품종별 자두 종자 추출물의 항갈변 활성

박지원 · 이태정 · 이승욱

계명대학교 자연과학대학 식품가공학과

Anti-Browning Effect of Plum Seed Extracts from Different Cultivars

Ji-Won Park, Tae-Jeong Lee, and Syng-Ook Lee

Department of Food Science and Technology, Keimyung University

ABSTRACT In the present study, various natural extracts were screened for their anti-browning properties. Plum (*Prunus salicina* L.) seeds were subsequently selected as a potential material candidate, and the anti-browning activities of 70% ethanol seed extracts from three different plum cultivars (Formosa, Soldam, and Dodam) were analyzed. The average yield of plum seed extract was 3.02~3.34%, with Formosa seeds showing a relatively high yield. In assays measuring the anti-browning effect on potato supernatant and the inhibitory effect on polyphenol oxidase, the Soldam seed extract showed maximum anti-browning effects. In addition, the Soldam and Formosa seed extracts exerted considerably strong antioxidant activity towards 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals, respectively. Taken together, our results indicate the potential of plum seed extracts as sources of natural anti-browning agents.

Key words: anti-browning, polyphenol oxidase, plum seed, *Prunus salicina* Lindl. cv. Soldam

서 론

최근 국민들의 생활수준이 향상됨에 따라 건강에 대한 관심과 더불어 채소, 과일 등이 주원료인 신선편의식품에 대한 소비가 증가하고 있다(Kim 등, 2012; Chung 등, 2008). 신선편의식품이란 농, 임산물을 세척, 박피, 절단 등의 가공공정을 거치거나 이에 단순히 식품 또는 식품첨가물을 가한 것을 말하며, 그대로 섭취할 수 있는 샐러드, 새싹채소 등이 포함된다. 이러한 신선편의식품은 박피 및 절단 등의 가공시 조직의 절단면이 공기 중에 노출됨에 따라 손상 부위에 존재하는 다양한 성분들의 산화에 따른 갈변이 발생할 수 있다. 갈변현상은 맛뿐만 아니라 외관 등의 품질 저하를 초래하며, 유통 중 반품의 요인이 되기도 한다(Kwock과 Jang, 2008).

가공과정 중 발생하는 문제점인 갈변현상을 저해하고자 ascorbic acid, 산미제, chelating제 등의 화학물질들이 전통적으로 연구, 사용되었으나 이들은 사용대상 식품과 사용량에 제한이 있다. 또한 최근 건강 지향적 식품에 대한 소비자들의 관심 증가로 화학물질 대신 천연물질에 대한 요구가

증가하는 추세이며(Fallik, 2004), 루바브(Son 등, 2000), 양파(Chang 등, 2011), 감귤 및 녹차 등의 추출물과 꿀(Oszmianski와 Lee, 1990)과 같은 다양한 천연소재들을 이용한 항갈변제 개발에 관한 연구들이 보고되고 있다. 하지만 이들은 미백 관련 화장품 소재 개발에 집중된 연구이며 농산물의 갈변에 초점을 맞춘 연구는 미비한 실정이다.

한편, 자두는 장미과 벚나무속 자두 아속에 속하며, 국내에서는 대부분 동양계 품종인 *Prunus salicina* L.이 생산되고 있다. 특히 국내 자두는 다른 품종들과 달리 맛이 좋고 유용성분이 많아 생식용이나 가공용으로 사용되어 부산물인 종자가 다량 발생하고 있다. 자두는 플라보노이드와 페놀산과 같은 천연 페놀 화합물을 다량 함유하고 있으며, 품종에 따른 자두 부위별의 항산화 활성 연구가 진행되고 있다(Sung 등, 2002; Park 등, 2012). 이 외에도 골다공증 예방, 피부 보호, 빈혈 예방 및 피로 회복, 항염증 및 암세포 보호 등의 효과가 보고되고 있다(Kim 등, 2013; Sung 등, 2002). 하지만 이들 연구는 모두 자두 과육을 대상으로 이루어졌으며, 부산물인 자두 종자를 대상으로 한 생리활성 연구는 거의 이루어지지 않고 있다.

종자는 과실을 이용한 가공식품 제조 후 발생하는 부산물로, 대부분 폐기되므로 종자를 활용하기 위한 연구가 일부 진행되고 있다. 유자 종자의 경우 연간 1,800톤 이상 발생하여 이를 활용하고자 Lee 등(2009)은 암세포 성장억제 효과에 관한 연구를 실시하였고, 이 외에도 커스터드 애플(Shin 등, 2010) 및 복숭아(Kim 등, 2012) 등의 과일 종자를 활용

한 기능성 연구가 활발히 이루어지고 있다. 이러한 연구 흐름에 따라 본 연구에서는 우리나라에서 주로 재배되는 후무사(Formosa), 피자두(Soldam), 도담(Dodam)의 종자를 항갈변 소재로 활용하기 위해 추출물을 제조하여 수율을 알아 보았으며, 감자 상등액에 대한 항갈변 활성과 polyphenol oxidase 저해 활성, 항산화 활성 및 사과 슬라이스에 대한 항갈변 활성을 측정함으로써 품종별 활성을 비교하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 주시료인 후무사, 피자두 및 도담은 각각 김천, 영천, 경산이 원산지로서, 후무사 및 피자두는 온라인을 통하여 그리고 도담은 과일가게에서 구입하였다. 과육과 종자를 완전히 분리하여 종자만 실험에 사용하였다. Arbutin은 TRC사(Toronto, Canada) 제품을, L-ascorbic acid, dipotassium hydrogen phosphate dibasic 및 phenol reagent는 Junsei Chemical Co., Ltd.(Tokyo, Japan)로부터 구입하여 사용하였다. Potassium phosphate monobasic, 프레타날 A, methyl alcohol과 sodium carbonate anhydrous는 Duksan(Ansan, Korea)으로부터 구입하였다. 그 밖의 시약들은 모두 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

품종별 자두 종자 추출물 제조

후무사, 피자두 및 도담 3종은 과육으로부터 종자를 완전히 분리한 후, 종자를 분쇄기로 분쇄하고 분말 중량 10배(v/w)의 70% 프레타날을 첨가하여 25°C, 50 rpm에서 18 시간씩 2회 반복 추출하였다. 추출물은 여과지(Whatman No. 3, Little Chalfont, England)로 여과했으며, 여액은 45°C 수욕상에서 회전식 감압농축기로 농축한 후 동결 건조하여 -20°C에 보관하며 실험에 사용하였다.

감자 상등액에 대한 항갈변 활성 측정

감자는 가까운 대형마트(대백마트, Daegu, Korea)에서 구입하였다. 감자껍질을 제거한 후 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)와 1:1(v/w) 비율로 믹서기로 마쇄하여 감자 추출물을 제조하였다. 그 후 감자 추출물을 4°C에서 13,000×g로 20분 동안 원심분리하여 고형분을 제거하고 상등액을 얻었으며, 상등액은 cell strainer와 0.45 µm membrane filter를 이용하여 여과한 후 15 mL conical tube에 소분하여 -80°C에 보관하며 실험에 사용하였다.

항갈변 활성을 측정하기 위해 96-well plate의 각 well에 시료 20 µL를 분주한 후 감자 상등액 180 µL를 첨가하였다. 그 후 48시간 동안 시간별로 microplate spectrophotometer(Bio Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 410 nm에서 흡광도를 측정하고 감자 상등액의 항갈변 활성을 구하였다. 항갈변 활성은 시료 처리군의 흡광

도를 음성대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타냈으며, 아래의 식을 이용하였다.

$$\text{감자 상등액의 항갈변 활성(\%)} = 100 - \frac{\text{후기 흡광도} - \text{초기 흡광도}}{\text{control 흡광도}} \times 100$$

Polyphenol oxidase(PPO) 저해 활성 측정

PPO 조효소 추출물은 감자 상등액 제조 방법에 따라 제조하였다. 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 100 µL, PPO 조효소 추출물 20 µL와 시료 20 µL를 96-well plate에 분주했으며, 25°C에서 15분간 방치한 후 기질로 4 mM pyrogallol 용액을 60 µL씩 첨가한 다음 5분간 방치하고 334 nm에서 흡광도를 측정하였다. PPO 저해 활성은 시료 처리군의 흡광도를 음성대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타냈으며, 아래의 식을 이용하였다.

$$\text{PPO 활성 저해율(\%)} = 100 - \frac{\text{후기 흡광도} - \text{초기 흡광도}}{\text{control 흡광도}} \times 100$$

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀의 함량은 널리 사용되고 있는 Folin-Denis 법(1912)을 응용하여 측정하였다. 96-well plate에 시료 60 µL를 분주한 후 2배 희석한 Folin-Ciocalteu phenol reagent 60 µL를 첨가하고 3분간 방치하였다. 10% sodium carbonate(Na₂CO₃) 60 µL를 첨가하여 1시간 반응시키고 microplate spectrophotometer를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 10, 25, 50, 75, 100 µg/mL 농도로 표준 검량곡선을 작성하여 총 폴리페놀 함량을 구하였으며 gallic acid equivalent(µg GAE/mg)로 나타내었다.

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거 활성 측정

DPPH를 20 mM로 만든 후 희석하여 0.2 mM로 만들어 사용하였다. 시료 160 µL에 0.2 mM DPPH 40 µL를 가하여 30분 동안 실온에서 방치한 후 microplate spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 값은 라디칼을 50% 저해시키는 데 필요한 시료의 농도인 RC₅₀ 값으로 나타내었다. 이때 활성 비교를 위한 양성대조군으로 Trolox를 사용했으며, Trolox를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 시료의 항산화 활성(Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)을 계산하여 µg TE/mg으로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거 활성(\%)} = 100 - \frac{\text{후기 흡광도} - \text{초기 흡광도}}{\text{control 흡광도}} \times 100$$

2,2-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) 라디칼 소거 활성 측정

최종농도가 7 mM인 ABTS와 2.45 mM인 potassium

persulfate를 혼합하여 12~16시간 암소에서 반응하여 라디칼을 형성시켰다. ABTS 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 0.70 ± 0.02 가 되도록 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)으로 희석하였다. 시료 20 μL 에 희석된 ABTS 용액 180 μL 를 가하여 1분 동안 방치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 값은 라디칼을 50% 저해시키는 데 필요한 시료의 농도인 RC_{50} 값으로 나타내었다. 이때 활성 비교를 위하여 양성대조군으로 Trolox를 사용했으며, Trolox를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 시료의 항산화 활성을 계산하여 $\mu\text{g TE}/\text{mg}$ 으로 나타내었다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거 활성(\%)} = 100 - \frac{\text{시료 흡광도}}{\text{control 흡광도}} \times 100$$

사과 슬라이스에 대한 항갈변 활성 측정

열탕 및 70% 에탄올로 소독한 칼을 이용하여 사과를 0.5 cm 두께로 자른 후 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 양성대조군 및 품종별 자두 종자 추출물 용액을 3 mL씩 분주하였다. 1분간 방치한 후 3분간 자연 건조하여 시료를 가볍게 털어내고 24시간 동안 상온에 보관하면서 외관의 변화를 관찰하였다. 표면색은 표준백판($L=106.16$, $a=0.29$, $b=0.85$)으로 보정된 chroma meter(CR-400, Minolta Co., Osaka, Japan)를 사용하여 사과 슬라이스의 중심 부위를 3회 반복하여 Hunter L, a, b 값을 측정하였다. 각 처리구 간의 색도 차이는 색차(color difference, ΔE)를 이용하여 분석했으며 계산식은 다음과 같다.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

통계분석

모든 데이터는 최소 3번 반복하여 평균과 표준오차(mean $\pm$ SEM)로 나타내었으며, 통계분석에는 SPSS Statistics 25(Statistical Package for the Social Science, Version 25.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)가 사용되었다. 또한 그룹 간의 유의성 차이 검증에는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 사용하였으며, Duncan's multiple range test 방법을 통한 사후 검증을 시행하였다. 또한 95% ($P < 0.05$)의 유의수준에서 각 구간간의 유의적 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

품종별 자두 종자 추출물 수율

산업적 측면에서 천연물의 추출 수율은 부가 가치적 측면에서 매우 중요한 요소이다(Kim 등, 2011). 품종별 자두 종자의 추출 수율을 알아보기 위해 전체 종자 무게에 대해 추출 후 고형분의 무게를 측정하여 수율을 나타내었다(Table 1). 그 결과 후무사 3.34%, 도담 3.21%, 피자두 3.02%로 품종 간 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 추출 수율은 추출 용매나 추출 방법에 따라 차이가 나타날 수 있으므로 수율을 높일 방안에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

Table 1. The yield of plum seed extracts

Samples	Yields (%) ¹⁾
Formosa	$3.34 \pm 0.41^{\text{NS}2)}$
Soldam	3.02 ± 0.09
Dodam	3.21 ± 0.02

¹⁾Yields (%) = total seed extract powder weight/total seed weight $\times 100$.

²⁾Not significant.

감자 상등액에 대한 항갈변 활성

감자는 폴리페놀과 PPO를 함유하여 색이 쉽게 갈색으로 변화하는 특성이 있다(Coetzer 등, 2001). 이에 따라 감자 상등액을 제조하여 자두 종자 추출물들의 항갈변 활성을 측정하였다.

음성대조군 및 양성대조군, 자두 종자 추출물과 감자 상등액을 반응시켜 48시간 동안 410 nm에서 흡광도 변화를 측정하여 항갈변 활성을 알아보았다. 양성대조군으로는 항갈변제로 알려진 arbutin(200 μM)을 사용했으며(Moon 등, 2019), 세 품종의 자두 종자 추출물은 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 희석하여 사용하였다. 시료와 감자 상등액을 48시간 동안 반응시키면서 색 변화를 육안으로 관찰한 결과는 Fig. 1A와 같다. 시간이 지남에 따라 음성대조군의 색이 짙어짐을 통해 48시간 동안 갈변이 진행되는 것을 확인하였다. 또한 24시간과 48시간 동안 반응시킨 감자 상등액을 비교한 결과, 각 자두 종자 추출물 처리 시 무처리 대조군보다 갈변이 상대적

Fig. 1. Anti-browning effect of arbutin and plum seed extracts on potato supernatant. A: The color of potato supernatant treated with each sample from 0 to 48 hours. B: Anti-browning effect of plum seed extracts (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) or arbutin (200 μM) on potato supernatant. Each value is mean $\pm$ SEM ($n \geq 3$) and different letters (a-d) above bars are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

으로 느리게 진행되는 것을 육안으로 관찰할 수 있었다. 24 시간과 48시간 동안 종자 추출물들의 항갈변 활성을 비교한 결과는 Fig. 1B와 같다. 즉, 양성대조군인 arbutin의 경우 24시간과 48시간에 각각 9.01%와 19.7%의 저해율을 보여 48시간 반응 후 더 높은 항갈변 활성을 보였으며, 세 품종의 자두 종자 추출물은 arbutin보다 더 높은 항갈변 활성을 보이는 것으로 확인되었다. 24시간과 48시간 반응 후 모두 피자두, 도담, 후무사 종자 순으로 항갈변 활성이 우수하였으며, 그중 피자두 종자 추출물은 각각의 시간에서 32.9%와 36.7%로 가장 우수한 활성을 보였다.

PPO 저해 활성

PPO는 갈변을 일으키는 주된 효소로 monophenol이 di-phenol이 되는 hydroxylation과 diphenol이 quinone이 되는 산화과정에서 작용한다. 이들 중 quinone은 중합반응을 거쳐 갈색이나 흑색을 띠는 멜라닌 등의 색소를 형성하며 갈변현상을 일으키는 것으로 알려져 있다(Park 등, 2013).

자두 종자 추출물의 PPO 저해 활성은 pyrogallol을 기질로 이용하여 비교했으며, 각 종자 추출물의 처리 농도가 증가할수록 효소 활성이 유의적으로 저해되었다(Table 2). 후무사 종자 추출물의 경우 250 µg/mL에서 8.38%, 500 µg/mL에서 18.71%, 750 µg/mL에서 27.52%, 1,000 µg/mL에서 30.92% 저해하였고, 도담 종자 추출물은 250 µg/mL에서 13.41%, 500 µg/mL에서 17.70%, 750 µg/mL에서 30.23%, 1,000 µg/mL에서 35.20%의 저해 활성을 나타내며, 각각의 농도에서 후무사 종자 추출물보다 높은 저해 활성을 보였다. 한편, 피자두 종자 추출물의 PPO 저해 활성은 250 µg/mL에서 30.99%, 500 µg/mL에서 49.07%, 750 µg/mL에서 57.22%, 1,000 µg/mL에서 65.43%로 농도 의존적 경향을 보였다. 또한 PPO 활성을 50% 저해하는 농도인 IC₅₀ 값은 피자두 종자 추출물에서만 확인할 수 있었으며,

그 값은 675.85 µg/mL로 나타났다. 이로부터 피자두 종자 추출물의 PPO 저해 활성이 후무사와 피자두 종자 추출물보다 월등히 우수하다는 것을 알 수 있었다.

2.5 mg/mL의 회향 종자 추출물의 경우 40.82%의 PPO 저해 활성을 나타낸다고 보고되었으며(Lee와 Kim, 2020), 1%의 민들레 열수 추출물과 1%의 사과 에탄올 추출물은 각각 17.41%와 18.53%의 효소 활성을 저해한다고 보고되었다(Chang 등, 2011). 이들 결과와 비교해보면 자두 종자 추출물들의 경우 상대적으로 낮은 농도에서 더욱 우수한 PPO 저해 활성을 보일 것으로 기대된다.

총 폴리페놀 함량 비교

폴리페놀이란 식물계에 널리 분포된 2차 대사산물의 하나로써 다양한 구조와 분자량을 가지고 있으며, phenolic hydroxyl(OH)기를 가지고 있어 자유라디칼을 효과적으로 소거함으로써 항산화 활성 및 항갈변 활성을 나타낸다고 보고되어 있다(Jiangning 등, 2005; Lee와 Kim, 2020). 따라서 자두 씨 추출물들의 항산화 활성 측정과 함께 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.

품종별 자두 종자 추출물의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 기준 물질로 하여 환산한 GAE 값으로 나타내었으며, 그 결과 후무사 씨, 도담 씨, 피자두 씨가 각각 65.76, 52.77, 52.42 µg GAE/mg으로 후무사 씨 추출물이 다른 두 추출물에 비해 유의적($P<0.05$)으로 높은 폴리페놀 함량을 보였다(Table 3). 기타 식물 종자 추출물들의 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과를 살펴보면 쇠무릅과 울릉미역취 등 각종 산채류 종자들의 총 폴리페놀 함량은 tannic acid를 기준으로 했을 때 29.20~55.53 µg/mg 수준으로 보고되었으며(Lee 등, 2005), 복숭아 유과 씨의 경우 품종별로 18.33~27.08 µg GAE/mg 범위의 총 폴리페놀 함량을 보였다(Kim 등, 2012). 이들 결과와 비교해볼 때 자두 씨 추출물은 상대적으로 높은 폴리페놀 화합물을 함유하고 있을 것으로 예상된다.

Table 2. Inhibitory effect of plum seed extracts on PPO activity

Samples	Concentration (µg/mL)	Inhibition rate (%)	IC ₅₀ (µg/mL) ²⁾
Formosa	250	8.38±0.76 ^{b1)}	>1,000
	500	18.71±2.38 ^b	
	750	27.52±1.53 ^a	
	1,000	30.92±1.21 ^a	
Soldam	250	30.99±0.81 ^d	675.85±6.50
	500	49.07±1.80 ^c	
	750	57.22±1.76 ^b	
	1,000	65.43±2.12 ^a	
Dodam	250	13.41±2.38 ^c	>1,000
	500	17.70±2.23 ^b	
	750	30.23±1.37 ^{ab}	
	1,000	35.20±0.87 ^a	

¹⁾Each value is mean±SEM (n≥3) and different superscripts (a-d) are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

²⁾Concentration required for 50% inhibition of PPO activity.

항산화 활성

항갈변 활성은 항산화 활성과 깊은 상관관계를 가진다고 알려져 있으며, 실제로 대부분의 천연 항갈변제 및 항갈변제로 식품 산업에서 널리 활용되고 있는 비타민 C 역시 항산화 활성을 보이는 것으로 보고되고 있다(Chang 등, 2011; Lee와 Kim, 2020; Moon 등, 2019). 따라서 본 연구에서도 항갈

Table 3. Total phenol contents of extract from plum seed extracts

Samples	Total phenol (µg GAE ¹⁾ /mg)
Formosa	65.76±0.42 ^{a2)}
Soldam	52.42±0.37 ^b
Dodam	52.77±0.49 ^b

¹⁾Gallic acid equivalent.

²⁾Each value is mean±SEM (n=3) and different superscripts (a,b) are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 4. DPPH radical scavenging activities of plum seed extracts

Samples	RC ₅₀ (μg/mL) ¹⁾	TEAC (μg TE/mg) ²⁾
Formosa	30.75±0.53 ^{c3)}	47.00±1.29 ^a
Soldam	36.09±0.82 ^b	45.44±1.10 ^a
Dodam	41.92±0.56 ^a	34.12±0.15 ^b
Trolox	1.45±0.02	—

¹⁾Concentration required for 50% reduction of DPPH at 30 min after starting the reaction.

²⁾Trolox equivalent antioxidant capacity.

³⁾Each value is mean±SEM (n=3) and different superscripts (a-c) in the same column are significantly different at *P*<0.05 by Duncan's multiple range test.

변 활성과 더불어 품종별 자두 씨 추출물들의 자유라디칼 소거 활성을 DPPH 라디칼과 ABTS 라디칼을 대상으로 측정하였다. 이들 두 라디칼은 황 함유 아미노산과 비타민 C, 토코페롤 등의 다양한 항산화 물질로부터 전자나 수소를 제공받게 되면 환원되어 고유의 색을 잃어버리게 되며, 이와 같은 색의 변화를 측정함으로써 항산화 활성 측정이 가능하여 다양한 천연소재들의 항산화 활성을 측정하기 위한 방법으로 많이 이용되고 있다(Chang 등, 2011; Lee와 Kim, 2020; Moon 등, 2019).

DPPH 라디칼 소거 활성은 추출물의 RC₅₀ 값과 Trolox를 기준 물질로 하여 환산한 TEAC 값으로 나타내었으며, 그 결과는 Table 4와 같다. RC₅₀ 값은 후무사 씨(30.75 μg/mL), 피자두 씨(36.09 μg/mL), 도담 씨(41.92 μg/mL) 순으로 높게 나타났으며, TEAC 값은 후무사 씨, 피자두 씨, 도담 씨가 각각 47.00 μg TE/mg, 45.44 μg TE/mg과 34.12 μg TE/mg으로 나타났다. 한편 RC₅₀ 값의 경우는 품종 간 유의적 차이를 보였으나 TEAC 값에서는 후무사 씨와 피자두 씨 간의 유의적인 차이가 없었다. 따라서 이 결과들을 종합해볼 때 후무사 씨 추출물이 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거 활성을 보인다는 것을 알 수 있었다.

ABTS 라디칼 소거 활성 또한 RC₅₀ 값과 TEAC 값으로 나타내었으며, 그 결과는 Table 5와 같다. RC₅₀ 값은 피자두 씨(25.45 μg/mL), 후무사 씨(37.71 μg/mL), 도담 씨(45.36 μg/mL) 순으로 높게 나타났으며, TEAC 값은 피자두 씨, 후

무사 씨, 도담 씨가 각각 196.34 μg TE/mg, 129.68 μg TE/mg, 119.71 μg TE/mg으로 나타났다. RC₅₀ 값과 TEAC 값 모두 품종별로 유의적인 차이를 보였으며, 피자두 씨의 활성이 상대적으로 우수한 것을 알 수 있었다. DPPH 라디칼 소거 활성은 후무사 씨가 가장 우수했던 반면, ABTS 라디칼 소거 활성은 피자두 씨의 활성이 가장 우수한 것으로 나타나, 라디칼의 종류에 따라 추출물별로 상이한 소거 활성을 보이는 것으로 나타났다. 이처럼 측정법에 따라 항산화 활성이 다른 경향으로 나타나는 것은 Yu 등(2017)과 Lee 등(2017)의 다른 보고들에서도 볼 수 있는 결과이며, 일부 항산화 활성은 항갈변 활성과도 경향의 차이를 보이는 것으로 확인되었다. 즉 ABTS 라디칼 소거 활성과 항갈변 활성은 피자두 씨 추출물이 가장 높은 것으로 나타났으나(Table 2, Table 4), DPPH 라디칼 소거 활성은 다른 결과를 보였다(Table 3).

한편, Yu 등(2004)의 피자두 완숙과 과육 추출물의 경우 DPPH 라디칼에 대한 RC₅₀ 값이 105.50 μg/mL로 보고되었으며, 이에 비해 자두 씨 추출물은 세 품종 모두 과육 추출물들보다 상대적으로 높은 라디칼 소거 활성을 가질 것으로 기대된다.

사과 슬라이스에 대한 항갈변 활성

마지막으로 신선식품 소재로 많이 이용되는 사과 슬라이스를 대상으로 품종별 자두 씨 추출물의 항갈변 활성을 비교하였다. 사과는 주로 껍질째 또는 껍질만 벗겨서 생식으로 이용하는 과일로 과육에 박피, 절단 등의 가공 처리 시 조직 손상이 일어나면 폴리페놀이 공기 중의 산소와 반응하여 갈변현상을 쉽게 나타낸다(Hwang 등, 2001). 따라서 신선식품 소재로 많이 이용되는 과채류 중 특히 갈변현상이 쉽게 일어나는 과일인 사과를 이용하여 슬라이스를 제조한 후 자두 종자 추출물을 처리하여 항갈변 활성을 확인하였다. 사과 슬라이스에 양성대조군(arbutin) 및 세 품종의 자두 종자 추출물을 처리한 후 상온에서 24시간 보관하면서 시간별로 Hunter L값과 ΔE값의 변화를 관찰하였으며 그 결과는 Table 6과 같다.

명도를 나타내며 표면의 색이 밝을수록 높은 값을 보이는

Table 5. ABTS⁺ radical scavenging activities of plum seed extracts

Samples	RC ₅₀ (μg/mL) ¹⁾	TEAC (μg TE/mg) ²⁾
Formosa	37.71±0.68 ^{b3)}	129.68±1.31 ^b
Soldam	25.45±0.11 ^c	196.34±0.53 ^a
Dodam	45.36±0.13 ^a	119.71±0.82 ^c
Trolox	5.09±0.01	—

¹⁾Concentration required for 50% reduction of ABTS⁺ at 1 min after strating the reaction.

²⁾Trolox equivalent antioxidant capacity.

³⁾Each value is mean±SEM (n=3) and different superscripts (a-c) in the same column are significantly different at *P*<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 6. Changes in Hunter L and ΔE values of apple slices treated with arbutin (200 μM) and different plum seed extracts (500 μg/mL) for 24 h at room temperature

Samples	L ¹⁾	ΔE ²⁾
Control	70.32±0.86 ^{c3)}	9.38±2.05 ^a
Arbutin	71.48±0.49 ^c	6.47±1.53 ^{ab}
Formosa	74.23±0.31 ^b	4.41±0.56 ^b
Soldam	76.44±0.48 ^a	3.01±0.74 ^b
Dodam	75.39±0.52 ^{ab}	2.83±0.60 ^b

¹⁾L: lightness.

²⁾ΔE: degree of color of change.

³⁾Each value is mean±SEM (n≥3) and different superscripts (a-c) are significantly different at *P*<0.05 by Duncan's multiple range test.

L값은 무처리 사과 슬라이스의 경우 70.32로 나타났으며, 양성대조군인 arbutin이 처리된 사과 슬라이스는 71.48로 나타났다. 세 품종의 자두 종자 추출물을 500 µg/mL로 처리한 사과 슬라이스의 L값은 피자두와 도담, 후무사 종자 추출물이 각각 76.44, 75.39, 74.23으로 확인되었으며, 이로부터 자두 종자 추출물을 처리 시 사과 슬라이스의 갈변이 유의적으로 저해됨을 알 수 있었다. ΔE값은 L, a, b 값을 모두 고려하여 초기값과 비교해 일정 시간 후 색의 변화를 수치화한 값으로, 색 변화가 많을수록 높은 값을 보이므로 주관적인 갈변의 정도를 객관적인 수치로 판단할 수 있다(Park 등, 2013). 무처리 대조군의 ΔE값이 9.38인 반면, 양성대조군인 arbutin은 6.47로 나타나 arbutin 처리군의 색 변화가 무처리 대조군에 비해 낮게 나타났으나 통계학적 유의성은 보이지 않았다. 세 품종의 자두 종자 추출물의 경우 후무사, 피자두, 도담 순으로 낮은 ΔE값을 보였으며, 이들 추출물들은 모든 그룹에서 무처리 대조군보다 유의적으로 낮은 색 변화를 나타내었다. 따라서 자두 종자 추출물은 사과 슬라이스에 처리할 경우 무처리 대조군보다 표면의 색이 밝고 색의 변화가 적어 항갈변 활성이 우수함을 알 수 있었다.

Weller 등(1997)은 L값의 변화가 PPO 활성의 증가와 관련이 있으며, PPO는 조직이 노화되거나 저장 시 스트레스를 받으면 매우 용해성이 커지고 활성화된다고 하였다. Ahn과 Lee(2005)는 PPO 활성과 사과의 갈변 정도가 높은 부의 상관관계를 가지며 밀접한 관련이 있음을 확인하였다. 종합적으로 사과 슬라이스에서 Hunter 색도계를 이용하여 자두 종자 추출물의 항갈변 활성을 측정한 결과 피자두 및 도담 종자 추출물의 항갈변 활성이 가장 우수함을 확인하였고, PPO 저해 활성 측정 결과 피자두 종자의 PPO 저해 활성이 가장 우수함을 확인하였다. 이는 선행연구와 마찬가지로 PPO 활성과 사과 갈변 정도가 높은 상관관계를 가짐을 알 수 있었다.

본 연구로부터 새로운 천연 항갈변 소재로서 자두 종자 추출물의 활용 가능성을 확인할 수 있었으며, 신선편의식품의 상품성 측면에서 중요하게 작용하는 표면 갈변을 자두 씨 추출물을 이용하여 방지할 수 있을 것으로 예상된다. 현재 항갈변 활성이 가장 우수하였던 피자두 씨를 대상으로 다양한 용매를 이용하여 추출물을 제조하고 있으며, 향후 추출 용매별 항갈변 및 항산화 활성 측정과 안정성 비교 실험을 계획하고 있다. 또한 천연물 추출물과 ascorbic acid의 병용처리 시 더욱더 높은 항갈변 활성을 보였다는 연구(Park 등, 2013)가 보고됨에 따라 이와 관련된 추가적인 연구도 필요할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 가공식품 제조 시 생성되는 부산물 중 하나인 자두 종자를 이용하여 식품첨가물 소재로서 활용 가능성에 관한 기초자료를 제공하고자 다양한 항갈변 활성을 측정하

였다. 세 품종의 자두 종자로부터 제조한 70% 프레타놀 추출물의 추출 수율은 후무사, 도담, 피자두 모두 유사한 수준이었으며 품종 간 유의적인 차이는 없었다. 감자 상등액에 대한 항갈변 활성은 피자두, 도담, 후무사 순으로 높게 나타났으며 품종 간 유의적인 차이를 보였다. 또한 이들 자두 종자 추출물들은 모두 양성대조군인 arbutin에 비해서도 24 시간째 우수한 항갈변 활성을 보이는 것으로 확인되었다. PPO 저해 활성은 피자두 종자가 모든 처리 농도에서 도담과 후무사 종자보다 유의적으로 높은 저해 활성을 보였으며, 항산화 활성은 피자두와 후무사 종자 추출물이 각각 ABTS와 DPPH 라디칼에 대해서 상대적으로 높은 저해 활성을 나타내었다. 사과 슬라이스에 대한 항갈변 활성의 경우는 피자두와 도담 종자가 상대적으로 우수하였으나 품종 간 큰 차이는 보이지 않았다. 최종적으로 본 연구에서는 다양한 항갈변 실험을 수행한 결과 피자두 종자 추출물이 후무사와 도담 종자 추출물보다 상대적으로 우수한 항갈변 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과들은 자두 종자를 이용한 새로운 천연 항갈변제 개발의 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 예상되며, 더 나아가 식품가공 부산물 중 특히 과실 종자들의 새로운 활용방안 구축에도 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2019년 교육부 대학혁신지원사업 K-Cloud College의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Ahn SC, Lee GC. Effects of antibrowning agents on browning of apple slices during cold storage. *Korean J Food Cook Sci.* 2005. 21:24-32.
- Chang MS, An S, Jeong MC, Kim D, Kim GH. Effects of antioxidative activities and antibrowning of extracts from onion, apple and mandarin orange peel as natural antibrowning agents. *Korean J Food Nutr.* 2011. 24:406-413.
- Chung HS, Toivonen P, Moon KD. Combined effects of vanillin and antibrowning agent on changes of quality and microorganisms in fresh-cut apples. *Korean J Food Preserv.* 2008. 15:385-389.
- Coetzer C, Corsini D, Love S, Pavsek J, Tumer N. Control of enzymatic browning in potato (*Solanum tuberosum* L.) by sense and antisense RNA from tomato polyphenol oxidase. *J Agric Food Chem.* 2001. 49:652-657.
- Fallik E. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). *Postharvest Biol Technol.* 2004. 32:125-134.
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem.* 1912. 12:239-243.
- Hwang TY, Son SM, Lee CY, Moon KD. Quality changes of fresh-cut packaged Fuji apples during storage. *Korean J Food Sci Technol.* 2001. 33:469-473.
- Jiangning G, Xinchu W, Hou W, Qinghua L, Kaishun B. Antioxidants from a Chinese medicinal herb - *Psoralea corylifolia* L. *Food Chem.* 2005. 91:287-292.
- Kim DM, Kim KH, Kim YS, Koh JH, Lee KH, Yook HS. A

- study on the development of cosmetic materials using unripe peaches seed extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2012. 41:110-115.
- Kim DM, Kim KH, Sung NY, Jung PM, Kim JS, Kim JK, et al. Effects of gamma irradiation on the extraction yield and whitening activity of polysaccharides from *Undaria pinnatifida* sporophyll. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2011. 40:712-716.
- Kim SN, Kim SY, Kim JB, Park HJ, Cho YS. Effect of extracts from oriental plum (Formosa, Oishiwase, Soldam) on LPS-stimulated Raw 264.7 cells. *J East Asian Soc Diet Life.* 2013. 23:197-202.
- Kwock CK, Jang JK. The promotion strategies of wellbeing food industry – focusing on fresh-cut produce industry –. *Food Industry and Nutrition.* 2008. 13(1):17-27.
- Lee HS, Ryu HJ, Song HJ, Lee SO. Enzymatic preparation and antioxidant activities of protein hydrolysates from *Protaetia brevitarsis* larvae. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2017. 46: 1164-1170.
- Lee JY, Kim CY. Anti browning and antioxidant properties of *Foeniculum vulgare* seed extracts. *Korean J Food Preserv.* 2020. 27:188-196.
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung Island. *Korean J Food Sci Technol.* 2005. 37:233-240.
- Lee YJ, Hwang IG, Joung EM, Kim HY, Park ES, Woo KS, et al. Physiological activity and antiproliferation effects of citron seed extracts on cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2009. 38:1672-1678.
- Moon KM, Kim CY, Ma JY, Lee B. Xanthone-related compounds as an anti-browning and antioxidant food additive. *Food Chem.* 2019. 274:345-350.
- Oszmianski J, Lee CY. Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey. *J Agric Food Chem.* 1990. 38:1892-1895.
- Park EY, Shin SJ, Choi SY, Kim HS, Chang BS, Kim YC. Comparison in the antioxidant activities of water extracts of *Prunus salicina*'s peel and pulp (Daeseokjosaeng, Purplekin, Formosa, Hollywood, Hongrosen). *J Invest Cosmetol.* 2012. 8:107-113.
- Park M, Chang MS, Jeong MC, Kim GH. *Scutellaria baicalensis* extracts as natural inhibitors of food browning. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2013. 42:792-799.
- Shin SH, Choi GH, Choi DS, Kwon OK, Im GJ, Park JU, et al. Insecticidal activity of the crude extract and its fractions of custard apple (*Annona reticulata* L.). *J Appl Biol Chem.* 2010. 53:21-24.
- Son SM, Moon KD, Lee CY. Rhubarb juice as a natural anti-browning agent. *J Food Sci.* 2000. 65:1288-1289.
- Sung YJ, Kim YC, Kim MY, Lee JB, Chung SK. Approximate composition and physicochemical properties of plum (*Prunus salicina*). *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol.* 2002. 45: 134-137.
- Weller A, Sims CA, Matthews RF, Bates RP, Brecht JK. Browning susceptibility and changes in composition during storage of carambola slices. *J Food Sci.* 1997. 62:256-260.
- Yu MH, Lee HS, Cho HR, Lee SO. Enzymatic preparation and antioxidant activities of protein hydrolysates from *Tenebrio molitor* larvae (mealworm). *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2017. 46:435-441.
- Yu MH, Lee S, Im HG, Kim HJ, Lee IS. Antioxidant activities of *Prunus salicina* Lind cv. Soldam (plum) at different growth stages. *Korean J Food Preserv.* 2004. 11:358-363.