

제주 생물자원 착즙액의 이화학적 특성 및 항산화 활성

이영준 · 김단비 · 조주현¹ · 백순옥¹ · 이옥환*
강원대학교 식품생명공학과, ¹(주)휴림 중앙연구소

Physicochemical Characteristics and Antioxidant Activities of Bioresource Juices from Jeju

Young Jun Lee, Dan Bi Kim, Ju-Hyun Cho¹, Soon-Ok Baik¹, and Ok-Hwan Lee*

Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University

¹Hurum Central Research Institute

Abstract We aimed to provide the basic data for the development of a beverage using the juices from bioresources from Jeju. Our results show that pH and °Bx of the bioresources ranged 2.0-6.5 and 3.3-16.8, respectively. *Rubus coreanus* Miquel juice had the highest total phenol content (47.3 mg gallic acid equivalent (GAE)/100 mL). *Citrus sphaerocarpa* juice showed higher rates of 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging (86.8%) than those of other juices. However, the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) value (2,409.5 µM TE/mL) of *Citrus sudachi* Hort. ex Shirai juice was higher than those of other juices. A high correlation ($R=0.7343$) was observed between the pH and ORAC values for the 20 bioresources. Furthermore, a high correlation ($R=0.8752$) was found between the phenolic contents and DPPH radical scavenging for the 5 citrus fruits. These results suggest that the bioresources in Jeju could be used as natural antioxidants for the development of functional foods, including healthy beverages.

Keywords: bioresources, juice, antioxidant activity, physicochemical property

서 론

체내에서 생성되는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 에너지대사, 면역반응, 신경의 전기적인 신호전달 등의 순기능을 가지고 있지만 과도하게 생성되면 단백질 및 DNA의 변형, 생체막과 조직을 손상시켜 노화, 대사성질환, 암 유발 등 부정적인 기능을 하는 것으로 알려져 있다(1,2). 생성된 활성산소종을 저감하기 위해 체내에는 SOD (superoxide dismutase), GPx (glutathione peroxidase) 및 catalase 등과 같은 항산화 시스템(antioxidant systems)이 존재하지만 현대인의 경우 스트레스, 화학물질 및 환경 호르몬에 노출빈도가 높기 때문에 체내의 항산화 시스템을 유지시켜주기 위한 건강기능식품의 필요성이 대두되고 있다(3-5). 최근 체내의 항산화 시스템을 유지시켜 주는 천연 항산화제에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며 특히, 기호성, 편의성 및 건강기능성을 갖춘 주스, 음료, 드링크 등의 제품 개발이 매우 활발히 이루어지고 있다(6).

식물에는 비타민C, 토코페롤, 카로티노이드, 페놀성 화합물과 같은 이차 대사산물이 존재하는데, 이들은 높은 항산화 활성을 나타내며(7) 오랜 기간 인류가 안전하게 식품으로 이용해왔기 때

문에 이들 식물들을 이용하여 추출물 형태, 농축액, 착즙액 등과 같은 다양한 제품 개발이 진행되고 있다(8). 특히, 제주도의 경우 지리학적으로 남방식물의 북방 한계선임과 동시에 북방식물의 남방한계선으로써 두 지역의 식물이 공존하는 장소로 다른 지역에 비해 다양한 종의 생물자원들이 자생하고 있다. 또, 제주도의 생물들은 자신들의 최적 생육 온도보다 고온 또는 저온의 스트레스에 노출되기 때문에 다른 지역의 생물보다 이차 대사산물의 함량이 높을 것으로 기대된다(9,10).

천연물의 항산화 활성을 측정하는 원리는 크게 free radical 소거와 전자전달을 이용하는 방법이 있다. DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) assay는 free radical 소거능을 측정하는 대표적인 방법으로 항산화 물질을 탐색하기 위해 널리 사용되고 있는 방법이다(11). 반면, ORAC (oxygen radical absorbance capacity) assay는 수소 전자의 전달에 의한 환원력을 측정하는 방법으로 식품 내 존재하는 수용성 및 지용성 성분과 모두 반응하기 때문에 응용 범위가 넓으며 생물자원의 항산화 측정에 적절하다는 장점을 지닌다(12,13). ORAC assay는 2004년도 플로리다 올랜도에서 열린 항산화 활성의 표준화를 위한 세계 학술 대회에서 기존에 존재하는 항산화 실험의 오류를 없애고 표준화를 통한 정확한 결과값 산출을 위해 선정된 방법이다(14,15). Feeney(16)는 ORAC assay를 이용하여 식품의 항산화 효능을 직, 간접적으로 비교할 수 있으며, 성인 일일 ORAC 권장량을 약 3,000-5,000 ORAC 지수로 제시한 바 있다. 즉, 체내 항산화 시스템의 유지를 위한 천연 항산화성 비타민류 및 페놀성 화합물을 함유한 식품의 섭취기준을 ORAC 지수로 수치화 할 수 있으며, ORAC 수치를 표기한 항산화음료, 항산화주스 등의 건강음료 개발이 진행 된 바 있다(6).

*Corresponding author: Ok-Hwan Lee, Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon 200-701, Korea
Tel: 82-33-250-6454
Fax: 82-33-241-0508
E-mail: loh99@kangwon.ac.kr
Received February 25, 2013; revised March 19, 2013;
accepted March 23, 2013

따라서, 본 연구에서는 제주도 생물자원을 이용하여 항산화 효능을 갖는 건강음료의 개발 시 기초자료를 제공하고자, 제주도 지역에 자생하는 20종 생물자원을 착즙한 후 각각의 착즙액에 대한 이화학적 특성(pH, °Bx)과 다양한 모델(DPPH 라디칼 소거능, ORAC assay)에서의 항산화 활성 및 아질산염 소거능을 분석하였다. 이들 결과들을 활용하여 ORAC 지수를 기초로 한 항산화 효능을 갖는 건강음료 개발의 기초자료로 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

생물자원 전처리

본 실험에 사용된 시료는 2012년 제주도에서 수확된 것으로 Table 1과 같이 항산화 활성이 기대되며 음료 제조에 적절한 시료를 선별하였다. 선별된 제주 생물자원 20종은 흐르는 물에 이물을 제거하고, 가식부만 남도록 껍질을 제거한 뒤, 착즙기(HU-400, Hurom Co., Seoul, Korea)를 이용하여 착즙하였다. 그 후, 착즙액을 4000 rpm에서 10분간 원심분리 하였으며 상등액을 취해 4°C에서 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

실험시약

분석에 사용되어진 시약인 gallic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH), Folin & Ciocalteu's phenol reagent, acetic acid, sodium carbonate, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox), 2,2-azobis(2-methylpropanimidine)dihydrochloride (AAPH), Griess' reagent for nitrite, sodium nitrite (NaNO₂) 등은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, fluorescein sodium salt는 Junsei (Tokyo, Japan)로부터 구입하여 사용하였다.

착즙액의 pH 및 °Bx 측정

착즙액의 pH 및 °Bx는 25°C에서 pH meter (pH 510, Eutech Co., Anyang, Korea) 및 당도계(PAL-α, ATAGO Co., Tokyo,

Japan)를 이용하여 각각 측정하였다.

총 페놀 함량 분석

총 페놀 함량의 측정은 Folin-Ciocalteu의 방법을 변형하여 측정하였다(17). 착즙액 1 mL, 2% sodium carbonate 용액 1 mL 및 10% Folin-Ciocalteu's reagent 1 mL을 각각 혼합하여 1시간 동안 암소에서 방치 후 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량 분석은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 함량을 계산하였다.

DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical 소거능은 Kim 등(18)의 방법을 변형하여 측정하였다. Ethanol에 용해시킨 0.4 mM DPPH 용액 0.8 mL과 착즙액 0.2 mL을 vortex를 이용하여 5초간 진탕한 뒤 암소에서 10분간 방치 후 microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 착즙액 대신 증류수를 0.2 mL 가하여 동일하게 시행하였다. 착즙액의 DPPH radical 소거능은 다음 식에 의하여 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left\{ 1 - \left[\frac{A_{\text{Test}}}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

아질산염 소거능

아질산염 소거능은 Gray와 Dugan(19)의 방법에 의하여 측정하였다. 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL과 착즙액 1 mL을 혼합한 뒤, 0.1 N HCl (pH 1.2)로 반응 용액의 pH를 1.2로 조정된 후 이 용액을 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후, 반응액 1 mL과 Griess' reagent for nitrite 0.4 mL을 잘 혼합하였다. 이 혼합액은 실온에서 15분간 방치한 후 microplate reader를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 착즙액 대신 증류수를 1 mL 가하여 동일하게 시행하였다. 착즙액의 아질산염 소거능은 다음 식에 의하여 나타내었다.

$$\text{Nitrite scavenging ability (\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{Test}}}{A_{\text{Control}}} \right) \times 100$$

ORAC assay

착즙액의 ORAC value는 Ou 등(20)의 방법을 응용하여 평가하였다. 본 실험에서 사용한 착즙액 및 표준물질의 희석과 시약의 제조는 75 mM phosphate buffer (pH 7.4)를 이용하였다. 실험 직전 AAPH (150 mM)는 37°C에서 15분간 정치하여 활성화한 뒤, 96-well plate에 희석된 착즙액 25 μL와 fluorescein (40 nM) 150 μL를 혼합하고 측정 직전에 AAPH (150 mM) 25 μL를 첨가하였다. 혼합액은 fluorescence microplate reader (Spectra Max Gemini EM, Molecular Devices, Corp., Sunnyvale, CA)를 이용하여 485 nm에서 전자를 여기 후 535 nm에서 방출되는 조건으로 37°C에서 90분간 3분마다 fluorescence의 감소율을 측정하였다. 결과 값은 착즙액 첨가와 blank의 area under curve (AUC)값을 나타낸 후 trolox를 이용하여 작성한 검량선에 대입하여 나타내었다.

통계분석

실험결과는 SAS (version 9.3)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 하였으며, 평균값의 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

Table 1. List of bioresource juices in Jeju

No	Scientific name	Common name
S1	<i>Mangifera Indica</i> L. cv. Apple	Applemango
S2	<i>Hylocereus costaricensis</i>	Dragon fruit (red)
S3	<i>Hylocereus undatus</i>	Dragon fruit (white)
S4	<i>Psidium guajava</i> L.	Guava
S5	<i>Actinidia chinensis</i> Planch.	Kiwi
S6	<i>Rubus coreanus</i> Miquel	<i>Bokburja</i>
S7	<i>Vitis vinifera</i> L.	Grape
S8	<i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Blueberry
S9	<i>Citrus sunki</i> Hort. ex Tanaka	<i>Jinkyool</i>
S10	<i>Citrus sphaerocarpa</i>	<i>Hallabong</i>
S11	<i>Citrus sudachi</i> Hort. ex Shirai	<i>Youngkyool</i>
S12	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	<i>Hwanggunmyang</i>
S13	<i>Citrus limonia</i>	Lemon
S14	<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Passion fruit
S15	<i>Daucus carota</i> L.	Carrot
S16	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> L.	Cabbage
S17	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i>	Broccoli
S18	<i>Asparagus officinalis</i> L.	Asparagus
S19	<i>Beta vulgaris</i> L.	Beet
S20	<i>Allium cepa</i> L.	Onion

Table 2. Physicochemical characteristics of bioresource juices in Jeju

No	Scientific name	pH	°Bx
S1	<i>Mangifera Indica</i> L. cv. Apple	4.3±0.0 ^h	10.6±0.0 ^h
S2	<i>Hylocereus costaricensis</i>	4.5±0.0 ^e	11.0±0.0 ^c
S3	<i>Hylocereus undatus</i>	4.5±0.0 ^e	10.8±0.0 ^e
S4	<i>Psidium guajava</i> L.	3.8±0.0 ^k	13.3±0.0 ^b
S5	<i>Actinidia chinensis</i> Planch.	3.0±0.0 ^q	12.2±0.0 ^c
S6	<i>Rubus coreanus</i> Miquel	3.2±0.0 ^o	7.8±0.0 ^m
S7	<i>Vitis vinifera</i> L.	3.7±0.0 ^l	16.8±0.0 ^a
S8	<i>Vaccinium corymbosum</i> L.	3.0±0.0 ^p	10.3±0.0 ⁱ
S9	<i>Citrus sunki</i> Hort. ex Tanaka	3.6±0.0 ^m	11.4±0.0 ^d
S10	<i>Citrus sphaerocarpa</i>	4.1±0.0 ⁱ	9.3±0.0 ^j
S11	<i>Citrus sudachi</i> Hort. ex Shirai	2.5±0.0 ^r	5.5±0.0 ^p
S12	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	3.9±0.2 ^j	8.7±0.0 ^k
S13	<i>Citrus limonia</i>	2.0±0.0 ^s	8.5±0.0 ^l
S14	<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	3.4±0.0 ⁿ	10.9±0.0 ^f
S15	<i>Daucus carota</i> L.	5.9±0.0 ^c	7.0±0.0 ⁿ
S16	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> L.	6.4±0.0 ^b	6.4±0.0 ^o
S17	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i>	6.5±0.0 ^a	5.4±0.1 ^q
S18	<i>Asparagus officinalis</i> L.	5.0±0.0 ^f	3.3±0.1 ^s
S19	<i>Beta vulgaris</i> L.	5.6±0.0 ^e	3.6±0.0 ^r
S20	<i>Allium cepa</i> L.	5.8±0.0 ^d	5.4±0.0 ^q

결과 및 고찰

제주 생물자원 착즙액의 이화학적 특성

제주 생물자원 착즙액의 pH 및 °Bx를 측정된 결과는 Table 2 와 같다. 전체 착즙액의 pH 범위는 2.0-6.5로 나타났다. 그 중 과 일류인 착즙액 시료 S1-S14의 경우 pH값이 4.5 이하로 낮은 반면, 채소류 착즙액 S15-S20의 경우 pH값이 5.0 이상으로 나타났다. 레몬 착즙액의 pH는 2.0으로 가장 낮은 값을 나타내었으며, 브로콜리 착즙액의 pH는 6.5로 가장 높은 값을 보였다. 이는 과일류 착즙액에 함유된 유기산류에 기인한 것으로 판단되어진다. °Bx는 대체적으로 과일류 착즙액(S1-S14)이 채소류 착즙액(S15-S20)보다 높은 값을 보였다. 그 중 포도 착즙액의 °Bx가 16.8 °Bx로 가장 높은 값을 나타내었으며, 아스파라거스 착즙액의 °Bx가 3.3으로 가장 낮은 값을 나타내었다.

제주 생물자원 착즙액의 총 페놀 함량 측정

식물성 식품에는 다양하고 많은 페놀성 분자들이 함유되어 있는데, 이러한 페놀성 분자들은 체내에서 항산화, 항비만 및 항염증 등과 같은 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(21,22). 특히 페놀성 화합물에 존재하는 hydroxyl group은 ROS를 제거하는 역할과 동시에 ROS의 생성에 기여하는 금속이온을 흡착하는 특별한 구조를 가지기 때문에 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다(23,24). 제주 생물자원 착즙액의 총 페놀 함량을 측정된 결과, Table 3과 같이 복분자 착즙액이 47.3 mg GAE/100 mL로 가장 높은 함량을 나타내었다. 포도 착즙액과 블루베리 착즙액도 각각 40.3 및 34.7 mg GAE/100 mL로 비교적 높은 총 페놀 함량을 보였다. 이와 같이 20종의 제주생물 자원 중 베리류 착즙액(S6-S8)의 총 페놀 함량이 다른 생물자원에 비해 높은 함량을 나타내었다. 한편, 용과의 경우, white 용과와 red 용과 착즙액에서 각각 5.1 및 34.2 mg GAE/100 mL로 white 용과와 red 용과의 총 페놀 함량은 다소 차이를 보였다. Kim 등(25)의 연구결과에 따르면 red

용과의 총 페놀 및 플라보노이드의 함량은 각각 4.91 mg GAE/g, 9.56 mg RE/g인 반면, white 용과의 총 페놀 및 플라보노이드의 함량은 이보다 낮은 3.52 mg GAE/g 및 3.52 mg RE/g으로 측정되어 본 연구에서의 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 DPPH radical 소거능 또한 red 용과가 33.2%이며, white 용과는 23.8%로 낮은 항산화 활성을 가지는 것으로 보고하였다.

제주 생물자원 착즙액의 항산화 활성

DPPH assay는 페놀성 화합물, 방향족 아민류 및 아스코르빈산 등에 의해 수소나 전자를 받아 환원되어 보라색이 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법으로 비교적 간단하고 짧은 시간 내에 항산화 활성을 측정할 수 있으며, 식물체의 항산화 활성과도 높은 연관성을 가지기 때문에 널리 사용되는 방법이다(26,27). 반면, ORAC assay는 radical 소거능이 아닌 수소 전자전달을 이용한 방법으로 AAPH에 의해 생성된 peroxy radical 이 항산화 물질로 인하여 형광의 정도가 감소하는 것을 이용하여, 대조군으로 trolox를 사용하여 형광물질과 결합시킴으로써 항산화 활성을 평가하는 방법이다(13). 20종의 제주 생물자원 착즙액의 DPPH radical 소거능을 측정된 결과(Table 3), 한라봉 착즙액이 86.8±0.2%로 가장 높은 소거능을 나타내었으며, 비트 착즙액이 36.8±0.2%로 가장 낮은 활성을 나타내었다. 특히, 20종의 제주 생물자원 중에서 감귤류 착즙액 시료(S9-S13)에서 DPPH radical 소거능이 약 84.8%로 다른 생물자원에 비해 높은 활성을 나타내었다. ORAC assay를 통하여 항산화력을 측정된 결과(Table 3), 영귤 착즙액이 2,409.5±198.5 μM TE/mL로 가장 높은 ORAC 수치를 나타내었으며, 다음으로 레몬 착즙액, 감귤 착즙액에서 각각 1,475.4±37.3 및 1,209.1±11.7 μM TE/mL의 높은 ORAC 지수를 나타내었다. ORAC 및 DPPH assay 방법을 이용하여 제주 생물자원의 항산화 활성을 측정된 결과, 전체적으로 감귤류 착즙액(S9-S13)이 다른 착즙액에 비해 높은 항산화 활성을 나타냈는데, 이는 오렌지, 레몬, 감귤류(citrus fruit)에 함유된 비타민 C, naringenin 및 hesperidin과 같은 flavanone에 기인된 것으로 판단되어진다(28).

제주 생물자원 착즙액의 아질산염 소거능

아질산염은 식육 가공제품의 발색제, 방부 효과 및 *Clostridium botulinum*에 의한 독소 생성 억제 작용이 있기 때문에 자주 사용되는 식품첨가물이다(29). 그러나 아질산염을 다량 섭취할 경우 메트로헤모글로빈산화증 등 중독 증상을 유발하며, 단백질 식품이나 의약품 및 잔류 농약 등에 존재하는 아민류와 반응하여 니트로사민을 생성한다. 니트로사민은 체내에서 발암물질로 작용하기 때문에, 아질산염 소거능은 특정 물질의 항암 활성을 간접적으로 측정할 수 있는 하나의 지표로 이용된다(30). 20종의 제주 생물자원 착즙액의 아질산염 소거능을 측정된 결과 Table 3과 같이 참다래 착즙액에서 가장 높은 아질산염 소거능(84.4±1.9%)을 나타내었으며, 패션후르츠 착즙액에서 가장 낮은 아질산염 소거능(26.2±1.1%)을 나타내었다. 아질산염 소거능의 경우, DPPH 라디칼 소거능 및 ORAC assay 항산화 활성 결과와는 서로 다른 경향을 보였다. 이는 실험의 측정원리 및 메커니즘이 서로 다른 것에 기인하며 착즙액에 함유된 항산화 성분이 서로 다른 것에 기인한 것으로 사료된다. 따라서, 제주 생물자원 착즙액의 함유된 특정 성분에 의한 항산화 활성의 상관성 분석이 요구되며 착즙액의 이화학적 특성(pH, °Bx), 항산화 성분(총 페놀 함량), 다양한 모델(DPPH 라디칼 소거능, ORAC 지수, 아질산염 소거능)에서의 항산화 활성 간의 상관관계를 조사하였다.

Table 3. Total phenolic contents, antioxidant activity and nitrite scavenging ability of bioresource juices in Jeju

No	Scientific name	TPC ¹⁾ (mg GAE ⁵⁾ /100 mL)	DPPH ²⁾ (%)	ORAC ³⁾ (μ M TE/mL)	NO ⁴⁾ (%)
S1	<i>Mangifera Indica</i> L. cv. Apple	19.5 \pm 0.2 ^j	84.0 \pm 0.6 ^{de}	244.4 \pm 16.8 ^l	54.4 \pm 0.6 ^h
S2	<i>Hylocereus costaricensis</i>	34.2 \pm 0.3 ^{cd}	43.7 \pm 0.3 ^k	457.7 \pm 6.1 ^{fghi}	75.8 \pm 0.4 ^{bc}
S3	<i>Hylocereus undatus</i>	5.1 \pm 0.1 ^o	50.9 \pm 0.7 ^j	262.2 \pm 18.9 ^{kl}	35.1 \pm 0.6 ^k
S4	<i>Psidium guajava</i> L.	32.7 \pm 0.8 ^e	84.5 \pm 0.6 ^{cde}	432.9 \pm 12.7 ^{fghi}	61.7 \pm 0.9 ^f
S5	<i>Actinidia chinensis</i> Planch.	31.1 \pm 1.3 ^f	83.2 \pm 0.7 ^{ef}	953.5 \pm 38.6 ^d	84.4 \pm 1.9 ^a
S6	<i>Rubus coreanus</i> Miquel	47.3 \pm 0.4 ^a	68.7 \pm 0.8 ^h	538.2 \pm 15.3 ^f	65.3 \pm 0.2 ^e
S7	<i>Vitis vinifera</i> L.	40.3 \pm 0.1 ^b	84.2 \pm 0.1 ^{de}	352.5 \pm 20.5 ^{ijk}	70.5 \pm 0.5 ^d
S8	<i>Vaccinium corymbosum</i> L.	34.7 \pm 0.4 ^c	72.4 \pm 0.4 ^g	482.5 \pm 13.6 ^{fgh}	74.4 \pm 0.5 ^{bc}
S9	<i>Citrus sunki</i> Hort. ex Tanaka	25.1 \pm 0.4 ⁱ	83.2 \pm 0.3 ^{ef}	1209.1 \pm 11.7 ^c	73.0 \pm 1.6 ^{cd}
S10	<i>Citrus sphaerocarpa</i>	28.1 \pm 0.2 ^h	86.8 \pm 0.2 ^a	758.8 \pm 7.3 ^e	65.0 \pm 0.4 ^e
S11	<i>Citrus sudachi</i> Hort. ex Shirai	28.4 \pm 0.5 ^h	86.1 \pm 0.5 ^{ab}	2409.5 \pm 198.5 ^a	42.6 \pm 2.6 ^j
S12	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	15.8 \pm 0.3 ^k	82.1 \pm 0.7 ^f	458.1 \pm 2.1 ^{fghi}	57.2 \pm 0.5 ^{hg}
S13	<i>Citrus limonia</i>	27.3 \pm 0.3 ^h	85.7 \pm 0.3 ^{abc}	475.4 \pm 37.3 ^b	76.3 \pm 2.6 ^b
S14	<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	12.8 \pm 0.2 ^l	84.2 \pm 0.5 ^{de}	300.8 \pm 13.3 ^{kl}	65.0 \pm 1.2 ^e
S15	<i>Daucus carota</i> L.	10.6 \pm 0.4 ^m	51.0 \pm 1.2 ^j	481.1 \pm 27.8 ^{fgh}	26.2 \pm 1.1 ^l
S16	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> L.	20.2 \pm 0.9 ⁱ	43.7 \pm 1.2 ^k	384.6 \pm 5.7 ^{hij}	56.3 \pm 0.5 ^{hg}
S17	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i>	29.8 \pm 1.6 ^g	55.9 \pm 1.0 ⁱ	411.2 \pm 22.0 ^{fghi}	63.4 \pm 2.5 ^{ef}
S18	<i>Asparagus officinalis</i> L.	16.7 \pm 0.3 ^k	84.9 \pm 0.1 ^{bc}	517.3 \pm 17.0 ^g	70.8 \pm 0.4 ^d
S19	<i>Beta vulgaris</i> L.	33.4 \pm 0.4 ^{de}	36.8 \pm 0.2 ^m	421.4 \pm 14.1 ^{fghi}	45.4 \pm 1.6 ⁱ
S20	<i>Allium cepa</i> L.	7.3 \pm 0.1 ⁿ	38.6 \pm 0.8 ^l	215.3 \pm 11.6 ^l	59.0 \pm 0.5 ^g

¹⁾Total phenolic contents²⁾1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging³⁾Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) values⁴⁾Nitrite scavenging ability⁵⁾Gallic acid equivalent**Table 4. Correlations (R) between different physicochemical characteristics, total phenolic contents, antioxidant capacity parameters and nitrite scavenging ability of various bioresource juices in Jeju**

All bioresources	pH	^o Bx	TPC ¹⁾	DPPH ²⁾	ORAC ³⁾	NO ⁴⁾
pH	-	-	-	-	-	-
^o Bx	0.4786* ⁵⁾	-	-	-	-	-
TPC	0.3611 ^{NS}	0.2570 ^{NS}	-	-	-	-
DPPH	0.7343***	0.4211*	0.2014 ^{NS}	-	-	-
ORAC	0.5711**	0.1274 ^{NS}	0.2077 ^{NS}	0.4196*	-	-
NO	0.4239*	0.3550 ^{NS}	0.4892*	0.4096*	0.0516 ^{NS}	-

¹⁾Total phenolic contents²⁾1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging³⁾Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) values⁴⁾Nitrite scavenging ability⁵⁾NS,*,**,** Non-significant or significant at 5%, 1% and 0.1% level, respectively

제주 생물자원 착즙액의 이화학적 특성, 항산화 및 아질산염 소거능의 상관관계

제주 생물자원 착즙액의 이화학적 특성 및 항산화 활성 및 아질산염 소거능의 상관관계를 알아보기 위하여 상관계수(correlation coefficient, R)를 나타내었다(Table 4). 분석결과, DPPH와 pH와의 상관계수의 값이 0.7343으로 가장 높은 상관관계를 나타내었다. 또한 pH는 ORAC value와 0.5711의 유의적인 상관관계를 나타내었는데, 이는 생물자원 및 과일내의 비타민C와 유기산과 같은 성분으로 인하여 pH가 감소함과 동시에 항산화 활성이 증가한 것에 기인한 것으로 사료된다. DPPH 및 ORAC assay는 동일하게 항산화를 측정하는 방법임에도 불구하고 0.4196의 낮은 상관관계를 나타내었다. Ou 등(20)의 연구 결과에 따르면 927종의 생물을 대상으로 항산화 실험인 FRAP 활성과 ORAC value간의 상관관

계를 분석한 결과 낮은 상관관계를 보이는 것으로 나타났다. 그러나 Connor 등(31)이 베리류만을 대상으로 하여 동일한 실험을 실행한 결과, FRAP 활성과 ORAC value는 높은 상관관계를 나타내었다. 이는 DPPH 및 ORAC assay의 경우 측정하는 원리가 다르기 때문에 특정 성분에 따라 활성 정도가 다르며, sample의 종류와 실험방법 및 환경에 따라 실험결과가 다양한 결과를 나타내기 때문이다(32). 이와 같은 이유로 Tabart 등(33)은 채소 또는 과일과 같은 생물의 항산화 활성을 평가할 때 측정하는 원리가 서로 다른 다양한 방법의 항산화 실험을 같이 수행하여 평가해야 한다고 하였다. 또한, 아질산염 소거능은 pH 및 총 페놀 함량과 유의적인 상관관계를 나타내었다. 이는 페놀성 화합물이 니트로화 반응의 저해제로 관여하며 아질산염 소거능을 나타내는데, 이때의 활성은 pH의 영향을 받아 변하기 때문으로 생각된다(34).

Table 5. Correlations (R) between different physicochemical characteristics, total phenolic contents, antioxidant capacity parameters and nitrite scavenging ability of citrus fruit juice in Jeju

Citrus fruit	pH	^o Bx	TPC ¹⁾	DPPH ²⁾	ORAC ³⁾	NO ⁴⁾
pH	-	-	-	-	-	-
^o Bx	0.5043 ^{NS5)}	-	-	-	-	-
TPC	0.4668 ^{NS}	0.2009 ^{NS}	-	-	-	-
DPPH	0.3684 ^{NS}	0.4305 ^{NS}	0.8752*	-	-	-
ORAC	0.7506 ^{NS}	0.6555 ^{NS}	0.6443 ^{NS}	0.4820 ^{NS}	-	-
NO	0.0280 ^{NS}	0.7930 ^{NS}	0.0823 ^{NS}	0.0984 ^{NS}	0.4290 ^{NS}	-

¹⁾Total phenolic contents

²⁾DPPH radical scavenging

³⁾Oxygen radical absorbance capacity

⁴⁾Nitrite scavenging ability

⁵⁾NS,*,**,*** Non-significant or significant at 5%, 1% and 0.1% level, respectively

Table 5는 20 종의 제주 생물자원 중 감귤 착즙액, 한라봉 착즙액, 영귤 착즙액, 황금향 착즙액 및 레몬 착즙액의 이화학적 특성 및 항산화 활성 및 아질산염 소거능의 상관관계(correlation coefficient, R)를 나타낸 것으로 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능간의 상관관계가 0.8752로 가장 높은 상관관계를 나타내었다. 이는 감귤류 착즙액에 함유된 naringin, hesperidin, naringenin 및 hesperetin과 같은 페놀 성분에 의한 항산화 활성을 가지는 것으로 판단되었다(27). 감귤류의 경우 ORAC value와 pH간, 총 페놀 함량과 ORAC value간의 상관관계는 다른 생물자원에서 보다 높은 상관계수를 가지는 것으로 나타났다.

요약

본 연구에서는 제주도 지역에 자생하는 생물자원 착즙액의 이화학적 특성과 항산화 및 아질산염 소거능을 측정하여 추후 제주 생물자원을 이용한 산업적 활용에 기초 자료를 제공하고자 실험을 진행하였다. 제주 생물자원 20종 착즙액은 2.0-6.5의 pH 범위 값을 나타내었으며, 3.3-16.8 ^oBx 값을 나타내었다. 총 페놀 함량 측정 결과, 복분자 착즙액이 47.3 mg GAE/100 mL으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 포도와 블루베리가 각각 40.3 및 34.7 mg GAE/100 mL으로 측정되어 20종의 생물자원 중에서 베리류 착즙액(S6-S8)에서 높은 총 페놀 함량을 나타냈다. DPPH 및 ORAC assay를 이용하여 20종 착즙액의 항산화 활성을 측정 한 결과, 한라봉 착즙액이 86.8%로 가장 높은 DPPH radical 소거능을 나타내었으며, 영귤 착즙액이 2,409.5 μM TE/mL으로 가장 높은 ORAC 수치를 보였다. 또한 레몬, 황금향, 감귤 착즙액에서도 높은 항산화 활성을 나타내어 감귤류 착즙액의 경우 높은 항산화 활성을 보였다. 한편, 아질산염 소거능은 참다래 착즙액이 가장 높은 활성(84.4%)을 나타내었다. 제주 생물자원 20종 착즙액의 이화학적 특성 및 항산화 및 아질산염 소거능 간의 상관관계를 분석결과 한 결과, DPPH radical 소거능과 pH간의 상관계수의 값이 0.7343으로 가장 높았다. 이때 5종의 감귤류 착즙액만을 선택하여 상관관계를 나타낸 경우 총 페놀 함량과 DPPH radical 소거능과의 상관관계가 0.8752로 가장 높은 값을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 2012년 광역경제권 선도산업육성사업 기술개발사업 연구과제로 수행한 연구의 일부로 이에 감사드립니다.

References

1. Yamashina K, Miller BE, Heppner GH. Macrophage-mediated induction of drug-resistant variants in a mouse mammary tumor cell line. *Cancer Res.* 46: 2396-2401 (1986)
2. Fridovich I. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas. *J. Biol. Chem.* 264: 7761-7764 (1989)
3. Sureda A, Tauler P, AguilA, Cases N, Fuentespina E, Crdova A, Tur JA, Pons A. Relation between oxidative stress markers and antioxidant endogenous defences during exhaustive exercise. *Free Radic. Res.* 39: 1317-1324 (2005)
4. Bae ON, Lee MY, Chung SM, Ha JH, Chung JH. Potential risk to human health by arsenic and its metabolite. *J. Environ. Toxicol.* 21: 1-11 (2006)
5. Kim HK, Kwon YJ, Kim YE, Nahmgang B. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of aster scaber thub extracts with different microwave assisted extraction conditions. *Korean J. Food Preserv.* 11: 88-95 (2004)
6. Park JH, Kim SY, Kang MG, Yoon MS, Lee YI, Park EJ. Antioxidant activity and safety evaluation of juice containing protaetia brevitarsis. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 41-48 (2012)
7. Larson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27: 969-978 (1988)
8. Kalt W. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidant. *J. Food Sci.* 70: 11-19 (2006)
9. Oh SJ, Hong SS, Kim YH, Koh SC. Screening of biological activities in fern plants native to Jeju island. *Korean J. Plant Res.* 21: 12-18 (2008)
10. Ramakrishna A, Ravishankar GA. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal. Behav.* 6: 1720-1731 (2011)
11. Szabo MR, Idioiu C, Chambre D, Lupea AX. Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *Chem. Pap.* 61: 214-216 (2007)
12. Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Prior RL. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J. Agr. Food Chem.* 50: 4437-4444 (2002)
13. Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, Hampsch-Woodill M, Huang D, Ou B, Jacob R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. *J. Agr. Food Chem.* 51: 3273-3279 (2003)
14. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agr. Food Chem.* 53: 4290-4302 (2005)
15. Kim SH, Kim YM. Determination of the antioxidant capacity of Korean ginseng using an ORAC Assay. *J. East Asian Soc. Dietary Life* 17: 397-401 (2007)
16. Feeney MJ. Fruits and the prevention of lifestyle-related diseases. *Clin. Exp. Pharmacol.* P. 2(Suppl): S11-13 (2004)

17. Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J. Agr. Food Chem.* 44: 37-44 (1996)
18. Kim JH, Park JH, Park SD, Choi SY, Seong JH, Hoon KD. Preparation and antioxidant activity of health drink with extract powders from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 617-624 (2002)
19. Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58: 966-967 (1981)
20. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agr. Food Chem.* 49: 4619-4626 (2001)
21. Cho YJ, Ju IS, Kim BC, Lee WS, Kim MJ, Lee BG, An BJ, Kim JH, Kwon OJ. Biological activity of *Omija* (*Schizandra chinensis* Baillon) extracts. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 50: 198-203 (2007)
22. Shin DB, Lee DW, Yang R, Kim JA. Antioxidative properties and flavonoids contents of matured *Citrus* peel extracts. *Food Sci. Biotechnol.* 15: 357-362 (2006)
23. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63: 1035-1042 (2000)
24. Heijnen CG, Haenen GR, van Acker FA, van der Vijgh WJ, Bast A. Flavonoids as peroxynitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups. *Toxicol. In Vitro* 15: 3-6 (2001)
25. Kim H, Choi HK, Moon JY, Kim YS, Mosaddik A, Cho SK. Comparative antioxidant and antiproliferative activities of red and white pitayas and their correlation with flavonoid and polyphenol content. *J. Food Sci.* 76: C38-45 (2011)
26. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 333-338 (2004)
27. You JK, Chung MJ, Kim DJ, Seo DJ, Park JH, Kim TW, Choi M. Antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of *Paeonia suffruticosa* water extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 292-296 (2009)
28. Rice-Evans C, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 2: 152-159 (1997)
29. Davies R, Massey RC, McWeeny DJ. A study of the rates of the competitive nitrosations of pyrrolidine, p-cresol and L-cysteine hydrochloride. *J. Sci. Food Agr.* 29: 62-70 (1978)
30. Woo SJ, Lee HJ. Residual nitrite and nitrate in home processed dry sausage and ham. *Korean J. Nutr. Soc.* 15: 186-193 (1982)
31. Connor AM, Luby JJ, Tong CBS. Variability in antioxidant activity in blueberry and correlations among different antioxidant activity assays. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 127: 238-244 (2002)
32. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal.* 19: 669-675 (2006)
33. Tabart J, Kevers C, Pincemailb J, Defraigne JO, Dommes J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chem.* 1313: 1226-1233 (2009)
34. Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 232-239 (1996)