



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0090921
(43) 공개일자 2021년07월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 3/3472 (2006.01) A23L 19/00 (2016.01)
A23L 3/3481 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 3/3472 (2013.01)
A23L 19/00 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2020-0004266
(22) 출원일자 2020년01월13일
심사청구일자 2020년01월13일

(71) 출원인
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)
(72) 발명자
이승욱
대구광역시 달성군 다사읍 대실역북로 26, 207동
102호 (대실역청아람 2단지)
박지원
경상북도 고령군 대가야읍 연조5길 6, 2층
이태정
대구광역시 북구 관음동로13길 3-3, 1층
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 8 항

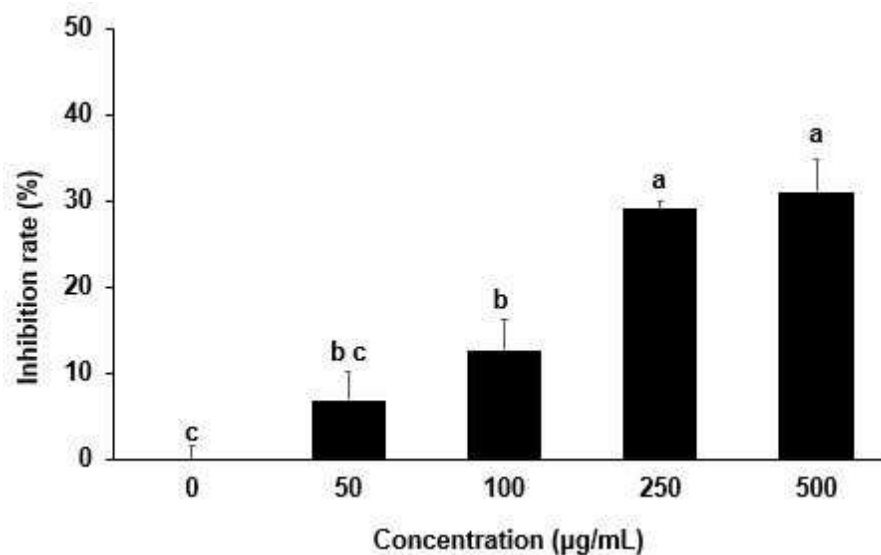
(54) 발명의 명칭 자두 씨 추출물을 유효성분으로 함유하는 갈변 방지용 조성물

(57) 요약

본 발명은 자두 씨 추출물을 유효성분으로 함유하는 갈변 방지용 조성물에 관한 것으로, 상기 갈변 방지용 조성물은 피자두(*Prunus salicina* Lindl. cv. Soldam), 후무사(*Prunus salicina* Formosa) 및 도담(*Prunus salicina* Dodam)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 자두 씨 추출물을 유효성분으로 함유한다.

상기 자두 씨 추출물은 우수한 항산화 활성 및 폴리페놀 옥시다아제(PO) 효소 저해 활성을 가져, 식품 갈변 방지용 조성물로 활용됨으로써, 상품의 품질을 오래 신선하게 유지시켜 신선 편이 식품 등의 유통 손실을 줄일 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A23L 3/3481 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/048 (2013.01)

A23V 2300/14 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

자두 씨 추출물을 유효성분으로 함유하는 식품 갈변 방지용 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 자두 씨는,

피자두, 후무사, 도담, 대석, 홍로센, 홍자두, 대왕자두, 자봉자두, 게루시 및 추희로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 자두의 씨인 것을 특징으로 하는 식품 갈변 방지용 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 자두 씨 추출물은,

60 내지 80중량% 에탄올 수용액 또는 프레타놀 수용액을 추출 용매로 하여 추출된 것을 특징으로 하는 식품 갈변 방지용 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 자두 씨 추출물은,

항산화 활성 또는 폴리페놀 옥시다아제(polyphenol oxidase, PPO) 효소 저해 활성을 가지는 것을 특징으로 하는 식품 갈변 방지용 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 자두 씨 추출물은,

상기 조성물 전체 100 중량에 대해 0.01 내지 100 중량부로 함유되는 것을 특징으로 하는 식품 갈변 방지용 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 식품은,

과채류 또는 상기 과채류를 이용한 신선 편이 식품인 것을 특징으로 하는 식품 갈변 방지용 조성물.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 따른 식품 갈변 방지용 조성물을 식품에 처리하는 단계를 포함하는 식품 갈변 방지 방법.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 식품에 처리하는 단계는,

상기 조성물만을 처리하거나, 아스코르브산(ascorbic acid), 알부틴(arbutin) 또는 이의 혼합물과 상기 조성물을 병용 처리하는 것을 특징으로 하는 식품 갈변 방지 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 자두 씨 추출물을 유효성분으로 함유하는 갈변 방지용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 소비자들의 식생활 양식 변화, 건강에 대한 관심과 신선 및 천연식품에 대한 기호도가 증가함에 따라 채소, 과일 등이 주원료인 신선 편이 식품의 소비가 증가하고 있다. 이러한 신선 편이 식품은 소비자가 바로 이용할 수 있도록 박피, 절단, 제심, 분할 등의 가공 처리를 거치기 때문에 저장성의 저하, 에틸렌의 발생이 일어나며 미생물의 침입이 쉬워지고 산화적 갈변 작용이 촉진된다.

[0003] 농산물의 조직 손상으로 일어나는 갈변현상은 폴리페놀 옥시다아제(polyphenol oxidase, PPO) 의해 페놀 화합물이 산화되어 o-퀴논(o-quinone)과 같은 화합물을 만들고, 이들이 중합되어 갈색 색소인 멜라닌을 생성하여 일어나는 것으로 품질손상에 큰 영향을 주게 된다. 갈변은 소비자의 신선도 판단 기준임과 동시에 구매의 선택 기준으로 작용하여 농산물의 상품성을 좌우한다. 실제 신선 편이 식품은 약 25% 수준의 높은 유통손실을 나타내고 있다. 따라서 갈변을 억제하여 유통손실을 최소화하는 것이 생산자 및 유통업 등을 포함한 식품 산업의 중요한 이슈로 부각되고 있다.

[0004] 이러한 갈변을 저해하고자 아스코르브산(ascorbic acid), 산미제, 킬레이팅(chelating)제 등의 화학물질들이 전통적으로 연구, 사용되었으나 이들은 사용대상 식품과 사용량에 제한이 있고 최근 건강 지향적 식품에 대한 소비자들의 관심 증가로 화학물질 처리 대신 천연물질에 대한 요구가 증가하고 있다.

[0005] 한편, 자두(*Prunus salicina* L.)는 우리나라 신라 시대 때부터 재배된 과실로 장미과 벚나무 속 자두 아속에 속한다. 우리나라에서 생산되는 자두는 대부분 동양계 자두로서, 70%가 경북에서 생산되는 국내의 주요 과실 중 하나이다. 자두는 연중 수확 시기가 이른 과일로 품종과 환경에 따라 조성에 차이가 있으나 유용 성분으로 천연 페놀 화합물을 다량 함유하고 있다. 최근 연구에 따르면 페놀 화합물이 활성산소 대신 산화하여 항산화, 항암, 항균 등에 효과가 있는 것으로 연구되고 있다.

[0006] 자두는 주로 생식으로 섭취하거나 건자두, 잼, 넥타, 주스, 와인 등의 형태로 가공된다. 이러한 가공식품들은 주로 과육과 과피를 이용한 것으로 가공식품 제조 후 부산물인 씨가 발생하게 되며 대부분 폐기되고 있다. 최근 이러한 부산물을 활용하기 위한 연구가 진행되고 있으나, 농산물의 갈변에 초점을 맞춘 연구는 미비한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2015-0034327호 (2015.04.03. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 폐기되는 과실의 씨 추출물을 이용한 식품 갈변 방지용 조성물을 제공하는 데에 있다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 상기 과실의 씨 추출물을 이용한 식품 갈변 방지 방법을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명에 따른 식품 갈변 방지용 조성물은 자두 씨 추출물을 유효성분으로 함유할 수 있다.

[0011] 본 발명에 따른 식품 갈변 방지 방법은 상기 식품 갈변 방지용 조성물을 식품에 처리하는 단계를 포함할 수 있

다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명에 따른 자두 씨 추출물은 우수한 항산화 활성 및 폴리페놀 옥시다아제(PP0) 효소 저해 활성을 가져, 과채류 또는 상기 과채류를 이용한 신선 편이 식품 등의 식품 갈변 방지용 조성물로 활용할 수 있다.
- [0013] 상기 식품 갈변 방지용 조성물을 이용하여 상품의 품질을 오래 신선하게 유지함으로써, 장기간 보관이 용이하고 신선 편이 식품 등의 유통 손실을 줄일 수 있다.
- [0014] 또한, 본 발명에 따른 조성물은 과실의 부산물인 자두의 씨를 이용함으로써, 폐기되는 자원을 효율적으로 활용하여 환경 보호 및 자원 절약에 도움이 된다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 사용된 자두의 3가지 품종, 후무사(*Prunus salicina Formosa*), 피자두(*Prunus salicina Lindl. cv. Soldam*) 및 도담(*Prunus salicina Dodam*)의 단면 이미지이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 자두 씨 추출물 제조방법을 나타낸 순서도이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실험예에 따른 품종별 자두 씨 추출물의 항갈변 활성을 확인한 결과로, 도 3A는 각 자두 씨 추출물을 처리한 감자 상등액의 0시간부터 48시간까지의 색 변화, 도 3B는 24시간째의 각 자두 씨 추출물의 항갈변 활성, 도 3C는 48시간째의 항갈변 활성을 측정된 결과이다. 각 값은 평균 $\pm$ SE ($n \geq 3$) 값이며, 다른 위첨자(a-c)는 Duncan's multiple range test에 의해 $P < 0.05$ 에서 유의미한 값이다.
- 도 4는 본 발명의 일 실험예에 따른 피자두 씨 추출물의 농도별 항갈변 활성을 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실험예에 따른 자두 씨 추출물을 처리한 사과 슬라이스를 관찰한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 이하, 본 발명을 상세하게 설명하기로 한다.
- [0018] 본 발명자는 우리나라에서 주로 재배되는 자두인 후무사(*Formosa*), 피자두(*Soldam*), 도담(*Dodam*) 씨의 추출물을 제조하여 감자 상등액에 대한 항갈변 활성 비교, PP0 효소 활성 저해 비교 및 사과 슬라이스에 대한 항갈변 효과 비교를 통해 항갈변 활성을 측정하고, 검증된 자두 과육 및 과피의 항산화 효과에 이어 자두 씨의 항산화 활성을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.
- [0020] 본 발명은 자두 씨 추출물을 유효성분으로 함유하는 식품 갈변 방지용 조성물을 제공한다.
- [0021] 본 명세서에서, 상기 "자두 씨"는 자두(Plum)에서 과육 및 과피를 제거한 종자 부분으로, 피자두, 후무사, 도담, 대석, 홍로센, 홍자두, 대왕자두, 자봉자두, 게루시 및 추회로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 자두의 씨일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 바람직하게는 피자두(*Prunus salicina Lindl. cv. Soldam*), 후무사(*Prunus salicina Formosa*) 및 도담(*Prunus salicina Dodam*)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 자두의 씨일 수 있고, 보다 바람직하게는 피자두(*Prunus salicina Lindl. cv. Soldam*)의 씨일 수 있다.
- [0023] 상기 자두 씨는 자연에서 채취 또는 재배된 자두에서 수득한 것일 수 있고, 상업적으로 판매되는 것을 구입한 것일 수 있다.
- [0025] 본 명세서에서, "추출물"이란, 추출 방법, 추출 용매, 추출된 성분 또는 추출물의 형태를 불문하고 천연물의 성분을 뽑아냄으로써 얻어진 물질을 의미하는 것으로, 천연물의 성분을 뽑아내어 얻어진 물질을 추출 후 다른 방법으로 가공 또는 처리하여 얻어질 수 있는 물질을 모두 포함할 수 있다.

- [0026] 상기 자두 씨 추출물은 물, C1 내지 C4의 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 추출된 것일 수 있고, 바람직하게는 60 내지 80중량% 에탄올 수용액 또는 프레타놀 수용액 추출물일 수 있으며, 보다 바람직하게는 70중량%의 식물성 에탄올인 프레타놀(pretanol) 추출물일 수 있다.
- [0027] 상기 자두 씨 추출물은 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 추출될 수 있고, 예를 들어, 열수 추출, 초음파 추출법, 여과법, 환류 추출법 등이 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다.
- [0029] 본 발명에 따른 식품 갈변 방지용 조성물에 있어서, 상기 자두 씨 추출물은 우수한 항산화 활성 또는 폴리페놀 옥시다아제(polyphenol oxidase, PPO) 효소 저해 활성을 가질 수 있다.
- [0030] 본 명세서에서, "갈변"이란, 식품가공, 보존 등에서 일어나는 색의 변화, 특히 갈색으로 변화하는 것으로, 식품 속에 함유되어 있는 페놀(phenol) 화합물에 의하여 나타나는 것으로 알려져 있으며, 이들 페놀 화합물들이 가공이나 저장 중 폴리페놀 옥시다아제에 의한 효소적 갈변 현상 또는 비효소적 갈변 현상을 일으키게 된다.
- [0031] 본 명세서에서, "폴리페놀 옥시다아제(polyphenol oxidase, PPO)"란, 산화환원효소의 일종으로, 페놀을 산화하여 퀸론(quinone)을 생성하는 반응을 촉매하여 효소적 갈변의 원인이 되는 효소이다.
- [0032] 본 발명의 일 실험예에 따르면, 상기 자두 씨 추출물의 농도가 증가할수록 PPO 저해 활성 또한 향상되었으며, 특히 피자두 씨 추출물은 다른 추출물에 비해 2배 정도 뛰어난 PPO 활성 저해 효과를 나타내었다.
- [0033] 또한, 상기 자두 씨 추출물은 뛰어난 DPPH radical 소거 활성 또는 ABTS radical 소거 활성을 가지고, 높은 폴리페놀 함량을 가짐으로써, 항산화 활성이 우수함을 확인할 수 있었다. 이러한 특징들로 인해, 상기 자두 씨 추출물은 감자 또는 사과 등의 갈변을 저해하는 것을 확인할 수 있었고, 이에 상기 자두 씨 추출물은 효과적인 식품 갈변 방지용 조성물로 활용될 수 있다.
- [0035] 본 발명에 따른 식품 갈변 방지용 조성물에 있어서, 상기 자두 씨 추출물은 상기 조성물 전체 100 중량에 대해 0.01 내지 100 중량부로 함유될 수 있고, 식품의 종류, 갈변 특성 정도에 따라 함유량을 달리할 수 있다.
- [0037] 본 발명에 따른 식품 갈변 방지용 조성물에 있어서, 상기 식품은 과채류 또는 상기 과채류를 이용한 신선 편이 식품, 신선 편이 농산물 등 일 수 있으나, 이에 제한되지 않고 갈변 현상이 나타날 수 있는 모든 식품 종류를 포함할 수 있다.
- [0038] 본 발명에서, '신선 편이 식품'이란, 생산 당시의 신선도를 최대한 유지한 상태로 저장, 유통하여 좋은 품질을 소비자에게 전달하기 위해 가공 처리를 최소화, 품질은 최대화시킨 식품으로, 농산물이나 임산물을 세척, 박피, 절단 또는 세절 등의 가공 공정을 거치거나, 단순한 식품 또는 식품 첨가물을 추가한 것으로서 그대로 먹을 수 있는 단순 가공식품을 포함할 수 있다.
- [0040] 본 발명은 상기 식품 갈변 방지용 조성물을 식품에 처리하는 단계를 포함하는 식품 갈변 방지 방법을 제공한다.
- [0041] 상기 식품 갈변 방지 방법에 있어서, 상기 식품에 처리하는 단계는 상기 식품 갈변 방지용 조성물 단일만으로 상기 식품에 처리하거나, 또는 아스코르브산(ascorbic acid), 알부틴(arbutin) 등의 공지된 갈변 방지제와 함께 병용 처리할 수 있으나, 상기 공지된 갈변 방지제는 상기 아스코르브산 또는 알부틴에 제한되는 것은 아니다. 상기 자두 씨 추출물과 같은 천연 갈변 방지제와 상기 공지된 갈변 방지제를 병용 처리함으로써, 서로 상호 보완하여 더욱 효과적으로 갈변을 저해할 수 있다.
- [0042] 상기 식품에 처리하는 단계는 상기 조성물을 상기 식품 표면에 뿌리거나, 상기 식품을 상기 조성물에 침지시킴으로써 처리할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0044] 또한, 본 발명은 자두 씨 추출물을 유효성분으로 함유하는 폴리페놀 옥시다아제(PPO) 효소 억제용 시약 조성물을 제공할 수 있다.

[0046] 또한, 본 발명은 상기 식품 갈변 방지용 조성물을 유효성분으로 함유하는 식품 첨가제 조성물을 제공할 수 있다.

[0048] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0050] <준비에 1> 시약 및 기기

[0051] 1. 시약

[0052] 알부틴(Arbutin)은 TRC (North York, Canada), L-아스코르브산(L-ascorbic acid), 제2인산칼륨(dipotassium hydrogen phosphate dibasic), 페놀 시약(phenol reagent)은 Junsei Chemical Co., Ltd. (Tokyo, Japan), 제1인산칼륨(potassium phosphate monobasic), 프레타놀 A(prethanol A), 메틸 알콜(methyl alcohol, MeOH)과 무수탄산나트륨(sodium carbonate anhydrous)은 Duksan (Ansan, Gyeonggi-do, Korea), 갈산(gallic acid)은 TCI (Tokyo, Japan)로부터 구입하여 사용했다. 그 밖의 언급이 없는 시약들은 모두 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, Mo, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

[0054] 2 기기

[0055] 본 실험에서는 마이크로플레이트 분광광도계(microplate spectrophotometer) (Epoch, BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA), pH 미터(pH meter) (mode 1681, Metrohm, Swiss), 원심분리기(centrifuge) (Labogene 1248R, Eio-Medical Science Co., Ltd. Korea), 인큐베이터(incubator) (DF-95S, Duri Science Inc., Korea), 진탕배양기(shaking incubator) (SI-600R, Jeio-Tech Co., Ltd. Korea), 진공 펌프(vacuum pump) (DOA-P704-AC, GAST, U.S.A), 회전식 감압 농축기(rotary evaporator) (UT-1000, EYELA, Tokyo, Japan), 마이크로플레이트 믹서(microplate shaker) (Finemixer SH 2000, FINEPCR, Korea), 색도계(chromameter) (CR-400, Minolta Co., Japan)를 사용하였다.

[0057] 3. 통계분석

[0058] 실험 결과에 대한 통계분석은 SPSS Statistics 25 (Statistical Package for the Social Science, Version 25.0 SPSS Inc., Chiago, IL, USA)를 사용하였다. 모든 데이터는 3회 이상 반복한 결과를 평균과 표준오차(mean±SE)로 나타내었다. 그룹 간의 유의성 차이 검증에는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 사용하였고, Duncan's multiple range test를 이용한 사후 검증을 시행하였다. 또한, 95% (P < 0.05)의 유의수준에서 각 구간의 유의적 차이를 검증하였다.

[0060] <실시에 1> 품종별 자두 씨 추출물 제조

[0061] 본 실험에 사용된 자두는 도 1과 같이 후무사(*Prunus salicina Formosa*), 피자두(*Prunus salicina Lindl. cv. Soldam*) 및 도담(*Prunus salicina Dodam*) 3종으로, 각각 김천, 영천, 경산이 원산지인 온라인 및 과일가게에서 구입하여 과육으로부터 씨를 완전히 분리하여 씨만 실험에 사용하였다.

[0062] 씨를 분쇄기로 분쇄한 후, 분말 중량의 10배(v/w)의 식품 첨가용 에탄올인 70% 프레타놀을 첨가하여 25℃, 50rpm에서 18시간씩 2회 반복 추출하였다. 추출물은 여과지(Whatman No.3, England)로 여과하여 여액은 45℃ 수욕 상에서 회전식 감압 농축기로 농축한 후 동결 건조하여 -20℃에 보관하며 실험에 사용하였다. 자세한 제조과정은 도 2와 같다.

[0064] <실험예 1> 감자 상등액에서 항갈변 활성 확인

[0065] 1. 실험방법

[0066] 감자는 가까운 대형마트 (대백마트, Daegu, South Korea)에서 구입하였다. 감자 껍질을 제거한 후 50mM 인산칼륨 완충용액(potassium phosphate buffer, pH 7.0)과 1:1 (v/w)비율로 믹서기로 마쇄하여 감자추출물을 제조하였다. 그 후 감자추출물을 4℃에서 13,000rcf로 20분 동안 원심분리하여 고형분을 제거하고 상등액을 얻었으며, 상등액은 셀 스트레이너(cell strainer)와 0.45 μm 멤브레인 필터(membrane filter)를 이용하여 여과한 후 15mL 코니컬 튜브(conical tube)에 소분하여 -20℃에 보관하며 실험에 사용하였다.

[0067] 96 웰 플레이트(well plate)의 각 웰에 시료 20 μL를 분주한 후 감자 상등액 180 μL를 첨가하였다. 그 후 72시간 동안 시간별로 마이크로플레이트 분광광도계를 이용하여 410nm, 450nm에서 흡광도를 측정하고 감자 상등액의 항갈변 활성을 구하였다. 항갈변 활성은 시료 처리군의 흡광도를 음성대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타냈으며, 하기 식 1을 이용하였다.

[0068] [식 1]

[0069] 감자 상등액의 항갈변 활성(%) = $100 - \{(\text{후기 흡광도} - \text{초기 흡광도}) / \text{대조군 흡광도} \times 100\}$

[0071] 2. 실험결과

[0072] 자두 씨 추출물의 항갈변 활성을 평가하기 위해 폴리페놀과 PPO를 많이 함유하여 색이 갈색으로 쉽게 변화하는 감자를 이용해 감자 상등액을 제조하여 실험에 이용하였다. 음성대조군과 500 μg/mL의 자두 씨 추출물을 상기 제조된 감자 상등액에 처리하여 72시간까지 흡광도 변화를 410nm에서 측정하여 항갈변 활성을 알아보았다.

[0073] 음성대조군과 품종별 자두 씨 추출물을 감자 상등액에 처리하여 색 변화를 관찰한 결과, 도 3A와 같이, 시간이 지남에 따라 감자 상등액의 색이 점점 짙어지는 것으로 보아 실험시간 끝까지 갈변이 진행되는 것을 확인할 수 있었으며, 24시간 및 48시간째의 음성대조군을 처리한 감자 상등액과 품종별 자두 씨 추출물을 처리한 감자 상등액을 육안으로 비교해 보았을 때 자두 씨 추출물을 처리한 감자 상등액의 갈변이 더딘 것을 알 수 있었다.

[0074] 세 품종의 자두 씨 추출물의 항갈변 활성을 비교해 보았을 때, 도 3B 및 도 3C와 같이, 24시간과 48시간에서 모두 피자두(*Soldam*), 도담(*Dodam*), 후무사(*Formosa*) 순으로 항갈변 활성이 우수하게 나타났다. 양성대조군인 아스코르브산은 24시간까지는 항갈변 활성을 보였으나, 48시간부터는 항갈변 활성을 나타내지 못했다. 반면에 세 품종의 자두 씨 추출물은 항갈변 활성을 오래 유지하여 48시간까지 지속성을 보였고 특히 피자두 씨 추출물이 우수한 효과를 나타냈다. 다른 양성대조군인 알부틴은 감자 상등액에서 유의적인 항갈변 활성을 나타내지 못하였다.

[0076] 감자 상등액을 이용한 상기 결과 확인 후, 항갈변 효과가 우수한 피자두 씨 추출물의 효과를 더 알아보기 위하여 0, 50, 100, 250, 500 μg/mL의 농도로 각각 24시간 처리 후 갈변 저해 효과를 알아보았다.

[0077] 도 4와 같이, 피자두 씨 추출물은 상기 농도에서 각각 0%, 6.90%, 12.70%, 29.13%, 31.11%의 항갈변 활성을 나타냈으며 추출물의 농도가 높아질수록 항갈변 활성도 높아지는 것으로 확인되었다.

[0079] <실험예 2> 감자 상등액에서 폴리페놀 옥시다아제(polyphenol oxidase, PPO) 효소 활성 저해 확인

[0080] 1. 실험방법

[0081] 50mM 인산칼륨 완충용액 (pH 7.0) 100 μL, 폴리페놀 옥시다아제(polyphenol oxidase, PPO) 효소 추출물 20 μL와 시료 20 μL를 96 웰 플레이트에 분주하였으며, PPO 효소 추출물은 감자 상등액 제조 방법에 따라 제조하였다. 25℃에서 15분간 방치하고 기질로서 4mM 피로갈롤(pyrogallol) 용액을 60 μL씩 첨가한 후 5분간 방치하고 334nm에서 흡광도를 측정하였다. PPO 효소 활성은 시료 처리군의 흡광도를 음성대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타냈으며, 하기 식 2를 이용하였다.

[0082] [식 2]

[0083] PPO 효소 활성 저해율(%)= 100-((후기 흡광도-초기 흡광도)/대조군 흡광도×100}

[0085] 2. 실험결과

[0086] PPO의 반응은 모노페놀(monophenol)이 디페놀(diphenol)이 되는 하이드록시화과정(hydroxylation)과 디페놀이 퀴논(quinone)이 되는 산화과정에서 작용하는 것으로 이 퀴논이 중합반응을 거쳐 갈색이나 흑색을 띄는 멜라닌(melanin)이 형성되면서 갈변이 일어난다.

[0088] 표 1은 세 품종의 자두 씨 추출물에 대한 PPO 효소 활성 저해를 피로칼롤 기질을 이용하여 비교한 결과이다.

표 1

Samples	Concentration (μg/mL)	Inhibition rate (%)	IC ₅₀ (μg/mL) ¹⁾
Formosa	250	8.38±0.76 ^{d2)}	>1,000
	500	18.71±2.38 ^d	
	750	27.52±1.53 ^c	
	1,000	30.92±1.21 ^c	
Soldam	250	30.99±0.81 ^c	675.85±6.50
	500	49.07±1.80 ^b	
	750	57.22±1.76 ^b	
	1,000	65.43±2.12 ^a	
Dodam	250	13.41±2.38 ^d	>1,000
	500	17.70±2.23 ^d	
	750	30.23±1.37 ^c	
	1,000	35.20±0.87 ^c	

¹⁾Concentration required for 50% inhibition of PPO activity.

²⁾Each value is mean±SE (n≥3) and different superscripts (a-d) are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

[0089]

[0090] 상기 표 1을 참조하면, 세 품종의 시료 추출물 모두 시료의 농도가 증가할수록 저해 활성이 증가하여 후무사 씨 추출물의 경우 250 μg/mL에서 8.38%, 500 μg/mL에서 18.71%, 750 μg/mL에서 27.52%, 1000 μg/mL에서 30.92%의 저해 활성을 나타내었고, 250 μg/mL과 500 μg/mL, 750 μg/mL과 1000 μg/mL이 유사한 경향을 나타냈다. 도담 씨 추출물의 경우 250 μg/mL에서 13.41%, 500 μg/mL에서 17.70%, 750 μg/mL에서 30.23%, 1000 μg/mL에서 35.20%의 저해 활성을 나타내며 후무사 씨 추출물보다 모든 농도에서 높은 저해 활성과 유의적인 경향을 보였다.

[0091] 피자두 씨 추출물의 경우 250 μg/mL에서 30.99%, 500 μg/mL에서 49.07%, 750 μg/mL에서 57.22%, 1000 μg/mL에서 65.43%의 저해 활성을 나타내며 IC₅₀ 값은 675.85 μg/mL로 확인되었다. 피자두 씨 추출물의 경우 다른 추출보다 2배 정도의 우수한 효과를 나타냈으며 농도에 따라 유의적인 경향을 보였다.

[0093] <실험예 3> 사과 슬라이스에 대한 항갈변 효과 확인

[0094] 1. 실험방법

[0095] 열탕소독 및 70% 에탄올(EtOH)로 소독한 칼을 이용하여 사과를 0.5cm 두께로 자른 후 500 μg/mL의 양성대조군과

품종별 자두 씨 추출물 용액을 각 3mL씩 분주하였다. 1분간 방치한 후 3분간 자연 건조하여 시료를 가볍게 털어 내고, 24시간 동안 상온에 보관하며 외관의 변화를 관찰하였다. 표면색은 표준백판 (L=96.63, a=-0.07, b=-1.90)으로 보정된 색도계를 사용하여 사과 절단면의 중심 부위를 3회 반복하여 Hunter L, a and b값을 측정하였다. 각 처리구간의 색도차이는 색차(color difference, ΔE)를 이용하여 분석하였으며 계산식은 하기 식 3과 같다.

[식 3]

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

2. 실험결과

사과는 박피, 절단 등으로 인하여 과육에 조직손상이 일어나면 절단면의 폴리페놀이 공기 중 산소와 반응하여 갈변된다. 사과는 갈변현상을 쉽게 볼 수 있는 과일이며 주로 껍질째 또는 껍질만 벗겨서 생식으로 이용하는 과일이다. 따라서 본 실험에서는 갈변이 잘 일어나며 생식이 가능한 과일인 사과 슬라이스에 자두 씨 추출물을 처리했을 때 항갈변 효과를 알아보았다.

표 2는 사과 슬라이스에 세 품종의 자두 씨 추출물 및 음성대조군과 양성대조군(ascorbic acid, arbutin)을 처리하여 상온에서 24시간 동안의 Hunter L, ΔE의 색 변화를 관찰한 결과이다.

L 값은 명도를 나타내는 것으로 표면의 색이 밝을수록 높은 값을 나타낸다. ΔE 값은 L, a, b 값을 모두 고려하여 초기 값과 비교하여 일정 시간 후 색의 변화를 수치화한 값으로 색 변화가 많을수록 높은 값을 보이므로 주관적인 갈변의 정도를 객관적인 수치로 판단할 수 있다.

표 2

Samples	L ¹⁾	ΔE ²⁾
Control	62.10±0.37 ^{d3)}	39.31±0.33 ^e
Arbutin	64.50±1.11 ^c	37.31±1.24 ^{de}
Ascorbic acid	67.05±0.59 ^{bc}	35.48±0.73 ^{cd}
Formosa	66.01±0.40 ^b	34.67±0.51 ^{bc}
Soldam	69.07±0.63 ^a	32.91±0.54 ^{ab}
Dodam	69.40±0.15 ^a	31.82±0.42 ^a

¹⁾Hunter L : lightness.

²⁾ΔE : degree of color of change.

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

상기 표 2 및 도 5를 참조하면, 음성대조군을 처리한 사과 슬라이스의 L 값이 62.10을 나타낸 반면, 피자두 씨 추출물에서 69.07, 도담 씨 추출물에서 69.40, 후무사 씨 추출물에서 66.01를 나타내어 음성대조군을 처리한 사과 슬라이스보다 높은 L 값을 나타내었다. 사과 슬라이스의 외관을 관찰한 결과 처리하지 않은 경우보다 추출물을 처리한 사과 슬라이스에서 갈변이 다소 지연되는 것을 알 수 있었다.

또한 ΔE를 확인한 결과 음성대조군을 처리한 사과 슬라이스의 경우 39.31을 나타내고 자두 씨 추출물을 처리한 경우 도담 31.82 피자두 32.91 후무사 34.67을 나타내어 더 적은 변화량을 보인다. 자두 씨 추출물들을 L 값과 ΔE 값 모두에서 양성대조군보다 우수한 효과를 보여주었다.

[0108] <실험예 4> 품종별 자두 씨 추출물의 항산화 활성 확인

[0109] 1. DPPH radical 소거능

[0110] 자유 라디칼(NO , OH , O_2)은 분자상 산소가 활성산소로 변하여 다른 분자들과 반응하면서 생성되어 인체 내에서 지질 또는 단백질 등과 결합하여 노화를 일으키며, 염증, 발암, 동맥경화와 직접적인 관련이 있는 것으로 알려져 있다.

[0111] DPPH는 짙은 자주색을 나타내며 질소 중심의 안정한 자유 라디칼로 515~520nm에서 최대 흡수치를 나타낸다. 시스테인(cysteine), 글루타티온(glutathione)과 같은 황 함유 아미노산과 아스코르브산, 토코페롤(tocopherol) 등의 항산화 물질로부터 전자나 수소를 제공받아 DPPH-H로 환원되면서 노란색으로 탈색되며 흡광도가 감소된다. 추출물에서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화성을 기대할 수 있으며, 다양한 천연소재로부터 항산화능을 측정하기 위한 방법으로 많이 이용되고 있다.

[0113] DPPH radical을 50% 저해하는 품종별 자두 씨 추출물의 농도를 RC_{50} 값과 trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)를 기준 물질로 하여 시료의 항산화력을 TEAC값으로 환산하여 결과를 표 3에 나타냈다.

표 3

Samples	DPPH radical	
	RC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ¹⁾	TEAC ($\mu\text{g TE/mg}$) ²⁾
Formosa	$30.75 \pm 1.29^{\text{a3)}$	$47.00 \pm 1.29^{\text{a}}$
Soldam	$36.09 \pm 0.82^{\text{b}}$	$45.44 \pm 1.10^{\text{a}}$
Dodam	$41.92 \pm 0.56^{\text{c}}$	$34.12 \pm 0.15^{\text{b}}$
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 $\pm$ SE (n $\geq$ 3). Different superscripts (a-c) in the same column are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

[0114]

[0115] 상기 표 3을 참조하면, RC_{50} 값은 후무사 씨 $30.75 \mu\text{g/mL}$, 피자두 씨 $36.09 \mu\text{g/mL}$, 도담 씨 $41.92 \mu\text{g/mL}$ 순으로 나타났다. TEAC값은 후무사 씨 $47.00 \mu\text{g TE/mg}$, 피자두 씨 $45.44 \mu\text{g TE/mg}$, 도담 씨 $34.12 \mu\text{g TE/mg}$ 로 나타났다. RC_{50} 값은 품종 간 유의적 차이를 보였으며 TEAC 값에서는 후무사 씨와 피자두 씨 간의 유의적 차이가 없었다. 따라서 종합적으로 후무사 씨가 가장 우수한 것을 알 수 있었다.

[0117] 2. ABTS radical 소거능

[0118] ABTS radical 소거능은 DPPH radical 소거능 측정 방법과 더불어 항산화 활성을 측정하는데 널리 이용되는 방법이다. ABTS는 양이온 라디칼(cation radical)이며 DPPH는 자유 라디칼(free radical)이라는 점에서 차이가 있다.

[0119] ABTS법은 ABTS와 과황산칼륨(potassium persulfate)이 반응하여 ABTS cation radical이 생성되어 청록색을 띠게 되며, 이때 항산화 물질과 반응하여 라디칼이 소거되면서 청록색이 무색으로 탈색된다. 따라서 높은 탈색율을 보일수록 항산화 활성을 기대할 수 있다. 이 방법은 친수성, 소수성 물질 모두의 항산화 활성 측정이 가능하며, 반응시간이 대단히 빠르다는 장점이 있다.

[0121] ABTS radical 소거활성은 품종별 자두 씨 추출물의 농도를 RC_{50} 값과 trolox를 기준 물질로 하여 시료의 항산화력을 TEAC값으로 환산하여 결과를 표 4에 나타냈다.

표 4

Samples	ABTS radical	
	RC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ¹⁾	TEAC ($\mu\text{g TE/mg}$) ²⁾
Formosa	$37.71 \pm 0.68^{b3)}$	129.68 ± 1.31^b
Soldam	25.45 ± 0.11^a	196.34 ± 0.53^a
Dodam	45.36 ± 0.13^c	199.71 ± 0.82^c
Trolox	5.09 ± 0.01	-

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

²⁾Trolox equivalent antioxidant capacity.

³⁾Each value is mean $\pm$ SE (n $\geq$ 3). Different superscripts (a-d) in the same column are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

[0122]

[0123] 상기 표 4를 참조하면, RC_{50} 값은 피자두 씨 $25.45 \mu\text{g/mL}$, 후무사 씨 $37.71 \mu\text{g/mL}$, 도담 씨 $45.36 \mu\text{g/mL}$ 로 나타났다. TEAC 값은 피자두 씨 $196.34 \mu\text{g TE/mg}$, 후무사 씨 $129.68 \mu\text{g TE/mg}$, 도담 씨 $199.71 \mu\text{g TE/mg}$ 로 나타났다. RC_{50} 값과 TEAC 값 모두 품종별로 유의적인 차이를 보였으며, 피자두 씨의 활성이 가장 우수한 것을 알 수 있었다.

[0124] DPPH radical 소거활성은 후무사 씨의 활성이 가장 우수했지만 ABTS radical 소거활성은 피자두 씨의 활성이 가장 우수한 것으로 나타났다.

[0126] <실험예 5> 품종별 자두 씨 추출물의 폴리페놀 함량 확인

[0127] 폴리페놀 화합물은 플라보노이드(flavonoids), 안토시아닌(anthocyanins), 타닌(tannins), 카테킨(catechins), 이소플라본(isoflavones), 리그난(lignans), 레스베라트롤(resveratrols) 등을 총칭하며, 식물계에 널리 분포되어 있으며 과일 및 열매류에 다량 함유되어 있다. 페놀릭 하이드록실(Phenolic hydroxyl(OH))기를 갖기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합하며 항산화, 항암 및 항균 등의 다양한 생리기능을 가지는 것으로 알려져 있다.

[0129] 품종별 자두 씨 추출물의 폴리페놀 함량은 표 5에 나타내었다.

표 5

Samples	$\mu\text{g GAE/mg}^{1)}$
Formosa	$65.76 \pm 0.42^{a2)}$
Soldam	52.42 ± 0.37^b
Dodam	52.77 ± 0.49^b

¹⁾Gallic acid equivalent.

²⁾Each value is mean $\pm$ SE (n $\geq$ 3) and different superscripts (a-b) are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

[0130]

[0131] 상기 표 5를 참조하면, 총 폴리페놀의 함량은 후무사 씨 65.76 $\mu\text{g GAE/mg}$, 도담 씨 52.77 $\mu\text{g GAE/mg}$, 피자두 씨 52.42 $\mu\text{g GAE/mg}$ 순으로 관찰되었다. 도담 씨와 피자두 씨 간의 유의적 차이는 없었으며, 후무사 씨의 폴리페놀 함량이 가장 높았다. 이를 통해, 후무사 씨의 폴리페놀 함량과 DPPH radical 소거활성의 경향이 동일함을 확인할 수 있었다.

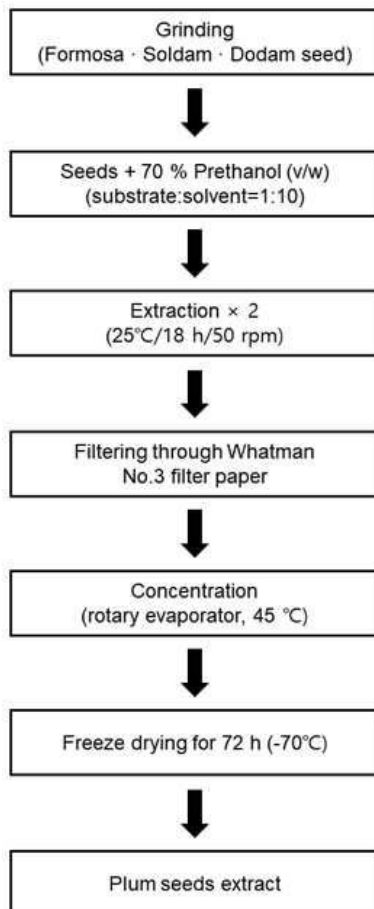
[0133] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

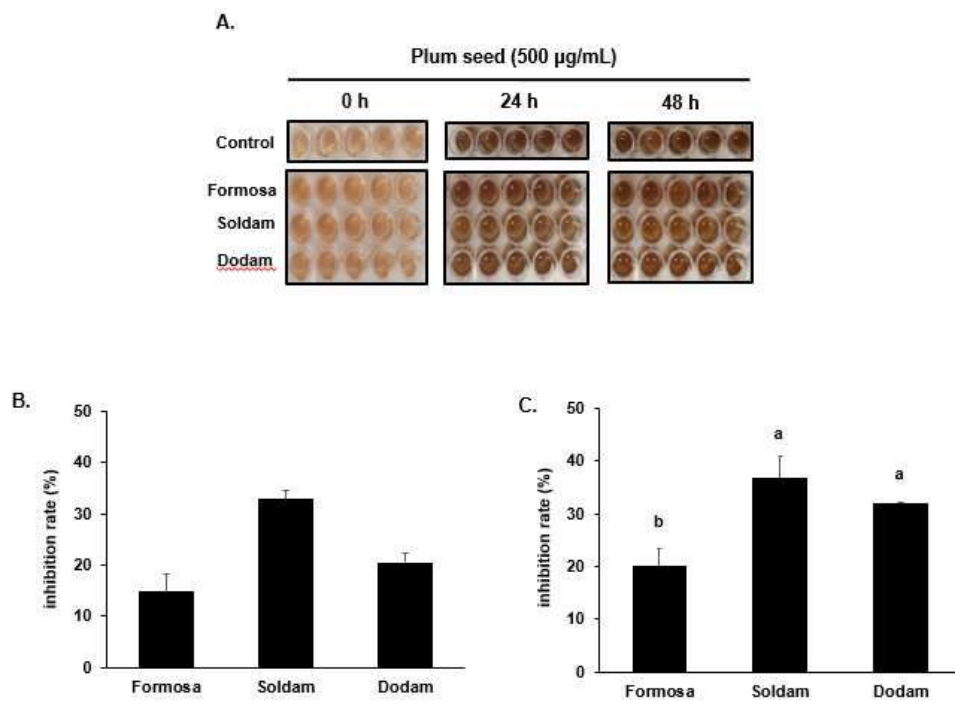
도면1



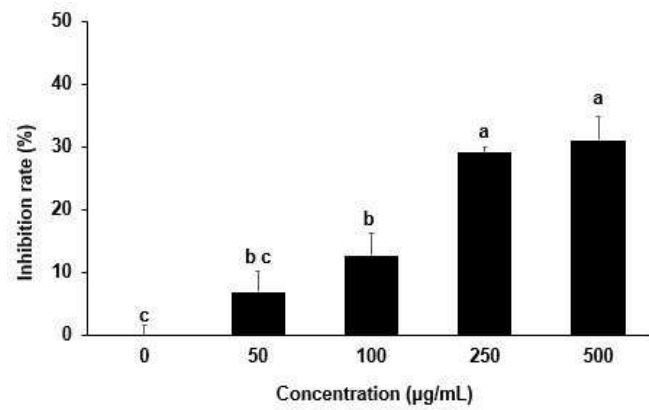
도면2



도면3



도면4



도면5

