

연구노트

숙성조건이 장미꽃 추출물의 페놀화합물(phenolics) 함량과 산화방지 활성에 미치는 영향

김소영 · 고승현 · 윤현근^{1,*}

성신여자대학교 식품영양학과, ¹성신여자대학교 바이오식품공학과

Effects of aging on the phenolics content and antioxidant activities of rose flower (*Rosa hybrida* L.) extracts

Soyoung Kim, Seung Hyun Ko, and Hyungeun Yoon^{1,*}

Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University

¹Department of Food Science and Biotechnology, Sungshin Women's University

Abstract Rose flower is widely used in the preparation of tea and contains a large variety of phytochemicals, including phenolics such as catechin, quercetin, and rutin. The effects of aging on rose (*Rosa hybrida* L.) flower extracts (RFE) were examined under conditions of varying temperature and relative humidity. The total phenolic content, antioxidative activity, and catechin levels were measured to evaluate the effects of temperature and relative humidity on the aging process. Performing the aging process at 30°C under 60% or 90% relative humidity for 24 h significantly increased the total phenolic content and the antioxidant activities of RFE ($p < 0.05$). Additionally, an aging process performed at 30°C and 60% relative humidity for 24 h maximized the extraction rate of phenolics such as catechin and consequently led to increased antioxidative activity of RFE. In summary, this study indicates that the extraction rate of physiologically active phenolic compounds in rose flower can be increased by performing an aging process under optimized temperature and relative humidity conditions.

Keywords: rose, flower, phenolics, catechin, antioxidant

서 론

식물자원에는 다양한 종류의 페놀화합물이 포함되어 있고 이러한 물질은 잎, 꽃, 줄기 등의 모든 부분에 분포하고 있다. 페놀화합물 중에는 산화방지 활성과 세포신호전달 조절 활성을 보유하고 이러한 기능성에 의하여 암이나 심혈관질환 등 만성질환의 위험도를 낮추는 기능을 가지고 있는 종류가 있다(1).

식물의 꽃은 주로 관상용으로 이용되고 일부 식용꽃은 차나 화전으로 식용되는데 꽃에는 다양한 종류의 생리활성물질이 포함되어 있다. 진달래꽃에서는 산화방지 기능을 보유하고 있는 3,5-O-dicaffeoylquinic acid, chlorogenic acid 등의 페놀화합물이 분리되었고(2) 장미꽃 추출물은 세포 성장 촉진 효과와 산화 스트레스에 의한 세포 독성을 감소시키는 효과를 가지고 있다(3). 목련꽃 추출물에는 rutin을 비롯하여 산화방지 기능을 보유한 페놀화합물이 포함되어 있다(4).

장미는 장미과(*Rosaceae*)에 속하는 다년생 쌍떡잎식물이며 야생종을 개량한 원예종은 대표적인 화훼작물로서 대부분 관상용으로 사용되고 일부는 향료제조에 원료로 사용된다(5,6). 장미 꽃

잎 추출물은 높은 산화방지 활성을 보유하고 있고 식물생리활성 물질인 페놀화합물이 포함되어 있다(7,8). 장미꽃에 대한 연구는 주로 품종개량과 향기성분 분석에 집중되어 있고 장미꽃에 포함되어 있는 생리활성물질에 대한 연구는 미흡한 편이다.

장미꽃을 차의 재료로 이용할 때 향을 증대 시키기 위하여 숙성과정을 거치는데 숙성에 의하여 장미꽃 차에 포함되어 있는 생리활성물질의 조성에 변화가 생길 수 있다. 본 연구는 장미꽃의 페놀화합물인 카테킨(catechin)을 기준 물질로 선정하여 그 추출 효율을 증대해서 산화방지기능성을 향상시키기 위한 장미꽃 숙성 조건을 탐색하는 것을 목적으로 수행되었다.

재료 및 방법

시약

장미(*Rosa hybrida* L.)의 꽃잎은 머루랑 다래랑(Damyang, Korea)에서 구입하여 -20°C에서 보관하였다. 메탄올(Methanol (MeOH))과 탄산소듐(Na_2CO_3)은 대정화금(Siheung, Korea)에서 구매하였다. 카테킨, 갈산(gallic acid), 폴린시오칼토펜놀시약(Folin-Ciocalteu phenol reagent), L-아스코브산(L-ascorbic acid), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride (AAPH), 아세토나이트릴(acetonitrile), 인산완충식염수(phosphate-buffered saline, PBS), 아세트산(acetic acid)은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

*Corresponding author: Hyungeun Yoon, Department of Food Science and biotechnology, Sungshin Women's University, Seoul 01133, Korea

Tel: +82-2-920-7682

E-mail: ywise@sungshin.ac.kr

Received August 21, 2017; revised October 6, 2017;

accepted October 6, 2017

장미꽃잎 숙성

장미꽃 5 g을 30, 50, 70°C의 각 온도와 상대습도 30, 60, 90% 인 각 조건의 항온습습기(TH-PE-100; Jeio Tech, Daejeon. Korea)에서 24시간 동안 정치하여 숙성하였다.

장미꽃 추출물(rose flower extract, RFE) 제조

숙성을 마친 장미꽃(5 g)을 증류수 150 mL에 담가 90°C의 수조에 120분 동안 증탕하여 장미꽃의 성분을 추출하였다. 장미꽃 추출액을 Whatman No. 2 거름종이(filter paper) (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)로 여과하여 여과액을 얻은 후 회전증발농축기(N-N series; Eyela, Tokyo, Japan)를 이용하여 농축액 10 mL을 얻었다. 농축액을 냉동건조(FDSA8508; Ilshinbiobase, Dongducheon, Korea)하여 장미꽃 추출물(RFE)을 획득하였고 -20°C에 보관하였다.

총페놀화합물(total phenolics) 함량 측정

장미꽃 추출물(RFE)의 총페놀화합물 함량은 다음과 같은 방법으로 측정하였다(9). 3 mg/mL 농도의 장미꽃 추출물 0.125 mL에 증류수 0.5 mL과 폴린시오칼토페놀시약 0.125 mL을 첨가하고 6분 후에 7%(w/v) 탄산소듐 용액 1.25 mL과 증류수 1 mL을 추가로 첨가한 후 상온에서 90분 동안 놓아두었다. 이후 BIOLOG MicroStation 플레이트판독기(plate reader: Biolog, Hayward, CA, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 장미꽃 추출물의 총페놀화합물 함량은 갈산을 표준 물질로 삼아서 1 g의 장미꽃 추출물(RFE)에 포함되어 있는 갈산 상당량(gallic acid equivalent, GAE)의 mg수로 표시하였다.

DPPH 라디칼제거활성(radical scavenging activity) 측정

장미꽃 추출물의 산화방지 활성을 다음과 같은 방법으로 측정하였다(10). 80% (v/v) 메탄올 용액에 DPPH를 용해하여 100 µM 농도의 DPPH 라디칼(radical) 용액을 제조하고 이 용액의 520nm에서의 흡광도가 0.75가 되도록 80% (v/v) 메탄올 용액을 첨가하였다. 제조된 DPPH 라디칼 용액 2.95 mL과 1 mg/mL 농도의 장미꽃 추출물 용액 50 µL를 혼합하여 상온에서 30분 동안 놓아두었다. 이후 혼합액을 20초 동안 흔들어서 섞고 BIOLOG MicroStation 플레이트판독기(Biolog)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 장미꽃 추출물의 DPPH 라디칼제거활성은 1 g의 장미꽃 추출물 (RFE)에 들어있는 L-아스코브산 상당량(vitamin C

equivalent, VCE)의 mg수로 나타냈다.

ABTS 라디칼제거활성 측정

장미꽃 추출물의 ABTS 라디칼제거활성은 다음과 같은 방법으로 측정하였다(10). 인산완충식염수에 AAPH와 ABTS를 함께 용해하여 각각 1 mM과 2.5 mM의 농도가 되도록 용액을 제조하고 68°C의 수조에서 3시간 동안 증탕으로 가열하여 푸른색을 띠는 ABTS 라디칼 용액을 제조하였다. 0.5 mg/mL 농도의 장미꽃 추출물 용액 20 µL를 ABTS 라디칼용액 980 µL에 첨가한 뒤 혼합물을 37°C의 암흑조건에서 10분 동안 놓아두었다. 이후 BIOLOG MicroStation 플레이트판독기(Biolog)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 장미꽃 추출물의 ABTS 라디칼제거활성은 1 g의 장미꽃 추출물(RFE)에 들어있는 VCE의 mg수로 나타냈다.

장미꽃 추출물의 카테킨 함량 HPLC 분석

장미꽃 추출물에 포함되어 있는 카테킨의 함량은 Agilent LC-MS system (HP1100, 6130 Single quadrupole LC/MS; Agilent, Santa Clara, CA, USA)에 ZORBAK Eclipse Plus C18 column (Agilent)을 장착하여 분석하였다. 이동상용매로 A (증류수), B (아세트나이트릴), C (1% 아세트산)를 0.3 mL/분의 속도에서 다음과 같은 직선 기울기(linear gradient) 조건으로 사용하였다. 이동상의 혼합비율은 A 85%, B 5%, C 10%의 비율로 시작하여 15분 시점에 A 70%, B 20%, C 10%, 20분 시점에 A 10%, B 80%, C 10%로 하여 운용하였다. 카테킨 분석을 위하여 질량 범위(mass range)는 m/z를 289.0으로 하였다. 장미꽃 추출물의 카테킨 함량은 카테킨 표준물질의 결과값과 비교하여 정량 하였고 결과는 장미꽃 추출물(RFE) 1 g에 포함되어 있는 카테킨의 mg수로 나타냈다.

통계분석

결과값은 동일한 실험을 3회 반복하여 얻은 수치의 평균±표준편차로 형태로 나타냈다. 처리군들의 결과값은 ANOVA를 실시하여 비교하였고 다중 비교는 Duncan's multiple range test를 이용하여 p<0.05 수준에서 실시하였다(SPSS ver. 19, IBM, Armonk, NY, USA).

결과 및 고찰

장미꽃을 30, 50, 70°C 온도별로 상대습도 30, 60, 90% 조건

Table 1. The total phenolic content and antioxidant activities of RFE¹⁾ treated under various temperatures and relative humidity values²⁾

Temperature (°C)	Relative humidity (%)	Total phenolics (mg GAE/g RFE) ¹⁾	DPPH radical scavenging activity (mg VCE/g RFE) ¹⁾	ABTS radical scavenging activity (mg VCE/g RFE)
control ³⁾	control ³⁾	225.5±6.4 ^{4d)}	393.3±106.9 ^{a)}	1164.7±138.4 ^{a)}
30	30	231.5±3.2 ^{ab)}	482.7±104.2 ^{a)}	1364.8±69.7 ^{a)}
30	60	250.8±2.6 ^{d)}	1059.0±233.3 ^{c)}	1737.7±147.9 ^{b)}
30	90	242.8±5.3 ^{cd)}	930.9±316.2 ^{bc)}	1167.6±178.1 ^{a)}
50	30	230.7±2.0 ^{ab)}	1060.4±421.3 ^{c)}	1111.4±289.9 ^{a)}
50	60	234.9±1.1 ^{bc)}	428.6±204.5 ^{a)}	1228.9±75.4 ^{a)}
50	90	249.0±6.2 ^{d)}	541.0±46.5 ^{a)}	1348.9±265.0 ^{a)}
70	30	246.7±8.1 ^{d)}	666.1±76.9 ^{ab)}	1357.0±134.2 ^{a)}
70	60	231.8±6.4 ^{ab)}	517.9±123.9 ^{a)}	1253.5±84.5 ^{a)}
70	90	245.1±6.2 ^{d)}	513.1±202.0 ^{a)}	1179.3±246.1 ^{a)}

¹⁾RFE, rose flower extract; GAE, gallic acid equivalent; VCE, vitamin C equivalent

²⁾Rose flowers were treated under 30, 50, or 70°C with 30, 60, or 90% relative humidity for 24h before processing of REF.

³⁾RFE of control was prepared using untreated rose flower.

⁴⁾Values in the same column with different superscript letters indicate significant differences (p<0.05).

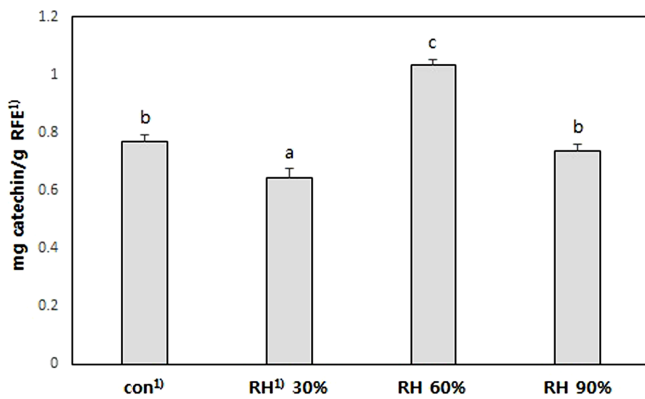


Fig. 1. Catechin content of RFE¹⁾ treated under various aging conditions. Rose flowers were treated under 30, 60, or 90% relative humidity (RH) for 24 h at 30°C before preparing of rose flower extracts (RFE). The control (con) was prepared using untreated rose flower. Bars with different letters indicate significant differences ($p < 0.05$). ¹⁾RFE, rose flower extract; con, control; RH, relative humidity

별로 24시간 동안 숙성한 후 그 추출물의 총페놀화합물 함량과 산화방지 활성을 측정하여 비교하였다. 장미꽃을 30°C와 상대습도 60, 90%에서 숙성한 실험군, 50°C와 상대습도 60, 90%에서 숙성한 실험군, 70°C와 상대습도 30, 90%에서 숙성한 실험군의 장미꽃 추출물에서 총페놀화합물 함량이 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다($p < 0.05$)(Table 1).

장미꽃을 30°C와 상대습도 60, 90%에서 숙성한 실험군과 50°C와 상대습도 30%에서 숙성한 실험군의 장미꽃 추출물에서 DPPH 제거 활성(scavenging activity)이 유의하게 증가하였고 30°C와 상대습도 60%에서 숙성한 장미꽃의 추출물에서 ABTS 라디칼제거 활성이 유의하게 증가하였다($p < 0.05$)(Table 1).

장미꽃을 위의 조건에서 24시간 동안 숙성한 결과 장미꽃으로부터 페놀화합물의 추출이 용이하게 되어 장미꽃 추출물의 총페놀화합물 함량이 증가하였고 총페놀화합물 함량이 증가한 영향으로 장미꽃 추출물의 산화방지 활성이 증가하게 되었다(11,12).

장미꽃을 30°C에서 상대습도 30, 60, 90%의 조건으로 각각 24시간 동안 숙성한 후 추출물의 카테킨 함량을 LC-MS system으로 분석하였다. 숙성을 하지 않은 대조군의 카테킨 함량은 0.77 ± 0.02 mg/g RFE이었고 온도 30°C, 상대습도 60%의 조건으로 숙성한 장미꽃의 추출물에 포함되어 있는 카테킨 함량은 1.03 ± 0.02 mg/g RFE로 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다($p < 0.05$)(Fig. 1). 이러한 결과는 숙성공정의 온도와 상대습도 조건을 조정함으로써 장미꽃으로부터 카테킨을 비롯한 페놀화합물의 추출량을 증가시킬 수 있음을 보여준다.

본 연구에서 장미꽃을 30°C, 상대습도 60%로 숙성한 실험군에서 카테킨 추출 증대, 총페놀화합물 함량 증대, 산화방지 활성 증대에 모두 효과가 나타났다. 위의 조건에서 장미꽃을 숙성하였을 때 상대적으로 많은 양의 페놀화합물이 장미꽃으로부터 분리되었다. 이는 숙성과정을 거치면서 페놀화합물이 용이하게 장미꽃으로부터 추출될 수 있도록 장미꽃 조직이 변화했기 때문으로 추정된다.

식용꽃을 차로 이용할 때 향미를 증진시키기 위하여 일정한 조건에서 숙성공정을 거친다. 숙성공정에 의하여 장미꽃에 존재하는 셀룰로스 가수분해효소(cellulase) 등의 분해 효소 활성이 증가하고 장미꽃 조직이 연화되어 페놀화합물과 같은 물질의 추출 효율이 증가된 것으로 보인다(13). 본 연구에서는 온도와 상대습도

를 조정하여 장미꽃을 숙성함으로써 카테킨을 비롯한 페놀화합물의 추출량이 늘어나고 아울러 산화방지 활성이 향상되는 것을 확인하였다. 앞으로 효소 첨가 등 장미꽃 생리활성 물질의 추출 효율을 더욱 개선할 수 있는 숙성 방법에 대한 추가 연구가 필요하다.

요 약

장미꽃을 30°C, 상대습도 60%의 조건에서 24시간 동안 숙성하여 총페놀화합물 함량, 산화방지 활성, 카테킨 함량을 최대로 증가시키는 조건을 수립하였다. 장미꽃을 차로 이용하기 전에 숙성공정을 통하여 생리활성 물질인 카테킨을 비롯한 페놀화합물의 추출 효율을 증가시킬 수 있고 이에 따라 장미꽃 차의 산화방지 효과를 증대시킬 수 있다.

감사의 글

본 연구는 고부가가치식품기술개발사업(312007-03-1-HD050)의 지원에 의하여 수행되었습니다. 성신여자대학교 오현주씨가 HPLC 분석에 도움을 주었습니다.

References

- Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen elderly study. *Lancet* 342: 1007-1011 (1993)
- Chung TY, Kim MA, Jones AD. Antioxidative activity of phenolic acids isolated from jindalrae flower (*Rhododendron mucronulatum* Turzaninow). *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 39: 506-511 (1996)
- Chun HK, Choi N, Park SY, Yoo BS. Effect of edible flower extracts on antioxidative and biological activities. *Korean J. Commun. Living Sci.* 15: 67-76 (2004)
- Yoon H. Effects of aging on the phenolic content and antioxidant activities of magnolia (*Magnolia demudata*) flower extracts. *Food Sci. Biotechnol.* 23: 1715-1718 (2014)
- Yang M, Cho E, Ha J. Chemical composition of rose petals (*Rosa hybrida* L.) as a food material. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 539-542 (2002)
- Cho YS, Chun HK, Park HJ, Yoo BS. Effects of domestic rose flower extracts on the growth of chinese hamster ovary cells. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 50: 132-135 (2007)
- Tateyama C, Honma NB, Namiki KK, Ukiyama TO. Polyphenol content and antioxidative activity of various flower petals. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 44: 290-299 (1997)
- Kumar N, Bhandari P, Singh B, Gupta AP, Kaul VK. Reversed phase-HPLC for rapid determination of polyphenols in flowers of rose species. *J. Sep. Sci.* 31: 262-267 (2008)
- Wolfe K, Wu X, Liu RH. Antioxidant activity of apple peels. *J. Agr. Food Chem.* 51: 609-614 (2003)
- Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J. Agr. Food Chem.* 50: 3713-3717 (2002)
- Kim DO, Heo HJ, Kim YJ, Yang HS, Lee CY. Sweet and sour cherry phenolic and their protective effects on neuronal cells. *J. Agr. Food Chem.* 53: 9921-9927 (2005)
- Tateyama CG, Ohta MS, Ukiyama TO. Free radical scavenging activities of flower petal extracts. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 44: 640-646 (1997)
- Kim JH, Pan JH, Heo W, Lee H, Kwon EG, Lee H, Shin DH, Liu RH, Kim YJ. Effects of cellulase from *Aspergillus niger* and solvent pretreatments on the extractability of organic green tea waste. *J. Agr. Food Chem.* 58: 10747-10751 (2010)