

유자(*Citrus junos* SIEB ex TANAKA)종실 에탄올추출물의 항산화효과

권오천^{1*} · 신정혜¹ · 강민정² · 이수정³ · 최선영³ · 성낙주³

¹남해전문대학 호텔조리제빵과

²창신대학 호텔조리제빵과

³경상대학교 식품영양학과

Antioxidant Activity of Ethanol Extracts from Citron (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) Seed

O-Cheon Kwon^{1*}, Jung-Hye Shin¹, Min-Jung Kang², Soo-Jung Lee³,
Sun-Young Choi³ and Nak-Ju Sung³

¹Dept. of Hotel Culinary Arts & Bakery, Namhae College, Gyeongnam 668-801, Korea

²Dept. of Hotel Culinary & Bakery, Changshin College, Masan 630-522, Korea

³Dept. of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

This study was carried out to evaluate the possibility of citron seed as industrial resource by analyzing chemical properties and the antioxidant activity. Crude lipid content of citron seed was $35.29 \pm 0.18\%$. Total mineral content in citron seed was $1171.64 \text{ mg}/100 \text{ g}$ and the potassium content ($637.99 \pm 5.38 \text{ mg}/100 \text{ g}$) was the highest. The contents of total phenols and flavonoids in citron seed were $24.44 \pm 1.10 \text{ mg}/100 \text{ g}$ and $2.27 \pm 0.18 \text{ mg}/100 \text{ g}$, respectively. The electron donating ability using DPPH, hydroxy radical scavenging activity and SOD-like activity were increased significantly by increased the sample concentration in the reaction mixture. The nitrite scavenging ability was dependent on pH of reaction mixture and sample concentration. It was higher activity at pH 1.2 than pH 4.2. During the storage of soybean oil, the peroxide and acid values of the oil were significantly increased regardless of addition of citron extract. But antioxidant activity of soybean oil added with ethanol extract from citron seed was superior to that of control (sample with no addition) at 16 days of storage.

Key words: citron seed, antioxidant activity

서 론

식품의 가공 및 저장 중 자연적으로 발생하는 식품의 자동산화는 식품 자체의 색깔이나 맛에 나쁜 영향을 끼치게 되므로 이러한 산화를 억제하기 위하여 우리나라에서는 butylated hydroxy toluene(BHT) 및 butylated hydroxy anisole(BHA) 등과 같은 페놀계 합성 항산화제가 가장 많이 사용되고 있다(1). 합성 항산화제가 체내 흡수 후 발암성 물질화 또는 일부가 독성물질로 전환되는 등의 인체 독성을 가지는 것으로 알려짐에 따라(2,3) 점차 이들의 사용이 규제되고 있으며, 안전성이 확보된 천연물로부터 새로운 천연 항산화제의 개발을 위한 노력이 많이 시도되고 있다(4). 현재 식물류로부터 얻을 수 있는 대표적인 천연 항산화물질로서 플라보노이드와 그 유도체, 페놀화합물 등이 밝혀져 있으며(5,6), 식물성 유지에 함유되어 있는 tocopherol은 안정성이 높은 천연 항산화제로 이용되고 있으나 단독으로는 산화반응의 저해능력이 낮아(7) 식품공업에 다양하게 이용되는데 한계가 있다.

유지방종실(oil seed)은 유지나 단백질 자원으로서 중요한 위치에 있으나 원예 생산물의 가공 처리시 부산물로서 거의 폐기되어지고 있다(8). 폐자원의 개발이라는 견지에서 지금까지 무시되어진 여러 유실수의 부산물인 종실에 관한 연구가 수행되고 있으나, 성분분석(8-10)에 국한되어져 왔으며, 최근에 포도씨(11,12), 홍화씨(13), 석류씨(14)의 항산화활성, 감귤류 종자의 발암성 nitrosamine 생성억제(15) 등에 관한 연구가 이루어져 있다.

유자(*Citrus junos* SIEB ex TANAKA)는 뛰어난 향과 특유의 산미를 지니므로 주로 과육 및 과피를 사용하여 유자청으로 제조되어 유자차로 소비되고 있으며(16,17), 유자종실은 유자 전과에 대해 약 14.4~16.3% 정도 차지하는데(18,19), 이는 유자청 및 유자 착즙액의 제조 후 대부분이 폐기되어진다(17). 따라서 유자청 제조 후 폐기되어지는 유자종실을 이용하여 새로운 기능성 식품소재로서의 활용방안을 모색하고자 유자종실의 성분을 분석하고 추출물의 식용유지에 대한 항산화활성을 검증하였다.

*Corresponding author. E-mail: kwonoc@mail.namhae.ac.kr
Phone: 82-55-860-5373, Fax: 82-55-860-5371

재료 및 방법

실험재료

경상남도 남해군에서 생산된 완숙유자를 구입하여 종실만 분리하고 흐르는 물로 3회 이상 세척한 후 그늘에서 10일간 건조시킨 것을 시료로 하였다. 대두유(CJ사, Korea)는 시판 PET(polyethylene tetraphthalate)병 제품을 구입하여 사용하였다.

유자종실 에탄올추출물의 제조

조분쇄한 유자종실 건조물에 대해 10배의 75% 에탄올을 가한 후 60°C의 수욕상에서 환류 냉각시키면서 6시간씩 2회 반복 추출하였다. 추출된 시료는 여과 후 50°C에서 회전식 진공증발 농축기로 완전 건조시킨 다음 -40°C에서 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

일반성분의 분석

유자종실의 일반성분은 상법에 따라 수분은 105°C 상압가열 건조법, 회분은 550°C 직접 회화법, 조지방은 soxhlet 추출법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법으로 정량하였다.

무기물의 분석

무기물의 함량은 Chung 등(20)의 방법을 응용하여 분해용 플라스크에 시료 2 g을 취하고 진한 황산과 진한 질산을 각각 10 mL씩 차례로 가하여 hot plate상에서 무색으로 변할 때까지 분해한 후, 100 mL로 정용·여과하여 Inductively Coupled Plasma Spectrometer(Atom Scan 25, Thermo Jarrell Ash Co., France)로 분석하였다. 이때, approximate RF power는 1150 W, pump rate는 100 rpm, nebulizer pressure는 30 psi, observation height는 15 mm로 하였다.

수율, 총 페놀 및 총 플라보노이드 측정

75% 에탄올추출물에 대한 추출수율은 추출전의 유자종실 건조물의 중량에 대한 추출물의 중량백분율로 계산하였다.

총 페놀함량은 Folin-Denis법(21)에 따라 각 추출물 1 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 및 10% Na₂CO₃용액을 각 1 mL씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. Caffeic acid(Sigma Co., USA)를 0~100 µg/mL의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 시료추출물의 총 페놀함량을 산출하였다.

총 플라보노이드는 Moreno 등(22)의 방법에 따라 추출물 0.5 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin(Sigma Co., USA)을 표준물질로 하여 0~100 µg/mL 농도 범위에서 얻어진 표준 검량선으로부터 추출물의 총 플라보노이드함량을 계산하였다.

유자종실 에탄올추출물의 항산화효과

전자공여능은 Blois(23)의 방법을 변형하여 일정한 농도의 시료에 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH, 5 mg/100 mL ethanol) 용액 2 mL를 가하여 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 분광광도계(Optizen 2120UV, Mecasys Co. Ltd, Korea)로 흡광도를 측정하고, 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

환원력은 Oyaizu(24)의 방법에 따라 농도별 유자종실추출물 1 mL에 인산완충액(200 mM, pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide 각 1 mL를 차례로 가한 다음 50°C의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA용액 1 mL를 가하여 13,500×g에서 15분간 원심분리한 후 얻은 상정액 1 mL에 증류수 1 mL와 ferric chloride 1 mL를 가하여 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하여 값으로 나타내었다.

Hydroxy radical(\cdot OH)의 소거능은 Gutteridge(25)의 방법에 따라 시험관에 1 mM FeSO₄/EDTA 용액 0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 100, 250, 500 및 1000 µg/mL 농도의 시료액 각 0.2 mL씩, 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 1.2 mL, 10 mM H₂O₂ 0.2 mL를 가한 다음 37°C에서 1시간 반응시킨 후 2.8% TCA(trichloroacetic acid)용액 1 mL를 가하고 95°C에서 10분간 중탕하여 냉각시킨 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성은 Marklund와 Marklund(26)의 방법에 따라 시료액 0.2 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 pH 8.5의 tris-HCl buffer상(25°C, 10 min)에서 방치한 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

모든 항산화실험은 대조구로 BHT(Sigma Co., USA)와 α -tocopherol(Aldrich Chemical Co., USA)을 시료와 동일 농도로 첨가하여 동일조건에서 실험을 행하고 그 결과를 비교하였다.

아질산염 소거능 측정

Kato 등(27)의 방법에 따라 시료액 1 mL에 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL를 가한 후, 0.1 N HCl buffer 및 0.2 M citrate buffer로 각각 반응용액을 pH 1.2 및 4.0으로 조정하여 다음 반응용액의 총 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 2% acetic acid 3 mL, 30% acetic acid로 조제한 Griess 시약 0.4 mL를 차례로 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계로 520 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가 전후에 잔존하는 아질산염을 산출하였다.

대두유 기질에서의 항산화효과 측정

유자종실 에탄올추출물을 대두유에 0, 100 및 1000 µg/mL의 농도로 각각 첨가하고, positive control로써 100 µg/mL의 BHT를 첨가하여 60°C의 항온기에 저장하면서 일정

시간별로 과산화물가 및 산가를 측정하였다(28). 과산화물가는 시료 1 g을 acetic acid와 chloroform 혼합액(3:2, v/v) 6 mL에 용해시킨 후 KI 포화용액 1 mL를 가하여 5분간 암소에 보관한 다음, 증류수 6 mL 및 1% 전분용액 0.2 mL를 차례로 첨가한 후 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액으로 적정하여 생성된 과산화물의 mg 당량수로 구하였다. 산가는 시료 2 g에 20 mL의 ether-ethanol 용액(2:1, v/v), 1% phenolphthalein을 차례로 가한 후 0.1 N KOH 용액으로 적정하였다.

통계처리

본 실험 결과는 3회 이상 반복 측정하여 얻은 결과를 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, SPSS 10.0을 사용하여 통계 처리하였다. 각 시료군에 대한 유의차 검정은 분산분석을 한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

유자종실의 일반성분 및 무기물함량

유자종실의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 유자종실은 지방의 함량이 $35.29 \pm 0.18\%$ 로 가장 높았고, 다음으로 조단백질($16.12 \pm 0.32\%$), 수분($7.23 \pm 0.17\%$)이었으며, 회분의 함량은 3% 미만으로 정량되었다. 이는 고흡산 유자종실의 수분이 9.2%, 단백질이 15.5%, 조지방의 함량이 34.2%인 것으로 보고한 결과(18)와 유사하였다. Hwang 등(29)은 품종을 달리하여 7종의 포도씨를 분석한 결과, 수분은 평균 10%, 조단백질의 함량은 평균 11.2%, 지방은 28.6%로 포도씨에서 조지방의 함량이 높아 식용유지 자원으로써 이용 가치가 높다고 하였다. 현재 식용유로 이용되고 있는 해바라기씨의 조지방 함량은 22.1%(30), 홍화씨는 15.47%(31)인 것을 고려해 볼 때 유자종실의 식용유로서의 이용 가능성이 높을 것으로 판단된다.

Table 2는 유자종실의 무기질함량을 ICP로 분석한 결과이다. 무기물은 10종이 검출되었으며, 총 함량은 1171.64 mg/100 g이었다. 특히 칼륨의 함량은 637.99 ± 5.38 mg/100 g으로 가장 높았으며, 다음으로 인(191.67 ± 9.81 mg/100 g), 칼슘(171.84 ± 12.54 mg/100 g), 마그네슘(102.46 ± 2.73 mg/100 g)의 순서이며 이들 4종의 무기질함량은 100 mg/100 g

Table 1. Proximate composition of citron seed (% dry base)

	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Citron seed	$7.23 \pm 0.17^{1)}$	16.12 ± 0.32	35.29 ± 0.18	2.88 ± 0.09

¹⁾Each value represents mean ± SD, $n \geq 5$.

Table 2. Contents of minerals in citron seed

Minerals	Contents (mg/100 g)
Ca	$171.84 \pm 12.54^{1)}$
P	191.67 ± 9.81
K	637.99 ± 5.38
Mg	102.46 ± 2.73
Na	41.58 ± 3.92
Mn	0.61 ± 0.12
Cu	0.79 ± 0.18
Zn	3.56 ± 0.25
Fe	16.67 ± 1.17
Al	4.47 ± 0.58
Total	1171.64

¹⁾Each value represents mean ± SD, $n \geq 5$.

이상으로 기타 원소에 비해서 다량으로 함유되어 있었다. 유자의 과육, 과피 및 종실의 무기물을 분석한 결과 칼륨, 인, 칼슘 및 마그네슘이 검출되었는데 과육과 과피에서는 인의 함량이 22.44 mg/100 g 이하로 가장 낮았으나 종실에서는 128.21 mg/100 g으로 다량 검출되어 과육과 과피 부분과는 무기물 조성비가 다르다는 Kim(32)의 보고는 본 실험의 결과와도 일치하는 경향이였다.

유자종실 에탄올추출물의 수율, 총 페놀 및 총 플라보노이드함량

유자종실의 75% 에탄올에 대한 추출수율은 $9.82 \pm 1.21\%$ 였으며 조추출물의 총 페놀함량은 24.44 ± 1.10 mg/100 g, 총 플라보노이드함량은 2.27 ± 0.18 mg/100 g이었다(Table 3).

6종의 감귤류 종자로부터 총 페놀 및 플라보노이드함량을 분석한 결과에서 총 페놀은 20.9~53.1 mg/100 g, 플라보노이드의 함량은 11.5~23.5 mg/100 g이었으며, 당유자에서 각각 53.1 mg/100 g 및 22.4 mg/100 g으로 정량되었다고 한 보고(15)와 비교해볼 때 본 실험의 결과는 다소 낮은 함량이었다. 포도씨의 총 페놀함량(12)은 열수추출물에서 14.3%, 70% 에탄올추출물에서 51.0%였으며, 석류씨(14)의 경우에는 물추출물에서 47 mg/g, 에탄올추출물은 78 mg/g으로 보고되어 있다.

유자종실 에탄올추출물의 항산화효과

유자종실 에탄올추출물의 항산화효과를 측정하기 위하여 DPPH에 대한 전자공여능, 환원력, hydroxy radical의 소거능 및 SOD 유사활성을 측정한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 전자공여능, hydroxy radical 소거능 및 SOD 유사활성은 유자종실 에탄올추출물의 농도가 증가함에 따라 유의적으로 그 활성이 상승하였다.

DPPH 용액을 기질로 하여 측정한 유자종실 에탄올추출

Table 3. Extraction yield, total phenolic compounds and total flavonoid contents of 75% ethanol extracts from citron seed

	Extraction yield (%)	Total phenolic compounds (mg/100 g)	Total flavonoids (mg/100 g)
Citron seed	$9.82 \pm 1.21^{1)}$	24.44 ± 1.10	2.27 ± 0.18

¹⁾Each value represents mean ± SD, $n \geq 5$.

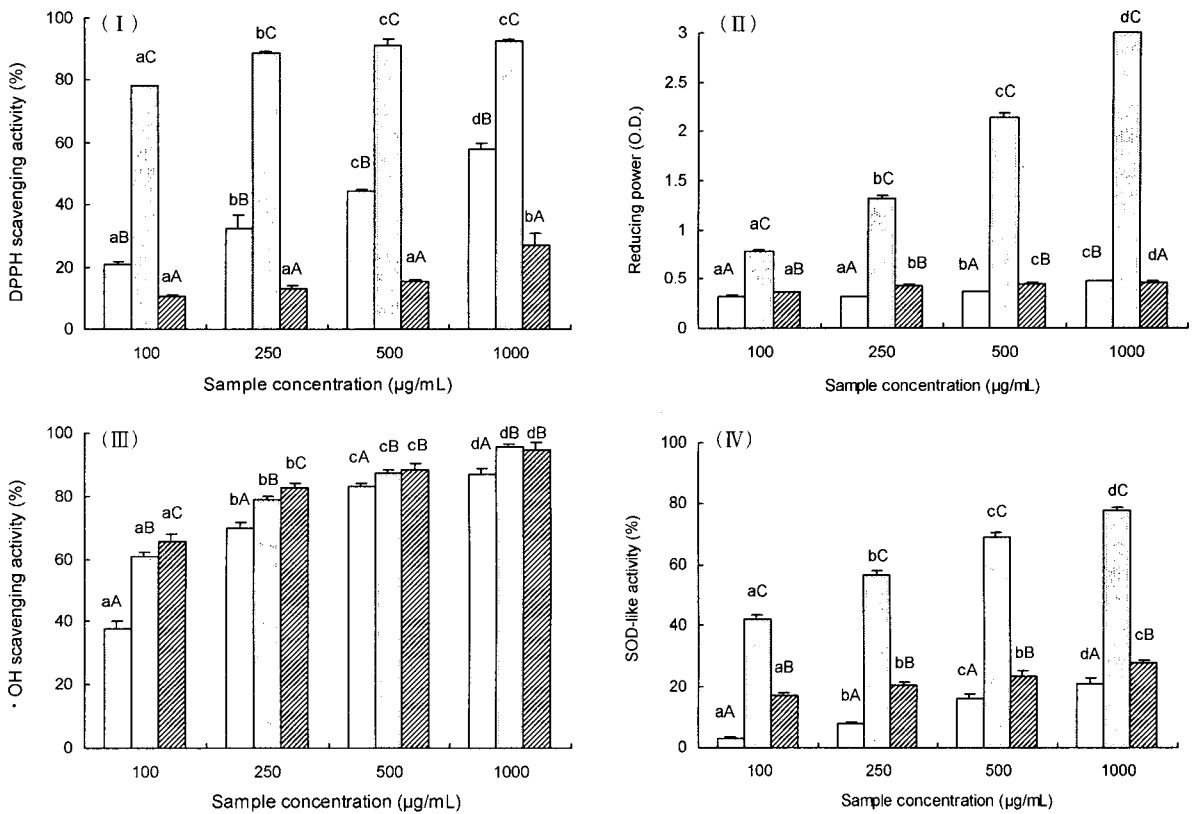


Fig. 1. Antioxidant activity of ethanol extracts from citron seed.

(I): DPPH scavenging activity, (II): reducing power, (III): ·OH scavenging activity, (IV): SOD-like activity.

^{a-d}Values with different superscripts within a concentration in the same sample indicate significant difference from each other at p<0.05.

^{A-C}Values with different superscripts within the samples in the same concentration indicate significant difference from each other at p<0.05.

□ Citron seed Ex, ▨ BHT, ▩ Tocopherol.

물의 전자공여능은 Fig. 1(I)에 나타난 바와 같이 시료량 100~1000 µg/mL일 때 20.65±0.98~57.94±2.07%로 나타나 시료의 첨가 농도가 높을수록 비례적이지는 않으나 유의적으로 전자공여능이 높게 나타났다. 유자종실 에탄올추출물은 대조구로 사용된 BHT에 비해서는 다소 낮았으나, tocopherol에 비해서는 유의적으로 높게 정량되어, 1000 µg/mL의 tocopherol 첨가시 27.25±3.46%로 유자종실추출물에 비해 약 50%의 효과를 나타내었다. 유자 착즙액의 전자공여능은 1×10⁴ M DPPH의 농도에서 0.1% 농도의 시료액 첨가시 80% 이상의 활성을 보여 유효성분으로 페놀, hesperidin 및 naringin 등의 상호작용인 것으로 보고되어 있다(33). 홍화씨의 전자공여능 실험에서 항산화활성 물질인 N-feruloylserotonin은 BHT, BHA 및 tocopherol 등에 비해 우수한 항산화활성을 지니는 것으로 알려져 있다(34). Park과 Oh(11)는 포도의 종자와 과피 에탄올추출물을 이용하여 전자공여능을 비교한 결과 종자추출물에서 유리라디칼의 소거능이 우수하여 과피와 종자의 전자공여능에 영향을 주는 성분이 각기 다른 것으로 추정하였다.

유자종실 에탄올추출물의 환원력은 Fig. 1(II)에 나타난 바와 같이 시료량의 증가와 더불어 유의적으로 상승하였다.

그러나 BHT 및 tocopherol과 비교해볼 때 유의적으로 낮은 효과를 나타내었으나, 1000 µg/mL의 농도에서 유자종실 에탄올추출물은 0.48±0, tocopherol은 0.46±0.01로 시료의 환원력이 다소 높았다.

Hydroxy radical에 대한 유자종실 에탄올추출물의 소거능을 검토하기 위하여 deoxyribose상에서 실험한 결과(Fig. 1(III)), 소거능은 37.85±2.40~87.26±1.64%의 범위였다. 대조구로 사용된 BHT 및 tocopherol은 100 µg/mL가 첨가되었을 때 60% 이상의 소거능을 보였으며, 유자종실 에탄올추출물은 250 µg/mL 첨가시에 이와 유사한 소거능을 나타내어 BHT 및 tocopherol에 비해서 소거능이 낮았으나 500 µg/mL 첨가시 80% 이상의 소거능을 나타내어 ·OH의 포집능력이 우수한 것으로 생각된다.

Superoxide(O₂⁻)의 산화억제작용을 측정하기 위해 superoxide와 반응하여 갈변물질을 내는 pyrogallol 자동산화반응을 측정한 결과는 Fig. 1(IV)와 같다. 유자종실 에탄올추출물을 농도별로 첨가했을 때 2.91±0.60~20.64±2.24%로 pyrogallol의 감소를 나타내었으나, positive control인 BHT 및 tocopherol보다는 유의적으로 낮은 활성을 보였다. Shin 등(34)은 유자 착즙액 0.01~0.2% 농도 범위의 SOD 유사활성

은 10.2~20.1%였다고 보고한 바 있으며, 0.1% 농도의 감귤 과피는 8.5%의 SOD 유사활성이 있다는 보고도 있다(35). Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 물질은 대부분이 phytochemical에 속하는 저분자 물질로 이들을 함유하는 식물류의 섭취로 생체내에서 superoxide를 제거함으로써 노화 및 산화적 장애의 방어효과를 가지는 것으로 보고되고 있다(36).

pH에 따른 아질산염 소거능

유자종실 에탄올추출물의 농도를 각각 100, 250, 500 및 1000 µg/mL로 달리하여 pH 1.2 및 4.2에서 아질산염 소거능을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 모든 실험구에서 시료의 첨가 농도가 증가할수록 아질산염의 소거능이 상승하였으나 유의적인 차이는 적었다. 즉, pH 1.2의 반응용액에서 유자종실 에탄올추출물의 아질산염 소거능은 69.20±1.20~77.32±0.38%였으며, pH 4.2에서는 30.17±3.21~37.30±1.84%로 나타나 전반적으로 pH 4.2보다 인체 위장의 pH와 유사한 pH 1.2에서 아질산염 소거능이 유의적으로 높게 나타났다. 이는 positive control인 BHT 및 tocopherol에서도 같은 경향성을 보였다. 특히 pH 1.2의 반응조건에 100 µg/mL의 시료를 첨가한 경우 유자종실 에탄올추출물이 BHT 및 tocopherol에 비해서 아질산염 소거능이 유의적으로 높았으며, 그 외의 농도에서는 유자종실 에탄올추출물과 BHT의 소거능이 서로 유사하였으며, tocopherol은 소거능이 다소 낮았다.

아질산염 소거능은 pH 의존성이 아주 높는데, 이런 현상은 페놀화합물의 함량이 높은 시료군에서 더 민감하게 나타나므로 페놀화합물이 아질산염 소거에 주된 영향을 주는 물질인 것으로 보고되어 있다(37). Oh 등(15)은 감귤류 종자

메탄올추출물의 아질산염 소거능은 pH 3.4보다 pH 1.2에서 높았고, 반응시간은 1시간에서 3시간으로 할 경우 상승하였으나, 오히려 5시간 반응시킬 경우에는 감소하는 경향으로 감귤류 종자에 함유된 페놀 및 플라보노이드에 기인된 결과라고 하였다. Shin 등(38)은 유자주스와 유자주스로부터 분획한 유기산 획분, ascorbate 및 phenol 획분을 이용하여 아질산염 소거능을 측정된 결과 유자주스>유기산 획분>phenol 획분>ascorbate 획분의 순서로 높았다고 하였으며, 이러한 경향은 N-nitrosodimethylamine(NDMA)의 생성억제 반응에도 영향을 미치는 것으로 나타났다고 보고하였다. 따라서 유자종실추출물도 아질산염을 소거시키는 작용이 우수하므로 환경으로부터 노출될 수 있는 발암성 nitrosamine의 생성 억제에 효능을 나타낼 수 있을 것으로 추정된다.

대두유 기질에서의 항산화효과

유자종실 에탄올추출물의 항산화효과를 측정하기 위하여 대두유를 기질로 하여 0, 100 및 1000 µg/mL 농도의 유자종실 에탄올추출물을 첨가한 실험구와 100 µg/mL의 BHT를 첨가한 positive control에 대해서 저장기간에 따른 과산화물가 및 산가를 측정된 결과는 Fig. 2 및 3과 같다.

Fig. 2에 나타낸 바와 같이 기질로 사용한 대두유의 과산화물가는 2.08±0.13 meq/kg이었으며, 저장기간이 증가함에 따라 유의적으로 상승하여 저장 4일에 5.70±0.28 meq/kg, 16일에는 87.82±1.88 meq/kg으로 나타났다. 저장 4일에 유자종실 에탄올추출물 첨가구의 과산화물가는 14.34±1.02 meq/kg(100 µg/mL 첨가), 20.86±1.63 meq/kg(1000 µg/mL 첨가)이었으며, 이 또한 저장기간이 증가함에 따라 유의적으로 상승하여 저장 16일에 각각 76.88±1.06 meq/kg, 76.69±

Table 4. Nitrite scavenging ability of ethanol extracts from citron seed in different pH reaction system (%)

Sample	Sample conc. (µg/mL)	pH condition	
		1.2	4.2
Citron seed EtOH extract	100	69.20±1.20 ^{1)bc*}	30.17±3.21 ^{aA}
	250	69.70±1.48 ^{ab*}	32.96±2.56 ^{abA}
	500	74.48±0.11 ^{bB*}	33.09±1.30 ^{abA}
	1000	77.32±0.38 ^{cB*}	37.30±1.84 ^{ba}
BHT	100	65.12±1.79 ^{ab*}	32.84±1.94 ^{aA}
	250	70.14±2.57 ^{bB*}	34.82±1.71 ^{aAB}
	500	72.30±3.62 ^{bAB*}	36.80±2.44 ^{ab}
	1000	78.56±0.93 ^{cB*}	45.42±2.43 ^{bB}
Tocopherol	100	57.06±0.49 ^{aA*}	33.89±1.41 ^{aA}
	250	65.24±1.96 ^{ba*}	38.35±1.79 ^{bB}
	500	68.15±1.52 ^{cA*}	44.24±0.67 ^{cC}
	1000	70.26±0.93 ^{cA*}	48.21±0.95 ^{dB}

¹⁾ Each value represents mean±SD, n≥3.
^{a-d} Values with different superscripts within a concentration in the same sample indicate significant difference from each other at p<0.05.
^{A-C} Values with different superscripts within the samples in the same concentration indicate significant difference from each other at p<0.05.
^{*} Significant difference between pH 1.2 and 4.2 in the same sample and concentration at p<0.05.

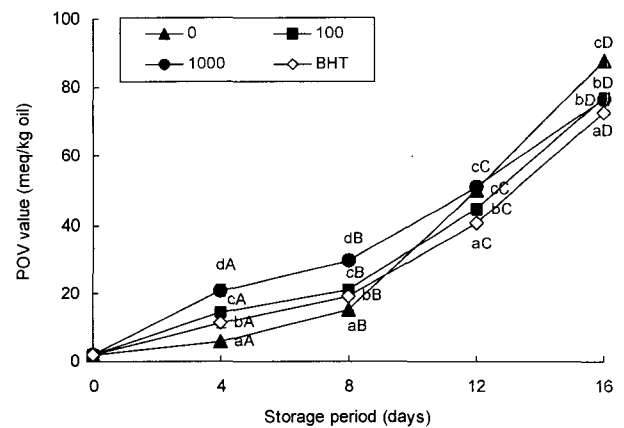


Fig. 2. Change of peroxide value of the soybean oil containing ethanol extracts from citron seed during storage at 60°C. 0: no addition of citron seed extract, 100: added with 75% ethanol extracts (100 µg/mL), 1000: added with 75% ethanol extracts (1000 µg/mL), BHT: added with BHT (100 µg/mL).
^{a-d} Values with different superscripts within a sample in the same storage period represent significant difference at p<0.05.
^{A-D} Values with different superscripts within a storage period in the same sample represent significant difference at p<0.05.

1.51 meq/kg이었다. 저장 초기에는 시료의 첨가량이 증가할수록 과산화물가가 유의적으로 상승되었으나, 저장 16일에는 시료 첨가량에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다. 유자종실 에탄올추출물의 저장기간에 따른 과산화물가의 변화는 저장 8일까지는 무첨가구에 비해 시료 첨가구에서 유의적으로 높은 함량의 과산화물 생성을 보였으나, 저장 16일에 시료 무첨가구에 비해 유자종실 에탄올추출물 첨가구의 과산화물 생성이 유의적으로 더 낮았다.

Lee 등(39)은 홍화유에 녹차 및 로즈마리추출물을 첨가하여 과산화물가를 측정하고 저장초기에는 대조구와 비슷하였으나 저장기간이 경과함에 따라 대조구보다 낮은 과산화물가를 나타낸다고 하여 본 실험과 비슷한 결과였다. Kang 등(40)은 울금 에탄올추출물을 돈지, 팜유, 대두유에 각각 첨가하여 항산화효과를 비교한 결과 대두유에서 항산화효과가 가장 낮았는데, 이는 대두유에 함유된 다량의 불포화 지방산의 함량에 기인된 결과라고 하였다. 정향추출물의 대두유에 대한 항산화작용은 메탄올 및 에테르추출물에서만 나타났으며 물추출물에서는 효과가 없었는데 그 이유로 정향에 함유된 eugenol 및 그와 관련된 화합물이 지용성 물질이며 이들 물질에 의해 항산화작용이 나타났기 때문이라고 한 보고도 있다(41).

유자종실 에탄올추출물의 저장 중 산가의 변화는 Fig. 3과 같다. 대두유의 산가는 0.15 ± 0.10 mg KOH/g oil이었으며, 저장기간이 증가함에 따라 0.98 ± 0.06 mg KOH/g oil에서 9.36 ± 0.34 mg KOH/g oil로 유의적인 상승을 나타내었다. BHT 첨가구는 시료 무첨가구에 비해서 낮은 결과를 보였다. 저장 4일에 유자종실 에탄올추출물 1000 µg/mL 첨가구는 100 µg/mL 첨가구보다 약 2배 정도 높은 산가를 보였으나,

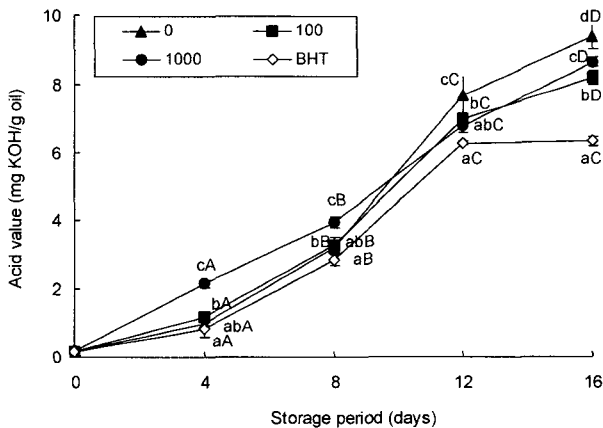


Fig. 3. Change of acid value of the soybean oil containing ethanol extracts from citron seed during storage at 60°C. 0: no addition of citron seed extract, 100: added with 75% ethanol extracts (100 µg/mL), 1000: added with 75% ethanol extracts (1000 µg/mL), BHT: added with BHT (100 µg/mL).

^{a-d} Values with different superscripts within a sample in the same storage period represent significant difference at $p < 0.05$.

^{A-D} Values with different superscripts within a storage period in the same sample represent significant difference at $p < 0.05$.

저장 16일 후에는 비슷한 결과로 나타났다. 유자종실 에탄올추출물의 저장기간에 따른 산가의 변화도 과산화물의 변화와 같은 경향으로 저장초기에 비해 저장 16일째에 시료 무첨가구에 비해 유자종실 에탄올추출물의 첨가구에서 낮은 산가를 보여 유리지방산의 생성을 억제하는 것으로 나타났다.

유자종실 에탄올추출물 및 BHT를 첨가한 대두유가 무첨가구에 비해 과산화물가 및 산가가 비슷하거나 오히려 높게 나타난 것은 식물성 대두유를 기질로 사용한 항산화 실험결과(41)와 비슷한 경향이었으며, 팜유 및 돈지를 사용한 연구보고(40,42)와는 상이한 결과였다.

본 실험에서 유자종실 에탄올추출물은 유자종실로부터 얻은 조추출한 물질로서 항산화활성이 BHT보다 낮았으나, tocopherol보다는 다소 우수하였다. 따라서 현재 유자종실이 거의 활용되지 못하고 전량 거의 폐기되고 있는 실정을 감안해 볼 때 유자종실의 기능성 및 생리활성 규명 등을 통한 미이용 폐자원의 활용도를 높일 수 있는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

폐자원의 기능성 식품으로서 활용 가능성을 평가하기 위하여 유자종실의 일반성분 분석 및 항산화활성을 검토하였다. 유자종실의 조지방의 함량은 $35.29 \pm 0.18\%$ 이었으며, 총 무기질함량은 1171.64 mg/100 g으로 칼륨의 함량은 637.99 ± 5.38 mg/100 g으로 가장 높았다. 총 페놀함량은 24.44 ± 1.10 mg/100 g, 총 플라보노이드함량은 2.27 ± 0.18 mg/100 g으로 정량되었다. 전자공여능, hydroxy radical 소거능 및 SOD 유사활성은 유자종실 에탄올추출물의 농도가 증가함에 따라 유의적으로 항산화효과가 상승하였다. 아질산염 소거능은 모든 실험구에서 시료의 첨가 농도가 증가할수록 상승하였으나 유의적인 차이는 적었으며, 전반적으로 pH 4.2보다 pH 1.2에서 아질산염 소거능이 유의적으로 높게 나타났다. 대두유 기질에서 과산화물가 및 산가는 유자종실추출물의 첨가 유무에 관계없이 저장기간에 따라 증가하였으며, 저장 16일에 시료 무첨가구에 비해서 유의적으로 높은 항산화활성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 산학연 공동기술개발 컨소시엄사업 연구과제의 일환으로 수행된 결과의 일부로서 연구비를 지원해준 관계자에 감사드립니다.

문 헌

1. Son JY, Rhim JH, Son HS. 1995. Effect of some synthetic and natural antioxidants on the oxidative stability of skip

- jack oil. *Korean J Food Nutr* 8: 88-92.
2. Frag RS, Ali MN, Taka HS. 1990. Use of some essential oils as natural preservatives for butter. *JAOCs* 68: 188-192.
 3. Osawa T, Namiki M. 1981. A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves. *Agric Biol Chem* 45: 735-743.
 4. Andarwulan N, Fariaz D, Wattimena GA, Shetty K. 1999. Antioxidant activity associated with lipid and phenolic mobilization during seed germination of *Pangium edule* Reinw. *J Agric Food Chem* 47: 3158-3163.
 5. Huson B, Lewis J. 1987. Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oil phospholipid as synergist. *Food Chem* 19: 537-541.
 6. Hammerschmidt PA, Pratt DE. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J Food Sci* 43: 556-559.
 7. Halliwell B, Hoult RJ, Blake DR. 1988. Oxidants inflammation and anti-inflammatory drugs. *FASEB J* 2: 2867-2870.
 8. Yoon HS, Park JS. 1985. Lipid composition and protein pattern of *Prunus Tomentosa* Thunberg seed. *Korean J Food Sci Technol* 17: 248-253.
 9. Yoon HS, Choi C, Oh MJ. 1983. Studies on the development of food resources from waste seeds. *Korean J Food Sci Technol* 15: 128-132.
 10. Lee KJ, Han JS, Lee SW, Park CR. 1975. Investigation of lipids in hot pepper. *Korean J Food Sci Technol* 7: 91-95.
 11. Park SJ, Oh DH. 2003. Free radical scavenging effect of seed and skin extracts of black olympia grape (*Vitis labruscana* L.). *Korean J Food Sci Technol* 35: 121-124.
 12. Jang JK, Han JY. 2002. The antioxidant ability of grape seed extracts. *Korean J Food Sci Technol* 34: 524-528.
 13. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1127-1132.
 14. Koh JH, Hwang MO, Moon JS, Hwang SY, Son JY. 2005. Antioxidative and antimicrobial activities of pomegranate seed extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 171-179.
 15. Oh HS, An YS, Na IS, Oh MC, Oh CK, Kim SH. 2003. Inhibition of N-nitrosodimethylamine formation of extracts from citrus seeds. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 19: 640-646.
 16. Kim YT. 1997. Main composition analysis of citron (*Citrus junos* Seib.) and production of their juice and vinegar. *MS Thesis*. Gyeongsang National University.
 17. Nam HW, Hyun YH. 2003. Drying of citron juice from by-product of citron tea manufacturing. *Korean J Food Nutr* 16: 334-339.
 18. Lee HY, Kim YM, Shin DH, Sun BK. 1987. Aroma components in Korean citron (*Citrus medica*). *Korean J Food Sci Technol* 19: 361-365.
 19. 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: 704-708.
 20. Chung MJ, Shin JH, Lee SJ, Hong SK, Kang HJ, Sung NJ. 1998. Chemical compounds of wild and cultivated horned rampion, *Phyteuma Japonicum* Miq. *Korean J Food & Nutr* 11: 437-443.
 21. Gutfinger T. 1958. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
 22. Moreno MIN, Isla MIN, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacology* 71: 109-114.
 23. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
 24. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr* 44: 307-315.
 25. Gutteridge JM. 1984. Reactivity of hydroxyl and hydroxyl-like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid-reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. *Biochem J* 224: 761-767.
 26. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
 27. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoindins. *Agric Bio Chem* 51: 1333-1338.
 28. AOCS. 1990. *Official methods and recommended practices*. 4th ed. American Oil Chemist's Society, Illinois. p 8-53.
 29. Hwang JT, Kang HC, Kim TS, Park WJ. 1999. Lipid component and properties of grape seed oils. *Koren J Food Nutr* 12: 150-155.
 30. Choi KY, Ko YS. 1975. Studies on the constituents of Korean edible oils and fats. part 3. Studies on the oil soluble constituents of sunflower seeds. *Korean J Nutr* 12:75-85.
 31. Kim JH, Kwak DY, Choi MS, Moon KD. 1999. Comparison of chemical compositions of Korean and Chinese safflower seed. *Korean J Food Sci Technol* 31: 912-918.
 32. Kim KJ. 2003. Studies on constituents and removing bitter substabce of Yuza (*Citrus junos* Sieb). *MS thesis*. Sunchon National University. p 31.
 33. Shin JH, Lee JY, Ju JC, Lee SJ, Cho HS, Sung NJ. 2005. Chemical properties and nitrite scavenging ability of citron (*Citrus junos*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 496-502.
 34. Baeg NI, Bang MH, Song JC, Lee SY, Park NK. 1999. N-feruloylserotonin, antioxidative component from the seed of *Carthamus tinctorius* L. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 366-368.
 35. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant and nitrite scavenging ability of waste resource extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 589-593.
 36. Kuramoto T. 1992. Development and application of food materials from plant extract such as SOD. *Fd Process* 27: 22-23.
 37. Yeo SG, Yeum DM, Lee DH, Ahn CW, Kim SB, Park YH. 1994. The nitrite scavenging effects by components of green tea extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 287-292.
 38. Shin JH, Lee JY, Choi HS, Lee SJ, Jung KH, Sung NJ. 2004. Screening of effective factor to inhibition of NDMA formation in yuza. *J Fd Hyg Safety* 19: 126-131.
 39. Lee MS, Lee SH, Song KB. 2004. Effect of various natural antioxidants on the safflower oil. *Korean J Food Preservation* 11: 126-129.
 40. Kang WS, Kim JH, Park EJ, Yoon KR. 1998. Antioxidative property of turmeric (*Curcuma Rhizoma*) ethanol extract. *Korean J Food Sci Technol* 30: 266-271.
 41. Park SI, Son JY. 2004. Effects of clove extracts on the autoxidation and thermal oxidation of soybean oil. *Korean J Food Cookery Sci* 20: 81-85.
 42. Choi U, Shin DH, Chang YS, Shin JI. 1992. Antioxidant activity of ethanol extract from *Rhus javanica* Linne on edible oil. *Korean J Food Sci Technol* 24: 320-325.