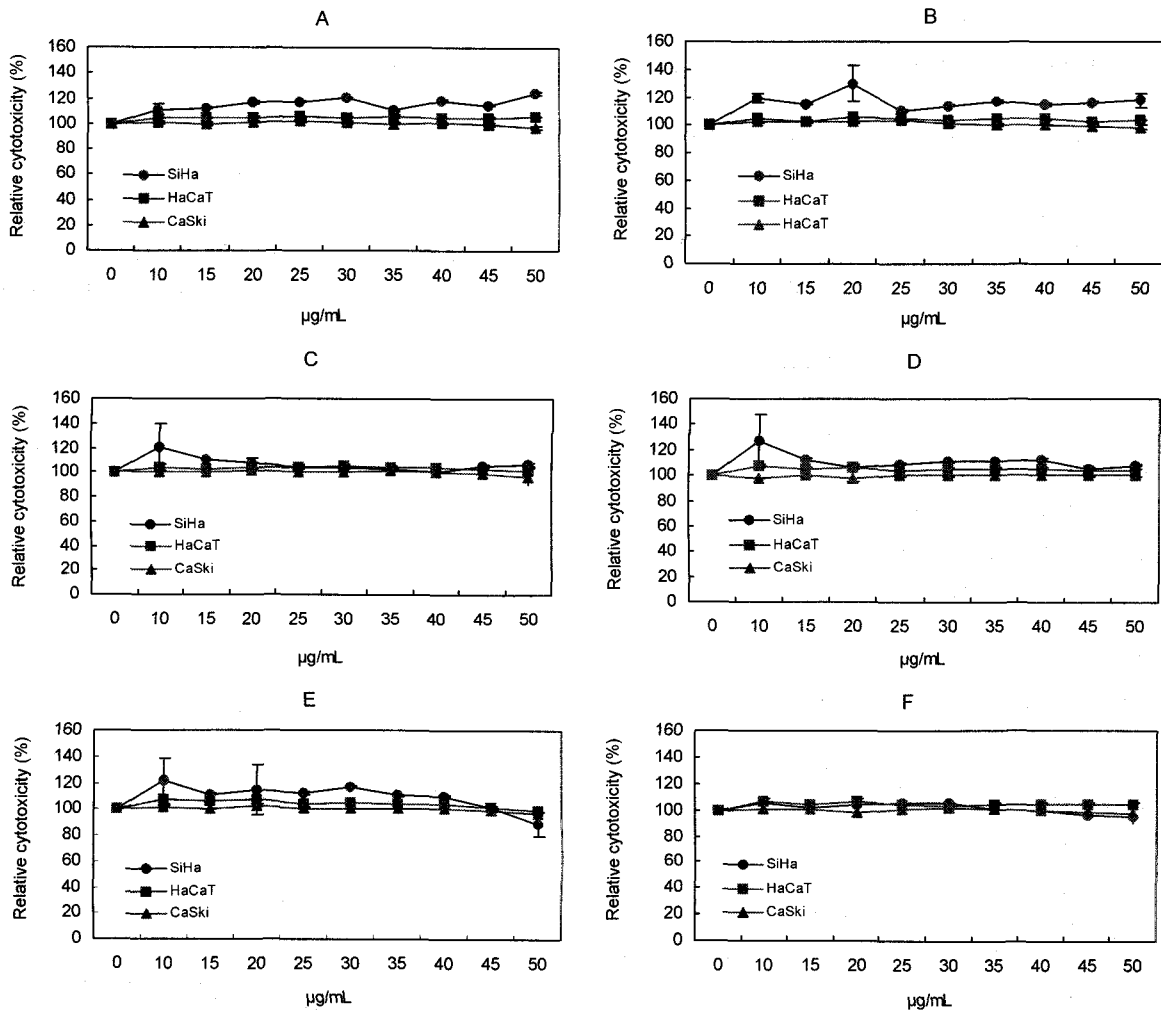


Fig. 2. The antitumor activity of methanol, ethanol and water extract of nonfermented fruit and stem of *Opuntia humifusa* on CaSki, SiHa and HaCaT cells.

The antitumor activity was determined by SRB assay and expressed as relative percentage to untreated control.

A, methanol extracts of fruits; B, ethanol extract of fruit; C, water extract of fruit; D, methanol extract of stem; E, ethanol extract of stem; F, water extract of stem.

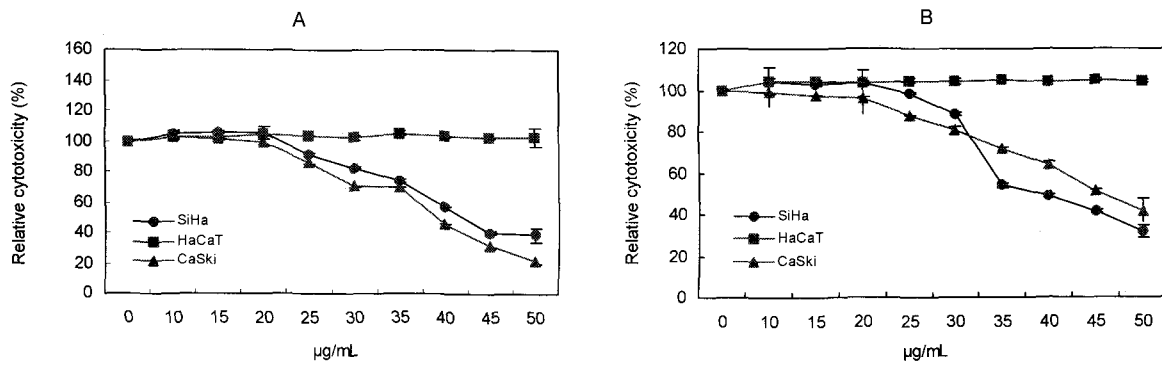


Fig. 3. The antitumor activity of fermented liquid fruit of *Opuntia humifusa* on CaSki, SiHa and HaCaT cells. The antitumor activity was determined by SRB assay and expressed as relative percentage to untreated control. A, freeze drying products after fermentation; B, freeze drying products by filtration after fermentation.

humifusa)의 줄기를 같은 방법으로 메탄올, 에탄올 그리고 물로 추출하여 농도별로 50 µg/mL까지 처리한 결과 CaSki, SiHa 그리고 keratinocyte HaCaT 세포주 모두에서 항암활성을 보이지 않았다(Fig. 2D, 2E, 2F). 이러한 결과는 2005년도 Florian과 Reinhold(12)가 보고한 결과와 일치하였다.

본 연구에서는 손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)의 추출물을 효모균으로 발효하였을 경우 항암활성이 관찰되지 않았던 손바닥 선인장의 추출물이 발효되면서 CaSki와 SiHa 세포주에서 농도-의존적으로 항암작용이 있음을 관찰할 수 있었다. 선인장 발효액을 그대로 동결 건조한 것(Fig. 3A)과 규조토 여과하여 동결 건조한 것(Fig. 3B)을 자궁경부암 세포주 CaSki, SiHa와 keratinocyte 세포 HaCaT에 농도별로 50 µg/mL까지 처리하였을 경우, 동결건조한 군(A)에서는 CaSki와 SiHa에서 농도-의존적으로 항암활성을 보였으나 keratinocyte HaCaT 세포주에서는 항암활성을 관찰할 수가 없었다. 선인장의 발효액을 규조토 여과하여 동결 건조한 처리한 군(B)에서도 여과하지 않은 군과 같은 결과를 보여주었다. 이상의 항암활성의 결과를 요약하면, 손바닥 선인장(*Opuntia humifusa*)의 발효물은 HPV virus genome을 가지고 있는 CaSki와 SiHa cell의 성장을 억제하는 것은 선인장 추출물에서 관찰되지 않았던 성분이 효모발효를 통해서 2차 대사산물 혹은 효모균 벽으로부터 추출된 다당류가 만들어 낸 결과로 생각되며 앞으로 CaSki와 SiHa cell의 세포주를 이용하여 항암성분의 분리정제가 매우 시급한 일로 생각된다.

제품 생산에 있어서 발효액의 경우 혼탁이 유발되고 미생물의 제거를 위하여 청징의 공정을 거치는데 이 과정으로 영양소의 변질 및 식품의 변패를 방지할 수가 있다(18-22). 청징의 방법에는 한외여과를 포함한 비효소적 청징과 효소처리 청징방법이 시도되고 있다(23-25). 본 연구에서는 비효소적 청징 방법으로 규조토 여과를 실시하여 여과하지 않은 발효액과 항암활성을 비교한 결과 차이점은 발견되지 않았다. 따라서 규조토 여과를 통하여 항암활성이 있는 특정 발효성분이 손실되지 않는 것으로 생각되며, 손바닥 선인장 발효액은 가공식품으로 이 방법의 활용도를 높일 수 있을

것으로 생각된다.

요 약

손바닥선인장(*Opuntia humifusa*)의 줄기, 뿌리 그리고 잎 발효액의 화학성분 비교 및 자궁경부암 세포주에 대한 항암활성을 조사하였다. 줄기 발효액의 열량, 조단백, 조지방 그리고 조탄수화물의 성분비율은 86.21 kcal, 0.92%, 0.12% 그리고 20.34%로 분석되었다. 열매에서는 65.32 kcal, 0.08%, 1.04% 그리고 15.15%로 각각 구성되었다. 무기물 분석에서 줄기와 열매의 발효액에 칼슘(calcium)과 철(ferrous)의 농도는 100 g 당 1,800 mg과 388 mg 그리고 21 mg과 10 mg으로 분석되었다. 발효 전에 물, 메탄올 그리고 에탄올 추출물에 대하여 항암활성을 측정된 결과 자궁경부암 세포주인 CaSki, SiHa 그리고 HaCaT에서 어떠한 항암활성도 보여주지 않았다. 그러나 손바닥선인장(*Opuntia humifusa*)의 열매를 효모균으로 발효한 발효액에서 HaCaT를 제외한 CaSki와 SiHa에 대해서는 항암활성을 보여주었다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 계명대학교 전통미생물자원 개발 및 산업화연구센터의 지원과 대전보건대학 향토식품 개발연구소 기술지원에 이루어진 연구결과와 일부이며, 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. Miquel J, Quintanilha AT, Weber H. 1989. *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*. CRC Press, London. Vol I, p 223-244.
2. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extract. *Korean J Food Sci Technol* 27: 978-984.
3. Yoon JY, Song MR, Lee SR. 1990. Comparison of antithi-

- amine activities of wild vegetables. *Korean J Food Sci Technol* 20: 808-811.
4. Lee YK, Lee HS. 1990. Effects of onion and ginger on the liquid peroxidation and fatty acid composition of mackerel during frozen storage. *J Korean Soc Food Nutr* 19: 321-329.
 5. Park PS, Lee BR, Lee MY. 1994. Effect of onion juice on ethanol induced hepatic lipid peroxidation in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 750-756.
 6. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. 1995. Anti-oxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 80-85.
 7. Choi U, Shin DH, Chang YS, Shin JL. 1992. Screening of natural antioxidant from plants and their antioxidative effect. *Korean J Food Sci Technol* 24: 142-148.
 8. Jamal NB, Ibrahim AW. 1994. Citric acid and antimicrobial affect microbiological stability and quality of tomato juice. *J Food Sci* 59: 130-134.
 9. 이지진. 1994. 본초강목. 의성당, 서울.
 10. Shin TK, Lee SJ, Kim SJ. 1998. Effects of *Opuntia ficus-indicae* xtract on the activation of immune cells with special reference to autoimmune disease models. *Korean J Vet Pathol* 2: 31-35.
 11. Lee HJ. 1997. A study on antiulcer effects of *Opuntia dillenii* Haw. on stomach ulcer induced by water-immersion stress in rats. *MS Thesis*. Seoul National University.
 12. Florian CS, Reinhold C. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol Nutr Food Res* 49: 175-194.
 13. Paik S. 1998. Effects of *Opuntia ficus-indica* furit on the passive avoidance and anti-oxidation in the senescence-accelerated mouse. *MS thesis*. Cheju National University.
 14. Goldstein G, Nobel PS. 1994. Water relations and low-temperature acclimation for Cactus species varying in freezing tolerance. *Plant Physiol* 104: 675-681.
 15. AOAC. 1980. *Official Method of Analysis*. 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC.
 16. Lee YJ. 2004. A study on mineral and alginic acid contents by different parts of sea mustards (*Undaria pinnatifida*). *Korean J Food-Cul* 19: 691-700.
 17. Skehan P, Storeng S, Studiero D, Monke A, McKahon J, Vistica D, Warren J, Bodesh H, Kenny S, Boyd MR. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Cancer Inst* 82: 1107-1112.
 18. Sohn KS, Lee JH, Ha YS. 2002. Clarification of mixed fruit and vegetable juices. *Food Eng Prog* 6: 241-247.
 19. Jeong YJ, Lee GD, Lee MH, Uea MJ, Lee GH, Choi SY. 1999. Monitorin on pectinase treatment conditions for clarification of persimmon vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 810-815.
 20. Ishill S, Yokotsuka T. 1972. Clarification of fruit juice by pectin trans-eliminase. *J Agric Food Chem* 20: 787-791.
 21. Nelson PE, Tressler DK. 1980. *Fruit and vegetable juice processing technology*. AVI, Westport, CT.
 22. Chun YK, Choi HS, Cha BS, Oh HI, Kim WJ. 1997. Effect of enzymatic hydrolysis on the physicochemical properties of persimmon juice. *Korean J Food Sci Technol* 29: 198-203.
 23. Ko EJ, Choi YH. 1999. Clarification of grape juice by ultrafiltration and membrane fouling characteristics. *Food Eng Prog* 3: 57-63.
 24. Kang HA, Chang KS, Min YK, Choi YH. 1998. Value addition of jujube wine using microfiltration and ultrafiltration. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1146-1151.
 25. Lee EY, Woo GJ. 1998. Optimization of separation process of bioflavonoids and dietary fiber from tangrine peels using hollow fiber medpsjwlmbrane. *Korean J Food Sci Technol* 30: 151-160.

(2005년 8월 25일 접수; 2005년 11월 30일 채택)