

## 감귤 과피 추출물의 항산화능에 대한 원적외선 처리의 효과

- 연구노트 -

정석문 · 김소영 · 박해룡 · 이승철<sup>†</sup>

경남대학교 식품생명공학부

### Effect of Far-Infrared Radiation on the Antioxidant Activity of Extracts from *Citrus unshiu* Peels

Seok-Moon Jeong, So-Young Kim, Hae-Ryong Park and Seung-Cheol Lee<sup>†</sup>

Division of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

#### Abstract

The effect of far-infrared (FIR) radiation on the antioxidant activity of extracts from *Citrus unshiu* peels (CPs) was evaluated. CPs (5 g) were placed in Pyrex petri dishes (8.0 cm diameter) and irradiated at 150°C for 10, 20, 30, 40 or 50 min with a FIR heater. After FIR irradiation, 70% ethanol extract of CPs were prepared and total phenol contents (TPC), radical scavenging activity (RSA) and reducing power of the extracts were determined. FIR radiation of CPs at 150°C for 30 min increased the TPC and RSA of ethanol extract from 71.9 µM to 133.9 µM and from 29.64% to 51.27%, respectively, and reducing power was increased from 0.451 to 0.675, compared to those of non-irradiated control. These results indicated that FIR radiation onto CPs could liberate and activate covalently bound phenolic compounds that have antioxidant activities.

**Key words:** citrus peels, ethanol extract, far-infrared, antioxidant activity, total phenol content

#### 서 론

오늘날 널리 이용되고 있는 합성 항산화제는 butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT), tertiary butylhydroquinone(TBHQ) 등이 알려져 있으며, 항산화력이 뛰어난 페놀계 항산화제이다. 그러나 독성(1,2) 및 발암성(3,4)이 지적되어 안전성과 관능상으로 문제가 되지 않는 식물기원의 천연 항산화제의 개발을 위한 많은 연구가 시도되고 있다.

감귤류는 한방약이나 생약의 원료로 사용되고 있듯이 기능성이나 약효 성분이 많이 함유되어 있는 과일로서 우리나라는 기상적, 지리적으로 감귤 재배지 중 최북단에 위치하고 있어 내한성이 강한 만다린계의 온주밀감이 감귤 생산의 주종을 이루고 있다. 감귤류에는 flavonoid류, carotenoid류, coumarin류, phenylpropanoid류, limonoid류 등 지금까지 60여종의 생리활성물질이 밝혀졌으며, 감귤류 특유의 flavanone을 함유하여 이들의 기능성에 대한 평가도 여러 방향에서 검토되고 있다(5,6). 감귤류 유래 주요 flavonoid 화합물로는 naringin과 hesperidin 그리고, 이들의 aglycone 형태인 naringenin과 hesperetin이며, 그밖에도 rutin, deosmine, nobletin, tangeretin 등이 있다(7,8). 이들의 기능성에 대한 평가로서 항산화 작용, 순환기계 질병의 예방, 항염증, 항알레

르기, 항균, 항바이러스, 지질 저하 작용, 면역 증강작용, 모세혈관 강화작용 등이 보고된 바 있다(9,10). 또, 최근에 와서는 naringin의 항산화, 지질과산화 예방 및 항돌연변이 활성 등의 약리 효과 등이 보고되었다(11-13).

감귤 가공품 제조 시 발생하는 부산물인 감귤 과피는 진피, 껍질, 지질 등의 이름으로 한방 처방의 원료인 동시에 비타민, 유기산, 및 유리당 등의 영양성분 공급원으로 건강식품의 소재로서 그 소비량도 증가하는 추세에 있다. 밀감 과피 중의 펙틴은 예전부터 잼, 마멀레이드, 젤리 등의 제조에 이용되고 있으며 최근에는 겔화, 증점, 유화안정제 등의 목적뿐만 아니라 다이어트 식품으로서 그 중요성이 강조되고 있다(14,15).

한편, 원적외선은 약 3.0~1,000 µm의 파장을 가지고 있으며, 가열과 비가열의 방법으로 이용된다. 가열의 용도로는 식품의 가열 건조, 자숙, 열탕, 배소, 유탕, 살균처리, 냉동식품의 해동, 난방 등이 있으며, 비가열 응용은 식품의 선도유지, 숙성, 풍미향상 등에 적용되고 있다. 원적외선은 생물적으로 활성이 있으며, 물질의 중심까지 고르게 열을 전달하는 특성을 가지고 있다(16). Niwa와 Miyachi(17)는 천연 항산화 물질들은 중합체인 polyphenol, tocopherol, flavonoid 등의 고분자를 가지고 있는데 원적외선 처리가 이들을 저분자로 유리시킨다고 보고한 바 있다. Lee 등(18)도 원적외선 처리로 인하여 왕겨의 고분자 polyphenol들이 유리되어 항산화능이

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: scllee@kyungnam.ac.kr  
Phone: 82-55-249-2684, Fax: 82-55-249-2995

증가되었다는 결과를 보고한 바 있다. 이에 본 연구에서는 원적외선 조사가 감귤 과피 추출물의 항산화력에 미치는 영향을 확인함으로써 감귤 과피 추출물의 기능성 식품소재로서의 가능성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

감귤 껍질 및 시약

본 실험에 사용한 감귤 과피는 제주산 조생종 감귤(*Citrus unshiu*)에서 나온 것으로 과육과 과피 부분으로 나눈 후, 4°C에서 저장하면서 사용하였다. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 시약과 tannic acid는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, Folin-Ciocalteu 시약은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 그리고 potassium ferricyanide, ethanol, 염화철은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

원적외선 처리 및 에탄올 추출물 제조

감귤 과피는 서늘한 곳에서 풍건한 후 믹서기(Mixer MC-811C, (주) 노비타, 한국)로 분쇄하여 사용하여 분말 상태로 제조하였다. 감귤 과피 5.0 g을 유리 페트리 접시(Ø 8.0 cm)에 놓고 원적외선 건조기(아성 시험기, 한국)를 이용하여 150°C에서 10, 20, 30, 40 그리고 50분 동안 각각 처리하였다. 원적외선 처리된 감귤 과피 0.1 g을 10 mL의 70% 에탄올 용액으로 shaking incubator(상온, 100 rpm)에서 12시간 추출하였다. 각각의 추출물은 1,000×g에서 15분 동안 원심분리한 후, Whatman No. 1 여과지에 여과하여 감귤 과피 에탄올 추출물을 준비하였고, 각각의 추출물은 5배 희석하여 사용하였다.

총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Gutfinger(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 감귤 과피 에탄올 추출물 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 1 mL를 가하여 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 가하여 반응시켜 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 10분간 13,400×g에서 원심분리한 후, 상징액 1 mL을 취하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 tannic acid로 환산하여 µM 단위로 나타내었다.

라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Blois(20)의 방법에 준하여 시료 0.1 mL에 4.1×10<sup>-5</sup> M의 DPPH 용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 10분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{전자 공여능} = \left[ 1 - \frac{\text{시료첨가구의 } O.D.}{\text{무처리구의 } O.D.} \right] \times 100$$

백분율로 나타내었다.

환원력의 측정

환원력은 Oyaizu(21)의 방법에 항산화 물질에 대한 철 이

온의 환원력을 측정하였다. 1 mL의 인산염 완충용액(0.2 M, pH 6.6)에 1 mL 감귤 과피 에탄올 추출물과 1%(w/v) potassium ferricyanide 용액 1 mL을 가하고 이 혼합물을 50°C, 20분간 반응을 시킨 후, 10%(w/v) trichloroacetic acid 용액 1 mL을 넣었다. 반응이 끝난 혼합물을 13,400×g에서 원심분리하여 얻은 상징액 1 mL과 증류수 1 mL을 넣고 0.1% 염화철 용액 0.1 mL을 넣고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

모든 측정은 3회 반복하여 행해졌으며, 그 결과는 SAS (Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준편차, Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성을 검정하였다(22).

결과 및 고찰

총 페놀함량

페놀성 물질은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사 산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가진다. 식물체에 존재하는 다양한 페놀 화합물은 수산기를 통한 수소 공여와 페놀 고리 구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다(23). Bocco 등(24)은 감귤 과피와 씨앗 추출물에서 강한 항산화능을 가진 페놀화합물의 존재를 확인하였다.

원적외선 조사가 감귤 과피의 항산화능에 미치는 영향을 조사하기 위해 먼저 원적외선 조사에 의한 총 페놀함량의 변화를 Table 1에 나타내었다. 감귤 과피 무처리구의 에탄올 추출물의 총 페놀 함량은 71.9 µM로 측정되었다. 이에 반해 원적외선을 조사한 감귤 과피 추출물의 경우 10분간 조사한 추출물의 총 페놀 함량은 62.8 µM로 감소하였으나, 조사 20분부터 급격히 증가하여 조사 30분의 경우 133.9 µM의 총 페놀 함량을 나타내었으며 무처리에 비해 약 86%가 증가하였다. 본 연구와 같은 조건으로 원적외선을 왕겨에 처리한 경우(18), 무처리구의 메탄올 추출물의 총 페놀 함량은 120 µM이었으나 30분간 원적외선을 처리한 경우에는 190 µM로 약 58%가 증가하였다고 보고되었다.

식물체에는 많은 종류의 페놀 화합물이 존재하고 이들은 인체내에서 다양한 생리활성을 나타내지만, hydroxycinnamic acid를 비롯한 대부분의 페놀 화합물은 세포벽 다당류, 리그닌 등과 ester 결합되어 있거나(25) 중합체로 존재한다(17). Manthey와 Grohmann(26)은 감귤 껍질의 주된 페놀 화

Table 1. Effects of FIR irradiation time on total phenolic contents of 70% ethanol extract from citrus peels

Time (min)	0	10	20	30	40	50	SEM
TPC (µM) <sup>1)</sup>	71.9 <sup>d2)</sup>	62.8 <sup>e</sup>	116.0 <sup>c</sup>	133.9 <sup>a</sup>	132.3 <sup>b</sup>	117.5 <sup>c</sup>	0.5

<sup>1)</sup>Total phenolic contents (TPC) were expressed as tannic acid equivalents in 70% ethanol extract from citrus peels.

<sup>2)</sup>Different letters within a row are significantly different (p<0.05), n=3. SEM represents the standard error of the mean.

합물은 flavanone glyceride(hesperidin과 naringin)이며, methoxyl기가 많이 붙은 flavone과 수많은 hydroxycinnamate가 존재한다고 보고하였다. Table 1에 나타난 결과는 감귤 과피에 공유결합되어 존재하는 페놀 화합물을 원적외선이 절단하여 유리함을 보여준다. 그러나, 본 연구진은 단순한 열처리 공정도 참깨박의 메탄올 추출물의 총페놀 함량을 증가시키지만(27), 왕겨의 경우에는 단순한 열처리 공정은 총페놀 함량을 증가시키지 못하고 원적외선은 크게 향상시킨 것을 보고한 바 있다(18). 이는 식물에 따라 다양한 형태의 결합으로 페놀 화합물이 존재하며, 이들은 적절한 가공 공정에 따라 유리될 수 있음을 의미한다.

#### 라디칼 소거능

DPPH는 분자내에 안정한 라디칼을 함유하지만, 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이 때의 DPPH의 거동은 ·OH와 유사하다. 이런 DPPH 라디칼을 이용하여 일정량의 시료 용액과의 반응에 의하여 DPPH 라디칼이 감소하는 정도를 분광광도계로 측정하여 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법으로 이용할 수 있다(20). 원적외선 조사된 감귤 과피 에탄올 추출물의 라디칼 소거능은 Table 2에 나타내었다.

감귤 과피 무처리구의 라디칼 소거능은 29.64%를 나타내었다. 이에 반해 원적외선 조사 10분의 경우 16.69%로 감소하였으나, 조사 20분부터 그 활성이 증가하여 조사 30분에서 51.27%의 최고 활성을 나타내었다. 이 결과는 앞선 총 페놀 함량의 결과와 매우 유사한 결과를 보임으로서, 원적외선 처리에 의한 총 페놀함량의 증가가 DPPH 라디칼 소거능의 증가에 영향을 미쳤음을 확인할 수 있었다.

#### 환원력

환원력은 항산화력과 밀접한 관계에 있으며, 일반적으로 reductone의 존재와 연관이 있다(28). 원적외선 조사된 감귤 과피 에탄올 추출물의 환원력은 Table 3에 나타내었다. 감귤 과피 무처리구의 환원력은 0.451(흡광도)을 나타내었다. 이에 반해 원적외선 조사 10분의 경우 0.321로 감소하였으나,

**Table 2. Effects of FIR irradiation time on DPPH radical scavenging activity of 70% ethanol extract from citrus peels**

Time (min)	0	10	20	30	40	50	SEM
RSA (%)	29.64 <sup>(1)</sup>	16.69 <sup>c</sup>	42.07 <sup>d</sup>	51.27 <sup>a</sup>	50.30 <sup>b</sup>	47.68 <sup>c</sup>	0.15

<sup>1)</sup>Different letters within a row are significantly different ( $p < 0.05$ ),  $n=3$ . SEM represents the standard error of the mean.

**Table 3. Effects of FIR irradiation time on reducing power of 70% ethanol extract from citrus peels**

Time (min)	0	10	20	30	40	50	SEM
Reducing power	0.451 <sup>(1)</sup>	0.321 <sup>d</sup>	0.653 <sup>ab</sup>	0.675 <sup>a</sup>	0.637 <sup>ab</sup>	0.610 <sup>b</sup>	0.015

<sup>1)</sup>Different letters within a row are significantly different ( $p < 0.05$ ),  $n=3$ . SEM represents the standard error of the mean.

조사 20분부터 그 활성이 급격히 증가하여 조사 30분에서 0.675의 최고 활성을 나타내었다. 이 결과는 앞선 총 페놀함량과 라디칼 소거능과 매우 유사한 결과를 보이고 있음을 확인할 수 있다.

## 요 약

원적외선 조사가 감귤 과피의 항산화능에 미치는 영향을 조사하기 위하여 10, 20, 30, 40 그리고 50분 간격으로 원적외선을 조사한 후, 70% 에탄올 추출물을 제조하여 총 페놀함량, DPPH 라디칼 소거능 그리고 환원력의 변화를 측정하였다. 무처리구의 경우 각각 71.9  $\mu\text{M}$ , 29.64%, 0.451(흡광도)인 것에 비해 원적외선을 30분 처리한 경우 133.9  $\mu\text{M}$ , 51.27%, 0.675의 최고 값을 나타내었다. 이 결과는 원적외선 조사에 의해 감귤 과피에 존재하는 불활성화된 페놀성 화합물이 유리 활성화됨으로서 감귤 과피 에탄올 추출물의 항산화능이 증가하였음을 시사한다.

## 감사의 글

본 연구는 2003학년도 경남대학교 학술논문게재연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Buxiang S, Fukuhara M. 1997. Effects of co-administration of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole and flavonoid on the activation of mutagens and drug-metabolizing enzymes in mice. *Toxicology* 122: 61-72.
- Hirose M, Takesada Y, Tanaka H, Tamano S, Kato T, Shirai T. 1998. Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis* 19: 207-212.
- Namiki M. 1990. Antioxidants/antimutagens in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 29: 273-300.
- Pokorny J. 1991. Natural antioxidant for food use. *Trends Food Sci Technol* 9: 223-227.
- Miyake T, Yamamoto K, Tsujihara N, Osawa T. 1998. Protective effect of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids* 33: 689-695.
- Jeong WS, Park SW, Chung SK. 1997. The antioxidative activity of Korean *Citrus unshiu* peels. *Foods Biotechnol* 6: 292-296.
- Mouly PPM, Arzouyan CG, Gaydou EM, Estienne JM. 1994. Differentiation of citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. *J Agric Food Chem* 42: 70-79.
- Rousff RL, Martin SF, Youtsey CO. 1987. Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin in citrus. *J Agric Food Chem* 35: 1027-1030.
- Sohn JS, Kim MK. 1998. Effect of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. *Korean Nutr Soc* 31: 687-696.
- Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K, Uchino K. 1997. Hesper-

- idin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 102-104.
11. Chen YT, Zheng RL, Jia ZL, Ju Y. 1990. Flavonoides as superoxide scavengers and antioxidants. *Free radical biol Med* 9: 19-21.
  12. Guengerich EP, Kim DM. 1990. *In vitro* inhibition of dihydropyridine oxidation and aflatoxin B1 activation in human liver microsomes by naringenin and other flavonoids. *Carcinogenesis* 11: 2275-2279.
  13. Francis AR, Shetty TK, Bhattacharya RK. 1989. Modulating effect of plant flavonoids on the mutagenicity of *N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis* 10: 1953-1955.
  14. Braddock RJ, Crandall PG. 1981. Carbohydrate fiber from orange albedo. *J Food Sci* 46: 650-655.
  15. Braddock RJ. 1983. Utilization of citrus juice vesicle and peel fiber. *Food Tech* 12: 85-89.
  16. Inoue S, Kabaya M. 1989. Biological activities caused by far-infrared radiation. *Int J Biometeorol* 33: 145-150.
  17. Niwa Y, Miyachi Y. 1986. Antioxidant action of natural health products and chinese herbs. *Inflammation* 10: 79-91.
  18. Lee SC, Kim JH, Jeong SM, Kim DR. 2003. Effect of far-infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *J Agric Food Chem* 51: 4400-4403.
  19. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
  20. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
  21. Oyaizu M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition* 44: 307-315.
  22. SAS Institute. 1995. *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
  23. Shahidi F, Wanasundara PK. 1992. Phenolic antioxidant. *Crit Rev Food Sci Nutr* 32: 67-103.
  24. Bocco A, Cuvelier ME, Richard H, Berset C. 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *J Agric Food Chem* 46: 2123-2129.
  25. Herrmann K. 1989. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 28: 315-347.
  26. Manthey JA, 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.
  27. Jeong SM, Kim SY, Kim DR, Nam KC, Ahn DU, Lee SC. 2004. Effect of seed roasting conditions on the antioxidant activity of defatted sesame meal extracts. *J Food Sci* 69: 377-381.
  28. Duh PD. 1998. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* L.): its scavenging effect on free radical and active oxygen. *J Am Oil Chem* 75: 455-461.

(2004년 8월 2일 접수; 2004년 10월 13일 채택)