

제주재래종 감귤류 미숙과의 neohesperidin, naringin 및 hesperidin 함량

류미라* · 김은영 · 배인영 · 박용곤
한국식품개발연구원

Contents of Naringin, Hesperidin and Neohesperidin in Premature Korean Citrus Fruits

Mee-Ra Rhyu*, Eun-Young Kim, In-Young Bae and Yong-Kon Park
Korea Food Research Institute

Neohesperidin, naringin, and hesperidin contents of nine species of premature Korean citrus fruits have been determined. Flavonoids were extracted from dried citrus fruits by N,N-dimethylformamide and analyzed using RP-HPLC. 'Dangyooja' and 'Jikak' had higher content of neohesperidin and naringin. The content of hesperidin was higher in 'Binkyool' and 'Dongjeongkyool' than other seven species of citrus fruits, respectively.

Key words: hesperidin, Korean premature citrus, naringin, neohesperidin

서 론

우리나라는 기상적, 지리적으로 감귤재배지 중 최북단에 위치하고 있어 내한성이 강한 만다린계의 온주밀감이 감귤 생산의 주종을 이루고 있으며 최근 과잉생산으로 인한 가격 폭락 등의 문제로 대체작목의 도출이 필요시 되고 있다. 감귤류에는 다양한 flavonoids가 존재하며 현재까지 약 60종 이상의 구조가 밝혀져 있으나⁽¹⁾ 주로 감귤 가공품 제조 시 고미나 백탁 등 상품가치를 저하시키는 주요 원인 물질로서 이것을 제거하는 일에 관심이 기울어져 왔다⁽²⁾. 그러나 최근 hesperidin의 혈관투과성에 미치는 영향⁽³⁾, naringin의 항산화⁽⁴⁾, 지질과산화예방⁽⁵⁾ 및 antimutagenic 활성⁽⁶⁾ 등의 약리 효능이 보고되고 있으며 다른 한편 naringin과 neohesperidin은 설탕의 수백배의 감미를 나타내는 각각의 dihydrochalcone으로 화학적 변환이 가능하며⁽⁷⁾ 최근 neohesperidin의 대량추출 및 neohesperidin-dihydrochalcone(NHP-DC)의 상업적 제조기술이 개발되어⁽⁸⁾ 이들 flavonoid의 제약 및 식품산업에의 활용에 관심이 모아지고 있다. 국내산 감귤 속과에 대한 선행 연구결과⁽⁹⁾ 일부 재래종에서 neohesperidin 함량이 현재 neohesperidin의 상업적 추출에 활용되고 있는 품종의 하나인 'Afin'의 속과에서의 함량과 동일한 수준으로 검출되는 등 재래종감귤류의 flavonoid 소재로서의 활용가능성이 제기되었

다. Flavonoids 함량은 과실의 숙성에 따라 크게 감소하여 이들의 활용가능성 탐색을 위해서는 미숙과에서의 함량비교가 필요하다. 본 연구에서는 재래종 감귤류 9종의 미숙과에 대해 주요 flavonoid naringin, hesperidin 및 neohesperidin 함량을 분석하였다.

재료 및 방법

시료

1999년도 제주도에서 재배된 재래 감귤류 '당유자'(Dangyooja, *C. grandis* Osbeck), '지각'(Jikak, *C. aurantium* Linn), '편귤'(Pyunkyool, *C. tangerina* Hort. Ex Tanaka), '감자'(Kamja, *Citrus. benikoji* Hort. Ex Tanaka), '동정귤'(Dongjeongkyool, *C. erythrosa* Hort. Ex Tanaka), '병귤'(Byungkyool, *C. platymamma* Hort. ex Tanaka), '빈귤'(Binkyool, *C. leiocarpa* Hort. ex Tanaka), '사두감'(Sadukam, *C. pseudogulgul* Hort. ex Tanaka) 및 '진귤'(Jinkyool, *C. sunki* Hort. Ex Tanaka)의 9종을 제주도 농업기술원으로부터 제공받아 실험에 사용하였다. 시료는 모두 생리낙과가 종료된 8월 초순부터 20일 간격으로 5차례에 걸쳐 각각 7~12개를 채취하였다.

추출 및 분석

모든 시료는 과실전체를 사용하였으며 채취한 7~12개의 과실을 각각 동결 건조 후 분쇄기(Hanil Fm-680T, Korea)로 분쇄, 혼합하였다. 각 시료분말에 200배량의 N,N-dimethylformamide(DMF)를 가하여 90°C에서 10분간 추출하고 12,000×g, 10분간 원심분리(Sorvall RC 5C Plus, USA)하여 상정액을

*Corresponding author : Mee-Ra Rhyu, Food Chemistry & Biotechnology Division, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-ku, Songnam-si, Gyeonggi-do 463-420, Korea
Tel: 82-31-780-9268
Fax: 82-31-709-9876
E-mail: mrrhyu@kfri.re.kr

분리하였다. 이 조작을 3회 반복 실시하고 혼합한 추출액을 micro filter(0.45 µm, Lida Co. Kenosha, Wisconsin, USA)로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다.

분석 column은 Capcell pak C₁₈ UG120(φ4.6×250 mm, Shiseido, Tokyo, Japan), 이동상은 0.5% acetic acid/water : 0.5% acetic acid/MeOH(70 : 30)로 methanol 함량 gradient로 용출시켰다. 유속은 1 mL/min, column 온도는 35°C로 유지하였고 UV 280 nm에서 검출하였다.

시약

Naringin, hesperidin, neohesperidin은 Sigma 사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. 추출 및 분석에 사용한 DMF,

methanol, acetic acid 및 그 외 시약은 HPLC 등급을 사용하였다.

결과 및 고찰

제주 재래종 감귤류 9종 즉, ‘당유자’, ‘지각’, ‘편굴’, ‘감자’, ‘동정굴’, ‘병굴’, ‘빈굴’, ‘사두감’, 및 ‘진굴’ 각 숙기별 시료에서 neohesperidin은 1차 채취기의 ‘당유자’, ‘지각’, ‘편굴’에서 각각 5.07%, 5.58%, 2.67%로 이들 품종의 주된 flavonoid로 나타났으며 그 외의 품종에서는 거의 나타나지 않았다(Table 1). 약 20일 후에 채취한 시료에서는 그 함량이 각각 2.89, 3.20, 1.57%로 모두 40% 이상 급격히 감소하였

Table 1. Neohesperidin, naringin and hesperidin contents¹⁾ of premature Korean citrus fruits harvested at different time

Sample	Flavonoid & DM (mm) ²⁾	Date harvested				
		Aug. 9th	Aug. 31st	Sep. 20th	Oct. 7th	Oct. 29th
Dangyooja	Neohesperidin	5.07±0.04 ³⁾	2.89±0.15	2.96±0.18	2.70±0.06	2.91±0.07
	Naringin	2.84±0.01	1.91±0.10	1.88±0.13	2.19±0.10	1.82±0.06
	Hesperidin	0.64±0.00	0.33±0.02	0.52±0.09	0.24±0.01	0.15±0.00
	DM	47.1±3.9	59.4±4.9	70.3±1.9	69.9±4.5	75.0±1.7
Jikak	Neohesperidin	5.58±0.11	3.20±0.13	2.11±0.25	1.80±0.11	1.76±0.07
	Naringin	5.57±0.12	3.30±0.14	2.53±0.26	2.48±0.13	2.47±0.09
	Hesperidin	0.22±0.03	0.21±0.01	0.10±0.02	0.08±0.00	0.06±0.00
	DM	45.6±3.7	49.6±0.4	58.5±1.8	57.6±1.3	68.1±2.1
Pyunkyool	Neohesperidin	2.67±0.08	1.57±0.04	0.66±0.13	1.07±0.05	1.89±0.02
	Naringin	0.90±0.07	0.56±0.02	0.36±0.02	0.84±0.04	1.10±0.01
	Hesperidin	0.67±0.08	0.22±0.02	0.09±0.07	0.06±0.00	0.05±0.00
	DM	34.6±0.9	35.1±1.9	46.6±2.8	49.9±3.2	48.2±1.2
Kamja	Neohesperidin	0.05±0.02	0.03±0.01	0.07±0.02	-	0.05±0.00
	Naringin	-	-	0.08±0.03	-	0.04±0.00
	Hesperidin	3.36±0.16	2.13±0.14	1.88±0.24	1.17±0.06	1.21±0.05
	DM	39.3±0.5	46.3±2.4	58.1±2.1	64.4±2.8	62.7±1.1
Dongjeongkyool	Neohesperidin	0.17±0.04	0.09±0.00	0.03±0.01	-	-
	Naringin	0.13±0.04	0.08±0.00	-	-	-
	Hesperidin	13.27±0.23	9.97±0.31	7.16±0.56	9.04±0.28	6.40±0.15
	DM	30.4±3.5	36.9±2.3	44.3±1.1	46.1±1.0	51.6±4.1
Byungkyool	Neohesperidin	-	0.03±0.00	-	-	-
	Naringin	-	-	-	-	-
Hesperidin	4.76±0.21	3.36±0.16	3.60±0.64	1.71±0.04	1.92±0.04	-
	DM	36.7±1.2	35.5±3.9	45.0±1.7	50.0±3.4	56.7±3.1
Binkyool	Neohesperidin	0.03±0.00	-	-	0.06±0.00	0.03±0.00
	Naringin	-	-	-	0.06±0.01	-
	Hesperidin	11.63±0.56	7.72±0.15	9.20±0.22	9.04±0.28	8.05±0.46
	DM	20.6±2.3	26.5±1.9	28.4±2.3	31.3±1.4	37.3±3.0
Sadukam	Neohesperidin	-	-	0.06±0.01	-	0.03±0.00
	Naringin	-	-	0.05±0.00	-	-
	Hesperidin	4.81±0.17	1.52±0.23	1.67±0.29	1.27±0.01	1.52±0.07
	DM	47.1±3.6	71.3±7.9	72.2±4.2	69.7±2.5	76.3±5.0
Jinkyool	Neohesperidin	0.05±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	-	-
	Naringin	-	-	-	-	-
	Hesperidin	6.60±0.24	4.28±0.26	3.66±0.05	4.23±0.08	3.62±0.16
	DM	24.6±0.7	28.1±1.3	30.4±2.2	34.1±3.7	37.0±0.6

¹⁾g/100 g dry weight

²⁾Fruit diameter

³⁾Data are means of four independent sample±S.D.

으며 3차 채취기 이후의 시료에서는 급격한 변화가 나타나지 않았으나 숙성이 진행됨에 따라 차차 감소하여 5차 채취 시료에서는 각각 2.91, 1.76, 1.89%로 나타났다. 그 중 편귤은 3차 채취기 이후 4, 5차 채취기에 다시 함량이 증가하는 듯이 보이거나 이는 편귤이 3차 채취 시기 이후에 직경에 큰 변화가 없고 편차가 큰 것으로 미루어 시료 각각의 편차에 따른 것으로 보인다. 고감미도감미료 NHP-DC 제조를 위한 출발물질로서는 neohesperidin 또는 naringin 모두가 이용될 수 있으나 naringin은 우선 알칼리 및 고온에서의 분해, 알칼리 조건에서의 축합, cyclize 및 hydrogenation 공정을 거쳐야 하나 neohesperidin은 hydrogenation 공정만으로 제조 가능하여 상업적 이용에 보다 유리하다⁽¹⁰⁾. 현재 Spain에서 neohesperidin 추출에 상업적으로 이용하고 있는 품종은 sour orange 'Afin'과 'Bouquet de Fleur'로 이 품종의 미숙과(직경 8~10 mm)에는 각각 27.2, 29.3%(dry weight basis), 숙과(직경 40~45 mm)에는 각각 1.0, 3.7%의 neohesperidin이 함유되어 있다⁽¹¹⁾. 선행 연구⁽⁹⁾에서 '당유자'(직경 76~87 mm), '지각'(직경 69~71 mm), '편귤'(직경 46~50 mm) 숙과의 neohesperidin 함량은 각각 2.15, 1.81, 1.01%로 'Bouquet de Fleur'의 3.7%보다는 낮으나 'Afin'과는 비슷한 양을 나타내었으며 '당유자'(직경 43~50 mm), '지각'(직경 42~49 mm) 및 '편귤'(직경 34~36 mm) 1차 채취한 미숙과에서는 이들 품종 미숙과의 함량보다 1/10~1/5 량으로 낮게 나타났다. 그러나 1차 채취한 미숙과의 neohesperidin 함량이 약 20일 후에 40% 이상 급격히 감소하였고 보다 이른 시기인 6월 10일 경에 diameter 10 mm 이하의 과실을, 또한 7월 10일 경에는 diameter 30 mm 이하의 과실을 수확할 수 있는 점을 감안할 때 재래종 감귤류 '당유자', '지각' 및 '편귤'의 보다 이른 시기의 미숙과에는 경쟁력 있는 상당량의 neohesperidin이 기대되며 이에 관한 연구는 현재 진행 중이다. Naringin은 1차 채취기의 '지각'에서 5.57%로 가장 높게 나타났고 다음이 '당유자'로 2.84%의 함량을 나타내었으나 그 외의 품종에는 함량이 매우 적었다. 또한 2차 채취 시료에서 각각 3.30, 1.91%로 neohesperidin과 마찬가지로 20일 경과에 따라 그 함량이 약 30~40% 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 또한 '지각'과 '당유자'의 naringin 함량이 3차 채취기 이후에는 감귤류의 크기가 변화하여도 거의 비슷한 수준으로 숙과에서의 함량(3.64, 2.08%)⁽⁹⁾과도 크게 다르지 않은 것으로 미루어 naringin의 함량은 초기 미숙과 시기에만 급격히 변화하는 것으로 나타났다. Naringin을 많이 함유하는 품종으로는 grape fruit cultivar 'Issac' 미숙과(88%, 직경 8~10 mm)⁽¹¹⁾, *C. paradisi* 미숙과(75%, 직경 8~10 mm)가 알려져 있으며⁽¹²⁾ 제주 재래종 감귤류에 비하여 월등히 함량이 높아 숙기에 따른 naringin 함량의 급격한 감소율을 감안하더라도 이들 품종보다 경쟁력 있는 소재의 발굴은 어려울 것으로 예상된다. Hesperidin은 neohesperidin 및 naringin 함량이 높은 감귤류에서는 그 함량이 낮았으며 이들 함량이 낮은 6종 즉, '감자', '동정귤', '병귤', '빈귤', '사두감' 및 '진귤'에서 그 함량이 높았다. 특히 '빈귤'(직경 24~25 mm)과 '동정귤'(직경 28~34 mm)에서 각각 11.63, 13.27%로 가장 높게 나타났다. Hesperidin 함량은 '사두감'을 제외한 나머지 5종에서는 2차 채취 시 1차 채취한 시료에 비해 약 25~35%까지 함량이 감소하

였다. '사두감'은 2차 채취 시 1차의 약 68%까지 함량이 감소하였으며, 그 이후에는 마지막 채취 시까지 거의 변화가 없었고, 이러한 현상은 '빈귤'에서도 유사하게 나타났다. 반면 '감자', '동정귤', '병귤' 및 '진귤'은 2차 채취 이후 숙성이 진행됨에 따라 함량이 점차 감소하여 마지막 채취 시에는 초기의 약 45~64%까지 감소하였다. 현재 hesperidin을 다량 함유하고 있는 종으로는 hybrid mandarin 'Nova' 미숙과(48%, 직경 8~10 mm)와 mandarin 'Galleta' 미숙과(49%, 직경 8~10 mm)로⁽¹¹⁾ 재래종 감귤류와 비교 시 함량이 월등히 높다. 그러나 hesperidin의 함량이 neohesperidin 및 naringin과 마찬가지로 미숙과 초기 단계에서 급격히 감소하고 또한 감귤류 종류에 따라 감소되는 경향이 다르며 본 실험에 사용한 감귤류의 직경이 큰 것으로 보아 보다 이른 시기의 미숙과에 대한 경제성 검토가 필요시 된다. 이러한 실험결과는 '지각'의 과피내 naringin 함량이 9월 하순에서 1월 중순까지 7.51%에서 4.31%로, '당유자'가 3.52%에서 2.46%로, '병귤'이 3.65%에서 1.74%로 감소한 연구⁽¹³⁾와 비교 시 모두 약간씩 낮은 것이나 이는 감귤류의 재배연도나 기후조건 등에 따라 나타날 수 있는 차이로 추정되었다.

본 연구결과 재래 감귤류 중 '당유자'와 '지각'은 neohesperidin과 naringin의 함량이 다른 감귤류에 비하여 높았고, '빈귤'과 '동정귤'은 hesperidin의 함량이 높았으나 이들은 모두 현재 이들 flavonoid 소재의 상업적 추출에 이용되고 있는 품종들에 비하면 낮았다. 그러나 본 실험에서 수확을 시작한 초기에 각 flavonoid 함량의 급격한 감소가 일어남에 따라 경쟁력 있는 소재의 선발을 위해서는 보다 이른 시기의 미숙과에 대한 검토가 필요하며 특히 '당유자' 및 '지각'의 neohesperidin 및 naringin 소재로서의 활용가능성이 높은 것으로 사료되었다.

요 약

제주재래종 감귤류의 9종의 미숙과의 naringin, hesperidin, neohesperidin 함량 변화를 분석하고 원료 소재로서의 활용가능성을 검토하고자 하였다. Neohesperidin과 naringin 함량은 '당유자'와 '지각'에서 높았고, hesperidin 함량은 '빈귤'과 '동정귤'에서 높았으나 모두 현재 이들 flavonoid 소재의 상업적 추출에 이용되고 있는 품종들에 비하면 낮았다. 그러나 본 실험에서 수확을 시작한 초기에 각 flavonoid 함량의 급격한 감소가 일어남에 따라 경쟁력 있는 소재의 선발을 위해서는 보다 이른 시기의 미숙과에 대한 검토가 필요하며 특히 '당유자' 및 '지각'의 neohesperidin 및 naringin 소재로서의 활용가능성이 높은 것으로 평가되었다.

감사의 글

본 연구는 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 연구결과 일부로 지원을 감사드리며 시료를 제공해 주신 제주도 농업기술원에 감사드립니다.

문 헌

1. Horowitz, R. and Gentili, B. Flavonoids constituents of citrus. In

- Citrus Science and Technology, Nagy, S., Shaw, P.E. and Vedhuis, M.K.(Eds). pp. 397-426 AVI Publishing: Westport, CT. (1977)
2. Horowitz, R.M. The citrus flavonoids., pp. 334-372. In: The Orange. Its Biochemistry and Physiology. Sinclair, W.F. (Ed.). University of California, Division of Agricultural Science, Los Angeles, CA, USA (1961)
 3. Gabor, M. Szent-Gyorgi and bioflavonoids: new results and perspectives of pharmacological research into benzo-pyrone derivatives. pp. 1-15. In: Plant Flavonoids in Biology and Medicine II: Biochemical, Cellular, and Medicinal Properties. V Cody, E. Middleton, Jr., J.B., Harbone and A. Beretz (eds.). Alan R Liss, Inc., New York, USA (1988)
 4. Chen, Y.T., Zheng, R.L., Jia, Z.J. and Ju, Y. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biol. Med.* 9: 19-21 (1990)
 5. Guengerich, F.P. and Kim, D.M. *In vitro* inhibition of dihydropyridine oxidation and aflatoxin B1 activation in human liver microsomes by naringenin and other flavonoids. *Carcinogenesis* 11: 2275-2279 (1990)
 6. Francis, A.R., Shetty, T.K. and Bhattacharya, R.K. Modulating effect of plant flavonoids on the mutagenicity of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis* 10: 1953-1955 (1989)
 7. Horowitz, R.M. and Gentili, B. Dihydrochalcone derivatives and their use as sweetening agents. U.S. Patent 3,087,821 (1963)
 8. Robertson, G.H., Clark, J.P. and Lundin, R. Dihydrochalcone sweeteners: Preparation of Neohesperidin Dihydrochalcone. *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* 13: 125-129 (1974)
 9. Rhyu, M.R., Kim, H.K., Park, Y.K., Lee, H.S. and Kim, E.Y. Development of the intense sweetener neohesperidin-dihydrochalcone with Korean citrus. In Annual Report of the Korea Food Research Institute, GA0205-0016, Gyeonggi-do, Korea (2000)
 10. Wilson, R.D. New Zealand goldfruit skin-waste product or potential goldmine. *Food Technol. in New Zealand* p. 71, 75 (1982)
 11. Ortuno, A., Reynaldo, I., Fuster, M.D., Botia, J., Puig, D.G., Sabater, F., Lidon, A.G., Porras, I. and Del Rio, J.A. Citrus cultivars with high flavonoid contents in the fruits. *Scientia Horticulturae* 68: 231-236 (1997)
 12. Keterson, J.W. and Hendrickwon, R. The glucosides of citrus. *Fla. State Hort. Soc.* 65: 223-226 (1953)
 13. Song, E.Y., Choi, Y.H., Kang, K.H. and Koh, J.S. Free sugar, organic acid, hesperidin, naringin, inorganic elements changes of Cheju citrus fruits according to harvest date. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 306-312 (1998)

(2001년 9월 25일 접수)