



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공 학 석 사 학 위 논 문

사과 부산물의 영양성분 분석 및
항산화·항비만 효과



2019년 8월

부 경 대 학 교 대 학 원

식 품 공 학 과

김 지 은

공 학 석 사 학 위 논 문

사과 부산물의 영양성분 분석 및 항산화·항비만 효과

지도교수 양지영

이 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함.

2019년 8월

부 경 대 학 교 대 학 원

식 품 공 학 과

김 지 은

김지은의 공학석사 학위논문을 인준함.

2019년 8월 23일



위 원 장 농학박사 이 양 봉 (인)

위 원 약학박사 김 영 목 (인)

위 원 농학박사 양 지 영 (인)

목 차

Abstract	iii
I. 서론	1
II. 실험방법 및 재료	3
1. 실험 재료 및 시약	3
2. 용매 추출물 제조	3
3. 일반 성분 분석	3
4. 식이섬유 함량 분석	4
5. 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량 분석	5
6. DPPH radical 소거능 측정	5
7. ABTS radical 소거능 측정	6
8. 환원력 측정	6
9. Ursolic acid 함량 측정	7
10. 통계처리	7
III. 결과 및 고찰	9
1. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 일반 성분 및 식이섬유 함량	9

2. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량	9
3. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 DPPH radical 소거능	16
4. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 ABTS radical 소거능	16
5. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 환원력	21
6. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 Ursolic acid 함량	24
IV. 요약	28
V. 참고문헌	30



Nutritional Analyses, Antioxidant and Anti-obesity Activities of Apple Pomace

Ji eun Kim

Department of Food Science and Technology, Graduate School

Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Abstract

This study analyzed the nutritional components, ursolic acid content and antioxidant activity of different solvent (distilled water, fermented alcohol, methanol) extracts to increase the utilization of apple pomace, which is a by-product after processing of apple. The samples were hot air dried apple pomace and freeze dried apple pomace.

The moisture, carbohydrate, protein, fat, ash and total dietary fiber of hot air dried apple pomace were 3.2%, 88.5%, 3.9%, 2.4%, 2.0% and 28.5%, those of freeze dried apple pomace were 8.2%, 84.2%, 3.4%, 2.4%, 1.8% and 33.0%, respectively. Total polyphenol and total flavonoid contents of hot air dried apple pomace were the highest at 306.7 $\mu\text{g/mL}$ and 950.1 $\mu\text{g/mL}$ in methanol extracts and 277.6 $\mu\text{g/mL}$ and 925.0 $\mu\text{g/mL}$ in methanol extracts of freeze dried apple pomace. DPPH radical scavenging activities of hot air dried apple pomace were 73.3% in methanol extract and 59.4% in fermented alcohol extract and that of freeze dried apple pomace were 76.1% in methanol extract and 66.0% in fermented alcohol extract. Both samples showed the lowest antioxidant activity in distilled water extracts. Similar to DPPH radical scavenging activity, both samples showed higher ABTS radical scavenging activity in the order of methanol, fermented alcohol and distilled water. In case of reducing power, all experimental groups showed stronger reducing power than ascorbic acid (311.5 $\mu\text{g/mL}$), which was a positive control. In ursolic acid content, ursolic acid was not

detected in distilled water extract of both samples. However, in hot air dried apple pomace, methanol extract was 1,753.32 µg/mL and fermented alcohol extract was 1,532.94 µg/mL. In freeze dried apple pomace, methanol extract was 1,407.04 µg/mL, fermented alcohol extract was 1,221.81 µg/mL.



I. 서론

사과(*Malus pumila* var. *dulcissima*)는 장미과 낙엽교목 식물인 사과나무의 열매로 현재 우리나라에서 가장 많이 재배되는 과일 중 하나이다. 통계청에 따르면 우리나라의 2018년 사과 재배면적은 33,234 ha로 2009년 재배면적인 30,451 ha 보다 2,783 ha 증가하였으며 시·도별 재배면적은 경북(19,780 ha), 충북(4,056 ha), 경남(3,374 ha), 전북(2,642 ha) 순으로 나타났다(통계청, 2018). 농림축산식품부에 따르면 우리나라의 2016년 사과 생산량은 57만 6천 톤으로 그 중 약 2만 3천 톤이 가공에 이용되고 있으며 주스(10,789 톤), 잼(9,145 톤), 음료(1,368 톤), 술(300 톤), 잼(262 톤), 분말 차(200 톤), 통조림(185 톤) 등 다양한 형태로 가공되고 있다(농림축산식품부, 2016 과실류 가공내역). 이러한 가공처리 후에는 사과의 부산물인 사과박(apple pomace)이 다량 발생하며 일부는 동물 사료로 사용되지만 대부분이 산업 폐기물로 처리되고 있으며, 사과박의 높은 산도와 종자 발아 억제 작용에 의해 환경적으로 큰 피해를 주고 있는 실정이다(농촌진흥청, 2015).

사과박은 사과 중량의 약 25~30%를 차지하며 탄수화물, vitamin C, 미네랄(P, K, Mn, Ca, and Fe), 식이섬유 및 polyphenol과 같은 기능적으로 중요한 생리 활성 물질이 다량 함유되어 있어 천연 항산화 물질의 훌륭한 원천이 되는 것으로 알려져 있다(Wang et al., 2007). 사과박의 주성분은 탄수화물로 galacturonic acid (49~64 mol%), arabinose (14~23 mol%), galactose (6~15 mol%), 소량의 rhamnose, xylose, glucose로 구성되어 있다(Mehrlander et al., 2002). 또한, 사과박의 식이섬유는 cellulose, hemicelluloses, pectins, lignins, gums 등으로 구성되어 있고 이러한 식이섬유는 bulking agent로서 장내 이동성과 대변의 수분함량을 증가시키며(Sudha et al., 2007) 심혈관계

질환, 대장암, 비만 및 당뇨병 예방 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다 (Figuerola et al., 2005, Boyer & Liu, 2004). 사과박의 주요 페놀성분은 quercetin glycosides, cyanidin glycosides, epicatechin, procyanidin 등으로 특히 procyanidin과 quercetin glycosides는 *in vitro*에서 강력한 항산화 활성을 띄는 것으로 나타났다(Lu & Foo, 2000). 사과 추출물에 의해 종양세포의 증식이 *in vitro*에서 강력하게 억제되었고, 이러한 효과는 phenolic acid와 flavonoid에 의한 것으로 나타났다(Eberhardt et al., 2000). 또한 사과박에는 malic acid, citric acid, succinic acid, quinic acid 와 같은 다양한 organic acid가 존재하는데(Do et al., 2005), 최근에는 ursolic acid가 다이어트 성분으로 주목받고 있다. Ursolic acid는 사과 껍질의 cuticular wax 층에 존재하는 triterpenoid 화합물로 항산화, 항염증 및 항암 작용과 같은 생물학적 기능을 보유하고 있는 것으로 알려져 있다. 영양가가 풍부한 가공 부산물의 가치를 높이고 효율적으로 사용하기 위한 연구 개발의 중요성이 전 세계적으로 커지고 있으며 매일 생산 되는 사과박의 막대한 양과 건강 증진의 필요성을 고려할 때, 기능성 화합물의 잠재적 공급원으로서 사과박의 유용성에 초점을 둔 연구가 수행되어야 한다.

따라서 본 연구에서는 사과의 가공처리 후 발생하는 부산물인 사과박을 이용하여 영양성분 및 ursolic acid 함량을 분석하고, 다양한 용매를 사용한 사과박 추출물의 항산화 활성을 측정함으로써 사과박의 이용 가능성을 확인하고자 하였다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

본 실험에 사용된 재료는 열풍건조와 동결건조 한 사과박을 경북바이오산업연구원(Andong, Gyeongsangbuk-do, Korea)으로부터 제공받아 사용하였다. 샘플은 분쇄기(BL240, Home Culture Appliances (Shenzhen) Limited., China)로 분쇄한 후 샘플병에 담아 4℃에서 보관하여 실험에 사용하였다.

HPLC 분석을 위하여 사용된 용매는 methanol, acetonitrile (Honywell Burdick & Jackson, Ulsan, Korea)을 사용하였고, 표준물질로 사용한 ursolic acid (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA)는 HPLC grade로서 $\geq 98.5\%$ 인 것을 이용하여 분석하였다.

2. 용매 추출물 제조

시료 무게의 20배량(w/v)의 증류수, 발효주정, methanol을 첨가하여 12시간 추출하였다. 추출액은 No.1 여과지(Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 여과한 후, 감압농축기(N-1000, Tokyo Rikakikai Co., LTD., Tokyo, Japan)로 농축한 것을 용매에 250 mg/mL의 농도로 재현탁하여 분석에 사용하였다.

3. 일반 성분 분석

사과박의 일반성분은 AOAC 표준분석법에 의하여 분석하였다(AOAC., 1995). 수분은 상압가열건조법에 따라 수분분석기(MX-50, A&D, Tokyo, Japan)를 이용하였고 수분 증발 속도가 0.01 %/min 이하가 되면 가열을 중지하는 것을 조건으로 하였다. 조단백은 micro-Kjedahl법, 조지방은 Rose-Gottlieb법, 조회분은 550℃에서 직접회화법을 이용하여 측정하였고, 전체 함량을 100으로 하여 수분, 조단백, 조지방, 조회분 함량을 제외한 나머지 값을 탄수화물의 함량으로 하였다.

4. 식이섬유 함량 분석

총 식이섬유(total dietary fiber, TDF) 함량은 AOAC법에 의한 효소-중량법(enzyme-gravimetric method)으로 분석하였다(AOAC., 1995). 시료 1 g에 MES-Tris 완충용액 40 mL를 가한 후 thermophile α -amylase 효소용액(Sigma-Aldrich) 50 μ L를 첨가하여 95~100℃ water bath에서 15분 동안 교반하여 반응하였다. Water bath에서 꺼내어 60℃로 식힌 후 protease from *Bacillus licheniformis* 효소용액(Sigma-Aldrich) 100 μ L를 첨가하여 60℃ water bath에서 30분 동안 교반하여 반응시켰다. 0.561 M HCl 5 mL을 넣고 1 M NaOH와 1 M HCl을 이용하여 pH 4.0~4.7로 조정한 후 amyloglucosidase solution from *Aspergillus niger* 효소용액(Sigma-Aldrich) 300 μ L를 첨가하여 60℃ water bath에서 30분 동안 교반하여 반응시켰다. 95% ethanol 225 mL를 효소분해 된 시험용액에 가하고, 실온에서 1시간 침전시킨 후 유리여과기를 이용하여 진공여과 하였다. 진공을 유지하면서 78% ethanol, 95% ethanol, acetone 순으로 각각 15 mL 씩 2회 잔류물을 세척한 후, 잔류물이 남아있는 유리여과기를 105℃에서 12시간 건조시켜 식이섬유 잔류물로 하였다. 식이섬유 잔류물의 단백질 함량과 회분 함량을 뺀 값을 식

이섬유 함량으로 하였다.

5. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 이용하였으며, 시료의 페놀성 화합물에 의해 Folin-Ciocalteu 시약이 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 분석하였다. 96 Well plate에 시료 50 μ L와 2배 희석한 Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich) 20 μ L를 가하여 실온에서 3분간 방치하였다. 그 후 10% sodium carbonate 용액 30 μ L를 가하여 실온에서 30분간 방치한 뒤, 증류수 100 μ L를 가하여 반응을 종료시켰다. Microplate reader (EPOCH2, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였고, standard curve는 gallic acid (Sigma-Aldrich)를 0~100 μ g/mL의 농도로 조제하여 작성하였다.

총 플라보노이드 함량은 96 Well plate에 시료 20 μ L, 10% aluminum nitrate 4 μ L, 1 M potassium acetate 4 μ L 및 ethanol 172 μ L를 차례로 가하여 실온에서 40분간 방치한 다음 microplate reader를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다(Moreno et al., 2000). Standard curve는 quercetin (Sigma-Aldrich)을 0~100 μ g/mL의 농도로 조제하여 작성하였다.

6. DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical 소거능 측정은 96 Well plate에 시료 100 μ L 와 DPPH 용액 100 μ L 을 가한 후 35 $^{\circ}$ C 암실에서 30분간 반응시키고 microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Sharma and Bhat, 2009). 음성 대조구로는 시료용액과 동일한 양의 methanol을 사용하였고, 양성 대조구로

는 0.1 mg/mL ascorbic acid를 이용하였다. DPPH radical 소거능은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Radical scavenging activity(\%)} = \frac{\text{Absorbance}_{(\text{blank})} - \text{Absorbance}_{(\text{test})}}{\text{Absorbance}_{(\text{blank})}} \times 100$$

7. ABTS radical 소거능 측정

ABTS radical 소거능 측정은 antioxidant assay kit (Sigma-Aldrich)를 이용하여 분석하였다. 96 Well plate에 시료 10 μL 와 myoglobin working solution 20 μL 를 취한 후 ABTS substrate working solution 150 μL 을 첨가하여 실온에서 5분간 방치하였다. 그 후, stop solution 100 μL 을 취하여 반응을 종료시킨 후 microplate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. Standard curve는 1.5 mM trolox working solution과 assay buffer를 혼합하여 0~0.42 mM의 농도로 조제하여 작성하였으며 양성대조구로 0.1 mg/mL ascorbic acid를 이용하였다.

8. 환원력 측정

환원력 측정은 시료 100 μL 에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 500 μL 와 1% potassium ferricyanide 50 μL 을 혼합한 후 50°C에서 20분간 반응시켰다(Oyazu, 1986). 반응액에 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가하여 10분 동안 5,000 rpm에서 원심분리 한 후 상층액 500 μL 에 증류수 500 μL , 1% ferric chloride 100 μL 를 가하여 혼합하였다. 그 후 반응액 200 μL 를 96 Well plate에 가하고, microplate reader를 이용하여 700 nm에서 흡광도를

측정하였다. Standard curve는 trolox (Sigma-Aldrich)를 0~1000 µg/mL의 농도로 조제하여 작성하였으며 양성대조구로 0.1 mg/mL ascorbic acid를 이용하였다.

9. Ursolic acid 함량 측정

Ursolic acid 정량 분석을 위하여 HPLC (U-3000, Thermo Fisher Scientific Inc., MA., USA) 를 사용하였다. 각각의 추출물을 0.45 µm membrane filter (Advantec)로 여과하여 분석에 사용하였으며 표준물질인 ursolic acid를 methanol에 농도별(0~100 ppm)로 용해하여 standard curve를 통해 정량 분석하였다. HPLC를 이용한 분석조건은 Table 1와 같았다. 이동상은 acetonitrile : methanol을 8 : 2 의 비율로 하여 isocratic 상태로 분석하였다.

10. 통계처리

모든 분석은 3회 이상 수행되었다. 통계처리는 Minitab (M19) 프로그램을 이용하였고, one way ANOVA 분석을 통해 95% 신뢰구간에서 유의적인 차이를 확인하였다.

Table 1. HPLC Condition for the analysis of ursolic acid content

Condition	
Column	Model Acclaim™ 120
	Size 4.6×250 mm
	Particle size 5 μ m
	Flow rate 0.5 mL/min
Analysis Condition	Oven temp. 35°C
	UV detector 210 nm
	Injection Quantity 5 μ L

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 일반성분 및 식이섬유 함량

열풍건조와 동결건조 한 사과박의 일반성분 및 식이섬유의 함량을 분석하여 Table 2에 나타내었다. 열풍건조 한 사과박 100 g 중에는 3.2% 수분, 88.5% 탄수화물, 3.9% 조단백, 2.4% 조지방, 2.0% 조회분을 나타냈으며, 총 식이섬유 함량은 28.5%를 나타내었다. 동결건조 한 사과박 100 g 중에는 8.2% 수분, 84.2% 탄수화물, 3.4% 조단백, 2.4% 조지방, 1.8% 조회분을 나타냈으며, 총 식이섬유 함량은 33.0%를 나타내었다. 건조 방법에 따라 수분 함량에서는 다소 차이가 나타났지만 그 외 성분들에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 일반성분 함량은 기존의 연구 결과와는 차이가 있지만 이는 사과 품종과 사과즙 추출을 위한 가공 방법, 착즙 횟수 등에 의한 차이인 것으로 판단되었다(Jin et al., 2002). 사과의 식이섬유는 주로 세포벽에 존재하는데, 이러한 세포벽 성분은 가공 후 남게 되는 부산물에서 다량 발생하여 각종 식이섬유 식품의 제조에 있어 유용하게 사용이 가능 할 것이라 판단되었다.

2. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

열풍건조와 동결건조 한 사과박의 용매별 추출물의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량을 정량하여 그 값을 Table 3, Table 4, Fig. 1, Fig. 2에 나타

Table 2. Nutritional components of hot air dried apple pomace and freeze dried apple pomace

Nutrients		Hot air dried apple pomace	Freeze dried appel pomace
General nutrients (%)	Moisture	3.2±0.10 ^{1)a2)}	8.2±0.10 ^b
	Carbohydrate	88.5±0.66 ^a	84.2±0.70 ^b
	Crude protein	3.9±0.35 ^a	3.4±0.35 ^a
	Crude fat	2.4±0.05 ^a	2.4±0.04 ^a
	Crude ash	2.0±0.57 ^a	1.8±0.37 ^a
Dietary fiber (%)		28.5±1.2 ^a	33.0±0.58 ^b

¹⁾ Values are mean±SD. Values are mean of triplicates.

²⁾ Same letter in the line are not significantly different at the 5% level.
($p < 0.05$)

Table 3. Total polyphenol content of different solvent extracts of apple pomace

(Unit: $\mu\text{g/mL}$)

	Hot air dried apple pomace (250 mg/mL)	Freeze dried appel pomace (250 mg/mL)
Methanol	306.7 $\pm$ 6.98 ^{1)a2)}	277.6 $\pm$ 11.67 ^b
Fermented alcohol	243.7 $\pm$ 4.16 ^c	192.3 $\pm$ 8.00 ^d
Distilled water	86.0 $\pm$ 5.57 ^e	78.7 $\pm$ 2.29 ^e

¹⁾ Values are mean $\pm$ SD. Values are mean of triplicates.

²⁾ Same letter are not significantly different at the 5% level. ($p < 0.05$)

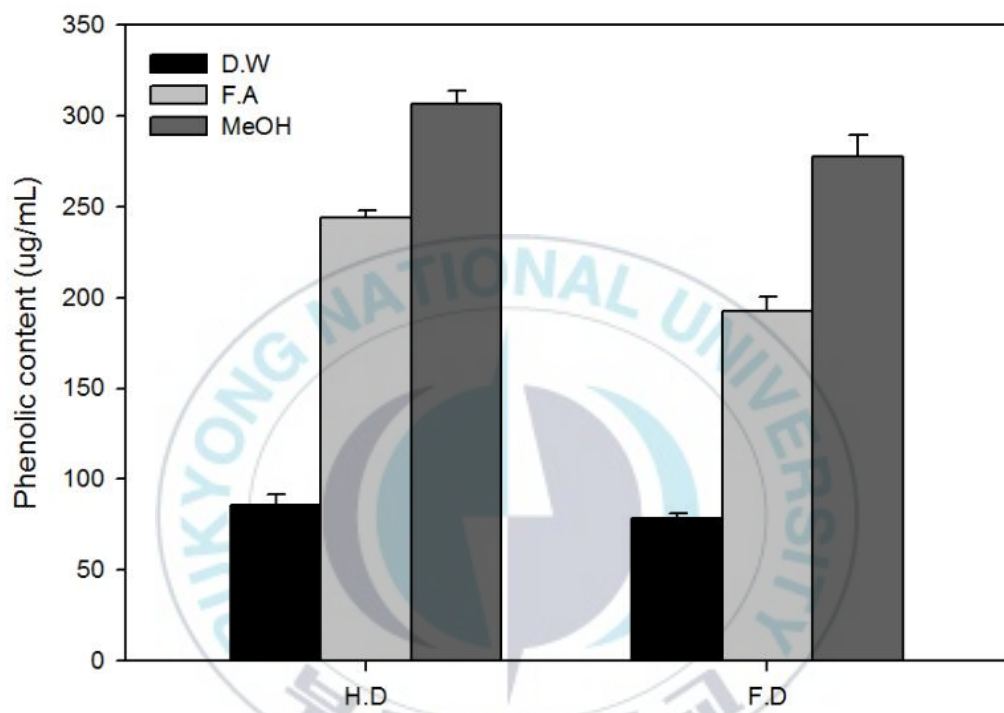


Fig. 1. Total polyphenol content of different solvent extracts of apple pomace. (H.D, Hot air dried apple pomace; F.D, Freeze dried apple pomace; D.W, Distilled water; F.A, Fermented alcohol; MeOH, Methanol)

Table 4. Total flavonoid content of different solvent extracts of apple pomace

(Unit: $\mu\text{g/mL}$)

	Hot air dried apple pomace (250 mg/mL)	Freeze dried appel pomace (250 mg/mL)
Methanol	950.1 $\pm$ 19.58 ^{1)a2)}	925.0 $\pm$ 14.11 ^a
Fermented alcohol	604.0 $\pm$ 20.51 ^b	741.8 $\pm$ 16.47 ^c
Distilled water	289.3 $\pm$ 38.44 ^d	169.6 $\pm$ 14.38 ^e

¹⁾ Values are mean $\pm$ SD. Values are mean of triplicates.

²⁾ Same letter are not significantly different at the 5% level. ($p < 0.05$)

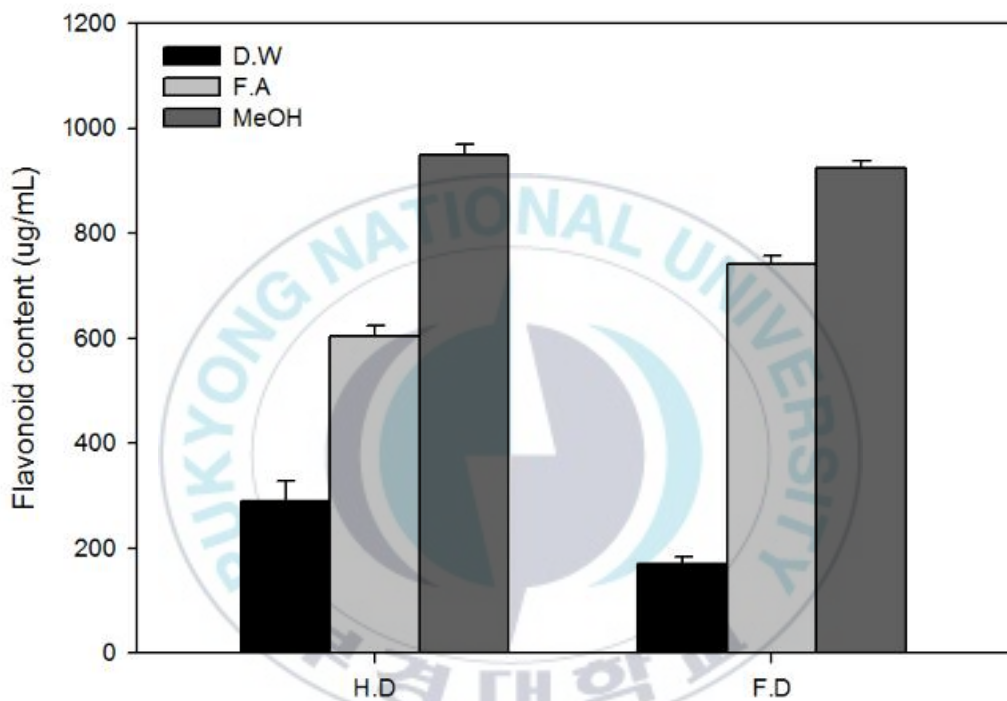


Fig. 2. Total flavonoid content of different solvent extracts of apple pomace. (H.D, Hot air dried apple pomace; F.D, Freeze dried apple pomace; D.W, Distilled water; F.A, Fermented alcohol; MeOH, Methanol)

내었다.

열풍건조 한 사과박의 페놀 화합물의 함량은 메탄올 추출물에서 306.7 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 높은 함량을 나타내었고, 다음으로 발효주정 추출물은 243.7 $\mu\text{g/mL}$ 을 나타내었다. 동결건조 한 사과박에서도 마찬가지로 메탄올 추출물에서 277.6 $\mu\text{g/mL}$, 발효주정 추출물에서 192.3 $\mu\text{g/mL}$ 로 두 추출물 사이에서 유의적인 차이를 나타내었다. 두 시료 모두 증류수 추출물에서 열풍건조 한 사과박은 86.0 $\mu\text{g/mL}$, 동결건조 한 사과박은 78.7 $\mu\text{g/mL}$ 으로 페놀 화합물의 함량이 가장 낮은 것으로 나타나, 사과박의 페놀 화합물 추출을 위해서는 증류수 보다 메탄올이나 발효주정을 사용하는 것이 적합한 것으로 사료되었다. 이러한 사과박의 phenolic compounds는 주로 사과박의 껍질(Dick et al., 1987)과 씨앗(Lu & Foo, 1998)에 존재하기 때문에 사과즙의 형태로 가공하는 동안 추출 수율이 낮아 가공 후에 발생하는 사과박에 대부분이 남아있는 것으로 판단되었다(Price et al., 1999).

열풍건조 한 사과박의 플라보노이드 화합물의 함량은 증류수 추출물에서는 289.3 $\mu\text{g/mL}$ 의 결과 값을 나타낸 반면 메탄올 추출물에서 950.1 $\mu\text{g/mL}$, 발효주정 추출물에서는 604.0 $\mu\text{g/mL}$ 의 함량을 나타내었다. 동결건조 한 사과박에서도 마찬가지로 메탄올 추출물에서 925.0 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 높은 함량을 보였고, 발효주정 추출물에서는 741.8 $\mu\text{g/mL}$ 의 함량을 보인 반면 증류수 추출물에서는 169.6 $\mu\text{g/mL}$ 로 메탄올 추출물과 발효주정 추출물에 비해 현저히 낮은 함량으로 나타나 플라보노이드 화합물을 추출하기에 증류수는 부적합하다고 판단하였다. 또한 천연 항산화제로서의 활용을 위하여 사과 껍질, 포도 껍질, 고구마 껍질의 메탄올 추출물의 항산화 효과를 비교하였을 때(Kim et al., 2014), 사과 껍질이 포도 껍질과 고구마 껍질에 비해 3.4배 이상의 플라보노이드 화합물을 함유하고 있다고 하여 사과 껍질이 다량 함유되어 있는 사과박의 활용도가 높을 것으로 사료되었다.

3. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 DPPH radical 소거능

DPPH radical 소거능 측정은 안정한 free radical인 DPPH가 시료의 항산화 물질에 의해 환원되어 보라색이 탈색되어 노란색이 되는 원리를 이용한 방법이며(Lee et al., 2004), 그 결과를 Table 5와 Fig. 3에 나타내었다.

열풍건조 한 사과박의 DPPH radical 소거능은 메탄올 추출물에서 73.3%로 가장 높은 값을 나타내었고 발효주정 추출물에서는 59.4%로 메탄올에서와 유의적인 차이를 나타내었다. 동결건조 한 사과박의 DPPH radical 소거능은 메탄올 추출물에서 76.1%, 발효주정 추출물에서 66.0%로 열풍건조 한 사과박에서와 비슷한 양상을 보였으며 두 시료 모두 증류수 추출물에서 가장 낮은 항산화 활성을 나타냈다. 본 실험결과와 같이 총 페놀 함량의 증가에 비례하여 항산화 활성도 증가한다는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2014). 또한 항산화능이 뛰어나다고 알려져 있는 ascorbic acid를 시료와 동일한 조건으로 DPPH radical 소거능을 측정하였을 때 결과 값은 $79.6 \pm 0.71\%$ 로 나타났다. 이는 본 실험의 메탄올 추출물과 비슷한 DPPH radical 소거 활성을 나타내어, 사과박의 알코올 추출물에는 효과적인 항산화능을 가진 성분이 존재하는 것으로 판단되었다.

4. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 ABTS radical 소거능

본 실험에서 사용한 ABTS kit의 원리는 metmyoglobin과 hydrogen peroxide로부터 ferryl myoglobin radical이 형성되고, 이 물질이 ABTS를 산화시켜 radical cation인 녹색의 $ABTS^{\cdot+}$ 를 형성하여, 시료 내의 항산화 물질

Table 5. DPPH radical scavenging activity of different solvent extracts of apple pomace

(Unit: %)

	Hot air dried apple pomace (250 mg/mL)	Freeze dried appel pomace (250 mg/mL)	Ascorbic acid (0.1 mg/mL)
Methanol	73.3±0.21 ^{1)a2)b}	76.1±0.94 ^a	
Fermented alcohol	59.4±5.77 ^c	66.0±6.76 ^{bc}	79.6±0.71 ^a
Distilled water	8.3±2.30 ^d	12.7±1.69 ^d	

¹⁾ Values are mean ± SD. Values are mean of triplicates.

²⁾ Same letter are not significantly different at the 5% level. ($p < 0.05$)

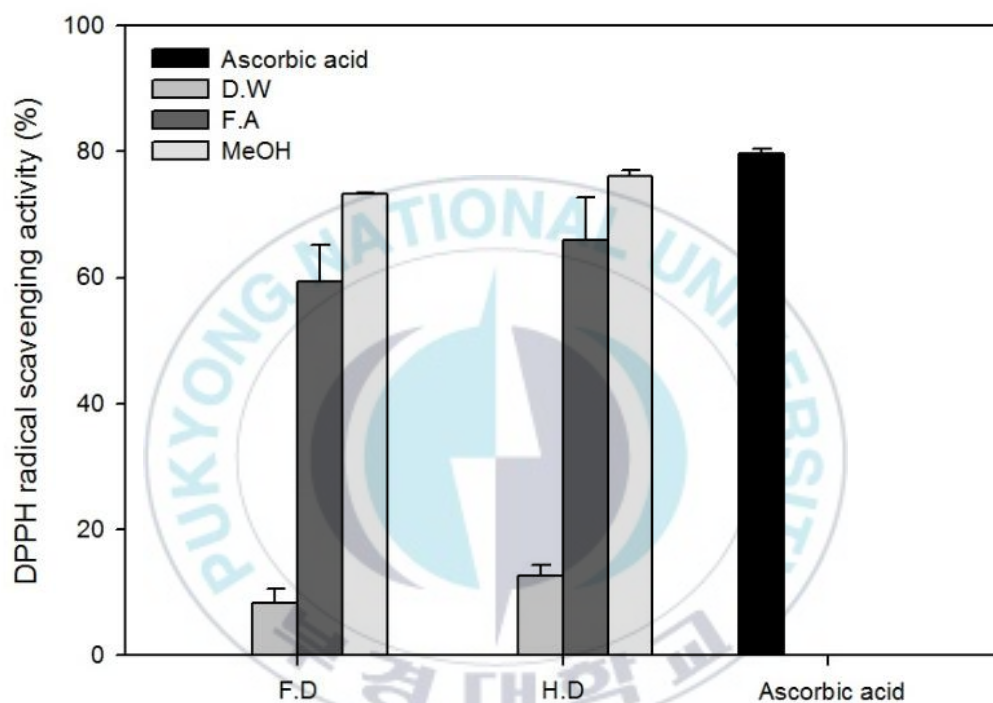


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of different solvent extracts of apple pomace. (H.D, Hot air dried apple pomace; F.D, Freeze dried apple pomace; D.W, Distilled water; F.A, Fermented alcohol; MeOH, Methanol)

Table 6. ABTS radical scavenging activity of different solvent extracts of apple pomace

(Unit: mM Trolox)

	Hot air dried apple pomace (250 mg/mL)	Freeze dried appel pomace (250 mg/mL)	Ascorbic acid (0.1 mg/mL)
Methanol	0.330±0.005 ^{1)b2)}	0.314±0.016 ^{bc}	0.368±0.008 ^a
Fermented alcohol	0.302±0.010 ^{bc}	0.299±0.011 ^c	
Distilled water	0.244±0.009 ^d	0.254±0.011 ^d	

¹⁾ Values are mean ± SD. Values are mean of triplicates.

²⁾ Same letter are not significantly different at the 5% level. ($p < 0.05$)

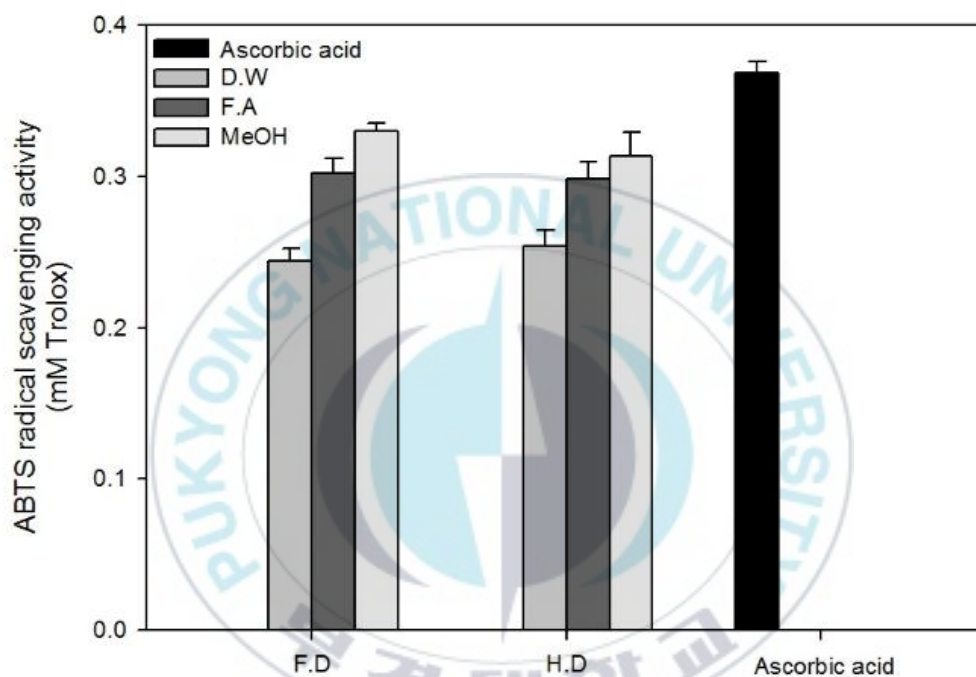


Fig. 4. ABTS radical scavenging activity of different solvent extracts of apple pomace. (H.D, Hot air dried apple pomace; F.D, Freeze dried apple pomace; D.W, Distilled water; F.A, Fermented alcohol; MeOH, Methanol)

에 의해 제거됨으로서 녹색이 탈색되는 원리이다. ABTS radical 소거능 결과 값은 trolox standard의 농도(mM)에 대비된 값의 형태로 Table 6과 Fig. 4에 나타내었다.

두 시료 모두 메탄올 추출물에서 열풍건조 한 사과박에서는 0.330 mM trolox, 동결건조 한 사과박에서는 0.314 mM trolox에 해당하는 항산화능을 나타내어 세 가지 용매 중 가장 활성이 높게 나타났으며, 증류수 추출물에서 열풍건조 한 사과박에서는 0.244 mM trolox, 동결건조 한 사과박에서는 0.254 mM trolox로 가장 낮은 활성을 나타냈다. 이는 DPPH radical 소거능 결과에서와 마찬가지로 증류수 보다 알코올을 함유한 메탄올과 발효주정이 항산화물 추출에 적합하다고 판단하였다. 또한 사과 껍질, 사과 과육, 사과 껍질+사과 과육의 항산화능을 비교하였을 때 사과 껍질이 훨씬 더 높은 항산화 작용을 나타냈다고 하여(Wolfe et al., 2003), 사과 껍질에 있는 항산화 물질이 가공공정 후에도 사과박에 남아있는 것을 알 수 있었다.

5. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 환원력

환원력은 항산화 활성과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있으며(Meir et al., 1995), 시료가 Fe^{3+} 에 수소를 공여하여 라디칼을 안정화시킴으로서 Fe^{2+} 로 전환시키는 환원력을 측정하는 항산화능 측정방법이다. 용매별 사과박 추출물의 환원력을 Table 7과 Fig. 5에 나타내었다. 두 시료 모두 메탄올 추출물에서 열풍건조 한 사과박에서는 578.3 $\mu\text{g/mL}$, 동결건조 한 사과박에서는 506.7 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 강한 환원력을 나타내었다. 반면 발효주정 추출물에서 열풍건조 한 사과박에서는 363.3 $\mu\text{g/mL}$, 동결건조 한 사과박에서는 370.3 $\mu\text{g/mL}$ 을 나타내었고 증류수 추출물에서는 열풍건조한 사과박에서는 386.5 $\mu\text{g/mL}$, 동결건조 한 사과박에서는 355.2 $\mu\text{g/mL}$ 로 메탄올 추출물에 비해 현저

Table 7. Reducing power of different solvent extracts of apple pomace

(Unit: $\mu\text{g/mL}$)

	Hot air dried apple pomace (250 mg/mL)	Freeze dried appel pomace (250 mg/mL)	Ascorbic acid (0.1 mg/mL)
Methanol	578.3 $\pm$ 3.50 ^{1)a2)}	506.7 $\pm$ 7.95 ^b	
Fermented alcohol	363.3 $\pm$ 6.59 ^d	370.3 $\pm$ 6.64 ^{cd}	311.5 $\pm$ 5.48 ^e
Distilled water	386.5 $\pm$ 12.13 ^c	355.15 $\pm$ 4.79 ^d	

¹⁾ Values are mean $\pm$ SD. Values are mean of triplicates.

²⁾ Same letter are not significantly different at the 5% level. ($p < 0.05$)

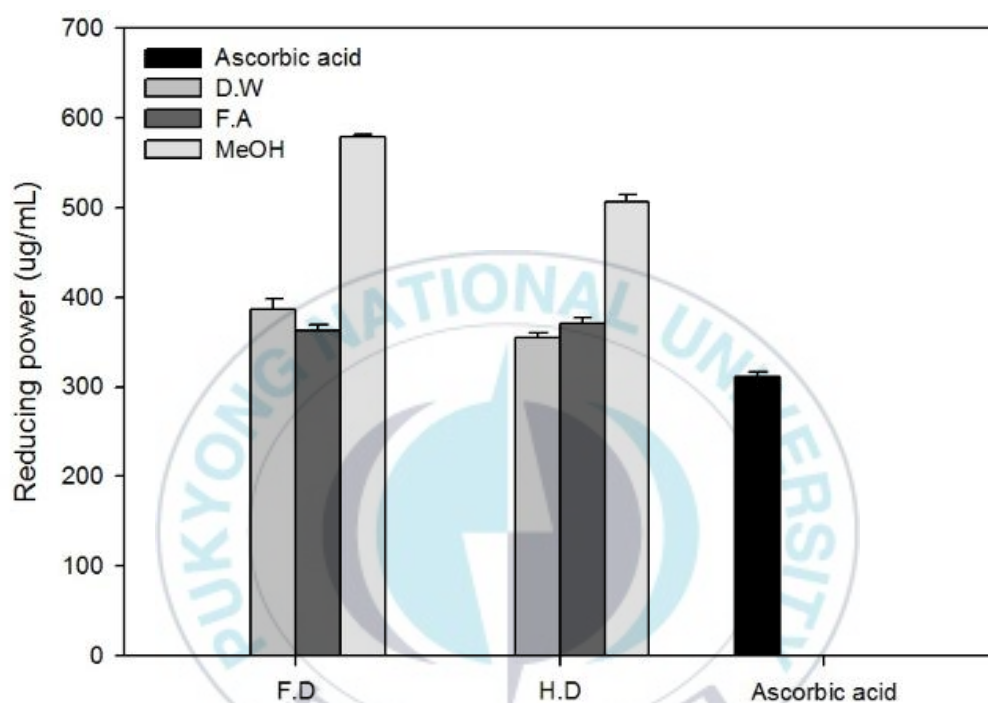


Fig. 5. Reducing power of different solvent extracts of apple pomace. (H.D, Hot air dried apple pomace; F.D, Freeze dried apple pomace; D.W, Distilled water; F.A, Fermented alcohol; MeOH, Methanol)

히 낮은 환원력을 나타내었다. 그러나 양성대조구로 사용한 ascorbic acid는 311.5 $\mu\text{g/mL}$ 의 환원력을 나타내어, 모든 실험군에서 0.1 mg/mL ascorbic acid 보다 더 강한 환원력을 갖는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능과는 정확히 일치하지는 않는데, 이는 항산화 물질간의 상호작용이 연쇄 반응 개시의 방해, 과산화물의 분해, 전이 금속물의 결합, 연속적 수소 제거의 방해 등(Diplock et al., 1997) 여러 기작들과 연관이 있으므로 측정 방법에 따른 차이로 판단된다.

6. 열풍건조와 동결건조 한 사과박의 Ursolic acid 함량

열풍건조 및 동결건조 한 사과박의 용매별 추출물의 Ursolic acid의 함량을 정량한 결과를 Table 7에 나타내었다.

열풍건조 한 사과박의 경우 메탄올 추출물에서 1,753.32 $\mu\text{g/mL}$, 발효주정 추출물에서 1,532.94 $\mu\text{g/mL}$ 의 ursolic acid 함량을 나타내었고, 증류수 추출물에서는 ursolic acid가 전혀 검출되지 않았다. 동결건조 한 사과박에서도 마찬가지로 메탄올 추출물에서 1,407.03 $\mu\text{g/mL}$, 발효주정 추출물에서 1,221.81 $\mu\text{g/mL}$ 의 함량을 나타내었고, 증류수 추출물에서는 검출되지 않았다. 이는 ursolic acid가 사과껍질 중의 cuticular wax 층에 존재하기 때문에 가공공정을 거친 후에도 사과박에 다량 함유되어 있음을 알 수 있었고, 본 실험결과에서 증류수의 경우 ursolic acid를 추출하는 데에 있어 부적합하다고 판단되었다. 산사나무 열매를 메탄올을 이용하여 초음파 추출하였을 때 (Cui et al., 2006), ursolic acid이 함량이 614~1,177 $\mu\text{g/g}$ 인 것으로 보고하여, 본 실험결과와 비교하였을 때 사과박 추출물의 ursolic acid 함량이 더 높다는 것을 알 수 있다. 이러한 ursolic acid는 항산화 활성이 뛰어나고 중성지방 감소로 인한 체지방 분해효과가 있는 것으로 알려져 있다(Cargnin&

Table 8. Ursolic acid content of different solvent extracts of apple pomace

(Unit: $\mu\text{g/mL}$)

	Hot air dried apple pomace	Freeze dried apple pomace
Methanol	1753.32 $\pm$ 35.91 ^{1)a2)}	1407.03 $\pm$ 36.03 ^c
Fermented alcohol	1532.94 $\pm$ 46.91 ^b	1221.81 $\pm$ 34.49 ^d
Distilled water	0 ^e	0 ^e

¹⁾ Values are mean $\pm$ SD. Values are mean of triplicates.

²⁾ Same letter are not significantly different at the 5% level. ($p < 0.05$)

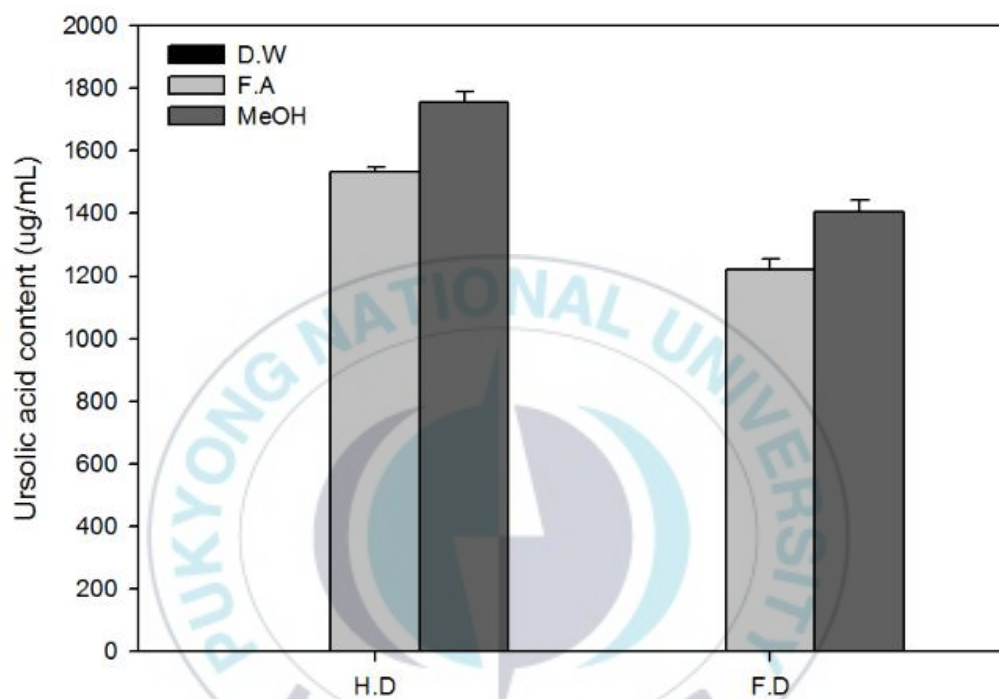


Fig. 6. Ursolic acid content of different solvent extracts of apple pomace. (H.D, Hot air dried apple pomace; F.D, Freeze dried apple pomace; D.W, Distilled water; F.A, Fermented alcohol; MeOH, Methanol)

Gnoatto, 2017). 또한 피부탄력을 증가시키는 elastin의 합성을 증가시키고 주름을 유발하는 효소인 collagenase의 활성을 억제시키는 효능(Ikeda et al., 2008)을 가지고 있어 알코올 추출법을 이용하여 ursolic acid를 화장품 소재 및 기능성 식품 소재로서 이용할 수 있을 것이라 사료되었다.



IV. 요약

사과주스 등 가공처리 후에는 사과의 부산물인 사과박이 다량 발생하며 일부는 동물 사료로 사용되지만 대부분이 산업 폐기물로 처리되고 있다. 본 연구에서는 이러한 사과박의 영양성분 및 ursolic acid 함량을 분석하고, 항산화 활성을 측정함으로써 사과박의 유용성을 확인하고자 하였다.

시료로는 열풍건조 한 사과박과 동결건조 한 사과박을 이용하였으며 추출 용매로는 증류수, 발효주정, 메탄올을 사용하여 사과박 추출물을 제조하였다. 열풍건조 한 사과박과 동결건조 한 사과박의 일반성분 분석 결과 수분함량은 열풍건조한 사과박에서는 3.2%, 동결건조 한 사과박에서는 8.2%로 건조방법에 따라 다소 차이가 있었지만 그 외 다른 일반성분에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 총 식이섬유 함량은 열풍건조 한 사과박에서 28.5%, 동결건조 한 사과박에서 33.0%로 사과의 식이섬유는 주로 세포벽에 존재하기 때문에 가공과정 후에도 부산물에 다량 존재하여 각종 식이섬유 식품의 제조에 있어 유용하게 사용이 가능하다고 판단되었다. 총 폴리페놀 함량은 열풍건조 한 사과박에서는 메탄올 추출물에서 306.7 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 높은 함량을 나타내었고, 발효주정 추출물에서 243.7 $\mu\text{g/mL}$ 을 나타내었다. 동결건조 한 사과박에서도 마찬가지로 메탄올 추출물에서 가장 높은 함량을 나타내었으며 두 시료 모두 증류수 추출물에서 가장 낮은 함량을 나타내어 사과박에서의 페놀 화합물 추출을 위해서 증류수 보다 메탄올이나 발효주정과 같은 알코올성 용매를 사용하는 것이 적합한 것으로 판단되었다. 총 플라보노이드 함량은 열풍건조 한 사과박의 메탄올 추출물에서 950.1 $\mu\text{g/mL}$, 동결건조 한 사과박의 메탄올 추출물에서 925.0 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 높은 함량을 보였다.

열풍건조 한 사과박의 DPPH radical 소거능은 메탄올 추출물에서 73.3%로 가장 높은 값을 나타내었고, 발효주정 추출물에서는 59.4%의 결과값을 나타

내었다. 동결건조 한 사과박에서도 메탄올 추출물에서 76.1%, 발효주정 추출물에서 66.0%로 열풍건조 한 사과박에서와 비슷한 양상을 보였다. 양성대조구로 사용한 0.1 $\mu\text{g/mL}$ ascorbic acid를 시료와 동일한 조건으로 측정하였을 때 79.6%로 본 실험의 메탄올 추출물과 비슷한 활성을 나타내었다. ABTS radical 소거능은 두 시료 모두 메탄올 추출물에서 열풍건조 한 사과박에서는 0.330 mM Trolox, 동결건조 한 사과박에서는 0.314 mM Trolox에 해당하는 항산화능을 나타내어 세 가지 용매 중 가장 활성이 높게 나타났으며 DPPH radical 소거능에서와 마찬가지로 증류수 추출물에서 가장 낮은 활성을 나타내었다. 열풍건조 한 사과박과 동결건조 한 사과박의 환원력을 측정한 결과 다른 항산화능 측정 실험과는 달리 증류수 추출물에서도 발효주정 추출물과 비슷한 환원력을 나타내었다. 또한 양성대조구로 사용한 0.1 $\mu\text{g/mL}$ ascorbic acid는 311.5 $\mu\text{g/mL}$ 의 환원력을 나타내어 모든 실험군에서 양성대조구보다 더 강한 환원력을 갖는 것으로 나타났다.

Ursolic acid는 항산화 활성이 뛰어나고 중성지방 감소로 인한 체지방 분해 효과가 있는 것으로 알려진 유기산으로 본 실험에서 증류수 추출물에서는 전혀 검출되지 않았으며 두 시료 모두 메탄올 추출물에서 열풍건조 한 사과박은 1753.32 $\mu\text{g/mL}$, 동결건조 한 사과박은 1407.03 $\mu\text{g/mL}$ 로 발효주정 추출물에서 보다 더 높은 함량을 나타내었다.

열풍건조 한 사과박과 동결건조 한 사과박의 항산화활성을 비교하였을 때 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 동결건조는 열풍건조에 비하여 에너지 소비가 많고 비용이 비싸기 때문에 열풍건조가 산업에 적용하기에 더 적합할 것으로 판단되었다. 이러한 사과박은 사과 부산물의 고부가가치화는 물론 뛰어난 항산화 효과로 화장품 소재 및 기능성 식품 소재로 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

V. 참고문헌

- AOAC. (1995). Total, soluble and insoluble dietary fiber in food. AOAC official method 991.43. Official Methods of Analysis. 16th ed. Washington, DC, USA.
- AOAC. (2005). Official method of analysis. 18th ed., Association of official analytical chemists. Washington D.C. USA., 45, 21-22.
- Boyer J. and Liu R. H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. Nutrition Journal. 3:5.
- Cargnin S. T. and Gnoatto S. B. (2017). Ursolic acid from apple pomace and traditional plants: A valuable triterpenoid with functional properties. Food Chemistry. 220. 477-489.
- Cui T., Li J. Z., Kayahara H., Ma L., Wu L. X. and Nakamura K. (2006). Quantification of the Polyphenols and Triterpene Acids in Chinese Hawthorn Fruit by High-Performance Liquid Chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54. 4574-4581.
- Dick A. J., Redden P. R, DeMarco A. C., Lidster P. D. and Grindley T. B. (1987). Flavonoid glycosides of spartan apple peel. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 35. 529-531.

- Diplock AT. (1997). Will the good fairies please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease? Free Rad Res. 27. 511-532.
- Do Y. S., Whang H. J., Ku J. E. and Yoon K. R. (2005). Organic acids content of the selected Korean apple cultivars. Korean Journal of Food Science and Technology. 37. 922-927.
- Eberhardt M. V., Lee C. Y. and Liu R. H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. Nature. 405. 903-904.
- Figuerola F., Hurtado M. L., Estévez A. M., Chiffelle I. and Asenjo F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. Food Chemistry. 91. 395-401.
- Ikeda Y., Murakami A. and Ohigashi H. (2008). Ursolic acid: An anti-and pro-inflammatory triterpenoid. Molecular Nutrition Food Reserach. 52. 26-42.
- Jin H., Kim H. S., Shin M. K., Kim J. H. and Lee J. W. (2002). Production of heteropolysaccharide-7 by *Beijerinckia indica* from agro-industrial byproducts. Enzyme and Microbial Technology. 30. 822-827.
- Kim M. J., Kim Y. G., Kim H. S., Cheong C., Jang K. H. and Kang S. A. (2014). Effects of antioxidant activities in ethanol extract of apple peel,

- grape peel, and sweet potato peel as natural antioxidant. *Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society*. 15. 3766-3773.
- Lee K. M., Jeong G. T. and Park D. H. (2004). Study of antimicrobial and DPPH radical scavenger activity of wood vinegar. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*. 19. 381-384.
- Lu Y. and Foo L. Y. (1998). Constitution of some chemical components of apple seed. *Food Chemistry*. 61. 29-33.
- Lu Y. and Foo Y. (2000). Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry*. 68. 81-85.
- Mehrländer K., Dietrich H., Sembries S., Dongowski G. and Will F. (2002). Structural characterization of oligosaccharides and polysaccharides from apple juices produced by enzymatic pomace liquefaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50. 1230-1236.
- Meir S, Kanner J, Akiri B, Philosoph-Hadas S. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43. 1813-1819.
- Moreano M. I. N., Isla M. I., Sampietro A. R. and Vattuone M. A. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*. 71. 109-114.

- Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics. 44. 307-315
- Price K. R., Prosser T., Richetin A. M. F. and Rhodes M. J. C. (1999). A comparison of the flavonol content and composition in dessert, cooking and cider-making apples; distribution within the fruit and effect of juicing. Food Chemistry. 66. 489-494.
- Sharma O. P. and Bhat T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. Food Chemistry. 113. 1202-1205.
- Sudha M. L., Baskaran V. and Leelavathi K. (2007). Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect of the rheological characteristics and cake making. Food Chemistry. 104. 686-692
- Wang Z., Sun J., Liao X., Chen F., Zhao G., Wu J. and Hu X. (2007). Mathematical modeling on hot air drying of thin layer apple pomace. Food Research International. 40. 39-46.
- Wolfe K. Wu X. and Liu R. H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51. 609-614.