

## 리치 과피의 영양화학 성분 및 항산화성 신경세포 보호효과

정희록 · 최귀남 · 김지혜 · 박지현 · 김연수<sup>1</sup> · 정창호<sup>2</sup> · 김대옥<sup>2</sup> · 허호진\*

경상대학교 농업생명과학대학 식품공학과 · 농업생명과학연구원,

<sup>1</sup>(재)하동녹차연구소, <sup>2</sup>경희대학교 생명과학대학 식품공학과

### Nutritional Components and Their Antioxidative Protection of Neuronal Cells of Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) Fruit Pericarp

Hee Rok Jeong, Gwi Nam Choi, Ji Hye Kim, Ji Hyun Kwak, Yeon-Su Kim<sup>1</sup>,  
Chang-Ho Jeong<sup>2</sup>, Dae-Ok Kim<sup>2</sup>, and Ho Jin Heo\*

Department of Food Science and Technology, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University

<sup>1</sup>Institute of Hadong Green Tea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Institute of Life Science and Resources, Kyung Hee University

**Abstract** The nutritional components, antioxidant, and neuroprotective effects of water and a 50% methanol extract from litchi fruit pericarp were investigated. The most abundant mineral, amino acid, and fatty acid were K, proline, and palmitic acid, respectively. In addition, the total water phenolics and 50% methanol extracts were 8.02 and 12.28 mg/g, respectively. The DPPH, ABTS radical scavenging activities and ferric reducing antioxidant power of the water and 50% methanol extracts showed dose-dependent antioxidant activity. In a cell viability assay using MTT, almost all extracts showed a protective effect against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced neurotoxicity, and lactate dehydrogenase leakage was also inhibited by the pericarp extracts. In particular, the 50% methanol extract showed a higher cell membrane protective effect than the water extract at the highest concentration. Consequently, these data suggest that litchi fruit pericarp can be utilized as an effective and safe functional food substances for natural antioxidants and may reduce the risk of neurodegenerative disorders.

**Key words:** antioxidant activity, neuronal cell protective effect, litchi fruit pericarp, *Litchi chinensis*

## 서 론

현대의학과 문명의 발달로 인간의 평균 수명은 점차 증가되고 있으나 대기, 수질 등 환경의 오염과 영양소의 과다섭취, 스트레스, 흡연 및 음주로 인해 야기되는 인체 내외의 많은 요인들은 건강을 위협하는 요소가 되고 있어 건강장수를 위한 관심은 더 고조되고 있다(1). 성인병은 위와 같은 요인들에 의해 생체 내 정상적인 세포대사 과정에서 생성되는 활성산소 및 free radical이 세포막의 손상, 지질 산화, 단백질 분해 등을 초래함으로써 발병되며, 특히 최근에는 산화적 스트레스에 의한 지질의 과산화가 퇴행성 신경질환으로 고려되는 Alzheimer's disease(AD)을 일으킨다는 연구결과들이 보고되고 있다(2). 이러한 유해 라디칼을 제거하는 생리작용으로는 산화성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 전자공여작용, superoxide anion radical을 정상상태의 산소로 전환시켜 주는 역할을 하는 SOD 유사활성 등이 있다(3). 퇴행성 신경질환의 대표적인 치료법으로는 항산화제 처리, 세

포이식 및 외과적 수술 등 다양한 치료법이 제시 되고 있지만 실질적으로 여러 가지 위험 부담이 있어 적합한 치료제가 없는 것이 현실이다. 이에 신경세포보호 효과를 가지며 뛰어난 항산화 작용을 하는 천연자원의 개발이 요구되고 있다(4).

최근 많은 연구들을 통해 다양한 식품소재들로부터 건강증진 및 질병예방효과가 밝혀지면서 소비자들은 식품을 생명유지 및 영양소 공급을 위한 1차적 기능을 넘어 생체 내에서 DNA 손상, 암 유발, 노화 등 다양한 질병의 원인과 관련성이 있는 free radical에 의한 손상을 방지함으로써 생체를 보호하는 중요한 기능성에 주목하고 있다. 이와 더불어 기존에 알려진 항산화제들보다 안전성이 확보된 식용식물자원으로부터 다양한 생리활성물질들을 확보하려는 시도가 계속 되고 있다(5). 특히, 과채류의 폴리페놀류들은 항산화 활성뿐만 아니라 항암 및 신경세포에 대한 보호효과를 가지는 것으로 보고되고 있다(6).

리치(*Litchi chinensis* Sonn., litchi)는 무환자나무과(Soapberry Family)에 속하는 열대과일로 중국이 원산지이며, 주로 동남아시아 지역에 분포하고 있다. 리치 열매는 높은 영양적 가치를 가지고 있을 뿐만 아니라 달콤하고 향미가 좋으며 리치 특유의 모양과 색이 소비자들의 관심을 증대시키면서 상업적 가치가 높은 과일로 평가받고 있다(7). 리치껍질은 흰 색의 가종피(aril)와 붉은 색의 과피(pericarp)로 이루어져 있으며, 생과무게 기준으로 15%를 차지하고, anthocyanin 및 flavonoid류가 풍부한 것으로 알려져 있다(8,9). 또한 민간에서는 지혈작용 및 진통을 완화시키는 작용을 가지고 있어 한약재로 사용해왔다(10). 많은 연구에서 리치 열

\*Corresponding author: Ho Jin Heo, Department of Food Science and Technology, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea  
Tel: 82-55-751-5476  
Fax: 82-55-753-4630  
E-mail: hjher@gnu.ac.kr  
Received March 12, 2010; revised April 20, 2010;  
accepted April 22, 2010

매의 껍질에는 다양한 phenolic compound들이 존재하는 것으로 보고되었고(11,12), 특히 이들 화합물은 free radical 소거활성을 가지고 있어 antioxidant로 작용하며, 항암, 항염증 및 퇴행성 질환을 예방하는 agent로써 작용한다고 알려져 있다(13,14). 리치에 대한 보다 구체적인 연구로는 하와이산 용안, 리치, 람부탄의 ascorbic acid 및 mineral 함량(15), 리치의 지방산 분석(16), 수확 후 저장 기간 동안 리치 열매의 phenolic compound들의 변화(17), 리치 과피에 함유된 주요 anthocyanin류의 정제 및 구조분석(18), 항암효과(19), 리치 꽃과 종자 추출물의 항산화효과(20,21) 등이 보고되고 있다. 그러나 현재 국내에서는 리치나 리치 과피에 대한 영양 성분 분석, 항산화 활성 및 신경세포 보호효과 같은 기능성 식품학적 측면의 구체적인 연구는 아직 미비한 실정이다.

따라서 천연에서 유래한 부산물 및 미이용 자원의 효율적인 이용 측면에서 전 세계적으로 소비량이 증대되고 있는 열대과일 리치의 부산물인 과피의 일반성분, 무기질 및 아미노산과 같은 영양화학적 성분 분석과 물 및 50% 메탄올 추출물을 이용한 DPPH, ABTS radical 소거활성, FRAP 분석법을 통한 항산화 효과, MTT, LDH 법을 통한 산화적 스트레스에 대한 신경세포 보호효과를 비교하여 고부가가치 생리활성 산업화 소재로 활용하기 위한 기초자료를 확보하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에서 사용한 리치껍질은 2009년 2월에 경남 진주시에 위치한 대형마트에서 냉동 리치를 구입하여 사용하였다. 리치의 껍질만을 선별 및 세척하여 열풍 건조기를 이용하여 40°C에서 48시간 건조한 후 수분을 10% 이하가 되게 하여 분쇄하여 준비한 후 실험에 사용하였다. 항산화 실험과 세포독성 실험을 위한 추출물은 시료 20g에 물과 50% 메탄올을 각각 200 mL씩 첨가하여 환류냉각 추출한 후 얻은 각 추출물을 회전진공농축기(EYLYA Co., Tokyo, Japan)로 농축하고 동결 건조하여 본 실험에 사용하였다. 본 실험에 사용된 시약으로 Folin & Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) assay kit, lactate dehydrogenase(LDH) release assay kits은 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을 이용하였고, 그 외 사용된 용매 및 시약은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

### 일반성분, 무기성분 및 총 페놀화합물 분석

수분함량은 105°C 건조 후 항량을 측정하여 산출하였고, 조단백질은 Auto-Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출장치로 추출하여 측정하였으며, 조회분은 550°C 직접회화법, 그 외 나머지 성분들은 가용성 무질소물로 나타내었다(22). 리치껍질의 무기성분 분석은 각 시료 0.1g을 활용하여 Inductively coupled plasma(Aton scan 25, Thermo Jarrell Ash Co., Franklin, MA, USA)로 분석하였다. 분석조건 중 RF power는 1,300 W이며, analysis pump flow rate는 1.5 mL/min으로 하였고, gas flows는 plasma: 15, auxiliary: 0.2, nebulizer: 0.8 L/min으로 하여 분석하였다(23). 리치 껍질 추출물의 총 페놀화합물 함량은 추출시료 용액 1 mL에 증류수 9 mL을 첨가한 후 Folin & Ciocalteu's phenol reagent를 활용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성된 검량선으로 총 페놀화합물 함량을 계산하였다(24).

### 아미노산 분석

시료를 일정량 취하여 6 N HCl 용액을 가하고 진공 밀봉하여 heating block(110±1°C)에서 24시간 동안 가수분해시킨 후 glass filter로 여과한 여액을 회전 진공농축기를 이용하여 HCl을 제거하고 증류수로 3회 세척한 다음 감압 농축하여 sodium citrate buffer(pH 2.2) 2 mL로 용해한 후 0.22 µm membrane filter로 여과한 여액을 아미노산 자동분석기(Biochrom 20, Pharmacia Biotech, Stockholm, Sweden)를 이용하여 분석하였다. 분석에 이용한 column은 ultrapac 11 cation exchange resin(11±2 µm)를 사용하였고, flow rate와 buffer는 각각 ninhydrin 25 mL/hr와 pH 3.20-10.0으로 하였으며, column 온도와 reaction 온도는 각각 46°C와 88°C로 하였고, 분석시간은 44분 동안 분석하였다(25).

### 지방산

시료 2g을 원통여지(Advantec Toyo Roshi Kaisha, Tokyo, Japan)에 넣고, diethyl ether를 가하여 Soxhlet 추출법으로 약 16시간 정도 추출한 다음 추출물을 감압 농축시켜 증류법으로 함량을 측정하였다. 지방산 분석은 Metcalf 등(26)의 방법에 준하여 가스크로마토그래피 장치(GC Hewlett Packard 5890, Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. 분석조건으로 column은 supelcowax 10(60 m×0.32 mm I.D.)를 사용하였고, injector temperature와 column oven temperature는 각각 250°C와 260°C로 하였으며, detector temperature와 carrier gas는 280°C와 N<sub>2</sub>로 하였고, split ratio는 30:1이었다. 각 지방산의 조성비는 GC에 의해 분리된 각 지방산의 methyl ester를 peak 면적의 비율로 계산하여 구하였다.

### Radical 소거활성 측정

DPPH radical 소거활성 실험은 여러 농도의 추출물 1 mL에 에탄올로서 1.5×10<sup>-4</sup> M 농도가 되게 한 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 4 mL씩을 vortex로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도(optical density, OD)를 측정하였다(27).

ABTS radical 소거활성 측정은 7 mM ABTS 5 mL와 140 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 88 µL를 섞어 어두운 곳에 14-16시간 방치시킨 후, 이를 absolute ethanol과 약 1:88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.700±0.002가 되도록 조절된 ABTS solution을 사용하였다. 시료용액 20 µL와 ABTS solution 980 µL를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 반응시키고, 734 nm에서 흡광도를 측정하여 라디칼 소거활성을 계산하였다(28).

### FRAP(Ferric reducing antioxidant power) assay

FRAP assay는 Benzie와 Strain(29)에 의해 고안된 방법으로 0.3 M sodium acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine(TPTZ) solution, 그리고 20 mM FeCl<sub>3</sub> solution을 제조하였다. 미리 제조된 sodium acetate buffer, TPTZ solution 및 FeCl<sub>3</sub> solution을 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 37°C에서 10-15분간 incubation시켜 FRAP reagent를 준비하였다. FRAP reagent 1.5 mL를 추출물 50 µL에 혼합하여 vortex하여 실온에서 30분간 방치한 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 세포 생존율 측정

본 실험에서 사용한 PC12 세포(KCLB 21721, Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)는 신경세포의 특성을 나타내는 세포로 쥐의 pheochromocytoma로부터 유도된 것을 사용하였다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에

의해 유도된 PC12 신경 세포에 대한 보호효과는 MTT reduction assay로 측정하였다(30). 리치 껍질의 열수추출물과 50% 메탄올 추출물을 농도별로 PC12 cell에 처리하여 48시간동안 pre-incubation한 후, 200 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 각각 3시간동안 처리하였다. 이 상태의 PC12 cell에 MTT stock solution을 처리하여 37°C에서 3시간 incubation한 후, MTT solubilization solution 100 µL를 첨가하여 반응을 종결시켰다. 마지막으로 흡광도는 microplate reader(680, Bio-rad, Tokyo, Japan)를 이용하여 570 nm와 690 nm에서 측정하였다. Positive control은 vitamin C(200 µM)를 사용하였고, cell viability는 control group에 대한 % concentration으로 나타냈다. 또한 리치 껍질의 열수추출물과 50% 메탄올 추출물을 48시간동안 pre-incubation한 후 LDH assay kit(Sigma Co.)으로 세포막 손상효과를 측정하였다(30).

**통계처리**

모든 실험은 3회 반복 실시하여 mean±SD로 나타내었으며, 각 평균값에 대한 검증은 SAS version 6.12(SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 평균과 표준오차, Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성을 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**리치 과피의 일반성분, 무기성분 및 총페놀 분석**

리치 과피의 일반성분, 무기성분 및 총페놀 함량을 분석한 결과(Table 1), 가용성 무질소물 85.52%, 조단백질 13.97%, 조회분 0.33%, 수분 0.11% 및 조지방 0.04% 순으로 나타났고, 그 중 조단백질이 전체 일반성분의 13.9%로 높은 함량을 보였다. 리치 과피의 주요 무기성분은 총 8종이 분리, 동정되었으며, 그 중 K이 989.35 mg/100 g으로 가장 높게 나타났고, 그 외 Ca(399.81 mg/100 g), P(264.65 mg/100 g), Mg(182.33 mg/100 g) 및 Na(131.77 mg/100 g) 순으로 나타났다. Wall(15)은 하와이산 리치 품종의 무기성분 함량을 분석한 결과, Kaimana 품종의 경우 주요 무기성

분은 K(180.6 mg/100 g), P(31.1 mg/100 g), Mg(16.2 mg/100 g), Ca(4.5 mg/100 g), Na(4.5 mg/100 g) 순이었으며, 이외에도 Fe, Zn 등이 함유되어 있는 것으로 보고하였다. 따라서 리치 열매와 과피의 무기성분은 함량의 차이는 보였으나 유사한 순서로 함유되어 있는 것으로 나타났다.

총 페놀화합물은 천연물에 많이 함유되어 있는 성분으로 이들의 주요 역할은 자유라디칼을 소거하는 것이라는 연구가 많이 보고되고 있으며, 또한 이러한 페놀성 화합물인 플라보노이드나 페놀산 및 안토시아닌 등의 총량인 총 페놀화합물 함량은 DPPH radical 소거활성과 같은 항산화 활성에 중요한 인자로 작용한다(23). 리치 과피의 열수와 50% 메탄올 추출물의 총 페놀화합물 함량을 측정한 결과, 각각 8.02 mg/g, 12.28 mg/g으로 열수 추출물보다 50% 메탄올 추출물이 더 높은 함량을 나타내었다(Table 1). 이는 50% 메탄올이 열수와 비교하여 리치 과피에 존재하는 가용성 성분 및 polyphenol류 등 생리활성 성분을 좀 더 효과적으로 추출하기 때문으로 생각되며(13), 적절한 비율의 메탄올과 물의 혼합은 flavonoids, phenolic acids 및 당류와 같이 극성 화합물들의 추출에 효과적이라는 연구결과를 미루어볼 때(21) 리치 과피로부터 페놀화합물을 추출할 수 있는 최적화 조건을 마련하는 것이 필요하다고 판단된다.

**아미노산 함량**

리치 과피의 아미노산을 분석한 결과는 Table 2와 같이 총 17종이 분리·동정되었으며 총 아미노산 함량은 2,208.12 mg/100 g 이었고, 필수아미노산 함량은 677.52 mg/100 g으로 총 아미노산 중 30.68%를 차지하였다. 주요 아미노산으로는 proline(672.59 mg/100 g), glutamic acid(182.27 mg/100 g), aspartic acid(131.43 mg/100 g) 및 leucine(123.07 mg/100 g) 등이었다. Hall 등(31)은 열대 과일들의 단백질 및 아미노산 함량 분석에 대한 연구에서 용안, 아보카도, 망고의 총 아미노산 함량이 961, 428, 1,418 mg/100 g

**Table 1. Proximate compositions, minerals and total phenolics content of litchi fruit pericarp** (Unit: %)

Litchi fruit pericarp	
Proximate compositions (%)	
Moisture	0.11±0.11 <sup>1)</sup>
Crude protein	13.90±7.01
Crude fat	0.04±0.11
Nitrogen free extracts	85.52±0.20
Ash	0.33±0.02
Minerals (mg/100 g)	
K	989.35
Na	131.77
Mg	182.33
Ca	399.81
Mn	5.00
Zn	6.93
Fe	5.88
P	264.65
Total phenolics (mg/g)	
Water ext.	8.02±0.09
50% MeOH ext.	12.28±0.06

**Table 2. Amino acids content of litchi fruit pericarp**

(Unit: mg/100 g)

Amino acids	Contents
Aspartic acid	131.43
Threonine	92.83
Serine	100.52
Glutamic acid	182.27
Proline	672.59
Glycine	81.21
Alanine	107.98
Cystine	-
Valine	26.67
Methionine	104.03
Isoleucine	96.93
Leucine	123.07
Tyrosine	65.65
Phenylalanine	115.16
Histidine	89.12
Lysine	118.83
Arginine	99.83
Total E.A.A <sup>1)</sup>	677.52
Total A.A. <sup>2)</sup>	2,208.12

<sup>1)</sup>E.A.A: Essential amino acid

<sup>2)</sup>A.A: Amino acid

<sup>1)</sup>The values are mean±SD of three experimental data.

**Table 3. Fatty acids composition of litchi fruit pericarp** (Unit: %)

Fatty acids	Peak area (%)
Myristic acid	2.13
Palmitic acid	42.86
Stearic acid	14.88
Oleic acid	5.56
Linoleic acid	2.62
Arachidic acid	5.81
Linolenic acid	4.94
Gadoleic acid	2.80
Elcosadienoic acid	2.65
Behenic acid	5.89
Eicosapentaenoic acid	2.00
Lignoceric acid	5.99
Docosahexaenoic acid	1.87

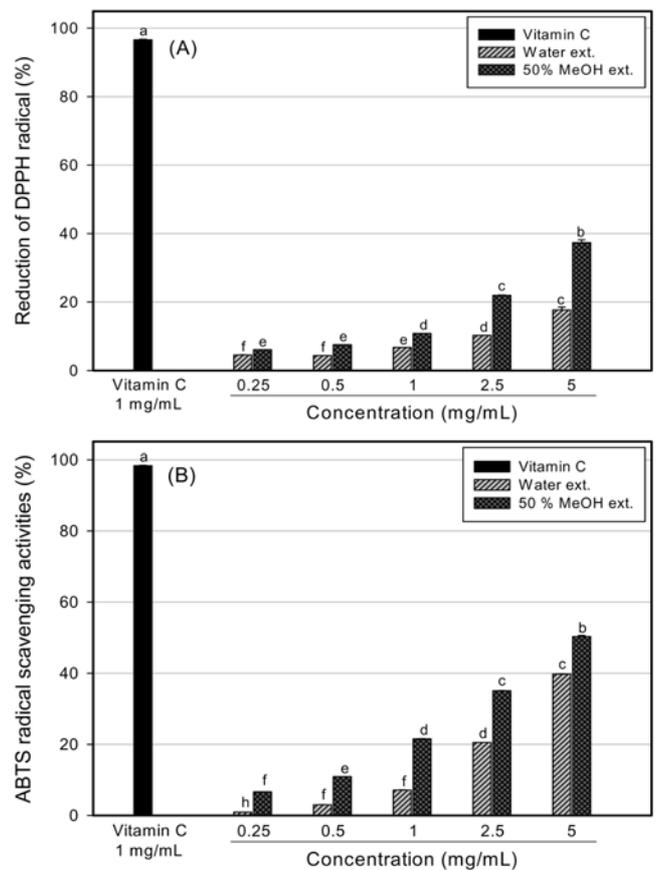
로 나타났으며, 필수아미노산 함량에서는 각각 301 mg/100 g (31.3%), 182 mg/100 g(42.6%), 666 mg/100 g(47.0%)로 본 연구에서 사용한 리치 과피와 이들 열대과일과 비교하였을 때 리치 과피는 풍부한 필수아미노산 급원으로써 활용이 가능할 것으로 판단된다.

#### 지방산 함량

리치 껍질에 함유되어 있는 지방산을 GC를 이용하여 분석한 결과는 Table 3과 같다. 지방산은 모두 13종이 확인되었으며 리치 껍질의 주요 지방산으로는 palmitic acid(42.86%)와 stearic acid (14.88%)였으며 그 외에도 포화지방산으로는 lignoceric acid, behenic acid 등이 함유되어 있었고, 불포화지방산으로는 arachidic acid, linolenic acid 등이 소량 함유되어 있었다. Gontier 등(16)은 리치의 지방산을 분석한 결과, palmitoleic(C<sub>16:1</sub>), palmitic(C<sub>16</sub>), cis-7,8-methylene-hexadecanoic(C<sub>17</sub> CA), linoleic(C<sub>18:2</sub>), linolenic(C<sub>18:3</sub>), oleic(C<sub>18:1</sub>), stearic(C<sub>18</sub>) 및 cis-9,10-methyleneoctadenoic(C<sub>19</sub> CA) acids가 함유되어 있는 것으로 나타났다. 리치 과피와 비교하였을 때 stearic acid가 한 품종을 제외하고 35-48%로 높은 비중을 차지해 각종 지방산 함량 및 구성의 차이는 보였으나 stearic, palmitic 및 oleic acid 등이 동일하게 함유되어 있는 것을 확인하였다.

#### Radical 소거활성 측정

리치 과피의 항산화능을 알아보기 위해 열수와 50% 메탄올 추출물의 DPPH, ABTS radical 소거활성을 측정할 결과 Fig. 1과 같이 나타났다. DPPH radical 소거활성(Fig. 1A)은 추출물의 농도가 증가함에 따라 점차적으로 증가하는 경향을 보였으며, 50% 메탄올 추출물의 경우 열수 추출물에 비해 상대적으로 우수한 항산화 활성을 나타내었고, 특히 5 mg/mL에서는 열수 추출물에 비해 약 두 배 높은 37% 이상의 DPPH radical 소거활성을 보였다. 그러나 positive control로 사용된 ascorbic acid(1 mg/mL)에 비해서는 낮은 항산화 활성을 보였다. Sami-Manchado 등(12)은 리치 과피로부터 cyanidin 3-rutinoside, cyanidin glucoside, quercetin 3-rutinoside, quercetin glucoside, condensed tannins, epicatechin, procyanidin A2 등을 분리하였으며, condensed tannin류와 epicatechin이 높은 비율을 차지하였고, anthocyanin류와 flavanol류도 상당량 함유되어 있는 것으로 보고하였다. Liu 등(10)은 리치 껍질로부터 추출한 안토시아닌으로 DPPH radical 소거활성을 측정할 결과 100 µg/mL 농도에서 100%에 가까운 radical 소거활성을 보



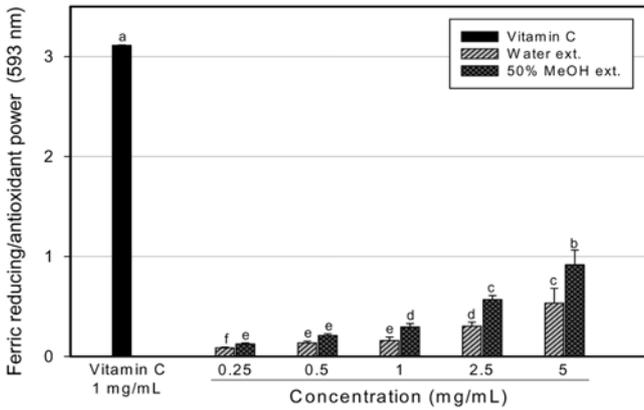
**Fig. 1. DPPH (A) and ABTS (B) radical scavenging activities of hot water and 50% methanol extracts from litchi fruit pericarp.** Different superscripts indicate significant difference among groups at  $p < 0.05$ .

였고, Zhao 등(9)은 리치 껍질 85% 에탄올 추출물로부터 얻어진 각 용매별 분획물 중 ethylacetate 분획물에서 분리된 flavonoid성분이 암세포의 증식을 효과적으로 저해하는 것으로 보고하였다. 따라서 리치 껍질에 존재하는 anthocyanin, flavonoid 등 생리활성 성분들은 항산화 활성을 비롯한 다양한 생리활성에 상당한 수준으로 기여하는 것으로 판단된다.

ABTS radical 소거활성 측정(Fig. 1B)에서도 역시 추출물의 농도가 증가함에 따라 radical 소거활성이 증가하는 경향을 보였으며, 최대 처리 농도인 5 mg/mL에서 50% 메탄올 추출물은 50.33%로 가장 높은 활성을 보였으며, ascorbic acid 1 mg/mL의 절반 수준의 활성을 나타내면서 우수한 항산화능을 갖는 것으로 나타났다. 또한 모든 농도에서 열수 추출물보다 50% 메탄올 추출물이 상대적으로 높은 활성을 나타내 DPPH radical 소거활성 측정결과와 유사한 경향을 보였다.

#### FRAP(Ferric reducing/antioxidant power) assay

FRAP은 시료 내에 존재하는 항산화제에 의해 ferric ion이 ferrous ion으로 환원됨으로써 얻어지는 colored ferrous tripyridyl triazine complex를 593 nm에서 흡광도를 측정함으로써 항산화력을 측정하는 방법이다(29). Figure 2에서 보는 바와 같이 FRAP assay에 의한 항산화 활성은 DPPH, ASTS radical 소거활성 측정과 비교하여 큰 활성이 나타나지는 않았지만 역시 농도의존적인 경향을 보였으며, 열수추출물에 비해 50% 메탄올 추출물이 상대적으로 높은 활성을 나타내었다. 특히 최대 처리농도인 5 mg/mL



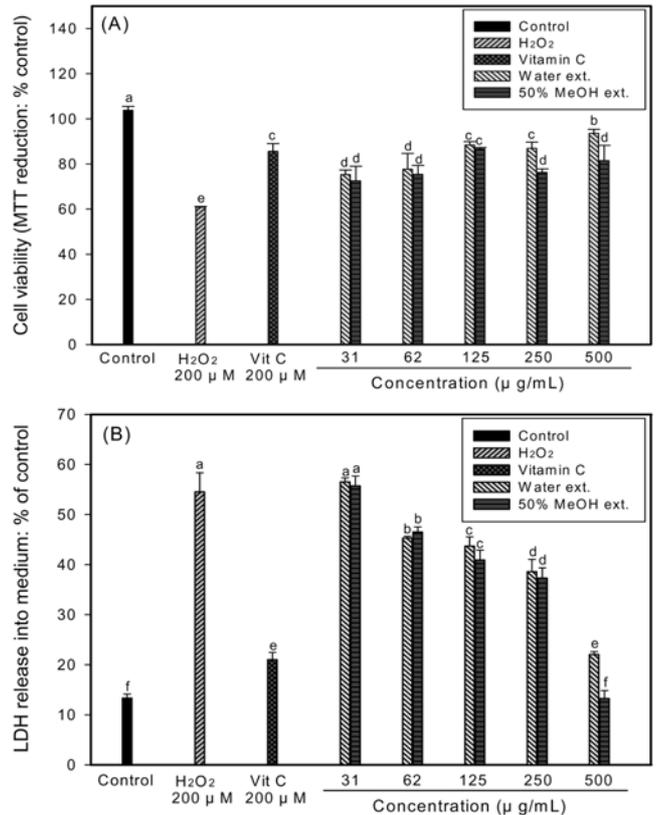
**Fig. 2. FRAP assay of hot water and 50% methanol extracts from litchi fruit pericarp.** Different superscripts indicate significant difference among groups at  $p < 0.05$ .

농도에서 열수추출물 보다 약 1.5배 이상의 활성을 나타냈다. 이는 추출조건에 따른 리치 과피의 가용성 고형분 및 polyphenolic 화합물, 그리고 비타민 C 등과 같은 생리활성물질들의 추출효율에서 기인한다고 판단된다. 또한 식품가공 폐기물로 버려지는 리치 과피로부터 다양한 영양화학성분과 생리활성물질들을 좀 더 효율적으로 추출함으로써 향후 기능성 식품 및 관련 산업 소재화 등으로의 활용가능성이 높아질 것으로 판단된다.

**신경세포 보호 효과와 세포막 손상 보호효과**

Alzheimer's disease(AD), parkinson' disease(PD)와 같은 신경계 질환은 산화적 스트레스에 의한 신경세포의 사멸에 의해 발생되며, 천연 항산화 소재인 flavonoids, polyphenols 등은 산화적 스트레스로부터 신경세포 보호효과가 뛰어난 것으로 보고되고 있다(4). 리치 과피의 열수 추출물과 50% 메탄올 추출물의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 유도된 산화적 스트레스 상태에서 PC12 신경세포에 대한 보호 효과를 측정 한 결과는 Fig. 3(A)와 같다. Neuronal cell viability는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리한 처리구에서 control group(103.78%) 대비 60.86%의 생존율을 나타냈고, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 vitamin C(positive control)를 동시에 처리한 처리구에서는 85.58%의 생존율로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 대비 약 25% 정도의 신경세포 보호효과를 보였다. 리치 과피 열수추출물을 처리한 시료에서는 125 µg/mL 이상의 농도에서는 positive control로서의 vitamin C 200 µM과 유사한 보호효과를 보였다. 또한 열수 추출물과 50% 메탄올 추출물간의 세포보호 효과는 열수 추출물이 다소 우수한 것으로 보이지만, 이는 각각의 상호 결과값에 대한 오차한계범위를 고려할 때 큰 유의적인 차이로 볼 수는 없는 것으로 판단된다.

신경세포는 많은 지질 성분을 함유하고 있어서 산화적 스트레스에 매우 취약한 구조적 특징을 가지고 있다. 이에 산화적 스트레스에 대한 신경세포막 손상과 리치 껍질 추출물들의 세포 생존 효과를 알아보기 위해 다음의 연구를 진행하였다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 유도된 산화적 스트레스에 대하여 리치 추출물들의 신경세포의 세포질 성분의 LDH 방출량을 측정 한 결과는 Fig. 3(B)와 같다. Control group의 방출량은 13.33% 정도인데 반해 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리한 구에서는 54.52%의 방출량을 보여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 인해 LDH 방출량이 41% 정도 증가하였다. Vitamin C 200 µM 처리군은 21.01%의 방출량을 보였고, 리치 과피 열수와 50% 메탄올 추출물의 농도별 처리구에서는 농도의존적으로 방출량이 감소하였으며, 최대 500 µg/mL 농도에서는 열수와 50% 메탄올 추출물이 22.04%와



**Fig. 3. Protective effect of hot water and 50% methanol extracts from litchi fruit pericarp against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell death and membrane damage in PC12 cell system.** PC12 cells were pre-treated for 48 hr with various concentration. The cells were then treated with 200 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 3 hr. Vitamin C (200 µM) was applied as positive control. (A) Levels of cell viability were measured using the MTT assay as described under materials and methods. (B) Inhibition effect of LDH release on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced membrane damage was measured with a colorimetric LDH assay kit. Results are shown mean±SD (n=3). Significant difference ( $p < 0.05$ ) was observed on the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced necrosis.

13.27%으로 50% 메탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 약 1.7배 가량의 방출량 저해효과를 보여주었는데, 이는 리치 과피 추출물 함유 성분인 다양한 phenolics를 포함한 세포손상을 보호할 수 있는 생리활성 물질들로부터 기인한 것으로 판단된다.

Kim 등(4)은 오미자 추출물의 신경세포 보호효과에 대해 조사한 결과, 총페놀성 화합물 함량과 ABTS radical 소거 활성이 높게 나타난 오미자에서 높은 신경세포 손상 보호효과를 보여 항산화 활성과 신경세포 손상 보호효과는 밀접한 상관관계를 가지고 있는 것으로 보고하였다. 리치 과피에서도 총페놀 함량과 항산화 활성이 상대적으로 우수했던 리치 과피 50% 메탄올 추출물의 신경세포 손상 보호효과가 다소 높은 것으로 보아 리치 과피의 폴리페놀성 화합물들이 신경세포 세포보호 효과에 기여하는 것으로 판단된다. 따라서 최적 조건의 리치 과피 추출물은 천연 항산화 소재 및 알츠하이머성 신경질환과 같은 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료제로서의 활용 가능성이 높다고 판단된다.

**요 약**

본 연구에서는 열대과일 리치의 부산물인 과피를 기능성 식품

산업 소재로서의 활용가능성을 알아보기 위해 영양화학성분 분석, 항산화 및 신경세포 보호효과에 대해서 조사하였다. 리치 과피의 일반성분은 수분 0.11%, 조단백질 13.97%, 조지방 0.04%, 조회분 0.33% 및 가용성 무질소물 85.52%이었다. 주요 무기성분으로는 K 989.35 mg/100 g, Ca 399.81 mg/100 g 및 P 264.65 mg/100 g이었으며, 용매별 리치 과피의 총 페놀 함량을 측정된 결과는 열수 추출물 8.02 mg/g, 50% 메탄올 추출물 12.28 mg/g, 으로 각각 나타났다. 주요 아미노산으로는 proline이 672.59 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 차지하였다. 주요 지방산으로는 palmitic acid(42.86%), stearic acid(14.88%)이었으며, 리치 과피의 DPPH와 ABTS radical 소거활성을 측정된 결과 열수 추출물에 비해 50% 메탄올 추출물의 소거활성이 상대적으로 높게 나타났다. 특히 열수와 50% 메탄올 추출물의 최대 처리농도 5 mg/mL에서 DPPH와 ABTS radical 소거활성은 각각 17.68, 37.35%와 39.79, 50.33%로 나타났다. FRAP assay을 이용한 항산화 활성은 농도의존적인 경향을 보였으며, 열수 추출물에 비하여 50% 메탄올 추출물이 상대적으로 우수하였다. MTT, LDH assay를 통한 신경세포 보호효과를 측정된 결과 MTT 실험에서는 리치 과피 추출물의 모든 농도에서 positive control로서의 vitamin C와 유사한 세포 생존율을 나타냈고, LDH 실험에서는 추출물에 의한 농도의존적 효소 방출량 감소가 관찰되었고, 특히 최대 500 µg/mL 농도에서는 50% 메탄올 추출물이 열수추출물 보다 약 1.7배 가량의 방출량 저해 효과가 나타났다. 본 연구결과를 종합해 볼 때, 우수한 영양 구성 성분과 physiological phenolics를 함유한 리치 과피 추출물은 항산화 및 산화적 스트레스로부터 신경세포 보호 효과를 나타내면서 퇴행성 신경질환 등을 예방할 수 있는 기능성 산업소재로서의 가치가 높다고 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 2008년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구(KRF-2008-521-F00074) 결과로 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Kim JP, Chon IJ, Cho HK, Han IH, Whang WK. The antioxidant and the antidiabetic effects of ethanol extract from biofunctional foods prescriptions. Korean J. Pharmacogn. 35: 98-103 (2004)
- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidant, antioxidants, and the degenerative disease of aging. P. Natl. Acad. Sci. USA 90: 7915-7922 (1993)
- Choi GN, Jeong CH, Kim JH, Kwak JH, Shin YH, Lee SC, Cho SH, Choi SG, Heo HJ. Effect of storage temperature and water activity on antioxidant activities of powdered green tea extracts. Korean J. Food Preserv. 16: 333-341 (2009)
- Kim JH, Jeong CH, Choi GN, Kwak JH, Choi SG, Heo HJ. Antioxidant and neuronal cell protective effects of methanol extract from *Schizandra chinensis* using an *in vitro* system. J. Korean Soc. Food Sci. Technol. 41: 712-716 (2009)
- Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Beak NI. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 47: 135-140 (2004)
- Ham SS, Lee SY, Oh DH, Jung SW, Kim SH, Jeong CK, Kang IJ. Cytotoxicity of *Ligularia fischeri* extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 987-992 (1998)
- Shah NS, Nath N. Changes in qualities of minimally processed litchis: Effect of antibrowning agents, osmo-vacuum drying and moderate vacuum packaging. LWT Food Sci. Technol. 41: 660-668 (2008)
- Duan X, Jiang Y, Su X, Zhang Z, Shi J. Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. Food Chem. 101: 1365-1371 (2007)
- Zhao M, Yang B, Wang J, Liu Y, Yu L, Jiang Y. Immunomodulatory and anticancer activities of flavonoids extracted from litchi (*Litchi chinensis*) pericarp. Int. Immunopharmacol. 7: 162-166 (2007)
- Liu L, Xie B, Cao S, Yang E, Xu X, Guo S. A-type procyanidins from *Litchi chinensis* pericarp with antioxidant activity. Food Chem. 105: 1446-1451 (2007)
- Rivera-Lopez J, Ordorica-Falomir C, Wesche-Ebeling P. Changes in anthocyanin concentration in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during maturation. Food Chem. 65: 195-200 (1999)
- Sarni-Manchado P, Le Roux E, Le Guernevé C, Lozano Y, Cheynier V. Phenolic composition of litchi fruit pericarp. J. Agr. Food Chem. 48: 5995-6002 (2000)
- Jeong CH, Choi GN, Kim JH, Kwak JH, Choi SG, Heo HJ. Characterization of antioxidant activities from chestnut inner skin. Food Sci. Biotechnol. 18: 1218-1223 (2009)
- Heo HJ, Kim, DO, Choi SJ, Shin DH, Lee CY. Potent inhibitory effect of flavonoids in *Scutellaria baicalensis* on amyloid  $\beta$  protein-induced neurotoxicity. J. Agr. Food Chem. 52: 4128-4132 (2004)
- Wall MM. Ascorbic acid and mineral composition of longan (*Dimocarpus longan*), lychee (*Litchi chinensis*), and rambutan (*Nephelium lappaceum*) cultivars grown in Hawaii. J. Food Compos. Anal. 19: 655-663 (2006)
- Gontier E, Boussouel N, Terrasse C, Jannoyer M, Ménard M, Thomasset B, Bourgaud F. *Litchi chinensis* fatty acid diversity: Occurrence of the unusual cyclopropanoic fatty acids. Biochem. Soc. T. 28: 578-580 (2000)
- Zhang DL, Quantick PC, Grigor JM. Changes in phenolic compounds in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit during postharvest storage. Postharvest Biol. Technol. 19: 165-172 (2000)
- Zhang Z, Pang X, Yang C, Ji Z, Jiang Y. Purification and structural analysis of anthocyanins from litchi pericarp. Food Chem. 84: 601-604 (2004)
- Wang X, Yuan S, Wang J, Lin P, Liu G, Lu Y, Zhang J, Wang W, Wei Y. Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer *in vitro* and *in vivo*. Toxicol. Appl. Pharm. 215: 168-178 (2006)
- Liu SC, Lin JT, Wang CK, Chen HY, Yang DJ. Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. Food Chem. 114: 577-581 (2009)
- Prasad KN, Yang B, Yang Shaoyu, Chen Y, Zhao M. Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and anti-tyrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds. Food Chem. 116: 1-7 (2009)
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 13<sup>th</sup> ed. Method 920.39, 934.01, 942.05, 954.01, and 974.06, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1990)
- Jeong CH, Choi SG, Heo HJ. Analysis of nutritional components and evaluation of functional activities of *Sasa borealis* leaf tea. Korean J. Food Sci. Technol. 40: 586-592 (2008)
- Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemical from various cultivars of plums. Food Chem. 81: 321-326 (2003)
- Jeong CH, Choi SG, Heo HJ. Analysis of nutritional compositions and antioxidative activities of Korean commercial blueberry and raspberry. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 37: 1375-1381 (2008)
- Metcalfe LD, Schmits AA, Pelka JR. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Anal. Chem. 38: 514-515 (1996)
- Blois MA. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)
- Pellegrin N, Re R, Yang M, Rice-Evans C. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. Method Enzymol. 299: 379-389 (1998)
- Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay.

- Anal. Biochem. 239: 70-76 (2009)
30. Heo HJ, Cho HY, Hong BS, Kim EK, Kim BK, Shin, DH. Protective effect of 4',5-dihydroxy-3',6,7-trimethoxyflavone from *Artemisia asiatica* against A $\beta$ -induced oxidative stress in PC12 cells. *Amyloid* 8: 194-201 (2001)
31. Hall NT, Smoot JM, Knight Jr RJ, Nagy S. Protein and amino acid compositions of ten tropical fruits by gas-liquid chromatography. *J. Agr. Food Chem.* 28: 1217-1221 (1980)