

Citrus 과피 추출물의 항산화 및 사과 슬라이스에 대한 항갈변 효과

박미지 · 김건희*

덕성여자대학교 건강기능신소재학과

The Antioxidative and Antibrowning Effects of Citrus Peel Extracts on Fresh-cut Apples

Miji Park and Gun-Hee Kim*

Plant Resources Research Institute, Duksung Women's University

Abstract This study was designed to evaluate the usability of the following citrus peel extracts (CPEs): *Citrus sinensis* (orange), *C. unshiu* (mandarin orange), *C. limon* (lemon), and *C. paradise* (grapefruit) as natural antibrowning agents. Overall, 0.1% of the CPEs were effective in reducing the browning of apple slices. The appearance of apple slices dipped in *C. limon* peel extracts (LPE) were found to be excellent and their Hunter L and ΔE values were similar to the values obtained when apple slices were dipped in ascorbic acid. The pH values of the different CPEs were not significantly different from each other, but were higher than that of ascorbic acid. LPE was found to possess the highest total phenolic content, flavonoid content, DPPH radical scavenging activity, and copper (Cu^{2+}) chelating activity. All these results suggest that citrus peel extracts, especially lemon peel extract, can be used as natural antibrowning agents.

Keywords: citrus peels, lemon, antioxidative activity, browning, natural antibrowning agent

서 론

Citrus는 운향과에 속하는 상록 소교목이며 6대륙 100개국 이상에서 재배되는 전 세계적으로 가장 즐겨먹는 과일로 다양한 phenolic 화합물 및 flavonoid 등을 함유하고 있다(1). 이 중 hesperidin (vitamin P) 및 neohesperidin, naringin 등이 90% 이상을 차지하고 있으며, nobiletin, tangeretin 등 약 60여종 이상의 성분 구조가 밝혀져 있다(2). 이들 물질은 항산화 작용, 고지혈증 억제 작용, 충치예방효과, 항균효과, 혈압강화효과, 임파구 증식억제, 항게양 등의 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다(3,4). 이러한 생리활성기능으로 인해 건강기능식품의 가능성을 인정받고 있는 citrus는 생과로도 많이 섭취되지만 착즙주스나 citrus-based 음료, 잼, 건과 등 가공공정을 거쳐서도 이용된다. 가공공정시 발생하는 과피 등의 부산물들은 전체 과일의 50%에 이르는 양으로 그 처리가 문제점으로 대두되고 있다(5,6). 우리나라 및 중국 등지에서는 예로부터 citrus 과피를 건조하여 차로 음용하거나 한약재로 사용되었다. 그러나 이런 사용은 매우 일부분으로 가공시 발생하는 과피는 대부분 폐기되고 있어 이를 활용하기 위한 연구가 진행되고 있다. Citrus 과피에 대한 연구로는 항염(7), tyrosinase 저해 활성(8), 증균속 촉착작용(9), 항바이러스 및 항균, 방부 작용(10,11) 등이 보고되어 있다.

최근 소비자들의 식품구매가 건강지향적으로 변화함과 동시에 식품 사용시 편의성을 요구하고 있어 신선편이식품의 수요 및 소비가 증대되고 있다(12). 신선편이식품이란 농산물을 신선한 상태의 식품적 특성을 유지하면서 세척, 박피 및 절단 등의 가공공정을 거쳐 위생적으로 포장하여 편리하게 이용할 수 있게 만든 제품류이다(13). 따라서 가공공정 중의 불가피한 조직손상이 일어나게 되는데 이로 인해 효소와 기질의 접촉 및 대사활성이 증가하여 갈변, 미생물의 번식, 이취, 연화 등 빠른 품질저하가 야기된다(14-16). 특히, 갈변은 소비자들이 구매시 바로 확인 할 수 있는 품질지표로 상품성을 좌우한다(17).

이러한 신선편이식품의 갈변을 저해하기 위한 갈변저해제로 ascorbic acid, citric acid, kojic acid, 4-hexylresorcinol 등에 관한 연구가 보고되었고, 일부는 현재 일반적으로 사용되고 있다(18-20). 그러나 최근 건강지향적 식품에 대한 소비자들의 관심 및 소비가 증가하면서 농산물의 수확 후 화학물질 처리가 지양되고, 천연물질에 대한 요구가 증대되고 있는 추세이다(21). 이에 따라 갈변저해제로서 다양한 식물과 한약재 등의 천연물을 사용한 연구가 이루어지고 있다(22-25). 꿀(26), 루바브 추출물(27), 양파 추출물(28), 감귤, 민들레, 녹차 등의 추출물(29-31)을 농산물에 직접 처리하여 그 효과를 살펴본 연구가 있으나, 다수의 연구가 tyrosinase(24,25), peroxidase(32) 등의 저해에 관하여 보고되었다. 이들 효소는 미백, 신경, 항산화 등과 연관되어 있어 이와 관련된 연구(33,34)는 많이 보고되어 있지만 농산물의 갈변에 초점을 맞춘 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 신선편이식품의 갈변을 제어하기 위한 천연 갈변저해제로서 국내외에서 대량 소비되고 있는 오렌지, 감귤, 레몬, 자몽 등 4종의 citrus 과피 추출물의 항산화 및 갈변저해효과를 비교 조사하였다.

*Corresponding author: Gun-Hee Kim, Plant Resources Research Institute, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea
Tel: 82-2-901-8496
Fax: 82-2-901-8474
E-mail: ghkim@duksung.ac.kr
Received April 1, 2013; revised June 3, 2013;
accepted July 1, 2013

Table 1. Percentage yield of various citrus peel extracts

Sample	Yield (%) ¹⁾
<i>Citrus sinensis</i>	43.82
<i>C. unshiu</i>	54.48
<i>C. limon</i>	48.06
<i>C. paradisi</i>	55.70

¹⁾g peel extract powder/100 g dried citrus peel

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 4종의 citrus는 오렌지(*orange*; *C. sinensis* cv. Valencia, Chile), 감귤(*mandarin orange*; *C. unshiu* cv. Satsuma mandarin, Jeju, Korea), 레몬(*lemon*; *C. limon* cv. Meyer, CA, USA), 자몽(*grapefruit*; *C. paradisi* Macf. cv. Ruby Red, CA, USA)으로 2011년 11월 이후 수확된 과실을 대형마트에서 구입하였다. 구입한 citrus 과실을 선별 및 세척 후 과피와 과육을 분리하여 과피 부분을 세절하고 동결건조하여 사용하였다. 갈변저해 대상 식품으로 사용한 사과는 'Fuji' 품종으로 경북에서 2012년 수확된 것을 구입하여 외관이 건전한 것을 선별하여 실험에 사용하였다.

추출물 제조

Citrus 과피 추출은 에탄올 추출방법을 적용하였다. 동결건조된 과피 50 g에 80% 에탄올 500 mL을 넣고, 60°C의 수조에서 6 h, 3회 반복 추출하였다. 이 추출물을 감압농축한 후 동결건조를 거쳐 파우더 형태로 만들어(Table 1) 사과 슬라이스의 갈변저해제로 사용하였다.

갈변저해 처리 및 저장

사과를 세라믹 칼을 이용하여 10 mm 두께로 절단하여 각 추출물 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 5% (w/v) 용액에 1분간 침지 처리한 후, 종이타월로 표면의 흐르는 물기를 제거하여 상온에서 보관하며 외관의 변화를 관찰하였다.

사과 슬라이스에 대한 갈변저해효과 측정

표면색은 표준백판(L=93.90, a=-0.31, b=3.35)으로 보정된 Chromameter (CR-400, Minolta Co., Osaka, Japan)를 사용하여 시료 절단면의 중심부위를 3반복으로 Hunter L, a 및 b값을 측정하였고, 각 처리구간의 색도의 차이는 색차(color difference, ΔE)를 이용하여 분석하였으며 계산식은 다음과 같다(30).

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$$

pH 측정

pH는 각 추출물 0.1%를 pH meter (750P, Istek Inc., Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다.

총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu법(35)을 96-well plate에 맞게 변형하여 비색 정량하였다. 각 추출물 70 μL에 2 N Folin-Ciocalteu 용액 70 μL를 첨가하여 3분간 반응시킨 후 2% Na₂CO₃ 70 μL를 첨가하여 1시간 방치하였다. Microplate reader (M2, Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를

측정하여 총 페놀 함량으로 환산하였다. 이 때 추출물에 함유된 총 페놀 함량은 gallic acid를 표준품으로 작성한 표준곡선으로부터 구하였으며 측정단위로는 mg GAE (Gallic Acid Equivalent)/g을 사용하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 질산알루미늄법(36)을 96-well plate에 맞게 변형하여 비색 정량하였다. 각 추출물 100 μL에 2% aluminum chloride hexahydrate 100 μL를 첨가하여 실온에서 15 min 동안 반응시킨 후, microplate reader (M2, Molecular Device)를 이용하여 430 nm에서 흡광도를 측정하여 총 플라보노이드 함량으로 환산하였다. 이 때 추출물에 함유된 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 표준품으로 작성한 표준곡선으로부터 구하였으며 측정단위로는 mg QE (Quercetin Equivalent)/g을 사용하였다.

DPPH radical 소거능 측정

각 추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) radical 소거능은 Ramos 등(37)이 사용한 DPPH법을 본 시료에 맞게 변형하여 측정하였다. 농도 별 각 추출물 50 μL에 0.3 mM DPPH 용액 150 μL를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 515 nm에서 microplate reader (M2, Molecular Device)를 이용하여 측정하고, 아래의 식으로부터 DPPH radical 소거활성을 %로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [1 - (A/B)] \times 100$$

A: sample의 흡광도, B: blank solution의 흡광도

구리 이온(Cu²⁺)에 대한 킬레이트 효과 측정

구리 이온에 대한 킬레이트 활성은 pyrocatechol violet (PV)를 사용한 방법(38)으로 측정하였다. 각 추출물 30 μL을 96-well plate에 4 mM PV 6 μL와 CuSO₄·5H₂O (50 μg/mL, w/v) 100 μL를 혼합하고 Sodium acetate buffer (pH 6.0)를 첨가하여 200 μL를 맞춰 주었다. 이 용액을 632 nm에서 microplate reader (M2, Molecular Device)를 이용하여 측정하고, 아래의 식으로부터 구리이온(Cu²⁺)에 대한 킬레이트 효과를 %로 나타내었다

$$\text{Copper chelating activity (\%)} = [1 - (A/B)] \times 100$$

A: sample의 흡광도, B: blank solution의 흡광도

통계처리

통계처리는 SPSS Win program (Version 19.0, Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA 처리를 하였으며 사과 슬라이스의 색도 값은 95%에서 Duncan's multiple range test, 시료의 이화학적 특성 및 항산화 활성은 99%에서 least significance difference (LSD) test로 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

Citrus 추출물의 제조

신선편이식품의 경우 소비자가 구매 후 별도의 전처리 과정 없이 바로 섭취가능 하게끔 세척 및 박피, 절단 등의 최소가공처리를 거쳐 판매되는 제품이기 때문에 첨가하는 갈변저해제 역시 섭취시 해가 없는 물질이어야 한다.

Citrus를 비롯한 과일류의 재배 및 수송시에 제조제와 살충제 등의 다양한 농약이 사용되고 있으며, 이들 과피 중의 잔류 농약 성분으로 인하여 과피를 이용한 제품을 섭취하는 경우 인체건강

Table 2. Changes in Hunter L and ΔE value of apple slices by various concentrations of various citrus peel extracts

Treatment	Conc.	0 h		after 48 h	
		L	L	ΔE	
Untreated	0	71.87±1.29 ¹⁾	69.71±0.71	3.01±0.64	
<i>Citrus sinensis</i>	0.05	73.65±0.84 ²⁾	70.57±1.41 ^a	3.53±1.07 ^b	
	0.1	72.27±0.74^a	70.26±1.08^a	2.99±0.58^{ab}	
	0.5	72.78±0.80 ^a	71.24±0.34 ^a	1.94±0.30 ^a	
	1.0	72.44±0.97 ^a	71.01±0.66 ^a	2.10±0.83 ^a	
	2.0	71.50±0.70 ^a	70.21±0.35 ^a	2.48±0.51 ^a	
	5.0	71.18±1.06 ^a	70.10±0.98 ^a	2.38±0.44 ^{ab}	
<i>C. unshiu</i>	0.05	73.18±0.62 ^a	70.57±0.65 ^a	3.00±0.38 ^a	
	0.1	73.18±0.39^a	71.22±0.62^a	2.43±0.36^a	
	0.5	73.44±1.20 ^a	71.48±0.91 ^a	2.48±0.31 ^a	
	1.0	73.13±1.83 ^a	70.83±0.51 ^a	2.66±0.40 ^a	
	2.0	72.24±0.61 ^a	70.32±0.66 ^a	2.44±0.34 ^a	
	5.0	71.90±0.63 ^a	70.76±1.53 ^a	2.61±0.50 ^a	
<i>C. limon</i>	0.05	73.69±0.71 ^a	71.97±0.31 ^{ab}	2.24±0.69 ^a	
	0.1	73.21±0.70^a	72.58±0.67^a	1.19±0.50^a	
	0.5	73.83±0.71 ^a	72.41±0.80 ^{ab}	1.62±0.74 ^a	
	1.0	74.24±0.79 ^a	71.89±0.66 ^{ab}	2.37±0.64 ^a	
	2.0	72.66±0.82 ^a	71.32±0.87 ^{ab}	2.40±0.75 ^a	
	5.0	72.19±0.70 ^a	71.18±0.26 ^b	2.19±0.62 ^b	
<i>C. paradisi</i>	0.05	73.47±1.00 ^a	70.88±0.87 ^{ab}	3.40±0.69 ^{ab}	
	0.1	73.64±0.77^a	71.72±0.97^a	2.01±0.88^a	
	0.5	73.99±0.98 ^a	70.12±0.26 ^{bc}	3.98±0.34 ^{bc}	
	1.0	72.78±0.50 ^a	69.42±0.99 ^{bc}	3.94±0.58 ^{bc}	
	2.0	73.07±0.53 ^a	69.28±0.66 ^c	4.26±0.92 ^{bc}	
	5.0	72.40±0.79 ^a	68.95±0.81 ^c	5.34±0.86 ^c	
Ascorbic acid	0.05	73.87±0.68 ^a	72.36±0.97 ^a	2.14±0.98 ^a	
	0.1	73.45±0.70^a	72.33±0.40^a	1.62±0.14^a	
	0.5	74.03±0.81 ^a	73.54±1.04 ^a	1.60±0.39 ^a	
	1.0	73.40±0.38 ^a	72.61±0.65 ^a	1.97±0.47 ^a	
	2.0	73.18±0.79 ^a	72.47±1.30 ^a	1.82±0.31 ^a	
	5.0	73.05±0.75 ^a	72.93±0.77 ^a	1.52±0.25 ^a	

¹⁾Each value represented mean±SD (n=3).

²⁾Values within cell by different letters are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

상의 위해성이 우려된다(39). 따라서 과피의 농약성분이 허용기준을 넘지 않도록 제거하는 작업이 필요하다. Lee(39)의 연구에 따르면 과일 및 채소를 물만을 이용하여 세척할 때 45%의 농약성분이 제거되며, 데침이나 삶는 과정 중에서 51%, bioflavonoid와 같은 유효성분 추출과정(crude extract)에서 91%, 정제 후에는 100%가 제거된다고 한다. 본 연구에서는 과육과 과피를 분리하기 전 세척과정, 과피를 모아 가온하여 추출하는 과정을 거쳤다. Citrus 과피 추출물의 잔류농약성분에 대한 검사를 실시하지는 않았지만, 세척 및 추출하는 과정에서 상당수의 농약이 제거되었을 것이라 추정된다.

또한, 섭취시 해가 없는 물질이어야 하기 때문에 citrus 과피 추출물을 종류수에 희석하여 갈변저해제로서의 활성을 살펴보았다.

사과 슬라이스에 대한 갈변저해효과

사과 슬라이스를 4종의 citrus 과피 추출물 및 ascorbic acid에

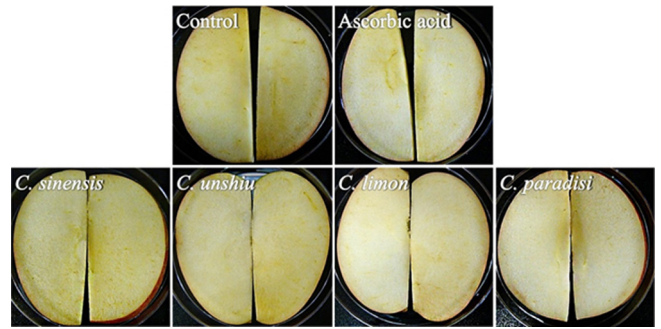


Fig. 1. Changes in the appearance of apple slices added with 0.1% various citrus peel extracts after 48 h at room temperature.

침지하여 48시간 동안 표면의 Hunter L값과 ΔE 값을 측정된 결과는 Table 2와 같다. L값은 명도를 나타내는 것으로 표면의 색이 밝을수록 높은 값을 보이고, ΔE 값은 L, a, b 값을 모두 고려하여 초기값과 비교하여 일정 시간 후 색의 변화를 수치화한 값으로 색 변화가 많을수록 높은 값을 보이므로 주관적인 갈변의 정도를 객관적인 수치로 판단할 수 있다. Citrus 과피 추출물 처리군들의 초기 L값을 보면 유의적 차이는 없었지만 농도가 높아질수록 값이 낮아지며, 48시간 후의 ΔE 값 또한 농도가 높아질수록 값이 커졌다. 반면 양성대조군으로 사용된 ascorbic acid 처리군의 경우 초기 L값의 최대와 최소값 차이가 약 1정도로 가장 낮았으며, 48시간 후의 ΔE 값의 경우 농도가 높아져도 증가하지 않았다. 따라서 citrus 과피 추출물 처리군들의 경우 농도가 높아질수록 추출물 희석액이 락은 색으로 인해 착색이 일어나 오히려 변색이 되어 전반적으로 1% 이하에서 갈변저해효과를 보였다. 무처리군의 L값과 ΔE 값이 69.71과 3.01을 나타낸 반면, 자몽을 제외한 1% 이하의 추출물 처리군들의 전반적인 L값은 69.42-72.58, ΔE 값은 1.19-3.53로 측정되어 추출물 처리군들의 L값이 무처리군 보다 우수하였으나, citrus 종류 별 및 농도 별 유의적 차이는 적었다. 또한, 자몽의 경우 0.1%에서는 갈변저해효과를 보였지만 이외의 농도에서는 효과가 없었을 뿐만 아니라 오히려 무처리군 보다 더 갈변되는 현상이 나타났다.

Table 2에서 보듯이 다양한 농도들 가운데 대체적으로 0.1%가 우수한 갈변저해효과를 나타내어 citrus 종류에 따른 갈변저해효과와의 비교는 0.1% 처리군만으로 나타내었다. 0.1% citrus 과피 추출물과 ascorbic acid를 처리한 사과 슬라이스의 외관을 관찰한 결과(Fig. 1), 무처리군보다 처리군들의 갈변이 다소 저해된 것을 확인할 수 있었다. 4종의 citrus 과피 추출물 처리군들 가운데 레몬과 자몽 과피 추출물 처리군이 ascorbic acid 처리군에 이르는 효과를 보여 가장 우수한 갈변저해능을 나타냈다. 그러나 자몽의 경우 Table 2와 같이 0.1% 이상으로 농도가 증가할수록 갈변저해효과가 감소하였기 때문에 레몬 과피 추출물이 가장 우수한 갈변저해효과를 나타낸 것으로 판단된다. Table 2에서 굵게 표시된 부분은 citrus 추출물들과 ascorbic acid 0.1%를 처리한 값이다. 무처리군의 L값이 69.71을 나타낸 반면, 0.1% 추출물 처리군들의 전반적인 L값이 70.26-72.58로 측정되어 외관을 육안으로 봤을 때 citrus 과피 처리군이 우수했던 결과를 수치적으로 증명할 수 있었다. Citrus 종류별로 Hunter L값과 ΔE 값을 통하여 갈변저해효과를 비교해보면, 레몬 과피 추출물 처리군의 값은 각각 72.58, 1.19로, ascorbic acid 처리군의 값은 각각 72.23, 1.62로 측정되어 레몬 과피 추출물이 현재 갈변저해제로 사용되고 있는 ascorbic acid 이상의 갈변저해효과를 나타냈다. 레몬 이외의 다른 citrus

과실의 경우, ascorbic acid의 갈변저해효과에는 못 미쳤으나 무처리군에 비해 효과적이었다. 그러나 레몬과 ascorbic acid를 제외한 다른 처리군들 간의 유의적 차이는 없었으므로 갈변저해효과가 있으나 미약한 것으로 판단된다. 감귤 과피 추출물의 갈변저해효과를 살펴본 Chang 등(29)은 감귤 과피 추출물 1%를 적용한 사과 슬라이스의 ΔE 값을 2.63으로 보고하여 본 실험의 값과 유사하였다. 사과 슬라이스의 외관 변화는 사과 내의 여러 효소의 산화로 일어나는 현상으로 절단과정을 통해 효소가 산소와 반응하여 산화가 촉진된다. 갈변저해제 처리시 추출물에 침지하는 방법으로 진행하였으므로 과육이 코팅되어 산소가 차단, 갈변효소의 활성이 저해되어 갈변저해효과가 나타났을 것이다. 여기에 갈변저해제의 pH 및 페놀성 물질의 함량 등의 물리적인 특성 및 radical 소거 활성 등과 같은 항산화 활성 등의 효과로 인하여 효소의 활성 감소가 더욱 극대화된 것이라고 사료된다. 따라서 citrus 과피 추출물의 물리적 및 항산화 활성을 측정하였다.

pH, 총 페놀 및 플라보노이드 함량

사과 슬라이스 침지 실험에서 효과적이었던 0.1% citrus 과피 추출물의 pH를 측정한 결과와 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 3과 같다.

갈변 효소인 polyphenol oxidase (PPO)와 polyphenol peroxidase (POD)는 단백질로 pH 5-7.5에서 가장 우수한 활성을 보이며 낮거나 높은 pH에서 효소를 비가역적으로 변성시켜 식품의 갈변을 저해한다(40,41). 현재 신선편이식품의 갈변을 저해하기 위해 일반적으로 사용되고 있는 ascorbic acid의 pH는 2.85로 측정되었고, citrus 과피 추출물은 4.27-4.62로 측정되었다. 이러한 pH는 PPO와 POD가 활성을 가지는 pH 보다 낮은 값으로 갈변저해에 효과를 나타내는 것이라고 사료된다. Citrus 과피 추출물들은 ascorbic acid에 비해 높은 pH를 보였지만, 사과 슬라이스 침지 결과 레몬 과피 추출물의 경우 ascorbic acid와 유사한 정도의 갈변저해효과를 보였으므로 시료의 pH에 따른 갈변효소의 활성저해보다 항산화 활성 등 다른 요인들이 갈변저해에 더 큰 영향을 미치는 것으로 추정된다.

페놀성 화합물은 다양한 구조로 식물체 내에 존재하고 있으며, 플라보노이드는 페놀성 화합물 중에서 자연적으로 생성되는 가장 큰 그룹 중 하나이다. 이들은 분자 내에 phenolic hydroxyl기를 지니고 있어 효소 등의 단백질, Fe^{2+} , Cu^{2+} 등의 2가 금속이온, 기타 거대 분자들과 결합하는 성질과 높은 항산화 효과를 가지는 것으로 알려져 있다(42,43). 플라보노이드인 hesperidin과 naringin, 이들의 aglycone 형태인 naringenin과 hesperetin은 citrus 과피 함유 성분 중 90% 이상을 차지하는 주된 polyphenol이며(44-46), 그 외에 nobiletin과 tangeretin 등의 polymethoxyl flavone과 coumaric acid, ferulic acid 등의 수많은 hydroxycinnamic acid가 존재한다고 보고된 바 있다(47).

총 페놀 함량의 경우 레몬 과피 추출물이 9.77 mg GAE/g으로 가장 높은 함량을 보였고, 자몽 과피 추출물이 7.04 mg GAE/g으로 가장 낮은 함량을 나타냈다. Ahn과 Lee(16)는 감귤 과피 추출물의 총 페놀 함량을 8.36 mg/g으로 보고하여 본 실험과 유사한 함량을 보였다. Gorinstein 등(48)은 오렌지, 레몬 등의 citrus 과피에 함유된 페놀 함량이 1.4-2.0 mg/g 이라 보고하였는데 이는 생과피의 함량으로 표현했기 때문인 것으로 수율을 고려한다면 큰 차이가 아닌 것으로 사료되며, 레몬>오렌지>자몽 순으로 페놀 함량이 높다고 보고하여 본 실험의 경향과 유사하였다.

반면, 총 플라보노이드 함량의 경우, 레몬=감귤>자몽>오렌지 순으로 높은 함량을 보여 총 페놀 함량과는 다른 양상을 보였다.

Table 3. The pH and total phenol, flavonoid contents of various citrus peel extracts

Sample	pH	Total phenol contents (mg GAE/g extract powder)	Total flavonoid contents (mg QE/g extract powder)
<i>Citrus sinensis</i>	4.47±0.05 ^{b1)}	8.79±0.13 ^b	2.41±0.06 ^c
<i>C. unshiu</i>	4.62±0.22 ^b	8.85±0.62 ^b	3.62±0.02 ^a
<i>C. limon</i>	4.35±0.10 ^b	9.77±0.15 ^a	3.60±0.03 ^a
<i>C. paradisi</i>	4.27±0.12 ^b	7.04±0.01 ^c	2.80±0.19 ^b
Ascorbic acid	2.85±0.05 ^a	NT ²⁾	NT

¹⁾Each value represented mean±SD ($n=3$). Values within same column followed by different letters are significantly different ($p<0.01$, LSD test).

²⁾NT; Not tested.

며, 구리 킬레이트 효과와 유사한 양상을 보였다. Peterson 등(49,50)은 자몽>레몬>감귤>오렌지 순으로 플라보노이드의 함량이 많다고 보고하여 본 실험과는 다른 양상을 보였는데, 이는 Peterson 등의 연구는 본 실험에서 사용한 과피가 아닌 과육을 사용하였기 때문이라 사료된다. 또한, 페놀 및 플라보노이드 함량과 사과 슬라이스 침지 처리 결과를 비교했을 때 페놀보다는 플라보노이드 함량과 유사하여 citrus 과피에 함유된 플라보노이드가 갈변저해에 효과적일 것이라 추정된다.

DPPH radical 소거 활성

DPPH radical 소거 활성은 비교적 간단하면서 대량으로 측정이 가능한 항산화 측정법이다. DPPH는 radical 중 비교적 안정한 화합물로 에탄올 용액에서 보라색으로 발색된다. 황 함유 아미노산, ascorbic acid, 페놀성 화합물 등의 항산화 물질로부터 전자나 수소를 제공받아 DPPH-H로 환원되면서 노란색으로 탈색되며 흡광도가 감소된다(51). 갈변은 catechin, DOPA 등의 기질이 tyrosinase를 만나 산화되어 발생되는 것으로 이를 저해하는 작용은 일종의 항산화 작용이라 볼 수 있다. 따라서 항산화활성을 측정하기 위하여 단시간에 간단히 진행할 수 있는 DPPH radical 소거 활성을 보았다. Citrus 4종의 과피 추출물의 DPPH radical 소거능을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 4종의 citrus 과피 모두 농도의 존적으로 소거능이 증가하였으며, 레몬>감귤=오렌지>자몽 순으로 높은 소거활성을 보였다. 높은 소거활성을 보인 레몬의 경우, 특히 1% 용액에서 90.63%에 이르는 높은 활성을 보였다($p<0.01$). Kang 등(52)은 1% citrus 과피 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거활성을 43.00%로 보고하였는데, 본 연구에서는 86.86%로 측정되어 약 2배 이상의 활성을 보였다. 이는 추출 방법의 차이에 따른 것으로 Kang 등(52)의 연구는 72시간, 1회로 실온에서 추출하였고, 본 연구에서는 6h, 3회 반복으로 60°C에서 추출하여 활성물질의 추출 수율이 더 높은 데서 기인했다고 사료된다. 또한 citrus 종류 별 총 페놀 함량의 경향과 일치하여 페놀성 화합물이 DPPH radical 소거 활성을 나타낸다고 추정된다. 이는 페놀 및 플라보노이드 함량이 높으면 항산화능도 우수하다는 Kim 등(53)의 연구와도 유사한 경향을 나타내었다.

구리 이온(Cu^{2+})에 대한 킬레이트 효과

PV는 Cu^{2+} 와 복합체를 형성하여 푸른색을 띠게 되는데 이때 시료 중의 킬레이트 효과를 가진 물질이 이 복합체의 형성을 방해하여 발색을 저해시켜 노란색을 띠게 한다(54). Metal chelating agent는 제2의 산화제로 불리며 구연산, 주석산 등의 유기산 및

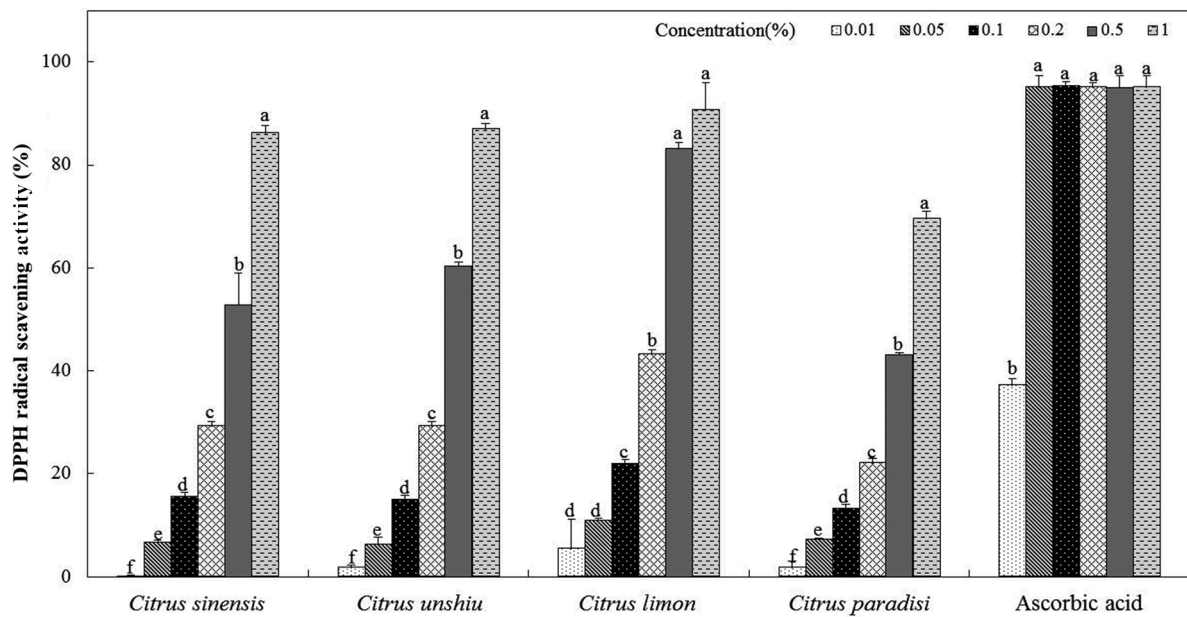


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of various citrus peel extracts. Each value represented mean±SD (n=3). Values within same group bars followed by different letters are significantly different ($p<0.01$, LSD test). Bars followed by a different letter are significantly different.

Table 4. EC₅₀ values of various citrus peel extracts in different antioxidant assays

Sample	EC ₅₀ (%) ¹⁾	
	DPPH radical scavenging activity	Copper chelating activity
<i>Citrus sinensis</i>	0.44±0.04 ²⁾	0.71±0.01 ^d
<i>C. unshiu</i>	0.39±0.01 ^c	0.38±0.01 ^b
<i>C. limon</i>	0.25±0.01 ^b	0.29±0.01 ^a
<i>C. paradisi</i>	0.64±0.02 ^d	0.64±0.05 ^c
Ascorbic acid	0.02±0.00 ^a	0.29±0.01 ^a

¹⁾EC₅₀ value is the term half maximal effective concentration.

²⁾Each value represented mean±SD (n=3). Values within same column followed by different letters are significantly different ($p<0.01$, LSD test).

폴리페놀 성분은 Fe²⁺, Cu²⁺와 같은 산화촉진제를 킬레이트하여 free radical의 형성을 억제하는 효과를 나타낸다고 보고되고 있다 (55). 구리 킬레이트 활성이 우수할수록 갈변효소인 PPO에 함유된 Cu²⁺와의 배위결합이 증가하므로 PPO의 활성이 직접적으로 저해된다(56).

Citrus 4종 과피 추출물의 구리 킬레이트 효과를 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 4종의 과피 모두 농도 의존적으로 활성이 증가하였으며, 가장 높은 킬레이트 활성을 보인 레몬의 경우, 1% 용액에서 83.50%에 이르는 높은 활성을 보였으며($p<0.01$) 특히, 0.2% 이하의 농도에서 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid의 활성보다 다소 우수한 활성을 나타내었다. EC₅₀을 살펴보면(Table 4), ascorbic acid의 활성에 비해 다소 뒤떨어지는 효과를 보인 DPPH radical 소거활성과는 달리 ascorbic acid와 레몬이 0.29%로 동일한 활성을 보였다. 또한, 레몬 과피 추출물이 가장 우수하였고, 오렌지 과피 추출물이 가장 저조한 활성을 보인 Cu²⁺ 킬레이트 활성은 사과 슬라이스 침지 실험의 결과와 일치하였다. 이는 PPO 활성 저해력과 관련이 있는 것으로 레몬 과피 추출물에서 우수한 tyrosinase 저해 활성이 있을 것이라 추정된다.

Citrus 과피 추출물의 농도에 따른 항산화 및 항갈변 효과

Citrus 과피 종류에 무관하게 4가지 추출물 모두 농도의존적으로 DPPH radical 소거 활성 및 Cu²⁺ 킬레이트 활성이 증가하는 경향을 보였다. 이러한 항산화능으로 인해 갈변저해 활성이 증가할 것으로 추정됐지만, 사과 슬라이스 침지 실험에서 보듯이 0.1-0.5%까지만 농도 의존적으로 갈변저해 활성이 증가한 것으로 추정되었다. 항산화능의 경우 페놀 및 플라보노이드 계열의 물질이 긍정적인 효과를 보인다(53,55). 그러나 갈변에 있어서 tyrosine, catechol, dihydroxyphenylalanine (DOPA) 등의 monophenol, diphenol, quinone 등과 같은 페놀의 일부 물질들이 기질로 작용하기 때문에(57) 이들 물질과 갈변저해 작용을 하는 citrus 과피에 함유되어 있는 caffeic acid, coumaric acid 등의 페놀성 물질(58)의 작용과 더불어 citrus 과피 추출물이 띠는 색으로 추출물의 농도가 증가했을 때 오히려 갈변저해 효과가 감소하는 경향을 보인 것으로 사료된다. 이들 물질을 다른 측면에서 보면 PPO와 반응하여 그들이 대신 산화되어 대상물의 갈변을 저해하는 경쟁적 갈변저해제로서 이용이 가능할 것이다. 그러나 본 연구에서 사용한 갈변저해제 적용방법인 침지는 citrus 과피 추출물이 사과 표면에 남은 상태로 갈변 반응이 진행되어 사과 표면의 갈변이 더 많이 일어난 것으로 보일 수 있다고 사료된다. 따라서 citrus 과피 추출물들이 농도의존적인 항산화능을 나타냈음에도 불구하고 0.1-0.5%에서 우수한 갈변저해 효과를 보였다고 사료된다.

요 약

본 연구는 citrus 과피의 천연 갈변저해제로서 사용가능성을 알아보았다. Citrus 중 생과 및 가공에서 가장 많이 이용되고 있는 오렌지(*C. sinensis*), 감귤(*C. unshiu*), 레몬(*C. limon*), 자몽(*C. paradisi*)의 과피를 80% 에탄올로 추출·농축하였다. 각 추출물 0.05-5%에 사과 슬라이스를 침지하여 외관 및 색도 변화를 관찰한 후, pH와 페놀 및 플라보노이드 함량을 조사하였으며, DPPH radical 소거 활성과 Cu²⁺ 킬레이트 활성을 측정하였다. 사과 슬라이스 침지의 경우 다양한 농도의 추출물 중 대체로 0.1%에서

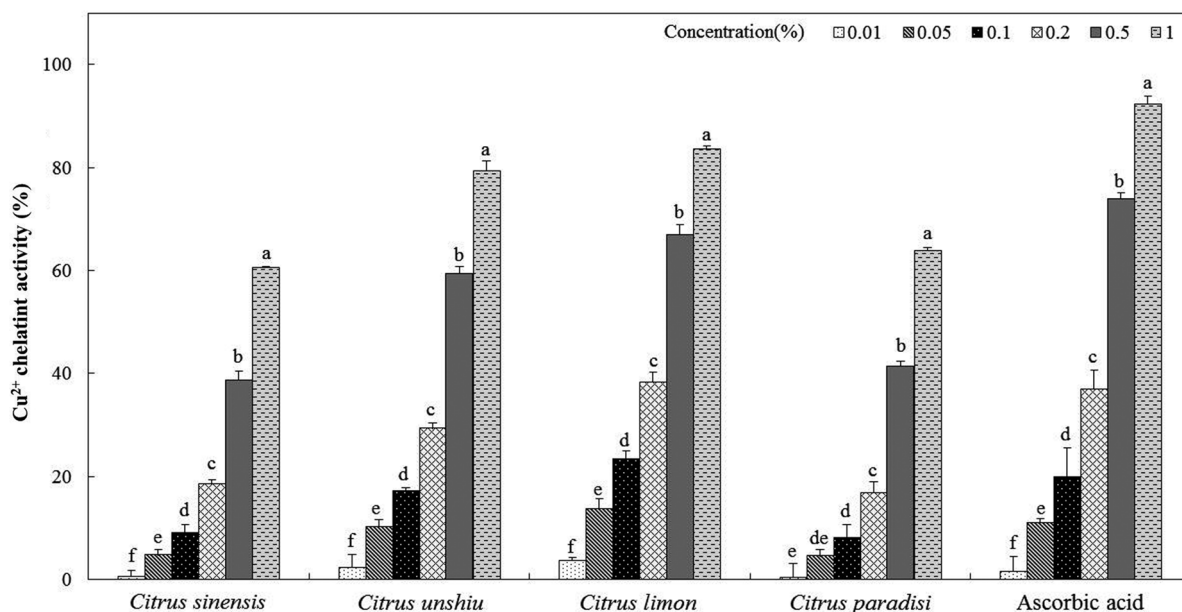


Fig. 3. Copper chelating activity of various citrus peel extracts. Each value represented mean±SD (n=3). Values within same group bars followed by different letters are significantly different ($p < 0.01$, LSD test).

우수한 갈변저해효과를 보였으며 4종의 citrus 과피 중 레몬 과피 추출물이 가장 우수한 효과를 보였다. pH의 경우 4종의 citrus 과피 추출물 간의 유의적 차이는 없었으며, ascorbic acid에 비해 높은 값을 보였고, 총 페놀 및 플라보노이드 함량의 경우 레몬 과피 추출물이 가장 높게 측정되었다. DPPH radical 소거활성과 Cu²⁺ 킬레이트 활성 모두 레몬 과피 추출물이 가장 우수하였고, 자몽 과피 추출물이 가장 낮은 활성을 보였다. 사과 슬라이스 침지 결과와 radical 소거 및 킬레이트 활성이 페놀 및 플라보노이드와 유사한 경향을 보이고 있어 이 물질들이 항산화 및 갈변저해 효과를 나타낸다고 추정된다. Citrus 과피 추출물의 항산화능은 농도 의존적이었지만 갈변저해효과는 mono 및 diphenol 과 같은 기질로 작용하는 페놀성 물질의 일부와 추출물 자체가 띠는 색으로 인해 0.1-0.5%에서 효과적이었다. 따라서 본 연구를 통해 citrus 과피 특히, 레몬 과피 추출물의 항산화와 갈변저해효과를 확인하였고, 천연 갈변저해제로서의 사용 가능성을 제시하였다.

감사의 글

본 논문은 농림수산식품부 농림기술개발사업의 지원(310017-03-3-SB010)과 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 대학중점연구소 지원(NRF-2007-0094017)을 받아 수행된 연구로 이에 감사드립니다.

References

- Noh JE, Yoon SR, Lim AK, Kim HJ, Huh D, Kim DI. A study on the yield of functional components of citrus peel extracts using optimized hot water extraction and enzymatic hydrolysis. *Korean J. Food Cookery Sci.* 28: 51-55 (2012)
- Cheigh CI, Jung WG, Chung EY, Ko MJ, Cho SW, Lee JH, Chang PS, Park YS, Paik HD, Kim KT, Chung MS. Comparison on the extraction efficiency and antioxidant activity of flavonoid from citrus peel by different extraction methods. *Food Eng. Prog.* 14: 166-172 (2010)
- Keys A. Mediterranean diet and public health: Personal reflections. *Am. J. Clin. Nutr.* 61: 1321S-1323S (1995)
- Kim YD, Ko WJ, Koh KS, Jeon YJ, Kim SH. Composition of flavonoids and antioxidative activity from juice of jeju native citrus fruits during maturation. *Korean J. Nutr.* 42: 278-290 (2009)
- Kuhnau J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.* 24: 117-191 (1976)
- Pierpoint WS. Flavonoids in the human diet. pp. 125-140. In: *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure-activity Relationship.* Cody V, Middle E, Harborne JB (eds). John Wiley & Sons Inc., New York, NY, USA (1986)
- Oh YC, Cho WK, Jeong YH, Im GY, Yang MC, Hwang YH, Ma JY. Anti-inflammatory effect of *Citrus unshiu* peel in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. *Am. J. Chinese Med.* 40: 611-629 (2012)
- Zhang C, Lu Y, Tao L, Tao X, Su X, Wei D. Tyrosinase inhibitory effects and inhibition mechanisms of nobiletin and hesperidin from citrus peel crude extracts. *J. Enzyme Inhib. Med. Ch.* 22: 91-98 (2007)
- Liang S, Guo X, Feng N, Tian Q. Isotherms, kinetics and thermodynamic studies of adsorption of Cu²⁺ from aqueous solutions by Mg²⁺/K⁺ type orange peel adsorbents. *J. Hazard. Mater.* 174: 756-62 (2009)
- Suzuki M, Sasaki K, Yoshizaki F, Oguchi K, Fujisawa M, Cyong JC. Anti-hepatitis C virus effect of *Citrus unshiu* peel and its active ingredient nobiletin. *Am. J. Chinese Med.* 33: 87-94 (2005)
- Park HK, Kim SB. Antimicrobial activity of grapefruit seed extract. *J. Food Sci. Nutr.* 19: 526-31 (2006)
- Ragaert P, Verbeke W, Devlieghere F, Debevere J. Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits. *Food Qual. Prefer.* 15: 259-270 (2004)
- Lim JH, Choi JH, Hong SI, Jeong MC, Kim DM. Mild heat treatments for quality improvement of fresh-cut potatoes. *Korean J. Food Preserv.* 12: 552-557 (2005)
- Sapers GM, Miller RL. Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphates. *J. Food Sci.* 57: 1132-1135 (1992)
- Braaksma A, Schaap DJ, Schipper CMA. Time of harvest determines the postharvest quality of the common mushroom *Agaricus bisporus*. *Postharvest Biol. Tec.* 16: 195-198 (1999)
- Ahn SC, Lee GC. Effects of antibrowning agents on browning of

- apple slices during cold storage. Korean J. Food Cookery Sci. 21: 24-32 (2005)
17. Sepers GM, Miller RL, Miller FC, Cooke PH, Choi SW. Enzymatic browning control in minimally processed mushrooms. J. Food Sci. 59: 1042-1047 (1994)
 18. Kim BS, Klieber A. Quality maintenance of minimally processed Chinese cabbage with low temperature and citric acid dip. J. Sci. Food Agr. 75: 31-36 (1997)
 19. Monsalve-gonzalez A, Barbosa-canovas GV, Cavalieri RP, Mcevely AJ, Iyengar R. Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods 4-hexylresorcinol as anti-browning agent. J. Food Sci. 58: 797-800 (1993)
 20. Sapers GM, Garzarella L, Pilizota V. Application of browning inhibitors to cut apple and potato by vacuum and pressure infiltration. J. Food Sci. 55: 1049-1053 (1990)
 21. Fallik E. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). Postharvest Biol. Tec. 32: 125-134 (2004)
 22. Loizzo MR, Tundis R, Menichini F. Natural and synthetic tyrosinase inhibitors as antibrowning agent: an update. Compr. Rev. Food Sci. F. 11: 378-398 (2012)
 23. Baurin N, Arnoult E, Scior T, Do QT, Bernard P. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. J. Ethnopharmacol. 82: 155-158 (2002)
 24. Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han DS. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 891-896 (1995)
 25. Seo SY. Screening of tyrosinase inhibitors from oriental herbs. Korean J. Plant Res. 14: 32-37 (2001)
 26. Oszmianski J, Lee CY. Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey. J. Agr. Food Chem. 38: 1892-1895 (1990)
 27. Son SM, Moon KD, Lee CY. Rhubarb juice as a natural antibrowning agent. J. Food Sci. 65: 1288-1289 (2000)
 28. Kim MJ, Kim CY, Park IS. Prevention of Enzymatic browning of pear by onion extract. Food Chem. 89: 181-184 (2005)
 29. Chang MS, An SJ, Jeong MC, Kim DM, Kim GH. Effects of Antioxidative activities and antibrowning of extracts from onion, apple and mandarin orange peel as natural antibrowning agents. Korean J. Food Nutr. 24: 406-413 (2011)
 30. Chang MS, Park MJ, Jeong MC, Kim DM, Kim GH. Antioxidative and antibrowning effects of *Taraxacum Platycarpum* and *Chrysanthemum indicum* extracts as natural antibrowning agents. Korean J. Food Preserv. 18: 584-589 (2011)
 31. Lim JH. The activity control of plant polyphenol oxidase and antibrowning effect on fresh-cut produces by green tea (*Camellia sinensis*) catechins. Ph.D thesis, Kyungpook National University, Daegu, Korea (2005)
 32. Sariri R, Sajedi RH, Jafarian V. Inhibition of horseradish peroxidase activity by thiol type inhibitors. J. Mol. Liq. 123: 20-23 (2006)
 33. Kamkaen N, Mulsri N, Treesak C. Screening of some tropical vegetables for anti-tyrosinase activity. Thai Pharm. Health Sci. J. 2: 15-19 (2007)
 34. Hakiman M, Maziah M. Non enzymatic and enzymatic antioxidant activities in aqueous extract of different *Ficus deltoidea* accessions. J. Med. Plants Res. 3: 120-131 (2009)
 35. Richard-Forget FC, Goupy PM, Nicolas JJ. Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. 2. Kinetic studies. J. Agr. Food Chem. 40: 2108-2113 (1992)
 36. Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin M, Cazin JC, Bailleul F, Trotin F. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. J. Ethnopharmacol. 72: 35-42 (2000)
 37. Ramos A, Visozo A, Piloto J, Garcia A, Rodriguez CA, Rivero R. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. J. Ethnopharmacol. 87: 241-246 (2003)
 38. Custodio L, Justo T, Silvestre L, Barradas A, Duarte CV, Pereira H, Barreira L, Rauter AP, Albericio F, Varela J. Microalgae of different phyla display antioxidant, metal chelating and acetylcholinesterase inhibitory activities. Food Chem. 131: 134-140 (2012)
 39. Lee MG. Computation of residue limit of organophosphorus pesticides in functional foods from citrus fruit peels. Korean J. Environ. Agric. 18: 349-354 (1999)
 40. Queiroz C, Mendes Lopes ML, Fialho E, Valente-Mesquita VL. Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. Food Rev. Int. 24: 361-375 (2008)
 41. Chisari M, Barbagallo RN, Spagna G. Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. J. Agr. Food Chem. 55: 3469-3476 (2007)
 42. Jeong CH, Choi SG, Heo HJ. Analysis of nutritional components and evaluation of functional activities of *Sasa borealis* leaf tea. Korean J. Food Sci. Technol. 40: 586-592 (2008)
 43. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci. 2: 152-159 (1997)
 44. Rouseff RL, Martin SF, Youtsey CO. Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin in citrus. J. Agr. Food Chem. 35: 1027-1030 (1987)
 45. Cha JY, Kim HJ, Kim SK, Lee YJ, Cho YS. Effects of citrus flavonoids on the lipid peroxidation contents. Korean J. Postharvest Sci. Technol. 7: 211-217 (2000)
 46. Manthey JA, Grohmann K. Phenolics in citrus peel byproducts. Concentrations of hydroxycinnamates and polymethoxylated flavones in citrus peel molasses. J. Agr. Food Chem. 49: 3268-3273 (2001)
 47. Molina EG, Perles RD, Moreno DA, Viguera CG. Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. J. Pharmac. Biomed. 51: 327-345 (2010)
 48. Gorinstein S, Martin-Belloso O, Park YS, Haruenkit R, Lojek A, Ciz M, Caspi A, Libman I, Trakhtenberg S. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. Food Chem. 74: 309-315 (2001)
 49. Peterson JJ, Dwyer JT, Beecher GR, Bhagwat SA, Gebhardt SE, Haytowitz DB, Holden JM. Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. J. Food Compos. Anal. 19: S66-S73 (2006)
 50. Peterson JJ, Beecher GR, Bhagwat SA, Dwyer JT, Gebhardt SE, Haytowitz DB, Holden JM. Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: a compilation and review of the data from the analytical literature. J. Food Compos. Anal. 19: S74-S80 (2006)
 51. Chung HJ, Jeon IS. Antioxidative activities of methanol extracts from different parts of *Chrysanthemum zawadskii*. Korean J. Food Preserv. 18: 739-745 (2011)
 52. Kang HJ, Chawla SP, Jo C, Kwon JH, Byun MW. Studies on the development of functional powder from citrus peel. Bioresource Technol. 97: 614-620 (2006)
 53. Kim KB, Yoo KH, Park HY, Jeong JM. Antioxidative activities of commercial edible plant extracts distributed in Korea. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 49: 328-333 (2006)
 54. Sanchez-Vioque R, Rodriguez-Conde MF, Reina-Urena JV, Escolano-Tercero MA, Herraiz-Penalver D, Santana-Meridas O. *In vitro* antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus* L.). Ind. Crop. Prod. 39: 149-153 (2012)
 55. Wong JY, Chye FY. Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. J. Food Compos. Anal. 22: 269-277 (2009)
 56. Mcevely A, Lyengar R, Otwell WS. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. Crit. Rev. Food Sci. 32: 253-273 (1992)
 57. Rinaldo D, Mbeguie A Mbeguie D, Fils Lycaon B. Advances on polyphenols and their metabolism in sub-tropical and tropical fruits. Trends Food Sci. Tech. 21: 599-606 (2010)
 58. Gonzalez-Molina E, Dominguez-Perles R, Moreno DA, Garcia-Viguera C. Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. J. Pharm. Biomed. 51: 327-345 (2010)