

碩士學位論文

손바닥선인장열매 효소추출물의  
항산화 및 아질산염 소거능



濟州大學校 産業大學院

生命産業工學科

食品工學 專攻

夫 禎 淑

2006

손바닥선인장열매 효소추출물의  
항산화 및 아질산염 소거능

指導教授 金 洙 賢

이 論文을 工學碩士學位 論文으로 提出함.

2006年 8月 日

濟州大學校 産業大學院  
제주대학교 중앙도서관  
生命産業工學科 食品工學專攻

夫 禎 淑

夫禎淑의 工學碩士學位 論文을 認准함

2006年 8月 日

審查委員長 宋 大 鎭 印

委 員 任 尙 彬 印

委 員 金 洙 賢 印

# 목 차

|   |     |
|---|-----|
| Summary .....   | iii |
| I. 서론 .....   | 1   |
| II. 연구사 .....   | 4   |
| 1. 손바닥선인장의 식품학적 특성 .....  | 4   |
| 1) 일반성분의 분포 .....   | 4   |
| 2) 손바닥선인장의 색소성분 .....   | 5   |
| 2. 손바닥선인장의 생리활성 .....   | 6   |
| 3. 천연 항산화 성분에 관한 연구 동향.....   | 7   |
| 4. 아질산염 소거와 식물 소재 추출물.....  | 8   |
| III. 재료 및 방법.....   | 10  |
| 1. 실험재료 및 시약 .....  | 10  |
| 1) 실험재료 .....   | 10  |
| 2) carbohydrases .....  | 10  |
| 3) 시약 .....   | 12  |
| 2. 실험방법 .....   | 12  |
| 1) Enzymatic extraction .....   | 12  |
| 2) Methanolic extraction .....  | 15  |
| 3. 항산화 활성 측정 실험.....  | 16  |
| 1) DPPH radical scavenging assay .....                                    | 16  |
| 2) Superoxide anion(O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ) scavenging assay ..... | 16  |

|   |    |
|---|----|
| 3) Hydrogen peroxide( $H_2O_2$ ) scavenging assay ..... | 16 |
| 4) Hydroxyl radical ( $HO\cdot$ )scavenging assay ..... | 17 |
| 4. Nitrite scavenging assay .....                       | 17 |
| 5. Total Phenolic content assay .....                   | 18 |
| <br>  |    |
| IV 결과 및 고찰 .....  | 19 |
| 1. DPPH법에 의한 유리기의 소거 효과 .....                           | 19 |
| 2. Superoxide radical 소거활성 .....                        | 22 |
| 3. Hydrogen peroxide 소거 활성 .....                        | 25 |
| 4. Hydroxyl radical의 소거활성 .....                         | 28 |
| 5. Nitrite 소거활성 .....                                   | 31 |
| 6. Total Phenolic content .....                         | 34 |
| <br>  |    |
| IV. 요약 .....  | 37 |
| <br>  |    |
| V. 참고문헌 .....   | 39 |



# Antioxidant and Nitrite-Scavenging Activities of Enzymatic Extracts from *Opuntia ficus-indica* Fruit

Jeong-Sook Boo

Department of Industrial Life Science and  
Technology Graduate School of Industry  
Cheju National University



Supervised by Professor Soo-Hyun Kim

## Summary

The antioxidant potential of freeze dried cactus-fruit was investigated using different reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO) assays.

The antioxidant activities of it was compared to raw fruit and analyzed. The samples were used with 6 carbohydrase extracts and compared to 80% methanolic extracts.

In the DPPH radical scavenging activities, enzyme extracts of freeze dried cactus-fruit showed slightly higher activities than that of raw fruits. Further those activities were higher than the activities showed by 80% methanolic extracts of cactus. Those activities were almost same with tocopherol activity but lower than that of BHT.

In superoxide radical scavenging activities, some enzymatic extracts (Ultraflo, Thermamyl, Viscozyme and pectinex) of freeze dried powder from cactus showed higher activities than its counterpart. AMG and Celluclast extracts of raw fruit showed higher activities. However, all activities were less than that of BHT and tocopherol. Methanolic extracts of both kinds also showed higher activities which were almost similar to BHT and tocopherol.

Enzymatic extracts of both fruit and freeze dried samples showed significantly lower activities in hydrogen peroxide scavenging, when compared with BHT and tocopherol. There is no any significant difference between methanolic extract and commercial antioxidant tested.

In hydroxyl radical scavenging activity, enzymatic extracts of freeze dried powder showed higher activities than that of raw fruit. Both kinds showed higher activities than the activity of tocopherol but lower than that of BHT. Methanolic extracts of powder and raw fruit showed higher activities than that of BHT and tocopherol.

Enzymatic extracts of raw fruit showed higher activity in NO scavenging than that of freeze dried samples. Those activities were almost same or higher than that of BHT and tocopherol. Some of the enzymatic extracts showed higher activities than the activities showed by methanolic extracts.



## I. 서론

지구상에는 4,000여종의 선인장이 분포하고 있는데, 그 중 열매가 달리는 선인장 중에 손바닥선인장이라 불리는(이 등, 2004) *Opuntia*에는 식용열매로 이용되는 *Platyopuntia*와 일반적으로 chollas라 불리는 *Cyindropuntia* 두 그룹이 있다. 종류는 약 300종 이상으로 제주에서 재배되는 손바닥선인장은 *Opuntia ficus-indica* var이다(이 등, 2005).

제주도에서 손바닥선인장을 경제적인 목적으로 재배하기 시작한 것은 1991년부터이며, 열매가격이 1996년에 8,000원/kg 이던 것이 1999년에 대량생산이 되면서 700원/kg 수준으로 가격이 하락되었다. 현재는 4,000톤까지 대량생산이 되고 있지만 선인장열매 공급량에 비해 수요량이 많지 않아 가격형성이 낮아지고, 생산된 물량을 처리할 수 있는 대량관로를 개척하지 못해 생산농가들이 처리난을 겪고 있다. 이에 따라 농가 자체 폐원으로 면적이 감소하여 1998년에 322.8 ha를 기점으로 2000년에 199.7 ha로 감소하였지만, 성목(成木)이 됨으로 인해 생산량은 계속 유지할 것으로 판단하고 있다(북제주군 농업기술센터, 2005).

식이섬유를 많이 함유하고 있는 손바닥선인장은 칼슘, 비타민 C, 플라보노이드 성분이 많이 함유되어 있음이 밝혀져 있고(문, 2003), 한방에서는 기의 흐름과 혈액순환을 좋게 하고 열을 식히고 독을 풀어주며 심장과 위의 통증 치료, 이질, 치질, 해열, 천식 등에 효과가 커 열매와 줄기를 즙을 내어 복용하면 효과가 있다고 한다(중약대사전, 1981).

북아메리카에서는 인류 건강 증진의 목적으로 선인장을 귀중한 약용식물로 재배해 왔으며, 최근에는 병원 및 의료기관을 중심으로 의료목적용 연구 활동이 활발하게 이루어지고 있다(문, 2003). 손바닥선인장과 유사한 알로에는 고시형 건강식품 25번째로 배변작용, 위와 장의 개선, 피부미용 등의 효능을



한국 식품 의약 안전청으로부터 인정받아 다양한 기능성 제품들이 출시되어 상용되고 있는데 반하여, 손바닥선인장은 줄기와 열매를 모두 사용할 수 있는 장점을 가졌음에도 불구하고 알로에에 비해 그 활용방법이 제대로 확립되지 못한 실정이다.

최근 웰빙 붐이 일면서 건강기능성 식품에 대한 관심이 높아지고 있는데, 식이섬유소와 같은 저칼로리이며 생리기능성인 식품을 섭취하려는 욕구가 날로 증가하여, 이와 관련된 식품개발에 많은 관심이 모아지고 있다. 최근 우리들 식생활패턴은 서구식 동물성 식품이 주를 이루는 양상으로 변하고 있어 이로 인해 생기는 비만, 고혈압, 고지혈증, 동맥경화 등의 질병들을 예방하기 위한 노력들이 절실한 때이다. 혈액순환기계의 질환은 혈액 중의 콜레스테롤을 감소시키는 것이 우선으로서 혈중 콜레스테롤을 효과적으로 조절할 수 있는 의약품이나 식이요법에 관한 개발의 필요성을 실감하고 이에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다(김 등, 2004; 박 등, 2005). 식이섬유소는 배설물의 보수성을 향상시켜 정장작용을 도와주고 혈청 cholesterol을 감소시키며 당뇨병, 비만 등의 성인병 예방과 치료에 효과가 있다고 보고되고 있다(Topping, 1993). 손바닥선인장의 식이섬유 함량은 해조류와 유사하나 일반과실, 야채류, 견과류보다 월등히 많다(문, 2003). 이와 같은 천연식이섬유는 고부가가치의 기능성 식품소재로 이용할 수 있으며, 함유량이 높아 적은 양으로도 효과를 볼 수 있어서 섬유질 공급원으로 식품에 이용할 가치가 높다고 하였다(강 등, 2001). 현재 손바닥선인장을 이용한 제품들은 선인장 껍질을 비롯하여 선인장 동결 건조된 분말을 이용한 초콜렛, 선인장 차, 잼, 국수, 음료수, 요거트 등으로 제조되고 있고, 외국의 경우 식재료로서 오믈렛, 젤리, 빵, 쿠키 등에 첨가하여 사용되고 있다(이, 2005).

손바닥선인장은 열매의 과잉 생산으로 생과로서의 가격 폭락과 저장성 문제를 해결하기 위한 많은 가공방법들이 개발되어야 할 때이다. 그 중에서도 동결건조 분말 제품은 품질보존에서나 유통 및 이용의 편의성 면에서 가장

우수한 편이기 때문에 많이 활용되고 있다. 그러나 이 가공방법은 높은 생산비로 인한 가공업체의 커다란 부담으로 남아 있는 실정이다. 따라서 이 선인장의 활용성을 탐색하여 고부가가치성의 제품개발이 절실히 요구되고 있다.

따라서 손바닥선인장이 본초강목, 동의보감의 구전에서 항암성, 항염성 등이 전해지고 있는 사실에 기초하여 이들을 구명함으로써 고부가가치성을 입증하고자 시도하였다.

본 실험의 최종목적은 기능성 식품으로 활용하기 위한 것이기 때문에 효소로 추출한 수용성 물질이 편리성, 안전성에서 유익한 점이 많다. 따라서 본 연구에서는 손바닥선인장 열매의 동결건조 분말 및 생과를 이용하여 효소 또는 메탄올 추출물의 항산화 활성과 아질산염 소거능을 측정함으로써, 항산화, 항노화 및 항암을 위한 기능성 식품소재를 개발하여, 농가소득증대에 기여하며 관련 분야에의 활용 및 기초 자료로 사용할 수 있는 방안을 모색하고자 하였다.



## II. 연구사

### 1. 손바닥선인장의 식품학적 특성

#### 1) 일반성분의 분포

Opuntia속의 열매는 튜나로 알려진 맛있는 식용과일로 일찍이 사막지대에 서는 탄수화물과 비타민의 공급원으로 이용되었다(Sawaya 등, 1983). 선인장의 씨와 펄프는 지방산, 지질류, 스테롤, 지용성비타민, 카로틴이 함유되어 있고(Mohamed 등, 1991), 일반성분의 조성은 당류 같은 가용성 무질소물 69.20%, 수분 9.30%, 조지방 1.35%, 조단백질 4.24%, 회분 12.12%, 조섬유 3.79%로 구성되어 있고, 비타민 C는 함유되어 있으나 비타민 A는 검출되지 않았으며 총 폴리페놀화합물의 함량은 씨의 경우 1.47%, 줄기 1.68~1.85%, 열매 3.4~4.9%로 상당히 많은 양의 폴리페놀화합물을 함유하고 있다. 플라보노이드의 경우 음료제조 시 성분 함량이 매우 중요시되어 기능성 식품으로서 고부가가치의 제품화가 가능한 식품소재임이 보고 되어(이 등, 1999; 문, 2003) 항산화활성에 크게 작용할 것으로 기대되며, 열매의 경우 총 식이섬유는 36.6%로 그 중 수용성 식이섬유는 17.1%, 수불용성 식이섬유는 16.6%로 구성되어 있다(신, 2002). 손바닥선인장에서 분리한 flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin 은 rat cortical 세포의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 유도시켜 신경계의 손상을 억제시켜 신경계의 효과를 가진다고 보고 되어 있고(Hang 등, 2003), 플라보노이드는 혈액내의 콜레스테롤 수준에 변화가 나타날 때 hypocholesterolemic 효과를 발휘하는 것으로 생각되어지며 선인장 열매군 또한 혈장 cholesterol은 유의적으로 낮추고 HDL-cholesterol은 비율적으로 증가시켜 동맥경화의 예방효과가 있는 것으로 알려지고 있다(김, 2002).

Opuntia속의 일종인 부채선인장에서 분리해낸 펙틴은 노화억제 및 암 발생 억제와 밀접한 관계를 가지며 성인병의 원인이 되는 콜레스테롤을 낮추는 기능을 가지고 있음을 밝혔다(Fernandez 등, 1990). 그리고 Opuntia속 종자에서 추출한 오일은 불포화도가 상당히 높아 사람과 동물에게 유용한 식용유지임이 밝혀졌다(Sawaya 등, 1983).

## 2) 손바닥선인장의 색소성분

선인장과에 속하는 34종 식물에서 적색인 Betacyanin류의 정성적 분포를 조사하여 가장 많이 존재하는 색소는 betanine과 이의 이성질체인 isobetanine 그리고 phyllocactin과 isophyllocactin이며 이들의 최대 흡수파장은 538 nm이라 하였다(piattelli 등, 1969).

손바닥선인장 열매의 색소인 Betacyanin류에 대한 연구로는 온도에 따른 안정성 검사결과 50~90℃에서 비교적 불안정하였고(김 등, 1995, 한 2003), 천연착색료로 사용하기 위한 연구에서는 식품의 천연 착색제로 이용되는 betacyanin류는 열에 약하여 betalamic acid와 cyclodopa 5-0-glucoside로 분해되어 선인장의 적색색소가 합성색소에 비하여 안정성이 비교적 약한 것으로 나타났으며(정 등, 1996), betanine의 항산화 활성이나 생리활성에 관한 연구는 되어 있지 않다.

점질물 추출액에 있어서는 고유 산성조건(pH 4.2)에서 가장 안정하였으며 알칼리로 갈수록 색소의 변색을 보였고, pH 4.2를 유지하는 점질물 추출액은 4℃ 저장조건에는 장기간 저장이 가능하여 열에 안정하고 산성 조건에서도 적색색소의 안정성 및 물성을 유지하는 다당류를 함유하고 있어 식품가공시 사용이 가능한 것으로 보고 되었다(이 등, 1998). 선인장열매 색소를 식물에 사용한 결과는 견직물에 대한 염색 견뢰도가 좋아 의료(衣料)용으로의 사용 가능성을 보고(박 등, 2002)하였고, 손바닥선인장 물추출로 인한 유색미의

취반 특성 연구에서는 유색미 취반은 백미 취반에 비해  $\alpha$ -aminoadipic acid 가 1.66mg% 함유되었으며, arginine과 leucine은 2배, 히스티딘과 리신은 각각 2.3배, 4.2배 tyrosine은 3.4배 함유된 것으로 보고 되었다(서 등, 2002).

## 2. 손바닥선인장의 생리활성

동물을 이용한 실험에서 손바닥선인장의 기능성 연구에서는 위궤양에 대한 항궤양 작용을 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 48마리를 사용한 실험에서 선인장 투여군에서 점액량이 높았으며, 스트레스에 의한 위점막 혈류흐름의 감소를 예방함으로써 위궤양 발생억제를 가지며(이 등, 1998), 선인장이 점액 생성을 촉진시키거나 위에 보호막을 형성함으로써(현, 2001) 위궤양 발생 저하에 기여하는 것으로 보여지며, 손바닥선인장 분말을 함유한 식이의 급여가 흰쥐의 체내 지질수준과 장내 콜레스테롤 흡수, 혈소판 응집성 및 간 조직에 미치는 영향을 연구한 결과 손바닥선인장이 콜레스테롤 흡수 억제 효과를 보인 것은 이에 함유된 수용성 섬유질의 작용에 의한 것이며, 섬유질 함유량이 많은 손바닥선인장은 적은량으로 효과를 볼 수 있어 섬유질 공급원으로 식품에 이용할 가치가 충분하다고 밝혔다(강 등, 2001). 한림지역 해녀들을 대상으로 한 임상실험에서는 혈 중 지질 수준을 낮추며 적혈구 용혈 현상을 감소시키며 선인장추출물을 1주일간 투여함으로써 혈중 지질과산화의 함량은 감소하고 SOD의 활성은 증가되었다고 보고하였고(한, 2004), 손바닥선인장의 투여군이 생체내 과산화지질 생성을 방지해 노화를 예방한다고 보고되었다(백 1998). 항알레르기 활성을 조사한 결과 손바닥선인장 줄기 부분의 메탄올 추출물에서 가장 우수한 활성을 확인하였다(이 등, 2000; 윤, 2000)고 보고 되어 있으며, 알콜성 고지혈증의 흰쥐에 손바닥선인장의 열매 및 줄기 추출물을 투여한 결과 알콜의 투여로 현저히 증가하던 농도가 시료의 투여로 감소하여 알콜의 흡수를 지연시켜 알콜성 고지혈증을 개선하는 효과가 있음을 보고하였고, 약리효능에서는 진통, 소염작용에 효과가 있

는 것으로 알려져 몸살, 감기, 신경통에도 유효한 것으로 밝혀졌다(최 등, 2002).

선인장의 발효물을 이용한 연구에서 발효액을 양식넙치의 사료에 첨가하여 섭이하게 하고 연쇄구균의 농도를 달리하여 접종한 결과 폐사율이 낮게 나타나 양식넙치의 연쇄구균증의 완화에 효과를 보았고(허 등, 2003), 발효액을 이용한 자궁경부암 세포주에 대한 연구에서는 손바닥선인장 열매를 효모균으로 발효한 발효액에서 항암활성을 확인하였다(전 등, 2003). 병원성 식중독 미생물에 대한 항균효과에서는 에틸 아세테이트 분획물이 가장 큰 항균 효과를 보았으며(이 등, 2004), 병원균 뿐만 아니라 일반세균 즉 효모, 곰팡이, 여드름 원인균에서도 항균활성을 확인하여 광범위한 활성을 확인하였다(김 등, 2005). 그리고 미생물의 생육도를 극성을 달리하는 여러 용매로 추출하여 항산화력과 항균력을 측정된 결과 95% 에탄올과 메탄올을 사용하였을 때 우수하였으며 에탄올 추출물을 헥산, 클로르포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 에탄올 아세테이트 분획이 가장 효과가 큰 것으로 검색되었다(정, 2000)고 보고하였다. 그리고 병원균 뿐만 아니라 일반세균 즉 효모, 곰팡이, 여드름 원인균에서도 항균활성을 확인하여 광범위한 활성을 확인하였다(김 등, 2005). 이러한 손바닥선인장의 향염, 항균 특성을 이용한 화장품 소재 등 향장품의 개발에 주력하는 것도 의미 있는 일이 아닐까 한다.

항당뇨에 관한 연구로는 수컷 8주령 db/db 마우스에 손바닥선인장 잎과 줄기를 5주간 투여하여 혈당 변화, 포도당농도변화, 뇨 중 단백질량 변화 등을 측정된 결과 항당뇨 활성이 확인되었다(신, 2002).

### 3. 천연 항산화 성분에 관한 연구 동향

산소는 생명유지에 절대적으로 필요한 원소이지만 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 반응성이 매우 큰 활성산소로 전환되면 생체에 치

명적인 영향을 미친다(김 등, 2005). 이들 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 유전자(DNA) 등에 의하여 비선택적, 비가역적인 산화반응을 유발하여 면역체계를 파괴함으로써 노화 및 각종 질병을 일으키는 것으로 밝혀졌다(Blake 등, 1995). 그리고 불포화지방산을 많이 함유하는 식품은 쉽게 산화되어 과산화물질을 생성하여 산화분해나 중합반응에 의한 산패취와 독성을 발현하기에 이른다(하, 1995). 최근 들어 천연 항산화제에 대한 연구가 많이 이루어지고 있으며 천연에 존재하는 항산화제의 대부분이 페놀성 물질이라는 데에 주목되어 페놀성 화합물에 대한 연구가 많이 진행되어지고 있다(이 등, 2002). 천연항산화제는 토코페롤 이외에는 인체독성 및 경제적 이유 때문에 거의 합성 항산화제를 사용하고 있다(오, 2003). 그러나 거의 모두가 인체독성을 가진다고 보고 되고 있어 대부분 사용규제를 받고 있고, 현재 사용 중인 페놀계 항산화제인 BHA, BHT 등은 50mg/kg/day 이상을 사람이 섭취할 경우에 생체효소 및 지방의 변화로 암 등이 유발될 수 있다고 보고 되고 있다(Branen, 1975).

#### 4. 아질산염 소거와 식물소재 추출물

아질산염은 육제품의 발색과 *Clostridium botulinum* 성장저해제로 각종 식품에 첨가되고 있다. 질산염은 식물체 내, 소화기관 및 식품의 저장과정에서 질산 환원효소, 환원세균 등의 작용에 의해 아질산염으로 환원된다(백 등, 2004). 아질산염은 질산염이 다량 섭취된 식품을 섭취하면 methemoglobin증 증독 증상과 발암 유도 물질인 nitrosamine의 생성된다(강 등, 1996).

Nitrosamine은 제2급 아민과 아질산의 반응에 의해서 그리고, 이 둘 두 가지의 전구물질을 섭취하였을 때 위내에서 nitrosamine이 생성될 수 있다고 보고하고 있다(임 등, 1973). 1965년 이후 본격적으로 시도된 식품으로부터 수종의 nitrosamine이 정량 분석되었는데 이 중에는 치즈나 수산가공품과

같이 아질산나트륨을 첨가하지 않은 식품에서도 nitrosamine이 소량이나마 검출되었으며 멸치를 원료로 사용하는 김치에서도 김치발효 후반기에 산도가 높아짐에 따라 nitrosamine의 생성 가능성이 있다는 보고가 있다(이, 1981)

식물을 이용한 항산화 성분과 아질산염의 소거에 관한 연구는 버섯류의 함유된 페놀성 물질에 의한 효과(이 등, 1997), 오미자 종자의 메탄올 추출물이 가장 우수하였고(정 등, 2000), 죽초액에 함유된 페놀성분(이 등, 2002), 복분자 열매에 함유된 페놀성분의 항산화 활성(윤 등, 2003), 윗나무 추출물을 쥐의 뇌세포를 배양하여 항산화력을 실험한 결과 에탄올 추출물에서의 뇌세포 생존수가 많았음을 확인(임, 1997)하였다. 그리고 우리 전통식품인 김치의 부재료인 마늘, 생강, 청각, 굴의 가수분해 첨가물이 높은 아질산염 분해효과를 보였다(박 등, 2000). 볶음보리 추출물의 에탄올 가용성획분의 아질산염 소거 작용이 에탄올 침전 획분보다 강한 것은 에탄올 가용성획분 중에 보리성분이 열분해에 의해 생성된 방향족 화합물의 영향(김 등, 1990)이라는 보고가 있고, 올리브 잎을 80% 에탄올 추출시 총플라보노이드 함량이 5.81%, 총페놀 함량은 14.8%로 다른 분획물과 비교하여 가장 높은 아질산염 소거능을 보였으며(이 등, 2004), 전통기호 음료인 결명자, 대추, 모과, 오미자, 오갈피 및 생강 추출물의 아질산염소거 효과(도 등, 1993; 박 등, 1995)에 관한 연구들이 있다.

따라서 손바닥선인장 열매의 페놀성 물질과 플라보노이드 성분이 다량 함유되어 있음이 보고(문, 2003) 되어 있으나 손바닥선인장 열매의 효소추출에 의한 연구는 거의 없는 실정이다. 본 연구에서는 제주도손바닥선인장 열매의 건조분말과 생과를 탄수화물 분해효소 6가지를 이용하여 추출한 후 항산화 활성을 밝히고 발암물질의 전구체인 아질산염의 소거능을 검정하였다.



### Ⅲ. 재료 및 방법

#### 1. 실험재료 및 시약

##### 1) 실험재료

손바닥선인장(*Opuntia ficus-indica*) 열매 분말시료는 제주도 북제주군 농업기술센터에서 시판용 동결건조 제품을 제공받아 사용하였다. 이 제품은 잔가시를 제거하고 파쇄하여  $-40^{\circ}\text{C}$ 로 급속 냉동시킨 후 24시간 진공 동결 건조하여 체로 걸러 씨를 분리한 후, 분쇄 포장한 것이다. 생과는 제주시 동문 시장에서 구입하여 깨끗이 세척하고 물기를 없앤 후 분쇄기(Waring commercial blender, Model 51BL31, USA)로 갈아서 즉시 추출용 시료로 사용하였다.

##### 2) Carbohydrases

손바닥선인장 열매의 전분분해 효소인 AMG, 섬유질분해 효소인 Celluclast, amylose와 amylopectin의 분해효소 Termaryl, Viscozyme, 점질물질(gums)들을 분해하는 Ultraflo, pectin 분해효소인 Pectinex를 사용하였다. 모든 효소는 최적의 반응 온도와 pH를 조정하여 사용하였다.

본 실험에 사용된 탄수화물분해효소의 반응 조건은 Table 1과 같았다.

Table 1. Optimal pH and temperatures of carbohydrates in hydrolysis process

| Enzymes    | Sources                       | Characteristics  | Optimal |          |
|------------|-------------------------------|--|---------|----------|
|            |                               |  | pH      | Temp(°C) |
| AMG        | <i>Aspergillus niger</i>      | Hydrolyzes 1,4- and 1,6--linkages in liquefied starch  | 4.5     | 60       |
| Celluclast | <i>Trichoderma reesei</i>     | Catalyzes the breakdown of cellulose into glucose, cellobiose and higher glucose ploymer                                 | 4.5     | 50       |
| Termamyl   | <i>Bacillus licheniformis</i> | Hydrolyses 1,4--glucosidic linkages in amylose and amylopectin.  | 6.0     | 60       |
| Ultraflo   | <i>Hunnicola insolens</i>     | Breakdown of $\alpha$ -glucans, pentosans and other gums   | 7.0     | 60       |
| Viscozyme  | <i>Aspergillus aculeatus</i>  | Ability to liberate bound materials and to degradenon-sratchpolysaccharides  | 4.5     | 50       |
| Pectinex   | <i>Aspergillus niger</i>      | Hydrolyzes the methylesterified galacturonic acid residues in pectins. It has the ability to break down plant cell walls | 3.0     | 35       |

### 3) 시약

본 실험에 사용한 Carbohydrases인 Viscozyme, Cellucast, Termarl, Ultraflo, Pectinex, AMG는 Novo Co(Denmark) 제품을 사용하였다. Butylate hydroxytoluene(BHT),  $\alpha$ -tocopherol, dimethyl sulfoxide(DMSO), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)은 DPPH radical을 측정하기 위해 사용한 시약이며, nitro blue tetrazolium salt(NBT), xanthine, xantine oxidase, thiobarbituric acid(TBA), trichloroacetic acid(TCA), Folin Ciocalteu reagent, sodium nitroprusside, sulfanilic acid는 Sigma Co(USA) 제품이며, N-1-naphthylethylene diamine dihydrochloride는 Hayashi pure chemical Industries Ltd(Japan)의 제품을, ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA), peroxidase, 2,3-Azino-bis(3-ethylbenzthiazolin)-6-sulfonic acid(ABTS), deoxyribose는 Fluka Co.(Switzerland) 제품을 사용하였다.



## 2. 실험방법

### 1) Enzymatic extraction

Heo 등(2003)의 방법에 의해 손바닥선인장열매의 동결건조 분말과 생과를 1,000ml 플라스크에 선인장열매 시료 각 5g과 증류수 500ml를 첨가하여 pH(1M HCl/NaOH)를 고정시킨 다음 효소를 0.5ml를 가하여 혼합한 후 incubator에서 12시간 교반하여 반응시켰다. 그 후 80℃에서 10분간 효소를 불활성화 시킨 후 pH 7로 조정하고 여과지(Whatman No. 1)로 여과하고, 급속 냉각 후 동결 건조하였다(Fig. 1과 Fig. 2).

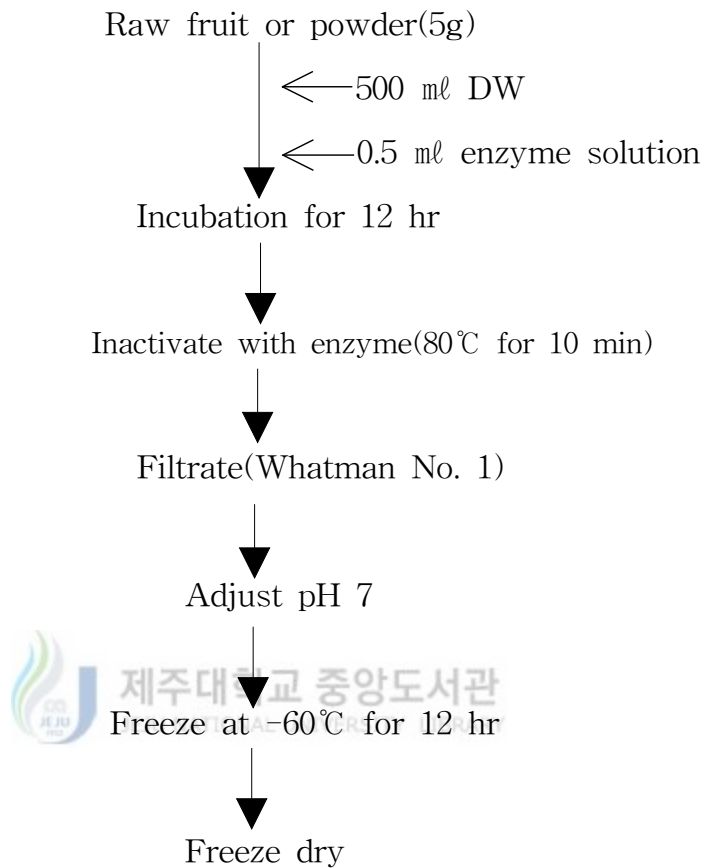


Fig. 1. Schematic diagram of enzymatic extraction from *Opuntia ficus-indica*

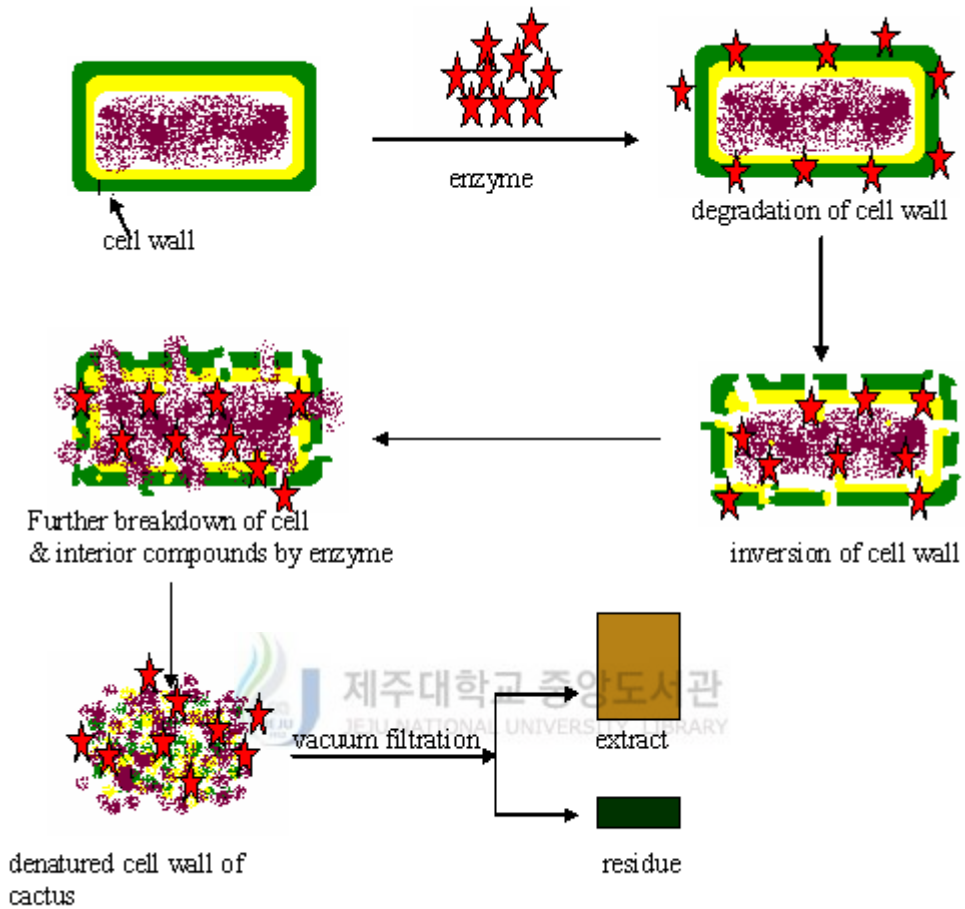


Fig. 2. Schematic diagram of the enzymatic extraction from Cactus

## 2) Methanolic extraction

손바닥선인장 열매의 동결건조분말과 균질화 시킨 생과 10g을 80%의 메탄올(1000ml)을 가하여 25℃의 incubator에서 24시간 교반한 후 여과지(Whatman No.1, England)를 사용하여 여과하고, 여과액을 감압농축(vacuum rotary evaporator, 40℃)하여 시료로 사용하였다(Fig. 3).

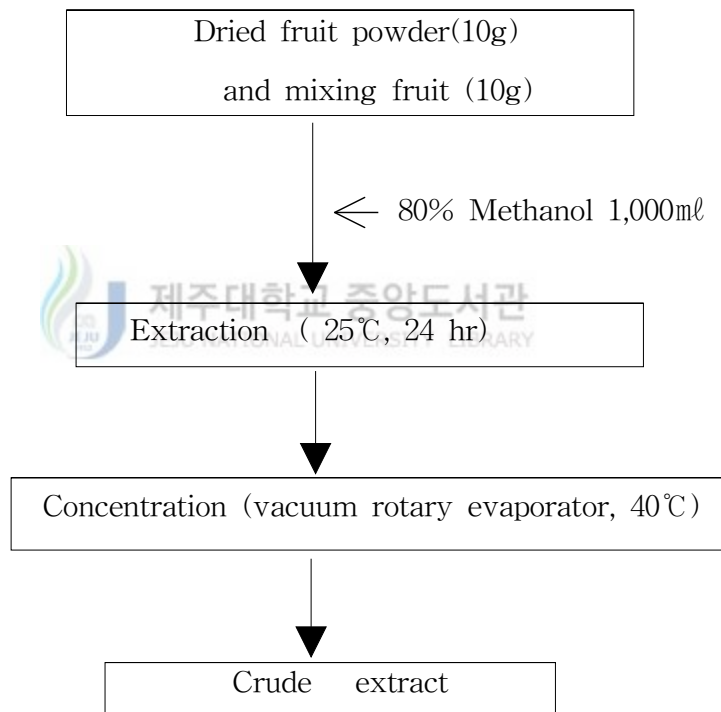


Fig. 3. Schematic diagram of methanolic extraction from *Opuntia ficus-indica*

### 3. 항산화 활성 측정 실험

#### 1) DPPH radical scavenging assay

보라빛을 나타내는 DPPH는 항산화제와의 반응에 의해 안정한 화합물이 생성되면 노란색으로 변하는데, 이러한 반응의 정도는 항산화제의 수소 공여능에 의존한다(Brand 등, 1997).

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)를 이용하여 시료의 라디칼 소거효과를 Brand-Williams(1995)의 방법에 따라 시료 1ml와 DPPH 용액 1ml, 바탕 시험은 용액 1ml와 메탄올 1ml, 대조구는 DMSO 1ml와 DPPH 용액 1ml를 넣어 혼합한 후 실온에서 1시간 반응 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2) Superoxide anion( $O_2^{\cdot-}$ ) scavenging assay

Nagai 등(2001)의 방법에 따라 0.05M  $Na_2CO_3$  buffer(pH 10.5)에 3mM xanthine  $20\mu l$ , 3mM EDTA  $Na_2$  salt 0.02ml, 0.15% bovine serum albumin  $20\mu l$ , 0.75nM NBT  $20\mu l$ 의 혼합용액에 시료  $20\mu l$ 를 넣어 25°C의 incubator에서 10분 반응한 후, 6mM의 XOD  $100\mu l$ 를 첨가하여 25°C의 incubator에서 20분 반응한 후, 6mM의  $CuCl_2$  0.02 ml를 첨가하여 560nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 3) Hydrogen peroxide( $H_2O_2$ ) scavenging assay

손바닥선인장 열매의  $H_2O_2$  소거 활성 측정은 Muller(1985)의 방법에 따라 96 microwell plate에 sample과 blank, control을 구분하고 각 효소별 sample

80 $\mu$ l에 phosphate buffer(0.1M, pH 5.0)와 10mM의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 $\mu$ l를 혼합하여 37 $^{\circ}$ C의 incubator에서 5분간 반응한 후, sample에는 1.25mM ABTS 30 $\mu$ l, blank에는 증류수 30 $\mu$ l를 첨가한 후 peroxidase(1u/ml) 30 $\mu$ l를 sample과 blank에 첨가하여 37 $^{\circ}$ C의 incubator에서 10분 반응시킨 후 ELISA reader로 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 4) Hydroxyl radical(HO $\cdot$ ) scavenging assay

손바닥선인장 추출물의 hydroxyl radical(OH $\cdot$ )의 소거활성 측정은 2-deoxyribose oxidation method(Chung, 1997)로 측정하였다. 시험관에 FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O(10mM), EDTA(10mM)과 2-deoxyribose(10mM), 시료액 0.2ml와 0.1M phosphate buffer solution(pH 7.4) 1.8 ml, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(10mM) 2ml를 가하고 37 $^{\circ}$ C incubator에서 4시간 반응시켰다. 반응 후 1ml의 TCA용액(2.8%)을 가하여 반응을 중지시키고, 1.0% TBA 용액 1ml를 가하여 100 $^{\circ}$ C에서 10분간 가열시킨 후 급속히 냉각하고 532nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 4. Nitrite scavenging assay

시료 0.5ml에 10mM sodium nitroprusside 2ml와 pH 7.4(0.01M) phosphate buffer를 첨가하여 25 $^{\circ}$ C의 incubator에서 150분 반응한 후 반응물 중 0.5ml를 취하여 1ml의 sulfanilic acid(0.03% in 20% glacial acetic acid)와 혼합한 후 5분간 반응시켰다. 그 다음 Naphthylethylenediamine dihydrochloride(0.1%)를 1ml 첨가하고 실온에서 30분 반응시킨 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다.



## 5. Total phenolic content assay

손바닥선인장 추출물의 총페놀 함량 측정은 Dodds(1993)의 방법에 따라 시험관에 각 효소별 sample 1ml, 95% ethanol 1ml, 5ml의 증류수, 50% Foiln-Ciocalteu reagent 0.5ml을 가한 후 실온에서 5분 방치하여 반응 후, 5%의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1ml를 가하고 어두운 곳에서(실온) 1시간 반응 시킨 후 725nm에서 흡광도를 측정하였다.



## IV 결과 및 고찰

### 1. DPPH법에 의한 유리기의 소거 효과

DPPH는 비교적 안정한 free radical로써, ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는데, 이러한 DPPH법은 식물 추출물의 항산화 활성을 간단히 측정할 수 있는 동시에 실제 항산화 활성과도 연관이 매우 높기 때문에 많이 이용되고 있는 방법이다(유 등, 2004).

항산화제는 세포막에서 다가 불포화 지방산을 공격하여 지질 과산화를 일으키는 활성산소종이나 활성질소종을 소거하는 역할을 담당하는데, 항산화 물질의 가장 특징적인 기작은 유리기와 반응하는 것으로 유리기 소거 작용은 활성라디칼에 전자를 공여하여 식물중의 항산화 효과나 인체에서 노화를 억제하는 척도가 된다(이 등, 2003).

손바닥선인장열매의 DPPH에 의한 유리기의 소거 효과를 측정한 결과 Fig. 4 및 5와 같았다. DPPH 소거능은 동결분말시료와 생과시료 모두에서 80%에서 95.2%로 매우 높게 나타났는데, 이는 대조구인 BHT 97.7%, tocopherol 92.9%에 접근하는 값이다.

동결건조 분말시료에서는 Pectinex 추출물이 가장 높게 95.2%, Ultraflo 추출물이 가장 낮게 86.8% 나타났다. 그러나 생과시료에서는 Pectinex 추출물이 가장 높게 92.3%, AMG 추출물이 가장 낮게 79.9% 나타났다.

동건분말시료와 생과시료에서의 소거능의 차이는 AMG 추출물에서 12.9%로 큰 차이를 보였고 나머지 효소추출물에서는 비슷 하였다.

메탄올 추출물의 항산화 활성은 동건분말시료에서 78.7%, 생과시료에서는 90%로 생과 추출물의 항산화능이 높게 나타났다. 그러나 Ultraflo 추출물을 제외한 모두가 효소추출물들의 항산화능보다는 낮은 값이었다.

이러한 결과는 정 등(2000)이 극성이 다른 7종의 용매를 사용하여 항산화 활성을 측정한 연구와 비교할 때 물추출이 19.4%로 95% 에탄올추출의 89.8%와 비교하여 가장 낮은 활성을 보인 것으로 보고 되어 있고, 이 등(2000)의 연구에 의하면 선인장 열매의 메탄올추출물은 84%, 선인장 줄기의 메탄올추출물은 80.3%의 결과를 보고하였다. 본 실험에서는 효소를 이용하여 추출하였을때 90% 이상의 활성을 보여 효소추출시 항산화 효과의 증대를 기대할 수 있다고 생각되며, 손바닥선인장에서 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 다른 식물체들에 비해 높다는 보고(이 등, 2005)와 본 실험의 결과는 매우 밀접한 상관관계가 있다고 사료 된다



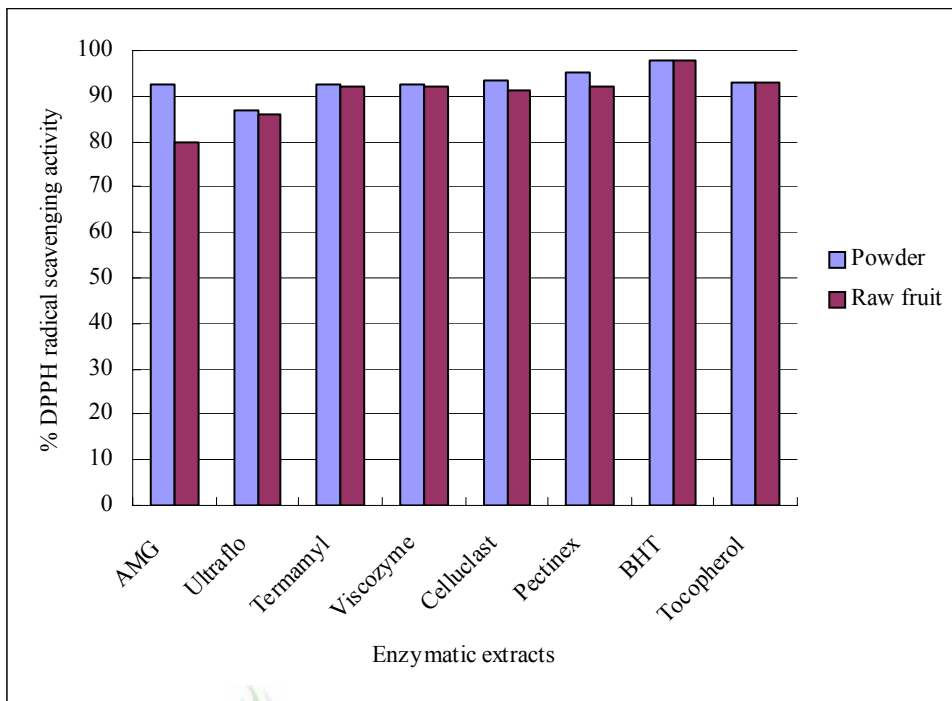


Fig. 4. DPPH radical scavenging activity of enzyme extracts from freeze-dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.

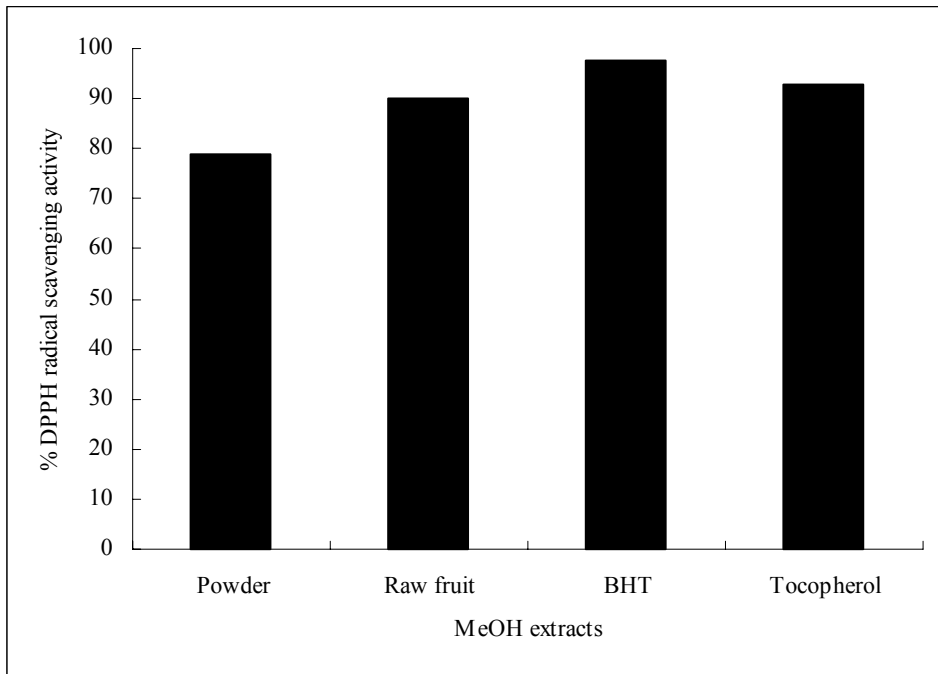


Fig. 5. DPPH radical scavenging activity of methanolic extracts from freeze-dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.

## 2. Superoxide radical 소거활성

생체 내에 활성산소가 너무 많으면 암을 발생시키거나 노화를 촉진하는 등 나쁜 영향을 미친다. 이런 활성산소는 과식, 스트레스, 흡연, 지나친 운동으로 인한 과호흡 등에 의해 그 양이 증가하는데, 이러한 활성산소를 분해시키는 역할을 하는 효소가 superoxide dismutase(SOD)이다(하 등, 2005).

자연에 존재하는 항산화 효소 중의 하나인 SOD는 세포에 유해한 환원 산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이며, SOD에 의해 생성된  $H_2O_2$ 는 생체 조직을 산화시키기도 하고 peroxidase나 catalase에 의하여 자신은 분해하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환된다(손 등, 2004). 손

바닥선인장 추출물에 대한 superoxide 소거 효과는 Fig 6 및 7과 같았다. 효소추출물에서 superoxide radical의 소거 효과는 대체적으로 분말시료에서 높게 나타났으며, 그 중 Visozyme 추출물이 가장 높은 활성 (63.8%)을 보였고, AMG 추출물이 가장 낮은 활성(37.3%)을 보였다. 생과시료의 효소추출물은 Pectinex 추출물의 활성이 높게(61%) 나타났고, Ultraflo 추출물(분말 54.4%, 생과39.3%)과 Termamyle 추출물(분말 52%/ 생과 39.7%)인 경우 분말시료가 생과시료보다 활성이 높았다.

메탄올 추출물에서 분말시료와 생과시료의 활성은 비슷하게 나타났고, 효소추출물에 비하여 다소 높은 활성을 보였으며, 대조구와 비교하여 큰 차이를 보이지 않았다.

임 등(2004)에 의하면 82개의 재료를 extraction buffer를 사용하여 실험한 결과, 오가피 13.5%, 결명자 17.1%, 복분자 13.2%, 감초 35.6%, 생강 9.0%, 무 20.9%의 소거효과를 보인 것과 비교할 때 손바닥선인장열매의 superoxide anion radical( $\cdot\text{O}_2$ )의 소거효과는 높다고 평가할 수 있다.

손바닥선인장의 동결건조 분말의 효소추출물에서는 메탄올 추출물보다는 낮게 나타났으나, 오가피, 결명자, 생강, 복분자 보다는 약 4~6배의 효능을 보였고, 무나 감초보다는 2-3배의 효과를 보였다. 한편 같은 메탄올 추출물에서 2~9배의 편차를 보이는 것은 손바닥선인장 동결건조 제품이 기능성 식품 소재로서의 가능성을 시사하는 바가 크다 하겠다.

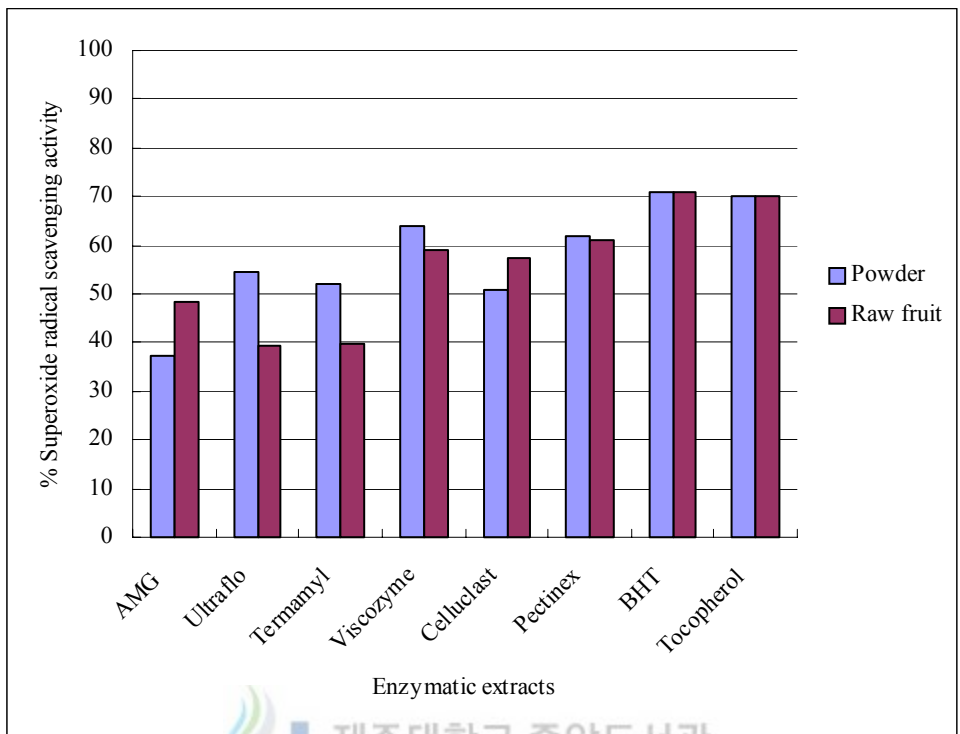


Fig. 6. Superoxide radical scavenging activity of enzyme extracts from freeze-dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.

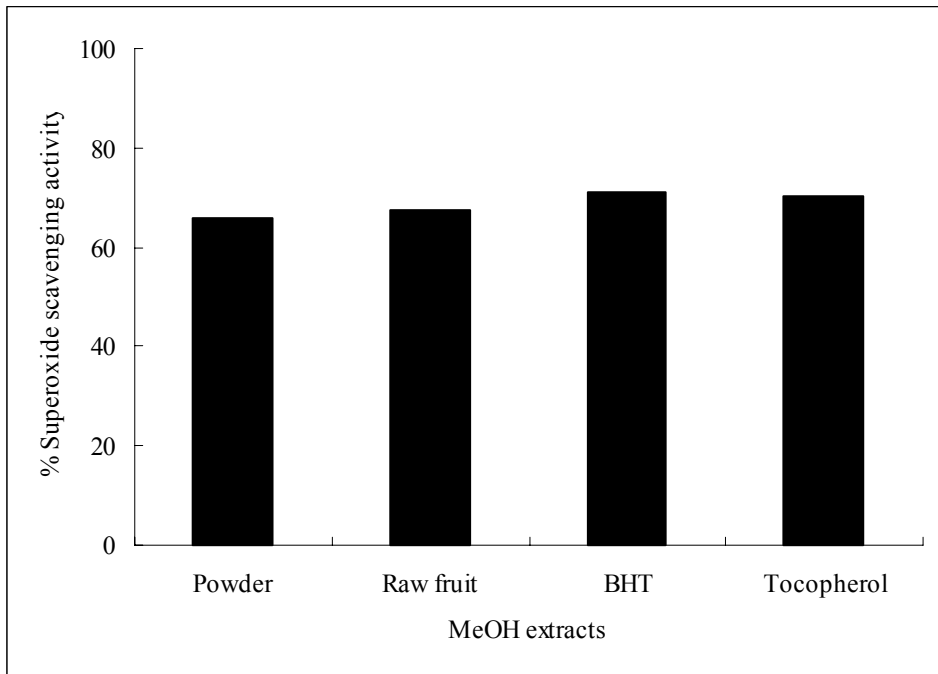


Fig 7. Superoxide radical scavenging activity of methanolic extract from freeze-dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.

### 3. Hydrogen peroxide 소거 활성

Hydrogen peroxide 소거활성은 SOD에 의해 생성된  $H_2O_2$ 를 peroxidase에 의해 물과 산소분자로 환원시켜 최종적으로 산패를 억제 시켜주는 능력을 측정하는 것이다(유 등, 2004).

현재 우리나라에서 식품첨가물로 허용되어 표백제의 용도로 사용되고 있는 과산화수소는 “최종식품이 완성되기 전에 분해하거나 제거”하도록 사용기준이 설정되어 있으며, 인위적으로 첨가하기도 하지만 식품 중에 천연으로 존재하는 경우도 있다(이 등, 2002).



손바닥선인장 추출물의 hydrogen peroxide 소거 활성 효과는 Fig. 8 및 9와 같았다. Hydrogen peroxide 소거 활성 효과는 효소추출물에서 시료 분말 및 생과 모두 다소 차이를 보였으나 대체적으로 낮은 활성을 보였고, 분말시료의 활성이 생과시료보다 모두 높게 나타났으며, Ultraflo 추출물(분말 27.6%, 생과 12.2%)이 분말시료와 생과시료에서 큰 차이를 보였으며, Celluclast 추출물(분말 17.8%, 생과 9.0%)도 분말시료의 활성이 생과시료보다 큰 차이를 보였다.

메탄올 추출물에서는 분말시료 (27.4%)가 생과시료 (6.0%) 보다 높은 활성을 보였다. 그러나 대조구로 사용한 Tocopherol (71.2%), BHT (82.5%)와는 상당한 차이를 보였으며, DPPH radical의 소거 효과의 결과와도 큰 차이를 보였다.

김 등(2004)의 보고에 의하면 양파를 열수 추출하여 대조구인 BHT, L-ascorbic acid와 비교한 결과 노란색 양파인 경우 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 85%의 높은 활성을 보였고, 흰색양파의 열수 추출물인 경우 72.8%의 소거활성을 보였는데 대조구인 L-ascorbic acid (79.5%)에 비해 흰색양파의 활성이 다소 낮았지만 손바닥선인장의 추출물과는 많은 차이를 보였다.

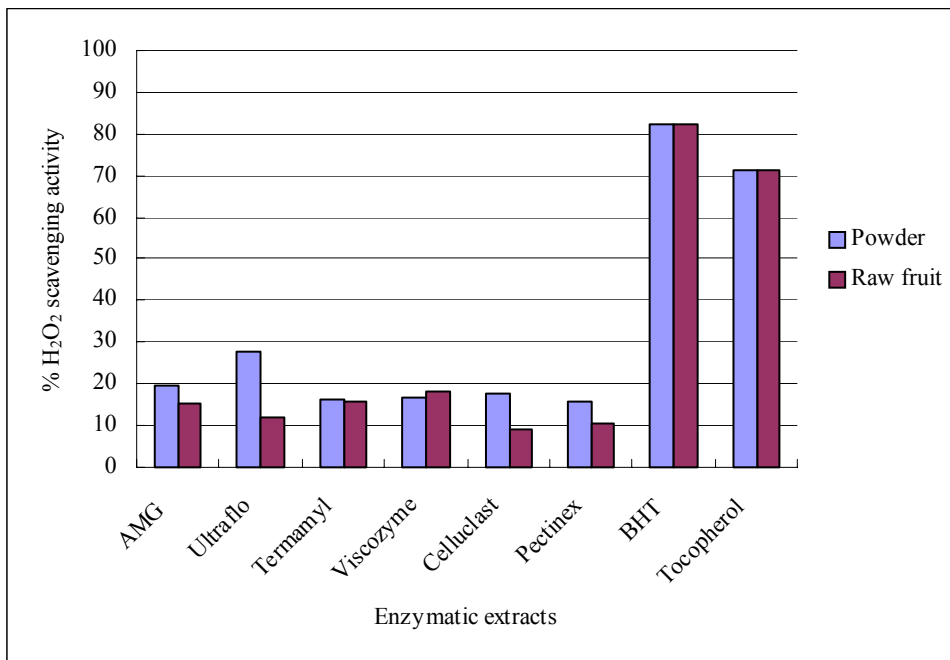


Fig. 8. Hydrogen peroxide scavenging activity of enzyme extracts from freeze-dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.

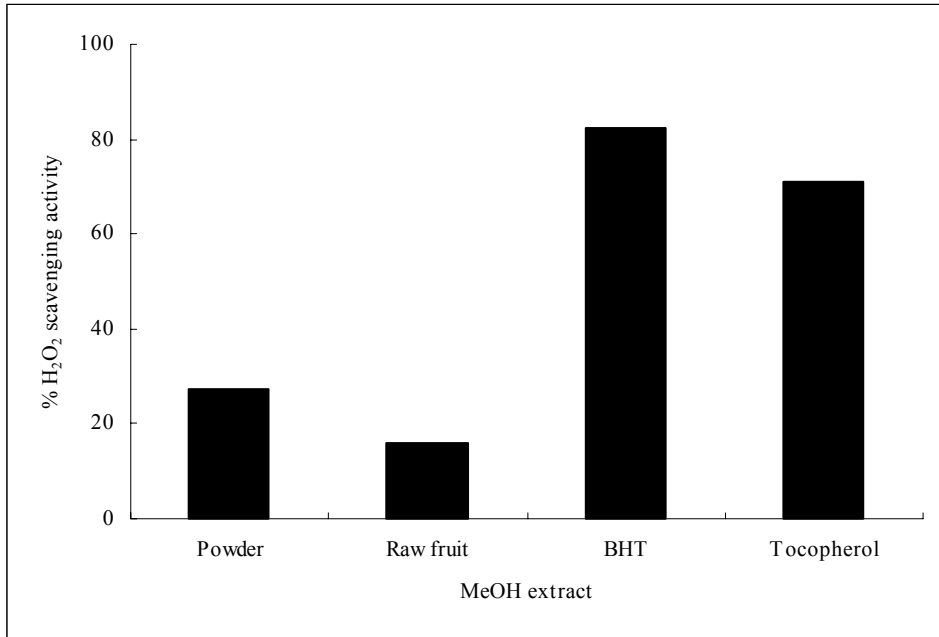


Fig 9. Hydrogen peroxide scavenging activity of methanolic extract from freeze-dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.

#### 4. Hydroxyl radical 소거활성

생체 내 산소가 유입되어 세포 내에서 이용될 때 superoxide anion ( $\cdot O_2$ ) radical과 hydrogen peroxide( $H_2O_2$ ), hydroxyl( $\cdot OH$ ), 지질의 free radical과 같은 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)이 부산물로 생성된다. 또한 peroxyxynitrite(ONOO)은 생체 내에서 nitric oxide( $NO \cdot$ )와  $\cdot O_2$ 의 반응으로 생성되는 활성 질소종(reactive nitrogen species, RNS)으로 ROS와 함께 활성종에 포함된다. 이들 ROS와 RNS는 세포 내 여러 구성성분인 지질, 단백질, 핵산 그리고 DNA를 산화시켜 염증을 유발하고 세포내 여러 조직을

손상시키며, 많은 퇴행성 질환, 즉 암, 동맥경화, 류마티스관절염, 그리고 알레르기와 관련이 있다(배 등, 2005)

식물체 추출물들의 지방산화 촉진인자인  $Fe^{2+}$  이온과 활성산소 중 지방산화를 일으키는데 주요한 역할을 하는 hydroxyl radical( $\cdot OH$ )에 대한 손바닥선인장 추출물의 소거활성을 측정한 결과는 Fig. 10 및 11과 같았다. Hydroxyl radical의 소거효과는 효소추출물에서 동건분말시료의 활성이 모두 높게 나타났다. 대조구인 BHT(63.47%)와는 많은 차이를 보였으나 Tocopherol(27.3%)은 아주 낮은 활성을 보였다. 반면 메탄올 추출물에서는 분말시료 및 생과시료 모두에서 BHT (63.5%), Tocopherol (27.3%)에 비해 분말시료(75.2%), 생과시료(74.8%)가 높은 활성을 보였으며 분말시료의 활성이 생과시료보다 높게 나타났다.

강 등(2001)의 연구에 의하면 감잎의 hydroxyl radical의 소거 효과를 용매를 분획하여 실험한 결과 감잎 200 $\mu g/ml$ 를 hexane 추출 시 20.1%, ethylacetate 추출 시 42.1%, n-butanol 추출시 10.1%, H<sub>2</sub>O 추출 시 38.9%의 결과와, superoxide 라디칼 소거능 분석결과 분획물 중에서 ethylacetate, 물, hexane n-butanol 순으로 높게 나타난 것으로 보고된 것으로 보아 추출용매에 따라 항산화 활성 효과에 커다란 차이를 보이며, 본 실험에서도 효소 추출물과 메탄올 추출물에서 항산화 활성 효과가 많은 차이를 보이는 것을 알 수 있다.

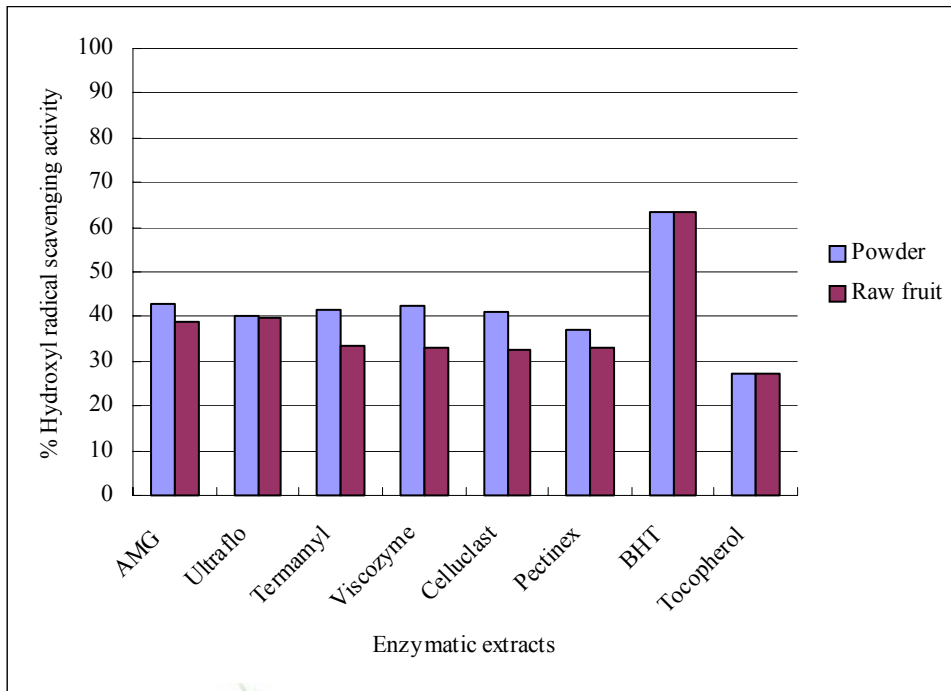


Fig. 10. Hydroxyl radical scavenging activity of enzyme extracts from freeze-dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.

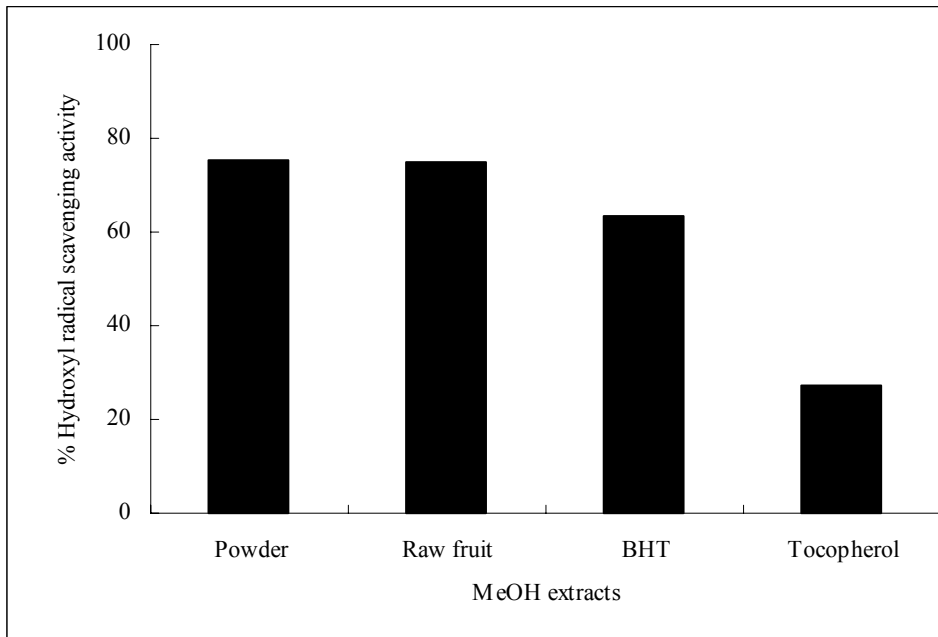


Fig. 11. Hydroxyl radical scavenging activity of methanolic extracts from freeze-dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.

## 5. Nitrite 소거활성

물과 메탄올을 이용한 선인장추출물의 아질산염의 소거 효과는 Fig. 12 및 13과 같았다. 손바닥선인장열매의 nitrite의 소거 효과는 효소추출물에서는 분말시료와 많은 차이를 보이지는 않았지만 생과시료의 활성이 전반적으로 높게 나타났으며, 대조구인 BHT(73.4%), Tocopherol(67.9%)과도 비슷한 활성을 보였다.

생과시료에서 Termamyl 추출물(62.6%), Celluclast추출물(67.6%)은 BHT, Tocopherol 보다 높은 활성을 보였다. 메탄올 추출물에서는 분말시료가 70.3%의 활성을 보여 BHT (73.3%)와 비슷한 소거효과를 보였고, 생과시료는

64.0%의 활성을 나타내어 Tocopherol (67.8%)과 대조구와 비슷한 소거활성을 보였다. 효소를 이용한 추출물 중 생과시료의 Celluclast 추출물(74.9%), Ultraflo 추출물(65.2%)은 메탄올 생과시료보다 높은 활성을 보였다.

정 등(2000)의 연구에 의하면 pH 1.2에서 오미자 종자 추출물의 아질산염의 소거효과는 물 60.2%, 메탄올 98.6%, 에탄올 91.9%, 에틸아세테이트 55.9%, 클로르포름 56.5%의 결과를 보였고, pH 6.0에서 물 3.8%, 메탄올 21.3%, 에탄올 0, 에틸아세테이트 0, 클로르포름 0%의 결과를 비교하면 pH의 변화에 따라 큰 차이를 보이고 있음을 알 수 있었다.

대나무 에탄올 추출물(임 등, 2004)에서도 인체 내 위에서의 pH 변화를 고려하여 각 pH 조건하(pH 1.2, 3.0, 6.0)에서 아질산염의 소거능이 각각 43.0%, 35.4%, 9.8%로 나타나, 아질산염의 소거능은 pH의 변화에 따라 많은 차이를 보이며 강산성에서 효과가 높았다고 보고하였다(정 등, 2000). Nordin(1967)은 pH가 0.86 단위만큼 감소됨에 따라 아질산염이 두 배로 소거되었음을 제시하였고, 니트로사민의 소거 작용은 중성영역의 pH에서 보다 인체 위내의 pH에서 촉진되는 것으로 알려져 있어(김 등, 1990), 손바닥선인장 열매의 추출물은 pH를 강산성으로 하였을 때 보다 좋은 효과를 낼 것이라 추정할 수 있었다.

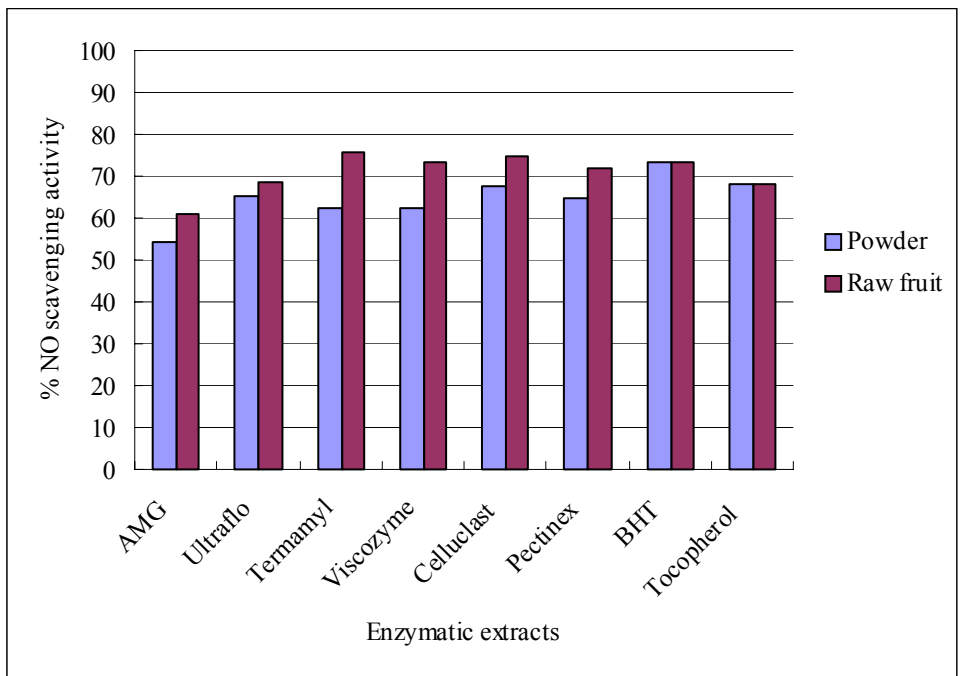


Fig. 12. Nitric oxide radical scavenging activity of enzyme extracts from freeze dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.



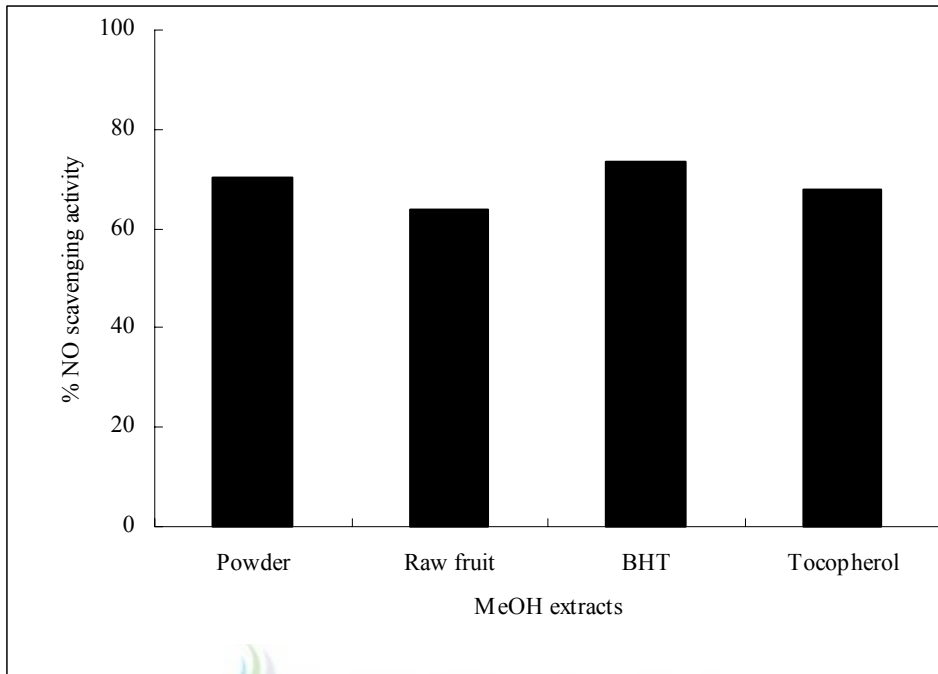


Fig 13. NO scavenging activity of methanolic extracts from freeze-dried powder and raw fruit of *Opuntia ficus-indica*.

## 6. Total phenolic content

천연 항산화제의 대부분은 식물체의 나무, 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 등에 존재하며 주로 폴리페놀류의 물질인 것으로 알려져 있다(유 등, 2005).

손바닥선인장 열매의 총페놀 함량은 table 3과 같았다. 본 실험에서의 총페놀 함량은 식품에 응용할 목적이기 때문에 95% 에탄올 추출물에서의 결과로서, 분말시료에서 AMG 3.8%, Pectinex 3.7%로 MeOH추출 분말시료 5.6% 보다 낮은 함량을 보였고, 생과시료 중 AMG 3.3%, Pectinex 3.3%로 분말

시료보다 낮은 함량을 보였으며, MeOH추출 생과시료 5.0%에 비해 효소추출 생과시료는 낮은 함량을 보였다.

문 등(2003)에 의하면 50%의 MeOH 추출물에서 3.4%, 80%의 MeOH 추출물에서 4.4%로 나타났으며, 80%의 메탄올을 가하고 2일간 실온에서 방치하여 냉침 추출한 것이 4.9%로 가장 높게 나타났음을 보고하여, 손바닥선인장의 폴리페놀 함량은 추출방법에 따라 많은 차이를 보이고 있으며, 이러한 결과로 볼 때 손바닥선인장의 총페놀 함량은 기존의 연구와 비교할 때 큰 차이를 보이지 않았고, 유 등(2004)에 의하면 솔잎의 수용성 추출물의 페놀함량은 1.61%와 비교하면 손바닥선인장의 페놀함량과 큰 차이를 보이고 있다.



Table 3. Total phenolic content of enzymatic and methanolic extracts from *Opuntia ficus-indica*

| Cactus    | Extracts   | concentration | Total phenol content |
|-----------|------------|---------------|----------------------|
|           |            | ( mg/ml )     | ( % )                |
| Powder    | Control    | 0.035         | 3.5                  |
|           | AMG        | 0.038         | 3.8                  |
|           | Utraflo    | 0.033         | 3.3                  |
|           | Termamryl  | 0.036         | 3.6                  |
|           | Viscozyme  | 0.033         | 3.3                  |
|           | Celluclast | 0.034         | 3.4                  |
|           | Pectinex   | 0.037         | 3.4                  |
| Raw fruit | Control    | 0.035         | 3.5                  |
|           | AMG        | 0.033         | 3.3                  |
|           | Utraflo    | 0.026         | 2.6                  |
|           | Termamryl  | 0.029         | 2.9                  |
|           | Viscozyme  | 0.032         | 3.2                  |
|           | Celluclast | 0.028         | 2.8                  |
|           | Pectinex   | 0.033         | 3.3                  |
| MeOH      | Powder     | 0.056         | 5.6                  |
|           | Raw fruit  | 0.050         | 5.0                  |

## IV. 요약

제주도 손바닥선인장 열매의 동결건조 분말과 생과를 시료로 하여 탄수화물 분해효소 6가지를 이용한 효소추출과 80%메탄올 추출하여 이들의 항산화 활성 및 아질산염의 소거능을 BHT와 Tocopherol을 대조구로 하여 비교 분석하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. DPPH radical에서 효소를 이용한 추출물 중 동결건조 분말시료는 전체적으로 매우 높은 활성을 보였고, 대조구인 BHT 97.7%, Tocopherol 92.9%에 비해 Pectinex 95.2%, 생과시료에선 Viscozyme, Termamyl 92.6%로 높은 활성을 보였다. 메탄올추출물에서 생과시료가 90%, 분말시료는 78.7%로 대조구인 BHT 97.7%, Tocopherol 92.9%에 비해 다소 낮은 활성을 보였다.

2. Superoxide radical의 소거 효과는 분말시료의 효소추출물에선 Viscozyme 63.8%, Pectinex 61.8%로 좋은 활성을 보였고, 생과시료의 효소추출물에선 Viscozyme 59.2%, Pectinex 61.0% 등 분말시료보다 조금 낮은 결과를 보였다. 메탄올추출에서의 결과는 분말시료 65.8%와 생과시료는 67.3%로 비슷한 소거효과를 보였다. 이들 시료에선 대체로 유사한 효과를 보였고, 대조구인 BHT나 Tocopherol의 효과(70% 전후)보다는 다소 낮게 나타났다.

3. Hydrogen peroxide( $H_2O_2$ ) 소거 효과는 대조구의 높은 활성(72~83%)에 비해 효소추출물과 메탄올 추출물에서 대체적으로 낮은 활성(12~27%)을 보였으며, 효소별로 차이를 보이지 않았고, 분말시료에서의 활성이 좋았다.

4. Hydroxyl radical 소거효과 실험에서 효소추출물은 분말시료(37~43%)가 생과시료(34~39%)보다 다소 높은 활성을 보였고, 메탄올추출물에서도 분말시료에서의 활성이 상대적으로 좋았으며, 대조구인 Tocopherol 보다 전반적으로 높은 활성을 보였다.

5. Nitrite 소거능에서는 효소를 이용한 추출물에서 생과시료의 활성이 조

금 높게 나타났으며, 메탄올 추출물에서는 분말시료의 소거능이 높게 나타났다. 효소추출물과 메탄올 추출물 모두에서 BHT와 Tocopherol 대조구와 유사하게 높은 소거효과를 보였다.

이러한 결과로 보아 손바닥선인장열매는 검정방법에 따라 차이는 있으나 DPPH radical에서 보듯이 항산화능이 매우 높은 것으로 나타났으며, 아질산염을 소거하는 유효성분이 많이 함유되어 있다고 사료된다.



## V. 참고문헌

- Branen, A. L., 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyl anisole and butylated hydroxytoluene. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 52-59.
- 전흥기, 정영기, 하배진. 2003. Opuntia ficus-indica가 과산화지질 및 콜레스테롤에 미치는 영향. *J. Korean Soc. Sci.* 13(6): 865-870.
- 정미숙, 김경희. 1996. 선인장 붉은 열매에서 추출한 Betanine 색소의 안정성. *Korean J. Soc. Food Sci.* 12(4): 506-510.
- 정기태, 주인옥, 최정식, 홍재식. 2000. 오미자 종자의 항산화성, 항균성, 아질산염 소거능. *J. Korean Food Sci. Technol.* 32(4): 928-935.
- 정혜정. 2000. 손바닥 선인장의 항산화 및 항균특성. *Korean J. Soc. Food Sci.* 16(2): 160-166.
- 중약대사전. 1981. 新文豊 出版社 上卷 p.483
- 최종원, 이정규, 문영인, 박희준, 한용. 2002. 손바닥선인장 열매 및 줄기 추출물의 생리활성(II)- 흰쥐의 알코올성 고지혈증에 미치는 영향. *Kor. J. Pharmacogn.* 33(3): 238-244.
- 최화정, 박승춘, 홍태희. 2005. 손바닥선인장(Opuntia humifusa) 발효액의 화학적 성분과 자궁경부암 세포주에 대한 항암작용. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.* 34(10): 1525-1530.
- 이옥환. 이희봉, 손종연. 2004. 올리브 잎 분획물의 항균활성 및 아질산염 소거능. *J. Korean Soc. Food Cookery Sci.* 20(2): 503-508.
- 이재성. 1981. 멸치젓의 질산염, 아질산염, 질산아민의 분석. *J. Korean Food Sci. Technol.* 14(2): 184-186.

- 임계택, 심재한. 1997. 옷나무 에탄올 추출물의 쥐 뇌세포에 대한 항산화 효과. *J. Korean Food Sci. Technol.* 29(6): 1248-1254.
- 이기동, 장학길, 김현구. 1997. 버섯류의 항산화성 및 아질산염의 소거작용. *J. Korean Food Sci. Technol.* 29(3): 432-436.
- 이범수, 최상호, 은종방. 2002. 기계식 및 재래식 죽초액의 아질산염 소거 및 전자 공여 작용. *J. Korean Food Sci. Technol.* 34(4): 719-724.
- 이민자, 문갑순. 2003. 한국산 왕대, 솜대, 맹죽죽, 조릿대 및 오죽의 항산화 효과 *J. Korean Food Sci. Technol.* 35(6): 1226-1232.
- 이경석, 김민규, 이기영. 2004. 병원성 식중독 미생물에 대한 천년초 선인장 추출물의 항균 활성. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33(8): 1268-1272.
- 이남호, 윤진석, 이봉호, 최병욱, 박관하. 2000. 손바닥선인장(*Opuntia ficus indicar*)의 라디칼 소거 활성, Tyrosinase 억제 활성, 항알레르기 활성 검색. *Kor. J. Pharmacogn.* 32(3): 253-256.
- 이영철, 신경아, 정승원, 문영인, 김성태, 한용남. 1999. 손바닥선인장 분말을 첨가한 생면의 품질 특성 *Korean J. Food Sci. Technol.* 31(6): 1604-1612.
- 이후장, 이용욱, 김정현. 1998. 랫드의 스트레스성 위궤양에 대한 *Opuntia dillenii* Haw.(선인장)의 항궤양작용에 대한 연구. *J. Fd Hyg.Safety* 13(1): 53-61.
- 이삼빈, 황 기, 하영득. 1998. 선인장 열매로부터 추출된 점질물 및 색소의 기능성 *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.* 27(5): 821-826.
- Fernandez, M, L., Trejo, A. and Mcnamara, D.J. 1990. Pectin isolated from prickly Pear (*Opuntia* sp) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol fed guinea pigs. *J. Nutr.* 120(11): 1283-1290.

- 하귀현. 1995. 천연 항산화 성분 *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 8(2): 135-144.
- 한순금. 2004. 손바닥선인장(백년초)의 섭취가 한림지역 해녀들의 혈중지질 및 항산화 효과에 미치는 영향. 제주대학교 대학원 식품영양학과 석사학위논문.
- 허승담, 박달수, 고경민, 김문관, 손원근, 이두식, 신태균. 2003. 양식 넙치에서 손바닥선인장 발효물의 항균 효과. *Kor. J. Vet. Publ. Hlth* 27(3): 143-147.
- 현진이, 2001. 손바닥선인장이 동물의 호흡기 및 위 손상에 대한 작용연구. 서울대학교 대학원 협동과정 천연물과학전공.
- Hyang Dok-Go, Kwang Heun Lee, Hyoung Ja Kim, Eun Ha Lee, Jiyong Lee, Yun Seon Song, Yong-Ha Lee, Changbae Jin, Yong Sup Lee, Jungsook Cho. 2003. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus indicar* var. *saboten*. *Brain Reserach*. 965: 130-136.
- 강국철. 1999. 손바닥선인장으로부터 생리활성 성분의 분리 및 활성 확인. 제주대학교 교육대학원 화학교육전공 석사학위논문.
- 강민숙, 강정숙. 2001. 감귤박, 다시마, 손바닥선인장 분말을 함유한 식이의 급여가 고콜레스테롤혈증 흰쥐의 체내 지질수준과 장내 콜레스테롤 흡수, 혈소판 응집성 및 간 조직에 미치는 영향. *한국영양학회지*. 34(2): 141-149.
- 강윤환, 박용근, 이기동. 1996. 페놀성 화합물의 아질산염 소거 및 전자 공여 작용 *J. Korean Food Sci. Technol.* 28: 232-239.
- 김인환, 김명희, 김홍만, 김영언. 1995. 선인장 열매 적색색소의 열안정성에 대한 항산화제의 효과. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27(6): 1013-



1016.

- 김해남, 권도훈, 김해운, 전흥기. 2005. 손바닥선인장 줄기의 methanol 추출물의 항균활성 *J. Korean Soc. Sci.* 15(2): 279-286.
- Mohamed Fawzy Ramadan. 1991. Oil cactus pear(*Opuntia ficus-indicar* L.). Jo'rg-Thomas Mo'rsel Instiute of Food Chemistry, Technical University of Berlin, TIB 4/3-1, Gustav-Meyer-Allee 25, D-13355 Berlin, Germany.
- 문창중, 김승준, 안미정, 이선주, 정규식, 박상준, 윤도영, 최용경. 2000. 손바닥선인장(제주도 기념물 35호) 추출물이 면역계 세포의 활성화에 미치는 영향 *J. Korean Soc. Sci.* 10(4): 362-367.
- 문영인. 2003. 손바닥선인장의 재배기술과 성분분석 및 기능성에 관한 연구. 제주대학교 대학원 원예학과. 박사학위논문.
- Nalin Siriwardhana. You-Jin Jeon. 2004. Antioxidative effect of cactus pear fruit(*Opuntia ficus-indicar*) extract on lipid peroxidation in oils and emulsion model systems. *Food Res. Technol.* 219: 369-376.
- 오성훈. 2004. 산업용효소 시장 현황. *식품산업과 영양.* 9(3): 10-17.
- 윤 인, 위지향, 문제학, 안태희, 박근형. 2003. 복분자 열매에서 항산화 활성을 지닌 quercetin의 분리 및 동정. *J. Korean Food Sci. Technol.* 35(3): 499-502.
- 박순자, 박덕자. 2002. 선인장 및 감귤 염색에 의한 단백질 직물의 물성 및 상에 관한 연구. *Korean J. Soc. of Clothing and Textiles.* 26(3): 473-484.
- 백승규. 1998. 손바닥선인장 열매가 노화촉진마우스의 수동회피능 및 항산화능에 미치는 영향. 제주대학교 대학원 수의학과 석사학위논문.
- Philip, F. Ganter, Gianluigi, Monia Giammaria, Bryan Quarles. 2004.

Correlations among measures of phenotypic and genetic variation within an oligotrophic asexual yeast, *Candida sonorensis*, collected from *Opuntia* FEMS. *Yeast Research* 4: 527-540.

Sawaya, W.N. Khatchadourian, H.A., Safi, W.M. and Al-Muhamad, H.M. 1983. Chemical characterization of prickly pear, *Opuntia ficus-indica*, and the manufacturing of prickly pear jam. Presented at the 68th Annual meeting of the international of milk, food & environment sanitarians, Inc. Spokane. WA, Aug. 9-12.

손미예, 김성희, 남상해, 박석규, 성낙주. 2004. 국내산 녹차 및 후발효차 추출물의 항산화 효과. *Journal of Life Science*. 14(6): 920-924.

신지은, 한명주, 이인경, 문영인, 김동현. 2003. Alloxan 및 Streptozotocin 유도 당뇨 모델 동물에서 손바닥선인장의 혈당강하 효과 *Kor. J. Pharmacogn.* 34(1): 75-79.

서성수, 김미영, 윤광섭, 노홍균, 김순동. 2002. 손바닥선인장 물추출물로 가공한 유색미의 취반 특성 *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31(5): 733-737.

Topping, D.L. 1991. Soluble Fiber polysaccharides: Effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. *Nutr. Rev.* 49(7): 195-203.

윤진석. 2000. 손바닥 선인장 (*Opuntia ficus-indica*)의 라디칼 소거 활성, Tyrosinase 억제 활성, 항알레르기 활성 검색 및 유효성분 분리. 제주대학교 대학원 화학과 석사학위논문.

Young-Chul Lee, Young-hee Pyo, Chae-Kyung Ahn and Soo-Hyun Kim. 2005). Food Functionality of *Opuntia ficus-indica* var. Cultivated in jeju Island. *J. Food Sci. Nutr.* 10: 103-110.

## 감사의 글

부족한 저에게 언제나 용기와 자신감을 심어 주시고 격려와 아낌으로 학문의 길로 인도하여 주신 김수현 교수님께 머리 숙여 감사를 드립니다.

바쁘신 가운데 기꺼이 논문심사를 맡아 주시고 넉넉한 마음으로 지켜봐 주신 송대진 교수님, 세심하게 검토하고 지도하여 주신 임상빈 교수님께 깊은 감사의 말씀을 드립니다.

항상 좋은 말씀으로 감동을 주시는 강영주 교수님, 평소 관심과 조언을 해주시고 따뜻함으로 감싸주신 하진환 교수님, 조용하시고 따뜻하시며 관심어린 눈으로 지켜봐 주신 고영환 교수님께 감사의 마음을 전합니다.

본 논문을 위해 학문적 조언을 아끼지 않으신 제주관광대학 김정현 교수님, 논문교정에 많은 도움을 주신 제주산업정보대학 오창경 교수님, 오명철 교수님께도 감사의 말씀을 드립니다.

이 논문이 완성되기까지 밤늦게까지 실험실에서 함께한 마힌다에게 고마운 마음을 전하며, 부족한 점을 많이 채워 주신 강영찬 선생님, 마음으로 의지가 되어 주고 실험을 가르쳐 주느라 애를 써준 승규와 식품생화학실험실 모든 식구들에게 감사드립니다.

논문 발표 시 많은 도움 주신 허유희 선생님, 그리고 함께 공부하며 많은 의지가 되었던 문지현 선생님에게도 감사드립니다.

가장 힘들었을 때 많은 용기를 주시고 정신적 지주가 되어 주신 음식문화연구회의 고정순 교수님, 최정혜 선생님과 오종보선생님께 깊은 감사를 드립니다.

늦게나마 공부할 수 있도록 곁에서 걱정 어린 마음으로 지켜보며 아낌없이 도와준 아버지, 어머니, 동생 정욱, 정미와 제부에게, 그리고 논문 쓰는 내내 불편함을 감수하고 지켜봐 준 사랑하는 남편에게 이 작은 결실을 드립니다.