생약 학회지 Kor. J. Pharmacogn. 46(1): 23 ~ 30 (2015)

진피의 수치 조건에 따른 성분 및 항산화 활성 변화

차배천*

상지대학교 보건과학대학 제약공학과

Changes in the Constituents and Antioxidant Activity in Accordance with the Processing Conditions of *Citrus unshiu* Markovich

Bae Cheon Cha*

Department of Pharmaceutical Engineering, College of Health Sciences, Sangji University, Wonju, 220-702, Korea

Abstract – Processing of medicinal plants is one of the processing methods for reducing of toxicity or improving of effect on medicinal plants. In this study, we studied the changes in the constituents and antioxidant activity in accordance with the processing conditions by the salt water of *Citrus unshiu* Markovich. Changes in antioxidant activity was measured by the DPPH method and changes in the components were analyzed by high performance liquid chromatography. As a result, the content of the main constituents (narirutin, hesperidin) and total polyphenol were increased by increasing the concentration of salt water. Moreover, antioxidant activity was increased gradually in proportion to the increase of the total polyphenol content.

Key words - Citrus unshiu Markovich, Processing, Antioxidant activity, Constituents, High performance liquid chromatography

한약과 생약은 천연물질로부터 얻어지기 때문에 그대로 사용하기 보다는 이용에 필요한 형태로 가공을 거치게 되 는데, 이러한 공정을 수치 또는 포제라 한다. 수치는 한약 재를 한의학의 이론에 근거하여 가공 처리하여 부작용이나 독성의 경감, 악성의 완화, 효능의 변화 및 보관 저장에 용 이하도록 변형시키는 약물 제조 기술로 오늘날에도 임상에 서 활용되는 전통적인 방법이다. 불을 이용하거나 물과 불 을 같이 사용하여 증기로 찌거나 또는 꿀, 식초, 소금, 쌀뜨 물 등을 이용하여 약재를 가공한다. 1,2) 그 중 약물배합의 의 의를 가진 법제 중 염제(鹽製)법은 소금을 이용하여 수치를 하는 방법으로, 염제를 하면 肝(간)으로 들어가게 되고 단 단한 것을 부드럽게 하고 화를 누르는 효능이 있다고 한 다.³⁾ 수치에 관한 연구로는 부자와 같이 독성이 강한 한약 재의 수치에 의한 독성의 경감. 4,5) 지황의 수치에 의한 약 성의 변화,^{6,7)} 감초의 새로운 약리효과⁸⁾ 및 치차의 수치에 의한 성분변화 및 생리활성⁹⁾에 관한 연구 결과가 보고되어 져 있다.

진피(Citrus unshiu Markovich)는 귤나무 또는 기타 동속 근연식물(산초과 Rutaceae)의 성숙한 과피이다. 중국에서는 C. reticulata Blanco의 과피를 쓰며, 건조한 것을 정량할 때 hesperidin을 4.0% 이상을 함유하고 성상으로서는 형태가 일정하지 않은 껍질로 두께는 약 2 mm이다. 바깥 면은 황적색에서 어두운 황갈색이고 유실에 의한 작은 오목한 자국이 많으며, 안쪽은 백색에서 엷은 회갈색이다. 껍질은 가볍고 부스러지기 쉬우며 특이한 냄새가 있고 맛은 쓰면서 약간의 자극성이 있다. 잘 마르고 바깥 면이 황적색이며 방향이 강하고 오래 묵은 것이 좋다고 알려져 있다. 100 이러한 감귤류는 polyphenol류, vitamin류, lemonoid류, synepheine 등의 다양한 화합물을 함유하고 있으며, rutin 및 deosmine 등의 일반적인 flavonoid류, kesperidin, naringin 등 citrus 과일 특유의 flavonoid류, 또한 채소나 과일에서 보고되지 않는 감귤류 고유의 tangeretin, nobietin 등의 flavonoid류가 함유되어 있다. 11-14)

본 연구는 여러 가지 다양한 수치법 가운데에서 염제법으로 가공처리 한 진피에 대하여 수치 전, 후의 성분 변화 및 항산화 활성 변화를 high performance liquid chromatography (HPLC) 분석과 DPPH법을 이용하여 비교하였기에 이를 보고하고자 한다.

*교신저자(E-mail): bccha@sangji.ac.kr (Tel): +82-33-730-0554

재료 및 방법

실험 재료 - 본 실험에 사용한 진피는 제주도 서귀포산 올레감귤을 구입한 후 상지대학교 한의과대학 김명동교수가 감정한 생귤 껍질인 생진피와 생귤 껍질을 상온에서 건조시킨 건진피를 수치화하지 않은 미처리 시료와 전라남도신안군산 100% 천일염으로 제조한 3%, 6% 농도의 소금 용액에서 12 시간과 24 시간에서 염 처리한 후 가열 건조하여 수치화시킨 진피를 실험 시료 사용하였고, 표본은 상지대학교 제약공학과 의약화학 실험실에 보관 중이다.

기기 및 시약 - 실험에 사용된 high performance liquid chromatography는 Varian Prostar Workstation System(USA)을 사용하였으며, column은 Shiseido(Japan)사의 Capcell Pak C₁₈(4.6×150 mm, 5 μm, UG 80)을 사용하였다. 표준품인 narirutin, naringin, hesperidin, naringenin과 hesperetin은 Sigma(USA)사 제품을 사용하였다. High performance liquid chromatography 용매인 acetonitrile과 methanol은 high performance liquid chromatography용인 J. T. Baker사 제품을 사용하였고, 증류수는 3차 증류수를 여과하여 사용하였으며, 그 외에 시료 추출을 위한 용매는 특급 시약을 사용하였다.

High Performance Liquid Chromatography 분석을 위한 표준액의 제조 – 각각의 표준품을 methanol이나 50% methanol에 녹여 농도를 0.5 mg/mL로 만들었다. 이 용액을 단계적으로 희석하여 농도가 각각 5, 10, 20, 50, 100 μg/mL가 되도록 시료를 만들고, 15초 간 vortexing한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 사용하였다.

진피 물 추출물의 검액 제조 – 진피 또는 염 처리한 진 피 5 g을 각각 추출 용기에 넣고 물 100 mL를 첨가하고 수 욕 상에서 3시간 3회 환류 추출 한 후, 여과하여 여액을 농축하여 물 추출물 1.25-3.02 g을 얻었다. 검체는 각각의 물추출물 10 mg을 50% methanol 1 mL로 녹이고, 15초 간 vortexing 한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 검액으로 하였다.

진피 Methanol 추출물의 검액 제조 – 진피 또는 염 처리한 진피 5 g을 각각 추출 용기에 넣고 methanol 100 mL를 첨가하고 수욕 상에서 3시간 3회 환류 추출 한 후, 여과하여 여액을 농축하여 methanol 추출물 1.02-2.63 g을 얻었다. 검체는 각각의 methanol 추출물 10 mg을 methanol 1 mL로 녹이고, 15초 간 vortexing 한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 검액으로 하였다.

진피의 High Performance Liquid Chromatography 분석 조건 – 진피는 지표물질을 narirutin, naringin, hesperidin, naringenin과 hesperetin로 선정¹⁵⁾하여 Wang 등¹⁶⁾과 Inoue 등¹⁷⁾의 high performance liquid chromatography 분석 방법을 기초로 하여 분석 조건을 검토하였다. 칼럼은 Capcell

Pak $C_{18}(4.6\times250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}, \text{Shiseido})$ 을 사용하였고, 칼럼 온도는 40°C , 검출기는 UV 285 nm, 이동상으로는 3차 증류수와 acetonitrile을 사용하여 gradient profile로 실시하였고, 유속은 1 mL/min을 사용하여 실험하였다.

직선성(Linearity) - 각 표준액에 대하여 확립된 high performance liquid chromatography 조건에 의하여 5개의 농도(5, 10, 20, 50, $100 \mu g/mL$)별로 피크 면적비를 구하여 표준품 농도(X축)와 피크 면적비(Y축)에 대한 검량선을 작성하였고, 검량선으로부터 직선성의 상관계수를 구하여 확인하였다.

Gradient profile	Time Flow (min) (mL/min)	Flow	Mobile phase		
		A (Water)	B (Acetonitrile)		
	0:00	1.0	90	10	
	25:00	1.0	80	20	
	35:00	1.0	70	30	
	45:00	1.0	75	25	
	55:00	1.0	80	20	
	60:00	1.0	90	10	

진피와 수치한 진피에 함유된 지표 성분의 함량 - 진피와 수치한 진피에 대하여 확립된 high performance liquid chromatography 조건에 의해 표준액 및 검액을 각각 3회씩 분석 한 후, 검량선에 대비하여 각각의 함량을 산출하였다.

총 폴리페놀 함량의 측정 - 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis의 방법¹⁸⁾에 의해 다음과 같이 측정하였다. Blank 및 gallic acid를 methanol로 희석하여 0, 50, 100, 250, 500 ppm 의 농도로 제조하여 700 nm에서 흡광도를 측정하여 검량 선을 작성하였다. 각 추출물 10 mg을 methanol 1 mL를 가하여 녹인 다음 0.2 N Folin-Ciocalteu 시약 0.5 mL를 가한 후 실온에서 3분간 반응시킨 다음 10% Na₂CO₃ 0.5 mL를 가하고 증류수 1 mL를 넣은 후 실온에서 1시간 동안 반응시킨다. 이어서 1시간 후 700 nm에서의 흡광도를 측정하여 검량선 대비 총 폴리페놀 함량을 계산하였다.

DPPH 라디칼 소거작용의 측정 - Uchiyama 등¹⁹⁾의 방법을 약간 변형시킨 Choi 등²⁰⁾과 Yoshikawa 등²¹⁾의 방법에 의해 다음과 같이 측정하였다. 0.1 M의 초산 완충액(pH 5.5, 2.0 mL)에 진피 및 수치 한 진피의 물, methanol 추출물들의 용액(2.0 mL) 및 2×10⁴ M DPPH EtOH 용액(1.0 mL)을 가하여 전량을 5 mL로 하고 실온에 방치한 후, 30분 후517 nm에서의 흡광도 감소를 3회 반복하여 측정하였다. 시료 무첨가의 control의 흡광도를 1/2로 감소시키는데 필요한시료의 양(mg)을 tocopherol 및 BHA와 같은 기존의 항산화제를 대조군으로 하여 시험하였다.

통계분석 - 모든 분석은 3회 반복 측정하였으며, 측정값은 평균±표준편차로 나타내었다. 통계분석은 PASW Statistics 18(IBM SPSS Statistics, IBM Co., NY, USA)을 이용하여분산 분석한 후 Duncan의 다중검정을 실시하여 상관관계를분석하였다.

결과 및 고찰

진피의 수치 전후에 따른 추출물의 수득량 - 제주산 올레 감귤로부터 얻어진 생진피와 생진피를 상온에서 건조시킨 건진피를 수치화 시키지 않은 것과 3%, 6%의 소금용액으로 12 시간, 24 시간 씩 수치화한 진피를 물과 methanol로 각각 추출하여 농축한 추출물의 수득량의 결과를 Table I에 나타내었다. Table I에서와 같이 수치화 하지 않은 시료의 추출물의 양은 1.02-1.78 g이고, 6% 소금용액으로 24시간 처리한 진피의 추출물의 양은 1.18-3.02 g으로서 단단한 것을 부드럽게 하는 소금의 특징³⁾을 이용한 수치에 의해 추출용매의 세포벽내로의 침투력의 증가에 따라 진피 성분들의 추출 효율이 증가한 것으로 사료되며, 천일염의 농도와

시간의 증가에 따라 추출량이 증가하였다.

진피의 지표성분 분석 – 확립된 high performance liquid chromatography 분석 방법을 사용하여 지표성분들의 혼합 물과 methanol 및 물 추출물의 high performance liquid chromatography의 chromatogram 결과를 Fig. 1(Methanol ext.)과 Fig. 2(H₂O ext.)에 나타내었다. Fig. 1의 결과로 보 았을 때 지표성분인 (A)차트에서의 26분대의 1번인 narirutin 과 29분대의 3번인 hesperidin이 methanol ext.의 (B)와 (C) 에서 검출된 것과 같은 시간대에 나타남으로 진피에 다량 으로 함유되어진 주요성분은 narirutin과 hesperidin임을 알 수 있었고, 이는 Yang 등²²⁾ 이 보고한 결과와 일치하였다. 그리고 피크면적 값에 약간의 차이를 보임으로서 수치화 하 지 않은 (B)보다 수치화한 (C)에서 주요성분 함량이 증가되 는 것으로 추정할 수 있었으며, 이는 수치화가 진피의 주요 성분 함량 변화에 영향을 미친다고 생각되었다. 아울러 Fig. 2의 결과도 Fig. 1과 마찬가지로 narirutin과 hesperidin이 검 출되었으며, 피크의 면적 값이 Fig. 1보다 작은 것으로 보아 methanol로 얻은 추출물에 narirutin과 hesperidin이 더 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

Table I. The content of H₂O and methanol extracts obtained from various Citrus unshiu Markovich

Condition ^{a)}		Extract solvent	Sample(g)	Extract(g)
	Raw(1)	H_2O	5.0	1.78
No processing	Kaw(1)	MeOH	5.0	1.44
No processing	Dry(2)	H_2O	5.0	1.25
		MeOH	5.0	1.02
	Raw(3)	H_2O	5.0	2.17
3% NaCl solution		MeOH	5.0	1.83
12 hour	Dry(4)	H ₂ O	5.0	1.57
		MeOH	5.0	1.05
	Raw(5)	H ₂ O	5.0	2.93
3% NaCl solution		MeOH	5.0	2.11
24 hour	Dry(6)	H ₂ O	5.0	1.68
		MeOH	5.0	1.10
	Raw(7)	H ₂ O	5.0	2.99
6% NaCl solution		MeOH	5.0	2.56
12 hour	Dry(8)	H ₂ O	5.0	1.79
		MeOH	5.0	1.16
	ur	H ₂ O	5.0	3.02
6% NaCl solution		MeOH	5.0	2.63
24 hour		H ₂ O	5.0	1.85
	Dry(10)	MeOH	5.0	1.18

^{a)}Processing samples were dried by frying pan after treatment for 12 or 24 hours with 3 or 6% NaCl solution.

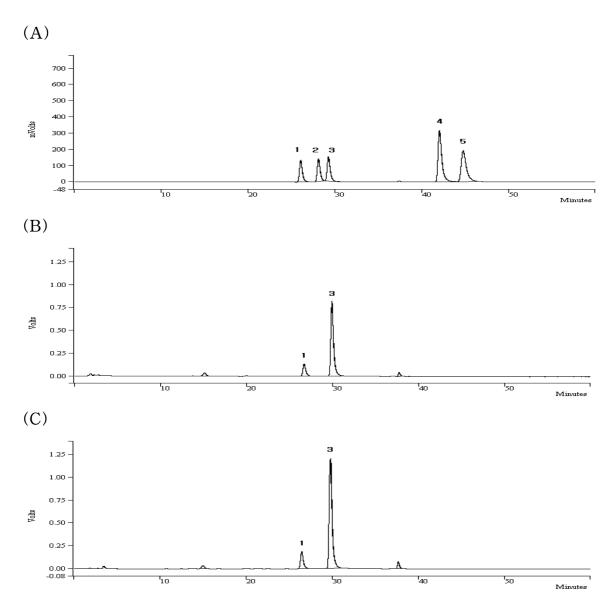


Fig. 1. High performance liquid chromatography chromatogram of the standard mixture(A), methanol extract-2(B) and methanol extract-10(C) obtained from *Citrus unshiu* Markovich at 285 nm. (1) narirutin; (2) naringin; (3) hesperidin; (4) naringenin; (5) hesperetin.

지표성분의 직선성 검토 - 각 표준액에 대하여 5개의 농도(5, 10, 20, 50, 100 μg/mL)로 검량선을 작성한 후 검량선으로부터 구한 직선성의 상관계수를 Table II에 나타내었다. 상관계수 값이 모두 0.998 이상으로서 직선성이 인정되었다.

진피와 수치한 진피에 함유된 지표성분의 함량변화 — Table II에 제시한 검량선을 사용하여 진피와 수치한 진피의 methanol과 물 추출물에 함유된 주요성분의 함량을 각각 산출하여 Table III에 나타내었다. Table III에서와 같이 생진 피의 수치 전의 물 추출물의 narirutin 6.72 mg/g, hesperidin 12.47 mg/g이고, methanol 추출물의 narirutin 12.52 mg/g, hesperidin 51.06 mg/g인데 비해 건진피의 수치 전의 물 추출물의 narirutin 5.18 mg/g, hesperidin 10.64 mg/g이고,

methanol 추출물의 narirutin 10.52 mg/g, hesperidin 41.21 mg/g이었고, 3% 소금물로 12시간 수치한 생진피의 물 추출물의 narirutin 7.59 mg/g, hesperidin 18.59 mg/g이고, methanol 추출물의 narirutin 13.81 mg/g, hesperidin 55.32 mg/g인데비해 건진피를 3% 소금물로 12시간 수치 후의 물 추출물의 narirutin 5.90 mg/g, hesperidin 17.11 mg/g이고, methanol추출물의 narirutin 12.35 mg/g, hesperidin 51.15 mg/g을 함유하고 있으므로, 생진피가 건진피에 비하여 수치 전과 후모두에서 주요성분의 함량이 높은 것으로 확인되어짐에 따라 주요성분을 다량으로 얻기 위해서는 진피를 건조 전에추출하는 것이 바람직할 것으로 사료된다. 이는 진피의 저장 기간이 길어질수록 hesperidin의 함량이 감소한다고 보

Vol. 46, No. 1, 2015

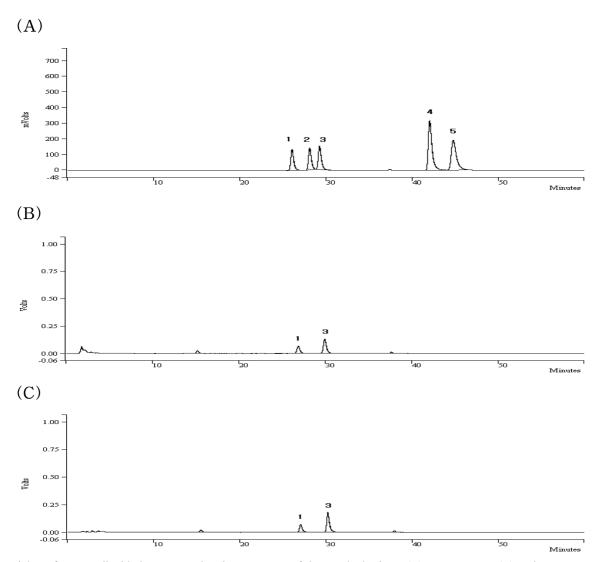


Fig. 2. High performance liquid chromatography chromatogram of the standard mixture(A), H₂O extract-2(B) and H₂O extract-10(C) obtained from *Citrus unshiu* Markovich at 285 nm. (1) narirutin; (2) naringin; (3) hesperidin; (4) naringenin; (5) hesperetin.

Table II. Calibration curve equations and R² values of narirutin, naringin, hesperidin, naringenin and hesperetin standard

Sample	Equation	R^2
Narirutin	y=6345.4x-18820	0.9988
Naringin	y=6531.2x-12396	0.9998
Hesperidin	y=7321.4x-12527	0.9999
Naringenin	y=19193x+71811	0.9998
Hesperetin	y=15835x+40280	0.9999

고한 Shin²³⁾의 결과와 유사한 결과를 보였다. 또한 methanol 로 추출하는 경우가 물로 추출한 경우 보다 주요성분의 함량이 상대적으로 높게 나타남에 따라 물 추출 보다는 methanol로 추출하는 것이 narirutin과 같은 flavonoid 계열

의 배당체 화합물들의 추출 수율을 향상시킬 수 하나의 방법이 될 수 있음을 제시하고 있는데, 이는 Chang 등²⁴⁾의 한국산 감귤 과피의 효율적 이용에 관한 연구에서 물 추출 시hesperidin 함량이 5.07%라고 보고한 것을 고려할 때 개체의 차이에 따른 함량 차이는 존재하겠지만 flavonoid 배당체의 효율적 추출을 위해서는 물보다는 유기용매 또는 물과 유기용매의 혼합 용매를 이용하는 것이 보다 유용하리라고 판단되어졌다.

생진피의 수치 전의 물 추출물의 narirutin 6.72 mg/g, hesperidin 12.47 mg/g에서 6% 소금물로 24시간 수치한 생진피의 물 추출물의 narirutin 12.11 mg/g, hesperidin 23.42 mg/g로 증가하였고, 건진피의 수치 전의 물 추출물의 narirutin 5.18 mg/g, hesperidin이 10.64 mg/g에서 6% 소금물로 24시간 수치한 건진피의 물 추출물의 narirutin 8.65 mg/

Table III. The content of narirutin, naringin, hesperidin, naringenin and hesperetin on H₂O and methanol extracts obtained from *Citrus unshiu* Markovich by various processing conditions

	Sample	Narirutin (mg/g)	Naringin (mg/g)	Hesperidin (mg/g)	Naringenin (mg/g)	Hesperetin (mg/g)
	H ₂ O-1	6.72±0.03 ^a	N.D.	12.47±0.09 ^a	N.D.	N.D.
	H ₂ O-3	7.59 ± 0.05^{b}	N.D.	18.95 ± 0.06^{b}	N.D.	N.D.
	H ₂ O-5	8.44 ± 0.04^{c}	N.D.	20.68 ± 0.16^{c}	N.D.	N.D.
	H ₂ O-7	9.62 ± 0.07^{d}	N.D.	22.46 ± 0.10^{d}	N.D.	N.D.
D	H ₂ O-9	12.11 ± 0.07^{e}	N.D.	23.43 ± 0.09^{e}	N.D.	N.D.
Raw	MeOH-1	12.52±0.15 ^a	N.D.	51.06±0.12 ^a	N.D.	N.D.
	MeOH-3	13.81 ± 0.13^{b}	N.D.	55.32 ± 0.16^{b}	N.D.	N.D.
	MeOH-5	14.85 ± 0.14^{c}	N.D.	57.75±0.13°	N.D.	N.D.
	MeOH-7	17.66 ± 0.16^d	N.D.	67.77 ± 0.18^{d}	N.D.	N.D.
	MeOH-9	18.42 ± 0.13^{e}	N.D.	70.55 ± 0.13^{e}	N.D.	N.D.
	H ₂ O-2	5.18±0.04 ^a	N.D.	10.64±0.07 ^a	N.D.	N.D.
	H ₂ O-4	5.90 ± 0.06^{b}	N.D.	17.11 ± 0.16^{b}	N.D.	N.D.
	H ₂ O-6	6.29 ± 0.08^{c}	N.D.	20.19 ± 0.18^{c}	N.D.	N.D.
	H ₂ O-8	8.08 ± 0.04^d	N.D.	22.40 ± 0.14^{d}	N.D.	N.D.
D	H ₂ O-10	8.65 ± 0.08^{e}	N.D.	23.34 ± 0.14^{e}	N.D.	N.D.
Dry –	MeOH-2	10.52±0.19 ^a	N.D.	41.21±0.16 ^a	N.D.	N.D.
	MeOH-4	12.35 ± 0.15^{b}	N.D.	51.15 ± 0.17^{b}	N.D.	N.D.
	MeOH-6	12.87 ± 0.08^{c}	N.D.	60.54 ± 0.12^{c}	N.D.	N.D.
	MeOH-8	14.27 ± 0.15^d	N.D.	66.48 ± 0.15^{d}	N.D.	N.D.
	MeOH-10	14.28 ± 0.13^d	N.D.	68.30 ± 0.13^{e}	N.D.	N.D.

Each value represents the mean \pm S.D. of three experiments. ^{a-e}Means with the different letters are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test. N.D. is not detected.

g, hesperidin 23.34 mg/g로 증가하는 결과를 나타내었고, 나 머지 진피들도 모두 유사한 결과를 보임에 따라 생진피와 건진피 모두 소금물의 농도와 수치 시간이 증가할수록 주 요성분의 함량이 유의성 있게 증가하였음을 확인할 수 있었다.

진피와 수치한 진피의 총 폴리페놀 함량 변화 - 진피의수치 전, 후에 따른 시료의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과를 Table IV에 나타내었다. 총 폴리페놀 함량은 물 추출물이 5.83-28.3 mg/g의 총 폴리페놀 함량의 분포로 1.13-6.53 mg/g의 methanol 추출물보다 높은 총 폴리페놀 함량을보였다. 그리고 1.17-28.33 mg/g의 함량 분포인 생진피가 1.13-10.53 mg/g의 건진피 보다 총 폴리페놀 함량이 높게 나타났다. 또한 생진피의 물 추출물의 총 폴리페놀 함량이 수치 전 12.50 mg/g에서 3% 12시간에는 19.05 mg/g, 3% 24시간에는 21.18 mg/g, 6% 12시간에는 24.25 mg/g 그리고 6% 24시간 수치한 후에는 28.32 mg/g을 나타내는 등 소금용액에 의한 수치에 의해 진피들의 총 폴리페놀 함량이 전반적으로 증가하는 경향을 보였다.

진피와 수치한 진피의 DPPH 라디칼 소거작용 변화 -수 치에 따른 진피 시료들의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과를 Table V에 나타내었다. 항산화 활성은 대조군인 BHA 와 토코페롤보다는 효과가 약했으나, 물 추출물이 0.088-0.062 mg/g 분포의 50% 억제 농도를 보이고, methanol 추 출물은 0.098-0.073 mg/g의 50% 억제 농도를 보임에 따라 물 추출물이 methanol 추출물보다는 약간 강한 항산화 활 성을 나타내었다. 또한 생진피의 물 추출물의 수치 전의 50% 억제 농도가 0.068 mg/g에서 3% 12시간에는 0.068 mg/g, 3% 24시간에는 0.066 mg/g, 6% 12시간에는 0.064 mg/g 그 리고 6% 24시간 수치한 후에는 0.062 mg/g의 50% 억제 농 도를 보이는 등 수치에 따른 소금물의 농도와 시간의 증가 에 따라 항산화 활성이 조금씩 상승하는 결과를 나타내었 다. 결국 진피의 수치 전, 후에 따른 항산화 활성의 변화는 진피의 주요성분인 narirutin과 hesperidin의 함량 증가와는 관계없이 추출물에 있어서 보다 총 폴리페놀의 함량이 높 았던 추출물과 수치에 따라 총 폴리페놀 함량이 소량씩 증

Vol. 46, No. 1, 2015

Table IV. The content of total phenolic compounds on H₂O and methanol extracts obtained from *Citrus unshiu* Markovich by various processing conditions

	Sample	Total phenol(mg/g)		
	H ₂ O-1	12.50±3.00 ^a		
	H ₂ O-3	19.05 ± 1.16^{b}		
	H_2O-5	21.18 ± 3.96^{bc}		
	H ₂ O-7	24.25 ± 2.55^{cd}		
Raw	H ₂ O-9	28.32 ± 1.44^{d}		
Raw	MeOH-1	1.71±0.27 ^a		
	MeOH-3	3.80 ± 1.22^{b}		
	MeOH-5	5.27 ± 1.34^{bc}		
	MeOH-7	6.26 ± 0.24^{c}		
	MeOH-9	6.53 ± 0.64^{c}		
	H ₂ O-2	5.83±2.27 ^a		
	H_2O-4	5.93 ± 1.24^{a}		
	H ₂ O-6	8.45 ± 1.16^{ab}		
	H ₂ O-8	9.63 ± 1.23^{b}		
Derv	H ₂ O-10	10.53 ± 2.32^{b}		
Dry	MeOH-2	1.13±0.81 ^a		
	MeOH-4	3.83 ± 0.36^{b}		
	MeOH-6	4.15 ± 0.70^{b}		
	MeOH-8	4.37 ± 0.09^{b}		
	MeOH-10	5.23 ± 0.62^{c}		

Each value represents the mean±S.D. of three experiments. a-dMeans with the different letters are significantly different(*p*< 0.05) by Duncan's multiple range test.

가한 진피에서 총 폴리페놀의 함량에 비례하여 항산화 활성이 소폭씩 상승함을 알 수 있었다. 이는 항산화 활성과 총 폴리페놀 함량 간에 강한 상관관계(상관계수 $R^2=0.90$)를 가 진다는 논문 25 과 유사한 결과이다.

결 론

본 연구는 수치에 따른 성분과 활성의 변화에 대한 비교 연구의 하나로 제주산 올레감귤의 생진피 및 건진피를 3% 와 6%의 소금물로 12 시간 및 24 시간 수치화한 후 물과 methanol로 추출한 진피 추출물에 대하여 주요성분의 함량, 총 폴리페놀 함량 및 항산화 활성 변화를 비교 분석하였다.

진피의 추출량은 수치 한 시료가 전반적으로 수치하지 않은 원시료 보다 높은 추출량을 보여주었으며, 고농도인 6%의 농도에서 24시간을 처리한 진피의 추출량이 가장 높았다. 이에 염처리의 수치화에 있어서 가장 적합한 소금물의 농도와 처리시간의 보완 연구가 필요한 것으로 사료되었다.

진피의 주요성분의 함량 분석 결과 진피의 주요성분은

Table V. Radical scavenging activity of H₂O and methanol extracts obtained from *Citrus unshiu* Markovich by various processing conditions

processing con	aitions			
\$	Sample	50% Reduction(mg) ¹⁾		
	H ₂ O-1	0.068 ± 0.003^{b}		
	H ₂ O-3	0.068 ± 0.008^{b}		
	H_2O-5	0.066 ± 0.004^{b}		
	H ₂ O-7	0.064 ± 0.007^{b}		
Raw	H ₂ O-9	0.062 ± 0.004^{b}		
Kaw	MeOH-1	0.097±0.010°		
	MeOH-3	0.094 ± 0.003^{cd}		
	MeOH-5	0.090 ± 0.003^{d}		
	MeOH-7	0.084 ± 0.007^{d}		
	MeOH-9	0.073 ± 0.008^{b}		
	H ₂ O-2	0.088 ± 0.006^{c}		
	H ₂ O-4	0.088 ± 0.004^{c}		
	H ₂ O-6	0.073 ± 0.003^{c}		
	H ₂ O-8	0.072 ± 0.002^{b}		
Dry	H ₂ O-10	0.069 ± 0.004^{c}		
Dly	MeOH-2	0.098 ± 0.007^{b}		
	MeOH-4	0.094 ± 0.007^{b}		
	MeOH-6	0.091 ± 0.003^{b}		
	MeOH-8	0.091 ± 0.007^{b}		
	MeOH-10	0.090 ± 0.004^{b}		
α-Tocopherol	0.0	0.021 ± 0.002^{a}		
BHA	0.0	0.015 ± 0.001^{a}		
	_			

Each value represents the mean \pm S.D. of three experiments. ^{a-d}Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test. ¹⁾Amount required for 50% reduction of DPPH(2×10⁻⁷ mM, 0.079 mg/L) solution.

narirutin과 hesperidin으로 판명되었고, 생진피가 건진피 보다 그리고 methanol이 물로 추출할 때 보다 주요성분의 함량이 높았으며, 소금물의 농도와 처리 시간이 증가할수록 주요성분의 함량이 증가하는 것으로 확인되었다.

진피의 총 폴리페놀 함량은 methanol 추출물 보다 물 추출물이, 그리고 건진피 보다 생진피에서 높은 함량 분포를 나타내었으며, 수치화에 의해 총 폴리페놀의 함량이 전반적으로 증가하는 경향을 보였다.

진피의 DPPH radical 소거 활성은 진피 주요성분의 함량 증가와 관계없이 총 폴리페놀 함량 증가에 비례한 항산화 활성을 보였다.

이상의 실험 결과를 종합하면, 진피는 수치를 행함으로써 주요성분의 함량 증가와 함께 총 폴리페놀 함량도 증가하 였고, 총 폴리페놀 함량의 증가에 따라 항산화 활성도 소폭 씩 증가하는 경향을 보였다. 이에 향후 계속하여 진피의 수

치 시간 및 소금물의 농도를 다양화시켜 지속적인 수치 연구가 필요하다고 사료되어졌다.

사 사

본 연구는 상지대학교 2013년 교내연구비에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Kim, J. S., Kim, H. J., Ma, J. Y. and Kim, J. M. (2002) Studies on the processing of herbal medicines (II) HPLC analysis of standard compounds unprocessed and processed herbal medicines. *Kor. J. Pharmacogn.* 33: 305-307.
- Seo, C. S., Kim, J. H., Shin, H. K., Hwang, S. Y. and Kim, B. S. (2014) Quantitative analysis of anthraquinones in Cassiae Semen by processing method. *Kor. J. Pharmacogn.* 45: 200-208.
- 3. 김남재 (1997) 한약의 수치와 약효. J. Korean Soc. Hosp. Pharm. 14: 66-79.
- Kitagawa, I., Chen, Z. L., Yoshihara, M., Kobayashi, K., Yoshikawa, M., Ono, N. and Yoshimura, Y. (1984) Chemical studies on crude drug processing. III. Aconiti Tuber (2). On the constituents of "Pao-fuzi", the processed tuber of *Aconitum carmichaeli* Debx and biological activities of lipo-alkaloids. *Yakugaku Zasshi* 104: 858-866.
- Park, S. Y., Chung, B. S., Lee, H. K., Lee, H. S. and Ryu, J. H. (1989) Studies on the preparation of processed Aconiti Tubers. Kor. J. Pharmacogn. 20: 25-31.
- Kitagawa, I., Fukuda, Y., Taniyama, T. and Yoshikawa, M. (1991) Chemical studies on crude drug processing. VII. On the constituents of Rehmanniae Radix. (1): Absolutes stereostructures of rehmaglutins A, B, and D isolated from Chinese Rehmanniae Radix, the dried root of *Rehamannia glutinosa* Libosch. *Chem. Pharm. Bull.* 39: 1171-1176.
- 7. Lee, J. H., Koh, J. A., Hwang, E. Y. and Hong, S. P. (2002) Quantitative determination of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde from Rehmanniae Radix preparata according to various processings. *Kor. J. Herbology* 17: 145-149.
- 8. Kim, N. J. and Hong, N. D. (1996) Studies on the processing of crude drugs (V) On the constituents and biological activities of Glycyrrhizae Radix by processing -. *Kor. J. Pharmacogn.* **27**: 196-206.
- Shin, Y. W., Kim, D. H. and Kim, N. J. (2003) Studies on the processing of crude drugs (VII) - On the constituents and biological activities of Gardeniae Fructus by processing -. Kor. J. Pharmacogn. 34: 45-54.
- 10. 생약학교재편찬위원회 (2010) 생약학, 409-411. 동명사, 경기.
- 11. Son, H. S., Kim, H. S., Kwon, T. B. and Ju, J. S. (1992) Isolation, purification and hypotensive effect of bioflavonoid in

- Citrus sinensis. J. Kor. Soc. Food Nutr. 21: 136-142.
- 12. Laura, B. (1998) Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* **56**: 317-333.
- Manthey, J. A. and Grohmann, K. (2001) Phenolics in citrus peel byproducts: Concentrations of hydroxycinnamates and polymethoxylated flavones in citrus peel molasses. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3268-3273.
- 14. Hyon, J. S., Kang, S. M., Mahinda, S., Koh, W. J., Yang, T. S., Oh, M. C., Oh, C. K., Jeon, Y. J. and Kim, S. H. (2010) Antioxidative activities of extracts from dried *Citrus sunki* and *C. unshiu* peels. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1-7.
- Rousff, R. L., Martin, S. F. and Youtsey, C. O. (1987) Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin in citrus. *J. Agric. Food Chem.* 35: 1027-1030.
- Wang, Y. C., Chuang, Y. C. and Hsu, H. W. (2008) The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. *Food Chem.* 106: 277-284.
- Inoue, T., Tsubaki, S., Ogawa, K., Onishi, K. and Azuma, J. (2010) Isolation of hesperidin from peels of thinned *Citrus unshiu* fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chem.* 123: 542-547.
- Turkmen, N., Sari, F. and Velioglu, Y. S. (2006) Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin- Ciocalteu methods. *Food Chem.* 99: 835-841.
- Uchiyama, M., Suzuki, Y. and Fukuzawa, K. (1968) Biochemical studies of physiological function of tocopheronolactone. *Yakugaku Zasshi* 88: 678-683.
- Choi, J. S., Park, J. H. and Kim, H. G. (1993) Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus daviana*. Kor. J. Pharmacogn. 24: 299-303.
- Yoshikawa, M., Harada, E., Miki, A., Tsukamoto, K., Ling, S. Q., Yamahara, J. and Murakami, N. (1994) Antioxidant constituents from the fruit hulls of mangosteen(*Garcinia mangostana* L.) originating in Vietnam. *Yakugaku Zasshi* 114: 129-133.
- Yang, Y. T., Kim, M. S., Hyun, K. H., Kim, Y. C. and Koh, J. S. (2008) Chemical constituents and flavonoids in Citrus pressed cake. *Korean J. Food Preserv.* 15: 94-98.
- 23. Shin, Y. W. (2012) Changes in the anti allergic effect of *Citrus unshiu* Pericarpium according to storage period. *Kor. J. Herbology* 27: 37-44.
- Chang, H. N., Nam, K. E. and Hur, J. W. (1977) Studies on the utilization of korean Citrus peel waste II. Contents of pectin, hesperidin and naringin. *Korean J. Food Sci. Technol.* 9: 251-254.
- Kamatou, G. P. P., Viljoen, A. M. and Steenkamp, P. (2010) Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African Salvia species. *Food Chem.* 119: 684-688.
 - (2015. 2. 25 접수; 2015. 3. 2 심사; 2015. 3. 10 게재확정)