

## 사과의 총 페놀함량 정량분석

황혜정 · 한완수\* · 윤광로\*

중앙대학교 산업과학대학 식품공학과

\* 목원대학교 이공대학 화학과

(2001. 3. 26. 접수)

### Quantitative Analysis of Total Phenolic Content in Apple

Hea-Jeung Whang · Wan-Soo Han\* · Kwang-Ro Yoon\*

Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung 456-830, Korea

\* Department of Chemistry, Mokwon University, Taejon 302-729, Korea

(Received Mar. 26, 2001)

**요 약** : 사과에 분포하는 페놀계 물질의 총 함량을 분석하는데 가장 적절한 방법을 확립하기 위하여 우리나라에서 재배되는 4품종을 각각 5개 지역에서 수집한 20개 종류의 사과를 시료로 가장 효율적인 분석조건을 조사하였다. 천연재료 중의 총 페놀 정량방법으로 이용되고 있는 분광광도법인 Folin-Dennis법, Prussian-blue법 그리고 vanillin-HCl법을 각각 시료에 적용하여 총 페놀 함량을 측정하여 고찰하였다. 그 결과 chlorogenic acid 상당량으로 산출한 Folin-Dennis법이 사과의 총 페놀 정량방법으로 가장 적합하였다.

**Abstract** : Total amounts of phenolic compounds of Korean apples were determined by UV-visible spectrophotometry of Folin-Dennis, Prussian-blue and vanillin-HCl, respectively. The analytical data from the method of Folin-Dennis were estimated to be the most reasonable to determine the total amounts of phenolic compounds in Korean apples. It was also confirmed that the amounts of total phenolics could be calculated as chlorogenic acid equivalence, more effectively than that of other phenolic compound equivalence.

**Key words** : total phenolic amounts, total phenolic compounds, Korean apple, Folin-Dennis's method.

### 1. 서 론

사과의 페놀계 물질에는 사과껍질 색소인 anthocyanin들과 사과가공품의 갈변 요인물질인 polyphenoloxylase(PPO)의 기질<sup>1</sup>과 사과의 고유한 맛을 형성하는데 중요한 역할을 하는 떫은맛과 쓴맛의 요인물질<sup>2</sup>이 포함된다. 그렇기 때문에 사과에 분포된 페놀계

물질의 동태는 그 사과의 품종 특성이나 가공품의 품질을 평가할 수 있는 지표로 주목을 받고 있다. Spanos와 Wrolstad<sup>3</sup>는 사과를 비롯한 여러 과일의 페놀계 물질과 과일주스 품질간의 상관관계를 제시하고 그 분포도가 검정지표로서 매우 쓸모 있다고 하였다. 또한 많은 페놀계 물질은 다양한 생리활성을 지니고 있기 때문에 기능성 식품의 성분으로 주목받고 있으며 이점은 사과의 경우도 마찬가지이다. 이와 같이 사과에 함유된 페놀계 물질의 존재는 식품학적인 면에서 큰 의미가 있기 때문에 이들의 분석방법이나 조건의 확립이 필요하다.

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)31-670-3033, Fax : +82+(0)31-675-4853

E-mail : Yoonkr@Post.cau.ac.kr

식물계에 분포하는 페놀계 물질<sup>4</sup>은 C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> 또는 C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> 골격의 phenolic acid와 이들의 유도체 그리고 C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 골격의 다양한 flavonoid 및 이들의 중합체가 주종을 이루고 있다. 이러한 페놀계 물질들의 개별분석은 HPLC를 비롯한 다양한 방법들이 효과적으로 응용되고 있지만 총 함량의 측정은 주로 분광광도법에 의존하고 있다. 식물재료의 총 페놀 함량분석은 Folin-Dennis법<sup>5</sup>, Prussian blue법<sup>6</sup> 그리고 vanillin-HCl법<sup>7</sup>이 선택적으로 응용되고 있다. 이 방법들은 나름대로 특이성이 있으며, 식물계에 분포하는 페놀계 물질은 그 종류가 매우 많고 종류에 따른 물리화학적 성질도 다양각색이기 때문에 이들의 총 함량을 일시에 측정하기가 쉽지 않다. 실제로 총 페놀 함량 조사는 그리 활발한 편이 아니어서 우리나라의 경우 이와 이<sup>8,9</sup> 그리고 박과 한<sup>10</sup>에 의한 여러 가지 식물재료의 페놀계 물질을 분석한 결과 외에는 거의 찾아볼 수 없다. 이렇게 볼 때 총 페놀함량의 분석은 알려진 방법들이 있다 하더라도 항상 재료의 특성을 충분히 감안하여 응용해야 하는 번거로움이 있다.

본 연구는 이러한 사정을 감안하여 우선 우리나라산 사과의 총 페놀 함량을 측정하는데 가장 적합한 방법과 조건을 모색하기로 하였다. 이를 위하여 전국에 걸쳐 4개 품종의 사과를 각 5개 지역에서 수집하고 위에서 언급한 3가지 분광광도법으로 함량을 각각 분석·고찰하여 사과의 총 페놀 정량조건을 제시하게 되었다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 재 료

실험재료로 사용한 사과(*Malus pumila* M.)는 대표적인 품종으로 알려진 뉴조나골드(New Jonagolde), 홍옥(Jonathan)과 부사(Busa/Fuji) 그리고 아오리(Aori)를 선정하고 충남(예산), 경북(대구), 전북(정주) 그리고 강원도(원주)에서 각각 현지의 원예협동조합에서 추천 받은 과일을 구입하였다. 그리고 경기도(수원)산은 농촌진흥청 원예시험장에서 분양 받았다. 모든 사과는 1995년 8월에서 11월에 수확된 것으로서 충분히 세척한 후, 비닐봉지에 싸서 -20℃에서 냉동, 보관하여 실험에 이용하였다.

### 2.2. 시약 및 기기

사용한 기기는 spectrophotometer(Hitachi U-3200, 일본), rotary evaporator (Büchi RE 121, 스위스), high power

homogenizer(Janke & Kunkel D-2300 Kiel, 독일)이었다.

표준물질 chlorogenic acid와 (±)-catechin은 Sigma(미국)에서 구입하였다. 페놀 함량 측정에 사용된 시약은 Folin & Ciocalteu's phenol reagent(Sigma, 미국), sodium carbonate(동양, 한국)와 ferric chloride(동양, 한국) 그리고 potassium ferricyanide(동양, 한국) 특급을 사용하였다. 그 밖의 모든 일반시약은 일급 이상의 것을 사용하였으며 물은 5차 정제수를 사용하였다.

### 2.3. 시료의 전처리

사과는 Jones 등<sup>11</sup>의 방법을 응용하여 냉동된 사과의 과피와 핵을 제거한 후, 과육 200g을 정확히 칭량하고 98% methanol 1,000ml를 넣고 4℃에서 분쇄한 다음 13,500rpm에서 5분 동안 균질화시켰다. 이 균질화된 과육은 Whatman No.1 여지를 사용하여 감압, 여과하였고 잔사는 다시 methanol 200ml를 가하여 재추출, 여과하였다. 이 여액을 모아서 30°Bx까지 감압농축(45℃)한 다음 screw cap tube에 담아 질소가스를 주입하여 -70℃에 냉동 보관하였다.

### 2.4. 페놀성 물질의 총함량 측정

#### Folin-Dennis법<sup>5</sup>

30°Bx까지 감압, 농축된 시료를 30배 희석한 후 1ml에 5차 증류수 3ml를 첨가하였고 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1ml를 넣고 5분간 혼합하였다. 그리고 탄산나트륨 포화용액 1ml를 넣은 후 혼합하여 실온에서 1시간 방치시킨 후 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. 표준물질 chlorogenic acid와 (±)-catechin을 각각 증류수에 용해하여 640nm에서 검량곡선을 작성하고 총 페놀함량을 각각 산출하였다.

#### Prussian-blue법<sup>6</sup>

30°Bx 농축된 시료를 250배 희석한 다음 시료용액 3ml에 0.008M K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>시약 200μl를 혼합하고 다시 0.1M FeCl<sub>3</sub>(0.1M HCl용액에 녹임) 200μl를 넣은 후 잘 섞었다. 정확하게 5분 동안 방치한 후 흡광도를 측정하였다. 표준물질 chlorogenic acid는 670nm 그리고 표준물질 (±)-catechin은 700nm에서 검량곡선을 각각 작성하여 그 당량으로 총 페놀량을 산출하였다.

#### Vanillin-HCl법<sup>7</sup>

Broadhurst와 Jones<sup>7</sup>의 방법을 응용하여 30°Bx로 농축된 시료를 30배 희석한 다음 시료 2ml에 vanillin시

약(70% 황산에 vanillin을 1% 용해함) 4ml를 첨가하여 잘 혼합하였다. 그리고 30℃ 수욕조에서 15분 동안 방치시킨 다음 500nm에서 흡광도를 측정하였으며 (±)-catechin당량으로 산출하였다.

2.5. 통계처리

모든 분석은 5회 반복하여 측정한 후 평균값을 계산하였으며 spss \ pc프로그램을 이용하여 Duncan법<sup>12</sup>으로 유의차 검정과 회귀식을 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 검량곡선

천연재료 중의 페놀계 물질 정량방법으로 널리 이용되고 있는 Folin-Dennis법<sup>5</sup>과 Prussian blue법<sup>6</sup> 그리고 vanillin-HCl법<sup>7</sup>이 사과의 총 페놀을 정량하는데 적절한 한가를 알아보기 위하여 우선 2.3.항의 사과 메탄올 농축물을 농도별로 희석하여 검량곡선을 작성하였다. 정량방법에 따른 각각의 검량곡선은 Fig.1에서 보는 바와 같이 사과농축물 0.5~2.0%범위에서 Prussian blue법의 경우는  $y = 0.742x$  이었으며, Folin-Dennis법의 경우에는  $y = 0.431x$  그리고 vanillin-HCl법의 경우는  $y=0.058x$  이었다. 각각의 검량곡선은  $r^2=0.9823$  이상에서 직선상을 보였으며 이때 5회 반복한 결과의 상대표준편차는 5%로 재현성이 우수하였다. 이러한 점에서 세 가지 정량방법 모두가 사과의 페놀 함량을 정량하는데 응용될 수 있다고 판단되었다.

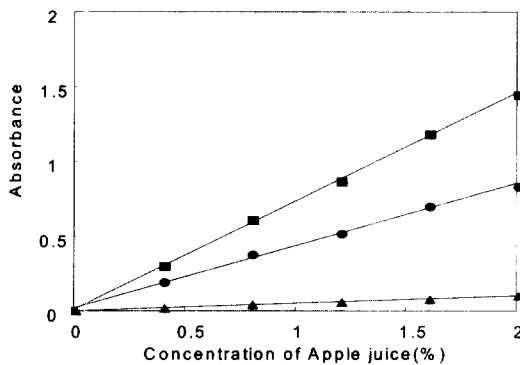


Fig. 1. Comparison of methods for determination of total content of phenolics in apple juice.

■-■ : Prussian blue method( $Y=0.742X, r^2=0.9823$ )  
 ●-● : Folin-Dennis method( $Y=0.431X, r^2=0.9844$ )

▲-▲ : Vanillin-HCl method( $Y=0.058X, r^2=0.9987$ )

이미 여러 연구자들에 의하여 사과 중의 대표적인 페놀성 물질<sup>13,14</sup>로 chlorogenic acid와 (±)-catechin이 알려져 있으므로 chlorogenic acid와 (±)-catechin을 각각 표준물질로 검량곡선을 검토하였다. 검량곡선은 세 가지 방법에 따라 표준물질 chlorogenic acid 농도가 0.45~25.00 µg/ml범위로 작성한 결과 Fig.2와 같았다. Prussian blue법의 경우  $y=0.054x$  이었으며, Folin-Dennis법은  $y=0.034x$  그리고 vanillin-HCl법의 경우는  $y=-1.951x$  이었다. Prussian blue법과 Folin-Dennis법의  $r^2 = 0.9955$ 이었으며 vanillin-HCl법은  $r^2=0.4531$ 이었다. 표준물질(±)-catechin을 표준물질로 한 검량곡선은 Fig.3과 같았다. 표준물질의 농도 5.00~25.00µg/ml의 범위에서 Prussian blue법의 경우에는  $y=0.216x$ 였으며, Folin-Dennis법은  $y=0.053x$  그리고 vanillin-HCl법의 경우는  $y=0.033x$ 이었다. 각각의 검량곡선의  $r^2 = 0.9957$ 이었고 5회 반복하여 검량곡선을 작성하였을때 상대표준편차는 3.23~4.88%으로 재현성이 우수하였다. Broadhurst와 Jones<sup>7</sup>에 의하면 vanillin-HCl법은 flavonoid계 물질에 특이성을 보인다고 하였으며, chlorogenic acid를 표준물질로 검토하였던 본 실험의 결과도 검량곡선의  $r^2 = 0.4531$ 이고 기울기가 -1.951인 점을 감안할 때 dihydrochalcone화합물 이외의 페놀계 물질의 정량에는 적합하지 않음을 알 수 있었다. 또한 총 페놀의 함량 측정에는 표준물질로서 (±)-catechin이 chlorogenic acid보다 선택의 폭은 넓다고 판단되었다.

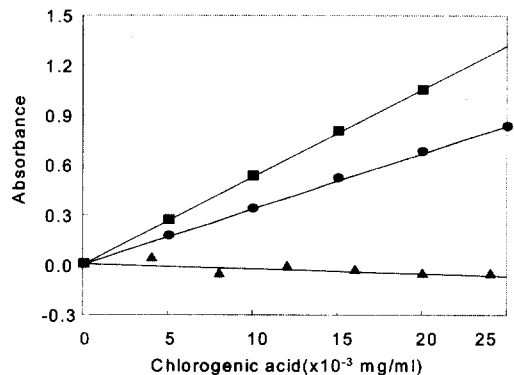
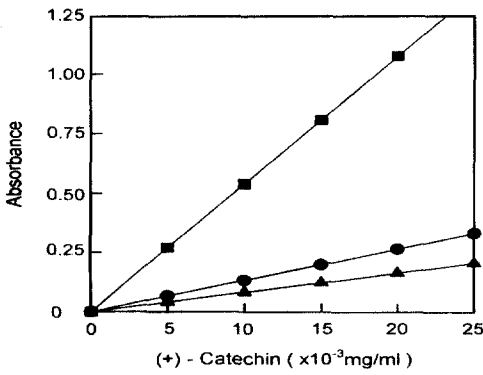


Fig. 2. Comparison of methods for determination of total phenolics calculated chlorogenic acid equivalent

■-■ : Prussian blue method( $Y=0.054X, r^2=0.9955$ )  
 ●-● : Folin-Dennis method( $Y=0.034X, r^2=0.9967$ )  
 ▲-▲ : Vanillin-HCl method( $Y=-1.951X, r^2=0.4531$ )



■ : Prussian blue method( $Y=0.216X, r^2=0.9987$ )  
 ● : Folin-Dennis method( $Y=0.053X, r^2=0.9957$ )  
 ▲ : Vanillin-HCl method( $Y=0.033X, r^2=0.9982$ )

3.2. 사과의 품종과 산지에 따른 페놀함량 비교

사과 중의 페놀함량을 정량한 결과 Table 1과 Table 2에서 보는 바와 같이 정량방법, 표준물질의 종류, 사과 품종, 재배지역에 따라 분석치가 차이가 있음을 알 수 있었다. 품종에 따라 사과의 페놀함량을 Table 1과 같이 비교하여 보면 뉴조나골드 품종의 경우에는 24.00~171.86mg/100g, 홍옥은 21.30~200.36mg/100g, 아오리는 20.75~120.20mg/100g 그리고 부사의 경우에는 21.30~190.23mg/100g이었다. 이와 같이 정량방법이

Fig. 3. Comparison of methods for determination of total phenolics calculated (±)-catechin equivalent

Table 1. Total phenolic content of four apple cultivars collected from five regions

(mg/100g, wet basis, n = 5)

| Regions            | Cultivars     | I <sup>1)</sup>               |                            | II <sup>2)</sup>          |                            |                            |
|--------------------|---------------|-------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                    |               | P-B <sup>3)</sup>             | F-D <sup>4)</sup>          | P-B                       | F-D                        | V-C <sup>5)</sup>          |
| Yesan,<br>Chungnam | New Jonagolde | 129.70 ± 0.05 <sup>6b7)</sup> | 92.37 ± 2.68 <sup>b</sup>  | 66.30 ± 0.01 <sup>a</sup> | 29.21 ± 0.82 <sup>ab</sup> | 24.00 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                    | Jonathan      | 200.36 ± 1.09 <sup>a</sup>    | 110.90 ± 0.80 <sup>a</sup> | 78.50 ± 0.50 <sup>a</sup> | 34.54 ± 1.09 <sup>a</sup>  | 24.80 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
|                    | Aori          | 112.80 ± 1.88 <sup>b</sup>    | 57.50 ± 2.02 <sup>c</sup>  | 41.88 ± 2.41 <sup>c</sup> | 23.75 ± 5.07 <sup>b</sup>  | 24.56 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                    | Fuji          | 110.02 ± 0.01 <sup>b</sup>    | 74.02 ± 1.62 <sup>bc</sup> | 53.90 ± 1.26 <sup>b</sup> | 23.45 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 23.06 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                    | Mean          | 138.22                        | 83.69                      | 60.15                     | 27.73                      | 24.10                      |
| Jŏngju,<br>Jŏnbuk  | New Jonagolde | 170.00 ± 4.06 <sup>a</sup>    | 120.14 ± 2.68 <sup>a</sup> | 67.17 ± 0.79 <sup>a</sup> | 42.22 ± 3.28 <sup>a</sup>  | 27.00 ± 0.59 <sup>a</sup>  |
|                    | Jonathan      | 120.25 ± 3.39 <sup>bc</sup>   | 110.60 ± 0.01 <sup>a</sup> | 67.27 ± 2.05 <sup>a</sup> | 34.52 ± 0.81 <sup>b</sup>  | 24.54 ± 1.37 <sup>a</sup>  |
|                    | Aori          | 99.23 ± 2.13 <sup>c</sup>     | 56.88 ± 1.48 <sup>c</sup>  | 34.84 ± 0.86 <sup>c</sup> | 22.13 ± 0.45 <sup>c</sup>  | 20.75 ± 1.29 <sup>b</sup>  |
|                    | Fuji          | 135.33 ± 1.10 <sup>b</sup>    | 82.28 ± 3.65 <sup>b</sup>  | 49.28 ± 0.79 <sup>b</sup> | 25.80 ± 0.69 <sup>bc</sup> | 21.50 ± 1.51 <sup>b</sup>  |
|                    | Mean          | 131.14                        | 92.55                      | 54.64                     | 31.16                      | 23.44                      |
| Taegu,<br>Kyŏngbuk | New Jonagolde | 171.86 ± 3.21 <sup>b</sup>    | 130.88 ± 2.68 <sup>a</sup> | 87.59 ± 0.01 <sup>a</sup> | 43.12 ± 0.33 <sup>a</sup>  | 35.66 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                    | Jonathan      | 129.94 ± 0.38 <sup>c</sup>    | 102.80 ± 1.45 <sup>b</sup> | 84.24 ± 0.71 <sup>a</sup> | 31.40 ± 0.01 <sup>bb</sup> | 21.30 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
|                    | Aori          | 107.25 ± 1.38 <sup>c</sup>    | 55.26 ± 1.96 <sup>c</sup>  | 39.02 ± 0.46 <sup>c</sup> | 21.46 ± 2.95 <sup>b</sup>  | 28.20 ± 0.01 <sup>ab</sup> |
|                    | Fuji          | 190.23 ± 0.32 <sup>a</sup>    | 94.00 ± 3.12 <sup>b</sup>  | 61.31 ± 0.37 <sup>b</sup> | 43.55 ± 1.85 <sup>a</sup>  | 35.23 ± 1.51 <sup>a</sup>  |
|                    | Mean          | 149.82                        | 95.74                      | 66.93                     | 34.88                      | 30.09                      |
| Wonju,<br>Kangwon  | New Jonagolde | 150.33 ± 2.03 <sup>a</sup>    | 94.69 ± 1.96 <sup>ab</sup> | 69.94 ± 0.01 <sup>a</sup> | 32.22 ± 4.21 <sup>a</sup>  | 34.30 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                    | Jonathan      | 134.63 ± 2.20 <sup>b</sup>    | 100.70 ± 1.36 <sup>a</sup> | 70.66 ± 0.98 <sup>a</sup> | 30.66 ± 2.45 <sup>a</sup>  | 24.12 ± 2.13 <sup>ab</sup> |
|                    | Aori          | 110.32 ± 1.45 <sup>c</sup>    | 45.13 ± 0.10 <sup>c</sup>  | 40.68 ± 0.30 <sup>b</sup> | 22.15 ± 0.67 <sup>b</sup>  | 21.03 ± 0.63 <sup>b</sup>  |
|                    | Fuji          | 123.33 ± 0.47 <sup>bc</sup>   | 73.68 ± 1.34 <sup>b</sup>  | 41.74 ± 1.36 <sup>b</sup> | 32.40 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 21.30 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
|                    | Mean          | 129.65                        | 78.55                      | 56.70                     | 29.35                      | 25.18                      |
| Suwon,<br>Kyŏnggi  | New Jonagolde | 127.48 ± 2.24 <sup>b</sup>    | 133.87 ± 3.65 <sup>a</sup> | 88.03 ± 0.01 <sup>a</sup> | 35.12 ± 1.70 <sup>ab</sup> | 36.56 ± 2.32 <sup>a</sup>  |
|                    | Jonathan      | 158.27 ± 3.12 <sup>a</sup>    | 121.99 ± 7.64 <sup>a</sup> | 94.48 ± 0.98 <sup>a</sup> | 47.82 ± 1.65 <sup>a</sup>  | 25.90 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
|                    | Aori          | 120.20 ± 0.04 <sup>b</sup>    | 48.99 ± 0.63 <sup>c</sup>  | 29.81 ± 0.07 <sup>c</sup> | 29.70 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 23.50 ± 1.42 <sup>b</sup>  |
|                    | Fuji          | 113.63 ± 3.00 <sup>b</sup>    | 88.49 ± 3.12 <sup>b</sup>  | 79.47 ± 0.02 <sup>b</sup> | 23.45 ± 0.45 <sup>b</sup>  | 26.20 ± 0.01 <sup>ab</sup> |
|                    | Mean          | 126.89                        | 98.34                      | 72.36                     | 34.02                      | 27.79                      |

<sup>1)</sup>Calculated as chlorogenic acid

<sup>2)</sup>Calculated as (±)-catechin

<sup>3)</sup>Determined by Prussian-blue method

<sup>4)</sup>Determined by Folin-Dennis method

<sup>5)</sup>Determined by vanillin-HCl method

<sup>6)</sup>Mean ± S.D.

<sup>7)</sup>Different lettered within same column are significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test

나 표준물질의 종류에 관계없이 총 페놀 함량은 뉴조나골드, 홍옥, 부사, 아오리 순으로 높았다. 특히 아오리 품종의 경우 다른 품종에 비하여 매우 낮은 분석치를 얻었으며, 이의 유의성이 인정되었다( $p < 0.05$ ). Cilliers 등<sup>1)</sup>이 10개 사과품종의 페놀 함량을 Folin-Dennis법으로 정량하여 chlorogenic acid당량으로 표시한 결과 10~120mg/100g이었는데 이 중에서 조나단 품종의 경우 107~131mg/100g로 비교적 높았으며 골든 델은 22.9~25.4mg/100g으로 품종에 따라 함량 차이가 있다고 보고한 바 있다.

재배지역에 따른 함량 비교는 Table 2에서 보는 바와 같이 예산(충남)에서 재배된 사과의 경우는 23.06~

200.36 mg/100g, 전주(전북)산의 경우 20.75~170.00 mg/100g, 대구(경북)산은 21.30~190.23 mg/100g, 원주(강원도)산은 21.03~150.33 mg/100g 그리고 수원(경기도)산은 23.50~158.27 mg/100g이었다. 그러므로 함량치는 대구(경북), 예산(충남), 전주(전북), 원주(강원), 수원(경기)지역의 순으로 높았다. 그러나 전반적으로 재배지역에 따른 페놀 함량의 차이는 작아서 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). MacRae와 Lidster<sup>15)</sup>은 기후를 비롯한 재배환경이나 관리방법에 따라 사과의 총 페놀 함량이 차이를 보인다고 하였지만 우리나라의 경우 재배지역의 범위가 넓지 않고 대부분 재배방법이 유사하므로 지역간에 총 페놀 함량 차이가 확실치 않은 것으로 사료된다.

Table 2. Total phenolic content of the regional samples of four apple cultivars

(mg/100g, wet basis, n = 5)

| Cultivars     | Regions | I <sup>1)</sup>               |                             | II <sup>2)</sup>           |                            |                            |
|---------------|---------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|               |         | P-B <sup>3)</sup>             | F-D <sup>4)</sup>           | P-B                        | F-D                        | V-H <sup>5)</sup>          |
| New Jonagolde | Suwon   | 127.48 ± 2.24 <sup>abj)</sup> | 133.87 ± 3.65 <sup>a</sup>  | 88.03 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 35.12 ± 1.70 <sup>ab</sup> | 36.56 ± 2.32 <sup>a</sup>  |
|               | Yesan   | 129.70 ± 0.05 <sup>b</sup>    | 92.37 ± 2.68 <sup>a</sup>   | 66.30 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 29.21 ± 0.82 <sup>cd</sup> | 24.00 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
|               | Wonju   | 150.23 ± 2.03 <sup>ab</sup>   | 94.69 ± 1.96 <sup>b</sup>   | 69.94 ± 0.01 <sup>d</sup>  | 32.22 ± 4.21 <sup>b</sup>  | 34.30 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
|               | Taegu   | 171.86 ± 3.21 <sup>a</sup>    | 130.88 ± 2.68 <sup>a</sup>  | 87.59 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 43.12 ± 0.33 <sup>b</sup>  | 35.66 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
|               | Jöngju  | 170.00 ± 4.06 <sup>a</sup>    | 120.14 ± 2.68 <sup>b</sup>  | 67.17 ± 0.79 <sup>d</sup>  | 42.22 ± 3.28 <sup>a</sup>  | 27.00 ± 0.59 <sup>ab</sup> |
|               | Mean    | 149.85                        | 114.21                      | 75.81                      | 38.37                      | 31.50                      |
| Jonathan      | Suwon   | 158.27 ± 3.12 <sup>ab</sup>   | 121.99 ± 7.64 <sup>a</sup>  | 94.48 ± 0.98 <sup>a</sup>  | 47.82 ± 1.65 <sup>a</sup>  | 25.90 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|               | Yesan   | 200.36 ± 1.09 <sup>a</sup>    | 110.90 ± 0.80 <sup>ab</sup> | 78.50 ± 0.50 <sup>ab</sup> | 34.54 ± 1.59 <sup>b</sup>  | 24.80 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|               | Wonju   | 134.63 ± 2.20 <sup>b</sup>    | 100.70 ± 1.36 <sup>b</sup>  | 70.66 ± 0.98 <sup>b</sup>  | 30.66 ± 2.46 <sup>b</sup>  | 24.12 ± 2.13 <sup>b</sup>  |
|               | Taegu   | 129.94 ± 0.38 <sup>b</sup>    | 102.80 ± 1.45 <sup>b</sup>  | 84.24 ± 0.71 <sup>b</sup>  | 31.40 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 21.30 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|               | Jöngju  | 120.25 ± 3.39 <sup>b</sup>    | 110.60 ± 0.01 <sup>ab</sup> | 67.27 ± 2.05 <sup>b</sup>  | 34.52 ± 0.81 <sup>b</sup>  | 24.54 ± 1.37 <sup>a</sup>  |
|               | Mean    | 148.69                        | 109.40                      | 79.03                      | 35.78                      | 24.13                      |
| Aori          | Suwon   | 120.20 ± 0.04 <sup>a</sup>    | 48.99 ± 0.63 <sup>b</sup>   | 29.81 ± 0.07 <sup>a</sup>  | 29.70 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 23.50 ± 1.42 <sup>a</sup>  |
|               | Yesan   | 112.80 ± 1.88 <sup>a</sup>    | 57.50 ± 2.02 <sup>a</sup>   | 41.88 ± 0.50 <sup>a</sup>  | 23.75 ± 5.07 <sup>a</sup>  | 24.56 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|               | Wonju   | 110.32 ± 1.45 <sup>a</sup>    | 45.13 ± 0.10 <sup>b</sup>   | 40.68 ± 0.30 <sup>a</sup>  | 22.15 ± 0.67 <sup>a</sup>  | 21.03 ± 1.63 <sup>a</sup>  |
|               | Taegu   | 107.25 ± 1.38 <sup>a</sup>    | 55.26 ± 1.96 <sup>a</sup>   | 39.02 ± 0.46 <sup>a</sup>  | 21.46 ± 2.95 <sup>a</sup>  | 28.20 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|               | Jöngju  | 99.23 ± 2.13 <sup>ab</sup>    | 56.88 ± 1.48 <sup>a</sup>   | 34.84 ± 0.86 <sup>a</sup>  | 22.13 ± 0.45 <sup>a</sup>  | 20.75 ± 1.29 <sup>a</sup>  |
|               | Mean    | 109.94                        | 52.75                       | 37.25                      | 23.83                      | 23.60                      |
| Fuji          | Suwon   | 113.63 ± 3.00 <sup>b</sup>    | 88.49 ± 3.12 <sup>a</sup>   | 79.47 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 23.45 ± 0.45 <sup>b</sup>  | 26.20 ± 0.01 <sup>ab</sup> |
|               | Yesan   | 110.02 ± 0.01 <sup>b</sup>    | 74.02 ± 1.62 <sup>b</sup>   | 53.90 ± 1.26 <sup>c</sup>  | 23.45 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 23.06 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
|               | Wonju   | 123.33 ± 0.47 <sup>ab</sup>   | 73.68 ± 1.34 <sup>b</sup>   | 41.74 ± 1.36 <sup>c</sup>  | 32.40 ± 0.01 <sup>ab</sup> | 21.30 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
|               | Taegu   | 190.23 ± 0.23 <sup>c</sup>    | 94.00 ± 3.12 <sup>a</sup>   | 61.31 ± 0.37 <sup>b</sup>  | 43.55 ± 1.85 <sup>a</sup>  | 35.23 ± 1.51 <sup>a</sup>  |
|               | Jöngju  | 135.33 ± 1.10 <sup>b</sup>    | 82.28 ± 3.65 <sup>ab</sup>  | 49.28 ± 0.79 <sup>c</sup>  | 25.80 ± 0.69 <sup>b</sup>  | 21.50 ± 1.51 <sup>b</sup>  |
|               | Mean    | 129.44                        | 82.49                       | 57.14                      | 29.26                      | 25.45                      |

<sup>1)</sup> Calculated as authentic chlorogenic acid

<sup>2)</sup> Calculated as authentic ( $\pm$ )-catechin

<sup>3)</sup> Determined by Prussian-blue method

<sup>4)</sup> Determined by Folin-Dennis method

<sup>5)</sup> Determined by Vanillin-HCl method

<sup>6)</sup> Mean  $\pm$  S.D.

<sup>7)</sup> Different lettered within same column are significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test

### 3.3. 정량방법의 비교

식품재료 중의 총 페놀 함량은 분광광도법에 의하여 주로 정량되어 왔는데 이와 이<sup>8,9</sup>는 실험절차와 표준물질의 종류 그리고 추출방법에 따라서 분석치의 차이가 크다고 하였다. 이에 따라 우리나라 사과의 총 페놀 함량을 정량하는데 가장 적합한 방법을 선택하기 위하여 Folin-Dennis법<sup>5</sup>과 Prussian Blue법<sup>6</sup> 그리고 Vanillin-HCl법<sup>7</sup>을 비교하였다.

우리나라에서 재배되고 있는 네 가지 사과품종의 페놀 함량의 범위는 Prussian blue법에 의한 표준물질 chlorogenic acid상당량으로 하였을 때 99.23~200.36 mg/100g이었으며, 표준물질 (±)-catechin상당량으로 측정하였을 때는 29.81~88.03mg/100g이었다. Folin-Dennis법에 의한 45.13~133.87mg/100g(표준물질 chlorogenic acid상당량), 22.13~47.82mg/100g(표준물질 (±)-catechin상당량)이었다. 그리고 vanillin-HCl법에 의한 총 함량은 21.03~36.56mg/100g(표준물질 (±)-catechin 상당량)이었다.

분석방법에 따른 사과의 페놀 함량은 Fig.4에서 보는 바와 같이 Prussian blue법(표준물질 chlorogenic acid상당량), Folin-Dennis법(표준물질 chlorogenic acid상당량), Prussian Blue법(표준물질 (±)-catechin 상당량), Folin-Dennis법(표준물질 (±)-catechin 상당량), vanillin-HCl법(표준물질 (±)-catechin상당량)의 순으로 함량이 높음을 알 수 있었다. 즉 총 페놀함량은 표준물질chlorogenic acid가 표준물질(±)-catechin 상당량으로 산출한 것보다 높았으며, 정량범위로는 Prussian blue법, Folin-Dennis법, Vanillin-HCl법의 순서로 반응성이 크다는 것을 알 수 있었다. 전반적으로 Fig. 4에서 보는 바와 같이 Prussian blue법이 다른 방법보다 감도는 높았으나, Folin-Dennis법의 경우 Prussian blue법보다 사과 중의 총페놀 함량을 측정하는 범위가 다른 방법보다 더 넓게 나타났으므로 개체간의 총 페놀 함량을 측정하는데 변별력이 높음을 알 수 있었다. Schmidt와 Neukom<sup>13</sup> 그리고 Whiting와 Coggins<sup>14</sup>의 연구결과에 의하면 사과의 페놀계 물질로 cinnamic acid 유도체가 대부분이며, 특히 chlorogenic acid 함량이 가장 높다고 하였다. 그러므로 사과의 페놀 정량에서 chlorogenic acid를 표준물질로 삼는 것은 적합하다고 판단된다. 한편 Budini 등<sup>6</sup>은 Prussian blue법과 vanillin-HCl법을 비교한 바 있는데 Prussian blue법은 감도가 전반적으로 높지만 ascorbic acid와 anthocyanin

도 동시에 검출되는 단점을 지적하고 있다. 그러므로 Prussian blue법은 Folin-Dennis법보다 전반적으로 감도가 뛰어나지만 ascorbic acid와 anthocyanin에 의한 오차의 가능성이 클 것으로 여겨진다. 그리고 vanillin-HCl법은 dihydrochalcone화합물에 특이적으로 반응하므로 cinnamic acid가 많이 존재하는 사과의 경우에는 검출 감도가 매우 낮게 나타났으므로 사과의 총 페놀 함량 측정에는 적합하지 않은 것으로 판단되었다. 따라서 이후의 우리나라 사과의 총 페놀 함량은 chlorogenic acid를 표준물질로 하는 Folin-Dennis법으로 정량하는 것이 바람직하다고 사료된다.

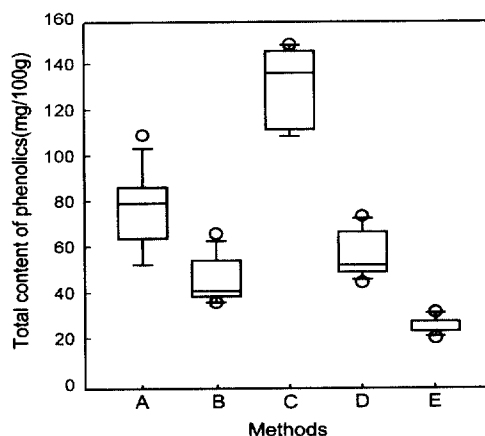


Fig. 4. Multiple box-and-whisker plot of quantitative methods for total content of phenolics in apples

- A: Folin-Dennis method (chlorogenic acid equivalent)
- B: Folin-Dennis method ((±)-catechin equivalent)
- C: Prussian blue method(chlorogenic acid equivalent)
- D: Prussian blue method ((±)-catechin equivalent)
- E: vanillin-HCl method ((±)-catechin equivalent)

## 4.결론

정량된 페놀함량은 정량방법, 표준물질의 종류, 사과 품종, 사과의 재배지역에 따라 분석치가 차이가 있었다. 정량방법에 따른 각각의 검량곡선은 사과농축물을 표준물질로 하였을때 Prussian blue법은  $y=0.742x$  이었으며, Folin-Dennis법은  $y=0.431x$  그리고 vanillin-HCl법의 경우는  $y=0.058x$  이었다. 검량곡선은  $r^2=0.9823$  이상에서 직선상을 보였으며, 정량방법 모두가 사과의 페놀 함량을 정량하는데 응용될 수 있다고 판단되었다. 또한 표준물질을 chlorogenic acid로 하였을때 Prussian

blue법의 경우  $y=0.054x$  이었으며, Folin-Dennis법은  $y=0.034x$  그리고 vanillin-HCl법의 경우는  $y=-1.951x$  이었다. Prussian blue법과 Folin-Dennis법의  $r^2=0.9955$ 이었으며 vanillin-HCl법은  $r^2=0.4531$ 이었다. 그리고 (±)-catechin을 표준물질로 하였을때 Prussian blue법의 경우에는  $y=0.216x$ 였으며, Folin-Dennis법은  $y=0.053x$  그리고 vanillin-HCl법의 경우는  $y=0.033x$ 이었다. 우리나라 사과의 선택된 네가지 품종 중에서 뉴조나골드, 홍옥, 부사, 아오리 순으로 함량치가 높았다. 재배지역별 함량은 대구(경북), 예산(충남), 전주(전북), 원주(강원), 수원(경기)지역 순서대로 조금씩 높았으나 이에 따른 유의차는 없었다. 또한 정량방법에 따라 Prussian blue법(chlorogenic acid상당량), Folin-Dennis법(chlorogenic acid상당량), Prussian blue법(±)-catechin 상당량, Folin-Dennis법(±)-catechin 상당량, vanillin-HCl법(±)-catechin상당량)의 순으로 함량이 높게 나타났다. 이상에서 이미 알려진 Prussian blue법의 오차 가능성을 감안하여 우리나라 사과의 총 페놀 함량을 분광광도법으로 측정할 때의 표준물질은 chlorogenic acid가 적합하며 Folin-Dennis법의 응용을 제안한다.

## 참 고 논 문

1. Cilliers, J.J.L., Singleton, V.L. and Lamula-Raventos R.M., *J. Food Sci.*, **55**, 1458-1464(1990).
2. CoSegteng, M.Y. and Lee, C.Y., *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 985-989(1987).
3. Spanos, G. and Wrolstad R.E., *J. Agric. Food Chem.* **38**, 817-824(1990).
4. Lee, Y., Howard, L.R. and Villalón, B., *J. Food Sci.*, **60**, 473-484(1995).
5. Swain, T. and Hillis, W.E., *J. Sci. Food Agric.* **10**, 63-68(1959).
6. Budini, R., Tonelli, D. and Girotti, S., *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 1236-1240(1980).
7. Broadhurst, R.B. and Jones, W.T., *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 788-793(1978).
8. 이정희, 이서래, 한국식품과학회지, **26**, 310-316 (1994).
9. 이정희, 이서래, 한국식품과학회지, **26**, 317-323 (1994).
10. 박수선, 한정순, 생약학회지, **6**, 93-99(1975).
11. Jones, L.A., Prabel, J.B., Glennon, J.J., Copeland, M.F. and Kavlock, R.J., *J. Agric. Food Chem.* **41**, 735-746(1993).
12. 김충련, "SAS라는 통계상자", p123, 테이타리서치, 서울, 1994.
13. Schmidt, H.W. and Neukom, H., *J. Agric. Food chem.*, **17**, 345-350(1969).
14. Whiting, G.C. and Coggins, R.A., *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1833-1845(1975).
15. McRae, K.B. and Lidster, P.D., *J. Sci. Food Agric.*, **50**, 329-342(1990).