

감귤 친환경재배와 관행재배 있어 carotenoids와 hesperidin 함량 변화

한상헌, 김창건, 박용봉
제주대학교 생명자원과학대학 생물 산업학부

Seasonal Change of Carotenoids and Hesperidin in Satsuma Mandarin (cv. Yamakawa wase) Fruit in Conventional and Environmentally-friendly Orchard.

Sang Heon Han, Chan Geon Kim and Yong Bong Park
Faculty of Bioscience and Industry, College of Applied Sciences, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

ABSTRACT

In this study, functional materials such as carotenoids and hesperidin from Satsuma mandarin(cv. Yamakawa wase) fruit in environmentally-friendly orchard were compared with those from conventional orchard. The environmentally-friendly orchard have not got any chemical fertilizer, insecticide, sterilizer and herbicide since 1998 and managed to sod culture. The environmentally-friendly orchard was not treated to chemical fertilizer, insecticide, sterilize and weedicide, controlled to sod culture since 1998. Fruit took off for sampling on September, 1 and October, 14 and 24. They had 3 different treatment of juice, peel and freeze dried. The freeze-dried samples were extracted to flavonoids by 99% ethanol, and hesperidin contents were measured to HPLC system. Carotenoids in fruit peel and

flesh at fruit maturity and harvest season were extracted and separated to β cryptoxantin with HPLC. Hesperidin contents of the sustainable orchard were higher than the common orchard in fruit juice and peel at fruit maturity and harvest season. β cryptoxantin contents were also higher in peel than fresh, and sustainable orchard (EM BOKASHI) than common orchard (control). Therefore, these results were suggested that the fruit from environmentally-friendly orchard can be developed for functional food and encourage farmers to grow the plant profitable agriculture in Jeju island.

서론

국민소득이 향상되고 각종 공해와 환경오염이 심화됨에 따라 건강과 안전식품에 대한 소비자의 요구는 증대하고 있다. 더욱이 1990년대 중반 이

후 정책적인 지원에 힘입어 환경농업을 실천하고 있는 농가가 늘고 친환경농산물의 유통량이 증가하고 있다. 지금까지 친환경농산물은 생산자와 소비자 사이에 다양한 형태의 시장의 유통이 주류를 이루고 있다. 그러나 친환경 농산물의 수요와 관심의 증대에도 불구하고 상품차별화, 판로애로 등 유통상의 문제로 인하여 연계가 되지 못하고 있다 (박 등, 1999).

제주도는 2차 산업이 발달하지 못하였기 때문에 1차 산업 비중이 매우 크며 그 중 감귤은 농업 소득의 60%를 차지하고 있어서 기간산업이 되고 있다 (김, 2002).

그 동안 제주의 감귤 농업은 증산 위주의 고 투입 농법에 의존하여 질보다는 양적 생산에 치중하여 왔다. 최근 제주감귤농가에서는 감귤의 품질향상을 위해 화학비료의 시비 및 농약을 살포하지 않은 친환경 유기농법으로 친환경 인증을 획득하고 있는 농가가 나산농원 등 30개소가 되고 있다. 김 (2002)은 발효퇴비의자재가 토양미생물과 친환경재배 온주밀감의 생육·품질에 미치는 영향에 대해서 과즙의 당도는 발효퇴비 사용에 의해서 증가되는 경향을 발표했다.

밀감류의 기능성성분 중 혈관의 투수성을 약하게 해 혈관의 저항력을 부여하는 작용이 있는 비타민으로서 flavonoid 화합물의 hesperidin과 발암을 억제하는 diosmin을 많이 함유하고 있다. 또 불포화지방산의 산화를 방지해 콜레스테롤의 축적을 억제하는 비타민 E(tocopherol)가 많다. 최근에 발암을 억제하는 카로틴의βcryptoxantin과 감기에 효과가 있는 항 히스타민제로 sinefirin이 함유가 되어있는 것이 밝혀지고 있다(Natioal Agriculture and Food Research Organization, 2001). Kim (2000)은 제주에서 재배되고 있는 온주밀감, 만감류 그리고 재래감귤의 flavonoid의 함량에 대해 조사한 바가 있으며 Ko 등 (2002)은 제주에서 생산되는 감귤류의 β cryptoxantin 함량을 조사했다.

그래서 본 연구에서는 친환경 재배와 일반 관행재배 감귤의 유통 중 차별화 하기위해 과실생육에 따른 친환경 재배와 일반 관행재배의감귤 기능성 성분인 flavonoid 와 β cryptoxantin 함량 변화를 조사했다.

재료 및 방법

실험에는 애월읍 봉성리에 위치한 금산자연농원에 재식거리 2×3 m(150본/300평)로 식재된 약 9년생의 온주밀감 궁천조생의 가지변이인 산천조생을 이용했다. 친환경 감귤원은 1994년 전부터 화학비료와 농약을 사용하지 않은 대신에 유기질 물질을 BOKASHI과 EM-BOKASHI로 발효시킨 비료를 사용했고 병충해 방제는 자연산의 농약 대용 물질을 살포하여 관리해 왔다. BOKASHI는 발효균강 퇴비로 쌀겨 40%을 기준하여 깻묵 20%, 계분 10%, 어분 10%, 골분 10%, 맥반석과 활성탄 5%를 첨가했다. EM-BOKASHI는 BOKASHI의 구성물질에 EM(effective microorganisms)균을 혼합하여 백색 비닐에 넣은 후 밀봉하여 25℃정도에서 20일간 발효시켰다. 일반관행의 감귤원은 친환경 감귤원에서 약 300 m 거리에 위치한 감귤원에서 실험을 수행했다. 개화가 된 후 과실의 비대 초반기(9월 1일), 비대완료기(10월 14일), 성숙기(10월 28일)에 과실을 채취해 과실의 생육조사를 한 다음 과즙을 짜고 과피와 과육으로 분리해 동결건조를 했다.

동결건조 된 건조시료 유발과 몰타를 이용해 분쇄시키고 김 (2000)의 방법에 따라 1g 분말시료에 대해 10 ml의 99% 에탄올로 60℃ 조건에서 1시간씩 3회에 걸쳐 flavonoid 성분을 추출했다. 추출된 과육, 과피 및 과즙의 flavonoid 성분들을 HPLC를 이용해 정량이 되었다.

Carotenoid류의 물질분석은 Fig. 1의 방법과 같이 동결 건조된 10월 14일과 28일의 과피 및 과육 10g을 40% 메탄올 70 ml로 이용해 추출했고 suction flask를 이용해 여과했다. 잔사를 40% 메탄올로 세척한 후에 산화억제인 0.1% BHT가 함유된 동량의 acetone/methanol (7:3, v/v)용액으로 추출했다. 그 추출물에 대해 2시간 동안 진탕시키고 정밀여과를 했다. 추출물을 분액 깔대기에 넣고 500 ml diethyl ether과 200 ml 증류수를 첨가해서 분액을 했다. 분획이 된 하층인 수분층을 버리고 상층인 색소층에 대해 가압진탕 농축기 [vacuum rotary evaporator(Büchi)]로 완전 건조가 될 때 까지 농축을 시켰다. 농축된 carotenoid

류를 10 ml diethyl ether로 녹이고 20% methanolic KOH(10ml)로 비누화를 시켰다 (saponified). 질소 gas가 찬 실온의 암흑상태에 가끔 진탕을 하면서 2시간동안 정치시켰다. 그 시료는 다시 포화된 NH₄Cl 용액으로 분획이 되었다. 유기층을 한쪽에 모아 두었고 수분층에 대해서 diethyl ether로 중화가 될 때까지 세척을 한 후에 유기층을 혼합했다. 그 ether 층을 가압진탕 농축기로 완전 건조가 될 때 까지 농축을 시켰다. 그 비누화된 시료를 HPLC로 정량을 하기위해 HPLC의 이동상인 MTBE/MeOH(1 : 1, v/v)로 녹이고 0.45 μm 주사기용 필터 (PTEE syringe

filter, Micro Filtration System)를 통해 여과를 했다.

고속액체크로마토그래프(HPLC)는 puming system (LC-19AD), auto-samplers (SIL-20A) 그리고 UV-visible 검출기 (SPD-10A) 및 컴퓨터 분석 장치로 구성된 Shimazu (SCL-10A, Japan) system을 이용하였다. 이동상은 용액 A(CH₃CN: Acetic acid = 99.5 : 0.5)와 용액 B(water : acetic acid = 99.5 : 0.5)을 Table 1과 같이 농도 구배를 조절하는 프로그램을 만들었다. 이들 이동상을 40VP-ODS column [Shimazu, Japan (250 mm×4.6 mm)]에 매분 1 ml을 흘려보내면서 40 °C 조건에서 flavonoid

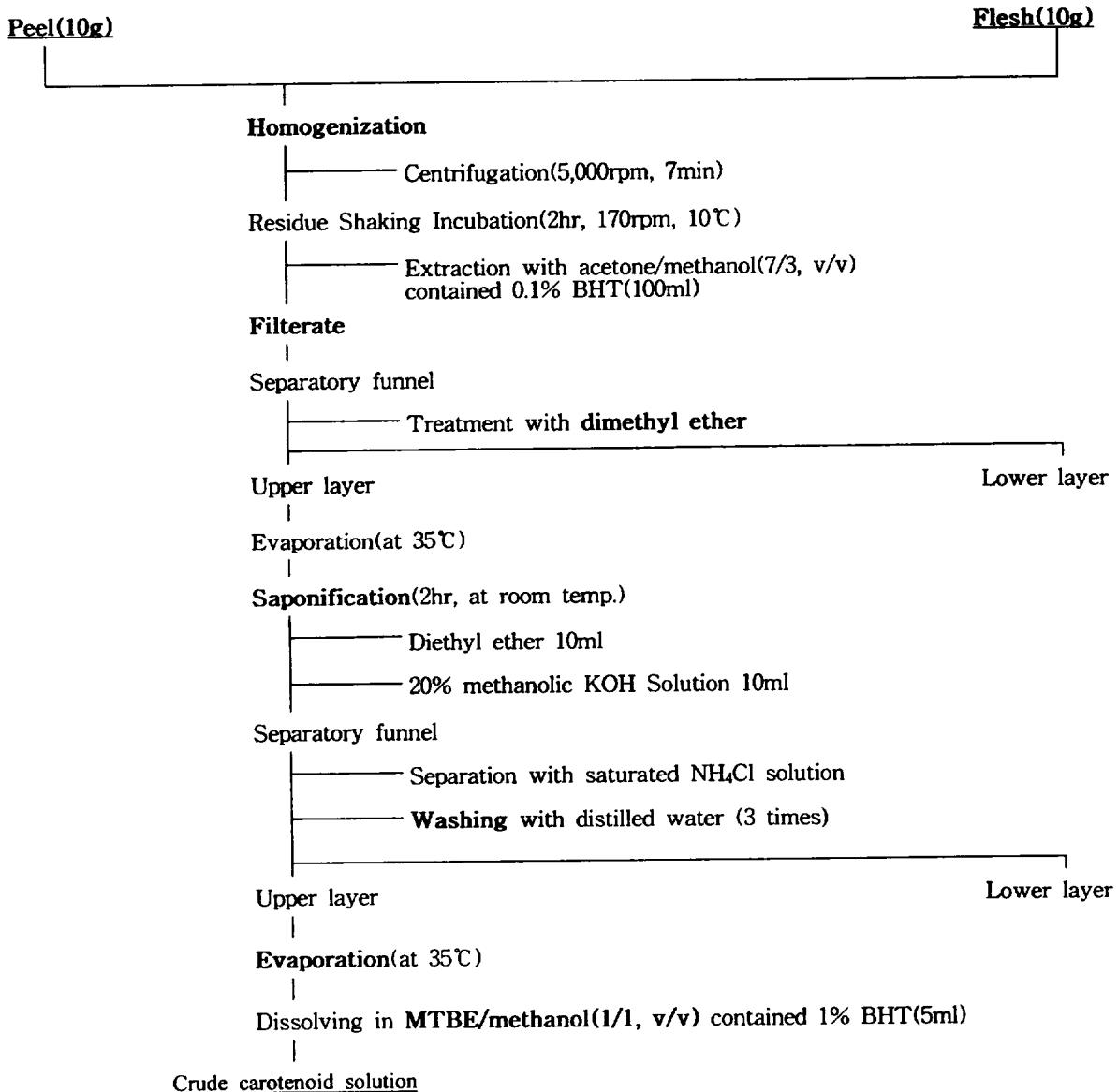


Fig. 1. Extract scheme of carotenoids in peel and flesh of Satsuma mandarin

계의 표준 물질인 hesperidin, neohesperidin, narigin, rutin (Sigma, America)을 100, 250, 500 ppm 용액으로 조제한 후 injection 했다. 이들 표준 물질에 대해서 280 nm로 조정된 UV-visible 검출기에서 분리된 chromatogram으로부터 얻어진 검량선을 각 시료의 정량에 사용했다. 추출된 과육, 과피 및 과즙의 시료들은 HPLC에 injection 하기 위해 19,500×g 조건에서 10분간 원심분리 했다. 이들 시료에 대한 chromatogram은 컴퓨터 분석 장치를 통해 표준물질의 검량선 으로부터 flavonoid 계의 물질을 정량했다.

Table 1. Operating condition of HPLC for hesperidin.

| | | |
|---|--|------|
| System controller | : SCL-10A, Shimadzu, Japan | |
| Solvent Degassers | : DGU-14A, Shimadzu, Japan | |
| Gradient pumps | : LC-19AD Liquid Chromatogram, Shimadzu, Japan | |
| Autosamplers | : SIL-20A, Shimadzu, Japan | |
| UV/Vis Detectors | : SPD-10A, Shimadzu, Japan | |
| Column | : Shim-pack VP-ODS 250 L×4.6mm HPLC Column, SHIMADZU | |
| Mobile phase | | |
| A solvent = Acetonitrile (CH ₃ CN) : Aceticacid = 99.5 : 0.5 | | |
| B solvent = H ₂ O : Aceticacid = 99.5 : 0.5 | | |
| Injection volume | : 20 μl | |
| Column temperature | : 40 °C | |
| Flow rate | : 1 ml/min | |
| Wave length | : 280 nm | |
| Gradient table | | |
| Time(min) | A(%) | B(%) |
| 0 | 20 | 80 |
| 15 | 40 | 60 |
| 26 | 40 | 60 |
| 30 | 20 | 80 |

Carotenoid류의 물질들은 silica gel plate (Silica gel 60 F254, Merck) 을 사용한 thin-layer chromatography (TLC)의 hexane/acetone (75/25, v/v)을 전개용매로 분석을 했다. HPLC에 의한 분

석은 flavonoid계 물질분석에 이용된 같은 장치를 이용을 해서 Table 2와 같이 이동상 MTBE/MeOH/water을 13분동안 95:1:4에서 25:71:4 조건의 농도변화를 주었다. 분석 column은 μ Bondark TM C18 역상 column [Waters chromatography, Milford, America (250 mm×4.6 mm, particule size 10 μm)]에 35 °C 조건에서 Carotenoid류의 표준물질인 β cryptoxantin (Wakou, Japan)용액으로 조제한 후 injection 했다. 이들 표준물질에 대해서 445 nm로 조정된 UV-visible 검출기에서 분리된 chromatogram 으로부터 얻어진 검량선을 각 시료의 정량에 사용 을 했다.

Table 2. Operating condition of HPLC for carotenoids

| | | |
|---|--|------|
| System controller | : SCL-10A, Shimadzu, Japan | |
| Solvent Degassers | : DGU-14A, Shimadzu, Japan | |
| Gradient pumps | : LC-19AD Liquid Chromatogram, Shimadzu, Japan | |
| Autosamplers | : SIL-20A, Shimadzu, Japan | |
| UV/Vis Detectors | : SPD-10A, Shimadzu, Japan | |
| Column | : μ Bondapak TM C18 125A 10 μm 3.9×300 mm HPLC Column, Waters | |
| Mobile phase | | |
| A solvent = Methanol : Methyl tert-butyl ether : H ₂ O = 95 : 1 : 4 | | |
| B solvent = Methanol : Methyl tert-butyl ether : H ₂ O = 25 : 71 : 4 | | |
| Injection volume | : 20 μl | |
| Column temperature | : 35 °C | |
| Flow rate | : 1 ml/min | |
| Wave length | : 445 nm | |
| Gradient table | | |
| Time(min) | A(%) | B(%) |
| 0 | 100 | 0 |
| 12 | 100 | 0 |
| 25 | 0 | 100 |
| 30 | 100 | 0 |
| 35 | 100 | 0 |

결과 및 고찰

과실의 생육에 따라 과실의 생육에 따라서 과실의 비대 초반기(9월 1일), 비대 완료기(10월 14일), 성숙기(10월 28일)에 flavonoid계의 물질들을 HPLC로 정량한 결과, hesperidin만 검출이 되고 다른 물질인 neohesperidin, narigin, rutin 은 검출이 되지 않았다. 그리고 동정이 불가능한 물질의 큰 peak가 시료 sample에서 나타났다. 본 실험에서는 동정이 가능한 과육, 과즙 및 과피의 hesperidin 함량을 Fig. 3, 4 그리고 5에 나타냈다.

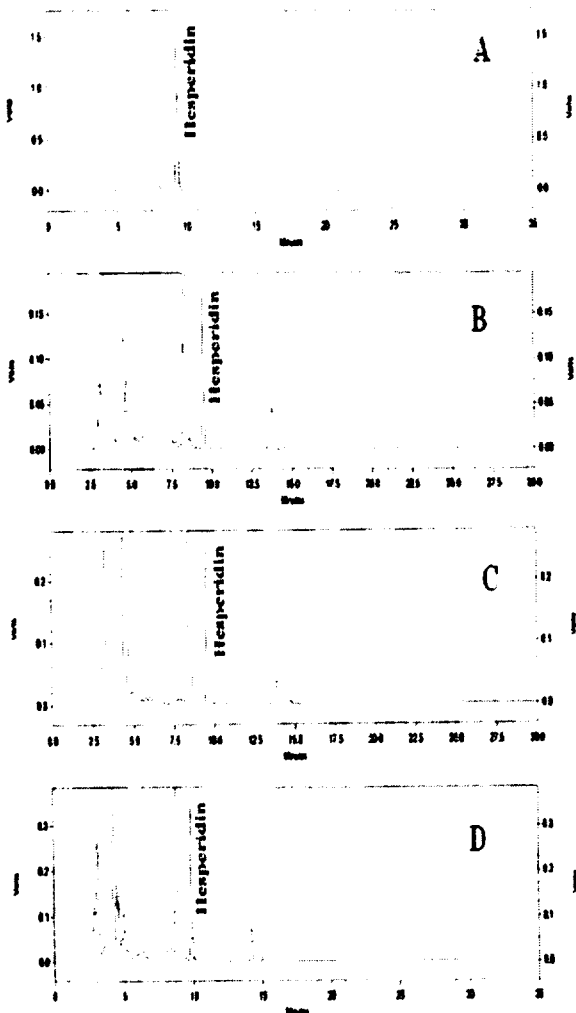


Fig. 2. HPLC chromatograms of flavonoid for fruit juice of Satsuma mandarin cv. Yamakawa wase harvested on Oct. 28, 2005.
A ; Standard of hesperidin, B ; Control
C ; BOKASHI, D ; EM BOKASHI

과육에 있어 관행재배 감귤원이 과실성숙기에 친환경재배 감귤원 보다 높았지만 과피에서는친 환경 감귤원에서 높았다. 과즙에서는 다른 부위보다 낮은 함량을 보였는데 과실비대기에는 관행이 높았지만 성숙기에는 친환경 감귤원이 높았다.

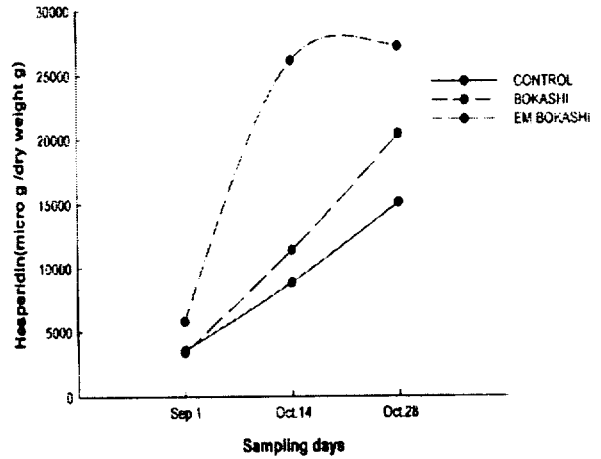


Fig. 3. Seasonal changes of hesperidin content for fruit peel in environmentally-friendly orchard as chemical(control) and organic material (BOKASHI and EM BOKASHI) fertilizer application during fruit enlargement, maturity and harvest period.

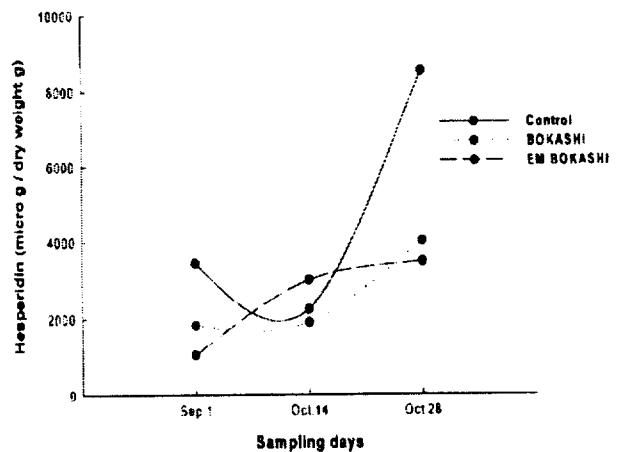


Fig. 4. Seasonal changes of hesperidin content for fruit fresh in environmentally-friendly orchard as chemical (control) and organic material (BOKASHI and EM BOKASHI) fertilizer application during fruit enlargement, maturity and harvest period.

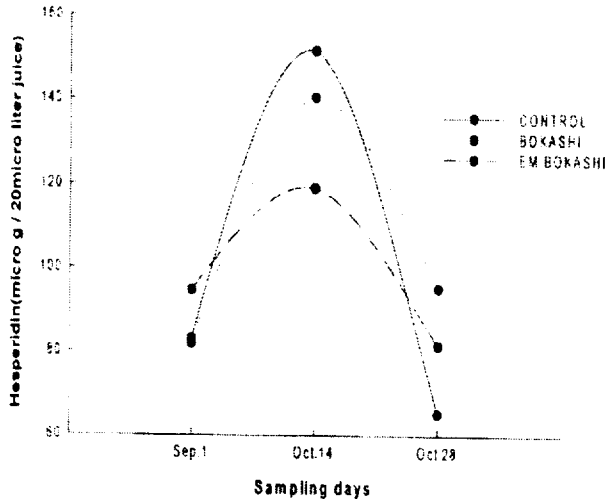


Fig. 5. Seasonal changes of hesperidin content for fruit juice in environmentally-friendly orchard as chemical (control) and organic material (BOKASHI and EM BOKASHI) fertilizer application during fruit enlargement, maturity and harvest period.

이상의 결과 친환경 감귤원에서 재배된 과실의 과피 및 과즙이 관행재배 보다 과실의 성숙기에 hesperidin 함량이 높았다.

Carotenoid계의 물질인 β cryptoxanthin을 HPLC로 분리한 결과, 22분의 retention time 에서 분리

가 되었다(Fig. 6). 분리된 β cryptoxanthin에 대해서 과실의 성숙기인 10월 14일과 수확기인 28일에 대해서 과피 및 과육을 함량변화를 표 2에 나타냈다. 과피의 함량이 과육의 함량보다 많았고 또한 수확기가 성숙기 보다 많았다. 유기질 비료 처리 중 EM BOKASHI가 무처리 보다 많았다. HPLC 뿐만 아니고 TLC를 통해 β cryptoxanthin을 분리를 했다. TLC의 결과(Fig. 7과 Fig. 8)도 HPLC에서 분리된 peak의 면적과 비슷한 band의 양상을 보였다.

토양에 유기물의 유입은 토양의 여러 가지 특성을 개선했다는 보고들이 있다(Stamatiadis 등, 1999; DeJager 등, 2001; Palm 등, 2001; Ouedrogo 등, 2001; Soumare 등, 2003).

토양에 유기물의 유입에 의한 작물의 증수효과는 장기간을 요한다. 그래서 농민들은 유기물을 비료로서 효과적인 역할을 하기 위한 EM균의 접종을 꺼려해 왔다.

몇 년동안 토양미생물학자와 미생물 생태학자들은 토양미생물에 대해 기능 및 식물의 건강과 생장에 영향을 주는 토양의 질에 해로운지 아니면 이로운지에 따라 분류를 해왔다. 이로온 미생물에 대해 보다 전문적인 분류는 Higa (1991; 1994; 1995)의해 제안이 되어왔다. 즉 EM (effective microorganisms) 처리함으로써 토양의 질이 개선

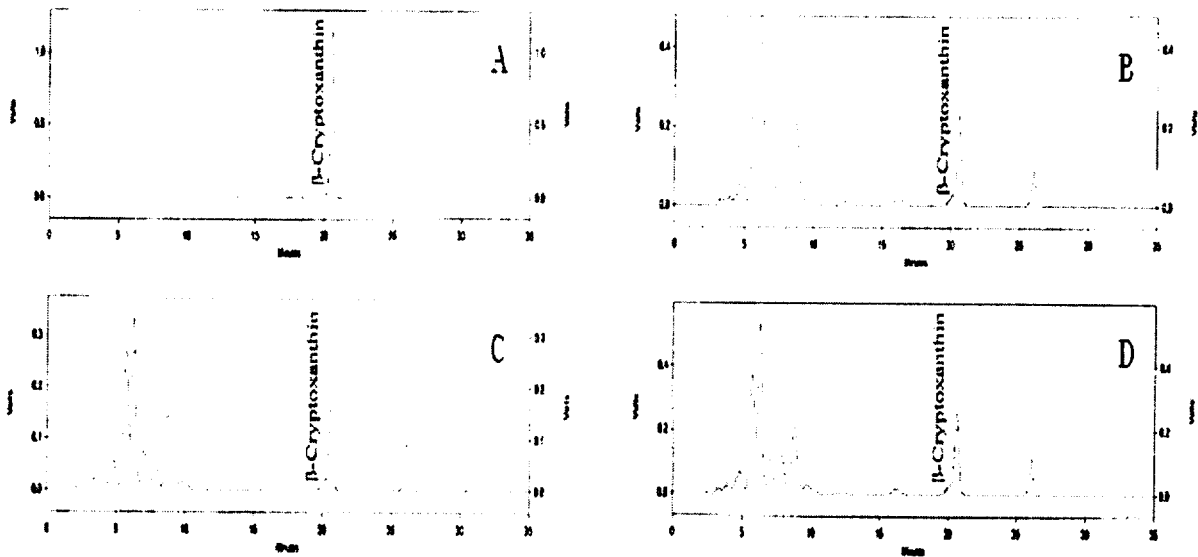


Fig. 6. HPLC chromatograms of carotenoids for fruit flesh of Satsuma mandarin cv. Yamakawa wase harvested on Oct. 14, 2005. A ; Standard of β -cryptoxanthin, B ; Control C ; BOKASHI, D ; EM BOKASHI

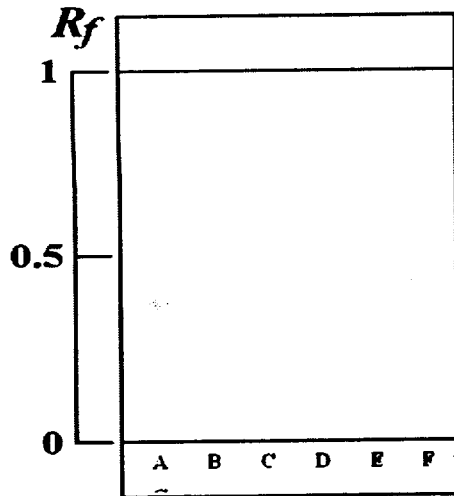


Fig. 7. TLC chromatograms of carotenoids for fruit flesh of Satsuma mandarin cv. Yamakawa wase harvested on Oct. 14 and 28 2005.

A; Standard of β -cryptoxanthin, B; Control, Oct.14, C; Control, Oct. 28., D; BOKASHI, Oct. 14, E; BOKASHI, Oct. 28, F; EM BOKASHI, Oct 14., G; EM BOKASHI, Oct. 28

TLC conditions : 1) Plate; Silica gel 60 F254 TLC (Merck), 2) Solvent system; Hexane/Acetone (75/25, v/v)

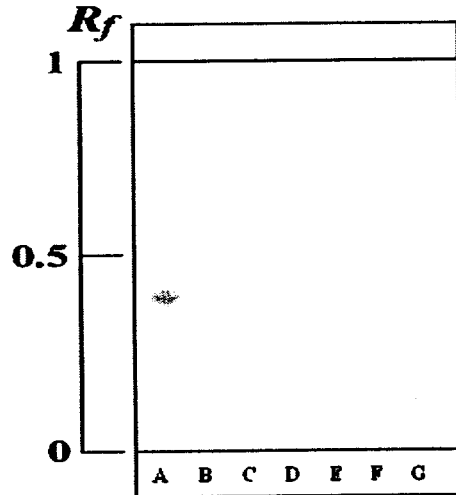


Fig. 8. TLC chromatograms of carotenoids for fruit feel of Satsuma mandarin cv. Yamakawa wase harvested on Oct. 14 and 28 2005.

A; Standard of β -cryptoxanthin, B; Control, Oct.14, C; Control, Oct. 28., D; BOKASHI, Oct. 14, E; BOKASHI, Oct. 28, F; EM BOKASHI, Oct 14., G; EM BOKASHI, Oct . 28

TLC conditions : 1) Plate; Silica gel 60 F254 TLC (Merck), 2) Solvent system; Hexane/Acetone(75/25, v/v)

되 작물의 생산성과 보호성이 촉진되므로 궁극적으로 친환경농업을 할 수가 있는 것이다. BOKASHI는 일본의 전통적인 방법으로 만들어진 발효 유기 물질이다 (Jenkins and Daly, 2005).

몇 학자들에 의해 agro-ecosystem 방법으로 EM 균을 배양시켜 토양의 개선과 작물의 품질향상을 가져왔다(Higa 와 Parr, 1994; Hussain 등, 1999). Daly와 Stewart(1999)은 양파에서 EM을 적용했으며 강낭콩과 옥수수에서 각각 29%, 31%와 23%가 증수가 되었다고 보고했다. Higa와 Wididana(1999)는 EM은 전체적인 농법을 대체하는 것이 아니고 작물생산을 위해 행해지고 있는 농법의 부가적인 수단이라 하였다.

본 실험에서 이러한 발효 유기 물질인 BOKASHI와 BOKASHI와 EM이 혼합된 2개의 발효 유기물질이 시비된 친환경과수원과 일반관행 과수원에서 생산된 과실에 대한 기능성성분인 flavonoid 및 carotenoid계 물질을 분석해 비교해

보았다. Nogata 등(2006)은 Tanaga 분류방법에 따라 감귤속의 42종, 금감속 2종과 탕자속 1종에 대해 flavonoids를 분석을 했다. 중요한 화합물은 neohesperidosyl flavonoid류로 neoeriocitrin, naringin, neohesperidin 그리고 rhoifolin이 중요한 화합물이라는 것을 밝혔다. 온주밀감의 과실생장 중에 있어 기능성 함량 분석은 김(2000)에 의해 보고한 바가 있다. 같은 극조생인 일남1호의 경우 rutin, naringin, hesperidin이 검출이 되었다. 하지만 본 실험에 사용된 산천조생에서는 hesperidin만이 검출되었는데 품종에 따른 것으로 사료된다. 그 함량을 일남1호와 비교해 보면 8월말에서 9월 초에 과피에서 25.87mg 이었는데 본 실험의 결과, EM BOKASHI 처리에서 9월에는 약 5mg으로 현저히 적었지만 10월에 그 함량이 많았다. 그리고 일남 1호는 과실성숙기 보다는 과실 생장기에 그 함량이 많았지만 본 실험의 산천조생은 오히려 과실의 성숙기 및 수확기에 많았다.

감귤류는 carotenoid류의 보고이며 과실에 그 수가 많이 보고되고 있다(Gross, 1987). Carotenoid의 농도와 그 구성성분은 과실의 발육상태에 따라 많이 변한다(Gross, 1987). 과실이 성장하는 동안 carotenoid의 양적인 축적이 일어나고 동시에 탈색이 일어난다. 만라린 품종의 하나인 온주밀감(Satsuma mandarin)은 과실이 성숙할 때 과실의 양낭(juice sacs)과 과피의 초록색 부분(flavedo)에 주로 β cryptoxantin 이 축적이 된다(Gooder 등, 2001; Ikoma 등, 2001). 함량의 변화를 과실의 성숙기와 수확기에 조사를 했다. 온주밀감 궁천조생의 과피와 과육에 대한 함량변화에 대해 Ko(2000)에 의해 보고를 한 바가 있는데 과피는 5.26 mg% 이고 과육은 0.78 mg% 였다. 본 실험의 결과를 보면, 과실수확기에 과피는 EM BOKASI 가 다른 처리보다 높은 0.68 mg%과 과육에 대해 0.54 mg%를 나타냈다. 처리간에는 유의성이 인정이 되었으며 친환경 유기질 비료 처리간 및 관행과 친환경 과수원간에 차가 있었다(Table 3). 특히 친환경 유기재배의 EM BOKASI 에 대한 과피가 궁천조생 보다 10배 정도 낮았다. 이러한 차이는 착색정도가 궁천조생보다 낮은 품종간의 차이에 의한 것으로 생각이 된다.

이상의 실험의 결과를 종합하면 친환경과수원에 있어 EM BOKASI처리가 과피의 hesperidin 및 β cryptoxantin 함량이 다른 처리 보다 높았다. 감귤 과실에서 β cryptoxantin은 강한 항암효과를 나타내었다는 보고(Dorgan 등, 1998; Nishino, 1998)가 있어 감귤 친환경 재배에 따른 기능성성분을 이용한 기능성 식품소재의 가능성 암시가 되었다.

적 요

본 연구에서는 온주밀감 산천조생의 친환경 재배에 있어 미생물 발효유기물에 따른 기능성물질인 carotenoid함량과 hesperidin함량의 변화를 관행재배의 과수원과 비교해 보았다. 친환경 과수원은 1997년 이후 농약과 화학비료를 전혀 사용하지 않으며 초생재배를 해왔다. 과실의 채취는 9월 1일, 10월 14과 28일해서 과실의 과피를 벗 끼고

착즙후 동결건조 했다. 동결건조된 시료로부터 99% 에탄올로 flavonoid를 추출하고 HPLC로 hesperidin 함량을 정량했다. Carotenoid 는 과실의 성숙기와 수확기에 과피와 과육으로부터 추출이 되었으며 HPLC로 β cryptoxantin가 분리되었다. Hesperidin 함량은 과실의 성숙기와 수확기에 과즙과 과피에서 관행과수원 보다 친환경과수원이 많았다. 또한 β cryptoxantin 함량도 과육보다 과피가 많았고 친환경 과수원에서 많았다. 이들의 결과는 친환경 과수원의 과피에 대한 hesperidin, β cryptoxantin함량이 관행 과수원보다 많음을 나타냈다. 그러므로 본 실험의 결과는 온주밀감에 있어 친환경 재배를 활용한 기능성 식품원료개발의 가능성과 감귤은 농가들에게 제 주도에 재배하기 적절한 식물이라는 것을 암시하고 있다.

사 사

이 논문은 아열대생물산업 및 친환경농업생명산업 인력양성 사업단의 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1. Ahmad, N. 1994. Efficient use of plant nutrients. In: Integrated plant nutrition system improves fertilizer use efficient (FUE), crop productivity and environment. Proceeding of the 4th National Congress on Soil Science, 24-26. May 1992, Islamabad, Pakistan, p. 28-46.
2. De Jager, A., D. Onduru, D. Van Wijk, J. Vlaming, and G.N. Gachini. 2001. Assessing sustainability of low external input farm management systems with the nutrient monitoring approach: a case study in Kenya. Agric. Syst. 69: 99-118.
3. Dorgan, J. F., C. A. Swanson, N. Potischman, R. Miller, N. Schussler, and H. E. Stephenson.

1998. Relation of serum carotenoids, retinal, alpha-tocopherol and selenium with breast cancer risk: results from a prospective study in Colombia. *Missouri U.S.A Cancer Causes Control*. 9: 89-97.
4. Emim, J. A, A. B. Oliveria, and A. J. Lapa. 1994. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 46: 118-122.
 5. Gross J. 1987. Carotenoids: Pigments in fruit. Academic Press, London.
 6. Higa, T. and G. N. Wididana. 1991. Concept and theories of effective microorganisms. In: Parr, J. F., S. B. Hornic and C. E. Whitman (Eds.), *Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming*, US Department of Agriculture, Washington, DC, USA, p. 118-124.
 7. Higa, T. and J.F. Parr. 1994. Beneficial and effective microorganisms for sustainable agriculture and environment. *International Nature Farming Research Centre*, Atami, Japan, p. 16.
 8. Higa, T. 1995. Effective microorganisms: Their role in Kyusei Nature Farming and sustainable agriculture. In: Parr, S.B. Hornick, and M.E. Simpson(ed.) *Proceedings of the Third international Conference on Kyusei Nature Farming*. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA.
 9. Ikoma Y., A. Komatsu, M. Kita, K. Ogawa, M. Omura, M. Yano, and T. Moriguchi. 2001. Expression of a phytoene synthase gene and characteristic carotenoid accumulation during citrus fruit development. *Physiol. Plant* 111: 232-238.
 10. Jenkins, T.A. and M. Daly. 2005. Solid fermented arial(BOKAHSI) as a biofertilizer for potting media using effective microorganism(EM): Researching sustainable systems. In: Kópke, U., U. Niggli, D. Neuhoff, P. Cornish, W. Lokeretz and H. Willer(ed.) *Proceedings of the 15th IFOAM Organic World Congress on Adelaide, Australia*.
 11. Kim, Y. C. 2000. Changes of flavonoid content in Cheju citrus during maturation. Thesis for the degree of master, Cheju national university.
 12. Ko, K. C., C. S. Kim, N. H. Lee, S. P. Lee, and D. K. Moon. 2000. Determination of β cryptoxanthin peel and flesh of Citrus fruits produced in Cheju island. *Food Sic. Biothechnol.* 9: 288-291.
 13. Lee, S.C, H.J. Kang, J.J. Hwang, U.G. Kim, S.H. Kang, W.T. Han, and C.G. Yu. 2000. Studies of retrenchment on chemical fertilizer in cultural area of Satsuma mandarin and vegetable. *Bull. Jeju Agr. Extra*: 272-278.
 14. Nishino, H., H. Tokuda, and M. Yano. 1998. Anti-tumor promoting effect of cryptoxanthin, a natural carotenoid. *The Fourth Joint meeting Conference of the American Association of Cancer Research and the Japanese Cancer Association, Innovative Approaches to the Prevation, Diagnosis and Therapy of Cancer*.
 15. Natioal Agriculture and Food Research Organization. 2001. Citrus. p. 57-61. Asakura Syoten. Tokyo.
 16. Nogata, Y., K. Sakamoto, H. Shiratsuchi, T. Ishii, M. Yano, and H. Ohta. 2006. Flavonoid composition of fruit tissue of citrus species. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70: 178-192.
 17. 김창명. 2002. 기상요인이 제주지방 온주밀감의 개화·과실 및 과신품질에 미치는 영향. 제주대학교대학원 박사학위논문.
 18. 김형신. 2002. 발효퇴비의 자재가 토양미생물과 친환경재배 온주밀감의 생육·품질에 미치는 영향. 제주대학교대학원 석사학위논문.
 19. 박현태, 강창용, 정은미. 1999. 친환경농산물의 유통 개선방향. p. 76-85. 한국농촌경제연구원.

