KOREAN J. FOOD COOKERY SCI.
Vol. 26, No. 1, pp. 79～87 (2010)

남해산 유자 과피 열수추출물의 생리활성

신정혜 · 양승미[2] · 강민정 · 이수정[1] · 김성현[2] · 성낙주[1†]
(재)남해마늘연구소, [1]경상대학교 식품영양학과 · 농업생명과학연구원, [2]경남도립남해대학 호텔조리제빵과

Biological Activities of Hot Water Extracts Made from Yuza(*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) Peel Cultivated in Namhae

Jung-Hye Shin, Seung-Mi Yang[2], Min-Jung Kang, Soo-Jung Lee[1], Sung-Hyun Kim[2] and Nak-Ju Sung[1†]
Namhae Garlic Research Institute
[1]Namhae Garlic Research Institute and Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University
[2]Department of Hotel Culinary Arts & Bakery, Gyeongnam Provinical Namhae College

Abstract

The antioxidant activity of hot water extracts made from Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) cultivated in Namhae Changseon, Seolcheon and Idong-myeon was analyzed. The total phenolic compound content was significantly higher in the Seolcheon sample (116.06 mg/100 g) than in Idong or Changseon. Flavonoids and hesperidin contents were not significantly different among samples. The electron-donating ability of the Yuza peel hot water extracts was activated to over 55% in all samples with 5,000 μg/mL added to the reaction system, with especially high in the Seolcheon sample (85.70%). Also, the reducing powder in 10,000 μg/mL added to the reaction system was showed significantly higher in the Seolcheon (0.82) than in the other samples. The ABT cation decolorization capacity of Yuza peel extracts was activated to over 50% in all samples when 5,000 μg/mL of water extracts were added to the reaction mixture, and the activity was the highest (67.59%) in the Idong samples. The nitric oxide scavenging activity was lower than 45% in all samples, with the activity of Changseon significantely lower than the other samples. The antioxidant activity of the β-carotene linoleic acid system was 33.30～42.22% when 1,000 μg/mL water extracts was added to the reaction mixtures, of which the activity in the Yuza cultivated in Seolcheon showed the highest.

Key words: yuza, namhae, phenolic compound, antioxidant activity

I. 서 론

암을 비롯한 고혈압, 신장병 등의 만성 퇴행성 질병은 성별과 나이를 불문하고 그 발생 추이가 증가되고 있으며, 이러한 질환은 치유보다 예방이 더 강조되고 있는데, 최근 well-being의 생활을 추구하는 경향과 더불어 생리활성을 많이 함유한 식품에 대한 관심이 증가되고 있다(Yoo KM과 Hwang IK 2004a). 특히 과일과 채소의 섭취는 여러 가지 암의 발생률을 낮춘다는 역학적 보고(Ams BN 등 1993, Willet CW 1994, Wang H 등 1996)에 의해 이들 식품의 섭취가 증가 되고 있는데 이는 다량 함유된 비타민 C와 E에 의한 효과뿐만 아니라 과일이나 채소에 많이 들어있는 polyphenol 특히 flavonoid류의 효능임이 밝혀지고 있다(Vinson JA 등 2001, Lee KW 등 2002, Hertog MG 등 1993).

분류학상으로 운향과(芸香科), 감귤속(柑橘屬), 후생감귤아속(後生柑橘亞屬)에 속하는 유자(yuza *Citrus junos* SIEB ex TANAKA)는 기후 변화에 민감하여 연평균 기온이 13～15℃, 연평균 일교차가 15℃ 내외, 일조량은 연간 2,400시간 이상 및 연평균 강수량은 1,500 mm 이상인 곳으로 재배지역이 제한되어 국내에서는 전라남도 고흥, 완도, 장흥, 진도와 경상남도 거제, 남해, 통영 등지에서 재배되고 있다(Ministry of Agriculture and Forestry 2007, Byun SH와 Lee CH 1990). 유자는 신맛과 향기가 강하여 당절임한 유자청 등의 음료로 많이 이용되어 왔고, 주로 과육만 이용하는 다른 감귤류와는 달리 과육과 과피를 모두 이용하는 과일이므로 과피 부분에 많이 함유되어 있

†Corresponding author: Nak-Ju Sung, Namhae Garlic Research Institute and Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University
Tel: 055-751-5975
Fax: 055-751-5971
E-mail: snakju@gnu.ac.kr

는 유효성분을 귤이나 오렌지 같은 과일보다 용이하게 섭취할 수 있는 장점을 가지고 있다(Yoo KM 등 2005b, Park SK와 Shon MY 2006). 따라서 유자는 과육보다 과피를 이용하여 유자차를 만들거나 유자청, 유자즙, 유자향을 제조하는데 이용되고 있다.

지금까지 유자에 관한 연구로는 일반성분 및 유리당, 아미노산, 유기산과 같은 영양 성분(Lee YC 1994), 착즙방법에 등에 관한 것이 대부분이었으나(Jeong JW 등 1994, Sen MP와 Seamen S 1981), 근래에 들어서 유자 추출물의 생리 활성에 대한 평가도 활발하게 진행되고 있다(Lee SJ 등 2005b). 유자 중에 함유되어 있는 carotenoid, bioflavonoid 및 terpenes 등은 혈중 LDL 콜레스테롤을 저하시키고(Bok SH 등 1999) HDL 콜레스테롤 함량을 높이며 순환계 질환의 발생률을 감소시킨다는 보고(Calabro 등 2004)와 더불어 질병에 대한 예방의학적인 활성을 지니고 있음에 대한 기능성의 규명과 관련된 연구 및 고부가가치를 창출하고자 하는 방향으로 연구가 진행되고 있다(Cha JY와 Cho YS 2001, Yoo KM와 Hwang IK 2004a, Shin JH 등 2004). 또한 유자는 한국 고유의 특산품으로 일본, 홍콩, 미국 등의 30여 개국으로 수출되고 있으며, 특히 중국에서는 유자차가 중국인이 선호하는 황금색을 띠고 있는 과실 차의 형태로 소비 트렌드에 부합하면서 건강차로 소비가 급격히 증가되고 있는 추세이다(Ministry of Agriculture and Forestry 2007).

본 연구에서는 국내 대표 유자 산지로 알려진 경남 남해 지역의 주생산지인 창선, 설천 및 이동 지역 유자의 물성, 일반성분 및 유자 고유의 특수성분을 비교 분석함으로서 남해산 유자의 품질 특성에 대한 기초 자료를 확보함과 동시에 과피를 주로 식용하는 유자의 특성을 고려하여 유자 과피의 열수 추출물을 제조한 다음 유자 내 주요 생리활성 물질을 분석하고, 여러 조건에서 항산화 활성을 비교분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

2007년 11월에 남해군 창선면, 설천면 및 이동면에서 산지 확인 후 수거한 생과를 취하여 흐르는 물에 2회 세척한 다음 과피를 분리하였다. 열수추출물은 거칠게 마쇄한 유자 과피 100 g에 5배의 증류수를 가해 70℃ 수욕상에서 3시간 동안 환류냉각하면서 2회 반복 추출한 것을 여과한 후 동결건조하여 제조하였다. 추출 수율은 추출 전 유자 시료에 대한 추출물의 건조 후 무게백분율로 계산하였다. 동결건조물은 -40℃ 동결고에 보관하면서 탈이온수를 이용하여 500, 1,000, 2,500, 5,000 및 10,000 μg/mL로 농도를 조절하여 항산화 활성측정에 사용하였다.

2. 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(Gutfinger T 1981)에 따라 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, caffeic acid(Sigma chemical Co. St. Louis, USA)를 사용하여 얻은 표준검량선으로부터 총 페놀 함량을 산출하였다.

총 플라보노이드는 Moreno MI 등(2000)의 방법에 따라 415 nm에서 흡광도를 측정한 다음 quercetin(Sigma chemical Co. St. Louis, USA)을 표준물질로하여 얻은 표준검량선으로부터 추출물 중 함량을 계산하였다.

3. 추출물의 hesperidin 및 naringin 함량

유자 과피 열수추출물의 hesperidin 및 naringin 함량은 Davis 변법(1947)에 따라 열수추출물 1 mL에 90% diethylene glycol 용액 10 mL 및 1 N-NaOH 1 mL를 차례로 가하여 30℃에서 1시간 가온 한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 중 함량은 표준물질인 hesperidin 및 naringin(Sigma chemical Co. St. Louis, USA)을 사용하여 표준검량곡선을 작성하여 산출하였다.

4. DPPH에 대한 전자공여능의 측정

전자공여작용은 Blois MS(1958)의 방법을 변형하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여 효과를 측정하였다. 즉 에탄올에 5 mg/100 mL 농도로 제조한 DPPH 용액 2 mL에 농도를 조절한 시료 추출물 1 mL를 넣어 혼합한 다음 실온에서 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

5. 환원력 측정

Oyaizu M(1986)의 방법에 따라 시료 1 mL에 phsosphate buffer(200 mM, pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide 1 mL를 차례로 가한 다음 50℃의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA 용액을 1 mL 가하여 13,500×g에서 15분간 원심분리한 후 얻은 상징액 1 mL에 증류수 및 ferric chloride를 각각 1 mL씩 가하여 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었다.

6. ABTs radical 소거능 측정

ABTs radical 소거능 측정은 Re R 등(1999)의 방법에 따라 7 mM ABTs 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12～16시간 동안 반응시켰다. 이를 414 nm에서 흡광도 1.5 정도가 되도록 증류수로 희석한 용액 3 mL에 시료용액 1 mL를 가하여 실온에서 10분간 반응시켜 414 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTs radical 소거능은 시료첨가구와 무첨가구의

흡광도 비로 나타내었다.

7. Hydroxyl radical 소거능 측정

Gutteridge JM(1984)의 방법에 따라 시험관에 1 mM $FeSO_4$/EDTA 용액 0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 시료 용액 0.2 mL, 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 1.2 mL 및 10 mM H_2O_2 0.2 mL를 차례로 가하고 37℃에서 1시간 반응시킨 후 2.8% TCA용액 1 mL를 가하고 95℃ 수욕상에서 10분간 반응시킨 다음 급냉하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 hydroxyl radical 소거능은 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{Hydroxyl radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A-O}{B-O}\right) \times 100$$

O : Absorbance of no treatment at 532 nm
A : Absorbance of sample treatment at 532 nm
B : Absorbance of control treatment at 532 nm

8. Nitrite 소거능 측정

Nitrite 소거능은 Kato H 등(1987)과 Kim DS 등(1987)의 방법에 따라 1 mM $NaNO_2$ 용액 1 mL에 각 시료 용액 1 mL를 가하고 0.1 N HCl로 pH 2.5로 보정한 0.2 M citrate buffer를 가하여 총 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 2% acetic acid 3 mL와 30% acetic acid로 사용직전에 제조한 Griess reagent(1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine = 1 : 1) 0.4 mL를 차례로 가하고 진탕 혼합하여 실온에서 15분간 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Griess reagent 대신 증류수를 가하여 측정하였으며, Nitrite 소거능은 100-[(시료 첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)× 100]으로 나타내었다.

9. Nitric oxide 소거능 측정

Nitric oxide 소거능은 Song HS와 Moon KY(2006)의 방법에 따라 시료 0.5 mL에 10 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 mL를 가하여 상온에서 150분간 반응시켰다. 여기에 2% sulfanilamide를 함유하는 4% phosphoric acid 용액과 0.2% naphthylethylenediamide용액을 사용직전에 1:1(v/v)로 제조한 Griess reagent 1 mL을 가한 후 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitric oxide 소거능은 [1-(시료 첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)]×100으로 나타내었다.

10. β-carotene-linoleic acid 계에서 항산화능 측정

1 mg의 β-carotene을 2 mL의 chloroform으로 용해한 후 10 μL의 linoleic acid 및 400 mg의 Tween 40을 첨가하여 진탕하였다. 회전식 진공증발기에서 chloroform을 제거한 후 증류수를 가하여 100 mL로 정용한 것을 기질로 사용하였다. 이 기질용액 2.5 mL에 시료액 0.5 mL를 가하여 50℃ 수욕상에서 1시간 동안 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였다(Miller HE 1971).

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = \frac{C-S}{C} \times 100$$

C : 대조구의 흡광도 감소율
S : 실험구의 흡광도 감소율

11. 통계처리

반복 실험하여 얻은 결과는 SPSS 12.0 package를 사용하여 분산분석 하였으며, 결과는 평균±표준편차로 나타내었다. 각 실험군에 대한 유의성 검정은 분산분석을 한 후 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 추출수율, 총 페놀 화합물 및 플라보노이드의 함량

유자 과피 열수추출물의 제조 수율 및 추출물 중의 총 페놀화합물과 플라보노이드 화합물의 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 추출 수율은 이동산 유자가 11.44%, 설천산이 11.51%였으며 창선산이 12.43%였다. 유자는 항산화성이 우수한 식물로 인정되지만 물추출 수율(7～12%)이 낮아 경제성이 낮다고 보고(Kim MH 등 2001) 된 바 있는데 이는 본 실험의 결과와 유사한 경향이었다.

열수추출물 중 총 페놀화합물의 함량은 설천산이 116.06±0.88 mg/100 g으로 유의적으로 높았으며, 이동산과 창선산이 각각 113.09±0.96 mg/100 g과 112.53± 0.49 mg/100 g으로 정량 되었다. Goinstein S 등(2001)의 연구에서 대표적인 감귤류인 오렌지, 레몬 등의 생 과피에 함유된 총 폴리페놀의 함량은 140～200 mg/100 g정도였으며, Yoo JM 등(2005)의 동결 건조된 유자 과피의 총 폴리페놀 함량이 246.5～294.4 mg/100 g이라는 보고와 비교하면 다소 낮게 정량되었다. 열수추출물의 플라보노이드 함량은 103.21±0.31～106.15±2.86 mg/100 g 범위로 각 시료간에 유의차가 없었다.

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가지며, phenolic hydroxyl가 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하여 항산화 및 항암 등의 다양한 생리활성을 나타낸다(Lee SO 등 2005). 페놀성 물질은 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 식물성 식품에 떫은맛과 쓴맛 등 고유한 맛을 내게 하며, 항암작용, 혈압강화작용, 피임작용, 간 보호 작용, 진정작용 및 항산화작용을 가진 대표적인 물질로 알려져 있다(Giocosa A와 Filiberti R 1996, Kim IW 등 1999).

Table 1. Yields and total phenol and flavonoid contents of hot water extract from yuza peel cultivated in Namhae (mg/100 g)

Cultured area (Myeon)	Yields (%)	Phenol contents	Flavonoid contents
Changseon	12.43	112.53±0.49^{A}	104.29±0.62^{NS}
Seolcheon	11.51	116.06±0.88^{C}	106.15±2.86
Idong	11.44	113.09±0.96^{B}	103.21±0.31

$^{A-C}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.
NS: Not significant

2. 유자 과피 열수추출물 중 hesperidin 및 naringin의 함량

유자 과피 열수추출물 중 hesperidin과 naringin 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. Hesperidin 함량은 40.92±1.51～42.82±0.55 mg/100 g으로 시료간의 유의적인 차이가 없었다. Naringin의 함량은 창선산과 설천산이 각각 23.03±0.40 mg/100 g과 22.81±0.47 mg/100 g으로 20.09±0.50 mg/100 g인 이동산에 비해 유의적으로 높은 함량이었다.

유자 과피의 hesperidin과 naringin의 함량이 각각 84～86 mg/100 g, 73～88 mg/100 g으로 정량되었다는 Yoo KM 등(2005)의 보고와 본 실험의 결과와는 다소 차이가 있었지만 이는 생시료의 추출방법에 따른 수율의 차이로 사료된다.

Hesperidin과 naringin은 감귤류에 가장 많이 존재하는 플라보노이드 화합물(Rlee 등 1979)로서 특히 과육보다 과피에 다량 함유되어 있다고 보고(Eun JB 등 1996) 되어 있으며, 지질과산화물의 형성 억제 및 세포독성을 감소시킴과 동시에 세포증식을 촉진시킨다는 보고도 있다(Sohn JS와 Kim MK 1998, Cha JY 등 2000).

Table 2. Hesperidin and naringin contents of hot water extract from yuza peel cultivated in Namhae (mg/100 g)

Cultured area (Myeon)	Hesperidin	Naringin
Changseon	42.82±0.55^{NS}	23.03±0.40^{B}
Seolcheon	40.92±1.51	22.81±0.47^{B}
Idong	42.11±0.82	20.09±0.50^{A}

$^{A-B}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.
NS: Not significant

3. 유자 과피 열수추출물의 전자공여능

DPPH 라디칼 소거반응을 이용한 항산화능 측정법은 화학적으로 안정화된 자유라디칼을 가지는 DPPH가 전자를 내어주면서 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원되어 자색이 탈색되는 정도를 지표로 하여 항산화능을 측정하는 방법이다(Ding AH 등 1988).

유자 과피 열수추출물을 농도별로 첨가하고 DPPH에 대한 전자공여능을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 유자 추출물의 첨가농도가 증가함에 따라 전자공여능도 증가되었는데, 500 μg/mL 농도에서는 12.61±0.49～16.20±0.69%로 활성이 낮았으나, 5,000 μg/mL 이상 첨가시는 55% 이상으로 활성이 증가하였으며, 10,000 μg/mL 농도에서는 75% 이상으로 활성이 크게 증가하였다. 창선산이 모든 농도에서 가장 활성이 낮아 10,000 μg/mL 농도에서 전자공여활성은 76.48±0.47%였다. 설천산은 저농도와 고농도 모두에서 타 시료에 비하여 유의적으로 활성이 높아 10,000 μg/mL 농도에서는 85.70±0.37%의 활성을 나타내었다.

유자의 DPPH 자유기 소거활성은 과 숙성 유자에서 높으며, 극성 용매 추출물 보다는 비극성 용매 추출물에서 더 높았고 총 페놀 함량이 높을수록 DPPH 자유기 소거활성이 일률적으로 높게 나타나지는 않는다는 Yoo KM 등(2004)의 보고가 있다. 유자를 포함한 감귤류의 항산화 활성은 플라보노이드 화합물에 기인하는 바가 크며, 감귤류 플라보노이드를 분리하여 전자공여능을 측정한 결과 naringin 보다는 hesperidin의 활성이 더 높다는 Cha JY와 Cho YS(2001)의 보고도 있다. 이상의 결과들로 볼 때 유자 추출물의 DPPH 전자공여능은 페놀화합물과 더불어 플라보노이드 화합물에 기인하는 바가 큰 것으로 추정된다. 그러나 본 실험에서 hesperidin과 naringin 함량은 시료간의 유의차가 없었으며, DPPH 자유기 소거능은 총 페놀화합물의 함량과 높은 상관관계를 나타낸다는 보고(Ji EJ 2008)와 유사한 결과로, 설천산의 항산화력은 유의적으로 높게 정량된 총페놀 함량에 의존하는 바가 더 큰 것으로 판단된다.

Table 3. DPPH radical scavenging ability of hot water extract from yuza peel cultivated in Namhae (%)

Culture area (Myeon)	Concentration (μg/mL)				
	500	1000	2500	5000	10000
Changseon	12.61±0.49^{aA}	21.07±0.39^{bA}	39.79±0.11^{cA}	57.51±0.48^{dA}	76.48±0.47^{eA}
Seolcheon	16.20±0.69^{aC}	26.15±1.67^{bB}	46.67±0.94^{cB}	68.29±1.09^{dC}	85.70±0.37^{eC}
Idong	14.02±0.26^{aB}	22.80±0.75^{bA}	40.03±0.12^{cA}	61.52±0.16^{dB}	81.04±2.42^{eB}

$^{a-e}$ Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
$^{A-C}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

Table 4. Reducing power of hot water extract from yuza peel cultivated in Namhae (O.D. value)

Cultured area (Myeon)	Concentration (μg/mL)				
	500	1000	2500	5000	10000
Changseon	0.10±0.002^{aA}	0.15±0.002^{bA}	0.30±0.006^{cC}	0.52±0.007^{dC}	0.70±0.005^{eA}
Seolcheon	0.10±0.009^{aA}	0.17±0.005^{bB}	0.28±0.006^{cB}	0.50±0.004^{dB}	0.82±0.011^{eB}
Idong	0.10±0.00^{aA}	0.15±0.002^{bA}	0.27±0.001^{cA}	0.44±0.004^{dA}	0.67±0.055^{eA}

$^{a-e}$ Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
$^{A-C}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

4. 유자 과피 열수추출물의 환원력

환원력은 연쇄 반응 개시의 방해, 전이 금속물의 결합, 과산화물의 분해, 연속적 수소 제거의 방해, 라디칼 소거능과 같은 항산화 작용의 여러 기작에 효과 있는 것으로 보고되어 있는데(Diplock AT 1997), 유자 과피 열수추출물의 항산화력에 의한 금속이온의 환원력을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 환원력은 시료의 첨가농도가 증가함에 따라 유의적으로 상승하여 500 μg/mL 첨가시에 비하여 5,000 μg/mL 농도에서는 약 4～5배 정도 환원력이 증가하였고 10,000 μg/mL 농도에서는 6～8배 정도 환원력이 증가하여 흡광도 값은 0.67±0.055～0.82±0.011의 범위였다.

이는 Park SK와 Shon MY(2006)의 유자 과피 추출물의 환원력 측정결과에 비해 다소 낮은 경향을 나타냈지만, 추출시 물의 온도 차이에 따라 항산화력을 가진 물질의 추출 수율에 차이가 있다는 결과(Ji EJ 등 2008)에 비추어 볼 때 추출 조건의 차이에 기인하는 것으로 판단된다.

5. 유자 과피 열수추출물의 ABTs radical 소거활성

남해산 유자 과피 열수추출물의 ABTs radical 소거활성은 시료의 첨가농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다(Table 5). 시료 첨가농도 2,500 μg/mL까지는 활성이 50% 미만으로 낮았으나 5,000 μg/mL 이상의 농도에서는 모두 50% 이상의 활성을 나타내었는데, 창선산이 52.85±2.17% 유의적으로 낮았으며, 이동산이 67.59±2.85%로 가장 활성이 높았다. 첨가 농도가 10,000 μg/mL로 증가함에 따라 ABTs radical 소거활성도 증가하였는데 이동산과 설천산이 각각 86.73±1.41%와 84.85±1.35%로 창선산에 비해 유의적으로 높은 활성을 나타냈다.

ABTs radical 소거능은 항산화제의 유무를 확인하는 것으로 radical을 생성하는 ABTs 존재시 hydrogen peroxide와 metmyoglobin의 활성을 토대로 보다 빠른 항산화 반응을 일으켜 myoglobin radical을 감소시키는 기전이라 할 수 있다(Re R 등 1999). ABTs radical 소거능은 전자공여능과 상관관계가 높고 시료 중에 존재하는 폴리페놀과 비타민 C의 함량 외 다른 항산화 물질에 기여한다는 Choi KM 등(2003)의 보고와 유사한 결과였다.

6. 유자 과피 열수추출물의 hydroxyl radical 소거활성

Hydroxyl radical은 활성 산소 radical 중 화학적 반응성이 가장 크며, 지질 산화를 개시하고 DNA 손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있고, 생체의 대사 과정에서 생성되는 지질의 과산화물이나 과산화수소로 부터 Fe^{2+}나 Cu^{2+} 이온의 존재 하에서 생성되며 가장 독성이 강한 free radical(Hochestein P 등 1988, Kim YD 등 2009) 중 하나이다.

유자 과피 열수추출물을 농도별로 첨가하였을 때 hydroxyl radical 소거활성을 평가한 결과는 Table 6과 같다. Hydroxyl radical 소거활성은 전자공여능이나 ABTs radical 소거활성에 비하여 그 활성이 전반적으로 낮아 500 μg/mL 농도에서는 5% 미만으로 활성이 낮았으며 또한, 10,000 μg/mL 농도에서도 40% 미만으로 낮았으나, 이동산이 36.59±0.48%로 활성이 가장 높았으며, 그 외 시료의 hydroxyl radical 소거활성은 30% 미만이었다.

한국 약용식물에 함유되어 있는 총 폴리페놀 함량과 hydroxyl radical소거능, DPPH의 상관관계를 분석한 Kim YC와 Chung SK(2002)는 hydroxyl radical 소거활성이 가

Table 5. ABTs radical scavenging activity of hot water extract from yuza peel cultivated in Namhae (%)

Cultured area (Myeon)	Concentration (μg/mL)				
	500	1000	2500	5000	10000
Changseon	12.65±0.25^{aA}	19.79±0.26^{bA}	34.77±1.29^{cA}	52.85±2.17^{dA}	81.42±1.14^{eA}
Seolcheon	14.64±0.39^{aB}	23.06±1.35^{bB}	51.83±1.99^{cC}	63.30±1.85^{dB}	84.85±1.35^{eB}
Idong	13.74±0.73^{aB}	22.63±0.48^{bB}	44.37±0.92^{cB}	67.59±2.85^{dB}	86.73±1.41^{eB}

$^{a-e}$ Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
$^{A-C}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

Table 6. Hydroxyl radical scavenging ability of hot water extract from yuza peel cultivated in Namhae (%)

Cultured area (Myeon)	Concentration (μg/mL)				
	500	1000	2500	5000	10000
Changseon	3.96±0.48^{aB}	7.98±0.72^{abB}	10.65±0.53^{bA}	19.47±4.67^{cA}	30.28±1.60^{dA}
Seolcheon	2.67±0.54^{aA}	6.02±0.36^{bA}	15.38±2.18^{cB}	27.01±1.38^{dB}	29.81±3.06^{dA}
Idong	3.88±0.59^{aB}	8.52±0.72^{bB}	15.89±1.26^{cB}	20.84±3.00^{dAB}	36.59±0.48^{eB}

$^{a-e}$ Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
$^{A-C}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

장 낮은 상관관계를 나타내었다고 보고하였는데, 본 실험 결과도 총 폴리페놀 함량과 hydroxyl radical 소거능과의 상관관계는 크지 않았다.

7. 유자 과피 열수추출물의 아질산염 소거활성

pH 2.5의 반응계에서 유자 과피 열수추출물의 아질산염 소거활성은 Table 7과 같다. 500~2,500 μg/mL 농도에서 유자 과피의 열수추출물의 아질산염 소거활성은 최고 18% 정도로 낮았으며 비교적 활성이 높은 이동산의 경우 500 μg/mL 농도에서 14.70±1.47%, 2,500과 10,000 μg/mL 농도에서는 각각 18.39±0.86%와 32.39±2.66%의 활성을 나타내었고 가장 활성이 낮은 창선산의 경우 500 μg/mL 농도에서도 아질산염 소거활성은 10% 미만으로 낮았고, 10,000 μg/mL 농도에서는 26.11±1.20%로 약간 증가하였다.

Lee SJ 등(2005b)은 유자 중에 함유된 phenol 화합물, naringin 및 hesperidin 등과 같은 flavonoid 화합물의 공동효과에 의해 아질산염 소거작용이 증가된다고 보고하였고, 또한 솔잎발효 추출물(Hong TG 등 2004)이나 각종 한국산 천연식물류 추출물의 아질산염 소거능을 측정한 결과(Lee SJ 등 2000a) 반응액의 pH가 낮을수록 그 활성은 증가한다고 보고되어 있다.

아질산염은 우리가 흔히 섭취하는 생선이나 육류의 발색, 풍미 증진, 항균 작용 및 산패 방지를 위해 첨가제로 많이 이용되고 있지만, 아질산염을 섭취할 경우 동물이나 인체의 위내에서 아민류와 반응하여 발암물질로 알려진 N-nitrosamine의 생성 가능성은 매우 높다(Greenblatt M 등 1971, Lim JA 등 2007). 따라서 아질산염 소거활성이 있는 유자 과피 열수 추출물의 섭취는 인체내 유해한 물질이라고 할 수 있는 아질산염을 효과적으로 제거할 수 있을 것으로 기대된다.

8. 유자 과피 열수추출물의 nitric oxide 소거활성

Nitric oxide(NO)에 대한 유자 과피 열수추출물의 소거활성은 Table 8과 같다. NO 소거활성은 창선산이 500 μg/mL에서 4.86±1.80% 가장 낮은 활성을 나타내었고, 시료의 농도가 증가함에 따라 NO 소거활성도 증가하여 10,000 μg/mL에서 34.71±2.55%로 약 7.2배 더 높은 활성을 보였다. 설천산과 이동산은 500 μg/mL에서 각각 20.82±1.46%와 23.38±1.77%의 활성을 나타내었으며, 10,000 μg/

Table 7. Nitrite scavenging activity of hot water extract from yuza peel cultivated in Namhae (%)

Cultured area (Myeon)	Concentration (μg/mL)				
	500	1000	2500	5000	10000
Changseon	7.76±1.01^{aA}	10.32±1.04^{bA}	13.03±2.23^{cA}	16.46±1.04^{dA}	26.11±1.20^{eA}
Seolcheon	12.34±0.86^{aB}	15.44±1.37^{bB}	17.06±2.23^{bB}	21.39±2.06^{cB}	30.41±0.93^{dB}
Idong	14.70±1.47^{aC}	15.52±3.78^{aB}	18.39±0.86^{abB}	21.97±1.40^{bB}	32.39±2.66^{cB}

$^{a-e}$ Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
$^{A-C}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

Table 8. Nitric oxide(NO) scavenging activity of hot water extract from yuza peel cultivated in Namhae (%)

Cultured area (Myeon)	Concentration (μg/mL)				
	500	1000	2500	5000	10000
Changseon	4.86±1.80^{aA}	17.83±1.78^{bA}	25.22±1.35^{cA}	30.04±2.10^{dA}	34.71±2.55^{eA}
Seolcheon	20.82±1.46^{aB}	28.88±1.49^{bB}	34.97±1.65^{cB}	37.27±1.24^{cB}	45.42±0.76^{dB}
Idong	23.38±1.77^{aB}	28.64±1.15^{bB}	34.49±2.18^{cB}	35.14±0.67^{cB}	41.53±1.60^{dB}

$^{a-e}$ Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
$^{A-C}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

Table 9. Lipid peroxidation inhibitiory effect in β-carotene-linoleic acid system of hot water extract from yuza peel cultivated in Namhae (%)

Cultured area (Myeon)	Concentration (μg/mL)				
	500	1000	2500	5000	10000
Changseon	13.02±2.80^{aA}	17.38±1.60^{bA}	19.71±2.61^{bA}	29.14±1.82^{cA}	33.30±2.15^{dA}
Seolcheon	24.25±1.79^{aB}	30.07±0.97^{bB}	36.67±2.40^{cB}	38.24±1.44^{cB}	42.22±1.03^{dC}
Idong	10.36±0.00^{aA}	18.33±1.83^{bA}	32.11±3.20^{cB}	36.92±2.00^{dB}	39.14±0.57^{dB}

$^{a-d}$ Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
$^{A-C}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

mL 첨가시에 45.42±0.76%, 41.53±1.60%로 유의적으로 더 높은 활성을 나타내었다.

Kim YD 등(2009)은 수확시기별 감귤 과피의 NO 소거능을 비교한 결과 수확시기별 활성의 변화폭은 크지 않으며 또한 NO 소거능은 총 폴리페놀의 함량과 상관성이 크지 않다고 보고 한 바 있다.

NO는 혈관 확장조절 기능 이외도 면역반응에 중추적인 역할을 하고 세균이나 암세포의 사멸시 중요하게 작용하는 대표적인 독성 radical의 하나로(Taylor EL 등 2003) 대식세포에서 분비되는 대표적인 세포 사멸 유도 독성물질로 알려져 있으며(Maiorana A 등 2003), 과량의 NO 생성은 염증반응을 일으키고, 조직의 파괴 및 면역 체계이상을 일으킨다고 보고되고 있다(Liang YC 등 1999).

9. 유자 과피 열수추출물의 β-carotene-linoleic acid 계에서 항산화능

500～10,000 μg/mL 농도의 유자 과피 열수추출물이 β-carotene-linoleic acid 계에서 항산화능에 미치는 영향을 분석한 결과는 Table 9와 같다. 시료의 첨가 농도가 증가함에 따라 항산화능도 증가하는 경향이었으나 각 농도 증가시마다 유의적으로 증가하지는 않았다. 설천산의 경우 모든 농도에서 가장 활성이 높아 10,000 μg/mL 농도에서는 42.22±1.03%로 유의적으로 활성이 높았다. 이동산은 500 μg/mL에서는 10.36±0.00%로 활성이 비교적 낮았으나 10,000 μg/mL 농도에서는 39.14±0.57%로 3.7배 정도 활성이 증가하였다.

Linoleic acid에 대한 항산화력은 추출물 내에 존재하는 수소 공여체로 작용하는 물질의 양과 상관성이 있다고 보고되어 있는데(Lee SO 등 2005), 유자 과피 열수추출물 중에 존재하는 페놀 화합물을 포함한 각종 수소 공여체가 작용함으로써 β-carotene 존재하의 항산화능 증가에 기여한 것으로 사료된다.

IV. 요 약

남해 지역 유자의 품질 특성에 대한 기초 자료를 확보함과 동시에 재배지역별 유자의 생리활성을 비교하고자 유자 과피의 열수 추출물을 제조하여 주요 생리활성 물질을 정량하고 항산화 활성을 비교분석하였다. 총 페놀화합물의 함량은 설천산이 116.06±0.88 mg/100 g으로 유의적으로 높은 함량이었으며, hesperidin 함량은 40.92±1.51～42.82±0.55 mg/100 g 범위였다. Naringin은 이동산에서 20.09±0.50 mg/100 g으로 유의적으로 낮은 함량이었다. 유자 추출물의 첨가농도가 증가함에 따라 전자공여능도 증가되었는데 설천산은 저농도와 고농도 모두에서 타 시료에 비하여 유의적으로 높아 10,000 μg/mL 농도에서는 85.70±0.37%의 활성을 나타내었다. 환원력도 전자공여능과 유사한 경향이었다. 즉, 500 μg/mL 첨가시에 비하여 10,000 μg/mL 농도에서는 6～8배 정도 환원력이 증가하여 흡광도 값은 0.67±0.055～0.82±0.011의 범위였다. ABTs radical 소거활성은 10,000 μg/mL 농도에서 이동산과 설천산이 각각 86.73±1.41%와 84.85±1.35%로 창선산에 비해 유의적으로 높은 활성을 나타내었다. Hydroxyl radical 소거활성은 10,000 μg/mL 농도에서도 40% 미만으로 비교적 그 활성이 낮았다. 500～2,500 μg/mL 농도에서 유자 과피의 열수추출물의 아질산염 소거활성은 최고 18% 정도였으며, NO 소거활성은 10,000 μg/mL 첨가시 설천산과 이동산에서 각각 45.42±0.76%와 41.53±1.60%로 창선산에 비해 유의적으로 활성이 높았다. β-carotene-linoleic acid 계에서 항산화능은 10,000 μg/mL 농도에서 설천산이 42.22±1.03%로 가장 높은 활성을 나타내었다.

참고문헌

Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci 90(17):7915-7922

Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181(4617):1199-1200

Bok SH, Lee PH, Park YB, Bae KH, Son KH, Jeong TS, Choi MS. 1999. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-metyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA : cholesterol transferase are lower in rat fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. J Nutr 129(6):1182-1185

Byun SH, Lee CH. 1990. Studies on physicochemical properties of erythritol, substitute sugar. J Korean Soc Food Nutr 19(1):13-18

Calabro ML, Galtieri V, Cutroneo P, Tommasini S, Ficarra P, Ficarra R. 2004. Study of the extraction procedure by experimental design and validation of a LC method for determination of flavonoids in citrus bergamia juice J Pharmacol Biomedical Anal 35(2):349-363

Cha JY, Kim HJ, Kim SG, Lee YJ, Jo YS. 2000. Effects of citrus flavonoids on the lipid peroxidation contents. Korean J Post-Harvest Sci Technol 7(2):211-217

Cha JY, Cho YS. 2001. Biofunctional activities of citrus flavonoids. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 44(2):122-128

Choi KM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee SJ. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. J Korean Sci Nutr 32(5):723-727

Davis WB. 1947. Determination of flavanones in citrus fruits. Anal Chem 19(7):476-478

Ding AH, Nathan CF, Stuhr DJ. 1988. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. J Immonol 141(7):2407-2412

Diplock AT. 1997. Will the good fairies please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease. Free Rad Res 27(5):511-532

Eun JB, Jung YM, Woo GJ. 1996. Identification and determination of dietary fibers and flavonoids in pulp and peel of Korean tangerine. Korean J Food Sci Technol 28(2):317-377

Giocosa A, Filiberti R. 1996. Free radicals, oxidative damage and degenerative diseases. Eur J Cancer Prev 5(5):307-312

Goinstein S, Martin-Belloso O, Park YS, Haruenkit R, Lojke A, Ciz M, Caspi A, Libman I, Trakhtenberg S. 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. Food Chem 74(3):309-315

Greenblatt M, Mirvish S, So BT. 1971. Nitrosamine studies: induction of lung adenomas by concurrent administration of sodium nitrite and secondary amines in Swiss mice. J National cancer Institute 46(5):1029-1034

Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. J Am Oil Chem Soc 58(11):966-968

Gutteridge JM. 1984. Reactivity of hydroxy and hydroxylike radicals discriminated by release of thiobarbituric acid reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. J Biochem 224(3):716-767

Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. The Lancet 342(8878):1007-1011

Hochestein P, Atallah AS. 1988. The nature of oxidants and antioxidant systems in the inhibition of mutation and cancer. Mut Res 202(2):363-375

Hong TG, Lee YR, Yim MH, Hyun CN. 2004. Physiological functionality and nitrite scavenging ability of fermentation extracts from pine needles. Korean J Food Preserv 11(1): 94-99

Invergar R, McEvily AJ. 1992. Studies on biological activity from extract of Crataegi fructus. Kor J Herb 17(2):29-38

Jeon TW, Jo CR, Kim KH, Byun MW. 2002. Inhibitory effect on tyrosinase and xanthine oxidase, and nitrite scavenging activities of *Schizandrae fructus* extract by gamma irradiation. Korean J Food Preserv 9(4):369-374

Jeong JW, Kwon DJ, Hwang JB, Jo YJ. 1994. Influence of the extraction method on quality of citron juice. Korean J Food Sci Technol 26(6):704-708

Ji EJ, Yoo KM, Park JB, Hwang IK. 2008. Preparation of citron peel tea containing Yuza (*Citrus Junos* Seib ex TANAKA) and its antioxidant characteristics. Korean J Food Cookery Sci 24(4):460-465

Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric Biol Chem 51(5):1333-1338

Kim DS, Ahn BW, Yeum DM, Lee DW, Kim ST, Park YH. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. Bull Korean Fish Soc 20(5):463-468

Kim IW, Shin DH, Choi U. 1999. Isolation of antioxidative components from the bark of *Rhus verniflua* STOKES screened from some Chinese medicinal plants. Korean J Food Sci Technol 31(3):855-863

Kim MH, Kim MC, Park JS, Kim JW, Lee JO. 2001. The antioxidant effects of the water-soluble extracts of plants used as tea materials. Korean J Food Sci Technol 33(1):12-18

Kim YC, Chung SK. 2002. Reactive oxygen radical species scavenging effects of Korean medicinal plant leaves. Food Sci Biotechnol 11(4):407-411

Kim YD, Mahinda S, Koh KS, Jeon YJ, Kim SH. 2009. Reactive oxygen species scavenging activity of Jeju native citrus peel during maturation. J Korean Soc Food Sci Nutr 38(4):462-469

Kwon MC, Qadir SA, Kim HS, Ahn JH, Cho NH, Lee HY. 2003. UV Protection and whitening effects of collagen isolated from outer layer of the squid Todarodes pacificus. J Kor Fish Soc 41(1):7-12

Lee KW, Lee HJ, Kang KS, Lee CY. 2002. Preventive effects of vitamin C on carcinogenesis. Lancet 359(9301):172-176

Lee SJ, Chung MJ, Shin JH, Sung NJ. 2000a. Effect of natural plant components on the nitrate-scavenig. J Food Hyg Safety 15(2):88-94

Lee SJ, Choi SY, Shin JH, Seo JK, Lim HC, Sung NJ. 2005b. The electron donating ability, nitrite scavenging ability and NDMA formation effect of solvent extracts from Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA). J FD Hyg Safety 20(4): 237-243

Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. Korean

J Food Sci Technol 37(2):233-240

Lee YC, Kim IH, Park MH, Kim HK, Chung JW. 1994. The Chemical components of citron extract. Korean J Food Sci Technol 26(5):552-556

Liang YC, Husang YT, Tsai SH, Lin-Shiau SY, Chen CF, Lin JK. 1999. Suppression of inducible cyclooxygenease and inducible nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse marcorphages. Carcinigenesis 20(10): 1945-1952

Lim JA, Yun BW, Beak SH. 2007. Antioxidative Activity and Nitrite Scavenging Ability of Methanol Extract from *Salvia plebela* R. Br. Koren J Med Crop Sci 15(3):183-188

Mariorana A, O'Driscoll G, Taylor R, Green D. 2003. Exercise and the nitric oxide vasodilator system. Sport Med 33(14): 1031-1035

Miller HE. 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *J AOCS* 18, 48(2):439-452

Ministry of Agriculture and Forestry. 2007. Guide & directory for Agro-Food export in Korean. Korea Agro-Fisheries Trade Corporation. pp 408-418

Moreno MI, Min AR, Sampietro MA, Vattuone. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. J Enthropharmacology 71(1):109-114

Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese J Nutr 44(1):307-315

Park SK, Shon MY. 2006. Synergistic effect of Yuza(*Citrus junos*) extracts and ascorbic acid on antiproliferation of Human Cancer cell and antioxidant activity. Korean J Food Preserv 13(5):649-654

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice EC. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine 26(5):1231-1237

Rlee CO, Shin DH, Sun BK. 1979. Studies on the processing quality of Korean citrus Fruits. J Korean Agri Chem Soc 22(1):28-32

Sen MP, Seamen S. 1981. An investigation into the possible presence of volatile N-nitrosamines in cooking oils, margarine, and butter. J Agric Food Chem 29(4):787-789

Shin JH, Lee JY, Choi SY, Lee SJ, Jung KH, Sung NJ. 2004. Screening of effective factor to inhibition of NDMA formation in yuza. J Fd Hyg Safety 19(3):126-131

Sohn JS, Kim MK. 1998. Effect of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. Korean J Nutr Soc 31(4): 687-696

Song HS, Moon KY. 2006. In vitro antioxidant activity profiles of β-glucans isolated from yeast *Saccharomyces cerevisiae* and Mutant *Saccharomyces cerevisiae* IS2. Food Sci Biotechnol 15(3):437-440

Taylor EL, Megson IL, Haslett C, Rossi AG. 2003. Nitric oxide: a key regulator of myeloid inflamatory cell apoptosis cell. Death Differ 10(4):418-430

Vinson JA, Su X, Zubik BP. 2001. Phenol antioxidant quantity and quality in food : Fruits. J Agri Food Chem 49(11): 5315-5321

Wang H, Cao G, Prior RL. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. J Agric Food Chem 44(3):701-705

Willet CW. 1994. Diet and Health : What Should we eat? Science 264(5158):532-537

Yoo KM, Hwang IK. 2004a. In vitro effect of yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) extracts on proliferation of human prostate cancer cells and antioxidant activity. Korean J Food Sci Technol 36(2):339-344

Yoo KM, Park JB, Seoung KS, Kim DY, Hwang IK. 2005b. Antioxidant activities and anticancer effects of Yuza (*Cirtus Junos*). Food Science and Industry 38(4):72-77

Yoo JM, Park JB, Seoung KS, Kim DY, Hwang IK. 2005. Antioxidant activities and anticancer effect of YUZA. Food Science and Industry 38(4):72-77

2010년 1월 25일 접수; 2010년 2월 7일 심사(수정); 2010년 2월 7일 채택