

감귤 과피 가수분해물의 플라보노이드 조성 및 기능적 특성

이명희¹ · 허 담² · 조덕조³ · 이기동⁴ · 윤성란^{3*}

¹경북과학대학 바이오식품과, ²동우당 제약(주)

³경북과학대학 전통식품연구소, ⁴대구신기술사업단 전통생물소재산업화센터

Flavonoids Components and Functional Properties of Citrus Peel Hydrolysate

Myung-Hee Lee¹, Dam Huh², DeokJo Jo³, Gee-Dong Lee⁴, and Sung-Ran Yoon^{3*}

¹Dept. of Bio-Food, Kyongbuk College of Science, Gyeongbuk 718-850, Korea

²Dongwoodang Pharmarcy Co., Ltd., Gyeongbuk 770-701, Korea

³Traditional Food Institute, Kyongbuk College of Science, Gyeongbuk 718-850, Korea

⁴DG-Traditional Bio-Materials Industry Center, Daegu 704-230, Korea

Abstract

Response surface methodology was employed to investigate the change of flavonoids components of citrus peel hydrolysate using Viscozyme L as the enzyme. As citrus peels were hydrolyzed by the enzyme, hesperetin and naringenin contents of flavonoids aglycone form increased. The optimal enzyme treatment conditions which were superimposed of the maximized levels for soluble solid, hesperetin, and naringenin contents were enzyme concentration of 1.5% and reaction time of 18 hr. In enzyme-untreated citrus peels (CC), soluble solid content was 48.49% and the content of hesperidin only detected flavonoids was 58.85 mg/g. In the case of optimal enzyme-treated citrus peels (CE), soluble solid content was 72.97% and the contents of naringin, hesperidin, naringenin and hesperetin were 1.56 mg/g, 31.31 mg/g, 2.58 mg/g and 3.90 mg/g, respectively. In the results of electron donating ability and angiotensin converting enzyme inhibition activity, the activity of CE was higher than that of CC.

Key words: citrus peel, flavonoids, hesperetin, naringenin, enzyme

서 론

우리나라의 과수 생산량은 연간 2,500 천톤 내외인데 이중 25%를 감귤이 차지하고 있어 감귤은 우리나라에서 가장 중요한 과수이면서 세계적인 작물이라 할 수 있다(1). 감귤은 대부분 생과의 형태로 소비가 이루어지며, 일부는 착즙하여 주스가공으로 이용되어지고 있다. 감귤 가공시에는 부산물로 과피가 많이 발생하여 이의 처리가 문제점으로 대두되고 있으며, 또한 감귤 과피의 활용에 대한 필요성이 대두되고 있다(2,3). 감귤 과피에는 carotenoids, bioflavonoids, pectin 및 terpenes가 풍부하게 함유되어 있으며(4-6), 천연에서 발견되고 있는 약 300여종의 carotenoids계 색소 중 115종이 감귤에 존재한다(7). 감귤 과피의 bioflavonoids는 약 60여종이 분리되어 그 구조가 밝혀져 있으나 90%이상이 hesperidin과 naringin이다(8-10). Hesperidin은 모세혈관의 수축을 촉진시켜 혈압을 강하하여 고혈압을 예방하며(11,12), naringin은 혈액내 LDL 콜레스테롤의 함량을 줄이는 작용이 있다(9). 또한 flavonoid의 기능성에 대한 평가로서는 항산화 작용, 순환기계 질환의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균,

항바이러스, 지질저하 작용, 면역증강 작용, 모세혈관 강화 작용 등이 보고된 바 있다(13,14).

대부분의 플라보노이드 화합물은 배당체의 형태로서 전체 flavonoid의 50~80%를 차지하며, 감귤의 대표적인 배당체 형태인 naringin과 hesperidin은 이들의 aglycone 형태인 naringenin과 hesperetin에 비해 항산화, 소염, 항암 활성 등이 낮은 것으로 알려져 있다(15). 따라서 감귤 배당체 형태의 flavonoid 화합물을 aglycone 형태의 화합물로 전환함으로써 기능성을 향상시킬 수 있을 것으로 여겨진다. 배당체를 aglycone 형태로 전환시키는 방법에 관한 연구로는 대두 중에 존재하는 배당체 isoflavonoid로부터 열처리를 통하여 aglycone 형태 isoflavonoid로의 전환이 가능하다는 보고(16,17)가 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. 이에 Kim과 Shun(18)의 연구에서는 β -glucosidase를 이용하여 대두의 isoflavone을 aglycone 형태전환의 최적조건을 설정하였다. 감귤의 경우에는 감귤 과피 과육 전체에 다양한 종류의 당분해효소(cellulase,

*Corresponding author. E-mail: sryoon@kbcs.ac.kr
Phone: 82-54-979-9212, Fax: 82-54-979-9210

amylase, β-glucosidase, pectinase) 등을 이용하여 감귤에 함유된 배당체 형태 flavonoid 화합물들을 aglycone 형태의 flavonoid로 전환과 세포벽 구성성분의 가수분해를 통한 유효 생리활성 성분의 추출성을 증대시킨 연구 보고가 있다 (19-21). 그러나 감귤 과피 자체의 효소적 가수분해 조건 설정 및 기능적 특성에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 감귤 과피의 효소 가수분해 처리조건에 따른 flavonoids 조성 변화를 반응표면분석으로 모니터링하여 최적 효소처리 조건을 설정하고, 기존에 한약재로 사용되고 있는 진피와 효소 처리한 감귤 과피에 있어서 기능적 특성을 비교하여 감귤 과피 활용의 기초자료를 제공하고 자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 감귤은 2006년 제주산 온주밀감(*Citrus unshiu*)으로 (주)옴니허브에서 공급받아 선별 세척한 후 감귤 과피를 분리하여 사용하였다. 또한 감귤 과피를 건조한 진피를 (주)옴니허브에서 공급받아 대조구로 사용하였다.

감귤 과피 가수분해

감귤 과피를 0.5 cm 크기로 세절 후 3배의 증류수를 첨가하였다. 가수분해를 위해 사용된 효소로는 상업적으로 판매되어 사용되고 있는 cellulase, β-glucosidase, xylanase가 주성분인 Viscozyme L(Novo Nordisk Co., Denmark)을 단독으로 효소농도(0, 0.5, 1, 1.5, 2%) 및 효소 반응시간(0, 6, 12, 18, 24 hr)을 달리하여 40°C에서 효소 처리하여 가수분해하였다. 감귤 과피 효소처리 조건의 실험계획은 중심합성실험계획(22)에 의하여 설계하였고, 반응표면 회귀분석을 위해서는 SAS(Statistical Analysis System) program(23)을 사용하였다. 중심합성실험계획에서 반응조건은 효소농도(X₁) 및 효소반응 시간(X₂)이며, 각 반응조건은 -2, -1, 0, 1, 2 다섯 단계로 부호화하였다(Table 1). 효소처리된 감귤 과피는 90°C에서 10분간 가열하여 효소 불활성화 한 후 반응물 전체를 동결건조를 하여 -4°C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

플라보노이드 추출

감귤 과피에서 플라보노이드 추출은 Perfetti 등(24)의 방법을 참조하여 다음과 같이 하였다. 분말화된 시료 1 g을 취하여 20% DMF methanol(N,N-dimethylformamide와

methanol을 20:80의 부피비로 혼합)용액 100 mL씩을 가하여 4시간동안 90°C 항온수조에서 환류 추출하였다. 추출액을 냉각한 후 여과하고 20% DMF methanol 용액을 사용하여 100 mL로 정용하였다. 이 액을 0.45 μm filter로 여과하여 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. 또한 이 플라보노이드 추출액을 일정농도(2.5, 5.0, 10.0 mg/mL)로 희석하여 전자공여능, ACE 저해활성 측정에 사용하였다.

플라보노이드 함량 분석

플라보노이드의 함량을 측정하기 위하여 HPLC(Alliance, Waters Co., USA)분석조건으로는 칼럼으로 XTerra Phenyl 5 μm, 3 mm×250 mm(Waters Co, USA), 유속 0.4 mL/min, 용매로 acetonitrile : methanol : H₂O(10:20:70)를 사용하였으며, photodiode array(Waters Co., USA)가 장착된 검출기로 분석하였다. 플라보노이드의 표준시료는 naringin(Sigma Co., USA), naringenin(Sigma Co., USA), hesperidin (Sigma Co., USA), hesperetin(Sigma Co., USA)을 구입하여 분석하였다.

가용성 고형분 함량 측정

효소처리된 감귤진피 분말의 가용성 고형분 함량을 측정하기 위해서 시료 1 g을 95°C 증류수 100 mL에 1 hr 추출한 후 함량을 구한 수기에 20 mL를 취하여 105°C에서 증발 건조시켜 그 무게를 측정하였으며, 추출액 조제에 사용된 원료량(건물량)에 대한 백분율로써 가용성 고형분 함량(%)을 구하였다.

전자공여능 측정

시험용액의 전자공여능(electron donating ability, EDA) 시험은 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)를 사용한 방법(25)으로 측정하였다. 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 증류수 100 mL를 가하고 50% ethanol 용액을 공시험으로 하여 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정한 후 이 용액 5 mL를 취하여 시료 용액 0.5 mL와 혼합한 후 상온에서 30초간 방치시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 표시하여 전자공여능으로 하였다.

$$EDA(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{공시험의 흡광도}} \right) \times 100$$

Angiotensin converting enzyme 저해활성

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성은 Cushman과 Cheung의 방법(26)을 변형하여 행하였다. 즉, 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질인 hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma, H1635) 2.5 mM을 녹인 액 0.15 mL, ACE(Sigma, A6778, 0.2 unit/mL) 0.1 mL와 각 추출시료 용액 0.1 mL를 혼합하였으며, 대조구는 추출시료 대신 증류

Table 1. Level of enzyme treatment conditions in experimental design

Enzyme treatment conditions	Level				
	-2	-1	0	1	2
Enzyme concentration (%)	0	0.5	1	1.5	2
Reaction time (hr)	0	6	12	18	24

Table 2. Experimental data on soluble solid and flavonoids content of Korean citrus peels under enzyme treatment conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No. ¹⁾	Conditions		Soluble solid content (%)	Flavonoids content (mg/g)			
	Enzyme concentration (%)	Time (hr)		Naringin	Hesperidin	Naringenin	Hesperetin
	Control ²⁾		48.49	0.00	58.85	0.00	0.00
1	1.5 (1)	18 (1)	72.97	1.56	31.31	2.58	3.90
2	1.5 (1)	6 (-1)	67.44	1.72	38.97	1.82	1.95
3	0.5 (-1)	18 (1)	66.49	0.88	37.80	1.68	2.04
4	0.5 (-1)	6 (-1)	63.03	1.91	46.10	0.79	1.02
5	1.0 (0)	12 (0)	70.88	1.67	40.06	1.14	1.75
6	1.0 (0)	12 (0)	71.58	1.71	41.47	1.25	1.91
7	2.0 (2)	12 (0)	70.83	1.03	39.05	1.78	3.48
8	0.0 (-2)	12 (0)	53.68	0.00	54.17	0.20	0.13
9	1.0 (0)	24 (2)	66.45	0.44	39.10	2.84	3.67
10	1.0 (0)	0 (-2)	50.36	0.00	54.30	0.00	0.00

¹⁾The number of experimental condition by central composite design. ²⁾Dried citrus peel at 40°C.

Table 3. Polynomial equations calculated by RSM program on soluble solid and flavonoids content for enzyme treatment condition of citrus peels

Responses	Polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Soluble solid content	$Y = 37.106667 + 24.384524X_1 + 2.617877X_2 - 9.461429X_1^2 + 0.1725X_1X_2 - 0.09244X_2^2$	0.9589	0.0071
Naringin	$Y = -1.618333 + 3.052381X_1 + 0.286032X_2 - 1.270357X_1^2 + 0.004167X_1X_2 - 0.012259X_2^2$	0.9372	0.0162
Hesperidin	$Y = 68.221667 - 22.591429X_1 - 1.932341X_2 + 7.320714X_1^2 + 0.053333X_1X_2 + 0.051463X_2^2$	0.8693	0.0654
Naringenin	$Y = -1.12000 + 1.915476X_1 + 0.119067X_2 - 0.468571X_1^2 - 0.010833X_1X_2 - 0.000268X_2^2$	0.9043	0.0363
Hesperetin	$Y = -0.5600 + 0.931667X_1 + 0.084028X_2 - 0.1400X_1^2 + 0.0775X_1X_2 - 0.000764X_2^2$	0.9698	0.0039

¹⁾X₁: enzyme concentration (%), X₂: time (hr).

수 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 1 N HCl 0.25 mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 ethyl acetate를 1.5 mL 첨가하였다. Ethyl acetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 1 mL의 증류수를 가하여 추출된 hippuric acid를 228 nm에서 흡광도를 측정된 후 다음 식에 따라 저해율을 구하였다.

$$\text{ACE inhibition activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 반응구의 hippuric acid 생성량

B: 대조구의 hippuric acid 생성량

통계처리

실험결과는 3회 반복한 평균값을 적고, 통계처리는 SAS program을 사용하였으며, Duncan's multiple range test를 실시하여 시료간 값의 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

효소처리에 따른 가용성 고형분 함량의 변화

감귤 과피 부분은 분해하기 어려운 pectin, cellulose, hemicellulose, β-1,4-glucan 등과 같은 성분들로 구성되어져 있으며, 대부분의 생리활성을 나타내는 물질들은 이들 내부에 존재한다. 당분해 효소처리에 따른 감귤 과피의 가용성 고형분 함량 측정 결과는 Table 2와 같다. 가용성 고형분

함량의 경우 건조만 한 진피의 경우 48.49%, 효소처리를 하였을 경우 63.03~72.97%로 가용성 고형분 함량이 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과를 바탕으로 효소처리에 따른 가용성 고형분 함량의 변화를 살펴보기 위해 2차 회귀식을 구한 결과 Table 3과 같으며, 전반적으로 회귀식의 R² 0.9589로 1%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났다. 이러한 회귀식을 바탕으로 Fig. 1과 같은 최대를 가지

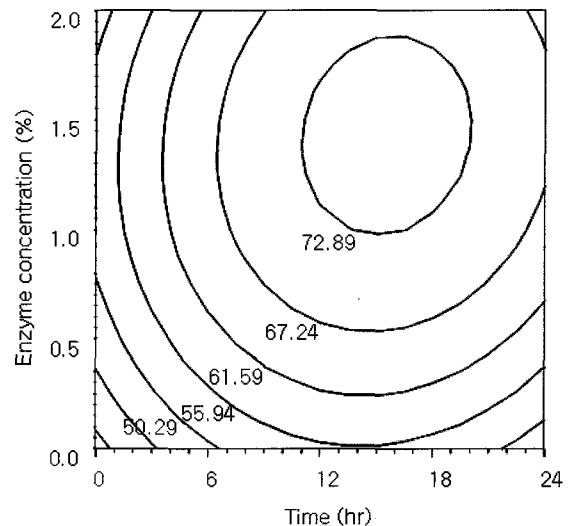


Fig. 1. Contour map for soluble solid content of citrus peels as a function of enzyme concentration and reaction time.

Table 4. Predicted level of optimum enzyme treatment conditions on soluble solid and flavonoids content for citrus peels by the ridge analysis

Responses	Condition		Estimated responses	Morphology
	Enzyme concentration (%)	Time (hr)		
Soluble solid content (%)	0.61	0.97	50.96 (Min)	Maximum
	1.41	15.38	74.82 (Max)	
Naringin	0.44	21.96	-0.11 (Min)	Maximum
	1.20	11.88	1.94 (Max)	
Hesperidin	1.48	18.08	34.13 (Min)	Minimum
	0.32	3.25	56.14 (Max)	
Naringenin	0.23	4.34	-0.20 (Min)	Maximum
	1.34	23.27	2.89 (Max)	
Hesperetin	0.40	2.44	0.06 (Min)	Saddle point
	1.69	20.74	4.74 (Max)	

는 형태의 그래프로 나타났다. 회귀식을 바탕으로 가용성 고형분 함량에 대한 최대값을 예측한 결과 효소농도 1.41% 및 반응시간 15.38 hr일 때로 예측되었다(Table 4). Eun 등(27)의 연구에서 감귤 과피의 식이섬유는 불용성 식이섬유가 4.77%, 가용성 식이섬유가 1.09%, 총 식이섬유가 5.86%로 상당히 많은 양이 존재한다고 보고하였다. 이러한 식이섬유들이 cellulase, β-glucosidase, xylanase가 주성분인 Viscozyme L 효소에 의해 가수분해되어져 가용성 고형분 함량이 증가되어졌을 것으로 여겨진다.

효소처리에 따른 플라보노이드 성분 변화

감귤류의 주된 플라보노이드 성분은 naringin과 hesperidin 그리고 이들의 aglycone 형태인 naringenin과 hesperetin이며, 그 밖에도 rutin, deosmine, nobiletin, tangeretin 등이 있다(15). 따라서 본 연구에서 효소처리를 하였을 때 감귤 과피의 주된 플라보노이드 성분, 즉 naringin, hesperidin, naringenin, hesperetin의 변화를 살펴보고자 하였으며, 그 결과 Table 2에서 보는 바와 같다. 즉 건조만 한 진피의 경우 hesperidin 함량이 58.85 mg/g으로 나타났으며, 그 외 플라보노이드는 검출되지 않았다. 그러나 효소처리함에 따라 hesperidin 함량은 감소하였으며 반면에 naringenin 및 hesperetin 함량은 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과를 바탕으로 SAS 프로그램을 통하여 2차 회귀식을 구한 결과 Table 3과 같이, hesperidin은 R² 0.8693으로 10%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났으며, naringin, naringenin 및 hesperetin의 경우는 R² 0.9 이상 및 5%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났다. 각각의 회귀식을 바탕으로 contour map 및 최적 예측조건을 구한 결과 Fig. 2 및 Table 4와 같다. 즉 naringin의 경우 효소농도 1.20% 및 반응시간 11.88 hr에서 최대값으로 예측되었으며, hesperidin의 경우는 효소처리를 함에 따라 감소하는 것으로 나타났으며, 효소처리 농도 0.32% 및 반응시간 3.25 hr일 때 최대값으로 예측되었다. Naringenin의 경우 효소 반응시간이 길어질수록 그 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 효소처리 농도 1.34% 및 반응시간 23.27 hr일

때 최대값으로 예측되었다. Hesperetin의 경우 효소처리 농도가 증가하고 반응시간이 길어질수록 그 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 효소처리 농도 1.69% 및 반응시간 20.74 hr일 때 최대값으로 예측되었다. 즉 효소처리에 따라 배당체 형태의 플라보노이드 화합물이 aglycone 형태로 변화되는 것으로 나타났다. 효소처리 조건의 플라보노이드 조성의 영향을 살펴본 결과 Table 5와 같이 전반적으로 반응시간에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다. Ahn 등(21)의 연구에서는 Viscozyme L을 처리한 감귤의 경우 naringenin이 1539~6674 ng/g(감귤건조중량), hesperetin이 1974~8906 ng/g(감귤건조중량)으로 본 실험의 결과에 비해 낮은 함량으로 나타났다. 이는 감귤전체를 분쇄하여 효소처리하여 낮게 나온 것으로 사료되며, 이 또한 flavonoids 배당체가 Viscozyme L에 의해 aglycone 형태로 전환되는 것으로 보고하였다. 또한 대두의 경우 대부분이 genistin, daidzin과 같은 배당체 형태로 존재하지만 대두 발효식품에서는 미생물의 β-glucosidase에 의해 당잔기가 가수분해되어 체내에 흡수가 용이한 aglycone의 형태로 많이 존재한다고 보고되어져 있다(28). 본 연구에서도 효소처리를 함에 따라 flavonoid 배당체가 aglycone 형태로 전환되는 것을 볼 수 있었으며 이는 감귤 과피의 기능적 특성에도 영향을 줄 것으로 보여진다.

감귤 과피의 효소처리 조건 최적화

Aglycone 형태인 naringenin과 hesperetin은 배당체 형태보다 일반적으로 우수한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되어져 있다(15). 따라서 감귤 과피의 효소처리 조건을 최적화 하기 위해 가용성 고형분 함량이 높고 플라보노이드 조성 중 기능성이 우수하다고 보고된 hesperetin 및 naringenin의 함량이 높은 조건을 설정하고자 하였다. 그 결과 각각의 contour map을 겹치기 한 결과 Fig. 3과 같이 나타났으며, 최적의 효소처리 범위를 설정한 결과 효소처리 농도 1.1~1.8% 및 반응시간 15~20 hr으로 나타났다(Table 6). 이러한 범위 중 임의의 조건 즉 효소처리 농도 1.5% 및 반응시간 18 hr을 최적 효소처리 조건으로 설정하였다. 이는 중심합성 실험계획 조건의 1번으로 이때의 가용성 고형분 함량은

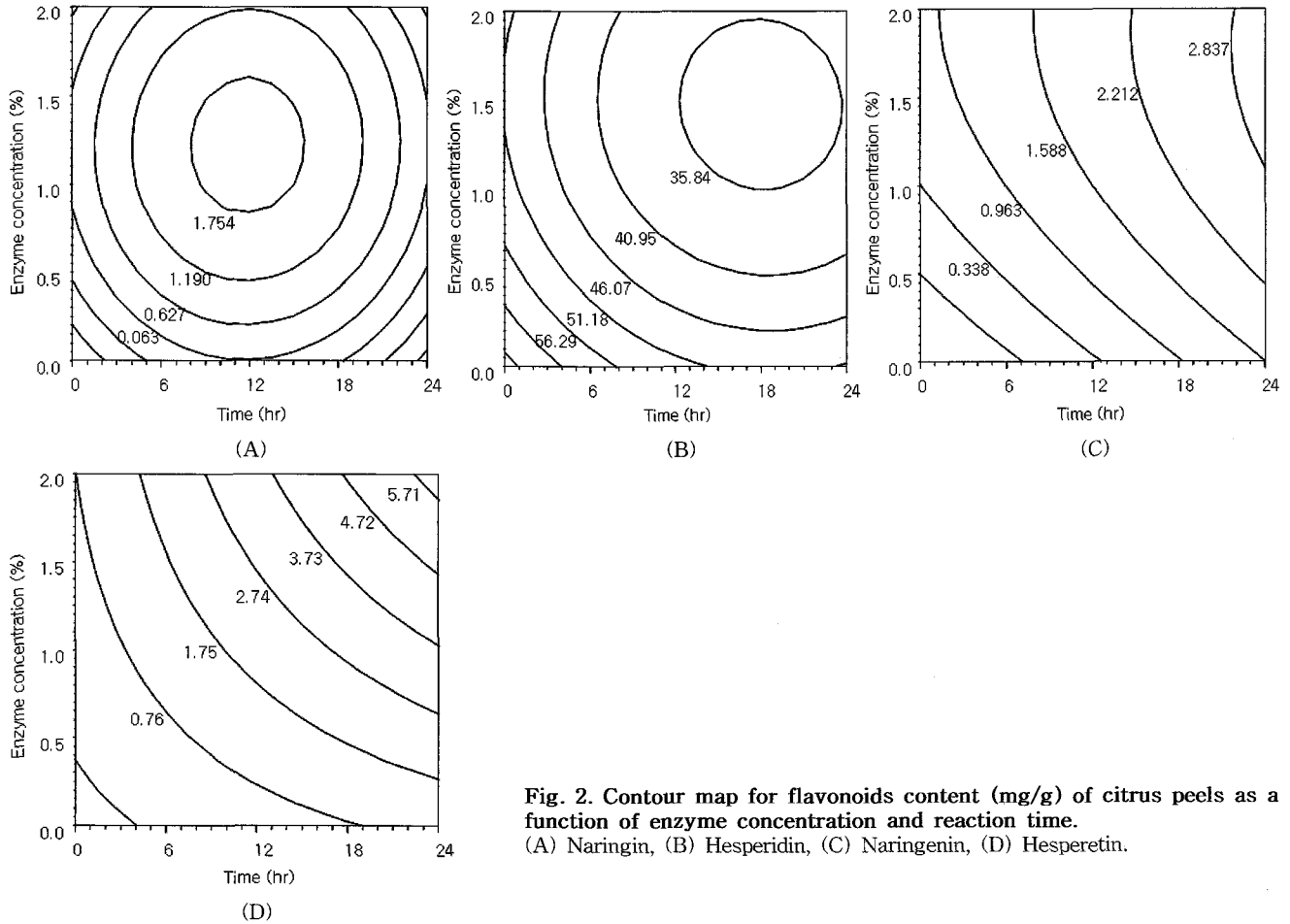


Fig. 2. Contour map for flavonoids content (mg/g) of citrus peels as a function of enzyme concentration and reaction time. (A) Naringin, (B) Hesperidin, (C) Naringenin, (D) Hesperetin.

Table 5. Analysis of variables for regression model of soluble solid and flavonoids content in enzyme treatment conditions of citrus peels

Condition	F-Ratio				
	Soluble solid content	Flavonoids			
		Naringin	Hesperidin	Naringenin	Hesperetin
Enzyme concentration (%)	16.15**	11.79**	4.61*	4.35*	19.96***
Time (hr)	19.94***	14.57**	5.04*	8.17**	23.43***

***Significant at 1% level, **Significant at 5% level, *Significant at 10% level.

72.97%이며, 플라보노이드 조성으로는 naringin 1.56 mg/g, hesperidin 31.31 mg/g, naringenin 2.58 mg/g 및 hesperidin 3.90 mg/g인 것으로 나타났다(Table 2). Ahn 등(21)의 연구에서는 당 분해효소에 의한 무배당체의 최적 전환조건으로는 당분해효소의 5% 첨가, pH 5~7이었으며 효소반응 시간으로는 24~48 hr이 가장 우수한 것으로 나타났으나, 이는 용출수율을 고려하지 않고 무배당체 형태의 플라보노이드 함량으로만 조건을 설정한 것이라 본 연구와 상이한 결과가 도출된 것으로 보여진다.

전자공여능 및 ACE 저해활성 비교

일반적으로 감귤 과피를 건조시킨 것을 진피(陳皮)라 하여 예부터 한약재로 사용되어 왔으며, 이러한 진피의 약리작

용은 지방산화효소의 활성증가, 항알레르기 효과, 자궁근의 수축 억제, 진정효과, 모세혈관 투과성 억제와 모세혈관 강화에 의한 동맥경화 및 고혈압 예방효과 등이 있는 것으로 알려져 있다(29). 본 연구에 사용되어진 감귤 과피를 건조시켜 진피를 제조한 것과 효소처리하여 동결건조한 감귤 과피의 전자공여능, ACE저해활성을 측정하고자 플라보노이드 추출액을 일정한 농도(2.5, 5.0, 10.0 mg/mL)로 조절하여 각각의 활성을 비교하였다. 전자공여능 및 ACE 저해활성에 대한 결과를 Fig. 4, 5에 각각 나타내었다. 전자공여능은 진피의 경우 농도에 따라 13.51~36.05%로 나타났으나, 효소 처리한 감귤 과피의 경우 33.21~75.96%로 나타나 효소 처리한 감귤 과피의 전자공여능 활성이 2배정도 더 높은 것으로

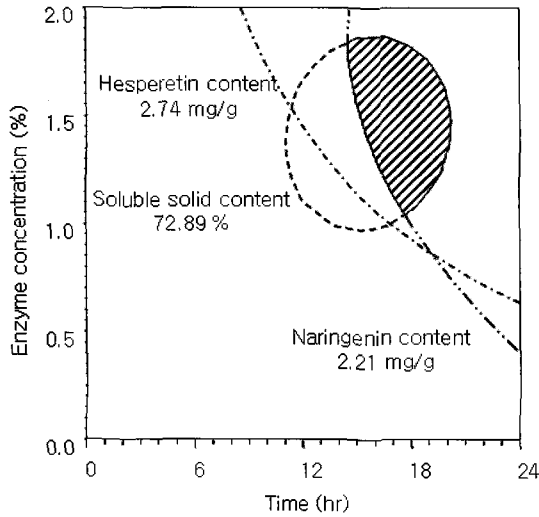


Fig. 3. Superimposed contour map of optimized condition for soluble solid, hesperetin and naringenin contents of citrus peels as a function of enzyme concentration and reaction time.

Table 6. Optimum enzyme treatment conditions of response variables for soluble solid and flavonoid content of citrus peels by superimposing their contour map

Reaction condition	Range of optimum condition	Optimum condition
Enzyme concentration (%)	1.1 ~ 1.8	1.5
Time (hr)	15 ~ 20	18

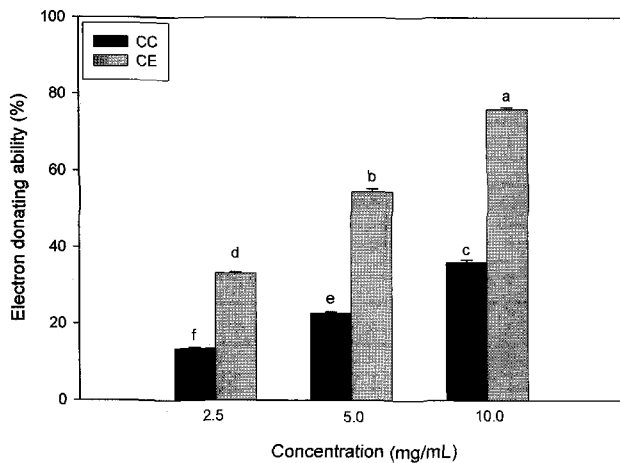


Fig. 4. Electron donating ability of flavonoids extract from enzyme-untreated (CC) and enzyme-treated (CE) citrus peels.

CC: No enzyme. Dried citrus peel at 40°C. CE: Citrus peel hydrolyzed at optimum treatment conditions by Viscozyme L; enzyme concentration of 1.5% and reaction time of 18 hr. Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

나타났으며, 농도가 높을수록 높은 활성으로 나타났다(Fig. 4). Cha와 Cho(15)는 DPPH 측정법에 의한 전자공여능은 hesperetin > naringenin > hesperidin > naringin 순으로 나타나, aglycone 플라보노이드에서 비교적 강한 활성을 보였다

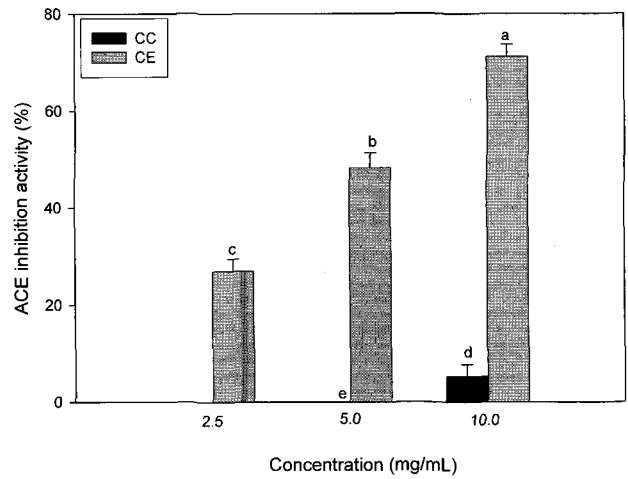


Fig. 5. ACE inhibition activity of flavonoids extract from enzyme-untreated (CC) and enzyme-treated (CE) citrus peels.

CC: No enzyme. Dried citrus peel at 40°C.

CE: Citrus peel hydrolyzed at optimum treatment conditions by Viscozyme L; enzyme concentration of 1.5% and reaction time of 18 hr. Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

고 보고하였다. 이와 같이 효소 처리함에 따라 aglycone 플라보노이드인 hesperetin 및 naringenin의 함량이 증가되어 진피보다는 효소처리한 감귤 과피에 있어서 전자공여능이 더 높게 나타난 것으로 사료된다. ACE 저해 활성은 진피의 경우 10.0 mg/L 농도에서 5.26%로 낮게 나타났으나, 효소처리한 감귤 과피의 경우 10.0 mg/mL에서 71.15%로 높은 활성으로 나타났다(Fig. 5). 이는 메밀과 담수어에 효소를 첨가하지 않는 추출물과 효소 가수분해물의 ACE 저해 효과 비교에서 효소 가수분해물의 ACE 저해효과가 높게 나타났다는 Do 등(30) 및 Kim 등(31)의 보고와 유사한 결과로 사료된다. 따라서 효소처리한 감귤 과피는 감귤의 생리활성물질 중 강한 활성을 지니는 플라보노이드인 hesperetin 및 naringenin의 함량을 증가시켜 기존 감귤 과피 가공품인 진피보다 우수한 기능이 있으므로 이를 활용하여 건강기능식품의 소재로 유용하게 사용할 수 있으리라 사료된다.

요 약

본 연구에서는 감귤 과피의 Viscozyme L 효소를 첨가하여 가수분해물을 제조하고, 이들의 플라보노이드 조성의 변화를 반응표면분석하여 모니터링하였다. 그 결과 효소처리에 따라 aglycone 형태의 플라보노이드인 hesperetin 및 naringenin 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 가용성 고형분 함량과 aglycone 형태의 플라보노이드 함량이 높은 최적 효소처리 조건은 효소농도 1.5% 및 반응시간 18 hr으로 설정되었다. 일반진피의 경우는 가용성 고형분 함량 48.49%이고, 플라보노이드는 hesperidin 58.85 mg/g만 검출되었으나, 최적 효소처리 조건에서는 가용성 고형분 함량은

72.97%로 나타났으며, 플라보노이드 조성은 naringin 1.56 mg/g, hesperidin 31.31 mg/g, naringenin 2.58 mg/g 및 hesperetin 3.90 mg/g으로 각각 나타났다. 일반진피와 효소 처리한 감귤 과피의 전자공여능 및 ACE 저해활성을 측정할 결과 효소 처리한 감귤 과피가 활성이 더 높은 것으로 나타났다.

문 헌

- Chung SK, Kim SH, Choi YH, Song EY, Kim SH. 2000. Status of citrus fruit production and view of utilization in Cheju. *Food Industry and Nutrition* 5: 42-52.
- Kuhn J. 1976. In the flavonoids: A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet* 24: 117-191.
- Pierpoint WS. 1986. Flavonoids in the human diet. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine, Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationship*. Liss, Alan R, New York, USA. p 125-140.
- Kim YK, Lee MK, Lee SR. 1997. Elimination of fenitrothion residues during dietary fiber and bioflavonoid preparations from mandarin orange peels. *Korean J Food Sci Technol* 29: 223-229.
- Moresi M, Clementi F, Rossi J, Medici R, Vinti L. 1987. Production of biomass from untreated orange peel by *Fusarium avenaceum*. *Appl Microbiol Biotechnol* 27: 37-45.
- Kamiya S, Esaki S. 1971. Recent advances in the chemistry of the citrus flavonoids. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 18: 38-48.
- Crandall PG, Kesterson JW, Dennis S. 1983. Storage stability of carotenoids in orange peel oil. *J Food Sci* 48: 924-927.
- Monforte MT, Trovato A, Kirjavainen S, Foresieri AM, Galat EM. 1995. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid (note II): Hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. *Farmaco* 50: 595-599.
- Bok SH, Lee SH, Park YB, Bae KH, Son KH, Jeong TS, Choi MS. 1999. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutarl CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rat fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *J Nutr* 129: 1182-1185.
- Kawai S, Tomono Y, Katase E, Ogawa K, Yano M. 1999. Quantization of flavonoid constituents in citrus fruits. *J Agri Food Chem* 47: 3656-3571.
- Son HS, Kim HS, Kwon TB, Ju JS. 1992. Isolation, purification and hypotensive effects of bioflavonoids in *Citrus sinensis*. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 136-142.
- Lee Y, Howard LR, Villalon B. 1995. Flavonoids and antioxidant activity of fresh peppers (*Capsicum annuum*) cultivars. *J Food Sci* 60: 473-476.
- Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K, Uchino K. 1997. Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 102-104.
- Cha JY, Kim SY, Jeong SJ, Cho YS. 1999. Effects of hesperetin and naringenin on lipid concentration in orotic acid treated mice. *Korean J Life Science* 9: 389-394.
- Cha JY, Cho YS. 2001. Biofunctional activities of citrus flavonoids. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 44: 122-128.
- Shen JL, Bryan BA. 2003. Two-step conversion of vegetable protein isoflavone conjugates to aglycones. *USA Patent* No. 05827682.
- Amorepacific Co. 2001. A method for preparation of aglycone of isoflavone. *Korean Patent* 10-0302560-0000.
- Kim KW, Shun BS. 2001. Optimization conversion to the aglycone form using β -glucosidase and isoflavone extraction from soybean. *Korean J Biotechnol Bioeng* 16: 174-178.
- Francisco RT, Isabel PA, Augustin LM. 2001. Enzymatic extraction and transformation of glucovanillin to vanillin from vanilla green pods. *J Agric Food Chem* 49: 5207-5209.
- Santamaria RI, Reyes-Duarte MD, Barzana E, Fernando D, Gama FM, Mota M, Lopez-Munguia A. 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.
- Ahn SC, Kim MS, Lee SY, Kang JH, Kim BH, Oh WK, Kim BY, Ahn JS. 2005. Increase of bioactive flavonoid aglycone extractable from Korean citrus peel by carbohydrate-hydrolysing enzymes. *Kor J Microbiol Biotechnol* 33: 288-294.
- Kwon JH, Ryu KC, Lee GD. 1997. Dynamic changes in browning reaction substrates of *Polygonatum odoratum* roots during roasting. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 654-661.
- SAS. 1994. *SAS/STAT. User's Guide* version 6. 4th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC. Vol 2, Ch 37, p 1457-1478.
- Perfetti GA, Joe FL, Fazio T, Page SW. 1988. Liquid chromatographic methodology characterization of orange juice. *J Assoc Off Anal Chem* 71: 469-475.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1198-1200.
- Cushman DW, Cheung HS. 1973. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
- Eun JB, Jung YM, Woo GJ. 1996. Identification and determination of dietary fibers and flavonoids in pulp and peel of Korean tangerine (*Citrus aurantium* var.). *Korean J Food Sci Technol* 28: 371-377.
- Choi YB, Woo JG, Noh WS. 1999. Hydrolysis of β -glycoside bonds of isoflavone conjugates in the lactic acid fermentation of soy milk. *Korean J Food Sci Technol* 32: 189-195.
- Min SH, Park HO, Oh HS. 2002. A study on the properties of hot water extracts of Korean dried tangerine peel and development of beverage by using it. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 51-56.
- Do JR, Heo IS, Back SY, Yoon HS, Jo JH, Kim YM, Kim KJ, Kim SK. 2006. Antihypertensive, antimicrobial and antifungal activities of buckwheat hydrolysate. *Korean J Food Sci Technol* 38: 268-272.
- Kim TJ, Yoon HD, Lee DS, Jang YS, Suh SB, Yeum DM. 1996. Angiotensin- I -converting enzyme inhibitory activity of hot-water extract and enzymatic hydrolysate of fresh water fish. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 871-877.