

## 사과농축액의 갈변현상 및 그 억제

배수경<sup>†</sup> · 이영철 · 김현위

오뚜기 중앙연구소

## The Browning Reaction and Inhibition of Apple Concentrated Juice

Soo-Kyung Bae<sup>†</sup>, Young-Chul Lee and Hyeon-Wee Kim

Ottogi Reserch Center, Anyang 431-070, Korea

### Abstract

The study was conducted to investigate the effect of the browning inhibitors such as PVPP (polyvinylpoly-pyrrolidone), A.A. (ascorbic acid) on nonenzymatic browning factors [free sugar, total amino acid, organic acid, A.A., HMF (hydroxymethylfurfural)] and enzymatic browning factors [PPO (polyphenoloxidase) activity, polyphenol compounds] in concentrated apple juice during 90 days storage. Considering color value (L value,  $\Delta E$ ), absorbance at 420 nm, concentrated apple juice added with PVPP showed clearly the effect of browning inhibition. According to the storage period, the changes of nonenzymatic factors in concentrated apple juice added with browning inhibitors were similar to those in control (concentrated apple juice without browning inhibitors), which were the decrease of sucrose (0.24~0.35% at 90 days), the slight increase of glucose and fructose, the decrease of total amino acid (530.4~573.1 mg/100 g at 90 days), same value of A.A. at 90 days (38.5~78.6 mg/100 g), and the increase of HMF (27.8~30.6 mg/100 g at 90 days). On the contrary, enzymatic browning factors were significantly inhibited in concentrated apple juice added with PVPP, judging from the slow increase of PPO activity and the significant decrease of initial value in polyphenol compounds (especially chlorogenic acid). These results suggest that PVPP plays an important role as enzymatic browning inhibitor, that is, a scavenger of polyphenol compounds by adsorption in concentrated apple juice.

**Key words:** concentrated apple juice, browning reaction, browning factors, PVPP, ascorbic acid

### 서 론

식품의 갈변화는 마이알 반응, 카라멜화 반응 및 아스코르빈산 산화반응 등의 비효소적 갈변과 polyphenoloxidase(PPO)에 의한 효소적 갈변으로 크게 나뉘어진다. 과실류에서의 갈변은 과실류의 종류, 수확시기 및 가공방법 등에 따라 크게 영향을 받게된다. Kim 등(1)은 과당시럽에서 hydroxymethylfurfural(HMF)의 형성을 갈색화 반응의 최종단계로 보고 갈변 정도를 측정하였으며, Wong과 Stanton(2)은 키위즙농축물에서 당, 유기산, 아미노산 그리고 아스코르빈산으로 구성된 다양한 모델 시스템에서 마이알 반응보다는 아스코르빈산의 산화가 갈변에 더 중요한 요인임을 보고하였다. 한편, PPO 및 페놀화합물에 의한 효소적 갈변에 관한 연구들 역시 다양하게 이루어졌는데 Zhou와 Feng(3)은 Yali pear에서 PPO의 기질로서 catechol, pyrogallol, DL-DOPA, chlorogenic acid가 효과가 높으며, 0.43 mM thiourea, 0.14 mM  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.14 mM sodium diethyldithiocarbamate 등이 PPO 활성을 80% 이상 억제하였다고 제시하였다. Sciancalepore(4)는 5종류의 olive 중 *Ascolana Tenera*에서 갈변

도가 높을수록 PPO와 *o*-diphenol 함량이 가장 높게 나타나 PPO와 *o*-diphenol 함량이 갈변화와 연관성을 가짐을 시사하였으며, Amiot 등(5)은 숙성된 다양한 사과조직에서 갈변정도가 hydroxycinnamic derivatives와 flavan-3-ols 등과 연관성을 지니고 있음을 보고하여 PPO 활성과 더불어 phenolic 함량도 갈변에 영향이 있음을 알 수 있었다. 이러한 다양한 원인으로 과실류에서의 갈변은 과실류를 이용한 식품내에서의 갈변화를 유도함으로써 관련 식품의 색, 물성 등을 변화시키고 상품의 가치를 떨어뜨리게 한다. 이러한 갈변을 방지하기 위한 노력의 일환으로 과실류에 다양한 첨가물을 사용하거나 한외여과, 전기투석 등으로 고형물들을 제거하는 방법 등(6-11)이 모색되고 있으나 상업적 적용 부분에 있어서는 아직 미흡한 점들이 많은 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 사과농축액에서의 갈변화의 원인을 규명함과 동시에 첨가제에 의한 갈변의 억제과정을 저장기간에 따라 살펴보고자 한다. 이때, 사용되는 첨가물은 상업적으로 과실유료, 농축액 등에서 산화방지를 목적으로 손쉽게 사용되는 아스코르빈산과 음료의 청징제로 사용되어지며 식품첨가물로서 Codex(12) 및 식품첨가물공전(13)에 기재된

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: agnesbae@ottogi.co.kr  
Phone: 82-31-421-2139, Fax: 82-31-421-2133

PVPP(polyvinylpolypyrrolidone)를 선정, 갈변억제제로서 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

사과농축액(1998년 10월, 경북농금)을 제조하여 사용하였으며, 첨가제로는 PVPP(polyvinylpolypyrrolidone, Sigma Chem. Co., USA)와 ascorbic acid(동은소재, Korea)를 각각 사용하였다.

### 사과농축액의 제조

사과농축액은 사과를 마쇄, 착즙하고 이를 회전진공농축기(EYELA, Japan)를 사용해 당도 70°Brix가 되도록 농축하였으며 증류수로 3배 희석한 다음 갈변억제제, 즉 PVPP(polyvinylpolypyrrolidone)는 1.7%, ascorbic acid(이하 A.A로 표기)는 0.4%가 되도록 첨가하고 사용할 때마다 0.45 µm syringe filter로 걸러 시료로 사용하였다. 이때, 갈변억제제의 첨가농도는 예비실험을 통해 결정되어졌으며 제조된 사과농축액은 37°C 항온실에 보관하면서 경시변화 실험을 진행하였다.

### 물리적 특성의 측정

pH와 °Brix는 각각 pH meter(Beckman, USA), digital automatic refractometer(Abbemat, West Germany)로 측정하였다. 색도는 색차계(Hunter Lab Dp-9000, Reston, USA)로 측정하여 Hunter scale에 의한 L, a, b값 및  $E=[(L-L_0)^2 + (a-a_0)^2 + (b-b_0)^2]^{1/2}$ 인 ΔE 값으로 나타내었으며 이 때의 표준색판은 백색판(L=91.93, a=-0.91, b=-0.90)을 사용하였다. 갈변도는 spectrophotometer(Hewlett Packard 8453)를 사용해 420 nm에서의 O.D.값을 측정하였다.

### 유기산의 분석

Oxalate, tartarate, malate, lactate, acetate, citrate, succinate, fumarate를 각각 농도별(0.1, 0.5, 1 mg/mL)로 조제하여 표준용액으로 하고, 시료는 증류수로 5배 희석하여 사용하였다. 분석조건은(14) HPLC(Hewlett Packard 1100 series, USA)를 이용하였고 컬럼은 Hypersil-ODS(200×4.6 mm, 25°C), 이동상은 0.5% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 검출기는 photodiode array detector(PDA 1050, Hewlett Packard), UV detection at 210 nm, 유속은 0.6 mL/min, 주입량은 10 µL로 하였다.

### 유리당의 분석

Sucrose, maltose, glucose, fructose를 각 농도별(0.1, 0.5, 1 mg/mL)로 조제하여 표준용액으로 하고, 시료는 증류수로 10배 희석해서 사용하였다. 분석조건은(15) HPLC(Hewlett Packard 1100 series, USA)를 이용하였고, 컬럼은 Kromasil KR0100-10NH<sub>2</sub>(250×4.5 mm, 30°C), 이동상은 75% acetonitrile, 검출기는 refractive index detector(RI 1047A, Hewlett

Packard, 50°C), 유속은 1.6 mL/min, 주입량은 10 µL로 하였다.

### 총아미노산의 분석

Waters Pico-Tag workstation(Millipore Co.)으로 전처리하였다(16). 사과농축액 10 mL를 반응시험관(reaction vial)에 달고 6 N HCl 15 mL를 가하여 105±1°C의 oven에서 24시간 가수분해한 후 실온에서 냉각하였다. 가수분해가 끝난 시료에 3차 증류수로 총 50 mL의 양이 되도록 희석하여 0.45 µm microfilter로 여과한 다음, 여과액 200 µL를 시료관(sample vial)에 취하여 Pico-Tag workstation을 이용하여 건조하였다. 건조물을 0.1 N HCl 200 µL로 용해하여 HPLC 분석시료로 하였다. 분석조건은 HPLC(Hewlett Packard 1100 series, USA), 컬럼은 AminoQuant column(200×2.1 mm, Hewlett Packard PN 79916AA-572), 검출기는 photodiode array detector(PDA 1050, Hewlett Packard), UV detection at 338 nm를 사용하였다. 컬럼온도는 40°C, 이동상은 amino acid buffer A, B, 주입량은 10 µL로 하였다.

### HMF(hydroxymethylfurfural) 함량의 분석

마이알 반응과 카라멜화 반응 등에 의한 중간생성물을 확인하고자 사과농축액의 HMF(hydroxymethylfurfural) 함량을 측정하였다. 즉, HMF(Aldrich, Co., 순도 99%)를 Lee 등의 방법(17)에 따라 10, 50, 100 mg/kg의 농도로 증류수에 녹여 표준용액으로 하고, 시료는 증류수를 가하여 2배로 희석하여 사용하였다. 분석조건은 HPLC(Hewlett Packard 1100 series, USA), 컬럼은 HP Hypersil ODS(200×4.6 mm), 이동상은 20% acetonitrile, 검출기는 photodiode array detector(PDA 1050, Hewlett Packard), UV detection at 280 nm, 유속은 0.8 mL/min, 주입량은 10 µL로 하였다.

### Ascorbic acid(A.A.)의 분석

사과농축액에서 저장기간에 따른 A.A 소실정도를 측정하여 A.A의 갈변반응에의 참여여부를 알아보고자 하였다. A.A. 농도의 측정은 Wong과 Stanton(2)의 방법을 변형한 것으로 사과농축액을 증류수로 5배 희석한 후 HPLC로 측정하였다. 분석조건은 HPLC(Hewlett Packard 1100 series, USA), 컬럼은 HP Hypersil ODS(200×4.6 mm, 40°C), 이동상은 H<sub>2</sub>O(pH 2.1±0.05 with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 100%, 검출기는 photodiode array detector(PDA 1050, Hewlett Packard), UV detection at 210 nm, 유속은 0.8 mL/min, 주입량 10 µL로 하였다. 표준품은 L-ascorbic acid(Sigma Co., 99%)로 0.1, 0.5, 1 mg/mL로 표준검량선을 작성하여 정량하였다.

### PPO(polyphenoloxidase) 활성의 측정

Polyphenoloxidase(PPO) 활성은 crude enzyme을 Archer and Palmer의 방법(18)을 수정하여 추출한 후 측정하였다. 즉, 사과농축액 5 g에 1% carbowax 6000이 함유된 0.1 M phosphate buffer(pH 6.5) 10 mL를 혼합하여 추출한 후 각각을 8000 rpm으로 20분간 원심분리하여 얻어진 상등액을 조

효소추출물로 간주하였다. 이때, 최종부피가 3 mL가 되도록 0.1 M phosphate buffer(pH 6.5) 1.2 mL, 조효소추출물 0.3 mL, 기질로서 5 mM chlorogenic acid 1.5 mL를 혼합, 반응시킨 다음 spectrophotometer 420 nm에서 반응시간 5분내로 흡광도를 측정하여 효소활성으로 나타내었다.

#### 폴리페놀화합물의 분석

분액갈때기에 사과농축액 100 mL와 동량의 ethyl acetate를 혼합한 후 ethyl acetate층을 분리, 추출하였으며 이 과정을 3회 반복하여 ethyl acetate 추출물을 합한 후 무수황산나트륨을 가하고 여과하여 회전진공농축기(50°C)로 완전히 농축한 후 시액(19)(0.2 M 인산완충액; pH 3.0: 메탄올: 물= 2: 3: 15, v/v/v) 10 mL로 잘 희석한 용액을 0.45 µm로 여과한 다음 HPLC로 측정하였다. 분석조건은(19) HPLC(Hewlett Packard 1100 series, USA), 컬럼은 HP Hypersil ODS(200 × 4.6 mm, 40°C), 이동상은 acetonitrile: acetic acid: methanol: water(113: 5: 20: 862, v/v/v/v), 검출기는 photodiode array detector(PDA 1050, Hewlett Packard), UV detection at 280 nm, 유속은 1.0 mL/min, 주입량 20 µL로 하였다. 이때 catechol, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin 등 표준품(Sigma Chem. Co., USA)을 농도별로 조제한 후, 검량선을 작성하여 정량하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 물리적 특성 및 색도 변화

갈변억제제를 첨가한 사과농축액의 저장기간에 따른 pH와 °Brix, 색도값의 변화를 Table 1에 나타내었다. 저장기간이 경과됨에 따라 pH값은 약간 감소하는 경향을 나타냈으나

저장기간 90일째는 다시 증가하여 초기값에 비해 뚜렷한 변화가 없었으며 °Brix 변화에서는 저장기간의 경과에 따라 약간의 감소경향을 보였다. 색도값의 변화는 저장기간이 경과할수록 시료 모두에서 L값은 감소하고 b값은 높아져 갈변화가 많이 진행되어짐을 알 수 있는데 대조구에 비해 갈변억제제가 첨가된 농축액에서 갈변진행정도를 나타내는 ΔE값의 변화가 작으므로 갈변억제제에 의한 갈변저해효과가 나타난 것을 알 수 있으며 이때, A.A.보다는 PVPP가 갈변저해제로서 우수하였다. 이러한 PVPP는 대조구에 비해 저장초기(저장기간 1일)에서 L값 8.84, ΔE값 3.41로 대조구 L값 6.94, ΔE값 0을 기준으로 할 때 상당한 색차(백색화됨)를 보이므로 PVPP가 갈변저해 뿐 아니라 사과농축액의 갈변에 관계된 색소, 부유물질 등도 함께 제거하는 역할이 있는 것으로 판단되어지며, 이는 탁도의 지표가 되는 부유 단백질과 폴리페놀화합물의 제거에 bentonite와 gelatin 처리, PVPP와 tannic acid 처리가 효과가 있다는 Siebert 및 Lynn(20)과 유사한 결과로 PVPP 단독 처리시에도 부유물 제거에 효과가 있음이 나타났다.

##### 갈변도 변화

Fig. 1은 사과농축액에서의 저장기간 90일 동안의 갈변정도를 O.D.값으로 나타낸 것으로, Table 1의 색도결과에서처럼 PVPP 첨가시에 초기(저장기간 1일)값이 각각 0.36으로 현저하게 낮아져 PVPP 첨가가 농축액의 초기갈변을 억제시켰음을 확인할 수 있었다. 저장기간에 의한 변화에서도 대조구와 A.A. 첨가농축액보다 PVPP 첨가농축액에서 갈변정도가 약하게 진행되었다. A.A. 첨가농축액의 경우는 대조구보다 오히려 갈변화가 심하였는데 이는 다량의 A.A.가 산화에 의해 DHA(dehydroascorbic acid)로 되어 갈변이 오

Table 1. Effect of antibrowning agents on pH, soluble solid (°Brix) and color of the concentrated apple juices

Treatment	Characteristics	Storage period (days)				
		1	30	60	90	
Control	pH	3.11	3.07	3.04	3.11	
	Soluble solid (°Brix)	27.76	27.64	27.80	27.73	
		L	6.94	5.24	3.96	4.15
	Color	a	-0.21	0.63	1.59	1.09
		b	4.35	3.27	2.46	0.37
		ΔE	0	2.18	3.96	5.03
Added PVPP <sup>1)</sup>	pH	3.12	3.08	3.07	3.10	
	Soluble solid (°Brix)	27.80	27.76	27.96	27.76	
		L	8.84	8.11	6.94	6.95
	Color	a	-2.5	-1.75	-0.29	0.50
		b	6.01	4.18	3.98	2.36
		ΔE	3.41	1.94	0.38	2.11
Added A.A. <sup>2)</sup>	pH	3.10	3.06	3.05	3.09	
	Soluble solid (°Brix)	27.86	27.77	27.92	27.81	
		L	7.02	5.72	4.06	4.42
	Color	a	-0.52	0.39	0.71	1.21
		b	4.48	3.17	3.67	3.35
		ΔE	0.35	1.80	3.10	3.06

<sup>1)</sup>PVPP: polyvinylpyrrolidone <sup>2)</sup>A.A.: ascorbic acid

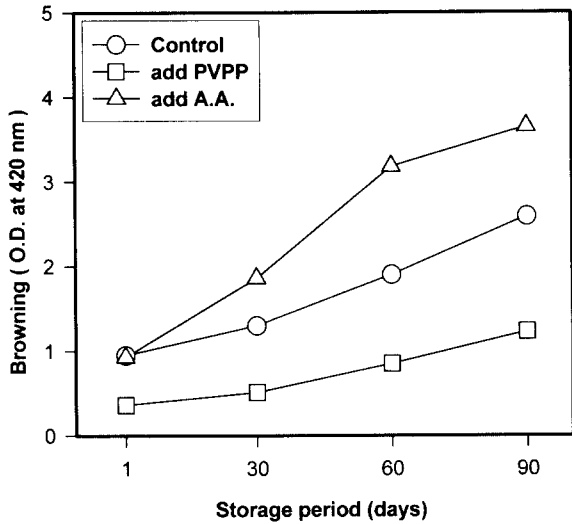


Fig. 1. Effect of antibrowning agents on browning of the concentrated apple juices.

PVPP: polyvinylpyrrolidone, A.A.: ascorbic acid

히려 촉진된 것으로 생각된다(21,22).

유기산 함량의 변화

첨가물이 함유된 사과농축액에서의 저장기간 경과에 따른 유기산 변화를 Table 2에 나타내었는데 acetate, malate와 succinate에서 저장기간 90일에 초기값에 비해 약간의 증가 경향을 나타냄을 알 수 있었다. 갈변화가 상당히 억제된 PVPP 첨가농축액과 대조구, A.A. 첨가농축액간의 유기산 함량 변화는 뚜렷하지 않으므로 유기산의 변화가 갈변화에 크게 영향을 주지 않았으며 사과농축액에서 저장기간에 따른 유기산의 증가는 당류 등의 분해로 인한 유기산의 생성 및 A.A. 산화반응 중 L-threonic acid, 2,5-dihydro-2-furoic acid 등 유기산의 생성이 원인으로 생각되어진다(22).

유리당 함량의 변화

저장기간에 따른 유리당 변화를 Table 3에 나타내었다. 저장 초기 최고 13.33%, 9.35%를 나타내는 fructose와 glucose가 저장 90일째에는 fructose와 glucose 각각이 13.95~16.38%, 10.33~10.84%로 높게 증가함을 보여 사과농축액에서 당의 변화가 상당히 일어났음을 알 수 있었다. 한편, sucrose의 경우에는 저장초기 값이 4.76~5.08%에서 저장기간 90일경과시에는 0.24~0.46%로 상당히 감소함을 보였는데 이는 이 당류인 sucrose가 사과농축액의 저장과정 중 단당류인 fructose와 glucose로 전환된 결과로 추정되어진다. 또한 이들 sucrose가 갈변화와 연관하여 마이알 반응 중 소모되었을 가능성도 시사되었다.

아미노산 함량의 변화

저장기간에 따른 아미노산 변화에서는(Table 4), 저장기간 초기(1일)에 비해 저장기간이 경과될수록 아미노산 함량이 감소함을 알 수 있는데 즉, 저장기간 90일경에는 초기 총아

Table 2. Organic acid contents of the concentrated apple juices treated with antibrowning agents during storage (Unit: %)

Organic acids	Storage period (days)	Control	Added PVPP <sup>1)</sup>	Added A.A. <sup>2)</sup>
Oxalate	1	0.01	0.01	0.01
Tartarate		0.06	0.07	0.07
Malate		0.97	1.00	0.98
Lactate		0.08	0.10	0.09
Acetate		0.05	0.05	0.06
Citrate		0.07	0.07	0.06
Succinate		0.03	0.03	0.01
Fumarate		tr <sup>3)</sup>	tr	tr
Oxalate	30	0.01	0.01	0.01
Tartarate		0.08	0.08	0.10
Malate		1.05	1.04	1.10
Lactate		0.06	0.12	0.13
Acetate		0.06	0.06	0.06
Citrate		0.14	0.09	0.17
Succinate		0.04	0.04	0.10
Fumarate		tr	tr	tr
Oxalate	60	0.01	0.01	0.01
Tartarate		0.08	0.08	0.10
Malate		1.06	1.06	1.10
Lactate		0.09	0.08	0.09
Acetate		0.06	0.06	0.07
Citrate		0.07	0.07	0.03
Succinate		0.06	0.04	0.14
Fumarate		tr	tr	tr
Oxalate	90	0.01	0.01	0.01
Tartarate		0.10	0.10	0.10
Malate		1.07	1.09	1.10
Lactate		0.09	0.10	0.11
Acetate		0.08	0.07	0.08
Citrate		0.09	0.12	0.12
Succinate		0.06	0.06	0.09
Fumarate		tr	tr	tr

<sup>1)</sup>PVPP: polyvinylpyrrolidone

<sup>2)</sup>A.A.: ascorbic acid

<sup>3)</sup>tr: trace

Table 3. Free sugar contents of the concentrated apple juices treated with antibrowning agents during storage (Unit: %)

Free sugars	Storage period (days)	Control	Added PVPP <sup>1)</sup>	Added A.A. <sup>2)</sup>
Fructose	1	12.74	13.05	13.33
Glucose		8.62	8.86	9.35
Sucrose		4.76	5.00	5.08
Maltose		0.21	0.16	0.19
Fructose	30	14.31	16.48	15.33
Glucose		10.37	12.49	10.84
Sucrose		1.15	1.61	1.10
Maltose		0.58	0.34	0.14
Fructose	60	15.20	15.43	14.44
Glucose		10.87	11.46	11.24
Sucrose		0.23	0.53	0.37
Maltose		0.35	0.43	0.25
Fructose	90	14.64	13.95	16.38
Glucose		10.53	10.33	10.84
Sucrose		0.24	0.46	0.35
Maltose		0.42	0.20	0.49

<sup>1)</sup>PVPP: polyvinylpyrrolidone

<sup>2)</sup>A.A.: ascorbic acid

**Table 4. Total amino acid contents of the concentrated apple juices treated with antibrowning agents during storage**  
(Unit: mg/100 g)

Amino acids	Treatment		Control				Added PVPP <sup>1)</sup>				Added A.A. <sup>2)</sup>			
	Storage period		1	30	60	90	1	30	60	90	1	30	60	90
Aspartic acid			626.8	553.0	388.4	270.7	612.4	516.4	390.9	259.4	573.6	483.3	331.1	283.8
Glutamic acid			47.2	17.6	17.7	20.5	40.7	21.6	17.6	18.8	37.6	23.1	16.0	21.5
Serine			7.4	11.7	22.3	11.8	16.9	17.1	19.6	10.6	9.7	10.8	12.8	14.1
Glycine			5.2	8.4	6.5	6.0	5.3	5.4	6.3	5.0	4.1	4.4	5.9	5.8
Threonine			10.8	11.1	16.1	12.9	21.0	18.0	16.5	12.3	15.0	15.3	15.7	14.8
Alanine			16.8	17.2	16.9	20.8	23.8	19.8	16.7	20.3	17.5	17.9	17.8	22.3
Arginine			4.0	8.9	10.0	11.9	22.5	14.8	10.7	27.6	15.0	13.5	9.5	26.7
Tyrosine			4.6	13.2	23.8	18.4	4.4	13.3	23.0	13.7	3.0	15.1	23.5	19.9
Cystine			2.6	4.1	9.4	3.8	1.7	4.4	7.1	5.5	1.2	2.5	6.0	3.8
Valine			8.2	9.6	12.2	9.3	8.0	7.9	9.9	9.0	6.7	6.2	8.1	9.5
Methionine			7.7	8.7	12.4	7.8	6.7	13.6	14.6	8.6	5.4	4.1	10.5	8.1
Phenylalanine			5.8	6.6	7.0	6.7	6.4	7.4	9.4	6.5	5.5	6.3	6.7	7.1
Isoleucine			12.7	16.3	14.6	44.7	10.5	16.1	17.3	12.5	9.6	12.2	14.9	13.8
Leucine			8.9	4.3	6.9	5.4	8.4	9.1	7.1	3.7	7.6	7.4	7.3	4.5
Lysine			19.4	20.3	20.0	20.4	19.3	19.1	18.4	18.1	16.2	19.0	21.3	17.9
Proline			6.8	7.2	6.6	11.9	4.4	4.5	2.8	8.8	5.2	6.9	4.4	9.5
Total			794.9	718.2	650.8	573.0	812.4	708.5	647.9	530.4	732.9	648.0	571.5	573.1

<sup>1)</sup>PVPP: polyvinylpolypyrrolidone <sup>2)</sup>A.A.: ascorbic acid

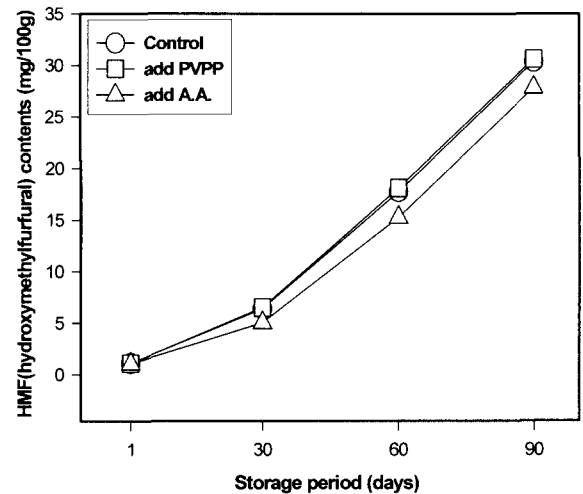
미노산 함량에 비해 21.80~34.71%가 감소하였다. 또한 저장기간에 따라 sucrose도 감소하는 것으로 나타나(Table 3) 대조구와 첨가물을 넣은 사과농축액 모두에서 마이알 반응이 진행되었음을 알 수 있었다. 첨가물에 따른 아미노산 변화에 있어서는 저장기간에 따라 갈변화가 많이 진행된 대조구, A.A. 첨가농축액과 갈변진행이 상당히 억제되어진 PVPP 첨가농축액간의 아미노산 함량 변화가 뚜렷하지 않아 PVPP가 사과농축액내의 비효소적 갈변반응에서는 갈변억제효과가 약한 것을 알 수 있었다.

**HMF(hydroxymethylfurfural) 함량의 변화**

저장기간에 따른 사과농축액에서의 HMF 변화를 본 결과(Fig. 2) 저장기간 초기 HMF 함량이 2.06 mg/100 g에서 저장기간 90일째 30.61 mg/100 g로 상당히 증가함을 알 수 있었다. HMF가 마이알 반응 및 카라멜 반응 등으로 인한 멜라노이딘 형성 중 생성되는 물질임을 생각할 때 저장기간이 경과함에 따라 사과농축액에서 비효소적 갈변반응이 일어났음이 추정되었다. 한편 저장초기와 저장기간이 증가함에 따라 뚜렷한 갈변억제효과를 보인 PVPP 첨가농축액에서의 HMF 값의 변화는 저장기간 90일째 대조구와 A.A. 첨가농축액에 비해 HMF 수치의 감소가 일어나지 않으므로 PVPP로 인한 갈변억제작용이 비효소적 갈변반응에서는 효과가 약함을 알 수 있었다. 따라서 PVPP 첨가에 의한 갈변억제작용은 사과농축액에서 일어나는 효소적 갈변반응 또는 다른 여러 반응 중에 작용하여 갈변억제효과를 나타내는 것으로 생각된다.

**Ascorbic acid(A.A.) 함량의 변화**

저장기간 중 A.A. 함량의 변화에서는(Fig. 3) A.A.를 첨가한 농축액에서 저장기간 초기 대조구에 비해 상당히 높은



**Fig. 2. HMF (hydroxymethylfurfural) contents of the concentrated apple juices treated with antibrowning agents during storage.**

PVPP: polyvinylpolypyrrolidone, A.A.: ascorbic acid

A.A.를 함유하지만 저장기간 90일째는 약간 높은 수준을 보일 뿐 A.A.를 첨가하지 않은 농축액과 거의 차이가 나지 않았다. 이처럼 A.A.는 저장기간에 따라 소모되어지고 또한 이렇게 소모된 A.A.가 갈변화 진행을 빠르게 유도하는 것으로 생각되어지는데 이는 색도, 갈변도 등(Table 1, Fig. 1)에서 A.A. 첨가농축액의 갈변이 상당히 진행되어지는 것으로도 확인할 수 있었다.

**PPO(polyphenoloxidase) 활성**

Fig. 4는 사과농축액에서의 갈변과 효소와의 연관성을 O.D.값으로 나타낸 결과이다. 갈변화가 많이 진행된 것으로

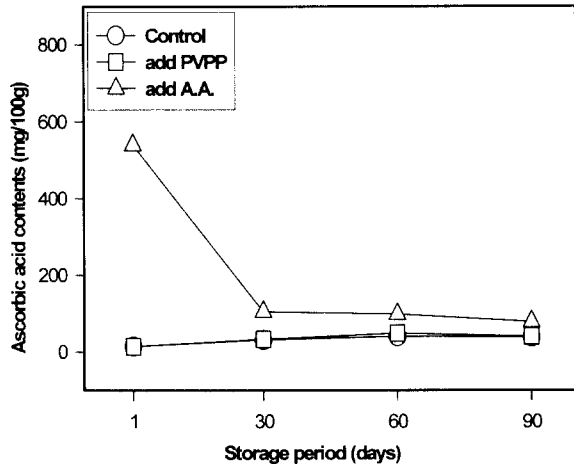


Fig. 3. Ascorbic acid contents of the concentrated apple juices treated with antibrowning agents during storage. PVPP: polyvinylpyrrolidone, A.A.: ascorbic acid

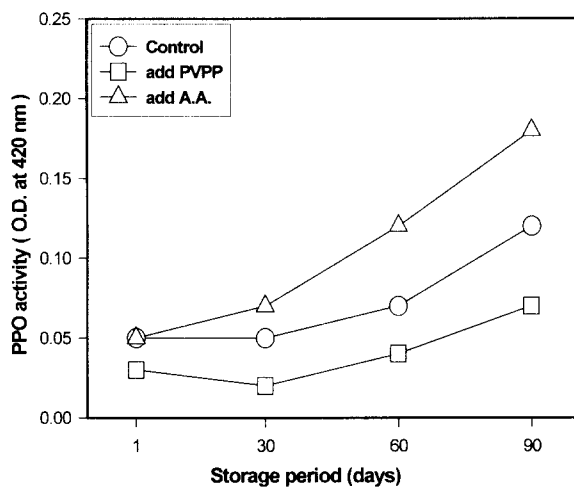


Fig. 4. Effect of antibrowning agents on PPO activity of the concentrated apple juices. PVPP: polyvinylpyrrolidone, A.A.: ascorbic acid

나타난(Table 1, Fig. 1) 대조구와 A.A. 첨가농축액에서의 PPO 활성이 저장기간 90일째 PVPP 첨가농축액에서의 O.D.값 (0.07)보다 상당히 높게 나타나 갈변화와 PPO 활성과의 상관성을 알 수 있었으며 이는 효소적 갈변의 지표로 polyphenol-oxidase의 활성이 관여하는 여러 문헌에서도(23,24) 확인되었다. 또한 PVPP가 효소적 갈변을 유의적으로 억제하는 효과가 있음도 확인할 수 있었다.

폴리페놀화합물의 변화

사과농축액의 폴리페놀화합물들은 catechol, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin 등이며(Table 5), Fig. 5, Fig. 6에 저장기간 초기(1일)와 저장기간 90일째의 사과농축액의 chromatogram을 나타내었다. 폴리페놀성분들 중 특히 chlorogenic acid가 다른 폴리페놀화합물에 비해 높은 값을 나타내어 사과 주된 폴리페놀 성분임을 알 수 있었다.

Table 5. Polyphenol compounds of the concentrated apple juices treated with antibrowning agents during storage (Unit: mg/100 g)

Treatment	Compounds	Storage period (days)			
		1	30	60	90
Control	Catechol	0.30	N.D. <sup>3)</sup>	0.80	5.18
	Catechin	0.57	0.98	2.55	3.35
	Chlorogenic acid	11.97	14.48	11.75	12.30
	Caffeic acid	N.D.	0.11	1.69	0.42
	Epicatechin	0.15	0.98	N.D.	N.D.
Added PVPP <sup>1)</sup>	Catechol	0.19	0.09	2.30	4.70
	Catechin	0.48	6.53	3.90	3.98
	Chlorogenic acid	7.84	9.36	8.00	8.43
	Caffeic acid	N.D.	0.14	1.97	0.22
	Epicatechin	0.09	0.42	N.D.	N.D.
Added A.A. <sup>2)</sup>	Catechol	0.20	N.D.	1.10	1.98
	Catechin	0.54	1.53	3.07	4.65
	Chlorogenic acid	11.82	12.70	10.82	11.50
	Caffeic acid	N.D.	0.15	1.93	0.38
	Epicatechin	0.15	0.21	N.D.	N.D.

<sup>1)</sup>PVPP: polyvinylpyrrolidone

<sup>2)</sup>A.A.: ascorbic acid

<sup>3)</sup>N.D.: not detected

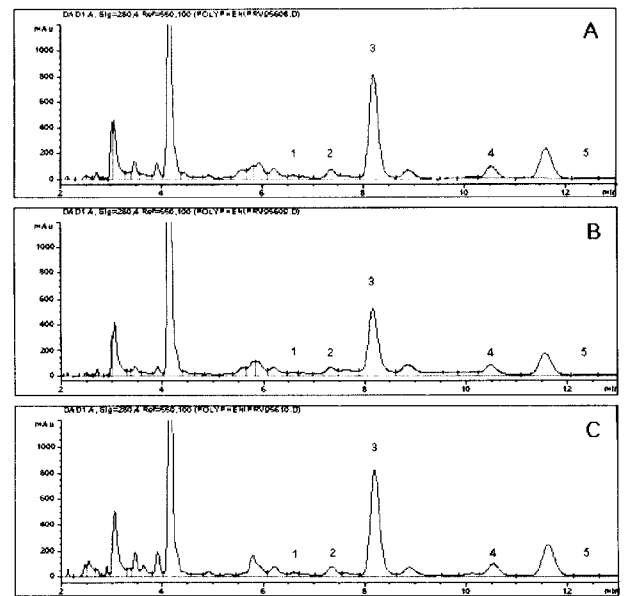


Fig. 5. HPLC chromatograms of polyphenol compounds isolated from the concentrated apple juices on storage 1 days.

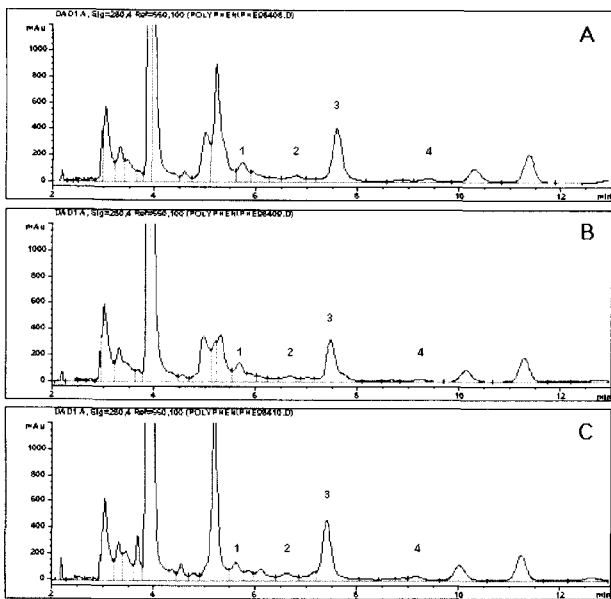
A: control (no additive)

B: added PVPP (polyvinylpyrrolidone)

C: added A.A. (ascorbic acid)

1: catechol, 2: catechin, 3: chlorogenic acid, 4: caffeic acid, 5: epicatechin

이러한 chlorogenic acid의 경우 저장기간 초기 대조구, A.A. 첨가농축액 중 함량이 11.97 mg/100 g, 11.82 mg/100 g인 반면 PVPP 첨가농축액에서는 7.84 mg/100 g로 낮게 나타나 첨가된 PVPP가 폴리페놀성분들을 효과적으로 제거하였음을 알 수 있었으며 이는 Siebert와 Lynn(20)의 보고와도 일치하였다. 또한 저장기간이 증가함에 따라 이러한 폴리페놀화합물들은



**Fig. 6.** HPLC chromatograms of polyphenol compounds isolated from the concentrated apple juices on storage 90 days. A : control (no additive) B : added PVPP (polyvinylpyrrolidone) C : added A.A. (ascorbic acid) 1: catechol, 2: catechin, 3: chlorogenic acid, 4: caffeic acid

대조구와 A.A. 첨가농축액에서는 다소 증가하는 경향을 보이나 PVPP 첨가농축액에서는 저장기간 증가에 따른 뚜렷한 변화가 나타나지 않았다. 이는 대조구와 A.A. 첨가농축액에서의 PPO활성이 PVPP 첨가농축액에서의 PPO 활성보다 저장기간에 따라 증가한 결과(Fig. 4)와도 일치하는 것으로서 PVPP는 사과농축액에서 일어나는 갈변반응 중 특히, 비효소적 갈변보다는 효소적 갈변반응을 더욱 효과적으로 억제함을 확인할 수 있었다.

## 요 약

사과농축액에서 일어나는 갈변반응을 억제하고자 갈변억제제 즉, PVPP(polyvinylpyrrolidone)와 A.A.(ascorbic acid)를 첨가한 후 갈변의 원인으로 추정되는 여러 요인들의 변화를 살펴보았다. 저장기간에 따른 색차값 및 갈변도 변화에서 PVPP 첨가농축액의 L값 및 ΔE값, 흡광도값에서 대조구에 비해 갈변저해 정도가 뚜렷함을 알 수 있었다. 사과농축액(대조구)의 변화에서는 저장기간이 경과할수록 sucrose의 감소, glucose와 fructose의 증가 등 유리당의 변화와 아미노산 함량의 감소, HMF(hydroxymethylfurfural) 함량의 경우 저장초기(2.06 mg/100 g)와 저장 90일째(30.61 mg/100 g)의 차이, A.A. 함량의 감소 정도가 큰 농축액에서 갈변이 심화되는 등 비효소적 갈변의 지표들이 변화함을 보이므로 사과농축액에서 비효소적 갈변이 진행됨을 알 수 있었다. 하지만 갈변억제제가 첨가된 농축액에서도 비효소적 지표들의 변화가 대조구와 유사하게 나타나므로 A.A.와 PVPP 첨가에 따

른 비효소적 갈변저해효과는 뚜렷하지 않다고 판단되었다. 이에 반해 PVPP 첨가 사과농축액의 경우 PPO(polyphenol-oxidase) 활성이 가장 낮았고 폴리페놀 함량도 저장 초기값에서 상당히 감소함을 보였다. 따라서 PVPP는 폴리페놀화합물들을 흡착, 제거함으로써 효소적 갈변을 효과적으로 억제하는 것이 확인되었다.

## 감사의 글

본 연구는 1998년 9월 ~ 1999년 8월 한국과학재단 인턴연구원 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Kim, B.C., Nahmgoong, B., Sin, D.B., Jeong, M.C. and Kim, O.W. : Quality change of high fructose corn syrups during storage. *Agric. Chem. Biotechnol.*, **38**, 232-238 (1995)
- Wong, M. and Stanton, D.W. : Nonenzymic browning in kiwifruit juice concentrate systems during storage. *J. Food Sci.*, **54**, 669-673 (1989)
- Zhou, H.W. and Feng, X. : Polyphenol oxidase from Yali pear (*Pyrus bretschneideri*). *J. Sci. Food Agric.*, **57**, 307-313 (1991)
- Sciancalepore, V. : Enzymatic browning in five olive varieties. *J. Food Sci.*, **50**, 1194-1195 (1985)
- Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S. and Nicolas, J. : Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *J. Food Sci.*, **57**, 958-962 (1992)
- Monsalve-Gonzalez, A., Barbosa-Canovas, G.V., McEvily, A.J. and Iyengar, R. : Inhibition of enzymatic browning in apple products by 4-hexylresocinol. *Food Technol.*, **49**, 110-118 (1995)
- Lozano-De-Gonzalez, P.G., Barrett, D.M., Wrolstad, R.E. and Durst, R.W. : Enzymatic browning inhibited in fresh and dried apple rings by pineapple juice. *J. Food Sci.*, **58**, 399-404 (1993)
- Kim, J.W. and Lee, H.S. : Evaluation of polyphosphate for control of nonenzymic browning in apple juice. *Foods and Biotechnology*, **6**, 309-313 (1997)
- Gokmen, V., Borneman, Z. and Nijhuis, H.H. : Improved ultrafiltration for color reduction and stabilization of apple juice. *J. Food Sci.*, **63**, 504-507 (1998)
- Tronc, J.S., Lamarche, F. and Makhlof, J. : Enzymatic browning inhibition in cloudy apple juice by electrodialysis. *J. Food Sci.*, **62**, 75-78, 112 (1997)
- Kang, H.A., Chang, K.S., Min, Y.K. and Choi, Y.H. : Value addition of jujube wine using microfiltration and ultrafiltration. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 1146-1151 (1998)
- Food chemicals codex*. 4th ed., National Academy Press, Washington, D.C., USA, p.309 (1996)
- Korea Foods Industry Association : *Food additives code*. Moon young Co., Ltd., Gwachun, Korea, p.434-435 (1999)
- Nollet, Leo M.L. : *Food Analysis by HPLC*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA, p.371-385 (1992)
- Knudsen, I.M. : High-performance liquid-chromatographic determination of oligosaccharides in leguminous seeds. *J. Sci. Food Agric.*, **37**, 560-566 (1986)
- Kim, H.W. : Studies on the physicochemical characteristics of sesame with roasting temperature and volatile flavor compounds of sesame oil. *Ph.D Dissertation*, Korea Univ.,

- Seoul, Korea (1997)
17. Lee, H.S., Rouseff, R.L. and Nagy, S. : HPLC determination of furfural and 5-hydroxymethylfurfural in citrus juices. *J. Food Sci.*, **51**, 1075-1076 (1986)
  18. Archer, M.C. and Palmer, J.K. : An experiment in enzyme characterization: Banana polyphenoloxidase. *Chemical Education*, **3**, 50-52 (1975)
  19. Korea Foods Industry Association : *Food additives code*. Moon young Co., Ltd., Gwachun, Korea, p.948-949 (1999)
  20. Siebert, K.J. and Lynn, P.Y. : Haze active protein and polyphenols in apple juice assessed by turbidimetry. *J. Food Sci.*, **62**, 79-84 (1997)
  21. Kacem, B., Cornell, J.A., Marshall, M.R., Shireman, R.B., and Matthews, R.F. : Nonenzymatic browning in aseptically packaged orange drinks: Effect of ascorbic acid, amino acids and oxygen. *J. Food Sci.*, **52**, 1668-1672 (1987)
  22. Kim, D.Y., Kwon, Y.J., Yang, H.C. and Yun, H.S. : *Food Chemistry*. Yongchipublishers, Seoul, Korea, p.303-325 (1997)
  23. Sayavedra-Soto, L.A. and Montgomery, M.W. : Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. *J. Food Sci.*, **51**, 1531-1536 (1986)
  24. Lozano, J.E., Drudis-Biscarri, R. and Ibarz-Ribas, A. : Enzymatic browning in apple pulps. *J. Food Sci.*, **59**, 564-567 (1994)

(2000년 9월 22일 접수)