

## 감귤피 효소적 추출물의 지방세포에서의 항비만 효과

장예빈<sup>1</sup> · 강희주<sup>2</sup> · 김주상<sup>2</sup> · 이승홍<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup>순천향대학교 의료과학과, <sup>2</sup>(주)일해, <sup>3</sup>순천향대학교 의약공학과

### Anti-obesity effects of an enzymatic extract of mandarin (*Citrus unshiu*) peel in 3T3-L1 adipocytes

Yebin Jang<sup>1</sup>, Heejoo Kang<sup>2</sup>, Jusang Kim<sup>2</sup>, and Seung-Hong Lee<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Science, Soonchunhyang University

<sup>2</sup>ILHAE Co., Ltd.

<sup>3</sup>Department of Pharmaceutical Engineering, Soonchunhyang University

**Abstract** Mandarin peel (MP) is a by-product of the processing of citrus juice or other products. This study aimed to investigate the potential anti-obesity effect of an enzymatic extract of MP on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. The enzymatic extract (MPCE) was prepared using the commercial food-grade carbohydrase Celluclast. Lipid accumulation and triglyceride levels were significantly lower in MPCE-treated cells than in untreated cells. In addition, MPCE treatment reduced the protein expression levels of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ , CCAAT/enhancer-binding protein  $\alpha$ , sterol regulatory element-binding protein 1, and fatty acid-binding protein 4. These results suggest that MPCE inhibits adipogenesis by downregulating the expression levels of adipogenesis-related proteins. Therefore, the current findings demonstrate that MPCE possesses potent anti-obesity properties and could be a potential ingredient in functional food industries.

**Keywords:** anti-obesity, enzymatic extract, mandarin, adipogenesis, adipogenesis-related proteins

## 서 론

비만은 체내에 지방조직이 과도하게 축적된 상태를 의미하며 열량의 섭취와 소비의 불균형으로 발생하는 대사성 질환의 일종으로 고혈압, 심혈관계질환, 당뇨병과 같은 만성 질환을 야기하는 위험인자로 알려져 있다(Lee 등, 2005). 지방세포 분화는 지방 전구세포에서 성숙한 지방세포로 분화되는 adipogenesis 과정으로 과도한 지방 축적과 지방 생성에 관여하여 비만의 발생과 밀접한 관련이 있다(Park 등, 2013). 지방세포분화 과정은 호르몬 감수성, 세포 신호전달 및 유전자 발현 등의 다양한 변화가 동반되는 복합적인 과정이며, 이 때 CCAAT enhancer-binding protein (C/EBP) family, sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1), and peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 등의 adipogenic transcription factor가 핵심 전사인자로 관여하여 adipogenesis를 유도한다고 알려져 있다(Rosen 등, 2009). 따라서 adipogenic transcription factor의 발현 조절을 통해 지방세포 분화를 억제하는 것은 비만을 예방하는 중요한 전략이 될 수 있다.

최근 비만 유병률이 전 세계적으로 증가하는 추세이며 이로 인해 개인과 사회의 건강을 위협하는 문제로 대두되고 있다(WHO, 2020). 따라서 비만으로 인해 발생하는 질병의 위험을 줄이고자 orlistat, topiramate, sibutramine와 같은 약물이 시판 비만 치료제로 이용되고 있으나 이러한 치료제들의 심각한 부작용들이 보고되면서 사용 기준이 강화 되는 등의 논란이 대두되고 있다(Kang 등, 2017). 최근 천연물 유래 다양한 phytochemical 등이 체지방 축적을 억제하는 작용들이 있음이 보고됨에 따라 이러한 소재들을 이용하여 부작용이 없는 비만의 예방 및 치료제로의 개발이 증가하고 있다(Cefalu 등, 2008; Kim 등, 2012; Rayalam 등, 2008).

제주도에서 재배되는 감귤류는 연간 약 60만 톤이 생산되며, 최근 공급과잉이 심화되면서 감귤의 이용 다변화를 위해 다양한 가공제품으로의 개발이 증가되고 있다(Seo 등, 2015). 감귤 가공 제품을 생산하는 과정에서 약 50%에 해당하는 다량의 부산물이 발생하는데, 많은 비용과 환경문제를 유발하며 대부분 폐기물로 처리됨에 따라 이 부산물의 활용이 큰 문제로 대두되고 있다(Hyon 등, 2010; Seo 등, 2015; Wang 등, 2018). 감귤피(Mandarin peel)는 감귤가공 중 발생하는 가공부산물의 일종으로 폴리페놀류와 비타민류 등의 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있는 것으로 알려져 있으며 최근에는 항산화, 항균 및 항염증 등의 다양한 생리적 작용을 나타낸다고 보고되고 있다(Ahn 등, 2007; Hwang 등, 2013; Seo 등, 2015). 이처럼 감귤피에는 다양한 생리활성 물질 함유와 유용한 생리적 작용을 나타내어 생리활성 소재로 활발히 이용될 것 같지만 대부분 폐기되거나 미이용되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 감귤 가공과정 중에 대량 발생하는 가

\*Corresponding author: Seung-Hong Lee, Department of Pharmaceutical Engineering, Soonchunhyang University, Asan 31538, Republic of Korea

Tel: +82-41-530-4980

Fax: +82-41-530-3085

E-mail: seunghong0815@gmail.com

Received December 10, 2020; revised February 2, 2021;

accepted February 8, 2021

공부산물인 감귤피의 효과적인 산업적 이용 방안을 제시하기 위하여 식품용으로 상업화된 효소를 이용하여 감귤피 효소적 추출물을 제조하고, 이의 항비만 효과를 검증하여 비만예방 기능성 식품소재로서의 활용 가능성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 감귤피는 제주도에 소재한 (주)일해에서 감귤착즙액 제조공정에서 회수 후 열풍건조된 분말 시료를 제공받아 사용하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 배양하기 위해 사용된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), penicillin-streptomycin, phosphate-buffered saline (PBS), bovine calf serum (BCS), fetal bovine serum (FBS)은 Gibco BRL. (Grand Island, NY, USA)에서 구입하여 사용하였다. Oil Red O (ORO), 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), dexamethasone, insulin, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), formaldehyde는 Bio Basic Inc. (Markham, ON, Canada)에서 구입하여 사용하였다. Dimethyl sulfoxide (DMSO), isopropanol은 Junsei (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 또한 Western blot assay를 위해 1차 항체로 사용된 PPAR $\gamma$ , fatty acid binding-protein 4 (FABP4), C/EBP $\alpha$ 는 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA)에서 구입하여 사용하였다. SREBP-1과 GAPDH는 Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하였다.

### 감귤피 효소적 추출물(MPCE) 제조

감귤피의 효소적 추출은 Lee 등(2012)의 방법에 따라 추출하였다. 열풍건조된 감귤피 분말 시료를 증류수에 넣고 시료대비 효소 비율을 1%로 하여 상업용 당분해효소인 Celluclast (Novozyme Nordisk, Bagsvaerd, Denmark)를 첨가하여 효소의 반응 최적 조건(pH 4.5, 55°C)에서 24시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 3,000 $\times$ g에서 20분간 원심분리하여 잔사를 제거한 상층액을 취한 후 감압여과하였고, 여과된 효소적 추출물은 100°C의 항온수조에서 10분간 가열하여 효소 반응 불활성화를 진행하였다. 이후 효소적 추출물은 동결건조 후 분말화하여 실험에 사용하였다.

### 추출 수율 및 총 폴리페놀 함량 측정

추출 수율은 감귤피로부터 유효성분을 제조방법에 따라 획득한 다음 양을 %로 계산하였다. 감귤피 효소적 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Meda 등(2005)의 방법을 약간 변형한 Folin-Ciocalteu 방법에 준하여 수행하였다. 추출물 1 mL에 95% 에탄올 용액을 1 mL와 증류수 5 mL를 넣어 혼합한 후 50% Folin-Ciocalteu reagent (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) 0.5 mL를 넣고 5분간 반응시켰다. 여기에 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 1 mL를 가한 후 어두운 상태에서 1시간 동안 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 표준물질로 gallic acid를 사용하여 동일한 방법으로 작성된 표준 곡선으로부터 총 폴리페놀 함량으로 환산하였다.

### 3T3-L1 지방전구세포의 배양과 분화 유도

실험에 사용된 3T3-L1 전구지방세포는 American Type Culture Collection (ATCC, MD, USA)에서 분양 받았으며, 10% Bovine Calf Serum (BCS)과 1% antibiotics가 포함된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)를 사용하여 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건의 인큐베이터에서 배양하였다.

3T3-L1 지방전구세포 분화를 유도 하기 위해 먼저 세포 배양용 plate에서 10% BCS가 함유된 DMEM 배지로 confluent 상태까지 배양하였다(Day-2). 2일 후 다음과 같이 8일 동안 2일 간격으로 배지를 교체하면서 분화를 유도하였다. 분화 시작(Day 0)은 분화 유도 배지(MDI: DMEM containing 1% penicillin-streptomycin, 10% FBS, 0.5 mM IBMX, 0.25  $\mu$ M dexamethasone, 5  $\mu$ g/mL insulin)로 교체한 후 2일 동안 배양하였다. 분화 시작 2일 후, insulin을 포함한 10% FBS-DMEM 배지로 교체(Day 2)하여 2일간 더 배양하였다. 다시 10% FBS-DMEM 배지로 2일 간격으로 교체하여 4일동안 배양하여 지방전구세포 분화를 유도하였다(Day 8). MPCE의 지방전구세포 분화 억제 효과를 측정하기 위해 분화 유도 기간 동안(Day 0-6) 2일 간격으로 분화 유도 배지 교체와 함께 4회 농도별로 처리하였다.

### 세포 독성 평가

MPCE의 세포독성 측정과 더불어 실험에 사용될 농도를 결정하기 위하여 Lim 등(2014)의 방법에 따라 MTT assay를 실시하였다. 24-well plate에 3T3-L1 지방전구세포를 분주하고 confluent 상태까지 배양한 후 MPCE를 농도별로 처리하였다. 48시간 후 MTT 시약(2 mg/mL in PBS)을 처리하여 3시간 동안 37°C에서 반응시켰다. 이후 상층액을 완전히 제거하고 DMSO를 넣어 well에 생성된 formazan을 완전히 용해시킨 후, ELISA reader (Sunrise TW, Tecan Trading AG, Männedorf, Switzerland)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Oil red O (ORO) 염색과 triglyceride 함량 측정

3T3-L1 전구지방세포에서 MPCE가 adipogenesis 억제 활성이 있는지 확인하기 위하여 세포 내 지방 방울을 선택적으로 염색하는 ORO 염색을 실시하였으며 lipid accumulation (%)로 나타내었다. 분화가 완료된 3T3-L1 지방세포의 배지를 제거한 후 PBS로 세척하고 10% formalin을 첨가하여 1시간 동안 세포를 고정하였다. 고정된 세포를 증류수로 3회 세척 후 마지막으로 60% isopropanol로 세척하고 well을 완전히 건조시킨 후 ORO 용액(0.5 g in 100 mL isopropanol)으로 2시간 동안 염색을 실시하였다. 이후 염색 용액을 완전히 제거하고 증류수로 4회 세척한 후 광학현미경(Olympus D970; Olympus Optical Co., Tokyo, Japan)을 통해 지방 생성 및 염색 정도를 확인하였다. 정량적 분석을 위하여 100% isopropanol을 가하여 염색된 Oil red O를 완전히 용해시킨 후 ELISA reader (Sunrise TW, Tecan Trading AG, Männedorf, Switzerland)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포 내 생성된 중성지방 함량은 commercial triglyceride colorimetric assay kit (Item No. 10010303, Cayman Chemical, MI, USA)를 이용하여 제조사에 매뉴얼에 따라 측정하였다.

### Western blot assay

MPCE가 adipogenic transcription factor의 발현에 영향을 미치는지 알아보기 위해 Western blot assay를 실시하였다. 동일한 방법으로 준비된 세포를 ice cold-PBS로 2회 세척한 후 lysis buffer (20 mM Tris, 5 mM EDTA, 10 mM Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 100 mM NaF, 2 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 1% NP-40, 10 mg/mL Aprotinin, 10 mg/mL Leupeptin, 1 mM PMSF)로 1시간 동안 4°C에서 균질화하고 14,000 $\times$ g, 4°C에서 20분 동안 원심분리 하여 상층액을 분리하였다. 상층액의 단백질 농도를 Pierce<sup>TM</sup> BCA protein assay kit (Thermo Fisher Scientific, MD, USA)로 정량하여 30  $\mu$ g의 단백질을 10%의 sodium dodesyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-

PAGE)로 분리하고, nitrocellulose (NC) membrane으로 이동시켰다. NC membrane은 5% nonfat dry milk 함유 TBS-T (25 mM Tris-HCl, 137 mM NaCl, 2.65 mM KCl, 0.05% Tween 20, pH 7.4) 로 상온에서 2시간 동안 반응하여 비특이적인 단백질들에 대한 blocking을 실시하였다. 그 후, 1차 antibody (SREBP-1, FABP4, C/EBP $\alpha$ , PPAR $\gamma$ )를 blocking buffer 에 희석하여 4°C에서 overnight하였다. TBS-T로 20분간 3회 세척한 후 2차 antibody를 blocking buffer에 희석하여 실온에서 반응시켰다. TBS-T로 20분간 3회 세척하고 ECL 용액(Amersham, Arlington Heights, IL, USA)에 반응시켜 단백질의 발현 정도를 FusionCaptAdvance FX7 program (Vilber Lourmat, Australia) 분석하였다.

**통계처리**

데이터의 통계분석은 SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program을 이용하여 평균±표준편차로 나타내었고, 실험군 간의 평균값의 통계적 유의성은  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정을 실시하였다.

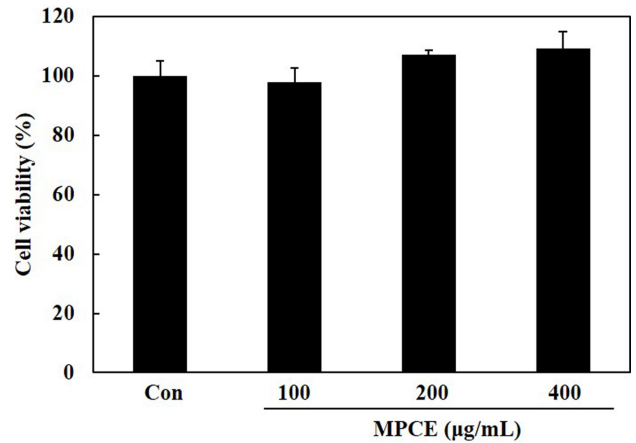
**결과 및 고찰**

**감귤피 효소적 추출물의 수율 및 총 폴리페놀 함량**

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과 등의 기능을 가진다고 보고되었다(Kim 등, 2000). 일반적으로 감귤류에는 다양한 폴리페놀 성분이 풍부하게 함유되어 있어 항산화, 항균, 항염증, 산화적 스트레스에 대한 세포 보호효과 등 다양한 생리활성 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Ahn 등, 2007; Hwang 등, 2013; Song 등, 2013; Wang 등, 2018). 전통적으로 식물에서 생리활성물질을 추출하기 위해 열수추출법이나 유기용매 추출법이 이용된다. 하지만 낮은 수율, 열에 약한 성분의 파괴, 제한적 수용성 물질의 추출, 환경 오염, 고비용 등의 단점과 문제점이 부각됨에 따라 새로운 추출방법에 대한 대안이 요구되고 있다(Ko 등, 2010). 최근 효소를 이용한 효소적 추출법은 천연물 유래 다양한 생리활성 물질을 효율적으로 추출하기 위해 적용되고 있으며 특히 열수추출 또는 유기용매 추출법에 비해 높은 수율, 친환경적 추출, 생리활성 성분 및 활성 증진 등과 같은 많은 장점을 가진다고 보고되고 있다(Ko 등, 2010; Lee 등, 2012; Lee 등, 2015). 따라서 본 연구에서는 감귤피의 산업적 이용성 및 유용성을 증대시키기 위하여 식품용으로 상업화된 효소를 적용하여 감귤피 효소적 추출물을 제조하였다. 감귤피 효소적 추출물의 추출 수율은 30.48%로 나타났고 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과 78.64 mg/g으로 나타났다. Hwang 등(2013)의 연구에서 대표적인 감귤류인 영귤, 천혜향, 진귤, 온주밀감 등의 과피를 80% 메탄올로 추출하여 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과 20.4-30.6 mg/g으로 보고하였는데, 본 연구결과와 비교하여 2배 이상 낮은 함량을 나타내었다. 이는 유기용매 추출물에 비해 효소적 추출물이 더 많은 폴리페놀을 함유하고 있다는 것을 의미하며, 감귤피로부터 폴리페놀과 같은 유효성분을 추출하는데 있어 효소적 추출법이 더 유용할 것으로 판단된다.

**감귤피 효소적 추출물(MPCE)이 세포 생존율에 미치는 영향**

3T3-L1 전구지방세포에서 MPCE의 세포 독성과 실험에 사용할 적정 농도를 결정하기 위해 MTT assay를 실시하였다. 100-



**Fig. 1. Effect of MPCE on cell viability of 3T3-L1 preadipocytes treated for 48 h.** The cell viability was measured using an MTT assay. The values are expressed as the mean±SD in triplicate experiments.

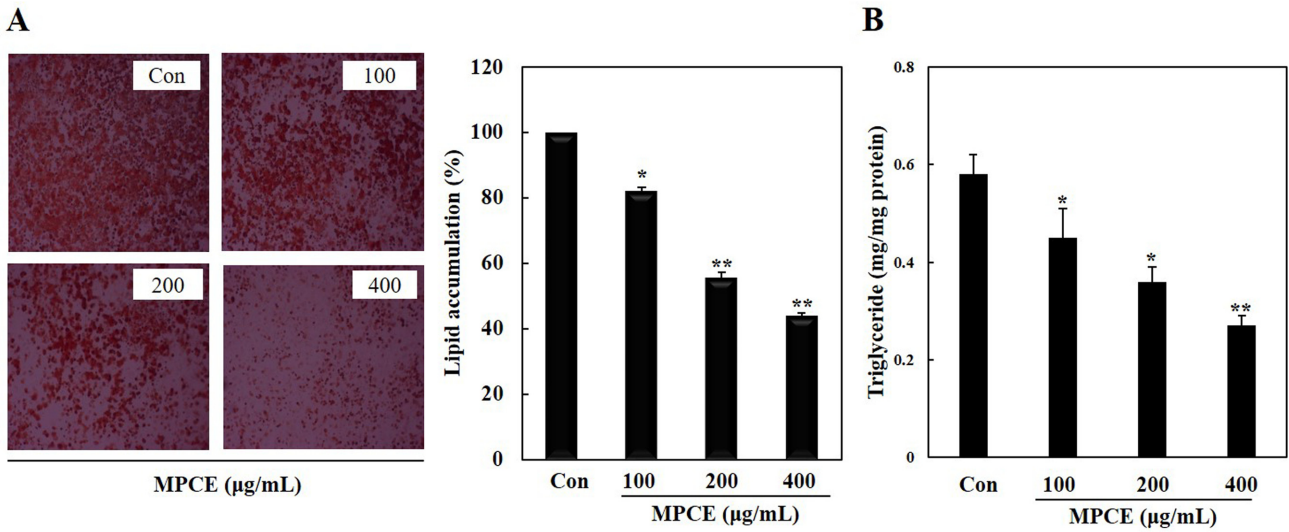
400 µg/mL의 농도로 MPCE를 처리한 후 48시간 후에 세포 생존율을 측정된 결과, 모든 처리 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았다(Fig. 1). 따라서 본 실험에서는 세포 독성을 보이지 않은 400 µg/mL 농도까지를 실험조건으로 설정하여 이후의 실험을 진행하였다.

**감귤피 효소적 추출물(MPCE)의 adipogenesis 및 세포 내 triglyceride 생성 억제에 미치는 영향**

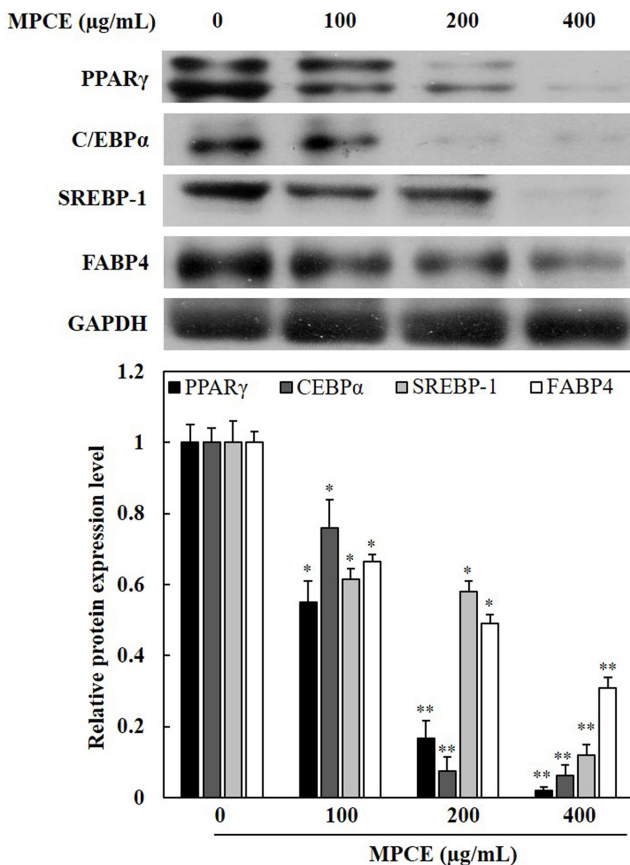
지방전구세포는 다양한 호르몬과 전사인자들에 의해 지방세포로 분화되면서 세포 내 지방을 생성하고 축적한다(Hwang 등, 2019). Oil red O 염색은 지방세포 내 축적된 지방을 붉은색으로 염색을 통하여 지방의 축적 정도를 확인 할 수 있다. 따라서 3T3-L1 전구지방세포에서 MPCE가 지방세포 분화 억제에 미치는 영향을 알아보기 위해 Oil red O 염색을 통해 확인하였다. Fig. 2A에 나타낸 바와 같이 MPCE 처리하지 않고 분화를 유도하였을 때 지방축적이 현저하게 형성되는 것으로 관찰되었다. 하지만 MPCE 처리군에서 농도 의존적으로 지방 축적이 유의하게 억제되는 것을 확인하였다. 또한 세포 내 중성지방 함량을 측정된 결과 MPCE 처리군에서는 대조군에 비해 세포 내 중성지방의 함량을 감소시켰다(Fig. 2B). 이러한 결과는 MPCE가 전구지방세포에서 지방세포로 분화되는 과정 억제 효과를 통해 중성지방 축적을 효과적으로 감소시킬 수 있음을 나타낸다. 최근 많은 연구에 의하면 식물 유래 폴리페놀 성분이 adipogenesis 과정에 관여하는 핵심 전사인자들의 발현 조절을 통해 지방세포 분화 및 지방축적을 억제한다고 보고하였다(Hsu과 Yen, 2007; Kim 등, 2018; Moon 등, 2007). 따라서 MPCE의 지방세포 분화 억제능은 MPCE 내에 함유되어 있는 폴리페놀 성분으로부터 기인된 것으로 판단된다.

**감귤피 효소적 추출물(MPCE)의 adipogenesis 관련 전사인자의 발현에 미치는 영향**

지방전구세포가 지방세포로 성숙되는 과정(adipogenesis)에는 여러가지 전사인자, 호르몬, 단백질 등이 관여한다고 알려져 있다(Rosen 등, 2009). 특히 C/EBP $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , SREBP-1 등은 adipogenesis 과정에 관여하는 중요한 전사인자로 가장 핵심적인 기능을 담당한다고 알려져 있다(Rosen 등, 1999). SREBP-1은 지방 합성에 조절에 결정적인 역할 뿐만 아니라 fatty acid synthase



**Fig. 2.** The effect of MPCE on intracellular lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes. Lipid accumulation was determined by the measurement of Oil Red O staining (A) and triglyceride levels (B). The values are expressed as the mean±SD in triplicate experiments. Significant differences from the untreated group were identified at \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$ .



**Fig. 3.** The effect of MPCE treatment on the expression of adipogenesis-specific proteins in 3T3-L1 adipocytes. The 3T3-L1 preadipocytes were incubated in differentiation medium with or without the indicated concentrations of MPCE for 8 days (from day 0 to day 8). Values are expressed as the mean±SD in triplicate experiments. Significant differences from the untreated group were identified at \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$ .

(FAS), acetyl-CoA carboxylase (ACC) 등의 발현을 조절하여 지방산과 중성지방의 합성을 담당하는 전사인자로 C/EBPα와 PPARγ 조절에도 중요하게 관여한다(Horton 등, 2002). FABP4는 지방세포 분화 후기 단계에 관여하는 인자로 지방세포로의 분화를 완성하는데 중요한 역할을 담당한다(Seo, 2015). 따라서 이러한 adipogenic transcription factor의 발현 조절을 통해 지방전구세포의 분화를 억제하는 것은 항비만 연구에서 중요한 작용기전으로 여겨진다(Wang과 Hai, 2015). MPCE가 adipogenesis 과정에 관여하는 전사인자들의 발현에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위해 Western blot assay를 실시하였고 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. MDI를 처리하여 분화를 유도하였을 때, adipogenic transcription factor인 C/EBPα, PPARγ, SREBP-1, FABP4의 발현이 현저하게 증가하는 것으로 나타났으나, 분화 유도 과정 중에 MPCE를 처리하였을 때는 농도 의존적으로 전사인자들의 발현을 유의적으로 감소시킴을 확인하였다. 이와 같은 결과는 MPCE가 SREBP-1의 발현을 억제함으로써 하위인자인 C/EBPα와 PPARγ의 발현에 영향을 준 것으로 판단된다. 이러한 모든 결과들을 통해 MPCE는 adipogenic transcription factor의 발현을 효과적으로 억제하여 지방세포 분화 및 지방축적이 감소되는 것을 확인하였다.

### 요 약

본 연구는 감귤 가공공정 중에 발생하는 가공부산물인 감귤피의 산업적 이용성 및 유용성을 증대시키고자 효소적 추출법을 적용하여 추출물을 제조하고 항비만 활성을 측정하였다. 감귤피 효소적 추출물(MPCE)의 폴리페놀 함량은 이전의 연구에서 보고한 유기용매 추출물보다 높은 함량을 나타내었다. MPCE의 항비만 활성을 알아보기 위해 지방세포 분화억제에 미치는 영향을 확인한 결과 MPCE는 농도 의존적으로 지방세포의 분화 및 지방축적을 감소시켰으며 이는 세포독성에 의한 것이 아님을 세포생존율 측정을 통해 확인하였다. 또한 MPCE는 adipogenesis 관련 전사인자인 C/EBPα, SREBP-1, PPARγ, FABP4의 단백질 발현을 감

소시켰다. 이러한 결과들을 통해 MPCE는 adipogenesis 관련 전사인자의 단백질 발현 억제하여 지방세포의 분화 및 지방축적을 억제하였으며, 이를 통해 항비만 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다. 따라서 MPCE는 비만 예방 효능을 가진 기능성 식품 소재로서의 활용 가치가 있는 것으로 판단되며, 보다 명확한 항비만 효능을 확인하기 위해 추후 동물 실험 등에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

### 감사의 글

본 연구는 중소벤처기업부와 한국산업기술진흥원의 “지역특화 산업육성+(R&D, S2877127)” 사업의 지원을 받아 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

### References

- Ahn MS, Kim HJ, Seo MK. A study on the antioxidative and antimicrobial activities of the *Citrus Unshju* peel extracts. *J. Korean Soc. Food Cult.* 22: 454-461 (2007)
- Cefalu WT, Ye J, Wang ZQ. Efficacy of dietary supplementation with botanicals on carbohydrate metabolism in humans. *Endocr. Metab. Immune Disord.-Drug Targets* 8: 78-81 (2008)
- Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J. Clin. Invest.* 109: 1125-1131 (2002)
- Hsu CL, Yen GC. Effects of flavonoids and phenolic acids on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *J. Agric. Food Chem.* 55: 8404-8410 (2007)
- Hwang DI, Choi IH, Kim DY, Park SM, Kim HB, Li YL, Lee HM. Inhibitory effects of *Chrysanthemum boreale* makino on 3T3-L1 preadipocyte differentiation and down-regulation of adipogenesis and lipogenesis. *J. Life Sci.* 29: 332-336 (2019)
- Hwang JH, Park KY, Oh YS, Lim SB. Phenolic compound content and antioxidant activity of citrus peels. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 153-160 (2013)
- Hyon JS, Kang SM, Senevirathne M, Koh WJ, Yang TS, Oh MC, Oh CK, Jeon YJ, Kim SH. Antioxidative activities of extracts from dried *Citrus sunki* and *C. unshiu* peels. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1-7 (2010)
- Kang MC, Ding Y, Kim EA, Choi YK, de Araujo T, Heo SJ, Lee SH. Indole derivatives isolated from brown alga *Sargassum thunbergii* inhibit adipogenesis through AMPK activation in 3T3-L1 preadipocytes. *Mar. Drugs* 15: 119-129 (2017)
- Kim NH, Jegal J, Kim YN, Heo JD, Rho JR, Yang MH, Jeong EJ. Chokeberry extract and its active polyphenols suppress adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and modulates fat accumulation and insulin resistance in diet-induced obese mice. *Nutrients*. 10: 1734 (2018)
- Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 1127-1132 (2000)
- Kim HK, Kim JN, Han SN, Nam JH, Na HN, Ha TJ. Black soybean anthocyanins inhibits adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Nutr. Res.* 32: 770-777 (2012)
- Ko SC, Kang SM, Ahn G, Yang HP, Kim KN, Jeon YJ. Antioxidant activity of enzymatic extracts from *Sargassum coreanum*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 494-499 (2010)
- Lee WJ, Koh EH, Won JC, Kim MS, Park JY, Lee KU. Obesity: the role of hypothalamic AMP-activated protein kinase in body weight regulation. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37: 2254-2259 (2005)
- Lee SH, Park MW, Han JS, Jeong Y, Kim M, Jeon YJ. Bioactive compounds extracted from Gamtae (*Ecklonia cava*) by using enzymatic hydrolysis, a potent  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitor, alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice. *Food Sci. Biotechnol.* 21: 1149-1155 (2012)
- Lee SH, Yang HW, Ding Y, Wang Y, Jeon YJ, Moon SH, Jeon BT, Sung SH. Anti-inflammatory effects of enzymatic hydrolysates of velvet antler in Raw 264.7 cells *in vitro* and zebrafish model. *EXCLI J.* 14: 1122-1132 (2015)
- Lim H, Seo J, Chang YH, Han BK, Jeong JK, Park SB, Choi HJ, Hwang J. Anti-obesity effects of Jeju Hallabong tangor (*Citrus kiyomi* X *ponkan*) peel extracts in 3T3-L1 adipocytes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 1688-1694 (2014)
- Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 9: 571-577 (2005)
- Moon HS, Chung CS, Lee HG, Kim TG, Choi YJ, Cho CS. Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate on lipid accumulation of 3T3-L1 cells. *Obesity* 15: 2571-2582 (2007)
- Park CH, Rhyu DY, Sharma BR, Yokozama T. Inhibition of preadipocyte differentiation and lipid accumulation by 7-O-galloyl-dsodeheptulose treatment in 3T3-L1 adipocytes. *Biomed. Prev. Nutr.* 3: 319-324 (2013)
- Rayalam S, Della-Fera MA, Baile CA. Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J. Nutr. Biochem.* 19: 717-726 (2008)
- Rosen E, Eguchi J, Xu Z. Transcriptional targets in adipocyte biology. *Expert Opin. Ther. Targets* 13: 975-986 (2009)
- Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS, Spiegelman BM, Mortensen RM. PPAR is required for differentiation of adipose tissue *in vivo* and *in vitro*. *Mol Cell.* 4: 611-617 (1999)
- Seo EY. Effects of (6)-gingerol, ginger component on adipocyte development and differentiation in 3T3-L1. *J Nutr Health* 48: 327-334 (2015)
- Seo J, Lim H, Chang YH, Park HR, Han BK, Jeong JK, Choi KS, Park SB, Choi HJ, Hwang J. Effects of Jeju *Citrus unshiu* peel extracts before and after bioconversion with cytolase on anti-inflammatory activity in RAW264.7 Cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 44: 331-337 (2015)
- Song YW, Moon KS, Cho Kim S. Antioxidant activity and nutrient content of ethanol and hot-water extracts of *Citrus unshiu* pomace. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 1345-1350 (2013)
- Wang X, Hai C. Redox modulation of adipocyte differentiation: hypothesis of “Redox Chain” and novel insights into intervention of adipogenesis and obesity. *Free Radic. Biol. Med.* 89: 99-125 (2015)
- Wang L, Lee WW, Yang HW, Ryu BM, Cui YR, Lee SC, Lee TG, Jeon YJ. Protective effect of water extract of citrus pomace against AAPH-induced oxidative stress *in vitro* in Vero cells and *in vivo* in zebrafish. *Prev Nutr Food Sci* 23: 301-308 (2018)
- World Health Organization (WHO). Obesity. Available from: <https://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/6-facts-on-obesity>. Accessed Feb. 10, 2020.