

레몬 하우스 재배에 있어 시기별 과즙의 Hesperidin 함량변화에 따른 적정수확 기준

이광주¹ · 한상헌^{2*}

¹제주특별자치도 농업기술원, ²국립제주대학교 생물산업학부

Index of Optimum Harvest Time as Seasonal Hesperidin Content Changes for *Citrus lemon* Juice in Plastic Film House

Kwang Ju Lee¹ and Sang Heon Han^{2*}

¹Jeju Special Self-governing Province Agricultural Research and Extension Service 951, Bongseong Awol, Jeju 695-905, Korea
²Faculty of Bioscience & Industry, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

Abstract. This study was evaluated that seasonal change of the hesperidin content was in relation to the skin color and weight of fruit in outer or inner side of the canopy, for determine the optimum time and the index of most abundant hesperidin content in lemon fruits juice. The hesperidin content was different with fruit growth and on fruit bearing site of the tree. The fruits of the either side contained the highest hesperidin value at 162 and 176 days after anthesis just after de-greening and the value was highest in the fruits of outer side of the canopy. This time also corresponded to the time just before the cessation of fruit growth. These results suggested that the optimum harvesting period for more hesperidin content was the stage just after de-greening and just before fruit growth cessation.

Key words : Brix, canopy, citric acid, de-greening, fruits juice, hesperidin

서 론

레몬(*Citrus lemon*)은 시트론, 라임 및 미명의 품종 (Malike 등, 1974) 또는 시트론, 라임 및 라프 레몬 (Hodgson, 1967)의 속간잡종이다. 과실은 특장이 있는 향과 과즙에는 강한 산미가 있어 음료수로 많이 이용이 되고 있다. 그리고 당질, 유기산 등 영양성분 및 비타민 C, flavaone류, 펙틴 등의 생리활성 성분을 포함하고 있어 사람의 건강유지, 증진에 대한 이들 성분의 효과가 검토되고 있다(Miyake, 1998). 이탈리아에서는 당이 첨가된 과즙은 치은염, 구내염 완화제로 이용이 되고 있다 (Morton, 1987). 더욱이 감귤류의 flavonoid 및 limonoid의 약리작용에 대해 많은 연구가 되어 있는데(Mazza, 1998) 특히, 레몬과실 및 과즙에 대해 비교적 많은 화학적 구성성분에 대한 연구가 이루어졌다(Albach와 Redman, 1969; Coffin, 1971; Horowitz와 Gentili, 1979; Kamiya 등, 1977; Mizuno 등, 1987; Nishiura 등, 1971; Tatum and

Berry 1979; Vandercook와 Tisserat 1989; Vandercook 등, 1990). 그 중에 flavaone류인 eriocitrin과 hesperidin에 대한 정량분석 결과에 대해 알려져 있다(Vandercook와 Tisserat 1989).

Hesperidin은 감귤류에서 flavonoid glycoside(C₂₈H₃₄O₁₅)의 aglycone 형태로 존재를 하며 sweet orange에서 항산화제로 작용을 했다(Wilmen 등, 2005). Park 등(1983)과 Tatum 등(1979)은 레몬의 과피에 대해서 eriocitrin과 hesperidin을 HPLC로 정량을 한 바가 있으나 과실비대에 따른 시기별로 조사를 하지 않았다. Kondo 등(2002, 2003)은 '리스본' 레몬의 과피와 과육에 대한 시기별 total phenol과 ascorbic acid 함량변화를 조사한 바가 있으나 hesperidin의 함량변화를 조사하지 않았다.

제주감귤산업은 조생 온주밀감 편중에 의한 홍수출하로 생산과잉 등으로 큰 문제점이 되고 있다(Ko, 2006). 이러한 문제점을 해결하기 위해 레몬, 영귤 및 제주 재래귤 등의 향산감귤의 기능성 및 정유 성분을 활용한 화장품 등의 고부가가치 가공제품을 개발하고 있다. 그래서 본 연구에서는 레몬과실의 hesperidin 함량이 가장 많은 적정 수확지표를 결정하기 위해 수관내부와 외부의 과실생육 시기별 착색 및 과중변화에 따른 hesperidin

*Corresponding author:

Received July 10, 2012; Revised December 3, 2012;
Accepted March 4, 2013

함량을 조사했다.

재료 및 방법

2005년도에 제주특별자치도 농업기술원 도련 포장의 비가림 하우스에 재식된 탕자에 절집된 8년생의 ‘유레카’ 레몬 12주 중 5주를 공시품종으로 이용을 했다. 5월 3일에 개화가 시작이 되었고 분석용 과실채취는 나무하나당 수관외부 내부로 구분하여 각 5개의 과실을 9월에서부터 12월에 걸쳐 약 2주 간격으로 행하였다.

채취된 과실에 대해 과실의 무게를 측정하고 색차계(CR-300, Minolta, Japan)로 착색정도를 측정한 후에 과실의 당도 및 산함량을 측정하기 위해 박피한 다음 착즙을 했다. 착즙된 과즙을 가제로 여과한 후에 당산 자동분석기(NH-100, Horiba, Japan)로 당도 및 산함량을 측정했다. 과실당도 및 산함량 측정 후에 hesperidin 및 구연산 함량 측정용 시료로 분석하기 전까지 초저온 냉동고(de-freezer, Sanyo, Japan)에 보관했다.

Hesperidin 정량분석은 과즙시료 1ml을 해동시킨 다음에 micro membrane filter(0.45 μ m, Osmonics Inc. U.S.A)로 여과한 후에 희석하지 않고 HPLC system(SCL-10A, Shimadzu, Japan)으로 분석을 했다. 그 system은 pumping system(LC-19AD), auto-samplers(SIL-20A), UV-visible detector(SPD-10A) 그리고 VP-DOS column(I.D 4.6mm \times 250mm, Shimadzu, Japan)이 장착된 column oven으로 구성이 되었다. 이동상은 용액 A[CCH₃CN : acetic acid (99.5 : 0.5)]와 B[dH₂O : acetic acid]를 다음과 같은 용출 프로그램에 따라 흘러 보냈다. 즉, A용액의 농도를 0, 15, 26, 30분 동안에 20, 40, 40, 20%가 되도록 점진적으로 증가를 시키고 B용액의 농도도 같은 시간동안에 80, 60, 60, 20%가 되도록 하였다. 유속은 1.0ml \cdot min⁻¹ 유지시켰고 injection volume은 20 μ l로 하였다. Hesperidin 함량은 표준시료(Sigma)를 280nm의 조건에서 정량한 pick와 같은 retention time 면적과 비교하여 정량을 하였다.

구연산 농도를 정량하기 위해 과즙시료는 hesperidin 정량분석과 같은 방법으로 조제를 했으며 분석에 이용된 HPLC system은 hesperidin과는 다른 Waters 제품(2690 XE, U.S.A)을 사용했다. 그 system은 pumping system (2690 XE), auto-samplers(AS 10000, Thermo Separation Products Inc.U.S.A), photo diode array detector(Waters 996) UV-visible detector(SPD-10A) 그리고 이온교환 column(Ionpac $\text{\textcircled{R}}$ ICE-AS6, U.S.A)으로 장착된 column oven으로 구성이 되었다. 이동상은 용액으로 0.4mM Heptaflorbutyric acid를 0.4ml \cdot min⁻¹ 유지시켰고 시료를 300배 희석시킨 후에 injection volume은 10 μ l로 하였다.

구연산 함량은 표준시료 (Sigma)를 210nm의 조건에서 정량한 pick와 같은 retention time 면적과 비교하여 정량을 하였다.

결과 및 고찰

HPLC system으로 정량된 개화 후 일수에 따른 과즙의 hesperidin 함량변화를 Fig. 1에서 보면, 개화 후 162일과 176일 사이와 217일째 두 번의 peak를 나타냈다. 그 함량은 두 번째 peak인 30 μ l \cdot ml⁻¹보다도 높은 첫 번째 peak에서 60 μ g \cdot ml⁻¹을 나타냈다. 그리고 수관 내부와 외부에 따른 함량은 첫 번째 peak에서는 수관외부가 두 번째 peak에서는 반대적으로 수관내부가 외부보다 높았다.

본 연구에서 조사된 과즙의 hesperidin 함량은 Marín 등(2002)이 보고한 함량보다 낮았다. 이들이 보고한 스페인 Murcia는 대목으로 *Citrus macrophylla*, Fino(coln 49)와 Verena(coln 50)를 주로 이용을 하고 있다. Gil-Izquierdo(2004)은 레몬과즙의 flavonoid 함량은 대목과 이중대목에 의해 영향을 받았다는 것을 보고한 바가 있다. Flavonoid의 생합성은 강한 햇빛에 의해 영향을 받기 쉽고(Mozafar, 1993) 식물체는 자외선에 대응해 엽록체 및 phytochrome와 같은 광수용체를 방어하기 위해 식물체는 polyphenol을 생산한다고 주장해 왔다(Strack와 Wray, 1989). Kondo 등(2003)은 레몬및 사과 과피의 항산화성분과 기능에 미치는 차광에 대한 영향에서 수관차광처리의 레몬의 과피가 무처리의 과피보다 ascorbic acid (비타민 C)와 β -cryptoxanthin 함량이 낮았고 항산화능력도 낮았다고 발표를 한 바가 있다. 본 실험에서 조사된

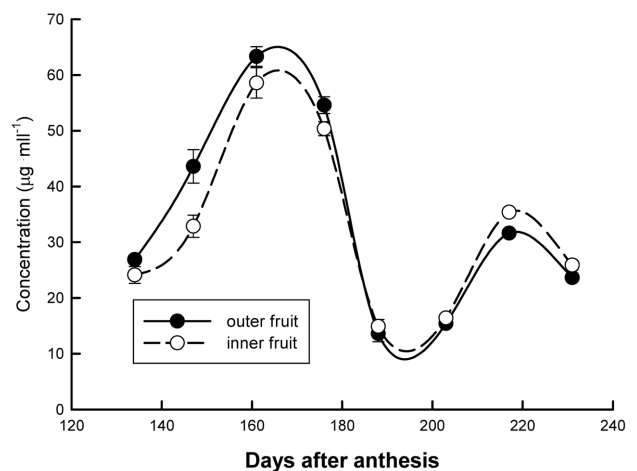


Fig. 1. Seasonal change of hesperidin content as bearing sites, outer fruit and inner fruit of the tree canopy. Vertical bars indicate standard errors of the means (N = 5).

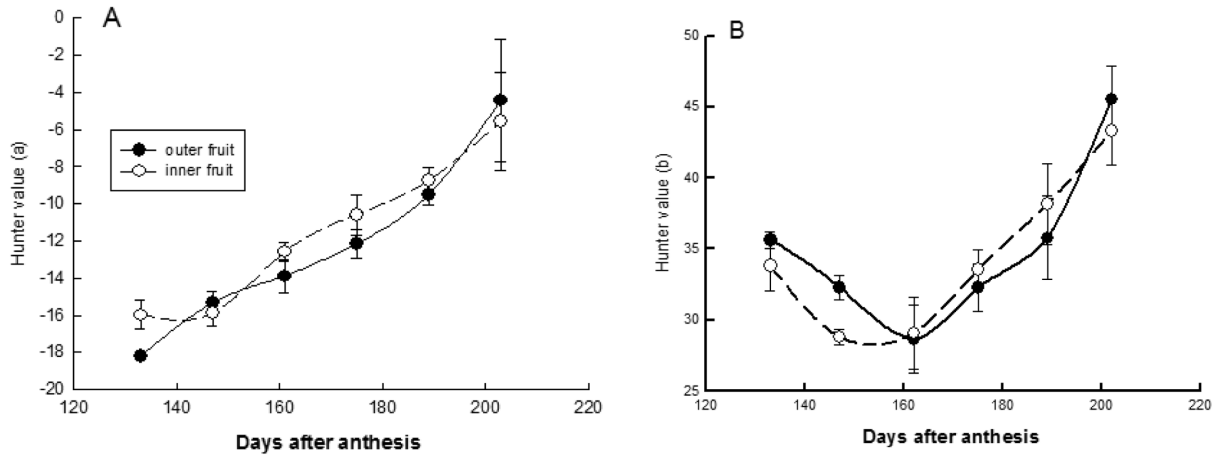


Fig. 2. Seasonal change of hunter value (A and B) as bearing sites, outer fruit and inner fruit of the tree canopy. Vertical bars indicate standard errors of the means (n = 5). a: green~red b: -60 (blue)~+60 (yellow).

hesperidin도 항산화 물질로 수관 외부의 과실이 내부보다 대체적으로 높았다.

과실의 과피의 착색정도를 색차계로 조사한 결과를 a (녹색에서 적색범위)값과 b(청색에서 황색범위) 값으로 Fig. 2에서 나타냈다. 각각의 값은 수관 외부와 내부에 관계없이 일정한 형태를 나타냈지만 특히 b값은 개화 후 148일과 162일까지 점진적으로 감소를 나타냈지만 그 이후에는 급격하게 증가를 보였다. 개화 후 162일째까지는 약 -0.5로 일정했으나 그 이후에 증가했다. Fig. 1의 시기별 hesperidin 함량과 종합해 보았을 때 그 함량이 가장 많은 시기는 착색이 막 시작 되는 시기인 것이 암시가 되었다.

과즙의 hesperidin 농도 뿐만 아니고 착즙된 주스의 량

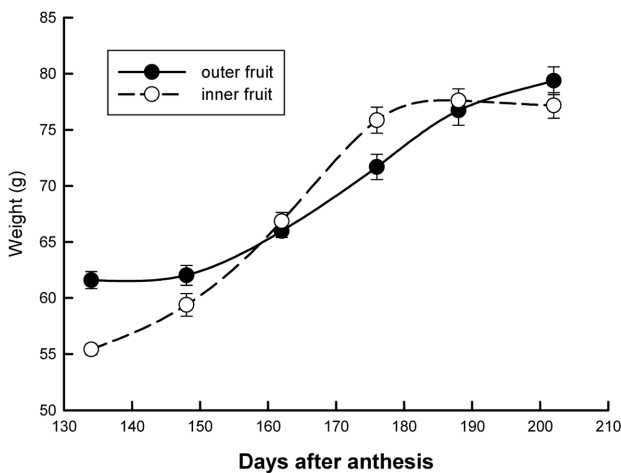


Fig. 3. Seasonal change of flesh weight as bearing sites, outer fruit and inner fruit of the tree canopy. Vertical bars indicate standard errors of the means (n = 5).

도 가공과정에서 중요하다. flesh 주스의 량을 평가하기 위해 시기별 과즙의 변화를 Fig. 3에서 조사했다. 과즙은 개화 후 180~190일째까지는 착과 위치에 관계없이 거의 일정한 값을 보였다. 그 평균 과즙이 hesperidin 함량이 가장 높았던 개화 후 162일과 176일째에 착과위치에 관계없이 평균 70g이었다.

이결과는 과즙의 hesperidin 함량이 가장 높았던 시기는 과실의 생육이 막 멈추는 시기와 상관이 있다는 것을 암시했다. 개화 후 162~176일째 이후 그 함량 peak 이후에는 급격한 감소를 나타내 이 두 가지 기준이 과즙의 hesperidin 함량이 가장 많은 수확기준으로 강력하게 권장해야 한다는 사실을 입증하고 있다.

개화 후 일수에 따른 과즙의 당도 및 구연산 함량변화를 Fig. 4에 나타냈다. 당도는 개화 후 176일째까지는 증가를 나타낸 후 약 8.5°Brix를 나타냈고 그 이후에는 일정했다. 수관 내부의 과실이 외부보다 조금 높았으나 큰 차이를 보이지 않았다. 구연산 함량은 수관 내외부에 관계없이 개화 후 148~162일째에 6%로 가장 높았으며 그 이후로 감소했다. 수관 내외부에 따른 차이는 표준 오차가 크기 때문에 차이를 보이지 않았다. 과즙의 구연산함량과 hesperidin 함량의 변화와 비교해 보았을 때 당도가 높고 구연산 함량도 감소를 나타내는 개화 후 162일과 176일째에는 hesperidin 함량이 가장 높았다.

현재 질병 및 어떤 형태의 암예방을 위해 기능성 성분을 가진 과실과 채소의 중요성이 널리 인식이 되고 있다(Benavente-Garcla 등 1997; Block, 1992; Block 등, 1992). 감귤류의 과실은 비타민C와 flavonoid 등 중요한 성분들을 갖고 있다(Benavente-Garcla 등 1993; DelRlo, 1998; Ortuño등, 1999). Konto 등(2002)은 감귤과실의 발육 중에 있어 비타민 C 및 총페놀함량의 변화에 따른

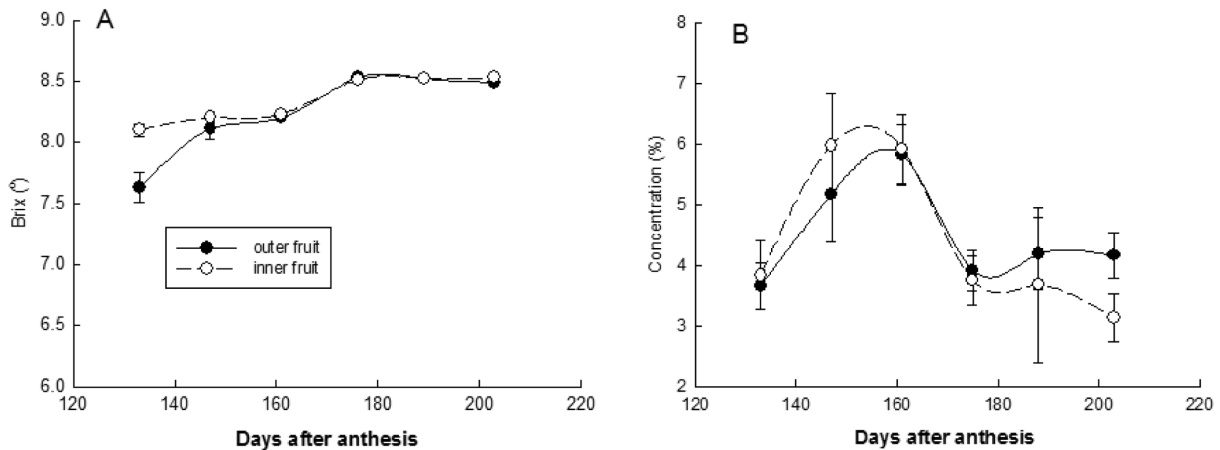


Fig. 4. Seasonal change of citric acid content as bearing sites, outer fruit and inner fruit of the canopy. A: Brix, B: Citric acid. Vertical bars indicate standard errors of the means (n = 5).

항산화기능의 추이를 조사를 한 바가 있다. 본 연구에서도 항산화 물질 중 하나인 hesperidin(Yano, 1999)에 대해 레몬과실의 발육 중 그 함량이 가장 많은 적정 수확지표로 착색시기 및 과중증가가 멈추는 시점을 연관시켜 조사를 해보았다. 이상의 결과들을 종합해 보면, hesperidin 함량이 많은 적정 수확 시기는 착색이 막 시작이 되고 과실의 생장이 멈추기 직전이라는 것을 나타냈다. 이러한 적정수확 기준은 레몬을 활용한 기능성 제품개발에 중요한 기초자료로 활용이되 제주감귤산업에 있어 온주 밀감 과잉생산의 문제해결에 큰 역할을 하리라 기대가 된다.

적 요

본 연구는 레몬과즙의 헤스페리딘 함량이 가장 많은 수확시기 지표를 결정하기 위해 수관내부 및 외부에 착과된 과실에 대해 시기별 헤스페리딘 함량을 착색시기 및 과중과 연관시켜 평가했다. 그 함량은 과실생장에 따라 달랐으며 수관내부 및 외부에 있어 착색이 막 시작되는 개화 후 162일과 176일째에 가장 많았다. 그리고 수관외부가 내부보다 많았다. 이상의 결과는 레몬과실의 헤스페리딘 함량이 가장 많은 적정 수확 시기는 착색이 막 시작이 되고 과실의 생장이 멈추기 직전이라는 것을 나타냈다.

주제어 : 과즙, 구연산, 당도, 수관, 착색, 헤스페리딘

Literature Cited

Albach, R.F. and G.H. Redman. 1969. Composition and inheritance of flavanones in citrus fruit. *Phytochemistry* 8:127-

143.
 Benavente-García, O., J. Castillo, and J.A. Del Río. 1993. Changes in neodiosmin levels during development of *Citrus aurantium* leaves and fruits. Postulation of neodiosmin biosynthetic pathway. *J. Agricultural Food Chemistry* 41:1916-1919.
 Benavente-García, O., J. Castillo, F.R. Marín, A. Ortuño, and J.A. Río. 1997. Uses and properties of *Citrus* flavonoids. *J. Agricultural Food Chemistry* 45:4505-4515.
 Block, G. 1992. The data support a role for antioxidants in reducing cancer risk. *Nutrition Rev.* 50: 207-213.
 Coffin, D.E. 1971. A method for the isolation and identification of the flavanone glycosides of *Citrus* fruit juices. *J. Agricultural Food Chemistry* 19:513-516.
 Del Río, J.A., M.C. Arcas, O. Benavente, F. Sabater, and A. Ortuño. 1998. Change of polymethoxylated flavones levels during development of *Citrus aurantium* (cv. Sevillano) fruit. *Planta. Medica.* 64:575-576.
 Gil-Izquierdo A., M.T. Riquelme, I. Porrás, and F. Ferreres. 2004. Effect of the rootstock and interstock grafted in lemon tree (*Citrus limon* L.) Burm. on the flavonoid content of lemon juice. *J. Agricultural Food Chemistry* 52:324-331.
 Hertog, M.G.L., E.J.M. Feskeens, C.H. Hollman, M.B. Katan, and D. Kromhout. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of heart disease: the Zutphen elderly study. *Lancet.* 342:1007-1011.
 Hodgson, R.W. 1967. Horticultural varieties of *Citrus*. p. 431-591. In: *The Citrus Industry*, volume 1. University of California, Berkeley, USA.
 Horowitz, R.M. and B. Gentili. 1961. Phenolic glycosides of grapefruit: A relation between bitterness and structure. *Archives of Biochemistry Biophysics* 92:191-192.
 Kamiya, S., S. Esaki, and F. Konishi. 1979. Flavonoids in *Citrus* hybrids. *Agricultural and Biological Chemistry* 43:1529-1536.

- Kondo, S., K. Tsuda, N. Muto, and S. Nakatani. 2002. Changes in antioxidant activity during fruit development in *Citrus* fruit. Horticultural Research (Japan) 1:63-66 (In Japanese).
- Kondo, S., K. Tsuda, Yoshikawa, and S. Nakatani. 2003. Effect of Shading on the levels and activities of antioxidative compounds in the skin of lemons and apples. J. Japan Soc. Hort. Sci. 72:221-223.
- Ko, S.B. 2006. The present state of the *Citrus* industry in change of domestic and abroad condition. p. 1-9. In: *Citrus* industrial analysis theory. University of Jeju, Jeju, Korea.
- Malik, M.N., R.W. Scora, and R.K. Soost. 1974. Studies on the origin of the lemon. Hilgardia. 42:361-382.
- Marín, F.G., M. Martínez, T. Uribealgo, S. Castillo, and M.J. Frutos. 2002. Change in nutraceutical composition of lemon juices according to different industrial extraction systems. Food Chemistry 78:319-324.
- Mazza, G. 1998. *Citrus* fruit p. 156-157, In: Functional foods. Technomic publishing, USA.
- Miyake, Y., K. Yamamoto, M. Nagasaki, N. Nakai, T. Murakami, and Y. Shimomura. 2001. Influence of lemon juice citrate on blood lactate concentration after exercise in humans. J. Japan Soc. Nutr. Food Sci. 54:29-33.
- Mizuno, M., Y. Matoba, and T. Tanaka. 1987. Two new flavones in *Citrus reticulata*. J. Natural Products 50:751-753.
- Morton, J. 1987. Lemon. p. 160-168, In: Fruit of warm climates, Julia F. Morton and FL. Miami Mozafar, A. 1993. Climate and plant vitamins. p. 89-155. In: A. Mozafar (ed.) Plant vitamins agronomic, physiological, and nutritional aspects. CRC Press, Boca Raton, Florida USA.
- Nishiura, M., S. Kamiya, S. Esaki, and F. Ito. 1971. Flavonoids in *Citrus* and related genera. Part II. Isolation and identification of isonaringin and neoeriocitrin from citrus. Agricultural and Biological Chemistry 35:1683-1690.
- Ortuño, A., M.C. Arcas, O. Benavente-García, and J.A. Del Río. 1999. Evolution of poly-methoxy flavones during development of tangelo Nova fruit. Food Chemistry 66: 217-220.
- Park, G.L., S.M. Avery, J.L. Byers, and D.B. Nelson. 1983. Identification of bioflavonoids from *Citrus*. Food Tech. 37:98-105.
- Salah, N., N.J. Miller, G. Paganga, L. Tijburg, G.P. Bolwell, and C. Rice Enans. 1993. Polyphenolic flavonols as scavenger of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. Archives Biochem. Biophys. 322:339-346.
- Saure, M.C. 1990. External control of anthocyanin formation in apple. Sci. Hort. 42:181-218.
- Strack, D. and V. Wray. 1989. Anthocyanins. p. 325-356. In: P.M. Dey and J.B. Harbone (eds.). Methods in plant biochemistry. Vol. 1. Plant phenolics. Academic Press, London.
- Tatum, J.H. and R.E. Berry. 1979. Coumarins and psoralens in grapefruit peel oil. Phytochemistry 18:500-502.
- Tomas, F., O. Carpena Artes, R. Pastor, and J.J. Mataix Beneyeto. 1978. Flavonoids in flowers cv. Eureka. Proceedings of the International Society of Citriculture 1:74-76.
- Vandercook, C.E. and B. Tisserat. 1989. Flavonoid changes in developing lemons grown and Phytochemistry 28:799-803.
- Wilmsen, P.K., D.S. Spada, and M. Salvador. 2005. Antioxidant activity of flavonoid hesperidin in chemical and biological systems. J. Agric. Food Chem. 53: 4757-4761.
- Yano, M. 1999. A study and an overview of future development in anti-oxidative components in fruits. Fruit Japan 54: 22-25