

## 감귤의 부위별 섭취가 노령흰쥐의 항산화능에 미치는 영향\*

김 지 혜<sup>§</sup> · 김 미 경

이화여자대학교 식품영양학과

### Effect of Different Part of Mandarin Intake on Antioxidative Capacity in 15-month-old Rats\*

Kim, Ji Hye<sup>§</sup> · Kim, Mi Kyung

Department of Food and Nutritional Sciences, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

#### ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of whole mandarin, peel, and pulp intake of *Citrus unshiu Marc* on the antioxidative capacity of 15-month-old rats. Forty-eight male Sprague-Dawley rats weighing  $621.9 \pm 10.1$  g were separated into four groups according to body weight. The rats were raised with diets containing 5% (w/w) dried mandarin powder for four weeks. Three powders were used, consisting of mandarin peel, pulp, and the entire fruit. Total flavonoids, antioxidant vitamins and dietary fiber was highest in the mandarin peel powder, followed by the whole mandarin powder and the mandarin pulp. The body weight gains of the whole mandarin and mandarin pulp groups were higher, while that of the mandarin peel group was lower than that of the control group. Food intake and ratios of liver, kidney and epididymal fat pad (EFP) weights to body weight were not significantly different among the groups, but ratios of EFP weights per body weight of the experimental groups tended to be lower than that of the control animals. Plasma and liver TBARS concentrations decreased in all the mandarin groups compared to the control group. Plasma and liver xanthine oxidase (XO) activity decreased in all of the mandarin diet groups. Erythrocyte and liver SOD activity in all of experimental groups was not significantly different from the control group. Plasma vitamin A concentration increased significantly in all of the mandarin diet groups. That of the mandarin peel group was 4 times higher than that of the control group. Plasma total carotenoids and vitamin C level also increased in the mandarin peel group. Plasma vitamin E level was not significantly different among the groups. (*Korean J Nutrition* 36(6) : 559~569, 2003)

**KEY WORDS** : mandarin (*Citrus unshiu Marc.*), antioxidative capacity, lipid peroxide formation, antioxidative enzyme activities.

#### 서 론

오늘날 우리나라는 의학의 발달 및 영양상태 개선 등으로 평균수명이 10년 전에 비해 5세 이상 증가하여 75.55세에 이르렀다.<sup>1)</sup> 그리고 65세 이상의 노년인구 또한 전체 인구의 7.5%로 이제 단순히 오래 사는 것만이 아니라 건강하고 행복하게 사는 것이 사람들의 주된 관심사가 되고 있다.<sup>2)</sup> 그러나 이러한 평균수명 연장과 함께 비만 및 당뇨병, 악성신생물, 뇌혈관 질환, 심장질환 등의 만성 퇴행성

질환도 증가하고 있으며 이러한 만성 퇴행성 질환들은 자유기에 의한 산화적 손상과 관련 있다는 연구들이 보고되고 있다.<sup>3)</sup>

생체 내의 정상적인 대사 과정 및 심한 운동, 노화, 중금속 오염 등의 요인에 의해 생성될 수 있는 자유기 및 활성산소종들은 DNA, 단백질, 그리고 지질에 산화적 손상을 일으키는데, 이것은 암, 노화, 그리고 심혈관계 질환 등과 밀접한 연관이 있다.<sup>4)</sup> 신체는 이러한 산화적 손상으로부터 항산화 방어체계를 구축하여 스스로를 보호하지만 항산화 체계가 약화되거나 산화적 스트레스가 가해질 때 증가되는 활성산소종에 대항하기에는 역부족 상태에 놓이게 된다.<sup>5)</sup> 그러므로 항산화 성분의 섭취나 항산화 효소 활성 증가 등으로 체내 항산화능을 증진시키는 것은 누적되는 산화적 손상에 대항하기 위해서 매우 중요하다.

감귤에 많이 함유되어 있는 polyphenols는 두 개 이상의

접수일 : 2003년 3월 19일

채택일 : 2003년 6월 16일

\*This research was supported by grants from Sungshinyanghui co. Ltd.

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

벤젠환에 수산기가 복수 결합된 화학 구조를 갖고 있는 성분의 총칭으로 flavonoids, phenolic acids, coumarins, lignans 등이 포함된다.<sup>6)</sup> Flavonoids는 일반적으로 benzo- $\gamma$ -pyrene 구조에 의해 특징지워지는 페놀성 화합물이며 4000여 종 이상의 각각 다른 flavonoids는 flavonols, flavones, flavanones, isoflavones, catechins, 그리고 anthocyanidins 등으로 분류된다.<sup>7)</sup> 현재까지 감귤류를 포함한 citrus fruit으로부터 약 60여종의 flavonoids가 분리되었으며, 새로운 생리활성 성분이 계속 발견되고 있다.<sup>8)</sup> Citrus fruits에는 rutin 및 deosmine과 같은 일반적인 flavonoids 및 hesperidin, naringin과 같은 citrus fruit 특유의 flavonoids, 그리고 채소나 과일에서는 보고되지 않는 감귤류 고유의 tangeretin, nobiletin과 같은 flavonoids가 함유되어 있다. 최근 tangeretin이 암세포의 침윤 및 전이 방지, 암세포의 apoptosis 유도 및 백혈병 세포의 분화 촉진 등의 작용을 강하게 하는 것으로 밝혀졌으며,<sup>9)</sup> 감귤류 flavonoids의 기능성에 대한 연구로서 항산화 작용, 고지혈증 억제작용, 중성지방 합성 효소인 phosphatidate phosphohydrolase 활성 억제 및 지방간 억제작용 등이 보고되고 있다. Flavonoids는 일상적으로 섭취하는 과일, 채소, 홍차 및 포도주 등에 많이 함유되어 있으며, aglycone flavonoids 양으로서 그 섭취량은 하루 5~500 mg으로 다양하다.<sup>10)</sup>

이밖에도 감귤에는 carotenoids, vitamin C 및 vitamin E가 풍부하다. Hwang, Yoon<sup>11)</sup>의 연구에 의하면 *Citrus unshiu* Marc.종 감귤의 총 carotenoids 함량은 과피는 7.0 mg%, 과육은 1.5 mg%이며, 총 carotenoids에 대한 개별 carotenoid들의 조성함량 %는 과피의 경우 violaxanthin 30%,  $\beta$ -cryptoxanthin 20%,  $\beta$ -carotene 1% 등으로 나타났다. 이러한  $\beta$ -cryptoxanthin은 암 예방에 상당한 효과가 있는데,<sup>12)</sup> 포도나 레몬, 오렌지에는 거의 포함되어 있지 않는 성분이라고 한다. Vitamin C는 감귤과육에 약 54 mg/100 g, 과피에는 약 150~200 mg/100 g 함유되어 있다고 하는데 이는 사과, 배, 복숭아, 포도에 비해 8~10배 정도 많은 양이며, 과피에는 과육에 비해 vitamin C가 4배가 더 많다고 한다. 또한 감귤에는 vitamin E도 풍부한데, 과육에 0.3 mg/100 g, 과피에는 25 mg/100 g 정도 들어 있다.<sup>13)</sup> 이러한 항산화 vitamins는 체내의 항산화 효소체계와 함께 자유기로부터 조직을 보호해주는 역할을 한다.

한편, 감귤 생산량은 2001년 현재 약 64만 톤으로 한국에서 가장 많이 생산되는 과일로서 주로 mandarin계의 온주밀감이나 생산되고 있다.<sup>14)</sup> 그러나 감귤류의 품종은 극히 다양해서 아직 검토되지 않은 성분들도 많이 남아있고 *in vivo*에서의 감귤자체 생리활성 기능에 대한 연구 또한 부족

한 실정이다.<sup>15)</sup> 또한 근래 국산 과일 음료가 개발되면서 제조과정에서 부산물로 나오는 감귤류의 껍질의 식품학적인 이용에 대하여 관심이 모아지고 있다. 제주도에서 2000년 감귤 가공물량은 약 2만 6천 톤으로, 그 중 약 7천 톤에서 9천 톤의 감귤과피가 발생되었을 것으로 추정된다.<sup>16)</sup> 이러한 감귤과피를 그대로 폐기한다면 생리활성 물질의 손실뿐 아니라 환경오염 요인이 될 수 있으므로 공해문제의 해결이라는 점과 폐자원을 활용한다는 면에서도 감귤과피의 이용은 의미가 있다.

이에 본 연구에서는 제주산 온주감귤 (*Citrus unshiu* Marc.)을 감귤전체, 감귤과피, 그리고 감귤과육을 부위별로 나누어 분말화하고 이들의 총 flavonoids 함량을 분석하였으며  $\beta$ -carotene, vitamin C, E, 그리고 식이섬유 함량을 측정하였다. 또한 생후 15개월 된 노령흰쥐에게 감귤전체 및 과피, 과육 건분을 식이무게의 5% 수준으로 섭취시켜 4주간 사육한 뒤, 혈장과 간의 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) 함량을 측정하여 산화정도를 알아보고, xanthine oxidase (XO) 및 superoxide dismutase (SOD)의 활성, 혈중 vitamin A, C, E, 그리고 총 carotenoids의 수준을 측정하여 노령흰쥐에 있어서 감귤 식이의 섭취가 체내 항산화능 증진에 어떠한 효과가 있으며, 이 항산화능의 변화가 항산화 효소 활성 증가에 의한 것인지, 혹은 체내 비효소적 항산화 물질 수준 증가에 의한 것인지 살펴보고자 하였다. 또한 감귤 부위에 따라 이러한 효과에 차이가 있는지를 비교하여 현재 대부분 폐기되고 있는 감귤과피가 만성퇴행성 질환 예방 및 기능성 신소재 식품원료로서 활용 가능성이 있는지 알아보고자 하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 감귤시료 준비

실험에 사용한 감귤은 2001년 11월에 생산된 신선한 제주산 온주감귤 (*Citrus unshiu* Marc)로서 흐르는 물에서 수세한 후 꼭지를 제거하였다. 이렇게 꼭지를 제거한 것을 전체감귤 (whole mandarin)로 하였다. 일부는 과피 (mandarin peel)와 과육 (mandarin pulp)으로 분리하여 이들 세 가지 실험재료를 총 수분 5%미만으로 동결건조하고, fitz mill (The Fitz Patrick Company, No. DAS06)로 40 mesh를 통과할 수 있도록 분말화하여 실험식이에 5% (w/w)씩 첨가하였다.

### 2. 감귤분말 시료의 항산화 물질 함량 분석

총 Flavonoids 함량은 Kang 등의 방법<sup>17,18)</sup>을 이용하여

정량하였으며, beta-carotene은 Nelis 등의 방법<sup>19,20)</sup>으로 High Performance Liquid Chromatography (HPLC : Waters 2690 Separation Module, Waters)를 사용하여 분석하였다. 분석조건은 LUNA 5u C18(2), 250 × 4.6 mm micron column, mobile phase는 acetonitrile : dichloromethane : methanol = 7 : 2 : 1 (v/v), flow rate 1.0 ml/min으로 하여 UVD (at 450 nm)로 injection volume 20 μl, Run time 40 min으로 하였다. 또한 총 vitamin C의 함량은 비색법<sup>19,21)</sup>에 의하여 측정하였으며, vitamin E는 AOAC 공인 방법<sup>19,22)</sup>으로 HPLC를 이용하여 분석하였다. 분석조건은 μ-Porasil™ 125Å, 10 μm, 3.9 × 300 mm Waters HPLC column, mobile phase는 hexane : isopropanol : acetic acid = 1000 : 5 : 5 (v/v), flow rate 0.8 ml/min으로 하여 UVD (at 295 nm)로 injection volume 20 μl, Run time 25 min으로 하여 그 결과를 α-tocopherol equivalent (α-T.E. = 1 × α-tocopherol + 0.5 × β-tocopherol + 0.1 × γ-tocopherol)로 환산하여 나타내었다. 마지막으로 식이섬유 함량은 AOAC 공인 방법인 Lee 등의 방법<sup>23)</sup>으로 정량하였다. 이때 감귤분말 시료는 당분 함량이 높으므로 85% ethanol로 2~3회 추출한 후 윗물을 가만히 따라내고 40°C drying oven (JEIO TECH FO-600M)에서 하룻밤동안 건조시킨 후 식이섬유 분석에 사용하였다. 모든 시료의 항산화 물질 함량은 부위별 감귤건분 1 g에 해당하는 값으로 나타내었다.

### 3. 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 샴타코 바이오 코리아에 의뢰하여 출생시부터 동일한 환경에서 고품배합사료 [(주)삼육동물실험연구소 : 조단백 22%이상, 조지방 4.5%이상, 조섬유 6.0%이하, 조회분 8.0%이하, Ca 0.7%이상, P 0.50%이상]로 사육한 15개월된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 48마리를 대상으로 하였다. 실험동물들은 본 동물사육실로 옮긴 후에 1주일간 동일한 고품배합사료 [(주)삼육동물실험연구소]로 적응시킨 후, 체중이 621.9 ± 10.1 g인 쥐들을 체중에 따라 난괴법 (randomized complete block design)에 의해 12마리씩 4군으로 분류하여 4주간 사육하였다.

실험동물은 한 마리씩 stainless steel cage에서 사육하였고 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였으며, 동물사육실은 온도 22 ± 1°C, 습도 45% 내외로 유지시켰으며, lighting cycle은 12시간 주기로 일정하게 하였다.

실험에 사용한 식이는 탄수화물 급원으로는 옥수수전분 (corn starch, 대상(주))을, 지방 급원으로는 옥수수유 (corn oil, 제일제당)와 대두유 (soybean oil, 제일제당)를 3 : 2

(w : w)의 비율로 섞어 실험식이의 10% (w/w) 수준으로 사용하였고, 단백질 급원으로는 casein (edible acid casein, Murry Goulburn Co-operative Co., Australia)을 식이 무게의 15% 수준으로 사용하였다. 무기질과 vitamin은 시약급을 사용하여 혼합한 것 (AIN-93M)<sup>24)</sup>을 각각 식이 무게의 3.5%와 1% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다. 감귤 전체 및 과피, 과육 건분은 식이무게의 5% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다.

식이섭취량은 일주일에 3회 일정한 시각에 측정하였고, 체중은 일주일에 1회 같은 시각에 측정하였으며, 식이 섭취에서 오는 갑작스런 체중의 변화를 막기 위하여 체중 측정 2시간 전에 식이 그릇을 빼주었다.

### 4. 혈액 및 장기의 채취

사육기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 회복한 후 10 ml 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 이때 주사기는 3.8% sodium citrate 용액 0.1 ml로 내부를 coating하여 사용하였다. 채취한 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위해 EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetate)가 들어있는 polystyrene 원심분리관에 담아 ice bath에 20분간 방치시킨 후, 원심분리기 (refrigerated multipurpose centrifuge union 55R Hanil)로 2,800 rpm, 4°C에서 30분간 원심분리하여 아래층의 적혈구와 위층의 혈장을 분리하고, 혈장은 -70°C deep freezer에 보관하였다.

적혈구는 동량의 ice cold saline을 첨가하여 원심분리기 (refrigerated multipurpose centrifuge union 55R Hanil, Hanil)로 2,800 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리하는 세척 과정을 세 차례 반복하였고, 이렇게 하여 얻어진 적혈구는 0.9% NaCl 용액과 부피비가 1 : 1이 되도록 희석하여 50% 적혈구 현탁액 (hematocrit suspension)을 만든 후 이것을 항산화 효소의 활성을 측정하기 전까지 -70°C deep freezer에 보관하였다.

간은 혈액을 채취한 후 즉시 ice bath 위에서 떼어내어 ice cold saline에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후, 무게를 정확히 측정하고 이것을 바로 -70°C deep freezer에 보관하여 과산화지질 수준과 효소활성 측정에 사용하였다. 그 외 부고환지방을 떼어서 무게를 측정하였다.

### 5. 생화학적 분석

혈장의 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 함량은 Yagi법<sup>25)</sup>으로 측정하였으며, 간의 TBARS는 Buckingham법<sup>26)</sup>을 이용하였다. 혈장과 간의 xanthine oxidase (XO) 활성도 측정은 Yoon의 방법<sup>27)</sup>으로 측정하였으

며, 적혈구와 간의 superoxide dismutase (SOD) 활성은 Flohe 등의 방법<sup>28)</sup>을 이용하였고 XO 및 SOD 효소원의 단백질 함량은 Lowry법<sup>29)</sup>에 준하여 측정하였다. 혈장 내 vitamin A와 E의 농도는 Bieri 등의 방법<sup>30)</sup>으로 HPLC를 이용하여 측정하였다. 분석조건은 LUNA 5u C18(2), 250 × 4.6 mm micron column, mobile phase는 95% methanol, flow rate 1.0 ml/min으로 하여 UVD (at 295 nm)로 injection volume 20 µl, Run time 40 min으로 하였다. 혈장 내의 총 carotenoids 농도는 Kaplan LA.의 방법<sup>31)</sup>으로 측정하였다. Vitamin C의 농도는 Bieri의 방법의 수정법<sup>32)</sup>으로 HPLC로 분석하였다. 분석조건은 Polarity™ dC18 4.6 × 150 mm, 5 µm column, mobile phase는 0.01 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>와 PICA, flow rate 0.7 ml/min으로 하여 UVD (at 254 nm)로 injection volume 20 µl, Run time 15 min으로 하였다. 혈장내 항산화 vitamins의 분석 과정은 간접조명 하에서 이루어졌다.

## 6. 통계처리

모든 실험 분석 결과는 SAS program을 이용하여 각 군의 평균과 표준오차를 계산하였고 일원배치 분산분석 (one-way analysis of variance)을 한 후  $\alpha = 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치 간의 유의성을 검정하였다.

## 실험결과 및 고찰

본 연구에서는 제주산 온주감귤 (*Citrus unshiu* Marc.)을 부위별 (전체감귤, 감귤과피, 그리고 감귤과육)로 항산화 성분들의 함량을 분석하였다. 그리고 감귤 부위별 시료의 효소적 혹은 비효소적인 항산화 효과를 알아보고자 생후 15개월 된 노령흰쥐를 1개월 간 사육한 후 혈장과 간의 과산화지질 함량, 적혈구와 간 내 항산화 효소 (SOD) 및

XO의 활성, 혈장의 vitamin A, C, E 수준 및 총 carotenoids 수준을 측정하여 감귤 시료를 먹이지 않은 대조군과 비교하였다.

### 1. 감귤시료의 항산화 성분

감귤 전체에서 과피 및 과육이 차지하는 비율, 그리고 각각의 수분함량을 통하여 계산해 보았을 때 감귤전체분말 시료 1 g에는 감귤과피가 0.38 g, 감귤과육이 0.62 g 포함되어 있다.

본 실험에서 사용한 감귤분말시료의 동결건조 수율과 각 시료 내에 함유된 총 flavonoids, 항산화 vitamins, 식이섬유의 함량 분석 결과는 duplicate한 값의 평균으로 Table 1과 같았다. 감귤분말시료의 동결 건조 후 수율은 감귤전체 감귤과피, 감귤과육이 각각 4.17%, 7.15%, 3.57%로 감귤과피의 건조 수율이 감귤전체 및 감귤과육보다 약 1.5~2배 가량 높았다. 감귤시료를 전체감귤, 감귤과피, 그리고 감귤과육의 3가지로 준비하여 각 시료의 동결건조 분말 1 g에 들어있는 총 flavonoids 함량을 살펴보면, 감귤전체가 20.12 mg/g, 감귤과피가 39.30 mg/g, 그리고 감귤과육이 9.97 mg/g으로 나타나 감귤과피 내 함유량이 감귤과육에 비해 거의 4배 가량 높았다. 즉, 감귤과피의 총 flavonoids가 가장 높았으며 감귤전체, 감귤과육 순으로 나타났다.

Citrus fruits에는 rutin 및 deosmine과 같은 일반적인 flavonoids 및 hesperidin, naringin과 같은 citrus fruit 특유의 flavonoid, 이 밖에 채소나 과일에서는 보고되지 않는 methoxylated flavonoid가 있다. Pierre 등<sup>33)</sup> 및 Baik 등<sup>34)</sup>의 연구에 의하면 본 실험에서 사용한 *Citrus unshiu* Marc의 과피에는 methoxylated flavonoid인 sinensetin, nobilletin, tangeretin이 각각 24 µg/g, 135 µg/g, 112 µg/g 함유되어 있다고 한다. 여러 연구에서<sup>35,36)</sup> methoxylated flavonoids는 암세포의 침윤 및 전이 방지 효과, 암세포의 세포사멸 유도효과 등이 강한 것으로 보고되었다.

**Table 1.** Yield of different parts of mandarins, contents of total flavonoids,  $\beta$ -carotene, vitamin C, vitamin E and total dietary fiber in mandarin powders

Constituents	Type of powder		
	Whole mandarin	Mandarin peel	Mandarin pulp
Yields (%)	4.17	7.15	3.57
Total flavonoids (mg/g powder)	20.12	39.30	9.97
$\beta$ -carotene ( $\mu$ g/g powder)	8.63	41.31	1.78
Vitamin C ( $\mu$ g/g powder)	4.02	8.55	3.85
Vitamin E ( $\alpha$ -TE mg/g powder) <sup>1)</sup>	1.95	8.98	0.27
Total dietary fibers (mg/g dry powder)	161.04	173.54	157.72
IDF (mg/g dry powder)	49.83	140.57	25.71
SDF (mg/g dry powder)	111.21	32.97	132.01

1)  $\alpha$ -Tocopherol Equivalent =  $1 \times \alpha$ -tocopherol +  $0.5 \times \beta$ -tocopherol +  $0.1 \times \gamma$ -tocopherol

본 실험의 감귤분말 시료의 항산화 vitamins의 함량을 살펴보면,  $\beta$ -carotene은 전체감귤 분말 1 g중에 8.63  $\mu$ g 이 함유되어 있었으며, 감귤과피는 41.31  $\mu$ g, 감귤과육은 1.78  $\mu$ g이 함유되어 있어서 감귤과피의  $\beta$ -carotene 함유량이 감귤과육에 비해 약 23배 정도 높은 것을 알 수 있었다. Carotenoids는 provitamin A이며 free radicals 소거, gap junction 강화, 면역체계 강화, 발암과 관련된 효소 활성 조절과 같은 생물학적 기능을 한다.<sup>17)</sup> Carotenoids의 종류에는  $\alpha$ -,  $\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin, lycopene,  $\beta$ -cryptoxanthin이 있고, 그 중  $\beta$ -cryptoxanthin은 mandarin juice에 3.9 mg/100 g이 들어 있으며 폐암, 피부암 등에 좋은 효과를 보이는데 이는 암의 발생원인 중 하나인 free radicals를 제거하는 효과가 있기 때문인 것으로 보고되었다.<sup>37)</sup> 또한 최근의 연구에서<sup>38)</sup> 제주도에서 생산되는 citrus fruits의 과피와 과육에서  $\beta$ -cryptoxanthin을 정량한 결과, 본 실험에서 쓰인 *Citrus unshiu* Marc. 종이 가장 많은  $\beta$ -cryptoxanthin을 함유하고 있었다. 특히 과피에는 다른 종 (*Citrus platyamma* Hort. ex. Tanaka, *Citrus eythrosa* Hort. ex. Tanaka)에 비하여  $\beta$ -cryptoxanthin이 5배 가량 많았으며, 과육에도 *Citrus unshiu* Marc. 종이 2배 가량 높은  $\beta$ -cryptoxanthin을 함유하고 있었다. 또한 *Citrus unshiu* Marc.의 과피와 과육을 비교했을 때, 과피는 과육의 약 7배에 달하는  $\beta$ -cryptoxanthin을 함유하고 있었다. 이러한 연구를 볼 때, 본 실험에 쓰인 감귤분말에도 상당한 양의  $\beta$ -cryptoxanthin이 함유되어 있을 것으로 사료된다.

분말시료 1 g 당 함유되어 있는 vitamin C는 감귤전체에 4.02 mg, 감귤과피에 8.55 mg, 감귤과육에 3.85 mg 으로 나타나 감귤과피가 감귤과육에 비해 약 2배 높은 것을 알 수 있었다. 또한 감귤분말시료 1 g 당 함유되어 있는 vitamin E는 감귤전체에 1.95 mg, 감귤과피에 8.98 mg, 감귤과육에 0.27 mg으로 나타나 감귤과피에 가장 많이 들어있으며 감귤과육에 비하여 약 33배 가량 높은 것을 알 수 있었다.

전체적으로 항산화 vitamins의 함량은 감귤과피 분말이 가장 높았으며, 감귤전체, 그리고 감귤과육의 순이었다.

감귤분말 시료의 식이섬유 함량은 감귤전체가 161.04 mg/g, 감귤과피가 173.54 mg/g, 감귤과육이 157.72 mg/g으로 나타나 감귤과피에 가장 많은 식이섬유가 함유되어 있었다. 한편, 감귤과피에 함유되어 있는 식이섬유의 약 81%가 불용성 식이섬유인데 반하여, 감귤과육의 경우 84% 가량이 수용성 식이섬유인 것으로 나타났다. 또한 감귤전체 분말의 경우 총 식이섬유 함량이 감귤전체 분말의 16.1%를

차지하고 있었으며, 그 중 불용성 식이섬유는 감귤전체 분말의 4.9%, 수용성의 경우는 11.1%를 차지하고 있었다. 또한 감귤과피 분말의 경우 17.3%가 총 식이섬유량이었으며, 그 중 불용성 식이섬유가 14.1%, 수용성 식이섬유가 3.3%였고, 감귤과육 분말의 경우는 총 식이섬유량이 15.8%를 차지하고 있었으며 불용성 식이섬유량이 2.6%, 수용성 식이섬유량이 13.2%였다. 이는 Eun 등<sup>39)</sup>이 분석한 감귤의 식이섬유 함량에 비하여 약간 낮은데, 그 이유는 Eun 등이 분석한 감귤은 조생종 감귤 (*Citrus aurantium* var.)로 본 실험에 사용한 감귤과 종이 다르기 때문인 것으로 생각된다.

본 실험에서는 감귤분말 시료를 가지고 항산화 성분들을 정량하였는데, 실제로 우리가 먹는 감귤 한 개에는 어느 정도의 항산화 성분들이 함유되어 있는지 살펴보기로 하겠다. 2000년 한국인 영양 권장량<sup>3)</sup>에 의하면 중간 크기의 감귤은 약 100 g 정도이고 과육부분의 수분 함량은 약 89%이며 과피가 차지하는 비율은 22% 정도라고 하였다. 또한 본 실험에서 사용한 온주감귤 과피의 수분함량은 73% 정도이다. 이러한 자료를 근거로 하여 우리가 먹는 감귤 한 개 (100 g) 당 항산화 물질 함량을 환산해 보면 polyphenols는 감귤과피에 0.50 g, 과육에 0.23 g 함유되어 있으며, flavonoids는 감귤과피에 0.24 g, 과육에 0.09 g 함유되어 있다. 또한 항산화 vitamins의 경우  $\beta$ -carotene은 감귤과피에 2.53  $\mu$ g, 과육에 0.16  $\mu$ g 함유되어 있으며, vitamin C는 감귤과피에 52.36 mg, 과육에 34.06 mg, vitamin E는 감귤과피에 54.78 mg, 감귤과육에 2.49 mg 함유되어 있다. 마지막으로 감귤과피의 총 식이섬유 함량은 10.6 mg이며, 그 중 불용성 식이섬유는 8.6 mg, 수용성 식이섬유는 2.0 mg 함유되어 있다. 그리고 감귤과육의 경우에는 총 식이섬유가 13.9 mg, 불용성 식이섬유가 2.2 mg, 수용성 식이섬유가 11.7 mg 함유되어 있는 것으로 나타났다. 이렇듯 감귤 한 개를 섭취할 때, 실제로 우리가 먹는 과육에 비하여 버리는 감귤과피에 식이섬유를 제외한 나머지 항산화 영양소들이 더 많은 양 함유되어 있는 것을 알 수 있었다.

## 2. 실험동물의 체중 및 체지방 변화

실험동물의 하루 평균 식이섭취량 및 실험기간 동안의 체중증가량은 Table 2와 같았다. 하루 평균 식이섭취량은 대조군과 모든 실험식이 군들에서 유의적인 차이가 없었으나, 체중변화의 경우에는 감귤전체군과 감귤과육군이 대조군에 비하여 증가한데 비해 감귤과피군은 감소 경향을 나타내었다. 그러나 Table 3에서 볼 수 있듯이 단위 체중 당 간과 신장의 무게는 유의적인 차이가 없었으며, 단위 체중 당 부고환 지방 무게 역시 유의적이지 않으나 세 가지 감귤분말 시

**Table 2.** Food intake and body weight gain in Sprague-Dawley rats fed diets containing different parts of mandarins<sup>1)</sup>

Groups <sup>2)</sup>	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/4 weeks)
C	24.03 ± 1.16 <sup>N53)</sup>	6.44 ± 9.51 <sup>bc4)</sup>
WM	26.48 ± 1.63	16.38 ± 5.57 <sup>ab</sup>
MPE	24.32 ± 0.95	- 4.84 ± 5.17 <sup>c</sup>
MPU	24.27 ± 1.20	24.16 ± 3.63 <sup>a</sup>

1) Mean ± standard error (n=12)  
 2) C: Control diet (Mandarin free diet)  
 WM: Experimental diet containing 5% whole mandarin powder  
 MPE: Experimental diet containing 5% mandarin peel powder  
 MPU: Experimental diet containing 5% mandarin pulp powder  
 3) Not significant at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test  
 4) Values with different alphabet within the column are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test

**Table 3.** Ratio of liver, kidney and epididymal fat pad weights to body weight in Sprague-Dawley rats fed diets containing different parts of mandarins<sup>1)</sup> (mg/g)

Groups <sup>2)</sup>	Liver	Kidney	Epididymal fat pad
C	26.58 ± 0.10 <sup>N53)</sup>	3.42 ± 0.14 <sup>N5</sup>	19.05 ± 1.44 <sup>N53)</sup>
WM	25.55 ± 0.55	3.31 ± 0.09	16.24 ± 0.88
MPE	25.98 ± 0.92	3.43 ± 0.27	15.14 ± 1.19
MPU	25.00 ± 0.44	3.16 ± 0.09	18.49 ± 1.88

1) Mean ± standard error (n=12)  
 2) See table 2  
 3) Not significant at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test

료를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 낮은 경향을 나타내었다. 감귤과피군의 체중 감소 경향은 다른 연구<sup>40)</sup>에서도 볼 수 있었는데, 감귤과피 섭취시 체지방량이 감소하고 콜레스테롤 합성 및 혈 중 중성지방이 감소하는 등, 감귤과피 섭취가 체중감량에 긍정적인 영향을 미치며 이러한 체중감량 효과는 감귤과피 내의 polyphenols, flavonoids, 식이섬유 등의 영향인 것으로 보고되었다. 이러한 연구결과는 본 실험에서 사용된 감귤분말 시료 중 감귤과피에 들어있는 flavonoids, 식이섬유 함량이 대조군 및 다른 실험군들에 비해 많은 양 함유되어 있었던 것과 관련있는 것으로 보인다. 그리고 감귤 부위별 식이의 총 Kcal 섭취량이 달라 체중에 변화가 있을 가능성도 존재한다. 또한 Colker 등<sup>41,42)</sup>의 연구에서 감귤과피 내에 함유되어 있는 alkaloids 계통의 synephrine은 교감신경을 간접적으로 흥분시키는 작용이 있어 대사 촉진제로써의 역할을 하여 체지방 감소에 효과가 있다고 보고하였다.

**3. 노령흰쥐의 항산화능에 미치는 영향**

세포와 조직은 정상적인 대사과정이나 외인성의 요인에 의해 유도된 자유기와 활성산소종에 의하여 끊임없이 위협 받는다.<sup>7,43)</sup> 또한 세포막 지질의 peroxidation은 세포막의 손

**Table 4.** Plasma and liver thiobarbituric acid reactive substances level in Sprague-Dawley rats fed diets containing different parts of mandarins<sup>1)</sup>

Groups <sup>2)</sup>	Plasma (nmol/dl)	Liver (nmol/g)
C	403.03 ± 17.0 <sup>7a3)</sup>	6.05 ± 0.18 <sup>a</sup>
WM	275.04 ± 10.22 <sup>b</sup>	5.36 ± 0.15 <sup>ab</sup>
MPE	233.31 ± 18.52 <sup>b</sup>	5.06 ± 0.32 <sup>b</sup>
MPU	375.79 ± 31.14 <sup>a</sup>	5.52 ± 0.28 <sup>ab</sup>

1) Mean ± standard error (n=12)  
 2) See table 2  
 3) Values with different alphabet within the column are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test

상을 가져오고, 이러한 세포막의 손상은 세포의 net charge 변화와 삼투압 변화를 야기하여 결국 세포가 죽게된다. 이러한 정상적 대사과정에서 생성되는 활성산소종 외에 허혈이나 재관류 등과 같은 산화적 스트레스가 가해지면 보통의 생리적 상태 하에 존재하는 xanthine dehydrogenase (XD)는 xanthine oxidase (XO)로 바뀌는데<sup>44)</sup> xanthine oxidase는 purine (xanthine과 hypoxanthine), pteridines, heterocyclic molecules, 그리고 aldehydes의 산화를 촉진시키는 효소이다.<sup>45)</sup> 인체 내에서 xanthine oxidase는 산화적 스트레스 시 superoxide radicals ( $O_2^-$ )와 hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )를 생성하는 반응에 관여한다. 이러한 활성산소종이나 자유기로부터 생명체는 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase와 같은 항산화 효소를 포함하는 효소적 방어체계 뿐 아니라, glutathione, ascorbic acids,  $\alpha$ -tocopherol, flavonoids 등과 같은 비효소적 물질들에 의하여 보호된다.<sup>46)</sup>

그러나 이러한 방어체계가 완벽하게 작동하여 생성되는 모든 활성산소종을 제거할 수는 없다. 자유기와 활성산소종은 생체 내에서 끊임없이 만들어지며, 산화적 손상을 일으킨다. 그리하여 세포막 지질은 과도하게 산화되고 나이를 먹음에 따라 신진대사가 점차 쇠퇴하기 때문에 이러한 과산화지질의 대사가 일어나지 못하고 축적된다.<sup>3)</sup> 이러한 노화에 따른 산화적 손상의 결과물이라 할 수 있는 혈장과 간의 TBARS 함량을 측정 한 결과는 Table 4와 같았다. 혈장의 TBARS 함량은 감귤전체와 감귤과피분말을 섭취한 군이 대조군에 비하여 유의적으로 낮았으며, 감귤과피군의 TBARS 함량이 가장 낮게 나타났다. 그러나 감귤과육군은 대조군에 비하여 유의적 차이는 없었다. 간의 TBARS 함량은 감귤시료를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 낮은 경향을 보였으며, 그 중 감귤과피군이 나머지 군들에 비하여 유의적으로 낮게 나타났다. 그 결과 혈장과 간의 TBARS 함량은 감귤시료를 섭취한 군이 대조군에 비하여 낮은 경향을 보였고, 간에서는 감귤과피군이 대조군에 비하여 유의적으로

**Table 5.** Plasma and liver xanthine oxidase activity in Sprague-Dawley rats fed diets containing different parts of mandarins<sup>1)</sup>

Groups <sup>2)</sup>	Liver	
	Plasma (umol/min/L plasma) <sup>5)</sup>	(nmol/min/mg protein) <sup>6)</sup>
C	11.16 ± 0.28 <sup>N53)</sup>	15.39 ± 2.88 <sup>64)</sup>
WM	10.69 ± 0.63	8.31 ± 1.71 <sup>b)</sup>
MPE	9.66 ± 0.62	7.72 ± 1.54 <sup>b)</sup>
MPU	10.76 ± 0.68	9.80 ± 1.80 <sup>6b)</sup>

- 1) Mean ± standard error (n = 12)
- 2) See table 2
- 3) Not significant at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test
- 4) Values with different alphabet within the column are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test
- 5) Plasma xanthine oxidase activities are expressed as umol of uric acid formed per minute per liter of plasma
- 6) Liver xanthine oxidase activities are expressed as nmol of uric acid formed per minute per mg of protein

낮게 나타났다.

XO는 superoxide radicals 및 hydrogen peroxide를 생성하는 효소이며 노화 및 여러 질병 등에 의한 산화적 스트레스로 활성화된다. 이러한 XO의 활성을 혈장과 간에서 분석해 본 결과, Table 5에서 볼 수 있듯이 혈장에서의 XO 활성은 각 군간에 유의적인 차이가 없었으나 감귤과피군이 가장 낮은 경향을 나타내었으며, 간에서의 XO 활성은 감귤 전체 섭취군과 감귤과피 섭취군이 대조군에 비하여 유의적으로 낮은 활성을 보였다. 즉, 감귤과피군의 낮은 XO 활성으로 인해 superoxide radicals 및 hydrogen peroxides가 다른 군에 비해 적게 생성되어 산화적 손상을 덜 받은 것으로 사료된다.

Flavonoids는 그 자체가 XO의 reactive site에 붙어 XO의 활성을 억제하며<sup>47)</sup> flavonoids의 5-hydroxyl 또는 7-hydroxyl group이 xanthine oxidase의 활성을 억제함으로써 O<sub>2</sub><sup>·-</sup>와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 생성을 감소시킨다고 한다.<sup>48)</sup> Costantino 등<sup>47)</sup>에 의하면 flavonoids의 섭취가 XO의 활성을 낮추며, 그 중 apigenin이 XO의 활성을 효과적으로 낮춘다고 보고하였으며, 또한 quercetin과 myricetin이 XO의 활성을 억제하는 것으로 보고하였다.<sup>49)</sup> 그러므로 감귤 내의 flavonoids가 XO의 활성을 낮춘 것으로 보이며, 본 실험에서 나타난 것처럼 감귤의 다른 부위에 비해 과피 내에 많은 양의 flavonoids가 함유되어 있어 XO의 활성을 가장 많이 낮춘 것으로 보인다.

항산화 효소 중 SOD는 동물의 거의 모든 조직에 분포되어 있으며 특히 간 조직에 가장 많이 존재한다.<sup>50)</sup> 또한 SOD는 산화적 스트레스로부터 세포나 호기성 유기체를 보호하기 위하여 free radicals 생성 과정의 초기단계에서 superoxide anion radical (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>)을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시키며, 이렇게 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 대부분의 조직, 특히 간과 적혈구에 많이 존

**Table 6.** Erythrocyte and liver superoxide dismutase activity in Sprague-Dawley rats fed diets containing different parts of mandarins<sup>1,4)</sup> (unit/min/mg protein)

Groups <sup>2)</sup>	Liver	
	Erythrocyte	(unit/min/mg protein)
C	16.99 ± 0.78 <sup>N53)</sup>	24.94 ± 0.87 <sup>N5)</sup>
WM	16.11 ± 1.66	23.28 ± 0.73
MPE	15.80 ± 1.02	22.84 ± 0.44
MPU	17.14 ± 1.26	24.16 ± 0.32

- 1) Mean ± standard error (n = 12)
- 2) See table 2
- 3) Not significant at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test
- 4) SOD activities are expressed as units per minute per mg protein (One unit inhibits cytochrome c reduction rate by 50% in a coupled system with xanthine oxidase at pH 7.8 and 25°C in a 3.0 ml reaction volume)

재하는 catalase가 산소와 물로 분해시킨다.<sup>51)</sup> 본 연구에서는 적혈구 및 간에서의 SOD 활성을 분석한 결과는 Table 6과 같았다. 즉, SOD 활성이 각 군간에 유의적인 차이가 없었으나 감귤과피군의 SOD 활성이 감귤과육 및 대조군에 비하여 다소 낮았다. Kellogg와 Fridovich의 보고<sup>52)</sup>에서는 Sprague-Dawley 중 흰쥐에서 간의 SOD 활성은 나이에 따른 변화가 없었으며, 적혈구 SOD 활성도 노화함에 따라 변화가 없다는 보고도 있고 감소한다는 보고도 있다. 또한 본 연구실에서 행해진 실험들<sup>53-55)</sup>에 의하면 카드뮴 투여 같은 커다란 산화적 스트레스를 주지 않는 한 SOD 활성은 크게 변하지 않는 것으로 보인다. Chen 등<sup>56)</sup>의 연구에서 flavonoids 종류에 따른 superoxide anion의 소거능을 살펴 보았는데, naringin은 그 소거능이 quercetin과 비슷하였으나 hesperidin은 superoxide anion을 소거하지 못하였다. 또한 Kim 등<sup>55)</sup>의 연구에서 SOD 활성을 측정할 결과, 감귤에서 추출한 hesperidin 및 시판되는 hesperidin을 공급한 군들이 대조군 및 naringin을 공급한 군들에 비하여 유의적이진 않았지만 낮은 SOD 활성을 나타내었다. 그런데 본 실험에서 사용한 감귤 (*Citrus unshiu* Marc.)의 과피에는 hesperidin의 함유량이 다른 종들의 감귤과피에 비해 높으며, naringin은 검출되지 않았다고 한다.<sup>15,57)</sup> 또한 Karl과 Kjersti 등<sup>58)</sup>은 감귤과피 내 총 flavonoids의 90%가 hesperidin이라고 보고하였다. 이것으로 보아 본 실험에서 쓰인 감귤과피의 주요 flavonoid는 hesperidin이며, 감귤과육에 비해 상대적으로 naringin 함량이 적으므로 SOD 활성이 감귤과피 섭취군에서 상대적으로 낮게 나타난 것으로 보인다. 또한 감귤과피군에서 혈장의 XO 활성과 함께 적혈구의 SOD 활성이 낮았는데 혈장에서 XO의 활성이 낮아 superoxide radicals를 덜 생성하게 되고 이렇게 되면 SOD가 소거해야 할 superoxide radicals가 적으므로 SOD의 활성이 낮은 것이라 생각된다. 그리고 감귤과피에 다량 들어있

**Table 7.** Plasma vitamin A, C, E and total carotenoids level in Sprague-Dawley rats fed diets containing different parts of mandarins<sup>11</sup>

Groups <sup>2)</sup>	Vitamin A ( $\mu\text{g/dl}$ )	Vitamin C ( $\mu\text{g/dl}$ )	Vitamin E ( $\mu\text{g/ml}$ )	Total carotenoids ( $\mu\text{g/dl}$ )
C	87.33 $\pm$ 7.78 <sup>c3)</sup>	109.03 $\pm$ 3.31 <sup>b3)</sup>	4.52 $\pm$ 0.15 <sup>N.S4)</sup>	2.26 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>
WM	190.05 $\pm$ 20.03 <sup>b</sup>	186.31 $\pm$ 9.84 <sup>a</sup>	5.31 $\pm$ 0.36	7.18 $\pm$ 0.92 <sup>ab</sup>
MPE	361.36 $\pm$ 35.35 <sup>a</sup>	203.81 $\pm$ 19.64 <sup>a</sup>	6.63 $\pm$ 0.53	12.90 $\pm$ 4.90 <sup>b</sup>
MPU	166.13 $\pm$ 22.77 <sup>b</sup>	168.01 $\pm$ 15.96 <sup>a</sup>	4.79 $\pm$ 0.32	4.08 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>

1) Mean  $\pm$  standard error (n=12)

2) See table 2

3) Values with different alphabet within the column are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test4) Not significant at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test

는 hesperidin 등의 flavonoids가 이러한 XO의 활성을 억제함으로써  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 생성을 저하시켜 혈장 내의 과산화지질 함량을 감소시킨 것으로 보인다. 이것으로 보아 본 실험에서 SOD의 활성은 혈장과 간의 과산화 지질 함량에 별다른 영향을 주지 않은 것으로 보인다. 그렇다면 이러한 항산화 효소 외에 체내 비효소적 항산화물은 노령흰쥐의 항산화능에 어떠한 영향을 주었는지 알아보도록 하겠다.

Vitamin A, C, E, 그리고 carotenoids 또한 위에서 언급한 flavonoids와 같이 비효소적 항산화제로 작용한다. Vitamin A는 singlet oxygen이나 free radical을 포착함으로써 지질산화의 개시단계를 방해하고,<sup>59)</sup>  $\beta$ -carotene 및  $\beta$ -cryptoxanthin 등을 포함하는 carotenoids는 free radicals를 환원시키며, beta-cryptoxanthin은 *in vitro*에서  $\beta$ -carotene 및  $\alpha$ -tocopherol보다 더 강한 항산화력을 나타내었다.<sup>60)</sup> 또한 vitamin E는 free radicals의 공격으로부터 세포막 지질의 불포화 지방산을 직접 보호해 주는 방어제로 작용한다고 알려져 있고<sup>61)</sup> vitamin C는 수용성 상태에서 전자를 내어줌으로써 지질 과산화의 연쇄반응을 차단하며,  $\alpha$ -tocopherol과  $\beta$ -carotene과 같은 지용성 항산화제의 재생을 돕는다고 알려져 있다.<sup>62)</sup>

혈장 내의 vitamin A, C, E 및 총 carotenoids 수준을 분석한 결과를 보면 Table 7과 같았다. Vitamin A의 경우 감귤시료를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 유의적으로 높은 수준을 나타내었는데, 그 중에서도 감귤과피군의 경우 대조군에 비하여 4배 이상 높은 수준을 나타내었다.

이와 마찬가지로 혈장 내의 총 carotenoids 수준 또한 감귤과피분말 섭취군이 대조군과 감귤과육 섭취군에 비하여 유의적으로 높았는데, 하루 평균 식이섭취량을 기준으로 계산한  $\beta$ -carotene의 하루 평균 섭취량은 감귤전체군이 약 10.36  $\mu\text{g}$ , 감귤과피군은 49.57  $\mu\text{g}$ , 감귤과육군은 2.14  $\mu\text{g}$ 의  $\beta$ -carotene을 섭취하였다. 그 결과, 혈장 내 총 carotenoids 수준은 감귤전체군이 대조군에 비하여 3.18배 증가하였으며 감귤과피군은 5.71배, 감귤과육군은 1.81배 증가하였다. 한편, 대조군은  $\beta$ -carotene 형태로 식이를 섭

취하지 않았으므로 총 carotenoids 수준 증가는 감귤 분말에 함유되어 있는  $\beta$ -carotene의 영향인 것으로 사료된다. 또한 감귤과피군의 혈중 vitamin A의 증가는 감귤과피군의 혈중 carotenoids 수준이 높았던 것과 연관시킬 수 있다. 즉, 감귤과피군의 혈중에 많은  $\beta$ -carotene이 retinol로 많이 전환되어 혈중 vitamin A 수준이 증가된 것이라고 생각된다.

혈장 내의 vitamin C의 경우, 실험군들이 모두 대조군에 비하여 유의적으로 높았으며 실험군들 중 감귤과피분말 섭취군의 혈장 내 vitamin C 수준이 가장 높은 경향을 보여 주었다. 쥐는 체내에서 vitamin C가 합성되므로 식이에 공급해 주지 않았으며, 하루 평균 식이섭취량을 기준으로 감귤전체군은 vitamin C를 하루 평균 4.82 mg 섭취하였고, 감귤과피군은 10.26 mg, 그리고 감귤과육군은 4.62 mg 섭취하였다. 그 결과, 혈중 vitamin C 수준은 대조군에 비하여 감귤전체군이 1.71배 증가하였으며, 감귤과피군은 1.87배, 그리고 감귤과육군은 1.54배 증가하였다. Vitamin C 섭취량의 차이가 비교적 컸음에도 불구하고 혈중 수준은 큰 차이를 보이지 않은 것은 vitamin C가 수용성이어서 과잉으로 섭취된 것은 소변으로 배출되었기 때문일 것이다.

혈장 내의 vitamin E 수준은 모든 군간에 유의적 차이가 없었으나 감귤과피군이 가장 높은 수치를 나타내었는데, 하루 평균 식이섭취량을 기준으로 계산하면 대조군은 하루 평균 0.19 mg의 vitamin E를 섭취하였으며, 감귤전체군은 대조군에 비하여 2.34 mg 만큼 더 섭취하였고, 감귤과피군은 10.78 mg을, 감귤과육군은 0.27 mg을 더 섭취하였다. 그 결과, 혈중 vitamin E 수준은 감귤전체군은 대조군에 비하여 1.17배 증가하였고, 감귤과피군은 1.47배, 그리고 감귤과육군은 1.06배 증가하였다. 이렇게 대조군에 비하여 vitamin E를 더 많이 섭취하였음에도 혈중 수준이 많이 증가하지 않은 것은 과잉의 vitamin E가 간에만 저장되는 것이 아니라 세포막 등도 구성하므로 저장되는 pool이 다른 지용성 vitamin에 비해 크기 때문인 것으로 사료된다. Heidi 등<sup>63)</sup>이 사람의 혈장 내 vitamin C 및  $\beta$ -carotene의



수준을 측정한 결과, 산화적 스트레스를 받은 사람들이 정상인에 비하여 vitamin C 및  $\beta$ -carotene 수준이 유의적으로 낮았으며, LDL의 malonaldehyde 수준은 유의적으로 증가하였다. 그리고 혈장 내 vitamin C의 농도가 높을수록 혈중 과산화지질 생성은 억제되는 것으로 보고하였다.

즉, 본 실험에서 혈장 및 간의 TBARS 함량은 감귤씨를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 유의적으로 낮았으며, 혈장에서의 XO 활성은 감귤씨를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 유의적이진 않았지만 낮은 경향을 보였고, 간에서의 XO 활성은 감귤전체 및 감귤과피분말을 섭취한 군들이 대조군에 비하여 유의적으로 낮았다. 반면에 적혈구 및 간의 SOD 활성은 감귤씨를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 낮은 경향을 보였다. 또한 혈중 vitamin A, C, E 및 총 carotenoids 수준은 감귤씨를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 높았으며, 특히 감귤과피군은 혈 중 vitamin A, C 및 총 carotenoids 수준에서 대조군에 비하여 유의적으로 높았다. 이러한 결과로 볼 때, SOD의 활성보다는 감귤씨의 flavonoids 및 혈중 vitamin A, C, E 및 carotenoids가 XO의 활성을 낮추어 superoxide radicals 와 hydrogen peroxides를 다른 군에 비해 적게 생성시켜 혈장과 간의 TBARS 함량을 낮춘 것으로 생각된다. 이와 동시에 감귤씨의 flavonoids 및 혈중 vitamins가 생성된 radicals를 비효소적으로 소거시키므로써 전체적인 항산화능을 높인 것으로 보인다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 제주산 온주감귤 (*Citrus unshiu* Marc.)을 감귤전체, 감귤과피, 그리고 감귤과육을 분말화하여 항산화 물질의 함량을 살펴보고, 생후 15개월령의 노령흰쥐에게 이들을 섭취시켰을 때 감귤의 부위별 식이 섭취가 체내 항산화능 증진에 어떠한 효과가 있으며, 이 항산화능의 변화가 항산화 효소 활성 증가에 의한 것인지, 혹은 체내 비효소적 항산화 물질 수준 증가에 의한 것인지 알아보았다.

1) 감귤의 항산화 물질로 알려진 총 flavonoids 함량 및  $\beta$ -carotene, vitamin C, vitamin E, 그리고 식이섬유 함량을 측정된 결과, 이들 성분 모두 감귤과피분말에 가장 많이 함유되어 있었으며 감귤전체, 감귤과육 순으로 나타났다.

2) 하루 평균 식이섭취량은 대조군과 모든 실험식이군들에서 유의적인 차이가 없었으나, 체중변화의 경우에는 감귤전체군과 감귤과육군이 대조군에 비하여 증가한데 비해 감귤과피군은 감소 경향을 나타내었다. 단위 체중 당 간과 신

장의 무게는 유의적인 차이가 없었으며, 단위 체중 당 부고환 지방 무게는 유의적은 아니나 세 가지 감귤분말 시료를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 낮은 경향을 나타내었다.

3) 혈장과 간의 TBARS 함량은 감귤씨를 섭취한 군이 대조군에 비하여 낮은 경향을 보였고, 간에서는 감귤과피군이 대조군에 비하여 유의적으로 낮았다.

4) 혈장 내 XO의 활성은 각 군간에 유의적인 차이가 없었으나 감귤과피군이 가장 낮은 경향을 나타내었으며, 간에서의 XO 활성은 감귤전체 섭취군과 감귤과피 섭취군이 대조군에 비하여 유의적으로 낮았다. 그리고 적혈구 및 간에서의 SOD 활성은 각 군간에 유의적인 차이가 없었으나 감귤과피군의 SOD 활성이 감귤과육 및 대조군에 비하여 다소 낮았다.

5) 혈장 내의 vitamin A, C, E 및 총 carotenoids 수준을 분석한 결과를 보면, vitamin A의 경우 감귤씨를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 유의적으로 높은 수준을 나타내었는데, 그 중에서도 감귤과피군의 경우 대조군에 비하여 4배 이상 높은 수준을 나타내었다. 이와 마찬가지로 혈장 내의 총 carotenoids 수준 또한 감귤과피분말 섭취군이 대조군과 감귤과육 섭취군에 비하여 유의적으로 높았으며, 혈장 내의 vitamin C의 경우 실험군들이 모두 대조군에 비하여 유의적으로 높았고 실험군들 중에는 감귤과피분말 섭취군이 가장 높았다. 혈장 내의 vitamin E 수준은 모든 군간에 유의적 차이가 없었으나 감귤과피군이 가장 높은 수치를 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 보면 감귤전체, 감귤과피, 감귤과육의 세 가지 감귤시료 중에서 flavonoids, 항산화 vitamins, 그리고 식이섬유 함량 모두 감귤과피분말이 가장 높게 나타났다. 다음으로 감귤전체, 감귤과육 순이었다. 세 가지 감귤분말 식이를 섭취시켰을 경우 혈장과 간 내 지질 과산화는 현저히 억제된 반면, 적혈구 및 간 내의 XO 활성은 낮았으며, SOD 활성도 낮은 경향을 보였다. 또한 혈 중 vitamin A, C, E 및 총 carotenoids 수준은 감귤씨를 섭취한 군들이 대조군에 비하여 높았다. 이렇듯 혈장과 간 내 지질 과산화가 억제된 것은 항산화 효소의 작용에 의해서라기 보다는 vitamin A, C, E, 그리고 carotenoids 같은 비효소적 항산화물질의 체내 수준 증가로 인한 것임을 알 수 있었다. 또한 감귤시료 중 감귤과피분말이 항산화능 증진에 가장 큰 효과를 보였으며, 체중 감소 효과도 나타났다. 따라서 감귤은 활성산소종 등 자유기에 의해 발생하는 여러 만성질환 발병을 지연시키고 나아가서는 예방하는데 효과적일 것으로 기대되며, 특히 감귤과피는 항산화 기능성 신소재 식품원료로서의 활용 가능성이 높을 것으로 전망된다.

## Literature cited

- 1) National Statistical Office. Life table, 1999
- 2) National Statistical Office. The estimation of future population, 2001
- 3) Kim KB, Lee BM. Oxidative stress to DNA, protein, and antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) in rats treated with benzo[*a*] pyrene. *Cancer Lett* 113: 205-212, 1997
- 4) Ames BN. Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer. *Free Radical Res Commun* 7: 121-128, 1989
- 5) Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radical Biol Med* 8: 583-599, 1990
- 6) Laura B. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11): 317-333, 1998
- 7) Catherine F, Odile T, Christine M, Claudine M, Augustin S, Françoise R, Christian R. Bioavailability of the flavanone naringenin and its glycosides in rats. *Am J Clin Nutr* 279: G1148-G1154, 2000
- 8) Mouly PPM, Arzouyan CG, Gaydou EM, Estienne JM. Differentiation of Citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. *J Agric Food Chem* 42: 70-79, 1994
- 9) Cha JY, Kim SY, Jeong SJ, Cho YS. Effects of hesperetin and naringenin on lipid concentration in orotic acid treated mice. *Kor J Life Science* 9: 389-394, 1999
- 10) Hertog MGL, Reske, EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342: 1007-1011, 1993
- 11) Yoon KR, Hwang HJ. Carotenoid pigment of Citrus fruits cultivated in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 27(6): 950-957, 1995
- 12) Crystal NH, Dominique SM, Rachael SS, Susan TM, Pirjo P, Philip RT, Jarmo V, Demetrius A. Dietary carotenoids, serum  $\beta$ -carotene, and retinol and risk of lung cancer in the  $\alpha$ -tocopherol, beta-carotene cohort study. *Am J Epidemiol* 156(6): 536-547, 2002
- 13) The Korean Nutrition Society, Recommended dietary allowances for Koreans. 7th Revision, pp.316-317, 2000
- 14) Ministry of Agriculture and Forestry. Annual products of fruits, 2002
- 15) Jeong TS, Choi MS, Park YB, Bok SH. Cholesterol-lowering or antiatherogenic effects of citrus bioflavonoids and their mechanisms. *Food Indus & Nutr* 5(2): 21-26, 2000
- 16) Cheju mandarina marketing organization. Analysis of circulation and handling of mandarin, 2000
- 17) Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD. Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3): 367-373, 1996
- 18) Kang YH, Moon KD, Park YK, Ha TY. Effects of pine needle extracts on enzyme activities of serum and liver, and liver morphology in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3): 374-378, 1996
- 19) The industrial dictionary of foods. Department of health and welfare. Republic of Korea, 1997
- 20) Nelis HJ, De Leenheer AP. Isocratic nonaqueous reversed-phase liquid chromatography of carotenoids. *Anal Chem* 55: 270-275, 1983
- 21) The Guide to Hygienic Experimental Method. Japan Drug Association Kumwon Press, Japan, 1995
- 22) Official methods of analysis. 16th Ed. AOAC international USA, 1995
- 23) Lee SC, Prosky L, DeVries JW. Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in food-enzymatic gravimetric method. MES-TRIS buffer: Collaborative study. *J Assoc off Anal Chem* 75: 395-416, 1992
- 24) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute Nutrition Ad Hoc Weighting Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951, 1993
- 25) Yagi K. Assay for blood plasma or serum. In: *method in enzymology* academic press Inc. NY 105: 328-331, 1984
- 26) Buckingham KW. Effect of dietary polysaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115: 1425-1435, 1985
- 27) Yoon CG. A modified colorimetric assay for xanthine oxidase in rat liver extracts. *Keimyung Research Journal* (Keimyung Junior College) 2: 295-308, 1984
- 28) Flohe L, Becker R, Brigelius R, Lengfelder E, Ötting F. Convenient Assays for superoxide dismutase. *CRC Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine* 287-293, 1992
- 29) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
- 30) Bieri G, Tolliver JJ, Catignani GL. Simultaneous determination of  $\alpha$ -tocopherol and retinol in plasma or red cells by high pressure liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* 32: 2143-2149
- 31) Kaplan LA. Carotenes. In: *Methods in clinical chemistry* (Pesce AJ, Kaplan LA, eds. ), The C.V. Mosby Company, St Louispp, pp.513-519, 1987
- 32) Sim JE. Seoul National Univ, Graduate Sch. Master's thesis, 1996
- 33) Pierre M, Emile MG, Alain A. Simultaneous separation of flavanone glycosides and polymethoxylated flavones in citrus juices using liquid chromatography. *J Chromatography A* 800: 171-179, 1998
- 34) Baik SO, Bock JY, Chun HJ, Han SI, Kim IK. Quantitative distribution and analysis of methoxylated flavonoids in citrus and Korean Chung-pi. *Anal Sci & Technol* 14(4): 331-339, 2001
- 35) Kohno H, Yoshitani S, Tsukio Y, Murakami A, Koshimizu K, Tano M, Tokuda H, Nishino H, Ohigashi H, Tanaka T. Dietary administration of citrus nobiletin inhibits azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Life Sci* 69: 901-913, 2001
- 36) Kunizane H, Ueda H, Yamazaki M. Screening of phagocyte activities in plant: enhancement of TNF production by flavonoids. *Yakugaku Zasshi* 115: 749-755, 1995
- 37) Gerald F. Combs Jr. The vitamins. In: *Vitamin A* (D.S. McLaren), Academic Press, p.138, 1998
- 38) Ko KC, Kim CS, Lee NH, Lee SP, Moon DK. Determination of  $\beta$ -cryptoxanthin in peel and flesh of citrus fruits produced in Cheju island. *Food Sci Biotechnol* 9(5): 288-291, 2000
- 39) Eun JB, Jung YM, Woo GJ. Identification and determination of

- dietary fibers and flavonoids in pulp and peel of Korean tangerine (*Citrus aurantium* var.). *Kor J Food Sci Technol* 28(2) : 371-377, 1996
- 40) Choi JH, Lee KM, Kim HJ, Kim SH, Kim HS, Ro JS, Oh KW, Lee KS. The effects of dried orange peel compound intaking and exercise training on the physique, body fat, and concentration of blood lipid in obese women. *Kor J Pharmacogn* 33(1) : 57-63, 2002
- 41) Carlon MC, Douglas SK, Georgeann CT, Theresa P, Chris S. Effects of Citrus aurantium extract, caffeine, and St. John's wort on body fat loss, lipid levels, and mood states in overweight healthy adults. *Current Therapeutic Research* 60(3) : 145-153, 1999
- 42) Douglas SK, Carlon MC, Qivhu S, Melissa AS. Effects of a weight-loss aid in healthy overweight adults: Double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Current Therapeutic Research* 61(4) : 199-205, 2000
- 43) Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoon DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74: 418-425, 2001
- 44) Gray CJ. Enzyme-catalysed reactions. London: Van Nostrand Reinhold Company, 1971
- 45) Kontos HA. Role of products of univalent reduction of oxygen in hypertensive vascular injury. In: Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. New York. Raven Press, Ltd, pp.667-675, 1990
- 46) Fred L, David A, Gouch GW, Schmid S. Role of xanthine oxidase in hydrogen peroxide production. *Free Radical Biology & medicine* 25(6) : 720-727, 1998
- 47) Lina CMC, Chenb CS, Chenc CT, LiangaYCC, Lin JKA. Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. *Biochem & Biophysical Res Commun* 294(1) : 167-172, 2002
- 48) Chistoph R. Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to ageing. *Int J Biochem Cell Biol* 27(7) : 647-653, 1995
- 49) Costantino L, Rastelli G, Albasini A. Inhibitory activity of flavonols towards the xanthine oxidase enzyme. *Int J Pharmaceutics* 86(1) : 17-23, 1992
- 50) Han DS, Kim SJ. The SOD-like activity and development of functional food. *Bulletin of Food Technology* 7(4) : 41-49, 1994
- 51) Park GY, Rhee SJ. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid and  $\alpha$ -tocopherol on lipid peroxidation in rat liver. *Kor J Nutr* 21(5) : 295-304, 1988
- 52) Kellogg EW III, Fridovich I. Superoxide dismutase in the rat and mouse as a function of age and longevity. *J Gerontol* 31: 405, 1976
- 53) Sohn JS, Kim MK. Effects of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. *Kor Nutr Sci* 31(4) : 687-696, 1998
- 54) Rho KA, Kim MK. Effects of grapes intake on antioxidative and antithrombogenic capacity of Cd-administered rats during Ageing. *Kor Nutr Sci* 35(3) : 279-290, 2002
- 55) Kim HJ, Bae KH, Lee HJ, Eun JB, Kim MK. Effects of hesperidin extracted from tangerine peel on Cd and lipid metabolism, and antioxidative capacity in rats. *Kor Nutr Sci* 32(2) : 137-149, 1999
- 56) Chen Y, Zheng R, Jia Z, Ju Y. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biology & medicine* 9: 19-21, 1990
- 57) Son HS, Kim HS, Kwon TB, Ju JS. Isolation, purification and hypotensive effect of bioflavonoids in Citrus sinensis. *J Korean Soc Food Nutr* 21(2) : 136-142, 1992
- 58) Karl EM, Kjersti MR. Inhibitors of 15-lipoxygenase from orange peel. *J Agric Food Chem* 48: 5576-5580, 2000
- 59) Ahn YJ, Park HY. Levels and factors affecting serum carotenoids concentrations of adults living in rural area of Korea. *Kor J Nutr* 30(5) : 489-498, 1997
- 60) Gerald FC Jr. The vitamins. In: Vitamin A (D.S. McLaren), Academic Press, p.138, 1998
- 61) Gerald FC Jr. The vitamins. In: Vitamin E (A.L. Tappel), Academic Press, p.203, 1998
- 62) Gerald FC Jr. The vitamins. In: Vitamin C (A. Szent-Györgyi), Academic Press, p.255, 1998
- 63) Heidi F, Violet L. Van Antwerpen, Guy AR, Denys R. Van der Westhuyzen, Neil D, Renee Van der Walt, Carel A. Van der Merwe, Ronald A. Increased levels of autoantibodies to cardiolipin and oxidised low density lipoprotein are inversely associated with plasma vitamin C status in cigarette smokers. *Atherosclerosis* 124: 75-81, 1996