

잣송이 추출물의 이화학적 특성 및 항산화 활성

— 연구노트 —

장기호 · 서정희

강원대학교 식품영양학과

Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of High-Sugar Fermented *Pinus koraiensis* Cone Extract

Ki-Hyo Jang and Jeonghee Surh

Department of Food and Nutrition, Kangwon National University

ABSTRACT *Pinus koraiensis* cone (PKC) extract was prepared by mixing PKC with sugar at a weight ratio of 1:1 and then removing PKC after incubating the mixture at room temperature for 100 days. The resulting PKC extract was examined for its physicochemical properties and antioxidant activities using *Prunus mume* fruit extract, which is similar to PKC extract in terms of preparation procedure and product usage, as a control. PKC extract consisted mainly of moisture (21.76%) and sugar (70.03%), leading to high viscosity. PKC extract was apparently yellowish, and therefore its browning index and color intensity were appreciably lower than the control ($P=0.0000$), indicating that Maillard reaction was not facilitated during fermentation. Compared with the control, PKC extract was not appreciably different in terms of total flavonoid content, whereas its organic acid content and total reducing capacity were significantly lower. Nevertheless, its metal-chelating activity and DPPH radical scavenging activity were comparable to those of the control. In addition, SOD-like activity of PKC extract was 2-fold higher than that of 6.6 mM quercetin, which had a higher total flavonoid content than PKC extract. This indicates that PKC extract contains certain flavonoids with higher antioxidant activities than quercetin. The results show that PKC extract provides antioxidant activity as well as characteristically different sensory properties due to its higher sugar and lower organic acid contents compared with *Prunus mume* fruit extract.

Key words: *Pinus koraiensis*, *Prunus mume*, fermentation, antioxidant activity, flavonoids

서 론

잣나무(*Pinus koraiensis*)는 구과목 소나무과 식물로 한반도와 중국, 러시아, 일본에 분포하며 한국에서는 대부분 고산지대에서 자생하고 있는 한국 고유종 소나무이다. 나무는 목재로 이용되고 열매인 잣은 오랫동안 식용 혹은 약용으로 사용되어 왔다(1). 식용으로서의 잣은 지방 함량이 높아 에너지 밀도가 높은 고열량 식품으로 인지되기도 하였지만, 올레산, 리놀레산, 리놀렌산 등 불포화지방산의 함량이 높고 특히 현대인에게 결핍되기 쉬운 대표적 무기질인 철분과 마그네슘의 함량이 높아 건강식품으로 다시 주목을 받고 있다. 또한, 항암, 항산화, 항균 등의 생리활성에 대한 실험적 근거들이 확보됨에 따라 잣의 기능성에 대한 과학적 규명이 가능해져 기능성 원료로도 재조명되고 있다(2).

잣을 포함한 많은 식물들이 전통적으로 식·약용으로 사용

되어왔으며, 현대에 와서 밝혀진 이 식물들의 생리활성 및 약리작용의 기전 중 상당 부분은 식물들이 생리학적 대사 과정 중 생성한 항산화, 항염증, 항균 활성을 발현할 수 있는 성분들로 설명되고 있다(3). 즉 식물은 생육 중 병원균, 온도 변화 등의 외부 스트레스에 대한 생리적 방어체제로 아스코르브산, 플라보노이드, 알칼로이드, 파이토알렉신(phytoalexin), 페놀성 물질 등을 생성하는 것으로 밝혀졌으며, 흥미롭게도 이러한 성분들은 인간에게 만성질환을 예방하기 위한 중요한 기능성 인자들로 인지되고 있다(3). 식물체가 지닌 기능성 및 생리활성에 대한 규명이 증가함에 따라 이런 식물자원을 직접 혹은 가공하여 식품으로 섭취하는 방안들과 기존의 보존료, 살균제, 산화방지제, 유화제, 금속조절제, 착색료 등 합성 식품첨가물들의 대체제로 활용하는 방안들이 제안되어 오고 있다(4). 특히 식물체의 기관 중 이용도가 낮았던 부위들에 대한 생리활성 연구 결과들은 각 식물자원의 가치를 재발견함으로써 고부가 식품 개발 사업과도 연계되고 있다(5). 실제로 본 연구의 대상인 잣나무의 경우 개별 식물자원의 검토 범위가 열매(잣)에 국한되지 않고 잣솔잎(needle leaves), 잣나무 껍질(bark), 잣송이(cones) 등 개체의 여러 기관으로까지 확대 검토되고 있다(4-7). 그 결과

Received 23 August 2016; Accepted 10 October 2016

Corresponding author: Jeonghee Surh, Department of Food and Nutrition, College of Health Science, Kangwon National University, Samcheok, Gangwon 25949, Korea

E-mail: jsurh@kangwon.ac.kr, Phone: +82-33-540-3314

갯솔잎에서는 quercetin, kaempferol 등의 플라보노이드 성분들과 이에 기인한 항산화 활성이 확인되었으며, 이에 더해 갯솔잎에서 추출된 정유 성분(essential oil)에서는 항균 작용과 암세포에 대한 항증식(antiproliferation) 작용까지 관찰되었다(5,6). 갯나무 껍질에서는 중합도가 높은 플라보노이드인 탄닌(tannins)이 다량 함유되어 있어 우수한 항산화 활성을 나타내었으며, 갯송이에서 추출된 정유 성분에서도 항균 및 항진균 작용이 관찰되었다(4). 특히 갯송이 정유 성분 중 하나인 β -myrcene은 지방암 세포를 사용한 실험에서 항전이(anti-metastasis) 효과를 나타내었다(7). 이러한 결과들은 그동안 활용도가 낮았던 갯솔잎과 갯송이에서 기능성 원료 및 식품첨가물 대체재 개발을 위한 친환경 원재료로서의 가능성을 보여주었다.

본 연구에서는 갯나무 부위 중 갯송이를 식품자원으로 활용하려는 방안의 하나로, 강원도 일부 지역에 국한되어 제조·소비되어 왔던 ‘갯송이 추출물’을 식품학적 측면에서 탐색하여 보편적 사용을 위한 제품개발의 기초자료를 확보하고자 하였다. 실험을 위해 구체적으로는 잘 알려진 매실액과의 제조법에서의 동일성을 반영하여 ‘갯송이 추출물’의 이화학적 품질 특성과 항산화 활성 측정을 위한 지표들을 결정하였고, 이 지표 값들을 기준으로 하여 갯송이 추출물의 고부가가치 식품으로서의 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 실험에 사용된 갯송이 추출물은 2013년 4월 강원도 인제 소재의 테마 마을로부터 직접 공급받았다. 공급처에 따르면 갯송이 추출물 제조는 가정에서 매실 추출물을 제조하는 방법을 동일하게 따랐다. 70% 정도 숙성된 갯(열매 내부가 액상)들이 붙어 있는 갯송이를 흐르는 수돗물로 깨끗이 세척한 후 채반에 건져 올려 물기를 제거하였다. 크기가 큰 갯송이는 십자 모양으로 자르고 작은 것은 그대로 하여 용기(polyethylene terephthalate)에 담아 동량의 백설탕(CJ CheilJedang, Seoul, Korea)과 혼합하였다. 이후 뚜껑을 덮고 밀봉하여 직사광선이 없는 곳에 보관하면서 한 달에 2~3회 정도 섞어주었다. 100일 정도 경과하였을 때 갯송이를 걸러내고 얻어진 액체를 ‘갯송이 추출물’로 사용하였다. 대조군으로는 제조방법과 용도의 유사성을 고려하여 시판 100% 매실원액(Maesil-Rakwon, Jangseong, Korea)을 구입하여 매실 추출물로 사용하였다. 분석에 사용된 Folin-Ciocalteu’s phenol reagent, gallic acid, quercetin, sodium nitrite(NaNO_2), aluminum chloride(AlCl_3), ferrous chloride(FeCl_2), 3-(2-pyridyl)-5,6-dihpenyl-1,2,4-triazine-p,p’-disulfonic acid monosodium salt hydrate(Ferro-Zine™ iron reagent), 2,2’-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), xanthine, xanthine oxidase(from bovine milk), nitroblue tetrazolium(NBT)은 Sigma-Aldrich Co.(St.

Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, sodium hydroxide(NaOH), sodium carbonate(Na_2CO_3), 에탄올은 Showa Chemical Industry Co.(Tokyo, Japan)의 특급시약을 사용하였다. 시약 조제에는 탈염·탈이온수가 사용되었다.

일반성분 분석

갯송이 추출액과 매실 추출액의 일반성분은 다음의 방법으로 분석하였다. 수분은 적외선 수분측정기(MB45 moisture analyzer, OHAUS, Nänikon, Switzerland)로 분석하였다. 조회분은 시료 4 g을 취해 600°C 회화로(MF31G, Jeio Tech, Kimpo, Korea)에서 22시간 동안 시료를 완전 회화시킨 후 직접회화법으로 분석하였다. 조단백질은 킬달 분해장치(Digestion unit K-424, Buchi, Flawil, Switzerland), 증류장치(Kjeflex K-360, Buchi), 적정장치(702 SMTitrino Metrohm, Buchi)를 연속적으로 사용하여 micro-Kjeldahl 법으로 분석한 후, 질소계수 6.25를 곱하여 시료의 조단백질 함량을 산출하였다. 총탄수화물은 시료에 강한 황산을 첨가하여 푸르푸랄 또는 푸르푸랄 유도체로 만든 후 페놀을 첨가하여 오렌지색의 complex를 형성하여 비색 정량하는 phenol- H_2SO_4 법으로 분석하였다(8). 갯송이 추출액과 매실 추출액의 주요 당 성분인 자당(sucrose)을 표준물질로 하여 정량곡선을 작성한 후, 추출액 속 총탄수화물의 함량을 자당의 함량으로 나타내었다. 모든 일반성분 분석은 3회 반복 시행하여 평균값을 취하였다.

당도, 총산도, pH

당도는 추출액 자체의 당도가 굴절당도계의 측정범위를 벗어남에 따라, 증류수로 10배 희석한 후 굴절당도계(refractometer, N-1a, Atago, Tokyo, Japan)로 측정하고 희석배수를 곱하여 산출하였다. 한편 총산도와 pH 측정을 위해 시료 1 g을 증류수 25 mL에 분산시키고 homogenizer(Wise Mix Hg-15, Daihan Scientific, Seoul, Korea)로 30초 동안 골고루 균질화하였다. 이후 원심분리기(5810 R, Eppendorf, Hamburg, Germany)로 2,465×g에서 10분 동안 원심분리 후 상층액을 취하여 pH(pH Meter 725P, Istek, Seoul, Korea)를 측정하였다. 총산도(titratable acidity, TA)는 원심분리 후 얻어진 상층액 5 mL를 증류수 5 mL로 희석한 후 0.01 N NaOH로 중화 적정하여 결정하였다. 즉 적정 시 소모된 NaOH 부피로부터 추출액의 총산 함량을 구연산(citric acid, 64.04 g/molar equivalents) 함량으로 산출하였다.

점도와 색 특성

갯송이 추출액과 매실 추출액의 점도는 10.2±0.1°C에서 추출액을 80 rpm 속도로 교반하면서 viscometer(LVDV-II+ Pro, Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, MA, USA)로 측정되었다. 한편, 색 특성을 측정하기 위해 spectrophotometer(UV-1650, Shimadzu, Kyoto,

Japan)로 420 nm(A_{420})와 520 nm(A_{520})에서 두 추출액의 흡광도를 측정하였다. 측정된 값으로부터 갈색도(browning index, A_{420})와 색도(color intensity, $A_{420} + A_{520}$)를 산출하였다.

총환원력(total reducing capacity) 분석

총환원력은 시료 내부의 페놀성 및 비페놀성 환원 물질이 염기적 조건에서 Folin-Ciocalteu's reagent(phosphomolybdic phosphotungstic acid complexes)에 전자를 전달하여 발색물질을 형성하는 원리를 바탕으로 한 Folin-Ciocalteu's reagent 법으로 분석하였다(9). 시료 전처리를 위해 잣송이 추출물과 매실 추출물 각 1 g을 증류수 25 mL에 분산시키고 원심분리기(5810R, Eppendorf)로 $3,061 \times g$ 에서 10분 동안 원심분리 하여 얻은 상층액을 실험에 사용하였다. 상층액 1 mL에 Folin-Ciocalteu's reagent와 10% Na_2CO_3 를 각각 1 mL씩 넣어 vortexing 하고 실온에서 1시간 동안 정치시킨 후 spectrophotometer(UV-1650, Shimadzu)로 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 대신 증류수를 넣고 모든 반응을 동일하게 거친 용액을 흡광도 측정의 blank로 사용하였다. 시료 속 환원물질의 총량은 갈산(gallic acid)을 표준물질로 하여 갈산 당량(gallic acid equivalents, GAE)으로 나타내었다.

플라보노이드(flavonoids) 함량

플라보노이드 함량은 플라보노이드가 알칼리 상태에서 aluminum과 분홍색의 complex(flavonoid-aluminum complex)를 형성하는 원리를 바탕으로 분석하였다(10). 잣송이 추출물과 매실 추출물 각 10 g을 40 mL의 증류수에 분산시키고 95°C shaking water bath(BS-21, Jeio Tech)에서 1시간 동안 교반하였다. 이후 원심분리기(5810R, Eppendorf)로 $3,061 \times g$ 에서 10분 동안 원심분리 하여 얻은 상층액을 실험에 사용하였다. 상층액 100 μL 에 10%(w/v) NaNO_2 60 μL , 20% AlCl_3 120 μL 를 혼합하고 1 N NaOH 용액 400 μL 와 증류수 900 μL 를 순서대로 첨가한 후, 5분 후 spectrophotometer(UV-1650, Shimadzu)로 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대표적 플라보노이드인 quercetin을 농도별로 조제하여 얻은 표준정량곡선으로부터 시료의 총 플라보노이드 함량을 quercetin 당량(quercetin equivalents, QE)으로 나타내었다.

금속 소거능

금속 소거능은 Fe^{2+} 가 ferrozine과 complex를 형성하여 생성된 발색물질의 양을 각 추출물이 감소시키는 정도로 측정되었다(11). 플라보노이드 정량 시 준비된 동일한 상층액 500 μL 에 2 mM FeCl_2 20 μL 를 넣어 섞은 후 2.4 mM ferrozine 1 mL를 넣어 shaking 함으로써 반응을 개시시켰다. 실온에서 10분 동안 반응 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였다(UV-1650, Shimadzu). Blank로는 시료 대신 증류수

를 사용하여 동일한 실험방법으로 흡광도를 얻어 blank로 사용하였다. 금속 소거능은 blank와 비교하여 시료에 의해 감소하여진 흡광도의 비율로 계산되었다. 한편, 6.6 mM quercetin의 금속 소거능을 측정하여 시료의 금속 소거능과 비교하였다. Quercetin 농도 6.6 mM(2 mg QE/g)은 시료에서 결정된 총플라보노이드 정량 결과를 근거로 하여 선정되었다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사 활성

SOD 유사 활성은 xanthine/xanthine oxidase system으로 생성된 superoxide anion 라디칼($\text{O}_2^{\cdot-}$)을 잣송이 추출물과 매실 추출물이 소거하는 능력으로 측정하였다(12). 즉 생성된 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 은 NBT를 환원시킬 수 있으므로 환원된 NBT의 최대 흡수파장인 550 nm에서 흡광도의 변화를 측정함으로써 시료가 ' $\text{O}_2^{\cdot-}$ 에 의한 NBT 환원'을 저해한 정도를 SOD 유사 활성으로 간주하였다. 플라보노이드 정량 시 준비된 동일한 상층액 100 μL 에 2.8 mL reducing solution[250 μM xanthine 20 mL+0.05 M phosphate buffer(pH 7.4) 30 mL+NBT 20 mg]을 첨가하고 vortexing 한 후, 200 μL xanthine oxidase(0.1 U/mL)를 첨가하여 반응을 개시하였다. 37°C에서 40분 동안 incubation 한 후 550 nm에서 흡광도(UV-1650, Shimadzu)를 측정하였다(Abs_s). 실험을 위한 blank로는 시료 대신 증류수에 동일한 시약을 첨가한 후 반응시켜 흡광도를 얻었으며(Abs_b), SOD 유사활성 비교를 위한 control로는 6.6 mM quercetin에 동일한 시약을 첨가한 후 반응시켜 흡광도를 얻었다. SOD 유사활성은 $100 \times (\text{Abs}_b - \text{Abs}_s) / \text{Abs}_b$ 로 계산되었다.

DPPH 라디칼 소거능

전자공여능은 시료가 DPPH 라디칼을 소거시키는 정도로 측정되었다(13). 플라보노이드 정량 시 준비된 동일한 상층액 200 μL 에 0.2 mM DPPH(in ethanol) 1 mL를 첨가하여 5초 동안 격렬하게 교반하였다. 반응액을 실온의 어두운 곳에 보관하면서 5분 간격으로 150분까지 525 nm에서 흡광도(UV-1650, Shimadzu)를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 금속 소거능과 동일한 방법으로 blank 대비 감소한 흡광도의 정도로 산출되었으며, 결과는 시간에 따른 라디칼 소거능의 변화로 나타내었다. 6.6 mM quercetin의 DPPH 라디칼 소거능을 측정하여 시료의 라디칼 소거능과 비교하였다.

자료의 통계처리

잣송이 추출물과 대조군인 매실 추출물의 이화학적 특성과 항산화 활성은 3회 이상 반복 측정되었으며, 결과는 평균과 표준편차로 나타내었다. 두 시료 간의 유의적 차이는 t-test(Microsoft Office Excel, Redmond, WA, USA)로 검증하였다.

Table 1. Chemical compositions of *Pinus koraiensis* cones extract¹⁾

Chemical composition	<i>Pinus koraiensis</i>	<i>Prunus mume</i> ²⁾	P value
Moisture (%)	21.76±1.58 ²⁾	36.16±1.85	0.0005
Total carbohydrate (% as sucrose)	79.69±16.11	70.04±2.44	0.3632
Crude protein (%)	0.03±0.01	0.18±0.07	0.0171
Crude ash (%)	0.17±0.04	0.31±0.02	0.0035
Degrees brix (°Bx)	70.03±2.27	59.36±0.82	0.0016
Titrateable acidity (% as citric acid)	0.50±0.02	5.14±0.02	0.0001
pH	3.75±0.01	3.08±0.01	0.0001

¹⁾Data are expressed as the mean±standard deviation of triplicate experiments.

²⁾The fruit extract of *Prunus mume* was used for comparison.

결과 및 고찰

잣송이 추출물의 화학적 조성

잣송이 추출물은 수분(21.76%)과 탄수화물(79.69%)이 구성성분 대부분을 차지하고 있었으며, 대조군으로 사용한 매실 추출물보다 수분 함량은 유의적으로($P=0.0005$) 낮았고 탄수화물의 함량은 상대적으로 높은 특성을 나타내었다(Table 1). 그 외 조단백질과 무기물을 반영하는 지표인 조회분은 두 시료 모두 미량으로 존재하는 것으로 확인되었으며, 잣송이 추출물에서 유의적으로 더 낮은 함량이 검출되었다. 이는 원료인 잣송이와 매실의 성분 차이뿐 아니라 숙성 중 이들 원료로부터 내부 성분들의 용출이 얼마나 용이한가가 영향을 미친 것으로 보인다. 즉 잣송이와 잣은 매실 열매보다 외피 조직이 단단하고 치밀하여 설탕 첨가 후 삼투압에 의한 내부 성분들의 용출이 상대적으로 덜 용이했었을 것으로 해석된다.

추출물 속 수용성 고형분들에 의한 굴절률로 측정되는 당도 값은 잣송이 추출물의 경우 70.03°Bx로 총탄수화물 함량(79.69%)의 88%를 차지함으로써 매실 추출물과 달리 잣송이 추출물 속 탄수화물의 대부분은 수용성 당류임을 확인시켜 주었다. 한편 잣송이 추출물의 유기산 함량은 0.50%로 매실 추출물(5.14%)의 1/10 수준으로 낮았으며($P=0.0001$), 이에 따라 상대적으로 높은 pH를 나타내었다($P=0.0001$). 추출물 속 유기산은 원료에 설탕을 첨가하여 일정 기간 발효·숙성시키는 동안 삼투압에 의해 원료 내부에서 용출된 유기산이거나 미생물에 의한 발효로 생성된 유기산일 수 있다. 잣송이 추출물의 상대적으로 높은 당 함량과 낮은 유기산 함량은 두 성분이 각각 단맛과 신맛의 주성분임을 고려할 때, 매실 추출물과는 차별화된 관능성이 부여된 식품임을 시사해 주었다.

잣송이 추출물의 물리적 특성

잣송이 추출물의 점도는 722 cP로 매실 추출물(381 cP)보다 2배가량 유의적으로($P=0.0416$) 높았다(Table 2). 이는 잣송이 추출물의 높은 당 함량과 낮은 수분 함량에서 기인한 것으로 보인다(Table 1). 외관의 경우 매실 추출물이 짙은 갈색을 띠지만 잣송이 추출물은 옅은 노란색을 띠었으며, 이에 따라 기계적으로 측정된 갈색도와 색도 모두 잣송이 추출물이 대조군으로 사용된 매실 추출물보다 유의적으로($P=0.0000$) 매우 낮았다(Table 2). 이러한 차이는 첫째, 용출되어 나올 수 있는 원료 속 수용성 색소(예, 플라보노이드)의 차이, 둘째, 발효 숙성 중 용출되어 나온 당과 단백질 사이에서 진행되는 Maillard 갈변 반응의 정도 차이에서 기인한 것으로 해석될 수 있다(14). 특히 두 추출액 모두 당이 구성성분 대부분을 차지하는 것을 고려하면 아미노기성 물질이 Maillard 갈변 반응의 결정인자로 작용할 수 있다. 이 경우 잣송이 추출물의 단백질 함량은 매실 추출물의 1/6 수준이므로(Table 1) Maillard 갈변 반응을 위한 기질 함량이 상대적으로 낮고, 또한 잣송이 추출물의 높은 점도는 Maillard 반응의 두 기질인 카르보닐기를 가진 당과 아미노기를 가진 단백질의 접촉 빈도를 감소시키는 요인으로 작용할 수 있다. Maillard 갈변 반응으로 생성된 물질들(Maillard reaction products)이 항산화력을 지닌다는 점을 고려하면(14,15), 이러한 색 특성은 추출물들의 항산화 활성과 연관될 수 있다.

잣송이 추출물의 항산화 활성

잣송이 추출물의 총플라보노이드 함량은 quercetin 당량 기준으로 1.12 mg/g으로 대조군으로 제시된 매실 추출물(0.82 mg/g)보다 유의적이지는 않았으나 다소 높은 함량을 나타내었다(Table 3). 반면 총환원력은 gallic acid 당량을

Table 2. Physical property of *Pinus koraiensis* cones extract¹⁾

Physical property	<i>Pinus koraiensis</i>	<i>Prunus mume</i> ²⁾	P value
Viscosity (cP)	722±199 ²⁾	381±17	0.0416
Browning index (A_{420}) ³⁾	0.15±0.01	1.65±0.03	0.0000
Color intensity ($A_{420}+A_{520}$) ³⁾	0.23±0.01	2.51±0.04	0.0000

¹⁾Data are expressed as the mean±standard deviation of triplicate experiments.

²⁾The fruit extract of *Prunus mume* was used for comparison.

³⁾ A_{420} and A_{520} mean the absorbances at 420 and 520 nm, respectively.

Table 3. Total flavonoids content and antioxidant activities of *Pinus koraiensis* cones extract¹⁾

Antioxidant activity	<i>Pinus koraiensis</i>	<i>Prunus mume</i> ²⁾	<i>P</i> value
Total flavonoids (mg quercetin equivalents/g)	1.12±0.61 ²⁾	0.82±0.48	0.7747
Total reducing capacity (mg gallic acid equivalents/g)	4.43±0.01	7.40±0.01	0.0001
Metal-chelating activity (%) ³⁾	48.22±2.94	48.52±0.64	0.9008
SOD-like activity (%) ³⁾	32.81±1.24	28.95±0.25	0.0495

¹⁾Data are expressed as the mean±standard deviation of triplicate experiments.

²⁾The fruit extract of *Prunus mume* was used for comparison.

³⁾Metal-chelating activity and SOD-like activity of 6.6 mM quercetin used for comparison were 80.28% and 17.90%, respectively.

로 4.43 mg/g으로 매실 추출물(7.40 mg/g)의 60% 수준이었다(Table 3). 유사한 총플라보노이드 함량에도 불구하고 잣송이 추출물이 낮은 총환원력을 보인 결과는 잣송이 추출물에 Folin-Ciocalteu 시약과 반응할 수 있는 비페놀성 환원물질이 상대적으로 더 적게 존재하였을 가능성을 시사하고 있다. 이는 두 추출물의 갈색도 차이와도 일부 연관될 수 있다(Table 2). 실제로 Maillard 갈변 반응으로 생성되는 항산화 물질에는 디카보닐 화합물(dicarbonyl compounds), 리덕톤(reductones), 멜라노이딘(melanoidin) 등 비페놀성 환원물질들이 많은 것으로 알려져 있으므로(14,15), 갈색도가 상대적으로 낮았던 잣송이 추출물의 경우 이러한 비페놀성 물질들의 함량이 대조군보다 낮았을 것으로 예상된다.

잣송이 추출물의 금속 소거능은 매실 추출물과 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 3). 이는 총산도 및 갈색도 결과와는 다소 상반되게 보인다. 그 이유는 첫째, 일반적으로 양이온의 산화 촉진 전이금속들을 소거할 수 있는 물질들은 이들 물질과 이온 결합할 수 있는 음전하의 물질들로 페놀산(phenolic acids)을 포함한 유기산들이다. 그러나 유기산 함량을 측정할 총산도 결과에서 잣송이 추출물은 매실 추출물의 10% 수준으로 낮았다(Table 1). 둘째, Maillard 갈변 반응의 최종 산물인 멜라노이딘은 음전하를 띠어 양이온의 금속을 소거할 수 있다(14,15). 그러나 갈변 반응의 정도를 반영한 갈색도 결과에서도 잣송이 추출물은 매실 추출물의 10% 수준이었다(Table 2). 이러한 결과는 유기산과 멜라노이딘 이외의 탁월한 금속 소거능을 지닌 다른 물질들이 잣송이 추출물에 존재하고 있음을 시사해준다. 일례로 견과류에는 Fe(II), Cu(II), Zn(II) 등의 전이금속과 강하게 결합하여 착화합물을 형성할 수 있는 탄닌이 상당량 함유된 것으로 보고되고 있다(16,17). 중합도가 높은 것이 특징인 탄닌은 페놀성 수산기가 많아 플라보노이드계에 속하는 다른 단량체(monomer) 페놀성 물질들보다 금속 소거능뿐 아니라 라디칼 소거 활성도 높은 것으로 알려져 있다(18). 이러한 보고들과 유사하게 실제로 잣송이 추출물의 SOD 유사 활성은 32.81%로 대조군인 매실 추출물(28.95%)보다 유의적으로 높았다($P=0.0495$). 본 연구에서 사용한 SOD 유사 활성 측정 실험은 시스템 내에 superoxide anion 라디칼을 발생시킨 후 추출물이 이 라디칼들에 전자를 공여해줌으로써 라디칼을 소거하는 능력을 측정할 것이다(12). 페놀성 물질들은 자신의 전자를 라디칼에 공여한 후에도 공명 구조를 통해

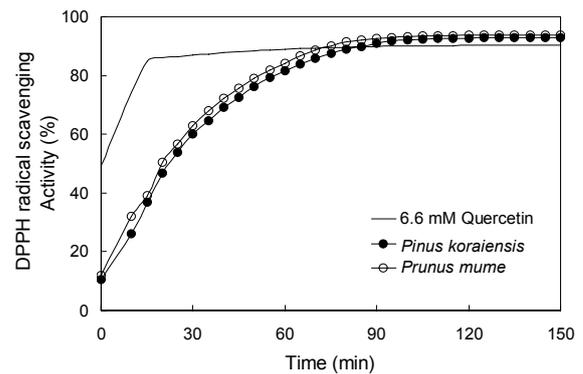


Fig. 1. Kinetics of DPPH radical scavenging activity of *Pinus koraiensis* cones extract. 6.6 mM quercetin and the fruit extract of *Prunus mume* were used for comparison.

구조를 안정화할 수 있으므로 대표적 라디칼 소거제로 여겨진다. 플라보노이드의 상당수 분자가 이런 페놀성 물질임을 고려하면(19) 잣송이 추출물의 SOD 유사 활성은 추출물 속 플라보노이드에 의한 활성으로 해석될 수 있다. 본 실험에서 잣송이 추출물은 항산화 활성 정도의 크기를 가늠하기 위해 사용된 6.6 mM(2 mg/g) quercetin보다 2배가량 높은 SOD 유사 활성(32.81% vs. 17.90%)을 나타내었다(Table 3). 이 결과는 잣송이 추출물에서 결정된 총플라보노이드 함량이 quercetin 당량 기준으로 1.12 mg/g이었다는 사실(Table 3)을 고려하면 주목할 만하다. 한편 DPPH 라디칼 소거 실험 결과(Fig. 1), 잣송이 추출물은 DPPH 라디칼과의 반응 시간이 지남에 따라 지속해서 라디칼을 소거해나갔으며 90분이 지났을 때 시스템 내의 DPPH 라디칼 중 93%를 소거하였다. 이러한 경향은 매실 추출물과 매우 유사하였다. 반면 비교를 위해 사용된 6.6 mM quercetin은 DPPH 라디칼과 반응하자마자 빠른 속도로 라디칼을 소거하기 시작하였고 15분 이내에 최대 라디칼 소거능(85%)에 도달하였다. 이러한 차이는 단일 물질인 quercetin과 비교해 추출물이 다양한 플라보노이드 및 페놀성 물질들을 함유하고 있고 그들의 구조와 중합도에 따라 라디칼 소거 활성은 달라지기 때문으로 해석되었다.

요 약

본 연구에서는 식품으로 활용하기 위해 제조된 잣송이 추출

물의 이화학적 품질 특성과 항산화 활성을 탐색하였다. 잣송이 추출물은 수분과 탄수화물이 구성성분 대부분을 차지하고 있었으며, 특히 대조군으로 사용된 매실 추출물보다 수분 함량은 낮고 당 함량은 높아 유의적으로 높은 점도를 나타내었다. 또한, 갈색도와 색도는 모두 낮아 매실 추출물과 비교해 숙성 중 Maillard 갈변 반응의 정도가 상대적으로 낮았음을 시사해주었다. 잣송이 추출물은 매실 추출물보다 플라보노이드 함량은 유의적으로 다르지 않았으나 유기산 함량과 갈변도는 1/10 수준으로 유의적으로 낮았고, 총환원력은 매실 추출물의 60% 수준으로 측정되었다. 그런데도 잣송이 추출물에서 매실 추출물과 유사한 높은 금속 소거능과 라디칼 소거 활성이 관찰되었다. 또한, 잣송이 추출물 속 플라보노이드 총량보다도 많은 양인 6.6 mM quercetin과 비교할 때 2배나 높은 SOD 유사 활성을 나타내었다. 이는 잣송이 추출물에 quercetin보다 항산화 활성이 높은 플라보노이드가 존재할 가능성을 보여주며, 플라보노이드 조성에 대한 후속연구의 필요성을 시사해주었다. 본 연구는 잣송이 추출물이 제조법과 용도가 유사한 매실 추출물에 버금가는 항산화 활성을 부여하면서도 상대적으로 높은 당 함량과 낮은 유기산 함량으로 매실 추출물과는 관능적 측면에서 차별화될 수 있는 식품으로서의 활용 가능성을 보여주었다.

REFERENCES

1. Wikipedia. *Pinus koraiensis*. https://en.wikipedia.org/wiki/Pinus_koraiensis (accessed Aug 2016).
2. Su XY, Wang ZY, Liu JR. 2009. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of *Pinus koraiensis* seed extract containing phenolic compounds. *Food Chem* 117: 681-686.
3. Brecht JK, Ritenour MA, Haard NF, Chism GW. 2008. Postharvest physiology of edible plant tissues. In *Fennema's Food Chemistry*. 4th ed. Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR, eds. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p 975-1049.
4. Lee JH, Yang HY, Lee HS, Hong SK. 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from cones of *Pinus koraiensis*. *J Microbiol Biotechnol* 18: 497-502.
5. Chung HA, Kim IH, Kim SH, Lee JH. 2013. Antioxidant properties of *Pinus koraiensis* needle powder extracts as influenced by drying methods. *Food Eng Prog* 17: 396-400.
6. Hong EJ, Na KJ, Choi IG, Choi KC, Jeung EB. 2004. Anti-bacterial and antifungal effects of essential oils from coniferous trees. *Biol Pharm Bull* 27: 863-866.
7. Lee JH, Lee K, Lee DH, Shin SY, Yong Y, Lee YH. 2015. Anti-invasive effect of β -myrcene, a component of the essential oil from *Pinus koraiensis* cones, in metastatic MDA-MB-231 human breast cancer cells. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 58: 563-569.
8. DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28: 350-356.
9. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol* 299: 152-178.
10. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
11. Chew YL, Goh JK, Lim YY. 2009. Assessment of *in vitro* antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chem* 116: 13-18.
12. Kirby AJ, Schmidt RJ. 1997. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and placebo herbs- I. *J Ethnopharmacol* 56: 103-108.
13. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol* 28: 25-30.
14. Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC, Lericri CR. 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci Technol* 11: 340-346.
15. Nicoli MC, Anese M, Parpinel MT, Franceschi S, Lericri CR. 1997. Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. *Cancer Lett* 114: 71-74.
16. Gu L, Kelm MA, Hammerstone JF, Beecher G, Holden J, Haytowitz D, Gebhardt S, Prior RL. 2004. Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *J Nutr* 134: 613-617.
17. Karamać M. 2009. Chelation of Cu(II), Zn(II), and Fe(II) by tannin constituents of selected edible nuts. *Int J Mol Sci* 10: 5485-5497.
18. Hagerman AE, Riedl KM, Jones GA, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW, Riechel TL. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J Agric Food Chem* 46: 1887-1892.
19. Kim SJ, Han D, Moon KD, Rhee JS. 1995. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. *Biosci Biotechnol Biochem* 59: 822-826.