

냉동저장 및 추출방법에 의한 딸기의 생리활성 변화

윤선주¹ · 조준구¹ · 최응규² · 권대준*

아시아대학교 한약자원학과, ¹(주)바이오파머, ²아시아대학교 한방식품영양학과

Received November 13, 2007 / Accepted November 26, 2007

Change of Biological Activity of Strawberry by Frozen Storage and Extraction Method. Sun-Joo Youn¹, Jun-Gu Cho¹, Ung-Kyu Choi² and Dae-Jun Kwoen*. Department of Oriental Medicine Resource, Asia University, Gyeongsan, 712-220, Korea, ¹Biofarmer Co. Ltd, Gyeongsan, 712-714, Korea, ²Department of Oriental Medicinal Food and Nutrition, Asia University, Gyeongsan, 712-220, Korea - The biological activities of strawberry were investigated during frozen storage. The concentrations of total phenolic content in strawberry juice and water extract were 2.342 µg/ml and 2.235 µg/ml, respectively. The total flavonoid content in strawberry juice and water extract were 200.36 µg/ml and 201.07 µg/ml, respectively. Antioxidant activities of strawberry juice and water extract were determined. The DPPH of strawberry juice (94.2%) was higher than the water extract of strawberry (93.5%). ABTS of strawberry juice and water extract were 99.9% and 100.0%, respectively. Xanthine oxidase inhibitory activity and SOD-like activity of strawberry of water extracts were higher than those of strawberry juice. The changes in the antioxidant activity of strawberry was insignificant until 6 months of frozen storage. Therefore, it was expected that frozen storage of strawberry was useful preservation expedient for consistent supply of raw materials.

Key words : Strawberry, frozen storage, antioxidant activity, phenol, flavonoid

서 론

딸기(*Fragaria ananassa* Duch.)는 비타민 C가 풍부하며, 신맛과 단맛이 잘 조화되어 있으며, 독특한 향기를 갖는 과채류로서 오래전부터 봄철에 애용되어 왔다[16]. 딸기는 국내에서 대부분 식용으로 이용되고 있으며, 일부 잼, 젤리, 아이스크림, 냉동딸기, 딸기주 등의 원료로 이용되고 있다. 딸기는 그 종류에 따라 성분 함량이 다르나 일반적으로 유기산이 많아서 신맛이 많고, 당분이 많으며 비타민 C와 quercetin, caffeic acid, ferulic acid, flavanol류 등의 다양한 항산화 물질이 함유되어 있다. 특히 딸기에 들어 있는 비타민 C의 양은 100 g당 80 mg으로 과일 중 가장 많으며, 본초강목에서는 딸기는 신장에 좋으며 간을 보호하고 피부를 곱게 하고 머리를 검게 하며 폐질환에도 효과가 있다고 알려져 있다. 유리 및 결합형 페놀성 화합물과 anthocyanin을 함유하고 있으며, 항산화활성과 인간의 간암세포인 HepG2 세포에 대한 증식억제작용을 나타낸다[18]. 이 밖에도 딸기의 성장온도[5,27], 품종[26], 동결건조[1]와 저장조건[2,28]에 따른 항산화 활성과 anthocyanin 함량 및 페놀성 성분에 대한 연구가 많이 수행되어 왔다. 이와 같은 다양한 생리 활성에도 불구하고 딸기는 육질이 약하고 저장성이 낮아 수확, 운송 중 부패가능성이 높은 문제점을 가지고 있으며, 과피의 조직이 약하여

수확, 운송 등의 취급 시 쉽게 상처를 받아 압착, 부패 등의 발생이 많아 장기저장이 매우 어렵기 때문에 생과를 주로 이용하는 국내에서는 수확시기에만 한정되어 짧은 기간 내에 유통되고 있는 실정이다[12,13]. 현재 봄철 과다출하로 인한 가격하락 방지 및 수급조절을 위하여 딸기를 이용한 적절한 가공식품 개발이 요구되고 있으며, 효율적으로 이용하기 위해서는 적절한 가공 방안의 모색이 필요하다. 지금까지 국내에서 딸기 가공에 관한 연구로는 주로 딸기잼 등[4,12,19]이 주를 이루고 있고, 딸기의 알콜 발효 특성[16], 딸기식초 제조[15]와 딸기주 발효[8]에 대한 연구가 수행되었으나 일부에 국한되어 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 딸기의 가공방안을 높이고, 출하기에 대량 수매하여 연중 딸기의 안정된 수급과 식품소재로 활용하기 위해 냉동저장과 추출방법에 따른 항산화 활성을 지표로 하여 생리활성의 변화를 검토하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료의 추출

농가의 선별기준에 따라 구분한 딸기(보교조생 품종, 하품)를 수세한 후 -25°C에서 급속 냉동시킨 후 -25°C에서 3, 6개월 냉동 저장하면서 실험에 사용하였다. 딸기 100 g를 과쇄하여, 딸기즙은 Waterman No. 2 여과지로 감압여과한 후 이 여액을 시료로 이용하였고, 열수추출물은 80°C에서 2시간 추출하여 각각 100 ml로 정용하여 사용하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-53-819-8185, Fax : +82-53-819-8145

E-mail : kj0211@hanmail.net

총 phenol성 물질 함량 측정

추출된 각 phenol성 물질의 함량 측정은 Rhee 등[22]의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 각 phenol성 시료용액 0.2 ml에 2% Na₂CO₃ 2 ml를 가하여 충분히 혼합하고 2분후에 50% Folin-Ciocalteu's reagent 0.2 ml를 가하여 상온에서 30분 동안 방치한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 함량은 gallic acid (0.5 mg/ml)를 표준물질로 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

flavonoid 물질 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 시료용액 1 ml에 diethylene glycol 10 ml, 1 N NaOH 1 ml를 넣고 강하게 진탕한 후 37°C 항온기에서 1시간 정지한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 naringin (0.5 mg/ml)을 표준물질로 사용하여 표준곡선을 통하여 계산하였다.

전자공여능(DPPH radical 소거능) 측정

추출물의 전자공여능 (Electron donating abilities, EDA)은 Blois [3]의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료용액 1 ml에 0.2 mM 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 1 ml를 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여 효과는 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

ABTS radical cation decolorization 측정

ABTS radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등 [20]의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] 5 ml와 140 mM K₂S₂O₈ 88 µl를 섞은 용액 1 ml와 ethanol 88 ml를 혼합한 ABTS 용액 1 ml와 시료용액 50 µl를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 incubation하고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical cation decolorization 효과는 percentage inhibition(%)으로 나타내었다.

Xanthine oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte [24]의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료 용액 0.1 ml와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 ml에 xanthine(2 mM)을 녹인 기질액 0.2 ml를 첨가하고 xanthine oxidase (0.2 unit/ml) 0.1 ml를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다. Xanthine oxidase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund [17]의 방법에 따라 실시하였

다. 각 시료용액 0.2 ml에 Tris-HCl의 완충용액 (50 mM Tris + 10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 ml과 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 N HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 실험구와 대조구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

결과 및 고찰

총 Phenol성 물질 함량

식물이 함유하고 있는 총 페놀성 물질(phenolic compound)의 양은 항산화력의 간접적인 지표가 된다. 페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이들은 phenolic hydroxy기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화, 항균생물 활성 효과 등의 생리활성 기능을 가진다[14]. 냉동기간에 따라 딸기즙과 열수추출물에 함유된 phenol 함량을 측정한 결과 Fig. 1과 같이 생과 딸기즙은 2.342 µg/ml인 반면 열수추출물은 2.235 µg/ml로 딸기즙의 phenol 함량이 다소 높게 나타났다. 이는 3, 6개월 냉동저장한 딸기에도 같은 경향을 보여주었고, 딸기의 총 Phenol성 물질은 딸기즙이 열수추출물보다 다소 많이 함유되어 있었다.

총 flavonoid성 물질 함량

또 다른 항산화력의 지표인 총 flavonoid성 물질 함량은 Fig. 2와 같이 naringin으로 표준 곡선을 구하여 계산하였다. 그 결과 딸기즙은 200.36 µg/ml를 함유하고 있었고, 열수추출물은 201.07 µg/ml를 함유하고 있어 열수추출물의 함량이 조금 높았으며, 냉동저장기간 동안 flavonoid성 물질 함량의 변화는 미미하였다.

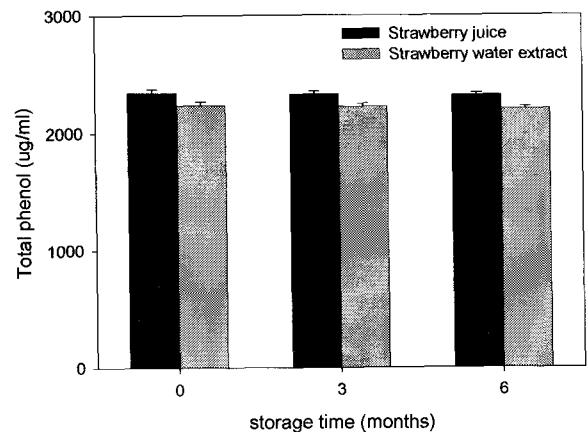


Fig. 1. Total phenol concentration of strawberry juice and water extract during storage age at -25°C. Values are mean±SD of triplicate experiments.

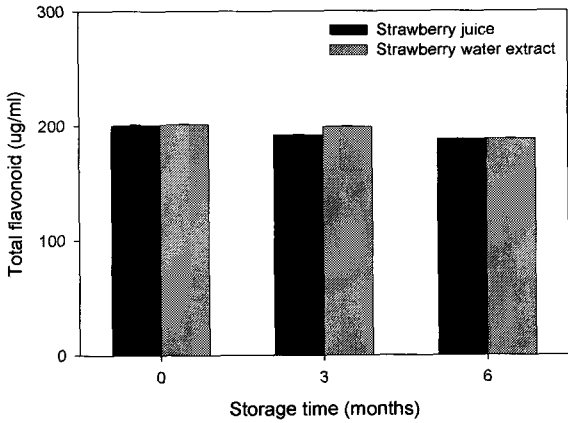


Fig. 2. Total flavonoid concentration of strawberry juice and water extract during storage age at -25°C. Values are mean±SD of triplicate experiments.

전자공여능 확인

전자 공여능 측정에 사용된 DPPH(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl)는 안정한 자유 라디칼로서 그것의 비공유전자로 인해 517 nm 부근에서 최대 흡광도를 나타내며 전자 또는 수소를 받으면 517 nm 부근에서 흡광도가 감소하며 각 추출물에서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다. 딸기즙과 열수추출물에 대한 DPPH radical 소거 활성을 측정된 결과는 Fig. 3과 같이 딸기즙은 94.2%의 전자공여능을 보였으며, 열수추출물은 93.5%의 전자공여능을 보였다. 냉동 저장기간이 길어질수록 전자공여능은 차이는 없었고, 딸기즙이 열수추출물보다 비교적 높게 나타났다. Kang 등[10]은 전자공여능이 phenolic acids와 flavonoids 및 기타 phenol성

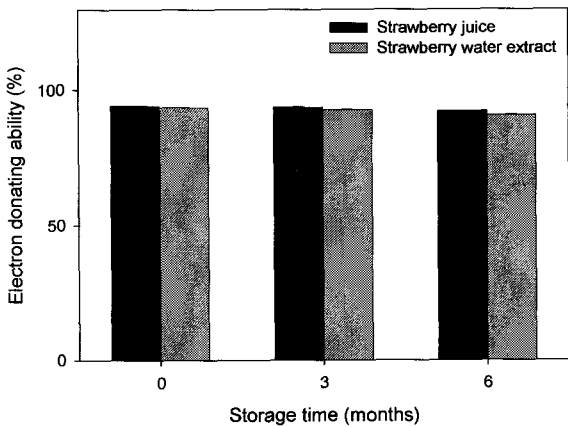


Fig. 3. Electron donating ability of strawberry juice and water extract during storage age at -25°C. DPPH free radical scavenging activity for test sample was determined with 0.2 mM DPPH ethanolic solution. Values are mean±SD of triplicate experiments.

물질에 대한 항산화작용의 지표라 하였으며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 하였다. DPPH는 아스코르빈산, 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의하여 환원되어 짙은 자색이 탈색됨으로써 전자공여능의 차이 측정이 가능하다. 따라서 항산화물질의 전자공여능을 측정할 때는 DPPH 법이 편리하다고 알려져 있으나, 색소가 함유된 추출물의 경우 DPPH법의 적용에는 많은 경험이 요구된다.

ABTS radical cation decolorization 확인

물질의 친수성 및 lipophilic 물질의 항산화력을 측정하기 위해 ABTS radical cation decolorization을 냉동기간에 따라 측정된 결과 Fig. 4와 같이 생과 딸기즙의 inhibition이 99.9%로 나타났고, 열수추출물도 100.0%로 높은 저해율을 나타내었다. 딸기즙과 열수추출물은 저해율의 차이뿐만 아니라 냉동기간에 따라 변화가 없었다. 따라서 오이즙과 오이추출물이 친수성 및 lipophilic 물질에 대한 항산화력이 우수한 것으로 판단되었다.

Xanthine oxidase 저해활성 확인

Xanthine oxidase는 purine 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 uric acid를 형성하며 uric acid가 혈장 내에 증가되면 골절에 축적되므로 통증을 동반하는 통풍을 일으키는 효소로 알려져 왔다[6,9,11,25]. Xanthine oxidase는 분자상의 산소를 수소(전자)수용체로 이용하여 xanthine을 uric acid형으로 산화하는 반응을 촉매하므로 xanthine oxidase의 저해효과는 유리 라디칼의 생성 억제와 더불어 생물학적으로 중요한 의의를 가진다고 할 수 있다. 냉동저장기간에 따라 딸기즙과 오이추출물의 xanthine oxidase의 저해활성을 관찰한 결과 Fig. 5와 같이 나타났다. 딸기즙의 경우 93.0%의 저해율을 나타내었고, 냉동기간에 따

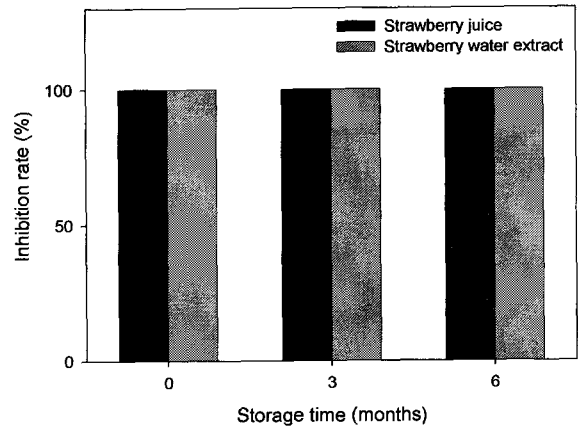


Fig. 4. ABTS radical cation decolorization of strawberry juice and water extract during storage age at -25°C. Values are mean±SD of triplicate experiments.

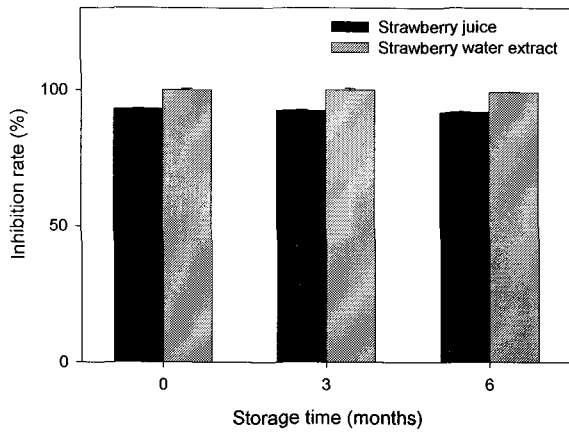


Fig. 5. Xanthin oxidase inhibition activity of strawberry juice and water extract during storage age at -25°C. Values are mean±SD of triplicate experiments.

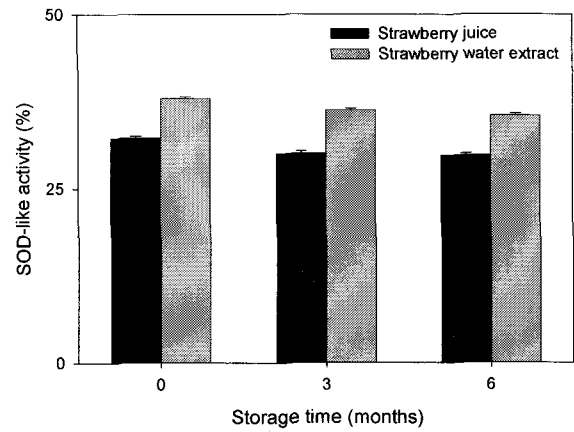


Fig. 6. SOD-like activity of strawberry juice and water extract during storage age at -25°C. Values are mean±SD of triplicate experiments.

라 xanthine oxidase의 저해활성의 변화가 거의 없었고, 열수 추출물은 99.9%로 딸기즙보다 비교적 높은 저해율을 나타내었고, 냉동기간에 따라 xanthine oxidase의 저해활성에 큰 차이가 없었다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 검증

Superoxide dismutase(SOD)는 항산화 효소로서 세포에 해로운 환원 산소종을 과산화수소로 전환 시키는 반응($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)을 촉매하는 효소이며, SOD에 생성된 H_2O_2 는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환되어 산소상해로부터 생체를 보호하는 기능으로 알려져 있다[21,23]. 따라서 산화방지는 물론 노화억제와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있는 SOD유사활성 측정을 pyrogallol의 자동산화 반응을 이용하여 조사하였다. 딸기즙의 경우 32.5%의 효과를 나타내었고, 열수추출물은 38.0%로 딸기즙보다 비교적 높은 SOD 유사활성을 나타내었고, 냉동기간에 따라 SOD 유사활성의 차이는 없었다(Fig. 6). 이는 Hong 등[7]의 과실, 과채류의 착즙의 SOD 유사활성에서 사과착즙액의 경우 27.6%, 무착즙액의 경우 24.1%의 활성에 비하여 비교적 높은 SOD-유사활성을 나타냈었다.

요 약

딸기의 가공방안을 높이고, 안정된 수급과 식품소재로 활용하기 위해 냉동저장과 추출방법에 따른 생리활성 변화를 조사하였다. 냉동저장기간(3, 6개월)에 따른 딸기의 총 phenol 함량은 딸기즙이 2.342 µg/ml, 열수추출물은 2.235 µg/ml로 나타났다. 반면, 총 flavonoid성 함량은 딸기즙은 200.36 µg/ml로 나타났고, 열수추출물은 201.07 µg/ml로 나타났고, 냉동저장기간 동안 총 phenol 함량과 총 flavonoid성 함량은 비교적 차이가 없었다. 딸기의 항산화 효과는 전

자공여능이 딸기즙과 열수추출물이 각각 94.2%, 93.5%로 나타났고, ABTS는 각각 99.9%, 100%로 높게 나타났다. Xanthine oxidase의 저해활성의 경우 딸기즙이 93.0%, 열수추출물은 99.9%로 높은 저해율을 나타내었고, 열수추출물이 다소 높게 나타났다. SOD 유사활성은 딸기즙과 열수추출물이 32.5%, 38.0%로 열수추출물이 비교적 높은 SOD유사활성을 나타내었고, 냉동기간에 의한 항산화 효과는 비교적 차이가 없었다. 이러한 결과로 냉동 저장 시 항산화활성의 차이가 거의 없으므로 연중 원료의 안정적인 수급과 식품소재로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Asami, D. K., Y. J. Hong, D. M. Barrett and A. E. Mitchell. 2003. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry and corn grown using conventional, organic and sustainable agricultural practices. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 1237-1241.
2. Ayala-Zavala, J. F., S. Y. Wang, C. Y. Wang and G. A. Gonzalez-Aguilar. 2004. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity aroma compounds in strawberry fruit. *Lebensm-wiss. u-Technol.* **37**, 687-695.
3. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1202.
4. Byun, M. W., H. S. Yoon, H. J. Ahn, K. H. Lee and H. J. Lee. 2000. Quality evaluation of strawberry jam prepared with refined dietary fiber form Ascidian (*Halocynthia roretiz*) tunic. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 1068-1072.
5. Cordenunsi, B. R., M. I. Genoves, J. R. O. Nascimento, N. M. A. Hsaaimorro, R. J. Santos and F. M. Lajolo. 2005. Effect of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chem.* **91**, 113-121.
6. Hatano, T., T. Yasuhara, T. Fukuda, T. Noro and T.

- Okuda. 1989. Phenolic constituents of Licorce. II. structures of Licopyranocoumarin, Licoaryl- coumarin and Glisoflavone, and inhibitory effects of Licorice phenolics on xanthine oxidase. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 3005-3009.
7. Hong, H. D., N. K. Kang and S. S. Kim. 1998. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 1484-1487.
 8. Jeong, E. J., Y. S. Kim, D. Y. Jeong and D. H. Shin. 2006. Yeast selection and comparison of sterilization method for making strawberry wine and changes of physicochemical characteristics during its fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 642-647.
 9. Jones, P. H. 1973. Iodine as an antihypertensive agent. *Ibid.* **3**, 679.
 10. Kang, Y. H., Y. K. Park and G. D. Lee. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 232.
 11. Kelley, W. N. and J. B. 1974. Wyngarden: Enzymology of gout. *Adv. Enzymol.* **41**, 23-28.
 12. Kim, J. G., S. S. Hong, S. T. Jeong, Y. B Kim and H. S. Jang. 1998. Quality changes of yeobong strawberry with CA storage conditions. *Kor. J. Food Sci Technol.* **30**, 871-876.
 13. Kim, M. Y. and S. S. Chun. 2001. Effect of onions on the quality characteristics of strawberry jam. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* **17**, 316-322.
 14. Kuhnau, J. 1976. The flavonoids a class of semiessential food components; their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet* **24**, 117-120.
 15. Lee, G. D., S. K. Kim and J. M. Lee. 2003. Optimization of the acetic acid fermentation condition for preparation of strawberry vinegar. *J. Kor. soc. Nutr.* **32**, 812-817.
 16. Lee, J. M., S. K. Kim and G. D. Lee. 2003. Monitoring on alcohol fermentation characteristics of strawberry. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 679-683.
 17. Marklund, S. and C. Marklund. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallo and a convenient assay for the superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 469-474.
 18. Meyers, K. J., C. B. Watkins, M. P. Pritts and R. H. Liu. 2003. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 6887-6892.
 19. Park, S. J., J. H. Lee, J. H. Rhim, K. S. Kwon, H. G. Jang and M. Y. Yu. 1994. The change of anthocyanin and spreadmeter value of strawberry jam by heating and preservation. *Kor. J. Food Sci Technol.* **26**, 365-369.
 20. Pellegrin, N., R. Roberta, Y. Min and R. E. Catherine. 1998. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extract for antioxidant activities applying 2,2-azino-bis(3-ethylenbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.* **299**, 379-389.
 21. Pryor, W. A. 1986. Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes and reactions. *Ann. Rev. Physiol.* **48**, 657-667.
 22. Rhee, K. S., Y. A. Ziprin and K. C. Rhee. 1981. Antioxidant activity of methanolic extracts of various oil-seed protein ingredient. *Korean J. Food Sci.* **46**, 75-81.
 23. Saul, R. I., P. Gee and B. N. Ames. 1987. Free radicals. DNA damage, and aging. pp. 113. In *modern biological theories aging*, Warner, H. R., Butler, R. L. and Schneider, E. L(eds.), Raven Press, NY, USA.
 24. Stirpe, F. and E. D. Corte. 1969. The Regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **244**, 3855-3861.
 25. Storch, H. and E. Ferber. 1988. Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.* **169**, 262-267.
 26. Wang, S. Y. and H. S. Lin. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 140-146.
 27. Wang, S. Y. and W. Zheng. 2001. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 4977-4982.
 28. Wicklund, T., H. J. Rosenfeld, B. K. Martinsen, M. W. Sundfor, P. Lea, T. Rruun, R. Blomhoff and K. Haffner. 2005. Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar storage conditions. *Lebensm-Wiss. u-Technol.* **38**, 387-392.