

수종 곡류추출물의 효소적갈변 억제효과

이귀주 · 안선정

고려대학교 사범대학 가정교육과

Inhibition Effect of Several Cereal Extracts on Enzymatic Browning

Gui Chu Lee and Sun Choung Ahn

Department of Home Economics, College of Education, Korea University

Abstract

The inhibitory effects of cereal extracts and concentrates from barley, waxy rice flours and malt on enzymatic browning were measured using apple polyphenol oxidase (PPO). Malt concentrate showed the largest inhibitory effect on PPO among all. The relationship between the properties of malt concentrate such as browning intensity and reducing power and their inhibitory effect on PPO was also studied. As the heating time increased, the browning intensity and the reducing power of malt concentrates were increased, while PPO activities were decreased. Inhibitory effect of malt concentrates on PPO increased with heating time and their concentration. L-value and compression force of the apple slices dipped in malt concentrate decreased by 6.9% and 14.3%, respectively, showing the smallest changes compared with raw and water-dipped apple slices during cold storage for 9 days. These results suggest that malt concentrate can be a potential source for the control of enzymatic browning.

Key words: inhibition effect, cereal extract, enzymatic browning, polyphenol oxidase

I. 서 론

Polyphenol oxidase(PPO)는 과일과 채소의 갈변에 주로 관여하여 수확 후 이들을 저장, 가공하는 과정에서 바람직하지 못한 색깔과 향미를 초래한다. PPO는 두개의 다른 반응을 촉매하는데 하나는 monophenol을 hydroxylation하여 대응하는 *o*-dihydroxy 화합물로의 전환을 촉매하며(cresolase activity, EC 1.14.18.1) 다른 하나는 *o*-dihydroxy phenol을 대응하는 *o*-quinone 으로의 전환을 촉진한다(catecholase activity, EC.1.10.3.2). 이 quinone 화합물은 반응성이 높아 계속 산화, 중합, 축합하여 갈색의 색소를 형성한다^{1,2)}.

상업적으로 PPO 및 효소적 갈변의 억제는 일반적으로 열처리^{3,4)}와 화학물질의 사용(주로 sulfite)^{5,7)}에 의해 이루어져 왔다. 그러나 건강상의 위해 문제로 sulfite의 사용이 FDA에 의해 금지된 이후 sulfite에 대한 대안으로 4-hexylresorcinol⁸⁾, cysteine⁹⁾, plant protease, Ascorbic acid^{10,11)} 등 여러 화학 물질이 PPO 활성을 억제하기위해 사용되었다.

최근에는 천연 저해제에 대한 소비자의 요구에 따라

honey¹²⁾, pineapple juice¹³⁾, 비효소적 갈변생성물^{14,15)}, plant extract¹⁶⁾에 의한 갈변억제 효과가 보고 된 바 있다.

한편 모든 천연식품에 보편적으로 가장 많은 두 화합물은 아미노산과 당이며 이들 두 화합물이 충분한 수분과 조절된 pH에서 가열되면 마이알 반응을 진행하여 독특한 휘발성 및 비휘발성 화합물이 생기는데 이들 반응에 의해 생성된 휘발성 화합물의 특징은 aldehydes, ketones, pyrazines, pyridines, furan, diketones를 포함한다.¹⁴⁾ 이로부터 Coleman 등¹⁴⁾은 여러 곡류들의 추출물들이 가열될 때 마이알반응시 일어나는 휘발성 성분들의 특성을 연구하였다.

따라서 본 연구에서는 사과로부터 PPO를 추출하여 보리가루, 찹쌀가루, 엿기름의 수용성 추출물과 이들 추출물을 가열하여 얻은 농축액이 효소적 갈변을 억제할 수 있는지에 관하여 알아보았다. 또한 PPO 억제 효과가 가장 큰 농축액의 환원성 및 갈변정도와 사과 PPO 활성에 대한 억제효과와의 관계를 알아보았다. 그리고 엿기름 농축액에 사과 슬라이스를 침지한 후 3°C에서 냉장저장 하여 갈변 정도와 조직감의 변화에 대한 영향도 함께 알아보았다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 엿기름, 보리가루, 찹쌀가루 그리고 부사사과는 서울 백화점에서 구입하였다. 기질로 사용한 catechol은 Sigma사(St.Louis, MO, U.S.A.) 제품을 사용하였으며 기타 시약은 일급시약을 사용하였다.

2. 실험방법

(1) Apple polyphenol oxidase(PPO) 조효소액 제조
껍질을 벗기고 slice한 사과 5g에 0.1 M의 인산염 완충용액(pH 6.5) 25 mL를 가하고 블렌더로 1분간 마쇄한 후 여과하여 10분간 8,000×g(Centricon T-124, Kontron instruments, Switzerland)에서 원심분리하여 상등액을 취하여 조효소액으로 하였다.

(2) PPO 활성 측정

Oszmianski 등⁹⁾에 의한 실험 방법을 변형하여 사용하였으며 1 mM의 catechol/인산염 완충용액(0.1 M, pH 6.5)을 기질용액으로 사용하였다. 대조군은 기질용액 8 mL에 0.1 M 완충용액(pH 6.5) 2 mL를 가하고 실험군은 기질용액 8 mL에 보리, 엿기름, 찹쌀가루 농축액을 각각 0.2 mL, 완충용액 1.8 mL 넣어 혼합한 후 각각 2.5 mL를 취하여 0.5 mL 조효소액을 가하고 30°C 항온수조에서 2분간 반응시켰다. 1 N HCl 용액 0.5 mL로 반응을 중지시킨 후 400 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) 곡류 추출액 및 농축액 제조

보리가루, 엿기름, 찹쌀가루 각 100 g에 물 1500 mL 가하여 3시간동안 항온수조(50°C)에서 방치한 후 앙금을 가라 앉힌 후 상등액을 여과하여 각 시료의 추출액으로 하였다.

각 추출액의 농축은 먼저 엿기름 추출액을 사용한 예비 실험을 통하여 엿기름 추출액의 가열시간에 따라 농축액을 얻고, PPO 활성에 대한 저해효과를 측정 한 결과를 참조하여 엿기름 추출물 200 mL를 비이커에 넣고 곤로에서 75분간 가열하여 농축액을 제조하였다. 이로부터 보리가루와 찹쌀가루의 농축액도 같은 방법으로 제조하였다.

(4) 갈변정도, 당도 및 pH의 측정

갈변 정도는 spectrophotometer(Milton roy spectronic 21D, U.S.A.)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 당도는 굴절계(K.Fuji, 0~32%)를 사용하였으며, pH는 pH meter(Hanna Instruments, HI8418, Singapore)를 사용하여 측정하였다

(5) 환원성 측정

Table 1. Conditions for texture measurement by texture analyser

measure force in compression	
probe type	: cutting knife
force unit	: grams
test speed	: 3.3 mm/s
distance	: 25.0 mm
trigger force	: 5 g

엿기름 농축액 5 mL에 인산완충 용액(0.2 M, pH 6.5)와 K-ferricyanide 5 mL 넣고 항온수조(50°C)에서 20분간 방치한 후 꺼내어 상온(25°C)으로 냉각하였다. 10% trichloroacetic acid 5 mL 첨가하여 800 g에서 10분간 원심분리하고 상등액 5 mL에 증류수 5 mL와 0.1% FeCl₃ 1 mL를 넣어서 10분간 방치 한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다¹⁷⁾.

(6) 사과 슬라이스 제조 및 침지

사과를 food processor(General Electric Co. U.S.A)로 3 mm의 두께로 절단 후 직경 2.8 cm corkborer로 찍어 일정크기의 슬라이스를 만들어 사용하였으며 사과 슬라이스 10 g을 침지용액 30 mL에 10분간 침지한 후 체에 받쳐 물을 뺀 후 흡수지로 수분을 가볍게 제거 후 polyethylene(PE) 지퍼백에 넣어 9일간 3°C에서 저장하였다.

(7) 냉장 저장 중 사과 슬라이스의 갈변 정도와 조직감 변화 측정

갈변 정도는 color difference meter(TCA 1-SW, Tokyo Denshoku Co., Japan)를 사용하여 표면의 L-값을 측정하였고 조직감은 Texture analyser(TA-XT2)를 사용하여 compression force를 측정하였다. 조직감 측정을 위한 조작조건은 Table 1과 같다.

III. 결과 및 고찰

1. 수중 곡류 추출액 및 농축액의 갈변정도, 당도와 PPO 억제효과

보리가루, 엿기름, 찹쌀가루의 수용성 추출물과 이들 추출물을 75분간 가열하여 얻은 농축액의 갈변 정도, 당도와 PPO 활성에 대한 억제효과는 다음 Table 2와 같다.

보리가루, 엿기름, 찹쌀가루의 농축액의 갈변정도 및 당도가 수용성 추출물보다 더 높게 나타났으며 각각 엿기름 > 보리가루 > 찹쌀가루 순이었다.

잔여 PPO 활성은 엿기름 농축액의 잔여활성이 63%로서 가장 낮게 나타났으므로 찹쌀과 보리보다 PPO

Table 2. Browning intensity, sugar concentration and inhibitory effect on PPO activity of several cereal extracts

	Extract			Concentrate		
	Browning intensity (420 nm)	sugar conc. (° Brix)	PPO act. (% Relative act.)	Browning intensity (420 nm)	sugar conc. (° Brix)	PPO act. (% Relative act.)
malt	0.25	1.00	98.50	8.64	17.00	63.90
barley flour	0.20	0.50	96.90	1.28	10.00	100.00
waxy rice flour	0.13	0.20	97.70	0.39	5.50	100.00

Table 3. Changes in sugar concentration and pH during heating of malt extract

Heating time (min)	0	30	40	50	60	70	75
sugar conc (° Brix)	1.00	1.40	1.90	2.40	3.00	11.60	17.00
pH	5.79	5.88	5.84	5.81	5.77	5.62	5.45

활성을 억제하는데 효과적인 것으로 나타났다.

Coleman 등¹⁵⁾은 여러 곡류 및 천연물질의 추출물이 가열에 의해 마이알 반응을 통하여 휘발성 및 비휘발성 물질을 생성한다고 하였으며 이들 물질의 특성은 천연물질의 종류와는 무관하게 보편성을 갖는다고 하였다. Maillard 등¹⁸⁾은 엿기름이 보리보다 항산화성이 높다고 하였는데 이는 발아시 phenol 화합물이 유리되며 또한 엿기름을 건조(kilning)하는 과정 중에 마이알반응과 또한 건조 최종 단계에서는 당류의 카라멜화가 일어나 이들의 반응생성물에 의한 영향이라고 하였다.

2. 엿기름 농축액의 당도와 pH 변화

Table 2에서 엿기름 농축액이 사과 PPO에 대한 억제 효과가 가장 크게 나타났으므로 엿기름 추출액을 가열시간에 따라 당도와 pH 변화를 알아본 결과는 Table 3과 같다.

당도는 가열전 1° Brix에서 75분 가열시에는 17° Brix로 점점 증가하는 경향을 나타내었다. pH는 5.9에서 5.45로 점점 낮아지는 경향을 보였다. 이는 amino-carbonyl 반응시 amino 기의 결합, strecker 분해에 의해 carboxyl기가 CO₂ 가스로 변하여 소실되기 때문이며 그외에 환원형의 reductone은 ascorbic acid의 경우와 같이 산성물질이며 따라서 pH가 저하된다고 하였다¹⁹⁾. 또한 카라멜화 반응과정에서도 H⁺가 유리됨에 따라 pH가 저하한다고 하였다¹⁷⁾.

3. 엿기름 농축액의 사과 PPO에 대한 억제효과

사과 PPO에 대한 엿기름 농축액의 억제효과는 Fig. 1과 같다.

Fig. 1A에서 PPO 활성은 가열시간에 따라 점점 감

소하는 경향을 나타내었으며 75분 가열한 엿기름 농축액은 PPO 활성을 54.3% 감소시켰다. 또한 엿기름 농축액의 농도가 커질수록 PPO 활성은 감소하여 1 mL 첨가 시에는 PPO 잔여 활성이 67%, 2 mL 첨가 시에 27%를 나타내었다(Fig. 1B). Pitotti 등²⁰⁾은 fructose

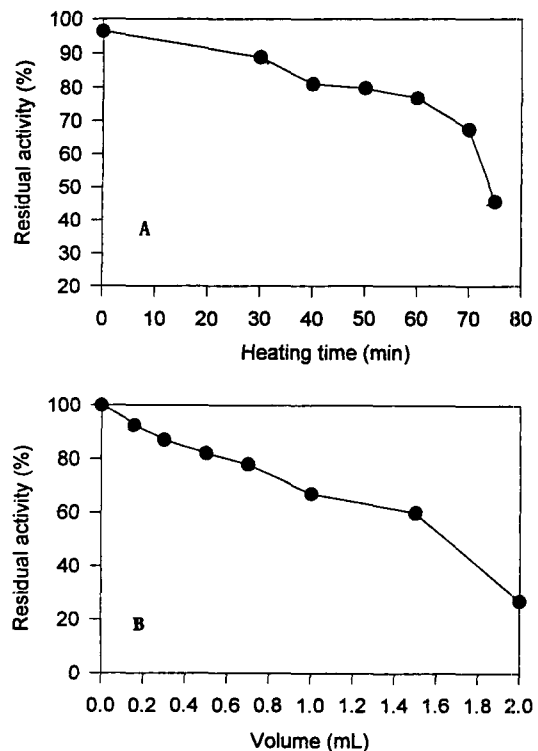


Fig. 1. Inhibitory effect of malt concentrate on the activity of polyphenol oxidase.

A: Changes in PPO activity vs heating time. B: Changes in PPO activity vs volume of malt concentrate.

와 fructose-glycine 혼합물의 가열에 의한 카라멜형 반응 생성물과 마이알 반응 생성물이 PPO 활성에 억제 효과가 있다고 보고하였으며 Nicoli 등¹⁵⁾은 glucose/glycine 용액이 항산화작용 뿐만 아니라 효소적 갈변에 강한 억제효과를 가진다고 보고하였다.

4. 엿기름 농축액의 갈변정도, 환원성과 PPO 억제 효과와의 상호 관계

엿기름 농축액의 갈변정도 및 환원성과 PPO 억제 효과와의 관계를 알아본 결과(Fig. 2) 갈변 정도는 가열시간에 따라 증가하였으며 갈변 속도는 50분까지는 천천히 증가하였고 70분과 75분에는 급격히 증가하여 흡광도는 각각 1.625와 6.24를 나타내었다.

엿기름 추출액이 가열됨에 따라 갈변 정도와 환원성은 점점 증가하는 경향을 보이며 이와는 반대로 PPO 활성은 감소하는 경향을 나타내었다.

마이알 반응 생성물에 의한 항산화성에 대해서는 많은 연구가²¹⁻²³⁾ 행해져 왔으며 이들 물질의 항산화성은 reductone 화합물에 의한 환원성과 금속을 chelating 하는 성질에 의해 설명 될 수 있다고 하였다. 따라서 마이알 반응 생성물에 의한 효소적 갈변에 대한 억제 효과는 그들의 항산화성과 관련이 있는 것으로 생각되어진다.

5. 엿기름 농축액을 침지액으로 이용한 냉장 중 사과 슬라이스의 갈변 정도(L값)와 조직감의 변화

침지액으로서 엿기름 농축액을 사용하여 냉장 저장한 사과 슬라이스의 L값과 조직감의 변화는 Fig. 3와 Fig. 4와 같다. Fig. 3에서 대조군(침지하지 않은 사과

슬라이스)은 L값이 62.06에서 47.15로 24% 감소하였으며 증류수에 침지한 사과 슬라이스는 L값이 61.84에서 53.80으로 13%, 엿기름 농축액에 침지한 사과 슬라이스는 L값이 58.95에서 54.90으로 6.9% 감소하는 경향을 보였다.

또한 Fig. 4에서 조직감의 변화는 대조군은 809에서 580으로 28.3%, 증류수에 침지한 사과슬라이스는

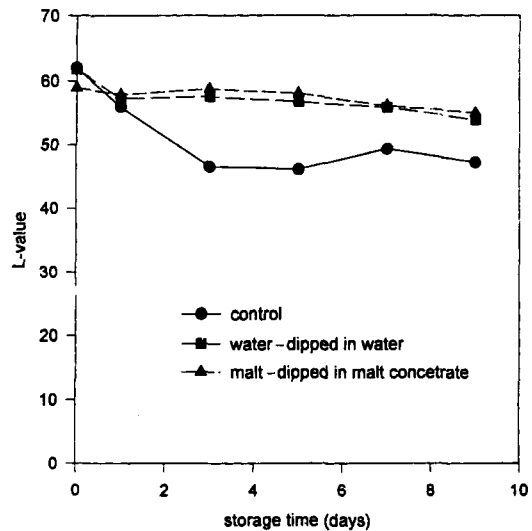


Fig. 3. Effect of malt concentrate on the changes in L-values of apple slices during storage at 3°C.

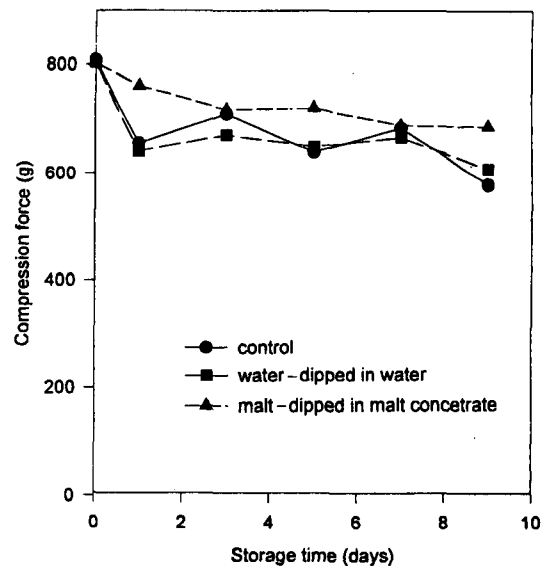


Fig. 4. Effect of malt concentrate on the changes in compression forces of apple slices during storage at 3°C.

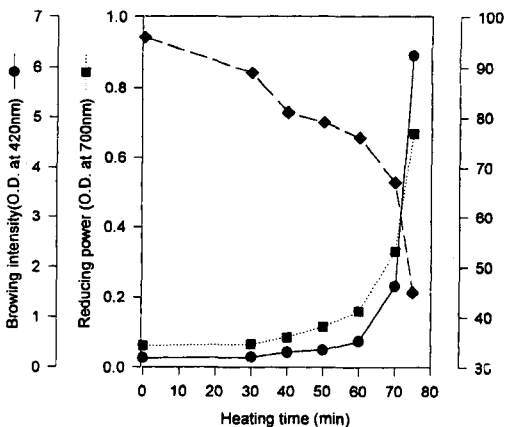


Fig. 2. Browning intensity, reducing power and polyphenol activity of malt concentrate during heating.

804에서 609로 24.3%, 엽기름 농축액에 침지한 사과 슬라이스는 804에서 689로 14.3% 감소하여 대조군 > 물 > 엽기름 농축액 순이었다. 따라서 엽기름 농축액은 사과 슬라이스의 냉장저장 중 갈변 정도를 억제하고 조직감의 유지에 효과적인 것으로 나타났다.

한편 최소가공된 과일과 채소는 냉장 저장 중에 냉해가 발생하기 쉬운데 그 중 조직감과 외관의 변화 즉 갈변 현상이 가장 주목할 만한 변화이다. Ponting 등⁷⁾은 ascorbic acid(AA)와 Ca 용액이 사과 슬라이스의 갈변과 조직감의 유지에 효과가 있다고 하였다. King 등²⁴⁾과 Bolin 등²⁵⁾ 많은 연구자들은 최소 가공된 과일의 저장 수명에 있어서 문제점은 미생물의 성장과 내재한 효소의 작용에 의한 세포벽의 파괴에 기인한 조직감의 손실에 있다고 하였다.

IV. 요 약

보리가루, 엽기름, 참쌀가루의 수용성 추출물과 농축액이 효소적 갈변에 대한 억제 효과가 있는지를 PPO 활성에 대한 저해효과를 통하여 알아보았으며 PPO에 대한 저해효과가 가장 크게 나타난 엽기름 농축액의 갈변 정도와 환원성을 측정하고 이들 성질과 PPO 활성에 대한 저해효과와의 상관관계도 조사하였다. 나아가 사과 슬라이스를 엽기름 농축액에 침지한 후 냉장하고 냉장 중 사과 슬라이스의 조직감과 갈변 정도를 조사한 결과는 다음과 같다.

PPO에 대한 억제 효과는 엽기름 농축액이 가장 크게 나타났다. 엽기름 농축액은 가열 시간에 따라 당도, 갈변정도와 환원성은 증가하는 경향을 나타냈으며 PPO 활성은 감소하는 경향을 보였다. 이러한 변화는 가열 60분까지는 서서히 변화하였으나 70분 이후에는 급격한 변화를 나타내었다.

또한 가열시간에 따라 엽기름 농축액의 pH는 감소하였다.

한편 엽기름 농축액에 침지한 사과 슬라이스의 냉장 저장중의 갈변정도는 6.9%로, 조직감의 변화는 14.3%로 가장 낮았다.

따라서 엽기름 농축액이 사과 슬라이스의 갈변 억제와 조직감 유지에 효과가 있는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Eskin, N.A.M.: Biochemistry of Food, 2nd ed., Academic Press (1990).
2. Coseteng, M.Y. and Lee, C.Y.: Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in re-

- lation to degree of browning, *J. Food Science*, **52**(4): 985 (1987).
3. Zemel, G.P., Sims, C.A., Marshall, M.R. and Balaban, M.: Low pH inactivation of polyphenol oxidase in apple juice, *J. Food Science*, **55**(2): 562 (1990).
4. Ma, S., Griffin, L.E. and Lee, Y.: Prevention of enzymatic darkening in frozen sweet potatoes by water blanching, *J. Agric. Food Chem.*, **40**: 864 (1992).
5. Tong, C.B.S. and Hicks, K.B.: Sulfated polysaccharides inhibit browning of apple juice and dried apples, *J. Agric. Food Chem.*, **39**: 1719 (1991).
6. Tong, C.B.S., Hicks, K.B., Osman, S.F., Hotchkiss, Jr. A.T. and Haines, R.H.: Oxalic acid in commercial reactions inhibits browning of raw apples. *J. Agric. Food Chem.*, **43**(3): 592 (1995).
7. Ponting, J.D., Jackson, R. and Walters, G.: Refrigerated apple slices: preservative effect of ascorbic acid, calcium and sulfites. *J. Food Science*, **37**: 434 (1997).
8. Monsalve-G, A., Barbosa-C, G.V., Cavalieri, R.P., Mcevely, A.J. and Iyenger, R.: Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods. 4-hexylresorcinol as anti-browning agent, *J. Food Science*, **58**: 797 (1993).
9. 최연호, 정동선, 조남숙, 심영현: 후지사과 polyphenol oxidase의 특성 및 활성억제, *한국농화학회지*, **30**(3): 278 (1987).
10. Sapers, G.M. and Miller, R.L.: Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphate, *J. Food Science*, **57**(4): 1132 (1992).
11. Mondy, N.I. and Munski, C.B.: Effect of boron on enzymatic discoloration and phenolic and ascorbic acid contents of potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, **41**(4): 554 (1993).
12. Oszmianski, J. and Lee, C.Y.: Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey. *J. Agric. Food Chem.*, **38**: 1892 (1990).
13. Lozano-de Gonzalez, P.G., Barrett, D.M., Wrolstad, R. E. and Durst, R.W.: Enzymatic browning inhibited in fresh and dried apple rings by pineapple juice, *J. Food Science*, **58**(2): 399 (1993).
14. Coleman, III. W. M., White, J. L. and Perfetti, T. A.: Investigation of a unique commonality from a wide range of natural materials as viewed from the Maillard reaction perspective. *J. Sci Food Agric.*, **70**: 405 (1996).
15. Nocoli, M.C., Elizalde, B.E., Pitotti, A. and Lericci, C. R.: Effect of sugars and Maillard reaction products on polyphenol oxidase and peroxidase activity in food, *J. Food Biochem.*, **15**: 169 (1991).
16. Sapers, G.M.: Chitosan enhances control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration, *J.*

- Food Science*, **57**(5): 1192 (1992).
17. Oyaizu, M.: Studies on products of browning reaction antioxidation activities of products of browning reaction prepared from glucosamme, *Jpn J. nutri.*, **44**: 307 (1986).
 18. Maillard, M.N., Soum, M.H., Boivin, P. and Berset, C.: Antioxidant activity of barley and malt: Relationship with phenolic content. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, **29**: 238 (1990).
 19. 도재호, 김경희, 장진규, 양재원, 이광승: 액상물추출물의 갈변반응 중 갈색화 및 성분의 변화, *한국식품과학회*, **21**(4): 480 (1989).
 20. Pitotti, A., Elizalde, B.E. and Anese, M.: Effect of caramelisation and Maillard reaction products on peroxidase activity, *J. Food Biochem.*, **18**: 445 (1995).
 21. Alfawaz, M., Smith, J.S. and Jeon, I.J.: Maillard reaction products as antioxidants in pre-cooked ground beef. *J. Food Chem.*, **51**: 311 (1994).
 22. Rhee, C. and Kim, D.H.: Antioxidant activity of acetone extracts obtained from a caramelisation type browning reaction. *J. Food Science*, **40**: 460 (1995).
 23. 최인덕, 안명수: Caramelisation 온도별 반응속도와 반응 생성물의 유지에 대한 항산화 효과에 관한 연구. *한국조리과학회지*, **11**(4): 396 (1995).
 24. King, A.D. and Boln, H.R.: Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.*, **43**(2): 132 (1989).
 25. Huxsoll, C.C. and Bolin, H.R.: Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.*, **43**(2): 124 (1989).
-
- (1997년 7월 11일 접수)