

신육성품종 썸머프린스 사과의 기능적 특성

이은호¹ · 박혜진¹ · 강인규² · 조영제^{1*}

¹경북대학교 식품공학부, ²경북대학교 원예과학과

Functional Properties of Newly Bred 'Summer Prince' Apples

Eun-Ho Lee¹, Hye-Jin Park¹, In-Kyu Kang², and Young-Je Cho^{1*}

¹School of Food Science & Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

²Department of Horticultural Science, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

*Corresponding author: yjcho@knu.ac.kr

Abstract

Apples are one of the most commonly eaten fruits in the world. Therefore, we studied the functionality of apple, a natural raw material that does not have toxicity or sensitivity problems. In this study, 'Summer Prince' apple cultivar, newly bred in Korea, was selected as a material, and the experiment was conducted by controlling the total phenolic content (TPC) at various concentrations. The experiment was confirmed by measuring TPC, anti-oxidant activity, and physiological-related enzyme inhibition activity. The peel and whole flesh of 'Summer Prince' apples were extracted using water and ethanol, and each extract demonstrated relatively high levels of TPC at 6.83 and 11.11 g·kg⁻¹, and 3.41 and 4.65 g·kg⁻¹, respectively. In the peel and whole extracts, 60 and 50% ethanol was measured. The anti-oxidant activity was measured in 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), anti-oxidant protection factor (PF), and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) assays. Both 'Summer Prince' peel and whole extract showed significant effects, but DPPH and ABTS, which showed water-soluble anti-oxidant effects, had better effects than positive control. Therefore, 'Summer Prince' apple extracts possess substantial anti-oxidant properties, and physiological-related enzyme inhibition activity was expected. Since inhibitors of enzymes involved in diseases are important factors in terms of drug availability, the 'Summer Prince' peel and whole extracts at 50–200 µg·mL⁻¹ concentration were used to investigate the inhibitory effect. The expression levels of enzyme inhibitions activities were decreased in a concentration-dependent manner when 'Summer Prince' extracts were treated. These results support the high potential for using these extracts in functional food and cosmetics applications, as the 'Summer Prince' apples were determined to have various anti-oxidation, anti-inflammation, anti-wrinkle, and anti-diabetic functions.

Additional key words: anti-diabetic, anti-inflammation, anti-oxidation, anti-wrinkle, phenolic compound, 'Summer Prince' apple

Received: December 29, 2020

Revised: March 30, 2021

Accepted: May 10, 2021

 OPEN ACCESS



HORTICULTURAL SCIENCE and TECHNOLOGY
39(4):530-545, 2021
URL: <http://www.hst-j.org>

pISSN : 1226-8763
eISSN : 2465-8588

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright©2021 Korean Society for Horticultural Science.

서 언

사과(*Malus domestica* Borkh.)는 사과나무의 열매로, 분류학상 장미과에 속하며 세계적으로 널리 재배되는 열매 가운데 하나이다. 사과는 국내에서 가장 많이 생산되는 과일 중 하나로 배, 감귤, 복숭아, 포도, 단감과 같은 과일에 비해 재배면적이 꾸준히 증가하고 있는 추세이다(Kwon et al., 2011; Kwon et al., 2015; Kwon, 2016; Kwon et al., 2016). 2018년에 보고된 바에 따르면 국내 과일류 전체 생산량이 2,423천 톤이며, 그 중 사과의 생산량은 365천 톤으로 전체 생산량의 약 15%를 차지하고 있다(Hong, 2020). 현재 국내에서 재배되는 사과의 대부분은 ‘후지’ 품종이며, 후지는 일본 과수시험장에서 개발되어 국내로 도입된 품종으로 과실의 크기가 대체로 크고 육질이 치밀하여 과거의 다른 품종의 사과에 비해 저장성이 길다(Choi et al., 2015). 하지만 최근 변해가는 소비 트렌드와 특정 품종 위주의 재배체계에서 벗어나기 위해 1980년대 이후 우리나라 국립원예특작과학원 사과연구소에서 다양한 품종의 사과를 육종하고 있다. 그 중 대표적인 국내 육성품종인 ‘홍로’와 ‘감홍’ 사과는 품질 우수성으로 국내 육성품종의 재배가 정착되는 계기가 됨에 따라(Yoo and Kang, 2020), 국립원예특작과학원 사과연구소에서 2014년에 ‘썸머프린스(Summer Prince, 교배조합; 모본 : ‘쓰가루’ × 부분 : ‘OBIR2T47’)와 2010년에 ‘썸머킹(Summer King, 교배조합; 모본 : ‘후지’ × 부분 : ‘골든 테리셔스’) 등의 품종이 다양하게 육종되었다(Yoo and Kang, 2020). 신육성품종 중 ‘썸머프린스’ 사과는 붉은색 사과와 차별화를 가진 틈새시장형 녹황색 사과 품종이며, 과실 특성으로 수확기는 7월 하순, 과중은 234g, 당도는 11.3%, 산도는 0.55%으로 맛과 품질이 우수한 것으로 평가되고 있다(Ban et al., 2014; Yoo et al., 2016).

최근 자연친화적으로 식물 및 미생물로부터 분리된 다양한 활성성분들 가운데 체내의 생리활성기능 조절이나 이러한 효능에 대한 항상성 유지에 관련된 개발 가능한 기능성 소재를 찾는 선행조사들이 수행되고 있으며(Shin et al., 2003; Jeong et al., 2008), 사과에 함유된 기능성 연구가 활발히 진행되어 보고되고 있다. 현재 알려진 바에 의하면 사과의 과육과 껍질에는 폴리페놀 화합물, flavonoid와 같은 생리활성물질들(procyanidin, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin, catechin, p-coumaroyl quinic acid, rutin, phloridzin, quercetin, phloretin 배당체 등)이 다량 함유되어 있어 내인성, 외인성 노화 또는 스트레스와 외부자극에 의한 산화적 손상으로 인한 피부노화, 주름유발, 염증 등과 같은 질병에 대한 억제와 예방에 밀접한 관련이 있다(Lee et al., 2020). 사과에 함유된 유용성분들은 사람의 장내에서 혹은 체내로 흡수될 경우 산화방지제의 역할로 작용하여 항산화, 노화방지에도 효과적이다(Boyer and Liu, 2004). 사과의 껍질에 많이 함유된 flavonoid인 quercetin은 노화나 질환에 기인하는 쥐의 뇌신경세포 파괴를 막는 작용을 하여 퇴행성 뇌질환인 알츠하이머형 치매나 파킨슨병을 예방하는 효과가 있음이 보고되었다(Davey and Keulemans, 2009; Kalinowska et al., 2014). 또한, 사과 과육에는 거의 없고 껍질에 다량 함유된 ursolic acid는 pentacyclic triterpenoid로써 염증억제 효과, 항균력, 혈관 신생 억제효과, 심혈관 질환에 대한 효과 등이 있는 것으로 알려졌다(Cargnin and Gnoatto, 2017).

과실의 품종에 따라 유용성분의 종류와 그 함량이 다르며, 산화 방지효과, 및 기능성에도 차이를 나타낸다는 다수의 보고에도 불구하고(Yim et al., 2016), 소비형태에 맞추어 개발되어 지는 신육성품종 사과들의 유용성분의 함량과 항산화 효과와 같은 기능성 검증에 관한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 신육성 되어 재배되고 있는 품종인 썸머프린스 사과의 유용성분인 total phenolic content(TPC)와 항산화 효과, 생리활성에 영향을 미치는 효소에 대한 경향을 확인하여 기능성 소재로의 활용성을 탐색하였다.

재료 및 방법

시험 재료

시험 재료는 국립원예원에서 2014년 우리나라 사과의 육성 교배조합으로 쓰가루 품종(모본)과 OBIR2T47 품종(부분)을

이용하여 교배하여 육성한 신육성품종인 썸머프린스(Summer Prince) 사과(*Malus domestica* Borkh.)를 사용하였다. 시료는 사과연구소의 실습 포장에서 재배되고 있는 썸머프린스 사과나무로부터 과피색은 홍색, 바탕색은 녹색인 성숙된 사과를 8월 6일에 수확한 후 이물질을 제거하고 whole 사과와 과육을 제외한 껍질(peel)을 대상으로 실험하였다. 시료 제조에 사용한 썸머프린스 사과의 사과 1개당 무게의 평균은 232g이며, 평균 수분 함유량은 84.5%이다. 이에 따라 동결건조한 사과 1개당 수분을 제외한 whole 사과와 껍질의 무게는 각각 35.9g, 3.5g이다. 이와 같은 사과 시료의 특성을 고려하여 Whole 사과 시료는 껍질과 과육이 포함된 상태로 1cm 두께로 슬라이스하여 슬라이스 형태로 동결건조(freeze dryer, FD8518, Ilshinbiobase, Yangju, Korea)하였다. 껍질 시료는 사과의 껍질과 과육을 분리하기 위해 얇게 벗겨낸 후 동결건조하여 수분이 제거된 상태에서 한번 더 과육을 분리하였다. 동결건조한 whole 사과와 껍질 시료는 수분이 제거된 상태로 분쇄하여 40 mesh 체에 걸러준 후 4°C 저온고에 보관하며 시료로 사용하였다.

썸머프린스 사과로부터 phenolic 성분 추출물 제조

사과의 기능적 특성 분석을 위한 phenolic 성분이 함유된 추출물을 제조하기 위해 열수 추출물은 동결건조한 썸머프린스 사과의 분말[whole apple power(2.8% / 1pcs. apple), apple peel power(28.6% / 1pcs. apple)] 1g을 각각 증류수 200mL에 넣고 추출물을 가열교반기에서 100°C로 가열하여 용액의 양이 100mL가 될 때까지 가열, 증발시켜 냉각하고 실온으로 설정된 shaking incubator에서 24시간 교반하며 추출하였으며, ethanol 추출물의 경우에는 동결건조한 썸머프린스 사과 분말 1g을 10-100% 농도의 ethanol 100mL에 각각 첨가하여 shaking incubator에서 24시간 동안 교반하며 추출하였다. 추출물은 whatman No. 1 filter paper(Whatman Inc., Piscataway, New Jersey, USA)를 사용하여 여과하고 필요에 따라 rotary evaporator(Rotavapor R-200, Buchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland)에서 농축하여 농축된 시료 추출물을 4°C 냉장고에서 저온 보관하며, 시료의 TPC 농도를 각각 25, 50, 75, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 또는 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ phenolics 농도로 조절하여 기능성 분석 실험에 사용하였다.

TPC 측정

TPC는 Folin과 Denis의 방법(Folin and Denis, 1912)에 준하여 측정하였으며, 추출물 1mL에 95% ethanol 1mL, 증류수 5mL를 순서대로 첨가하고 1 N Folin-Ciocalteu reagent 0.5mL를 넣어 vortex하여 잘 섞어준 후 Na_2CO_3 1mL를 가하여 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea) 725nm에서 1시간 이내에 측정하였다. TPC는 gallic acid를 이용한 표준곡선으로부터 양을 환산하여 함량을 계산하였다.

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) Radical 소거능 측정

DPPH radical 소거능은 Blois의 방법(Blois, 1958)에 준하여 측정하였으며, 추출물 시료 0.5mL와 3mL의 60 μM DPPH를 넣고 vortex하고 실온에서 15분 동안 시약 반응을 시킨 다음 후 517nm에서 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)를 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 butylated hydroxytoluene(BHT)을 사용하였다. 항산화 효과(%)는 $(1 - \text{시료의 absorbance} / \text{대조구의 absorbance}) \times 100$ 으로 계산하였다.

2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) Radical 소거능 측정

ABTS radical 소거능은 Pellegrini 등의 방법(Pellegrini et al., 1998)에 준하여 측정하였으며, 추출물 시료 7mM ABTS와 140mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 을 5mL : 88 μL 비율로 섞어주고 어두운 곳에 12-16시간동안 보관하였다. 이를 50% ethanol과 1:88 비율로 혼합하여 734nm에서 대조군의 측정 값이 0.7 ± 0.02 가 되도록 시약을 조절하여 ABTS solution으로 사용하였다. 시료용액

50 μ L와 ABTS solution 1mL를 vortex로 섞고 시약반응이 변하기 전에 734nm에서 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)를 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 BHT를 사용하였다.

Anti-Oxidant Protection Factor(PF) 측정

PF는 Andarwulan과 Shetty의 방법(Andarwulan and Shetty, 1999)에 준하여 측정하였으며, β -carotene 10mg을 chloroform 50mL에 녹인 용액 1mL를 실험량에 맞게 조절하여 evaporator용 수기에 넣고 40 - 45°C water bath에서 chloroform을 증류시켰다. 그 다음 linoleic acid 20 μ L, tween 40 184 μ L과 H₂O₂ 50mL를 넣고 실험에 사용할 emulsion을 만들었으며, emulsion 5mL와 추출물 100 μ L를 vortex로 섞고 50°C의 water bath에서 30분간 반응 후 470nm에서 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)를 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 BHT를 사용하였다.

Thiobarbituric Acid Reactive Substances(TBARs) 저해 효과 측정

TBARs 저해 효과는 Buege와 Aust의 방법(Buege and Aust, 1978)에 준하여 측정하였으며, 1% linoleic acid와 1% Tween 40으로 제조한 emulsion 0.8mL와 추출물 0.2mL를 섞은 후 50°C water bath에서 10시간 이상 반응시켰다. 반응액 1mL에 regent 2mL를 가하고 15분간 boiling한 다음 10분간 냉각시키고, 15분간 2,000rpm으로 원심분리하여 실온에서 10분간 방치 후 상등액을 532nm에서 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)를 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 BHT를 사용하였다.

Hyaluronidase(HAase) 저해 효과 측정

HAase 저해 효과는 Dorfman와 Ott의 방법(Dorfman and Ott, 1948)에 준하여 측정하였으며, sodium hyaluronic acid (HA)로부터 형성된 N-acetyl-glucosamine을 glucoxazoline 유도체로 변형시킨 후 ρ -dimethyl-aminobenzaldehyde (DMAB)로 발색시켜 600nm에서 투과율(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)을 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 tannic acid를 사용하였다. 저해율(%)은 $(1 - \text{시료의 투과율} / \text{대조구의 투과율}) \times 100$ 으로 계산하였다.

Astringent 효과 측정

Astringent 효과는 Lee 등의 방법(Lee et al., 2002)에 준하여 측정하였다. 피부 단백질과 유사한 혈액 단백질인 hemoglobin을 실험에 사용하였으며, 원심분리관 용기에 시료 추출물과 헤모글로빈 용액(Sigma Aldrich Co., St Louis, MO, USA)을 1m씩 넣고 vortex한 다음 원심분리기로 2,000rpm, 20분 동안 응고된 혈액 단백질을 가라앉히고 576nm에서 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)를 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 tannic acid를 사용하였다. Astringent 효과(%)는 $(1 - \text{시료의 absorbance} / \text{대조구의 absorbance}) \times 100$ 으로 계산하였다.

Elastase, Collagenase 저해 효과 측정

Elastase 저해 효과는 Kraunsoe 등의 방법(Kraunsoe et al., 1996)에 준하여 측정하였으며, 0.2M Tris-HCl buffer(pH 8.0) 1mL에 기질액 0.8mM N-succinyl-(Ala)³- ρ -nitroanilide 용액 0.1mL의 혼합액에 1.0U/mL porcine pancreatic elastase (Sigma Aldrich Co., St Louis, MO, USA) 효소용액 0.1mL와 추출물 0.1mL를 넣고 대조구에는 시료 대신 증류수 0.1mL를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시킨 후 ρ -nitroaniline 생성량을 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea) 410nm에서 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 ursolic acid를 사용하였다. 저해율(%)은 $(1 - \text{시료의 absorbance} / \text{대조구의 absorbance}) \times 100$ 으로 계산하였다.

Collagenase 저해 효과는 Wunsch와 Heidrich의 방법(Wunsch and Heidrich, 1963)에 준하여 측정하였으며, 0.1M Tris-HCl buffer(pH 7.5)에 4mM CaCl₂를 첨가하여 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg(0.3mg·mL⁻¹)를 녹인 기질액 0.25mL와 추출물 0.1mL의 혼합액에 0.2mg·mL⁻¹ collagenase(Sigma Aldrich Co., St Louis, MO, USA) 0.15mL를 첨가하여 실온에서 20분간 반응시킨 후 종료시약 6% citric acid 0.5mL를 넣어 반응을 정지시킨 다음, ethyl acetate 2mL를 첨가하고 320nm에서 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)를 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 epigallocatechin gallate(EGCG)를 사용하였다. 저해율(%)은 $(1 - \text{시료의 absorbance} / \text{대조구의 absorbance}) \times 100$ 으로 계산하였다.

Tyrosinase(TYR) 저해 효과 측정

TYR 저해 효과는 Vincent와 Hearing의 방법(Vincent and Hearing, 1987)에 준하여 측정하였다. 추출물 0.2mL와 0.1M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 2.3mL, 1.5mM L-tyrosine 농도의 기질 0.4mL를 섞어주고, mushroom TYR(250U/mL, Sigma Aldrich Co., St Louis, MO, USA) 0.1mL를 넣고 37°C의 water bath에서 20분 동안 시약반응을 시킨 후 475nm의 파장에서 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)를 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 kojic acid를 사용하였다. 저해율(%)은 $(1 - \text{시료의 absorbance} / \text{대조구의 absorbance}) \times 100$ 으로 계산하였다.

Xanthine Oxidase(XOase) 저해 효과 측정

XOase 저해 효과는 Stirpe와 Corte의 방법(Stirpe and della Corte, 1969)에 준하여 측정하였으며, 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 녹인 기질 2mM xanthine 3mL에 XOase(0.05U/0.1mL) 0.1mL와 추출물 0.3mL를 넣고 섞어준 후 대조구에는 추출물 대신 증류수를 0.3mL 첨가하여 37°C에서 5분간 시약반응을 시키고 20% TCA 1mL을 넣어 시약반응을 종료시켰다. 단백질을 제거하기 위해 반응액을 원심분리하여 생성된 uric acid를 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea) 292nm에서 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 Allopurinol을 사용하였다. 저해율(%)은 $(1 - \text{시료의 uric acid 함량} / \text{대조구의 uric acid 함량}) \times 100$ 으로 계산하였다.

α -Amylase 및 α -glucosidase 저해 효과 측정

Pancreatin α -amylase 저해 효과는 agar diffusion 방법(Davidson and Parish, 1989)에 준하여 측정하였으며, plate는 1%의 agar와 soluble starch를 증류수에 녹여 끓인 후, 121°C로 15분간 autoclave에서 배지와 기구를 멸균한 후 15mL씩 petridish에 붓고 굳혀서 배지로 사용하였다. 배지 plate 중간에 지름 10mm disc paper를 올린 후 추출물 0.8mL와 효소액 0.2mL(1,000U·mL⁻¹)를 혼합해 disc paper에 각각 분주하고 대조구에는 추출물 대신 증류수를 넣어 37°C incubator에서 3일간 배양한 후 I₂/KI(5mM I₂ in 3% KI) 3 - 5mL를 가하여 15분간 발색시킨 후 생성된 clear zone을 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 acarbose를 사용하였다. 저해율(%)은 $(1 - \text{시료의 Area} / \text{대조구의 Area}) \times 100$ 으로 계산하였다. α -Glucosidase 저해 효과는 Tibbot과 Skadsen의 방법(Tibbot and Skadsen, 1996)에 준하여 측정하였으며, 50mM sodium succinate buffer(pH 6.8)에 ρ -nitrophenol- α -D-glucopyranoside를 용해시켜 1mg·mL⁻¹의 농도로 기질을 만들고, 기질 1mL와 효소액 0.1mL를 섞어주고 대조구에는 증류수 0.1mL, 반응구에는 추출물 0.1mL를 넣어 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1N NaOH 0.1mL를 첨가하여 발색시켜 400nm에서 흡광도(Optizen 3,220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)를 측정하였으며, 실험에 대한 positive control은 EGCG를 사용하였다. 저해율(%)은 $(1 - \text{시료의 absorbance} / \text{대조구의 absorbance}) \times 100$ 으로 계산하였다.

통계 분석

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하였으며, 자료의 통계처리는 SPSS 25 for windows(Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균±표준편차(mean ± standard deviation)로 표시하였고, 분산분석 Duncan’s multiple range test, one-way ANOVA를 실시하여 시료 간의 유의차를 $p < 0.05$ 수준으로 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

썸머프린스 사과 껍질과 whole 추출물의 ethanol 농도별 추출 수율 비교

폴리페놀은 자연계에 존재하는 과일이나 야채 등의 식물체에 다량 함유되어 있으며, 항산화 효과, 피부 미용, 질병을 예방하는 기능성 물질로 알려져 있다(Ignat et al., 2011; Gulcin, 2012). 폴리페놀은 크게 페놀릭 एस이드(phenolic acid), 플라보노이드(flavonoid), 리그난(lignan), 및 스틸벤(stilbene)으로 분류되고 있다(Choi and Shin, 2016). 폴리페놀은 주로 항산화 활성과 같은 기능성을 띠는데 이는 화학적으로 폴리페놀의 분자 내에 전자 풍부하여 hydrogen donating이 발생하여도 안정한 분자 구조를 이루기 때문이다(Seyoum et al., 2006). 식물성 천연물의 추출물에는 탄수화물, 단백질, 폴리페놀 등 여러 가지 물질이 함유되어 있다. 추출물에 함유된 기능성 유용성분인 폴리페놀을 측정하는데 주로 사용되는 방법으로서 standard 물질로 gallic acid를 사용하여 추출물 내의 gallic acid의 함량을 비색법으로 측정하는 방법이 있다.

신육성품종 썸머프린스 사과의 껍질과 whole 추출물의 ethanol 농도별 TPC를 측정한 결과 Fig. 1과 Table 1에서와 같이 사과 껍질의 농도별 ethanol 추출물은 ethanol 농도 50 - 70%에서 유사한 수치를 나타내었으나, 60% ethanol 추출물에서

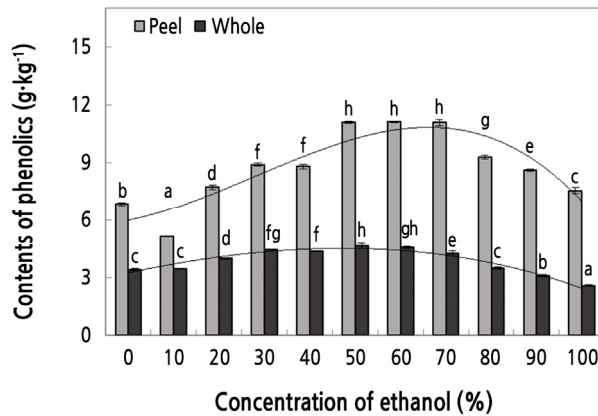


Fig. 1. TPC in peel and whole extracts from ‘Summer Prince’ apples. Each value represents the mean of three replications ± standard deviation. Means with different letters (a-h) are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan’s multiple range tests.

Table 1. TPC in the peel and whole flesh of ‘Summer Prince’ apples extracted by various ethanol concentrations

Source ^z	Concentration of ethanol (%)										
	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
TPC (g·kg ⁻¹)											
SP	6.83±0.07b ^x	5.12±0.02a	7.72±0.11d	8.91±0.08f	8.79±0.13f	11.10±0.06h	11.11±0.01h	11.07±0.15h	9.29±0.09g	8.60±0.07e	7.54±0.15c
SW	3.41±0.06c	3.46±0.03c	3.99±0.04d	4.47±0.01fg	4.36±0.01f	4.65±0.13h	4.56±0.06gh	4.24±0.13e	3.48±0.05c	3.09±0.06b	2.59±0.03a

^zSP: ‘Summer Prince’ apple peel, SW: ‘Summer Prince’ whole apple.

^yEach value represents the mean of three replications ± standard deviation.

^xMeans with different letters (a – h) are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan’s multiple range tests.

가장 높은 추출 수율인 $11.11\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 을 나타내었다. 또한 whole 사과 농도별 ethanol 추출물은 ethanol 농도 30 - 70%에서 유사한 수치를 나타내었으나, 50% ethanol 추출물에서 가장 높은 추출 수율인 $4.65\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 을 나타내었다. Lee et al.(2018b)이 보고한 바에 따르면 신육성품종 그린볼 사과의 껍질 ethanol 추출물에서 $8.31\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, whole 사과 ethanol 추출물은 $3.49\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 의 추출 수율을 나타내었다고 보고하여 썸머프린스 사과 껍질과 whole 사과의 TPC가 더 많은 것을 확인하였다. 특히 phenol성 물질의 함량은 에탄올 추출물의 농도에 따라 높아지는 경향을 나타내거나 추출 용매의 종류에 따라 다르게 용출된다는 Lee et al.(2017)은 생리활성에 관여하는 phenol성 물질이 에탄올 추출물에서 더 높게 용출되었으며, 이에 따라 기능성 효과의 증가하였다고 보고하여 에탄올 추출물에 대한 효과를 기대할 수 있다고 판단하였다. 또한 위의 결과에 따라 썸머프린스 사과 1 개당 함유된 TPC는 whole 사과 시료에서는 166.9mg 이며, 껍질 시료에서는 38.9mg 이 함유된 것으로 조사되었다. 따라서 최적 추출수율 조건을 설정하여 높은 추출 수율을 이용해 기능성 연구 및 평가에 적용하기 위하여 썸머프린스 사과의 껍질과 whole의 water와 60, 50% ethanol을 각각의 추출 용매로 사용하여 추출물을 제조하였다. 위의 결과에 따라 설정한 추출물의 조건을 실험의 재현성을 위해 water, 60, 50% ethanol로 추출한 후 TPC 농도를 $25 - 200\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($0.03 - 0.1198\% / 1\text{pcs}$. Whole apple, $0.1285 - 0.5141\% / 1\text{pcs}$. Apple peel)으로 농도별로 조절하여 항산화 효과, 및 기능성 연구를 검증하였다.

항산화 효과

사람의 인체 내에서 발생하는 reactive oxygen species(ROS) 또는 reactive nitrogen species(RNS)로부터 유발된 활성 산소에 의해 세포 손상이 발생하는 과정을 지연 또는 방어하는 물질을 항산화 물질이라고 한다(Thanan et al., 2014; Tharmalingam et al., 2017). ROS나 RNS로부터 세포를 보호하기 위하여 체내에서도 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase(GPX), glutathione reductase(GRD), catalase(CAT), albumin, uric acid, bilirubin, metallothioneins 등이 분비되며, 이를 내재성(endogenous) 항산화 물질이라고 한다(Li et al., 2015). 하지만 내재성 항산화 물질만으로는 ROS와 RNS를 모두 소거할 수 없으므로 vitamins, carotin, 폴리페놀 등의 외재성(exogenous) 항산화 물질의 섭취가 중요한 요소이다. ROS와 RNS의 함량이 항산화 물질보다 높아지면 산화적 스트레스가 발생해 세포가 파괴되어 암, 염증, 노화 등과 같은 질병이 발생하게 된다. 따라서 ROS와 RNS를 소거시키는 것이 가장 중요하며, 외재성 항산화 물질의 섭취는 필수적이다(Kim et al., 2011; Lin et al., 2021). 썸머프린스 사과 추출물의 항산화 효과를 평가하기 위해 수용성 항산화 실험의 지표인 DPPH와 ABTS radical 소거능과 지용성 항산화 효과를 나타내는 실험인 anti-oxidant PF, TBARs를 측정하였다. 실험에 사용한 시료에 대한 대조군으로는 합성 항산화제로 널리 알려진 BHT를 사용하여 시료와 효능을 비교하였다. DPPH radical 소거능을 측정한 결과 Fig. 2A, 2B에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water, ethanol 추출물의 $25 - 100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ TPC 농도에서 각각 $82.28 - 85.77$, $83.86 - 85.84\%$ 와 $83.86 - 85.84$, $87.35 - 92.53\%$ 의 radical 소거능을 나타내었다. 썸머프린스 사과의 추출물을 이용하여 ABTS radical 소거능을 측정한 결과 Fig. 2C, 2D에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water, ethanol 추출물의 $25 - 100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ TPC 농도에서 각각 $47.30 - 99.57$, $45.32 - 99.67\%$ 와 $47.59 - 99.61$, $40.95 - 99.61\%$ 의 매우 높은 radical 소거능을 나타내었다. 지용성 항산화능을 나타내는 PF를 측정한 결과 Fig. 3A, 3B에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water, ethanol 추출물의 $25 - 100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ TPC 농도에서 각각 $1.16 - 1.57$, $0.96 - 1.51$ PF와 $1.17 - 1.48$, $1.17 - 1.39$ PF를 나타내어, 썸머프린스 사과 추출물이 우수한 지용성 항산화능을 나타내는 것을 확인하였다. 썸머프린스 사과 추출물을 이용하여 또 다른 지용성 항산화능을 나타내는 TBARs를 측정한 결과 Fig. 3C, 3D에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water, ethanol 추출물에서 각각 $25.86 - 46.66$, $19.53 - 64.27\%$ 와 $43.26 - 52.86$, $2.59 - 44.53\%$ 의 활성을 나타내었다. Kwon et al.(2015)과 Lee et al.(2018a)은 신품종 사과의 우수한 항산화 효과를 보고하였으며, 이와 비교하였을 때 썸머프린스 사과의 효능도 상대적으로 우수하다고 판단되었다. 따라서 신육성품종 썸머프린스 사과는 우수한 항산화 효과를 나타내어 건강기능식품을 위한 기능성 소재로 사용이 가능할 것으로 판단되었다. 특히 DPPH와 ABTS radical 소거능을 측정한 결과는 $50\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC를 함유한 농도에서 저농도이지만, 높은 항산화 활성을 나타내어, 샘플의 소량 첨가만으

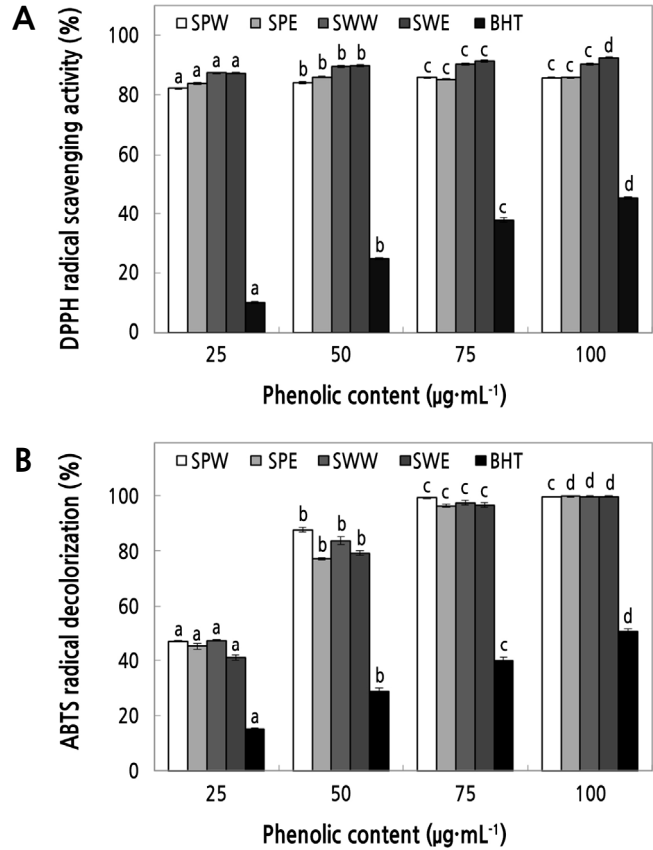


Fig. 2. The DPPH (A) and ABTS (B) inhibitory activities of water and ethanol extracts from whole ‘Summer Prince’ apples and peels. SPW: ‘Summer Prince’ apple peel water extract, SPE: ‘Summer Prince’ apple peel ethanol extract, SWW: ‘Summer Prince’ whole apple water extract, SWE: ‘Summer Prince’ whole apple ethanol extract. Each value represents the mean of three replications \pm standard deviation. Means with different letters (a-h) are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan’s multiple range tests.

로도 매우 우수한 항산화 효과를 기대할 수 있는 장점이 있어 소재의 사용량에 대한 효능의 정보제공 측면에서도 매우 우수한 결과이다. 또한 phenolic 성분의 조절된 농도에 따라 효과가 증가하는 것을 확인함으로써 유용성분의 함량에 따라 항산화력을 증가시키는 것으로 판단되었으며, 이들이 생리활성에 관여하는 것으로 추측하여 생리활성에 관여하는 효소에 대한 억제력 측정을 수행하였다.

염증 유발 효소(HAase) 저해 효과

HA는 피부의 세포외기질단백질에서 elastin, collagen과 같이 피부를 구성하는 주요 성분 중 하나로 자연노화 측면에서 나이가 들수록 감소하며, 피부보습, 주름형성과 피부의 탄력감소에 영향을 미친다(Chung et al., 2001). 피부에 존재하는 HA는 섬유모세포 및 각질형성세포에서 형성되며, 다당류가 접다당질의 구성 성분으로 많이 함유되어 있어 피부 내 수분을 상당량 함유할 수 있는 특징이 있어 일명 수분저장고로 불리며, 피부에 보습 및 수분 증발을 막을 뿐 아니라 세포 간 간격유지, 세포성장인자 및 영양성분의 저장과 확산 또한 세포의 분열과 분화, 이동 등에 관여한다(Guang et al., 2007; Christian and Christoph, 2013). 수분을 자신의 1,000배 가량의 무게와 결합이 가능하여 세포외 기질을 수화시키고 피부장벽 기능을 조절하여 피부조직 내 수분의 항상성을 유지시키는 중요한 인자이다(Harada and Takahashi, 2007). HAase-1과 HAase-2는 HA을 분해하는데 상승 작용을 하는 주요 HAase이다. HAase는 mucopolysaccharide splitting 효소 중의 하나로 glucosamine이

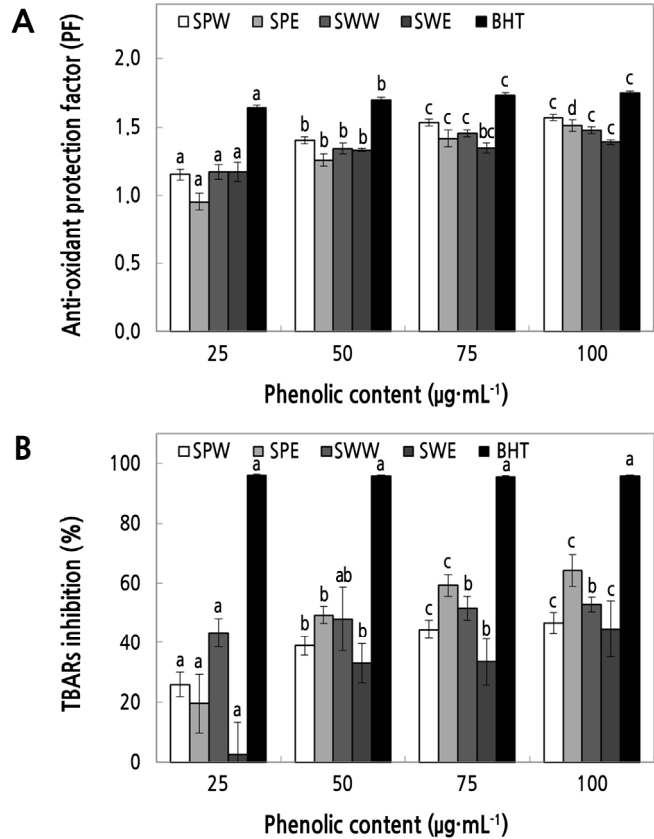


Fig. 3. The anti-oxidant PF (A) and TBARs inhibitory (B) activity of water and ethanol extracts from whole ‘Summer Prince’ apples and peels. SPW: ‘Summer Prince’ apple peel water extract, SPE: ‘Summer Prince’ apple peel ethanol extract, SWW: ‘Summer Prince’ whole apple water extract, SWE: ‘Summer Prince’ whole apple ethanol extract. Each value represents the mean of three replications \pm standard deviation. Means with different letters (a-h) are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan’s multiple range tests.

반복하여 연결된 고분자 다당류인 HA를 분해함으로써 혈관투과성과 염증반응에 관여한다. 알레르기 반응 시에 HAase의 활성이 증가되고 항알레르기 약물에 의해서 그 활성이 억제되므로 HAase 활성 저해와 항알레르기 및 항염증 작용과의 관련성이 인정되고 있다(Meyer, 1947; Ghosh, 1994; Wang et al., 2021).

수분 유지에 관여하는 단백질인 HA 분해와 염증 유발에 관련이 있는 효소인 HAase 저해 효과를 측정된 결과 Fig. 4A, 4B에 서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water 추출물에서는 HAase 저해 효과를 나타내지 않았으며, ethanol 추출물에서는 50 - 200µg·mL⁻¹의 TPC 농도에서 1.42 - 16.53%와 5.44 - 18.32%의 저해효과를 나타내었다. Positive control로 사용한 tannic acid보다는 낮은 억제효과를 나타내었지만, 썸머프린스 사과 추출물의 첨가 농도를 더 높인다면 어느 정도 효과가 발현되리라고 판단되었다.

수렴(astringent) 효과

수렴 작용에는 피부와 점막의 표면에 외용 혹은 내용에 의해서 난용성이 피막을 형성하고 그에 따라 피부를 보호하거나, 혹은 피부 표피, 진피 조직을 더욱 조밀하게 만들어 세포막의 투과성을 감소시키는 효과가 있다. 따라서 피부 단백질은 고분자 flavonoid인 polyphenol과 결합하여 가교결합을 형성하고 피부가 수축되어 피부 모공이 줄어들어 수렴작용을 한다. 본 실험에서는 혈액 단백질인 hemoglobin이 썸머프린스 추출물과 결합하여 단백질이 응고되어 가라앉은 정도를 흡광도로 측정하여

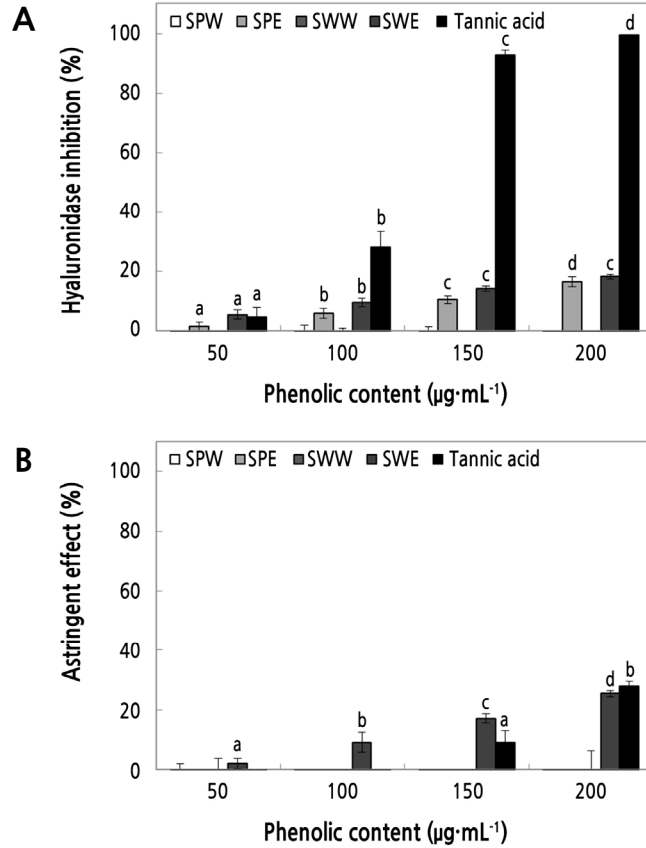


Fig. 4. The HAase (A) inhibition and astringent (B) effect of water and ethanol extracts from whole ‘Summer Prince’ apples and peels. SPW: ‘Summer Prince’ apple peel water extract, SPE: ‘Summer Prince’ apple peel ethanol extract, SWW: ‘Summer Prince’ whole apple water extract, SWE: ‘Summer Prince’ whole apple ethanol extract. Each value represents the mean of three replications \pm standard deviation. Means with different letters (a-h) are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan’s multiple range tests.

수렴 효과의 효능 정도를 판단하였다(Okuda, 1986).

Astringent 효과를 측정된 결과 Fig. 4C, 4D에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water 추출물에서는 astringent 효과를 나타내지 않았으며, ethanol 추출물에서는 whole 사과에서만 50 - 200 µg·mL⁻¹의 TPC 농도에서 1.98 - 25.48%의 효과를 나타내었다. Positive control로 사용한 tannic acid는 피부의 수렴효과가 우수하다고 알려져 있는 물질로서 이와 유사한 효과를 나타내지 못했지만, 썸머프린스 추출물이 피부 혈액 단백질인 헤모글로빈의 응고를 통해 수렴 효과를 나타내어 기능성 소재에 대한 기초자료로 활용할 가능성을 확인하였다.

피부 주름 유발 효소(elastase, collagenase) 저해 효과

피부 노화 방지를 위한 기능성 화장품 산업에서 연구가 가장 활발하게 진행되고 있다. 피부가 노화하는 데 내인성 노화와 외인성 노화로 나뉘는데 외인성 노화에 가장 큰 영향을 미치는 요인 중 하나로 자외선을 꼽을 수 있으며(Yaar and Gilchrist, 2007; Won et al., 2012) 자외선으로 유도된 reactive oxygen species(ROS, 활성산소종)은 피부의 노화와 직접적인 관련이 있으며, 광산화적 손상을 일으켜 세포막을 이루고 있는 인지질을 산화시켜 collagenase와 elastase 효소의 발현을 촉진시켜 collagen 및 elastin 섬유 등을 분해시킨다. 결국 자외선 및 ROS에 의한 DNA 염기의 산화 및 사슬 절단 등을 통하여 피부 구조 단백질인 collagen과 구성단백질인 elastin이 분해되어 정상적인 물리적 피부 구조를 유지하지 못하면 피부는 탄력을 유지하

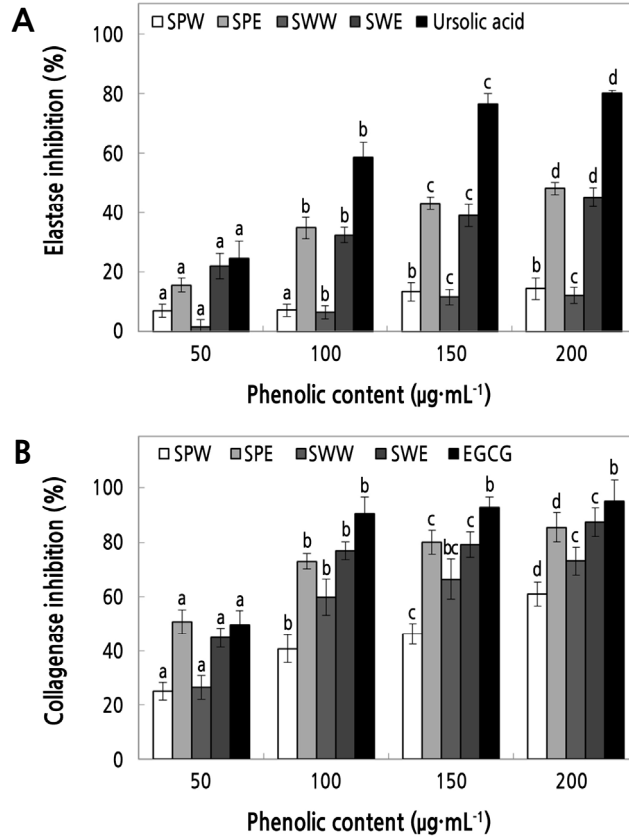


Fig. 5. The elastase (A) and collagenase (B) inhibition activity of water and ethanol extracts from whole ‘Summer Prince’ apples and peels. SPW: ‘Summer Prince’ apple peel water extract, SPE: ‘Summer Prince’ apple peel ethanol extract, SWW: ‘Summer Prince’ whole apple water extract, SWE: ‘Summer Prince’ whole apple ethanol extract. Each value represents the mean of three replications \pm standard deviation. Means with different letters (a-h) are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan’s multiple range tests.

지 못하게 되어 결과적으로 주름이 생기게 되고 피부노화를 가속화시킨다(Pillai et al., 2005).

피부의 탄력과 노화 방지 역할을 하고 있는 피부 단백질인 collagen 및 elastin 단백질을 분해하는데 관련이 있는 효소인 elastase 저해 효과를 측정한 결과 Fig. 5A, 5B에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water 추출물에서는 50 – 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 6.97 – 14.39%와 1.57 – 12.13%의 저해효과를 나타내었으며, ethanol 추출물에서는 50 – 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 15.54 – 48.27%와 21.89 – 45.28%의 저해효과를 나타내었다. Positive control로 사용한 ursolic acid보다는 낮은 억제효과를 나타내었지만, 우수한 elastase 효소 저해를 나타내었다. Collagenase 저해 효과를 측정한 결과 Fig. 5C, 5D에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water 추출물에서는 50 – 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 25.00 – 61.08%와 26.54 – 73.26%의 저해효과를 나타내었으며, ethanol 추출물에서는 50 – 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 50.91 – 85.63%와 44.85 – 87.51%의 저해효과를 나타내었다. Positive control로 사용한 EGCG는 시중에서 주름개선 기능성 소재로 사용되고 있는 물질인데, 이와 유사한 저해 효과를 나타내어 썸머프린스 추출물의 기능성을 확인할 수 있었다.

피부 멜라닌 생성 효소(TYR)와 통풍 유발 효소(XOase) 저해 효과

TYR에 의해 활성화된 melanocyte에서는 TYR 합성이 촉진되고 melanin의 생성이 인지되어 이를 keratinocyte 또는 표피 밖으로 운반하여 기미, 주근깨와 같은 색소 침착이 일어나게 된다. 따라서 TYR 활성을 저해하는 억제제는 피부 내에서의

Table 2. Inhibition activity of water and ethanol extracts from ‘Summer Prince’ apple peel and whole samples on TYR and XOase

TPC ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	TYR inhibition (%)					XOase inhibition (%)				
	SPW ^y	SPE	SWW	SWE	Kojic acid	SPW	SPE	SWW	SWE	Allopurinol
50	– ^z	–	–	0.05 ± 3.13 ^{x,w}	44.42 ± 1.56 a	9.83 ± 3.95 b	–	–	12.00 ± 2.24 b	70.80 ± 3.13 a
100	–	–	–	–	64.93 ± 2.05 b	1.34 ± 4.39 a	–	–	5.49 ± 2.57 a	80.90 ± 3.79 b
150	–	–	–	–	80.18 ± 2.60 c	–	–	–	–	80.21 ± 3.76 b
200	–	–	–	–	87.94 ± 1.85 d	–	–	–	–	82.56 ± 3.00 b

^zNot detected.

^ySPW: ‘Summer Prince’ apple peel water extract, SPE: ‘Summer Prince’ apple peel ethanol extract, SWW: ‘Summer Prince’ apple whole water extract, SWE: ‘Summer Prince’ apple whole ethanol extract.

^xEach value represents the mean of three replications ± standard deviation.

^wMeans with different letters (a – d) are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan’s multiple range tests.

melanin polymer 합성을 효과적으로 저해하여 피부색을 밝게 하는 미백제의 개발에 있어서 TYR 효소 저해 실험은 유용한 평가법으로 인정되고 있다(Imokawa and Mishima, 1980; Imokawa and Mishima, 1981). 썸머프린스 사과 껍질과 whole 추출물로 TYR 저해 효과를 측정된 결과 Table 2에서와 같이 효과를 나타내지 않았다.

XOase 저해 효과를 측정된 결과 Table 2에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질에서는 water 추출물에서만 $50\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 9.83%의 저해 효과를 나타내었으며, 썸머프린스 사과 whole에서는 ethanol 추출물에서만 $50\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 12.00%의 저해 효과를 나타내어 통풍 유발에 관여하는 효소인 XOase의 억제력을 확인하였다. 또한 유용성분을 함유한 기능성 소재로 개발하기 위해 추출물의 농도를 조절하여 고농도로 제조한다면 더 우수한 기능성을 나타낼 것으로 판단되었다.

당뇨 유발 효소(α -amylase, α -glucosidase) 저해 효과

α -Amylase는 탄수화물인 전분이나 글리코겐 등의 α -D-(1,4)-glucan 결합을 분해하는 효소로 침샘과 췌장에서 분비된다. 이 효소는 탄수화물을 분해하여 포도당, 맥아당, maltotriose 및 텍스트린 등의 가수분해 산물을 생성한다. 이렇게 분해된 물질은 α -glucosidase의 작용에 의해 체내로 흡수되기 쉬운 단당류 형태의 포도당으로 분해되어 이를 생명체는 에너지원으로 이용하여 생명을 유지할 수 있다(Kim et al., 2008). 그러나 장내의 α -amylase나 α -glucosidase 등의 효소 활성이 크게 높아지게 되면 흡수한 탄수화물이 빠르게 소화되면서 체내의 혈당이 급격하게 상승하게 되면서 당뇨와 비만 등 질병의 유발 가능성이 높아지게 된다. 따라서 이러한 질병의 예방을 위해 탄수화물 가수분해의 중요 효소인 α -amylase와 α -glucosidase의 장내 활성을 제어해야 한다(Lee et al., 2010).

α -Amylase 저해 효과를 측정된 결과 Fig. 6A, 6B에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water 추출물에서는 50 – $200\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 1.18–2.85%와 3.02–4.25%의 저해효과를 나타내었으며, ethanol 추출물에서는 50 – $200\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 2.73–4.14%와 0.64–4.13%의 저해효과를 나타내었다. α -Glucosidase 저해 효과를 측정된 결과 Fig. 6C, 6D에서와 같이 썸머프린스 사과 껍질과 whole의 water 추출물에서는 50 – $200\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 3.34–6.11%와 2.35–62.26%의 저해효과를 나타내었으며, ethanol 추출물에서는 50 – $200\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 TPC 농도에서 74.79–100%와 71.35–98.29%의 저해효과를 나타내었다. Positive control로 사용한 acarbose는 시중에서 당뇨병의 치료제로 사용되고 있는 물질이며, α -glucosidase 저해 효과에서는 positive control인 EGCG보다 우수한 효능을 나타내었으며, 효소에 대한 억제력이 100%와 98.29%로 당뇨 유발에 영향을 미치는 효소의 억제제로 사용하기에 충분하다고 판단되어 고부가가치를 지니는 소재로 개발될 기초자료로 활용될 것으로 판단되었다.

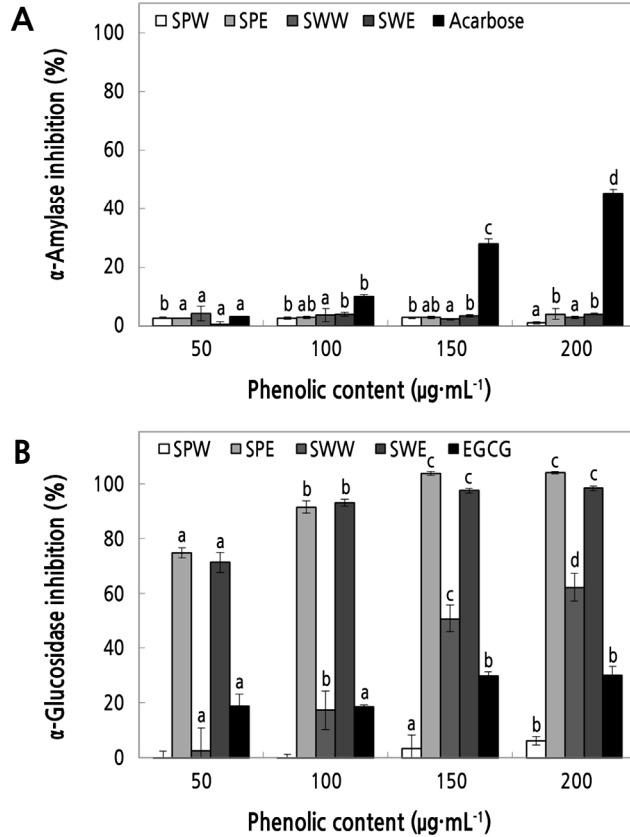


Fig. 6. The α -amylase (A) and α -glucosidase (B) inhibition activity of water and ethanol extracts from whole ‘Summer Prince’ apples and peels. SPW: ‘Summer Prince’ apple peel water extract, SPE: ‘Summer Prince’ apple peel ethanol extract, SWW: ‘Summer Prince’ whole apple water extract, SWE: ‘Summer Prince’ whole apple ethanol extract. Each value represents the mean of three replications \pm standard deviation. Means with different letters (a-h) are significantly different at $p < 0.05$ based on Duncan’s multiple range tests.

결론

본 연구에서는 신육성된 품종인 썸머프린스 사과외 껍질과 whole 사과 추출물 각각의 TPC, 수용성 지용성 항산화 효과 측정 에 대한 활성, 생리활성에 관여하는 효소의 억제력을 확인하였다. 실험 결과, 껍질과 whole 사과의 ethanol 농도에 따라 용출된 phenolic 성분의 함량에 차이를 나타내었다. 따라서 조절된 TPC 농도에 따라 항산화 효과와 생리활성 효소 저해 효과에서 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위해 농도를 다양하게 조절하여 측정된 결과, 항산화 효과 측정에서 껍질과 whole 사과의 water, ethanol 추출물 모두 우수한 수용성, 지용성 항산화 효과를 나타내었으며, 수용성 항산화 효과에서는 실험의 대조군 물질로 사용한 BHT보다도 높은 활성을 나타내어 산화 방지효과를 가지는 원료로 사용 가능성을 확인한 후 생리활성에 영향을 미치는 효소의 억제력에서는 어떠한 효과를 나타내는지 확인해보았다. XOase와 TYR에 대한 저해효과는 크게 나타내지는 않았지만, 염증 유발과 피부 보습효과를 가지는 HA를 분해하는 효소인 HAase 저해효과에서는 껍질과 whole의 ethanol 추출물에서 효능을 나타내었고, 피부 단백질을 결합시켜 모공수축 효과를 나타내는 astringent 효과에서는 whole의 ethanol 추출물에서 효과를 나타내었다. 또한 피부 구성 단백질인 elastin과 피부 골격 역할을 하는 섬유다발인 collagen을 분해하여 주름생성을 유발하는 효소인 elastase, collagenase 저해 효과 측정에서는 추출물 모두 농도의존적으로 매우 높은 억제 활성을 나타내었으며, 탄수화물을 분해하여 혈당을 농도 조절에 관여하는 효소인 α -glucosidase 저해 효과에서도 썸머프린스 사과외 껍질

과 whole ethanol 추출물에서 실험의 대조군으로 사용한 물질인 EGCG보다 2배가 넘는 억제력을 확인하였다. 위와 같이 썸머프린스 사과의 기능성을 확인함에 따라 신육성품종 사과의 우수성과 고부가가치를 가지는 기능성 소재로서의 가치를 확인하였다.

초 록

본 연구에서는 국내에서 새롭게 육성한 썸머프린스 사과 품종을 소재로 선정하고, 유용성분인 페놀 함량을 측정하여 항산화 효과와 기능성을 확인하였다. 썸머프린스 사과의 껍질과 whole 사과는 물과 에탄올을 이용하여 추출하였으며, 추출물은 각각 6.83, 11.11g·kg⁻¹, 3.41, 4.65g·kg⁻¹에서 상대적으로 높은 수준의 페놀 함량을 나타내었다. 껍질과 whole의 에탄올 농도별 추출물에서는 각각 60, 50% 농도에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, 항산화 활성은 DPPH, ABTS, PF와 TBARs로 측정하였다. 썸머프린스 껍질과 whole 추출물 모두 우수한 효과를 나타내었으며, 수용성 항산화 효과를 나타내는 실험인 DPPH와 ABTS는 대조군인 BHT보다 우수한 효과를 보였다. 따라서 ‘썸머프린스’ 사과 추출물은 노화 방지 효과를 가진다는 것을 확인하였다. Astringent 효과, 그리고 TYR, elastase, collagenase의 저해 효과를 통해 썸머프린스 사과가 피부 노화 방지에 대한 효능이 있다고 판단되었다. α -Glucosidase와 α -amylase 억제제는 당뇨병 환자의 식후 고혈당증을 조절하기 때문에 썸머프린스 사과의 효능을 확인하기 위해 측정하였으며, HAase와 XOase 억제제는 피부를 보호하고 노화를 방지하는 중요한 요소이기 때문에 페놀 함량을 50–200 μ g·mL⁻¹로 조절하여 측정된 결과, 농도의존적으로 생리활성에 관여하는 효소들을 억제하였다. 위의 결과에 따라 썸머프린스 사과가 항산화 효과, 항염증, 주름개선, 항당뇨 등 다양한 기능성을 가지는 것을 확인하여 기능성 식품 및 화장품 소재로 사용가능성을 확인하였다.

추가 주요어 : 항당뇨, 항염증, 항산화, 주름개선, 페놀성 화합물, 썸머프린스 사과

Literature Cited

- Andarwulan N, Shetty K (1999) Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and *agrobacterium*-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J Agric Food Chem* 47:1776-1780. doi:10.1021/jf981214r
- Ban SH, Yun WH, Kim GH, Kwon SI, Choi C (2014) Genetic identification of apple cultivars bred in Korea using simple sequence repeat markers. *Hortic Environ Biotechnol* 55:531-539. doi:10.1007/s13580-014-0017-6
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 181:1199-1200. doi:10.1038/1811199a0
- Boyer J, Liu RH (2004) Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutr J* 3:5. doi:10.1186/1475-2891-3-5
- Buege JA, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol* 52:302-310. doi:10.1016/S0076-6879(78)52032-6
- Cargnin ST, Gnoatto SB (2017) Ursolic acid from apple pomace and traditional plants: A valuable triterpenoid with functional properties. *Food Chem* 220:477-489. doi:10.1016/j.foodchem.2016.10.029
- Choi IT, Shim KM, Kim YS, Jung MP, Yun KD, Kim SH (2015) Predicting Harvest Maturity of the ‘Fuji’ Apple at the Gunwi Province of the South Korea using DTS Phenology Model. *Journal of Environmental Science International* 24:1547-1550. doi:10.5322/JESI.2015.24.11.1547
- Choi MH, Shin HJ (2016) Anti-melanogenesis effect of quercetin. *Cosmetics* 3:18. doi:10.3390/cosmetics3020018
- Christian O, Christoph VS (2013) The role of photolabile dermal nitric oxide derivatives in ultraviolet radiation (UVR)-induced cell death. *Int J Mol Sci* 14:191-204. doi:10.3390/ijms14010191
- Chung JH, Seo JY, Choi HR, Lee MK, Youn CS, Rhie G, Cho KH, Kim KH, Park KC, et al. (2001) Modulation of skin collagen metabolism in aged and photoaged human skin *in vivo*. *J Invest Dermatol* 117:1218-1224. doi:10.1046/j.0022-202x.2001.01544.x
- Davey MW, Keulemans J (2009) Nutritional enhancement in apple: Identification of QTLs for fruit vitamin C content and their stability over different production years. *Acta Hort* 814:591-598. doi:10.17660/ActaHortic.2009.814.100
- Davidson PM, Parish ME (1989) Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol* 43:148-155
- Dorfman A, Ott ML (1948) A turbidimetric method for the assay of hyaluronidase. *J Biol Chem* 172:367-375
- Folin O, Denis W (1912) On phoshotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12:239-243. doi:10.1016/S00

21-9258(18)88697-5

- Ghosh P** (1994) The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluid. *Clin Exp Rheumatol* 12:75-82
- Guang D, Till F, Petra Z, Ariane M, Susanne G, Berit R, Jens G, So T, Helmut H, et al.** (2007) Chronic ultraviolet B irradiation causes loss of hyaluronic acid from mouse dermis because of down-regulation of hyaluronic acid synthases. *Am J Pathol* 171:1451-1461. doi:10.2353/ajpath.2007.070136
- Gulcin I** (2012) Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol* 86:345-391. doi:10.1007/s00204-011-0774-2
- Harada H, Takahashi M** (2007) CD44-dependent intracellular and extracellular catabolism of hyaluronic acid by hyaluronidase-1 and -2. *J Biol Chem* 282:5597-5607. doi:10.1074/jbc.M608358200
- Hong ST** (2020) A study on the quality safety of apples by region using MA packaging materials. *J Kor Saf Manag Sci* 22:1-6. doi:10.12812/ksms.2020.22.2.001
- Ignat I, Volf I, Popa VI** (2011) A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem* 126:1821-1835. doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.026
- Imokawa G, Mishima Y** (1980) Isolation and characterization of tyrosinase inhibitors and their differential action on melanogenic subcellular compartment in amelanotic and melanomas. *Br Japan Dermatol* 103:625-633. doi:10.1111/j.1365-2133.1980.tb01684.x
- Imokawa G, Mishima Y** (1981) Biochemical characterization of tyrosinase inhibitors using tyrosinase binding affinity chromatography. *Br Japan Dermatol* 104:531-539. doi:10.1111/j.1365-2133.1981.tb08167.x
- Jeong Ch, Choi SG, Heo HJ** (2008) Analysis of nutritional components and evaluation of functional activities of *Sasa borealis* leaf tea. *Kor J Food Sci Technol* 40:586-592
- Kalinowska M, Bielawska A, Lewandowska-Siwkiewicz H, Priebe W, Lewandowski W** (2014) Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. *Plant Physiol Biochem* 84:169-188. doi:10.1016/j.plaphy.2014.09.006
- Kim KH, Roh SG, Li CR, Jin CF, Kim A, Choi WC** (2008) Antidiabetic effects of banana leaf extracts (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) through solvents. *J Life Sci* 18:1305-1311. doi:10.5352/JLS.2008.18.9.1305
- Kim YS, Choi HD, Choi IW** (2011) Antioxidative activities of Korean apple polyphenols. *J Food Sci Nutr* 16:370-375. doi:10.3746/jfn.2011.16.4.370
- Kraunsoe JA, Claridge TD, Lowe G** (1996) Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochem* 35:9090-9096. doi:10.1021/bi953013b
- Kwon OJ** (2016) Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of immature fruits of *Malus pumila* cv. Fuji. *Kor J Food Preserv* 23:585-590. doi:10.11002/kjfp.2016.23.4.585
- Kwon SI, Kim JJ, Kim MJ, Paek PN, Shin YU, Hwang JH, Kang SJ, Kim DI, Choi C, et al.** (2011) 'Hongan', a new mid-season apple cultivar. *Korean J Hortic Sci Technol* 29:655-658
- Kwon SI, Kwon YS, Park JT, Kim MJ, Kim JH** (2016) New columnar apple variety 'Tinkerbelle' for pollinizer. *Protected Hortic Plant Fac* 25:173-176. doi:10.12791/KSBEC.2016.25.3.173
- Kwon SI, Park JT, Lee JW, Kim MJ, Kim JH** (2015) 'Picnic', a new mid-season apple cultivar with medium size and good taste. *Korean J Hortic Sci Technol* 33:784-788. doi:10.7235/hort.2015.14182
- Lee EH, Kim BO, Cho YJ** (2017) Inhibitory activities on biological enzymes of extracts from *Opismenus undulatifolius*. *J Appl Biol Chem* 60:101-108. doi:10.3839/jabc.2017.017
- Lee EH, Kim YJ, Kwon SI, Kim JH, Kang IK, Jung HY, Park KI, Cho YJ** (2018a) Anti-oxidative, health functional, and beauty food activities of extract from newly bred Ruby S apple (*Malus pumila* Mill.) peel. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 47:1093-1102. doi:10.3746/jkfn.2018.47.11.1093
- Lee EH, Kim YJ, Kwon SI, Kim JH, Kang IK, Kim BO, Cho YJ** (2018b) Functional properties of newly bred Green ball apple (*Malus pumila* Mill.). *Kor J Food Preserv* 25:837-845. doi:10.11002/kjfp.2018.25.7.837
- Lee EH, Lee SY, Jung HY, Kang IK, Ahn DH, Cho YJ** (2020) Photo-aging regulation effects of newly bred Green ball apple. *J Appl Biol Chem* 63:75-82. doi:10.3839/jabc.2020.010
- Lee JT, Jeong YS, An BJ** (2002) Physiological activity of *Salicornia herbacea* and its application for cosmetic materials. *Kor J Herbology* 17:51-60
- Lee SJ, Song EJ, Kim KBWR, Lee CJ, Jung JY, Kwak JH, Choi MK, Kim MJ, Kim TW, et al.** (2010) Inhibitory effects of *Sargassum thunbergii* ethanol extract against α -amylase. *Kor J Fish Aquat Sci* 43:648-653. doi:10.5657/kfas.2010.43.6.648
- Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y** (2015) The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int J Mol Sci* 16:26087-26124. doi:10.3390/ijms161125942
- Lin LY, Huang CY, Chen KC, Peng RY** (2021) Pomelo fruit wastes are potentially valuable antioxidants, anti-inflammatories, antihypertensives, and antihyperglycemics. *Hortic Environ Biotechnol* 62:377-395. doi:10.1007/s13580-020-00325-8
- Meyer K** (1947) The biological significance of hyaluronic acid and hyaluronidase. *Physiol Rev* 27:335-359. doi:10.1152/physrev.1947.27.3.335
- Okuda K** (1986) Astringent effects of plants component. *Fragrance J* 6:270-274
- Pellegrini N, Re R, Yang M, Rice-Evans C** (1998) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Methods Enzymol*

299:379-389. doi:10.1016/S0076-6879(99)99037-7

- Pillai S, Oresajo C, Hayward J** (2005) Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation-a review. *Int J Cosmet Sci* 27:17-34. doi:10.1111/j.1467-2494.2004.00241.x
- Seyoum A, Asres K, El-Fiky FK** (2006) Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry* 67:2058-2070. doi:10.1016/j.phytochem.2006.07.002
- Shin KS, Park PJ, Boo HO, Ko JY** (2003) Chemical components and comparison of biological activities on the fruit of natural bogbunja. *Kor J Plant Res* 16:109-117
- Stirpe F, della Corte E** (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244:3855-3863. doi:10.1016/S0021-9258(17)36428-1
- Thanan R, Oikawa S, Hiraku Y, Ohnishi S, Ma N, Pinlaor S, Yongvanit P, Kawanishi S, Murata M** (2014) Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *Int J Mol Sci* 16:193-217. doi:10.3390/ijms16010193
- Tharmalingam S, Alhasawi A, Appanna VP, Lemire J, Appanna VD** (2017) Reactive nitrogen species (RNS)-resistant microbes: adaptation and medical implications. *Biol Chem* 398:1193-1208. doi:10.1515/hsz-2017-0152
- Tibbot BK, Skadsen RW** (1996) Molecular cloning and characterization of a gibberellin-inducible, putative α -glucosidase gene from barley. *Plant Mol Biol* 30:229-241. doi:10.1007/BF00020110
- Vincent J, Hearing JR** (1987) Mammalian monophenol monooxygenase (tyrosinase): Purification, properties, and reactions catalyzed. *Method Enzymol* 142:154-165. doi:10.1016/S0076-6879(87)42024-7
- Wang X, Liu C, Wang Q, Liu C, Sun H, Zhang M, Lyu D, Du G** (2021) A comparative study on antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activities and chemical composition of *Pyrus ussuriensis* cultivars from northeastern China. *Hortic Environ Biotechnol* 62:477-491. doi:10.1007/s13580-020-00322-x
- Won DH, Han SB, Hwang JP, Kim SJ, Park JN, Park SN** (2012) Antioxidative effect and tyrosinase inhibitory activity of *Lindera obtusiloba* Blume extracts. *Kor J Cosmet Sci* 38:297-304. doi:10.15230/SCSK.2012.38.4.297
- Wu J, Gao H, Zhao L, Liao X, Chen F, Wang Z, Hu X** (2007) Chemical compositional characterization of some apple cultivars. *Food Chem* 103:88-93. doi:10.1016/j.foodchem.2006.07.030
- Wunsch E, Heidrich HG** (1963) Zur quantitativen bestimmung der kollagenase. 333:149-151. doi:10.1515/bchm2.1963.333.1.149
- Yaar M, Gilchrist BA** (2007) Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol* 157:874-887. doi:10.1111/j.1365-2133.2007.08108.x
- Yim SH, Cho KS, Choi JH, Lee JH, Kim MS, Lee BHN** (2016) Effect of various pear cultivars at different fruit development stages on antioxidant and whitening activities. *Kor J Food Sci Technol* 48:59-65. doi:10.9721/KJFST.2016.48.1.59
- Yoo J, Lee J, Kwon SI, Chung KH, Lee DH, Choi IM, Mattheis JP, Kang IK** (2016) Differences in ethylene and fruit quality attributes during storage in new apple cultivars. *Korean J Hortic Sci Technol* 34:257-268. doi:10.12972/kjhst.20160027
- Yoo JG, Kang IK** (2020) Effect of cold storage and 1-methylcyclopropene treatment on fruit storage potential of 'Summer Prince' and 'Summer King' apples. *Kor J Food Preserv* 27:137-144. doi:10.11002/kjfp.2020.27.2.137