

온주밀감 유전자원의 과즙 중 플라보노이드 특성 및 군집 분석

박영철*, 양영택, 김진영, 이창훈, 강상훈, 강종훈

제주특별자치도농업기술원

Characteristics of Flavonoids in Juice and Cluster Analysis of Satsuma Mandarin Germplasms

Young-Chul Park*, Young-Tack Yang, Jin-Yeong Kim, Chang-Hoon Lee,
Sang-Hoon Kang and Jong-Hoon Kang

Jeju Special Self-Governing Province Agricultural Research and Extension Service, Jeju 697-828, Korea

Abstract - This research was conducted to analyze flavonoids in juice and to investigate correlation between 60 germplasms of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) on the basis of the result of flavonoid analysis. Juice of satsuma mandarin contained 6 flavonoids, 2 flavanones such as narirutin and hesperidin, 1 flavone such as rutin and 3 polymethoxylated flavones such as sinensetin, tangeretin and nobiletin. Hesperidin content ranged from 41 to 196 mg/L. Narirutin content ranged from 25 to 230 mg/L. The average of rutin content was 2.2 mg/L but it was not detected in some cultivars. Polymethoxylated flavone which is known as a citrus specific flavonoid, was detected in all germplasms in small quantities. Cluster analysis using R program (Version 3.1.1) was carried out with the results of the flavonoid analysis and harvesting time of satsuma mandarin germplasms. All germplasms were grouped as A, B1 or B2. But all 3 groups contained very early-ripening type, early-ripening type and commonly-ripening type cultivars. This showed there was no correlation between flavonoids in juice and their harvest time.

Key words - Satsuma mandarin, Flavonoids, Cluster analysis

서 언

감귤산업은 조수입 9천억 원으로 농업 조수입의 60%를 차지하는 제주농업의 핵심산업이다(제주특별자치도, 2014). 하지만 재배되고 있는 품종은 10여 가지로 국한되어 있어 감귤산업 발전을 위해서는 제주지역에 알맞은 품종을 도입 선발 또는 신 품종 개발이 요구되고 있다. 또한 최근 기능성에 대한 선호도가 높아지는 추세이기 때문에 도입선발 또는 육종도 기능성 성분을 많이 함유하는 방향으로 목표를 설정하고 있다. 따라서 기능성 물질을 많이 함유하는 품종 육종을 위해서는 감귤 유전자원에 대한 기능성 성분 분석이 먼저 이루어져야 할 것이다.

감귤에는 플라보노이드, 카로티노이드, 리모노이드 등 다양한 기능성 성분을 함유하는 것으로 알려져 있으며, 이 중 플라보노이드는 60여 종이 존재하는 것으로 보고되고 있다(Horowitz and

Gentili, 1977). 감귤에 존재하는 플라보노이드류는 flavanones, flavones과 polymethoxylated flavones으로 구분할 수 있고, 과즙에는 대부분 flavanones 형태로 존재한다. 이들 대부분 플라보노이드는 과피에 집중적으로 존재하며, flavanones은 과피의 안쪽 흰색 부위인 알베도층에 가장 많고, flavones은 과피의 황색부분인 플라베도 조직에 많이 분포한다(Nogata *et al.*, 2006). Polymethoxylated flavones은 감귤 특이 플라보노이드로 과피의 정유에서 주로 검출된다(Gattuso *et al.*, 2007). 또한, 과즙 중에는 44종이 플라보노이드가 존재하는 것으로 보고되었는데, 감귤 종류에 따라 성분과 함량 조성에 차이를 보이며 온주밀감이 포함되는 만다린류에는 flavanones인 hesperidin, narirutin, didymin 등 5종이, polymethoxylated flavones으로 sinensetin, tangeretin, nobiletin 등이 분포한다고 하였다(Gattuso *et al.*, 2007).

국내산 감귤의 플라보노이드 함량에 대한 연구로는 제주 재

*교신저자(E-mail) : pyc1970@korea.kr

래굴(Rhyu *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2009), 만감류(Lee and Kang, 1997), 온주밀감(Kim *et al.*, 2001a), 감귤 착즙박(Yang *et al.*, 2008), 감귤 유래 생약(Nugroho *et al.*, 2009; Hyon *et al.*, 2010) 등이 보고되고 있으며, 기능성에 대한 연구로는 혈압 강화효과(Son *et al.*, 1992), 항산화 활성(Kim *et al.*, 2009), 궤장암 억제효과(Zhang *et al.*, 2014), 비만억제(Choi *et al.*, 2012) 등 다양하게 이루어지고 있다.

본 연구는 감귤 유전자원의 다양한 특성을 파악하고 기능성 감귤 품종 육종소재로 활용을 모색하기 위한 일환으로 온주밀감 착색개시기에 과즙의 플라보노이드 조성 및 함량을 분석하여 품종간 차이와 유사성을 비교하였다.

재료 및 방법

시험재료 및 과신품질 분석

2013년도에 제주특별자치도농업기술원 감귤 유전자원 포장

에서 보존 중인 온주밀감(*Citrus unshiu* Marc.) 중에서 착과가 이루어진 60 품종을 대상으로 하였다. 시료는 품종별로 착색이 시작되는 시기에 과실을 채취하여 과피를 제거한 후 착즙하여 당도 및 산함량을 측정하였고, 같은 시료를 -50°C에서 냉동 보관하면서 플라보노이드 분석용 시료로 사용하였다.

플라보노이드 분석

품종별 과실의 착색개시기 과즙액에 5 mM ammonium formate 와 0.1% formic acid을 함유하는 메탄올을 20배량 가한 다음 고속브랜더(Polytron PT3100D, Kinematica AG, Swizland)를 사용하여 5분 동안 10,000 rpm으로 추출 및 균질화한 후 0.2 μm membrane filter (Ministart RC 15, Satrius stedim, Germany)로 여과하여 기기분석용 검액을 조제하였다. 시료 검액을 액체 질량분석기(UPLC-MS/MS, Acquity UPLC/TQD Triple Quadrupole Mass Spectrometry, Waters, USA)를 사용하여 Table 1과 Table 2의 분석조건에서 정성적 확인과 외부표준물질법으로 검

Table 1. UPLC-ESI-MS/MS analysis conditions of flavonoids in citrus juice

Parameter	Conditions		
Instrument	Acquity UPLC & TQD Triple Quadrupole Mass Spectrometry (Waters, USA)		
Column	Kinetex C18, 2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm (Phenomenex, USA)		
Column temp.	37.5°C		
Injection volume	5 μl		
Flow rate	0.3 ml/min		
Mobile Phase A	Methanol with 5 mM ammonium formate & 0.1% formic acid		
Mobile Phase B	Water with 5 mM ammonium formate & 0.1% formic acid		
Gradient program	Time (min)	A (%)	B (%)
	Initial	13	87
	6.0	15	85
	10.0	25	75
	10.1	47	53
	10.5	47	53
	14.0	58	42
	15.5	95	5
	17.5	95	5
	18.0	13	87
20.0	13	87	
Ionization mode	ESI (Electrospray Ionization), positive & negative		
Capillary Voltage	3.0 kV		
Source temp.	135°C		
Desolvation temp.	450°C		
Gas flow	Desolvation 800 L/hr, Cone 50 L/hr		
Scan type	MRM (Multiple Reaction Monitoring) mode		
Collision gas flow	0.15 ml/min (He, cell pressure 3.5 × 10 ⁻³ ~4.5 × 10 ⁻³ mBar)		

Table 2. Standard groups of flavonoids and MRM conditions with UPLC-ESI-MS/MS

[Unit: mass/charge (m/z)]

Flavonoids group (FG-100)	MRM condition		Flavonoids group (FG-200)	MRM condition	
	Precursor ion	Product ions D1/D2		Precursor ion	Product ions D1/D2
Eriocitrin	ESI+ → 597.2	289.0/153.0	Rutin	ESI+ → 611.1	303.0/465.0
	ESI- → 595.2	287.0/151.0		ESI- → 609.1	301.0/271.0
Narirutin	ESI+ → 581.1	273.0/418.0	Neoeriocitrin	ESI+ → 597.2	289.0/153.0
	ESI- → 579.1	271.0/150.9		ESI- → 575.2	150.9/135.0
Diosmin	ESI+ → 609.0	301.0/200.9	Isorhoifolin	ESI+ → 579.1	271.0/443.1
	ESI- → 607.1	299.0/284.0			
Hesperidin	ESI+ → 611.0	303.0/152.9	Naringin	ESI+ → 581.1	273.0/152.9
	ESI- → 609.1	301.0/163.9		ESI- → 579.1	150.9/271.0
Quercitrin	ESI+ → 449.1	303.0/128.9	Neohesperidin	ESI+ → 611.0	303.0/152.9
	ESI- → 447.1	301.0/271.0		ESI- → 609.1	301.0/163.9
Naringenin	ESI+ → 273.1	153.0/147.0	Quercetin	ESI+ → 303.0	152.9/229.0
	ESI- → 271.1	150.9/118.9		ESI- → 301.0	150.9/106.9
Hesperetin	ESI+ → 303.1	177.0/152.9	Apigenin	ESI+ → 271.0	152.9/90.9
	ESI- → 301.1	163.9/135.9		ESI- → 269.0	116.9/150.9
Tangeletin	ESI+ → 374.0	344.0/182.9	Diosmetin	ESI+ → 301.0	258.0/286.0
Noviletin	ESI+ → 403.1	372.9/182.9	Sinensetin	ESI+ → 373.1	343.1/152.9

Table 3. The equations of calibration curve and coefficients of determination of standard groups of flavonoids from MRM conditions with UPLC-ESI-MS/MS

Flavonoids group (FG-100)	Calibration equation	R ²	Flavonoids group (FG-200)	Calibration equation	R ²
Eriocitrin	ESI+ y = 941.22x - 5.1667	0.9998	Rutin	ESI+ y = 2,794.9x - 902.33	0.9959
Narirutin	ESI+ y = 1,499.2x + 64	1.0000	Neoeriocitrin	ESI+ y = 595.19x - 15.25	0.9995
	ESI- y = 2,714.8x - 295.67	0.9999			
Diosmin	ESI+ y = 7,094.1x - 1,465.2	0.9993	Isorhoifolin	ESI+ y = 5,620.6x - 902.33	0.9986
Hesperidin	ESI+ y = 2,248.9x - 361.83	0.9991	Naringin	ESI+ y = 588.05x - 164.33	0.9968
	ESI- y = 1,554.8x - 290.83	0.9999		ESI- y = 1,377.9x - 4,612	0.9940
Quercitrin	ESI+ y = 2,491.9x + 50.833	0.9983	Neohesperidin	ESI+ y = 998.08x + 2,513.8	0.8951
				ESI- y = 1,736.7x - 147.83	0.9990
Naringenin	ESI+ y = 6,897.5x - 13,241	0.9251	Quercetin	ESI+ y = 435.73x - 45.667	0.9958
Hesperetin	ESI+ y = 14,580x - 664.17	0.9992	Apigenin	ESI+ y = 1,1525x + 1,578.8	0.9954
Tangeletin	ESI+ y = 176,871x + 1,183.7	0.9995	Diosmetin	ESI+ y = 6,2678x - 28,766	0.9653
Noviletin	ESI+ y = 434,038x - 3,265.7	0.9997	Sinensetin	ESI+ y = 25,9011x + 77.417	0.9999

량선(Table 3)을 작성하여 플라보노이드 성분을 정량하였다. 또한, ESI (Electrospray Ionization)법으로 이온화하여 positive 와 negative mode를 병행하여 교차분석(cross cheking)을 하였

으며, 각각의 플라보노이드 종류별 질량 스펙트럼(mass spectrum)를 해석하여 Table 2의 multiple reaction monitoring (MRM) mode의 모분자(precursor ion)와 딸분자(product ions) 이온을

설정하였다. 플라보노이드 표준용액은 5 mM ammonium formate와 0.1% formic acid을 함유하는 메탄올로 각각의 성분별로 0.1~10.0 mg/L 수준이 되도록 조제하여 이용하였다. 감귤에 함유하는 플라보노이드 성분은 분자량은 동일하나 화학구조가 다른 이성질체들이 존재하는 특성을 고려하여 시료의 UPLC-MS/MS 크로마토그램의 해석과 정량을 최적화하기 위하여 Table 2에서와 같이 FG-100과 FG-200 2그룹으로 나누어 혼합 표준용액을 조제하였다. 플라보노이드의 표준품은 Table 2에 나타난 바와 같이 18종을 Sigma (USA), Merck (Germany), ChromaDex (USA)사에서 구입하여 사용하였다. 메탄올은 Burdick & Jackson에서 ammonium formate와 formic acid 등 분석 시약은 Sigma (USA)에서 구입하여 사용하였다.

통계 및 군집분석

플라보노이드 종류별 함량과 과실의 당도 및 산함량과의 상관관계는 Excel 프로그램을 이용하였고, 군집분석은 플라보노이드 함량을 자료로 R (Version 3.1.1) 프로그램을, 유사도는 기하학적 거리(Euclidean distance) 지수를, 계층적 군집분석(Hierarchical Clustering Method)은 Ward2 (Legendre and Legendre, 2012) 방식을 활용하여 덴드로그램을 작성하였다. 작성된 각각의 군집에 대한 특성은 역시 R 프로그램을 이용하여 Duncan 다중 검정을 실시하여 특성을 정리하였다.

결과 및 고찰

품종에 따라 과실의 착색시기가 다르기 때문에 착색이 시작되는 착색 개시기를 기준으로 과즙의 품질과 플라보노이드의 특성을 검토하였다. 총 60품종에 대한 착색 개시기와 과실의 당도와 산함량은 Table 4과 같다. 일반적으로 온주밀감은 수확시기에 따라 10월 하순까지 수확하는 극조생온주밀감, 11월부터 수확하는 조생온주밀감, 12월 이후 수확하는 보통온주밀감으로 구분하는데 이들이 착색개시기는 수확기보다 1개월 정도 앞선 것으로 나타났다. 당도와 산함량은 품종에 따라 차이가 크게 나타났다.

감귤류의 대표적인 기능성 물질인 플라보노이드 성분은 과실의 생육시기와 부위에 따라 조성 및 함량이 차이가 크다고 알려져 있다(Kim *et al.*, 2009). 18종의 표준품(Table 2)을 이용하여 UPLC-MS/MS로 분석한 결과, 착색 개시 온주밀감 과즙에서는 flavanones에 속하는 narirutin, hesperidin과 flavones인 rutin, 그리고 polymethoxylated flavones인 sinensetin,

tangeretin, nobiletin 등 총 6종을 함유하고 있는 것으로 나타났다(Fig. 1, Table 5). Flavanones인 hesperidin과 narirutin 함량이 가장 높았고, 다음으로 flavones인 rutin 함량이 높았으며, polymethoxylated flavones인 sinensetin, tangeretin, nobiletin은 미량으로 검출되었다. Gattuso *et al.* (2007)은 온주밀감을 포함하는 만다린류의 과즙 중 플라보노이드류는 11종이 검출되었고, 역시 만다린류인 클레멘틴에서는 6종이 검출되었다고 하였다. 온주밀감 과즙 중에는 Table 5에서와 같이 narirutin, hesperidin 함량이 가장 높아 대표적인 기능성 성분으로 나타났으며, 기능성이 우수한 polymethoxylated flavones인 sinensetin, tangeretin, nobiletin도 함유하고 있었다. 클레멘틴에는 narirutin, hesperidin, naringin, apigenin, diosmetin, diosmin이 함유되어 있다고 보고(Gattuso *et al.*, 2007) 하였는데, 온주밀감 과즙의 플라보노이드 조성은 클레멘틴과 다른 양상을 나타내어 감귤의 종류에 따라 성분 조성이 다양하다는 특성을 보여 주었다.

Nogota *et al.* (2006)이 HPLC를 이용하여 온주밀감 과즙 중 플라보노이드 조성을 분석한 결과, narirutin, hesperidin, diosmin, eriocitrin이 함유되어 있었고, Lee and Kang (1997)은 온주밀감의 한 품종인 홍진조생 과즙에는 hesperidin, rutin과 quercitrin이 검출되었다고 하였는데, 본 시험 결과는 Nogota *et al.* (2006)의 보고와는 달리 narirutin과 hesperidin이 함유되는 것은 일치하나 diosmin과 eriocitrin이 나타나지 않았고, 대신 sinensetin, tangeretin, nobiletin을 함유하는 것으로 나타나 차이를 보였다. 또한 Lee and Kang (1997)이 보고와는 hesperidin과 rutin이 검출은 일치하였으나 narirutin, sinensetin, tangeretin, nobiletin은 본 시험에서만 검출되어 차이가 있었다. 이러한 차이는 감귤의 품종특성과 수확시기나 재배환경 등에 기인한 결과라고 판단되며, 향후 지속적인 연구를 통한 보완이 필요할 것으로 사료된다.

감귤 과즙에 가장 많이 함유되어 있는 플라보노이드는 hesperidin으로 평균 85 mg/L로 Ichifumi wase (시문조생)이 196 mg/L로 가장 높고, Katayama unshiu (편산온주)가 41 mg/L로 가장 낮게 나타났다. Lee and Kang (1997)도 홍진조생의 과즙 중 hesperidin 함량이 가장 높다고 하였고, 함유량은 18.1 mg/100 ml라고 하였는데, 본 시험에서 나타난 홍진조생의 hesperidin 함량 55 mg/L와는 많은 차이가 있었다. 다음으로 항산화제로 많이 이용되는 butylated hydroxyanisole (BHA)과 같은 항산화능을 가지는 것으로 알려진(Sung *et al.*, 2012) narirutin 함량은 76 mg/L 정도로 Ootu4gou (대진4호)가 230 mg/L로 가장 높고

Table 4. Sampling dates and fruit qualities of satsuma mandarin cultivars

Cultivars	Date ^z (MM/DD)	Maturing Type ^y	SSC (Brix)	Acidity (%)	Cultivars	Date (MM/DD)	Maturing Type	SSC (Brix)	Acidity (%)
Aewoljosaeng	9/25	VE	8.2	1.54	Iseki wase	10/14	EW	9.8	1.23
Akimitsu wase	10/01	VE	9.7	1.30	Ishiduka wase	10/14	EW	9.5	1.24
Cyahaha wase	10/14	VE	8.5	1.00	Matsuyama wase	10/14	EW	9.4	1.18
Dowaki wase	9/25	VE	9.2	1.25	Miho wase	10/14	EW	9.1	1.31
Fuji wase	10/14	VE	9.3	1.19	Miyagawa wase	10/04	EW	7.3	1.19
Haraguchi wase	10/04	VE	8.4	1.75	Okitsu wase	10/04	EW	7.5	1.36
Hashimoto wase	10/04	VE	8.6	1.66	Paljungguengchun	10/14	EW	9.1	1.50
Hinoakebono	9/25	VE	7.9	1.20	Taguchi wase	10/10	EW	6.9	1.42
Hinosayaka	10/14	VE	9.4	0.86	Tamnajosaeng	10/04	EW	8.2	1.11
Ichifumi wase	10/01	VE	10.5	1.91	Yamashitabeni wase	10/14	EW	8.6	1.38
Iwasaki wase	10/01	VE	9.5	1.08	Aoe wase	11/12	CU	9.2	1.26
Kitaguchi wase	10/14	VE	11.5	1.44	Aoshima4gou	11/12	CU	10.6	1.88
Kuga wase	10/04	VE	7.8	0.97	Chungchon unshiu	11/11	CU	9.2	1.20
Kusumoto wase	9/25	VE	10.1	1.51	Hayashi unshiu	10/24	CU	6.9	1.36
Miyamoto wase	10/01	VE	10.5	1.34	Imamura unshiu	11/26	CU	11.4	1.31
Mori wase	10/14	VE	8.1	1.11	Ise unshiu	10/24	CU	6.6	1.23
Nichinan1gou	9/25	VE	8.2	1.17	Ishiji	10/24	CU	6.2	0.77
Okamoto wase	9/25	VE	9.4	1.30	Katayama unshiu	11/12	CU	10.0	1.97
Ooura wase	9/25	VE	8.0	1.73	Kuno unshiu	10/14	CU	8.9	1.27
Rikitake wase	10/14	VE	9.8	1.25	Morita unshiu	10/04	CU	7.0	1.31
Sangdojosaeng	9/25	VE	7.7	1.11	Mukaiyama	11/12	CU	9.5	1.11
Sinikjosaeng	9/25	VE	7.4	0.95	Nankan20gou	10/14	CU	9.4	1.38
Takabayashi wase	10/12	VE	8.7	1.59	Ootu4gou	10/24	CU	7.7	1.00
Toyofuku wase	9/25	VE	9.9	1.19	Sasaki unshiu	10/10	CU	7.8	1.04
Ueno wase	9/25	VE	8.3	1.20	Sasebo unshiu	10/10	CU	7.6	1.44
Yamakawa wase	9/25	VE	7.9	1.07	Shinyonezawa unshiu	10/10	CU	7.6	1.25
Yura wase	10/01	VE	11.9	1.34	Silverhill unshiu	10/24	CU	5.8	1.50
Aehyang	10/24	EW	6.9	0.97	Tanigawa unshiu	11/12	CU	8.9	1.11
Haraejosaeng	10/4	EW	7.8	1.32	Yonezawa unshiu	10/10	CU	7.3	1.03
Higo wase	10/14	EW	11.1	1.24	Youngjun unshiu	10/14	CU	8.6	0.96

^zSampling date when the fruits were starting to turn yellow.

^yMaturing type: VE (Very early-ripening type), EW (Early-ripening type), CU (Commonly-ripening type).

Aoe wase (청강조생)이 25 mg/L로 가장 낮았다. Nogota *et al.* (2006)은 온주밀감의 과즙에는 narirutin 함량이 15.4 mg/100g, hesperidin 함량이 8.7 mg/100 g이라고 하였는데, 본 시험에서도 유사한 결과를 나타냈다. 혈압강화, 동맥경화, 고혈압, 고지혈증 등에 효과가 높다(Park *et al.*, 2005)고 알려진 rutin 함량은 평균 2.2 mg/L로 미량이 검출되었고, Hinosayaka (히노사야카), Ishiji (석지), 대진4호, Youngjun unshiu (영전온주), Silverhill unshiu (실버힐온주) 등 5품종에서는 전혀 검출이 이루어지지 않았고, 유라조생이 8 mg/L로 가장 많이 함유하고 있는 것으로 나타났다. 감귤에 특이적으로 나타나는 polymethoxy-

lated flavone로서 적혈구 응집과 혈구침전 감소 작용을 하는 sinensetin, nobiletin, 백혈병 세포의 성장을 저해하는 tangeretin은 미량이지만 모든 품종에서 검출되었다. Sinensetin 함량 범위는 0.01~0.43 mg/L (평균 0.06 mg/L)였다. Tangeretin 함량 범위는 0.02~0.81 mg/L (평균 0.22 mg/L)였다. Nobiletin 함량 범위는 0.06~1.75 mg/L (평균 0.47 mg/L)였다. Kawaii *et al.* (1999)은 온주밀감이 포함된 만다린류에서 sinensetin은 1.05 mg/100 ml, tangeretin은 0.26 mg/100 ml, nobiletin은 0.23 mg/100 ml 함유하고 있으며, 스위트오렌지에는 각각 0.37, 0.04, 0.33 mg/100 ml 함유되어 있는 것으로 보고한 바 있는데, 시험

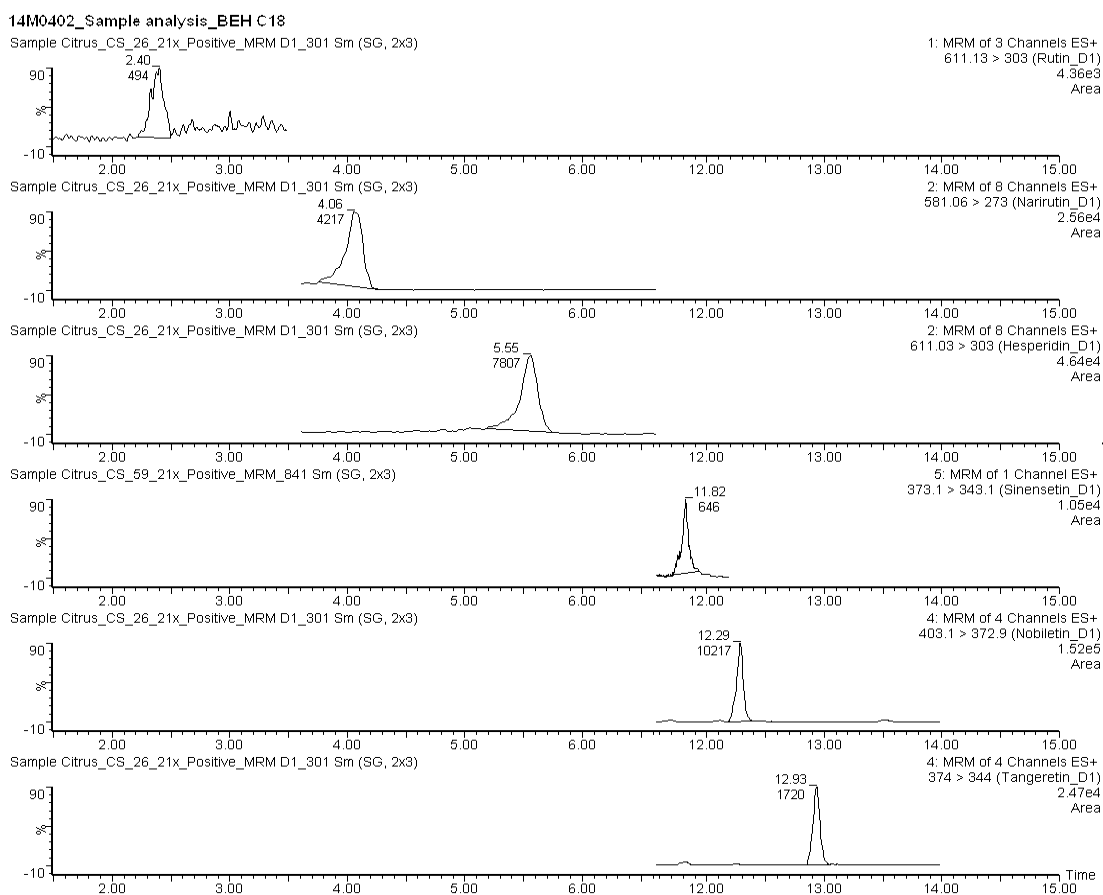


Fig. 1. Chromatogram of flavonoids in juice of satsuma mandarin cultivars.

Table 5. Flavonoid composition in juice of satsuma mandarin cultivars ($n = 5$)

(Unit: mg/L)

Cultivars	Polymethoxylated flavone			Flavone	Flavanone	
	Sinensetin	Tangeretin	Nobiletin	Rutin	Narirutin	Hesperidin
Aewoljosaeng	0.09 ± 0.00	0.54 ± 0.03	1.01 ± 0.07	4.03 ± 3.51	105.74 ± 4.00	85.89 ± 4.75
Akimitsu wase	0.03 ± 0.02	0.16 ± 0.00	0.39 ± 0.00	2.56 ± 4.44	110.33 ± 18.71	111.98 ± 2.34
Cyahara wase	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.95 ± 1.65	50.35 ± 3.20	101.66 ± 0.70
Dowaki wase	0.08 ± 0.00	0.42 ± 0.05	0.87 ± 0.07	3.69 ± 3.20	89.89 ± 3.03	61.37 ± 3.66
Fuji wase	0.02 ± 0.01	0.13 ± 0.03	0.23 ± 0.03	1.07 ± 1.85	57.03 ± 8.12	98.59 ± 0.51
Haraguchi wase	0.14 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.16 ± 0.00	3.58 ± 0.56	41.95 ± 2.07	71.75 ± 4.10
Hashimoto wase	0.04 ± 0.00	0.27 ± 0.01	0.49 ± 0.01	3.35 ± 2.91	82.03 ± 4.26	89.14 ± 5.06
Hinoakebono	0.09 ± 0.00	0.41 ± 0.03	1.07 ± 0.05	5.45 ± 0.90	79.25 ± 6.61	53.73 ± 2.99
Hinosayaka	0.01 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.15 ± 0.01	ND ^z	77.02 ± 11.40	81.40 ± 0.43
Ichifumi wase	0.06 ± 0.01	0.25 ± 0.04	0.57 ± 0.04	3.77 ± 3.28	105.23 ± 1.83	196.18 ± 2.39
Iwasaki wase	0.03 ± 0.02	0.24 ± 0.03	0.30 ± 0.02	1.73 ± 2.99	57.98 ± 2.65	96.97 ± 1.79
Kitaguchi wase	0.01 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.70 ± 1.21	51.34 ± 2.42	66.69 ± 3.78
Kuga wase	0.04 ± 0.02	0.22 ± 0.03	0.47 ± 0.04	2.83 ± 2.53	141.46 ± 4.34	100.11 ± 0.74
Kusumoto wase	0.06 ± 0.01	0.36 ± 0.05	0.75 ± 0.09	1.45 ± 2.51	50.97 ± 4.79	115.84 ± 1.62
Miyamoto wase	0.04 ± 0.03	0.18 ± 0.01	0.51 ± 0.04	6.20 ± 5.38	113.19 ± 9.23	123.16 ± 1.59
Mori wase	0.02 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.10 ± 0.01	3.12 ± 2.73	41.02 ± 5.53	81.63 ± 0.21
Nichinan1gou	0.06 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.48 ± 0.02	4.26 ± 1.01	121.30 ± 5.10	52.98 ± 2.92

Table 5. Continued

(Unit: mg/L)

Cultivars	Polymethoxylated flavone			Flavone	Flavanone	
	Sinensetin	Tangeretin	Nobiletin	Rutin	Narirutin	Hesperidin
Okamoto wase	0.06 ± 0.00	0.34 ± 0.00	0.70 ± 0.03	6.53 ± 1.31	65.71 ± 9.03	75.07 ± 4.35
Ooura wase	0.11 ± 0.02	0.53 ± 0.07	1.30 ± 0.07	1.51 ± 2.62	98.99 ± 1.17	111.58 ± 0.47
Rikitake wase	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.09 ± 0.02	2.46 ± 2.30	35.30 ± 2.42	109.76 ± 0.62
Sangdojosaeng	0.18 ± 0.01	0.81 ± 0.01	1.75 ± 0.02	1.86 ± 1.62	79.76 ± 5.04	63.28 ± 3.55
Sinikjosaeng	0.08 ± 0.00	0.51 ± 0.01	0.97 ± 0.03	4.32 ± 3.76	55.21 ± 2.72	70.26 ± 4.04
Takabayashi wase	0.03 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.21 ± 0.01	1.82 ± 1.58	108.23 ± 8.89	48.19 ± 2.69
Toyofuku wase	0.06 ± 0.00	0.31 ± 0.02	0.70 ± 0.06	4.28 ± 0.62	87.77 ± 8.64	54.19 ± 3.08
Ueno wase	0.10 ± 0.00	0.61 ± 0.01	1.15 ± 0.02	3.03 ± 2.63	78.03 ± 6.94	57.99 ± 3.30
Yamakawa wase	0.11 ± 0.00	0.52 ± 0.04	1.19 ± 0.06	3.96 ± 0.97	103.66 ± 11.29	68.84 ± 3.98
Yura wase	0.05 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.46 ± 0.01	7.47 ± 0.42	81.91 ± 4.45	71.12 ± 4.05
Aehyang	0.11 ± 0.02	0.27 ± 0.03	0.35 ± 0.05	0.67 ± 1.16	67.86 ± 8.96	95.96 ± 0.54
Haraejosaeng	0.10 ± 0.01	0.49 ± 0.01	1.04 ± 0.04	3.08 ± 2.67	86.06 ± 4.93	58.70 ± 3.26
Higo wase	0.04 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.17 ± 0.01	4.19 ± 3.72	69.01 ± 2.89	61.85 ± 4.99
Iseki wase	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.00	2.75 ± 0.49	37.38 ± 4.71	66.66 ± 4.02
Ishiduka wase	0.01 ± 0.02	0.06 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.76 ± 1.32	65.06 ± 10.39	105.05 ± 0.21
Matsuyama wase	0.01 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.10 ± 0.02	1.31 ± 2.27	55.44 ± 2.32	104.68 ± 0.56
Miho wase	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.11 ± 0.01	2.32 ± 2.48	28.11 ± 4.62	60.79 ± 3.47
Miyagawa wase	0.04 ± 0.00	0.11 ± 0.01	0.26 ± 0.01	4.20 ± 0.78	72.04 ± 4.17	57.31 ± 3.16
Okitsu wase	0.03 ± 0.00	0.19 ± 0.00	0.36 ± 0.00	1.91 ± 1.66	67.22 ± 6.34	55.39 ± 3.15
Paljungguengchun	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.06 ± 0.02	1.16 ± 2.00	38.18 ± 4.53	93.57 ± 0.86
Taguchi wase	0.04 ± 0.02	0.21 ± 0.00	0.45 ± 0.01	2.30 ± 3.99	97.16 ± 17.45	123.77 ± 3.10
Tamnajosaeng	0.06 ± 0.02	0.40 ± 0.03	0.76 ± 0.05	0.93 ± 1.62	88.59 ± 4.35	116.87 ± 1.12
Yamashitabeni wase	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.12 ± 0.00	0.72 ± 1.25	35.98 ± 4.89	59.15 ± 3.23
Aoe wase	0.03 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.15 ± 0.00	0.30 ± 0.52	25.09 ± 1.10	50.39 ± 2.80
Aoshima4gou	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.37 ± 0.65	47.48 ± 3.12	45.79 ± 2.65
Chungchon unshiu	0.21 ± 0.00	0.61 ± 0.00	1.28 ± 0.09	0.36 ± 0.62	72.35 ± 1.76	59.68 ± 3.33
Hayashi unshiu	0.01 ± 0.02	0.08 ± 0.00	0.13 ± 0.01	0.70 ± 1.22	95.97 ± 9.28	77.13 ± 4.60
Imamura unshiu	0.43 ± 0.02	0.37 ± 0.03	1.50 ± 0.09	0.49 ± 0.85	93.20 ± 5.29	75.20 ± 4.13
Ise unshiu	0.05 ± 0.02	0.23 ± 0.04	0.44 ± 0.04	0.73 ± 1.27	71.34 ± 5.57	99.98 ± 0.89
Ishiji	0.10 ± 0.00	0.24 ± 0.01	0.45 ± 0.01	ND ^z	89.48 ± 10.11	85.90 ± 0.54
Katayama unshiu	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.57 ± 0.02	0.42 ± 0.74	66.16 ± 4.30	40.65 ± 2.27
Kuno unshiu	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.14 ± 0.01	1.48 ± 1.29	37.83 ± 0.67	62.33 ± 3.52
Morita unshiu	0.02 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.94 ± 1.63	72.47 ± 8.19	99.30 ± 0.92
Mukaiyama	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.70 ± 1.21	116.49 ± 12.25	74.27 ± 0.41
Nankan20gou	0.02 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.14 ± 0.00	2.98 ± 2.58	48.71 ± 5.02	89.13 ± 1.08
Ootu4gou	0.12 ± 0.00	0.57 ± 0.05	1.02 ± 0.00	ND	230.00 ± 61.92	93.08 ± 0.45
Sasaki unshiu	0.01 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.07 ± 0.00	1.50 ± 2.61	86.51 ± 5.09	123.42 ± 0.32
Sasebo unshiu	0.02 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.15 ± 0.01	1.16 ± 2.01	39.37 ± 6.17	115.64 ± 2.61
Shinyonezawa unshiu	0.03 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.32 ± 0.00	3.63 ± 3.26	103.85 ± 10.44	114.50 ± 1.39
Silverhill unshiu	0.10 ± 0.00	0.53 ± 0.03	0.98 ± 0.05	ND	83.43 ± 10.75	119.75 ± 0.56
Tanigawa unshiu	0.03 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.15 ± 0.00	0.45 ± 0.79	41.21 ± 3.71	63.16 ± 3.56
Yonezawa unshiu	0.03 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.25 ± 0.02	1.14 ± 1.97	84.20 ± 3.29	125.70 ± 0.93
Youngjun unshiu	0.02 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.14 ± 0.00	ND	62.59 ± 9.32	98.24 ± 0.11
Average	0.06	0.22	0.47	2.16	75.78	84.87

^zND: Not detected.

Table 6. Correlation coefficient among flavonoids, SSC and acidity in juice of satsuma mandarin cultivars

	Sinensetin	Tangeretin	Nobiletin	Rutin	Narirutin	Hesperidin	SSC ^z	Acidity	ST ^y
Sinensetin	1.000								
Tangeretin	0.603 ^{***x}	1.000							
Nobiletin	0.753 ^{***}	0.952 ^{***}	1.000						
Rutin	-0.042	0.167	0.186	1.000					
Narirutin	0.231	0.435 ^{**}	0.418 ^{***}	0.110	1.000				
Hesperidin	-0.154	-0.028	-0.081	-0.072	0.202	1.000			
SSC	0.046	-0.267 ^{**}	-0.132	0.217	-0.189	-0.122	1.000		
Acidity	0.035	-0.082	0.012	0.095	-0.137	0.042	0.297 ^{**}	1.000	
ST	0.231	-0.308 ^{**}	-0.215	-0.641 ^{***}	-0.128	-0.183	0.141	0.036	1.000

^zSSC: Soluble solid content in juice, ^yST: The number of days between first sampling date on Sep. 23th and each sampling date.
^x***: p < 0.01, ** p < 0.05.

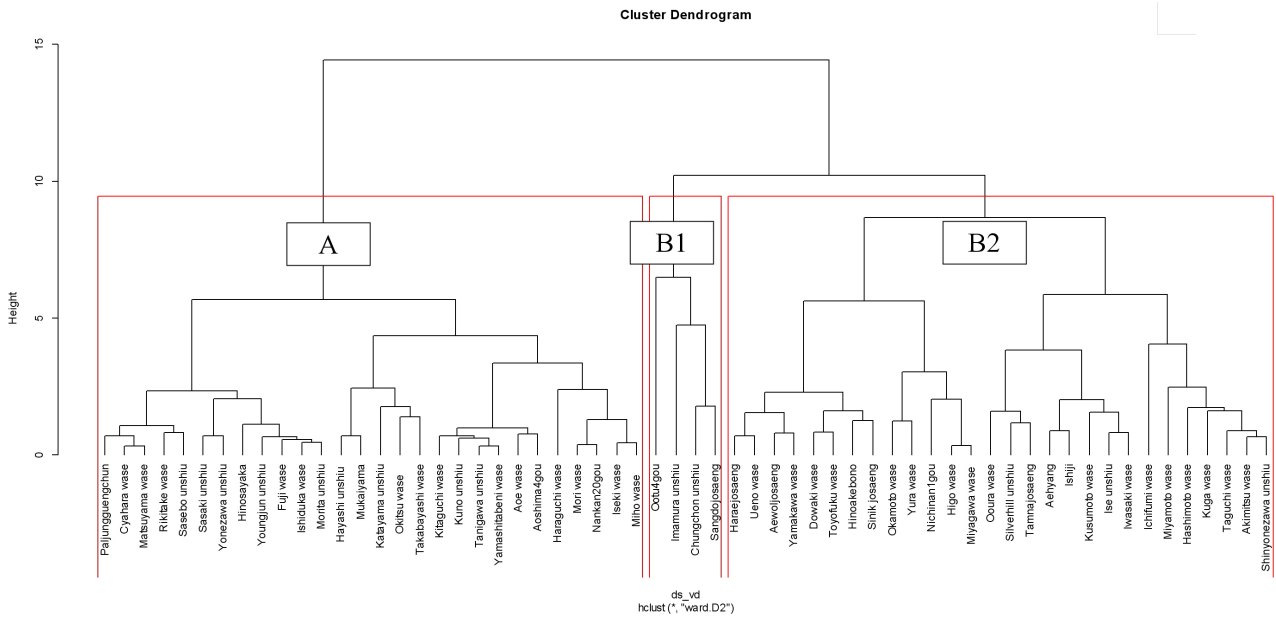


Fig. 2. Dendrogram of satsuma mandarin cultivars grouped by flavonoids composition and content in juice.

결과 온주밀감은 이들과 비교하여 세 성분 모두 낮게 함유하는 것으로 나타났다.

온주밀감 과즙 중에 함유된 플라보노이드 성분, 당도, 산함량 및 처음으로 시료를 채취한 9월 25일을 기점으로 각 품종의 채취시기까지 일수와의 상관관계를 분석하였다(Table 6). 검출된 6종의 플라보노이드 중 polymethoxylated flavone에 속하는 3종은 매우 상관관계가 높게 나타났으며, sinensetin, tangeretin, nobiletin 상호간 정의 상관관계를 보였다. 과즙 중에 당도와 tangeretin 함량과는 부의 상관관계를 보여 당도가 높을수록 tangeretin 함량이 적어지는 것으로 나타났다. 일반

적으로 과실이 성숙할수록 당도는 높아지고 플라보노이드 함량 및 조성은 감소하는데(Kim *et al.*, 2001b; Kim *et al.*, 2009), 본 시험 결과 특히 tangeretin이 과실 성숙에 영향을 받는 것으로 나타났다. 착색개시기가 늦은 품종일수록 tangeretin, rutin, hesperidin 함량이 감소하는 경향으로 나타났다.

플라보노이드 조성 및 함량을 기초로 R 프로그램을 이용 Ward2 방식으로 계층적 군집분석을 실시하여 덴드로그램을 작성한 결과, 조사한 60 품종을 A와 B군으로 집단화 할 수 있었다(Fig. 2, Table 7). A군은 온주밀감 과즙에서 검출된 6종의 플라보노이드 함량이 모두 낮은 군으로 제주에서 가장 많이 재배되

Table 7. Characteristic of groups from the dendrogram by flavonoids composition and content in juice of satsuma mandarin cultivars

Group	Sinensetin	Tangeretin	Nobiletin	Rutin	Narirutin	Hesperidin
A	0.03b ^z	0.06c	0.15c	1.31b	57.63c	81.08a
B	B1	0.23a	0.59a	1.39a	118.83a	72.81a
	B2	0.07c	0.32b	0.66b	3.22a	87.77b

^zDMRT p = 0.05.

고 있는 흥진조생이 대표적인 품종이었다. B군은 sinensetin, tangeretin, nobiletin, narirutin 함량이 높은 B1군과 rutin, hesperidin 함량이 높은 B2군으로 나눌 수 있었다. B1군은 4품종만을 포함하는 작은 그룹으로 농업기술원에서 개발한 Sang-dojosaeng (상도조생) 품종(Park *et al.*, 2013)을 제외하면 재배되고 있는 품종이 없었다. B2군은 궁천조생, Nichinan1gou (일남1호)를 비롯하여 재배가 이루어지고 있는 대부분이 품종이 포함되어 있었다. 한편, A군과 B2군에는 극조생온주밀감, 조생온주밀감, 보통온주밀감이 모두 포함되어 있고, 가장 작은 B1군에도 보통온주밀감과 극조생온주밀감이 혼재되어 있었다. 착색 개시기만을 기준하였을 때에 비록 성숙기가 늦은 품종일수록 tangeretin, rutin, hesperidin 함량이 감소하는 경향을 보이긴 하였으나 과즙 중 전체 플라보노이드 조성 및 함량과 성숙기와 의 관계는 연관성이 적은 것으로 나타났다. 따라서 금후 성숙단계 및 이용부위에 대한 플라보노이드 특성 변화를 통한 연관성을 검토할 필요가 있다고 판단되었다.

적 요

온주밀감 60품종에 대하여 착색 개시기에 과즙의 플라보노이드 조성 및 함량을 분석하고 품종들과의 연관관계를 조사하였다. 온주밀감 과즙에서는 flavanones에 속하는 narirutin, hesperidin과, flavones인 rutin, polymethoxylated flavones인 sinensetin, tangeretin, nobiletin 등 6종을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 온주밀감 과즙 중에는 narirutin, hesperidin 함량이 가장 높아 대표적인 기능성 성분으로 나타났으며, 기능이 우수한 polymethoxylated flavones인 sinensetin, tangeretin, nobiletin도 함유하고 있었다. Hesperidin 함량 범위는 41~196 mg/L로, narirutin 함량은 25~230 mg/L로 나타났다. Rutin 함량은 평균 2.2 mg/L로 미량이 검출되었고 일부 품종에서는 전혀 검출이 이루어지지 않았다. 감귤에 특이적으로 나타나는 poly-methoxylated flavones류인 sinensetin, nobiletin, tangeretin 은 미량이지만 모든 품종에서 검출되었다. 온주밀감 과즙 중에

함유된 플라보노이드 조성 및 함량과 품종의 수확기와의 연관성을 분석하고자 R 프로그램으로 계층적 군집분석을 실시한 결과, 플라보노이드 성분별 함량에 따라 A, B1, B2 집단으로 구분할 수 있었으나 세 집단 모두에서 극조생온주밀감, 조생온주밀감, 보통온주밀감이 산재하여 있어 착색개시기 과즙 중 플라보노이드 분포와 과실의 성숙기와의 관련성이 적은 것으로 나타났다.

사 사

본 연구는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청 Golden Seed 프로젝트 사업(원예종자사업단, 과제번호: 213003-04-2-SBS20)에 의해 이루어진 것이다.

References

Choi, Y.H., Y.J. Lee, S.Y. Lee, C.W. Chae, S.M. Park, S.S. Kim, H.J. An, C.H. Han and H.J. Hong. 2012. Effect of concentrated Dangyooja-derived flavonoids extract added to citrus beverage on obesity and blood lipids in rats. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 30(2):214-219 (in Korean).

Gattuso, G., D. Barreca, C. Gargiulli, U. Leuzzi and C. Caristi. 2007. Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules* 12:1641-1673.

Horowitz, R.M. and B. Gentili. 1977. Flavonoid constituents of citrus: *In* Citrus Science and Technology Nagy, S., P.E. Shaw and M.K. Veldhuis (eds.), AVI Publishing Co. Inc., Westport, CT (USA). Vol. I. pp. 397-426.

Hyon, J.S., S.M. Kang, M. Senevirathne, W.J. Koh, T.S. Yang, M.C. Oh, C.K. Oh, Y.J. Jeon and S.H. Kim. 2010. Antioxidative activities of extracts from dried *Citrus sunki* and *C. unshiu* peels. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39(1):1-7 (in Korean).

Kawai, S., Y. Tomono, E. Katase, K. Ogawa and M. Yano. 1999. HL-60 differentiating activity and flavonoid content of the readily extractable fraction prepared from citrus

- juices. *J. Agric. Food Chem.* 47(1):128-135.
- Kim, Y.C., K.S. Koh and J.S. Koh. 2001a. Changes of some flavonoids in the peel of satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) harvested during maturation. *Agric. Chem. Biotechnol.* 44(3): 143-146.
- Kim, Y.C., K.S. Koh and J.S. Koh. 2001b. Changes of flavonoids in the peel of Jeju native citrus fruits during maturation. *J. Food Sci. Nutr.* 10(5):483-487.
- Kim, Y.D., W.J. Ko, K.S. Koh, Y.J. Jeon and S.H. Kim. 2009. Composition of flavonoids and antioxidative activity from juice of Jeju native citrus fruits during maturation. *Korean J. Nutr.* 42(3):278-290 (in Korean).
- Lee, C.H. and Y.J. Kang. 1997. HPLC analysis of some flavonoids in citrus fruits. *Korean J. Post-harvest Sci. Technol. Agri. Products.* 4(2):181-187 (in Korean).
- Legendre, P. and L. Legendre. 2012. *Numerical Ecology*, 3rd ed., Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
- Nogata, Y., K. Sakamoto, H. Shiratsuchi, T. Ishil, M. Yano and H. Ohta. 2006. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 70(1):178-192.
- Nugroho, A., M.G. Park, S.E. Jin, J.S. Choi and H.J. Park. 2009. Quantitative analysis of flavanone glycosides and peroxynitrite scavenging effect of the five oriental medicinal drugs (*Aurantii nobilis* Pericarpium, *Citrii unshiu* Pericarpium, *Citrii unshiu* Semen, *Aurantii Fructus*, *Poncirii Fructus*). *Kor. J. Pharmacogn.* 40(4):370-375 (in Korean).
- Park, B.J., J.I. Park, K.J. Chang and C.H. Park. 2005. Comparison in rutin content of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). *Korean J. Plant Res.* 18(2):246-250 (in Korean).
- Park, Y.H., H.W. Oh, J.H. Kang, J.S. Lee, S.C. Chin, S.H. Kang and S.G. Kang. 2013. Characteristics of new satsuma mandarin cultivar 'Sangdojosaeng'. *Korean J. Plant Res.* 26(1):143-147 (in Korean).
- Son, H.S., H.S. Kim, T.B. Kwon and J.S. Ju. 1992. Isolation, purification and hypotensive effect of bioflavonoids in *Citrus sinensis*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 21(2):136-142 (in Korean).
- Sung, N.H., Y.J. Jo, C.W. Park, S.M. Woo, S.Y. Jang, I.W. Choi and Y.Z. Jeong. 2012. Characteristics of alcohol fermentation in citrus hydrolysates through narirutin addition. *Korean J. Food Preserv.* 19(1):153-158 (in Korean).
- Yang, Y.T., M.S. Kim, K.H. Hyun, Y.C. Kim and J.S. Koh. 2008. Chemical constituents and flavonoids in citrus pressed cake. *Korean J. Food Preserv.* 15(1):94-98 (in Korean).
- Yhyu, M.R., E.Y. Kim, I.Y. Bae and Y.K. Park. 2002. Contents of naringin, hesperidin and neohesperidin in premature. *Korean J. Sci. Technol.* 34(1):132-135 (in Korean).
- Zhang, Y. H. Dou, H. Li, Z. He and H. Wu. 2014. The citrus flavonoid nobiletin inhibits proliferation and induces apoptosis in human pancreatic cancer cells *in vitro*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 23(1):225-229.
- 박영철, 이증석, 강종훈, 진석천, 강상훈, 오현우, 한정길. 2011. 제주의 감귤 품종과 특성. 하나출판. 제주. 대한민국. p. 51.
- 제주특별자치도. 2014. 2014 농축산식품 현황. 제주특별자치도. 제주. 대한민국. p. 5.

(Received 3 September 2014 ; Revised 16 December 2014 ; Accepted 29 December 2014)