

저장조건에 따른 신선초 생즙의 베타카로틴과 비타민 C의 함량 및 항산화능의 변화

박원봉 · 김덕숙*

서울여자대학교 화학과, *서울전문대학 식품가공학과

Changes of Contents of β -Carotene and Vitamin C and Antioxidative Activities of Juice of *Angelica keiskei* Koidz stored at different conditions

Won-Bong Park and Deuk-Sook Kim*

Department of Chemistry, Seoul Women's University,

*Department of Food Manufacturing Process, Seoil Junior College

Abstract

Contents of β -carotene and vitamin C in the vegetable(*Angelica keiskei*) juice were measured as a function of storing temperature($-18\sim 35^{\circ}\text{C}$) and period(6~72 hours). Content of β -carotene was highest in the fresh juice and the degree of destruction of the β -carotene was significantly increased as the storage temperature increased. Vitamin C in the juice stored at 4°C decreased less than that of β -carotene. There was no significant difference in fatty acid compositions among in the fresh, freeze-dried juice and juice stored for 72 hours. Antioxidative activities of components extracted from the juice(fresh and stored for 24 hours) followed by incubating for 1 day were higher than that of α -tocopherol and then significantly decreased as incubation prolonged.

Key words: vegetable juice, β -carotene, vitamin C, fatty acid, antioxidative activities

서 론

최근 암이나 만성 간질환에 널리 이용되고 있는 녹황색 야채의 생즙은 가열, 조리를 한 식품보다 각종 유효성분이 덜 파괴될 뿐만 아니라^(1, 2), 소화되기 어려운 섬유소가 대부분 제거된 상태이므로 소화, 흡수가 잘 되고, 다량 섭취할 수 있는 장점이 있다. 그러나 생즙은 제조 과정에서 식물세포벽이 파괴되어 조직내에서 상호보호 작용을 하고 있던 각종 성분이 세포조직 외부로 노출되고, 그 결과 공기중의 산소와의 접촉으로 식물자체내에서 보다 더 잘 변할 가능성이 있다. 특히, 항산화활성이 있으며 암을 비롯한 각종 성인병에 효과가 있는 것으로 알려진 생즙의 성분인 β -carotene^(4,5)과 vitamin C^(6, 8), 불포화 지방산⁽¹¹⁾ 등은 공기 중에 노출시 산소와 접촉하여 변화할 가능성이 큰 성분들이다. 특히 현대생활이 바쁘고 복잡해짐에 따라 생즙을 보관하거나 제품화된 것을 섭취하는 경우가 점차 늘고 있으므로 이에 따른 성분의 변화를 알아보는 것이 필요하다고 생각된다.

현재, 생즙의 재료로 많이 쓰이고 있는 신선초(*Angelica*

keiskei Koidz 또는 *Angelica utilis* Makino)는 미나리과에 속하는 다년생초로서 일본이 원산지이며 우리나라에서는 '신선초', '선삼초' 등으로 불리우고 있고, 고혈압, 간장병 등 각종 성인병에 민간약으로 사용되어 왔다. 최근에는 신선초에서 항암 등 생리 활성을 나타내는 각종 flavonoid, coumarin, 게르마늄 등이 들어 있다고 보고 되었으며^(9,10), 우리나라에서는 최근 몇년 사이에 널리 알려져, 생즙의 재료로 그 수요가 빠르게 증가하고 있다. 본 연구에서는 충북 진천에서 재배된 신선초(뿌리를 제외한 전초, 즉, 잎과 줄기)를 세척 후 수분을 제거하고, 즙을 만들어 시료로 사용하였다. 생즙의 상태에서 파괴될 가능성이 있는 성분인 β -carotene, vitamin C, 불포화지방산의 함량 및 항산화능의 변화를 시간, 온도 등 보관 조건에 따라 알아보고, 그 결과 최적의 보관조건을 정하여, 생즙의 성분변화를 최소화할 수 있는 방법을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 생즙시료는 녹즙기(엔젤라이프)로 즙을 만들어 병에 담은 후 마개를 닫아 보관한 동일 조건의 것을 3개씩 준비하여 사용하였다. Fatty acid sta-

Corresponding author: Won-Bong Park, Department of Chemistry, Seoul Women's University, 126 Kongnung 2 dong, Nowon-gu, Seoul, Korea

standard는 Aldrich에서 구입하였으며, vitamin C, β -carotene 그리고 thiobarbituric acid는 Sigma에서 구입하였다.

β -carotene의 측정

신선초 생즙 1 ml에 증류수 5 ml를 가한 후 ethyl ether와 petroleum ether 혼합용액(1:1) 10 ml를 가하여 강하게 흔들어준 후 상등액을 beaker에 취하였다. 잔류물에 다시 동일 용매를 가하여 같은 조작을 3회 반복한 후 추출된 용액을 모두 합하였다. 추출된 용액을 증류 flask에 넣은 후 감압증류하여 용제를 제거시킨 후 acetone에 용해시켜 전량을 20 ml로 하였다. Acetone에 용해시킨 시료를 여과지로 여과한 후, 다시 HPLC용 여과지로 여과하여 HPLC 분석용 시료로 사용하였으며, 같은 조작을 3회 반복하여 측정수치의 평균을 취하였다. 이 때 HPLC(Thermo Separation Products, USA) 분석 조건은 stationary phase: ODS C_{18} (300 mm, Thermo Separation Products), mobile phase: acetone/water(100:5), flow rate 1 ml/min, detector: λ_{max} = 450 nm이었다.

Vitamin C의 측정

신선초 생즙 1 ml에 증류수 5 ml를 가하여 5분간 초음파로 처리하여 추출한 액을 여과하고, 잔류물에 다시 증류수 5 ml를 가하여 같은 조작을 3회 반복하여 추출한 액을 모두 합하여 추출액의 전량을 20 ml로 한 것을 β -carotene과 동일한 방법으로 여과하여 HPLC분석용 시료로 사용하였으며, 같은 조작을 3회 반복하여 측정수치의 평균을 취하였다. 시료중 존재할 가능성이 있는 산화형인 dehydro-ascorbic acid(DAA)의 분석을 위해 시료를 10 mM dithiothreitol(DTT)로 환원처리 후 측정된 것을 산화형과 환원형의 총 ascorbic acid(AA)의 양으로 계산하였다. 이 때 HPLC(Thermo Separation Products)의 분석조건은 stationary phase: C_{18} (250 mm, Thermo Separation Products), mobile phase: methanol/water(97:3), flow rate: 0.5 ml/min, detector: λ_{max} = 254 nm이었다.

지방산의 측정

생즙을 통풍건조기(30°C)에서 3시간 건조시킨 후 다시 진공 desicator에서 건조시켰다. 건조시료 50 mg에 무수 H_2SO_4 0.6 ml와 무수 methanol 9.4 ml를 첨가하고 밀봉하여 70°C에서 6시간 가열한 다음 methanol을 감압하에서 증발, 제거시키고 증류수 7 ml를 가하였다. 생성된 fatty acid methyl ester을 diethyl ether 10 ml씩으로 3회 추출하고, 증류수 10 ml씩으로 2회 세척하였다. Diethyl ether은 감압하에서 증발시키고 chloroform에 용해시켜 GC용 시료로 사용하였으며, 같은 조작을 3회 반복하여 측정수치의 평균을 취하였다. GC는 Hewlett Packard 5890 series II를 사용하였으며 column은 HP-FFAP(25 m \times 0.32 mm \times 0.53 μ m), detector는 flame ionization

detector, carrier gas는 N_2 를 flow rate 1.5 ml/min로 하여 사용하였고 temperature programming(60~220°C, 9°C/min)에 의하여 분석하였다.

항산화성분의 추출

시료에 10배의 methanol을 가하여 80°C에서 24시간 동안 추출하고 감압농축한 후 methanol과 isopropylalcohol의 혼합용액(1:4)을 농축액의 2배로 가하여 용해시켰다. 용액을 원심분리(4000 rpm, 10 min)하여 상등액을 취하고 상등액량의 2배 수포화 n-butyl alcohol을 가하여 상온에서 3시간동안 진탕 추출시킨 후 60°C에서 감압농축한 다음 chloroform과 methanol 혼합용액(95:5)을 농축액의 3배로 가하여 상온에서 3시간동안 진탕 추출하여 항산화성분을 얻었다.

항산화능의 측정

신선한 생즙과 보관한 생즙이 linoleic acid의 산화를 방지하는 능력을 α -tocopherol과 비교하기 위하여 linoleic acid- H_2O emulsion을 Mitsuda⁽¹²⁾ 방법에 따라 제조하였다. 즉, linoleic acid 10 mg을 함유한 99% ethanol 10 ml를 가하고 여기에 0.2 M phosphate buffer(0.2 M $Na_2HPO_4 + KH_2PO_4$, pH 7.0) 10 ml를 넣고, 앞서 추출한 항산화성분 및 α -tocopherol을 100 ppm이 되도록 첨가하여 30°C에서 1~10일간 incubation하면서 thiobarbituric acid(TBA)가를 측정⁽¹³⁾하였으며 같은 조작을 3회 반복하여 측정수치의 평균을 취하였다.

결과 및 고찰

최근 생즙은 가정에서 만들어 섭취하거나 혹은 기업에서 제품화하여 가정에 배달되고 있으며 이를 이용하는 사람들의 가장 큰 관심은 적절한 보관방법이다. 생즙을 보관시 대두되는 가장 큰 문제점은 생체에 유효한 성분의 변질 가능성과 균의 오염 등이다. 따라서 본 연구에서는 우선, 시간 및 온도의 변화에 따른 유효성분의 파괴 정도 및 그들 성분의 항산화능의 변화정도를 알아보려고 하였다.

온도에 따른 β -carotene의 함량

생즙을 -18°C(냉동실 온도), 4°C(냉장실 온도), 20°C(상온), 35°C(여름철 온도)에서 24시간동안 보관한 후 β -carotene의 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같으며, -18°C에서 파괴율이 가장 낮고, 온도가 상승함에 따라 파괴의 정도가 점점 심해지는 것을 알 수 있었으며 특히 35°C에서는 β -carotene이 67.70%가 파괴되고 생즙의 색깔도 달라지는 것을 알 수 있었다. 따라서 생즙을 신선한 상태에서 섭취하는 것이 가장 이상적이라 생각되며, 직장관계 등으로 부득이 보관했다가 섭취해야 할 경우에는 가능한 한 저온에서 보관하고, 특히 24시간 이하의 단기간 보관시는 냉동 및 해동의 번거로움이 필요없고,

Table 1. Changes of β -carotene content in the juice of *Angelica keiskei* stored at varied temperature for 24 hours

Temperature (°C)	β -Carotene (ppm)	Degree of destruction(%)
fresh	48.14	
-18	34.55	28.23
4	31.52	34.52
20	21.79	54.74
35	15.55	67.70

Table 2. Changes of β -carotene content in the juice of *Angelica keiskei* stored at 4°C

Time (hours)	β -Carotene (ppm)	Degree of destruction(%)
0	48.14	
6	42.37	11.99
12	40.89	15.06
18	33.30	30.82
24	31.52	34.52
48	12.53	73.97
72	9.76	79.73

냉동보관시와 β -carotene의 함량이 큰 차이가 없는 일반 냉장고 보관온도인 4°C에 보관하여도 무방하리라 생각 된다.

저장시간에 따른 β -carotene의 함량

생즙을 β -carotene이 비교적 덜 파괴되고 보관상 최적 온도인 4°C에서 6~72시간 동안 보관하면서 β -carotene의 함량의 변화를 측정된 결과는 Table 2와 같다. 6시간 및 12시간 후에는 파괴율이 각각 11.99%, 15.06%이며, 18시간 후에는 30%, 48시간 후에는 70%였다. 따라서 생즙을 4°C에 보관하더라도 가능한한 12시간 이내에 먹는 것이 β -carotene의 파괴를 최소화할 수 있으리라 생각 된다.

저장시간에 따른 vitamin C의 함량

Vitamin C는 β -carotene, tocopherol과 같이 항산화활성이 있어서, 체내에서 활성산소를 제거하고 과산화지질을 억제하는데 도움이 되는 것으로 알려져 있다. Vitamin C는 ascorbic acid(AA)라고도 하며 이는 쉽게 산화되어 dehydroascorbic acid(DAA)가 되는데 이들 환원형 및 산화형은 인체내에서 생리효과가 거의 같은 것으로 알려져 있다⁷⁾. 그러나 산화형인 dehydroascorbic acid는 환원형인 ascorbic acid보다 불안정하여 쉽게 diketogulonic acid로 분해되어 더 이상 vitamin C로서 항산화활성을 갖지 못하게 되며, 이에 영향을 미치는 요인으로서는 공기중 산소, 온도, 광선 등 다양하다.

신선한 생즙과 보관상 최적온도인 4°C에서 24, 48, 72

Table 3. Changes of vitamin C content in the juice of *Angelica keiskei* stored at 4°C

Time (hours)	Vitamin C (ppm)	Degree of destruction(%)
0	444.6	
24	425.0	4.41
48	383.9	13.65
72	332.1	25.30

Table 4. Comparison of fatty acid composition among in the juice of *Angelica keiskei* treated with several methods (unit: %)

Fatty acid	Fresh	72 Hours ¹⁾	Freeze-dried ²⁾
Caprylic(C ₁₀)	0.86	0.80	0.90
Lauric(C ₁₂)	0.50	0.55	0.61
Myristic(C ₁₄)	3.20	2.54	3.51
Palmitic(C ₁₆)	22.31	20.31	19.45
Margaric(C _{16:2})	6.34	5.79	6.21
Stearic(C ₁₈)	3.10	4.00	3.01
Oleic(C _{18:1})	34.24	34.31	33.45
Linoleic(C _{18:2})	19.25	21.66	22.00
Unknown	10.20	10.04	10.86
Total			
Saturated	29.97	28.20	27.48
Unsaturated	59.83	61.76	61.66

¹⁾Juice stored for 72 hours at 4°C

²⁾Freeze-dried powder of fresh juice

시간동안 보관한 생즙의 vitamin C의 함량은 Table 3과 같다. 생즙을 24시간동안 보관하였을 때 4.41% 파괴되었으며 72시간동안 보관하였을 때 25.30% 파괴되는 것으로 보아, vitamin C는 β -carotene보다 시간경과에 따른 파괴율이 낮음을 알 수 있었다.

저장시간 및 냉동건조처리에 따른 지방산의 함량

신선초에는 65% 이상의 불포화지방산이 포함된 것으로 보고되었으며¹⁰⁾, 생즙에 포함된 불포화지방산은 식물세포의 외부로 노출되어 있으므로 공기중의 산소에 의하여 변화할 가능성이 있다. 따라서 본 실험에서는 보관상 최적온도인 4°C에서 72시간 동안 보관한 생즙과 신선한 생즙의 지방산 함량을 측정, 비교하였으며 그 결과는 Table 4와 같다. 또한 최근에는 생즙을 냉동건조처리하여 시판되는 제품도 있으므로 그 과정에서의 지방산의 변화여부도 알아보기 위하여 냉동건조한 생즙 분말의 지방산함량도 측정하였다. 3가지 시료에서 8종의 지방산을 동정하였으며 그 중 oleic acid, linoleic acid, palmitic acid 등의 순으로 주된 조성을 보였다. 72시간 동안 보관한 생즙, 냉동건조처리한 생즙을 신선한 것과 비교하여 볼 때 지방산 조성상의 뚜렷한 변화를 보이지 않았으며, 불포화 지방산인 margaric(C_{16:2}), oleic(C_{18:1}),

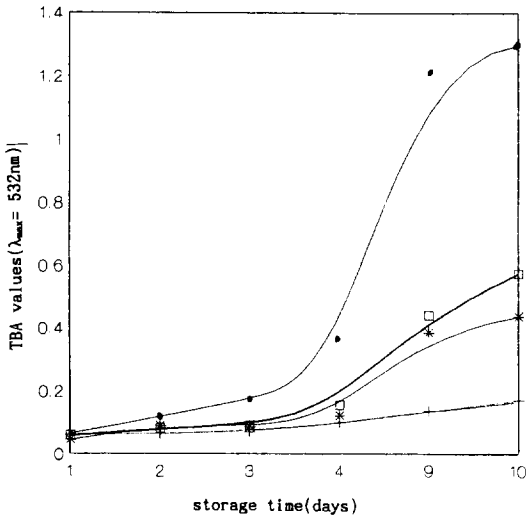


Fig. 1. Changes of TBA values ($\lambda_{max}=532\text{ nm}$) of linoleic acid emulsion incubated at 30°C for 1~10 days with antioxidative components extracted from the juice (fresh and stored at 4°C for 24 hours).

●—●, none; +—+, tocopherol; *—*, fresh; □—□, 24 hours

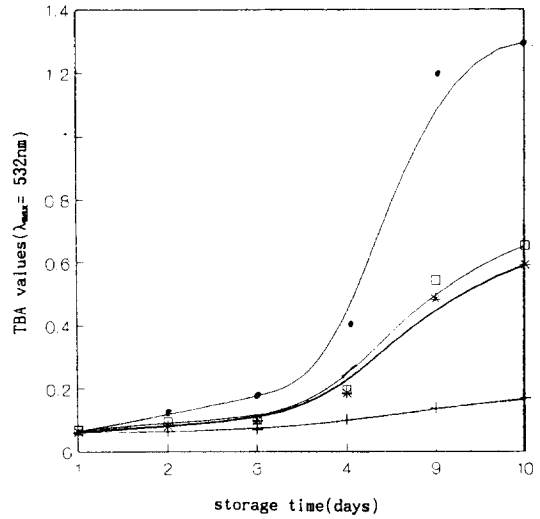


Fig. 2. Changes of TBA values ($\lambda_{max}=532\text{ nm}$) of linoleic acid emulsion incubated at 30°C for 1~10 days with antioxidative components extracted from juice (stored at 4°C for 48 and 72 hours).

●—●, none; +—+, tocopherol; *—*, 48 hours; □—□, 72 hours

linoleic($C_{18:2}$) acid의 함량에도 뚜렷한 변화가 나타나지 않았다.

항산화능의 변화

산소를 이용하는 생물체의 정상적인 대사과정에서 생기는 유리기는 체내에서 지질, 단백질, 당 및 핵산을 손상시키고 세포막의 파괴에 관여하여 세포의 살상, 돌연변이 유발, 발암, 조직의 노화 등의 원인이 된다고 알려져 있다^(6,14). 한편 녹색채 채소류에 존재하는 β -carotene, vitamin C, 각종 효소류, flavonoid 등은 이러한 유리기를 제거해주는 항산화능이 있는 것으로 알려져 있다⁽¹⁵⁻²⁰⁾. 그러나 이와같이 녹색채 채소류에 함유된 생리활성을 갖고 있는 각종 성분은 보관조건에 따라 변하기가 쉽다. 따라서 본 실험에서는 생즙에 함유되어 있는 총 항산화성분에 의한 항산화능을 조사하였다. 신선한 생즙과 4°C 에서 24시간동안 보관한 생즙으로부터 분리한 항산화성분을 첨가하고 linoleic acid- H_2O emulsion을 30°C 에서 1일동안 incubation시켰을 경우 TBA 값은 α -tocopherol을 첨가했을 경우보다 각각 0.73, 0.94 배로 생즙의 항산화능이 α -tocopherol보다 더 우수한 것으로 나타났으나(Fig. 1), 48시간 및 72시간동안 보관한 생즙으로부터 분리한 항산화성분은 α -tocopherol보다 항산화능이 떨어지는 것으로 나타났다(Fig. 2). 또한 24~72 시간동안 보관한 생즙으로 분리한 항산화성분을 첨가한 linoleic acid- H_2O emulsion을 10일동안 incubation시켰을 경우 TBA 값이 신선한 즙의 경우보다 거의 10배정도

증가하나 α -tocopherol을 첨가했을 경우 TBA 값이 2.77배 증가하였다. 이와 같은 결과는 생즙의 항산화능에 영향을 미칠 것으로 생각되는 β -carotene과 vitamin C가 시간이 경과함에 따라 파괴되는 것과도 관련이 있을 것으로 추측되며 항산화능을 최대로 하기 위해서는 보관시간을 짧게 할수록 유리한 것을 알 수 있다.

요 약

신선초 생즙에 들어있는 β -carotene, vitamin C, 불포화지방산의 함량과 생즙의 항산화능이 보관온도 및 시간에 따라 어떻게 달라지는가를 알아보았다. 생즙을 -18°C ~ 35°C 에서 24시간동안 보관한 후 β -carotene의 함량을 측정된 결과, -18°C 에서 파괴율이 가장 낮았고, 온도가 상승함에 따라 파괴율이 점점 커지며, 35°C 에서는 67.70%가 파괴되고 색깔도 변하는 것을 알 수 있었다. 생즙을 보관상 최저온도인 4°C 에서 6~48시간 보관한 후 β -carotene의 함량을 측정된 결과 시간이 경과함에 따라 파괴율이 커지는 것을 알 수 있었다. 또한 생즙을 4°C 에서 24~72시간동안 보관한 후 vitamin C의 함량을 측정된 결과, 시간경과에 따른 파괴율이 β -carotene보다 낮음을 알 수 있었다. 4°C 에서 72시간동안 보관한 생즙과 냉동 건조한 생즙의 지방산의 함량변화를 조사한 결과 72시간동안 보관한 생즙과 냉동 건조처리한 생즙은 신선한 것과 비교하여 볼 때 지방산 조성상의 뚜렷한 변화는 나타나지 않았다. 또한 항산화성분을 첨가한 linoleic

acid-H₂O emulsion을 1일동안 incubation시킨 결과 신선한 생즙과 24시간동안 보관한 생즙은 α-tocopherol의 항산화능보다 우수한 것으로 나타났으나, 48시간, 72시간동안 보관한 생즙의 항산화능은 α-tocopherol보다 떨어지는 것으로 나타났다. 또한 항산화성분을 첨가하고 2~10일동안 incubation시켰을 때에는, 생즙의 항산화능이 α-tocopherol보다 떨어지는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 산학협동재단(1993-1994)의 연구비 지원으로 이루어졌으며 이에 감사를 드립니다.

문헌

1. Ziegler, R.G.: Vegetables, fruits, and carotenoids and risk of cancer. *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, 251s (1991)
2. Tsujimura, M., Fukuda T. and Komatsubara, H.: Oxidation of vitamin C after heating in edible plants. *ヒタシン*, **64**, 27 (1990)
3. 이경임, 박진영, 이숙희: 녹황색 채소류의 돌연변이유발 억제 및 AZ-521위암세포의 성장저해효과. *한국영양식량학회지*, **21**, 149 (1992).
4. Stahelin, H.B., Gey, K.F. and Ludin, E.: β-Carotene and cancer prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, 265s (1991).
5. Mascio, P.D., Murphy, M.E. and Sies, H.: Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, 194s (1991)
6. Block, G.: Vitamin C and cancer prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, 270s (1991)
7. Hancock, A.B.: Vitamin C and cancer. *Prog. Clin. Biol Res.*, **259**, 307 (1988)

8. Bendich, A.: Vitamin C and immune responses. *Food Technol.*, **41**, 112 (1987)
9. Okuyama, T. and Takada, M.: Antitumor promotion by principles obtained from *Angelica keiskei*. *Planta Med.*, **57**, 242 (1991)
10. 김옥경, 궁성실, 박원봉, 이명환, 함승시: 명일엽의 전초 및 생즙의 영양성분분석. *한국식품과학회지*, **24**, 592 (1992)
11. 박현서, 한선화: 사람에서 n-3계 불포화지방산이 Selenium Lipoprotein과 지질조성에 미치는 영향. *한국영양학회지*, **21**, 61 (1988)
12. Mitsuda, H., Yasumoto, K. and Ozaki, T.: Studies on antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to Shokuro*, **19**, 210 (1966)
13. Sidwell, C.G., Salwin, H., Henca, M. and Mitchell, H. Jr.: The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 603 (1954)
14. 김창중, 정현삼, 정진모: Flavonoids의 약리작용(IV)-백혈구유주, superoxide anion 및 과산화지질 생성 억제 작용. *약학회지*, **35**, 165 (1991)
15. Burton, G.W. and Ingold, K.U.: Beta-carotene; An unusual type of lipid antioxidant. *Science*, **224**, 569 (1984)
16. Hennekens, J. and Eilett, W.: Vitamin A, carotenoids and retinoids. *Cancer Inst.*, **58**, 1837 (1986)
17. Pratt, D.E. and Watts, B.M.: The antioxidant activity of vegetable extracts. *J. Food Sci.*, **29**, 27 (1964)
18. Pratt, D.E.: Lipid antioxidants in plant tissue. *J. Food Sci.*, **31**, 737 (1964)
19. 최 응, 신동화, 장영상, 신재익: 식물성 천연 항산화물질의 검색과 그 항산화력의 비교. *한국식품과학회지*, **24**, 142 (1992)
20. Larson, R.A.: The antioxidants of higher plants. *Phytochem.*, **27**, 969 (1988)

(1995년 2월 5일 접수)