



저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

工學碩士 學位論文

지충이 추출물의
Lipase 및 α -Amylase 저해활성



2010年 2月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

李 蕭 晶

工學碩士 學位論文

지충이 추출물의
Lipase 및 α -Amylase 저해활성

指導教授 安 東 賢

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함



2010年 2月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

李 蕭 晶

李蕭晶의 工學碩士 學位論文을 認准함

2010年 2月 25日



주 심 농학박사 김 선 봉 ㉠

위 원 공학박사 전 병 수 ㉠

위 원 농학박사 안 동 현 ㉠

목 차

Abstract	1
서 론	4
재료 및 방법	
1. 실험재료	
1-1. 재료	8
1-2. 시약	8
2. 추출	8
3. 효소활성측정	
3-1. Lipase 저해활성	11
3-2. α -Amylase 저해활성	11
4. 열 및 pH 처리	
4-1. 열 처리	12
4-2. pH 처리	12
5. 감마선 조사	12
6. 통계처리	13
7. 지층이 추출물의 용매별 분획물 제조	13

결과 및 고찰

1. 해조류 추출물의 수율	15
2. 효소저해활성	
2-1. 추출용매에 따른 해조류 추출물의 효소저해활성	15
2-2. 지층이 추출물의 효소저해활성	
2-2-1. Lipase 저해활성	20
2-2-2. α -Amylase 저해활성	22
3. 지층이 추출물의 효소저해활성에 대한 열, pH 및 감마선 조사의 영향	
3-1. 열 안정성	26
3-2. pH 안정성	30
3-3. 감마선 조사에 대한 안정성	33
4. 지층이 용매별 분획물의 효소저해활성	
4-1. Lipase 저해활성	37
4-2. α -Amylase 저해활성	39
요 약	44
참 고 문 헌	46

Lipase and α -Amylase Inhibitory Activity of *Sargassum thunbergii* Extracts

So-Jeong Lee

Department of Food Science and Technology,
Graduate School, Pukyong National University

Abstract

Diabetes and obesity are the most serious and chronic disease of the general population over the world. One therapeutic approach for the prevention of diabetes and obesity has being made to investigate potential inhibitor against lipase and α -amylase from natural sources. This study was performed to investigate the inhibitory activity against lipase and α -amylase to elucidate the possible use of seaweed extracts as an anti-obese and anti-diabetic agent. So, we measured lipase and α -amylase inhibitory activity from 21 species of seaweed extracts. As a result, *Enteromorpha intestinalis*, *Porphyra yezoensis* and *Sargassum thunbergii* ethanol extract showed 58, 49 and 37% lipase inhibitory a

ctivity and *Sargassum thunbergii*, *Sargassum siliguastrum* ethanol extract showed 69 and 60% α -amylase inhibitory activity. These results suggest that *Sargassum thunbergii*(ST), a brown algae, evidenced prominent inhibitory activity against lipase and α -amylase. In the inhibitory test, ST ethanol extract showed 37, 19 and 16% lipase inhibitory activity, and the α -amylase inhibitory activity of 69, 54 and 33% at concentrations of 5, 2.5 and 1 mg/mL. In order to study the changes in enzyme inhibitory activity by heat, pH and γ -irradiation, ST ethanol extract was carried out by heat, pH and γ -irradiation(3-20 kGy) test. In the heat treatment, all treatments were increased than the untreated. In the pH treatment, stable activity showed range to pH 4-8. And ST extract was no significant changes by γ -irradiation. ST ethanol extract was separated into five different partition layers, n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol and water layer, by solvent extraction. As a result of enzyme inhibitory activity for each obtained fractions, out of four different partition layers excepted water layer showed higher activity than ethanol extract. Especially, chloroform fraction exhibited the strongest lipase inhibitory activity of 63% at a concentration of 2.5 mg/mL. α -Amylase inhibitory activity showed also higher value than acarbose(positive control) in

chloroform fraction. Therefore can be used ST extract as the natural inhibitor of anti-diabetic and anti-obesity.



서론

생명체 내에서 일어나는 대사 작용이나 물질 분해 및 합성 등 대부분의 생명 활동이 효소 작용에 의하여 일어나며 각종 효소가 정상적으로 작용하지 않거나 과도하게 작용할 경우 여러 가지 질병의 원인이 되기도 한다. 이러한 효소의 작용에 대한 조절은 촉진과 저해의 두 가지로 구분되며 현재 심각한 사회적 문제가 되고 있는 당뇨병, 비만, 고혈압 등 많은 질병 치료에 쓰이고 있는 의약품의 상당수가 효소 작용을 저해함으로써 효과를 나타내고 있다(이종수, 2006; Hwang et al., 2007). 2005년 국민건강·영양조사에 의하면 우리나라 20세 이상 성인의 31.8%가 비만인 것으로 나타나 1995년도의 14.8%에 비하여 10년 동안 두 배 이상 증가되었다. 이러한 증가는 매년 지속되고 있으며 정부의 국민건강증진종합계획에서는 2010년까지 성인 비만율을 30% 수준으로 유지하는 것을 주요 목표로 설정하고 있는 실정이다(보건복지부, 2005). 비만은 자체가 갖는 문제점 뿐만 아니라 당뇨, 심혈관 질환 등의 합병증을 유발할 수 있기 때문에 더욱 문제가 되고 있으며, 세계보건기구(World Health Organization, WHO)에서는 비만을 세계적인 영양문제로 다루어 건강을 해치는 단순 위험 인자가 아닌 치료해야 할 질병으로 인식하고 있다(Lee et al., 2008). 비만은 유전적, 영양적, 환경적 및 사회적으로 다양한 원인들이 관여하는 복잡한 증후군으로 에너지 섭취가 에너지 소비를 능가하여 잉여 에너지가 지방조직에 지방으로 축적될 때 발생한다. 비만과 관련된 효소인 lipase는 췌장에서 분비되

어 triglyceride의 ester결합을 가수분해하는 효소로서 글리세롤과 지방산을 생성한다. 분해된 글리세롤과 지방산은 소장의 점막 세포에서 흡수되어 에너지원으로도 사용되지만 에너지원으로 사용되지 못하고 남은 지방은 체내에 축적된다. 비만의 관점에서 본다면 지방 흡수를 억제하여 체내에 축적되는 양을 줄여야 비만을 예방할 수 있다(Kim et al., 2003). 반면, 당뇨병은 인슐린 작용 또는 인슐린 분비의 이상으로 인하여 발생하는 대사 장애 증후군으로 세계보건기구 조사결과, 2025년에는 전 세계 당뇨병 환자의 수가 3억 명 이상일 것으로 예측되고 있으며 인슐린을 비롯하여 글루카곤, 글루코코르티코이드 등 호르몬의 불균형으로 생리적 대사조절기능에 이상이 발생하여 고혈당 증세가 나타나고 증상이 지속되면서 망막, 신장, 신경, 심혈관계 등에서 심각한 합병증을 유발시키는 만성적인 질병이다(Choi et al., 2008). 당뇨 및 비만과 관련된 효소인 amylase는 녹말이나 글리코젠 등의 글루코오스 사슬을 안쪽에서부터 규칙성 없이 절단하여 섭취된 다당류를 말토오스가 주성분이 되도록 분해하여 소화되기 쉽게 한다. 따라서 당뇨 및 비만의 관점에서 본다면, 섭취된 다당류의 가수분해를 저해함으로써 과잉으로 섭취한 탄수화물의 체내 흡수를 줄여주어 비만 및 당뇨를 예방할 수 있다(Kim et al., 2003). 이에 식품·의약품 업계에서는 이러한 효소 작용의 억제를 통한 당뇨병과 비만의 예방 및 치료를 위한 건강기능성 식품과 의약품 개발에 대한 연구가 활발히 진행 중에 있다(Kim et al., 2006). 현재까지 수종의 lipase와 α -amylase 저해제가 의약품으로 개발되어 사용되고 있으나 이들은 억제 효과는 크나 지속적인 복용에 따른 설사와

복통 등의 부작용을 동반하는 것이 문제점으로 지적받고 있다(Lim et al., 2005). 이처럼 당뇨병 및 비만의 발생률 증가와 소비자들의 합성 의약품에 대한 기피현상의 증대는 소비자들로부터 식이가 가능하고 안전성이 확보된 천연물 유래의 식품 및 신약 개발에 대한 관심의 증대로 귀결되고 있다. 현재까지 알려진 항당뇨 및 항비만 관련 물질로는 길경(Lee et al., 2008), 가지(Kim et al., 2006), 차(tea)류(Nakai et al., 2005), 포도씨(Moreno et al., 2003) 등의 육상식물이 주를 이루고 있다. 한편, 우리나라의 경우 연근해에 다양한 해양생물이 서식하고 있음에도 불구하고 해양생물에 대한 효소저해제에 대한 연구는 미미한 실정이다. 해양생물 중 해조류는식이성 섬유소인 다당류를 다량 함유하고 있을 뿐 아니라 비타민과 무기질이 풍부한 알칼리성 식품으로 산성식품의 소비가 많은 현대인의 생체 균형을 유지시켜주며 항암(Lee et al., 2005), 항균(Lee et al., 2008), 항산화(Cho et al., 2007) 및 항당뇨(Lee et al., 2008) 등 다양한 생리활성을 가지고 있는 것이 알려지고 있다. 그러나 이러한 장점에도 불구하고 김, 미역, 다시마, 파래 등의 소수의 종만이 일반 식품으로 그대로 이용되고 있을 뿐, 해조류에 함유된 고유의 기능성 성분에 대한 활용은 육상식물에 비해 비교적 낮은 편이다(Cho et al., 2008). 그러나 최근에는 다양한 해조류로부터 기능성을 밝히고 이를 식품 및 화장품 신소재로 활용하고자하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 현재까지 보고된 바에 의하면 효소저해제로서 활성을 갖는 해조류에는 *Ecklonia cava*, *Ecklonia stolonifera* 및 *Ishige okamurae*로부터 분리된 phlorotannin류(Lee et al., 2009; Iwai,

2008; Heo, 2009), 홍조류인 *Grateloupia elliptica*에서 분리된 bromophenol류(Kim et al., 2008), *Eisenia Bicyclis*(Cho et al., 2008), *Laminaria japonica* 유래의 다당류인 fucoidan(Park et al., 2007) 등이 보고되고 있으나 광대한 자원에 비해 연구는 극히 일부분에 불과하다. 한편, 지충이(*Sargassum thunbergii*)는 갈조식물(Phaeophyta) 모자반과(Sargassaceae)에 속하며 우리나라 전 연안에서 흔히 볼 수 있는 해조류로서 조간대 하부에 서식하며 어린식물은 사료로 사용되고 있으나 크게 주목받지 못하고 있는 자원으로 향산화(Choi et al., 2006), 항염증(Kang et al., 2008) 및 항균(Lee et al., 2009) 등의 생리활성에 대한 연구와 분리된 물질들(Park et al., 2004; Seo et al., 2007)에 대해 일부 보고되고 있을 뿐 효소저해제에 대한 연구는 보고된 적이 없었다.

따라서 본 연구에서는 지충이 추출물의 lipase 및 α -amylase 저해활성을 측정하여 탄수화물과 지방 흡수 억제를 통한 당뇨 및 비만 개선을 위한 식품소재 및 건강기능식품으로 사용 가능성에 대해 연구하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1-1. 재료

본 실험에서 사용한 해조류는 부산 인근 해안에서 채취하여 담수로 깨끗이 씻은 후, 동결건조하여 잘게 분쇄시켜 -20°C 에서 저장하면서 실험에 사용하였다.

1-2. 시약

Lipase from porcine pancreas, α -amylase from porcine pancreas, MOPS(morpholinepropanesulphonic acid), *p*-nitro-phenyl butyrate, dextrin from potato starch, 3, 5-dinitro-salicylic acid(DNS), potassium sodium tartrate tetrahydrate는 Sigma사에서 구입하였고, 2-Amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol[Tris(hydroxymethyl)aminomethane]는 Wako사에서 구입하여 사용하였다.

2. 추출

건조 분쇄된 분말상태의 해조류를 95% 에탄올로 추출한 후 잔사에 다시 물을 첨가하여 물 추출물을 추출하였다. 먼저 시료에 10배량의 95% 에탄올을 가하여 실온에서 Shaker(Dongwon Science Co., Busan, Korea)를 이용하여 24시간 추출한 후 원심분리기(UNION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)로 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 취한 후 남은 잔사는 전과 동일한 방법으로 2회

반복 추출하였다. 에탄올 추출 후 남은 잔사는 37℃에서 건조하여 물 추출에 사용하였다. 물 추출물은 건조된 잔사에 10배량의 증류수를 가하여 에탄올과 동일하게 3회 반복 추출하여 취하였다. 상층액은 여과지로 여과한 후 rotary evaporator(RE200, Yamato Co., Tokyo, Japan)로 농축하고 37℃에서 건조하였다. 건조된 시료는 -20℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다.



Table 1. Samples used in this study

Scientific name	Korean common name
<i>Ecklonia stolonifera</i>	곰피
<i>Sargassum thunbergii</i>	지충이
<i>Eisenia bicyclis</i>	대황
<i>Undaria pinnatifida</i>	미역
<i>Laminaria japonica</i>	다시마
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	과래
<i>Porphyra yezoensis</i>	김
<i>Sargassum siliguastrum</i>	파배기모자반
<i>Sargassum confusum</i>	알송이모자반
<i>Sargassum micracanthum</i>	잔가시모자반
<i>Sargassum horneri</i>	팽생이모자반
<i>Sargassum fulvellum</i>	모자반
<i>Myagropsis myagroides</i>	외톨개모자반
<i>Sargassum sagamianum</i>	비틀대모자반
<i>Sargassum hemiphyllum</i>	짹잎모자반
<i>Sargassum muticum</i>	몽당잎모자반
<i>Corallina pilulifera</i>	작은구슬산호말
<i>Lomentaria catenata</i>	마디잘록이
<i>Dictyopteris prolifera</i>	가시뻘대그물말
<i>Rhodymenia intricata</i> Okamura	두갈래분홍치
<i>Meristotheca papulosa</i>	갈래곰보
<i>Dictyota dichotoma</i>	참그물바탕말

3. 효소저해활성 측정

3-1. Lipase 저해활성

Porcine pancreatic lipase 0.3 mg에 10 mM MOPS and 1 mM EDTA (pH 6.8) 30 μ L를 분주하고 100 mM Tris-HCl and 5 mM CaCl_2 (pH 7.0) 850 μ L를 첨가하여 enzyme buffer를 준비하였다. Enzyme buffer에 시료 100 μ L를 첨가하여 37°C에서 15분간 반응시켰다. 반응 후 10 mM p-NPB 20 μ L를 첨가하여 혼합시켜 다시 37°C에서 15분간 반응시켰다. p-NPB가 p-nitrophenol로 가수분해된 정도를 UV/visible spectrophotometer(GENESYS 10 UV, Rochester, NY., USA)로 400 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = 100 \times [1 - (A - B) / C]$$

A: 시료를 첨가한 흡광도

B: 효소를 첨가하지 않은 흡광도

C: 시료를 첨가하지 않은 흡광도

D: 효소와 시료를 첨가하지 않은 흡광도

3-2. α -Amylase 저해활성

Porcine pancreatic amylase를 16 unit/mL 농도로 만든 후, 초순수와 시료가 든 튜브에 효소를 200 μ L 첨가하여 25°C에서 5분간 반응시켰다. 5분 후, 0.5 % starch를 400 μ L 분주하여 다시 3분간 반응시키고 200 μ L 취하여 발색시약 100 μ L와 혼합시킨 후 85°C에서 15분간 반응시켰다. 반응이 끝나면 초순수 900 μ L를 첨가하여

효소 반응을 중지시키고 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = 100 \times [A \times 100 / B]$$

A: 시료 흡광도

B: 시료를 첨가하지 않은 흡광도

4. 열 및 pH 처리

4-1. 열 처리

시료를 적당한 농도로 희석한 후 60℃에서 10, 30 및 60분, 80℃와 100℃에서 각각 10과 20분, 121℃ 15분간 열처리한 후 급냉하였다. 이를 4℃에서 보관하여 실험에 사용하였다.

4-2. pH 처리

시료를 적당한 농도로 희석한 후 pH를 측정하고 0.1 N NaOH와 0.1 N HCl을 이용하여 pH 2, 4, 6, 8 및 10으로 조절한 후 상온에서 24시간 동안 방치하였다. 24시간 후 시료를 본래의 pH로 중화시킨 후 실험에 사용하였다.

5. 감마선 조사

한국 원자력 연구원 방사선 과학연구소에 있는 감마선 조사시설에서 100,000 Ci ^{60}Co 을 선원으로 이용하여 실온에서 시간당 일정 선량률로 추출물 5 mg/mL 농도에 각각 3, 7 및 20 kGy의 흡수선량을 얻도록 조사하였다. 감마선 조사한 시료는 4℃ 냉장보관하면서

실험에 사용하였다.

6. 통계처리

실험 결과의 통계처리는 각각의 시료에 대한 평균±표준편차로 나타내었다. SAS Program을 이용하여 분산분석을 실시하여 조사 항목들 간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정법으로 $p < 0.05$ 수준에서 실시하였다.

7. 지층이 추출물의 용매별 분획물 제조

지층이 에탄올 추출물을 Fig. 1과 같이 용매별 분획물을 얻었다. 즉, 지층이 에탄올 추출물을 10배량의 증류수에 현탁한 후, 180 rpm에서 1시간 동안 Shaker(Dongwon Science Co., Busan, Korea)에서 교반하고 증류수와 동량의 n-hexane을 가하여 다시 180 rpm에서 1시간동안 교반한 후 상층액을 취하여 여과, 감압 농축(RE200, Yamato Co., Tokyo, Japan)하여 n-hexane층을 얻었다. 이와 동일한 방법으로 2반복하여 n-hexane 분획물을 얻었으며 chloroform은 3반복, ethyl acetate와 butanol은 2반복하여 극성을 높여가면서 순차적으로 용매별 분획물을 얻었다.

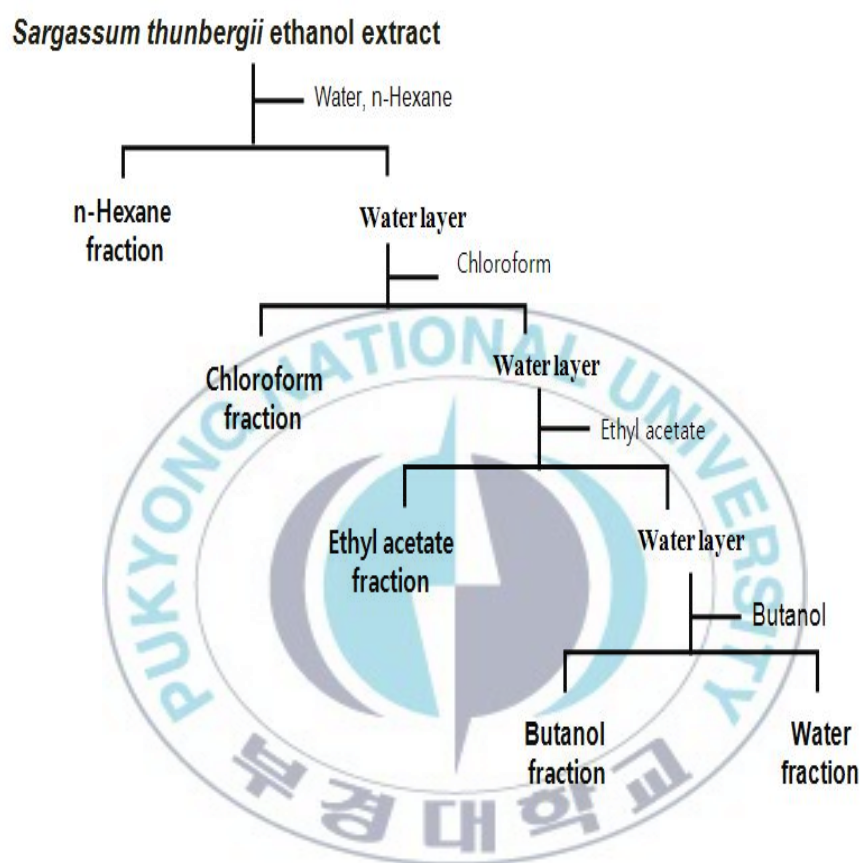


Fig. 1. Procedure for the solvent fraction of ethanol extract from *Sargassum thunbergii*.

결과 및 고찰

1. 해조류 추출물의 수율

추출하는 용매의 종류와 추출 방법에 따라 천연물 활성과 수율은 크게 달라진다. 또한 천연물을 산업에 적용함에 있어서 추출 수율은 경제성에 큰 영향을 미치므로 중요시 되는 부분이다. 뿐만 아니라 이는 물질의 분리 정제에도 큰 영향을 주기 때문에 추출물의 수율은 중요한 요소로 작용한다. 따라서 우리나라 연안에서 수집한 해조류를 에탄올과 물로 추출한 후, 수율을 측정한 결과를 Table 2에 나타내었다. 해조류의 수율을 보면 곰피, 파래기모자반, 다시마는 물을 용매로 사용하였을 때 수율이 월등하게 높았으며 전반적으로 에탄올보다 물 추출물에서 수율이 더 높은 것을 볼 수 있다. 이는 물의 극성이 1로 에탄올의 0.88 보다 극성이 높아 극성용매에 추출되는 성분들이 더 잘 용출되어 수율이 높은 것으로 사료된다.

2. 효소저해활성

2-1. 추출용매에 따른 해조류 추출물의 효소저해활성

항당뇨 및 항비만 소재로서 해조류의 효소저해활성을 알아보기 위하여 에탄올과 물로 추출한 해조류 추출물들에 대해 lipase 및 α -amylase 저해활성을 알아보았다. 5 mg/mL 농도로 측정한 결과, lipase 저해활성은 에탄올 추출물에서는 파래 및 김이 각각 58과 49%의 저해활성을 보였고 물 추출물에서는 전반적으로 에탄올 추출물에 비해 낮은 저해활성을 보였다(Table 3). α -Amylase 저해활성

은 지충이 및 파배기모자반 에탄올 추출물에서 69와 60%의 높은 저해활성을 보였으며 물 추출물에 비해 에탄올 추출물이 전반적으로 높은 저해활성을 보였다(Table 4). 이처럼 에탄올과 물 추출물에서 효소 저해활성이 차이가 나는 결과는 해당노 물질로 알려진 바나바 잎 추출물이 추출용매에 따라 활성이 차이가 난다고 보고한 Kim 등 (2008)의 연구와 일치하는 결과이다. 일반적으로 물 추출물에는 친수성 물질들이 추출되며, 에탄올 추출물에는 유기용매에 추출되는 소수성 물질과 가용성인 친수성 물질이 모두 추출된다. 따라서 에탄올 추출물에서 활성이 전반적으로 높은 것은 lipase 및 α -amylase 저해에 관여하는 성분이 에탄올에서 용출이 잘 되는 소수성 물질이기 때문으로 사료된다. 이상의 해조류의 용매별 추출물의 screening 결과를 바탕으로 전반적으로 높은 lipase 및 α -amylase 저해활성을 갖는 해조류로 지충이를 선정하여 실험을 진행하였다.

Table 2. Yield of ethanol and water extracts from seaweeds

(unit : %)

	Ethanol	Water
<i>Ecklonia stolonifera</i>	4.04	26.00
<i>Sargassum thunbergii</i>	8.47	13.30
<i>Eisenia bicyclis</i>	11.62	21.60
<i>Undaria pinnatifida</i>	13.13	36.09
<i>Laminaria japonica</i>	11.37	21.7
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	6.7	26.3
<i>Porphyra yezoensis</i>	3.32	18.4
<i>Sargassum siliguastrum</i>	5.51	22.22
<i>Sargassum confusum</i>	12.29	10.33
<i>Sargassum micracanthum</i>	14.85	14.85
<i>Sargassum horneri</i>	19.75	14.72
<i>Sargassum fulvellum</i>	21.27	17.16
<i>Myagropsis myagroides</i>	16.82	16.32
<i>Sargassum sagamianum</i>	12.39	9.98
<i>Sargassum hemiphyllum</i>	5.72	13.06
<i>Sargassum muticum</i>	4.74	8.45
<i>Corallina pilulifera</i>	0.86	3.23
<i>Lomentaria catenata</i>	13.01	9.92
<i>Dictyopteris prolifera</i>	7.34	19.09
<i>Rhodymenia intricata</i> Okamura	3.69	11.82
<i>Meristotheca papulosa</i>	4.31	4.22
<i>Dictyota dichotoma</i>	4.30	6.93

Table 3. Lipase inhibitory activity of seaweed extracts

(unit : %)

	Ethanol	Water
<i>Sargassum thunbergii</i>	37.37±1.46	22.58±1.04
<i>Eisenia bicyclis</i>	43.48±2.35	15.13±1.11
<i>Laminaria japonica</i>	18.58±1.51	80.00±0.57
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	58.43±2.31	–
<i>Porphyra yezoensis</i>	49.21±3.26	–
<i>Sargassum confusum</i>	6.12±0.58	13.69±0.41
<i>Sargassum micracanthum</i>	27.68±1.47	16.37±1.92
<i>Sargassum horneri</i>	30.50±1.52	17.76±2.32
<i>Sargassum fulvellum</i>	18.81±0.32	8.43±1.41
<i>Myagropsis myagroides</i>	43.03±3.28	11.15±0.74
<i>Sargassum sagamianum</i>	70.36±2.83	9.78±1.52
<i>Sargassum hemiphyllum</i>	27.47±2.39	16.25±2.64
<i>Sargassum muticum</i>	41.90±0.00	56.32±0.82
<i>Corallina pilulifera</i>	–	–
<i>Lomentaria catenata</i>	–	–
<i>Dictyopteris prolifera</i>	–	22.13±1.23
<i>Rhodymenia intricata</i> Okamura	–	13.63±0.25
<i>Meristotheca papulosa</i>	–	18.32±2.26
<i>Dictyota dichotoma</i>	–	–

* – ; less than 5% activity.

Table 4. α -Amylase inhibitory activity of seaweed extracts

(unit : %)

	Ethanol	Water
<i>Ecklonia stolonifera</i>	59.81 $\pm$ 2.39	–
<i>Sargassum thunbergii</i>	69.29 $\pm$ 0.70	–
<i>Eisenia bicyclis</i>	22.89 $\pm$ 3.36	–
<i>Undaria pinnatifida</i>	–	–
<i>Laminaria japonica</i>	–	–
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	–	–
<i>Porphyra yezoensis</i>	–	–
<i>Sargassum siliguastrum</i>	60.28 $\pm$ 2.79	21.41 $\pm$ 2.12
<i>Sargassum confusum</i>	33.88 $\pm$ 0.42	12.34 $\pm$ 1.03
<i>Sargassum micracanthum</i>	–	–
<i>Sargassum horneri</i>	8.82 $\pm$ 3.41	–
<i>Sargassum fulvellum</i>	20.30 $\pm$ 3.89	20.46 $\pm$ 1.23
<i>Myagropsis myagroides</i>	8.46 $\pm$ 0.92	21.50 $\pm$ 2.10
<i>Sargassum sagamianum</i>	–	–
<i>Sargassum hemiphyllum</i>	16.32 $\pm$ 0.21	29.71 $\pm$ 1.17
<i>Sargassum muticum</i>	11.64 $\pm$ 1.23	4.57 $\pm$ 0.78
<i>Corallina pilulifera</i>	–	–
<i>Lomentaria catenata</i>	–	–
<i>Dictyopteris prolifera</i>	–	–
<i>Rhodomenia intricata</i> Okamura	–	–
<i>Meristotheca papulosa</i>	–	–
<i>Dictyota dichotoma</i>	–	–

* – ; less than 5% activity.

2-2. 지충이 추출물의 효소저해활성

2-2-1. Lipase 저해활성

체중 조절의 기전은 식욕의 조절, 지방의 소화 및 흡수방해, 적응성 열 발생을 통한 에너지 소비의 증가 및 지질 대사의 조절 등으로 이루어진다. 식품으로서 섭취할 수 있는 형태로는 지방의 소화 및 흡수의 기전에 따른 것으로 현재 가장 활발히 사용되고 있는 비만치료제인 Orlistat(Xenical)가 이러한 기전에 의해 작용하는 것으로 알려져 있다. Orlistat는 구조적으로 중성지방과 유사하여 위와 췌장에서 분비되는 지방분해효소의 활성부위에 부착함으로써 콜레스테롤과 중성지방의 가수분해를 방해한다. 따라서 지방이 유리지방산과 monoacylglycerol 형태로 가수분해 되는 것을 막고 산화되지 않은 지방을 변으로 배설되도록 도와주어 비만의 치료에 사용되고 있다 (Ahn et al., 2007). 이에 지충이 추출물의 지방의 흡수를 실질적으로 담당하는 lipase에 대한 저해효과를 알아보기 위해, 지충이 에탄올 및 물 추출물을 5, 2.5 및 1 mg/mL 농도로 lipase 저해활성을 측정하였다. 그 결과(Table 5), 에탄올 추출물의 경우 37, 19 및 16%의 저해활성을 보였고 물 추출물은 15, 14 및 13%의 값을 보여 에탄올 추출물에서 높은 활성을 보였다. 이는 Bitou 등(1999)의 연구에서 *Ishige okamurai*, *Sargassum muticum* 및 *Porphyra tenera* 메탄올 추출물을 이용한 lipase 저해활성 측정결과인 77, 94 및 63% 보다 낮은 lipase 저해 효과였다. 하지만 Bitou 등(1999)의 결과에서도 메탄올 추출물은 높은 효과를 보이거나 ethyl acetate 추출물에서는 효과가 낮거나 거의 보이지 않아 시료의 종류, 추출용매

및 추출조건 등에 따라 활성이 다르게 나타나는 것으로 사료된다. 많은 해조류가 lipase 저해활성을 가지는 것은 해조류에 많이 들어 있는 polyphenol류가 효소나 단백질과 강한 복합체를 만들고 침전함으로써 효소의 활성을 저해하기 때문으로 알려져 있다(Ahn et al., 2007; Bitou et al., 1999). 비록 조추출물에서는 다소 낮은 값을 보였으나 조추출물, 분획물 및 정제 물질의 α -glucosidase 및 α -amylase 저해활성을 알아본 Lee 등(2009)의 연구결과에 따르면 조추출물에 비해 분리 및 정제가 진행됨에 따라 활성이 증가됨을 보여 지층이 추출물도 lipase 저해활성을 갖는 물질을 분리한다면 조추출물 보다 높은 활성을 나타낼 수 있을 것으로 기대된다.



2-2-2. α -Amylase 저해활성

α -Amylase는 탄수화물의 α -D-(1,4)-glucan 결합을 분해하는 효소로서 사람, 동물, 미생물 및 곤충 등의 탄수화물 대사에 필수적인 효소이다. 그러나 당뇨 및 비만의 관점에서 본다면 α -amylase는 혈당의 상승에 관여하기 때문에 α -amylase 저해작용은 혈당수치 상승 억제제의 지표가 되는 활성이 된다(Lee et al., 2008; Rhinehart et al., 1987). 따라서 지충이 에탄올 및 물 추출물을 5, 2.5 및 1 mg/mL 농도에서 α -amylase 저해활성을 알아본 결과(Table 6), 에탄올 추출물에서 69, 58 및 34%의 저해활성을 보여 5 mg/mL 농도에서 73%의 값을 보인 positive control인 acarbose와 유사하게 높은 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 Choi 등(2008)의 번행초 메탄올 조추출물의 저해활성인 18% 보다 높은 값을 보였으며, Oh 등(2009)의 연구 결과에서 62와 66%의 저해활성을 보인 산수유 및 나도밤나무와 유사한 활성이었다. 이처럼 에탄올 추출물에서 높은 저해활성을 보이는 것은 α -amylase 저해에 관련된 물질이 에탄올에 많이 추출되었기 때문이며, 물 추출물에는 덜 추출되거나 추출되지 않기 때문인 것으로 사료된다(Kim et al., 2008). 지충이의 경우, 에탄올 조추출물에서 혈당강하제로 사용되고 있는 acarbose와 유사하게 높은 저해활성을 보이는 것으로 보아 천연 항당뇨 기능성 소재로서 이용 가능성이 높다고 할 수 있으며 특히, 정제한 것이 아닌 조추출물 상태임을 감안한다면 경제성이 뛰어난 물질로 사료된다. 현재까지 보고된 해조류 유래의 α -amylase 저해 물질에 대한 연구를 살펴보면, 패로부터 정제된 diphllorethohydroxycarmalol(DPHC)

(Heo et al., 2009), 대황으로부터 분리된 phloroglucinol 유도체인 eckol 및 dieckol(Okada et al., 2004), 감태 및 곰피로부터 정제된 phlorotannin류(Lee et al., 2009; Iwai, 2008), bromophenol류(Kim et al., 2008) 등의 페놀성 물질이 α -amylase 활성을 저해하는 것으로 알려져 있다. 이로 미루어보아 지충이 추출물에 들어있는 다양한 페놀화합물이 α -amylase 저해에 관여하는 것으로 사료되며, 극성 및 비극성 성분들이 혼재되어 있는 에탄올 조추출물에 대해 분리를 통한 α -amylase 활성의 탐색이 필요할 것으로 사료된다.



Table 5. Lipase inhibitory activity of *Sargassum thunbergii* ethanol extract

(unit : %)

	Concentration(mg/mL)		
	5	2.5	1
Ethanol	37.37±1.46	19.32±3.06	16.12±0.39
Water	15.13±1.11	13.73±1.01	12.72±0.71
Orlistat	100±0.23	99.23±0.85	96.39±1.18

Table 6. α -Amylase inhibitory activity of *Sargassum thunbergii*
ethanol extract

(unit : %)

	Concentration(mg/mL)		
	5	2.5	1
Ethanol	69.29 $\pm$ 0.70	58.81 $\pm$ 3.64	34.95 $\pm$ 2.63
Water	—	—	—
Acarbose	77.02 $\pm$ 1.23	75.12 $\pm$ 2.19	59.15 $\pm$ 1.98

3. 지충이 추출물의 효소저해활성에 대한 열, pH 및 감마선 조사의 영향

3-1. 열 안정성

식품 가공 공정에서 식중독 원인 미생물이나 부패 미생물을 제어하여 식품을 안전하게 장기간 저장하기 위한 수단으로 경제성과 안전성을 고려하여 가열처리가 보편적으로 행해지고 있다(Lee et al., 2009). 하지만 이러한 가열처리는 열에 의해 영양소의 파괴 및 생리활성 물질 손실 등의 문제점을 가지고 있다(Kim et al., 2008). 따라서 항당뇨 및 항비만 소재로서 지충이 추출물을 식품에 적용하기 위해서는 열처리 공정 중에 효소저해활성을 나타내는 물질이 안정하여야 한다. 또한 최근에는 열처리로 생리활성 물질이 증가한다는 연구결과가 보고되고 있어 열처리에 의한 추출물의 활성 변화에 대한 연구가 필요하다. 이에 지충이 에탄올 추출물을 60℃에서 10분, 30분 및 60분, 80℃와 100℃에서 10분과 20분, 121℃에서 15분간 열처리하고 급랭한 후, lipase 및 α -amylase 저해활성을 측정하였다(Table 7-8). Lipase 저해활성측정 결과, 모든 열처리구에서 38%의 저해활성을 보인 무처리구에 비해 저해활성이 증가한 것을 볼 수 있었으며 특히, 121℃에서 15분간 열처리시에는 무처리구에 비해 활성이 13% 증가함을 확인할 수 있었다. α -Amylase 저해활성은 121℃, 15분 가열처리에서는 다소 저해활성이 감소하였으나 이를 제외한 모든 처리구에서 무처리에 비해 활성이 증가하였다. 이는 100℃, 30분 열처리에서도 말채나무 추출물의 α -amylase 저해활성이 안정함을 보인 결과(Lim et al., 2005)와 방선균 F-97이 생산하는

tyrosinase 저해제를 100℃에서 10분 열처리시 원래의 활성보다 10% 정도의 활성이 저하되었다는 Bang 등(2008)의 결과와는 다른 경향이였다. Kim 등(2008)의 보고에 따르면 식물체를 열처리하였을 때 결합형의 폴리페놀 성분이 유리형으로 전환되어 활성이 증가한다고 하였다. 따라서 열처리에 따른 지충이 추출물의 활성 증가는 유리형의 페놀화합물의 증가에 기인한 것으로 사료되며, 121℃, 15분 처리시에 저해활성이 효소에 따라 증가 또는 감소하는 것은 고온고압 상태에서 새로운 화합물이 생성되어 생성된 화합물이 효소에 따라 다르게 반응하기 때문으로 사료된다. 따라서 지충이 에탄올 추출물은 열에 의해 활성이 증가하기 때문에 고열처리를 하는 식품 가공 공정에서도 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 7. Effect of heat on lipase inhibitory activity of *Sargassum thunbergii* ethanol extract

Temperature (°C)	Time (min)	Inhibition rate (%)
60	10	39.57±1.48 ^{de}
	30	41.89±0.84 ^{cd}
	60	41.36±0.95 ^{cd}
80	10	43.01±2.22 ^{bc}
	20	43.74±2.99 ^{bc}
100	10	42.69±2.22 ^{bed}
	20	45.54±0.95 ^b
121	15	51.55±1.30 ^a
Control		38.05±1.59 ^e

* Concentration: 5 mg/mL

^{a-e} Means in the same column bearing different superscript are significantly different (p<0.05).

Table 8. Effect of heat on α -amylase inhibitory activity of *Sargassum thunbergii* ethanol extract

Temperature (°C)	Time (min)	Inhibition rate (%)
60	10	76.46±0.93 ^{ab}
	30	75.97±0.09 ^{ab}
	60	75.98±0.13 ^{ab}
80	10	78.44±2.10 ^a
	20	78.10±1.32 ^a
100	10	76.62±1.71 ^{ab}
	20	73.46±0.72 ^b
121	15	61.33±1.56 ^d
Control		66.31±0.82 ^c

* Concentration: 5 mg/mL

^{a-d} Means in the same column bearing different superscript are significantly different (p<0.05).

3-2. pH 안정성

식품에서 pH는 품질특성에 중요한 영향을 미친다. pH는 단백질의 용해도 및 추출 수율에 영향을 미치며 효소의 활성화에 관여하는 중요한 인자이다. 본 연구에서는 식품 공정상에 행해질 수 있는 pH 처리에 대한 지충이 추출물의 pH 안정성을 확인하기 위하여 지충이 에탄올 추출물에 pH 2, 4, 6, 8 및 10으로 처리하여 24시간 후 다시 원래의 pH로 중화하고 lipase 및 α -amylase 저해활성을 측정하였다 (Table 9-10). Lipase 저해활성의 경우, 5 mg/mL 농도에서 37%의 저해활성을 보인 무처리구와 비교할 때, pH 4, 6 및 8에서는 안정한 저해활성을 보였으나 pH 2와 10에서는 다소 감소되어 pH 처리 전의 초기 저해활성의 72와 83%에 상당하는 활성을 보였다. α -amylase 저해활성은 pH 4와 6에서는 무처리와 유사한 70%의 안정된 저해활성을 보였으나 pH 2와 10에서는 다소 감소된 활성을 나타내었다. 이는 지충이 에탄올 추출물의 효소저해물질이 강산성과 강알칼리성에서 다소 불안정한 것으로 사료된다. 이는 산성 영역에서 안정한 α -amylase 저해활성을 보인 Lim 등(2005)의 연구와는 다른 결과이나 Lee 등(2006)의 보고에 따르면 고구마에 존재하는 mushroom tyrosinase 저해제는 pH 5-7의 범위에서는 안정했으나 산성과 염기성에서 불안정하여 초기의 20-60% 정도의 저해활성을 가진 것과 유사한 결과였다. 그러나 일반적인 식품의 pH가 약산성 또는 중성임을 고려할 때, 천연효소저해제로 식품에 사용하는데 문제가 되지 않을 것으로 사료된다.

Table 9. Effect of pH on lipase inhibitory activity of *Sargassum thunbergii* ethanol extract

pH	Inhibition rate (%)
2	26.25±0.61 ^d
4	38.13±2.27 ^a
6	34.83±0.88 ^b
8	37.30±0.21 ^{ab}
10	29.93±1.05 ^c
Control (4.8)	36.61±2.98 ^{ab}

* Concentration: 5 mg/mL

^{a-d} Means in the same column bearing different superscript are significantly different (p<0.05).

Table 10. Effect of pH on α -amylase inhibitory activity of *Sargassum thunbergii* ethanol extract

pH	Inhibition rate (%)
2	38.27 $\pm$ 0.13 ^c
4	71.43 $\pm$ 1.35 ^a
6	70.36 $\pm$ 1.06 ^a
8	54.48 $\pm$ 0.92 ^b
10	38.14 $\pm$ 0.41 ^c
Control (4.8)	70.74 $\pm$ 1.36 ^a

* Concentration: 5 mg/mL

^{a-c} Means in the same column bearing different superscript are significantly different (p<0.05).

3-3. 감마선 조사에 대한 안정성

식품을 안전하게 장기간 저장하기 위해서 가열, 화학약품 처리, 냉장 및 냉동 등의 가공공정이 필요하나 이들은 관리의 효율성, 비용, 건전성 및 환경오염 등의 문제를 가지고 있다(Yook et al., 1998). 감마선 조사기술은 식품의 장기저장을 위한 새로운 기술로서 투과력이 강하여 식품 및 소재의 부패방지, 제품의 안전성 및 보존성 향상 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 적절한 선량의 방사선 조사는 물리, 화학 및 관능적 특성에 영향을 크게 주지 않으면서 식품 중의 유해한 미생물을 사멸시켜 식품의 가공 공정에서도 이용범위가 점차 확대되고 있다(Kim et al., 2006). 최근에는 다양한 천연물에 감마선 조사를 실시하여 항산화(Harrison et al., 2007), 항균(Lee et al., 2009) 및 항알러지(Kim et al., 2000) 등의 생리활성 변화에 대해 알아보는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 이에 지충이 에탄올 및 물 추출물에 3, 7 및 20 kGy 선량으로 감마선 조사를 실시하여 lipase 및 α -amylase 저해활성의 변화를 알아보았다. 그 결과 (Table 11-12), 지충이 에탄올 및 물 추출물에서 비조사구 및 조사구에서 유의적인 저해활성의 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 비파 에탄올 추출물의 감마선 조사에 따른 항균활성이 *S. aureus*, *E. coli*, *L. innicua*, *B. subtilis* 및 *P. aeruginosa*에 대해 감마선 조사 전, 후의 활성변화에 유의적인 차이가 없다는 보고(Kim et al., 2006)와도 일치하는 결과이며, Byun 등(1999)의 한약재에 10 kGy 선량의 감마선 조사는 항산화활성에 영향을 미치지 않았다는 연구와 일치하는 결과이다. 그러나 Monica 등(2007)은 로즈마리에 감마선

조사시 비조사구에 비해 유의적으로 라디칼 소거능이 증가한다고 보고하여 식물체의 종류, 추출용매 및 감마선 조사선량에 따라 생리활성에 미치는 영향이 다른 경향을 보이는 것으로 사료된다. 이상의 결과를 통해 감마선 조사에 의해 지층이 추출물의 효소저해 유효물질은 활성이 감소되지 않아 가공 공정에서 효율적으로 이용할 수 있을 것으로 기대된다.



Table 11. Effect of γ -irradiation on lipase inhibitory activity of *Sargassum thunbergii* ethanol extract

(unit : %)

	Dose of irradiation (kGy)			
	0	3	7	20
Ethanol	39.12 $\pm$ 0.46 ^a	41.20 $\pm$ 2.09 ^a	38.98 $\pm$ 1.74 ^a	39.23 $\pm$ 1.85 ^a
Water	16.23 $\pm$ 0.23 ^a	15.79 $\pm$ 2.32 ^a	17.36 $\pm$ 1.36 ^a	16.75 $\pm$ 3.21 ^a

* Concentration: 5 mg/mL

^a Means in the same row bearing different superscript are significantly different (p<0.05).

Table 12. Effect of γ -irradiation on α -amylase inhibitory activity of *Sargassum thunbergii* ethanol extract

(unit : %)

	Dose of irradiation (kGy)			
	0	3	7	20
Ethanol	71.96 $\pm$ 2.26 ^a	71.48 $\pm$ 1.65 ^a	70.24 $\pm$ 2.27 ^a	69.91 $\pm$ 0.32 ^a
Water	—	—	—	—

* Concentration: 5 mg/mL

^a Means in the same row bearing different superscript are significantly different (p<0.05).

4. 지충이 용매별 분획물의 효소저해활성

4-1. Lipase 저해활성

지충이 에탄올 조추출물에는 에탄올에 녹지 않는 일부의 성분들이 여과에서 제거되었다고 하여도 수용성인 각종 염류에서부터 비극성의 지질, 탄화수소에 이르기까지 생체 성분을 구성하는 각종 성분들이 혼합하여 존재한다(Lee et al., 2006). 따라서 활성물질을 분리하여 수용성과 지용성 물질을 분리하기 위하여 지충이 에탄올 추출물을 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol 및 물로 극성이 다른 용매를 이용하여 순차적으로 분획물을 얻었다. 분획물의 수율은 에탄올 추출물에 대하여 환산하여 나타낸 것으로 chloroform 분획물이 23.27%의 값을 보여 가장 높은 수율을 나타내었으며, water, hexane, ethyl acetate, butanol 순으로 높은 수율을 보였다(Table 13). 각 분획물을 5, 2.5 및 1 mg/mL 농도로 희석한 후 lipase 저해활성을 측정하였다. 그 결과(Table 14), 2.5-5 mg/mL 농도에서 water 희분을 제외하고는 에탄올 조추출물보다 모두 높은 저해활성을 보였다. 특히, 2.5 mg/mL 농도에서 chloroform 분획물이 63%의 lipase 저해활성을 보여 가장 높은 lipase 저해활성을 나타내었으며, 이는 조추출물에 비해 동일 농도에서 3배 이상 증가된 활성으로 lipase 저해활성을 나타내는 물질이 비극성 및 극성물질이 혼재되어있는 에탄올 조추출물에 비해 비극성용매인 chloroform에 잘 용출되기 때문으로 사료된다. 그러나 시판되는 비만치료제인 Orlistat에 비해 다소 낮은 값을 보인 결과는 Kim 등(2006)의 생약 추출물의 lipase 저해활성을 알아본 연구에서 조추출물 및 분획물에

서도 Orlistat에 비해서는 낮은 값을 보였다는 결과와 일치한다. 일반적으로 천연 추출물들은 순수하게 정제할 경우, 활성이 더욱 높아지는 경향(Lee et al., 2009)을 보이므로 지층이 chloroform 분획물에 대해 2차 분리 및 정제로 인한 활성 물질의 분리가 필요할 것으로 사료된다.



4-2. α -Amylase 저해활성

용매별 분획물을 5, 2.5, 1, 0.5 및 0.1 mg/mL 농도로 희석한 후 α -amylase 저해활성을 측정하였다(Table 15). Lipase와 마찬가지로 water 분획을 제외하고 모든 분획물에서 에탄올 조추출물에 비해 높은 활성을 보였다. 특히, hexane과 chloroform 분획물의 IC_{50} 값이 각각 0.39와 0.34 mg/mL의 값을 보여 0.88 mg/mL의 값을 나타낸 positive control인 acarbose보다 낮은 IC_{50} 값을 나타내어 뛰어난 α -amylase 저해활성을 가진 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 감태 분획물에서 α -amylase에 높은 저해활성을 보인 ethyl acetate 분획물의 IC_{50} 값이 345 μ g/mL의 값을 보인 것(Lee et al., 2009)과 유사한 결과이며, Choi 등(2008)의 변행초 추출물의 α -amylase 저해활성은 hexane과 dichloromethane 분획물에서 메탄올 조추출물에 비해 높은 저해활성을 보인 것과 일치하는 결과를 나타내었다. 지충이의 경우, 조추출물에 비해 분획물에서 더 높은 활성을 보이며 특히, hexane과 chloroform에서 높은 활성을 보이는 것으로 미루어 보아 여러 성분이 혼재되어 있는 조추출물보다 분리시 효소저해활성을 나타내는 물질의 용출이 용이할 것으로 사료된다.

이상의 용매별 분획물에 대한 효소저해활성을 종합해보면, lipase 저해활성은 chloroform 분획물에서, α -amylase 저해활성은 hexane 및 chloroform 분획물에서 높은 저해활성을 보였다. 현재까지 보고된 지충이의 생리활성 물질에는 chromene 계열(Seo et al., 2007), plastoquinones(Seo et al., 2004), fucoidan(Zhuang et al., 1995) 등이 보고된 바 있다. 이 중에서 chromene 계열과 plastoquinones

는 chloroform 등의 유기용매에 잘 용출되는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서 분리한 지층이의 chloroform 분획물에도 이들 물질과 유사한 계열의 물질들이 함유되어 있을 것으로 사료된다.

이상의 결과를 바탕으로 뛰어난 효소저해 효과를 보인 지층이 chloroform 분획물의 효소저해 유효 물질의 분리와 식품 및 건강식품 소재로서 적용을 위한 동물실험을 통한 효능평가가 필요할 것으로 사료된다.



Table 13. The yields of solvent extraction fractions from *Sargassum thunbergii* ethanol extract

Fractions	yield(%)
n-Hexane	9.07
Chloroform	23.27
Ethyl acetate	3.10
Butanol	2.96
Water	20.12

Table 14. Lipase inhibitory activity of solvent extraction fraction from *Sargassum thunbergii* ethanol extract

	Inhibition rate(%)			IC ₅₀ (mg/mL)
	5 mg/mL	2.5 mg/mL	1 mg/mL	
n-Hexane	100±0.07	33.49±2.36	14.59±1.63	3.75±0.37
Chloroform	100±0.12	63.23±2.63	24.77±2.19	1.98±0.12
Ethyl acetate	86.90±3.26	51.64±0.39	–	2.42±0.01
Butanol	45.14±2.98	22.15±0.96	–	5.56±0.52
Water	5.38±2.66	4.72±0.23	–	=
Ethanol	37.37±1.46	19.32±3.06	16.12±0.39	6.70±0.37
Orlistat	100±0.23	99.23±0.85	97.15±1.21	0.001±0.002

* less than 5% inhibitory activit

* =; Not done.

Table 15. α -Amylase inhibitory activity of solvent extraction fraction from *Sargassum thunbergii* ethanol extract

	Inhibition rate(%)					IC ₅₀ (mg/mL)
	5 mg/mL	2.5 mg/mL	1 mg/mL	0.5 mg/mL	0.1 mg/mL	
n-Hexane	83.57 ±1.02	74.60 ±0.63	67.96 ±0.23	63.84 ±2.03	11.78 ±0.24	0.39 ±0.02
Chloroform	89.01 ±1.21	87.03 ±1.17	83.18 ±0.69	73.56 ±0.32	23.79 ±2.36	0.34 ±0.00
Ethyl acetate	88.28 ±0.14	88.01 ±0.89	70.59 ±1.14	56.12 ±1.28	12.44 ±1.69	0.45 ±0.01
Butanol	85.25 ±0.18	82.70 ±2.21	72.75 ±1.23	54.15 ±0.98	14.41 ±1.82	0.46 ±0.01
Water	16.42 ±0.21	–	–	–	–	=
Ethanol	69.29 ±0.70	58.81 ±3.64	34.95 ±2.63	20.12 ±1.03	–	2.30 ±0.17
Acarbose	73.87 ±2.02	74.88 ±3.78	57.01 ±3.70	38.48 ±0.36	12.85 ±1.23	0.88 ±0.06

* less than 5% inhibitory activity

* =; Not done.

요 약

1. 해조류 추출물의 lipase 및 α -amylase 저해활성

1-1. 19종의 해조류 추출물의 lipase 저해활성을 5 mg/mL 농도로 측정한 결과, 전반적으로 에탄올 추출물에서 높은 저해활성을 나타내었다.

1-2. 22종의 해조류 추출물의 α -amylase 저해활성을 5 mg/mL 농도로 측정한 결과, 파배기 모자반 및 지충이 에탄올 추출물에서 각각 60과 69%의 높은 저해활성을 보였으며 물 추출물은 전반적으로 낮은 저해활성을 보였다.

2. 지충이 추출물의 lipase 및 α -amylase 저해활성

2-1. 지충이 추출물을 5, 2.5 및 1 mg/mL 농도로 lipase 저해활성을 측정한 결과, 에탄올 추출물에서는 37, 19 및 16%의 저해활성을 보여 물 추출물에서보다 다소 높은 저해활성을 보였다.

2-2. 지충이 추출물을 5, 2.5 및 1 mg/mL 농도로 α -amylase 저해활성을 측정한 결과, 에탄올 추출물에서는 69, 54 및 33%의 높은 저해활성을 보였으나 물 추출물에서는 저해활성을 나타내지 않았다.

3. 지충이 추출물의 효소저해활성에 미치는 열, pH 및 감마선 조사의 영향

3-1. 지충이 에탄올 추출물의 열처리에 대한 효소저해활성을 측정한 결과, lipase 저해활성은 모든 열처리 구간에서 활성이 증가하였고, α -amylase 저해활성은 100℃, 20분간 열처리에서는 활성이 증가하였으나 121℃에서는 다소 낮은 활성을 보였다.

3-2. 지충이 에탄올 추출물의 pH 처리에 대한 효소저해활성을 측정한 결과, lipase 저해활성은 pH 4-8, α -amylase 저해활성은 pH 4-6에서 안정한 활성을 보였다.

3-3. 지충이 에탄올 및 물 추출물의 감마선 조사에 대한 효소저해활성의 변화를 측정한 결과, 비조사구 및 조사구에서 유의적인 활성의 변화를 보이지 않았다.

4. 지충이 용매별 분획물의 lipase 및 α -amylase 저해활성

4-1. 지충이 용매별 분획물의 lipase 저해활성을 측정한 결과, chloroform 분획물에서 가장 높은 저해활성을 보였다.

4-2. 지충이 용매별 분획물의 α -amylase 저해활성을 측정한 결과, hexane 및 chloroform 분획물에서 가장 높은 저해활성을 보였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 지충이 에탄올 추출물은 높은 lipase 및 α -amylase 저해활성을 가지며, 열, pH 및 감마선 조사에 대해 높은 안정성을 가져 향당뇨 및 항비만 관련 소재로서 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Ahn, I. S., Park, K. Y., Do, M. S. 2007. Weight control mechanisms and antiobesity functional agents. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36(4), 503-513.
- Bang, B. H., Rhee, M. S., Kim, J. O., Yi, D. H. 2008. Purification and Characteristics of Tyrosinase Inhibitor Produced by Actinomycetes F-97. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 51(3), 153-158.
- Bitou, N., Ninomiya, M., Tsujita, T., Okuda, H. 1999. Screening of Lipase Inhibitors from Marine Algae. *Lipids* 34(5), 441-445.
- Byun, M. W., Yook, H. S., Kim, K. S., Chung, C. K. 1999. Effects of gamma irradiation on physiological effectiveness of Korean medicinal herbs. *Radiation Physics and Chemistry* 54, 291-300.
- Cho, S. H., Park, S. Y., Choi, S. W. 2008. Effects of *Eisenia Bicyclis* extracts and pill on blood glucose and lipid profile in streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Korean J. Nutr.* 41(6),

493-501.

Choi, H. J., Kang, J. S., Choi Y. W., Jeong, Y. K., Joo, W. H. 2008. Inhibitory activity on the diabetes related enzymes of *Tetragonia tetragonioides*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 23(5), 419-424.

Choi, H. J., Jeong, Y. K., Kang, D. O., Joo, W. H. 2008. Inhibitory Effects of Four Solvent Fractions of *Alnus firma* on α -Amylase and α -Glucosidase. *Journal of Life Science* 18(7), 1005-1010.

Choi, S. Y., Kim, S. Y., Hur, J. M., Choi, H. G., Sung, N. J. 2006. Antioxidant Activity of Solvent Extracts from *Sargassum thunbergii*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35(2), 139-144.

Harrison, K., Were, L. M. 2007. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of Almond skin extracts. *Food Chem.* 102, 932-937.

Heo, S. J., Hwang, J. Y., Choi, J. I., Han, J. S., Kim, H. j., Jeon, Y. J. 2009. Diphlarethohydroxycarmalol isolated from *Ishige okamurae*, a brown algae, a potent α -glucosidase and α

-amylase inhibitor, alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice. *European Journal of Pharmacology* 615, 252-256.

Hwang, J. Y., Han, J. S. 2007. Inhibitory effects of *Sasa borealis* leaves extracts on carbohydrate digestive enzymes and postprandial hyperglycemia. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36(8), 989-994.

Iwai, K. 2008. Antidiabetic and antioxidant effects of polyphenols in brown alga *Ecklonia stolonifera* in genetically diabetic KK-A^y mice. *Plant Foods Hum Nutr.* 63, 163-169.

Kang, J. Y., Khan, M. N. A., Park, N. H., Cho, J. Y., Lee, M. C., Fujii, H., Hong, Y. K. 2008. Antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory activities of the seaweed *Sargassum fulvellum* and *Sargassum thunbergii* in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 116, 187-190.

Kim, H. J., Jo, C., Kim, T. H., Kim, D. S., Park, M. Y., Byun, M. W. 2006. Biological evaluation of the methanolic extract of *Eriobotrya japonica* and its irradiation effect. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38(5), 684-690.

Kim, H. Y., Woo, K. S., Hwang, I. G., Lee, Y. R. and Jeong, H. S. 2008. Effect of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40(2), 166-170.

Kim, K. H., Roh, S.G., Li, C.R., Jin C.F., Kim A. and Choi W.C. 2008. Anti-diabetic effects of Banaba leaf extracts (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) through solvents. *Journal of life science* 18(9), 1305-1311.

Kim, K. Y., Nam, K. A., Kurihara, H., Kim, S. M. 2008. Potent α -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. *Phytochemistry* 69, 2820-2825.

Kim, M. J., Ahn, J. H., Choi, K. H., Lee, Y. H., Woo, G. J., Hong, E. K., Chung, Y. S. 2006. Effects of pine needle extract oil on blood glucose and serum insulin levels in *db/db* mice. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35(3), 321-327.

Kim, M. S., Kim, B. Y., Park, C. S., Yoon, B. D., Ahn, S. C., Oh, W. K., Ahn, J. S. 2006. Inhibitory effect of *Thujae orientalis* semen extract on pancreatic lipase activity. *Journal of Life Science* 16(2), 328-332.

Kim, Y. J., Kim, B. H., Lee, S. Y., Kim, M. S., Park, C. S., Rhee, M. S., Lee, K. H., Kim, D. S. 2006. Screening of medicinal plants for development of functional food ingredients with anti-obesity. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 49(3), 221-226.

Lee, B. B., Park, S. R., Han, C. S., Han, D. Y., Park, E. J., Park, H. R., Lee, S. C. 2008. Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37(4), 405-409.

Lee, H. J., Lee, M. K., ParCharacterization of mushroom tyrosinase inhibitor in sweet potato. 2006. *Journal of Life Science* 16(3), 396-399.

Lee, K. S., Choi, Y. S., Seo, J. S. 2004. Sea tangle supplementation lowers blood glucose and supports antioxidant systems in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Med. Food.* 7, 130-135.

Lee, M. H., Lee, J. S., Yang, H. C. 2008. α -amylase inhibitory activity of flower and leaf extracts from buckwheat(*Fagopyrum*

esculentum). *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37(1), 42-47

Lee, S. K., So, S. H., Hwang E. I., Koo, B. S., Han, G. H., Ko, S. B., Kim, N. M. 2008. Effect of ginseng and herbal plant mixtures on anti-obesity in obese SD rat induced by high fat diet. *Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37(4), 437-444.

Lee, S. H., Li, Y., Karadeniz, F., Kim, M. M., Kim, S. K. 2009. α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities of phloroglucinal derivatives from edible marine brown alga, *Ecklonia cava*. *J. Sci. Food Agric.* 89, 1552-1558.

Lee, S. Y., Song, E. J., Kim, K. B. W. R., Yoon, S. Y., Kim, S. J., Lee, S. J., Hong, Y. K., Lim, S. M., Ahn, D. H. 2009. Antimicrobial Activity of Ethanol Extract from *Sargassum thunbergii*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38(4), 502-508.

Lim, C. S., Li, C. Y., Kim, Y. M., Lee W. Y., Rhee, H. I. 2005. The inhibitory effect of *Cornus walteri* extract against α -amylase. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 48(1), 103-108.

Monica, B. P., Natalia, L. C., Clara, A. C. 2007. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in

extracts of rosemary(*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chem.* 104, 585-592.

Moreno, D. A., Ilic, N., Poulev, A., Brasaemle D. L., Fried S. K., Raskin, I. 2003. Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. *Nutrition* 19(10), 876-879.

Nakai, M., Fukui, Y., Asami, S., Toyoda-Ono Y., Iwashita, T., Shibata, H. Mitsunaga, T., Hashimoto, F., Kiso, Y. 2005. Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase in vitro. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4593-4598.

Oh, S. J., Koh, S. C. 2009. Screening of antioxidative activity and α -amylase inhibitory activity in angiosperm plants native to Jeju Island. *Korean J. Plant Res.* 22(1), 71-77.

Okada, Y., Ishimaru, A., Suzuki, R., Okuyama, T. 2004. A new phloroglucinol derivative from the brown alga *Eisenia bicyclis*: potential for the effective treatment of diabetic complications. *J. Nat. Prod.* 67, 103-105.

Park, K. E., Kim, Y. A., Hyun, A. J., Lee, H. J., Ahn, J. W., Lee, B. J., Seo, Y. W. 2004. Three norisoprenoids from the

brown alga *Sargassum thunbergii*. *Journal of the Korean Chemical Society* 48(4), 394–398.

Ryae, J., Kim, J. Y., Lee, K. M., Cho, D. H. 2005. Anti-obese effects of mixture contained pine needle, black tea and green tea extracts. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 48(4), 375–381.

Seo, Y., Park, K. E., Nam, T. J. 2007. Isolation of a new chromene from the brown alga *Sargassum thunbergii*. *Bull. Koream Chem. Soc.* 28(10), 1831–1833.

Seo, Y., Lee, H. J., Park, K. E., Kim, Y. A., Ahn, J. W., Yoo, J. S., Lee, B. J. 2004. Peroxynitrite-scavenging constituents from the brown alga *Sargassum thunbergii*. *Biosci. Biotech. Eng.* 9, 212–216.

Sharma, N., Sharma, V. K., Seo, S. Y. 2005. Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. *Journal of Ethnopharmacology* 97, 453–456.

Yoshiko, Y., Fujita, T. 1976. Hypertrophy and hyperplasia in the endocrine and exocrine pancreas of rats fed soybean trypsin inhibitor or repeatedly injected with pancreozymin.

Arch. Histol. Jap. 39, 67.

Yook, H. S., Cha, B. S., Jo, S. K., Byun, M. W. 1998. Effects of gamma irradiation on microbial decontamination, extraction yields and physiological effectiveness of Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30(3), 581-589.

Zhuang, C., Itoh, H., Mizuno, T. 1995. Antitumor active fucoidan from the brown seaweed, umitoranoo (*Sargassum thunbergii*). *Biosci. Biotech. Biochem.* 59, 563-567.

보건복지부. 2005. 국민건강증진종합계획 Health plan 2010 분야별 세부추진계획 p61-64.

이종수, 임치원 공저. 2006. 해양천연물학 -시료 채취에서 구조해석 까지-. 도서출판 효일. p26.

감사의 글

2년의 석사생활은 저의 인생에서 많은 것을 배우고 경험할 수 있었던 시간이었습니다. 힘든 점도 있었지만 많은 분들의 도움으로 지금 이 자리에 있을 수 있었기에 감사드릴 분이 저에겐 너무 많습니다.

먼저, 석사과정 동안 물심양면으로 많은 도움을 주셨던 지도교수님이신 안동현 교수님께 이 자리를 빌어 감사의 말씀을 드립니다. 부족한 제 논문의 심사를 맡아주셨던 김선봉 교수님과 전병수 교수님께도 감사드리며, 학부 때부터 대학원 과정에 이르기까지 많은 가르침을 주신 조영제 교수님, 양지영 교수님, 이양봉 교수님, 김영목 교수님께도 감사의 마음을 전합니다.

집보다 더 많은 시간을 보내면서 정이 너무 많이 든 우리 실험실, 자원개발실 식구들의 도움이 있었기에 무사히 논문을 마칠 수 있었습니다. 항상 고맙고 또 미안한 유진이 언니, 어떤 질문에도 언제나 성의껏 답해주던 소영이 언니, 묵묵히 귀감이 되어준 꽃봉우리 언니에게 많은 도움을 받았습니다. 또, 석사생활 동안 서로 의지하며 힘이 되어준 동기인 소영이, 서진이에게도 정말 고마운 마음을 전합니다. 열심히 꿈을 위해 나아가고 있는 대학원 후배 청조, 지연, 나비, 지희와 듣직한 동현, 찬이 그리고 마냥 귀여운 후배 문경, 민지, 슬아, 다현이, 이제 막 실험실에 들어온 민정, 주연이에게도 고맙다고 말하고 싶습니다. 또, 지금은 사회에 나가있지만 항상 도움을 주는 아람선배, 미정선배, 진희언니에게도 감사드리며, 함께 대학원 생활을 하며 많은 의지가 되어준 향민이에게도 고마운 마음을 전합니다.

부득이하게 매번 약속을 어겨도 항상 변함없이 챙겨주고 이해해주는 소중

한 친구들이 있었기에 외롭지 않게 식사생활을 해내갈 수 있었습니다. 벌써 15년이란 세월을 함께 한 지음(知音) 패밀리 회주, 희정, 은미, 소은, 은실, 희경이와 항상 큰 웃음을 주었던 란영, 연지, 유란이.. 정말 고맙고, 덕분에 힘을 낼 수 있었습니다.

무엇보다 힘들고 지칠 때, 때론 위로를 해주시고 때론 마음 깊이 와 닿는 조언을 해주시던 친구같은 어머니, 힘들어하는 기색이 보이면 괜히 농담을 건네시고 학교까지 태워주시며 힘내라고 하시던 아버지, 두 분의 사랑이 없었더라면 지금의 저도 없을 것이라고 생각합니다. 이 자리를 빌어서 정말 사랑한다는 말과 감사의 마음을 전하고 싶습니다.

다시 한 번 논문이 완성 될 수 있도록 많은 도움을 주신 모든 분들께 감사드리며, 지금의 이 마음을 잊지 않고 2년간의 배움이 헛되지 않도록 항상 노력하겠습니다.