

## 감자에서 추출한 phenolics의 갈변화에 미치는 $\beta$ -carotene의 영향과 polyphenol oxidase 특성

김미정 · 이창용\*

\*코넬대학교 식품공학과

### Effects of $\beta$ -Carotene on the Browning of Phenolics Extracted from Potato and Polyphenol Oxidase Characteristics

M.J. Kim and C.Y. Lee

Department of Food Science and Technology, Cornell University Geneva, New York 14456, USA.

#### Abstract

The effects of synthetic and carrot carotene on the browning of polyphenolics extracted from potato for eliminating the effects of other components in potato which inhibit the browning of potato juice and the potato polyphenol oxidase (PPO) activity were investigated. Total phenolics content in potato sample was 1.854 mg/g D.W. and PPO activity was 100 unit. Delta 'L' value of polyphenolics extracted from potato decreased makedly, but that of potato with carrot decreased little by little. Potato with  $\beta$ -carotene showed a little decrease after 50 min. At the same time, polyphenolics extracted from potato were mixed with carotene extracted from carrot or with syntetic  $\beta$ -carotene. As the results, the delta 'L' value of the former increased but decreased similarly to the latter after 1 hour. The effects of enzyme and substrate concentration on the browning of PPO extracted from potato were investigated. Optimum enzyme concentration was 10% and optimum substrate concentration was 13.3%.  $\beta$ -carotene concentration did not appear to influence significantly on PPO activity.

## I. 서 론

Phenolic 화합물과 polyphenol oxidase(PPO)는 효소적 갈변반응에 직접 관여하며 그 반응은 식품의 색깔, 향미, 영양가에 있어서 바람직하지 않은 결과를 초래한다. 갈변화의 속도와 phenolics의 함량 또는 polyphenol oxidase의 관계는 포도<sup>1-4)</sup>나 사과<sup>5-7)</sup>와 같은 과일에서 여러가지 연구가 진행되어 왔다.

물리적 방법이나 화학적 방법에 의한 효소적 갈변화의 조절에 대해서는 이미 수 많은 연구가 진행되어 왔다. 이중 이산화황의 사용은 꽤 성공적인 방법으로 제시되어 왔으나 몇가지 이유로 최근에 사용의 제한을 받고 있다. 최근에 Lee 등<sup>3)</sup>은 honey protein이 사과 쪽편과 포도, 그리고 model system에서 갈변화 반응을 저해할 수 있다고 보고하였다.

감자의 어떤 품종에 있어서 갈변화가 일어나는 경향은 총 phenolics 화합물, tyrosine 함량과 상관관계가 있으며 PPO 활성도와는 관계가 적다는 보고<sup>8)</sup>도 있다.

전보<sup>9)</sup>에서 위궤양의 치료에 사용되고 있는 감자와 당근의 주스 혼합액에 있어서 당근주스가 감자주스의 갈변화를 억제한다고 보고하였다. 당근의 어떤 성분이 감자의 갈변을 저해하는 것으로 생각되는데 그 첫째의 가능성을  $\beta$ -carotene이라는 가정하에 몇가지 실험을 하

고자 한다. 본 논문에서는 감자의 갈변을 저해하는 감자 속의 어떤 물질의 효과를 배제시키기 위하여 감자에서 추출한 polyphenolics의 갈변화와 감자의 PPO활성에  $\beta$ -carotene이 어떤 영향을 미치는지를 살펴보고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료

감자는 1992년 가을에 local market에서 구입하였다 (U. S. #1 potato). 총 phenolics의 정량을 위하여 생감자 4.25 kg을 Vegetable Peeling Machine(Model No SS 460 F, Reynolds Electric Co.)으로 껍질을 제거하고 dicer (Urschel Laboratories Model No: c, Valparaiso Ind.)를 사용하여 주사위 모양으로 잘른 후  $-10^{\circ}\text{F}$ 에서 24시간을 냉동시킨 다음  $90^{\circ}\text{F}$ 에서 2일간 건조시켰다(Thermocouple Vacuum Gauge).

### 2. 총 phenolics의 정량

총 phenolics는 Mapson 등의 방법<sup>10)</sup>을 수정하여 다음과 같이 추출하였다. 냉동건조시킨 25 g의 감자를 미리 냉각시켜 둔 Waring blender에 넣고 80%에탄올 200 ml를 가하였다. 5분간 균질화 시킨 뒤 (rheostat set100), 시료는 whatman No. 4 여과지를 통하여 여과시켰다.

건더기는 똑같은 과정을 통해 재추출 하였다. 여액은 모아 담고 용매는 rotary evaporator(50°C)로 날려 보냈다.

총 phenolics는 Weurman and Swain의 방법<sup>11)</sup>을 사용하여 정량하였다.

알코올 추출물은 표준곡선의 농도범위(20~60  $\mu$ g chlorogenic acid/ml)에 흡광도가 감지될 수 있게 희석하였다. 희석한 알코올 추출물 0.5 ml를 증류수 10 ml에 가하고, 여기에 Folin & Ciocalteu Phenol Reagent(Sigma Chemical Co.) 2 ml를 가하고 잘 섞었다. 5분 후에 2 ml 탄산나트륨 포화용액을 가하여 섞고 1시간 후에 640 nm에서 용액의 흡광도를 측정하였다. 총 phenolics의 양은 동시에 준비한 chlorogenic acid의 표준곡선을 사용하여 계산하였다.

3. Polyphenol Oxidase 활성도 측정

PPO의 crude 추출은 Walker의 방법<sup>12)</sup>을 수정하여 행하였다.

50 g의 감자를 0.05 M cysteine hydrochloride (Sigma Chemical Co.)가 함유된 100 ml ice-cold 0.2 M 인산염 완충용액(pH 7.2)에 가하고 미리 냉각시킨 blender jar에 담아 5분간 균질화시켰다(rheostat set 100). 균질액은 15,000 rev (ss-34 rotor of the Sorvall Centrifuge)으로 4°C에서 40분간 원심분리 하였다. 그 상층액을 PPO활성도 측정에 사용하였다.

Crude PPO 추출물의 효소활성도는 Ponting & Joslyn이 사용한 방법<sup>13)</sup>을 수정하여 다음과 같이 실시하였다.

2.6 ml 0.01 M sodium acetate-acetic acid 완충액 (25°C, pH 5.0)을 1 cm 직경의 tube에 담고 0.3 ml 0.5 M catechol (Sigma Chemical Co.)을 가하고 여기에 0.1 ml 효소추출액을 가하였다. Perkin-Elmer 552 Spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서의 흡광도 변화를 4분 동안 측정하였다. 효소활성 1 unit은 ml당 효소추출액의

1분당 0.001의 흡광도의 변화로 보고 계산하였다.

4. 감자에서 추출한 polyphenolics의 효소적 갈변에 미치는 당근쥬스의 영향

Table 1에 나타난 방법으로 6종류의 시료를 준비하였으며, 효소적 갈변의 측정은 전보<sup>9)</sup>의 방법에 따랐다.

5. 감자에서 추출한 PPO의 활성과 기질, 효소,  $\beta$ -carotene 농도의 관계측정

감자에서 추출한 효소의 활성이 최대가 되는 조건을 알아보기 위해 기질(0.5 M chlorogenic acid) : 효소액 : 완충액=0.3 : 0.1 : 2.6을 대조군으로 정하고 일정한 효소액의 비율에서 기질의 비율을 변화시켰고 또 일정한 기질의 농도에서 효소의 비율을 변화시켜 활성도의 변화를 보았다.

6.  $\beta$ -carotene으로 PPO를 preincubation시키는 효과 측정

PPO 200 ml와 1 ml의  $\beta$ -carotene(0.05 g CWS/50 ml)을 0, 30, 60, 90, 120분 동안 반응시키고 여기에 기질 1 ml(0.2 mM chlorogenic acid, 2 mM tyrosine)를 가하고 420 nm에 파장을 고정시켜 0분에서 6분까지 optical density의 변화를 관찰하였다(Perkin-Elmer 552 Spectrophotometer).

III. 결과 및 고찰

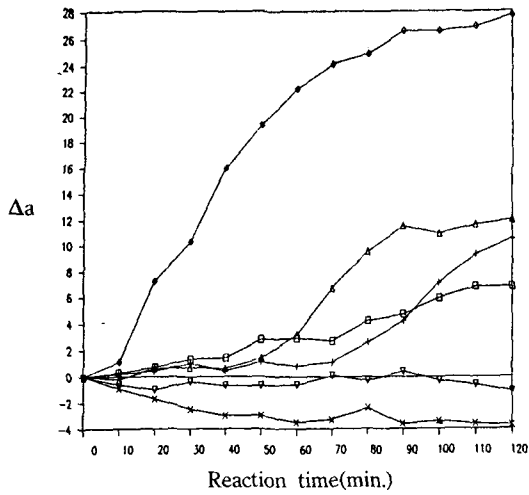
감자 시료의 총 phenolics함량은 1.854 mg/g dry weight)였다. 이 결과는 다른 보고된 실험치보다 조금 높은 수치로 나타났다. Mapson 등<sup>10)</sup>은 이른 철에 나오는 품종과 주경작 품종의 tyrosine 농도가 각각 22~101과 152~193  $\mu$ g/g이라고 하였고 이들 감자의 phenolase의 활성도는 2.2~6.5와 5.4~20.8 unit이라고 보고하였다.

본 실험에 사용한 감자의 효소 활성도는 약 100

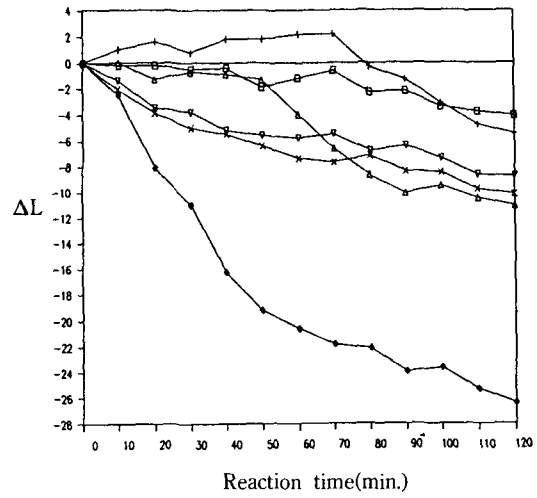
Table 1. Sample preparation for the effect of carotene on the browning of polyphenolics

Types of sample*	Sample preparation		
Sample 1	polyphenolics extracted from potato + 20 ml	enzyme + 500 $\mu$ l	carrot juice (juice) 5 ml
Sample 2	polyphenolics extracted from potato + 20 ml	enzyme + 500 $\mu$ l	carrot juice (blender) 5 ml
Sample 3	polyphenolics extracted from potato + 20 ml	enzyme + 500 $\mu$ l	buffer 5 ml
Sample 4	polyphenolics extracted from potato + 20 ml	enzyme + 500 $\mu$ l	$\beta$ -carotene 5 ml
Sample 5	polyphenolics extracted from potato + 20 ml	enzyme + 500 $\mu$ l	carrot carotene 5 ml
Sample 6	$\beta$ -carotene(0.05 g/50 ml H <sub>2</sub> O) + 20 ml	enzyme + 500 $\mu$ l	buffer 5 ml

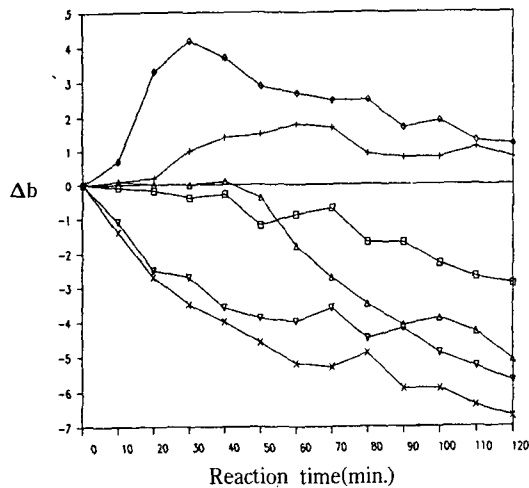
(\* 실험결과와 Fig에서 실험조건을 나타내는데 각각 사용됨)



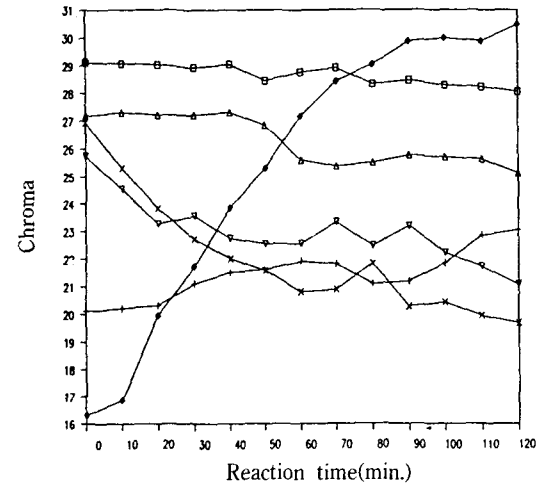
**Fig. 1. Changes of delta 'a' value in carrot juices and polyphenolics extracted from potato.**  
 sample 1(x), sample 2(v), sample 3(◇)  
 sample 4(△), sample 5(+), sample 6(□)



**Fig. 3. Changes of delta 'L' value in carrot juices and polyphenolics extracted from potato.**  
 sample 1(x), sample 2(v), sample 3(◇)  
 sample 4(△), sample 5(+), sample 6(□)



**Fig. 2. Changes of delta 'b' value in carrot juices and polyphenolics extracted from potato.**  
 sample 1(x), sample 2(v), sample 3(◇)  
 sample 4(△), sample 5(+), sample 6(□)



**Fig. 4. Changes of chroma value in carrot juices and polyphenolics extracted from potato.**  
 sample 1(x), sample 2(v), sample 3(◇)  
 sample 4(△), sample 5(+), sample 6(□)

unit였다.

1. 감자에서 추출한 polyphenolics의 갈변화에 carotene이 미치는 영향

당근쥬스가 감자쥬스의 갈변을 저해한다는 전보의 결과를 토대로, 감자속에 존재하는 다른 성분의 영향을 배제시키기 위해 감자에서 polyphenolics만을 추출하여 여기에 갈변화 효소를 가해 갈변화를 시키고, 이때 일어나는 갈변화에 carotene이 어떤 영향을 미치는지를

살펴보았다. 시료들의 delta 'a'와 delta 'b'의 변화는 각각 다음과 같은 경향을 보였다(Fig. 1과 Fig. 2).

Polyphenolics에 쥬스를 사용한 당근쥬스를 혼합한 것(시료 1)은 delta 'a'값이 거의 일정하였고 큰 변화가 없었는데, 블렌더로 만든 당근쥬스의 혼합액(시료 2)도 비슷한 경향을 보였으나 phenolics액(시료 3)은 급격히 증가하였고 β-carotene을 첨가한 것은 서서히 증가하였다. β-carotene만의 액(시료 6)은 서서히 증가하였고 감자에 당근에서 추출한 carotene을 넣은 것은 비슷한 증

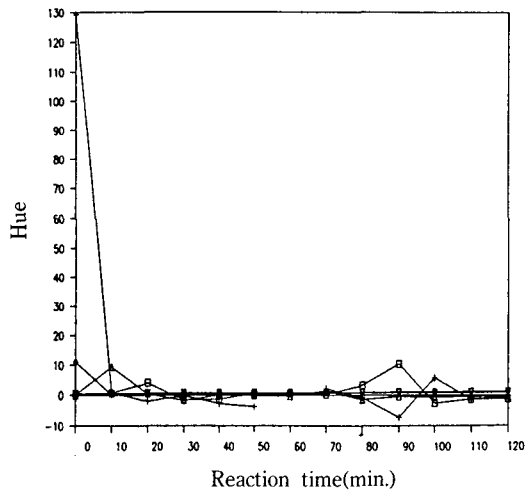


Fig. 5. Changes of hue value in carrot juices and polyphenolics extracted from potato. sample 1( $\times$ ), sample 2( $\nabla$ ), sample 3( $\diamond$ ) sample 4( $\triangle$ ), sample 5(+), sample 6( $\square$ )

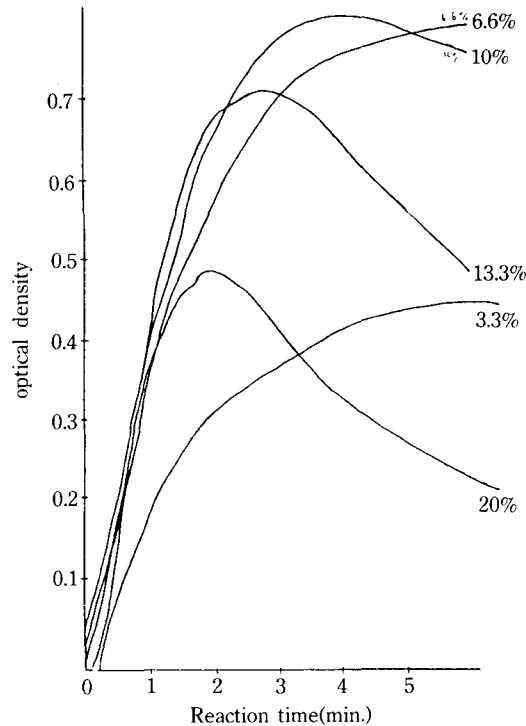


Fig. 6. Effect of enzyme concentration on the browning of PPO extracted from potato.

가추세를 보였다. Polyphenolics액의 delta 'b' 값은 감자주스에서 나타나는 전형적인 곡선모양을 보였으나  $\beta$ -carotene을 첨가한 것은 40분 반응후에 급격히 감소하

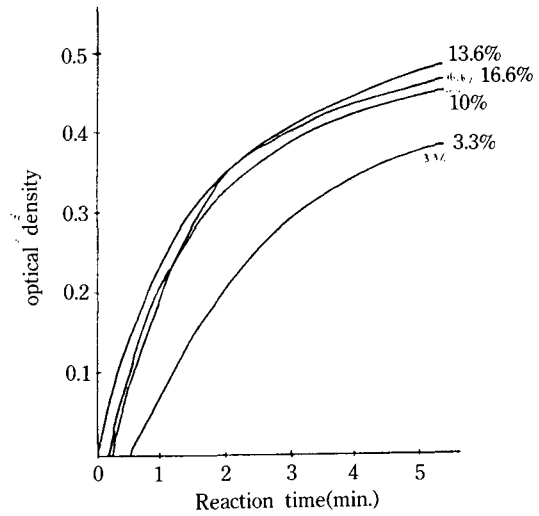


Fig. 7. Effect of substrate concentration on the browning of PPO extracted from potatoes.

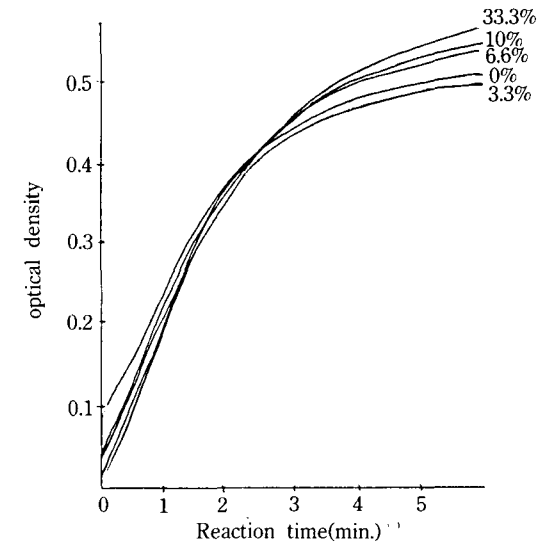


Fig. 8. Effect of  $\beta$ -carotene concentration on the browning of PPO extracted from potatoes.

였고 당근주스를 가한 것은 반응초기부터 급격히 감소하였다.  $\beta$ -carotene만의 액(시료 6)은 초기에 거의 변화가 없었다가 40분 후에 서서히 감소하였고 감자에 당근의 카로틴을 첨가한 것(시료 5)은 약간의 증가추세를 보였다. Fig.3에서 처럼 polyphenolics의 delta 'L' 값은 급격히 계속 감소하였고 당근주스를 가한 것은 서서히 감소하였고  $\beta$ -carotene을 첨가한 것은 50분 후에 급격히 감소하여 당근주스를 첨가한 것과 비슷한 값을 보였다.  $\beta$ -carotene만의 경우는 값의 변화가 거의 없었고 감자에 당근의 카로틴을 첨가한 것은 80분 이후부터 약간의

감소를 보였다. Chroma value(Fig. 4)의 변화는 감자의 polyphenolics의 경우 급격히 증가하여 계속 증가추세를 보였으나  $\beta$ -carotene은 거의 일정하였고 감자에  $\beta$ -carotene을 첨가한 것은 거의 변화가 없다가 50분 후 약간 감소하였는데 당근쥬스를 가한 것은 초기에 급격히 감소하다가 후반기에는 약간 감소하였다. Fig. 5에서처럼 Hue value의 변화는 감자에 당근의 카로틴을 첨가한 것이 초기에 급격히 감소한 것을 제외하고는 거의 변화가 없었다.

## 2. PPO의 활성에 영향을 미치는 효소와 기질의 농도

감자에서 추출한 PPO의 최대활성을 나타내는 조건은 실험온도, pH 등 여러가지 변수가 있겠지만 본 실험에서는 효소가 최대활성을 나타내는 기질과 효소의 농도를 알아보았다(Fig. 6, 7). 대조군의 기질과 효소의 농도는 각각 10%와 3.3%였는데, 여기서 기질의 농도를 일정하게 하고 효소의 농도를 변화시켜 본 결과 최대 반응을 나타내는 효소의 농도는 10%였다. 효소의 농도가 증가함에 따라 반응속도는 저하되었다. 효소의 농도를 고정시키고 기질의 농도를 변화시켜 본 결과 최적의 기질 농도는 13.3%로 나타났고, 기질의 농도를 더 증가시키면 반응은 저하되었다. 그리고  $\beta$ -carotene이 효소의 활성에 미치는 영향을 보기 위하여  $\beta$ -carotene의 농도를 변화시키면서 효소의 반응정도를 살펴 본 결과  $\beta$ -carotene의 농도가 높을수록 효소의 활성이 약간 더 증가하였으나 큰 영향은 없었다(Fig. 8). 또  $\beta$ -carotene과 효소를 0, 30, 60, 90, 120 분간 반응시키고 여기에 기질과 완충액을 가해 갈변의 정도를 살펴 본 결과 2 mM tyrosine, 0.2 mM chlorogenic acid 모두에서 변화가 거의 없는 것으로 나타나  $\beta$ -carotene이 효소의 반응활성도에 어떤 영향을 미치는지는 않는 것으로 여겨졌다.

## IV. 요약

한국의 민간요법에서 감자와 당근의 쥬스 혼합액이 위궤양의 치료에 사용되어져 왔다는 사실을 근거로 전보에서 당근이 감자의 갈변에 어떤 영향을 미치는지를 알아보았다. 본 논문에서는 감자의 갈변을 저해하는 감자속의 어떤 물질의 효과를 배제시키기 위하여 감자에서 polyphenolics만을 추출하여 여기에 효소를 가한 뒤 당근을 첨가하여 갈변화를 측정하였고 감자의 PPO활성에 베타카로틴이 어떤 영향을 미치는지를 살펴 보았다.

그 결과 시료로 사용한 총 polyphenolics의 함량은 1.854 mg/g D.W.였고 PPO활성도는 100 unit이었다. 감자에서 추출한 polyphenolics의 delta 'L' 값은 급격히 감소하였으나 당근쥬스의 혼합액은 조금씩 감소하였다. Polyphenolics와 합성 베타카로틴을 섞은 용액은 반응 50분 후에 약간의 감소를 보였다. 동시에 감자에서 추출한 polyphenolics를 당근에서 추출한 카로틴 혹은 베타

타카로틴을 가한 후 갈변화를 알아본 결과 당근에서 추출한 카로틴 용액을 섞은 것은 delta 'L' 값이 증가하였고 1 시간 후 합성 베타카로틴과 비슷하게 감소하였다. 한편 감자에서 추출한 PPO의 갈변화에 기질과 효소의 농도가 어떤 영향을 미치는지를 알아본 결과 기질농도 10%일때 최적효소의 농도는 10%였으며(대조군의 농도비는 완충액 2.6 : 기질 0.3 : 효소액 0.1이었음). 효소농도 3.3%일때 최적 기질의 농도는 13.3%이었고 베타카로틴의 농도는 PPO활성도에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

## 참고문헌

1. Lee, C.Y. and Jaworski, A.W., Phenolics and browning potential of white grapes grown in New York, *Am. J. Enol. Vitic.*, **39**(4): 337(1988).
2. Lee, C.Y. and Jaworski, A.W., Identification of some phenolics in white grapes, *Am. J. Enol. Vitic.*, **41**(1): 87(1990).
3. Oszmianski J. & Lee, C.Y. Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 1892(1990).
4. Jaworski, A.W. and Lee, C.Y., Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning, *J. Food Sci.*, **52**(4): 985 (1987).
5. Co seteng, M.Y. and Lee, C.Y., Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning, *J. Food Sci.*, **52**(4): 985 (1987).
6. Burda, S., Oleszek, W., and Lee, C.Y., Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage, *J. Agric. Food Chem.*, **38**: 945(1990).
7. Barrett, D.M., Lee, C.Y. and Liu, F.W., Changes in 'delicious' apple browning and softening during controlled atmosphere storage, *J. Food Qual.*, **14**: 443 (1991).
8. Sapers, G.M., Douglas, Jr, F.W., Bilyk, A., Hsu, A.F., Dower, H.W., Garzarella, L., and Kozempel, M., Enzymatic browning in atlantic potatoes and related cultivars, *J. Food Sci.*, **54**: 362(1989).
9. 김미정, 이창용, 당근쥬스가 감자쥬스의 효소적 갈변에 미치는 영향, *한국조리과학회지*, **9**(3): 181(1993).
10. Mapson, L.W., Swain, T., and Tomalin, A., Influence of variety, cultural conditions and temperature of storage on enzymic browning of potato tubers, *J. Sci. Fd. Agric.*, **14**: 673(1963).
11. Weurman, C. and Swain, T., Changes in the enzymic browning of Bramley's seedling apples during their development, *J. Sci. Fd. Agric.*, **6**: 186(1955).
12. Walker, J., A note on the polyphenol content of ripening apples, *N.Z. J. Sci.*, **6**: 492(1963).
13. Ponting, J.D. and Joslyn, M.A., Ascorbic acid oxidation and browning in apple tissue extracts, *Arch. Biochem.*, **19**: 47(1948).