KOREAN J. FOOD COOKERY SCI.
Vol. 26, No. 2, pp. 171 ~179 (2010)

한국산 구아바 잎 추출물을 첨가한 크래커의 항산화활성

허예진 · 심기현[1] · 최해연 · 김순임[2†]
숙명여자대학교 식품영양학과, [1]전통문화예술대학원 전통식생활문화전공, [2]나노바이오소재센터

Antioxidative Activity of Crackers Made with a Guava(*Psidium guajava* Linn.) Leaf Extract Harvested in Korea

Ye-Jin Heo, Ki-Hyeon Sim[1], Hae-Yeon Choi and Sun-Im Kim[2†]
Department of Food & Nutrition, [1]Graduate School of Traditional Culture and Arts, Traditional Dietary Life Food
[2]Nano Bio-resources Center, Sookmyung Women's University

Abstract

The objectives of this study were to investigate the antioxidative activity of crackers made with a guava(*Psidium guajava* Linn.) leaf extract harvested in Korea. Guava leaf extraction using boiling water showed significantly higher antioxidative activities than extracting using 70% ethanol based on the higher total phenolic contents, FRAP, and ABTS assays($p<0.05$). The crackers containing 1% guava leaf extract, and 0.075% BHT were stored at 63℃ for 7 days for the Schaal oven test, and the oxidative stability(AV, POV), antioxidative activity(DPPH, FRAP, ABTS assay), and sensory evaluation were compared. The crackers containing 1% guava leaf extract were found to have a higher oxidative stability than the control due to a lower acid value and peroxide value after 7 days of storage. The antioxidative activities of the crackers containing 1% guava leaf extract was the highest after 7 days as determined in the DPPH and ABTS assay, and was lower than crackers containing 0.075% BHT after 4 days as assessed by the FRAP assay. In the sensory evaluation, the crackers containing the 1% guava leaf extract had the highest scores in terms of taste, texture, and overall palatability than others at increasing storage time. As a result, the addition of 1% guava leaf extract harvested in Korea increased the antioxidative effect as well as the sensory acceptability of crackers.

Key words: antioxidative activity, cracker, Korean guava leaf, oxidative stability

I. 서 론

최근 국민생활수준의 향상과 서구식 식사패턴으로 인해 과다한 열량과 지방의 섭취가 이루어지고 있는 실정이다. 이러한 지질섭취의 과다는 혈청 내 콜레스테롤이나 중성지방농도의 증가와 같은 지질대사의 비정상화로 비만율이 높아지면서 심혈관 질환 및 당뇨 등의 성인병의 원인이 되어 현재까지 모든 이들의 관심사가 되고 있다(Nam JH 1994). 식품의 품질은 산소에 의한 지질산화가 주된 문제이며, 특히 불포화 지방산을 많이 함유하는 식품은 쉽게 산화되어 과산화물질을 생성하여 산화분해나 중합반응에 의한 산패취와 독성의 발현에까지 이른다(Ha KH 1995). 지질의 산화억제 방법으로는 BHT, BHA, TBHQ 등의 산화방지제의 첨가가 있으며 항산화 효과는 뛰어나지만 변이원성 및 발암성 등이 문제시되어 소비자들의 거부 반응으로 인해 그 사용이 감소되고 있는 추세이다. 따라서 항산화능이 높고 안전성이 확보된 천연 항산화제에 대한 많은 연구가 필요하나 천연 항산화제의 개발과 산업화의 어려움으로 식품업계에서는 합성 항산화제를 주로 사용하고 있다(Park BH 2005). 그러나 천연 항산화제는 산화억제 또는 방지 기능이 생체 내에서도 발현될 수 있고 여러 가지 생리적 장애를 억제하는 것으로 알려져 있어 건강기능적인 측면에서 관심의 대상이 되고 있다(Kim JS 등 2006). 식물성 과채류는 vitamin C, vitamin E, β-carotene 등의 비타민을 비롯하여 페놀성 화합물들이 기능성을 나타낸다(Cao G 등 1996).

구아바(*Psidium guajava* Linn.) 잎에는 정유(essential oil)가 풍부하며, 그 외 테르페노이드, 플라보노이드, 탄닌계의 페놀성 화합물이 다량 함유되어 있다고 알려져 있어 그 기능성이 크게 기대되고 있다(Jaiarj P 등 2000). 구아

†Corresponding author: Sun Im Kim, Nano Bio-resources Center, Sookmyung Women's University
Tel: 02-710-9471
Fax: 02-710-9479
E-mail: sikim@sookmyung.ac.kr

바 잎에 대한 국내 연구로는 저용량 Streptozotocin(STZ)으로 유도된 당뇨모델 생쥐에서 발효 구아바 잎 추출물의 고혈당 억제 효과(Jin YJ 등 2006), 구아바 잎의 가공방법에 따른 품질특성(Hong CS 등 2007), 구아바 잎 추출물의 항산화 활성과 성분 분석(Yang HJ 등 2008), STZ으로 유도된 당뇨모델 생쥐에서 구아바 잎 추출물의 항당뇨 효과(Roh SG 등 2009)등의 연구가 보고되어 있다. 하지만 구아바 잎의 활용성 증대를 위해 추출물을 식품에 첨가하여 그 효과를 검증한 연구는 전무한 실정이다.

대개 구아바 잎은 차로 우려먹음으로써 폴리페놀 성분에 의해 고혈당 저하, 항산화 효과를 나타낸다(Deguchi Y 등 2000). 이러한 구아바 잎은 녹차와 향미가 유사하나 떫은맛이 더 강하여 차로 먹을 때 거부감 줄 수 있으며, 폴리페놀을 함유하는 녹차 등은 후미에 쓴맛을 지니고 있어 식품에 첨가할 시 항산화력과 관능적인 요소를 만족하여야한다(Park KB 등 2003). 제과류 중 크래커는 건과자에 속하고 미생물적인 변패가 적어 저장성이 우수하여 현대인 중에서도 특히 어린이, 젊은 여성, 노인 등의 주된 간식으로 애용되고 있다. 그러나 제과에도 일반적인 평범한 맛보다는 새로운 맛과 향기를 즐기려는 사람들이 많아지고 있다(Kim HD와 Jeong MS 2006).

따라서 본 연구는 구아바 잎 추출물을 첨가하여 제조한 크래커에 대해 BHT를 첨가한 크래커와 함께 비교하기 위해 Schaal oven법에 의해 산화안정성을 시험하면서 항산화 활성측정 및 관능검사를 통해 맛과 품질이 우수한 식품을 개발하여 천연항산화제 및 기능성 식품으로서의 가능성을 찾고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 제조방법

1) 실험재료

구아바(*Psidium guajava* Linn.) 잎은 경상남도 의령 구아바 농장에서 2008년 3월에 수확된 건조품을 구입하여 시료로 사용하였다. 열로 인한 변성방지를 위해 구아바 잎 50 g을 1 cm 크기로 세절하여 1분 이내로 마쇄하여 표준망체 no. 20(850 μm mesh, Chung Gye Industrial MFG. Co., Seoul, Korea)에 통과시킨 후 -20℃에 저장하면서 사용하였다. 크래커 제조에 사용된 박력분과 설탕은 CJ 제일제당㈜, 식용유는 ㈜사조해표 포도씨유, 소금은 청정원 100% 천일염을 구입하여 사용하였다. 항산화 실험에 사용한 Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, trolox, 2,2'-azino-bis-(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt($ABTS^+$), potassium persulfate, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine(TPTZ), 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol(BHT) 등의 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 이외에 실험에 사용된 시약은 1등급을 사용하였다.

2) 구아바 잎 추출물의 제조

분말화한 구아바 건잎을 물과 에탄올 추출물간에 항산화능을 측정하여 비교하기 위해 열수와 70% 에탄올을 이용하여 추출하였다. 건잎 분말 10 g당 용매 200 mL씩 가한 후 열수 추출은 Chen HY와 Yen GC(2007)의 방법에 준하여 100℃ 증류수에 5분간 침지시켜 추출하였고, 70% 에탄올 추출은 80℃에서 3시간 동안 환류 냉각 추출하였으며, 모두 2회 반복 추출하였다. 각 추출액은 Whatman No. 4로 여과하여 60℃에서 감압 농축한 후 동결 건조시켜 4℃에 저장하면서 사용하였다.

3) 크래커의 제조

크래커 제조시 구아바 잎 추출물의 첨가량은 예비 실험 및 관능평가를 통하여 선정된 총 배합량의 1%를 첨가하였다. 구아바 잎 추출물을 첨가한 크래커 반죽의 배합비는 밀가루 100 g, 식용유 20 g, 물 20 g, 설탕 20 g, 소금 0.5 g, 난황 1개(15 g)를 배합하여 대조군을 제조하였고, 실험군은 대조군의 재료에서 밀가루를 제외한 나머지 재료의 조건은 모두 고정한 후 구아바 잎 추출물을 밀가루 중량에서 감하여 첨가하였으며, 합성항산화제인 BHT(butylated hydroxytoluene)는 식품공전에 제시된 산화방지제 규격인 0.075%로 첨가하여 동일하게 제조하여 비교분석에 이용하였다. 제조방법은 물, 설탕, 소금을 혼합해 녹인 후 식용유를 넣어 Kitchen Aid(Model K45SSWH, Hobart Co. Troy, Ohio, USA) 반죽기로 4단에서 3분간 혼합하여 기포를 포집해두고, 난황을 넣어 3분간 혼합하였다. 여기에 밀가루와 구아바 잎 추출물을 넣어 반죽을 하고, 완성된 반죽을 냉장고에서 1시간 숙성시킨 후 적당량을 ATLAS 제면기(OMC-Marcato Co., Ltd., Rome, Italy)로 7, 6, 5단계를 차례로 사용하여 2 mm 두께로 균일하게 폈다. 이것을 가로 4 cm, 세로 4 cm 로 잘라 정사각형으로 성형한 후 포크로 1 cm 간격으로 구멍을 내어 균일한 두께를 유지하도록 하였다. 150℃로 예열한 convection oven(컨벡스EC(GO1815EC), ㈜컨벡스코리아, 파주, 경기, 한국)에 성형된 반죽이 올려진 철판을 넣고 14분간 구운 후 실온에서 1시간 냉각한 후 실험에 사용하였다. 저장기간 중 크래커는 지퍼락 비닐팩에 밀봉 포장하여 63℃ drying oven에서 7일간 저장하며 실험하였다.

2. 구아바 잎 추출물의 항산화 활성

1) Total phenol content

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(Swain T 등 1959)을 이용하여 측정하였으며, gallic acid를 표준물질로 사용하여 계산하였다. 추출물(150 μL), 증류수(2,400 μL), 그리고 2 N Folin-Ciocalteu reagent(150 μL)을 유리 시험관에 넣어

vortex를 이용하여 교반한 뒤 3분간 방치하고 1 N sodium carbonate(Na_2CO_3) 300 μL을 가하여 상온, 암소에서 2시간 동안 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer(V-530, Jasco, Tokyo, Japan)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo, USA)를 사용하여 검량선을 작성한 후 gallic acid equivalents(GAE; g/ 100 g extract)로 표현하였다.

2) Free radical scavenging activity(DPPH)

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl($DPPH^{\cdot}$) 라디칼에 대한 소거효과는 Blios MS(1958) 방법에 준하여 평가하였다. 에탄올에 녹인 일정한 농도의 추출물 4 mL에 DPPH 라디칼(1.5×10^{-4} M) 1 mL를 가하였다. 혼합물을 교반하여 암소에서 30분간 방치한 다음 UV/VIS spectrophotometer (V-530, Jasco, Tokyo, Japan)로 517 nm에서 흡광도를 측정하여 $DPPH^{\cdot}$ 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

3) Ferric reducing antioxidant power(FRAP)

FRAP assay는 Thaipong K 등(2006)방법에 준하여 실험하였다. Stock solution으로 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine) solution, 그리고 증류수에 용해시킨 20 mM $FeCl \cdot 6H_2O$를 제조하여 사용직전에 이들을 10 : 1 : 1의 비율로 혼합하여 37℃, 가온(warming)해준 뒤 FRAP 시약(working solution)으로 사용하였다. 희석한 추출물 150 μL에 2,850 μL의 FRAP시약을 혼합하여 암소에서 30분간 반응시킨 다음 UV/VIS spectrophotometer(V-530, Jasco, Tokyo, Japan)로 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) $ABTS^+$ radicals scavenging activity

$ABTS^+$ 라디칼 소거활성은 Siddhuraju P와 Becker K (2007)의 방법에 준하여 측정하였다. 각각 증류수에 용해한 7.0 mM $ABTS^+$ 용액과 2.45 mM Potassium persulfate용액을 혼합하고 $ABTS^+$ 라디칼을 만들기 위해 12～16시간 동안 암소에 반응시켰다. 라디칼이 생성된 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 0.70±0.02 되도록 에탄올로 희석하였다. $ABTS^+$ 용액 900 μL에 추출물 100 μL를 첨가하여 6분 후 상온에서 UV-VIS spectrophotometer(734 nm)를 이용하여 흡광도를 측정하여 $ABTS^+$ 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

3. 저장기간에 따른 구아바 잎 크래커의 산화안정성

1) 크래커의 유지 추출

한국산 구아바 잎의 열수 추출물을 1% 첨가한 구아바 잎 크래커, 대조군, 그리고 0.075% BHT를 첨가한 크래커를 신속 산패 측정법인 Schaal oven test에 의해 유지 산패의 발생 측정온도인 63℃의 drying oven에서 저장하면서 7일 동안 동일한 방법으로 24시간마다 실험하였다. 시료의 유지 추출은 ethyl ether 침지법을 사용하였다. 각 시료 180 g에 ethyl ether를 900 mL을 가하여 2시간 동안 shaking incubator(4℃, 100 rpm)에서 교반하여 추출하였다. 추출한 유지를 즉시 여과한 후 여액을 감압 농축하여 ethyl ether를 완전히 제거한 후 분석용 시료로 하였다.

2) 산가(Acid value)

크래커의 산가는 식품공전에 의거하여 분석하였다. 2 g 유지를 200 mL 삼각플라스크에 취한 후 에테르-에탄올 용액(2 : 1, v/v) 100 mL를 넣어 1분간 교반 하였다. 이를 1% phenolphtalein 시약을 2～3방울 가하고 엷은 홍색이 30초간 지속할 때까지 0.1 N 에탄올성수산화칼륨 용액(Ethanolic KOH 용액)으로 적정하였다. 동시에 시료를 가하지 않은 조건에서 똑같은 방법으로 공시험을 실시하여 AV를 산출하였다.

3) 과산화물가(Peroxide value)

크래커의 과산화물가는 식품공전 방법을 실험에 맞게 변형하여 측정하였다. 추출한 유지 1 g을 250 mL 삼각플라스크에 취한 후 초산·클로로포름(3 : 2) 25 mL에 녹이고 포화요오드칼륨용액 1 mL를 가해 가볍게 흔들어 섞은 다음 어두운 곳에 10분간 방치하고 물 30 mL를 가하여 세게 흔들어 섞은 다음 1% 전분시액 1 mL를 지시약으로 하여 0.01 N 티오황산나트륨액으로 적정하였다. 동시에 따로 공시험을 실시하여 POV를 산출하였다.

4. 저장기간에 따른 구아바 잎 크래커의 항산화능

1) 크래커의 추출

크래커를 24시간 마다 채취하여 마쇄한 시료 10 g에 에탄올 90 mL를 가하여 shaking incubator(4℃, 100 rpm)에서 3시간 동안 추출하였다. 그 후, 추출액은 Whatman No. 2 여과지를 이용하여 여과한 후 여액을 2% 농도가 되도록 희석하여 항산화능 측정에 사용하였다.

2) 크래커의 항산화 활성

구아바 잎 크래커의 항산화능은 자유 라디칼 소거 활성(DPPH), ferric reducing antioxidant power(FRAP), $ABTS^+$ 라디칼 소거활성을 측정하였으며, 구아바 잎 추출물의 항산화능 분석과 동일한 방법을 사용하여 측정하였다.

5. 저장기간에 따른 구아바 잎 크래커의 관능검사

저장기간에 따른 관능검사는 신속 산패 측정법인 Schaal oven test에 의해 유지 산패의 발생 측정온도인 63℃의 drying oven에서 저장하면서 관능평가의 경험이 있는 식

품영양학과 전공 대학원생 8명을 선정하여 실시하였다. 검사하기 전, Schaal oven test에 대해 인지하도록 충분히 설명하고 훈련한 후 패널들이 공복을 느끼는 정오시간을 피해 오전 10～11시까지 매일 저장된 시료의 관능검사를 실시하였다. 이 때 모든 시료들은 난수표에 의해 3자리 숫자로 매겨졌으며 각 시료를 흰 용기에 담아 제시하였다. 평가내용은 크래커의 산패정도에 영향을 미치는 색(Color), 맛(Taste), 향기(Flavor), 질감(Texture), 전반적인 기호도(Overall palatability)를 7점 척도법에 의해 실시하였다.

6. 통계 처리

모든 실험의 결과수치는 3반복 측정한 평균±표준편차로 기록하였으며, 시료간의 유의성 검증은 구아바 잎 추출물의 항산화 활성의 경우 SAS program을 이용한 t-test ($p<0.05$)를 실시하여 유의적인 차이를 비교하였으며, 그 외 모든 시료는 SAS program을 이용한 ANOVA test를 실시한 후 사후검증은 Duncan's multiple range test($p<0.05$)를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 구아바 잎 추출물의 항산화 활성

열수와 70% 에탄올로 추출한 구아바 잎 추출물을 t-test로 분석하여 비교한 총 페놀 함량, DPPH, FRAP, ABTS assay의 측정 결과는 Table 1과 같다. 총 페놀 함량은 열수 추출물이 23.33±0.46 g GAE/100 g로 70% 에탄올 추출물의 21.63±0.41 g GAE/100 g보다 유의적으로 더 높았다($p=0.0088$). FRAP 측정결과도 열수 추출물이 0.35±0.01로 70% 에탄올 추출물의 0.28±0.00보다 유의적으로 더 높았다($p=0.0006$). $ABTS^+$ 라디칼 소거능 또한 열수 추출물이 46.89±0.50%로 70% 에탄올 추출물의 44.82±0.53%보다 유의적으로 더 높게 나타났다($p=0.0079$). 그러나 DPPH 라디칼 소거능에서는 열수 추출물이 70% 에탄올 추출물과 유의적인 차이가 없었다($p=0.4174$). Lee MJ와 Moon GS(2003)은 한국산 대나무 잎의 항산화 활성 비교 결과에서 열수 추출물이 70% 에탄올 추출물보다 더 높은 결과를 나타낸 바 있다. 또한, Kim JH 등(2005)이 보고한 Basil잎 추출물의 총 페놀 함량과 $ABTS^+$ 라디칼 소거능에서 열수 추출물이 60% 에탄올보다 높았다고 보고하였으며, DPPH에서는 알코올 추출물이 열수 추출물보다 높게 나타난 바 있다. 따라서 본 연구의 총 페놀함량과 FRAP, 그리고 $ABTS^+$ 라디칼 소거능에서 열수 추출물의 결과가 70% 에탄올 추출물보다 유의적으로 더 높은 결과를 얻었기에 열수 추출물을 크래커에 첨가하였다. 이는 열수 추출이 100℃에서 5분간 차를 우려내듯이 추출하므로 구아바 잎 차를 음용하는 것과 유사한 조건이라 볼 수 있으며, 폴리페놀과 같은 항산화물질이 침출되어 체내로 흡수될 가능성이 높다고 사료된다.

2. 저장기간에 따른 구아바 잎 추출물 첨가 크래커의 산화 안정성

1) 크래커의 산가(Acid value)

식품위생법 식품별 기준 및 규격에 의하면 건과류는 식물성 원료를 주원료로 하여 이에 다른 식품 또는 식품첨가물을 가하여 가공 처리한 비스킷, 크래커, 한과류, 스낵과자 등을 말하며, 규격의 성상은 고유의 향미를 가지고 이미, 이취가 없으며, 산가 2.0 이하, 과산화물가 40.0 이하라고 명시되어 있다(식품위생관련법규편찬위원회 2005). 본 연구에서는 식용유를 이용하여 제조한 크래커에 구아바 잎 추출물을 첨가한 것과 아무것도 첨가하지 않은 것, 그리고 합성 항산화제인 BHT를 첨가한 것 등의 세 가지 크래커를 제조하여 63℃ Drying oven에 7일간 저장하면서 24시간마다 산가를 측정하였으며 그 결과는 Fig. 1과 같다. 저장기간이 경과함에 따라 모든 실험군에서 산가가 유의적으로 증가하였으나 저장 3일까지는 완만히 증가하다가 저장 4일부터 급격한 증가를 보였으며 저장 7일에는 저장 6일과 거의 같은 수치를 나타내었다. 저장일이 지날수록 구아바 잎 크래커가 대조군보다 더 낮은 산가를 보여 지질 산화 억제 효과를 보였는데, 특히 저장 5일째 대조군의 경우 2.15로 산가 규격인 2.0을 초과하였으나 구아바 잎 크래커는 1.65, BHT 첨가 크래커는 1.31로 저장 7일까지 규격을 넘지 않아 산화 안정성을 보였다. Park BH 등(2008)이 보고한 바에 의하면, 다시마 분말을 첨가한 매작과의 저장기간에 따른 산가는 대조군보다 다시마 첨가군에서 더 낮아 산화를 지연시킨다고 하였으며, Park BH 등(2001)은 녹차 수용성 추출물로 만든 김부각의 산화안정성에 대한 연구에서 녹차 첨가구가 대조구에 비하여 낮은 산가를 보여주어 항산

Table 1. Antioxidative activity of guava(*Psidium guajava* Linn.)leaf extract

Extract solvent	Total phenolic contents (g GAE/100 g)	DPPH radical scavenging activity(%)	Ferric reducing antioxidant power	$ABTS^+$ radical scavenging activity(%)
Boiling water	23.33±0.46**[1)]	80.89±1.96	0.35±0.01***	46.89±0.50**
70% Ethanol	21.63±0.41**	79.74±0.28	0.28±0.00***	44.82±0.53**

[1)] Mean±S.D.(n=3). **$p<0.01$, ***$p<0.001$

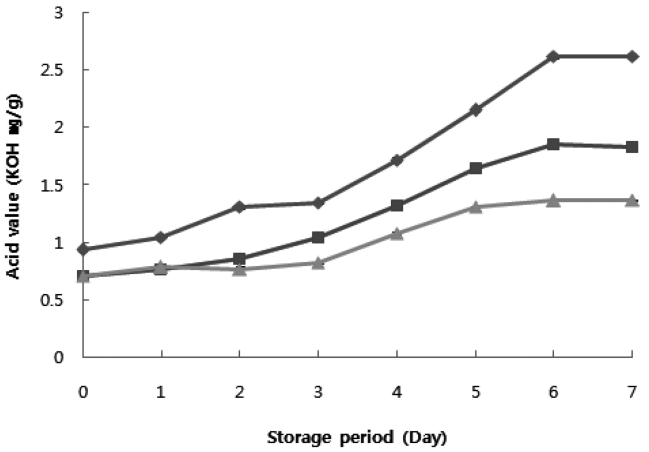

Fig. 1. Change in acid value(AV) of cracker during storage at 63℃.
◆: Control cracker, ■: Cracker added with guava(*Psidium guajava* Linn.) leaf extract, ▲: Cracker added with butylated hydroxytoluene(BHT).

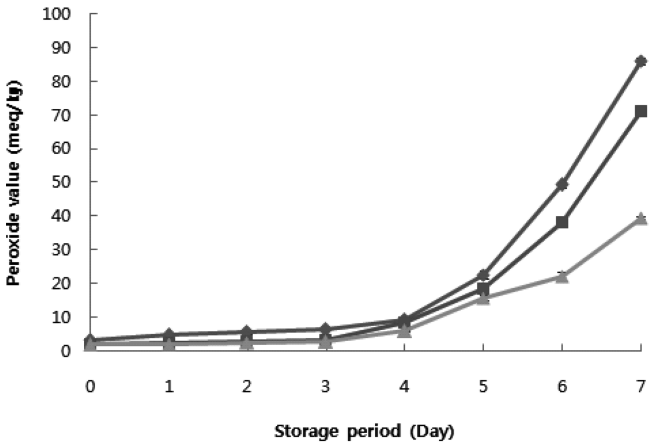

Fig. 2. Change in peroxide value(POV) of cracker during storage at 63℃.
◆: Control cracker, ■: Cracker added with guava(*Psidium guajava* Linn.) leaf extract, ▲: Cracker added with butylated hydroxytoluene(BHT).

화 효과가 높았다고 하였다. 이러한 결과들은 본 연구의 결과와 함께 천연 항산화제를 첨가한 지질함유식품에서 지방의 산가를 낮추는데 효과적임을 알 수 있다. 저장일이 지날수록 구아바 잎 크래커의 경우 BHT 첨가 크래커보다 높은 수치를 나타냈으나 대조군보다 큰 폭(0.23～0.79)으로 낮은 수치를 나타냈으며 유의적인 차이를 보였다. 이는 구아바 잎 추출물이 합성항산화제인 BHT보다 지질산화 안정성 효과가 약하지만 대조군보다 높아 천연 항산화제로서의 효능을 입증해주었다. 따라서 구아바 잎 추출물 내 폴리페놀 성분이 저장기간 동안 크래커 지방질의 자동산화에 의한 유리지방산의 생성을 억제하는데 효과적이라고 생각된다.

2) 크래커의 과산화물가(Peroxide value)

구아바 잎 추출물을 첨가한 크래커의 저장 중 과산화물가는 Fig. 2와 같다. 저장기간이 경과함에 따라 모든 실험군의 과산화물가(POV)가 유의적으로 증가하였으나 구아바 잎 크래커와 BHT 첨가 크래커는 대조군에 비해 증가 폭이 작았다. POV의 증가 경향은 저장 4일까지 완만히 증가하다가 그 이후부터 급격히 증가하였다. 대조군의 경우 저장 6일에 49.20±0.75 meq/kg으로 과산화물가 규격인 40.0을 초과하여 과자로서 가치가 상실되었으나 구아바 잎 크래커와 BHT 첨가 크래커는 저장 6일까지 규격을 초과하지 않아 산화안정성을 보였다. 특히 저장 7일째 구아바 잎 크래커의 POV가는 대조군보다 15 meq/kg 더 낮은 수치를 보였다. 따라서 63℃ 항온기에서 저장한 구아바 잎 크래커의 산화안정성은 저장 6일까지 가능하리라 본다. 이는 BHT 첨가 크래커보다 지질 산화억제활성이 낮지만 대조군보다 높게 나타났으므로 산화안정성을 보이며 이로써 저장성을 높일 수 있다고 생각한다.

Chung HJ(2009)가 보고한 자색고구마 첨가 쿠키를 65℃에서 저장하면서 과산화물가를 측정한 결과 저장 후 첨가군의 POV가 대조군에 비해 8.68～17.04 meq/kg 더 낮은 수치를 나타냈으며, 이러한 과산화물 형성 억제 정도는 자색고구마 속에 존재하는 폴리페놀과 관련되어 있어 천연 항산화제로서 역할을 하며 저장기간을 향상시킨다고 하였다. 또한, Park KB 등(2003)의 tea polyphenol을 첨가한 아몬드 크래커의 과산화 억제 연구에 의하면 25℃와 35℃에서 저장성 실험을 실시한 결과, 과산화물 억제활성이 우수하였으며 폴리페놀 화합물인 catechin류가 항산화 효과에 작용하였다고 보고하였다. 또 다른 연구에 의하면, Hong CS 등(2007)은 구아바 잎을 발효, 증숙, 볶음처리하여 총 페놀성 화합물 함량을 측정하였는데, 구아바 잎을 180℃에서 10분간 볶음처리한 것이 가장 높게 나타났다고 보고하였다. 이러한 구아바 잎 내의 다량의 페놀화합물은 150～180℃의 고온 처리에서도 항산화력이 손실되지 않고 남아 작용하는 것으로 사료된다.

3. 저장기간에 따른 구아바 잎 추출물 첨가 크래커의 항산화 활성

1) Free radical scavenging activity(DPPH)

제조한 크래커를 63℃ Drying oven에 저장하면서 24시간마다 에탄올을 시료의 10배수 가해 4℃ shaking incubator에서 3시간 추출한 후 DPPH 소거능을 측정하였다. 한국산 구아바 잎을 첨가한 크래커는 저장 7일 동안 DPPH 라디칼 소거능 변화에 대한 결과를 Fig. 3과 같이 나타냈다. 제조한 크래커에 에탄올을 가하여 2% 농도가 되도록 희석하여 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 대조군이 44.50±1.17%, BHT 첨가 크래커가 46.76±2.45%의 라디칼 소거효과를 보인 반면 구아바 잎 크래커의 항산화

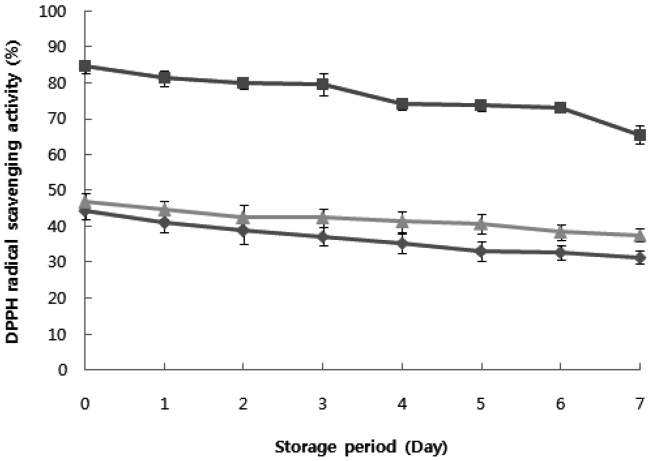

Fig. 3. Change in DPPH radical scavenging activity of cracker during storage at 63℃.
◆: Control cracker, ■: Cracker added with guava(*Psidium guajava* Linn.) leaf extract, ▲: Cracker added with butylated hydroxytoluene(BHT).

활성은 84.61±1.84 %로 대조군과 BHT 첨가 크래커보다 약 2배의 항산화 효과를 보였다. 모든 시료가 저장일이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거활성(%)이 유의적으로 감소하는 경향을 보였으며, 구아바 잎 크래커는 저장 4일과 7일에서 다소 큰 폭으로 감소하였음에도 불구하고 저장 7일에도 65.52±2.60%로 강한 항산화력을 나타냈다. 대조군과 BHT 첨가 크래커는 저장 4일까지 유의적인 차이를 보이지 않다가 저장 5~7일까지 BHT 첨가 크래커가 40.76±2.85, 38.38±2.04, 37.50±1.82%로 대조군보다 소거능이 다소 유의적으로 높았으나 구아바 잎 크래커만큼 유의적으로 높지는 않았다.

Lee KS 등(2006)은 연잎 70% 에탄올 추출물을 유기용매별로 분획한 분획물을 본 실험에서 사용한 DPPH 분석과 동일한 방법에 의해 전자 공여능을 측정하여 BHT와 함께 비교하였는데, BHT의 IC_{50}은 9.7 μg/mL으로 나타났다. 본 크래커 제조에 사용된 구아바 잎 열수 추출물은 10 μg/mL에서 80.89%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었으며, IC_{50}은 6.18 μg/mL으로 BHT보다 더 우수한 전자공여능을 나타냈다. 이에 구아바 잎 추출물을 첨가한 크래커에서도 그 효능을 나타낸 것으로 보이며 이러한 자유 라디칼 소거 효과는 폴리페놀함량과 높은 상관관계가 있으므로 영향을 준 것으로 사료된다.

2) Ferric reducing antioxidant power(FRAP)

FRAP assay는 철이 환원되는 항산화력을 측정하는데, pH 3.6에서 ferric(Fe^{3+}) TPTZ complex가 ferrous(Fe^{2+}) 형태로 환원될 때 발생하는 청색파장을 593 nm에서 측정하여 환원력을 계산하는 방법으로 라디칼 소거방식의 항산화 측정법과는 다른 메커니즘의 항산화 측정법이다(Ku KM 등 2009). 한국산 구아바 잎 추출물 첨가 크래커의 저장 7일 동안의 항산화 활성을 환원력으로 살펴보았다. 추출물의 전자공여능을 평가하기 위해 Fe^{3+}을 Fe^{2+}형태로 환원시키는 능력의 변화를 살펴본 결과는 Fig. 4와 같다. 모든 시료가 저장일이 지남에 따라 환원력이 점차 유의적으로 감소하였다. 제조한 크래커의 항산화력은 제조 직후 대조군이 0.30±0.01이었으며, BHT 첨가 크래커가 0.54±0.16, 구아바 잎 크래커가 0.64±0.02로 대조군보다 2배 이상의 매우 강한 환원력을 나타냈다. 그 이후 저장 4일까지 구아바 잎 크래커의 환원력이 유의적으로 높은 결과를 보이며 감소하지만 저장 4일에 대조군이 0.27±0.04일 때, 구아바 잎 크래커가 0.47±0.06, BHT 첨가 크래커가 0.46±0.02으로 대조군보다 높은 환원력을 보였으며, 구아바 잎 크래커가 BHT 첨가 크래커보다는 약간 낮은 수치로 저장 5~7일까지 감소하고 있다. 이는 구아바 잎 추출물내의 페놀 화합물의 환원력이 크래커 제조당일에는 BHT보다 뛰어나지만 저장일에 따른 항산화활성 유지력 측면에서 BHT보다 약하다고 생각된다. DPPH 라디칼 소거능 측정에서 구아바 잎 크래커가 BHT 첨가 크래커보다 약 2배의 강한 항산화 효과를 보이는데 비해 환원력에서의 항산화 효과는 BHT 첨가 크래커와 유사한 것으로 보아 구아바 잎 추출물은 크래커에 첨가할 경우 환원력보다 자유 라디칼 소거 활성 측면에서 우수한 기능성을 가지고 있다고 사료된다. 그러나 환원력 측면에서 BHT와 견줄만한 천연항산화제로서의 기능성은 가지고 있다고 판단된다.

3) $ABTS^{+}$ radical scavenging activity

크래커의 항산화활성을 $ABTS^{+}$ 라디칼 소거능으로 분

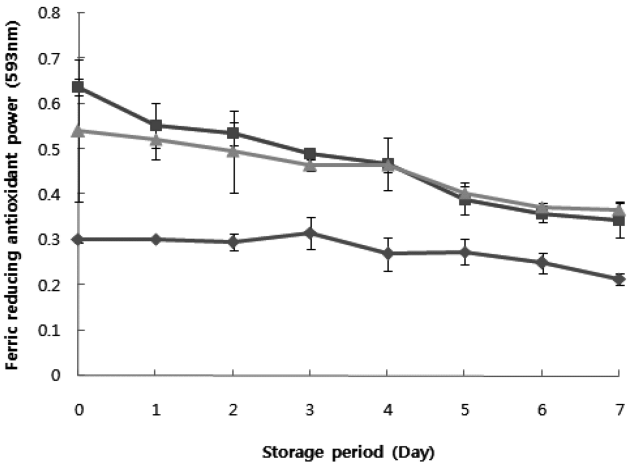

Fig. 4. Change in ferric reducing antioxidant power (FRAP) of cracker during storage at 63℃.
◆: Control cracker, ■: Cracker added with guava(*Psidium guajava* Linn.) leaf extract, ▲: Cracker added with butylated hydroxytoluene(BHT).

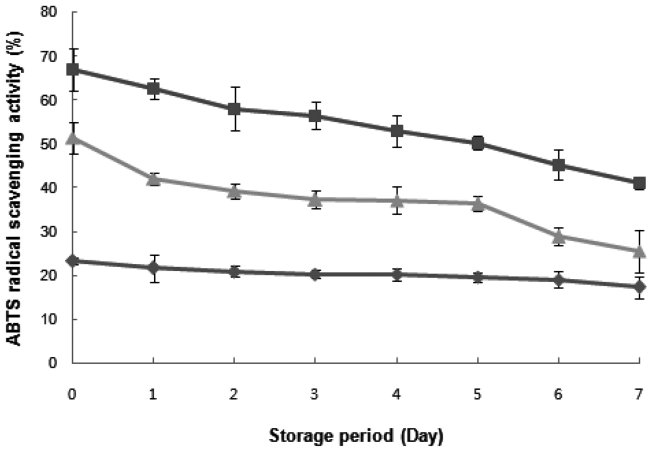

Fig. 5. Change in ABTS^{+} radical scavenging activity of cracker during storage at 63℃.
(◆: Control cracker, ■: Cracker added with guava(*Psidium guajava* Linn.) leaf extract, ▲: Cracker added with butylated hydroxytoluene(BHT).

석한 결과는 Fig. 5와 같다. 크래커 제조 당일에 대조군의 ABTS^{+} 라디칼 소거활성이 23.30±0.74%로 낮은 반면 구아바 잎 크래커는 66.98±4.77%로 약 3배의 높은 소거력을 보였으며, BHT 첨가 크래커는 51.45±3.52%의 소거력을 보였으나 구아바 잎 크래커보다 다소 약했다. 모든 시료가 유의적으로 감소하고 있으며, 저장일이 끝날 때까지 구아바 잎 크래커, BHT 첨가 크래커, 대조군의 순으로 구아바 잎 크래커가 유의적으로 높은 소거능을 나타냈으며, 구아바 잎 크래커는 저장 5일까지 50% 이상의 소거능을 보이고 있어 크래커 첨가에 있어서 BHT 합성 항산화제보다 항산화력이 훨씬 뛰어남을 보여주었다. 이는 라디칼 소거력에 대한 강력한 항산화능을 보여주었으며, FRAP 환원력에 의한 항산화 효과보다 뛰어남을 증명해 주므로 구아바 잎 추출물은 크래커에 첨가할 경우 환원력보다 라디칼 소거 활성 측면에서 우수한 기능성을 가지고 있다고 사료된다.

4. 저장기간에 따른 구아바 잎 크래커의 관능검사

본 연구에서 제조한 크래커를 63℃에서 7일 동안 저장하면서 관능검사와 산화안정성 실험을 실시하였는데 산화안정성 실험결과 저장 5일에서 대조군이 식품안전규격으로 제시된 산가 2.0, 과산화물가 40.0 이하를 초과하였다. 따라서 관능검사는 크래커간의 관능적 기호도 비교가 가능한 저장 4일까지 24시간 간격으로 색, 향미, 맛, 조직감, 전반적인 기호도 항목을 7점 척도법에 따라 실시하였으며, 그 결과는 Table 2와 같다. 크래커의 색과 향미는 제조한 당일을 제외하고 유의적인 차이가 없었지만 구아바 잎 추출물 1% 첨가 크래커가 색에서 BHT 첨가 크래커보다 점수가 낮았으며 향미에서는 저장일이 지날수록 높은 점수를 나타냈다. 구아바 잎 추출물 1% 첨가 크래커는 맛, 조직감, 전반적인 기호도에서도 점수가 유

Table 2. Change in sensory evaluation of cracker during storage at 63℃

Sensory characteristics	Samples[1)]	Storage period (Day)				
		0	1	2	3	4
Color	CC	5.71±0.49^{aA}	5.86±0.69^{aA}	5.43±1.27^{aA}	5.00±1.00^{aA}	5.00±0.58^{aA}
	GC	5.14±0.90^{abA}	5.29±1.11^{aA}	5.57±0.98^{aA}	5.43±0.53^{aA}	5.00±0.82^{aA}
	BC	4.57±0.79^{bB}	5.86±0.90^{aA}	5.43±0.53^{aAB}	5.29±1.11^{aAB}	5.29±0.95^{aAB}
Flavor	CC	5.29±0.49^{bA}	5.29±1.11^{aA}	4.86±1.07^{aA}	4.71±1.11^{aA}	4.29±1.25^{aA}
	GC	6.29±0.49^{aA}	5.29±1.38^{aB}	5.29±0.76^{aB}	5.57±0.53^{aAB}	5.14±0.69^{aB}
	BC	5.00±1.00^{bA}	4.71±0.76^{bA}	5.29±1.11^{aA}	5.14±0.90^{aA}	4.43±1.13^{aA}
Taste	CC	5.43±0.79^{bAB}	5.86±1.07^{aA}	5.57±0.98^{aAB}	5.29±0.95^{aAB}	4.57±0.53^{bB}
	GC	6.29±0.76^{aA}	6.00±0.82^{aA}	6.14±0.69^{aA}	5.71±0.76^{aA}	5.86±0.69^{aA}
	BC	5.00±0.58^{bA}	4.71±0.76^{bA}	5.29±0.95^{aA}	4.86±1.07^{aA}	4.43±0.98^{bA}
Texture	CC	6.00±1.15^{aA}	5.71±1.25^{aAB}	5.57±0.53^{abAB}	5.29±0.76^{bAB}	4.71±0.49^{abB}
	GC	5.86±0.38^{aAB}	6.43±0.79^{aA}	6.29±0.76^{aA}	6.43±0.53^{aA}	5.43±0.79^{aB}
	BC	4.57±0.98^{bA}	4.43±0.79^{bA}	4.86±0.69^{bA}	4.86±0.38^{bA}	4.00±0.82^{bA}
Overall palatability	CC	5.57±0.98^{abA}	5.43±0.98^{aA}	5.43±0.53^{aA}	5.29±0.95^{bA}	4.71±0.76^{bA}
	GC	6.29±0.76^{aA}	6.00±0.58^{aA}	6.00±0.58^{aA}	6.00±0.00^{aA}	5.71±0.49^{aA}
	BC	4.71±0.76^{bAB}	4.57±0.53^{bAB}	5.43±0.98^{aA}	4.71±0.49^{bAB}	4.43±0.79^{bB}

[1)] CC: Control cracker, GC: Cracker added with guava(*Psidium guajava* Linn.) leaf extract, BC: Cracker added with butylated hydroxytoluene(BHT).
[a-b] Values with different letters within a column differ significantly by Duncan's multiple range test($p<0.05$).
[A-B] Values with different letters within a row differ significantly by Duncan's multiple range test($p<0.05$).

의적으로 높게 나타났다($p<0.05$). Park BH 등(2005)은 구기자를 첨가한 쿠키의 관능평가 항목 중 색에서 가장 높은 점수를 보인 쿠키가 밝기의 영향을 받는다고 보고한 바 있다. 이에 대조군과 BHT 첨가 크래커가 구아바 잎 크래커에 비해 높은 점수를 받았다고 생각된다. 향미는 구아바 잎 크래커가 대조군과 BHT 첨가 크래커보다 높은 점수를 받아 구아바 잎 추출물 첨가가 향미의 기호도에 영향을 미친다고 볼 수 있다. 맛의 경우 구아바 잎 추출물 자체의 특유의 떫은 탄닌 성분으로 인해 관능점수가 낮을 것으로 예상하였으나 저장하는 동안 대조군과 BHT 첨가 크래커보다 관능점수가 높아 구아바 잎 추출물 자체의 떫은맛이 관능적기호도에 영향을 미치지 않는다고 사료된다. Park KB 등(2003)은 tea polyphenol을 아몬드 크래커에 첨가하여 관능검사한 결과 저장하는 동안 대조군에 비해 유의적으로 높은 값의 기호도를 나타내 tea polyphenol의 후미의 쓴 맛이 아몬드 크래커에서 영향을 주지 않는 것으로 간주한 바 있다. 조직감은 저장 1일부터 구아바 잎 크래커, 대조군, BHT 첨가 크래커의 순으로 높았으며, 저장일에 따른 유의성은 나타나지 않았다. 전반적인 기호도 면에서 저장 1일까지는 대조군과 구아바 잎 크래커가 BHT 첨가 크래커보다 유의적으로 높은 점수를 받았으나 저장 2~4일은 구아바 잎 크래커만 대조군과 BHT 첨가 크래커에 비해 유의적으로 높은 점수를 받았다. 이러한 결과는 구아바 잎 추출물 첨가로 인해 지질의 산패취를 줄이고 느끼한 향미가 감소되어 식감에 영향을 주었다고 생각된다. Hong CS 등(2007)은 구아바 잎의 가공방법에 따른 품질 특성을 연구하였는데, 구아바 잎의 떫은맛으로 인해 전반적으로 관능평점이 낮게 나타나 구아바 잎을 사용한 가공제품 개발에 있어 떫은맛을 감소시킬 수 있는 방안의 연구가 필요하다고 하였다. 본 연구에서 열수를 이용해 추출한 구아바 잎 추출물을 첨가한 크래커는 떫은맛이 영향을 미치지 않아 제품개발에 있어서 의미가 있다고 생각된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 한국산 구아바 잎의 활용성을 높이기 위해 구아바 잎 추출물을 크래커에 첨가하여 항산화 활성을 증명하고자 하였다. 열수를 이용한 구아바 잎 추출물은 총 페놀 함량, FRAP, $ABTS^+$ 라디칼 소거능실험에서 70% 에탄올 추출물보다 유의적으로 높았다($p<0.05$). 구아바 잎 추출물 1% 첨가한 크래커와 0.075% BHT를 첨가한 크래커는 Schaal oven 법에 의해 63℃ 항온기에서 7일 동안 저장하면서 크래커의 산화 안정성(AV, POV)과 항산화 활성(DPPH, FRAP, ABTS assay), 그리고 관능검사를 실시하여 크래커의 저장성을 비교하였다. 산가(AV)는 저장일이 지날수록 구아바 잎 크래커가 대조군보다 유의적으로 낮은 산가를 나타내 지질 산화 억제 효과를 보였으며, 과산화물가(POV)에서는 저장 6일째에 대조군이 건과류의 과산화물가 규격인 40.0을 넘었으나 구아바 잎 크래커와 BHT 첨가 크래커는 수치가 낮았으므로 과산화물에 대한 지질산화 억제 효과가 있었다. 구아바 잎 크래커의 DPPH 라디칼 소거능, FRAP, $ABTS^+$ 라디칼 소거능은 모두 저장초기에 대조군과 BHT 첨가 크래커에 비해 유의적으로 높은 항산화 활성을 보였다. DPPH와 $ABTS^+$ 라디칼 소거활성은 저장 7일까지 유의적으로 강한 항산화력을 나타냈으나, FRAP 측정 결과에서 저장일이 지남에 따라 대조군보다 높지만 BHT 첨가 크래커보다 다소 낮은 환원력을 보여 구아바 잎 크래커는 환원력보다 라다칼 소거능 측면에서 항산화 활성이 높다고 사료된다. 또한, 구아바 잎 추출물 1% 첨가 크래커의 관능검사 결과는 저장일이 지나도 맛, 조직감, 그리고 전반적인 기호도에서 가장 높은 점수를 받았다. 결과적으로, 한국산 구아바 잎 추출물 1% 첨가 크래커는 관능적 기호뿐만 아니라 건강에 좋은 항산화 효과를 향상시킬 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

식품의약품안정청. 2008. 식품공전. 제5 식품별 기준 및 규격. 서울. p 42-44

식품위생관련법규편찬위원회. 2005. 제2편 식품 등의 기준 및 규격: 4. 식품별 기준 및 규격. p 253. In: 식품위생관련법규. 식품위생관련법규편찬위원회. 효일. 서울

Blios MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181(1958):1199-1200

Cao G, Sofic E, Prior RL. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. J Agri Food Chem 44(11):3426-3431

Chen HY, Yen GC. 2007. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. Food Chem 101(2):686-694

Chung HJ. 2009. Influence of purple sweet potato powder addition on the quality characteristics and oxidative stability of cookies. J Korean Soc Food Sci Nutr 14(1):60-65

Deguchi Y, Osada K, Chonan O, Kobayashi K, Oohashi A, Kitsukawa T, Watanuki M, Ooni M, Nakajima K, Hata Y. 2000. Effectiveness of consecutive ingestion and excess intake of guava leaves tea in human volunteers. J Jpn Council Adv Food Ingred Res(in Japanese) 3:19-29

Ha KH. 1995. Natural antioxidants. J Korean Soc Food Nutr 8(2):135-144

Hong CS, Yoon SR, Lee GD, Kim MO, Kim HK, Kwon JH. 2007. Quality properties of guava (*Psidium guajava* L.) leaves processed using different methods. Korean Soc Food Preserv 14(6):605-610

Jaiarj P, Wongkrajang Y, Thongpraditchote S, Peungvicha P, Bunyapraphatsara N, Opartkiattikul N. 2000. Guava leaf extract

and topical haemostasis. Phytother Res : PTR 14(5):388-391

Jin YJ, Kang SH, Choi SY, Park SY, Park JG, Moon SW, Park DB, Kim SJ. 2006. Effect of fermented guava (*Psidium guajava* L.) leaf extract on hyperglycemia in low dose streptozotocin-induced diabetic mice. J Korea Soc Food Sci Technol 38(5):679-683

Kim HD, Jeong MS. 2006. The foretasting experience of herbs and the sensory characteristics of cookies with rosemary and mints. Korean J Culinary Res 12(2):222-235

Kim JH, Yoon SJ, Lee KH, Kwon HJ, Chun SS, Kim TW, Cho YJ. 2005. Screening of biological activities of the extracts from basil (*Ocimum basilicum* L.) J Korean Soc Appl Biol Chem 48(2):173-177

Kim JS, Kim TY, Kim SB. 2006. Evaluation of the storage characteristics of Kangjung added with grom well extracts. Korean J Soc Food Sci Nutri 35(6):791-800

Ku KM, Kim HS, Kim BS, Kang YH. 2009. Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant constituents. J Appl Biol Chem 52(2): 70-76

Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2006. Antioxidative activity of ethanol extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(2):182-186

Lee MJ, Moon GS. 2003. Antioxidative effects of Korean bamboo trees, *wang-dae*, *som-dae*, *maengjong-juk*, *jolit-dae* and *o-juk* Korean J Food Sci Technol 35(6):1226-1232

Nam JH. 1994. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on tocopherol contents and lipid peroxidation of plasma and tissues in rats fed high fat diet. Korean J Food Nutr 7(4): 373-382

Park BH, Cho HS, Kim KH, Kim SS, Kim HA. 2008. The oxidative stability of solvent extracts of Sea *Tangle* powder (STP) and Maejakgwa made with STP. Korean J Food Cookery Sci 24(4):452-459

Park BH, Cho HS, Park SY. 2005. A Study on the antioxidative effect and quality characteristics of cookies made with *Lycii fructus* Powder. Korean J Food Cookery Sci 21(1):94-102

Park BH, Choi HK, Cho HS. 2001. A study on the oxidative stability and quality characteristics of *Kimbugak* made of aqueous green tea. J Korean Soc Food Sci Nutr 30(3): 557-564

Park KB, Han GH, Kim BY. 2003. Utilization of the natural antioxidants for the anti-peroxidation of almond cracker. J Korean Soc Food Sci Nutr 32(1):131-136

Roh SG, Kim KH, Choi WC. 2009. Antidiabetic effects of leaves extracts of *Psidium guajava* L. and *Lagerstroemia speciosa* L. in STZ-induced Rats. J Life Sci 19(1):40-45

Siddhuraju P, Becker K. 2007. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. Food Chem 101(1):10-19

Swain T, Hillis WE. Oritega M. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. the quantitative analysis of phenolic constituents. J Sci Food Agric 10(1):63-68

Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins Byrne D. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. J Food Compos Anal 19(6-7): 669-675

Yang HJ, Kim EH, Park SN. 2008. Antioxidative activity and component analysis of *Psidium guajava* leaf extracts. J Soc Cosmet Scientists Korea 34(3):233-244

2010년 3월 4일 접수; 2010년 4월 5일 심사(수정); 2010년 4월 5일 채택