

감귤박 에탄올추출물과 열수추출물의 영양성분 및 항산화 활성

송연우¹ · 문근식² · 김소미^{1*}

¹제주대학교 생명공학부

²e제주영농조합법인

Antioxidant Activity and Nutrient Content of Ethanol and Hot-Water Extracts of *Citrus unshiu* Pomace

YeonWoo Song¹, Keun Sik Moon², and Somi Kim Cho^{1*}

¹Faculty of Biotechnology, College of Applied Life Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

²e-JejuYoungNong, Jeju 690-071, Korea

ABSTRACT The objective of this study was to evaluate the effect of extraction methods on the antioxidant activity of *Citrus unshiu* pomace. For this purpose, two kinds of citrus pomace (CP)s, whole fruit CP and pulp CP, were used for preparing the extracts with hot water or 70% ethanol. It is well-known fact that whole fruit CP has more calories and carbohydrates, although moisture content is higher in pulp CP. Further, whole fruit CP extracts have higher levels of total phenolic contents compared to CP extracts. In addition, DPPH and alkyl radical scavenging activities were also higher in whole fruit CP, especially in ethanolic extracts. Our results based on liquid chromatography-mass spectrometer showed that 70% ethanolic extract of whole fruit CP has the maximum levels of nobiletin and tangeretin contents. The levels of naringin, which is known as an antioxidant flavonoid, was determined only in the 70% ethanolic extract of whole fruit CP. This result, however, is consistent with the observed DPPH and alkyl radical scavenging activities. We had also performed a gas chromatography analysis that showed all the four extracts contained the compound hydroxymethyl furfural. Significantly, this compound has been reported to have antioxidant activity. Taken together, findings of this study indicate that ethanolic extraction of whole fruit CP is a good source of antioxidant compounds and hence the same could be utilized as an important method to obtain such beneficial compounds on an industrial scale.

Key words: *Citrus unshiu* pomace, total phenolic content, antioxidant activity, LC-MS, GC-MS

서 론

제주도에서 재배되는 감귤류는 우리나라 전체 과수 생산량 중 30%를 차지하며, 연간 약 70만 톤이 생산된다(1). 감귤류의 가공과정 중에 과일의 50%에 해당하는 부산물이 생기는데, 이 부산물 내에는 다양한 생리활성 성분들이 함유되어 있다. 감귤의 성분 중 중요한 기능성 성분인 플라보노이드는 항산화, 항암, 항염증 등의 기능을 가지고 있으며(2,3), 감귤류 유래 주요 flavonoid 화합물로는 naringin, hesperidin, naringenin, hesperetin, nobiletin 그리고 tangeretin 등이 있다(4,5). 감귤박에도 이러한 flavonoid류가 많이 함유되어 있어 항산화 작용이 있다고 보고되었으며(6), pinene, linalool 등의 휘발성 물질이 함유되어 있어 향균작용이 있다고 보고된 바 있다(7,8). 이처럼 감귤박에는 활성물질이 다량 함유되어 있어 이용범위가 넓은 것 같지만 대부분 폐기

되고 있는 실정이다. 최근에는 감귤박의 활용 방안을 제시하기 위한 연구들이 많이 진행되고 있으며, Kim 등(9)의 연구에서 원적외선 조사 및 열처리 공정을 통해 감귤박의 항산화능을 향상시키는 것을 보고하였으며, 유용성분을 지닌 감귤박을 효과적으로 이용하기 위해 가축 사료의 첨가물로서 활용하는 방안이 모색되고 있다(10). 그러나 감귤박의 추출 조건에 따른 유용 플라보노이드류의 함량과 volatile compound의 함량, 또 이에 기인한 항산화 활성에 대한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 감귤류의 가공과정 중에 발생하는 감귤박의 효과적인 이용 방안을 제시하기 위하여 통과 또는 과육 감귤박을 각각 열수와 에탄올 추출법을 적용함으로써 추출방법에 따른 감귤박의 항산화 활성 및 영양 성분들의 함량을 비교 분석하였다.

Received 2 May 2013; Accepted 28 August 2013

*Corresponding author.

E-mail: somikim@jejunu.ac.kr, Phone: 82-64-754-3348

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 감귤박은 제주도 제주시 삼양동에 소재한 e제주영농조합법인 농장에서 친환경 농법으로 재배, 수확한 감귤(*Citrus unshiu*)을 세척한 후 통과 그대로 착즙하거나 혹은 과피를 제거한 후 과육만을 착즙 후 회수하였다. 회수한 과육 또는 통과 감귤박을 동결건조 시킨 후 -70°C 에 저장하면서 사용하였다. Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), ferrozine 은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, FeCl_2 는 Alfa Aesar(Heysham, Lancashire, UK)에서 구입하였다.

추출물 제조

에탄올추출물은 분쇄한 감귤박 5 g에 80% 에탄올 500 mL를 각각 가한 뒤 45분 동안 sonication을 하여 제조하였다. 열수추출물은 감귤박 5 g에 증류수 500 mL를 각각 가한 뒤 105°C 에서 20분 동안 추출하여 제조하였다. 각각의 추출물들을 필터한 후 감압농축기를 사용하여 농축시키고 동결건조를 통해 분말 상태로 만들어 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 감귤박 추출물은 4 종류이며, 과육감귤박 열수추출물 PHW(pulp pomace extracted with hot water), 과육감귤박 70% 에탄올추출물 PEtOH(pulp pomace extracted with 70% EtOH), 통과감귤박 열수추출물 WHW(whole fruit pomace extracted with hot water), 그리고 통과감귤박 70% 에탄올추출물 WEtOH(whole fruit pomace extracted with hot water 70% EtOH)이다.

일반성분 분석

일반성분은 AOAC(Association of Official Analytical Chemists)법(11) 및 식품공전(12)에 준하여 3회 반복하여 평균값으로 측정하였다. 수분은 105°C 상압건조법, 조지방은 건식회화법, 조지방은 에테르 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법으로 측정하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Cheung 등의 방법(13)을 약간 변형하여 1.5 mL의 시료에 0.5 mL Folin-Ciocalteu's 시약을 넣고 3분 후에 1 mL의 Na_2CO_3 를 가한 다음 실온에서 30분 동안 정치한 후 분광광도계(Shimadzu, Tokyo, Japan)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 함량은 gallic acid equivalents(mg GAE/g dried sample)로 나타내었다.

Liquid chromatography–Mass spectrometer(LC–MS) 분석

시료를 0.2~0.5 g 정도 취한 후 100% 메탄올 10 mL를 가하여 3회 추출한 후 추출용액을 여과하여 정용한 후 HPLC

(Waters 2695, Waters Corp., Mississauga, ON, Canada)로 분석하였다. 칼럼은 Symmetry C_{18} (5 μm)을 사용하여 photodiode array(PDA) detector로 검출하였다.

Gas chromatography–Mass spectrometer(GC–MS) 분석

기체크로마토그래피 분석은 Shimadzu GC–MS(Model QP–2010, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하였다 (electron impact, ionization voltage 70 eV). GC column (30 m length, 0.25 mm inner diameter, and 0.25 μm , film thickness)으로는 Rtx–5MS를 사용하였다. 오븐온도는 80°C 에서 3분간 머문 후 250°C 까지 $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 속도로 승온한 다음 5분간 머물도록 설정하였다. 각 화합물의 잠정적인 동정은 WILEY7과 NIST library data에 의해 결정하였다.

항산화 활성 측정

DPPH 라디칼소거능은 Nanjo 등(14)의 방법에 따라 electron spin resonance(ESR)를 이용하여 측정하였다. 에탄올에 용해시킨 60 μM DPPH 30 μL 와 농도별로 준비한 시료 30 μL 를 섞은 후 10초간 강하게 교반하여 2분 동안 실온에서 반응시킨 후에 capillary tube로 옮겨 ESR spectrometer(Jeol Co. Ltd., Tokyo, Japan)에서 측정하였다. 측정 조건은 central field 3475 G, modulation frequency 100 kHz, modulation amplitude 2 G, microwave power 5 mW, gain 6.3×10^5 , temperature 297 K였다. Alkyl 라디칼 소거능은 Hiramoto 등(15)의 방법에 따라 측정하였다. 20 μL 의 phosphate buffered saline(PBS), 40 mM 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride(AAPH), 40 mM alpha-(4-pyridyl-1-oxide)-N-tert-butyl nitron(4-POBN)과 농도별 시료를 차례로 첨가하여 37°C 항온 수조에서 30분간 반응시킨 다음 capillary tube로 옮겨 ESR spectrometer로 측정하였다. 측정 조건은 central field 3475 G, modulation frequency 100 kHz, modulation amplitude 2 G, microwave power 10 mW, gain 6.3×10^5 , temperature 298 K였다.

결과 및 고찰

감귤박의 일반성분 분석

동결건조 된 통과(W) 또는 과육(P) 감귤박의 일반성분 분석을 실시한 결과, 열량과 탄수화물은 통과 감귤박이 360.50 kcal/100 g, 82.80 g/100 g으로 과육 감귤박의 열량 331.47 kcal/100 g과 탄수화물 74.87 g/100 g보다 높게 나타났으며, 수분은 과육 감귤박이 15.43%로 나타나 8.33%의 통과 감귤박보다 약 두 배 정도 더 높게 측정되었다 (Table 1).

Table 1. Proximate compositions of citrus pomace

Diet composition	Calory (kcal/100 g)	Carbohydrate (g/100 g)	Moisture (%)	Crude ash (%)	Crude protein (g/100 g)	Crude fat (g/100 g)
Pulp	331.47±5.60	74.87±1.53	15.43±1.63	2.27±0.12	7.07±0.15	0.43±0.15
Whole fruit	360.50±2.67	82.80±0.26	8.33±0.55	2.23±0.32	6.10±0.46	0.57±0.06

총 폴리페놀 함량

페놀 화합물은 다양한 구조와 분자량을 가지며, 항산화 효과 등의 생리활성 기능을 가지는 것으로 알려져 있다. 열수 또는 80% 에탄올로 제조한 통과, 과육 감귤박의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 표준용액으로 하여 작성한 표준곡선으로부터 조사하여 Fig. 1에 나타내었다. 감귤박의 총 폴리페놀 함량은 과육 열수추출물이 1.06 mg GAE/g, 과육 에탄올추출물이 0.96 mg GAE/g으로 나타났으며 통과 열수추출물은 2.06 mg GAE/g, 통과 에탄올추출물은 2.09 mg GAE/g으로 추출 용매에 따른 차이는 없으나, 통과 감귤박이 과육 감귤박보다 폴리페놀 함량이 더 높은 것으로 나타났다. 이는 감귤의 과피가 과육에 비해 폴리페놀이 더 많이 함유하고 있다는 것을 의미하며, 총 폴리페놀을 추출하는데 용매의 영향은 크게 작용하지 않는 것으로 여겨진다.

ESR을 이용한 라디칼 소거 활성

감귤박 추출물의 추출 방법별 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거능과 alkyl 라디칼 소거능을 측정함으로써 비교하였다. DPPH는 보라색의 비교적 안정한 자유 라디칼로 cysteine, glutathione과 같은 함유황아미노산과 ascorbic acid, aromatic amine 등에 의해 환원되며, 다양한 천연물의 항산화 물질을 검색하는데 일반적으로 많이 이용되고 있다. 감귤박 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 1,000 µg/mL의 농도에서 과육 열수추출물 23.42%, 과육 에탄올추출물 41.87%, 통과 열수추출물 48.54%, 그리고 통과 에탄올추출물 72.51%로 나타났다(Fig. 2). 통과 추출물이 과육 추출물보다 소거능 활성이 더 높게 나타났으며 이는 폴리페놀 함량

결과와 일치하고 있다. 특히 열수추출물보다는 에탄올추출물이 더 활성이 높게 나타났는데, 이는 두 추출물의 전체 폴리페놀 함량은 차이가 없지만 항산화능에 기여하는 폴리페놀 성분이 에탄올추출물에 상대적으로 더 많이 포함되어 있기 때문인 것으로 생각된다. Alkyl 라디칼은 AAPH에 의해 발생하며, hydrocarbon reaction에서 초기 반응 생성물로 형성된다고 알려져 있다. 감귤박 추출물들에 대한 alkyl 라디칼 소거능을 측정된 결과, 2,000 µg/mL의 농도에서 과육 열수추출물 17.67%, 과육 에탄올추출물 22.68%였으며, 통과 열수추출물 44.09%, 통과 에탄올추출물 61.71%로 DPPH와 마찬가지로 통과 감귤박이 과육 감귤박보다 소거

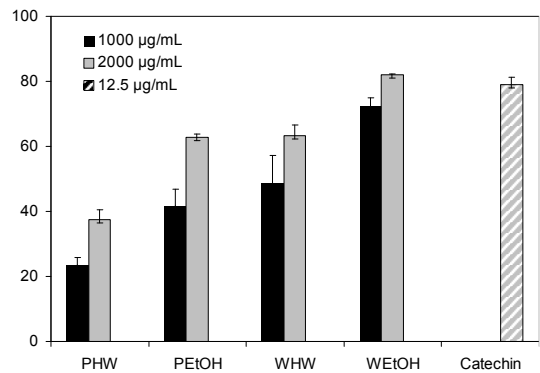


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of citrus pomace extracts. The pulp pomace extracted with hot water (PHW) and 70% ethanol (PEtOH). The whole fruit pomace extracted with hot water (WHW) and 70% ethanol (WEtOH). An appropriate amount of catechin was used as a positive control. Data are expressed as mean±SD.

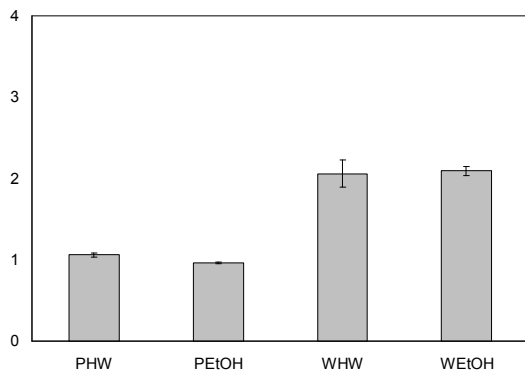


Fig. 1. Total polyphenol contents of citrus pomace extracts. All data are presented as mean±SD of the three replicates. The pulp pomace extracted with hot water (PHW) and 70% ethanol (PEtOH). The whole fruit pomace extracted with hot water (WHW) and 70% ethanol (WEtOH).

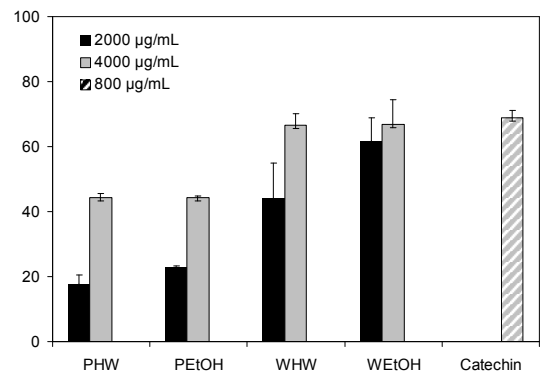


Fig. 3. Alkyl radical scavenging activity of citrus pomace extracts. The pulp pomace extracted with hot water (PHW) and 70% ethanol (PEtOH). The whole fruit pomace extracted with hot water (WHW) and 70% ethanol (WEtOH). An appropriate amount of catechin was used as a positive control. Data are expressed as mean±SD.

Table 2. Flavonoid contents of citrus pomace extracts identified by LC-MS

Content ($\mu\text{g/g}$)	Naringin	Hesperidin	Naringenin	Hesperetin	Nobiletin	Tangeretin
PHW	n.d	10,401.46 \pm 233.97	0.69 \pm 0.03	0.16 \pm 0.01	n.d	n.d
PEtOH	n.d	8,079.69 \pm 31.70	1.03 \pm 0.13	0.05 \pm 0.01	n.d	n.d
WHW	n.d	21,454.84 \pm 20.58	22.66 \pm 0.49	0.26 \pm 0.002	47.37 \pm 4.10	18.44 \pm 0.12
WEtOH	17.09 \pm 0.78	18,530.06 \pm 36.79	1.92 \pm 0.69	0.09 \pm 0.004	214.98 \pm 2.95	66.24 \pm 0.11

n.d: not detected.

The pulp pomace extracted with hot water (PHW) and 70% ethanol (PEtOH). The whole fruit pomace extracted with hot water (WHW) and 70% ethanol (WEtOH).

능 활성이 더 우수했다(Fig. 3). 항산화 표준물질로 사용한 카테킨의 경우 DPPH 라디칼 소거능과 alkyl 라디칼 소거능이 큰 차이를 나타낸 반면, 통과 감귤박 추출물의 경우에는 카테킨과는 대조적으로 DPPH 라디칼과 alkyl 라디칼 소거능이 크게 다르지 않은 것으로 사료된다. 특히 통과 감귤박 열수추출물의 경우, alkyl 라디칼은 4,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서, DPPH 라디칼은 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 약 60%의 라디칼 소거능을 확인할 수 있었다. 또한 추출 용매에 따른 효과는 에탄올추출물이 열수추출물보다 더 높은 것으로 나타났다. 따라서 과피를 포함하고 있는 통과 감귤박의 활용도가 더 높은 것으로 판단되며, 항산화 활성과 관련하여 용매를 사용함에 있어서 열수추출법보다는 에탄올을 이용한 추출법이 더 유용할 것으로 판단된다.

감귤박의 플라보노이드 함량 분석

감귤박 추출물의 플라보노이드 성분에 대한 LC 분석 결과는 Table 2와 같다. 플라보노이드는 식물에 의해 합성된 폴리페놀계 화합물 중 하나이며, 자유 라디칼 소거에 의한 항산화 효능을 지니는 화합물이다. Hesperedin, naringenin, hesperetin은 모두 항산화능이 잘 알려져 있는 플라보노이드이며(16), 이 중 hesperetin은 4 종류의 감귤박에 상당량 함유된 것으로 나타났으며, 각 추출물의 기본적인 항산화효능은 hesperedin에 기인한 것으로 사료된다. 전반적으로 통과 감귤박의 항산화능이 과육 감귤박의 항산화 효능보다 더 우수한 이유로는 통과 감귤박의 hesperetin 함량이 과육 감귤박보다 2배 정도 높다는 점을 들 수 있다. 통과 감귤박 추출물 중에서도 에탄올추출물의 항산화능이 열수추출물의 항산화능보다 높게 나타난 것은 naringenin에 기인한 것으로 사료된다. Naringenin은 항산화, 항 돌연변이 활성(17,18)과 streptozotocin으로 유도된 고혈당 쥐의 혈당량과 H_2O_2 , TBARS level을 낮추고, 항산화 효소들의 활성을 높이는 것으로 보고된 바 있는데(19), 통과 에탄올추출물에서만 검출되었다. 임의로 지정한 6가지 플라보노이드에 대한 함량 분석 결과는 추출물의 항산화 전체 활성과 비례관계를 나타내지 않았는데, 이는 추출물에는 존재하지만 미지정된 미지의 플라보노이드와 통과 에탄올추출물에서만 검출된 naringenin의 항산화 효능에 기인한 것으로 판단된다. 한편 nobiletin과 tangeretin은 항암, 항균 활성 등이 있다고 알려져 있는 플라보노이드인데(20-22), 통과 열수추출물에

각각 47.37 $\mu\text{g/g}$, 18.44 $\mu\text{g/g}$, 통과 에탄올추출물에 214.98 $\mu\text{g/g}$, 66.24 $\mu\text{g/g}$ 함유된 것으로 나타났으며 과육 감귤박에서는 검출되지 않았다. 통과 감귤박 추출물 중에서도 특히 에탄올추출물이 열수추출물보다 3배 이상 함량이 높게 나타났다. 이러한 결과들을 종합해보면 통과 에탄올추출물이 항산화 효능뿐만 아니라 항암 또는 항균 활성 또한 높을 것으로 기대된다.

감귤박의 휘발성 성분 분석

감귤박 추출물의 GC 분석결과는 Table 3과 같다. 4 종류 추출물 모두에서 HMF(hydroxymethyl furfural)의 함량이 35.29%, 59.08%, 46.17%, 52.16%로 높게 나타났다. HMF는 식품 가공 중에 생기는 갈변화를 측정하는 지표로써 사용되는 물질이나(23,24), Li 등(25)의 연구에서 홍조류로부터 추출한 HMF가 라디칼 소거 활성을 가질 뿐만 아니라 세포 내에서의 ROS 생성을 감소시키고 GSH(glutathione)와 SOD(superoxide dismutase)의 발현을 증가시키는 것으로 나타났다. HMF 다음으로 함량이 높게 나타난 maltol 또한 항산화 활성을 지닌 물질로 알려져 있는데, 커피와 인삼에 maltol이 함유되어 있으며(26,27), *in vivo* 실험에서 gallic acid보다 더 높은 항산화 효과를 나타내는 것으로 보고된 바 있다(27). 따라서 감귤박 추출물이 폴리페놀뿐만 아니라 HMF와 maltol 등에 의해서도 항산화 활성을 나타내는 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 감귤박의 생리기능성을 탐색하고자 통과 감귤박과, 과피를 제거한 과육 감귤박을 열수와 에탄올로 각각 추출하여 일반성분 및 항산화 활성을 측정하였다. 감귤박의 일반성분을 측정한 결과, 열량과 탄수화물은 통과 감귤박이 더 높았으며 수분은 과육 감귤박이 더 높은 것으로 나타났다. 총 폴리페놀 함량은 추출 용매에 따른 차이는 없었으나, 과피를 포함하고 있는 통과 감귤박이 더 높은 함량을 나타냈다. ESR을 이용한 DPPH 라디칼 소거능과 alkyl 라디칼 소거능 측정 결과, 과육보다는 통과 감귤박의 활성이 더 높았으며, 열수추출물보다는 에탄올추출물이 활성이 높게 측정되었다. Liquid chromatography를 이용한 플라보노이드 함량 분석 결과, naringenin은 통과 에탄올추출물에서만 검출

Table 3. Major lipophilic compounds of citrus pomace extracts tentatively identified by GC-MS

Peak number	RT ¹⁾	Area ²⁾ (%)				Compounds ³⁾
		PHW	PEtOH	WHW	WEtOH	
1	5.285	0.89	n.d	n.d	n.d	2,2-dimethyl-3-oxo-butyric acid methyl ester
2	7.653	1.12	0.92	1.22	2.33	(E) Ethyl Undec-2-enoate
3	9.589	1.4	0.93	1.19	1.81	Levulinic acid
4	10.528	12.47	14.37	14.03	11.3	Maltol
5	12.424	11.29	9.92	11.95	10.01	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one
6	14.986	35.29	59.08	46.17	52.16	HMF
7	15.409	11.73	6.51	10.54	4.89	1,2,3-propanetriol, monoacetate
8	17.413	3.98	n.d	n.d	3.85	Phenol, 4-ethenyl-2-methoxy-
9	17.476	n.d	1.76	2.8	n.d	N-nitroso-2-ethyl-1,3-tetrahydrooxazine
10	19.507	n.d	n.d	3.65	3.17	di-iso-amylformal
11	19.571	3.48	n.d	n.d	n.d	3,5,5-trideuterocyclohexa-2-en-1-ol
12	19.697	n.d	n.d	2.59	2.03	Quinaldine N-oxide
13	19.698	n.d	3.88	n.d	n.d	Methyl 3-O-acetyl-2,4,6-tri-O-methyl- α -D-glucopyranoside
14	19.699	3.09	n.d	n.d	n.d	3-methyl isoquinoline N-oxide
15	26.202	9.67	n.d	n.d	n.d	Methyl α -D-galactoside
16	30.971	1.04	n.d	n.d	1.52	3-hydroxy-4-methoxycinnamic acid
17	32.694	n.d	n.d	1.32	0.92	Pentadecylic acid
18	33.031	n.d	n.d	0.76	n.d	6-cyanotetralin
19	33.034	n.d	n.d	n.d	1.63	1-bromo-2,3-methylene-indane
20	33.193	n.d	n.d	0.86	n.d	1-Phenylcyclobutanecarbonitrile
21	33.385	4.55	0.95	1.71	0.99	Quinoline ethiodide
22	42.486	n.d	n.d	0.61	n.d	2-monopalmitin
23	49.827	n.d	n.d	0.60	n.d	4,10-dimethyl-7-isopropyl-bicyclo(4.4.0)-1,4-decadien
24	51.345	n.d	n.d	n.d	0.81	Cholest-5-en-3-beta-yl methyl ether
25	52.674	n.d	1.68	n.d	2.58	24-beta-ethyl-5-delta-cholesten-3 beta-ol

¹⁾Retention time (min).

²⁾Peak area percentage (peak area relative to the total peak area%).

³⁾Compounds tentatively identified based on parent molecular ions, retention times, and elution order, as well as the fragmented spectra compared with the literature.

n.d: not detected

The pulp pomace extracted with hot water (PHW) and 70% ethanol (PEtOH). The whole fruit pomace extracted with hot water (WHW) and 70% ethanol (WEtOH).

되었으며, 또한 nobiletin과 tangeretin의 함량이 통과 에탄올추출물에서 높게 나타났다. GC 분석 결과를 토대로 감귤박 추출물의 항산화 활성은 플라보노이드뿐만 아니라 HMF와 maltol에 기인할 수 있음을 나타냈다. 따라서 과피를 포함하고 있는 통과 감귤박은 기능성 식품을 개발하는 데 있어서 높은 활용 가치가 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부, 한국산업기술평가관리원, 중소기업청 중소기업기술혁신개발사업의 연구결과입니다.

REFERENCES

1. Lee HY, Seog HM, Nam YJ, Chung DH. 1987. Physico-chemical properties of Korean mandarin (*Citrus reticula*) orange juices. *Korean J Food Sci Technol* 19: 338-345.
2. Ahn MS, Kim HJ, Seo MS. 2007. A study on the antioxidative and antimicrobial activities of the citrus *Unshju* peel extracts. *Korean J Food Culture* 22: 454-461.
3. Yoon CH, Jwa SM. 2006. Isolation of the anti-tumor pro-motes from citrus peels. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 25-29.
4. Mouly PPM, Arzouyan CG, Gaydou EM, Estienne JM. 1994. Differentiation of citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. *J Agric Food Chem* 42: 70-79.
5. Rousff RL, Martin SF, Youtsey CO. 1987. Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin in citrus. *J Agric Food Chem* 35: 1027-1030.
6. Senevirathne M, Jeon YJ, Ha JH, Kim SH. 2009. Effective drying of citrus by-product by high speed drying: A novel drying technique and their antioxidant activity. *J Food Eng* 92: 157-163.
7. Benelli P, Riehl CAS, Smania Jr A, Smania EFA, Ferreira SRS. 2010. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition. *J Supercritical Fluids* 55: 132-141.
8. Kim YS, Shin DH. 2003. Researches on the volatile antimicrobial compounds from edible plants and their food application. *Korean J Food Sci Technol* 35: 159-165.
9. Kim JW, Jeon YJ, Lee JH, Lee SC. 2006. Effect of far-infrared irradiation and heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus pomaces. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 60-64.

10. Yang SJ, Jung IC, Moon YH. 2007. Physicochemical properties and sensory characteristics of Korean native beef loin fed with citrus byproduct. *J Life Sci* 17: 540-545.
11. AOAC. 2005. *Official methods*. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. Chapter 4, p 33-36.
12. Korean Food Standards Codex. 2008. Korea Food Industry Association, Seoul, Korea. p 301-340.
13. Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem* 81: 249-255.
14. Nanjo F, Goto K, Seto R, Suzuki M, Sakai M, Hara Y. 1996. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radical Biol Med* 21: 895-902.
15. Hiramoto K, Johkoh H, Sako K, Kikugawa K. 1993. DNA breaking activity of the carbon-centered radical generated from 2,2'-azobis (2-amidinopropane) hydrochloride (AAPH). *Free Radical Res Commun* 19: 323-332.
16. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol Med* 20: 933-956.
17. Chen YT, Zheng RL, Jia ZL, Ju Y. 1990. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biol Med* 9: 19-21.
18. Francis AR, Shetty TK, Bhattacharya RK. 1989. Modulating effect of plant flavonoids on the mutagenicity of N-methyl-N-nitro-N'-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis* 10: 1953-1955.
19. Ali MM, El Kader MA. 2004. The influence of naringin on the oxidative state of rats with streptozotocin-induced acute hyperglycaemia. *Z Naturforsch C* 59: 726-733.
20. Lam KH, Alex D, Lam IK, Tsui SK, Yang ZF, Lee SM. 2011. Nobiletin, a polymethoxylated flavonoid from citrus, shows anti-angiogenic activity in a zebrafish in vivo model and HUVEC in vitro model. *J Cell Biochem* 112: 3313-3321.
21. Moon JY, Cho M, Ahn KS, Cho SK. 2013. Nobiletin induces apoptosis and potentiates the effects of the anticancer drug 5-fluorouracil in p53-mutated SNU-16 human gastric cancer cells. *Nutr Cancer* 65: 286-295.
22. Yao X, Zhu X, Pan S, Fang Y, Jiang F, Phillips GO, Xu X. 2012. Antimicrobial activity of nobiletin and tangeretin against *Pseudomonas*. *Food Chem* 132: 1883-1890.
23. Larisch B, Groß U, Pischetsrieder M. 1998. On the reaction of L-ascorbic acid with propylamine under various conditions: quantification of the main products by HPLC/DAD. *Z Lebensm Unters Forsch A* 206: 333-337.
24. Lee HS, Nagy S. 1988. Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus juice quality. *Food Technology* 11: 91-97.
25. Li YX, Li Y, Qian ZJ, Kim MM, Kim SK. 2009. *In vitro* antioxidant activity of 5-HMF isolated from marine red alga *Laurencia undulata* in free radical mediated oxidative systems. *J Microbiol Biotechnol* 19: 1319-1327.
26. Yanagimoto K, Ochi H, Lee KG, Shibamoto T. 2004. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *J Agric Food Chem* 52: 592-596.
27. Han BH, Park MH, Han YN. 1985. Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (V): The mechanism of antioxidant activity of maltol and phenolic acid. *Korean Biochem J* 18: 337-340.