

Cellulase와 Pectinase를 이용한 사과껍질 폴리페놀 추출 및 항산화 활성 평가

박민경^{1*} · 김철현²

¹청운대학교 식품영양학과
²단국대학교 생명자원과학대학

Extraction of Polyphenols from Apple Peel Using Cellulase and Pectinase and Estimation of Antioxidant Activity

Min-Kyung Park^{1*} and Cherl-Hyun Kim²

¹Dept. of Human Nutrition and Food Science, Chungwoon University, Chungnam 350-701, Korea

²Dept. of Animal Resource & Science, Dankook University, Chungnam 330-714, Korea

Abstract

The effect of cellulolytic (Viscozyme) and pectolytic (Pectinex) enzyme treatments on extraction of total polyphenol and antioxidant activity of extract from apple peel have been examined. Extraction was carried out with a dosage of 0.1, 0.25, 0.5, 1 and 2% (v/v) of Viscozyme, Pectinex and Viscozyme+Pectinex at 30~50°C for 12~24 hours. Total polyphenol contents (mg/mL) of extracts obtained with 2% of Viscozyme, Pectinex or Viscozyme+Pectinex treatment for 12 hours were 0.30±0.02, 0.16±0.01, and 0.33±0.02 at 30°C, 0.34±0.01, 0.19±0.01, and 0.35±0.02 at 40°C and 0.34±0.01, 0.22±0.01, and 0.38±0.02 at 50°C respectively. The result shows that Viscozyme was more effective than Pectinex at all experimental temperatures, and Viscozyme+Pectinex resulted in the highest phenolic content at 50°C. Antioxidant activities determined by DPPH, ABTS and FRAP assays were increased with concentrations of extracts produced by 2% of Viscozyme+Pectinex treatment, which ranged from 0.10 to 0.40 vit. C eq mM for 5~25 mg of dried matters, from 0.09 to 0.28 vit. C eq mM for 1~5 mg of dried matters, and from 0.06 to 1.85 FeSO₄ eq mM for 1~5 mg of dried matters, respectively.

Key words: apple peel, polyphenols, Viscozyme, Pectinex, DPPH, ABTS, FRAP

서 론

Cellulase 및 pectinase는 식물세포벽성분인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 펙틴 등을 분해하여 젖산 또는 에탄올 발효를 위한 당을 생산하거나(1,2) 과일가공 산업에서 수율 및 여과성을 높이거나 청징화를 개선하기 위해 주로 사용되었다(3). 그러나 최근에는 새로운 가공공정으로써 특히 식품 가공 중 발생하는 부산물로부터 기능성 물질을 추출하기 위해 cellulase 및 pectinase가 이용되고 있다. Stoll 등(4)은 주스생산 공정에서 나오는 당근박으로부터 카로틴 추출을 위한 적정 cellulase : pectinase 비율, 농도 및 pH 등을 보고하였다. 또한, 오렌지 과피, 고구마 및 당근을 cellulase 및 pectinase로 분해하여 세포벽을 파괴함으로써 클로로플라스트 및 세포질의 카로티노이드를 추출할 수 있는 효소농도 및 반응시간의 관계가 보고되었다(5). 토마토 및 토마토가공 부산물로부터 라이코펜 추출수율을 증가시키기 위한 cellulase와 pectinase의 효율성이 비교되었으며(6), 포도주 제조 시

생기는 과피박에 pectinase를 전 처리함으로써 유기용매에 의한 폴리페놀 성분의 추출수율이 증가하는 것으로 보고되었다(7). 효소 전처리가 유기용매에 의한 기능성 성분의 추출수율을 증가시키는 것은 고추의 캡사이시노이드 추출에서도 보고되었다(8).

사과는 식이섬유, 비타민 C 및 폴리페놀 등 다양한 기능성 성분을 함유하고 있으며 심혈관 질환 및 암 등 성인병 예방에 효과가 있는 것으로 알려지고 있다(9,10). 폴리페놀은 사과의 주된 항산화 활성 성분(11,12)으로 특히 과피에 함유량이 높아 과육과 비교하여 품종에 따라 약 2~9배 정도 많은 것으로 알려졌다(13,14). 우리나라에서의 사과 총생산량은 2006년 기준 약 40만 톤이며(15) 가공은 주로 음료 및 잼 등 과육을 이용하는데 가공 중 발생하는 과피의 폴리페놀 성분은 합성소재를 대신할 기능성 물질과 천연 항산화제로써 이용가치가 대단히 크다. 본 연구에서는 cellulase와 pectinase 활성이 있는 효소로 각각 Novozymes사의 Viscozyme과 Pectinex를 사용하여 사과껍질을 분해하고 총 폴리페놀

*Corresponding author. E-mail: mkpark@chungwoon.ac.kr
Phone: 82-41-630-3241, Fax: 82-41-634-8740

추출수율을 증가시키는 효소농도, 반응온도, 반응시간 및 추출액의 항산화 활성정도를 알아보았다.

재료 및 방법

실험재료

Viscozyme(Viscozyme[®] L, 100 FBG/g)과 Pectinex(Pectinex[®] 100L, 5,000 FDU/mL)는 Novozymes A/S (Bagsvaerd, Denmark), 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS), microperoxidase-8(MP-8), 2,4,6-tripyridyl-s-triazine(TPTZ), FeSO₄·7H₂O 및 ascorbic acid(vitamin C)는 Sigma(St. Louis, USA), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid(trolox) 및 FeCl₃·6H₂O는 Aldrich(Steinheim, Germany)로부터 구입하였으며, 기타 시약은 일반 특급시약을 사용하였다.

사과껍질 효소추출

사과껍질은 공장(예산농산, 충남)에서 사과(Fuji)로부터 기계적으로 제거된 것을 사용하였으며, 사과껍질:증류수를 1:1(w/v)의 비율로 혼합하고 blender(Waring Co., USA)로 마쇄한 후 Viscozyme와 Pectinex를 단독 또는 혼합하여 마쇄액에 대하여 0.1%~2%(v/v)가 되도록 첨가하고 진탕배양기(SJ808H, Sejong, Korea)를 이용하여 온도 30°C~50°C, 회전속도 80 rpm의 조건에서 12시간 또는 24시간 반응시켰다. 반응액은 2,322×g(Union 32R, Hanil, Korea)로 20분 원심분리한 후 상등액을 취하여 0.45 mm syringe filter (ADVANTEC, Japan)로 여과하고 여액을 총 페놀 함량 및 항산화 활성 측정의 시료로 사용하였다.

총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 시약 원액을 시료와 혼합하여 페놀 화합물을 발색시키고 760 nm에서 분광광도계로 측정하였다(16). 표준물질로 gallic acid를 사용하였으며 mg/mL로 표시하였다.

항산화 활성

DPPH radical 소거활성은, 건조 고형분 함유량이 5~25 mg 되도록 희석한 시료액 0.5 mL을 0.2 mM DPPH 에탄올 용액 1 mL와 혼합하고 30분간 상온에서 방치한 후 515 nm에서 흡광도(VERSAmix microplate reader, Molecular Devices, USA)를 측정하여 알아보았다(17).

ABTS radical 소거활성은 Arnao 등(18)과 Obon 등(19)의 방법을 응용하여 측정하였다. 즉, 2 mM ABTS, 0.2 mM MP-8 및 0.1 mM H₂O₂를 함유한 1 mL의 PBS(potassium phosphate-buffered saline, 0.1 M, pH 7.4)와 건조 고형분 함유량이 1~5 mg 되도록 희석한 시료액 0.1 mL을 혼합하고 상온에서 6분간 방치한 후 735 nm에서 흡광도를 측정하

였다.

시료의 DPPH 및 ABTS radical 소거활성은 vitamin C 및 trolox를 표준물질로 하여 vit. C eq mM/mg 및 trolox eq mM/mg으로 표시하였다.

FRAP(Ferric reducing antioxidant power) 측정은 Benzie와 Strain(20)의 방법으로 하였다. 즉 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ 및 20 mM FeCl₃·6H₂O를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 FRAP 시약을 제조하였다. 이어서 고형분 함유량이 1~5 mg 되도록 희석한 시료액 0.15 mL과 3 mL의 FRAP 시약을 혼합하고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 FeSO₄·7H₂O를 표준물질로 하여 FeSO₄ eq mM/mg으로 표시하였다.

pH, 총산도 및 °Brix

사과껍질 효소 추출액의 pH는 pH meter(420A, Orion Research, USA)를 이용하여 측정하였으며, 총 산도는 2배로 희석한 시료 10 mL을 취하여 0.1 N NaOH로 적정하고 citric acid 함량(%)으로 환산하여 표시하였다. °Brix는 hand refractometer(Atago, Japan)로 측정하였다.

일반성분

사과껍질 효소 추출액의 수분, 조지방, 조단백질 및 조회분은 식품공전(21) 일반성분시험법에 준하여 측정하였다.

색도

사과껍질 효소 추출액의 색도는 색차계(Color JS555, Color Techno System Co., Japan)를 이용하여 L(lightness), a(redness), b(yellowness) 값을 측정하여 알아보았다.

통계처리

결과는 평균±SD로 표시하였으며, 유의성은 ANOVA와 Tuckey test로 알아보았다.

결과 및 고찰

효소농도, 반응온도 및 시간에 따른 총 페놀 함량 변화

Novozymes 사에 의하면 Viscozyme은 *Aspergillus aculeatus*로부터 분리된 효소 복합체로 cellulase 활성 외에도 arabanase, β-glucanase, hemicellulase 및 xylanase의 활성을 지니며 적정 pH는 3.3~5.5 범위이다. Pectinex는 *Aspergillus niger*로부터 생산된 효소로 pectintranseliminase, polygalacturonase, pectinesterase의 활성이 있으며 사과주스의 펙틴분해 시 pH 4.5에서 최대치의 활성을 보이는 효소이다. Table 1에서 보는 것과 같이 사과껍질 효소 추출액은 pH 3.60±0.21로 두 효소의 적정 pH 범위에 근접하므로 본 실험에서는 특히 효소농도와 반응온도의 영향을 알아보았다.

Fig. 1은 30°C에서 효소반응 시킨 후 측정된 총 페놀 함량의 변화이다. 0.1%, 0.25%, 0.5%, 1% 및 2%(v/v)의 효소 처

Table 1. Physico-chemical characteristics of apple peel extract produced by 2% of Viscozyme and Pectinex treatment at 50°C for 12 hr

pH	Titratable acidity (citrate %)	°Brix	Colors ²⁾		
			L	a	b
3.60±0.21 ¹⁾	0.64±0.04	9.17±0.67	86.5±2.14	-4.28±0.21	29.11±2.13

¹⁾Each value is mean±SD (n=3).

²⁾L: lightness (100=white, 0=black), a: redness (+=red, -=green), b: yellowness (+=yellow, -=blue).

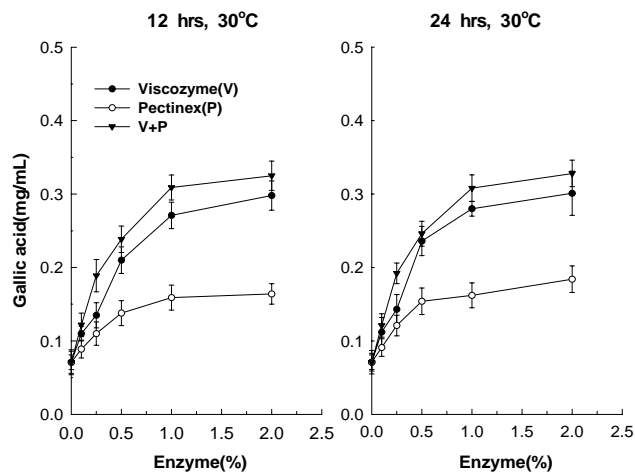


Fig. 1. Total phenolic content extracted with different dosage of enzymes at 30°C for 12 and 24 hr (mean±SD, n=3).

리에 따라 총 페놀 함량이 증가하였으며, 2% 농도로 12시간 처리한 반응액의 총 페놀 함량(mg/mL)을 비교하면 Viscozyme, Pectinex 및 Viscozyme+Pectinex가 각각 0.30 ± 0.02 , 0.16 ± 0.01 및 0.33 ± 0.02 이다. 즉, Viscozyme 또는 Viscozyme+Pectinex가 Pectinex보다 약 2배 가까운 증가를 보이고 있으며($p < 0.01$), Viscozyme+Pectinex의 혼합처리가 Viscozyme 단독처리보다 효과적인 경향을 보이나 통계적 유의성은 없는 것으로 나타났다. 24시간 처리한 반응액의 총 페놀 함량은 0.30 ± 0.02 ($p < 0.01$ vs Pectinex), 0.18 ± 0.02 및 0.33 ± 0.02 ($p < 0.01$ vs Pectinex)로 12시간 처리와 유사하였다.

Fig. 2는 40°C에서 효소처리한 후 측정된 총 페놀 함량 변화이다. 30°C에서 반응시킨 결과와 유사한 양상이었으며 2% 농도로 12시간 처리한 반응액의 총 페놀 함량(mg/mL)을 비교하면 Viscozyme, Pectinex 또는 Viscozyme+Pectinex가 각각 0.34 ± 0.01 , 0.19 ± 0.01 및 0.35 ± 0.02 로 Viscozyme 또는 Viscozyme+Pectinex가 Pectinex 처리와 비교하여 높게 나타났다($p < 0.01$). 24시간 처리의 경우 0.32 ± 0.02 ($p < 0.01$ vs Pectinex), 0.20 ± 0.02 및 0.34 ± 0.02 ($p < 0.01$ vs Pectinex)로 나타났다.

Fig. 3은 50°C에서 효소처리한 후 측정된 총 페놀 함량 변화이다. 2% 농도로 12시간 처리한 반응액의 총 페놀 함량(mg/mL)이 Viscozyme, Pectinex 또는 Viscozyme+Pectinex가 각각 0.34 ± 0.01 , 0.22 ± 0.01 및 0.38 ± 0.02 로 Viscozyme 또는 Viscozyme+Pectinex가 Pectinex 처리와

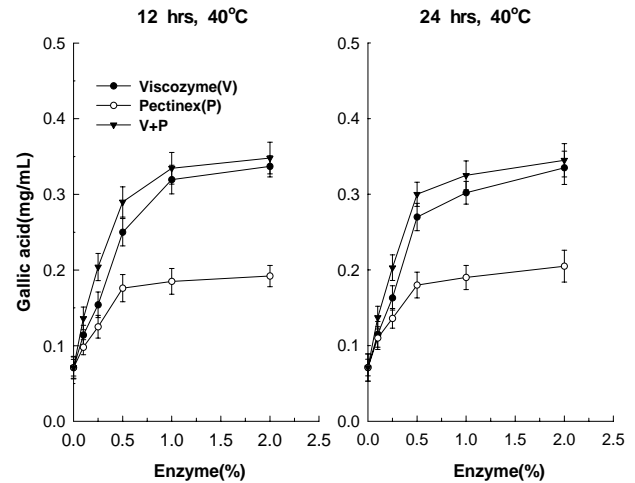


Fig. 2. Total phenolic content extracted with different dosage of enzymes at 40°C for 12 and 24 hr (mean±SD, n=3).

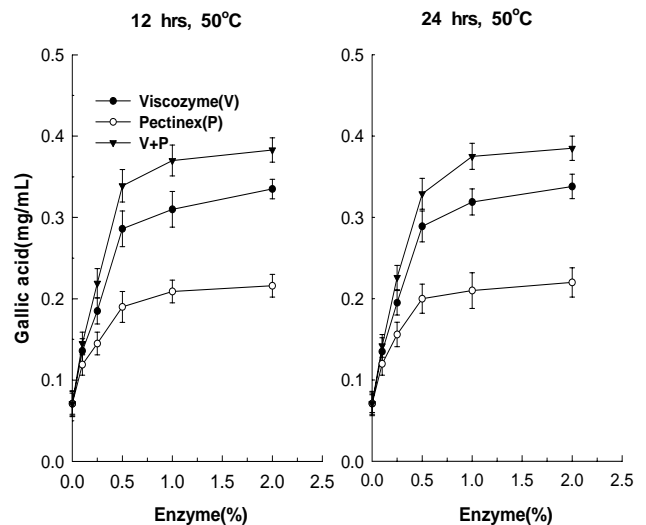


Fig. 3. Total phenolic content extracted with different dosage of enzymes at 50°C for 12 and 24 hr (mean±SD, n=3).

비교하여 높게 나타났으며($p < 0.01$), Viscozyme+Pectinex는 Viscozyme 단독처리보다 효과적인 것으로 나타났다($p < 0.05$). 24시간 처리의 경우 0.33 ± 0.01 ($p < 0.01$ vs Pectinex), 0.22 ± 0.02 및 0.39 ± 0.01 ($p < 0.01$ vs Pectinex, $p < 0.05$ vs Viscozyme)로 12시간 처리와 유사한 결과를 보였다. 결론적으로 50°C에서 Viscozyme+Pectinex 처리가 총 페놀 함량 증가에 가장 효과적인 것으로 나타났다. 12시간과 24시간의 차이는 없어 효소반응이 12시간 전에 최대를 이룬

것으로 사료된다.

식물세포벽은 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스 등의 골격성분이 펙틴기질에 둘러싸여 있는 구조이며(22) 폐놀성 물질은 세포수준에서 균등하게 분포하지 않는데, 불용성 폐놀의 경우 세포벽 성분으로 수용성 폐놀은 액포 등에 존재하는 것으로 알려져 있다(23). 따라서 세포벽 물질의 효소분해를 통해 폐놀성 물질 등 세포내 유용성분을 추출하고자한 여러 연구가 수행되었다(4-8). 특히, 셀룰로오스 및 펙틴질 분해 효소의 병행사용이 상승효과를 보여 세포벽 물질의 분해 및 유용성분의 추출을 촉진하는 것으로 알려졌으며(2,5,24), 1:1의 혼합비율이 효과적인 것으로 보고되었다(4). 이는 펙틴이 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 분해를 방해하기 때문인 것으로 cellulase 및 hemicellulase 활성과 다른 세포벽 성분의 분해를 위해 펙틴질의 분해가 필수적인 것으로 보고되었다(22,25).

또한, 사과 폴리페놀은 (-)-epicatechin을 주된 중합단위로 한 oligomer 또는 polymer 형태의 procyanidins이 주를 이루며 chlorogenic acid, phloretin glucoside, flavonol glycoside 등인데(26,27), procyanidine은 마쇄 및 압착 등에 의한 세포파괴 시 세포벽 성분과 수소결합 및 소수성 결합을 함으로(28,29) 추출수율에 영향을 미칠 수 있는 것으로 보고되었다. 이로 인해 사과주스 생산 시 대부분의 폴리페놀이 사과박에 남게 되며 추출수율을 높이기 위해 셀룰로오스 및 펙틴 분해효소의 사용이 시도되고 있다(30).

사과껍질 효소분해 액의 이화학적 특성

Table 1은 사과껍질 효소추출 액의 pH, 총산도, 당도 및 색도이다. 사과껍질 효소추출 액은 적정산도가 0.64로 가용성 고형분을 약 9.17 함유하며 사과특유의 향이 강하고 투명한 황색을 띤다.

사과껍질 효소분해 액의 일반성분

Table 2는 사과껍질 효소추출 액의 일반성분 분석결과이다. 수분이 91.5%, 단백질 0.2%, 회분이 0.6%이며 지방은

Table 2. General composition of apple peel extract produced by 2% of Viscozyme and Pectinex treatment at 50°C for 12 hr (g/100 g)

Moisture	Crude fat	Crude protein	Ash
91.5	0.0	0.2	0.6

없는 것으로 측정되었다.

사과껍질 효소분해 액의 항산화활성

Viscozyme과 Pectinex를 각각 2% 농도로 혼합처리하고 50°C에서 12시간 반응시킨 사과껍질 효소 추출액의 항산화 활성을 DPPH 및 ABTS radical 소거활성과 FRAP 측정법으로 알아보았다.

DPPH radical 소거활성은 다양한 시료의 항산화활성을 측정하기 위해 광범위하게 사용되는 방법인데, 시료량 5, 10, 15, 20 및 25 mg에서 0.10, 0.21, 0.30, 0.35, 0.40 vit. C eq mM 및 0.11, 0.25, 0.35, 0.41, 0.47 trolox eq mM로 사과껍질 효소추출액의 건조 고형분 농도가 증가함에 따라 DPPH radical 소거활성도 비례적으로 증가하였다(Fig. 4).

본 연구에서 ABTS radical(ABTS^{•+})은 horseradish peroxidase와 H₂O₂작용에 의해 ABTS를 산화시키는 방법으로 생성하였으며, Viscozyme과 Pectinex를 각각 2% 농도로 혼합처리하고 50°C에서 12시간 반응시킨 사과껍질 효소 추출액은 ABTS radical에 대해서도 소거활성을 보였다. 시료량 1, 2, 3, 4, 5 mg에서 0.09, 0.17, 0.23, 0.28, 0.28 vit. C eq mM 및 0.08, 0.14, 0.19, 0.24, 0.24 trolox eq mM로 건조 고형분 농도가 증가함에 따라 활성도가 증가하였으며 4 mg의 시료농도에서 100% 활성을 나타내었다(Fig. 5). ABTS radical은 metmyoglobin/H₂O₂ 또는 potassium persulfate에 의해서도 생성되며(31) 일명 TEAC(trolox equivalent antioxidant capacity) 측정법으로 불리는데 horseradish peroxidase/H₂O₂ 방법은 반응시간이 대단히 빠른 장점이 있으며 다양한 물질의 항산화활성 측정에 사용되었다(19,32).

FRAP 측정법은 Fe³⁺을 Fe²⁺로 환원하는 능력을 측정하는

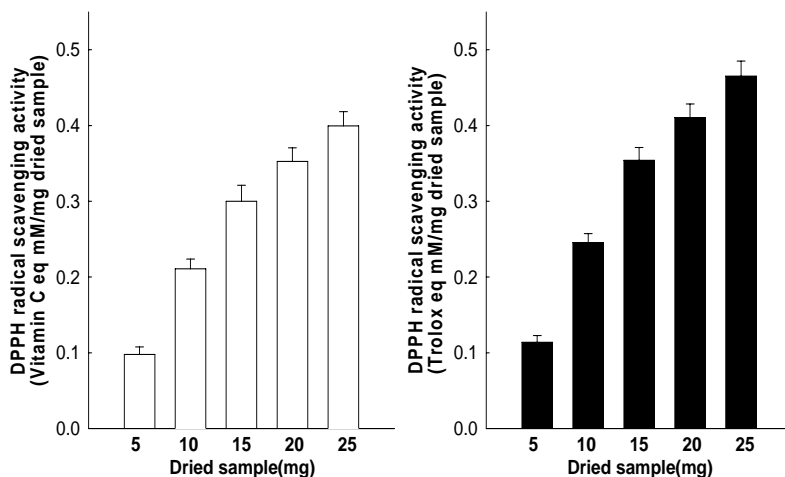


Fig. 4. DPPH radical scavenging activity of apple peel extract produced by 2% of Viscozyme and Pectinex treatment at 50°C for 12 hr (mean ± SD, n=3).

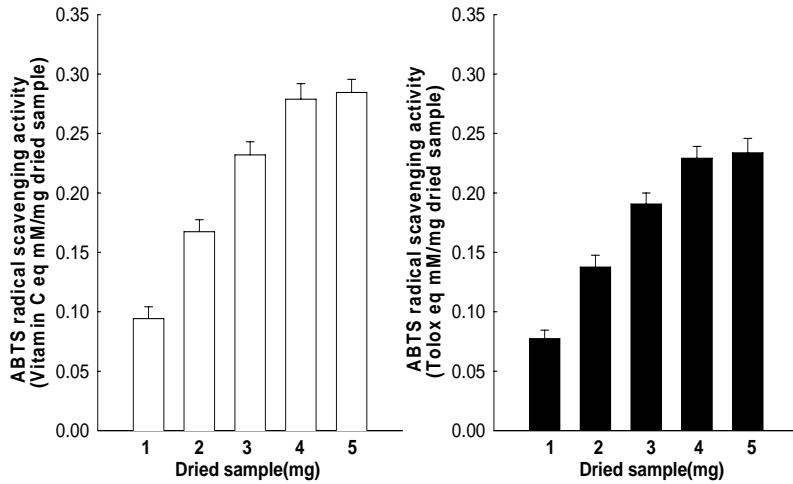


Fig. 5. ABTS radical scavenging activity of apple peel extract produced by 2% of Viscozyme and Pectinex treatment at 50°C for 12 hr (mean \pm SD, n=3).

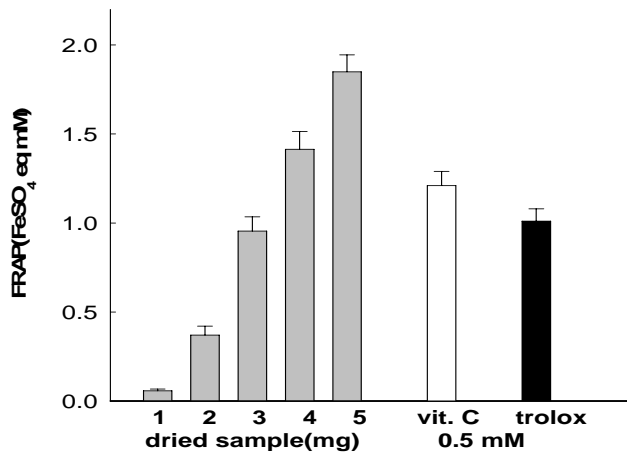


Fig. 6. Ferric reducing antioxidant power of apple peel extract produced by 2% of Viscozyme and Pectinex treatment at 50°C for 12 hr (mean \pm SD, n=3).

방법으로 Fe^{2+} 을 표준물질로 하여 항산화활성을 나타내었으며 0.5 mM의 vitamin C 및 trolox의 환원능과 비교하였다. 시료량 1, 2, 3, 4, 5 mg에서 0.06, 0.37, 0.95, 1.41 및 1.85 $FeSO_4$ eq mM로 시료농도에 따라 Fe^{2+} 의 생성이 증가하였으며, 0.5 mM의 vitamin C 및 trolox의 환원능력이 각각 1.21 및 1.01로 3~4 mg의 시료와 유사하거나 작은 것으로 나타났다(Fig. 6). FRAP 결과는 사과껍질 추출액 성분이 전자공여체로 작용하여 항산화활성을 나타내고 있음을 암시한다.

사과의 주된 항산화활성 성분은 폴리페놀(11,12)로 특히 과피에 다량 함유되어 있는데(13,14), 페놀성 물질은 전자(수소)공여체 또는 금속이온 chelator로 작용하며 항산화 활성을 나타내는 것으로 보고되었다(33).

요 약

본 연구에서는 cellulase와 pectinase 활성을 가진 Visco-

zyme과 Pectinex를 이용하여 사과껍질로부터 폴리페놀을 추출하고 추출액의 항산화활성 정도를 알아보았다. 건조하지 않은 사과껍질과 증류수를 1:1(w/v)로 혼합하여 마쇄한 후 Viscozyme과 Pectinex를 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1% 및 2% (v/v)로 개별 또는 혼합처리하고 30°C~50°C에서 12시간과 24시간 반응시킨 후 총 페놀 함량을 측정하였다. 총 페놀 함량은 효소농도와 반응온도에 따라 증가하였으며, 2% 농도로 12시간 처리한 추출액의 총 페놀 함량(mg/mL)을 온도별로 비교하면 30°C에서는 Viscozyme, Pectinex 및 Viscozyme+Pectinex 처리구가 각각 0.30 ± 0.02 , 0.16 ± 0.01 및 0.33 ± 0.02 , 40°C에서는 각각 0.34 ± 0.01 , 0.19 ± 0.01 및 0.35 ± 0.02 , 50°C에서는 각각 0.34 ± 0.01 , 0.22 ± 0.01 및 0.38 ± 0.02 로 나타났다. 모든 온도에서 Viscozyme이 Pectinex보다 월등히 효과적이며($p < 0.01$), 50°C에서 처리한 경우 Viscozyme+Pectinex가 Viscozyme보다 효과적이었다($p < 0.05$). 그러나 12시간과 24시간에서의 유의적 함량차이는 없어 효소반응이 12시간 전에 최대를 이룬 것으로 사료된다. Viscozyme+Pectinex를 2% 농도로 혼합처리하고 50°C에서 12시간 반응시킨 사과껍질 효소추출액의 항산화활성을 DPPH, ABTS(TEAC) 및 FRAP법으로 측정된 결과 시료농도가 증가함에 따라 항산화활성도 비례적으로 증가하는 것으로 확인되었다.

문 헌

- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A. 1995. The effect of cellulase and hemicellulase plus pectinase on the aerobic stability and fiber analysis of peas and wheat silages. *Animal Feed Sci Technol* 55: 287-293.
- Wilkins MR, Widmer WW, Grohmann K, Cameron RG. 2007. Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes. *Bioresource Technol* 98: 1596-1601.
- Meyer AS, Koser C, Adler-Nissen J. 2001. Efficiency of enzymatic and other alternative clarification and finding

- treatments on turbidity and hydrolysis in cherry juice. *J Agric Food Chem* 49: 3644-3650.
4. Stoll T, Schweiggert U, Schieber A, Carle R. 2003. Process for the recovery of a caroten-rich functional food ingredient from carrot pomace by enzymatic liquefaction. *Innovative Food Sci Emerging Technol* 4: 415-423.
 5. Cinar I. 2005. Effect of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. *Process Biochem* 40: 945-949.
 6. Choudhari SM, Ananthanarayan L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. *Food Chem* 102: 77-81.
 7. Meyer AS, Jepsen SM, Sorensen NS. 1998. Enzymatic release of antioxidants for human low-density lipoprotein from grape pomace. *J Agric Food Chem* 46: 2439-2446.
 8. Santamaria RL, Reyes-Duarte MD, Barzana E, Fernando D, Gama FM, Mota M. 2000. Selective enzyme-mediated extraction of capsaicinoids and carotenoids from chilli guajillo puya (*Capsicum annum* L.) using ethanol as solvent. *J Agric Food Chem* 48: 3063-3067.
 9. Kroon P, Williamson G. 2005. Polyphenol: dietary components with established benefits to health? *J Sci Food Agric* 85: 1239-1240.
 10. Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Helleovaara M, Teppo L, Pukkala E, Aromaa A. 1997. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasm. *Am J Epidemiol* 146: 223-230.
 11. Lee KW, Kim YJ, Kim DO, Lee HJ, Lee CY. 2003. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem* 51: 6516-6520.
 12. Eberhardt MV, Lee CY, Liu RH. 2000. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405: 903-904.
 13. Schieber A, Hilt P, Streker P, Endre HU, Rentschler C, Carle R. 2003. A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. *Innovative Food Sci Emerging Technol* 4: 99-107.
 14. Tsao R, Yang R, Young JC, Zhu H. 2003. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *J Agric Food Chem* 51: 6347-6353.
 15. Director-general of investment evaluation & statistics bureau. 2006. *Agricultural & forestry statistical yearbook*. Director of statistics planning division, ed. Ministry of agriculture & forestry, Republic of Korea. p 116.
 16. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299: 152-178.
 17. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 18. Arnao MB, Cano A, Acosta M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem* 73: 239-244.
 19. Obon JM, Castellar MR, Cascales JA, Fernandez-Lopez JA. 2005. Assessment of TEAC method for determining the antioxidant capacity of synthetic red food colorants. *Food Res Int* 38: 843-845.
 20. Benzie IFF, Strain JJ. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol* 299: 15-27.
 21. Korea Food & Drug Administration. 2007. Food Code.
 22. Carpiat NC, Gibeau DM. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant J* 3: 1-30.
 23. Wink M. 1997. Compartmentation of secondary metabolites and xenobiotics in plant vacuoles. *Adv Bot Res* 25: 141-169.
 24. De Faveri D, Aliakbarian B, Avogadro M, Perego P, Converti A. 2008. Improvement of olive oil phenolics content by means of enzyme formulations: Effect of different enzyme activities and levels. *Biochem Eng J* 10: 1016-1024.
 25. Ben-Shalom N. 1986. Hindrance of hemicellulose and cellulose hydrolysis by pectic substances. *J Food Sci* 51: 720-721.
 26. Guyot S, Marnet N, Laraba D, Sanoner P, Drilleau JF. 1998. Reversed-phase HPLC and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of french cider apple variety (*Malus domestica* var. Kermerrien). *J Agric Food Chem* 46: 1698-1705.
 27. Lu Y, Foo LY. 1997. Identification and quantification of major polyphenols of apple pomace. *Food Chem* 59: 187-194.
 28. Renard CMGC, Baron A, Guyot S, Drilleau JF. 2001. Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences. *Int J Biol Macromol* 29: 115-125.
 29. Le Bourellec C, Guyot S, Renard CM. 2004. Non-covalent interaction between procyanidins and cell wall material: Part I. Effect of some environmental parameters. *Biochim Biophys Acta* 1672: 192-202.
 30. Will F, Bauckhage K, Dietrich H. 2000. Apple pomace liquefaction with pectinase and cellulase: analytical data of the corresponding juices. *Eur Food Res Technol* 211: 291-297.
 31. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
 32. Gliszczynska-Swiglo A. 2006. Antioxidant activity of water soluble vitamins in the TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) and the FRAP (ferric reducing antioxidant power) assays. *Food Chem* 96: 131-136.
 33. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20: 933-956.

(2009년 3월 10일 접수; 2009년 4월 29일 채택)