

Antioxidant Activities of Extracts from Fermented Black Jujube

Ju-Yeon Hong¹, Hak-Sik Nam¹, Kyung Young Yoon² and Seung-Ryeul Shin^{1*}

¹Faculty of Herbal Food Cuisine & Nutrition, Daegu Haany University, Kyongsan 712-220, Korea

²Department of Food & Nutrition, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

발효 흑대추 추출물의 항산화 효과

홍주연¹ · 남학식¹ · 윤경영² · 신승렬^{1*}

¹대구한의대학교 한방식품조리영양학부, ²영남대학교 식품영양학과

Abstract

This study was conducted to analyze the antioxidant activities of fermented black jujube and to compare these with those of dried jujube, for the development of functional materials. The antioxidative activities of dried jujube and fermented black jujube extracts were analyzed by electron-donating ability (EDA) using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), superoxide-dismutase-(SOD)-like activity by pyrogallol, nitrite-scavenging ability, and xanthin oxidase. The yield of the fermented black jujube extracts was higher than that of the dried jujube extracts, and that of the ethanol extracts was higher than that of the hot-water extracts. The total phenol contents of the hot-water extracts from fermented black jujube were higher. The EDA values of the hot-water and ethanol extracts from fermented black jujube and dried jujube increased with an increase in extract concentration, and were about 85% in a 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ extract concentration. The SOD-like activity increased with an increase in extract concentration. The SOD-like activity of the hot-water extract from fermented black jujube was higher than that of the other extracts. The nitrite-scavenging ability at pH 1.2 of the hot-water extracts from dried jujube was higher than that of the other extracts. The xanthine oxidase inhibitory activities of the hot-water and ethanol extracts from fermented black jujube were higher than those of the other extracts, and increased along with the concentrations of the extracts.

Key words : fermentation, jujube, fruit, antioxidant activity

서 론

대추(*Zizyphus jujube* Miller)는 갈매나무과(*Rhamnace*)에 속하는 낙엽활엽교목의 열매로서 중국계는 *Zizyphus jujuba* Miller라 하고 인도계는 *Zizyphus mauritiana* LAM이라 하며, 유럽 남부, 아시아 남부 및 동부가 원산지인 우리나라, 중국, 일본에 분포하고 있고, 우리나라에서는 재래종인 북조, 보은, 산조대추 등이 분포하고 있으며, 개발종인 월출, 무등, 금성대추 등은 극히 일부 지역에서만 재배되고 있다(1). 대추는 껍질이 적색을 띠고 있어 우리나라 전래의 길·홍사와 예식에 올려졌으며 생식 및 요리를 통해 식용으로 사용되고 있으나, 생대추는 저장성이 낮기 때문에 주로 건조하여 사용하고 있다(2). 대추의 성분으로는 당질과

ascorbic acid가 다량 함유되어 있고, 약용성분으로는 각종 sterols, alkaloids, saponins, vitamins, 유기산류 및 amino acids 등이 보고되어 있으며(3-5), 그 외 triterpenoids(6), c-GMP(7) 등의 물질이 함유되어 있다는 연구 보고도 있다. 약리 작용으로는 대추 메탄올 추출물이 간세포의 괴사와 효소의 유출을 저해하고 간의 저항력 및 간 기능을 유지시킴으로써 간 보호 작용을 할 수 있을 것으로 보고하였으며(8,9), 대추 추출물의 암세포 증식 억제 효과를 보고하였다(10). 가열 농축한 대추는 총 페놀함량과 항산화능 및 당도가 높을 뿐 아니라 열처리에 의해서 관능적으로 씹쌀한 맛이 감소되어 조리 적용가능성이 높은 것으로 보고되었다(11).

최근 삶의 질 향상과 함께 환경 변화로 건강에 대한 관심이 높아졌으며, 각종 질병의 예방 및 치료목적으로 한 천연 식품에 대한 관심 또한 높아짐에 따라 천연 기능성 물질에

*Corresponding author. E-mail : shinsr@dhu.ac.kr
Phone : 82-53-819-1428, Fax : 82-53-819-1494

대한 우수성을 입증하기 위해 연구가 꾸준히 이루어지고 있다(12-14). 그리고 항암, 항산화, 항고혈압 및 항당뇨 등의 다양한 연구와 기능성 성분에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다(15). 현재 노인인구가 증가하면서 노화를 포함한 각종 성인병 발생의 원인이 되고 있는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 대한 관심이 높아지고 있다. 활성산소종은 산소 라디칼 및 이것으로부터 파생된 여러 가지 산소화합물을 통칭하는 것으로 생체내에서 산소는 그 화학적 성질로 인하여 환원되어 유리라디칼(free radical)인 superoxide anion radical(O_2^-), hydroxyl radical ($\cdot OH$)과 같은 oxygen radical 뿐만 아니라 hydrogen peroxide (H_2O_2), singlet oxygen(1O_2)과 같은 몇 종류의 non-radical, 그리고 그 외에 피부에 이차적으로 생성된 것($ROO\cdot$, $RO\cdot$, $NO\cdot$, $HOCl$ 등)을 말한다. 이들 활성산소종에 의한 산화적 스트레스는 체내에서 세포막손상, DNA 변성, 지질산화, 단백질 분해 등을 초래하여, 뇌혈관질환, 암 및 심혈관계 질환 등과 같은 만성질환들의 발생 위험을 증가시킨다(16,17). 이에 따라 과잉의 활성산소종의 제거 및 생체내 항산화 방어 시스템의 증진에 대한 관심이 높아지고 있으며, 약물이 아닌 천연성분에서 그 효능을 찾는 연구가 활발히 이루어지고 있다.

항산화 활성과 항산화 물질의 함량은 품종, 재배지역 및 수확시기 뿐만 아니라 추출용매에 따라서도 영향을 받기 때문에 효율적인 추출용매의 선별은 항산화 물질의 추출에서 매우 중요할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 건대추와 흑대추를 이용하여 일정기간 숙성시켜서 제조한 새로운 유형의 가공품인 발효 흑대추의 농도별, 추출용매별에 따라 추출물의 총 폴리페놀 함량, DPPH를 이용한 전자공여 작용, SOD유사활성, 아질산염 소거능, xanthine oxidase 저해효과를 측정하여 추출물의 항산화성을 평가함으로써 대추의 식품화학적 기능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에 사용한 대추는 경상에 소재하고 있는 (주)알알이 물산에서 건대추를 구입하였으며, 모든 시료는 깨끗이 씻은 후 물기를 제거하고 실온에서 24 시간 건조 시킨 후 $-75^\circ C$ deep freezer (MDF-U52V, Thermo, USA)에서 보관하면서 사용하였다.

발효 흑대추 제조

발효 흑대추는 Kim 등(18)의 방법을 일부 변형하여 제조하였다. 즉, 건대추를 온도는 $50^\circ C$, 습도 90%의 항온습습기에서 7일간 숙성시켜 제조하였으며, 대추의 품질평가를 행하기 위해 $-75^\circ C$ deep freezer (MDF-U52V, Thermo, USA)

에서 보관하면서 사용하였다.

추출물의 제조

열수 추출물은 건대추 및 발효 흑대추를 각각 50g씩 분쇄기로 잘게 마쇄한 후 10 배에 해당하는 3차 증류수를 각각 가한 후 $85^\circ C$ 에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 이 과정을 3회 반복 추출하여 모아진 각각의 추출액은 여과지(Whatman No 4)로 여과하여 제조하였다. 또 에탄올 추출물은 각 시료 50g을 분쇄기로 잘게 마쇄한 후 10배량의 70% 에탄올을 각각 가한 후 $60^\circ C$ 에서 3시간 동안 추출하였고, 이 과정을 3회 반복 추출하여 모아진 각각의 추출액은 여과지(Whatman No 4)로 여과하여 제조하였다. 각 추출액은 회전식증발 농축기(R-210, Buchi, Frawil, Switzerland)로 감압농축 및 동결건조기(FD5510SPT, Ilshin, Korea)를 사용하여 동결 건조하여 각 추출물의 시료를 제조하였다.

폴리페놀 화합물 정량

폴리페놀 화합물의 정량은 Folin-Denis 법(19)으로 측정하였다. 즉, 건대추 및 발효 흑대추 추출물을 10 mg/mL 농도로 증류수에 녹인 다음 0.2 mL를 시험관에 취하고 증류수를 가하여 2 mL로 만든 후 여기에 0.2 mL Folin-ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합한 후 3분간 실온에 방치하였다. 정확히 3분 후 Na_2CO_3 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4 mL로 만든 후 실온에서 1시간 방치하여 흡수분광광도계(Hitachi UV-2001, Japan)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid (Sigma Chemical Co, USA)를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 건대추 및 발효 흑대추에 함유된 폴리페놀 화합물 함량을 산출하였다.

전자공여능(Electron donating ability) 측정

건대추 및 발효 흑대추의 전자공여능(EDA : electron donating ability)은 Blois 등의 방법(20)에 준하여 각 시료의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 전자공여 효과로써 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 각 추출물을 농도별로 제조한 시료 2 mL에 0.2 mM DPPH 용액 1 mL를 가하고, 10초간 혼합기로 믹싱 한 후 $37^\circ C$ 에서 30분간 반응시킨 다음 이 반응액을 흡수분광광도계(Hitachi UV-2001, Japan)를 사용해서 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료 첨가 전과 후의 흡광도 차이를 %로 나타내었다.

SOD(Superoxide dismutase) 유사활성 측정

건대추 및 발효 흑대추의 SOD 유사활성 측정은 Marklund 등의 방법(21)에 따라 hydrogen peroxide (H_2O_2)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD유사활성으로 나타내었다. 즉 일정농도의 시료 0.2

mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer (50 mM tris [hydroxymethyl] amino-methane + 10 mM EDTA) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하였다. 그런 다음 25 °C에서 10 분간 반응시킨 후 1 N HCl 0.1 mL로 반응을 정지시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

아질산염 소거능(Nitrite scavenging ability) 측정

건대추 및 발효 흑대추의 아질산염 소거능은 Kato 등의 방법(22)에 따라 다음과 같이 측정하였다. 즉, 1 mM의 NaNO₂ 용액 2 mL에 각 농도의 시료 1 mL를 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl (pH 1.2)과 0.1 M 구연산 완충용액을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 6.0으로 조정된 후 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 그리고 37°C에서 1 시간 동안 반응시켜 얻은 반응액을 1 mL씩 취하고 여기에 2% acetic acid 5 mL를 첨가한 다음 Griess reagent 0.4 mL를 가하여 혼합시켰다. 그런 다음 실온에서 15 분간 방치시킨 후 흡수 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염의 백분율(%)로 나타내었다. 공시험은 Griess reagent 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 같은 방법으로 행하였다. pH 1.2에서 추출물의 농도에 따른 아질산염 소거능은 1 mM의 NaNO₂ 용액 1 mL에 각 농도 (0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 mg/mL)의 각 추출물을 첨가하고 여기에 0.1 N HCl을 사용하여 반응용액의 pH 1.2로 조정된 후 반응용액의 부피를 10 mL로 하여 측정하여 건대추 및 발효 흑대추 추출물의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 %로 나타내었다.

Xanthine oxidase 저해 활성

건대추 및 발효 흑대추 추출물의 xanthine oxidase 저해 활성은 Stripe와 Corte의 방법(23)에 따라 측정하였다. 각 시료용액 0.1 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 0.6 mL 에 xanthine (2 mM)을 녹인 기질액 0.2 mL를 첨가하고 xanthine oxidase (0.2 unit/mL) 0.1 mL를 가하여 37 °C에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid의 양을 292 nm에서 흡광도를 측정하였다. Xanthine oxidase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 %로 나타내었다. 대조군은 ascorbic acid를 추출물 대신 동일한 농도로 첨가하여 위의 방법으로 측정하였다.

통계처리

본 실험결과는 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험 결과를 평균±표준편차로 나타내었다. 실험군간의 유의성을 검정하기 위하여 SPSS 18.0 for windows program을 이용하여 ANOVA test를 실시하여 유의성이 있는 경우, p<0.05

수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

추출물의 수율

건대추와 발효 흑대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물 수율을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 건대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물의 수율은 각각 55.67, 62.95%로 열수 추출물보다 70% 에탄올 추출물에서 수율이 다소 높았다. 발효 흑대추의 열수 추출물의 수율은 60.13%, 70% 에탄올 추출물의 수율은 65.97%로 건대추의 수율과 같이 열수 추출물보다 70% 에탄올 추출물에서 높은 수율을 나타내었다. 또한 열수 및 70% 에탄올 추출물 모두 건대추에 비해 발효 흑대추에서 높은 수율을 보였다.

건대추와 발효 흑대추의 열수 추출물에 따른 수율의 함량은 Kim(24)의 연구에서 과육의 70% 에탄올 및 80% 메탄올 추출물에서 수율이 50% 이상으로 높게 나온 연구와 비슷한 결과였으나, 열수 추출물에서는 5% 정도의 수율을 나타내었다고 보고한 결과와 본 연구 결과와는 차이가 있었다. 이는 건대추에 가용성의 당 함량이 높아 전체적으로 높은 수율을 보인 것으로 생각된다.

Table 1. Extraction yield of extracts from dried jujube and fermented black jujube

Samples	Extraction Yield (%)	
	Water extracts	Ethanol extracts
Dried jujube	55.67	62.95
Fermented black jujube	60.13	65.97

총 폴리페놀 함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2 차대사 산물의 하나로써 분자 내 phenolic hydroxyl 기가 효소 단백질과 같은 거대 분자들과 결합하는 성질이 있기 때문에 항돌연변이, 콜레스테롤 저하작용, 항암 및 항산화작용 등의 다양한 생리활성 기능을 갖는다(25,26). 또한, 플라보노이드는 항산화 작용, 순환기계 질환의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하 작용, 면역증강작용, 모세혈관강화 작용 등이 보고된 바 있다(27,28).

건대추와 발효 흑대추 열수 및 70% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 건대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 각각 2.35, 2.34 g/100 g이었고, 발효 흑대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물에서는 각각 3.05와 3.03 g/100 g의 폴리페놀 함량을 나타내었다. 건대추에 비해 발효 흑대추에서 열수 및 70% 에탄올 추출물 모두 총 폴리페놀 함량이 높았으며, 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물에서 조금 더 높은 함량

을 보였다.

Joo 등(29)이 크기별로 분류한 건대추의 폴리페놀 함량이 각각 특초(158.06 mg%), 상초(223.13 mg%), 약초(326.46 mg%) 이었으며, Woo 등(30)의 건대추 추출물의 폴리페놀 함량이 13~18 mg/g으로 보고한 것과 비교해 볼 때 본 연구에서는 총 폴리페놀 함량이 높게 나타났다.

Table 2. The contents of polyphenol in the dried jujube and fermented black jujube

Samples	Polyphenol (g/100 g)	
	Water extracts	Ethanol extracts
Dried jujube	2.35±0.07	2.34±0.02
Fermented black jujube	3.05±0.07	3.03±0.19

전자공여능

건대추와 발효 흑대추 열수 및 70% 에탄올 추출물의 항산화 활성 정도를 측정하고자 농도별 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 전자공여능을 측정한 결과는 Table 3과 같으며, 대조구로서는 천연 항산화제인 ascorbic acid를 사용하였다. 건대추 및 발효 흑대추의 열수 추출물은 농도가 증가함에 따라 전자공여능은 증가함을 보였고($p<0.05$), 열수 추출물 1,000 µg/mL의 농도에서 건대추 및 발효 흑대추 각각 91.35, 97.94%의 전자공여능을 보였으며, 대조구인 ascorbic acid보다 발효 흑대추의 전자공여능이 높았다. 특히 건대추 및 발효 흑대추의 열수 추출물의 경우 125 µg/mL 농도에서 80%이상의 전자공여능을 보여 대조구인 천연 항산화제 ascorbic acid와 비슷한 전자공여능을 나타냄으로서 낮은 농도에서도 건대추 및 발효 흑대추 추출물의 기능성이 우수함을 알 수 있었다.

건대추 및 발효 흑대추의 70% 에탄올 추출물에 대한 전자공여능을 측정한 결과는 건대추 및 발효 흑대추의 70% 에탄올 추출물의 농도가 증가함에 따라 추출물 모두 전자공여능이 증가함을 알 수 있었고($p<0.05$), 열수 추출물의 전자공여능 측정 결과와 비슷하게 건대추에 비해 발효 흑대추 추출물이 높은 전자공여능을 나타내었다. 건대추

및 발효 흑대추의 70% 에탄올 추출물 1,000 µg/mL 농도에서는 각각 85.96, 93.05%의 전자공여능을 보였고, 발효 흑대추의 경우는 1,000 µg/mL의 농도에서 대조구인 ascorbic acid의 전자공여능 96.84%과 비슷하게 90% 이상의 높은 전자공여능을 확인할 수 있었다. 또한, 건대추 및 발효 흑대추에 열수 및 70% 에탄올 추출물의 62.5 µg/mL 농도에서 50% 이상의 전자공여능을 나타내어 기능성이 우수할 것으로 생각된다.

Ye 등(31)의 실험 결과 기능성 및 약리적 효과가 높은 것으로 알려진 장뇌삼의 경우 추출물의 농도와 활성의 정도가 비례한다는 실험결과와 비교해보면 본 연구에서도 추출물의 농도에 따라 비례하는 같은 결과를 나타냈다. 또한 Lee 등(32)에 의하면 DPPH 라디칼 소거능과 폴리페놀 함량이 상관성이 높다는 것으로 확인되어 건대추 및 발효 흑대추의 전자공여능과 총 폴리페놀 함량이 높은 것은 같은 이치임을 알 수 있었다. 즉, 건대추 및 발효 흑대추가 전자공여능과 총 폴리페놀 함량이 우수하므로 천연 기능성 제품 개발에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

SOD 유사활성능

SOD 유사활성능 측정은 식품의 산화와 인간의 노화 억제와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있으므로 산화효소인 pyrogallol과 건대추와 발효 흑대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물을 반응시켜 측정한 결과는 Table 4에 나타내었다. 건대추 및 발효 흑대추의 열수 추출물에서 추출물의 농도가 높아질수록 SOD 유사활성능은 모든 군에서 증가하였으며($p<0.05$), 발효 흑대추 추출물이 건대추 추출물에 비해 높은 SOD 유사활성능을 보였다. 또한 대조구인 ascorbic acid가 1,000 µg/mL의 농도에서 43.91%의 SOD 유사활성능을 보였는데 건대추 및 발효 흑대추의 열수 추출물의 경우 41.25, 47.39% 정도의 SOD 유사활성능을 보여 대조구 만큼 항산화성이 우수함을 알 수 있었다. 특히, 발효 흑대추의 경우는 ascorbic acid에 비해 1,000 µg/mL의 농도에서 높은 SOD 유사활성능을 보였다.

건대추 및 발효 흑대추의 70% 에탄올 추출물에 대한

Table 3. Electron donating ability of hot-water and ethanol extracts from dried jujube and fermented black jujube

Samples	Electron donating ability(%) ^{2,3)}					
	62.5 µg/mL	125 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	1,000 µg/mL	
Water extracts	Dried jujube	68.63±0.36 ^{jk}	82.00±0.22 ^{gh}	82.97±0.49 ^e	87.79±0.95 ^{ef}	91.35±0.27 ^{bcd}
	Fermented black jujube	67.80±0.46 ^k	81.97±0.10 ^{gh}	88.62±1.39 ^{def}	92.81±3.94 ^{bc}	97.94±1.12 ^a
Ethanol extracts	Dried jujube	54.79±0.97 ^m	71.76±1.08 ⁱ	79.31±0.54 ^h	79.94±1.17 ^{gh}	85.96±1.22 ^f
	Fermented black jujube	57.55±0.63 ^l	71.32±0.55 ^{ji}	80.17±0.68 ^{gh}	89.79±0.58 ^{de}	93.05±2.38 ^b
AsA ¹⁾	82.70±4.56 ^e	88.39±1.34 ^{def}	90.02±0.41 ^{cd}	96.11±0.27 ^a	96.84±0.40 ^a	

¹⁾AsA : ascorbic acid.

²⁾All value are expressed as Mean ± SD of triplicate determinations.

³⁾Different superscripts within the column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

SOD 유사활성능을 측정한 결과는 건대추 및 발효 흑대추의 70% 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 SOD 유사활성능은 증가하는 경향을 나타내었고($p < 0.05$), 발효 흑대추 추출물이 건대추 추출물에 비해 높은 SOD 유사활성능을 보였다. 특히, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 대조구인 ascorbic acid가 43.91%의 SOD 유사활성능을 보였고, 건대추 및 발효 흑대추 추출물이 각각 21.97, 37.54% 정도의 SOD 유사활성능을 보여 건대추에 비해 발효 흑대추에서 높은 SOD 유사활성능을 보였다. 또한, 건대추 및 발효 흑대추의 추출물의 열수 및 70% 에탄올 추출물에 대한 SOD 유사활성능은 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물에서 다소 높은 SOD 유사활성능을 확인할 수 있었다.

SOD는 ROS(Reactive oxygen species, 활성산소종)에 대한 항산화 효소의 일종으로 세포와 조직에 강한 독성을 갖는 superoxide radical anion (O_2^-)을 hydrogen peroxide (H_2O_2)와 O_2 로 전환시켜 주어 세포를 보호하는 물질로서 퇴행성 뇌질환, 심혈관계질환 등 각종 질병과 관련이 있는 것으로 보고(33)되어 있는데 건대추 및 발효 흑대추의 SOD 유사활성능이 우수하여 각종 질병으로부터 세포를 보호하는 역할에 있어 우수할 것으로 생각된다.

pH 1.2에서 발암물질인 nitrosamine 생성의 원인물질인 nitrite 제거활성 결과는 Table 5에 나타내었다. 건대추 및 발효 흑대추 열수 추출물 pH 1.2에서의 아질산염 소거능을 측정한 결과 건대추 및 발효 흑대추의 열수 추출물의 농도가 증가함에 따라 아질산염 소거능이 증가하였으며($p < 0.05$), 전자공여능 및 SOD 유사활성능 측정 결과와 유사하게 열수 추출물이 70% 에탄올 추출물에 비해 높은 아질산염 소거능을 보였다. 건대추 및 발효 흑대추 열수 추출물 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 42.15, 31.44% 이상의 아질산염 소거능을 확인할 수 있었으며, 건대추 추출물이 발효 흑대추 추출물에 비해 아질산염 소거능이 높았다.

건대추 및 발효 흑대추 70% 에탄올 추출물 pH 1.2에서의 아질산염 소거능을 측정한 결과는 건대추 및 발효 흑대추 에탄올 추출물의 농도가 증가함에 따라 아질산염 소거능이 증가하였으며($p < 0.05$), 열수 추출물의 아질산염 소거능 측정 결과와 같이 건대추 추출물이 발효 흑대추 추출물에 비해 전체적으로 높은 소거능을 보였다. 건대추 및 발효 흑대추 추출물 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 34.13, 29.55%의 아질산염 소거능을 확인할 수 있었다.

Song 등(34)의 연구 결과 pH가 낮아짐에 따라 NO^2 소거

Table 4. SOD like activity of hot-water and ethanol extracts from dried jujube and fermented black jujube

Samples	SOD like activity(%) ²⁾³⁾					
	62.5 $\mu\text{g/mL}$	125 $\mu\text{g/mL}$	250 $\mu\text{g/mL}$	500 $\mu\text{g/mL}$	1,000 $\mu\text{g/mL}$	
Water extracts	Dried jujube	10.10 \pm 4.51 ^m	10.60 \pm 3.21 ^m	16.62 \pm 3.47 ^{klm}	33.74 \pm 6.77 ^{def}	41.25 \pm 1.75 ^{abc}
	Fermented black jujube	11.14 \pm 6.13 ^{lm}	15.67 \pm 2.66 ^{klm}	28.49 \pm 3.86 ^{def}	30.77 \pm 9.37 ^{efgh}	47.39 \pm 1.26 ^a
Ethanol extracts	Dried jujube	4.21 \pm 4.85 ⁿ	12.28 \pm 4.08 ^{klm}	15.13 \pm 1.63 ^{klm}	21.40 \pm 2.95 ^{ghij}	21.97 \pm 2.33 ^{ghij}
	Fermented black jujube	8.67 \pm 0.80 ^{nm}	19.47 \pm 5.75 ^{ghij}	20.32 \pm 5.48 ^{hijk}	21.87 \pm 6.40 ^{ijkl}	37.54 \pm 5.86 ^{bcd}
AsA ¹⁾	26.46 \pm 2.38 ^{fghi}	29.41 \pm 0.77 ^{defg}	33.97 \pm 0.40 ^{def}	37.10 \pm 0.27 ^{bcd}	43.91 \pm 0.30 ^{ab}	

¹⁾AsA : ascorbic acid.

²⁾All value are expressed as Mean \pm SD of triplicate determinations.

³⁾Different superscripts within the column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 5. Nitrite scavenging ability of hot-water and ethanol extracts from dried jujube and fermented black jujube in pH 1.2

Sample	Nitrite scavenging ability (%) ²⁾³⁾					
	62.5 $\mu\text{g/mL}$	125 $\mu\text{g/mL}$	250 $\mu\text{g/mL}$	500 $\mu\text{g/mL}$	1,000 $\mu\text{g/mL}$	
Water extracts	Dried jujube	14.85 \pm 0.41 ^j	18.63 \pm 0.20 ^{hi}	21.92 \pm 0.66 ^e	29.35 \pm 0.31 ^{de}	42.15 \pm 0.40 ^b
	Fermented black jujube	9.47 \pm 0.66 ^k	10.41 \pm 0.15 ^k	19.88 \pm 0.46 ^{ghi}	28.35 \pm 1.21 ^e	31.44 \pm 1.04 ^d
Ethanol extracts	Dried jujube	14.45 \pm 0.28 ^j	19.19 \pm 0.55 ^{hi}	20.53 \pm 0.78 ^{gh}	25.41 \pm 2.58 ^f	34.13 \pm 2.25 ^c
	Fermented black jujube	5.23 \pm 1.23 ^l	8.32 \pm 1.58 ^k	12.66 \pm 2.01 ^j	17.79 \pm 1.23 ⁱ	29.55 \pm 0.34 ^{de}
AsA ¹⁾	29.50 \pm 2.02 ^{de}	31.44 \pm 0.66 ^d	33.93 \pm 0.23 ^c	42.35 \pm 0.20 ^b	48.38 \pm 1.47 ^a	

¹⁾AsA : ascorbic acid.

²⁾All value are expressed as Mean \pm SD of triplicate determinations.

³⁾Different superscripts within the column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

아질산염 소거능

건대추와 발효 흑대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물

활성이 높은 것으로 보고하였고, Park 등(35)에 의하면 산성 조건에서 페놀성 화합물이 nitrosamine의 생성을 강력하게

억제하는 것으로 보고된바 있다. 또한, 페놀성 화합물, rutin 및 quercetin 물질 등이 다량 함유된 식품일수록 아질산염의 소거작용이 우수하다는 Kang 등(36)의 연구결과와 미루어 볼 때 건대추와 발효 흑대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물은 pH 1.2에서 아질산염 소거능이 높아 nitrosamine 생성 저해에 효과가 있을 것으로 판단된다.

Xanthine oxidase 저해 효과

Xanthine oxidase는 생체 내 purine 대사에 관여하는 효소로 xanthine 혹은 hypoxanthine으로 부터 urea를 형성하여 혈장 내 urea가 증가되면 낮은 용해성으로 인하여 골격에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍(gout)을 일으키고 free radical을 생성하기도 하므로 xanthine oxidase 저해는 항산화, 노화 및 항암 등 생물학적으로 중요한 효소이다(37). Xanthine oxidase에 대한 건대추 및 발효 흑대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물의 저해활성을 측정한 결과는 다음과 같다. 건대추와 발효 흑대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물의 xanthine oxidase 저해활성은 시료농도를 달리하여 효소의 저해활성을 측정하였으며 그 결과는 Table 6에 나타내었다.

건대추와 발효 흑대추의 열수 추출물의 xanthine oxidase 저해활성 결과 건대추 및 발효 흑대추 열수 추출물의 농도가 증가할수록 요산의 생성량이 줄어들어 xanthine oxidase에 대한 저해활성이 높아짐을 알 수 있었다(p<0.05). 건대추 및 발효 흑대추 열수 추출물 1,000 µg/mL의 농도에서 각각 37.70, 43.13%의 저해활성을 보였으며, 발효 흑대추 추출물이 건대추 추출물에 비해 높은 xanthine oxidase 저해활성을 확인할 수 있었다. 건대추와 발효 흑대추의 70% 에탄올 추출물의 xanthine oxidase 저해 활성 결과는 전반적으로 건대추 및 발효 흑대추 추출물의 농도가 증가할수록 xanthine oxidase 저해 활성도는 증가함을 보였으며 (p<0.05), 열수 추출물에서와 같이 건대추에 비해 발효 흑대추 추출물의 xanthine oxidase 저해활성이 높게 나타났다.

이상의 결과로 Stirpe와 Corte(38)의 xanthine oxidase 저해활성 실험에서 폴리페놀류가 저해 효과가 높다는 연구

보고에서와 같이 건대추와 발효 흑대추의 열수 및 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량이 높아 통풍의 예방 또는 생약 치료제의 개발 등에 이용 가능할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 건대추와 건대추를 이용하여 온도 50°C, 습도 90%의 항온항습기에서 숙성시켜서 제조한 발효 흑대추의 열수 및 에탄올 추출물에 항산화성을 평가함으로써 대추의 식품학적인 기능성을 검토하고자 하였다. 건대추와 발효 흑대추의 열수 및 70% 에탄올 추출물의 수율은 발효 흑대추 추출물에서 높았으며, 70% 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 높았다. 총 폴리페놀 함량은 흑대추 추출물에서 높게 나타났으며, 열수 추출물이 70% 에탄올 추출물보다 높은 함량을 보였다. 전자공여능은 건대추와 발효 흑대추의 추출물의 열수 및 에탄올 1,000 µg/mL의 농도에서 각각 85.0% 이상의 전자공여능을 보였고, SOD 유사활성능은 발효 흑대추 추출물이 건대추 추출물에 비해 높았으며, 대체적으로 열수 추출물에서 높게 나타났다. pH 1.2에서의 아질산염 소거능은 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물에서 높았으며, 발효 흑대추보다 건대추 추출물에서 높게 나타났다. Xanthine oxidase 저해활성은 건대추 및 흑대추 추출물의 농도가 증가함에 따라 증가하였으며, 열수 및 에탄올 추출물에서는 건대추에 비해 발효 흑대추 추출물의 저해활성이 높았다. 이상의 결과로 발효 흑대추의 열수 및 에탄올 추출물에서 높은 항산화 활성을 확인할 수 있었으며, 발효 흑대추는 우수한 기능성 식품으로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. Choi KS (1990) Changes in physiological and chemical characteristics of jujube fruits var. bokjo during maturity

Table 6. Inhibition effects on xanthine oxidase of hot-water and ethanol extracts from dried jujube and fermented black jujube

Samples	Xanthine oxidase inhibition(%) ²⁾³⁾					
	62.5 µg/mL	125 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	1,000 µg/mL	
Water extracts	Dried jujube	15.48±1.46 ^m	20.70±1.63 ^k	26.10±1.94 ^j	34.19±1.90 ^h	37.70±1.41 ^g
	Fermented black jujube	21.69±1.29 ^k	26.29±0.33 ^j	34.00±0.54 ^h	39.44±0.45 ^f	43.13±0.00 ^e
Ethanol extracts	Dried jujube	12.13±0.12 ⁿ	18.45±1.25 ^l	25.65±1.52 ⁱ	30.87±0.65 ^j	36.31±0.33 ^g
	Fermented black jujube	20.56±0.33 ^k	30.95±0.68 ⁱ	34.03±0.79 ^h	39.09±0.42 ^f	41.54±0.33 ^e
AsA ¹⁾	51.94±0.37 ^d	54.08±0.41 ^c	57.54±0.42 ^b	57.88±0.52 ^b	61.87±0.70 ^a	

¹⁾AsA : ascorbic acid.

²⁾All value are expressed as Mean ± SD of triplicate determinations.

³⁾Different superscripts within the column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

- and postharvest ripening(in Korean). J Resour Develop, 9, 47-53
2. Shin SR, han JP, Lee SH, Kang MJ, Kim KS, Lee KH (1999) Changes in the components of dried jujube fruit by drying methods. Korean J Postharvest Sci Technol, 6, 61-65
 3. Bal JS, Jawanoda JS, Singh SN (1979) Development physiology of ber (*Zizyphus mauritina*) var. urman. IV. Change in amino acids and sugar(sucrose, glucose and fructose) at different stages of fruit ripening. India FD Pckr, 33, 3335-3337
 4. Zryaev R, Irgasheve T, Israilov IA, Abdullaev ND, Yunusov MS, Yunusov S (1977) Alkaloids of *Zizyphus jujuba* structure of yuziphine and yuzirine. Khim Prir Soedin, 2, 239-243
 5. Okamura N, Nohara T, Yagi A, Nishioka I (1981) Studies of dammarane-type saponin of *Zizyphus fructus*. Chem Pharm Bull, Japan, 29, 675-683
 6. Yagi A, Okamura N, Haraguchi Y, Noda K, Nishioka I (1978) Studies on the constituents of *Zizyphi frutus*. Chem Pharm Bull, Japan, 26, 1798-1802
 7. Cyong JC, Takahashi M (1982) Identification of guanosine 3':5'-mono phosphate in the fruit of *Zizyphus jujuba*. Phytochem, 21, 1871-1874
 8. Na HS, Kim KS, Lee MY (1996) Effect of jujube methanol extract on the hepatotoxicity in CCl₄-treated rats. J Korean Soc Food Sci Nutr, 25, 839-845
 9. Lee YG, Cho SY (1995) Effect of jujube methanol extract on benzo(a)pyrene induced hepatotoxicity. J Korean Soc Food Sci Nutr, 24, 127-132
 10. Choi KS, Kwon KI, Lee JG, Lee RK (2003) Studies on the chemical compositions and antitumor activities of jujube tea products. J Resour Develop, 22, 23-29
 11. Park BH, Chae KY, Hong JS (2008) Physicochemical characteristics of jujube concentrates prepared by boiling. J East Asian Soc Dietary Life, 18, 190-197
 12. Park YH, Chang SK (1997) Screening of inhibitory effect of edible mushrooms on tyrosinase and isolation of active component. J Food Hyg Safety, 12, 195-199
 13. Lee SO, Lee J, Yu MH, Im HG, Lee IS (2005) Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. Korean J Food Sci Technol, 37, 233-240
 14. Park YS, Jang HG (2003) Lactic acid fermentation and biological activities of *rubus coreanus*. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol, 46, 367-375
 15. Jeong MH, Choi WY, Seo YC, Kang HY, Choi GP, Lee HY (2010) Anticancer activity of *Acer mono* wood extracted by ultra high pressure extraction process. Korean J Medicinal Crop Sci, 18, 157-167
 16. Biesalski HK (2002) Free radical theory of aging. Curr Opin Clin Nutr, 5, 5-10
 17. Yu BP (1996) Aging and oxidative stress: Modulation by dietary restriction. Free Radical Bio Med, 21, 651-668
 18. Kim SS, Ha JH, Jeong MH, Ahn JH, Yoon WB, Park SJ, Seong DH, Lee HY (2009) Comparison of biological activities of fermented *Codonopsis lanceolata* and fresh *Codonopsis lanceolata*. Korean J Medicinal Crop Sci, 17, 280-285
 19. Singleton VL, Rossi A (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Viticult, 16, 144-158
 20. Blois ML (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature, 181, 1199-1224
 21. Marklund S, Marklund G (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem, 47, 469-474
 22. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F (1987) Inhibitory of nitrosamine formation by nondilyzable melanoidins. Agric Biol Chem, 51, 1333-1338
 23. Stirpe F, Corte ED (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. J Biol Chem, 244, 3855-3861
 24. Kim YJ (2010) Antioxidant and anticancer effect of dried jujube sarcocarp, seed and leaf extracted with different solvents. Master Thesis graduate School of Daegu Haanny University, p 14
 25. Lee KD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS (1992) Antioxidative effectiveness of water extract and ether in wormwood (*Artemisiomontana pampan*). J Korean Soc Food Sci Nutr, 21, 17-22
 26. Jeong HJ, Park SB, Kim S, Kim HK (2007) Total polyphenol content and antioxidative activity of wild grape(*Vitiscoignetiae*) extracts depending on ethanol concentrations. J Korean Soc Food Sci Nutr, 36, 1491-1496
 27. Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K, Uchino K (1997) Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. Bio Sci Biotechnol Biochem, 61, 102-104
 28. Cha JY, Kim SY, Jeong SJ, CHO YS (1999) Effects of hesperetin and naringenin on lipid concentration in orotic acid treated mice. Korean J Life Science, 9, 389-394

29. Joo KJ, Kim HK (2005) Antioxidative capacity and total phenolic compounds of methanol extract from *Zizyphus jujube*. J Korean Soc Food Sci Nutr, 34, 750-754
30. Woo KS, Lee SH, Noh JW, Hwang IG (2009) Optimization of extraction conditions for dried jujube by response surface methodology. J Korean Soc Food Sci Nutr, 38, 244-251
31. Ye EJ, Kim SJ, Nam HS, Park EM, Bae MJ (2010) Physiological evaluation of korean mountain ginseng and korean mountain ginseng leaf tea. Korean J Food Culture, 25, 350-356
32. Lee SE, Kim YS, Kim JE, Bang JK, Seong NS (2004) Antioxidant activity of *Ulmus davidiana* var. *Japonica* N and *Hemipteleae davidii* P. Korean J Medicinal Crop Sci, 12, 321-327
33. Harman D (1956) A theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol, 11, 298-307
34. Song HS, Kim DP, Jung YH, Lee MK (2007) Antioxidant activities of red hamcho(*Salicornia herbacea* L.) against lipid peroxidation and the formation of radicals. Korean J Food Nutr, 20, 150-157
35. Park YB, Lee TG, Kim WK, Do JR, Yeo SG, Park YH, Kim SB (1995) Characteristics of nitrite scavenger derived from seeds of *Cassia tara* L. Korean J Food Sci Technol, 27, 124-128
36. Kang YH, Park YK, Lee GD (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J Food Sci Tech, 28, 232-239
37. Storch I, Ferber E (1988) Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. Anal Biochem, 169, 262-267
38. Stirpe F, Corte ED (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. J Biol Chem, 244, 3855-3861

(접수 2012년 9월 20일 수정 2012년 10월 15일 채택 2012년 11월 9일)