



Antioxidant activity and qualitative and quantitative HPLC analyses of five types of apple blossoms prepared by two different drying methods

Jeong Min Yun, Dong Wook Kang*

Department of Pharmaceutical Engineering & Advanced Healthcare Industry Research Center & TH Co. Ltd.,
 Daegu Catholic University, Gyeongsan 38430, Korea

건조방법에 따른 사과꽃 5종의 항산화 활성 및 HPLC를 활용한 정성·정량분석

윤정민 · 강동욱*

대구가톨릭대학교 제약공학과

Abstract

The present study comprised a comparison of the effectiveness of hot air drying versus freeze drying to determine the antioxidant activities of five types of apple blossoms-i.e., from apple varieties ‘Hongno’, ‘Aori’, ‘Fuji’, ‘Jonathan’, and ‘Myanmar’. Comparisons were made between the total polyphenol content, the total flavonoid content, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging ability, and the fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) activity of each type of apple blossom. Qualitative and quantitative analyses were carried out on 11 phenolic substances (caffeic, cinnamic, m-coumaric, p-coumaric, ferulic, 4-hydroxybenzoic, salicylic, sinapic, syringic, vanillic, and gallic acids) and six flavonoid substances (apigenin, isoquercitrin, luteolin, quercetin, quercitrin, and rutin) by high-performance liquid chromatography (HPLC). Freeze-drying resulted in total polyphenol content, total flavonoid content, DPPH radical-scavenging ability, FRAP activity, phenolic acid substances content, and flavonoids content values that were 3.6, 2.7, 3.8, 3.4, 2.4, and 5.7 times higher, respectively, than those resulting from hot air drying. However, hot air drying resulted in higher content values among the following phenolic acids: gallic, sinapic, and ferulic acid. The freeze-dried ‘Aori’ apple blossoms exhibited the highest antioxidant activity, phenolic acid content, and flavonoid content. They had total polyphenol content of 500.6 mg GAE/g, total flavonoid content of 123.8 mg QE/g, DPPH radical-scavenging ability of 83.3%, FRAP activity of 117.4 mg TE/g, total content of the 11 phenolic acid substances of 737.9 mg/kg, and total content of the 6 flavonoid substances of 105.8 mg/kg. Therefore, among five types of blossoms investigated in the present study, freeze-dried ‘Aori’ apple blossom was the most suitable for use as natural antioxidant materials, such as functional health foods and cosmetics.

Keywords : apple blossoms, antioxidant activity, drying method, total polyphenol, total flavonoid

서론

2020년 기준 국내에서 사과의 재배면적은 31,601 ha로 전체 노지 과수 재배면적 중 가장 넓은 면적을 차지한다(kosis.kr).

사과는 재배하는 과정에서 고품질의 과실을 얻기 위하여 적화 즉, 꽃따기를 한다. 사과꽃은 한 봉오리에 6개의 꽃이 피는데, 이 중 하나를 제외한 나머지는 모두 제거하게 된다(www.gnares.go.kr). 선행 연구에서 적화에서 제거되는 사과

*Corresponding author. E-mail : dwkang@cu.ac.kr, Phone : +82-53-850-2562, Fax : +82-53-359-6822

Received 17 July 2021; Revised 17 August 2021; Accepted 23 September 2021.

Copyright © The Korean Society of Food Preservation.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

꽃을 활용한 기능성 소재 탐색 연구를 진행하였다(Choi 등, 2011). 본 연구에서는 사과 품종별 사과꽃의 성분을 분석하였고, 건조 방법에 따른 성분의 차이도 연구하였다. 이를 통하여 현재 폐기되고 있는 사과꽃의 활용방안을 모색하여 농가의 이익 창출과 천연항산화제 소재 발굴을 위하여 연구를 수행하였다.

현대인의 건강과 미용에 관한 관심이 높아짐에 따라 항산화제에 대한 개발이 활발히 이루어지고 있다. 항산화제는 합성 항산화제와 천연 항산화제로 나뉘며, 합성 항산화제는 우수한 효과를 가지며 저렴하지만, 독성으로 꺼리는 경향이 있어 근래에는 합성 항산화제의 단점을 개선한 안전한 천연 항산화제에 대한 개발이 활발히 이루어지고 있다(Branen, 1975; Kim과 Kang, 2010; Williams 등, 1990).

페놀산은 벤젠고리와 수산기(-OH)를 가진다. 대부분 자연에서 유리된 형태보다는 유리당, 당, 아미노산 지질 등과 에스테르 결합으로 연결되어 있다(Faulds와 Williamson, 1999). 또한, 페놀산은 hydroxycinnamic acids와 hydroxybenzoic acids로도 분류된다. Hydroxybenzoic acids에는 gallic acid, 4-hydroxybenzoic acid, benzoic acid, salicylic acid, vanillic acid, syringic acid, protocatechuic acid, gentisic acid 등이 있으며, hydroxycinnamic acids는 caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, *trans*-cinnamic acid, 그리고 hydrocaffeic acid 등이 있다(Kang 등, 1996). 이 성분들은 항산화, 항암, 항염, 항균의 효과를 갖는 것으로 보고되었다(Bang 등, 1999; Kim, 1997; Panizzi 등, 2002; Pekkarinen 등, 1999).

플라보노이드는 노란색이나 담황색을 띠며, 2개의 방향족과 3개의 탄소로 C₆-C₃-C₆의 기본 구조의 화합물로 결합하는 다양한 hydroxyl기에 따라 catechins, flavones, flavanones, flavonols, isoflavonoids, anthocyanidins 등으로 분류된다(Middleton과 Kandaswami, 1994; Woo, 2002). 플라보노이드 성분물질은 apigenin, luteolin, quercetin, catechins, epicatechin, proanthocyanidins, quercitrin, isoquercitrin, quercetin, hesperidin, kaempferol, limonin 등이 있다(Woo, 2002). 플라보노이드 역시 항암, 항바이러스, 면역증진, 심장보호, 피부보호, 항염 효과를 가지며, 활성산소의 제거 효율이 높아 항산화 효과가 강하게 나타난다(Heim 등, 2002; Middleton과 Kandaswami, 1994; Sohn 등, 2008; Tsao, 2010; Williams 등, 2004).

시료를 건조하기 위해 사용되는 대표적인 건조방법은 천일건조, 열풍건조, 진공건조, 감압건조, 동결건조 등이 있다(Hong과 Lee, 2004). 열풍건조는 건조과정이 간단하여 빠르게 건조되며, 경제적이므로 가장 흔히 사용되는 건조방법이다. 하지만 수축 현상, 갈변으로 인한 시료의 표면적 변화와 기능성 성분의 변화와 감소 등의 단점이 있다. 동결건조는 표면적인 변화와 기능성 성분의 변화가 적어 건조 시료의 품질

이 우수한 장점이 있지만, 건조과정이 복잡하고 시간이 많이 소요되며 가격이 비싸다는 단점이 있다(Holdsworth, 1971; Hong과 Lee, 2004; Labelle과 Moyer, 1966; Litvin 등, 1998).

사과꽃에 관한 선행연구는 사과 꽃잎 추출물의 용매 분획으로부터 기능성 소재의 탐색 연구(Choi 등, 2011), 사과 꽃과 열매의 활성 산소 소거 효소 활성 연구(Abassi 등, 1998) 등이 있으나, 품종별 및 건조방법에 따른 사과꽃 성분의 분석에 대한 연구는 미흡한 상황이다. 따라서 본 논문에서는 선행 논문에서는 다루지 않은 다양한 사과의 종류별 홍로, 아오리, 부사, 홍옥, 미얀마 5종의 사과꽃에 대한 항산화 실험과 사과꽃의 건조방식을 열풍건조와 동결건조 2가지 방법으로 분석하여 건조방법에 따른 항산화 차이를 알아보고, 건조방법에 따른 각 성분의 함량 차이를 알아보고자 하였다. 또한, HPLC를 활용하여 건조방식별 사과꽃의 페놀산 표준물질 11종과 플라보노이드 6종으로 페놀산과 플라보노이드 정성, 정량분석을 진행하였다.

본 연구는 위의 분석 결과를 토대로 사과꽃의 기능성 건강 기능식품과 화장품소재 등 천연 항산화제로 사용되는 기초자료 제공을 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용된 사과꽃은 홍로(Hongno), 아오리(Aori), 부사(Fuji), 홍옥(Jonathan), 미얀마(Myanmar) 총 5종이며, 2020년 4월경 대구 동구 평광동에서 채취하였다. 각 사과꽃은 세척 후 열풍건조(hot-air drying, HD)와 동결건조(freeze drying, FD)로 건조하였다. 열풍건조는 건조기(OF-22GW, Jeitech, Daejeon, Republic of Korea)를 사용하여 70℃에서 36시간 건조하였으며, 동결건조는 동결건조기(PVTFD-20R, Ilshin, Seoul, Republic of Korea)를 사용하여 건조하였다. 각 건조된 사과꽃은 믹서기로 분쇄하여 시료 추출에 사용하였다.

시료의 추출

두 가지 건조방법으로 얻은 각 5종의 사과꽃 시료 30 g 당 10배에 해당하는 100% ethanol을 300 mL 가하여 60℃에서 6시간 동안 환류 냉각하여 2회 반복 추출하였다. 추출물은 감압여과 후 60℃ 수욕 상에서 감압 농축하여 농축시킨 후 동결건조하여 분말 형태로 실험에 사용하였다.

총폴리페놀 함량 측정

시료 중의 총폴리페놀 함량측정은 Hwang 등(2006)의 방법으로 측정하였다. 각 사과꽃 추출물(2 mg/mL) 100 μL에 2% Na₂CO₃ 용액을 2 mL 가한 후 3분간 방치 후 50% Folin-

Ciocalteu reagent 100 μ L를 가하였다. 2% Na_2CO_3 용액을 가하고 30분 반응 후 750 nm에서 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 사용하였다. 총폴리페놀의 시료 g 중의 mg gallic acid로 나타내었다(mg GAE/g).

총플라보노이드 함량 측정

시료 중의 총플라보노이드 함량 측정은 Moreno 등(2000)의 방법으로 측정하였다. 각 시료 추출물(2 mg/mL) 0.1 mL와 80% ethanol 0.9 mL를 혼합한 혼합물 0.5 mL에 10% aluminium nitrate와 1 M potassium acetate 0.1 mL, 그리고 80% ethanol 4.3 mL를 가하여 실온에 40분 반응 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 quercetin을 사용하였다. 총플라보노이드의 시료 g 중의 mg quercetin으로 나타내었다(mg QE/g).

DPPH 라디칼 소거 활성 측정

시료의 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거 활성을 측정하는 방법으로, Brand-Williams 등(1995)의 방법으로 측정하였다. DPPH 16 mg을 ethanol 100 mL에 용해한 후 증류수 100 mL를 가하고 여과지로 여과하였다. DPPH 용액은 대조군의 흡광도가 1.3(\pm 0.01) 정도 되도록 ethanol로 희석하여 사용하였다. DPPH 용액 4 mL에 각 사과꽃 추출물(1 mg/mL) 1 mL를 가하여 혼합한 후 10분 동안 반응 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

DPPH radical scavenging activity (%) =

$$\frac{A - B}{A} \times 100$$

A: Absorbance of the control

B: Absorbance of the sample

FRAP 활성 측정

시료의 FRAP(ferric reducing antioxidant power) 활성 측정 실험은 Benzie와 Strain(1996)의 방법을 변형하여 측정하였다. Glacial acetic acid 16 mL와 sodium acetate trihydrate 3.1 g을 혼합하여 1 L 증류수에 녹여 300 mM 아세트이트 완충액(pH 3.6)을 만들었다. 40 mM 염산 10 mL와 0.031 g 2,4,6-tri(2-pyridyl)-S-triazine으로 TPTZ 용액을 만들었다. 염화제이철 6수화물 0.0541 g을 증류수 10 mL에 녹여 20 mM 염화제이철 6수화물을 만들었다. 각 시액을 10:1:1(v:v:v)의 비율로 혼합하여 FRAP 시약을 만들었다. 37°C 수조 상에서 사과꽃 추출물(0.5 mg/mL) 0.2 mL에 FRAP 시약 1.8 mL를 넣어 혼합하여 30분 동안 암실에서 반응 후 590 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 Trolox를 사용하였다. 총

FRAP 시료 g 중의 mg Trolox로 나타내었다(mg QE/g).

페놀산의 정성·정량

페놀산의 정성과 정량분석은 HPLC(Agilent 1260, Santa Clara, CA, USA)를 사용하였다. 총 11가지 표준품 중 표준품에 따라 두 가지 조건으로 실험하였다. Caffeic acid, *m*-coumaric acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, 4-hydroxybenzoic acid, salicylic acid, sinapic acid, syringic acid, vanillic acid 10종의 물질은 파장에 따라 다음의 방법으로 실험하였다. 분석용 칼럼은 C_{18} MGII(4.6 \times 250 mm, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA)을 사용하였으며, 이동상 용매는 HPLC 용 등급으로 1% formic acid 수용액과 methanol을 사용하였다. 주입량은 10 μ L, 칼럼 온도는 30°C를 유지하며, 유량은 1.0 mL/min, 254 nm와 320 nm 파장에서 분석하였다(Table 1).

Gallic acid는 분석용 칼럼은 C_{18} MGII(4.6 \times 250 mm)을 사용하였고, 이동상 용매는 HPLC용 등급으로, 0.2% phosphoric acid 수용액과 0.2% phosphoric acid in acetonitrile을 사용하였다. 주입량은 5 μ L, 칼럼 온도는 40°C를 유지하며, 유량은 0.8 mL/min, 210 nm 파장에서 분석하였다(Table 2). 두 조건 모두 분석 사과꽃 추출물은 2 mg/mL 농도로 만들어 0.2 μ m syringe filter로 여과 후 사용하였다. 페놀산 11종 표준품은 총 11종으로 표준품은 검량선을 작성하여 정량하였다.

Table 1. Conditions of HPLC analysis for phenolic acid

Parameters	Conditions		
Injection volume	10 μ L		
Detector	DAD		
Wavelength	254, 320 nm		
Column temperature	30°C		
Flow rate	1.0 mL/min		
Mobile phase	A: 1% formic acid in water, B: Methanol		
Gradient program	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	95	5
	5	95	5
	10	90	10
	15	90	10
	20	80	20
	25	80	20
	30	70	30
	40	55	45
	50	40	60
	55	40	60
60	5	95	
65	5	95	
70	95	5	
75	95	5	

Table 2. Conditions of HPLC analysis for gallic acid

Parameters	Conditions		
Injection volume	5 μ L		
Detector	DAD		
Wavelength	210 nm		
Column temperature	40°C		
Flow rate	0.8 mL/min		
Mobile phase	A: 0.2% phosphoric acid in water		
	B: 0.2% phosphoric acid in acetonitrile		
Gradient program	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	100	0
	23	45	55
	23.1	100	0
	30	100	0

플라보노이드의 정성·정량

플라보노이드의 정성과 정량분석은 HPLC(Agilent 1260)를 사용하였다. 분석용 칼럼은 C₁₈ MGII(4.6×250 mm)를 사용하였고, 이동상 용매는 HPLC용 등급으로, 0.1% trifluoroacetic acid 수용액과 acetonitrile을 사용하였다. 주입량은 10 μ L, 칼럼 온도는 30°C를 유지하며, 유량은 1.0 mL/min, 350 nm 파장에서 분석하였다. 사과꽃 추출물은 2 mg/mL 농도로 만들어 0.2 μ m syringe filter로 여과 후 사용하였다. 플라보노이드 표준품은 총 6종으로 apigenin, isoquercitrin, luteolin, quercetin, quercitrin, rutin을 사용하였다.

결과 및 고찰

총폴리페놀 함량

사과꽃 에탄올 추출물의 총폴리페놀 함량측정 결과는 Table 3과 같다. 총폴리페놀 함량을 측정한 결과, 동결건조 사과꽃이 열풍건조 사과꽃과 비교하여 약 3.6배 정도 폴리페놀 함량이 높음을 나타내었다. 동결건조 사과꽃 5종 중에서는 아오리 사과꽃이 500.6 mg GAE/g으로 가장 높았으며, 홍옥 사과꽃 405.1 mg GAE/g, 부사 사과꽃 370.1 mg GAE/g, 미안마 사과꽃 363.8 mg GAE/g, 홍로 사과꽃 351.1 mg GAE/g 순의 함량을 나타내었다. 열풍건조 또한 아오리 사과꽃이 188.5 mg GAE/g으로 제일 높은 함량을 나타내었으며, 홍로 사과꽃 102.7 mg GAE/g, 부사 사과꽃 95.3 mg GAE/g, 홍옥 사과꽃 89.3 mg GAE/g, 미안마 사과꽃 84.9 mg GAE/g 순의 함량을 나타내었다.

선행 연구(Choi 등, 2011)에서는 품종에 구분 없는 사과꽃을 열풍 건조하여 시료로 사용하였으나, 본 연구에서는 사과

Table 3. Total phenol content in 100% ethanol extracts from apple flowers with the different drying conditions

Drying conditions	Sample flower names	Total phenol contents (mg GAE/g)
Hot air drying (HD)	'Hongno' ¹⁾	102.7±3.7 ²⁾
	'Aori'	188.5±2.3
	'Fuji'	95.3±0.8
	'Jonathan'	89.3±1.7
Freeze drying (FD)	'Myanmar'	84.9±0.4
	'Hongno'	351.1±8.5
	'Aori'	500.6±5.3
	'Fuji'	370.1±0.8
	'Jonathan'	405.1±6.7
	'Myanmar'	363.8±0.1

¹⁾Each sample concentration was 2.0 mg/mL.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

꽃의 품종에 따른 구분 및 건조 방법에 따라 구분하여 시료로 사용하였다. 실험 결과, 아오리 사과꽃에서 폴리페놀 성분이 가장 많다는 것을 알 수 있으며, 열풍건조와 비교해 동결건조에서 폴리페놀의 함량이 더 높은 것으로 보아 열풍건조 과정에서 폴리페놀의 성분이 파괴되거나 변형되어 그 함량이 감소된 것으로 여겨진다.

총플라보노이드 함량

사과꽃 에탄올 추출물의 총플라보노이드 함량 측정 결과는 Table 4와 같다. 총플라보노이드 함량을 측정한 결과, 열풍건조 사과꽃 대비 동결건조 사과꽃에서 약 2.7배 높은 플라보노이드 함량을 나타내었다. 동결건조 사과꽃 5종 중에서는 아오리 사과꽃이 123.8 mg QE/g으로 가장 높았으며, 홍옥 사과꽃 86.7 mg QE/g, 홍로 사과꽃 75.3 mg QE/g, 미안마 사과꽃 65.3 mg QE/g, 부사 사과꽃 63.2 mg QE/g 순의 함량을 나타내었다. 열풍건조 또한 아오리 사과꽃에서 57.6 mg QE/g으로 제일 높은 함량을 나타내었으며, 홍로 사과꽃 33.4 mg QE/g, 부사 사과꽃 25.8 mg QE/g, 홍옥 사과꽃 20.8 mg QE/g, 미안마 사과꽃 18.0 mg QE/g 순의 함량을 나타내었다.

선행연구(Choi 등, 2011)의 열풍건조 시료보다 동결건조 시료에서 플라보노이드 함량이 2.7배 높은 것으로 나타났다. 총폴리페놀 함량측정 결과와 비교하면 아오리 사과꽃의 측정 결과가 가장 높은 함량을 나타내며, 나머지 경우 열풍건조의 부사 사과꽃과 미안마 사과꽃의 순위가 바뀐 것을 제외하면 나머지 함량 순위는 같았다.

Table 4. Total flavonoid content in 100% ethanol extracts from apple flowers with the different drying conditions

Drying conditions	Sample flower names	Total flavonoid content (mg QE/g)
Hot air drying (HD)	'Hongno' ¹⁾	33.4±0.6 ²⁾
	'Aori'	57.6±1
	'Fuji'	25.8±0.8
	'Jonathan'	20.8±0.2
	'Myanmar'	18.0±0.7
Freeze drying (FD)	'Hongno'	75.3±1.3
	'Aori'	123.8±1.4
	'Fuji'	63.2±1.6
	'Jonathan'	86.7±1
	'Myanmar'	65.3±0.4

¹⁾Each sample concentration was 2.0 mg/mL.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

DPPH 라디칼 소거 활성

사과꽃 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 측정 결과, 열풍건조 사과꽃 대비 동결건조 사과꽃에서 약 3.8배 정도 DPPH 라디칼 소거 활성이 높았다. 동결건조 사과꽃 5종 중에서는 아오리 사과꽃이 83.3%로 가장 높았으며, 홍옥 사과꽃 79.4%, 홍로 사과꽃 77.9%, 미안마 사과꽃 77.6%, 부사 사과꽃 77.0% 순의 소거 활성을 나타내었다. 열풍건조 또한 아오리 사과꽃이 51.0%로 제일 높은 함량을 나타내었으며, 부사 사과꽃 14.8%, 홍옥

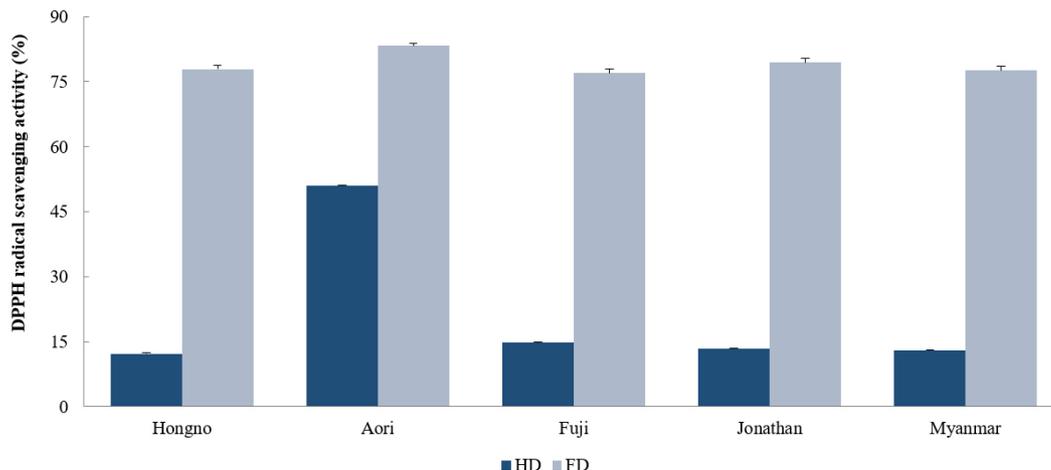


Fig. 1. DPPH radical scavenging ability in 100% ethanol extracts from apple flowers with the different drying conditions.

¹⁾Each sample concentration was 1.0 mg/mL.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

사과꽃 13.3%, 미안마 사과꽃 12.9%, 홍로 사과꽃 12.2% 순의 소거 활성을 나타내었다.

FRAP 활성

사과꽃 에탄올 추출물의 총 FRAP 활성 측정 결과는 Fig. 2와 같다. FRAP 활성을 측정한 결과, 열풍건조 사과꽃과 비교해 동결건조 사과꽃에서 약 3.4배 정도 FRAP 활성이 높았다. 동결건조 사과꽃 5종 중에서는 아오리 사과꽃이 117.4 mg TE/g으로 가장 높았으며, 홍옥 사과꽃 84.2 mg TE/g, 홍로 사과꽃 84.2 mg TE/g, 미안마 사과꽃 73.7 mg TE/g, 부사 사과꽃 73.5 mg TE/g 순의 활성을 나타내었다. 열풍건조 또한 아오리 사과꽃이 46.2 mg TE/g으로 제일 높은 활성을 나타내며, 부사 사과꽃 24.6 mg TE/g, 홍로 사과꽃 22.9 mg TE/g, 홍옥 사과꽃 15.9 mg TE/g, 미안마 사과꽃 14.9 mg TE/g 순의 활성을 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거 활성 능력과 비교해보면, 열풍건조 사과꽃의 항산화 활성 순위는 같으며, 동결건조 사과꽃의 경우는 아오리, 부사의 순위는 같지만, 나머지 3가지 사과꽃은 다른 순위를 나타내었다.

페놀산의 정성·정량

사과꽃 에탄올 추출물의 HPLC를 활용한 254 nm에서 측정한 페놀산 5종 cinnamic acid, *m*-coumaric acid, syringic acid, vanillic acid, 4-hydroxybenzoic acid의 실험 결과는 Table 5와 같다. 페놀산 5종 중 cinnamic acid의 함량이 가장 높게 나왔으며 4-hydroxybenzoic acid는 사과꽃에서 검출되지 않았다.

페놀산 5종의 총량은 사과꽃 5종 중에서는 동결건조한 아오

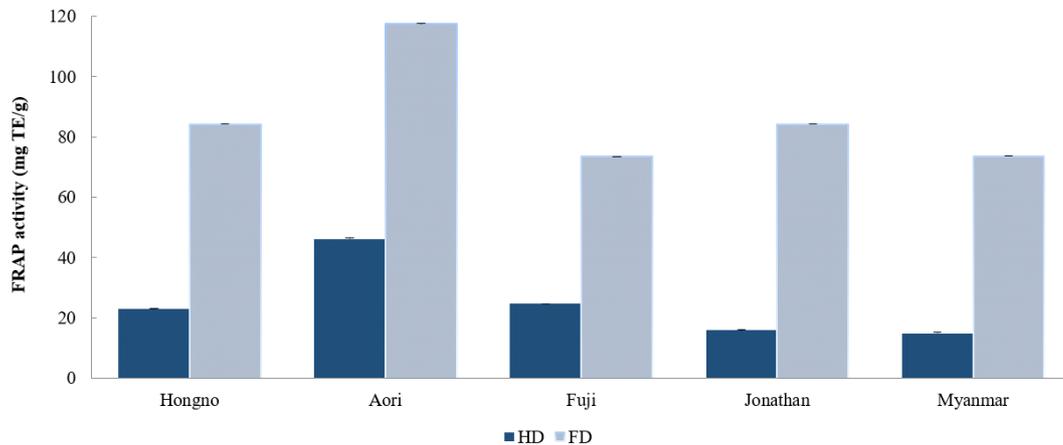


Fig. 2. Ferric reducing antioxidant powers in 100% ethanol extracts from apple flowers with the different drying conditions.

¹⁾Each sample concentration was 0.5 mg/mL.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

Table 5. Qualitative and quantification of phenolic acid using HPLC in 100% ethanol extracts from apple flowers with the different drying conditions (254 nm)

Drying conditions	Sample flower names	Cinnamic acid ²⁾	<i>m</i> -Coumaric acid	Syringic acid	Vanillic acid	4-Hydroxy benzoic acid	SUM
Hot air drying (HD)	‘Hongno’ ¹⁾	210.2 ³⁾	2.1	7.5	0.5	-	220.3
	‘Aori’	212.7	22.1	8.7	-	-	243.5
	‘Fuji’	143.4	16.4	7.9	-	-	167.7
	‘Jonathan’	143.6	25.0	10.5	1.2	-	180.3
	‘Myanmar’	121.0	20.6	6.5	-	-	148.1
Freeze drying (FD)	‘Hongno’	231.9	141.4	4.8	-	-	378.1
	‘Aori’	269.2	217.2	7.8	-	-	494.2
	‘Fuji’	216.4	110.2	13.3	2.5	-	342.4
	‘Jonathan’	163.9	129.1	12.7	1.5	-	307.2
	‘Myanmar’	229.0	91.6	8.4	2.4	-	331.4

¹⁾Each sample concentration was 2 mg/mL.

²⁾Each sample standard was 0.2-300 mg/kg.

³⁾Units was mg/kg.

리 사과꽃에서 총 494.2 mg/kg으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 동결건조 아오리 사과꽃은 cinnamic acid 269.2 mg/kg, *m*-coumaric acid 217.2 mg/kg, syringic acid 7.8 mg/kg의 함량을 나타내었으며, vanillic acid와 4-hydroxybenzoic acid는 검출되지 않았다. 동결건조한 사과꽃의 페놀산 5종의 총량은 아오리, 홍로, 부사, 미안마, 홍옥의 순으로 나타났다.

열풍건조 사과꽃의 실험 결과, 동결건조와 마찬가지로 아오리 사과꽃에서 가장 많은 페놀산 함량을 나타내었다. 열풍

건조 아오리 사과꽃은 총 243.5 mg/kg으로 cinnamic acid 212.7 mg/kg, *m*-coumaric acid 22.1 mg/kg, syringic acid 8.7 mg/kg의 함량을 나타내었으며 vanillic acid, 4-hydroxybenzoic acid는 나오지 않았다. 열풍건조한 사과꽃의 페놀산 5종의 총량은 아오리, 홍로, 홍옥, 부사, 미안마의 순으로 나타났다.

Vanillic acid는 열풍건조 홍로, 홍옥 사과꽃과 동결건조의 부사, 홍옥, 미안마 사과꽃에서만 검출되었다.

사과꽃 에탄올 추출물의 HPLC를 활용한 320 nm에서 측

정한 페놀산 5종 caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid, salicylic acid의 실험 결과는 Table 6과 같다.

사과꽃에서는 위의 페놀산 5종 중 salicylic acid의 함량이 가장 높게 나타났다. 건조 방법별 사과꽃 5종의 결과는 열풍 건조와 비교하여 동결건조에서 높은 함량을 나타내었으며, 동결건조 아오리 사과꽃에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 동결건조에서 아오리 사과꽃은 총 241.9 mg/kg으로 salicylic acid 151.9 mg/kg, caffeic acid 82.0 mg/kg, *p*-coumaric acid 5.6 mg/kg, sinapic acid 1.3 mg/kg, ferulic acid 1.1 mg/kg의 값을 나타내었다. 동결건조한 사과꽃에서 위의 페놀산 5종의 총량은 아오리, 부사, 미안마, 홍옥, 홍로의 순으로 나타났다. Sinapic acid와 ferulic acid 성분은 부사, 홍옥, 미안마 사과꽃에서는 검출되지 않았다.

열풍건조 사과꽃의 실험 결과, 동결건조와 마찬가지로 아오리 사과꽃에서 가장 높은 페놀산 함량을 나타내었다. *p*-Coumaric acid 21.8 mg/kg이 가장 많은 함량을 나타내었으며, 나머지 4가지 물질은 salicylic acid 20.9 mg/kg, ferulic acid 4.6 mg/kg, caffeic acid 3.5 mg/kg, sinapic acid 3.4 mg/kg 순으로 총 54.2 mg/kg을 나타내었다. 열풍건조한 사과꽃에서 위의 페놀산 5종의 총량은 아오리, 홍로, 부사, 미안마, 홍옥의 순으로 나타났다.

동결건조 사과꽃이 열풍건조 사과꽃과 비교해 페놀산 물질 중 salicylic acid, *p*-coumaric acid, caffeic acid 3종의 함량이 높게 나왔지만, ferulic acid, sinapic acid 2종은 열풍건조 사과꽃에서 더 높은 함량을 나타내었다.

Salicylic acid를 포함한 5종의 페놀산은 항염증, 항산화, 미백 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 동결건조한 아오리 사과꽃에서 페놀산 5종의 총량이 가장 높았으므로, 아오리 사과꽃 시료의 항염증, 항산화 등의 효과도 우수할 것으로 예상된다.

사과꽃 에탄올 추출물의 HPLC를 활용한 gallic acid 페놀산 정성, 정량분석 결과는 Table 7과 같다.

Gallic acid의 함량은 열풍건조 사과꽃이 동결건조 사과꽃과 비교해 높은 함량을 나타내었다. 앞선 실험에서 동결건조 사과꽃의 결과들이 열풍건조 사과꽃에 비해 높았던 것과는 반대의 결과를 나타내었다. 열풍건조 사과꽃 5종의 경우, 아오리 사과꽃이 4.6 mg/kg으로 가장 높은 함량을 보였고, 홍옥, 미안마, 부사, 홍로의 순으로 나타났다.

Gallic acid의 함량이 동결건조 사과꽃보다 열풍건조 사과꽃에서 더 함량이 높은 이유는 천연물의 gallic acid는 열에 잘 분해되지 않는 안정적인 물질이며, 다른 성분의 화합물들은 열에 의해 분해되어 gallic acid의 구조로 전환되어, gallic acid의 농도가 높아진 것으로 예상된다.

플라보노이드의 정성·정량

사과꽃 에탄올 추출물의 HPLC를 활용한 플라보노이드 정성·정량분석 결과는 Table 8과 같다.

플라보노이드 6종 중 quercitrin의 함량이 가장 높게 나타났다. 건조 방법별 사과꽃의 결과는 열풍건조와 비교하여 동결건조에서 높은 함량을 나타내었다. 이러한 결과는 UV를

Table 6. Qualitative and quantification of phenolic acid using HPLC in 100% ethanol extracts from apple flowers with the different drying conditions (320 nm)

Drying conditions	Sample flower name	Caffeic acid ¹⁾	<i>p</i> -Coumaric acid	Ferulic acid	Sinapic acid	Salicylic acid	SUM
Hot air drying (HD)	'Hongno' ¹⁾	4.7 ³⁾	1.3	3.4	4.2	31.8	45.4
	'Aori'	3.5	21.8	4.6	3.4	20.9	54.2
	'Fuji'	-	1.7	2.8	3.5	8.3	16.3
	'Jonathan'	-	-	1.7	4.9	-	6.6
	'Myanmar'	-	1.4	2.7	4.0	-	8.1
Freeze drying (FD)	'Hongno'	5.6	3.3	1.3	1.5	123.1	134.8
	'Aori'	82.0	5.6	1.1	1.3	151.9	241.9
	'Fuji'	1.4	2.5	-	-	167.4	171.3
	'Jonathan'	3.7	5.5	-	-	129.8	139
	'Myanmar'	1.6	3.1	-	-	136.0	140.7

¹⁾Each sample concentration was 2 mg/mL.

²⁾Each sample standard was 0.2-200 mg/kg.

³⁾Units was mg/kg.

Table 7. Qualitative and quantification of phenolic acid using HPLC in 100% ethanol extracts from apple flowers with the different drying conditions (gallic acid)

Sample flower names	Hot-air drying (HD)					Freeze drying (FD)				
	'Hongno' ¹⁾	'Aori'	'Fuji'	'Jonathan'	'Myanmar'	'Hongno'	'Aori'	'Fuji'	'Jonathan'	'Myanmar'
Gallic acid ²⁾	1.4 ³⁾	4.6	2.1	2.4	2.2	1.4	1.8	1.1	1.8	1.2

¹⁾Each sample concentration was 2 mg/mL.²⁾Each sample standard was 0.2-50 mg/kg.³⁾Units was mg/kg.**Table 8. Qualitative and quantification of flavonoid using HPLC in 100% ethanol extracts from apple flowers with the different drying conditions**

Drying conditions	Sample flower name	Rutin ²⁾	Quercitrin	Luteolin	Isoquercitrin	Apigenin	Quercetin	SUM
Hot air drying (HD)	'Hongno' ¹⁾	1.6 ³⁾	6.1	0.2	1.2	0.5	0.2	9.8
	'Aori'	10.6	10.2	0.7	8.3	1.2	0.2	31.2
	'Fuji'	0.5	1.9	0.2	0.3	0.4	0.2	3.5
	'Jonathan'	1.5	5.5	0.2	1.1	0.4	0.1	8.8
	'Myanmar'	0.4	1.3	0.1	0.2	0.3	0.1	2.4
Freeze drying (FD)	'Hongno'	15.0	30.0	0.3	12.2	0.6	0.3	58.4
	'Aori'	28.9	50.7	0.8	23.7	1.4	0.3	105.8
	'Fuji'	8.7	24.8	0.4	7.4	0.8	0.1	42.2
	'Jonathan'	21.0	34.3	0.6	17.1	1.1	-	74.1
	'Myanmar'	9.3	21.3	0.4	7.8	0.8	0.1	39.7

¹⁾Each sample concentration was 2 mg/mL.²⁾Each sample standard was 0.2-100 mg/kg.³⁾Units was mg/kg.

활용한 총플라보노이드 함량 측정실험에서 동결건조한 아오리 사과꽃의 함량이 가장 높았던 실험 결과와 일치하였다.

동결건조 사과꽃의 실험 결과, 아오리 사과꽃의 플라보노이드 6종의 총량은 105.8 mg/kg으로 quercitrin 50.7 mg/kg, rutin 28.9 mg/kg, isoquercitrin 23.7 mg/kg, apigenin 1.4 mg/kg, luteolin 0.8 mg/kg, quercetin 0.3 mg/kg으로 나타났다. 동결건조 한 사과꽃에서 위의 플라보노이드 6종의 총량은 아오리, 홍옥, 홍로, 부사, 미안마의 순으로 나타났다.

열풍건조 사과꽃 5종의 플라보노이드 6종의 함량도 아오리 사과꽃이 rutin 10.6 mg/kg, quercitrin 10.2 mg/kg, isoquercitrin 8.3 mg/kg, apigenin 1.2 mg/kg, luteolin 0.7 mg/kg, quercetin 0.2 mg/kg 총 31.0 mg/kg으로 열풍건조 사과꽃 중 가장 높은 함량을 나타내었다. 열풍건조한 사과꽃에서 위의 플라보노이드 6종의 총량은 아오리, 홍로, 홍옥, 부사, 미안마의 순으로 나타났다.

플라보노이드 6종의 함량을 분석한 결과, 열풍건조 아오리 사과꽃과 비교해 동결건조 아오리 사과꽃에서 약 3.4배 높은 플라보노이드가 포함된 것으로 나타났다.

플라보노이드는 항암, 항균, 항산화, 항염 등 생체 내에서 다양한 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 동결건조한 아오리 사과꽃에서 플라보노이드 5종의 함량이 가장 높았으므로, 항암, 항균, 항염 등의 생리 활성도 가장 우수할 것으로 예상된다.

요 약

본 연구는 건조 방법별 홍로, 아오리, 부사, 홍옥, 미안마 사과꽃 5종의 항산화 실험을 통해 건강기능식품과 화장품 등에 활용 가능한 천연항산화제 소재를 찾아 다양한 분야에 활용하고자 수행하였다. 열풍건조와 동결건조 두 가지 건조 방

법으로 건조하여 건조 방법에 따른 DPPH 라디칼 소거 활성과 FRAP 활성 차이를 살펴보았으며, 에탄올로 추출하여 시료의 항산화 활성과 HPLC를 활용한 페놀산 물질 11종과 플라보노이드 물질 6종의 정성·정량분석을 하였다. 건조 방법별 사과꽃 5종의 결과는 열풍건조 사과꽃 대비 동결건조 사과꽃에서 높은 항산화 활성과 항산화 물질함량을 나타내었다. 열풍건조 사과꽃, 동결건조 사과꽃의 평균값을 비교하면 동결건조가 열풍건조와 비교하여 총폴리페놀 함량 3.6배, 총플라보노이드 함량 2.7배, DPPH 라디칼 소거 능력 3.8배, FRAP 3.4배, 페놀산 물질 11종 2.4배, 플라보노이드 6종 5.7배 높은 결과를 나타내었다. 하지만 페놀산 물질 중 gallic acid, sinapic acid, ferulic acid는 열풍건조에서 더 높은 결과를 나타내었다. 사과꽃 5종의 종류별 항산화 실험 결과는 열풍건조 사과꽃, 동결건조 사과꽃 두 건조에서 아오리 사과꽃이 가장 높은 결과를 나타내었다. 열풍건조 사과꽃의 아오리 사과꽃과 나머지 4종 사과꽃 실험 결과 평균값을 비교하면 총폴리페놀 함량 결과 2.0배, 총플라보노이드 2.4배, DPPH 라디칼 소거 능력 3.8배, FRAP 2.4배 높은 결과를 나타내었으며, 페놀산 물질 11종 중 cinnamic acid 성분이 212.7 mg/kg, 플라보노이드 6종 중에서는 quercitrin이 10.2 mg/kg으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 동결건조 사과꽃의 아오리 사과꽃과 나머지 4종 사과꽃 실험결과 평균값을 비교하면 총폴리페놀 함량 결과 1.3배, 총플라보노이드 1.7배, DPPH 라디칼 소거 능력 1.1배, FRAP 1.5배, 페놀산 물질 11종 중 cinnamic acid 성분이 269.2 mg/kg, 플라보노이드 6종 중 quercitrin 50.7 mg/kg으로 가장 함량이 높았다. 따라서 최종 실험 결과, 동결건조 아오리 사과꽃이 가장 높은 항산화 활성과 항산화 성분 함량을 나타내었다. 동결건조 아오리 사과꽃의 결과, 총폴리페놀 함량 500.6 mg GAE/g, 총플라보노이드 함량 123.8 mg QE/g, DPPH 라디칼 소거 능력 83.3%, FRAP 활성 117.4 mg TE/g, 페놀산 물질 11종 총 737.9 mg/kg, 플라보노이드 물질 6종 총 105.8 mg/kg을 나타내었다.

감사의 글

이 결과물은 2021년도 대구가톨릭대학교 학술연구비 지원에 의한 것임.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Jeong Min Yun <https://orcid.org/0000-0003-2596-4925>

Dong Wook Kang <https://orcid.org/0000-0002-9339-340X>

References

- Abassi NA, Kushad MM, Endress AG. Active oxygen-scavenging enzymes activities in developing apple flowers and fruits. *Scientia Horticulturae*, 74, 183-194 (1998)
- Bang MH, Song JC, Lee SY, Park NK, Baek NI. Isolation and structure determination of antioxidants from the root of *Paeonia lactiflora*. *The Korean Soc Appl Biol Chem*, 42, 170-175 (1999)
- Benzie L, Strain J. The ferric reducing ability of plasma as a measure of antioxidant power the FRAP assay. *Anal Biochem*, 239, 70-76 (1996)
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol*, 28, 25-30 (1995)
- Branen AL. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc*, 52, 59-63 (1975)
- Choi SJ, Cho EA, Cho E, Jeong Y, Ku CS, Ha B, Chae HJ. Screening of functional materials from solvent fractions of apple flower leaf extract. *Korean Soc Biotechnol Bioengin J*, 26, 165-171 (2011)
- Faulds CB, Williamson G. The role of hydroxycinnamates in the plant cell wall. *J Sci Food Agric*, 79, 393-395 (1999)
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism, and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*, 13, 572-584 (2002)
- Holdsworth SD. Dehydration of food products. *J Food Technol*, 6, 331-336 (1971)
- Hong JH, Lee WY. Quality characteristics of osmotic dehydrated sweet pumpkin by different drying methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 33, 1573-1579 (2004)
- Hwang IG, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Yang MH, Jeong HS. Change of physicochemical characteristics of Korean pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) juice with heat treatment conditions. *Korean J Food Sci Technol*, 38, 342-347 (2006)
- Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol*, 28, 232-239 (1996)
- Kim GS. Effect of dietary phenols on body tissue oxidative

- state and cancer prevent. Korean J Food Nutr, 10, 74-81 (1997)
- Kim HS, Kang YH. Antioxidant activity of ethanol extracts of non-edible parts (stalk, stem, leaf, seed) from oriental melon. Korean J Plant Res, 23, 451-457 (2010)
- Labelle RL, Moyer JC. Dehydrofreezing red tart cherries. Food Technol, 20, 1345-1351 (1966)
- Litvin S, Mannheim CH, Miltz J. Dehydration of carrots by a combination of freeze-drying, air or microwave heating and air or vacuum drying. J Food Eng, 36, 103-111 (1998)
- Middleton E, Kandaswami C. Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. Inst Food Technol, 48, 115-119 (1994)
- Moreno MN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J Ethnopharmacol, 71, 109-114 (2000)
- Noji Gwasu Jaebaemyeonjeog (Outdoor Fruit Tree Cultivation Area). <https://kosis.kr> (accessed August 14 2021)
- Panizzi L, Caponia C, Catalano S, Cioni PL, I Morelli. *In vitro* antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubusulmifolius*. J Ethnopharmacol, 79, 165-168 (2002)
- Pekkarinen SS, Stöckmann H, Schwarz K. Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate. J Agric Food Chem, 47, 3036-3043 (1999)
- Sagwa Jeoggwa Jeoghwa Yolyeong. <http://www.gnares.go.kr> (accessed August 8 2020)
- Sohn HY, Ryu HY, Jang YJ, Jang HS, Park YM, Kim SY. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. Microbiol Biotechnol Lett, 6, 195-200 (2008)
- Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients, 2, 1231-1246 (2010)
- Williams GM, Wang CX, Iatropoulos MJ. Toxicity studies of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. ii. Chronic feeding studies. Food Chem Toxicol, 28, 799-806 (1990)
- Williams RJ, Spencer JPE, Rice-Evans C. Flavonoids: Antioxidants or signaling molecules? Free Radic Biol Med, 36, 838-849 (2004)
- Woo WS. Study of Natural Compounds and Chemistry. Seoul National University Press, Seoul, p 30-34, 80-83 (2002)