

주스제조 장치에 따른 채소 및 과일 주스의 품질 변화

최문희¹, 김민주², 전영진³, 신현재^{1*}

Quality Changes of Fresh Vegetable and Fruit Juice by Various Juicers

Moon-Hee Choi¹, Min-Joo Kim², Young-Jin Jeon³, and Hyun-Jae Shin^{1*}

접수: 2014년 2월 24일 / 게재승인: 2014년 5월 12일
© 2014 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: A fresh vegetable and fruit juice has become a new healthy food available for detoxification, dieting and health. This paper presents the useful information about the quality changes of fresh juice according to different juicer. Quality of fresh juice could be evaluated by several factors such as juice yield, enzyme activity, antioxidant activity, polyphenol contents, and anti-inflammatory activity. The juice yields of 12 different vegetables and fruits were compared using 6 different juicers and it was observed that the yield of slow juicer was better than that of conventional blender. Among 12 samples, the juice yield of grape is the best and the pH of the juice was in the acidic range of 3 and 4. Kiwi and grapefruit were the best in terms of protease enzyme activities by Hemoglobin units on the tyrosine basis and Spectrophotometric acid protease unit and papain units on the tyrosine basis of KFDA protocols. The total polyphenol contents were also high in kiwi and grapefruit. The antioxidant activity by diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), superoxide dismutase (SOD), and radical scavenging assay were high in the order of kiwi, grapefruit, grape, tomato, and orange. Anti-inflammatory activities were also assay for 12 samples with 6 juicers. It

can be concluded that of fresh fruit and vegetable juice provides a source of antioxidant components and enzymes with high activity. And the enzyme activities could be used as one of the quality indicator of fresh juice. Concerning the juicers used in this study, slow juicer could be recommended to prepare the fresh juice in terms of the juice quality.

Keywords: Juicer, Fresh juice, Polyphenol, Enzyme activity, Antioxidant

1. INTRODUCTION

최근 건강에 대한 관심이 증대하면서 식습관의 개선에 관한 논의가 활발하고, 이와 관련하여 신선한 채소와 과일주스 혹은 채소 및 과일 착즙액에 대한 관심과 열기가 어느 때보다 높다. 따라서 채소 및 과일주스의 섭취에 따른 효능 및 효과의 검증에 관한 연구도 무척 활발하다 [1]. 예를 들어 오렌지 (Orange)와 자몽 (red grapefruit)을 식이 했을 경우 동물의 혈장 지질과 항산화 활성이 증가한다는 보고 이후 다양한 연구가 진행되고 있다 [2,3]. 또한 과일주스에 포함된 성분 가운데 pycnogenol이 농축된 주스 (농도 0.5 g/L)를 이용하여 대장암 세포주 (Caco-2)의 증식의 억제 효과가 있다는 연구가 발표되기도 하였다 [4]. 이 항암 효과는 여러 지표 가운데 항산화 활성과 밀접하게 관련이 있는 것으로 나타났으며, 항산화 활성이 풍부한 과일주스가 전분에 의해 유도된 후기 고혈당증 (starch induced postprandial hyperglycemia)의 예방과 치료에 효과적이라는 것이 동물 (rat) 실험으로 증명되기도 하였다 [5]. 채소와 과일주스의 이러한 효과는 이 주스에 포함된 성분에 의해 유발된다. 따라서 건강에 유익한 이러한 성분을 골고루 균형 있게 함유하고 있는 주스는 건강을 위한 새로운

¹조선대학교 생명화학공학과

¹Department of Biochemical Engineering, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Tel: +82-62-230-7518, Fax: +82-62-230-7226

e-mail: shinhj@chosun.ac.kr

²인제대학교 식품생명공학과

²Department of Food and Life Science, Inje University, Gimhae 621-749, Korea

³조선대학교 의학전문대학원

³School of Medicine, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

대안이 될 수 있다. 일반적으로 과일주스의 기본적인 영양 성분은 유기산과 당분 그리고 다양한 휘발성 물질로부터 얻어진다 [6]. 그리고 기본적인 성분 이외에 신선한 과일에 포함된 폴리페놀 (polyphenol) 성분과 더불어 다양한 항산화 활성 (anti-oxidant activity)을 가지는 물질이 포함되어 있다 [7]. 그러나 이러한 성분 혹은 활성의 경우 해당 과일 혹은 채소마다 그 수치가 각각 달라서, 소비자가 원하는 목적에 따른 선택이 상당히 어렵다. 따라서 소비자의 올바른 선택을 위해서는 신선한 주스의 품질에 대한 객관적인 검토가 선행되어야 한다. 즉 신선한 착즙 주스의 품질에 관련된 품질지표의 선정이 중요하며, 이를 위하여 본 연구에서는 착즙 수율, 효소 활성, 항산화 활성, 항염 활성, 폴리페놀 물질 함유량 등을 주요 지표로 선정하여 다양한 착즙기와 여러 채소와 과일을 대상으로 그 가능성을 검토하고자 하였으며, 다양한 제조방법에 따른 오렌지 주스 품질변화에 대해 검토하기도 하였다 [8]. 신선한 주스의 품질기준이 적절히 확립된다면 이를 기준으로 다양한 가공주스의 품질기준의 확립도 가능하다. 이 가공주스의 품질기준은 기존 업체에서 주스제조에 활용하기 위한 산업기준으로서의 역할이라기보다는 소비자의 입장에서 제품의 품질을 비교하고 제품을 판단하여 구매하기 위한 방법으로서 의미가 크다고 할 수 있다. 본 연구에서는 착즙을 하기 위해 6가지의 상업용 블렌더와 착즙기를 활용하여 한국인이 즐겨먹는 12가지 채소와 과일을 이용하여 주스의 착즙 수율을 비교하고 항산화 활성 검토, 효소활성 확인 및 항염 효과를 추가적으로 제시하였다. 또한 과일 착즙액의 효소활성을 기존 판매중인 액상 발효액과 파우더 효소 식품과 비교하여 과일 착즙액의 품질의 품질기준으로 사용하고자 하였다.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1 실험재료

본 실험에 사용한 채소와 과일 12가지 (배, 파파야, 샐러리, 복숭아, 자몽, 사과, 토마토, 꿀, 당근, 석류, 포도, 키위) 시료는 전라남도 광주소재 조선대학교 인근 H마트에서 구입하였다. 각 과일 50 g을 착즙기 별로 (착즙기3, 고속 주서기1, 블렌더 2) 착즙 후 시료를 12,000 rpm에서 7분간 원심분리하고 상등액을 취하여 막을 이용하여 (Sartorius 0.45 ml) 여과 하였으며 3회 이상 반복 수행하였고, 본 연구에 사용한 착즙기의 종류와 특징을 Table 1에 간략히 정리하였다.

Table 1. Juicers to prepare fresh juice used in this study

Number	Product name (model)	Juicer type	Company
1	H. (HE-DBF04)	Low speed juicer	H. Group Co.
2	O1 (SJ600)	Low speed juicer	H. Group Co.
3	A. (Angelia 5000)	Low speed juicer	A. Co.
4	O2 (Do-J2004)	High speed juicer	D. Co.
5	V. (vm0103)	blender	V. Co.,
6	T. (HB703)	blender	T. Co.

과일 착즙액의 품질지표중의 하나인 효소활성의 경우 비교군으로 사용한 액상 발효액은 전남 화순 군청에서 제공 받았으며, 블루베리, 백야초, 신선초를 각각 3개월에서 1년 정도 발효시킨 상태였다. pH 측정은 발효액 원액을 증류수로 5배 희석하여 사용하여 수행하였으며, 또 다른 효소활성 비교군인 파우더 효소제품의 경우 현재 시중에서 판매되고 있는 상업용 효소로서, 제품 선호도가 높은 국내 대표 브랜드 4종을 선별하여 증류수에 효소 파우더를 희석하여 (30 mg/ml) 사용하였다. 효소 활성측정에 사용한 시료는 각 착즙기 별로 착즙 후 12,000 rpm에서 7분간 원심분리기 (FDCF-12003, Korea)를 사용하여 원심분리하고 상등액을 취하여 막을 이용하여 여과한 후 원심 분리 하였으며, 각각의 원초액에 농도별로 희석하여 사용하였다.

항염활성 실험을 위한 동물세포인 Raw 264.7 세포주는 American Type Culture collection (ATCC, USA)으로부터 분양 받았으며, DMEM, FBS, Griess reagent, lipopolysaccharide (*E. coil*, 0127: B8)는 Sigma (St. Louis, MO, USA) 사로부터 구입하였다. Raw 264.7 세포주는 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS)를 포함한 DMEM 배지로 37°C 온도에서 5% CO₂ 상태로 배양하였으며, 세포가 바닥 면적의 90% 정도까지 자란 상태에서 계대 배양하였다.

2.2 Protease 효소활성 측정

12가지 채소와 과일을 H사의 저속 착즙기로 착즙하여 동결 건조시킨 후 100 mg/ml의 농도범위에서 실험하였으며, 시험 방법은 식약처 고시방법 3가지 (SAP, HUT, Plant)로 수행하였다. SAP법은 *Aspergillus niger* 및 그 변종, *A. spergillus oryzae* 및 그 변종의 배양물에서 얻어진 것의 SAP (spectrophotometric acid protease units) 단위로 표시된 protease역가를 측정하는 방법으로서, 역가시험은 pH 3.0, 온도 37°C에서 casein 기질의 30분 간의 가수분해에 근거를 두고 있다. 가수분해 되지 않은 기질은 trichloroacetic acid 로 침전시켜 여과에 의해 제거하고 여액에 남아 있는 casein 양을 흡광도 값으로 측정하였다. 기질용액 10 ml을 항온조에서 15분간 항온시킨 후 시험용액 2 ml을 가하여 흔들어 혼합하고 30분간 반응시켰다. Trichloroacetic acid 10 ml을 넣어 반응을 정지시킨 후 항온조에서 30분간 단백질을 응고시키고 얼음으로 반응을 완전히 정지시킨 다음 반응이 정지된 각 시료를 12,000 rpm에서 7분간 원심분리하고 상등액을 취하여 285 nm에서 흡광도 값을 측정하였다.

HUT법은 *A. spergillus niger* 및 그 변종 *A. spergillus oryzae*

및 그 변종의 배양물에서 얻어진 tyrosine을 기준 물질로 하여 측정하는 방법이다. 역가 시험은 pH 4.7, 온도 40°C에서 hemoglobin 기질의 30분간 가수분해에 근거를 두었다. 각 시험관에 기질 용액 5 ml을 항온조에 넣고 15분간 항온시킨 다음 시험관에 각 시험용액 시료 2 ml을 가하고 다시 항온조에서 30분간 반응시킨 후 trichloroacetic acid 3 ml 가하여 반응을 정지시켰다. 반응이 정지된 각 시료를 12,000 rpm에서 7분간 원심분리하고 상등액을 취하여 285 nm에서 흡광도 값을 측정하였다.

Plant 법은 pH 6.0, 온도 40°C에서 60분간 casein 기질의 단백질 가수분해에 근거를 두고 있다. 기질 5 ml을 15분간 항온시킨 후 시험용액 2 ml, 표준용액 2 ml을 각각 가하여 흔들어 섞고 다시 항온조에서 60분간 항온시킨 후 각각의 시험관에 trichloroacetic acid 3 ml을 넣어 반응을 정지시켰다. 반응이 정지된 시험관 모두를 30분간 항온조에서 배양하여 단백질을 완전히 응고시킨 다음 반응이 정지된 각 시료를 12,000 rpm에서 7분간 원심분리하고 상등액을 취하여 285 nm에서 흡광도 값을 측정하였다.

2.3 Amylase 효소활성측정

Amylase 효소활성의 측정은 BioVision사의 측정 키트 (Cat K 711-100)를 사용 하였으며, 96-well plate에 0, 4, 8, 12, 16, 20 nmol/well 의 농도로 제조한 *p*-nitrophenol (*p*NP)을 사용하여 흡광도 값을 측정하였다. 기질인 ethylidene-*p*NP-G7이 -amylase에 의해 분해되면 *p*NP가 생성되는데, 이 생성물을 측정하여 효소활성을 정량한다. Ethylidene-*p*NP-G7와 -amylase를 0-60 min동안 25°C에서 반응시켜 흡광도 값을 얻었으며, 그 값을 standard curve와 비교하여 ethylidene-*p*NP-G7의 분해에 따른 *p*NP productivity를 각 시간에 따라 구하였다.

2.4 Total polyphenol 함량

12가지 과일과 채소 중 protease 효소활성이 높았던 키위, 자몽, 토마토, 포도의 총 polyphenol 함량을 측정하였으며, folin-Denis 법에 따라 각 추출물 1 ml에 Folin reagent 1 ml, 2% Na₂CO₃ 1 ml을 가하고 혼합한 다음 실온에서 30분간 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid (Sigma Co., St. Louis, USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 polyphenol 함량을 구하였으며, 실험은 3회 반복 수행하여 평균값을 제시하였다.

2.5 DPPH radical 소거능 측정

동결 건조시킨 12가지 과일과 채소 착즙액을 100 mg/ml의 농도로 희석하여 사용하였으며, MeOH 에 녹인 DPPH 용액 800 ml와 과일 착즙액 200 µl을 3분간 혼합한 후 암실에서 30분간 반응시켰다. 남아 있는 radical의 농도를 microplate reader (Molecular Devices, USA)를 사용하여 517 nm에서 측정하였으며, 양성 대조군으로는 gallic acid (sigma, USA)를 사용하였고, 농도범위는 0~0.25 mg/ml 였다.

2.6 SOD 활성

SOD 활성은 xanthine -xanthine oxidase system을 nitroblue tetrazolium (NBT)로 발색시킨 19160 SOD determination kit (Sigma, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. SOD Kit는 xanthine에 xanthine-oxidase가 작용하면 O₂-가 생성되고 생성된 O₂-는 공존하는 NBT를 환원시켜 발색반응을 나타내지만 생성된 O₂-는 제거능을 가진 물질로 인하여 발색이 저해되는 원리이다. 반응조건은 완충액 19 ml에 기질 1 ml (WST solution)을 섞은 다음 희석용 완충액 25 ml에 효소용액 15 µl 섞어 반응시켰다.

2.7 NO radical assay

12가지 과일과 채소 중 포도 실험군의 착즙액의 수율이 가장 높고 항염효과가 매우 뛰어나다고 알려진 포도실험군에 대해서 저속저서기로 착즙하였을때와 고속 착즙기로 착즙하였을 때의 항염증 효과의 차이를 알아 보고자 96 well 에 1×10⁵ cells/ml로 cell seeding을 하고 24시간 후 착즙한 포도 추출물을 처리하였으며, 시료 처리 1시간 후 LPS 200 ng을 처리한뒤 griess reagent (sulfanilamide 1g, N-(1-naphthyl)-ethylene-diamine dihydrochloride 0.1 g, phosphoric acid 2 ml/up to dH₂O 100 ml) 를 1:1 의 비율로 mixing 하고, bubble 을 제거 후 540 nm에서 ELISA로 측정하였다.

2.8 MTT assay

96 well 에 1×10⁵ cells/ml로 cell seeding 을 하고 24시간 후 착즙한 포도 추출물을 각각 처리하였으며, 시료 처리 1시간 후 LPS 200 ng을 처리한 뒤 24시간 후 5 mg/ml로 희석된 MTT 시약을 시료 부피에 1/50을 처리하고, 4시간 후 DMSO로 처리하여 10 min shaking 하고 570 nm에서 ELISA로 측정하였다.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 착즙기별 과일 착즙 수율

본 실험에서는 12가지 채소와 과일 (배, 파파야, 샐러리, 복숭아, 자몽, 사과, 토마토, 귤, 당근, 석류, 포도, 키위)을 각 착즙기 (Table 1)를 이용하여 착즙하였다. 전반적으로 A사 착즙기와 H사 착즙기의 착즙량이 가장 좋았으며, 특히 캠벨 포도군에 대해서는 H사 착즙기가 다른 착즙기에 비해 약 2배 많은 착즙량이 확인되었다 (Table 2). 당근과 샐러리는 blender (T사)를 이용할 경우 착즙이 되지 않았다. 이 같은 결과로 볼 때 과일을 착즙하여 섭취하고자 할 때 고속 저서기나 블랜더를 사용하는 것보다는 일반 저속 착즙기를 이용하는 것이 착즙 수율면에서는 유리할 것으로 판단된다. 높은 착즙 수율은 과일을 신선하게 착즙할 경우 중요한 품질지표로 간주될 수 있다. 사람의 몸은 모든 세포의 신진대사가 정상적으로 이루어져야 건강이 유지되며, 인체 내부에 각종 독소들이 쌓이면 세포를 변형하고 파괴시켜 세포재생과 정상적인 신진대사를 방해하게 된다. 오렌지 주스의 경우에는 열가공 처리를

Table 2. Comparison of the amount of fruit juice according to juicers used in this study

Weight (50 g)	H. (low speed)		A. (Low speed)		O1 (low speed)		O2 (High speed)		V. (blender)		T. (blender)	
	extraction (ml)	yield (%)	extraction (ml)	yield (%)	extraction (ml)	yield (%)	extraction (ml)	yield (%)	extraction (ml)	yield (%)	extraction (ml)	yield (%)
Pear	22.3	44.7±0.4	28.7	57.3±0.9	20.9	41.7±2.7	18.3	36.5±1.4	12.5	24.9±0.4	10.5	20.9±2.5
Papaya	18.4	36.8±1.3	20.7	41.3±1.1	17.8	35.6±2.3	15.9	31.7±0.8	8.8	17.5±0.8	15.9	31.7±0.8
Celery	10.2	20.4±2.4	12.5	25.0±2.5	9.3	18.5±0.8	6.2	12.4±0.5	0.0	0.0	0.0	0.0
Peach	18.4	36.9±1.5	20.5	40.9±4.7	17.3	34.5±0.5	10.6	21.2±0.9	6.9	13.7±0.2	12.7	25.3±2.2
Grapefruit	20.6	41.3±0.8	25.5	50.9±3.4	18.6	37.1±0.4	18.3	36.5±1.1	12.2	24.4±2.6	12.4	24.7±0.8
Apple	18.2	36.4±2.2	21.8	43.6±1.5	15.5	30.9±0.5	15.7	31.3±0.9	10.5	20.9±0.5	11.6	23.1±0.8
Tomato	22.3	44.6±0.8	24.7	49.3±2.3	20.5	41.0±0.6	18.5	37.0±1.4	15.8	31.5±1.5	16.8	33.5±0.5
Tangerine	28.5	57.1±0.4	29.6	59.1±1.5	23.5	46.9±1.5	25.1	50.2±2.3	20.5	40.9±3.2	21.4	42.7±0.4
Carrot	18.9	37.9±2.3	20.2	40.4±1.2	16.9	33.7±2.3	8.2	16.3±1.5	0.0	0.0	0.0	0.0
Pomegranate	20.4	40.9±2.6	23.3	46.5±1.8	18.9	37.7±4.1	13.8	27.5±2.6	15.8	31.6±1.6	21.4	42.8±1.6
Grape	38.4	76.8±1.7	26.6	53.1±0.8	22.5	44.9±0.6	18.3	36.5±1.8	17.6	35.1±4.8	15.7	31.3±2.1
Kiwi	26.8	53.7±3.4	26.0	51.9±0.5	23.9	47.7±0.7	19.5	38.9±3.5	12.9	25.7±3.5	13.8	27.5±2.7

Table 3. Comparison of fresh juice pH

Sample	pH	Enzyme activity range
Fruit & vegetable extraction	3.1-6.8	0.2-0.8 (crude liquid)
Fermentation liquid	4.1-4.7	0.2-0.8 (30 mg/ml)
Commercial powder enzyme	6.1-6.8	0.6-0.9 (30 mg/ml)

한 경우 주스의 수율이 감소되었다는 보고가 있었다 [8]. 몸에 좋은 과일과 채소를 주스로 만들어 먹으면 소화 측면이나 영양소의 흡수 측면에서 몸 속에 흡수되는 속도가 빠르고 신선한 주스를 매일 규칙적으로 마시면 주스 속에 들어있는 효소, 비타민, 미네랄 등이 몸 안의 독소를 해독하여 건강증진에 도움을 줄 수 있다 [9].

3.2 채소와 과일 착즙액의 pH

12가지 실험군 가운데 사과 착즙액의 산도가 pH 4 이하로 가장 낮았으며, 당근, 셀러리, 파파야의 산도는 pH 6 전후의 약산성 이었다. 그 외 시료의 경우 pH 4~5 사이의 값을 기록하여 전반적으로 산성으로 나타났다. 한편 채소와 과일을 이용해 제조한 발효액의 pH의 범위는 3.0~3.8의 범위로 강산성이었으며, 이 같은 결과는 유기산의 발효로 인하여 pH 4 이하의 낮은 산도를 나타내는 것으로 판단되었다. 또한 상업용 효소 파우더의 pH는 6.0~6.8 범위로써 중성에 가까운 pH를 나타내었다 (Table 3). 채소 및 과일 착즙액을 과다 복용할 경우 혈당의 상승과 더불어 위산분비와 동일한 효과를 나타낼 수 있어, 적절한 복용이 필요하다고 판단된다.

3.3 프로테아제 (protease) 효소 활성

프로테아제는 단백질과 펩타이드 결합을 가수분해하는 효소로서 단백질분해 효소라고도 하며 동식물의 조직이나 세포, 미생물에 널리 존재한다. 대부분은 분자량 수만 달톤 (Dalton, Da)인 단순 단백질인데, 당이나 금속이온을 수반하는 복합단백질인 경우도 있다. 대부분의 살아 있는 생물체에서 발견되며, 세포의 성장과 분화에 있어 필수적인 요소로 알려져 있다 [10]. 따라서 프로테아제 효소 활성은 신선한 착즙 주스의 품

질지표로서 사용이 가능하다. 프로테아제는 그 분해 양상 (mechanism)에 따라 엑소펩티다제 (exopeptidase)와 엔도펩티다제 (endopeptidase)로 나눌 수 있으며, 효소 활성 부위의 잔기에 따라 serine protease, metal protease, aspartic protease, cysteine protease 등으로 구분한다 [11]. 본 실험에서는 채소와 과일을즙한 각 시료 12군 (100 mg/ml)의 protease 효소 활성을 확인하였으며, 12가지 실험군중에서 키위와 자몽이 SAP, HUT, Plant 법 모두에 대해 가장 높은 효소활성 결과를 나타내었다 (Fig. 1). 복숭아는 SAP, HUT, Plant 법 모두에서 가장 낮은 효소 활성을 나타내었다. 액상 발효액 시료의 효소활성은 아주 낮거나 거의 검출되지 않았으며 이에 반해 파우더 효소는 무척 높은 효소활성이 검출되었다. 채소와 과일 착즙액의 protease 효소 활성을 액상 발효액과 시판 파우더 효소 활성과 비교해 해보았을 때 비교군인 파우더 효소의 활성 보다는 약간 낮은 활성이지만 식품으로서 무척 양호한 효소활성을 확인할 수 있었으며, 과일 착즙액 한잔을 마셨을 때, 비교 실험군의 1일 복용량을 기준으로 protease 효소 활성은 거의 동일한 것으로 확인되었다 (data not shown). 따라서 본 실험에서 사용한 과일/채소 착즙액의 protease 효소 활성은 전반적으로 우수한 것으로 확인되었으나, 모든 채소 및 과일 착즙액으로 논의를 확정하기 위해서는 추후 본 실험군 이외에 다른 과일/채소 주스를 이용한 추가 실험이 필요하다고 판단된다. 프로테아제가 풍부한 착즙액은 육류와 함께 섭취할 경우 소화를 돕고 음식의 맛을 더할 수 있는 좋은 음료가 될 수 있을 것으로 판단된다. 이 결과는 키위, 배, 파인애플, 및 배의 과즙의 효소 활성을 활용하여 누에고치 분말에 처리하였을 때 향미 성분에 의한 기호성 증진과 항산화 및 항혈전 작용이 증가되었던 결과와 상관성이 있음을 확인할 수 있다 [12].

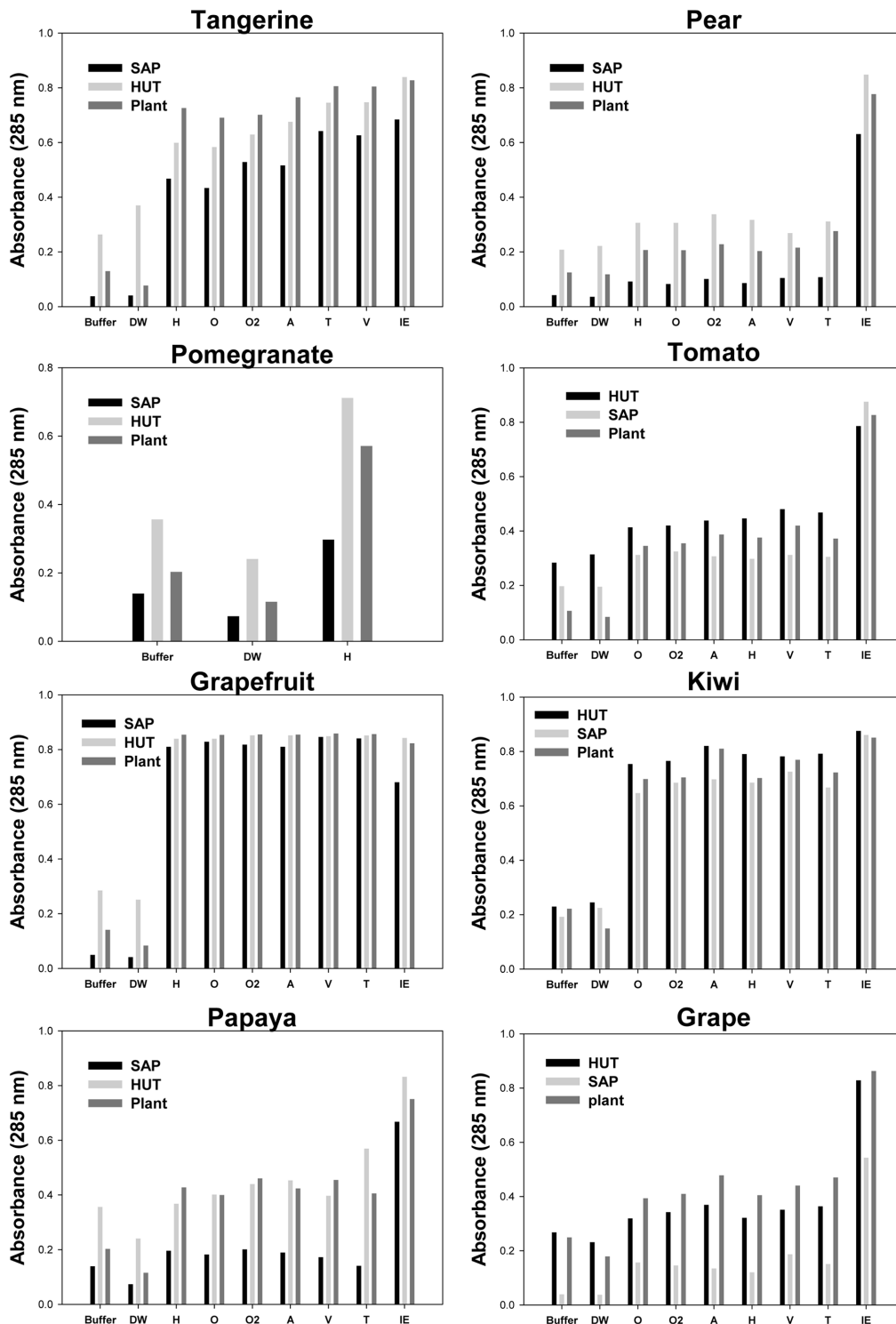


Fig. 1. Comparison of protease activity of fresh vegetable and fruit juice.

3.4 아밀라아제 (amylase) 효소 활성

Amylase는 녹말을 가수분해 하는 효소로서, α -amylase (E.C 3.2.1.1)와 β -amylase (E.C 3.2.1.2), glucoamylase (EC 3.2.1.3) 등으로 분류된다. 가장 흔한 형태인 α -amylase는 사람의 침과 이자에서 분비되고 식물과 미생물계에서도 발견되며, 녹

말의 α -1,4-glycoside 결합을 임의적으로 가수분해하는 내부형 (endo type) 효소로서, maltose, maltotriose, dextrin과 소량의 포도당 (glucose)을 생성한다 [13]. β -Amylase는 주로 식물에서 발견되며, 녹말의 α -1,4-글리코시드 결합을 말단에서부터 순차적으로 가수분해하는 exo형 효소로서 b-maltose를

Table 4. Amylase enzyme activity

Kinetic read	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
	Celery	pomegranate	carrot	apple	Pear	tangerine	kiwi	Papaya	tomato	Peach	grapefruit	grape
0:00:05	0.15	0.301	0.217	0.138	0.22	0.277	0.136	0.154	0.155	0.137	0.129	0.244
0:02:05	0.149	0.306	0.225	0.138	0.22	0.278	0.136	0.154	0.156	0.137	0.129	0.251
0:04:05	0.149	0.306	0.237	0.138	0.22	0.278	0.136	0.155	0.156	0.137	0.129	0.251
0:06:05	0.149	0.305	0.249	0.137	0.22	0.278	0.136	0.154	0.155	0.137	0.129	0.25
0:08:05	0.149	0.307	0.262	0.137	0.221	0.278	0.136	0.155	0.155	0.137	0.129	0.249
0:10:05	0.149	0.311	0.277	0.137	0.221	0.278	0.136	0.154	0.155	0.137	0.129	0.244
0:12:05	0.149	0.308	0.291	0.137	0.221	0.277	0.136	0.154	0.154	0.137	0.129	0.24
0:14:05	0.149	0.309	0.305	0.136	0.221	0.277	0.136	0.155	0.154	0.137	0.129	0.237
0:16:05	0.149	0.311	0.321	0.136	0.222	0.277	0.136	0.154	0.155	0.137	0.129	0.228
0:18:05	0.149	0.311	0.336	0.136	0.223	0.276	0.137	0.155	0.155	0.137	0.129	0.212
0:20:05	0.149	0.311	0.351	0.136	0.229	0.276	0.137	0.155	0.155	0.137	0.129	0.195
0:22:05	0.149	0.311	0.366	0.135	0.23	0.275	0.137	0.155	0.154	0.136	0.129	0.18
0:24:05	0.15	0.311	0.382	0.136	0.227	0.275	0.137	0.155	0.161	0.137	0.129	0.171
0:26:05	0.15	0.311	0.397	0.135	0.226	0.273	0.137	0.155	0.161	0.137	0.129	0.167
0:28:05	0.15	0.311	0.412	0.136	0.226	0.272	0.137	0.155	0.161	0.136	0.129	0.159
0:30:05	0.15	0.312	0.427	0.135	0.226	0.276	0.137	0.155	0.161	0.137	0.129	0.158

E1 to E12 means spectrophotometric reading of each sample.

생성한다. Glucoamylase는 곰팡이에서 발견되며 녹말의 α-1,4-glycoside 결합과 α-1,6-glycoside 결합을 분해하여 포도당을 생성한다 [14]. 본 실험에서는 *Bacillus amyloliquefaciens* 유래의 α-amylase를 대상으로 하여 효소 활성을 측정하였다. 12가지 과일, 채소 착즙액 (100 mg/ml)의 amylase에 대한 효소활성을 조사하였는데 모든 시료군 가운데서 당근 착즙액이 우수한 효소 활성을 보였으며, 다른 11가지 시료에서는 효소활성이 나타나지 않았다 (Table 4). 이 같은 결과로 볼 때, 한국인의 주식인 밥이나 밀가루 등 탄수화물 음식 섭취 시 당근 착즙액을 함께 섭취한다면 소화적인 측면이나 탄수화물의 과다 축적으로 인한 비만예방에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

3.5 DPPH 라디칼(radical) 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 안정한 자유 라디칼인 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH•)을 이용하여 일정량의 시료 용액과의 반응에 의하여 DPPH 라디칼이 감소하는 정도를 분광광도계로 측정하여 간접적으로 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법으로 조작이 매우 간편하고 단시간에 측정이 가능하여 항산화 활성의 검색 등의 용도로 널리 이용되고 있는 방법이다 [15]. 본 연구에서는 12가지 채소와 과일 착즙액의 DPPH radical 소거능을 확인한 결과 실험한 농도범위 (100 mg/ml) 에서 키위의 radical 소거능이 가장 우수하였으며, 포도와 토마토, 꿀, 자몽 실험군들도 DPPH radical 소거능이 비교적 우수함을 확인하였다 (Fig. 2). 파파야와 샐러리, 당근, 석류 등도 미약한 radical 소거능을 확인 하였으나 배와 복숭아 실험군에서는 radical 소거능이 나타나지 않았다. 일반적으로 색깔이 있는 실험군에서 비교적 높은 항산화 활성을 확인할 수 있었으며, 이것은 색깔 있는 과일이 갖고 있는 phytochemical 성분 때문인 것으로 판단된다. 사람을 포함한 모

든 생물은 호흡이라는 과정을 통해 에너지를 얻고 신진대사를 하는 과정에서 체내에 흡입된 산소의 2%를 산소독이라고 불리는 활성산소 (Reactive Oxygen Species: ROS)로 변환시켜 갖고 있게 된다 [16]. 활성산소는 free radical을 가진 산소를 의미하며, 광범위하게는 lipid peroxide, lipid peroxy radical, peroxy nitrite, hydroxy radical 등이 포함된다. 활성산소는 생체세포를 공격하여 지질과 핵산 (DNA, RNA), 단백질을 파괴하고, 여러 가지 효소 기능들을 저해하고 과산화지질을 생성해서 세포막을 파괴하며, 암을 유발하고 질병과 노화를 촉진한다 [17]. 또한, 단백질을 공격하면 carbonyl group이 생성되어 세포를 파괴하며, DNA를 공격하면 다양한 돌연변이가 유발된다. 또한 연령의 증가에 따라 피부에 노화색소인 갈색색소 (lipofusein)가 증가됨을 보고하였는데, 이외에도 신경전달물질인 dopamine, serotonin, acetylcholine에도 영향을 미치며, acetylcholine esterase와 같은 효소에도 저해를 가져 온다고 보고되었다 [18]. 선행 연구에서 오렌지의 다양한 종을 이용하여 착즙하고 이 착즙의 물리화학적 특성과 더불어 DPPH

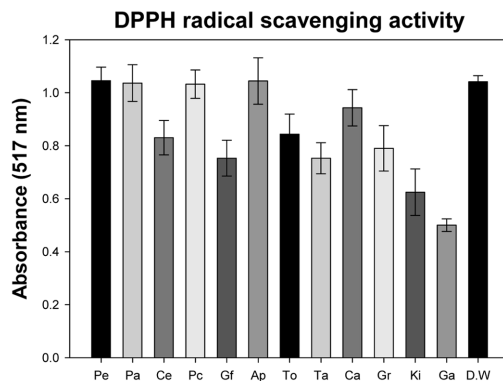


Fig. 2. Comparison of DPPH for juice and vegetable liquid.

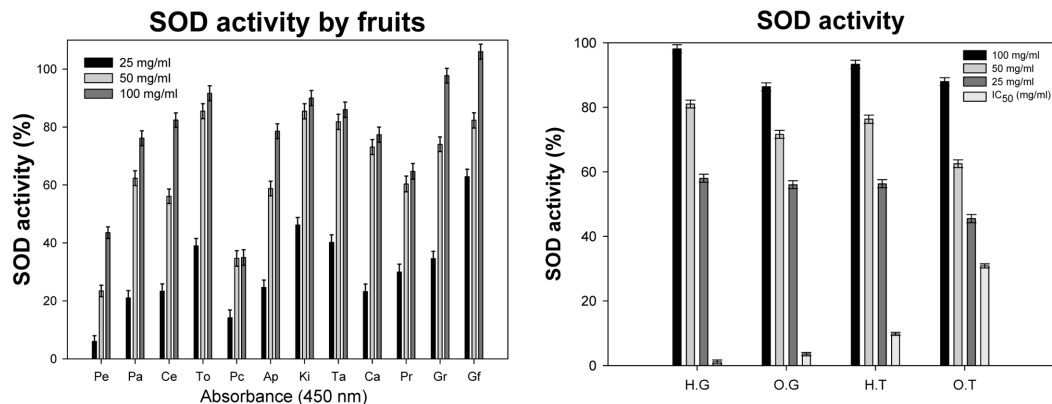


Fig. 3. Comparison of SOD activities for vegetable and fruit juice according to machines and grape concentrations.

와 FRAP 등의 항산화 활성을 측정하였는데 매우 높은 항산화 활성을 확인하였다 [19]. 야생포도에 포함된 성분 중에서 비교적 높은 총페놀함량 (total phenolic content)과 총플라보노이드함량(total flavonoid content)이 확인되었으며, DPPH와 FRAP 분석 (assay)을 수행하였는데 높은 항산화 활성이 있음이 보고되었다 [20]. 이 같은 결과들을 종합해보면 신선한 채소와 과일 착즙은 매우 우수한 항산화 효과를 가지고 있으므로 건강에 유익할 것으로 판단된다.

신선한 주스의 영양학적 우수성과 높은 항산화 활성 등은 환영할 만 하지만 가공과 적절한 멸균처리가 없이 광범위하게 유통될 경우 미생물의 오염에 의한 다양한 2차적 위험이 존재한다. 따라서 유통을 위한 적절한 가공과 멸균 등의 공정은 무척 중요하다고 할 수 있다 [21]. 그러나 신선한 주스는 제조 공정내의 착즙, 가압공정, 멸균과정 등에 의해서 혹은 제조 후 운송, 보관 중에 외부의 산소, 햇빛, 열 등에 노출될 경우 폴리페놀 성분과 항산화 활성의 감소가 수반된다 [22-24]. 따라서 최근에는 이러한 공정의 단점을 개선하기 위한 다양한 시도가 이루어지고 있는데 선행 연구에서 사과주스의 경우 가공공정과 보관상태에 따라 항산화 활성이 낮아지고 영양성분이 유실된다고 보고되었다 [25]. 따라서 착즙액의 보관상의 품질변화도 관찰할 필요가 있다고 사료된다.

3.6 SOD(Superoxide Dismutase) 활성

SOD는 인체 내에서 생성되는 가장 강력한 항산화 작용을 가진 효소로서 체내에서 산화에 대한 방어효과가 가장 높은 것으로 알려져 있다 [26]. 본 연구에서는 채소와 과일 착즙액 12가지 중에서 DPPH radical 소거능이 우수했던 포도, 토마토, 키위, 귤 중에서 포도와 토마토의 SOD 효소 활성을 조사하였으며, 착즙 수율이 높았던 2가지 착즙기를 선정하여 실험하였다. 비교 시험군으로서 시판 파우더 효소 4종 중에서 protease 활성이 높았던 1종과 발효액 1종을 선택하여 SOD 활성을 비교 조사하였다. 각 시료의 농도는 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml으로 농도 의존적 경향을 보였으며, 과일 시료 중에서는 포도의 항산화 소거능이 높은 것을 확인하였으며, 착즙기 중에서 H사의 착즙기로 착즙한 포도와 토마토의

항산화 활성이 더 높은 것으로 확인되었다 (Fig. 3). 활성산소의 공격을 차단, 또는 감소시키는 인체 내 자동방어 기전을 항산화 기전이라고 하는데 이러한 항산화 방어기전을 수행하기 위한 특수한 기능을 가진 물질에는 두 가지로 효소계 물질과 (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase), 소분자 생체물질 (vitamin E, -carotene, uric acid, glutathione) 등이 있다 [27]. 따라서 과일 착즙액의 높은 항산화 활성은 우리 건강에 무척 중요한 역할을 할 것으로 판단할 수 있다.

과일 착즙액의 높은 항산화 활성은 제품의 품질기준으로 반드시 포함되어야 한다. 그 이유는 다양한 형태의 가공 주스가 시장에서 유통되기 때문이다. 신선한 (혹은 착즙한) 주스를 다양한 경로로 유통시키기 위해서는 가공이 필요하고, 이 가공의 과정에서 성분과 활성의 손실이 유발된다. 다양한 과일 주스의 품질기준 (main quality criteria)은 산업적으로 제품 품질의 표준화 (valorization)에 무척 중요하다. 고형분, 산도, 탁도, 비타민을 비롯한 다양한 생리활성 물질의 함량 등이 고려되고 있다. 최근 이탈리아에서 많이 재배되는 베리가모트 (bergamot)를 이용한 고농축주스의 제조에 막을 이용할 경우, 신선한 착즙과 막으로 처리한 가공주스의 품질을 비교함에 있어서 항산화 활성을 중요한 지표로 활용하기도 하였다 [18]. 따라서 본 연구에서 제시한 항산화 활성 및 효소활성 및 항염 활성 등이 추가로 고려된다면 상당히 신뢰성 있는 자료가 될 수 있을 것이라 판단한다.

3.7 총 polyphenol 함량

12가지 과일, 채소 착즙액 중에서 항산화 활성이 가장 높았던 시험군 4가지 (포도, 자몽, 키위, 귤)의 polyphenol 함량을 분석한 결과 자몽의 polyphenol 함량이 가장 높았으며, 자몽 1 mg/ml은 표준물질인 gallic acid 0.093 mg/ml에 해당하였으며, 포도는 0.073 mg/ml, 키위는 0.086 mg/ml, 귤은 0.008 mg/ml로 시험군 중에서 가장 낮은 함량을 보여주었다 (Table 5). 이 같은 결과는 국내 시판 과일 및 채소 주스의 항균, 항산화 및 항혈전 활성에 관한 연구에서 포도의 총 polyphenol 함량이 가장 높았던 결과와 동일하며, 오렌지 주스의 경우에는 총 폴리페놀 이외에 껍질의 유분 (peel oil)과 펙틴 등의 주스

Table 5. Total polyphenol contents of four fruits

Sample (50 g)	Yield (%)	Total polyphenol (GAE mg/ml)
grapefruit	41.34±0.15	0.0934
tangerine	57.12±0.05	0.0778
grape	76.82±0.08	0.0732
kiwi	53.74±0.12	0.0861

GAE: gallic acid equivalent.

의 품질기준으로 제시되기도 하였다 [28].

3.8 NO radical assay

NO (nitric oxide)는 L-arginine이 L-citrulline으로 변환하는 과정 중에 형성되는데 여기에는 nitric oxide synthase (이하 NOS) 이라는 효소가 관여한다 [29]. 현재까지 3종류의 NOS가 밝혀져 있으며, 제1형 NOS (neuronal nitric oxide synthase, nNOS)는 신경세포에서 처음 발견되었고, 제2형 NOS (inducible nitric oxide synthase, iNOS)는 큰 포식세포에서, 그리고 제3형인 endothelial nitric oxide synthase (eNOS)는 내피 세포에서 발견되었다 [30]. iNOS는 정상 성인의 뇌에서는 발견되지 않으나 여러 가지 자극에 의하여 유도될 수 있으며 iNOS가 발현되면 단 시간내에 대량의 NO를 만들어내는데 이러한 대량의 NO는 자가 산화하여 각종의 질소화합물을 형성하고 유리기의 형태로 조직에 작용하여 강력한 세포독성 작용을 나타낸다 [31]. 본 실험에서는 NO 대사과정에서 발생하는 nitrite (NO₂)를 측정함으로써 NO의 양을 간접적으로 결정하였다. 12가지 채소와 과일 시료 중 포도 시료를 고속착즙기와 저속착즙기로 착즙하여 Raw 264.7 세포주에 처리하였는데 LPS 200 ng 처리하였을 때, 저속 착즙 포도 시료 50 g에서는 15.5%, 100 g에서는 21.2%, 250 g에서는 28.0%, 500 g에서는 35.6%의 NO 생성이 감소되었으며, 고속 착즙 포도 시료 50 g에서는 10.3%, 100 g에서는 15.2%, 250 g에서는 19.2%, 500 g에서는 24.5%의 NO 생성이 감소되었다 (Fig. 4). 저속착즙기의 포도 시료 이 고속 착즙기의 포도 시료 보다 NO 생성 감소율이 높은 것으로 확인되었으며, 이 같은 결과는 저속착즙기로 추출한 포도의 polyphenol의 함량이 높기 때문이라고 판단된다. 선행연구에서 RAW 264.7 cell에 포도나무가지 추출물을 처

리하여 NO 생성 억제 효과를 측정하였는데 IC₅₀ 농도는 14.5 g/ml이었다 [32]. 이 같은 결과는 본 실험과 같은 경향성을 보여주며, 포도 추출물이 NO 생성 감소에 매우 효과적임을 알 수 있다.

3.9 MTT assay

MTT assay는 탈수소 효소작용에 의하여 노란색의 수용성 기질인 MTT tetrazolium을 청자색을 띠는 비수용성의 MTT formazan (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)으로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 이용하는 검사법으로써, MTT formazan의 흡광도는 540 nm의 파장에서 최대가 되며, 이 파장에서 측정된 흡광도는 살아있고 대사가 왕성한 세포의 농도를 반영한다 [33]. 본 실험에서는 포도 시료를 대상으로 고속착즙기와 저속착즙기를 사용하여 각각 50 g, 100 g, 250 g, 500 g 농도범위에서 세포 독성을 검사하였다. 포도 시료의 경우 항산화 활성과 폴리페놀 함유량이 높기 때문에 착즙액의 품질이 높게 간주되는 만큼, 세포독성이 나타날 가능성이 있어 본 실험을 수행하였다. 포도 착즙의 경우 실험한 모든 농도범위에서 세포독성을 나타내지 않았으며 (Fig. 5), 이 같은 결과는 포도씨 추출물로 세포 독성 검사를 하였을 때, human breast, lung, gastric adenocarcinoma cells와 같은 암세포에서는 세포 독성을 보이며, normal human gastric mucosal cell과 같은 정성세포에서는 세포 독성을 보이지 않았던 결과와 일치하였다 [34].

4. CONCLUSION

본 연구에서는 6가지의 상업용 블랜더와 착즙기를 활용한 주스의 착즙 수율의 비교 및 항산화 활성 검토, 효소활성 확인 및 항염효과를 추가적으로 제시하여 착즙 주스의 품질 지표로 사용하고자 하였다. 착즙액의 효소 활성과 항산화 활성을 대표적인 건강식품인 액상 발효액과 파우더 효소 식품과 비교하여 과일 착즙액 품질을 비교하였다. 각 착즙기의 종류에 따라 수율의 차이가 많았으며, 블랜더의 경우에는 착즙 수율이 저속 착즙기의 절반 수준이었다. 12가지 과일 시료 중 착

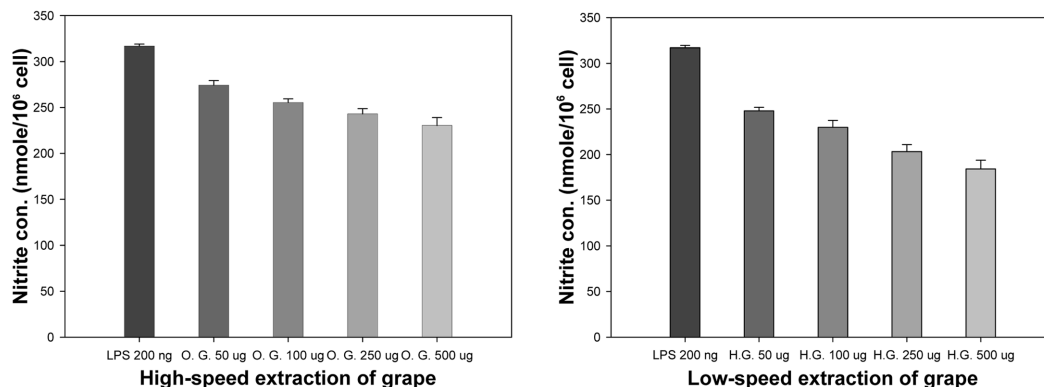


Fig. 4. Nitrate (NO) radical scavenging activity of grape juice by high- and low-speed juicer.

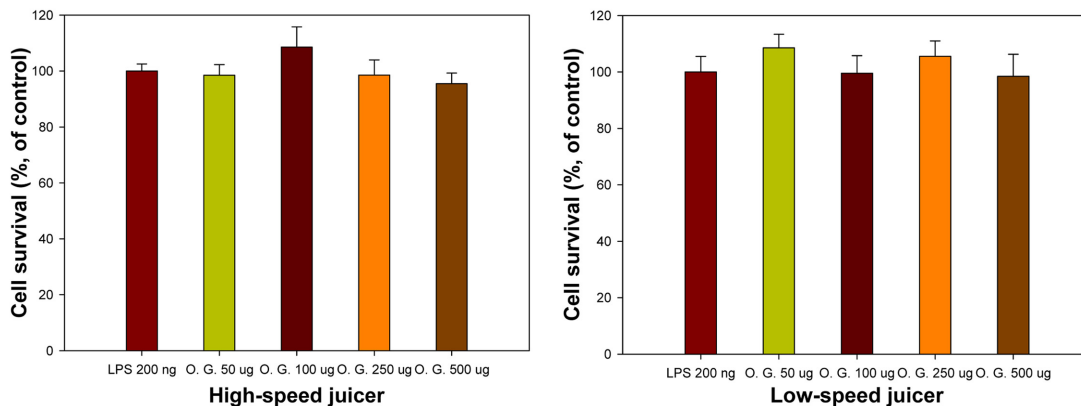


Fig. 5. Cell survival results of grape juice by high- and low-speed juicer.

즙 수율이 가장 높은 것은 포도였으며, 이때 착즙액의 산도 범위는 pH 3~4 범위였다. 12가지 채소와 과일 시료 중 protease (Hut, SAP, Plant) 효소활성이 높은 것은 키위와 자몽이었으며, 과일 착즙액의 효소활성은 비교군 대비 매우 높은 수준의 효소 활성을 확인할 수 있었다. 총 polyphenol 함량 또한 표준물질인 gallic acid와 비교했을 때 4가지 과일 시료 (자몽, 키위, 포도, 귤) 중에서 키위와 자몽의 함량이 높은 것으로 나타났으며, 자몽 1 mg/ml은 표준물질인 gallic acid에 비하여 0.093 mg/ml, 키위는 0.086 mg/ml에 해당하였다. 과일 착즙액의 항산화능을 비교해 본 결과 DPPH, SOD radical 소거능 모두에서 높은 항산화 활성을 보여주었으며, 키위, 자몽, 포도, 토마토, 귤 등의 활성이 매우 높은 것으로 조사 되었다. 저속 착즙기와 고속착즙기로 비교해 보았을 때 저속 착즙기의 항산화 활성이 높은 것으로 나타났으며, 이는 저속 착즙기를 이용하여 과일 착즙하였을 때 polyphenol 함량이 높기 때문으로 판단된다. 12가지 채소와 과일 시료 중 포도 시료를 고속 착즙기와 저속착즙기로 각각 착즙하여 Raw 264.7 세포주에 50 g, 100 g, 250 g, 500 g 농도로 처리하여 세포 독성을 검사한 결과 모든 농도범위에서 세포독성을 나타내지 않았다. 한편 Raw 264.7 세포주에 LPS 200 ng 을 처리하여 NO 생성 억제 효과를 측정하였는데 저속 착즙 포도 시료 50 g에서는 15.5%, 100 g에서는 21.2%, 250 g에서는 28.0%, 500 g에서는 35.6%의 NO 생성이 감소되었으며, 고속 착즙기의 포도 시료 50 g에서는 10.3%, 100 g에서는 15.2%, 250 g에서는 19.2%, 500 g에서는 24.5%의 NO 생성이 감소되었으며, 저속 착즙기의 포도 시료가 고속 착즙기의 포도 시료보다 NO 생성 감소율이 높은 것으로 확인되었다. 이 같은 결과로 보았을 때 12가지 과일 시료는 항산화 활성과 항염 활성이 매우 높은 것으로 판단되며, 신선한 채소와 과일주스의 섭취는 건강증진에 매우 유익함을 알 수 있다. 높은 항산화 활성과 염증 완화에 도움을 주는 채소와 과일을 주스의 형태로 착즙하여 마실 경우 착즙기에 따라 섭취할 수 있는 polyphenol의 양이 다르므로 착즙기의 선택에도 주의를 할 필요가 있다. 주스의 경우 풍미나 기호도 등도 무척 중요한 변수로서 간주해야 하며 [8], 신선한 주스의 경우 미생물의 오염에 의한 품질 저하와

위생 문제가 발생할 여지가 있으므로 이 부분에 대한 연구가 필요하다. 마지막으로 착즙 이후 남은 고형물인 퓨레 (puree)를 활용하는 적절한 방안이 강구된다면 환경적 측면에서도 좋을 것으로 판단된다. 따라서 착즙기와 착즙액 그리고 퓨레의 활용방안에 대한 보다 광범위한 추가 연구가 필요하다고 사료된다.

Acknowledgements

이 논문은 2014학년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었습니다.

REFERENCES

1. Pearson, D. A., H. T. Christine, J. B. German, P. A. Davis, and M. E. Gershwin (1999) Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation. *Life Sci.* 64: 1913-1920.
2. Gorinstein, S., H. Leontowicz, M. Leontowicz, R. Krzeminski, M. Gralak, O. Martin-Belloso, E. Delgado-Licon, R. Haruenkit, E. Katrich, Y. S. Park, S. T. Jung, and S. Trakhtenbergr (2004) Fresh Israeli Jaffa blond (Shamouti) orange and Israeli Jaffa red Star Ruby (Sunrise) grapefruit juices affect plasma lipid metabolism and antioxidant capacity in rats fed added cholesterol. *J. Agric. Food Chem.* 52: 4853-4859.
3. Gorinstein, S., H. Leontowicz, M. Leontowicz, R. Krzeminski, M. Gralak, E. Delgado-Licon, A. Leticia, M. Ayala, E. Kartrich, and S. Trakhtenberg (2005) Changes in plasma lipid and antioxidant activity in rats as a result of naringin and red grapefruit supplementation. *J. Agric. Food Chem.* 53: 3223-3228.
4. Frontela-Saseta, C., R. Lopez-Nicolas, C. A. Gonzalez-Bermudez, P. Peso-Echarri, G. Ros-Berruazo, C. Martinez-Gracia, R. Canali, and F. Virgili (2011) Evaluation of antioxidant activity and antiproliferative effect of fruit juices enriched with Pycnogenol[®] in colon carcinoma cells. The effect of in vitro gastrointestinal digestion. *Phytother. Res.* 25: 1870-1875.

5. Tiwari, A. K., K. S. Readdy, J. Radhakrishnan, D. A. Kumar, A. Zehra, S. B. Agawane, and K. Madhusudana (2011) Influence of antioxidant rich fresh vegetable juices on starch induced postprandial hyperglycemia in rats. *Food Funct.* 2: 521-528.
6. Carbonell-Barrachina, A.A., A. Calin-Sanchez, B. Bagatar, F. Hernandez, P. Legua, R. Martinez-Font, and P. Melgarejo (2012) Potential of Spanish sour-sweet pomegranates (cultivar C25) for the juice industry. *Food Sci. Technol. Int.* 18: 129-138.
7. Proteggente, A. R., A. Saija, A. D. Pasquale, and C. A. Rice-Evans (2003) The compositional characterisation and antioxidant activity of fresh juices from sicilian sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) varieties. *Free Radic. Res.* 37: 681-687.
8. Baldwin, E. A., J. Bai, A. Plotto, R. Cameron, G. Luzio, J. Narciso, J. Manthey, W. Widmer, and B. L. Ford (2012) Effect of extraction method on quality of orange juice: hand-squeezed, commercial fresh squeezed and processed. *J. Sci. Food Agric.* 92: 2029-2042.
9. Lee, M. H., M. S. Kim, H. G. Shin, and H. Y. Sohn (2011) Evaluation of antimicrobial, antioxidant, and antithrombin activity of domestic and vegetable juice. *Korean J. Microbial. Biotechnol.* 39: 146-152.
10. Jin, Y. R., S. N. Yu, K. Y. Kim, S. H. Kim, S. K. Park, H. K. Kim, Y. S. Lee, Y. L. Choi, J. H. Ji, and S. C. Ahn (2013) Production and characterization of alkaline protease of *Micrococcus* sp. PS-1 Isolated from Seawater. *J. Life. Sci.* 23: 273-281.
11. Misaki, Y., S. Kazuo and M. Mitsuo (1984) Purification and properties of acid protease from *Monascus* sp. *Agric. Biol. Chem.* 48: 1637-1639.
12. Cha, J. Y., Y. S. Kim, H. Y. Ahn, K. E. Eom, S. J. Heo, and Y. S. Cho (2010) Bioactive and chemical properties by silkworm (*Bombyx mori* L.) power degradation with kiwifruit papaya, pineapple and pear juice. *J. Life Sci.* 20: 1718-1724.
13. Cho, E. H., A. R. Choi, S. J. Choi, S. Y. Kim, G. S. Lee, S. S. Lee, and H. J. Chae (2009) α -Amylase activity of radish and stability in processing. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 812-815.
14. Chattopadhyay, G. K., A. K. Verma, A. K. Sengupta, S. K. Das, and S. Raji Urs (2004) α - and β -Amylase isozyme expresser native proteins in tropical silkworm *Bombyx mori* L. *Int. J. Ind. Etimol.* 8: 189-194.
15. Manian, R., N. Anusuya, P. Siddhuraju, and S. Manian (2008) The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chem.* 107: 1000-1007.
16. Choi, M. H., M. J. Min, D. S. Oh, and H. J. Shin (2013) Antimicrobial and antioxidant activity of *Camellia japonica* extracts for cosmetic applications. *KSB J.* 28: 99-105.
17. Cho, J. Y., S. H. Ji, K. H. Lee, K. H. Jung, and K. H. Park (2008) A novel benzoyl glucoside and phenolic compounds from the leaves of *Camellia japonica*. *Food Sci. Biotechnol.* 17: 1060-1065.
18. Kang, Y. H., Y. K. Park, and G. D. Lee (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean. J. Food Sci. Technol.* 28: 232-239.
19. Sdiri, S., A. Bermejo, P. Aleza, P. Navarro, and A. Salvador (2012) Phenolic composition, organic acids, sugars, vitamin C and antioxidant activity in the juice of two new triploid late-season mandarin. *Food Res. Int.* 49: 462-468.
20. Jirum, J., A. Sangdee, and P. Srihanam (2013) Phytochemical and biological activities in fresh juice extracts of wild grape (*Ampelocissus martini* Planch.) fruits. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm.* 4: 337-341.
21. Song, H. P., D. H. Kim, C. Jo, C. H. Lee, K. S. Kim, and M. W. Byun (2006) Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and antioxidant activity of fresh vegetable juice. *Food Microbiol.* 23: 372-378.
22. Arena, E., B. Fallico, and E. Maccarone (2001) Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. *Food Chem.* 74: 423-427.
23. Van der Sluis, A. A., M. Dekker, G. Skrede, and W. M. F. Jongen (2002) Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple Juice. 1. Effect of existing production methods. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7211-7219.
24. Sanchez-Moreno, C., L. Plaza, B. de Ancos, P. M. Cano (2003) Effect of high-pressure processing on health-promoting attributes of freshly squeezed orange juice (*Citrus sinensis* L.) during chilled storage. *Eur. Food Res. Technol.* 216: 18-22.
25. Van der Sluis, A. A., M. Dekker, A. de jager, and W. M. F. Jongen (2001) Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3606-3613.
26. Kim, I. H., A. S. Om, J. H. Kim, and H. R. Kim (2013) Screening of ethanol extracts of Korea fruits and vegetables for cell viability and antioxidant enzyme activity on Alloxan-induced oxidative stress in pancreatic beta cell. *J. Life Sci.* 23: 273-281.
27. Kim, M. J. and E. J. Park (2011) Feature analysis of different *in vitro* antioxidant capacity assays and their application to fruit and vegetable samples. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 40: 1053-1062.
28. Ristic, A. K., T. S. Rajic N., Kardum, and M. Hlibetic (2013) Biological activity of *Aronia melanocarpa* antioxidants pre-screening in an intervention study design. *J. Serb. Chem. Soc.* 78: 429-443.
29. Shin, J. H., K. S. Kang, J. Y. Kim, S. Z. Kim, J. Y. Park, E. K. Kwak, and Y. K. Sohn (2002) Lipopolysaccharide/Interferon-gamma induced nitric oxide production in C6 glioma cells: Modulation by dexamethasone. *Korean J. Pathol.* 36: 406-411.
30. Dawson, T. Z., V. Dawson, and S. Sanyder (1994) Nitric oxide: cellular regulation and neuronal injury. *Prog. Brain Res.* 103: 365-369.
31. Shindal, J. and I. R. Whittle (2001) Nitric oxide and glioma: a target for novel therapy? *Br. J. Neurosurg.* 15: 213-220.
32. Hur, S. G., S. S. Kim., Y. H. Heo, S. M. Ah, B. G. Lee, and S. K. Lee (2001) Effects of the grapevine shoot extract on free radical scavenging activity and inhibition of pro-inflammatory mediator production in RAW 264.7 macrophage. *J. Appl. Pharmacol.* 9: 188-193.
33. Lee, D. K., K. P. Lee, H. Kim, B. J. Choi, H. R. Chang, and W. H. Park (2008) Effect of the ethanol extract of *Vitis labrusca* root on apoptosis in Hep G2 cells. *Korean J. Ori. Med. Physiol. Pathol.* 22: 377-384.
34. Bagchi, M., S. J. Stohs, D. K. Das, S. D. Ray, C. A. Kuszynski, S. S. Joshi, and H. G. Pruess (2000) Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 148: 187-197.