pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 37, No. 5, pp. 356~363 (2022)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2022.37.5.356

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

감귤류 종류에 따른 과피의 산화방지 및 항균 활성

최현정[1] · 김용석[2]*
[1]전라북도보건환경연구원 식품분석과, [2]전북대학교 식품공학과

Antioxidant and Antimicrobial Activities of Various Citrus Peels

Hyeonjeong Choi[1], Yong-Suk Kim[2]*
[1]*Division of Food Analysis, Jeollabukdo Institute of Health & Environment Research, Imsil, Korea*
[2]*Department of Food Science and Technology, Jeonbuk National University, Jeonju, Korea*

(Received August 01, 2022/Revised August 16, 2022/Accepted September 23, 2022)

ABSTRACT - To investigate the functional activity of different citrus fruit peels, antioxidant compounds in 70% ethanol extracts of mandarin, lemon, orange, and grapefruit peel powders were identified, and antioxidant and antibacterial activities were quantitated. Mandarin peel contained the highest content of total phenolic compounds and total flavonoid substances (21.46±0.12 mg GAE/g and 11.57±0.05 mg RE/g, respectively). The total phenolic compound content of the three other citrus fruits was 14.16±0.18-18.44±0.07, and their total flavonoid content was 5.51±0.10-7.46±0.09 mg RE/g. DPPH radical scavenging activity was the highest in lemon peel (87.64±0.21%), and mandarin peel displayed the best antioxidant activity with respective ABTS radical scavenging activity and FRAP measurements of 43.20±0.61% and 78.82±1.06 mM TE/g. Grapefruit peel antimicrobial activity increased with treatment time, and was the most potent among the four tested citrus species, inhibiting *Staphylococcus aureus* by about 4.05 log cycle. These findings demonstrate that mandarin and grapefruit peel can be used to prevent oxidation, improve food storage capabilities, and potentially preserve food quality.

Key words: Citrus, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Mandarin, Grapefruit

최근 현대인의 건강에 대한 관심 증가로 좋은 식품을 소비하고자 하는 인식이 확대되면서 화학적 합성 식품첨가물에 대한 거부감이 늘어나고 있다. 일반적으로 시장에서 유통되고 있는 가공식품에는 저장 기간 연장과 품질 향상을 위하여 산화방지제와 보존료 등의 식품첨가물을 사용하고 있으며, 합성 산화방지제로 일반적으로 사용되는 것에는 butylated hydroxy toluene (BHT), butylated hydroxy anisole (BHA) 등이 있다. 그러나 합성 산화방지제를 사용할 경우 산화방지 효과가 크다는 장점이 있지만 천연 물질을 사용하여 식품의 저장성과 품질을 개선하기 위한 연구가 많이 이루어지고 있다[1-3].

*Correspondence to: Yong-Suk Kim, Department of Food Science & Technology, Jeonbuk National University, 567 Baekje-daero, deokjin-gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do 54896, Korea
Tel: +82-63-270-2567, Fax: +82-63-270-2572
E-mail: kimys08@jbnu.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

감귤은 우리나라에서 생산량이 가장 많은 과일로서 2021년 생산량은 635,835톤이며, 최근 5년간 연평균 628,585톤을 생산하고 있다. 2019년에 약 7.7만 톤이 주스 및 넥타 등 음료 가공용으로 이용[4]되고 있으며, 착즙을 한 후 50% 정도가 부산물로 폐기되고 있다[5]. 감귤류를 많이 생산하는 미국 플로리다 주의 생산량은 2019년에 794만 톤으로 2018년보다 약 31% 증가한 것으로 보고되었다[6]. 생산된 감귤류 중 가공용으로 사용되는 것은 약 448만 톤이며, 전체 사용량의 약 40-50%에 해당하는 과피가 제조과정에서 부산물로 나오고 있는 실정이다[6,7]. 감귤류의 과피는 상품가치가 낮은 부산물이지만 나오는 양이 많아 이를 활용하는 방법에 대한 연구가 필요하다.

감귤류(*Citrus*)는 운향과(Rutaceae)의 식물로 비타민, 폴리페놀 등 다양한 생리활성 물질이 함유되어 있으며, 현재까지 수행된 연구는 주로 식용으로 적합한 과육에 대해서 산화방지[8,9], 항균[10], 항염[11] 및 과육의 기능성[12]에 관한 연구가 이루어져 왔다.

감귤류의 과피는 나오는 양이 많음에도 불구하고 이를 활용하는 연구는 주로 사료로 이용[5]하는 데 이루어져 왔

으며, 생리활성에 대한 연구는 적은 편이다. 감귤류의 과피에는 식이섬유, flavonoid 화합물, carotenoid 등의 생리활성 성분이 과육보다 많이 함유되어 있어 높은 생리활성을 나타낸다고 보고되어 있다[8,13]. 또한 식물은 품종에 따라 함유하는 성분과 활성이 각기 다르므로 품종에 따른 연구가 필요하다고 보고되었다[14,15].

따라서 본 연구에서는 감귤류 중 mandarin, lemon, orange, grapefruit의 과피를 대상으로 산화방지 성분의 함량과 활성을 비교하였고, 식중독 세균에 대한 억제 활성을 측정하여 품질보존료로서의 생리활성에 대하여 연구하였다.

Materials and Methods

재료

본 연구에서 사용한 mandarin (*Citrus reticulata,* 제주도), lemon (*Citrus limon,* 미국/칠레), orange (*Citrus sinensis,* 미국), grapefruit (*Citrus paradisi,* 남아공/이스라엘)은 2019년에 각각 천하일품감귤농장(Seongnam, Korea), ㈜우리존(Icheon, Korea), 더해피팜(Busan, Korea), 만나박스(Jincheon, Korea)에서 구입하였다. 구입한 감귤류는 베이킹소다로 표면을 세척하고 상온에서 자연건조 한 후 실험에 사용하였다.

감귤류 과피의 건조

감귤류를 박피하여 얻은 과피는 즉시 60℃의 convection dry oven (FC-1D-2, MEMMERT, Schwabach, Germany)에서 각각 0, 4, 6, 8, 10, 12시간 건조하면서 최적의 건조시간을 선정하였다.

감귤류의 종류에 따라 선정된 시간 동안 건조한 후 감귤류의 과피는 믹서기(HMF-3300, Hanil Electric Co., Seoul, Korea)로 1차 분쇄한 후 100 mesh의 입자 크기까지 분쇄하였으며 열풍건조 후 분말 상태로 -18°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

일반성분

감귤류 과피 분말의 일반성분 분석은 수분, 회분, 조단백, 조지방을 대상으로 식품공전[16] 시험법에 따라 수행하였다. 즉, 수분은 상압가열건조법, 회분은 회화법, 조단백은 자동킬달분석기(K-350, BUCHI, Flawil, Switzerland)를 사용한 킬달분석법, 조지방은 soxhlet법으로 측정하였다.

감귤류의 과피 추출물 제조

감귤류의 생리활성 성분 용출을 위해 환류냉각추출법[17]을 응용하여 추출하였다. 감귤류 분말에 100배 양의 70% ethanol을 혼합한 후 환류냉각기가 부착된 80°C의 항온수조(C-WB3, Changshin Science, Seoul, Korea)에서 3시간 동안 추출하였다. 추출 후 여과지(Whatman No. 2, Whatman International Ltd., Maidstone, England)를 사용하여 감압여과하여 얻은 추출액을 100 mL가 되도록 70% ethanol로 정용한 후 실험에 사용하였다.

총 페놀화합물 함량

총 페놀화합물의 함량은 Folin & Denis 방법[18]을 응용하여 측정하였다. 시험관에 추출물 0.2 mL와 1 M Folin-reagent 0.2 mL를 첨가한 다음 실온에 3분간 방치하였다. 이 용액에 10% Na_2CO_3 용액 0.4 mL를 혼합하고 증류수를 첨가하여 용액의 총 용량을 4 mL로 하였다. 반응물은 실온에서 1시간 반응시킨 후 UV-Vis spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 검량선을 작성하였으며 총 페놀화합물의 함량은 mg gallic acid equivalent (mg GAE/g)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드의 함량은 Kim 등[19]의 방법을 응용하여 측정하였다. 시험관에 검체 0.5 mL를 취하고 80% ethanol 1.5 mL, 10% aluminium nitrate 용액 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL와 증류수 2.8 mL를 순서대로 첨가하여 충분히 교반한 후, 실온에서 30분 동안 방치하고 UV-Vis spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu Co.)로 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 rutin (Acros Organics Co., MP, NJ, USA)을 이용하여 검량선을 작성하였고 총 플라보노이드의 함량은 mg rutin equivalent (mg RE/g)로 나타내었다.

1,1-Diphenyl-2-picry-2-hydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 변형된 Braca 등[20]의 방법으로 측정하였다. 시험관에 검체 1 mL와 0.15 mM의 DPPH 용액 3 mL를 가하여 교반하였고 30분 방치한 후 UV-Vis spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu Co.)로 517 nm에서 측정된 흡광도를 다음 식에 대입하여 활성을 구하였다.

DPPH radical scavenging activity (%) = (1 − 시료의 흡광도/대조구의 흡광도) × 100

2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 라디칼 소거능

ABTS에 의한 시료의 산화방지 활성은 Re 등[21]의 방법을 응용하여 측정하였다. ABTS (Sigma Chemical Co.)를 7 mM 농도로 증류수에 용해한 후 2.45 mM의 potassium persulfate를 첨가하여 ABTS 라디칼을 생성시키고 실온의 암소에서 24시간 방치 후에 시험에 사용하였다. 최종 ABTS 시약은 70% ethanol로 희석하여 734 nm에서 흡광도가 0.7±0.02가 되도록 조정한 것을 사용하였다. 희석한 용액

300 μL에 시료 30 μL를 첨가하여 혼합하고 실온에 6분간 방치한 다음 UV-Vis spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu Co.)로 734 nm에서 측정된 흡광도를 다음 식에 적용하여 활성을 구하였다.

ABTS radical scavenging activity (%) = (1 − 시료의 흡광도/대조구의 흡광도) × 100

Ferric reducing power (FRAP) 측정

FRAP assay는 Thaipong 등[22]의 방법을 응용하여 시험하였다. 실험에 쓰이는 FRAP reagent는 sodium acetate buffer (pH 3.6, 300 mM)와 40 mM HCl에 용해한 10 mM의 TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine), 20 mM의 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$를 10:1:1의 비율로 혼합하여 사용하였다. 시료 추출액 150 μL와 FRAP reagent 2,850 μL를 혼합하여 암소에서 30분 동안 방치한 후 UV-Vis spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu Co.)로 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 trolox (Sigma Chemical Co.)를 사용하여 흡광도를 측정하였다.

식중독 세균 및 억제 활성

전북대학교 식품공학과(Jeonju, Korea)에 보관하고 있는 *Staphylococcus aureus* KCCM 11812, *Listeria monocytogenes* ATCC 19112의 Gram(+) 식중독 세균과 *Escherichia coli* KCCM 11234, *Salmonella* Typhimurium ATCC 11862의 Gram(-) 식중독 세균을 대상으로 항균활성을 시험하였다. 모든 시험 균주는 tryptic soy broth (TSB: Difco, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) 0.7 mL와 50% glycerol(v/v) 0.3 mL에 넣어 -80°C 초저온냉동고에 보관하였다. 시험 균주는 TSB (Difco, USA) 배지를 이용하여 계대 배양하고, 30°C에서 24시간 간격으로 2차 활성화하여 실험에 사용하였다[23].

식중독 세균에 대한 감귤류 과피의 억제 활성은 평판계수법[24]을 사용하여 측정하였다. 삼각 플라스크에 mandarin, lemon, orange, grapefruit 과피 분말의 함량이 각각 5, 10%가 되도록 배지를 조제하고 멸균을 위해 121°C에서 15분 autoclave 하였다. 멸균한 배지에 24시간 1차 배양한 후 18시간 동안 2차 배양한 식중독균을 $10^{5\text{-}6}$ CFU/mL가 되도록 접종하였다. 접종한 배지는 각 세균이 생육하기 적절한 온도에서 0, 24, 48시간 동안 배양한 후 나타난 colony를 계수하여 log CFU/g으로 나타내었다. 감귤류 과피 분말을 첨가하지 않은 것을 대조구로 하였다.

통계처리

실험결과는 3회 반복 측정한 후 평균±표준편차로 나타내었다. 시료 간 평균값 차이에 대한 유의성은 SAS program (ver. 19.0, SAS Inc., Cary, NC, USA)[25]을 이용하여 분산분석을 하였으며, 통계적 유의성은 5% 수준에서($P<0.05$) Duncan's multiple range test로 검정하였다.

Results and Discussion

감귤류 과피의 건조 시간 선정

감귤류 과피의 분말화를 위한 최적 건조 시간을 선정하기 위하여 과피의 건조 시간에 따른 수분함량의 변화를 측정하였다(Fig. 1). 건조 중에 발생하는 표면경화 현상은 주로 열풍건조에서 일어나며, 건조 온도가 높거나 건조 시간이 길 때 주로 발생한다. 표면경화가 발생하면 식품 표면에 투명한 막이 형성되어 건조 속도가 저하되고 품질의 열화가 일어난다[26]. 감귤류 과피의 건조 종료 시점은 수분함량이 20% 이하로서 증발하는 수분량이 감소하여 기울기가 완만해지는 지점으로 선정하였다. 그 결과, mandarin과 grapefruit 과피는 건조 시작 후 6시간부터 건조속도가 감소했으며 이때의 수분함량은 각각 8.25±0.63%, 11.28±0.98%로 나타났다. Lemon과 orange 과피의 수분함량은 비교적 오랜 시간 동안 수분이 증발하며 10시간 경과 후에는 16.54±0.24%, 12.97±0.63%의 수분함량을 나타내었다. 본 연구에서는 건조 시간에 따른 과피의 수분함량을 측정한 결과를 기준으로 mandarin, lemon, orange, grapefruit 과피의 건조시간을 각각 60°C에서 6시간, 10시간, 6시간, 10시간으로 선정하였다.

일반성분

Mandarin, lemon, orange, grapefruit 과피 분말의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 감귤류 과피의 수분함량은 9.46±0.49-14.29±0.16%의 범위로, grapefruit 과피 분말의 수분함량이 가장 낮았으며, mandarin 과피 분말의 수분 함량이 가장 높았다. 감귤류 과피의 회분 함량은 4종류 모두 미량으로 측정되었으며 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 감귤류 과피의 조단백질 함량은 mandarin 과피가 가장 높은 8.25±0.08%이었으며, 조지방 함량은 1.10±0.03–2.95±0.63% 범위로써 grapefruit 과피에서 가장

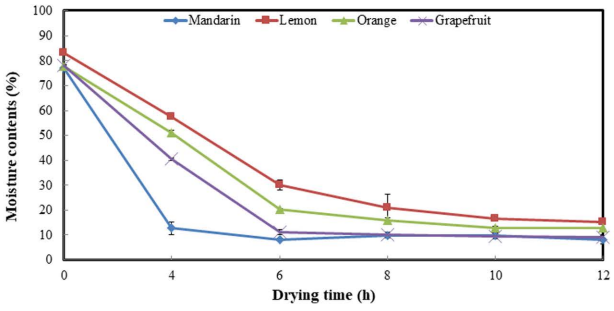

Fig. 1. Moisture contents according to drying time of various citrus peel.

Table 1. Proximate analysis of citrus peel powder

Items	Contents (%)			
	Mandarin	Lemon	Orange	Grapefruit
Moisture	14.29±0.16[a]	11.20±0.41[b]	9.84±0.39[c]	9.46±0.49[c]
Ash	0.00±0.00[a]	0.00±0.00[a]	0.00±0.00[a]	0.00±0.00[a]
Crude protein	8.25±0.08[a]	6.61±0.07[b]	6.36±0.07[c]	6.01±0.18[d]
Crude lipid	1.59±0.14[b]	1.10±0.03[b]	2.45±0.16[a]	2.95±0.63[a]
Carbohydrate	75.87±0.38[d]	81.09±0.51[c]	81.35±0.62[b]	81.58±1.30[a]
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

Data represent means±standard deviations of three measurements.
Means with the different letters within a row are significant different (P<0.05).

높게 나타났다. 전체에서 수분, 회분, 조단백 및 조지방 함량을 뺀 탄수화물 함량은 75.87±0.38–81.58±1.30% 범위로 mandarin 과피에서 가장 낮았고 다른 3종 과피의 경우 81.09±0.51–81.58±1.30%로 비슷하였다. Sinclair[27]는 mandarin 과피의 흰색 부분인 mandarin 락(絡, albedo)은 섬유질인 cellulose로 이루어져 있으며, 여러 품종을 대상으로 감귤류의 mandarin 락 함량을 측정한 결과 16.42–59.76%로 나타나 품종별 함량이 다양한 것으로 보고하였다. 이에 따라 본 연구에서 감귤류 4종의 일반성분이 다양하게 측정된 것은 품종에 따른 구성성분의 차이로 판단된다.

총 페놀화합물 함량

페놀화합물에 존재하는 phenolic hydroxyl (-OH)기는 강한 환원력으로 free radical을 제거함으로써 산화방지, 항암 및 항균 등의 효과가 있다고 보고[28]되었다. 또한, 식품에 페놀화합물을 다량 함유될수록 산화방지 효과가 높다고 보고[29]되어 총 페놀화합물 함량은 천연물질의 생리활성을 입증하는데 주로 이용되고 있다.

감귤류 4종의 과피 분말 추출물의 총 페놀화합물 함량을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 총 페놀화합물 함량은 mandarin, grapefruit, lemon, orange 과피 순으로 각각 21.46±0.12 mg GAE/g, 18.44±0.07 mg GAE/g, 14.40±0.06 mg GAE/g, 14.16±0.18 mg GAE/g으로 나타났으며 감귤류의 종류에 따라 유의적인 차이가 있었다. Hwang 등[30]은 온주 밀감(satsuma mandarin)과 navel orange의 과피의 총 페놀화합물 함량이 각각 20.4, 17.5 mg GAE/g이라고 보고하여 본 연구 결과와 유사하였다. Park 등[8]은 lemon과 grapefruit 과피의 총 페놀화합물 함량을 각각 9.77 mg GAE/g, 7.04 mg GAE/g으로 보고하여 본 연구의 결과보다 낮은 함량을 나타냈다. Boo 등[31]은 여주(*Momordica charantia*)의 종류에 따라 생리활성 성분에 차이가 있는 것으로 보고하였는데 본 연구도 유사한 경향을 나타내었다.

총 플라보노이드 함량

4종의 감귤류 과피 분말 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 시험에 사용한 4종의 과피 추출물의 총 플라보노이드 함량은 5.51±0.10–11.57±0.05 mg RE/g 범위로 나타났으며 mandarin, lemon,

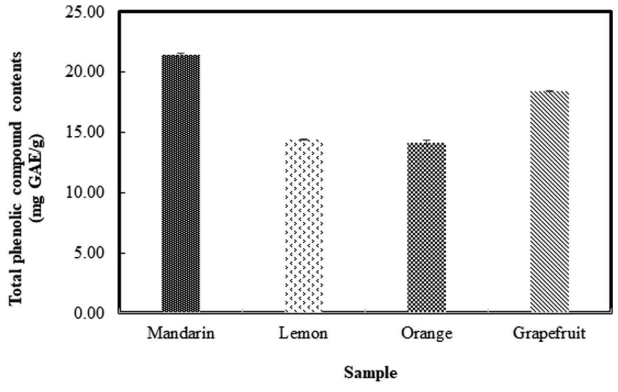

Fig. 2. Total phenolic compound contents of various citrus peel powder.

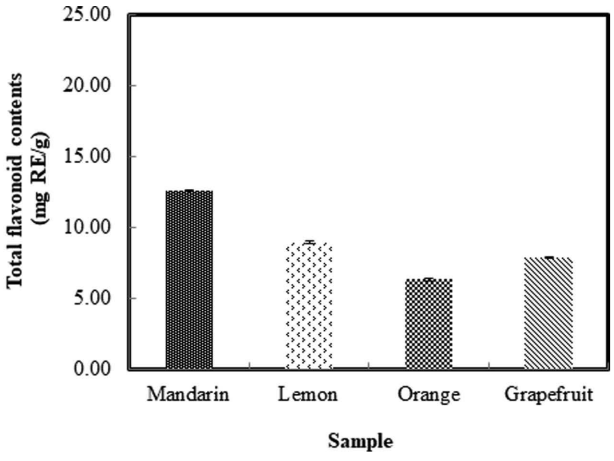

Fig. 3. Total flavonoid contents of various citrus peel powder.

grapefruit, orange 과피 순으로 함량이 높게 나타났다. Park[32]은 mandarin, lemon, grapefruit, orange 과피 추출물의 총 플라보노이드 함량이 각각 3.62 mg QE/g, 3.60 mg QE/g, 2.80 mg QE/g, 2.41 mg QE/g으로 보고하여 본 연구와 유사한 경향을 나타내었으나 그 함량은 본 연구에서 더 높게 나타났다. 4종의 감귤류 과피의 총 플라보노이드 함량은 총 페놀화합물 함량과 비슷하게 감귤류의 종류에 따라 유의적인 차이가 있었다. 이는 히비스커스(hibiscus)의 생리활성 성분의 함량이 원산지별로 차이가 있다고 보고한 Yun 등[14]의 연구 결과와 마찬가지로 감귤류 과피에 함유되어 있는 생리활성 성분은 원산지, 품종과 같은 다양한 요인에 의해 영향을 받는 것으로 생각된다.

DPPH 라디칼 소거능

4종의 감귤류 과피 분말 추출물의 산화방지 활성을 DPPH 라디칼 소거능으로 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. Lemon, mandarin, orange, grapefruit 과피 분말 추출물의 라디칼 소거능은 각각 87.64±0.21%, 77.86±0.13%. 73.39±0.34%, 73.00±0.38%의 순으로 나타났다. 식품가공업체에서 산화방지제로 많이 사용하는 BHT를 500 ppm처리했을 때 91.75±0.30%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타낸 결과와 비교 시 4종의 감귤류 과피의 경우 비교적 활성이 높은 것으로 나타났다. Azman 등[33]이 감귤류 과피의 산화방지 활성에 대해 연구한 보고에 따르면 lemon 과피 추출물의 EC_{50}은 1.30 mg/mL였으며, key lime(*C. aurantifolia*) 과피 추출물의 EC_{50}은 1.83 mg/mL로 나타나 품종에 따라 생리활성에 차이가 있는 것으로 나타났다. Ghasemi 등[34]의 연구에서는 lemon, clementine mandarin, valencia orange, grapefruit 과피 추출물의 IC_{50}값이 각각 1.4 mg/mL, 1.7 mg/mL, 2.1 mg/mL, 2.1 mg/mL로 보고하여 DPPH 라디칼 소거능이 본 실험과 유사한 경향을 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거능

4종의 감귤류 과피 분말 추출물의 ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. Mandarin 과피의 ABTS 라디칼 소거능은 43.20±0.61%로 시험한 4종의 감귤류 중 가장 높게 나타났으며, 다음으로 orange, grapefruit 과피의 ABTS 라디칼 소거능이 높았으며 lemon 과피는 30.23±0.51%로서 가장 낮게 나타났다. Mehmood 등[35]은 grapefruit과 orange 과피의 ethanol 추출물이 각각 10.07±0.33 μmole TE/g, 8.94±0.29 μmole TE/g의 ABTS 라디칼 소거능을 나타낸다고 보고하여 본 연구 결과와 다른 경향을 나타내었다. Shin 등[36]은 원산지별 유자 과피의 산화방지 활성을 측정한 결과 10,000 μg/mL의 농도에서 유자 과피의 ABTS 라디칼 소거능이 78.13±1.30-83.24±0.59%로 측정되었으며 유자의 품종에 따라 산화방지 활성에 차이가 있다고 보고하였다. DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능을

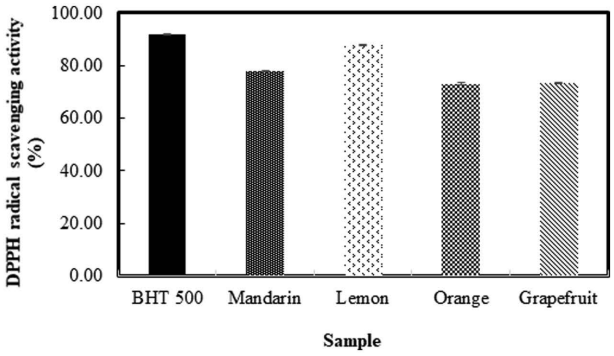

Fig. 4. DPPH radical scavenging activity of various citrus peel powder.

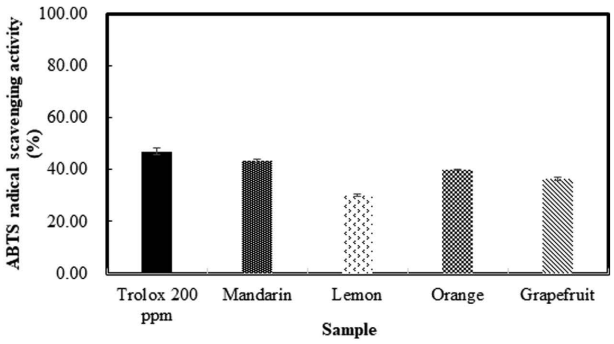

Fig. 5. ABTS radical scavenging activity of various citrus peel powder.

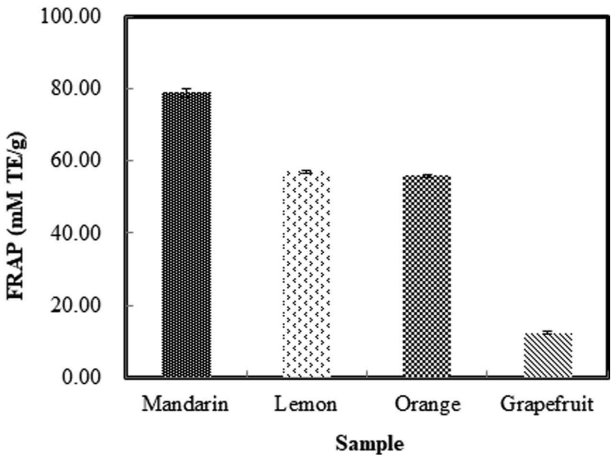

Fig. 6. FRAP assay of various citrus peel powder.

분석한 결과에서 감귤류의 종류에 따라 경향이 다르게 나타났는데, 이는 DPPH 라디칼 소거능 분석은 free radical 분석을 하는 반면, ABTS 라디칼 소거능 분석은 양이온 라디칼을 분석하므로 기질과의 결합력 차이가 실험결과에 영향을 끼친 것으로 생각된다.

FRAP assay

4종의 감귤류 과피 분말의 FRAP을 측정한 결과는 Fig.

6과 같다. 감귤류 과피의 FRAP은 mandarin 과피가 78.82±1.06 mM TE/g으로 가장 높은 환원력을 나타내었다. 그 다음 lemon, orange, grapefruit 과피 순으로 높은 산화방지 활성이 나타냈으며 각각 56.95±0.52 mM TE/g, 55.75±0.32 mM TE/g, 12.38±0.48 mM TE/g으로 측정되었다. Moraes 등[37]은 감귤류의 과육과 과피의 FRAP 활성을 분석한 결과 mandarin 과피가 lemon 과피보다 산화방지 활성이 더 우수하다고 보고하여 본 연구 결과와 유사하였다. 또한, FRAP assay의 결과는 DPPH 라디칼 소거능 결과와 다르게 나타났는데, 이는 전자 전달에 의한 산화를 측정하는 DPPH 분석법과 달리, FRAP assay는 산화-환원 반응에 의한 산화를 측정하는 분석법으로 기작의 차이가 결과에 영향[38]을 준 것으로 생각된다.

식중독 세균 억제 활성

4종의 감귤류 과피를 대상으로 첨가량에 따른 식중독 세균의 증식 억제 효과를 시험한 결과는 Table 2와 같다.

Mandarin 과피를 5% 참가했을 때 *Staphylococcus aureus*의 균수는 48시간 경과 후 8.88±0.15 log CFU/g으로 나타나 대조구보다 1 log cycle 정도 억제하는 효과를 나타냈으며, *Salmonella* Typhimurium과 *Listeria monocytogenes*의 균수도 각각 9.25±0.96 log CFU/g, 9.18±0.00 log CFU/g으로 나타나 증식 억제 활성이 약한 것으로 확인되었다. Lemon 과피 5% 첨가군은 시간이 경과함에 따라 억제 활성이 증가하여 48시간 경과 후에 *S. aureus, E. coli* O157:H7의 균수가 각각 control 대비 3 log cycle, 1 log cycle 정도 감소된 수치로 나타나 특정 균주에 대한 억제 활성이 높음을 확인하였다. Ali 등[39]은 lemon 과피 methanol 추출물의 항균 활성을 분석한 결과 *S. aureus*와 *E. coli*균에 대해 각각 18.35 mm, 15.60 mm의 저해환을 확인하였다고 보고하여 본 연구와 유사한 경향을 나타내었다. Corbo 등[40]은 limonoid가 항균 및 항진균 효과가 있다고 보고하여, lemon 과피에 다량 함유되어 있는 쓴맛 성분인 limonoid가 항균 활성에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

Orange 과피 10% 첨가군은 48시간 후에 *S. aureus*와 *E. coli* O157:H7균을 24시간 대비 각각 2.5 log cfu/mL, 1.7 log cfu/mL 이상을 감소시키며 비교적 고농도에서 특정 균주에 억제 활성이 있는 것으로 나타났다. Grapefruit 과피는 4종의 감귤류 중 식중독 세균에 대해 가장 우수한 억제 활성을 나타내었다. 48시간 경과 후 *S. aureus, L. monocytogenes, E. coli, S.* Typhimurium 균에 대한 grapefruit 과피 5% 첨가군의 균수는 6.18±0.00 log CFU/g, 8.81±0.55 log CFU/g, 6.18±0.00 log CFU/g, 8.57±1.33 log CFU/g으로 나타나 대조구보다 각각 4.05, 0.67, 2.84, 1.06 log cycle을 억제하였다. Negi 등[41]은 grapefruit 과피의 주요 구성성분은 coumarin, methoxyflavones, flavanones 등이며, 이와 같은 물질이 항균 활성에 나타낸다고 보고하였다. Cowan[42]은 폴리페놀 화합물에 많은 hydroxyl group이 병원균 내 단백질의 sulfhydryl group 또는 기타 단백질 부분과 비결합성 상호작용을 이루며 항균작용에 관여한다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서 감귤류 과피의 식중독 세균 억제 활성은 페놀화합물 함량과 비례하지 않았는데, 이

Table 2. Bacterial count according to the concentration of mandarin, lemon, orange, and grapefruit peel powder

Microorganisms	Time (h)	Viable cell counts (log CFU/g)								
		Control	Mandarin peel concentration		Lemon peel concentration		Orange peel concentration		Grapefruit peel concentration	
			5%	10%	5%	10%	5%	10%	5%	10%
Staphylococcus aureus	0	6.74±0.15^{a}	6.72±0.99^{a}	6.54±0.15^{a}	6.77±0.33^{a}	6.83±0.85^{a}	6.64±1.08^{a}	6.27±0.69^{a}	6.45±1.25^{a}	6.29±0.33^{a}
	24	9.62±1.03^{a}	8.69±0.85^{b}	7.59±0.89^{c}	8.89±0.80^{b}	8.02±0.89^{c}	8.81±0.00^{b}	8.73±0.93^{b}	8.81±0.89^{b}	8.77±0.45^{b}
	48	10.23±1.69^{a}	8.88±0.15^{b}	8.79±0.55^{b}	7.24±0.15^{c}	8.48±1.08^{b}	8.85±0.85^{b}	6.18±0.00^{d}	6.18±0.00^{d}	7.19±0.15^{c}
Listeria monocytogenes	0	7.16±0.45^{a}	7.51±1.08^{a}	7.03±1.10^{a}	7.68±1.00^{a}	7.62±1.05^{a}	5.93±0.96^{b}	5.99±0.33^{b}	5.90±0.80^{b}	5.99±0.33^{b}
	24	9.65±0.33^{a}	8.61±0.63^{b}	8.55±1.03^{b}	9.46±1.08^{a}	6.75±1.19^{c}	8.60±0.15^{b}	8.65±0.33^{b}	8.89±0.96^{b}	8.97±0.33^{b}
	48	9.48±0.75^{a}	9.18±0.00^{b}	9.25±1.33^{b}	9.18±0.00^{b}	8.18±0.00^{d}	8.72±0.55^{c}	8.67±0.75^{c}	8.81±0.55^{c}	8.37±0.89^{d}
Escherichia coli O157:H7	0	6.13±0.33^{a}	6.38±0.85^{a}	6.10±1.17^{a}	6.52±1.50^{a}	6.44±0.45^{a}	6.10±1.17^{a}	5.98±0.69^{b}	5.80±1.08^{b}	5.98±0.33^{b}
	24	9.54±1.08^{a}	8.80±1.21^{b}	8.67±0.80^{b}	8.63±1.43^{b}	7.45±0.45^{c}	7.88±0.55^{c}	7.95±0.45^{c}	8.49±0.75^{b}	8.69±1.08^{b}
	48	9.02±0.96^{a}	8.51±1.28^{b}	8.65±0.33^{b}	7.99±1.08^{c}	7.57±0.00^{c}	8.51±1.26^{b}	6.18±0.00^{d}	6.18±0.00^{d}	6.18±0.00^{b}
Salmonella Typhimurium	0	6.57±1.19^{a}	6.08±0.55^{a}	6.50±0.89^{a}	6.23±0.45^{a}	6.49±0.96^{a}	5.85±0.89^{b}	5.77±0.75^{b}	5.57±1.25^{b}	5.77±0.75^{b}
	24	9.54±1.08^{a}	9.05±1.00^{b}	8.87±0.69^{b}	8.60±1.10^{b}	8.60±0.63^{b}	8.17±0.15^{c}	8.25±1.17^{c}	8.71±0.93^{b}	8.62±1.15^{b}
	48	9.63±1.33^{a}	9.25±0.96^{b}	9.04±0.15^{b}	8.43±0.15^{b}	8.49±1.43^{b}	8.62±1.00^{b}	8.57±1.33^{b}	8.62±1.23^{b}	6.18±0.00^{c}

Data represent means±standard deviations of three measurements.
Means with the different letters within a row are significant different (P<0.05).

는 감귤류 과피마다 함유하는 페놀화합물의 종류가 다르며 물질이 가지는 생리활성이 각기 다르기 때문[43-46]에 감귤류의 종류에 따라 식중독 세균 억제 활성에 차이가 나는 것으로 추정된다.

국문요약

감귤류 종류에 따른 과피의 생리활성을 조사하기 위해 mandarin, lemon, orange, grapefruit 과피 분말을 시료로 하여 70% ethanol 추출물을 제조한 후 산화방지 성분 및 활성과 식중독 세균 억제 활성을 측정하였다. Mandarin 과피는 총 페놀화합물과 총 플라보노이드 물질을 각각 21.46±0.12 mg GAE/g, 11.57±0.05 mg RE/g으로 가장 많이 함유하고 있었다. Mandarin 이외 3종의 감귤류 과피의 총 페놀화합물 함량은 14.16±0.18-18.44±0.07 이었으며, 총 플라보노이드 함량은 5.51±0.10-7.46±0.09 mg RE/g으로 나타났다. 산화방지 활성을 측정한 결과 lemon 과피의 DPPH 라디칼 소거능이 가장 높은 87.64±0.21%를 나타냈으며, ABTS 라디칼 소거능과 FRAP 측정 결과 mandarin 과피가 각각 43.20±0.61%, 78.82±1.06 mM TE/g으로 가장 우수한 산화방지 활성을 가지는 것으로 나타났다. 식중독 세균 억제 활성 시험에서 grapefruit 과피는 처리 시간이 경과함에 따라 억제 활성이 증가했으며 *S. aureus*를 4.05 log cfu/mL 정도 억제하여 4종의 감귤류 중 식중독 세균 억제 활성이 가장 뛰어났다. 본 연구 결과에 따라, 감귤류 중 mandarin과 grapefruit 과피는 산화방지 및 식중독 세균 억제 등 식품의 저장성을 향상시킬 목적으로 사용될 수 있으며 이에 따라 품질보존료로서 잠재적 가능성이 높다고 생각된다.

Conflict of Interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Hyeonjeong Choi https://orcid.org/0000-0001-8200-7385
Yong-Suk Kim https://orcid.org/0000-0003-1331-4175

References

1. Hocman, G., Chemoprevention of cancer: Phenolic antioxidants (BHT, BHA). *Int. J. Biochem.*, **20**, 639-651 (1988).
2. Ito, N., Fukushima, S., Tsuda, H., Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants. *Crit. Re. Toxicol.*, **15**, 109-150 (1985).
3. Rhim, T.J., Choi, M.Y., Antimicrobial effects on food-borne pathogens and the antioxidant activity of *Torreya nucifera* extract. *Korean J. Comm. Living Sci.*, **26**, 697-705 (2015).
4. Korea Agricultural Statistics Service, (2021, April 15). https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=114&tblId=DT_114_2012_S0077&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=K1_3&scrId=&seqNo=&lang_mode=ko&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITLE&path=%252FstatisticsList%252FstatisticsListIndex.do
5. Lee, C.R., Kim, Y.J., Lee, K.J., Dietary supplementation of citrus and fermented citrus by-product for Juvenile red seabream *Pagrus major* at low water temperature. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **48**, 4543-458 (2015).
6. United States Departments of Agriculture National Agricultural Statistics Service (USDA NASS), (2019, December 27). National Agricultural Statistics Service Florida Field Office. from: https://www.nass.usda.gov/Statistics_by_State/Florida/Publications/Citrus/Citrus_Forecast/index.php.
7. Li, S., Lo, C.Y., Ho, C.T., Hydroxylated polymethoxy-flavones and methylated flavonoids in sweet orange (*Citrus sinensis*) peel. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 4176-4185 (2006).
8. Park, G.H., Lee, S.H., Kim, H.Y., Jeong, H.S., Kim, E.Y., Yun, Y.W., Nam, S.Y., Lee, B.J., Comparison in antioxidant effect of four citrus fruits. *J. Food Hyg. Saf.*, **26**, 355-360 (2011).
9. Zou, Z., Xi, W., Hu, Y., Nie, C., Zhou, Z., Antioxidant activity of citrus fruits. *Food Chem.*, **196**, 885-896 (2016).
10. Dhiman, A., Nanda, A., Ahmad, S., Narasimhan, B., *In vitro* antimicrobial status of methanolic extract of *Citrus sinensis* Linn. fruit peel. *Chron. Young Scient.*, **3**, 204-208 (2012).
11. Khan, R.A., Mallick, N., Feroz, Z., Anti-inflammatory effects of *Citrus sinensis L., Citrus paradisi L.* and their combinations. *Pak. J. Pharm. Sci.*, **29**, 843-852 (2016).
12. Codoñer-Franch, P., Valls-Bellés, V., Citrus as functional foods. *Curr. Top Nutraceutical Res.*, **8**, 173-184 (2010).
13. Choi, M.H., Kim, K.H., Yook, H.S., Antioxidant and antibacterial activity of premature mandarin. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **48**, 622-629 (2019).
14. Yun, H.Y., Lim, S.J., Park, H.J., Shin, Y.J., Correlation between antioxidant compounds and activities of '*Hibiscus sabdariffa*' teas from different origins. *J. East Asian Soc. Diet Life*, **28**, 40-46 (2018).
15. Boo, H.O., Lee, H.H., Lee, J.W., Hwang, S.J., Park, S.U., Different of total phenolics and flavonoids, radical scavenging activities and nitrite scavenging effects of *Momordica charantia* L. according to cultivars. *Korea J. Med. Crops*, **17**, 15-20 (2009).
16. Korea Food Industry Association, 2019. Food Code. KyungSung Munhwasa, Seoul, Korea. pp. 313-359.
17. Nam, S.Y., Lee, J.Y., Ko, J.S., Kim, J.B., Jang, H.J., Kim, H.R., Lee, Y.M., Changes in antioxidant and antimicrobial activities of *Schizandra chinensis* Baillon under different solvent extraction. *J. Korean Soc. Int. Agric.*, **26**, 513-518 (2014).
18. Folin, O., Dennis, W., On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.*, **12**, 239-243 (1912).

19. Kim, E.J., Lee, H.J., Kim, H.J., Nam, H.S., Lee, M.K., Kim, H.Y., Lee, J.H., Kang, Y.S., Lee, J.O., Kim, H.Y., Comparison of colorimetric methods for the determination of flavonoid in propolis extract product. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**, 918-921 (2005).
20. Braca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., Morelli, I., Antioxidant principles from *Bauhinia tarapotensis*. *J. Natural Prod.*, **64**, 892-895 (2001).
21. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, **26**, 1231-1237 (1999).
22. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Hawkins Byrne, D., Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Comp. Anal.*, **19**, 669-675 (2006).
23. Kim, H.E., Kim, Y.S., Inhibitory effects of cinnamon, clove and lemongrass essential oils against biofilm formation by food poisoning bacteria. *J. Food Hyg. Saf.*, **36**, 430-439 (2021).
24. Korea Food Industry Association, 2019. Food Code. KyungSung Munhwasa, Seoul, Korea. pp. 544-547.
25. SAS Institute, Inc., 1990. SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institutes, Cary, NC, USA.
26. Cho, D.J., Hur, J., Kim, H.Y., Influencing factors in drying and shrinking characteristics of root vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**, 203-211 (1989).
27. Sinclair, W.B., 1972. The Grapefruit: Its Composition, Physiology, and Products. University of California, Berkeley, CA, USA. pp.223-239.
28. Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J., Aruoma, O.I., The characterization of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.*, **33**, 601-617 (1995).
29. Imai, J., Ide, N., Nagae, S., Moriguchi, T., Matsuura, H., Itakura, Y., Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Plant Med.*, **60**, 417-420 (1994).
30. Hwang, J.H., Park, K.Y., Oh, Y.S., Lim, S.B., Phenolic compound content and antioxidant activity of citrus peels. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **42**, 153-160 (2013).
31. Boo, H.J., Chun, J.Y., Kim, J.A., Quality characteristics and antioxidative activity of different parts of bitter melon (*Momordica charantia* L.). *Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **48**, 418-423 (2019).
32. Park, M.J., Kim, G.H., The antioxidative and antibrowning effects of citrus peel extracts on fresh-cut apples. *Korean J. Food Sci.*, **45**, 598-604 (2013).
33. Azman, N.F.I.N., Azlan, A., Khoo, H.E., Razman, M.R., Antioxidant properties of fresh and frozen peels of citrus species. *Curr. Res. Nutr. Food Sci.*, **7**, 331-339 (2019).
34. Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, M.A., Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm. Sci.*, **22**, 277-281 (2009).
35. Mehmood, T., Khan, M.R., Shabbir, M.A., Zia, M.A., Phytochemical profiling and HPLC quantification of citrus peel from different varieties. *Progr. Nutr.*, **20**, 279-288 (2018).
36. Shin, J.H., Lee, S.J., Seo, J.K., Sung, N.J., Antioxidant activity of hot-water extract from Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) peel. *J. Life Sci.*, **18**, 1745-1751 (2008).
37. De Moraes Barros, H.R., De Castro Ferreira, T.A.P., Genovese, M.I., Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chem.*, **134**, 1892-1898 (2012).
38. Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agri. Food Chem.*, **53**, 1841-1856 (2005).
39. Ali, J., Das, B., Saikia, T., Antimicrobial activity of lemon peel (*Citrus limon*) extract. *Int. J. Curr. Pharm. Res.*, **9**, 79-82 (2017).
40. Corbo, M.R., Speranza, B., Filippone, A., Granatiero, S., Conte, A., Sinigaglia, M., Del Nobile, M.A., Study on the synergic effect of natural compounds on the microbial quality decay of packed fish hamburger. *Inter. J. Food Microb.*, **127**, 261-267 (2008).
41. Negi P., Jayaprakasha, G., Antibacterial activity of grapefruit (*Citrus paradisi*) peel extracts. *Eur. Food Res. Technol.*, **213**, 484-487 (2001).
42. Cowan, M.M., Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, **12**, 564-582 (1999).
43. Eun, J.B., Jung, Y.M., Woo, G.J., Identification and determination of dietary fibers and flavonoids in pulp and peel of Korean tangerine (*Citrus aurantium var.*). *Korean J. Food Sci.*, **28**, 371-377 (1996).
44. Wang, M., Meng, D., Zhang, P., Wang, X., Du, G., Brennan, C., Zhao, H., Antioxidant protection of nobiletin, 5-demethylnobiletin, tangeretin, and 5-demethyltangeretin from citrus peel in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Agric. Food Chem.*, **66**, 3155-3160 (2018).
45. Murunga, A.N., Miruka, D.O., Driver, C., Nkomo, F.S., Cobongela, S.Z., Owira, P.M., Grapefruit derived flavonoid naringin improves ketoacidosis and lipid peroxidation in type 1 diabetes rat model. *PLoS One*. **11** (2016).
46. Ortuno, A.A., Baidez, P., Gomez, M.C., Arcas, I., Porras, A.G., Del Rio, J.A., *Citrus paradisi* and *Citrus sinensis* flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chem.*, **98**, 351-358 (2006).