

당 분해효소를 이용한 감귤 Flavonoid 무배당체 함량의 증가

안순철^{1,3} · 김민수² · 이선희¹ · 강주형¹ · 김보혜¹ · 오원근² · 김보연² · 안종석^{2,*}

¹부산대학교 의과대학 미생물 및 면역학 교실, ²한국생명공학연구원 세포신호조절 연구실

³부산대학교병원 의학연구소

Increase of Bioactive Flavonoid Aglycone Extractable from Korean Citrus Peel by Carbohydrate-Hydrolysing Enzymes. Ahn, Soon-Cheol¹, Min-Soo Kim², Sun-Yi Lee¹, Ju-Hyung Kang¹, Bo-Hye Kim¹, Won-Keun Oh², Bo-Yeon Kim², and Jong-Seog Ahn^{2,*}. ¹Department of Microbiology and Immunology, College of Medicine, Pusan National University, ²Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, ³Medical Research Institute, Pusan National University Hospital – Flavonoid compounds show several biological activities and generally exist in the forms of glycones linking sugar moiety to main structure. Flavonoid glycones such as naringin and hesperidin in korean citrus peel are slower absorbed and consequently less active than their aglycone, naringenin and hesperetin, respectively. Therefore to increase the content of flavonoid aglycone in korean citrus peel, we used commercial carbohydrate-hydrolysing enzymes, AMG 300 L, Pectinex 100 L, and Viscozyme for transforming flavonoid glycones to aglycones. Optimal conditions of enzyme reaction were pH 5.0-7.0, 5% enzyme, and 24-48 hrs. The content of naringenin and hesperetin as flavonoid aglycones in untreated citrus peel is 100~220 ng/g of dried citrus peel. In case of enzyme-treated citrus peel the content of naringenin and hesperetin increased to 1,539~6,674 ng/g and 1,974~8,906 ng/g of dried citrus peel, respectively. Finally the content of flavonoid aglycones could be extracted to 10-80 times. Now enzyme-treated citrus peel may be applied to use for functional food because of its higher flavonoid aglycones as more active compounds.

Key words: Enzyme, naringenin, hesperetin, biotransformation, citrus peel

감귤류에 유래하는 주요 flavonoid 화합물은 naringin과 hesperidin 그리고 이들의 무배당체인 naringenin과 hesperetin이며 그밖에도 rutin, diosmine, nobiletin, tangeretin 등이 있다[7, 18]. 이들의 생리활성으로는 항산화 작용, 순환기계 질환의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하 작용, 면역증강 작용, 모세혈관 강화작용 등이 보고되어 있다[18]. 감귤의 껍질 부분에는 flavonoid의 일종으로 flavanone 화합물인 naringenin과 hesperetin이 함유되어 있고 이들은 항산화, 소염, 항암활성 등의 생리활성이 있다고 알려져 있다. 대부분의 flavonoid 화합물은 배당체의 형태로 전체 flavonoid의 50-80%를 차지하며 배당체를 구성하는 당으로는 glucose, arabinose, galactose, rhamnose, xylose 등이 있으며, 대부분 활성물질과 α -1,4 나 β -1,4 결합을 하고 있다. 실제 감귤에는 naringin과 hesperidin 등의 배당체 형태로 대부분 존재하며[4], 이러한 배당체 형태의 naringin과 hesperidin은 무배당체 화합물인 naringenin과 hesperetin에 비해 항산화, 소염, 항암 활성 등이 떨어지는 것으로 알려져 있다.

최근의 연구결과들은 배당체는 소장에서 흡수될 수 없으며 gastrointestinal(GI) tract 전반에 걸쳐 흡수되기 전에 장관에 존재하는 미생물의 효소에 의해 가수분해되어 무배당체로 전환되며 당의 β 결합은 장관에서 미생물에 의해 접촉되지 않고서는 분해되지 않는다고 하였다. 배당체 형태의 활성물질을 함유한 감귤을 섭취하는 경우, 소장이나 대장에 존재하는 미생물들이 분비하는 효소에 의해 분해되어 체내에 흡수되어야만 생리활성을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 생리활성은 배당체의 존재에 따라 좌우되며, 배당체의 종류, 결합 위치에 따라 소장에서의 흡수율이 좌우된다. 주로 배당체에 비해 무배당체가 혈액내로의 흡수나 생리활성 면에서 더 효과적이며[5], 소장에 존재하는 β -glucosidase 활성에 의한 deglycosylation 과정이 flavonoid 배당체의 흡수 및 대사 과정에 중요한 것으로 알려졌다[2, 9]. 인체에서 glucocerebrosidase, lactase phlorizin hydrolase와 broad-specific enzyme 등의 세 가지 β -glucosidases가 동정되었으며 broad-specific enzyme은 간, 신장, 소장에 존재하며 흡수, 대사, 배출, 생리활성에 관여하는 것으로 알려졌다. 배당체 형태의 비활성 flavonoid을 분해할 수 있는 효소나 미생물이 존재하지 않으면 무배당체로 분해되지 못하여 흡수율이 떨어져 대부분 체외로 배설된다. 또한 섭취되는 감귤과 같은 식물체 세포벽은 분해하기 어려운 pectin, cellulose, hemicellulose,

*Corresponding author

Tel: 82-42-860-4312, Fax: 82-42-860-4595

E-mail: jsahn@kribb.re.kr

β -1,4-glucan 등과 같은 성분들로 구성되어 있으며, 대부분의 생리활성을 나타내는 물질들은 이들 내부에 존재한다. 이러한 배당체는 조리과정에서는 거의 변형이 되지 않지만 발효나 자기분해과정을 통해 유리된다[2].

배당체 형태의 isoflavonoid를 무배당체 형태의 isoflavonoid으로 전환 시키는 방법들이 보고[6]되어 있지만, 이는 수율이 낮고 산업적으로 이용하기 어려운 단점이 있다. 또한, 대두 중에 존재하는 배당체 isoflavonoid로부터 무배당체 isoflavonoid로의 전환이 가능하다는 보고[13, 17]도 있지만, 기존 공정에 따라 고온에서 생리활성 물질을 추출하는 방법은 수율이 낮고, 100-120°C에서 추출하기 때문에 유익한 성분들이 열에 의해 파괴되고, 갈변현상을 초래하는 단점이 있다.

따라서 식용가능하며 경제성이 있는 다양한 종류의 당 분해효소(cellulase, amylase, β -glucosidase, pectinase) 등을 이용하여 감귤에 함유된 배당체 형태의 비활성형 flavonoid 화합물들을 무배당체 형태의 활성형 flavonoid로 전환시켜 활성형의 flavonoid의 함량을 증가시키고 또한 세포벽 구성 성분의 가수분해를 통한 유효 생리활성 성분의 추출성을 증대시키고자 한다[3, 12]. 감귤은 한정된 계절에 생산되어 장기 보존에 많은 경비가 소요되며, 식이섬유 생산과정 중에는 상당량의 폐기 부산물이 발생하여 그 처리에도 많은 경비가 소요된다[15, 16]. 감귤 중 과피 부분이 20%를 차지하여 가공 및 생과 이용시 막대한 양의 과피가 나오지만 일부만 사료 또는 환약재로 쓰이고 있을 뿐 대부분은 폐기되는 실정으로 이를 처리해야 하는 문제로 이의 활용에 대한 필요성이 대두되고 있는 실정이다[16]. 따라서 flavonoid와 같은 polyphenol의 기능성 성분이 다량 함유되어 있는 감귤 부산물의 과피로부터 hesperidin과 naringin 및 무배당체인 naringenin과 hesperetin의 대량 생산과 flavonoid의 함량 분석에 초점을 맞추므로써 폐자원의 재활용 뿐만 아니라 flavonoid의 생리활성 기능과 더불어 사료첨가제, 식품가공의 첨가제, 기능성식품, 건강보조식품 등의 식품용 신소재 개발 원료로서의 이용 가능성을 검토한다.

재료 및 방법

실험 재료

제주도 남제주군 가시리 소재(23년생 일반조생, 궁천)에서 2000년 2월부터 2001년 1월까지 무농약 재배법에 의해 재배된 감귤을 2001년 2월에 구입하여 사용하였다. 감귤의 당도는 11.0 Brix, 산도는 0.85이었다. 감귤시료를 수도물로 세척한 후, 감귤과 첨가 효소와의 접촉면적을 높이기 위하여 습식 분쇄기로 완전 분쇄하여 실험에 사용될 때까지 -20°C에서 보관하였다.

감귤 분쇄액의 효소 처리

감귤 분쇄액에 동량의 증류수를 첨가하여 감귤 농도를 조

절하여 당 분해효소로는 상업적으로 판매되어 사용하고 있는 AMG 300L (Novo Nordisk Co., Denmark), Pectinex 100L (Novo Nordisk Co., Denmark) 및 Viscozyme (Novo Nordisk Co., Denmark) 등을 단독 혹은 혼합으로 처리하여 최적 효소, 효소 농도(0.01~5%), 효소 반응 pH(3~9), 효소 처리 시간(24~48 h) 및 효소의 조합 등을 분석하고 효소 처리 조건을 선정하였다.

감귤 추출물의 준비

효소 전처리액에서 제주감귤의 주요 생리활성 성분인 flavonoid의 함량을 비교하기 위하여 동량의 methanol (MeOH)을 넣어 2시간 동안 초음파로 추출한 뒤, 진공 건조기로 건조하였다. MeOH 추출물을 증류수에 현탁한 후 chloroform, butanol로 순차적으로 추출하여 분획하고 각 분획물을 완전히 건조시킨 후 MeOH을 이용하여 5 mg/ml, 1 mg/ml의 용액을 만들고 일정량을 취하여 high performance liquid chromatography (HPLC)하였다.

Flavonoid의 분석 및 정량

무배당체의 naringenin과 hesperetin의 함량을 측정하기 위한 HPLC 분석조건으로는 Shimadzu LC-6A(Shimadzu, Japan), YMC ODS-18 (4.6×250 mm, S-4 μ m, YMC, Japan) column, 0.01% trifluoroacetic acid(Sigma Co., USA)가 함유된 30% acetonitrile(Merck Co., Germany) 수용액, 유속 1.0 ml/분이었으며 photodiode array(Shimadzu, Japan)가 장치된 검출기로 분석하였다[10]. 무배당체 flavonoid 표준 시료로 naringenin (Sigma Co., USA)과 hesperetin (Sigma Co., USA)을 구입하여 위와 같은 HPLC 조건에서 분석하였다. HPLC 검출기를 통해 얻은 flavonoid의 농도에 따른 peak의 면적을 측정하여 분석한 시료의 수치와 비교하여 그 함량을 환산하였다.

결 과

감귤 내 존재하는 naringenin과 hesperetin의 분석

감귤을 분쇄한 분쇄액에 동량의 증류수를 첨가한 후 cellulase, β -glucanase 및 xylanase가 주성분인 Viscozyme을 0.1%로 넣어 30°C에서 24시간 동안 교반하면서 효소 반응을 하였다. 이 후, 동량의 MeOH을 첨가하여 효소 반응을 중지시키고, 원심분리한 후 상층액 일부를 취해 실험방법에서와 같은 조건에서 HPLC를 수행하여, 감귤의 주요 활성 flavonoid 무배당체 성분인 naringenin과 hesperetin의 함량을 측정하였다. 효소를 처리하지 않은 감귤과 효소를 처리한 감귤의 naringenin과 hesperetin의 함량을 비교한 결과, 효소 처리를 하지 않은 감귤 추출물에서는 naringenin과 hesperetin의 peak가 약하게 나타난 반면(Fig. 1), Viscozyme을 처리한 감귤 추출물에서는 효소 무처리군에 비해

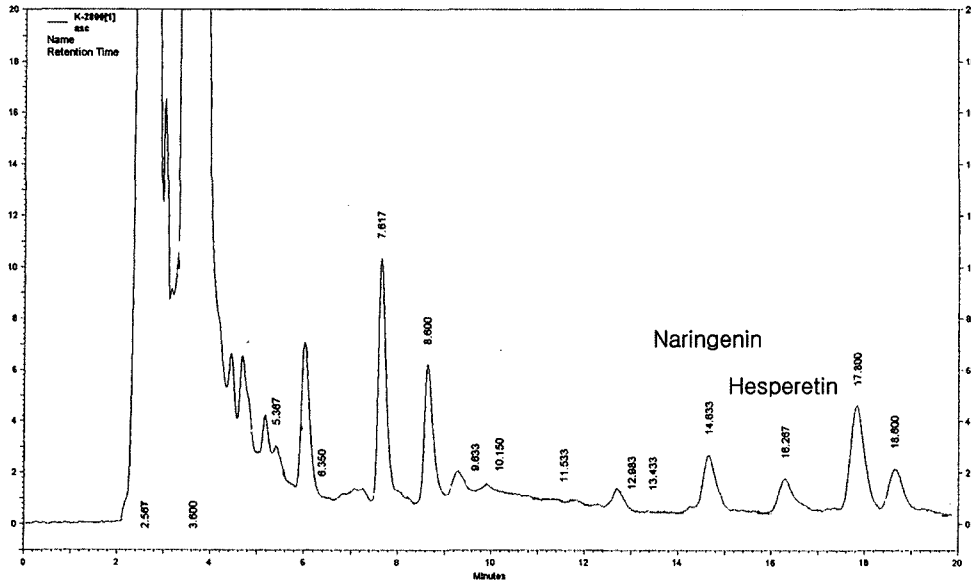


Fig. 1. HPLC chromatogram of naringenin and hesperetin in methanol-extracted citrus peel. HPLC: Shimadzu LC-6A, column: YMC ODS-18 (4.6 × 250 mm, S-4 μm), solvent: 30% acetonitrile + 0.01% trifluoroacetic acid, flow rate: 1.0 ml/min, photodiode array detector (UV 254 nm).

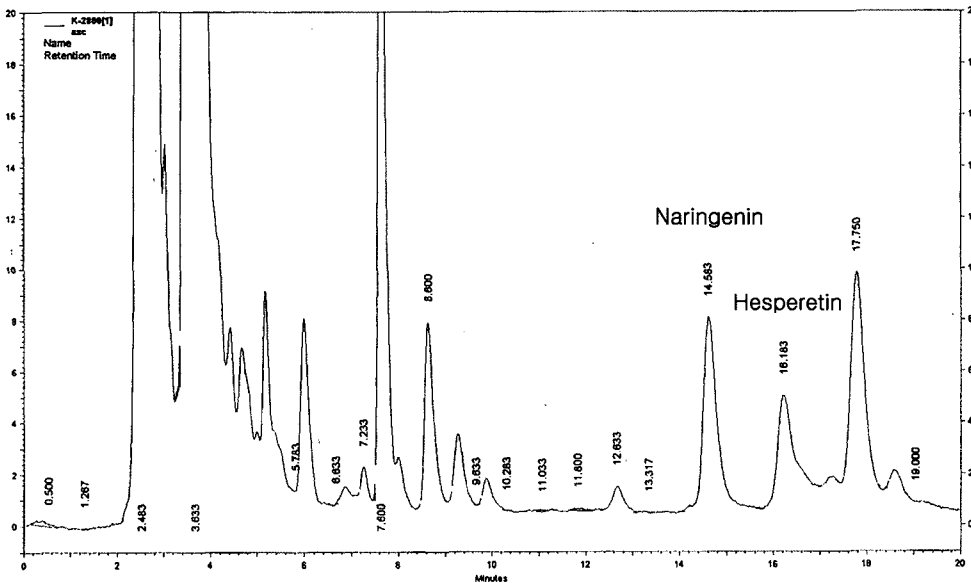


Fig. 2. HPLC chromatogram of naringenin and hesperetin in methanol-extracted citrus peel after the treatment of Viscozyme (1%) at pH 7.0 and 37°C for 24 hrs. HPLC: Shimadzu LC-6A, column: YMC ODS-18 (4.6 × 250 mm, S-4 μm), solvent: 30% acetonitrile + 0.01% trifluoroacetic acid, flow rate: 1.0 ml/min, photodiode array detector (UV 254 nm).

naringenin과 hesperetin의 peak가 매우 증가하여(Fig. 2) 많은 양의 flavonoid 배당체가 Viscozyme에 의해 무배당체로 전환되었음을 확인할 수 있었다. 따라서 각각의 당분해 효소에 의한 flavonoid 배당체의 무배당체로의 전환을 최적화할 수 있는 조건을 비교, 검토하였다.

효소 처리에 의한 감귤 추출물의 naringenin과 hesperetin 함량 변화

감귤 분쇄액에 amylase가 주성분인 AMG 300 L, pectinase가 주성분인 Pectinex 100 L, 또는 cellulase가 주성분인 Viscozyme을 각각 1%로 처리하여 30°C에서 24시간 동안 교반하면서 효소 반응을 유도하였다. 이후, 동량의 MeOH을 첨가하고 감귤을 추출하여 상층액의 일부를 취하고, 위와 같은 조건으로 HPLC를 수행하여 처리한 효소의 종류에 따른 감귤 추출물의 naringenin과 hesperetin의 함량을 비교하였다. 그 결과, 효소반응을 시키지 않은 대조군에

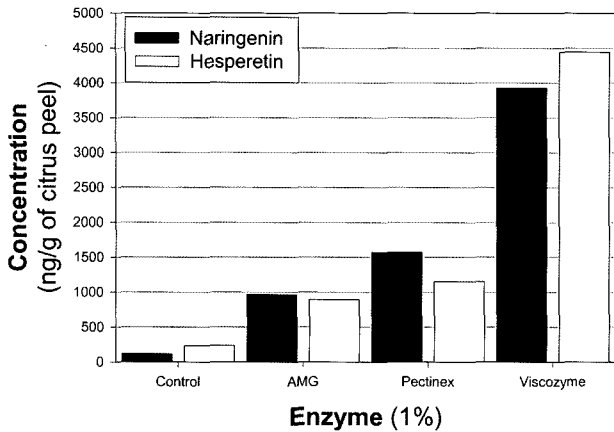


Fig. 3. Concentrations of naringenin and hesperetin in methanol-extracted citrus peel after the treatment with different enzymes. Enzyme reaction : pH 7.0, 24 h, 37°C.

비해 여러 가지 당분해 효소를 처리하였을 때 naringenin과 hesperetin의 함량이 증가하였으며, 특히 Viscozyme으로 처리하였을 경우, naringenin과 hesperetin이 가장 많이 전환되어 20-35 배의 함량 증가를 보였다(Fig. 3).

효소의 농도 변화에 의한 감귤 추출물의 naringenin과 hesperetin의 함량 변화

최적의 당 분해효소의 처리 농도를 분석하기 위하여 감귤 분쇄액에 AMG 300L, Pectinex 100 L, Viscozyme을 각각 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 및 5%의 농도로 처리하여 30°C에서 24시간 동안 교반하면서 효소 반응을 유도하였다. 이후, 동량의 MeOH을 첨가하고 감귤을 추출하여 상층액 일부를 취해, 위와 같은 조건으로 HPLC를 수행하여 처리한 효소의 농도에 따른 감귤에 함유되어 있는 naringenin과 hesperetin의 함량을 비교하였다. 그 결과, 처리한 효소의 종류와 관계 없이 효소의 처리 농도가 증가함에 따라 감귤 추출물의 naringenin과 hesperetin의 함량이 증가하였으며, 농도별로는 5%로 처리하였을 때 가장 함량이 높았다. 또한, Table 1과 유사하게 각각의 효소를 동일한 농도에서 처리한 경우,

Table 1. Concentrations of naringenin and hesperetin in methanol-extracted citrus peel after the treatment with of combined enzymes.

Combined enzymes	Concentration (ng/g of citrus peel)	
	Naringenin	Hesperetin
Control	282	235
AMG 300 L 1%	573	499
AMG 300L 0.8% + Viscozyme 0.2%	987	916
AMG 300L 0.5% + Viscozyme 0.5%	1715	1739
AMG 300L 0.2% + Viscozyme 0.8%	3196	2279
Viscozyme 1%	4112	4982

Enzyme reaction : pH 7.0, 24 h, 37°C

Viscozyme을 처리하였을 때 naringenin과 hesperetin으로 전환되는 함량이 가장 높았다(Fig. 4).

효소 처리 pH에 의한 감귤 추출물의 naringenin과 hesperetin의 함량 변화

Fig. 3과 Fig. 4의 결과를 통해 AMG 300 L과 Viscozyme이 감귤 추출물의 naringenin과 hesperetin의 함량을 많이 증가시킬 수 있었다. 이에 따라, 효소를 처리하고 반응 조건의 pH를 변화하면서 naringenin과 hesperetin의 함량을 조사하여 효소의 최적 반응 pH 조건을 분석하였다. 감귤 분쇄액의 pH가 3이므로 감귤 분쇄액 10 ml에 동량의 멸균수를 가하여 대조군의 pH는 3으로 하고 나머지 감귤 분쇄액의 pH를 5, 7 및 9로 조절한 뒤, AMG 300 L과 Viscozyme을 각각 1%로 처리하여 30°C에서 24시간 동안 교반하면서 효소 반응을 유도하였다. 이후, 동량의 MeOH을 첨가하여 감귤을 추출하고, 상층액 일부를 취해 위와 같은 조건으로 HPLC를 수행하여 처리한 효소의 pH에 따른 감귤 추출물의 naringenin과 hesperetin의 함량을 비교하였다. 그 결과, AMG 300L을 처리한 경우 pH 3으로 조절한 대조구에 비해 pH 5, 7 및 9로 조절하였을 때 모두 naringenin과 hesperetin의 함량이 증가하였으며, 그 중 pH 5로 조절하였을 때의 함량이 가장 많았다. 또한, Viscozyme을 처리한 경우는 pH 3이나 5로 조절하였을 때의 함량이 가장 높았으나 pH 7이나 9에서는 점점 감소하는 경향을 보였다(Fig. 5). 이는 시판되고 있는 AMG 300 L과 Viscozyme의 최적 pH가 4-5인 결과들과 일치하였다.

효소 처리 시간에 따른 감귤 내 naringenin과 hesperetin의 함량 변화

Fig. 3과 Fig. 4의 결과에서와 같이 naringenin과 hesperetin으로의 전환활성이 높은 AMG 300 L과 Viscozyme을 각각 1%로 처리하여 30°C에서 교반하면서 효소 반응을 유도

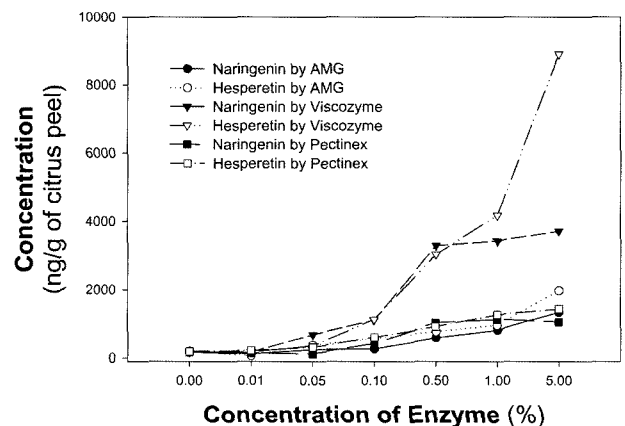


Fig. 4. Concentrations of naringenin and hesperetin in methanol-extracted citrus peel after the treatment with different concentrations of enzymes. Enzyme reaction : pH 7.0, 24 hrs, 37°C.

한 뒤 12, 24 및 48시간째에 시료를 취하였다. 이 후, 10 ml의 MeOH을 첨가하여 효소 반응을 중지시킨 후, 원심분리하여 상층액 일부를 취하여 위와 같은 조건으로 HPLC를 수행하여 처리한 효소의 pH에 따른 감귤추출물의 naringenin과 hesperetin의 함량을 비교하였다. 그 결과, 시간이 지남에 따라 감귤 추출물의 naringenin과 hesperetin의 함량이 증가하는 경향을 보였으며, 24~48시간 효소처리 시 naringenin과 hesperetin으로의 전환량이 가장 높았다(Fig. 6).

효소 조합에 의한 감귤 내 naringenin과 hesperetin의 함량 변화

감귤 분쇄액 10 ml에 naringenin과 hesperetin으로의 전환 활성이 우수하고 다양한 당 분해 양상을 보이는 AMG 300 L과 Viscozyme을 각각 0~1%로 단독 또는 혼합하여 처리하고 30°C에서 교반하면서 효소 반응을 유도하였다. 이 후, 동량의 MeOH을 첨가하여 효소 반응을 중지시킨 후, 원심분

리하여 상층액 일부를 취하여 위와 같은 조건으로 HPLC를 수행하여 처리한 효소의 조합에 따른 감귤추출물의 naringenin과 hesperetin의 함량을 비교하였다. 그 결과, AMG 300 L을 1% 처리한 것에 비해 AMG 300 L과 Viscozyme을 혼합하여 1% 처리한 경우, 감귤 추출물내의 naringenin과 hesperetin의 함량이 높았다. AMG 300 L과 혼합한 Viscozyme의 농도가 증가함에 따라 naringenin과 hesperetin의 함량이 증가하는 경향을 보여 Viscozyme만 1% 처리한 경우, 함량이 더 증가하여 Viscozyme의 전환활성이 가장 우수함을 알 수 있었다(Table 1).

고 찰

무배당체 형태의 화합물이 배당체 형태보다 일반적으로 우수한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되어 naringenin과 hesperetin은 배당체 형태의 비활성 flavonoid인 naringin과 hesperidin에 비해 항산화, 소염, 항암 활성이 우수한 것으로 알려져 있다. 그러나 이들을 분해할 수 있는 효소가 존재하지 않으면 체내에서 흡수율이 떨어지는 문제점이 발생한다. 인간 또는 동물이 감귤을 섭취하면 인간 또는 동물의 체내에 존재하는 당 분해 효소에 의해 naringin과 hesperidin이 naringenin과 hesperetin으로 전환되나 이러한 분해 효소가 체내에 존재하지 않아 체내에서의 흡수율이 떨어져 생리활성을 나타내지 않게 된다.

본 연구 결과, 감귤 내 존재하는 배당체 화합물을 무배당체 화합물로 전환하기 위하여 당 분해효소로는 시판되고 있는 효소 중 amylase가 주성분인 AMG 300 L, pectinase가 주성분인 Pectinex 100 L 및 cellulase, β -glucosidase, xylanase가 주성분인 Viscozyme 등을 사용하여 당 분해효소의 종류에 따라 단독 또는 혼합 처리하여 생리활성이 우수한 무배당체 화합물의 함량을 증가할 수 있었다. 당 분해 효소의 반응을 최적화시키기 위해 먼저 감귤을 분쇄하여 동량의 증류수를 첨가하고, 위와 같은 당 분해 효소를 0.5~5% 첨가하였으며 그 중 5% 첨가시 가장 많은 naringenin과 hesperetin으로의 전환율을 보였다. 또한 효소의 최적반응 pH로는 pH 5~7이었으며 효소 반응 시간으로는 24~48시간이 가장 우수하였다. 감귤에 함유되어 있는 flavonoid 화합물의 함량은 naringenin이 100~200 ng/g(감귤건조중량), hesperetin이 100~220 ng/g(감귤건조중량) 정도이었으나 당 분해효소를 처리하여 얻은 본 방법에 따르면 감귤에 함유되어 있는 활성형 flavonoid 화합물인 naringenin이 1539~6674 ng/g(감귤건조중량), hesperetin이 1974~8906 ng/g(감귤건조중량)으로서 본 실험결과를 통해 감귤 추출물의 flavonoid 화합물의 함량을 약 10배~80배 정도로 증가시킬 수 있었다.

그러므로 본 연구 방법에 의해 제조된 감귤 조성물에는 활성 성분인 naringenin과 hesperetin이 다량으로 존재하기 때문에 당 분해 효소가 체내에 없더라도 다량의 활성 성분

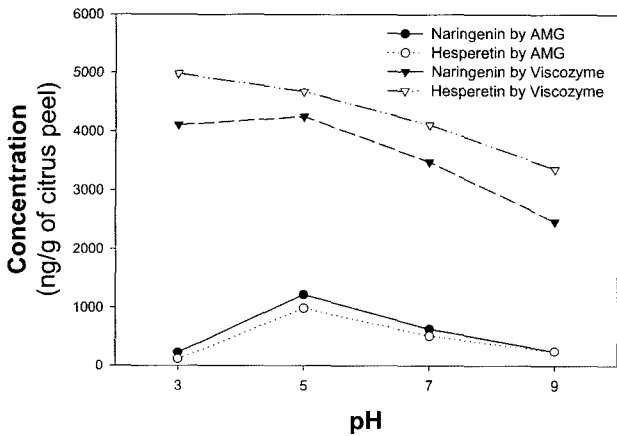


Fig. 5. Concentrations of naringenin and hesperetin in methanol-extracted citrus peel after the treatment with of enzymes in different pH. Enzyme reaction : 1% enzyme, 24 hrs, 37°C.

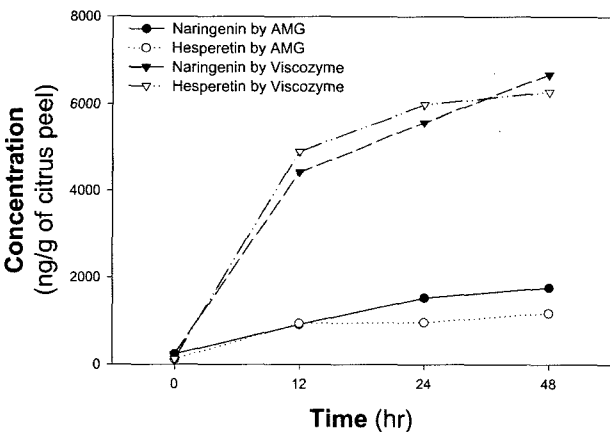


Fig. 6. Concentrations of naringenin and hesperetin in methanol-extracted citrus peel after the treatment with of enzymes in different reaction time. Enzyme reaction : 1% enzyme, pH 7.0, 37°C.

을 손쉽게 흡수할 수 있어서 항산화, 소염 또는 항암 작용을 함으로써 건강을 증진시킬 수 있다. 또한 효소 처리에 의해 제조된 감귤 조성물은 생리활성이 우수한 활성형의 무배당체 형태의 flavonoid 화합물을 다량 함유 하고 있어 효소 반응이 끝난 감귤 반응액은 그대로 사용할 수도 있지만 필요에 따라 건조시켜 사용하여 기능성 식품, 건강보조식품, 가공식품 등의 식품 또는 사료 첨가제로서 유용하게 사용될 수 있다. 특히 감귤 주스 산업에서 쓴맛을 내는 naringin (4,5,7-trihydroxyflavanone-7-rhamnoglucoside)의 화학 구조를 변형해서 쓴맛을 줄이려고 많은 시도[11]들이 진행되어 α -rhamnosidase와 β -glucosidase 활성을 가지고 있는 naringinase으로 naringin을 가수분해하여 쓴맛이 없는 naringenin을 생성하게 하는 것으로 본 연구에 사용된 당 분해효소를 이용함으로써 주스의 쓴맛을 제거하거나 감소할 수 있다.

한편 당 분해효소를 생산하는 장내 미생물을 이용하여 puerarin을 daidzein으로, poncirin을 ponciretin으로, glycyrrhizin을 18 β -glycyrrhetic acid으로 ginsenoside Rb1과 ginsenoside Rb2를 compound K 등의 생리활성이 증강된 유효성분으로 전환한 사례가 많이 보고[1, 8, 14]되었으므로 유용 생물자원 중에 존재하는 배당체 형태의 유효 생리활성 성분을 당 분해효소에 의하여 무배당체로 만드는 방법을 이용하여 참깨로부터 sesaminol, 상백피와 포도로부터 resveratrol, 백강잠, 상백피, 닭의장풀로부터 1-deoxy nojirimycin, 은행잎, 메밀, 양파로부터 quercetin, 황금으로부터 baicalin 등의 무배당체로의 전환에 활용할 수 있다.

요 약

다양한 생리활성을 갖는 flavonoid 화합물이 감귤에 비활성 형태의 배당체 화합물로 다량으로 존재하고 있으므로 비활성 형태의 flavonoid 물질을 활성 형태의 flavonoid 무배당체 물질로 변환 시켜 활성 형태의 flavonoid 화합물을 증가하고 자 하였다. 무배당체 화합물로 전환하기 위하여 시판되고 있는 당 분해효소 중 amylase가 주성분인 AMG 300 L, pectinase가 주성분인 Pectinex 100L 및 cellulase, β -glucosidase, xylanase가 주성분인 Viscozyme 등을 단독 또는 혼합 처리하여 생리활성이 우수한 무배당체 화합물의 함량을 증가할 수 있었다. 감귤에 함유되어 있는 flavonoid 화합물의 함량은 naringenin이 100~200 ng/g(감귤건조중량), hesperetin이 100~220 ng/g(감귤건조중량) 정도이었으나 당 분해효소를 처리한 감귤에 함유되어 있는 활성형 flavonoid 화합물인 naringenin이 1539~6674 ng/g(감귤건조중량), hesperetin이 1974~8906 ng/g(감귤건조중량)으로서 본 실험 결과를 통해 감귤 추출물의 flavonoid 화합물의 함량을 약 10~80배 정도로 증가시킬 수 있었다. 당 분해 효소에 의한 무배당체로의 최적 전환조건으로는 당 분해 효소의 5% 첨가, pH 5~7이었으며 효소 반응 시간으로는 24~48시간이 가

장 우수하였다. 따라서 본 연구에 의해 제조된 감귤 조성물에는 생리활성이 우수한 활성형의 무배당체 flavonoid인 naringenin과 hesperetin을 다량으로 함유하고 있어 기능성 식품, 건강 보조식품, 가공 식품의 식품 원료나 사료 첨가제의 용도로 유용하게 사용할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 한국생명공학연구원 제주생물자원공동연구개발사업과 부산대학교병원 의학연구소 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

REFERENCES

1. Chi, H. and G. E. Ji. 2005. Transformation of Ginsenosides Rb1 and Re from Panax ginseng by Food Microorganisms. *Biotechnol. Lett.* **27**: 765-771.
2. Day, A. J., M. S. DuPont, S. Ridley, M. Rhodes, M. J. Rhodes, M. R. Morgan, and G. Williamson. 1998. Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver beta-glucosidase activity. *FEBS Lett.* **436**: 71-75.
3. Francisco, R. T., P. A. Isabel, and L. M. Augustin. 2001. Enzymatic extraction and transformation of glucovanillin to vanillin from vanilla green pods. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 5207-5209.
4. Frydoonfa, H. R., D. R. McGrath, and A. D. Spigelman. 2003. The variable effect on proliferation of a colon cancer cell line by the citrus fruit flavonoid Naringenin. *Colorectal Dis.* **5**: 149-152.
5. Izumi, T., M. K. Piskula, S. Osawa, A. Obata, K. Tobe, M. Saito, S. Kataoka, Y. Kubota, and M. Kikuchi. 2000. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *J. Nutr.* **130**: 1695-1699.
6. Kao Corp. 1992. Production of isoflavonoid. Japan Patent Application No. 1992190720.
7. Kawaii, S., Y. Tomono, E. Katase, K. Ogawa, and M. Yano. 1999. Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 3565-3571.
8. Lee, D. S., Y. S. Kim, C. N. Ko, K. H. Cho, H. S. Bae, K. S. Lee, J. J. Kim, E. K. Park, and D. H. Kim. 2002. Fecal metabolic activities of herbal components to bioactive compounds. *Arch. Pharm. Res.* **25**: 165-169.
9. Nemeth, K, G. W. Plumb, J. G. Berrin, N. Juge, R. Jacob, H. Y. Naim, G. Williamson, D. M. Swallow, and P. A. Kroon. 2003. Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur. J. Nutr.* **42**: 29-42.
10. Oliveira, E. J. and Watson D. G. 2000. Liquid chromatography-mass spectrometry in the study of the metabolism of

- drugs and other xenobiotics. *Biomed. Chromatogr.* **14**: 351-372.
11. Puri, M. and U. C. Banerjee. Production, purification, and characterization of the debittering enzyme naringinase. *Biotechnol Adv.* **18**: 207-217.
 12. Santamaria, R. I., M. D. Reyes-Duarte, E. Barzana, D. Fernando, F. M. Gama, M. Mota, and A. Lopez-Munguia. 2000. Selective enzyme-mediated extraction of capsaicinoids and carotenoids from chili guajillo puya (*Capsicum annum* L.) using ethanol as solvent. *J. Agric. Food Chem.* **48**: 3063-3067.
 13. Shen, J. L. and B. A. Bryan. 2003. Two-step conversion of vegetable protein isoflavone conjugates to aglycones. USA Patent No. 05827682.
 14. Yim, J. S., Y. S. Kim, S. K. Moon, K. H. Cho, H. S. Bae, J. J. Kim, E. K. Park, and D. H. Kim. 2004. Metabolic activities of ginsenoside Rb1, baicalin, glycyrrhizin and geniposide to their bioactive compounds by human intestinal microflora. *Biol. Pharm. Bull.* **27**: 1580-1583.
 15. 문상욱, 강신혜, 진영준, 박지권, 이영돈, 이영기, 박덕배, 김세재. 2004. 감귤의 발효와 발효산물의 기능적 특성. *한국식품과학회지* **36**: 669-676.
 16. 은종방, 정영민, 우건조. 1996. 감귤과육 및 과피의 식이섬유와 플라보노이드 검색 및 정량. *한국식품과학회지* **28**: 371-377.
 17. 이상린, 박병화, 김항래, 김태현, 이성구, 정운계, 황재성. 2001. 이소플라본의 아글리콘의 제조 방법. 대한민국 특허 제10-0302560-0000호.
 18. 차재영, 조영수. 2001. 감귤류 플라보노이드의 생리기능 활성. *한국농화학회지* **44**: 122-128.

(Received Oct. 19, 2005/Accepted Nov. 29, 2005)