

## 미숙사과의 페놀계 화합물의 특성

박미원<sup>1†</sup> · 박용곤<sup>1</sup> · 김을상<sup>2</sup>

<sup>1</sup>한국식품개발연구원, <sup>2</sup>단국대학교 식품영양학과

### Properties of Phenolic Compounds in Unripened Apples

Mee-Weon Park<sup>1†</sup>, Yong-Kon Park<sup>1</sup> and Eul-Sang Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-714, Korea

#### Abstract

Abundant amounts of unripe apples, which were picked out before maturation, were abolished every year for wastes. Since unripened apples are known to be rich in functional components, the ultimate objective of this research was to utilize them for food resources. The concentrations of polyphenols in hot water extract were the lowest, those in 75% acetone extract the highest. Concentrations of polyphenols in 5/30 sample were 3.5 times higher than those in 6/30 sample regardless of solvents used for extraction. The degree of condensation of flavanolic tannins in the peel was lower than those of the other parts, and the hot water extract was more condensed than the acetone extract. The amount of total flavonoids in the peel and 5/30 samples were 2.7 and 5.0 times higher than those of the flesh and 6/30 samples, respectively.

**Key words :** Unripened apples, total polyphenols, total flavonoids, chlorogenic acids.

#### 서 론

최근 천연 식품소재 유래의 생리활성 물질에 대한 관심이 높아지고 있으며 이러한 천연소재 중 폴리페놀화합물의 각종 기능성, 특히 항산화성과 암질환 예방과의 관련성에 주목하여 폴리페놀 및 항산화 소재가 지닌 구취 제거, 미백, 노화 방지, 고혈압 예방, 항암, 항돌연변이 등의 효과를 활용한 기능성 식품이 인기를 끌고 있다(Goldberg I 1994). 이와 관련하여 국내산 식물성 식품중 폴리페놀화합물의 함량과 이들의 생리활성에 관한 연구(Lee & Lee 1994)가 활발히 진행중에 있다.

사과는 매년 재배과정에서 5월 말경부터 6월에 걸쳐 20~30%의 미숙과가 적과되어 현장에서 폐기처분되고 있는 실정이며 과거에는 농가에서 이들 적과된 미숙사과를 달여서 착즙한 액을 식용하거나 또는 약용으로 일부 사용하기도 하였다. 이러한 적과시 발생하는 미숙상태의 사과는 성숙과에 비해 여러 가지 성분상의 차이를 가져 유기산류, 아미노산, 칼

슘이온 등이 많이 존재하며 또한 미숙과실 중에는 폴리페놀류의 함량이 성숙과실의 10배 이상의 농도로 존재한다. 사과 폴리페놀화합물에 대한 연구로는 성숙, 저장 중 폴리페놀화합물의 변화(Burda et al 1990), 사과 주스 가공 및 저장 중 폴리페놀 함량 변화(Spanos et al 1990), 사과에서 분리한 플라보노이드의 항산화 활성(Sluis et al 1997), 폴리페놀화합물이 갈변에 미치는 영향(Amiot et al 1992), 사과 폴리페놀화합물의 항알레르기 효과(Kanda et al 1998), 사과 페놀계 물질 분포(Oleszek et al 1998, Dick et al 1987) 등에 관한 많은 연구가 진행되었다.

본 연구는 사과 적과시 대량으로 발생하는 원예부산물 중 하나인 미숙사과의 활용도 증진을 위한 연구의 일환으로 미숙사과에 풍부하게 함유되어 있는 폴리페놀화합물의 함량과 조성을 조사하였다.

#### 재료 및 방법

##### 1. 재 료

본 실험에 사용한 시료는 개화 후 40일 정도 된 중량이 5g인 부사(5월 30일)를 가평군 농장에서 적과시 직접 채취하여 사용하였으며 개화 후 70일 정도된 중량 40g 정도인 부사(6월 30일)는 수작업으로 1) 씨만을 제거한 미숙과 전체(과

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업 과제 지원으로 수행된 연구결과의 일부임.

†Corresponding author : Mee-Weon Park, Tel: 031-780-9061, E-mail: mw1028@hanmail.net

육+과피)와 2) 과피, 3) 과피, 핵을 제거한 과육부위로 분리한 것을 동결건조하여 사용하였다.

2. 용매추출물의 제조

부위를 달리한 미숙사과 분말에 각기 다른 추출용매를 사용하여 추출액을 제조하였다. 열수추출물은 분말 0.5 g을 300 mL의 증류수에 현탁시킨 후 98℃에서 1시간 환류추출하고 여과한 여액을 45℃ 진공농축기에서 농축하여 증류수로 100 mL 정용하고 10,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 75% 아세톤과 80% 메탄올추출물은 80℃에서 1시간 환류추출하여 열수 추출물과 동일한 방법으로 제조하였다.

3. 흡광도

미숙사과의 부위별, 추출용매를 달리하여 얻은 추출물의 흡광도 변화는 분광광도계를 사용하여 측정하였다.

4. 총폴리페놀 및 분획별 함량

폴리페놀 화합물의 분석은 Nakabayashi의 방법(1968)에 따라 각 용매별 추출물 5 mL에 Folin-Denis시약 5 mL를 가하여 혼합하고 실온에서 1시간 방치시킨 후 760 nm에서의 흡광도를 측정하여 표준물질인 chlorogenic acid로 하여 환산하였다. Flavanol형 tannin인 catechin과 leucoanthocyan의 정량은 vanillin 시약을 이용하여 catechin으로 계산하였다. Leucoanthocyan의 정량은 염산-부탄올 시약을 이용하여 cyanidin으로 계산하였다. Chlorogenic acid의 정량은 추출물에 sodium nitrate, acetate, sodium carbonate로 발색후 흡광도를 측정하였다.

5. 고분자량 분획

미숙사과의 페놀성 물질 중 고분자량 분획의 함량은 각 용매별 추출물 10 mL에 2.5%의 gelatin 용액 5 mL를 가하여 잘 혼합하고 NaCl 포화용액:진한 황산(97.5:2.5) 용액 10 mL를 가한 후 kaolin 1 g을 넣고 교반하여 침전이 생길 때까지 40분간 방치 후 여과한 여액을 100 mL로 정용하여 Folin-Denis법(日本食品總合研究所 1990)으로 정량하였다.

결과 및 고찰

1. 파장별 흡광도

미숙사과의 부위별 용매 추출물의 주요 파장별 흡광도 변화를 나타낸 결과는 Table 1로서 열수, 메탄올 추출물이 230 nm 부근에서 모두 최대 흡광도를 나타낸 반면 아세톤 추출물의 경우 330 nm에서 최대 흡광도를 나타내어 용매에 따른

차이가 있는 것으로 나타났다. 미숙사과의 용매 추출물의 부위별 흡광도 변화를 보면 모든 추출물에서 부위에 따른 차이가 뚜렷이 나타나 과피>과육+과피>과육의 순이었으며 이는 미숙사과 과피의 클로로필이 용매에 용출된 결과로 보여진다.

2. 폴리페놀성 물질의 함량

1) 총폴리페놀

5월 30일 적과한 미숙사과 전체와 6월 30일 적과한 부위별 시료의 용매 추출물의 총폴리페놀 함량을 나타낸 결과는 Fig. 1과 같다. 열수 추출물의 총폴리페놀 함량이 수확시기별 및 모든 부위에서 가장 낮은 값을 보인 반면, 75% 아세톤 추출물은 과육, 과육+과피 및 과피에서 각각 3,157.0, 4,283.6, 6,680.8 mg%로 다른 용매 추출물의 총폴리페놀 함량에 비해

Table 1. Absorbance of unripened apples by different parts and extracting conditions (OD)

Extracting conditions	Sample	208 nm	280 nm	331 nm
Hot water	Flesh	<sup>a</sup> 2.99 <sup>B</sup>	<sup>b</sup> 0.47 <sup>C</sup>	<sup>c</sup> 0.24 <sup>C</sup>
	Whole	<sup>a</sup> 3.43 <sup>B</sup>	<sup>b</sup> 0.65 <sup>B</sup>	<sup>c</sup> 0.37 <sup>B</sup>
	Peel	<sup>a</sup> 3.51 <sup>A</sup>	<sup>b</sup> 0.98 <sup>A</sup>	<sup>c</sup> 0.51 <sup>A</sup>
75% acetone	Flesh	<sup>b</sup> 0.60 <sup>B</sup>	<sup>a</sup> 0.85 <sup>A</sup>	<sup>c</sup> 0.26 <sup>B</sup>
	Whole	<sup>a</sup> 1.00 <sup>A</sup>	<sup>a</sup> 0.84 <sup>A</sup>	<sup>b</sup> 0.33 <sup>B</sup>
	Peel	<sup>a</sup> 1.00 <sup>A</sup>	<sup>b</sup> 0.78 <sup>B</sup>	<sup>c</sup> 0.52 <sup>A</sup>
80% methanol	Flesh	<sup>a</sup> 3.17 <sup>C</sup>	<sup>b</sup> 0.48 <sup>C</sup>	<sup>c</sup> 0.18 <sup>C</sup>
	Whole	<sup>a</sup> 3.47 <sup>B</sup>	<sup>b</sup> 0.72 <sup>B</sup>	<sup>c</sup> 0.35 <sup>B</sup>
	Peel	<sup>a</sup> 3.73 <sup>A</sup>	<sup>b</sup> 1.17 <sup>A</sup>	<sup>c</sup> 0.57 <sup>A</sup>

A~C means Duncan's multiple range test by parts.

a~c means Duncan's multiple range test by different wavelength.

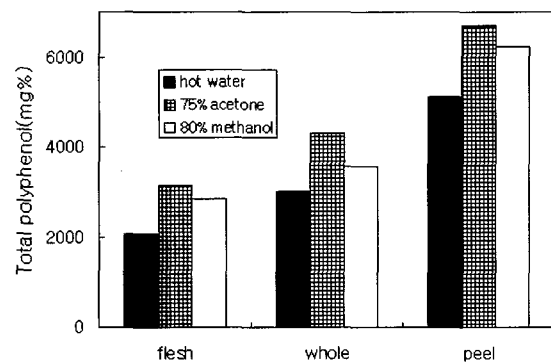


Fig. 1. Contents of total polyphenolic compound in unripened apples by different part and extracting conditions.

높은 것으로 나타났고, 과피 부위가 가장 높았다. 이는 솔잎에서의 아세톤 추출물의 총폴리페놀함량이 열수 추출물의 그것보다 2배 이상 높다는 결과(Kang 1996)와 유사하였다. 또한 5월 30일 시료를 6월 30일 수확된 과육+과피 부위의 함량과 비교할 때 추출용매에 관계없이 총폴리페놀의 함량이 약 3.5배 이상 높은 것으로 나타났다. 이는 성장시기가 길어 질수록 폴리페놀 함량이 감소한다는 보고와 일치하였다 (Burda et al 1990).

2) Flavanol형 탄닌

미숙사과의 수확시기별, 부위별 용매 추출물의 flavanol형 탄닌의 함량을 나타낸 결과는 Table 2와 같다. 6월 30일 시료에서 열수 추출물의 경우 과육, 과육+과피, 과피 부위의 함량이 각각 247.4, 399.4 및 1,048.0 mg%로 나타나 75% 아세톤 및 80% 메탄올 추출물에 비해 낮은 값을 보였으며, 과피 부위의 경우 추출용매의 종류에 관계없이 과육 부위에 비해 3배 이상 높은 함량을 보였고, 특히 75% 아세톤 추출물은 추출용매 중 가장 높은 함량을 나타내었다. 5월 30일 수확한 시료는 flavanol형 tannin의 함량이 아세톤 처리구의 4,799.0 mg%에서 열수 처리구의 2,700.5 mg%의 범위로 6월 30일 시료중 과육+과피 부위에 비해 5.5배 이상 그 함량이 높은 것으로 나타났다.

3) Leucoanthocyan

미숙사과 추출물의 leucoanthocyan 함량을 나타낸 결과는 Table 3로서 개화 후 40일에 수확한 시료는 열수 추출물의 706.56 mg%에서 75% 아세톤 추출물의 1,249.28 mg%의 범위로 6월 30일 채취한 시료의 과육+과피 부위의 함량 207.36 mg%에서 379.65 mg%보다 그 함량이 높았다. 미숙사과의 부위를 달리한 6월 30일 시료의 경우 과피, 과육+과피, 과육 부위의 순으로 함량이 높았으나 추출용매에 있어서는 과피, 과육+과피 부위의 경우 75% 아세톤, 열수, 80% 메탄올 추출의

Table 2. Contents of flavanolic tannin of unripened apples by different parts and extracting conditions (mg%, dry basis)

Extracting conditions	5/30 (whole)	6/30		
		Flesh	Whole	Peel
Hot water	2700.5 <sup>C</sup>	<sup>c</sup> 247.4 <sup>c</sup>	<sup>b</sup> 399.4 <sup>C</sup>	<sup>a</sup> 1048.0 <sup>C</sup>
75% acetone	4799.0 <sup>A</sup>	<sup>c</sup> 518.6 <sup>a</sup>	<sup>b</sup> 873.4 <sup>A</sup>	<sup>a</sup> 1636.2 <sup>A</sup>
80% methanol	3729.4 <sup>B</sup>	<sup>c</sup> 400.9 <sup>b</sup>	<sup>b</sup> 596.2 <sup>B</sup>	<sup>a</sup> 1463.2 <sup>B</sup>

<sup>A-C</sup> means Duncan's multiple range test by different extracting conditions.

<sup>a-c</sup> means Duncan's multiple range test by parts.

순으로 함량이 높은 반면 과육 부위는 아세톤, 메탄올, 열수 추출의 순으로 함량이 높은 것으로 나타났다.

4) Chlorogenic acid

미숙사과의 부위별 용매 추출물의 클로로젠산 함량을 측정한 결과는 Table 4로서, 과피부위의 경우 75% 아세톤 추출물이 3,276.50 mg%로 가장 높은 반면 과육, 과육+과피 부위는 80% 메탄올 추출물이 각각 1,284.26 mg%, 1,830.16 mg%로 가장 높은 함량을 보였다. 5월 30일 시료는 75% 아세톤 추출물이 6,055.5 mg%, 열수 추출물이 4,232.5 mg%로 6월 30일의 시료보다 3배 이상 높은 함량을 보였다.

5) Flavanol형 tannin의 중합도

미숙사과의 부위별 용매 추출물의 flavanol형 tannin의 중합도를 나타낸 결과는 Table 5와 같다. Flavanol형 tannin의 중합도는 흔히 flavanol형 tannin(V) 함량을 전체 폴리페놀 (TP) 함량으로 나눈 값으로 나타내며, V/TP 값이 작을수록 중합도가 상대적으로 크고, V/TP 값이 클수록 중합도가 상대적으로 작다. 과피 부위의 추출물이 과육 및 과육+과피 부위

Table 3. Contents of leucoanthocyan in unripened apples by different parts and extracting conditions (mg%, dry basis)

Extracting conditions	5/30 (whole)	6/30		
		Flesh	Whole	Peel
Hot water	706.56 <sup>C</sup>	<sup>c</sup> 144.64 <sup>C</sup>	<sup>b</sup> 229.38 <sup>B</sup>	<sup>a</sup> 577.28 <sup>B</sup>
75% acetone	1249.28 <sup>A</sup>	<sup>c</sup> 249.86 <sup>A</sup>	<sup>b</sup> 379.65 <sup>A</sup>	<sup>a</sup> 642.05 <sup>A</sup>
80% methanol	1047.04 <sup>B</sup>	<sup>c</sup> 156.67 <sup>B</sup>	<sup>b</sup> 207.36 <sup>C</sup>	<sup>a</sup> 352.76 <sup>C</sup>

<sup>A-C</sup> means Duncan's multiple range test by different extracting conditions.

<sup>a-c</sup> means Duncan's multiple range test by parts.

Table 4. Contents of chlorogenic acid in unripened apples by different parts and extracting conditions (mg%, dry basis)

Extracting conditions	5/30 (whole)	6/30		
		Flesh	Whole	Peel
Hot water	4232.5 <sup>C</sup>	<sup>c</sup> 776.54 <sup>C</sup>	<sup>b</sup> 1016.22 <sup>C</sup>	<sup>a</sup> 1991.06 <sup>C</sup>
75% acetone	6055.5 <sup>A</sup>	<sup>c</sup> 1078.14 <sup>B</sup>	<sup>b</sup> 1715.22 <sup>B</sup>	<sup>a</sup> 3276.50 <sup>A</sup>
80% methanol	5881.0 <sup>B</sup>	<sup>c</sup> 1284.26 <sup>A</sup>	<sup>b</sup> 1830.16 <sup>A</sup>	<sup>a</sup> 2984.96 <sup>B</sup>

<sup>A-C</sup> means Duncan's multiple range test by different extracting conditions.

<sup>a-c</sup> means Duncan's multiple range test by parts.

**Table 5. The degree of condensation of flavanolic tannins in unripened apples by different parts and extracting conditions**

Extracting conditions	5/30 (whole)	6/30		
		Flesh	Whole	Peel
Hot water	0.25 <sup>B</sup>	<sup>b</sup> 0.12 <sup>B</sup>	<sup>b</sup> 0.13 <sup>B</sup>	<sup>a</sup> 0.21 <sup>A</sup>
75% acetone	0.30 <sup>A</sup>	<sup>b</sup> 0.16 <sup>A</sup>	<sup>ab</sup> 0.20 <sup>A</sup>	<sup>a</sup> 0.22 <sup>A</sup>
80% methanol	0.27 <sup>AB</sup>	<sup>b</sup> 0.14 <sup>A<sup>B</sup></sup>	<sup>b</sup> 0.16 <sup>B</sup>	<sup>a</sup> 0.24 <sup>A</sup>

\* The degree of condensation : Flavanol tannin/Total polyphenol.  
<sup>A~B</sup> means Duncan's multiple range test by different extracting conditions.

<sup>a~ab</sup> means Duncan's multiple range test by parts.

**Table 6. Contents of high molecular weight fraction of unripened apples by different parts and extracting conditions (mg%, dry basis)**

Extracting conditions	5/30 (whole)	6/30		
		Flesh	Whole	Peel
Hot water	6748.8 <sup>1C</sup> (76.39) <sup>2)</sup>	<sup>c</sup> 1207.8 <sup>C</sup> (58.66)	<sup>b</sup> 1921.6 <sup>C</sup> (64.66)	<sup>a</sup> 3768.2 <sup>C</sup> (73.85)
75% acetone	12789.4 <sup>A</sup> (84.70)	<sup>c</sup> 2095.0 <sup>A</sup> (66.36)	<sup>b</sup> 2998.2 <sup>A</sup> (70.00)	<sup>a</sup> 5132.6 <sup>A</sup> (76.83)
80% methanol	11039.3 <sup>B</sup> (82.40)	<sup>c</sup> 1845.6 <sup>B</sup> (64.77)	<sup>b</sup> 2317.8 <sup>B</sup> (65.11)	<sup>a</sup> 4829.8 <sup>B</sup> (77.66)

<sup>1)</sup> : High molecular weight fraction of polyphenol compounds

<sup>2)</sup> : ( ) Relative composition of high molecular weight fraction to polyphenol compounds

<sup>A~C</sup> means Duncan's multiple range test by different extracting conditions

<sup>a~c</sup> means Duncan's multiple range test by parts.

추출물보다 flavanol형 tannin의 중합도가 낮은 것으로 나타났고, 열수 추출물이 아세톤, 메탄올 추출물보다 중합도가 큰 것으로 나타났다. 또한 5월 30일 시료가 6월 30일 시료보다 추출용매에 관계없이 모두 flavanol형 tannin의 중합도가 낮았다.

#### 6) 고분자량 분획

미숙사과의 페놀성 물질 중 고분자량 분획의 함량과 총폴리페놀에 대한 이들의 구성비를 조사한 결과는 Table 6이며, 과피 부위의 경우 고분자량 분획의 구성비가 74~77%를 차지하였으나 과육 부위는 이보다 다소 낮은 58~66%의 구성비를 보였다. 추출용매별로 볼 때 75% 아세톤 추출물이 66~76%로 80% 메탄올 및 열수 추출물보다 다소 높은 구성비를

보였다. 또한 6월 30일 시료보다 수확시기가 빠른 5월 30일의 것이 추출용매에 관계없이 76~84%로 플라보노이드, 탄닌을 함유한 고분자량 분획의 구성비가 높았다.

#### 요약 및 결론

열수, 메탄올 추출물이 230 nm 부근에서 모두 최대 흡광도를 나타낸 반면 아세톤 추출물의 경우 330 nm에서 최대 흡광도를 나타내어 용매에 따른 차이가 있는 것으로 나타났다. 미숙 사과 용매 추출물의 페놀성 물질의 함량 측정 결과를 토대로 개개 분획의 함량이 총폴리페놀에서 차지하는 구성비를 살펴보면 먼저 5월 30일 시료는 용매의 종류에 관계없이 추출물의 페놀성 물질중 chlorogenic acid의 구성비가 총폴리페놀 함량의 약 37~42%를 차지하였고, flavanol형 탄닌이 25~29%를 차지하는 것으로 나타났다. 6월 30일 시료도 추출용매에 따른 구성비의 차이는 없었으나 미숙 사과의 부위에 따른 차이는 보여 과피부위는 다른 것에 비해 각각의 추출용매에서 flavanol형 tannin, leucoanthocyan, chlorogenic acid 분획의 구성비가 높은 것으로 나타났다. 따라서 미숙 사과에 존재하는 폴리페놀성 물질은 주로 chlorogenic acid로 구성되어 있음을 알 수 있었다.

#### 문헌

- Amiot MI, Tacchini M, Aubert S, Nicolas J (1992) Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *J Food Sci* 57(4): 958-962.
- Burda S, Oleszek W, Lee CY (1990) Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *J Agric Food Chem* 38: 945-948.
- Dick AJ, Redden PR, DeMarco PC, Lidster PD, Gridley TB (1987) Flavonoid glycosides of spartan apple peel. *J Agric Food Chem* 35: 529-531.
- Goldberg I (1994) Functional foods. Chapman & Hall, New York, p 56-59.
- Kanda T, Akjyama H, Yanagina A, Tanabe S, Goda Y, Toyoda M, Teshima R, Saito Y (1998) Inhibitory Effects of apple polyphenol on induces histamine release from RBL-2H3 cells and rat mast cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 62(7): 1284-1289.
- Kang YH (1996) Functional properties of pine needle extracts and their effects on serum and liver of rats fed high fat diet. Kyungpook National University Taegu.
- Lee JH, Lee SR (1994) Analysis of phenolic substances

- content in Korean plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26(3): 310-316.
- Lee JH, Lee SR (1994) Some of physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26(3): 317-323.
- Nakabayashi T (1968) Studies on tannin of fruits and vegetables, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 15: 739.
- Oleszek W, Lee CY, Jaworski AW, Price KR (1998) Identification of some phenolic compounds in apples. *J Agric Food Chem* 36: 430-432.
- Sluis AA, Dekkerm M, Jongen WM (1997) Flavonoids as bioactive components in apple products. *Cancer Letter* 114: 107-108.
- Spanos GA, Wrolstad RE, Heatherbell DA (1990) Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *J Agric Food Chem* 38: 1572-1579.
- 日本食品総合研究所(1990) 食品品質評価のための品質特性 測定法マニュアル(2): 61.  
(2004년 5월 13일 접수, 2004년 8월 20일 채택)