

pH 조절제를 이용한 농축 블루베리주스 열처리 시 품질저하억제

이인경 · 민세철¹ · 김희선² · 한귀정² · 김명환*

단국대학교 식품공학과, 서울여자대학교 식품공학과¹, 농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부²

Prevention of quality deterioration of concentrated blueberry juice by means of pH regulators during thermal treatment

In Gyeong Lee, Seo Cheol Min¹, Hee Sun Kim², Gwi Jung Han², and Myung Hwan Kim*

Department of Food Engineering, Dankook University

¹Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University

²National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration

Abstract This study was conducted to minimize the quality degradation of concentrated blueberry juice after 90°C treatment for 5 min by means of citric acid (CA) and acidic sodium metaphosphate (ASM) as pH modifiers. The highest anthocyanin content was observed at 1% CA+1% ASM (65.747 mg per 100 g) followed by 1% CA (46.022 mg per 100 g) and control (30.864 mg per 100 g). The DPPH radical scavenging activities of 1% CA+1% ASM, 1% CA and control were 87.338, 75.486 and 67.983% in respectively. The elastase inhibitory activity at 1% CA+1% ASM, 1% CA and in the control was 87.338, 75.486 and 67.983%, and the tyrosinase inhibitory of these samples were 77.891, 67.598 and 26.375%, respectively. Anthocyanin contents, DPPH radical scavenging, elastase inhibitory and tyrosinase inhibitory activities were significantly different ($p<0.05$) between the 1% CA+1% ASM treatment and control. During the heat treatment, quality degradation of concentrated blueberry juice was reduced by the 1% CA+1% ASM treatment, as expected for new acidulants.

Keywords: concentrated blueberry juice, citric acid, acidic sodium metaphosphate, anthocyanin, heat treatment

서 론

블루베리는 진달래과(Ericaceae)의 산앵두나무속(*Vaccinium*)에 속하는 관목성 식물로서 전 세계적으로 400여 종이 있으며 하이부시 블루베리(*Vaccinium corymbosum*), 로우부시 블루베리(*Vaccinium myrtillus*) 및 래빗아이 블루베리(*Vaccinium ashei*) 등 세 종류가 상업적으로 중요한 품종으로서 재배되고 있다(1). 안토시아닌을 다량 함유하고 있는 블루베리는 국제연합식량농업기구(FAO)가 다섯 가지 건강식품 중의 하나로 선정하였으며 현재까지 밝혀진 600여 종의 안토시아닌 중 블루베리에는 25가지 이상의 안토시아닌이 존재하며 그중 malvidin, delphinidin, petunidin 및 cyanidin이 주요 아글리콘(aglycone)이다(2). 블루베리는 여러 가지 뛰어난 생체 조절 기능성으로써 항산화(3), 항당뇨(4), 항치매(5), 활성산소라디칼의 흡수효과(6) 등을 갖는 고품질의 생리활성 소재를 함유하고 있으며 그중 안토시아닌은 심혈관 질환(7), 신경퇴행성질환(8), 암(9) 등의 만성질환에 효과적이다.

안토시아닌은 전자가 하나 부족한 매우 불안정한 화합물로서 안토시아닌의 안정성은 온도, 산소, 광선 등의 가공 및 저장조건과 효소 활성, pH, 당 농도 등의 식품의 이화학적 성질, 조색소(copigment) 및 금속이온 등에 따라 안정성이 좌우된다(10). 가공 및 저장조건에서 안토시아닌의 안정성에 미치는 중요한 인자는 온도와 pH이다(11,12). 온도에 대한 영향력으로 pH가 2.2 조건에서 가공온도를 100°C에서 165°C로 높임으로써 cyanidin-3-glucoside의 저하속도상수를 분석한 결과 101.7배가 증가하였다는 보고가 있다(12). pH에 대한 영향력으로는 pH가 낮을수록 온도에 따른 안토시아닌 저하속도상수가 작아진다고 보고하였으며 pH가 6.0 이상에서는 온도에 대한 민감성이 급격히 나타난다고 하였다(12).

구연산(citric acid)은 베리류 가공공정에서 산미료(acidifier)로써 많이 이용되고 있는데 주목적은 가공공정에서 pH저하를 통한 polyphenoloxidase (PPO)억제와 PPO 활성부위에 Cu^{2+} 결합을 하여 갈변현상을 억제하는 것이다(13). 산성메타폴리인산나트륨(acidic sodium metaphosphate)은 식품의 pH저하 및 완충작용을 주목적으로 하는 첨가물로서 금속이온 봉쇄작용(chelating)과 아울러 갈변억제의 효능을 지니고 있는 식품첨가물이다.

본 연구의 목적은 농축 블루베리주스를 제조 시 구연산 또는 산성메타인산나트륨을 산미료로써 이용하여 열처리과정에서 블루베리의 폴리페놀과 안토시아닌과 같은 기능성 성분의 농도와 산화방지활성, 탄력성, 주름제거 및 미백 활성 등의 저하를 최소화시키는데 있다.

*Corresponding author: Myung Hwan Kim, Department of Food Engineering, Dankook University, Cheonan, Chungnam 31116, Korea

Tel: +82-41-529-3563

Fax: +82-41-559-7868

E-mail: kmh1@dankook.ac.kr

Received June 17, 2016; revised July 20, 2016;

accepted July 21, 2016

재료 및 방법

실험재료

블루베리는 하이부시품종으로 농촌진흥청으로부터 제공받았으며 백설탕(Cheiljedang, Incheon, Korea), 구연산(Samchun, Kyeonggi, Korea) 및 산성메타폴리인산나트륨(SDBNI, Kyeonggi, Korea)은 각각 구입하여 사용하였다.

시료 전처리

시료를 1% (w/v)의 구연산이 포함된 설탕용액(40°Bx)에 실온에서 1분 30초간 침지시킨 후 꺼내서 지퍼 백에 100 g 단위로 개별 포장하여 deep freezer (Ilshinlab, Kyeonggi, Korea)에 -70°C로 저장하였다. 이때 구연산과 설탕용액 농도 및 침지시간은 예비실험을 통하여 최적조건을 설정한 것이다.

농축블루베리주스 제조

전처리한 시료를 microwave를 이용하여 3분간 해동한 다음 녹즙기(NJE-3520, NCU, Daegu, Korea)로 갈은 후 산성메타폴리인산나트륨 1% (w/v)을 첨가하였으며 농도조절은 관능검사를 통하여 신맛 정도가 5% 내에서 유의성차이가 나타나지 않은 범위로 정하였다. 원심분리기(UNION55R, Hanil Science Industrial, Incheon, Korea)를 이용하여 4000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 얻은 상층액만을 취하여 총 부피를 600 mL로 맞췄다. 시료는 감압 농축기(BUCHI rotavapor R-124 and BUCHI water bath B-480, Flawil, Switzerland)로 40°C에서 40°Bx까지 농축하였다. 농축한 블루베리주스의 열처리는 100 mL의 유리병(Duran, Seoul, Korea)에 담은 후 90°C autoclave (Vision scientific, Kyeonggi, Korea)에서 5분간 진행하였다.

pH 측정

pH meter (HI 2211 PH/ORP Meter, HANNA Instruments, Seoul, Korea)를 사용하여 pH를 측정하였다.

색가 측정

시료의 색가는 흡광도가 0.3-0.7의 범위가 되도록 pH 3.0의 구연산 인산나트륨 완충액을 가하여 10 mL로 한 것을 시험용액으로 하였다. pH 3.0의 구연산 인산나트륨 완충액을 대조액으로 하여 액 층 1 cm, 파장 500-540 nm 부근의 극대흡수파장에서 시험용액의 흡광도를 측정하여 다음 식에 따라 색가를 구하였다(14).

$$\text{Color value (E 10\%, 1 cm)} = \frac{A \times 10}{B}$$

A: Absorbance of sample

B: Weight of sample (g)

색도 측정

각 시료에 대한 색도는 색차계(CR-410, Minolta Co., Osaka, Japan)를 이용하여 각각의 L, a, b값을 측정하였다. 색차계의 색도 보정을 위해 사용된 calibration plate (No. 21933148)의 L (lightness), a (redness), b (yellowness) 값은 각각 98.34, -0.17, 1.45이었다.

총 폴리페놀함량 측정

총 폴리페놀 함량은 폴린-덴시(Folin-Denis) 방법(15)에 따라 각 제조한 시료 0.1 mL와 DW 3.9 mL를 취한 후 폴린-시오칼도 페놀 시약(Folin-Ciocalteu's phenol reagent) 500 μ L를 가하여 혼합하

였다. 5분 후에 포화 탄산소듐(Na_2CO_3) 0.5 mL를 혼합하여 30분간 암소에 방치하였다가 UV-visible spectrophotometer (Optizen pop, Mecasys, Seoul, Korea)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀함량을 구하기 위해 표준물질 갈산(gallic acid) (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA)를 사용하여 표준검량곡선으로부터 함량을 구하였다.

총 안토시아닌 함량 측정

총 안토시아닌 함량은 Lee 등(16)의 pH differential method에 따라 측정하였다. 각 시료 0.1 mL에 1,900 μ L의 pH 1.0 buffer (0.2 M KCl+0.2 M HCl)와 1,900 μ L의 pH 4.5 buffer (0.2 M potassium phosphate+0.2 M citric acid)를 각각 가하여 최종부피를 2 mL로 한 다음 520 nm 및 700 nm에서 반응액의 흡광도를 각각 측정하였다. 총 안토시아닌의 함량은 cyanidin-3-glucoside의 몰 흡광계수($\epsilon=26,900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 다음의 식에 따라 산출하였다.

$$\text{Total anthocyanin contents (mg/100 g)} = \frac{A \times \text{MW} \times 1000 \times V}{\epsilon}$$

A (absorbance value)

= (A510 nm - A700 nm) pH 1.0 - (A510 nm - A700 nm) pH 4.5

MW (molecular weight of cyanidin-3-glucoside): 449.2

ϵ (cyanidin-3-glucoside molar absorbance): $26,900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

V: Final volume of sample (mL)

DPPH radical 소거능 측정

산화방지능을 측정하기 위하여 2,2-다이페닐-1-피크릴-하이드라질 (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl, DPPH)의 환원에 의한 자유 라디칼 소거능력을 측정하였다(17). 각 시료용액을 각각 0.3 mg씩 2.0×10^{-4} M DPPH methanol solution 2.5 mL에 첨가하여 최종반응액이 2.8 mL가 되도록 하였다. 10초간 진탕하여 상온에서 30분 반응시킨 후 UV-visible spectrophotometer (Optizen pop)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 얻은 결과는 대조구에 대한 소거능력(%)으로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: Absorbance of sample

B: Absorbance of control

SOD-like 활성능 측정

Superoxide dismutase (SOD)-like 활성능은 Marklund and Gudrun (18)의 방법을 변형하여 사용하였다. 일정농도의 시료 0.2 mL, tris-HCl buffer (50 mM tris-hydroxymethyl aminomethane+10 mM EDTA, pH 8.5로 보정) 3 mL, 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응시키고 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며 SOD-like 활성능은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율로 나타내었다. SOD-like 활성 능은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{SOD-like activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: Absorbance of sample

B: Absorbance of blank

Hydroxyl radical 소거능 측정

Hydroxyl radical 소거능은 Guttridge(19)의 방법에 따라 Fenton 반응에 의한 2-deoxyribose가 hydroxyl radical에 의해 산화되어 malonaldehyde로 변환된 후 chromagen을 형성하는 정도를 측정하는 방법을 이용하였다. 2.8 mM 2-deoxy-D-ribose와 1.4 mM H₂O₂를 함유하는 10 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) 일정량의 증류수에 녹인 각각의 시료와 premix 된 EDTA/FeCl₂ (100 μM EDTA pH 7.0, 20 μM FeCl₂)를 첨가하여 최종반응 액이 2.0 mL가 되게 한 후 37°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 10% trichloroacetic acid (TCA)로 반응을 중지시키고 1% thiobarbituronic acid (TBA)와 잘 혼합하여 95°C에서 20분간 반응시킨 후 실온에서 냉각하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 같은 시료로 반응 시간 없이 동일한 과정을 반복하였고 대조구는 시료 대신 증류수를 이용하여 동일한 방법으로 수행하였다. 각 시료에 대한 hydroxyl radical 소거능(%)은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Hydroxyl radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A-B}{C-D}\right) \times 100$$

- A: Absorbance of sample (4 hr)
- B: Absorbance of sample (0 time)
- C: Absorbance of blank (4 hr)
- D: Absorbance of blank (0 time)

Hydrogen peroxide 소거능 측정

Hydrogen peroxide 소거능은 Muller(20)의 방법에 따라 시료 0.2 mL에 phosphate buffer (pH 5.0, 0.2 M) 1 mL, 1 mM H₂O₂ 0.2 mL를 넣어 37°C에서 5분간 반응시켰다. 그 후 1.25 mM ABTS 0.3 mL와 PBS에 녹인 1u/mL peroxidase 0.3 mL를 넣고 혼합한 후 37°C에서 10분간 반응시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 이용하여 동일한 방법으로 수행하였다. 각 시료에 대한 hydroxyl radical 소거능(%)은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Hydrogen peroxide scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

- A: Absorbance of sample
- B: Absorbance of control

Elastase 억제활성 측정

Elastase 억제활성 측정 James 등(21)의 방법에 따라 0.2 M tris-HCl buffer 용액(pH 8.0) 2 mL에 0.8 mM N-succinyl-(Ala)₃-p-nitroaniline 0.1 mL 및 시료 0.2 mL를 가한 후 25°C에서 5분간 반응시킨 다음 elastase (pancreatic from porcine pancreas, Type IV, 6 units/mg protein, 1 μg/mL, Sigma-Aldrich) 0.2 mL를 가하여 410 nm에서 0 time에서의 흡광도를 측정한 후 다시 25°C에서 20분간 반응한 후 얼음물 냉침으로 반응을 정지한 후 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 buffer 용액을 사용하였다. 각 시료에 대한 elastase 억제활성(%)은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Elastase inhibition activity (\%)} = \left(1 - \frac{A-B}{C-D}\right) \times 100$$

- A: Absorbance of sample (20 min)
- B: Absorbance of sample (0 min)
- C: Absorbance of blank (20 min)
- D: Absorbance of blank (0 min)

Tyrosinase 억제활성 측정

Tyrosinase 억제활성은 dopachrome법(22)을 이용하여 분광광도계로 측정하였다. 0.2 M potassium phosphate buffer (pH 6.5) 2 mL 및 2 mM L-tyrosine 0.2 mL의 혼합액에 시료 0.2 mL를 첨가하였다. 여기에 mushroom tyrosinase (100 units/mL, ≥1000 unit/mg solid, EC 1.14.18.1, Sigma-Aldrich) 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료에 대한 tyrosinase 억제활성(%)은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition activity (\%)} = \left(1 - \frac{A-B}{C}\right) \times 100$$

- A: Absorbance of sample
- B: Absorbance of sample without enzyme
- C: Absorbance of blank

통계처리

본 실험결과는 3반복으로 수행된 평균값과 표준편차로 나타내었고 SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) program을 이용하여 분산분석(ANOVA)한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 하여 처리군 간의 유의성 검정을 하였다.

결과 및 고찰

블루베리 농축주스의 pH

열처리한 블루베리 농축주스의 pH 측정 결과는 Table 1과 같다. 대조군이 2.67로 가장 높았으며 40°Bx+1% CA (구연산) 처리군에서 2.60으로 두 시료 간에 큰 변화는 없었고, 40°Bx+1% CA+1% ASM (산성메타폴리인산나트륨) 처리군이 1.61로 가장 작은 값을 나타내었다. 하이드록시기(-OH)를 가지는 다당기 카복실산인 CA는 약한 유기산으로서 pH 저하제의 역할을 못하는 것으로 나타났으며 식품갈변방지 및 비타민C 안정제 등으로 이용되는 ASM은 pH 감소에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. pH 조절(modulation)은 phenolic 화합물의 이성화, 분자 내부와 상호간의 공액 색소화(co-pigmentation) 및 자가 결합(self-association) 등의 화학반응에 영향을 미친다(23).

블루베리 농축주스의 색가 및 색도

열처리한 블루베리 농축주스의 색가 및 색도를 측정된 결과는 Table 2와 같으며 색가는 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군이 54.672로 가장 높았고 40°Bx+1% CA 처리군이 33.034, 대조군이 22.083의 순으로 나타났으며, 세 처리군 간에 5% 내에서 유의적 차이를 보였다. 색가 측정은 일반적으로 3-O-glucosylated 안토시아닌의 최대 흡수 파장대인 510-530 nm를(24) 이용하거나 단일 파장으로서 malvidin 3-O-glucoside의 최대 흡수 파장대인 540 nm(25)로 측정하지만 본 실험에서는 식품첨가물공전에서 파장 폭인 500-540 nm(14)의 흡수 파장 대에서의 흡광도로 분석하였으

Table 1. pH of concentrated blueberry juice after heat treatment

Sample	pH
Control	2.67
1% CA ¹⁾	2.60
1% CA+1% ASM ²⁾	1.61

¹⁾Citric acid

²⁾Acidic sodium metaphosphate

Table 2. Color value and chromaticity of concentrated blueberry juice after heat treatment

Sample	Color value	Chromaticity		
		L	a	b
Control	22.083±0.381 ^{3)c4)}	32.773±0.680 ^a	2.880±0.042 ^c	-3.393±0.029 ^c
1% CA ¹⁾	33.034±0.190 ^b	32.817±0.533 ^a	4.254±0.069 ^b	-3.134±0.065 ^b
1% CA+1% ASM ²⁾	54.672±0.109 ^a	31.548±0.871 ^b	4.433±0.064 ^a	-3.081±0.050 ^a

¹⁾Citric acid

²⁾Acidic sodium metaphosphate

³⁾Mean±SD

⁴⁾Means with different superscripts within the same columns are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 3. Phytochemical contents of concentrated blueberry juice after heat treatment

Sample	Total polyphenol contents (mg/g)	Total anthocyanin contents (mg/100 g)
Control	31.271±0.190 ^{3)b4)}	30.864±1.807 ^c
1% CA ¹⁾	32.615±0.970 ^b	46.022±1.621 ^b
1% CA+1% ASM ²⁾	35.381±0.776 ^a	65.747±1.478 ^a

¹⁾Citric acid

²⁾Acidic sodium metaphosphate

³⁾Mean±SD

⁴⁾Means with different superscripts within the same columns are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

며 안토시아닌 함량과 높은 상관관계를 가지고 있다(26).

열처리한 블루베리 농축주스의 색도의 경우 적색도를 나타내는 a 값에서도 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군이 4.433으로 가장 높았으며, 40°Bx+1% CA 처리군이 4.254, 대조군이 2.880으로 나타났고 색가와 마찬가지로 세 처리군 간에 5% 내에서 유의적 차이를 보였다. 명도를 나타내는 L 값은 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군이 가장 검게 나타났으며 40°Bx+1% CA 처리군 또는 대조군과 5% 내에서 유의적 차이를 보였다. 황색도인 b 값의 경우 대조구가 -3.393으로 가장 청색에 가까웠으며 40°Bx+1% CA 처리군, 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군 순으로 나타났으며 세 처리군 간에 5% 내에서 유의적 차이를 보였다.

본 결과를 통해 블루베리 농축주스의 경우 높은 안토시아닌 함량을 나타내는 지표로 이용되는 높은 값의 색가(26)와 색도에서는 낮은 L 값과 높은 a 값(27)을 기준으로 볼 때 블루베리 농축주스의 열처리과정에서 ASM은 pH를 낮춤으로써 색가와 색도의 저하를 억제하는 역할을 하는 것으로 확인되었다.

블루베리 농축주스의 총 폴리페놀 및 안토시아닌 함량

열처리한 블루베리 농축주스의 총 폴리페놀 함량과 안토시아닌 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 총 폴리페놀 함량에서는 대조군과 40°Bx+1% CA 처리군의 결과 값이 각각 31.271

mg/mL와 32.615 mg/mL로 유의적 차이가 없었으며, 40°Bx+1% CA+1% ASM의 결과 값은 35.381 mg/mL로 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 보였으며 다른 두 시료와는 5% 내에서 유의적 차이가 있었다. 안토시아닌은 열에 민감하여 블랙베리 푸레 제조 과정에서 95°C에서 3분간 열처리 시 43%의 함량감소가 일어났다는 연구 결과가 있다(28). 총 안토시아닌 함량에서는 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군이 65.747 mg/100 g으로 가장 높은 값을 보였으며, 40°Bx+1% CA 처리군, 대조군 순으로 각각 46.022, 30.864 mg/100 g으로 나타났고 세 처리군 간에 5% 내에서 유의적 차이가 있었다. 이 결과를 통해 ASM 처리가 열처리 과정에서 총 폴리페놀과 안토시아닌 함량 감소를 억제시킬 수 있음을 확인 할 수 있었다.

블루베리 농축주스의 산화방지 활성

열처리한 블루베리 농축주스의 산화방지 활성을 측정한 결과는 Table 4와 같다. DPPH는 천연소재로부터 산화방지 활성을 분석하는데 많이 이용되며 비교적 안정한 free radical로서 산화방지제, 방향족 아민류 등에 환원되어 색이 탈색되는 원리를 이용하여 측정하게 된다. 대조군의 DPPH radical 소거능은 67.983%, 40°Bx+1% CA 처리군은 75.486%, 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군은 87.338%의 값을 나타내었으며 세 처리군 간에 5% 내에서 유의적 차이를 보였다. 이상의 결과에서 총 폴리페놀과 안토시아닌 함량이 가장 높았던 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군 (Table 3)에서 산화방지능인 DPPH radical 소거능 역시 가장 높은 결과 값을 보이는 것을 확인 할 수 있었다.

SOD (superoxide dismutase)는 생체 내에서 O²⁻ (superoxide)의 소거에 관여하는 효소이며 생체 내에서 생성된 활성 산소는 체 내에서 산화적 장애를 초래하게 되므로 이러한 현상의 억제정도를 분석하기 위하여 SOD-like activity를 측정하게 된다. SOD-like activity 측정한 결과 대조군과 40°Bx+1% CA 처리군은 각각 14.520와 14.188%로 유의적 차이를 보이지 않았으나 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군이 23.953%로 가장 높은 결과를 보였으며 다른 두 시료와 5% 내에서 유의적 차이를 나타내었다.

Hydrogen peroxide (H₂O₂) 소거활성에서는 대조군, 40°Bx+1%

Table 4. Antioxidant activities of concentrated blueberry juice after heat treatment

Sample	DPPH radical scavenging	SOD-like activity	Hydrogen peroxide scavenging	Hydroxyl radical scavenging
Control	67.983±0.059 ^{3)c4)}	14.520±2.642 ^b	72.568±0.039 ^c	36.234±3.695 ^b
1% CA ¹⁾	75.486±0.087 ^b	14.188±8.078 ^b	81.988±0.100 ^b	52.307±9.137 ^a
1% CA+1% ASM ²⁾	87.338±0.891 ^a	23.953±8.388 ^a	94.544±0.320 ^a	58.180±7.455 ^a

¹⁾Citric acid

²⁾Acidic sodium metaphosphate

³⁾Mean±SD

⁴⁾Means with different superscripts within the same columns are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 5. Elastase inhibition activity of concentrated blueberry juice after heat treatment

Sample	Elastase inhibition activity
Control	26.063±0.789 ³⁾⁴⁾
1% CA ¹⁾	26.336±0.411 ^b
1% CA+1% ASM ²⁾	28.285±0.299 ^a

¹⁾Citric acid²⁾Acidic sodium metaphosphate³⁾Mean±SD⁴⁾Means with different superscripts within a column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.**Table 6. Tyrosinase inhibition activity of concentrated blueberry after heat treatment**

Sample	Tyrosinase inhibition activity
Control	26.375±0.280 ³⁾⁴⁾
1% CA ¹⁾	67.598±2.191 ^b
1% CA+1% ASM ²⁾	77.891±4.352 ^a

¹⁾Citric acid²⁾Acidic sodium metaphosphate³⁾Mean±SD⁴⁾Means with different superscripts within a column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

CA 처리군, 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군의 결과 값이 각각 72.568, 81.988, 94.544%로 나타났으며 세 처리군 간에 5% 내에서 유의성 차이를 보였다. DPPH radical 소거능과 비슷한 결과를 보였으며 역시 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군에서 가장 높은 hydrogen peroxide 소거활성을 보였다.

Hydroxyl radical 소거활성의 경우 대조군은 36.234%로 가장 낮았으며 40°Bx+1% CA 처리군과 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군에서는 각각 52.307와 58.180%로 ASM 처리군이 가장 높았다.

본 연구결과 열처리 과정에서 ASM 처리가 산화방지 활성저하를 억제하여주는 역할을 하는 것으로 나타났다.

블루베리 농축주스의 elastase 억제활성

Elastase는 진피 내 피부탄력을 유지하는 데 중요한 기질 단백질인 엘라스틴을 분해하는 효소이며 다른 중요 단백질인 콜라겐을 분해할 수 있는 비특이적 가수분해효소이다. 따라서 elastase 억제활성은 피부 탄력성과 주름을 개선하는 작용을 한다(29). 열처리한 블루베리 농축주스의 elastase 억제활성 측정 결과(Table 5) 대조군과 40°Bx+1% CA 처리군의 결과 값이 각각 26.063%와 26.336%로 유의성 차이는 보이지 않았다. 반면에 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군은 28.285%로 다른 두 시료 보다 높은 결과 값을 보였으며 5% 내에서 유의적으로 차이가 나타났다.

블루베리 농축주스의 tyrosinase 억제활성

Melanogenesis는 여러 단계의 연속적인 반응을 통하여 melanin을 생성하며 특히 첫 단계를 진행하는 tyrosinase가 가장 중요한 역할을 하는 rate-limiting 효소로 알려져 있다. 과도한 melanin의 생성은 피부질환의 원인이 되고 주근깨, 기미 등과 같은 문제를 야기 시킴으로써 다양한 tyrosinase 억제제의 개발이 활발히 진행되고 있다(30). 열처리한 블루베리 농축주스의 tyrosinase 억제활성을 측정된 결과는 Table 6과 같으며 대조군의 tyrosinase 억제활성 측정결과 값은 26.375%, 40°Bx+1% CA 처리군은 67.598%, 40°Bx+1% CA+1% ASM 처리군은 77.891% 순으로 가장 높게 나

타났으며 세 처리군 간에 유의적 차이를 보였다. 이 결과를 통해 CA 또는 ASM처리가 열처리과정에서 tyrosinase 억제 활성의 감소를 억제시킬 수 있음을 확인하였다.

요 약

본 연구는 농축 블루베리주스를 제조 시 구연산(CA) 또는 산성메타인산나트륨(ASM)을 산미료로써 이용하여 열처리과정에서 블루베리의 폴리페놀과 안토시아닌과 같은 기능성 성분농도와 산화방지활성, elastase 억제활성 및 tyrosinase 억제활성 등의 저하를 최소화시키는데 있다. 열처리한 농축 블루베리주스의 색가는 1% CA+1% ASM 처리군이 54.672로 가장 높았고, 1% CA 처리군이 33.034, 대조군이 22.083의 순으로 나타났다. 총 안토시아닌 함량에서도 1% CA+1% ASM 처리군이 65.747 mg/100 g, 1% CA 처리군, 대조군 순으로 각각 46.022, 30.864 mg/100 g으로 나타났다. 산화방지활성으로써 DPPH radical 소거능의 경우 대조군은 67.983%, 1% CA 처리군은 75.486%, 1% CA+1% ASM 처리군은 87.338%로 나타났다. Elastase 억제활성에서는 대조군, 1% CA, 1% CA+1% ASM 처리군의 결과 값은 각각 26.063, 26.336, 28.285%로 나타났다. Tyrosinase 억제활성에서는 대조군 26.375%, 1% CA 처리군 67.598%, 1% CA+1% ASM 처리군은 77.891% 순으로 높게 나타났다. 모든 분석 치에서 대조군과 1% CA+1% ASM 처리군 간에는 5% 내에서 유의성 차이가 있었다. 본 결과를 통해 ASM처리가 열처리과정에서 기능성성분과 생리활성의 저하를 억제하여주는 역할을 하는 것으로 나타났으며 새로운 산미료로서 활용할 수 있을 것으로 기대한다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(PJ010919)의 지원에 의한 연구결과로 이에 감사드립니다.

References

- Kim TC, Bae KS, Kim IK, Chun HJ. Antioxidative activities of solvent extracts from blueberry. *J. Orient. Med. Physiol.* 19: 179-183 (2005)
- Gao L, Mazza G. Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *J. Food Sci.* 59: 1057-1059 (1994)
- Su MS, Chien PJ. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chem.* 104: 182-187 (2007)
- Martineau LC, Couture A, Spoor D, Benhaddou-Andoaloussi A, Harris C, Meddah B, Leduc C, Burt A, Vuong T, Le PM, Prentki M, Bennett SA, Amason JT, Haddad PS. Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium*. *Ait. Phytomedicine* 13: 612-623 (2006)
- Magdalini AP, Andriana D, Zachroula IL, Paul C, Dorothy K, Marigoula M, Fotini NL. Effect of a polyphenol-rich wild blueberry extract on cognitive performance of mice, brain antioxidant markers and acetylcholinesterase activity. *Behav. Brain. Res.* 198: 352-358 (2009)
- Zheng W, Wang SY. Oxygen radical absorbinding capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and ligoberries. *J. Agr. Food Chem.* 50: 502-509 (2003)
- Gsziano J, Manson JE, Branch LG, Colditz GA, Willett WC, Buring JE. A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Ann. Epidemiol.* 5: 255-260 (1995)
- Prior RL, Wu XL. Anthocyanins: Structure characteristics that

- result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radic. Res.* 40: 1014-1028 (2006)
9. Routray W, Orsat V. Blueberries and their anthocyanins: Factors affecting biosynthesis and properties. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 10: 303-320 (2010)
 10. Castaneda-Ovando A, Pacheco-Hernandez MDL, Paez-Hernandez ME, Rodriguez JA, Galan-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanin: A review. *Food Chem.* 113: 859-871 (2009)
 11. Martynenko A, Chen Y. Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. *J. Food Eng.* 171: 44-51 (2016)
 12. Sui X, Dong X, Zhou W. Combined effect of pH and high temperature on the stability and antioxidant of two anthocyanins in aqueous solution. *Food Chem.* 163: 163-170 (2014)
 13. Martinez M, Whitaker JR. The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends Food Sci. Technol.* 6: 195-200 (1995)
 14. KFDA. Korean Food Additives Codex. Seoul, Korea. pp. 929-930 (2014)
 15. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158 (1965)
 16. Lee J, Dutst RW, Wrolstad RE. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 88: 1269-1278 (2005)
 17. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200 (1958)
 18. Marklund S, Gudrun M. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutases. *Eur. J. Biochem.* 47: 469-474 (1974)
 19. Gutteridge JM. Reactivity of hydroxyl and hydroxyl like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. *Biochem. J.* 224: 761-767(1984)
 20. Muller HE. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS peroxidase medium. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A.* 259: 151-158 (1985)
 21. James AEK, Timothy DWC, Gordon L. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochem.* 35: 9090-9096 (1996)
 22. Hearing VJ. Mammalian monophenol monooxygenase (tyrosinase): Purification, properties and reaction catalyzed. *Methods Enzymol.* 142: 154-165 (1987)
 23. Torskangerpoll K, Anderson OM. Color stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chem.* 89: 427-440 (2005)
 24. He J, Giusti MM. High-purity isolation of anthocyanins mixtures from fruits and vegetables-A novel solid-phase extraction method using mixed mode cation-exchange chromatography. *J. Chrom. atogr.* 1218: 7914-7922 (2011)
 25. Guillotin S, Sanoner P, Renard CMGC. Stabilization of the color of anthocyanin in solutions by mixture with phytochemicals from apple. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 84: 96-99 (2009)
 26. Kim HS, Kang EJ, Kim WS, Kim MH. Study to find the optimal purification processing conditions of anthocyanin from *Bokbunja* Byproducts. *Food Eng. Prog.* 18: 25-31 (2014)
 27. Pan YZ, Guan Y, Wei ZF, Peng X, Li TT, Qi XL, Zu YG, Fu YJ. Flavonoid C-glycosides from pigeon leaves as color and anthocyanin stabilizing agent in blueberry juice. *Ind. Crops. Prod.* 58: 142-147 (2014)
 28. Hager TJ, Howard LR, Prior RL. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. *J. Agric. Food. Chem.* 56: 689-695 (2008)
 29. Tsuji N, Moriwaki S, Suzuki Y, Takemura Y, Imokawa G. The role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation; implication through selective inhibition of elastase activity. *Photochem. and Photobiol.* 74: 283-287 (2001)
 30. Kim SH, Ahn JH, Jeong JY, Kim SB, Jo YH, Hwang BY, Lee MK. Tyrosinase inhibitory phenolic constituents of *Smilax China* leaves. *Kor. J. Pharmacogn.* 44: 220-223 (2013)