

## 수확시기별 제주재래종 감귤과피의 활성산소종 소거활성

김용덕<sup>1</sup> · 마힌다<sup>2</sup> · 고경수<sup>1</sup> · 전유진<sup>3</sup> · 김수현<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>제주특별자치도개발공사 연구소

<sup>2</sup>제주대학교 식품생명공학과

<sup>3</sup>제주대학교 해양의생명과학부

### Reactive Oxygen Species Scavenging Activity of Jeju Native Citrus Peel during Maturation

Yong-Dug Kim<sup>1</sup>, Senevirathne Mahinda<sup>2</sup>, Kyung-Soo Koh<sup>1</sup>,  
You-Jin Jeon<sup>3</sup>, and Soo-Hyun Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>R&D Center, Jeju Special Self-Governing Province Development Corp., Jeju 690-961, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Bioengineering and

<sup>3</sup>Faculty of Marine Biomedical Science, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

#### Abstract

This study was conducted to investigate total polyphenolic contents and reactive oxygen species (ROS) scavenging effects of extracts from peels of ten Jeju native citrus fruits according to the harvest from August 2006 to February 2007. Total polyphenolic contents from methanol extracts of citrus peel were the highest in Jigak (*Citrus aurantium*) and Hongkyool (*C. tachibana*) by over 200 mg% in the unmaturation period, from the late August to the late September, and all the citrus peels mostly decreased while ripening. Scavenging effect of superoxide anion radical showed good correlation with total polyphenolic contents. The unmaturation periods of Hongkyool and Jigak were the highest with more than 60%. Hydrogen peroxide scavenging activity was the highest in Sadoogam (*C. pseudogulgu*) at 73.8% in late August and the second highest activity was observed in Jigak at near 70%, and all the citrus peels decreased during ripening. Hydroxy radical scavenging activity were the highest among all the ROS scavenging activities, especially in the Jigak and Dangyooja (*C. grandis*) at 75.1% and 74.6%, respectively, and not much affected by increased maturity of the fruits. Nitric oxide radical scavenging activity was the highest in Bungkyool (*C. platymama*) at 58.4% in late February, and increased with fruit ripening. In this study, Jigak was generally the highest in the polyphenolic contents and ROS scavenging activities, so the further studies are needed for industrial applications.

**Key words:** citrus, reactive oxygen species, superoxide anion radical scavenging, hydrogen peroxide scavenging, hydroxy radical scavenging

#### 서 론

최근 생활환경과 식생활 패턴의 변화 등으로 현대인들은 노화를 포함한 각종 성인병 발생의 원인이 되고 있는 활성산소가 주목 받고 있다. 인체 내에는 안정한 상태의 산소가 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학 반응과 같은 환경적 및 생화학적 요인 등에 의하여 superoxide anion radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide radical 및 singlet oxygen과 같은 반응성이 큰 활성산소(reactive oxygen species, ROS)로 전환된다. 이들 활성산소는 강한 산화력으로 류마티스 관절염, 당뇨병, 동맥경화, 암 등 각종 질병과 생체 대사과정에서 생성되어 세포막 지방질을 과산화 시키고 세포막 투과성의 변화를 초래하여 DNA 손상을 유발시

킨다(1-3). 따라서 생체 내 항산화 방어시스템을 증가시키거나 ROS를 조절할 수 있는 합성 또는 천연항산화제 개발연구의 필요성이 강조되고 있고 이에 대한 탐색이 활발히 진행되고 있다(4). 이러한 노화 및 각종 질병을 예방하고 치료하기 위한 목적으로 초기에 사용되었던 BHT, BHA와 같은 합성 항산화제들이 갖고 있는 안전성 등의 문제를 극복하고자, 최근에 각종 생약제나 과일, 채소와 같은 천연물 유래의 항산화제를 개발 이용하려는 연구 추세로 변화되고 있다(5). 감귤은 품종에 따라 과육과 과피의 비율 차이가 크지만, 그동안 거의 폐기물로 버려지고 있는 과피는 대체로 과일의 50% 정도에 해당되는데 이 중에는 essence oil, carotenoid 및 flavonoid, cellulose, pectin, limonoid 등 생리활성들이 높게 함유되어 있다(6,7). 이들의 기능성에 대한 평가로서

\*Corresponding author. E-mail: kshyun@cheju.ac.kr  
Phone: 82-64-754-3614, Fax: 82-64-755-3601

항산화작용, 순환계 질병의 예방, 항염증, 항 알레르기, 항균, 항바이러스, 혈중 지질 저하작용, 면역증강작용, 모세혈관 강화작용 등이 보고된 바 있다(8,9). 한편 제주도에서는 서기 476년 이전부터 감귤재배가 시작되었으며 이 당시의 제주재래종은 22개 품종이 재배되었으나, 생식용으로는 맛이 없고 품질이 떨어져 점차 새로운 품종으로 개량되었다. 현재는 병귤(*C. platymama*), 당유자(*C. grandis*), 유자(*C. junos*), 청귤(*C. nippokoreana*), 동정귤(*C. erythroa*), 홍귤(*C. tachibana*), 진귤(*C. sunki*), 지각(*C. aurantium*), 빈귤(*C. leio-carpe*)과 같은 10여종만이 재배되고 있으며, 한방이나 민간 요법의 약재로 이용되고 있는 실정이다(10). 감귤에 대한 활성산소종 소거에 대한 연구는 종실(11)이나 정유(12-14) 등 특정 분야와 온주밀감, 일부 만감류에 편중되어 있고 제주재래종 감귤에 대한 연구는 아직 미미한 실정이다. 본 연구에서는 제주재래종 감귤 10종의 과피에 대한 수확시기별 활성산소종 소거활성을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

제주재래 감귤류 중에서 감자(*Citrus benikoji*), 당유자(*C. grandis*), 사두감(*C. pseudogulgul*), 홍귤(*C. tachibana*), 동정귤(*C. erythroa*), 지각(*C. aurantium*), 진귤(*C. sunki*), 빈귤(*C. leio-carpe*), 인창귤은 제주시 애월읍에 위치한 제주특별자치도 농업기술원 북부농업기술센터에서, 병귤(*C. platymama*)은 서귀포시 남원읍에 위치한 농촌진흥청 난지농업연구소에서 2006년 8월부터 2007년 2월까지 월 1회 채집하였다.

### 시료 및 시약

감귤을 박피한 후 과피를 세절한 다음 분쇄기(FM-909T, Hanil Co., Korea)로 분쇄하고 50 mesh 이하의 분말로 제조한 후 사용하였으며, polyvinyl bag에 담아  $-18^{\circ}\text{C}$  냉동고(CRF-114CD, Samsung Co., Korea)에서 보관하면서 사용하였다. 시료 1 g을 순수 methanol 20 mL로 초음파 2시간 환류 추출 후 membrane filter(0.45  $\mu\text{m}$ , Whatman)로 여과하고 methanol로 세척하여 40 mL로 조제하여 사용하였으며, ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt(EDTA),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 와 deoxyribose는 Fluka Co.(Buchs, Switzerland) 제품을 사용하였으며, 실험에 사용된 기타 시약은 Fluka나 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, USA)의 제품을 사용하였다.

### 총 폴리페놀 정량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis의 방법(15)을 변형하여 측정하였다. 감귤 과피 분쇄품 1 g을 methanol로 초음파 1시간(2회) 환류 추출하여 membrane filter(0.45  $\mu\text{m}$ , Whatman)로 여과한 다음 과피추출물 1 mL에 50% Folin시약 1 mL를

가하고 3분 후 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 용액 1 mL를 첨가하였다. 이어서 이를 혼합하고  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 발색시킨 다음 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 (+)catechin 표준용액에 의하여 작성한 검량선에 의해 계산하였다.

### Superoxide anion radical( $\text{O}_2 \cdot^-$ ) 소거활성

Superoxide anion radical 소거활성은 Nagai 등(16)의 방법에 따라 측정하였다. 시험관에 0.05 M sodium carbonate buffer(pH 10.5) 0.48 mL, 3 mM xanthine 0.02 mL, 3 mM EDTA 0.02 mL, 0.15% bovine serum albumin 0.02 mL, 0.75 mM nitro blue tetrazolium(NBT) 0.02 mL와 시료용액 0.02 mL를 첨가하고  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 방치한 후, 6 mU/mL xanthine oxidase(XOD) 200  $\mu\text{L}$ 을 가하여  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 반응을 시킨 다음 최종적으로 6 mM  $\text{CuCl}$  0.02 mL를 넣은 후 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Hydrogen peroxide( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 소거활성

Hydrogen peroxide 소거활성은 Muller(17)의 방법인 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazolin)-6-sulfonic acid(ABTS)-peroxidase system에서  $\text{H}_2\text{O}_2$  소거활성을 측정하였다. 96 well plate에서 시료용액 80  $\mu\text{L}$ , 10 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  20  $\mu\text{L}$ 와 phosphate buffer(pH 5.0, 0.1 M) 100  $\mu\text{L}$ 을 넣어  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 반응시켰다. 그 후에 1.25 mM ABTS 30  $\mu\text{L}$ 와 1 U/mL peroxidase 30  $\mu\text{L}$ 를 넣고 혼합한 후  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 반응시키고 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) reader(Sunrise, Tecan Co. Ltd., Austria)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Hydroxyl radical( $\text{HO} \cdot$ ) 소거활성

Hydroxyl radical 소거활성은 Chung 등(18)의 방법에 따라 ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt(EDTA)가 포함된 Fenton 반응계( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$ )에서 분석하였다. 10 mM  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 10 mM EDTA, 10 mM 2-deoxyribose를 각각 200  $\mu\text{L}$ 의 Fenton 반응 혼합물에 시료용액 200  $\mu\text{L}$ 에 0.1 M phosphate buffer 용액(pH 7.4) 1.0 mL를 넣어 총 용액 1.8 mL로 조제하였다. 다시 10 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  200  $\mu\text{L}$ 을 첨가하여 혼합한 후  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 incubation시켰다. 다시 2.8% trichloroacetic acid(TCA) 1.0 mL와 1% thiobarbituric acid(TBA) 1.0 mL를 첨가하여 끓는 물에서 10분간 반응시킨 다음 실온에서 냉각시킨 후  $395 \times g$ 에서 5분간 원심분리한 후 532 nm에서 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

### Nitric oxide radical( $\text{NO} \cdot$ ) 소거활성

Nitric oxide radical 소거활성은 Griess Illosvoy 반응에 의해서 측정을 하였다(19). Griess Illosvoy 용액은 1-naphthylamine(5%) 대신에 naphthylethylenediamine dihydrochloride (0.1% w/v)를 사용한 것이다. 10 mM sodium nitroprusside 2 mL, phosphate buffer saline(pH 7.4, 0.01 M) 0.5

mL, 감귤추출물 0.5 mL를 넣어 총 3 mL의 반응액을 만든 다음 25°C에서 150분간 배양을 하였다. 그 후 nitrite가 있는 반응액 중 0.5 mL를 넣고 sulfanilic acid 용액(20% glacial acetic acid 중 0.33%) 1 mL를 넣고 완전하게 디아조늄염을 만들기 위해 5분 동안 정치한 후 naphthylethylenediamine dihydrochloride(0.1% w/v) 1 mL를 첨가하고 혼합이 될 수 있도록 30분 동안 반응시킨 후 96 well plates에서 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거능은  $100 - [(시료\ 흡광도 / 대조구\ 흡광도) \times 100]$ 에 의해 계산하였다.

#### 통계처리

본 실험 결과는 자료는 3회 반복 측정하여 얻은 결과를 평균±표준편차로 나타내었으며, 통계처리는 SAS (version 8.2.1)를 이용하여 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 차이를 검정하였으며, 이때의 유의수준은 5%이었다.

### 결과 및 고찰

#### 총 폴리페놀 함량

Citrus류의 과피나 종자에는 페놀산과 flavonoids와 같은 페놀화합물들이 많이 함유되어 있으며, 종자보다 과피에서 더 많이 함유되어 있음이 보고되었다(20). 폴리페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포하는 2차 대사산물로서 수산기를 가지는 방향성 화합물을 총칭하는 것으로, hydroxycinnamic acid를 비롯한 대부분의 폴리페놀 화합물은 세포벽, 다당류, 리그닌 등과 에스테르 결합되어 있거나 중합체로 존재하며, 수산기를 통한 수소공여와 페놀 고리구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다(20,21). 수확시기에 따른 감귤과피의 총 폴리페놀 함량은 대부분의 시료에서 성숙이 덜된 미숙과인 8월 하순에 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, 수확시기가 늦어질수록 감소하는 경향을 보였다(Table 1). 지각이 8월 하순에 229.7 mg%로 가장 함량이

높았으며 다음으로 홍귤, 빈귤, 인창귤이 각각 191.4 mg%, 151.1 mg% 및 137.9 mg% 순서로 높은 함량을 나타내었다. 대부분 8월 하순 이후 감소 추세를 보이거나 홍귤과 진귤은 8월 하순~9월 하순까지 각각 191.4 mg%에서 208.6 mg%, 126.8 mg%에서 132.7 mg%로 증가하다가 감소하는 경향을 보였고, 사두감, 빈귤, 인창귤은 8월 하순~11월 하순까지 각각 113.8 mg%에서 44.6 mg%, 151.1 mg%에서 75.9 mg%, 137.9 mg%에서 70.8 mg%로 감소하다가 증가하는 경향을 보였다. 유자와 탕자에서 각각  $75 \pm 1.1$  mg/100 g,  $60.75 \pm 1.2$  mg/100 g의 총 페놀 함량의 결과 보고(22)와 본 실험 결과와 비교 시 9월 하순 이전에는 모든 시료가 이보다 높았고, 11월 하순의 시료에서 감자, 병귤, 사두감이 낮은 함량을 보였다. Sweet orange peel에서 *n*-butanol, 물 분획물에서 188 mg%, 254 mg%의 총 폴리페놀이 검출되었다고 보고(23)하였는데, 본 실험에서 높게 검출된 8월 하순의 지각은 *n*-butanol 분획물보다는 높았고, 물 분획물보다는 낮은 값을 나타내었다. 유자종자에서 24.4 mg/100 g으로 보고(11)한 결과보다는 모든 시료에서 이보다 높았고, 당유자 종실에서 53.1 mg/100 g으로 보고(24)한 결과보다도 본 실험의 당유자 과피 시료에서 모두 높게 측정이 되어 종자보다는 과피의 총 폴리페놀 함량이 높다는 보고(20)와 일치하였다.

#### Superoxide anion radical 소거활성

정상적인 산화적 인산화의 과정 동안 소모되는 전체 산소의 0.4~4% 정도는 free radical, superoxide(O<sub>2</sub><sup>·-</sup>)로 전환되며 생성된 superoxide는 다른 ROS로 전환되어 직접적 또는 간접적으로 세포손상을 유발하는 것으로 알려져 있다. 정상적으로는 superoxide는 내인성 항산화 방어기전에서 superoxide dismutase(SOD)에 의해 빠르게 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 전환된다. 그러나 이 내인성 항산화 방어체계가 세포내 산화 환원 균형을 유지하는데 문제가 생길 경우 결과적으로 산화스트레스가 일어나게 되며 이 산화스트레스는 직접적으로 세포 내 거대분자의 손상을 일으키거나 세포손상을 일으키는데 중요한 역할을 한다(25). 수확시기별 제주

Table 1. Changes of total polyphenolic contents in the peel of Jeju native citrus fruits during maturation (unit: mg%)

Section	Harvest date						
	8/28	9/26	10/30	11/29	12/27	1/29	2/27
Gamja <sup>1)</sup>	85.2±0.5 <sup>2)</sup>	72.3±6.3	62.1±2.4	56.3±9.5	53.2±2.0	54.8±1.8	—
Dangyooja	135.4±11.6	90.3±6.0	75.2±5.2	73.8±6.4	80.9±20.7	70.9±2.6	94.3±4.2
Bungkyool	— <sup>3)</sup>	117.6±6.9	68.1±3.2	50.9±0.3	68.9±5.9	59.4±1.9	55.9±4.6
Sadoogam	113.8±2.5	94.7±6.1	61.9±3.4	44.6±0.3	54.1±0.6	51.4±1.0	64.2±3.4
Hongkyool	191.4±4.1	208.6±10.2	132.7±5.1	100.7±7.5	129.3±23.4	98.4±3.8	—
Dongjungkyool	144.2±10.0	101.8±5.3	88.6±4.0	101.6±7.4	105.3±2.9	77.9±5.1	85.9±5.9
Jigak	229.7±7.9	203.6±9.0	162.1±8.8	144.8±7.1	133.6±3.6	130.3±3.9	143.3±10.4
Jinkyool	126.8±3.6	132.7±8.5	88.4±2.5	98.9±0.6	82.5±1.8	94.9±2.1	85.2±10.9
Binkyool	151.1±1.0	150.4±7.7	120.8±9.5	75.9±3.8	102.4±7.4	78.3±2.6	141.1±4.7
Inchangkyool	137.9±3.4	115.2±7.5	86.3±2.4	70.8±3.8	86.3±4.7	85.6±3.6	92.6±4.3

<sup>1)</sup>Korean name.

<sup>2)</sup>The data represent the mean±SD of three determination.

<sup>3)</sup>No examined.

Table 2. Changes of superoxide anion radical scavenging activity in the peel of Jeju native citrus fruits during maturation scavenging effect (%)

Section	Harvest date						
	8/28	9/29	10/30	11/29	12/27	1/27	2/27
Gamja <sup>1)</sup>	43.9±1.2 <sup>f2)</sup>	50.9±5.3 <sup>d</sup>	40.1±0.8 <sup>g</sup>	40.7±3.1 <sup>g</sup>	51.3±2.2 <sup>d</sup>	38.9±3.1 <sup>g</sup>	—
Dangyooja	52.5±0.6 <sup>d</sup>	50.2±1.3 <sup>d</sup>	57.1±0.6 <sup>c</sup>	52.4±1.9 <sup>d</sup>	51.5±1.3 <sup>d</sup>	51.8±2.8 <sup>d</sup>	52.1±1.4 <sup>d</sup>
Bungkyool	— <sup>3)</sup>	53.6±1.6 <sup>d</sup>	52.3±1.7 <sup>d</sup>	48.4±0.5 <sup>e</sup>	51.6±1.1 <sup>d</sup>	37.5±2.4 <sup>h</sup>	48.9±0.5 <sup>e</sup>
Sadoogam	36.9±0.6 <sup>h</sup>	38.2±3.9 <sup>g</sup>	34.1±2.5 <sup>h</sup>	35.3±0.8 <sup>h</sup>	35.5±0.5 <sup>h</sup>	29.4±0.3 <sup>i</sup>	41.0±0.3 <sup>g</sup>
Hongkyool	66.7±3.3 <sup>a</sup>	67.0±1.1 <sup>a</sup>	58.6±1.1 <sup>c</sup>	53.8±1.1 <sup>d</sup>	57.2±2.0 <sup>c</sup>	48.4±1.9 <sup>e</sup>	—
Dongjungkyool	43.7±0.6 <sup>f</sup>	46.2±1.9 <sup>e</sup>	42.3±1.6 <sup>f</sup>	45.0±4.0 <sup>f</sup>	47.0±0.8 <sup>e</sup>	26.0±2.2 <sup>j</sup>	51.4±1.9 <sup>d</sup>
Jigak	62.6±1.9 <sup>b</sup>	60.0±0.5 <sup>b</sup>	57.9±1.9 <sup>c</sup>	56.8±0.8 <sup>c</sup>	50.8±1.9 <sup>d</sup>	44.2±0.2 <sup>f</sup>	52.0±1.0 <sup>d</sup>
Jinkyool	53.6±1.6 <sup>d</sup>	55.2±1.6 <sup>c</sup>	52.3±1.9 <sup>d</sup>	45.9±1.6 <sup>e</sup>	50.0±1.1 <sup>de</sup>	48.4±1.1 <sup>e</sup>	48.6±2.0 <sup>e</sup>
Binkyool	49.1±0.3 <sup>e</sup>	48.6±1.4 <sup>e</sup>	48.0±1.7 <sup>e</sup>	35.3±1.6 <sup>h</sup>	39.3±4.6 <sup>h</sup>	31.7±1.6 <sup>i</sup>	52.9±0.8 <sup>d</sup>
Inchangkyool	57.4±0.8 <sup>c</sup>	53.9±0.6 <sup>d</sup>	49.1±2.2 <sup>e</sup>	50.5±2.2 <sup>d</sup>	57.2±0.3 <sup>c</sup>	51.4±1.6 <sup>d</sup>	44.4±1.1 <sup>f</sup>

<sup>1)</sup>Korean name.

<sup>2)</sup>Means with the same letters are not significantly different ( $p < 0.05$ ), as determined Duncan's multiple range test,  $n=3$ . The tested concentration was 0.6 mg/mL.

<sup>3)</sup>No examined.

재래종 감귤과피의 superoxide anion radical 소거활성을 측정한 결과(Table 2), 홍귤과 지각이 가장 높은 활성을 나타내었다. 홍귤은 1차 채취기인 8월 하순에 66.7%였다가 9월 하순에 67.0%로 소량 증가하였다가 수확시기가 늦어질수록 감소하여 1월 하순에 함량이 48.4%로 8월 하순 대비 27.4% 감소하였다. 지각은 8월 하순에 62.6%이었다가 1월 하순에 44.2%로 29.4% 감소하였으나, 진귤을 포함한 나머지 품종들은 소량 감소하거나 수확시기별 차이가 거의 없는 것으로 조사되었다. 당유자, 홍귤, 인창귤은 수확시기에 관계없이 모든 시료에서 50% 내외의 높은 활성을 나타내었으나, 사두감은 35% 내외의 가장 낮은 활성을 보였다. 한국약용식물의 총 폴리페놀 함량과 superoxide 소거활성과 상관관계를 분석한 결과, 상관계수가 0.8111로 높은 것으로 보고(26)하였는데, 본 실험에서도 10종의 감귤과피의 수확시기별 총 폴리페놀 함량 변화에 따른 superoxide 소거활성 변화가 비슷하게 나타나 높은 관계가 있었다. 특히 높은 총 폴리페놀 함량을 보인 홍귤과 지각에서 가장 높은 superoxide 소거활성을 보여 총 폴리페놀 함량과 superoxide 소거활성의 상관관계가 매우 높음을 알 수 있었다. Shin 등(27)은 유자, 온주밀감 과피의 에탄올 추출물 100 ppm 첨가 시 33.9%, 29.1%의 소거능을 보고하였는데 이보다는 대부분의 감귤종이 높은 소거활성을 나타내었고, 열수 추출물의 소거활성 유자 43.2%, 온주감귤 35.9%에 비하면 사두감, 동정귤, 빈귤을 제외한 감귤들이 이보다는 높은 소거활성을 보였다. 특히 홍귤의 8월 하순에서 9월 하순의 superoxide 소거능은 Chung과 Kim (28)이 13종의 허브 추출물의 superoxide 소거능을 측정한 결과의 eucalyptus(84.9%), mate(90.0%), peppermint(78.8%) 보다는 낮은 활성을 보였지만, elder flower, liquorice(감초) 보다는 높은 활성을 나타내었다.

Hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 소거활성

생체에서 생성된 hydroxyl radical 같은 활성산소종은 반응성이 대단히 높다. 생체내의 superoxide dismutase(SOD)

가 superoxide를 hydrogen peroxide로 변화시키고, catalase는 hydrogen peroxide를 제거한다. 한편 glutathione transferase와 glutathione peroxidase들은 친전자성 이물을 포함하여 해독하며 SOD에 의해 생성된 peroxide를 제거한다. 그러나 생체 내에서 완화된 oxidative stress가 일어나면 세포들은 이러한 항산화기전을 가동하여 반응하지만 심한 oxidative stress는 세포상해를 일으키며 necrosis와 apoptosis로 발전된다(29). 제주감귤재래종 감귤과피의 수확시기별 hydrogen peroxide 소거활성을 측정한 결과, 대부분 수확시기가 늦어질수록 hydrogen peroxide 소거활성이 감소하는 경향을 보였다(Table 3). 미숙과인 8월 하순에 사두감이 73.8%로 가장 높은 활성을 나타내었고, 2월 하순에 57.6%로 낮아졌으나 50% 이상 높은 소거활성을 보였다. 대부분의 감귤이 성숙됨에 따라 hydrogen peroxide 소거활성이 감소하는 반면 지각과 당유자는 8월 하순에 68.0%와 66.5%였다가 11월 하순까지 감소하고 12월 하순부터 증가하여 2월 하순에는 71.9%와 58.9%로 높은 소거활성을 보였고, 특히 지각은 모든 수확시기에서 65% 이상의 높은 소거활성을 나타내었다. 진귤은 8월 하순에 64.4%의 소거활성을 나타내었고 성숙함에 따라 감소하는 경향을 보이다가 11월 하순에 68.1%로 가장 높은 활성을 나타내었다가 다시 감소하는 경향을 보여 생리활성물질로 이용하는 경우 수확시기에 따른 원료 중 성분함량을 예측하는데 유용하리라 생각된다. 감자, 홍귤, 동정귤, 인창귤은 8월 하순에 각각 53.2%, 53.1%, 56.0% 및 61.5%로 가장 높은 활성을 나타내었다가 성숙됨에 따라 점차적으로 감소하는 경향을 보였다. 사두감은 총 폴리페놀 함량이 다른 감귤종에 비하면 비교적 낮고 superoxide 소거활성에서 가장 낮은 활성을 보였으나, hydrogen peroxide 소거활성은 가장 높게 나타나 다른 성분이 활성에 관여한 것으로 사료된다. 유자, 온주감귤 에탄올 추출물 및 열수 추출물의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 소거활성이 21.2%에서 25.8%로 보고(27)한 것보다는 모든 시료에서 높게 검출되었는데 이는 감귤품

Table 3. Changes of hydrogen peroxide scavenging activity in the peel of Jeju native citrus fruits during maturation scavenging effect (%)

Section	Harvest date						
	8/28	9/29	10/30	11/29	12/27	1/27	2/27
Gamja <sup>1)</sup>	53.2±2.6 <sup>b2)</sup>	46.6±4.3 <sup>c</sup>	41.0±9.9 <sup>c</sup>	44.3±3.5 <sup>c</sup>	37.4±3.9 <sup>cd</sup>	47.0±1.1 <sup>c</sup>	—
Dangyooja	66.5±2.3 <sup>a</sup>	55.8±2.8 <sup>b</sup>	55.3±3.6 <sup>b</sup>	56.1±1.3 <sup>b</sup>	50.0±4.3 <sup>c</sup>	55.1±8.8 <sup>b</sup>	58.9±3.4 <sup>b</sup>
Bungkyool	— <sup>3)</sup>	53.4±4.2 <sup>b</sup>	49.3±6.6 <sup>c</sup>	48.5±2.0 <sup>c</sup>	40.0±2.2 <sup>c</sup>	39.1±6.3 <sup>cd</sup>	34.5±2.8 <sup>cd</sup>
Sadoogam	73.8±1.5 <sup>a</sup>	70.9±3.0 <sup>a</sup>	68.7±1.4 <sup>a</sup>	60.5±5.0 <sup>b</sup>	58.5±1.1 <sup>b</sup>	55.0±4.5 <sup>b</sup>	57.6±3.6 <sup>b</sup>
Hongkyool	53.1±3.7 <sup>b</sup>	55.9±0.8 <sup>b</sup>	49.5±6.5 <sup>c</sup>	46.9±1.2 <sup>c</sup>	44.8±3.5 <sup>c</sup>	48.7±3.3 <sup>c</sup>	—
Dongjungkyool	56.0±3.5 <sup>b</sup>	53.3±0.9 <sup>b</sup>	49.2±5.6 <sup>c</sup>	45.5±3.3 <sup>c</sup>	38.6±1.7 <sup>cd</sup>	39.4±5.2 <sup>cd</sup>	44.5±2.8 <sup>c</sup>
Jigak	68.0±0.2 <sup>a</sup>	67.3±0.7 <sup>a</sup>	65.4±7.6 <sup>a</sup>	71.3±0.6 <sup>a</sup>	66.8±2.2 <sup>a</sup>	67.5±4.6 <sup>a</sup>	71.9±3.2 <sup>a</sup>
Jinkyool	64.4±1.8 <sup>a</sup>	57.1±2.8 <sup>b</sup>	53.4±3.9 <sup>b</sup>	68.1±0.7 <sup>a</sup>	45.4±1.2 <sup>c</sup>	50.6±4.8 <sup>c</sup>	41.9±3.5 <sup>c</sup>
Binkyool	51.9±2.2 <sup>b</sup>	49.1±1.5 <sup>c</sup>	45.1±2.3 <sup>c</sup>	44.6±0.6 <sup>c</sup>	46.6±4.4 <sup>c</sup>	43.5±4.9 <sup>c</sup>	45.4±1.7 <sup>c</sup>
Inchangkyool	61.5±4.9 <sup>b</sup>	50.3±4.0 <sup>c</sup>	45.3±8.7 <sup>c</sup>	48.1±2.7 <sup>c</sup>	57.6±28.8 <sup>c</sup>	46.3±5.6 <sup>c</sup>	41.3±1.2 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Korean name.

<sup>2)</sup>Means with the same letters are not significantly different ( $p < 0.05$ ), as determined Duncan's multiple range test,  $n=3$ . The tested concentration was 7.7 mg/mL.

<sup>3)</sup>No examined.

종 및 추출조건의 차이 등에 의한 것으로 추정된다.

#### Hydroxyl radical 소거활성

Hydroxyl radical은 활성산소 라디칼 중에서 화학적으로 가장 반응성이 크며, 지질산화를 개시하고 DNA 손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있고, 생체의 대사 과정에서 생성되는 지질의 과산화물이나 과산화수소가  $Fe^{2+}$ 나  $Cu^{2+}$ 이온의 존재 하에서 생성되며 가장 독성이 강한 free radical이므로 이 라디칼을 소거하는 정도를 측정하였다. 제주 재래종 감귤과피의 수확시기별 hydroxyl radical 소거활성을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 제주 재래종 감귤과피의 대부분은 hydroxyl radical을 강하게 제거하는 경향을 보였다. 지각과 당유자가 8월 하순에 75.1%와 74.6%로 가장 높은 활성을 나타내었으나 수확시기별 hydroxyl radical 소거활성 차이는 크지 않았으며, 그 외 감귤종도 60% 이상의 소거활성을 보였으며 8월 하순에서 2월 하순까지 거의 차이를 보이지 않아 hydroxyl radical 소거활성은 수확시기별 차이가 거의 없는 것으로 사료된다. 총 폴리페놀 함량은 수확

시기별 함량 변화가 비교적 큰 반면 hydroxyl radical 소거활성은 수확시기별 변화가 거의 없는 것으로 보아 서로간의 상관관계가 크지 않은 것으로 추정된다. Kim과 Chung(26)은 한국산 약용식물의 총 폴리페놀 함량과 superoxide anion 소거능, hydroxyl radical 소거능,  $H_2O_2$  소거능, DPPH의 상관관계 분석결과, hydroxyl radical 소거능이 상관관계가 가장 낮은 것으로 보고하였는데, 본 실험에서도 상관관계가 크지 않았다. Shin 등(27)은 유자 과피 에탄올과 열수 추출물, 온주밀감 과피 에탄올과 열수 추출물에서 첨가 농도 30 ppm에서 39.7~52.5%의 소거능을 보였고, 100 ppm에서 54.8~61.6%로 보고하였는데 본 실험에서 사용된 모든 시료가 이보다 높은 활성이 나타났는데 이는 감귤품종, 추출조건 및 첨가 농도 등의 차이에 의한 것으로 판단된다. 본 실험의 지각과 당유자의 hydroxyl radical 소거능은 국내 자생 민들레 지상부와 뿌리의 추출물에서 92.2%와 91.6%의 hydroxyl radical 소거능이 나타난 것(30)보다는 낮았으나, Moon 등(31)이 보고한 제주산 자생식물 중 들깨잎(49%),

Table 4. Changes of hydroxyl radical scavenging activity in the peel of Jeju native citrus fruits during maturation scavenging effect (%)

Section	Harvest date						
	8/28	9/29	10/30	11/29	12/27	1/27	2/27
Gamja <sup>1)</sup>	66.5±0.7 <sup>b2)</sup>	65.7±0.8	66.0±0.5 <sup>b</sup>	64.4±0.6 <sup>bc</sup>	66.0±0.4 <sup>bc</sup>	64.3±0.2 <sup>bc</sup>	—
Dangyooja	74.6±0.6 <sup>a</sup>	73.0±1.7 <sup>a</sup>	69.0±9.1 <sup>b</sup>	67.2±8.5 <sup>b</sup>	68.6±6.8 <sup>b</sup>	70.1±5.4 <sup>b</sup>	72.5±0.7 <sup>a</sup>
Bungkyool	— <sup>3)</sup>	65.0±1.1 <sup>bc</sup>	65.3±1.0 <sup>bc</sup>	65.9±0.7 <sup>bc</sup>	66.5±0.7 <sup>b</sup>	64.8±0.4 <sup>bc</sup>	65.1±0.4 <sup>bc</sup>
Sadoogam	69.1±0.4 <sup>b</sup>	69.7±0.4 <sup>b</sup>	69.0±0.7 <sup>b</sup>	69.1±0.9 <sup>b</sup>	70.5±0.3 <sup>b</sup>	68.9±0.5 <sup>b</sup>	66.5±0.3 <sup>b</sup>
Hongkyool	67.1±1.0 <sup>b</sup>	64.4±1.6 <sup>bc</sup>	65.4±1.2 <sup>bc</sup>	65.5±0.6 <sup>bc</sup>	64.0±0.6 <sup>bc</sup>	65.5±0.5 <sup>bc</sup>	—
Dongjungkyool	67.2±2.5 <sup>b</sup>	67.0±0.7 <sup>b</sup>	67.8±0.8 <sup>b</sup>	67.0±0.9 <sup>b</sup>	66.5±0.6 <sup>b</sup>	66.6±0.3 <sup>b</sup>	66.2±0.6 <sup>b</sup>
Jigak	75.1±0.6 <sup>a</sup>	72.8±0.7 <sup>a</sup>	64.9±2.9 <sup>bc</sup>	65.1±2.9 <sup>bc</sup>	66.5±4.8 <sup>b</sup>	70.3±3.9 <sup>b</sup>	72.9±0.5 <sup>a</sup>
Jinkyool	67.1±0.9 <sup>b</sup>	65.2±1.2 <sup>bc</sup>	62.8±0.7 <sup>bc</sup>	64.5±0.8 <sup>bc</sup>	64.7±0.6 <sup>bc</sup>	65.6±0.4 <sup>bc</sup>	64.6±0.5 <sup>bc</sup>
Binkyool	64.4±0.8 <sup>bc</sup>	64.6±0.8 <sup>bc</sup>	65.2±0.4 <sup>bc</sup>	65.5±1.1 <sup>bc</sup>	65.2±0.6 <sup>bc</sup>	58.2±0.5 <sup>c</sup>	63.3±0.5 <sup>bc</sup>
Inchangkyool	65.1±1.0 <sup>bc</sup>	63.8±1.0 <sup>bc</sup>	65.7±0.5 <sup>bc</sup>	65.5±1.0 <sup>bc</sup>	65.2±0.5 <sup>bc</sup>	65.2±0.6 <sup>bc</sup>	67.3±0.3 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Korean name.

<sup>2)</sup>Means with the same letters are not significantly different ( $p < 0.05$ ), as determined Duncan's multiple range test,  $n=3$ . The tested concentration was 1.3 mg/mL.

<sup>3)</sup>No examined.

Table 5. Changes of nitric oxide radical scavenging activity in the peel of Jeju native citrus fruits during maturation scavenging effect (%)

Section	Harvest date						
	8/28	9/29	10/30	11/29	12/27	1/27	2/27
Gamja <sup>1)</sup>	50.7±1.3 <sup>b2)</sup>	52.9±0.8 <sup>b</sup>	50.2±1.2 <sup>b</sup>	52.7±0.2 <sup>b</sup>	54.8±1.1 <sup>a</sup>	57.6±0.6 <sup>a</sup>	—
Dangyooja	15.6±4.1 <sup>g</sup>	14.2±1.4 <sup>g</sup>	21.5±1.5 <sup>f</sup>	23.6±0.5 <sup>f</sup>	28.4±0.6 <sup>c</sup>	25.9±1.1 <sup>f</sup>	24.0±3.1 <sup>f</sup>
Bungkyool	— <sup>3)</sup>	53.7±1.5 <sup>b</sup>	55.6±3.4 <sup>a</sup>	54.7±0.7 <sup>a</sup>	55.7±0.9 <sup>a</sup>	57.3±0.9 <sup>a</sup>	58.4±1.7 <sup>a</sup>
Sadoogam	24.3±4.3 <sup>f</sup>	24.8±0.6 <sup>f</sup>	21.2±5.2 <sup>fg</sup>	21.4±2.7 <sup>fg</sup>	22.6±5.0	45.7±2.5 <sup>c</sup>	47.6±1.3 <sup>c</sup>
Hongkyool	43.0±2.0 <sup>cd</sup>	41.8±2.3 <sup>cd</sup>	42.7±3.5 <sup>cd</sup>	44.9±1.4 <sup>c</sup>	43.8±0.9 <sup>cd</sup>	53.2±0.9 <sup>b</sup>	—
Dongjungkyool	47.0±2.8 <sup>c</sup>	47.3±1.3 <sup>c</sup>	48.6±3.9 <sup>c</sup>	49.1±1.3 <sup>c</sup>	48.3±0.9 <sup>c</sup>	56.8±0.5 <sup>a</sup>	54.7±2.7 <sup>a</sup>
Jigak	33.1±8.8 <sup>d</sup>	25.8±2.5 <sup>f</sup>	30.2±1.0 <sup>e</sup>	34.7±3.1 <sup>d</sup>	26.8±2.2 <sup>e</sup>	26.7±2.1 <sup>e</sup>	24.3±1.3 <sup>f</sup>
Jinkyool	48.1±2.0 <sup>c</sup>	48.6±1.3 <sup>c</sup>	50.0±1.9 <sup>b</sup>	51.9±0.2 <sup>b</sup>	50.4±2.0 <sup>b</sup>	54.6±0.3 <sup>a</sup>	54.4±1.3 <sup>b</sup>
Binkyool	49.8±1.5 <sup>b</sup>	48.2±0.6 <sup>c</sup>	51.5±1.9 <sup>b</sup>	55.0±0.8 <sup>a</sup>	55.2±1.2 <sup>a</sup>	59.1±0.2 <sup>a</sup>	57.6±1.6 <sup>a</sup>
Inchangkyool	51.0±1.2 <sup>b</sup>	50.8±1.6 <sup>b</sup>	52.7±4.5 <sup>b</sup>	52.4±0.3 <sup>b</sup>	51.3±2.2 <sup>b</sup>	55.3±0.2 <sup>a</sup>	55.4±0.5 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Korean name.

<sup>2)</sup>Means with the same letters are not significantly different (p<0.05), as determined Duncan's multiple range test, n=3. The tested concentration was 2.8 mg/mL.

<sup>3)</sup>No examined.

폴고사리(51%), 두메꿀꿀꽃(65%)보다는 높은 소거능을 나타내었다. 유자 종실 에탄올 추출물의 소거능이 농도별(100~1,000 µg/mL)로 37.85±2.4~87.26±1.6% 범위였다고 보고(11)하였는데 이에 비하면 250 µg/mL 이하의 첨가한 농도보다는 높은 활성을 나타내었다. Hydroxy radical은 DNA의 핵산과 결합함으로써 손상을 일으켜 발암성, 돌연변이 및 세포독성을 유발하게 되며, 지질과산화 과정에서 빠른 개시제로 작용하게 되는데 hydroxy radical 소거활성은 지질과산화 과정의 진행을 직접적으로 방해하거나 활성화된 산소종을 소거함으로써 연쇄반응을 저해하기 때문이라고 보고되고 있다(32).

Nitric oxide radical 소거활성

Nitric oxide(NO)는 생체 내에서 NO synthase(NOS)라는 효소의 촉매작용을 통해 L-arginine으로부터 생성되는 반응성이 강한 자유라디칼이다. NO는 생리적인 현상인 혈압 조절과 신경전달 매개체로 작용하며, 면역반응에 중추적인 역할을 하고 있으며, 뼈를 형성하는 chondrocyte와 synovocyte 같은 세포에서도 발견되고 있다(33). 그러나 최근에 과량의 NO 생성이 염증반응을 일으키고, 조직의 파괴 및 면역체계의 이상을 일으킨다고 보고되고 있다(34). 수확시기별 제주재래종 감귤과피의 NO 소거활성을 측정된 결과 (Table 5), hydrogen peroxide 소거능, superoxide anion 소거능과는 달리 대부분의 감귤종이 성숙됨에 따라 NO 소거활성이 증가하는 추세를 보였으나 변화폭을 크지 않았으며 제주재래종 감귤과피의 NO 소거능은 다른 ROS 소거능보다는 대체로 낮은 소거능을 보였다. 병굴이 전체적으로 가장 높은 NO 소거활성을 나타냈으며, 9월 하순 53.7%에서 2월 하순에 58.4%로 소거활성이 증가하였다. 감자가 8월 하순에서 1월 하순까지 50.7%에서 57.6%로, 진굴, 빈굴, 인창굴이 8월 하순에서 2월 하순까지 각각 48.1%에서 54.4%, 49.8%에서 57.6%, 51.0%에서 55.4%로 증가하는 경향을 보였으나

수확시기별 활성 변화폭은 크지 않았다. 본 실험의 다른 활성산소종에서는 높은 활성을 보였던 지각, 당유자, 사두감(1~2월 소거능은 제외)은 대부분 35% 이하의 가장 낮은 활성을 나타내었다. 또한 총 폴리페놀 함량이 높지 않았던 병굴, 감자, 인창굴이 모든 수확시기에서 50% 이상의 소거활성을 나타내는 것으로 보아 NO 소거능은 총 폴리페놀 함량과 상관성이 크지 않는 것으로 판단된다. Choi 등(35)이 보고한 NO 소거능(IC<sub>50</sub>)에서 사두감, 지각이 1,000 µg/mL 이상이고 당유자, 감자, 진굴, 홍굴이 각각 996.5 µg/mL, 443.3 µg/mL, 188.4 µg/mL, 239.9 µg/mL으로 사두감, 지각, 당유자가 가장 낮은 활성을 보이는 것과 유사하였다. 본 실험의 모든 제주재래종 감귤과피에서 NO 소거활성을 보인 반면, *Citrus obovoides*(Geumgamja)와 *Citrus natsudaidai*(Cheonyahagul)의 essential oils에서 DPPH 라디칼 소거능, superoxide anion 라디칼 소거능, NO 라디칼 소거능을 평가한 결과, NO 소거능은 나타나지 않았고 superoxide anion 라디칼 소거능만 나타난 것으로 보고(14)한 것으로 보아 감귤 부위별 생리활성 차이도 있는 것으로 추정되며, 감귤 14종 중 동정굴, 부지화, 좌등의 essential oils에서 NO 소거능 효과가 큰 것으로 보고(12)하였는데 감귤종에 따른 차이도 있는 것으로 판단된다.

요 약

제주재래종 감귤류 10종에 대해서 수확시기별 총 폴리페놀 함량과 활성산소종 소거활성 변화를 조사하였다. 총 폴리페놀 함량은 지각과 홍굴이 미숙과인 8월 하순과 9월 하순에 200 mg% 내외로 가장 높았고 대부분의 감귤종이 수확시기가 늦어질수록 감소하는 경향을 보였다. 수확시기별 감귤과피의 superoxide anion radical 소거활성은 홍굴과 지각에서 60% 이상으로 가장 높았고 사두감이 가장 낮은 활성을 보였으며 홍굴과 지각을 제외한 감귤류의 수확시기별 차이는 크

지 않았다. Hydrogen peroxide 소거활성은 8월 하순에 사두감이 73.8%로 가장 높은 소거활성을 나타내었고 그 다음에 지각이 거의 70%의 소거활성을 보였으며, 대부분의 감귤종이 수확시기가 늦어질수록 감소하는 경향을 보였다. Hydroxy radical 소거활성은 대부분의 재래감귤종의 과피에서 비교적 높은 활성을 보였으며 지각과 당유자가 8월 하순에 각각 75.1%와 74.6%로 가장 높은 소거활성을 보였고, 그 외 감귤종도 60% 이상의 소거능을 보였으며 수확시기별 차이는 거의 없었다. 감귤이 성숙됨에 따라 hydrogen peroxide 소거능, superoxide anion 라디칼 소거능은 감소하는 경향을 보이나 nitric oxide 라디칼 소거활성은 증가하는 추세를 보였고, 병균이 58.4%로 가장 활성이 높았으며 다른 활성산소종에서 활성이 높았던 사두감, 지각, 당유자가 활성이 가장 낮았다. 본 실험결과 제주재래종 감귤 중 특히 지각이 대부분의 활성산소종에 높은 소거활성을 보였으며, 이에 대한 구체적인 연구가 진행될 필요성이 있을 것으로 판단된다.

### 감사의 글

이 논문은 아열대생물산업 및 친환경농업생명산업 인력 양성 사업단의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사를 드립니다.

### 문헌

1. Kwon GJ, Choi DS, Wang MH. 2007. Biological activities of hot water extracts from *Euonymus alatus* leaf. *Korean J Food Sci Technol* 39: 569-574.
2. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39: 44-84.
3. Kim HJ, Jin CB, Lee YS. 2007. Antioxidative activities of phenolic compound isolated from *Inonotus obliquus*. *Kor J Pharmacogn* 38: 1-16.
4. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 160: 1-40.
5. Masaki H, Skaki S, Atsumi T, Sakurai H. 1995. Active-oxygen scavenging activity of plant extracts. *Biol Pharm Bull* 18: 162-166.
6. Song EY, Choi YH, Kang KH, Koh JS. 1998. Free sugar, organic acid, hesperidin, naringin and inorganic elements changes of Cheju citrus fruits according to harvest date. *Korean J Food Sci Technol* 30: 306-312.
7. Rhyu MR, Kim EY, Bae IY, Park YK. 2002. Content of naringin, hesperidin and neohesperidin in premature Korean citrus fruits. *Korean J Food Sci Technol* 34: 132-135.
8. Sohn JS, Kim MK. 1998. Effect of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. *Korean J Nutr* 31: 687-696.
9. 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.
10. Kim YC, Koh KS, Koh JS. 2001. Changes of flavonoids in the peel of Jeju native Citrus fruits during maturation. *Food Sci Biotechnol* 10: 483-487.
11. Kwon OC, Shin JH, Kang MJ, Lee SJ, Choi SY, Sung NJ. 2006. Antioxidant activity of ethanol extracts from citron (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) seed. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 294-300.
12. Baik JS, Kim SS, Lee JA, Oh TH, Kim JY, Lee NH, Hyun CG. 2008. Chemical composition and biological activities of essential oils extracted from Korean endemic citrus species. *J Microbiol Biotechnol* 18: 74-79.
13. Choi IW, Choi SY, Nam BR, Kim YS, Choi HD. 2008. Contents of polyphenols and limonoids in citron (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) seed extracts and their antioxidant properties. *Food Sci Biotechnol* 17: 373-378.
14. Kim SS, Baik JS, Oh TH, Yoon WJ, Lee NH, Hyun CG. 2008. Biological activities of Korean *Citrus obovoides* and *Citrus natsudaikai* essential oils against acne-inducing bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 72: 2507-2513.
15. AOAC. 1985. *Official Method of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. Method 914-915.
16. Nagai T, Inoue I, Inoue H, Suzuki N. 2003. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chem* 80: 29-33.
17. Muller HE. 1995. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS peroxidase medium. *Zentralbl Bakterio Mikrobiol Hyg* 259: 151-158.
18. Chung SK, Osawa T, Kawakishi S. 1997. Hydroxyl radical scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 118-123.
19. Garrat DC. 1964. *The quantitative analysis of drugs*. Chapman and Hall Ltd, Tokyo, Japan. Vol 3, p 456-458.
20. Yusof S, Ghazali HM, King GS. 1990. Naringin content in local citrus fruits. *Food Chem* 37: 113-121.
21. Herrmann K. 1989. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxy-benzoic acid compounds in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 28: 315-347.
22. Park JH, Kang BW, Kim JE, Seo MJ, Lee YC, Lee JH, Joo WH, Choi YH, Lim HS, Jeong YK, Lee BK. 2008. Effect of ethanol extract from peel of *Citrus junos* and *Poncirus trifoliata* on antioxidant and immune activity. *J Life Sci* 18: 403-408.
23. Anagnostopoulou MA, Kefalas P, Papageorgiou VP, Assimopoulou AN, Boskou D. 2006. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chem* 94: 19-25.
24. 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 Food Cookery Sci* 19: 640-646.
25. Korycka-Dahl M, Richardson T, Hicks CL. 1979. Superoxide dismutase activity in bovine milk serum and its relevance for oxidative stability of milk. *J Food Prot* 42: 867-871.
26. Kim YC, Chung SK. 2002. Reactive oxygen radical species scavenging effects of Korean medicinal plant leaves. *Food Sci Biotechnol* 11: 407-411.
27. Shin DB, Lee DW, Yang R, Kim JA. 2006. Antioxidative properties and flavonoids contents of matured Citrus peel extracts. *Food Sci Biotechnol* 15: 357-362.
28. Chung HY, Kim HB. 2000. *In vitro* studies on the superoxide scavenging activities, the cytotoxic and the immunomodulating effects of thirteen kinds of herbal extracts. *Korean J Food Sci Technol* 32: 699-705.
29. Chance B, Sies H, Boveris A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59: 527-605.
30. Heo SI, Wang MH. 2008. Antioxidant activity and cytotox-

- icity effect of extracts from *Taraxacum mongolicum* H. *Kor J Pharmacogn* 39: 255-259.
31. Moon YG, Choi KS, Lee KJ, Kim KY, Heo MS. 2006. Screening of antioxidative and antibacterial activity from hot water extracts of indigenous plants, Jeju Island. *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 164-169.
  32. Manian R, Anusuya N, Siddhuraju P, Manian S. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chem* 107: 1000-1007.
  33. Ding AH, Nathan CF, Stuehr DJ. 1988. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J Immunol* 141: 2407-2412.
  34. Liang YC, Huang YT, Tsai SH, Lin-Shiau SY, Chen CF, Lin JK. 1999. Suppression of inducible cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse macrophages. *Carcinogenesis* 20: 1945-1952.
  35. Choi SY, Ko HC, Ko SY, Hwang JH, Park JG, Kang SH, Han SH, Yun SH, Kim SJ. 2007. Correlation between flavonoid content and the NO production inhibitory activity of peel extracts from various citrus fruits. *Biol Pharm Bull* 30: 772-778.

(2009년 3월 24일 접수; 2009년 4월 8일 채택)