



Functional properties of newly bred Picnic apple (*Malus pumila* Mill.)

Eun-Ho Lee¹ · Eun-Bi Cho¹ · Ji-Yang Lee¹ · Jin-Hee Bae¹ · Eun-Chul Lee² ·
Jin-Gi Yoo³ · In-Kyu Kang³ · Young-Je Cho¹

신육성 품종인 피크닉 (Picnic; *Malus pumila* Mill.) 사과의 기능성

이은호¹ · 조은비¹ · 이지양¹ · 배진희¹ · 이은철² · 유진기³ · 강인규³ · 조영제¹

Received: 28 March 2019 / Accepted: 16 May 2019 / Published Online: 30 June 2019
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2019

Abstracts The newly bred Picnic apple was extracted using water and ethanol for extracting solvent. Each water and ethanol extract showed relatively high phenolic compound of 3.69 and 5.55 mg/g. Each water and ethanol extract of Picnic apple showed 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl of 88.10 and 88.07%, 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) of 98.79 and 97.25%, antioxidant protection factor of 2.07 and 2.00 PF and thiobarbituric acid reactive substances showed anti-oxidation effect of 9.69 and 19.83% all at 100 µg/mL phenolics concentration. Therefore extract of Picnic apple can be considered as anti-oxidant for anti-aging. The anti-inflammatory effect (hyaluronidase inhibition) of extract of Picnic apple were 4.62% with water extract and 4.39% with ethanol extract both at 200 µg/mL phenolics concentration. Both water and ethanol extract showed low α-amylase inhibition effect but each showed 67.37 and 79.16% of α-glucosidase inhibition effect at 200 µg/mL phenolics concentration. In anti-wrinkle effect, water extract showed each 23.70 and 66.29% in elastase inhibition and collagenase inhibition and ethanol extract showed

64.83 and 65.70% each. These result show high potential for functional food and cosmetic source. Picnic apple was identified to have various functions of anti-oxidation, anti-inflammation, anti-wrinkle effect, and anti-diabetic effect. Therefore, Picnic apple is qualified as a source for new functional cosmetics and functional foods.

Keywords Biological activities · Functional beauty food · Healthy functional foods · Newly bred · Picnic apple

서론

최근 1인가구의 증가로 작은 단위로 포장된 제품들이 인기를 끄는 것과 같이 사과 또한 작은 품종이 인기를 얻고 있는 추세이다. 최근 발표된 '2018농업전망'에 따르면 가정용 사과의 경우 소과(213 g 이하)를 선호하는 비율이 2014년 8.7%에서 2017년 16.6%로 두배 가까이 증가 한 반면, 대과(300 g 이상)는 9.4%에서 3.9%로 두 배 이상 감소했다. 선물용도 증가 선호비중은 상승한 반면 대과는 감소하는 추세를 보였으며, 농촌경제 연구원의 발표에 따르면 중,소과 사과가격이 대과에 비해 9-22%까지 상승했다고 한다[1].

사과나무는 우리나라에서 전체 과수 재배 면적의 40%를 차지하며 장미과(*Rosaceae*)에 속하는 북부 온대과수이다. 식물 화학연구의 결과에 따르면 사과는 다당류, 식물성 스테롤, 페놀, 단백질, 비타민 뿐만 아니라 인간이 필요로 하는 필수 미량원소들을 포함하고 있으며, 특히 사과껍질은 과육에 비해 2-9배로 높은 폴리페놀 함량을 나타낸다고 보고되었다[2-4]. 폴리페놀은 사과의 주요한 항산화 물질이며[5,6], 항염증효과, 항종양효과 등을 나타내어 인간의 건강에 유익한 효과가 있음이 입증된 물질이다[7,8].

Young-Je Cho (✉)
E-mail: yjcho@knu.ac.kr

¹School of Food science & Biotechnology, Kyungpook National University, 80 Daehakro, Bukgu, Daegu 41566, Republic of Korea

²Department of Food and Food Service Industry, Kyungpook National University, 2559 Gyeongsangdaero, Sangju 37224, Republic of Korea

³Department of Horticultural Science, Kyungpook National University, 80 Daehakro, Bukgu, Daegu 41566, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

피크닉(*Malus pumila* Mill) 사과 품종은 야외로 소풍 갈 때 먹기 좋은 사과라 해서 ‘피크닉’이라 이름이 붙여졌으며 후지와 산사 품종을 교배해 만든 신품종으로 테니스 공 크기이며, 무게가 약 220 g 정도의 빨간색 중, 소과 사과로 보통 9월 중순에서 10월 초에 수확된다.

본 연구에서는 경북 군위의 사과연구소에서 품종이 개발되어 경북예천 지방에서 지역특화품종으로 품질을 인정받고 있는 피크닉 사과의 항산화 효과와 주름개선효과, 미백효과 등 다양한 미용생리활성 효과를 살펴보고 이 연구를 통해 항산화 및 화장품 소재로서의 개발 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

시험 재료

시험재료는 경북 군위군 소재의 사과연구소에서 교배조합으로 후지 품종(모본)과 산사 품종(부본)을 이용하여 교배하여 육성한 신품종인 피크닉(Picnic) 사과를 사용하였다. 시료는 사과연구소의 실습 포장에서 재배되고 있는 피크닉 사과나무로부터 붉은색으로 완숙된 사과를 수확한 후 이물질을 제거하고 whole 사과를 대상으로 실험하였다. Whole 사과 시료는 1 cm 두께로 슬라이스한 후 동결건조(freeze dryer, FD8518, Ilshinbiobase, Yangju, Korea)하여 수분을 제거하고 40 mesh로 분쇄하여 4 °C 저온고에 보관하며 시료로 사용하였다.

피크닉 사과로부터 phenolic 추출물 제조

기능성 식품 및 기능성 화장품 활성 분석을 위한 추출물의 제조는 열수 추출물의 경우 피크닉 사과의 시료 분말 1 g을 증류수 200 mL에 침지하여 추출물은 heating stir에서 100 °C 이상으로 가열하여 액이 100 mL가 될 때까지 가열, 증발시킨 후 냉각하고 4 °C의 shaking incubator에서 24시간 동안 교반, 추출하였으며, ethanol 추출물의 경우에는 피크닉 사과 분말 1g에 10-100% 농도의 ethanol 100 mL를 첨가하여 4 °C의 shaking incubator에서 24시간 동안 교반, 추출하였다. 각 추출물은 Whatman No. 1 filter paper (Whatman Inc., Piscataway, New Jersey, USA)로 여과한 후 필요에 따라 rotary vacuum evaporator (Eyela NE, Tokyo, Japan)에서 농축하여 4 °C 냉장고에서 저온 보관하며, 시료의 phenolic compounds 농도를 각각 25, 50, 75, 100 µg/mL 또는 50, 100, 150, 200 µg/mL phenolics 농도로 설정하여 실험에 사용하였다.

Total phenolic compounds 함량 정량

Total phenolic 정량은 Folin과 Denis의 방법[9]에 준하여 추출물 1 mL에 95% ethanol 1 mL와 증류수 5 mL를 첨가하고 1 N Folin-ciocalteu reagent 0.5 mL를 잘 섞어 5분간 방치한 후 Na₂CO₃ 1 mL를 가하여 흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선으로부터 양을 환산하였다.

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 저해 효과

DPPH radical 저해 효과 측정은 Blois의 방법[10]에 준하여, 시료 0.5 mL에 60 µM DPPH 3 mL를 넣고 vortex한 후 15분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical 저해 효과

ABTS radical 저해 효과 측정은 Pellegrini 등의 방법[11]에 준하여, 시료 7 mM ABTS와 140 mM K₂S₂O₈을 5 mL : 88 µL로 섞어 어두운 곳에 12-16시간 방치시킨 후, 이를 ethanol과 1:88의 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7±0.02가 되도록 조절된 ABTS solution을 사용하여 시료용액 50 µL와 ABTS solution 1 mL를 30초 동안 섞은 후 2.5분간 incubation하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Antioxidant protection factor (PF) 측정

PF 측정은 Andarwulan과 Shetty의 방법[12]에 준하여, 10 mg의 β-carotene을 50 mL의 chloroform에 녹인 용액 1 mL를 evaporator용 수기에 넣고 40 water bath에서 chloroform을 증류시킨 후 20 µL linoleic acid, 184 µL tween 40과 50 mL H₂O₂를 가하여 emulsion을 만들고, 5 mL의 emulsion에 시료 100 µL를 혼합하여 vortex로 잘 섞어 준 뒤 50 °C에서 30분간 반응 시켜 냉각시킨 다음, 470 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) 저해 효과

TBARs 저해 효과 측정은 Buege와 Aust의 방법[13]에 준하여, 1% linoleic acid와 1% Tween 40으로 emulsion을 만들고 emulsion 0.8 mL와 시료 0.2 mL를 섞은 후 50 °C water bath에서 10시간 반응시켰다. 반응액 1 mL에 regent 2 mL를 가하고 15분간 boiling한 다음 10분간 냉각시키고, 15분간 1,000 rpm으로 원심분리하여 실온에서 10분간 방치 후 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Hyaluronidase (HAase) 저해 효과

HAase 저해 효과는 Dorfman과 OTT의 방법[14]에 준하여, sodium-hyaluronic acid (HA)로부터 형성된 N-acetyl-glucosamine을 glucoxazoline 유도체로 변형시킨 후 ρ-dimethyl-aminobenzaldehyde (DMAB)로 발색시켜 600 nm에서 투과율을 측정하였다.

Elastase 효소저해 효과

Elastase 저해 효과는 Kraunsoe 등의 방법[15]에 준하여, 0.2 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 1 mL에 기질액 0.8 mM N-succinyl-(Ala)₃-p-nitroanilide 용액 0.1 mL의 혼합액에 1.0 U/mL porcine pancreatic elastase (PPE) (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 효소용액 0.1 mL와 50-200 µg/mL phenolic compounds 농도의 각 시료 0.1 mL를 넣고 대조구에는 시료 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하여 25 °C에서 20분간 반응시킨 후 ρ-nitroaniline 생성량을 흡광도 410 nm에서 측정하였다.

Collagenase 효소저해 효과

Collagenase 저해 효과 측정은 Wunsch와 Heidrich의 방법[16]에 준하여, 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mM CaCl₂를 첨가하여 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (0.3 mg/mL)를 녹인 기질액 0.25 mL와 50-200 µg/mL phenolic compounds 농도의 각 시료 용액 0.1 mL의 혼합액에 0.2 mg/mL collagenase (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 0.15 mL를 첨가하여 실온에서 20분간 방치한 후 6% citric acid

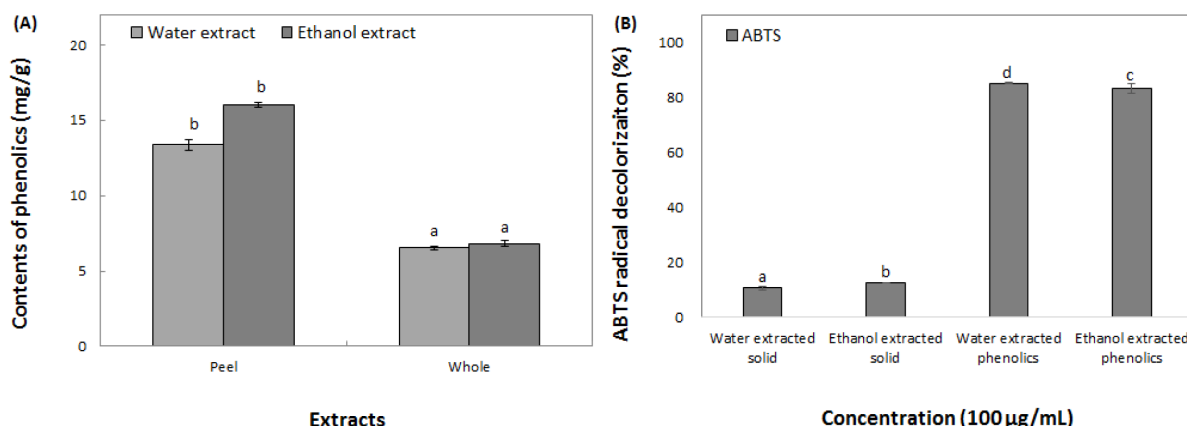


Fig. 1 The content of phenolic content (A) in Picnic apple and ABTS antioxidant activity (B) of solid and phenolics in picnic apple. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range tests

0.5 mL를 넣어 반응을 정지시킨 다음, ethyl acetate 2 mL를 첨가하고 320 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하였고 자료의 통계처리는 SPSS 23 for windows (Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균 ± 표준편차 (mean ± standard deviation)로 표시하였고 분산분석 Duncan's multiple range test, one-way ANOVA를 실시하여 시료 간의 유의차를 $p < 0.05$ 수준으로 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

신육성 품종인 피크닉 사과와 껍질, whole 사과 추출물의 고형분과 phenolic의 생리활성 비교

Polyphenol류는 식물체에 널리 분포하며, 자외선에 의한 산화, 곤충 및 미생물의 오염에 의한 피해로부터 자신을 스스로 보호하기 위한 방어기작으로 생산하는 파이토크미칼 물질로서 세포 내에서 생산되며, 식물에게는 방어 기작으로 이용되고 있으나, 인간들에게 적용되면 항당뇨, 항염증, 항고혈압, 항관절염 등의 약리적 작용을 수행하며 beauty food 분야에서는 항산화를 비롯한 미백, 주름개선 등의 다양한 미용활성을 나타내게 된다[17].

사과 신육성품종 피크닉 껍질, whole 사과 추출물의 phenolic 함량을 측정한 결과 껍질의 물과 ethanol 추출물에서 Fig. 1A에서와 같이 13.36과 16.02 mg/g으로 ethanol 추출물에서 더 높은 phenolic 함량을 나타내었고 whole 사과에서는 물과 ethanol 추출물에서 6.53과 6.82 mg/g으로 측정되어 껍질 추출물이 whole 사과 추출물보다 약 2.4배 정도의 높은 함량을 나타내었다. 이 등[18]은 그린볼사과 껍질의 ethanol 추출물에서 8.31 mg/g, whole 사과의 ethanol 추출물은 3.49 mg/g의 phenolic 함량을 나타내었다고 보고하였으며, 피크닉 사과와 whole 사과의 phenolic 함량이 더 높은 것을 확인할 수 있었다. 사과의 고형분과 phenolic 성분의 생리활성 효능을 비교를 위해 ABTS radical 소거능을 측정한 결과 Fig. 1B에서와 같이 피크닉 사과의 water, ethanol 추출물 100 µg/mL 농도의 고형분에서 각각

10.51%와 12.51%의 ABTS radical 소거능을 나타내었으나, 100 µg/mL 농도의 phenolic compound를 첨가하였을 때는 각각 85.16%와 83.2%의 ABTS radical 소거능을 나타내어 사과의 생리활성에는 고형분 중에 함유된 페놀성 물질에 의해 활성이 나타나는 것으로 확인되었다. 사과에는 procyanidin, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin, catechin, p-coumaroylquinic acid, rutin, phloridzin, quercetin과 같은 다양한 페놀성 물질이 존재하고, 이들 페놀성 물질들이 다양한 생리활성에 관여한다고 알려져 있으며[19,20], 이러한 페놀성 물질 중 일부는 다양한 식물에서 발견되는 천연물로 알려져 있다. 상기의 결과에 의해 피크닉 사과도 이러한 페놀성 물질들에 의해 생리활성이 지배되는 것으로 추측되었다.

신육성 품종인 피크닉 사과의 용매 농도별 phenolic compound 추출수율 비교

생리활성물질의 분리에는 다양한 방법이 적용되고 있으나 그 중 추출은 식물체에 함유된 생리활성 물질을 분리하는 간단하면서도 효과적인 방법이다. 추출에 사용되는 용매의 종류와 적용농도는 추출물의 생리활성 검정 단계에서 효능발현에 막대한 영향을 미치는데 이는 추출 시 분리되는 phenolic compound의 profile과 추출수율에 기인되기도 한다. 열수 추출은 용매에 대한 유해성이 없어 수용성 물질 추출에 많이 이용되고 있고, 극성 용매인 에탄올을 이용한 추출의 경우, flavonoid류, phenolics, tannin류 및 다양한 유기물질의 추출에 유리하게 작용된다[21].

신육성품종 피크닉 사과 추출물의 ethanol 농도별 phenolic 함량을 측정한 결과 Fig. 2에서와 같이 사과의 ethanol 농도별 추출에서는 40-80%의 ethanol 농도군에서 비슷한 용출율을 나타내었으나, 40% ethanol 추출물에서 5.55 mg/g으로 phenolic 함량의 가장 높은 추출 수율을 나타내었다. 따라서 높은 추출 수율과 기능성 식품 및 기능성 화장품에 적용시키기 위하여 피크닉 사과를 water와 40% ethanol을 용매로 사용하여 추출물을 제조하였다. 위의 결과에 따라 water, 40% ethanol로 추출한 추출물을 실험의 재현성을 위해 phenolic 함량을 25-200 µg/mL로 조절하여 항산화 효과, 건강기능성 식품 및 기능성 화장품 활성을 검증하였다.

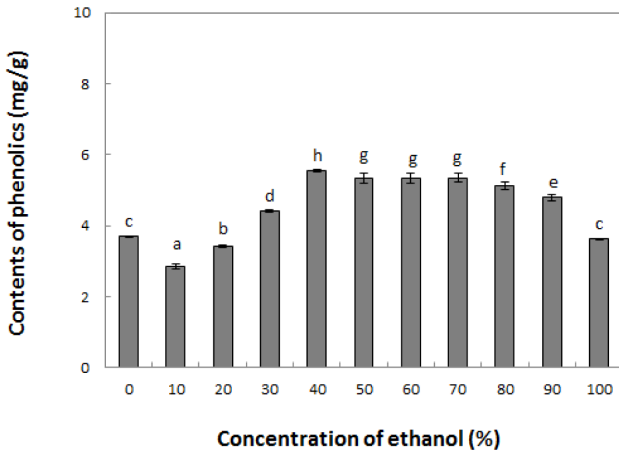


Fig. 2 The content of phenolic content in extracts from Picnic apple by various ethanol concentration. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range tests

신육성 품종인 피크닉 사과와 항산화 효과

항산화제는 식품의 산화를 방지하고 인체에서는 노화 방지, 성인병 예방 등의 기능을 수행할 수 있는 천연물질로 약리적 기능을 수행한다[22,23]. 항산화제는 반응성이 높아 체내 유해물질과 반응하여 세포내 주요 물질들이 활성산소에 의한 연쇄반응을 막아 주어 세포를 보호하는 역할을 하며, 체내에는 항산

화 효소계인 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase 등이 존재하며, 저분자 항산화제 혹은 free radical scavenger 역할을 하는 vitamin C, vitamin E, β -carote in, carotenoids, flavonoids, selenium 및 몇 가지 무기질 등이 항산화 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다[24].

피크닉 사과 추출물의 항산화 효과를 평가하기 위해 DPPH radical 소거능을 측정된 결과 Fig. 3A에서와 같이 피크닉 사과의 water, ethanol 추출물의 25-100 $\mu\text{g/mL}$ phenolic 농도에서 각각 86.01-88.10, 85.33-88.07%의 radical 소거능을 나타내었다. 피크닉 사과의 추출물을 이용하여 ABTS radical 소거능을 측정된 결과 Fig. 3B에서와 같이 피크닉 사과의 water, ethanol 추출물의 25-100 $\mu\text{g/mL}$ phenolic 농도에서 각각 44.84-98.79, 36.93-97.25%의 매우 높은 radical 소거능을 나타내었다.

11개의 이중 결합으로 구성되어 있어 높은 불포화 성질을 가지고 있는 β -carotene은 peroxy radical과 매우 쉽게 반응하는데 불포화된 탄소 중 하나에 선택적 연쇄 절단되어 항산화제로서 작용하는 성질을 이용하여 지용성 항산화능을 나타내는 PF를 측정된 결과 Fig. 3C에서와 같이 피크닉 사과의 water, ethanol 추출물의 25-100 $\mu\text{g/mL}$ phenolic 농도에서 각각 1.60-2.07 PF, 1.48-2.00 PF를 나타내어, 피크닉사과 추출물이 우수한 지용성 항산화능을 나타내는 것을 확인하였다. 피크닉 사과 추출물을 이용하여 또 다른 지용성 항산화능을 나타내는 TBARs를 측정된 결과 Fig. 3D에서와 같이 피크닉 사과의 water, ethanol 추출물에서 각각 9.67-24.55, 0.03-19.83%의 활성을 나타내었다.

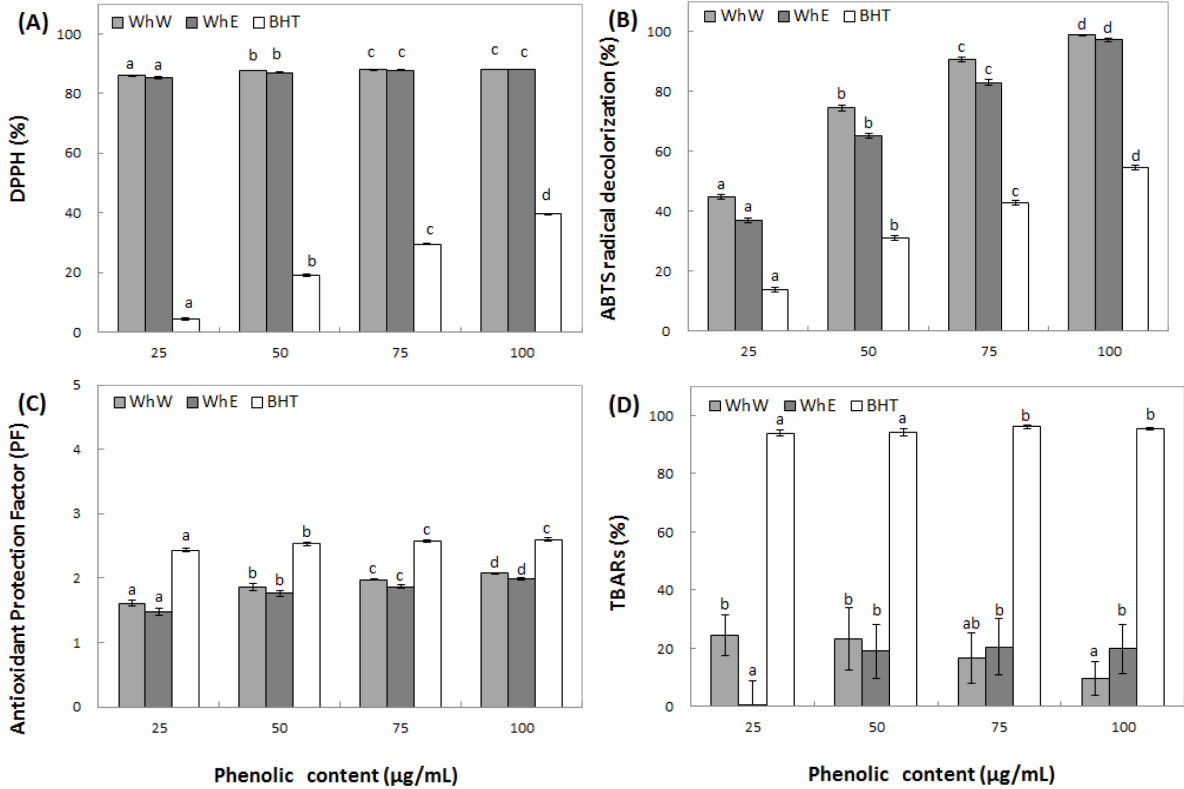


Fig. 3 Antioxidant activity of water and ethanol extracts from Picnic apple. A) DPPH, B) ABTS, C) PF, D) TBARs. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range tests. 1) WhW: whole fruit water extracts and 2) WhE: whole fruit ethanol extracts

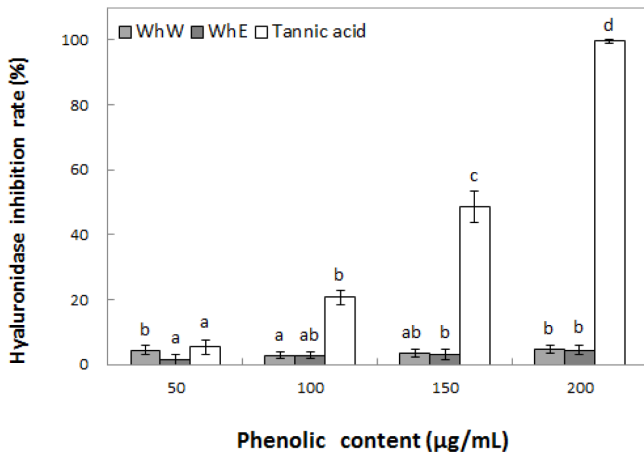


Fig. 4 Inhibition activity of water and ethanol extracts from Picnic apple on hyaluronidase. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range tests. 1) WhW: whole fruit water extracts and 2) WhE: whole fruit ethanol extracts

따라서 피크닉 품종의 사과는 높은 항산화 활성을 가짐으로 인해서 항노화를 위한 기능성 소재로 활용이 가능할 것으로 판단되었다. 특히 DPPH radical 소거능의 경우 25 µg/mL phenolic 정도의 매우 낮은 농도에서도 높은 항산화 활성을 나타내어, 소량의 첨가만으로도 매우 우수한 항산화 효과를 기대할 수 있는 장점을 나타내었다.

신육성 품종인 피크닉 사과 추출물의 항염증(hyaluronidase[HAase] 저해) 효과

고분자 물질인 hyaluronic acid는 염증 형성과정에서 중요한 macrophage의 phagocytic ability를 저해하며, hyaluronic acid의 분해산물은 피부에 발생한 상처가 치유되는 과정에서 inflammation, fibrosis, collagen deposition을 증가시킨다. 또한 HAase는 일반적으로 생체 항상성 유지를 위해 불활성 형태로 리소좀 등에 존재하고 있지만, 신체적 상해나 류마티즘과 같은

염증성 질환이 발병하였을 때 활성화 되어 혈관계 투과성 및 염증반응에 관여하므로 염증 유발 물질로 알려져 있다[25].

염증 유발에 관련이 있는 효소인 HAase 저해 효과를 측정된 결과 Fig. 4에서와 같이 피크닉 사과의 water 추출물에서는 50-200 µg/mL의 phenolic 농도에서 4.40-4.62%의 저해효과를 나타내었으며, ethanol 추출물에서는 50-200 µg/mL의 phenolic 농도에서 1.40-4.39%의 저해효과를 나타내었다. Positive control로 사용한 tannic acid보다는 낮은 억제효과를 나타내었지만, 피크닉 사과 추출물의 첨가 농도를 높인다면 어느 정도 효과가 발현되리라고 판단되었다.

신육성품종 피크닉사과 추출물의 항당뇨(α -amylase 저해, α -glucosidase 저해) 효과

탄수화물의 주종인 전분은 장관에서 α -amylase에 의해 그리고 소장 maltase에 의해 glucose로 가수분해되어 결국 혈류로 흡수되어 혈당량 및 insulin level의 상승을 가져온다. 따라서 α -amylase와 같은 효소의 작용을 제한 조절 할 수 있을 경우 전분의 소화속도를 지연시킴으로써 그 흡수 kinetics 및 혈당량의 분포에 영향을 미치게 되어 탄수화물의 조절이상으로 기인한 당뇨병이나 비만증상의 환자에게 있어서 식이요법의 치료효과를 증가시킬 수 있다[26,27].

피크닉 사과 추출물의 α -amylase 저해 효과를 측정된 결과 Fig. 5A에서와 같이 피크닉 사과의 water과 ethanol 추출물 50-200 µg/mL의 phenolic 농도에서 각각 2.53-2.61, 2.29-2.31%의 낮은 저해효과를 나타내었다.

α -Glucosidase는 소장 용모막에 존재하며 이당류나 다당류들을 보다 작은 단당류로 분해하여 당의 흡수를 촉진시켜 혈당 상승작용을 일으킨다. 특히 식후 30분이 경과 시 당의 흡수가 촉진되어 혈당이 증가하는데, 당뇨병 환자의 경우 급격히 상승하는 과도한 혈당 및 고혈당증이 지속됨에 따라 발생하는 활성 산소들로 인해 당뇨병의 복합증세인 신경장애, 신장장애, 그리고 망막증 등과 같은 질병이 발생하게 된다[28,29].

효모기원 α -glucosidase 활성저해 효과를 측정된 결과 Fig. 5B에서와 같이 피크닉 사과의 water 추출물에서는 50-200 µg/mL의 phenolic 농도에서 7.74-67.37%의 저해 효과를 나타내었

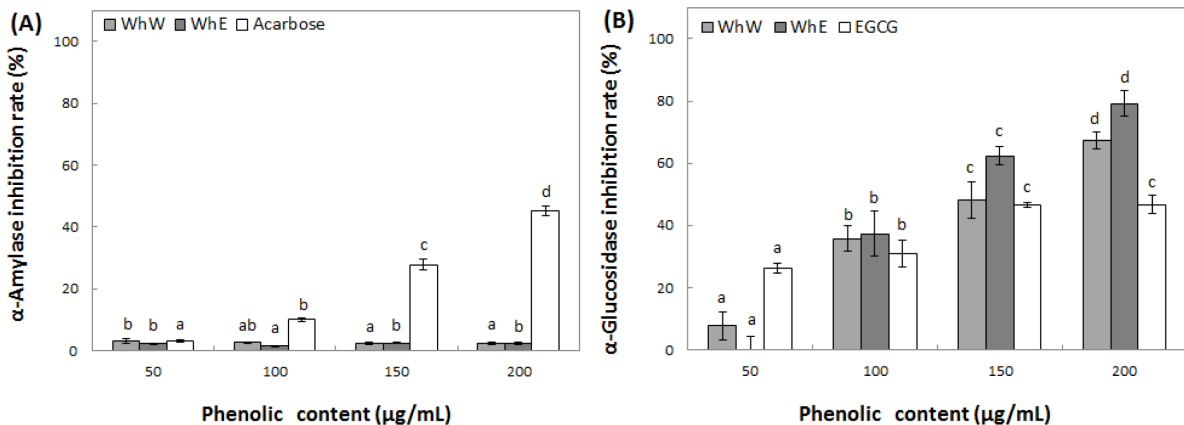


Fig. 5 Inhibition activity of water and ethanol extracts from Picnic apple on α -amylase (A) and α -glucosidase (B). Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range tests. 1) WhW: whole fruit water extracts and 2) WhE: whole fruit ethanol extracts

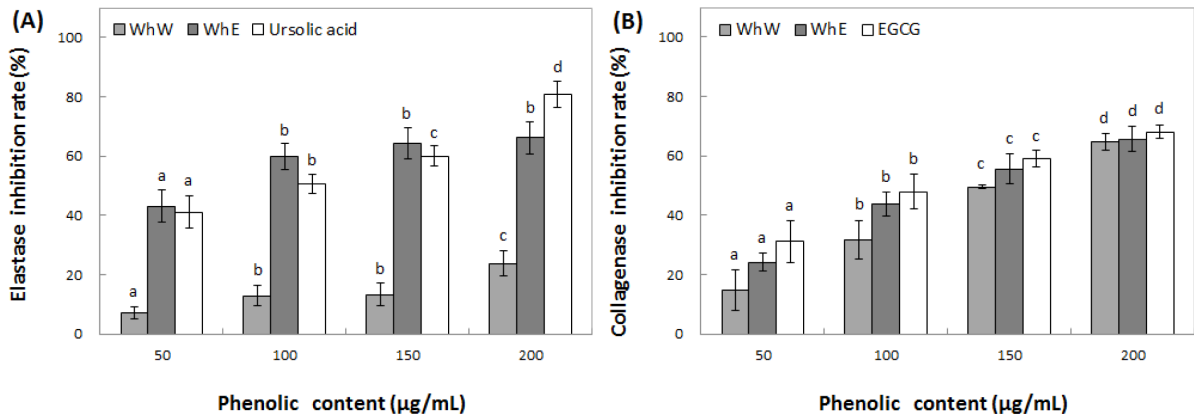


Fig. 6 Inhibition activity of water and ethanol extracts from Picnic apple on elastase (A) and collagenase (B). Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range tests. 1) WhW: whole fruit water extracts and 2) WhE: whole fruit ethanol extracts

고, ethanol 추출물에서는 50-200 µg/mL의 phenolic 농도에서 0.00-79.16%의 저해 효과를 나타내었다. 따라서 피크닉 사과 추출물이 탄수화물 분해 효소의 활성을 저해하는 것으로 확인되었다. 위의 결과에 따라 피크닉 사과 추출물의 당분해 억제효과를 확인하였고 기능성 식품분야에서 기능성 신소재로 적용 가능하다고 판단되었다.

신육성식품종 피크닉사과 추출물의 주름개선 효과

피부의 구조 단백질인 elastin은 피부가 damage를 입거나 노화가 진행됨에 따라 생성량이 감소하게되고, 피부의 노화 정도에 따라 type-1 collagenase의 생합성이 증가하여 collagen 단백질의 분해를 유도하여 피부탄력을 떨어뜨림으로서 피부 주름의 생성을 발생시킨다[30]. 피부탄력성 섬유(elastin)을 분해하는 효소인 elastase는 인체의 중성구 과립구 내에 존재하며 elastase의 저해효과는 피부 주름의 개선을 의미한다[31].

인체의 피부탄력을 유지해주는 elastin을 분해하여 피부 주름을 생성시키는 효소인 elastase의 저해 효과를 측정한 결과 Fig. 6A에서와 같이 피크닉 사과의 water 추출물에서는 50-200 µg/mL의 phenolic 농도에서 7.14-23.70%의 저해 효과를 나타내었고, ethanol 추출물에서는 50-200 µg/mL의 phenolic 농도에서 43.13-66.29%의 저해 효과를 나타내었다. Positive control로 사용한 ursolic acid는 50-200 µg/mL의 농도에서 20.16-43.47%의 저해 효과보다 상대적으로 더 높은 저해효과를 나타내었다.

Collagen은 피부의 진피층을 지탱하는 기계적 견고성과 결합 조직의 저항력, 세포분할과 분화를 유도하는 기능을 가지고 있으며, 자연노화 같은 내적요인과 외부 유해 환경에의 노출, 스트레스 증가, 자외선 조사에 의한 광노화와 같은 외적 요인에 의해 collagenase의 활성이 증가하게 되고, 이러한 반응은 collagen의 감소를 유발하게 되며, 결국 피부의 탄력을 저하시켜 주름과 피부처짐의 원인이 된다고 보고되어 있다[32].

Collagen을 분해하는 enzyme인 collagenase를 이용하여 저해 효과를 측정한 결과 Fig. 6B에서와 같이 피크닉 사과의 water 추출물에서는 50-200 µg/mL의 phenolic 농도에서 14.77-64.83%의 저해 효과를 나타내었고, 피크닉 사과의 ethanol 추출물에서는 50-200 µg/mL의 phenolic 농도에서 24.13-65.70%의 높은 저해 효과를 나타내었다. 따라서 피크닉 사과의 추출물은 피부

탄력을 유지하는데 중요한 단백질인 elastin과 collagen을 분해하여 주름 유발에 영향을 미치는 enzyme인 elastase 및 collagenase를 억제하여 피부 주름개선 효과에 긍정적인 효과를 미치는 것으로 확인되었다.

상기의 결과에서와 같이 피크닉 품종의 사과는 기능성식품과 기능성 화장품 활성 검정에서 매우 우수한 생리활성을 가지며, 산업화를 위한 기능성 소재로 활용이 가능할 것으로 판단되었다.

초 록

신육성식품종 피크닉 사과로부터 phenolic compounds를 추출 후 기능성 식품 및 기능성 화장품 활성을 검정하여 신육성 품종 피크닉사과의 기능성 소재 활용가능성을 살펴보았다. 피크닉 사과로부터 생리활성으로 작용하는 phenolic 화합물을 추출하기 위하여 water과 ethanol로 추출하였을 때 각각 6.81, 13.25 mg/g의 비교적 높은 phenolic 함량을 나타내었다. 피크닉 사과 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical 소거능은 water과 ethanol 추출물 100 µg/mL phenolic 농도에서 각각 87.69, 90.55%와 98.44, 96.95%의 매우 높은 DPPH 및 ABTS 전자공여능을 나타내었다. PF는 water과 ethanol 추출물 100 µg/mL phenolics 농도에서 각각 2.33, 2.40 PF를 나타내었으며, thiobarbituric acid reactive substances는 100 µg/mL phenolics 농도에서 water 추출물은 56.05%, ethanol 추출물은 84.19%의 항산화능을 나타내어, 피크닉 사과는 항산화 효과가 우수하여 노화방지를 위한 천연 항산화제로 활용가능성이 매우 높은 것으로 판단하였다. 피크닉 사과 추출물의 hyaluronidase 저해 효과를 측정한 결과 water과 ethanol 추출물에서 3-4% 정도의 낮은 저해 효과를 나타내었으며, 당분해 억제를 통해 항당뇨 효과를 나타내는 α-glucosidase 저해 효과를 측정한 결과 ethanol 추출물에서는 200 µg/mL phenolics 농도에서 50.34%의 우수한 저해 효과를 나타내었다. 주름개선 효과를 측정하는 elastase 및 collagenase 저해 효과는 200 µg/mL phenolics 농도에서 water과 ethanol 추출물에서 각각 31.77, 48.71와 44.43, 52.78%의 저해 효과를 나타내었다. 위의 결과에 따라 피크닉 사과 추출

물의 항산화, 항염증, 당분해 억제 및 주름개선 효과를 확인하였고, 기능성 식품 및 기능성 화장품의 기능성 소재로 활용가능성이 매우 높은 것으로 판단하였다.

Keywords 기능성식품 · 미용식품 · 생리활성 · 신육성품종 · 피크닉사과

감사의 글 본 연구는 2017년도 농촌진흥청 어젠다사업(과제번호: PJ01245503, 사과 신육성 품종 이용성 증대 연구)의 연구비 지원에 의해 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Korea Rural Economic Institute (2018) Agricultural Outlook 2018: Future of Agriculture and Rural Communities with the People, Korea
- Wolfe KL, Liu RH (2003) Apple peels as a value-added food ingredient. *J Agric Food Chem* 51: 1676–1683
- Li L, Tsao R, Yang R, Liu C, Zhu H, Young JC (2006) Polyphenolic profiles and antioxidant activities of heartnut (*Juglans ailanthifolia* var. *cordiformis*) and Persian walnut (*Juglans regia* L.). *J agric food chem* 54: 8033–8040
- Feliciano RP, Antunes C, Ramos A, Serra AT, Figueira ME, Duarte CM, Bronze MR (2010) Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1-Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *J funct foods* 2: 35–45
- Eberhardt MV, Lee CY, Liu RH (2000) Nutrition: Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405: 903–908
- 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
- Jedrychowski W, Maugeri U, Pac A, Sochacka-Tatara E, Galas A (2009) Reduced risk of colorectal cancer and regular consumption of apples: Hospital based case-control study in Poland. *Central European J Med* 4: 320–326
- Sul D, Kim HS, Lee D, Joo SS, Hwang KW, Park SY (2009) Protective effect of caffeic acid against beta-amyloid-induced neurotoxicity by the inhibition of calcium influx and tau phosphorylation. *Life sciences*, 84: 257–262
- Folin O, Denis W (1912) On phoshotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem*, 12: 239–243
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 181; 1199–1200
- Pellegrini N, Re R, Yang M, Rice-Evans C (1998) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Methods Enzymol* 299: 379–389
- Andarwulan N, Shetty K (1999) Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and agrobacterium-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J Agric Food Chem* 47: 1776–1780
- Buege JA, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol* 52: 302–310
- Dorfman A, Ott ML (1948) A turbidimetric method for the assay of hyaluronidase. *J Biol Chem* 172: 367–375
- Kraunsoe JA, Claridge TD, Lowe G (1996) Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochem* 35: 9090–9096
- Wunsch E, Heidrich HG (1963) Zur quantitativen bestimmung der kollagenase. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 333: 149–151
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20: 933–956
- Lee EH, Kim YJ, Kwon SI, Kim JH, Kang IK, Kim BO, Cho YJ (2018) Functional properties of newly bred green ball apple (*Malus pumila* Mill). *Kor J Food Preserv* 25: 837–845
- Yun HJ, Lim SY, Hur JM, Jeong JW, Yang SH, Kim DH (2007) Changes of functional compounds in, and texture characteristics of apples during post-irradiation storage at different temperatures. *Kor J Food Preserv* 14: 239–246
- Hwang IW, Kim CS, Chung SK (2011) The physicochemical qualities and antioxidant activities of apple juices marketed in Korea. *Kor J Food Preserv* 18: 700–705
- Cheon JH (2015) Effects of *Backhousia citriodora* extracts on antioxidant activity and bone formation. *MS Thesis*. Silla University, Busan, Korea. p. 4–6
- Farag RS, Badei AZMA, Hewedi FM, El-Baroty GSA (1989) Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *J Am Oil Chem Soc* 66: 792–799
- Frei B (1994) *Natural antioxidants in human health and disease*. Academic Press Publisher, Cambridge, MA, USA. p. 40–55
- Borrello S, Seccia A, Galeotti T, Bartoli GM, Farallo E, Serri F (1984) Protective enzymes in human epidermal carcinomas and psoriasis. *Arch Dermatol Res* 276: 338–340
- Ghosh P (1994) The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: Interactions with cells, cartilage and components of synovial fluid. *Clin Exp Rheumatol* 12: 75–82
- Brodbeck U (1980) *Enzyme inhibitors*. Verlag Chemie Publisher, Weinheim, Germany. p. 19
- Puls W, Keup U, Krause HP, Thomas G, Hoffmeister F (1997) Glucosidase inhibition. A new approach to the treatment of diabetes, obesity, and hyperlipoproteinaemia. *Naturwissenschaften* 64: 536–537
- Hanefeld M (1998) The role of acarbose in the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 12: 228–237
- McDougall GJ, Stewart D (2005) The inhibitory effects of berry polyphenols on digestive enzymes. *Biofactors* 23: 189–195
- Lee SJ, Kwon YY, Cho SW, Kwon HS, Shin WC (2013) Effects of Ehwa Makgeolli containing oriental herbs on skin whitening and wrinkles. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 42: 550–555
- Lee JY, An BJ (2012) Whitening and anti-wrinkling effects of fractions from *Prunus persica* Flos. *Kor J Micro Biotech* 40: 364–370
- Giacomini PU, Rein G (2001) Factors of skin ageing share common mechanisms. *Biogerontology* 2: 219–229