

효소처리 노니주스와 시판 노니주스의 기능성 성분, 산화방지 활성 및 NO 생성 억제 효과

김자민¹ · 전연희² · 정용진^{2,3} · 윤경영^{1,*}

¹영남대학교 식품영양학과, ²(주)KMF, ³계명대학교 식품가공학과

Comparison of bioactive composition, antioxidant activity, and nitric oxide inhibition effect of enzyme-treated and commercial noni juice

Ja Min Kim¹, Yeon Hee Jeon², Yong Jin Jeong^{2,3}, and Kyung Young Yoon^{1,*}

¹Department of Food and Nutrition, Yeungnam University

²KMF Co.

³Department of Food Science and Technology, Keimyung University

Abstract This study was conducted to compare the functional component content, antioxidant activity, and nitric oxide (NO) inhibition effect of non-enzyme treated, enzyme-treated, and commercial noni juice samples. Enzyme-treated noni juice samples were prepared by cellulase (0.1%) and pectinase (0.1%) treatment of unripe fruits (EUN) and ripe fruits (ERN). Total polyphenol content of the noni juice samples ranged between 0.36 and 1.61 mg/mL. The EUN had the highest total polyphenol content (1.61 mg/mL), while the ERN had the highest scopoletin content (123.88 µg/mL) and the highest antioxidant activity. Nitric oxide levels in ERN and NJ5 were lower (55.95 and 60.14%, respectively) than those in other samples. Based on these observations, it was confirmed that enzyme treatment could improve the functional component content and physiological activity of noni juice. In particular, EUN prepared using the ripened noni fruit is expected to have greater utilization value due to its enhanced functionality.

Keywords: noni, enzyme treatment, antioxidant activity, NO production inhibitory effect, scopoletin

서 론

노니(*Morinda citrifolia* L.)는 꼭두서니과에 속하는 다년생 식물로 폴리네시아, 하와이, 말레이시아, 남태평양, 동남아시아 등의 열대지역에 많이 분포되어 있으며, 특히 해안가 저지대의 화산질 토양에서 주로 자생한다(Kim 등, 2017). 노니는 뿌리, 줄기, 잎, 열매 등의 식물체 전체 부위가 생리기능성을 가져 건강기능식품 및 의약품으로 사용되고 있으며, 특히 열매는 소염진통, 혈당 상승 억제, 변비 해소 및 염증해소 등 다방면에 효능이 탁월한 것으로 알려져 있다(Yoo 등, 2004). 노니 열매는 길이 3-10 cm, 너비 3-6 cm 정도로 겉면이 울퉁불퉁하고 연중 수확이 가능하다. 노니 열매는 성숙도에 따라 5단계로 구분할 수 있는데, 미숙과는 어두운 녹색으로 겉면이 매우 딱딱하며 성숙이 진행될수록 점점 부드러워지며 완숙과는 반투명한 회색으로 겉면이 매우 부드럽다(Chan-Blanco 등, 2006). 노니 열매는 다양한 2차 대사산물을 많이 함유하고 있으며, 이미 알려진 화합물은 약 100여종 이상으로 폴리페놀(polyphenol), 플라보노이드(flavonoid), 리그난(lignan), 이리도이드(iridoid), 쿠마린(coumarin), 다당류(polysaccharide), 스테

롤(sterol) 및 지방산(fatty acid) 등의 물질이 포함된다(Deng 등, 2010). 특히 스코폴레틴(scopoletin)과 담나칸탈(damnacanthal) 등의 폴리페놀물질은 노니 열매의 주요한 기능성 성분으로 잘 알려져 있다. 스코폴레틴은 쿠마린계열의 물질로 혈액 내 세로토닌 분비를 조절하고 진통완화에 효과적이며, 항균활성, 항고혈압 및 산화방지 활성을 가진다(Levand와 Larson, 1979; Chan-Blanco 등, 2006; Kim 등, 2017). 노니 열매는 주로 착즙하여 섭취되고 있으며, 과즙 역시 비타민 C 등 영양성분이 풍부하고 다양한 생리활성을 가진다(Chan-Blanco 등, 2006; Kim 등, 2017). 폴리네시아에서는 전통적으로 노니 열매를 2주 동안 저장하여 자연발효, 즉 액화시킨 후 주스형태로 착즙하여 질병 치료를 위해 응용하였다(Chan-Blanco 등, 2007). 2002년 유럽 연합에서는 노니주스를 novel food로 선정하였고, 이후 노니주스는 국제적으로 건강기능식품으로 각광받고 있다(Dussossoy 등, 2011; Kim 등, 2017). 이와 같이 노니주스의 우수성이 알려지면서 노니열매주스의 제조 및 유통이 크게 증가되고 있다. 국내에서 시판중인 대부분의 노니 착즙주스는 자연발효 후 그대로 착즙한 형태로 원액 특유의 이취가 있어 섭취에 어려움이 있다. 기호성을 높이기 위해 원액에 다른 과실 착즙액이나 감미료를 첨가하여 시판되고 있어 건강기능성이 다소 저하될 수 있는 한계를 가진다(Potterat 등, 2007). 또한 노니를 분말화 하거나 젤리 형태의 건강기능식품도 판매하기 시작했으나, 최근 노니 분말에서 금속이물이 보고되는 사례가 증가하고 있어 분말 섭취의 안정성에 대한 불안감이 대두되고 있는 실정이다. 따라서 노니 열매의 활용 확대와 시판중인 노니 열매 제품의 한계성을 극복하기 위해 새로운 가공공정을 활용한 노

*Corresponding author: Kyung-Young Yoon, Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan 38541, Korea
Tel: +82-53-810-2878
Fax: +82-53-810-4666
E-mail: yoonky2441@ynu.ac.kr
Received October 29, 2019; revised December 18, 2019;
accepted December 26, 2019

니열매 제품개발이 필요한 실정이다.

Cellulase 및 pectinase는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 펙틴 등 식물세포벽 성분을 분해하여 젖산 또는 에탄올 발효에 필요한 당을 생산한다(Park과 Kim, 2009). 또한 이들 효소는 과일주스 제조 시 여과성을 높이거나 청정화에 의한 품질향상을 위해 사용되고 있으며, 식물로부터 기능성 성분 추출 시 수율 증대에도 기여한다고 보고되어(Lee 등, 2012; Park과 Kim, 2009), 최근 새로운 가공공정으로 과실을 사용하여 천연주스나 과일주스를 제조하는 과정에서 cellulase 및 pectinase의 사용이 증가되고 있다. 따라서 본 연구는 노니주스의 생산 효율을 높이고 생리기능성을 증진시키기 위해 노니 열매에 cellulase 및 pectinase를 처리하여 노니주스를 제조하였다. 또한 제조된 효소처리 노니주스와 시판 중인 노니 착즙주스의 기능성 성분과 생리활성을 비교함으로써 향후 노니열매의 주스제조 등 식품으로써의 활용성을 증진하기 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 노니 열매 미국과 및 완숙과는 2018년 베트남에서 수확한 것을 냉동보관 하면서 시료로 사용하였다. 시판되고 있는 노니주스는 온라인을 통해 구입하여 각각 NJ1, NJ2, J3, NJ4, NJ5, NJ6으로 명명하였으며, 각 주스의 상세한 정보는 Table 1과 같다.

노니주스 제조

노니 미숙과 및 완숙과를 파쇄한 후 각각 200 g에 0.1% (w/w)의 pectinase (3500 PGU/g, Novozymes, NC, USA)와 0.1% (w/w) cellulase (700 EGU/g, Novozymes, NC, USA)를 첨가하여 55°C 항온수조(JSWB-30T, JSResearch Inc., Korea)에서 1시간 처리한 후, 착즙 및 여과하였다. 각 여과액을 20°Bx로 농축한 후, 37°C incubator (JSMI-04T, JSResearch Inc., Korea)에서 2주간 숙성하였고, 7일 후 paper filter (NO. 3, Advantec, Camlab, UK)로 여과하여 효소처리 노니 미숙과 주스(EUN) 및 효소처리 노니 완숙과 주스(ERN)를 제조하였다. 대조군으로 노니 미숙과 및 완숙과를 착즙한 여과액을 20°Bx로 농축한 후 노니 미숙과 주스(UN) 및 노니 완숙과 주스(RN)로 명명하여 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(1912)을 변형하여 측정하였다. 시료 0.1 mL에 7% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 혼합하여 3분간 반응 후, 1 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.1 mL를 가하여 30분간 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 표준물질로 이용하여 작성된 검량곡선($r^2=0.99$)을 통하여 시료의 총 폴리페놀 함량을 산출하였다.

스코폴레틴 함량 측정

스코폴레틴 함량은 Bansal과 Bansal(2015)의 방법을 활용하여 HPLC (Agilent 1260, Waldbronn, Germany)로 분석하였으며, ODS-H80 column (4.6×250 mm, YMC Co., Ltd., Kyoto, Japan)을 이용하였다. 이동상 용매로는 0.1% trifluoroacetic acid in distilled water와 0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile을 사용하였으며, 분석 시간에 따라 이동상의 조성을 변경하였다. 시료는 0.45 µm membrane filter (Milipore Co., Billerica, MA, USA)로 여과하여 사용하였고, 시료 주입량은 10 µL, 이동상의 유속은 0.8 mL/

Table 1. List of commercial noni juices used in experiment

Sample	Origin of ingredient	Country of manufacturer	Form
NJ1	Vietnam	Korea	Liquid
NJ2	Vietnam	Vietnam	Liquid
NJ3	Vietnam	Vietnam	Liquid
NJ4	Philippines	Philippines	Liquid
NJ5	Vietnam	Korea	Liquid
NJ6	Tahiti	United States of America	Liquid

min, 온도는 30°C, 검출 파장은 345 nm로 하였다.

DPPH 라디칼 소거활성

DPPH 라디칼 소거활성은 Kim 등(2019)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 용액 0.2 mL와 0.004% DPPH 용액 0.8 mL를 혼합한 후 실온의 암소에서 30분간 반응시킨 후 분광광도계(UV-1800, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능 활성은 시료 첨가군과 무첨가군을 비교하여 백분율(%)로 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거활성

ABTS 라디칼 소거활성은 Kim 등(2019)의 방법을 변형하여 측정하였다. ABTS 라디칼 형성을 위해 7.4 mM ABTS 수용액과 2.45 mM potassium persulfate 수용액을 1:1로 혼합하여 30°C 암소에서 12-16시간 방치하여 ABTS cation radical (ABTS⁺)을 형성시킨 후, 이 용액을 734 nm에서 흡광도가 1.00±0.05이 되도록 희석하여 사용하였다. 희석한 ABTS⁺ 용액 1 mL와 시료 50 µL를 혼합하여 암소에서 5분간 반응 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거활성은 시료 첨가군과 무첨가군을 비교하여 백분율(%)로 나타내었다.

세포배양

RAW 264.7 murine macrophage cell line은 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 분양받았으며, 세포 성장을 위한 기본배지로는 10% FBS와 1% penicillin을 첨가한 DMEM 배지를 사용하였다. 세포배양은 37°C 조건으로 CO₂ incubator (5% CO₂, 95% air)에 적응시켜 계대배양 하였다.

세포 생존율

Nitric oxide (NO) 측정을 위한 시료의 농도를 설정하기 위해 MTT assay를 이용하여 RAW 264.7 세포의 생존율을 확인 하였다. 즉, 세포를 5×10⁴ cells/well이 되도록 96 well plate에 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 시료 20 µL를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 각 well에 배지를 제거한 후 5 mg/mL 농도로 제조한 MTT 용액을 20 µL를 첨가하여 3시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well에 150 µL의 DMSO를 가하여 실온에서 30분간 반응시킨 뒤 microplate reader (Epoch, BioTek, Winooski, VT, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 백분율로 계산하였다.

NO 측정

RAW 264.7 세포에서 생성되는 NO의 양은 Jang 등(2017)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, RAW 264.7 세포를 5×10⁴ cells/well이

되도록 96 well plate에 분주하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 배양된 세포에 1 µg/mL 농도의 lipopolysaccharide (LPS)를 20 µL 처리하여 1시간 자극시킨 후 시료 20 µL를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 생성된 NO는 Griess 시약을 이용하여 측정하기 위해 세포배양 상등액 100 µL와 Griess 시약 100 µL를 혼합하여 15분간 실온암소에서 반응시킨 후 microplate reader (Epoch, BioTek)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. LPS만 첨가한 군에서 생성된 NO의 양을 100%로 하여 시료가 첨가된 경우에 측정된 흡광도를 환산하여 표기하였다.

통계처리

본 실험결과와 통계분석은 SPSS (25, Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 각 시료군 간의 유의적인 차이를 one-way ANOVA로 분석하여 Duncan's multiple range test를 실시하여 분석하였다. 또한 노니주스의 기능성 성분과 산화방지 활성 및 항염증 활성과의 상관관계를 알아보기 위하여 Pearson's correlation test를 실시하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량

노니주스의 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같이, 0.36-1.61 mg/mL의 범위로 나타났다. 효소처리 노니 미숙과 주스인 EUN의 폴리페놀 함량이 1.61 mg/mL로 유의적으로 가장 높았으며, 다음으로 NJ1과 NJ4의 폴리페놀 함량이 1.34 mg/mL로 높게 나타났다. 반면 NJ2와 NJ3의 폴리페놀 함량은 0.36 mg/mL로 매우 낮은 함량을 보였다. 또한 효소를 처리하지 않은 노니 미숙과 주스(UN)와 완숙과 주스(RN)의 총 폴리페놀 함량은 각각 1.00, 0.75 mg/mL로 pectinase와 cellulase 처리에 의해 폴리페놀 함량이 유의적으로 증가하였다. 폴리페놀은 식물의 이차대사산물이자 산화방지 성분으로 잘 알려져 있으며, 노니 열매의 주요한 폴리페놀 물질로는 담나칸탈(damnacanthal), 스코폴레틴(scopoletin), 모린돈(morindone), 알리자린(alizarin), 어쿠빈(aucubin), 노르담나칸탈(nordamnacanthal) 등이 있으며, 이들은 노니 열매의 다양한 약리작용에 기여한다(Chan-Blanco 등, 2006; Dussossoy 등, 2011; Kim 등, 2017). 국내에서 제조되어 유통되고 있는 사과, 오렌지, 자몽, 청포도, 파인애플 주스의 총 페놀 함량이 60.40-114.09 mg/L 범위로 나타나(Lee 등, 2008), 본 연구에서 측정된 노니 열매 주스에 비해 다소 낮은 폴리페놀 함량을 보여 노니주스가 높은 폴리페놀을 함유하고 있음을 확인할 수 있었다. Kim 등(2009)은 수확시기에 따른 감귤 착즙액의 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과, 대부분의 시료에서 성숙이 덜된 미숙과가 가장 높은 함량을 나타내어 본 연구결과와 유사하였다. 또한 Kim 등(2017)은 6개의 산지에서 재배된 노니 열매를 착즙하여 폴리페놀 함량을 측정하였으며, 그 결과 0.76-1.67 mg/mL로 나타나 본 연구와 유사하였다. Bramorski 등(2010)은 브라질에서 시판중인 5% 블루베리주스와 포도주스를 혼합하여 제조한 노니주스의 폴리페놀 함량은 91.90 mg/100 mL로 보고하였다. Lin 등(2013)은 노니 열매를 1년간 발효하여 여과한 노니 발효액의 기능성분을 측정 한 결과, 7종의 페놀물질과 3종의 플라보노이드 물질을 검출되었으며, 총 페놀의 함량은 59.41 mg/100 mL로 보고하여 본 연구에서 효소처리를 통해 제조된 EUN 및 ERN에 비해 낮은 함량을 보였다. Park과 Kim(2009)은 사과껍질의 폴리페놀 추출효율을 높이기 위하여 cellulase와 pectinase를 처리하여 얻은 추출액의 총 페놀 함량을 측정 한 결과, 효소 처리에 의해 총 페놀 함량이 증

Table 2. Total polyphenol and scopoletin contents of noni juices

Sample	Total polyphenol (mg/mL)	Scopoletin (µg/mL)
UN	1.00±0.03 ^d	52.25±1.22 ^d
RN	0.75±0.06 ^c	108.97±4.01 ^b
EUN	1.61±0.09 ^a	69.00±4.15 ^c
ERN	1.18±0.13 ^c	123.88±1.53 ^a
NJ1	1.34±0.11 ^b	4.73±2.55 ^f
NJ2	0.36±0.01 ^f	ND
NJ3	0.36±0.02 ^f	ND
NJ4	1.34±0.03 ^b	4.42±0.73 ^f
NJ5	1.21±0.04 ^c	110.86±3.34 ^b
NJ6	1.05±0.00 ^d	18.30±1.84 ^e

Each value represents the mean±SD (n=3).

ND: not detected

UN, unripe noni fruit juice; RN, ripe noni fruit juice; EUN, enzyme-treated noni juice using unripe fruit; ERN, enzyme-treated noni juice using ripe fruit; NJ1, NJ2, NJ3, NJ4, NJ5, and NJ6 were commercial noni juices used in experiment.

Values in the column with different superscript letters are significantly different at p<0.05.

가한다고 보고하여, 본 연구 결과와 유사하였다. 이는 대부분의 페놀물질은 불용성의 형태로 식물 세포벽의 탄수화물과 결합한 형태로 존재하는데, 이를 세포벽 분해효소를 처리하여 불용성의 페놀물질을 유리형태로 전환됨으로써 추출효율이 높아졌기 때문으로 판단된다(Cho 등, 2018).

스코폴레틴 함량

효소처리 노니주스 및 시판 노니주스의 스코폴레틴 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 효소처리 노니 완숙과 주스인 ERN의 스코폴레틴 함량은 123.88 µg/mL로 유의적으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 이는 효소처리를 하지 않은 노니 완숙과 주스인 RN의 스코폴레틴 함량(108.97 µg/mL)보다 1.13배 높았다. NJ5의 스코폴레틴 함량은 110.86 µg/mL로 ERN 다음으로 높았으며, EUN과 UN은 각각 69.00, 52.25 µg/mL로 pectinase와 cellulase처리에 의해 스코폴레틴 함량이 증가하였다. NJ1과 N4는 각각 4.73, 4.42 µg/mL로 유사한 함량을 나타내었으며, NJ2와 NJ3에서는 검출되지 않았다. 사모아, 인도네시아, 중국, 하와이, 태국, 타히티에서 재배된 노니 열매 착즙액의 스코폴레틴 함량을 분석한 결과 2.76-8.62 mg/100 mL의 범위로 나타났으며(Kim 등, 2017), 13개 국가에서 시판되고 있는 노니주스의 스코폴레틴 함량은 0.88-34.01 µg/mL의 범위를 보여(Deng 등, 2010), 본 연구에서 제조된 EUN과 ERN이 이들 주스에 비해 2-3배 이상 높은 스코폴레틴을 함유하는 것을 확인하였다. 또한 Assanga 등(2013)은 멕시코에서 재배된 노니열매를 성숙정도 및 수확시기별로 스코폴레틴 함량을 측정 한 결과, 수확시기에 관계없이 노니 완숙과가 미숙과에 비해 스코폴레틴 함량이 높은 것으로 나타났다. Yang 등(2007)은 완숙과로 제조한 노니주스가 미숙과 주스에 비해 스코폴레틴을 비롯한 폴리페놀의 함량이 높다고 보고하여 본 연구결과와 같았다. 또한 Chan-Blanco 등(2007)은 숙성 및 노화 정도에 따른 노니 과일에 함유된 산화방지 물질을 분석한 결과, 노니 성숙과가 미숙과보다 높은 스코폴레틴을 함유하는 것으로 나타나 본 연구와 유사하였다. 스코폴레틴은 노니의 대표적인 폴리페놀 물질로 항염증 효과를 가지며 산화방지, 항고혈압 등 다양한 약리작용을 하며, 노니 제품의 품질관리 및 노니의 약학 연구를 위한 지표 성분으로 보고되고 있다(Dussossoy 등, 2011; Mahattanadul 등;

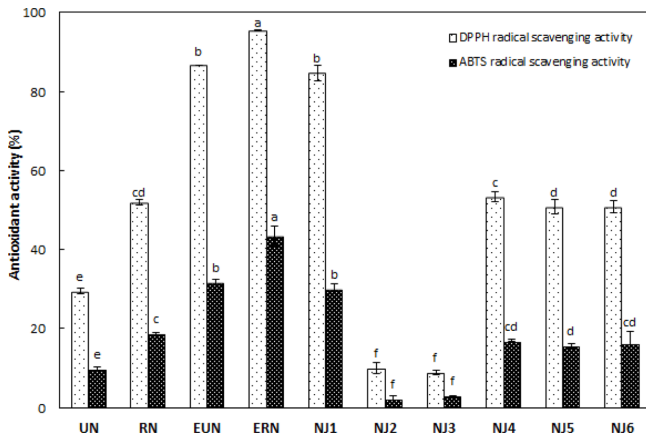


Fig. 1. Antioxidant activities of noni juices. The 10 times diluted samples were used as samples. The results are expressed as the mean±SD of triplicates. UN, unripe noni fruit juice; RN, ripe noni fruit juice; EUN, enzyme-treated noni juice using unripe fruit; ERN, enzyme-treated noni juice using ripe fruit; NJ1, NJ2, NJ3, NJ4, NJ5, and NJ6 were commercial noni juices used in experiment. Values with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

2011, Kim 등, 2017). 따라서 EUN의 높은 스코폴레틴 함량은 효소 처리를 통해 스코폴레틴의 추출 효율이 증가되었기 때문이며, 이로 인해 생리활성 또한 우수할 것으로 추측된다.

산화방지 활성

효소처리 노니주스 및 시판 노니주스의 산화방지 활성을 확인하고자 DPPH 라디칼과 ABTS 라디칼의 소거활성을 측정하였으며, 결과는 Fig. 1과 같다. DPPH 라디칼은 산화방지 물질에 의해 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하여 환원됨으로써 짙은 자색이 탈색되는 원리를 이용한 방법으로 천연 소재의 산화방지능을 측정하기 위해 많이 이용되는 방법이다(Kim 등, 2017). 효소처리 노니주스 및 시판 노니주스의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과, ERN이 95.44%로 유의적으로 가장 높았고, EUN 86.55% 및 NJ1 84.64%로 유사한 소거능을 나타내었다. NJ4, RN, NJ6 및 NJ5의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 53.27, 52.02, 50.85, 50.78%로 측정되었으며, UN, NJ2 및 NJ3의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 29.48, 10.08, 8.93%로 유의적으로 낮은 소거능을 보였다. Bramorski 등(2010)은 브라질에서 시판되고 있는 블루베리주스와 포도주스를 혼합한 노니주스의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과, 64.27%의 소거능을 보였다고 보고하여 본 연구 결과의 효소처리 노니주스보다 낮은 소거활성을 보였다. 또한 Kim 등(2017)은 산지별 노니 열매 착즙액의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과, 최저 52.83% (중국산)에서 최고 62.49% (인도네시아산)의 소거능을 보여, 본 연구에서 제조된 효소처리 노니주스에 비해 낮은 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었다.

노니주스의 ABTS 라디칼 소거능은 DPPH 라디칼 소거능과 유사한 경향을 나타내었다. 즉, ERN과 EUN의 ABTS 라디칼 소거능은 각각 43.41, 31.69%로 시판 노니주스(2.15-30.08%)에 비해 높은 소거활성을 나타내었다. 또한 효소를 처리하지 않은 UN와 RN의 ABTS 라디칼 소거능은 각각 9.85, 18.69%로 효소처리에 의해 소거활성이 각각 3.21, 2.32배 증가되었다. Cho 등(2018)은 현미 가루의 기능성 향상을 위해 세포벽 분해효소를 처리하고 이들의 산화방지 활성을 측정된 결과, cellulase와 pectinase 처리를 통해 제조된 현미 가루가 비처리군에 비해 DPPH 라디칼 및

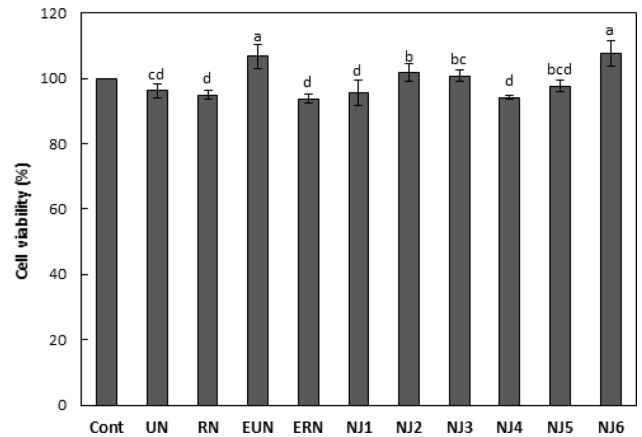


Fig. 2. Effect of the noni fruit juices on the cell viability of RAW 264.7 cells. Cell viability was determined by MTT assay. Cont: not treated any sample. The 5 times diluted samples were used as samples. The results are expressed as the mean±SD of triplicates. UN, unripe noni fruit juice; RN, ripe noni fruit juice; EUN, enzyme-treated noni juice using unripe fruit; ERN, enzyme-treated noni juice using ripe fruit; NJ1, NJ2, NJ3, NJ4, NJ5, and NJ6 were commercial noni juices used in experiment. Values with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

ABTS 라디칼이 증가하였다고 보고하여, 본 연구와 같은 결과를 나타내었다. 뿐만 아니라, 식물성분의 폴리페놀 함량과 산화방지 활성간의 직접적인 상관관계가 보고되고 있으며(Kim, 2015; Li 등, 2009), Dussosoy 등(2011)은 노니열매 주스의 산화방지 활성은 노니 열매에 존재하는 스코폴레틴을 비롯한 다양한 폴리페놀 화합물에 기인하는 것으로 보고하였다. 따라서 효소처리 노니주스의 높은 산화방지 활성은 시판 노니주스에 비해 높은 스코폴레틴 및 폴리페놀 함량에 기인 한 것으로 판단된다.

세포생존율

효소처리 노니주스 및 시판 노니주스에 의한 세포생존율을 평가하기 위하여 마우스 대식세포주인 RAW 264.7 세포에 샘플을 5 배 희석하여 처리하여 MTT assay를 수행한 결과(Fig. 2), 모든 시료의 세포 생존율이 93.61-107.57% 범위로 RAW 264.7 세포에 대한 독성이 나타나지 않았다. 따라서 이후 NO 생성 억제 활성 연구는 5배 희석한 효소처리 노니주스와 시판 노니주스로 진행하였다.

Nitric oxide (NO) 저해능

대식세포는 염증반응 시 NO와 같은 활성질소종 및 염증성 cytokine을 대량으로 생산하고 이러한 염증성 매개물질들의 과도한 분비로 인하여 세포손상, 유전자 변이, 신경손상, 조직손상과 같은 병변이 발생하므로 염증반응에서 NO 및 염증성 cytokine의 분비를 억제하는 것은 매우 중요한 수단으로 작용한다. NO는 NO 합성효소인 inducible nitric oxide synthase (iNOS)에 의하여 L-arginine으로부터 생성되는 물질로 주로 체내 방어기능, 세포독성 및 신경전달에 관여하는 세포 기능 유지에 중요한 역할을 수행한다. 그러나 염증 반응에서 과발현된 NO는 염증반응을 촉진시킬 뿐만 아니라 조직의 산화적 손상, 유전자 변이 등을 가져오는 것으로 알려져 있다(Kang 등, 2014; Cho 등, 2017). 따라서 본 연구에서는 LPS로 유도된 RAW 264.7 세포에 대한 노니주스의 NO 생성 저해 정도를 측정하고자 하였으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다. LPS 단독 처리구 기준으로 LPS와 함께 노니주스를 처리하

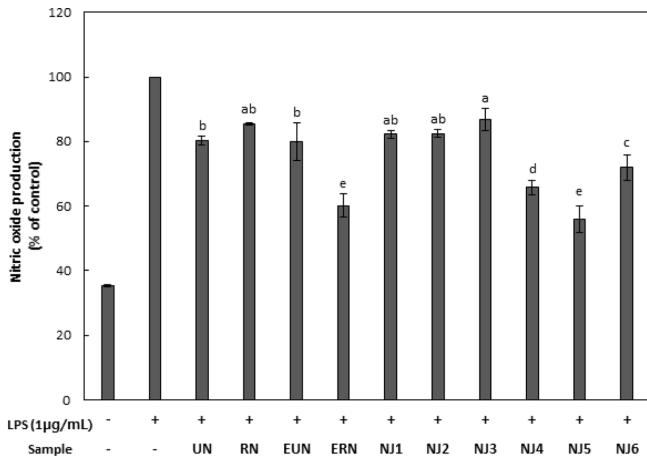


Fig. 3. Effect of the noni fruit juices on NO levels in LPS-induced RAW 264.7 cells. The 5 times diluted samples were used as samples. The results are expressed as the mean±SD of triplicates. UN, unripe noni fruit juice; RN, ripe noni fruit juice; EUN, enzyme-treated noni juice using unripe fruit; ERN, enzyme-treated noni juice using ripe fruit; NJ1, NJ2, NJ3, NJ4, NJ5, and NJ6 were commercial noni juices used in experiment. Values with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

였을 때 NO 생성량이 55.95-86.77% 정도 감소하였으며, 특히 NJ5는 55.95%의 NO 생성량을 보여 가장 높은 NO 저해능을 보였다. 다음으로 ERN의 NO 생성량이 60.14%로 높은 NO 저해능을 보였는데, 이는 효소처리를 하지 않은 RN의 NO 생성량(85.45%)보다 약 25% 높은 NO 저해능을 나타내었다. 반면 NJ1, NJ2, NJ3의 NO 생성량은 각각 82.21, 82.46, 86.77%로 유의적으로 낮은 NO 저해능을 보였다. Assanga 등(2013)은 2-3월과 5-6월에 수확된 노니 성숙과가 미숙과보다 유의적으로 높은 NO 저해능을 나타내었다고 보고하여 본 연구와 유사하였다. Nitteranon 등(2011)은 노니 열매 퓨레 ethyl acetate 추출물로부터 분리된 스코폴레틴은 LPS로 유도된 RAW 264.7 세포의 NO 생성을 저해한다고 보고하였으며, 본 연구에서의 NJ5와 ERN의 높은 NO 저해능은 높은 스코폴레틴 및 폴리페놀의 함량에 기인하는 것으로 판단된다.

산화방지 활성 및 항염증 활성과 생리활성 성분과의 상관관계

노니주스에 함유된 기능성 성분과 산화방지 활성 및 항염증 활성 간의 상관관계를 평가하였으며, 그 결과는 Table 3과 같다. 총 폴리페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능 및 NO 저해능의 r^2 값은 각각 0.825 ($p < 0.01$), 0.717 ($p < 0.01$) 및 0.451 ($p < 0.05$)로 유의적인 상관관계를 보였다. 일반적으로 식물체에 함유된 폴리페놀 물질과 생리활성 간의 상관관계는 높은 것으로 알려져 있으며(Yun 등, 2018), Lee 등(2017)은 커피 추출물에 함유된 총 폴리페놀 함량과 산화방지 활성의 상관관계가 확인한 결과, 총 폴리페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능 및 ABTS 라디칼 소거능의 상관관계가 매우 높다고 보고하였다. 노니주스에 함유된 스코폴레틴 함량과 DPPH 라디칼 소거능 및 ABTS 라디칼 소거능에 대한 r^2 값은 0.469 ($p < 0.01$) 및 0.524 ($p < 0.01$)로 유의적인 상관관계를 나타내었고, NO 저해능에 대한 r^2 값은 0.441 ($p < 0.05$)로 유의적인 관계를 보였다. 일반적으로 항산화 활성은 스코폴레틴과 밀접한 관련이 깊은 것으로 알려져 있으며(Ding 등, 2008), 본 연구에서도 스코폴레틴 함량과 항산화 활성과의 높은 상관관계를 확인 할 수 있었다.

Table 3. Pearson's correlation coefficients among total polyphenol, scopoletin, antioxidant activity, and NO production inhibitory effect of noni juices

	Total polyphenol	Scopoletin
DPPH radical scavenging activity	0.825**	0.469**
ABTS radical scavenging activity	0.717**	0.524**
NO production inhibitory effect	0.451*	0.441*

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

요 약

본 연구는 다양한 생리활성을 지닌 노니의 활용성을 향상시키고 기능성이 증진된 노니주스를 제조하기 위하여 미숙과 및 완숙과에 cellulase와 pectinase를 처리하여 노니주스를 제조하고, 이들의 기능성 성분의 함량 및 생리활성을 효소 무처리 주스 및 6종의 시판 노니주스의 비교하여 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 효소처리 노니 미숙과 주스가 1.61 mg/mL로 유의적으로 가장 높았으며, 스코폴레틴 함량은 효소처리 노니 완숙과 주스가 123.88 µg/mL로 유의적으로 가장 높았다. DPPH 라디칼 및 ABTS 라디칼 소거 활성은 효소처리에 의해 증가되었으며, 시판 노니주스보다 효소처리 노니주스가 높은 소거활성을 보였다. 즉, 효소처리 노니 완숙과 주스가 가장 높은 소거활성을 보였으며, 다음으로 효소처리 노니 미숙과 주스가 높은 활성을 보였다. NO 저해능은 효소처리 노니 완숙과 주스와 NJ5가 높은 저해활성을 보였다. 이상의 결과, 효소를 처리하여 제조된 노니 주스는 높은 폴리페놀과 스코폴레틴을 함유하고 있었으며, 높은 산화방지 활성과 항염증 작용을 보였다. 따라서 주스 제조 시 cellulase 및 pectinase 처리는 주스의 기능성 성분의 함량 및 생리기능성을 향상시킬 수 있으며, 특히 노니 완숙과를 이용하여 제조할 경우 그 생리기능성이 크게 향상되는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 결과 노니 완숙과를 이용하여 효소처리된 노니주스는 기능성 주스로써의 활용성이 매우 클 것으로 판단된다.

References

Assanga SI, Lujn LL, Rivera-Castaeda E, Gil-Salido A, Acosta-Silva A, Rubio-Pino J. Effect of maturity and harvest season on antioxidant activity, phenolic compounds and ascorbic acid of *Morinda citrifolia* L. (noni) grown in Mexico (with track change). *Afr. J. Biotechnol.* 12: 4630-4639 (2013)

Bansal NY, Bansal G. HPLC-UV/FD methods for scopoletin and asiatic acid: Development, validation and application in WHO recommended stability testing of herbal drug products. *Biochem. Anal. Biochem.* 4: 2-8 (2015)

Bramorski A, Adriana RC, Chaiana PM, Joseane T, Tatiana M, Andra de ASC. Total polyphenol content and antioxidant activity of commercial Noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and its components. *Brazilian J. Pharma. Sci.* 46: 651-656 (2010)

Chan-Blanco Y, Vaillant F, Prez AM, Belleville M, Ziga C, Brat P. The ripening and aging of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.): microbiological flora and antioxidant compounds. *J. Sci. Food Agric.* 87: 1710-1716 (2007)

Chan-Blanco Y, Vaillant F, Perez AM, Reynes M, Brillouet J, Brat P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *J. Food Compos. Anal.* 19: 645-654 (2006)

Cho D, Lee S, Park J, Park H, Choi H, Choi I, Han S, Chung H, Jeong D, Oh S. Effect of cell wall degrading enzyme treatment on the phenolic content and antioxidant activity of brown rice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 47: 605-611 (2018)

- Cho E, Lee JH, Sung N, Byun E. Anti-inflammatory effects of *Annona muricata* leaf ethanol extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 46: 681-687 (2017)
- Deng S, West BJ, Jensen CJ. A quantitative comparison of phytochemical components in global noni fruits and their commercial products. Food Chem. 122: 267-270 (2010)
- Ding Z, Dai Y, Hao H, Pan R, Yao X, Wang Z. Anti-inflammatory effects of scopoletin and underlying mechanisms. Pharm. Biol. 46: 854-860 (2008)
- Dussossoy E, Brat P, Bony E, Boudard F, Poucheret P, Mertz C, Giannis J, Michel A. Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). J. Ethnopharmacol. 133: 108-115 (2011)
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J. Biol. Chem. 12: 239-243 (1912)
- Jang HY, Liceaga AM, Yoon KY. Isolation and characteristics of anti-inflammatory peptides from enzymatic hydrolysates of sandfish (*Arctoscopus japonicus*) protein. J. Aquat. Food Prod. Technol. 26: 2347-244 (2017)
- Kang B, Kim K, Kim M, Park S, Park W, Kim B, Ahn N, Choi Y, Ahn D. Anti-inflammatory activity of an ethanol extract of *Laminaria japonica* root on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cells. Korean J. Food Sci. Technol. 46: 729-733 (2014)
- Kim SY. Fluctuations in phenolic content and antioxidant capacity of green vegetable juices during refrigerated storage. Prev. Nutr. Food Sci. 20: 169-175 (2015)
- Kim J, Jo YJ, Hahn D. Physicochemical properties, bioactive composition and antioxidant activities of noni fruit juices from different regions of cultivation. Korean J. Food Preserv. 24: 1000-1006 (2017)
- Kim YD, Ko WJ, Koh KS, Jeon YJ, Kim SH. Composition of flavonoids and antioxidative activity from juice of Jeju native citrus fruits during maturation. Korean J. Nutr. 42: 278-290 (2009)
- Kim JM, Liceaga AM, Yoon KY. Purification and identification of an antioxidant peptide from perilla seed (*Perilla frutescens*) meal protein hydrolysate. Food Sci. Nutr. 7: 1645-1655 (2019)
- Lee J, Choi Y, Park JS, Jung H, Yi D, Choe T, Kang S, Kim HJ. Effect of pectinase in grape (Red Glove) production and quality of red wine. J. East Asian Soc. Dietary Life 22: 264-270 (2012)
- Lee H, Jung B, Park J, Hwang I, Kim S, Choi J, Lee S, Chung S. Antioxidant activity and total phenolic contents of grape juice products in the Korean market. Korean J. Food Preserv. 15: 445-449 (2008)
- Lee KS, Kim JM, Yoon KY. Physicochemical properties, bioactive composition, and antioxidant activity of different coffee beans dependent on the cultivation region. Korean J. Food Sci. Technol. 49: 474-479 (2017)
- Levand O, Larson HO. Some chemical constituents of *Morinda citrifolia*. Planta Med. 36: 186-187 (1979)
- Li X, Wu X, Huang L. Correlation between antioxidant activities and phenolic contents of *Radix angelicae sinensis* (Danggui). Molecules. 14: 5349-5361 (2009)
- Lin Y, Chang Y, Yang D, Tzang B, Chen Y. Beneficial effects of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice on livers of high-fat dietary hamsters. Food Chem. 140: 31-38 (2013)
- Mahattanadul S, Ridditid W, Nima S, Phdoongsombut N, Ratanasuwon P, Kasiwong S. Effects of *Morinda citrifolia* aqueous fruit extract and its biomarker scopoletin on reflux esophagitis and gastric ulcer in rats. J. Ethnopharmacol. 134: 243-250 (2011)
- Nitteranon V, Zhang G, Darien BJ, Parkin K. Isolation and synergism of in vitro anti-inflammatory and quinone reductase (QR) inducing agents from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni). Food Res. Int. 44: 2271-2277 (2011)
- Park M, Kim C. Extraction of polyphenols from apple peel using cellulase and pectinase and estimation of antioxidant activity. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 38: 535-540 (2009)
- Potterat O, Hamburger M. *Morinda citrifolia* (Noni) fruit-phytochemistry, pharmacology, safety. Planta Med. 73: 191-199 (2007)
- Yang S, Chen T, Li K, Tsai T. Change in phenolic compound content, reductive capacity and ACE inhibitory activity in noni juice during traditional fermentation. J. Food Drug Anal. 15: 290-298 (2007)
- Yoo JS, Hwang JT, Yoo ES, Cheun BS. Study on herbal extract on the noni (*Morinda citrifolia*). Korean J. Biotechnol. Bioeng. 19: 110-112 (2004)
- Yun H, Lim S, Park H, Shin Y. Correlation between antioxidant compounds and activities of '*Hibiscus sabdariffa*' teas from different origins. J. East Asian Soc. Diet Life. 28: 40-46 (2018)