

당뇨 생쥐에서 대황 추출물 및 정제환의 혈당과 지질 상태 개선 효과*

조성희[§] · 박소영 · 최상원

대구가톨릭대학교 식품영양학과

Effects of *Eisenia bicyclis* Extracts and Pill on Blood Glucose and Lipid Profile in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice*

Cho, Sung-Hee[§] · Park, So-Young · Choi, Sang-Won

Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

ABSTRACT

The objectives of this study were to investigate the antihyperglycemic and hypolipidemic effects of sea oak (*Eisenia bicyclis*, EB) in the diabetic state and to examine the appropriateness of formulated EB pill for the effects. The various test materials obtained from EB were included in the experimental diets with 15% fat/0.5% cholesterol and fed to streptozotocin-induced diabetic mice weighing 35.0 ± 0.7 g for three weeks but not in the control diet having the same composition. The test materials were EB dry powder, water and ethanol extracts, viscozyme-treated EB water extract (EB enzyme-TR) and formulated pill containing dry powders of the EB, two kinds of seaweed, black soybean, sesame, onion and garlic. BG was measured during feeding period and serum insulin, lipids and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and intestinal disaccharidase activities were measured at the end of the three weeks of the feeding. BG increase was lower in the EB enzyme-TR group after 10 days of the experimental diet but lower in EB pill group after 15 days compared with the control group. Serum insulin levels were higher in the EB enzyme-TR and EB pill groups. Intestinal maltase but not sucrase activity was higher in EB enzyme-TR fed group than the control group. Serum levels of total cholesterol and triglyceride were reduced by the EB enzyme-TR and EB pill compared with the control diet. HDL-/total cholesterol was increased by all EB test materials. Serum TBARS levels were lower in the EB ethanol extract and EB pill groups than in the control group and tended to be lower in the other EB groups. It is concluded that the EB enzyme-TR is the best among the EB preparations to be utilized as a functional component for improving blood glucose and lipid profile in diabetic subjects in the future. However, the pill containing low level of the EB powder is also regarded as effective and readily usable when formulated with the several other ingredients of the proper composition. (Supported by the RIC Program of MOCIE, Korea). (Korean J Nutr 2008; 41(4): 493~501)

KEY WORDS : *Eisenia bicyclis*, blood glucose, serum lipid, TBARS.

서 론

최근 20여년 식생활 환경 변화와 고령화로 인하여 당뇨, 동맥경화 및 암 등의 만성 퇴행성 질환 발병과 그에 따른 사망이 크게 증가하고 있다.¹⁾ 따라서 이러한 만성 질환을 억제하고 치료하는 합성 의약품의 사용이 크게 증가되고 있으나 이들 대부분 심각한 부작용을 동반하기 때문에 보다 안

전하고 효과 있는 천연 유래 식물화학물질 (phytochemicals)의 개발이 활발히 이루어지고 있다.²⁾

해조류는 식이성 섬유소인 복합다당류를 다량 함유하고 있을 뿐 아니라 여러 비타민과 무기질이 비교적 풍부하고 그 독특한 맛과 향기가 우수한 알칼리성 기호식품으로서 가치가 높다.³⁾ 또한 해조류는 소화율이 낮아서 열량원으로서의 가치는 적지만 섬유성 식품으로 위에 포만감과 통변을 조절하는 효과^{4,5)} 뿐만 아니라 항암,^{6,7)} 항당뇨,^{8,9)} 항고지혈증,^{10,11)} 항산화^{12,13)} 및 항노화¹⁴⁾ 등 여러 생리적 효능을 지니고 있다. 그럼에도 김, 미역, 다시마 등과 같은 수 중의 해조류만이 일반 식품으로의 그대로 이용되고 있으며 해조류에 함유된 고유 기능성분의 활용은 비교적 낮다. 최근에 들어 다양한 해조류에서의 유효성분 발굴하고 해조류 성분들

접수일 : 2008년 7월 29일 / 수정일 : 2008년 8월 20일

채택일 : 2008년 9월 16일

*This study was supported by the RIC Program of MOCIE, Republic of Korea.

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : shcho@cu.ac.kr

을 기능성식품 및 화장품 신소재로 활용하려는 노력이 증가되고 있다.

새로운 갈조류에서 기능성 물질을 발굴하고자 하는 연구의 일환으로 본 연구진에서는 대황 (*Eisenia bicyclis*)을 선정하여 혈청 지질 상태에 미치는 영향 연구를 1차적으로 시행한 바 있다.¹⁵⁾ 우리나라 울릉도 부근에 주로 분포되어 있는 대황 (*Eisenia bicyclis*)은 다시마목 (*Laminariales*) 미역과 (*Alariaceae*)에 속하는 다년생 식물로 대황 성분들의 항고지혈증,^{15,16)} 및 항산화¹⁷⁾ 기능 뿐 아니라 항당뇨기능¹⁸⁾도 보고된 바 있다. 1차의 대황의 혈청 지질상태 개선 연구에 이어 본 연구는 2차로 대황의 항당뇨 효과를 검증하고자 하였다.

따라서 본 연구에서는 streptozotocin (STZ)으로 당뇨를 유도한 생쥐에게 대황의 효과를 처리방법에 따라서 관찰하고자 건조 대황 분말, 물 추출물, 에탄올 추출물 및 효소처리 후 추출물과 대황 함유한 기능성 제품을 정제환의 형태로 제조하여 혈당과 혈당 관련물질을 조사하였다. 전보¹⁵⁾에서 대황의 혈청 지질 상태와 과산화 지질 수준을 조사하였으나 본 연구에서 당뇨로 인한 지질 상태의 특이적 변화 조건에서 대황 효과를 점검할 필요가 있다고 사료되어 이를 조사하였다.

재료 및 방법

대황 추출물 및 대황 정제환 제조

본 실험에 사용한 대황 (*Eisenia bicyclis*; EB)은 2007년 2월 경북 울릉도 도동리 근해에서 채취한 것으로서 채취 후 곧바로 바닷물로 수세하여 이물질들을 제거한 후 끓는 물에 10분간 데치기하고 흐르는 물에 담구어 계속해서 염분을 제거한 다음 자연 탈수 및 동결건조한 다음 전보¹⁵⁾와 같은 방법으로 100~200 mesh 크기로 분쇄하여 분말을 제조하였다. 대황의 일반성분의 함량을 측정한 결과, 조단백질 14.1%, 조지방 1.8%, 조회분 21.4%, 및 조섬유 5.9%이었다. 대황 정제환 제조시 부재료로 사용한 다시마 및 함초 분말과 기타 재료의 분말도 대황 분말 제조에 준하였다.

건조 대황 분말 100 g에 증류수 15 L를 가하여 80~90°C에서 2시간 가열추출한 후 여과 및 감압 농축하여 54 g의 대황 물추출물을 얻었다. 대황 에탄올추출물은 대황 분말 100 g에 80% 에탄올 15 L를 가하여 70~80°C에서 2시간 가열추출한 후 물 추출물 제조 시와 같은 방법으로 처리하여 47 g을 얻었다. 대황의 효소처리추출물을 제조하기 위하여 건조 대황 분말 100 g을 증류수 10 L로 현탁시킨 후 여기에 viscozyme L (EC 3.2.1.6, from *Aspergillus aculeatus*, 80 BGU/g, Novozyme, Denmark) 10 mL 가하

여 50°C에서 12시간 shaking incubator에서 교반하면서 가수분해반응을 실시하였다. 반응 후 5 L 증류수를 가하여 80~90°C에서 3시간 가열추출한 후 여과 및 감압 농축하여 대황 효소추출물 48 g을 얻었다. 대황 정제환은 대황 분말 20%, 다시마 (*Laminaria japonica*) 분말 17%, 함초 (*Salicornia herbacea* L.) 분말 18%, 쥐눈이콩 분말 15%, 검은깨 분말 12%, 양파 분말 6%, 마늘 분말 6%, 및 맥아효모 분말 6%의 배합비로 혼합하여 KJ-2 자동제환기 (한국 특허상표개발원, 부산, 한국)를 사용하여 제조하였으며, 본 실험에서는 대황 정제환을 다시 분쇄하여 분말로 사용하였다.

동물사육

실험동물은 ICR 생쥐 (mouse)에게 streptozotocin (STZ)으로 당뇨를 유도하여 식이실험을 수행하였다. 생쥐는 체중 30 g 내외되는 것으로 한국실험동물센터 (Seoul, Korea)에서 구입하여 환경에 적응시키기 위해 온도 22 ± 1°C, 습도 50 ± 10%의 조건에서 일반 배합사료 (Purina Co., Seoul, Korea)로 1주일간 예비 사육하였다. 환경에 적응된 ICR mouse들에게 STZ를 40 mg/kg bw의 용량으로 5일간 연속 근육에 주사하여 당뇨를 유도하였다.¹⁹⁾ 혈당 상승이 확인되는 시점, 즉, STZ 첫 번째 주사로부터 1주일 후부터 실험식이를 급여하였다.

본 식이실험에서 조제된 식이의 성분인 casein, vitamin mix, mineral mix, 콜레스테롤, 쇠기름 (beef tallow)은 Dyets®제품 (중앙실험동물(주), 서울)을 구입하였고, cellulose는 Sigma-Aldrich사 (St. Louis, USA)에서, 옥수수 전분은 삼양사 제품을, 대두유와 설탕은 슈퍼마켓에서 구입하여 사용하였다.

본 실험에서 혈청지질 상태의 개선을 보기 위하여 고지혈을 유도할 수 있는 저P/S ratio (다불포화지방산/포화지방산의 비율)의 고지방 식이를 기본으로 하였다.

실험식이의 P/S ratio가 0.5가 되게 쇠기름 (Beef tallow)과 대두유를 11 : 4의 비율로 혼합한 지방을 식이의 15% (총열량의 약 30%)로 하였고 콜레스테롤을 0.5% 첨가한 고지방/콜레스테롤식으로 하되 다른 식이성분들의 구성은 AIN-93 식이²⁰⁾를 따랐다. 대황 성분을 첨가하지 않은 식이를 대조식으로 하고 여기에 대황 분말 또는 물, 에탄올, 효소처리 물추출물 및 정제환 분말을 Table 1과 같은 구성으로 첨가하여 대황 실험식이를 조제하였다. 각각의 대황 시험물질 내에 함유된 섬유소양을 고려하여 첨가되는 cellulose 양을 조정하여 식이 내 총 섬유소가 5% 되게 하였다. 실험군은 총 6군으로 대조군 (control), 대황분말군 (EB powder), 대황 물추출물군 (EB water Ext), 대황 에탄올

Table 1. Composition of diets (g/kg)

Ingredient	Control	EB powder	EB Ext ¹	EB pill ²
Casein	200	200	200	200
Corn starch	400	400	400	400
Sucrose	150	150	150	150
Beef tallow	110	110	110	110
Soybean oil	40	40	40	40
Mineral mix (AIN-93)	35	35	35	35
Vitamin mix (AIN-93)	10	10	10	10
Cholesterol	5	5	5	5
Cellulose	50	20	45-47	38
EB powder		100		
EB Ext ¹			50	
EB pill ²				50

¹EB water, ethanol and viscozyme treated water extracts described as in Materials and Methods

²Composition of EB pill: EB powder 20%, *Laminaria japonica* powder 17%, *Salicornia herbacea* L. powder 18%, black soybean powder 15%, black sesame powder 12%, onion powder 6%, garlic powder 6%, yeast powder 6%

추출물군 (EB ethanol Ext), 대황 효소처리 물추출물군 (EB enzyme TR), 대황 정제환 (EB pill)으로 각 해당 실험식을 3주간 공급하였다.

대황 시험물질의 첨가함량은 상기에 서술한 바 같이 대황 분말 100 g으로부터 47~54 g의 추출물들을 얻었다는데 의거하여 결정하였다. 모든 식이는 4°C에서 보관하였으며 매일 일정 시간에 공급하여 자유로이 섭취하게 하였다. 사육실의 환경은 실내온도 20~22°C, 명암주기 12시간 (light 6:00~18:00)으로 유지하였다. 사육기간 당뇨 생쥐의 식이섭취량은 매일 측정하였으며 혈당과 체중은 3일에 한번 측정하였다. 동물실험은 대구가톨릭대학교 실험동물 관리규정에 의거하여 시행되었다.

혈당 및 혈청 인슐린 측정

실험식이 기간 중의 당뇨 생쥐의 혈당 변화는 식이를 급여하기 전 오후, 즉 공복시에 꼬리 혈관에 소량의 혈액을 취하여 혈당계 (Blood glucose monitoring kit, ARKRAY, Inc., Japan)를 이용하여 3~4일 한번씩 추적 조사하였다. 그러나 최종 혈당은 3주 식이 후 동물들의 대정맥으로부터 채취한 혈액에서 혈청을 분리하여 측정하였다. 즉, 사육 종료 후 생쥐를 12시간 절식시킨 다음 희생하여 복부 대정맥으로부터 혈액을 채취하여 3,100 rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 얻었다. 이 혈청에서 포도당을 효소 kit (아산제약, 서울)로 측정하고 혈청 인슐린은 Shibayagi 사 (Shibayagi Co., Ltd. Gunma, Japan)의 Mouse Insulin ELISA Kit(U-type)을 사용하여 측정하였다.

소장 이당류분해 효소 활성 측정

소장 점막의 채취 및 이당류 효소활성의 측정은 전보²¹⁾에 따라 시행하였다. 즉, Mouse를 희생시에 복부를 절개하여 위와 십이지장의 연결부위인 Treitz 인대로부터 소장의 끝 부분까지에서 상부 1/3지점에서 5 cm 조각을 잘라 두 개의 slide glass 사이에서 점막을 끊어 -80 °C 보관하였다가 시료로 사용하였다. 소장점막중의 maltase와 sucrase 활성은 Dahlqvist 방법²²⁾에 의해 측정하고 단백질 함량은 Lowry 방법²³⁾을 이용하여 정량하였다.

혈청 지질과 TBARS 측정

실험동물로부터 얻은 혈청에서 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤과 중성지방 (triglyceride; TG)은 효소 kit (아산제약, 서울)를 사용하여 정량하였다. 혈청의 지질과산화의 지표인 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)는 Yagi의 방법²⁴⁾에 의거하여 1,1,3,3- tetraethoxypropane을 표준물질로 사용하여 측정하였다.

통계처리

실험결과는 SAS (ver 9.1)을 사용하여 분산분산법 (analysis of variance)으로 군간의 차이를 조사하고 Tukey's test에 의하여 유의성 차이를 p < 0.05 수준에서 검증하였다.

결 과

혈당과 체중변화 및 사망율

대조식이와 5 종류의 대황 함유식을 섭취한 당뇨 생쥐들의 혈당과 체중 변화가 Fig. 1에 나타나 있다. 모든 실험군에서 혈당 (Fig. 1A)은 STZ 투여 일주일 후, 즉 실험식을 급여하는 첫날 (day 0)에는 고혈당이 보이지 않았으나 식이 4일째 되는 날 (STZ 투여 후 11일째)에는 확실한 고혈당 증세를 보였다. 식이 4일째의 혈당이 144~213 mg/100 mL로 식이 첫날의 48~78 mg/100 mL에 비하여 현저히 증가하였지만 실험군 간의 차이는 없었다. 이후 혈당은 지속적으로 증가하여 식이 11일째에 대조군은 445 ± 50 mg/100 mL로 되었고 15일째부터 10마리 중 7~8마리가 600 mg/100 mL 이상, 즉 꼬리 혈당계의 측정한계치를 초과하였으므로 Fig에 나타내지 못하였다. 실험군 간의 혈당 상승을 비교하면 대황 효소처리추출물 (EB enzyme TR)의 혈당 상승 억제 효과가 제일 뚜렷하여 11일 이후부터 다른 군에 비하여 유의적으로 낮아 18일까지 지속되었다. 나머지 4종의 대황군들, 즉 대황 분말군 (EB powder), 물 추출물군 (EB water Ext), 에탄올 추출물 (EB ethanol Ext) 및 대황 정제환군 (EB pill)도 11일에

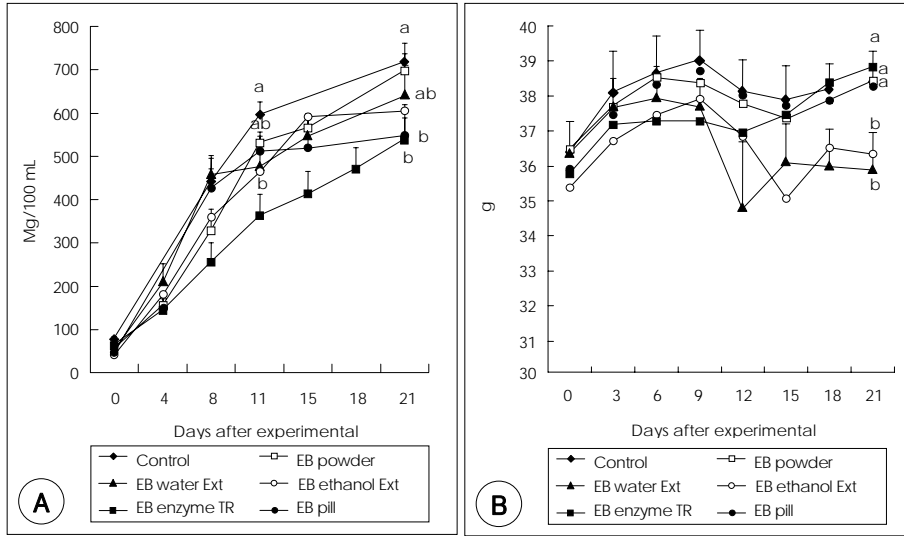


Fig. 1. Changes in blood glucose and body weight of streptozotocin-induced diabetic mice fed high fat-cholesterol diets containing various materials obtained from Eisenia bicyclis (EB) for 3 weeks Six groups of rats were fed the respective experimental diets described in Materials and Methods. Each point represent means \pm SE and those with different alphabet letters are significantly different among groups at the same day at $p < 0.05$. A: Blood Glucose. B: Body Weight.

서 15일까지 혈당 상승 억제 효과를 보였다. 그러나 18일째에 대황 분말군 (EB powder)과 물 추출물군 (EB water Ext)이 각 6마리씩, 에탄올 추출물 (EB ethanol Ext)은 7마리, 대황 정제환군 (EB pill)은 3마리가 600 mg/100 mL을 초과하였고 대황 효소처리추출물군 (EB enzyme TR)만은 472 ± 48 mg/100 mL으로 측정 가능한 범위에 있었다. 21일째에는 전체 6군 동물의 대정맥으로부터 얻은 혈청에서 효소법으로 혈당을 측정하여 Fig. 1A에 나타내었다. 이때의 혈당은 대조군이 713 ± 48 mg/100 mL, 대황분말군 (EB powder), 703 ± 34 mg/100 mL, 물추출물군 (EB water Ext), 643 ± 68 mg/100 mL, 에탄올 추출물군 (EB ethanol Ext) 604 ± 50 mg/100 mL, 효소처리추출물 (EB enzyme TR), 538 ± 50 mg/100 mL, 대황 정제환군 (EB pill), 548 ± 71 mg/100 mL로, 대황 효소처리추출물군과 정제환군이 대조군과 대황분말군에 비하여 유의하게 낮았다. 대황 실험군들의 체중 변화는 Fig. 1B에서 보는 바와 같이 전반적인 추세는 당뇨가 진행되면서 물 추출물군 (EB water Ext)과 에탄올 추출물군 (EB ethanol Ext)들이 대조군에 비하여 감소 경향을 보였고 대황 분말 (EB powder)군과 정제환군 (EB pill)의 체중 변화는 대조군과 유사하였다. 효소 처리 추출물군 (EB enzyme TR)은 초기의 체중이 대조군에 비하여 낮은 경향이었는데 당뇨가 급격히 진행되는 식이 6~13일째에는 체중 증가가 없었으나 그 이후 다른 군에 비하여 빨리 체중이 회복되어 증가하는 것을 보여 주었다.

혈청 인슐린

실험식이로 3주 사육한 후의 희생시킨 대조군과 5군의 대황 식이군의 혈청 인슐린 수준이 Fig. 2에 나타나 있다. 혈

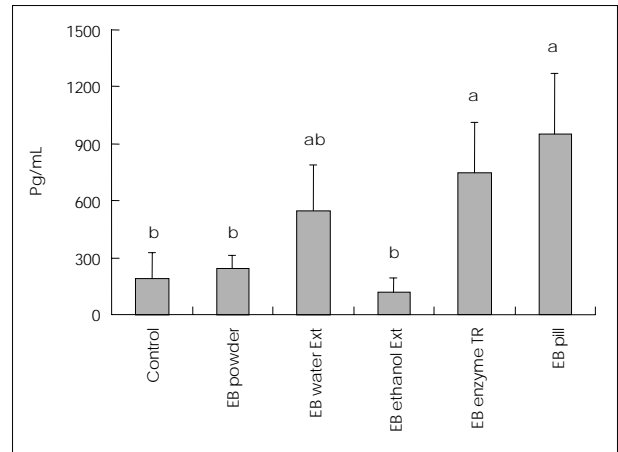


Fig. 2. Serum insulin levels of streptozotocin-induced diabetic mice fed diets containing various materials obtained from Eisenia bicyclis (EB). Serum levels of insulin were measured by the method described in Materials and Methods after 3 weeks of feeding experimental diets six groups of mice as described in Fig. 1. Bars represent means \pm SE and those with different alphabet letters are significantly different among groups at $p < 0.05$.

청 인슐린 수준이 대황 물추출물 섭취군 (EB water Ext)에서 대조군에 비하여 증가하는 경향을 보였고 대황 효소처리 추출물군과 대황 정제환 (EB pill)군에서는 유의적으로 증가하였다. 그러나 대황분말 섭취군 (EB powder)과 에탄올 추출물섭취군 EB ethanol Ext)에서는 대조군과 차이가 없었다.

소장 이당류 가수분해 효소 활성

Table 2에 실험군들의 3주 식이 후의 소장 점막의 이당류 분해효소 활성이 나타나 있다. 효소 활성을 비활성 (units/mg protein)으로 나타내었을 때 대황 효소추출물 섭취군 (EB enzyme TR)이 다른 군들에 비하여 maltase 활성이

유의적으로 높고 sucrase 활성도 높은 경향이였다. 그러나 5 cm의 소장에서 나타난 총 활성 (units/5 cm)은 모든 대황 식이군에서 대조군에 비하여 전반적으로 높았으며 maltase의 경우는 대황 물추출물군 (EB water Ext)과 정제환 (EB pill)에서 유의적으로 높고, sucrase의 경우는 대황 분말군 (EB powder)과 역시 정제환군에서 유의적으로 높았다.

혈청 지질과 과산화 지질

당뇨생쥐에게 대황 함유 물질들을 섭취시킨 후 혈청 지질의 수준이 대조군의 결과와 함께 Fig. 3에 나타나 있다. 대조군에 비하여 5 군의 대황 (EB) 식이군들이 전반적으로 혈청 총콜레스테롤, 중성지방은 낮아지는 반면 혈청 HDL-

콜레스테롤의 수준이 증가되는 경향을 보였다. 대조군에 비하여 대황 물추출물군에서 혈청 콜레스테롤 수준이 15.8%, 대황 효소추출물군에서 24.1%, 대황 정제환군에서 11.2% 유의하게 감소하였고 대황 분말과 에탄올추출물은 감소 경향만 보였다. 혈청 중성지방 수준도 대황 효소추출물군에서 대조군에 비하여 25.8%가 낮아 대황시험물질 중에 가장 저하효과가 컸으며 에탄올추출물군과 정제환군에서도 각각 23%, 20%씩 유의적으로 저하되었다. HDL-콜레스테롤의 수준은 대황 분말군과 대황 정제환군에서만 대조군에 비하여 각각 26%, 19%씩 유의적으로 증가하였다. 그러나 HDL-콜레스테롤/총 콜레스테롤 (HDL/C)의 비율은 5종의 대황 시험물질군에서 모두 유의적으로 증가하여 대황 에탄올

Table 2. Effects of EB powder, extracts and formulated pill on the intestinal disaccharidase activities in streptozotocin-induced diabetic mice fed high fat-cholesterol diets containing various materials obtained from Eisenia bicyclis (EB) for 3 weeks

Group	Intestinal Disaccharidase Activity			
	Maltase		Sucrase	
	units/mg protein	units/5 cm	units/mg protein	units/5 cm
Control ¹⁾	5.71 ± 0.26 ^b	27.2 ± 2.3 ^b	1.64 ± 0.09 ^{NS}	7.82 ± 0.60 ^b
EB powder	5.65 ± 0.23 ^b	29.5 ± 2.2 ^b	1.63 ± 0.09	10.79 ± 0.55 ^a
EB water Ext	5.73 ± 0.49 ^{ab}	37.3 ± 2.1 ^a	1.66 ± 0.12	9.44 ± 0.89 ^{ab}
EB ethanol Ext	5.28 ± 0.25 ^b	32.4 ± 3.4 ^{ab}	1.53 ± 0.09	9.64 ± 1.14 ^{ab}
EB enzyme TR	6.70 ± 0.68 ^a	31.9 ± 2.4 ^{ab}	2.03 ± 0.25	8.56 ± 0.86 ^{ab}
EB pill	6.16 ± 0.31 ^{ab}	35.9 ± 2.9 ^a	1.77 ± 0.06	10.37 ± 0.88 ^a

¹⁾Six groups of mice were fed the respective experimental diets described in Materials and Methods

²⁾Values are means ± SE and those in the same column with different superscript alphabets are significantly different among groups at p<0.05

NS: not significant

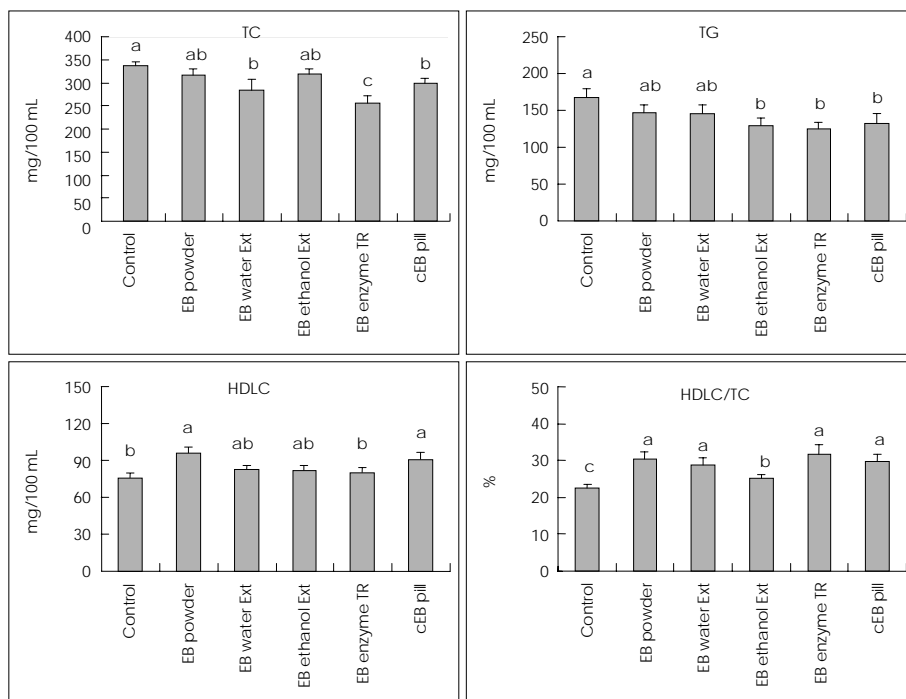


Fig. 3. Effects of EB powder, extracts and formulated pill on the levels of serum lipid in streptozotocin-induced diabetic mice fed high fat-cholesterol diet various materials obtained from Eisenia bicyclis (EB) for 3 weeks Six groups of rats were fed the respective experimental diets described in Materials and Methods. Bars represent means ± SE and those with different alphabet letters are significantly different among groups at p<0.05.

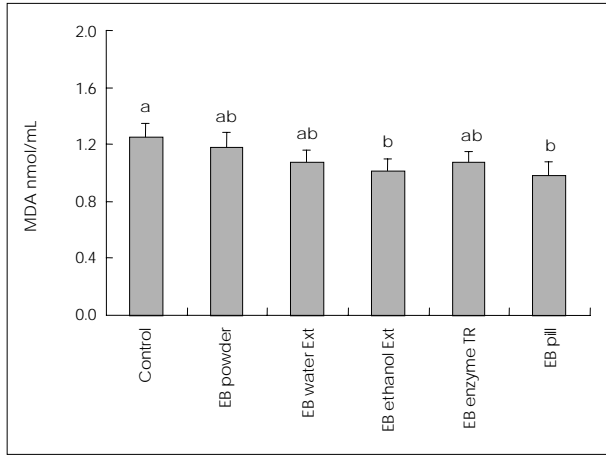


Fig. 4. Serum TBARS Levels of Streptozotocin-Induced Diabetic Mice Fed Experimental Diets Containing Various Materials Obtained from *Eisenia bicyclis* (EB) for Three Weeks. Six groups of rats were fed the respective experimental diets described in Materials and Methods. Bars represent means \pm SE and those with different alphabet letters are significantly different among groups at $p < 0.05$.

추출물군 11.5% 증가에서 대황 효소추출물 섭취군에서는 39.6%까지 증가하였다.

Fig. 4에 실험군들의 3주 식이 후의 혈청 과산화지질 수준이 나타나 있다. 보는 바와 같이 thiobarbituric acid reactive substance로 측정된 혈청 과산화지질의 양은 대조군에 비하여 전반적으로 대황 식이군들이 낮아지는 경향이었고 대황 에탄올추출물과 정제환 섭취군에서 유의적으로 감소하였다.

고 찰

본 연구에서와 사용한 다섯 종류의 대황 식이 중 네 종류를 사용하여 흰쥐의 혈청 지질 상태 개선에 대한 대황의 효과를 전보¹⁵⁾에서 보고한 바 있다. 전보에서 본 실험에서와 같은 수준의 대황 식이를 사용했을 때 흰쥐에서 간독성이나 신장독성이 관찰되지 않았으므로 본 연구에서 실험동물이 생쥐 (mouse)로 바뀌었지만 같은 구성의 대황 식이를 사용하였다. 본 연구는 대황의 효과가 당뇨 생쥐의 체내 상태 개선에도 적용되는지 보고자 시도되었고 또한 대황 식이재료를 viscozyme을 처리하여 사용하였을 때의 효과도 추가적으로 관찰하고자 하였다. 당뇨는 현재 우리나라 성인의 약 15%가 가지고 있는 대표적인 만성질환이며 5대 사망 요인의 하나다. 당뇨가 되면 체내에서 당대사 뿐 아니라 지질대사에서도 이상을 초래하여 심질환의 유발도 증가시키는 매우 심각한 대사성 질환이다. 본 연구에서 대황 분말과 분말이 함유된 정제환, 대황 추출물들이 모두 생쥐의 당

노 상태를 개선하였다. 대황분말식에는 식이 kg 당 총 식이섬유량 50g 중에서 30g이나 되어 대황섬유소가 대조군의 cellulose에 비해 혈당 상승 억제작용이 있음을 보여준다고 하겠다. 그러나 대황 물추출물 및 에탄올 추출물에서 공급되는 대황 섬유소는 kg 식이당 5g 이하로 적다. 따라서 대황의 추출물에 의한 혈당 상승 억제는 대황 섬유소 외 저분자량의 물질이 작용하였을 것으로 생각된다. 특히 viscozyme으로 처리한 추출물에서 대황 다당류가 분해되어 감소하였을 것으로 예상되는데도 불구하고 오히려 혈당 상승 억제 작용이 제일 큰 것은 대황 섬유소 다당류 외의 추출된 저분자량의 물질의 효과로 생각된다. 반면 대황 정제환식에서는 대황 섬유소가 kg 당 식이에 3g 정도이지만 총 해조 섬유소가 10g 이상이어서 여러 해조다당류의 효과 복합적으로 나타난 것으로 해석된다. 효소처리하지 않은 대황 물추출물과 에탄올 추출물에 의하여 체중의 급격한 감소 경향을 볼 수 있어 문제점으로 지적할 수 있겠다. 그러나 정상쥐에게 같은 추출물을 섭취시켰을 때 체중변화가 분말섭취군과 차이가 없었던 점¹⁵⁾으로 보아 본 실험에서 투여한 STZ에 다른 개체 체중 변화에 큰 차이가 있었던 것으로 보인다. 그러나 대황 추출물을 활용하기에 앞서 이에 대한 세밀한 조사가 필요하다고 생각한다.

대황에 함유된 저분자량의 물질로 pyropheophytin α ,¹⁷⁾ 수종의 oxylipin 화합물²⁵⁾과 phloroglucinol 유도체, eckol 및 dieckol¹⁸⁾을 분리한 바 있다. 이 중 Pyropheophytin α 은 항산화 작용¹⁷⁾을, oxylipin 화합물들은 약한 항균작용²⁵⁾이 있는 반면 phloroglucinol 유도체, eckol 및 dieckol은 α -amylase 활성을 저해하는 것¹⁸⁾으로 보고되었다. 본 실험에서 혈당 상승 억제가 phloroglucinol 유도체, eckol 등에 의한 amylase 활성 저해가 하나의 요인으로 작용하였을 가능성이 있다. 그러나 소장 점막의 이당류 분해 효소의 활성은 대황 식이에 의하여 전반적으로 증가하는 경향을 보였다. 이 활성은 비활성 (units/mg protein)으로 나타내었을 때 보다 특히 총활성 (units/5 cm)으로 계산하였을 때 대조군에 비하여 활성이 뚜렷이 높았다. 이것은 같은 면적의 소장에 점막이 잘 유지되어 단백질 함량이 높는데 기인한다고 판단되며 대황 성분의 소장 점막 보호 측면으로 생각할 수도 있다. 효소활성 자체로만 본다면 *in vivo* 상태에서 이당류 분해효소, 특히 maltase의 활성 증가는 guar gum과 같은 수용성 섬유소가 불용성 섬유소에 비하여 활성을 증가시킨다고 전보²⁶⁾와 유사하다. 그러나 본 연구와 같은 당뇨 생쥐에게서 조사하였을 때 당뇨로 인하여 증가된 소장의 이당류 분해효소가 프락토올리고당이나 치커리 이눌린에 의한 변화가 없었다.²⁷⁾ 이는 본 연구에서는 정제되지 않

은 대황 분말이나 일부 추출물을 사용한 반면 전보에서는 정제된 섬유소를 사용하였다는 점에서 차이가 올 수 있다고 생각한다. 본 실험에서는 *in vivo* 상태에서의 효소활성을 측정하는 것이므로 이당류 대황 성분들의 이당류 분해 효소에 저해제로 작용할지 여부는 *in vitro* 조건에서 조사해 보아야 한다. Phytochemical에 의한 탄수화물 소화 효소 저해가 주로 α -amylase를 중심으로 보고되어 왔으므로^{18,28)} 이당류 분해 효소의 저해작용에 대한 조사가 필요하다.

본 결과에서 나타난 대황 성분들의 혈당 상승 억제 작용은 혈청 인슐린과 밀접한 관계가 있는 것으로 보인다. 대체로 지속적으로 혈당이 낮았던 대황 효소처리 추출물군, 대황 정제환군의 혈청 인슐린 수준이 대조군과 대황 분말이나 에탄올 추출물군에 비하여 높았기 때문이다. Streptozotocin은 선택적으로 췌장의 β -cell을 파괴시키므로서 인슐린 분비에 지대한 영향을 끼치지만 양을 조절하여 투여하므로서 당뇨 상태를 변화시킬 수 있다. 본 실험에서는 사용한 당뇨 유발 방법¹⁹⁾은 당뇨 유발이 비교적 급격하지 않은 것으로 알려졌다. 정상 흰쥐의 인슐린 농도가 1 ng/ml 이상인데 반하여 비교적 약하게 유발된 당뇨상태 (혈당 250~300 mg/100 mL)에서 인슐린 농도가 0.4~0.7 ng/ml^{27,29)}로 본 연구에서 실험군의 수준과 유사하였다.

혈청 인슐린을 실험기간 동안 추적하지는 못하였으나 대황 효소처리 추출물군에서 식이기간 동안 다른 군들에 비하여 높게 유지하였을 것으로 추정한다. 인도 및 아프리카 지역의 여러 식물 추출물들이 *in vivo*에서 혈청 인슐린 농도 증가시키고,^{30,31)} *in vitro*에서는 쥐의 Langerhans islet으로부터 인슐린 분비를 증가시켰다는 보고들^{32,33)}이 있다. 우리나라 질경 추출 분획물도 인슐린 분비 Min 6 세포로부터의 인슐린 분비가 증가시켰다.³⁴⁾ 카메룬 지역에서 재배되는 채소류인 Kalachoe crenata 추출물은 제2형 당뇨쥐의 인슐린 민감도를 증가시켰으며³⁵⁾ 중국에서 약초로 사용되는 Cephalotaxus sinensis 잎 추출물은 생쥐 지방세포의 GLUT-4 활성을 증가시켜 지방세포의 포도당 유입이 원활하게 되었음³⁶⁾이 보고되었다. 따라서 본 연구에서 대황 성분들에 의한 혈당 감소는 일차적으로 인슐린 상태 향상이 주요한 이유라고 생각되지만 포도당 이동과 대사의 변화가 수반될 가능성도 있다.

혈청 콜레스테롤의 수준은 고콜레스테롤식이를 한 정상 흰쥐에서 나타난 전보¹⁵⁾의 결과에 비하여 매우 높았으나 이는 당뇨 생쥐에게서 보고된 정의 결과³⁷⁾와 비교할 만한 수준이었고 혈청 중성지방은 본 연구의 고지방-콜레스테롤식이로 낮았다. 그럼에도 본 연구에서 대황 물 추출물과 대황 정제환에 의한 혈청 총 콜레스테롤 및 중성지방 저하 효과

와 HDL-콜레스테롤 상승 효과는 정상 흰쥐를 사용하여 얻은 전보¹⁵⁾의 결과와 같았다. 또한 본 연구에서는 대황 효소 추출물의 혈청 지질 저하효과가 다른 방법으로 처리한 대황 물질들 보다 우수하였음을 보여 준 것이 새로운 결과라고 하겠다. 혈청의 과산화지질에 미치는 대황 물질들의 효과도 전보¹⁵⁾와 유사하여 대황 성분의 항산화 작용¹⁷⁾을 재확인하였다. 그러나 본 연구에서 당뇨와 아울러 고지혈증에 관련된 효과를 보기 위하여 고지방-콜레스테롤 식 조건에서 실험을 하였으므로 우리나라 식사 수준과 유사한 저지방식이 조건에서 당뇨 및 혈청 지질을 조사해 볼 필요가 있다.

결론적으로 대황의 혈당 및 인슐린, 혈청 지질 등에 대한 효과는 대황을 viscozyme으로 처리한 후 추출하여 사용하였을 때 전반적으로 가장 우수하였다. 이는 대황의 조직 구조를 이루는 matirx 물질들이 viscozyme에 의하여 잘 해체됨으로서 저분자량의 물질의 추출이 용이하였기 때문으로 생각한다. 해조류³⁸⁾ 및 들깨³⁹⁾를 viscozyme 및 단백질 분해 효소로 처리한 후의 추출물들의 항산화 활성이 증가하였고 뇌세포 보호작용도 증강되었다고 보고되었다. 이러한 효소들은 주로 식품가공에서 사용되어 왔으나⁴⁰⁾ 식물로부터 기능성분의 추출에 많이 활용될 필요가 있다고 생각된다. 본 연구에서 사용한 대황 효소 처리 추출물을 당뇨 개선에 기능성 식품 재료로서 활용할 방안을 적극 모색할 필요가 있다. 이를 위하여 대황 효소 처리 추출물의 독성에 대한 조사가 먼저 이루어져야 하겠다. 반면 간독성이 별로 나타나지 않았던 대황 정제환¹⁵⁾의 당뇨 개선 효과는 대황 정제환의 구성 성분들의 적절성을 확인해 주었다. 대황 정제환은 여러 가지 재료들의 분말형태를 혼합하여 재료 조제에 상당한 비용이 절감되어 활용의 용이성에 의의가 있다. 따라서 식물에서 기능성분의 추출효율을 높이는 연구와 아울러 여러 재료들의 적절한 혼합으로 경제적으로 효과를 높이는 방안에 대한 연구도 필요하다고 생각된다.

Literature cited

- 1) Korea National Statistical Office. Cause of death statistics; 2007
- 2) Wildman RC. Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods 2nd ed. CRC press; 2007
- 3) Sung JH, Ha YS, Im MH, Im JG, Kang KS. Seaweed and health. In: Foods and Health. Seoul: Hyungseol Press Co.; 2002. p.190
- 4) Lee JG, Lim YS, Joo DS, Joung IH. Effects of diet with seatangle (Kjellmaniella crassifolia) on calcium absorption, serum composition and feces in rats. *J Korean Fish Soc* 2002; 35: 601-607
- 5) Oh HK, Lim HS. Effects of the products of raw sea tangle on chronic idiopathic constipation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2007; 36: 720-726

- 6) Cho KJ, Lee YS, Ryu BH. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *J Kor Fish Soc* 1990; 23: 345-352
- 7) Kim YM, Do JR, Kim DS, Park JH. Cytotoxicities of hydrolyzed crude laminaran from *Eisenia bicyclis* on the SNU-1, HeLa and SW cells. *Korean J Food Sci Technol* 2006; 38: 793-798
- 8) Lee HS, Choi MS, Lee YK, Park SH, Kim YJ. A study on the development of high-fiber supplements for the diabetic patients (2)-Effect of seaweed supplementation on the lipid and glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 1996; 29: 296-306
- 9) Lee KS, Seo JS, Choi YS. Effect of sea tangle and hypoglycemic agent on lipid metabolism in diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1998; 27: 960-967
- 10) Kim HS, Kim GA. Effects of the feeding Hijika fusi-forme (Harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1998; 27: 718-723
- 11) Joo DS, Lee JK, Choi YS, Cho SY, Je YK, Choi JW. Effects of seatangle oligosaccharide drink on serum and hepatic lipids in rats fed a hyperlipidemic diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2003; 32: 1364-1369
- 12) Ruberto G, Baratta MT, Biondi DM, Amico V. Antioxidant activity of extracts of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system. *J Appl Phycol* 2001; 13: 403-407
- 13) Cho SH, Kang SE, Cho JY, Kim AR, Park SM, Hong YK, Ahn DH. The antioxidant properties of brown seaweed (*Sargassum siliquastrum*) extracts. *J Med Food* 2007; 10: 479-485
- 14) Kang HS, Kim HR, Byun DS, Son BW, Nam TJ, Choi JS. Tyrosinase inhibitors isolated from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera*. *Arch Pharm Res* 2004; 27: 1226-1232
- 15) Jang YH, Choi SW, Cho SH. Effect of *Eisenia bicyclis* and its pill on serum lipid status in rats fed high fat diet. *Korean J Nutr* 2008; 41: 5-12
- 16) Kim YM, Han CK, Bang SJ, Park JH. Effect of laminaran from *Eisenia bicyclis* on serum lipids in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2006; 36: 841-846
- 17) Cahyana AH, Shuto Y, Kinoshita Y. Pyropheophytin a as an antioxidative substance from the marine alga, Arame (*Eisenia bicyclis*). *Biosci Biotech Biochem* 1992; 56: 1533-1535
- 18) Okada Y, Ishimaru A, Suzuki R, Okuyama T. A new phloroglucinol derivatives from the brown alga *Eisenia bicyclis*: Potential for the effective treatment of diabetic complications. *J Nat Prod* 2004; 67: 103-105
- 19) Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetic mellitus. *Science* 1976; 193: 415-417
- 20) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on the reformation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993; 123: 1939-1951
- 21) Cho SH, Lee JY, Choi YS, Choi KH. Dietary Effects of Fiber Produced from *Gluconoacetobacter hansenii* on Digestive tract and lipid metabolism in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2002; 31: 802-807
- 22) Dahlqvist A. Assay of intestine disaccharidases. *Scand J Clin Lab Invest* 1984; 44: 169-172
- 23) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275
- 24) Yagi K. Microdetermination of lipoperoxide in blood. *Biochem Med* 1976; 15: 212-216
- 25) Kousaka K, Ogi N, Akazawa Y, Fujieda M, Yamamoto Y, Tanaka Y, Kimura J. Novel oxylipin metabolites from the brown alga *Eisenia bicyclis*. *J Nat Prod* 2003; 66: 1318-1323
- 26) Choi Y, Cho SH, Kim HJ, Lee HJ. Effects of soluble fibers on lipid metabolism and activities of intestinal disaccharidases in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1998; 44: 591-600
- 27) Jeong HJ, Sung HY, Choi YS, Cho SH. Effects of fructans on blood glucose, activities of disaccharidases and immune function in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2005; 34: 1188-1194
- 28) Andrade-Cetto A, Becerra-Jimenez J, Cardenas-Vazquez R, Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *J Ethnopharmacol* 2008; 116: 27-32
- 29) Her BY, Sung HY, Choi YS. Oligosaccharide-supplemented soy ice cream or diabetic patients: Quality characteristics and effects on blood sugar and lipids in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Nutr* 2005; 38: 663-671
- 30) Narendhirakannan RT, Subramanian S, Kandaswamy M. Biochemical evaluation of antidiabetogenic properties of some commonly used Indian plants on streptozotocin-induced diabetes in experimental rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 1150-1157
- 31) Singab AN, El-Beshbishy HA, Yonekawa M, Nomura T, Fukai T. Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus alba* root bark extract: effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2005; 100: 333-338
- 32) Rchid H, Chevassus H, Nmila R, Guiral C, Petit P, Chokaïri M, Sauvaire Y. *Nigella sativa* seed extracts enhance glucose-induced insulin release from rat-isolated Langerhans islets. *Fundam Clin Pharmacol* 2004; 18: 525-529
- 33) Govindarajan R, Vijayakumar M, Rao ChV, Pushpangadan P, Asare-Anane H, Persaud S, Jones P, Houghton PJ. Antidiabetic activity of *Croton klotzchianus* in rats and direct stimulation of insulin secretion in-vitro. *J Pharm Pharmacol* 2008; 60: 371-376
- 34) Ko BS, Jwon DY, Hong SM, Park S. In vitro anti-diabetic effects of crude extracts of *Platycodi radix*. *Korean J Food Sci Technol* 2007; 39: 701-707
- 35) Kamgang R, Mboumi RY, Fondjo AF, Tagne MA, N'dillé GP, Yonkeu JN. Antihyperglycaemic potential of the water-ethanol extract of *Kalanchoe crenata* (Crassulaceae). *Nat Med* 2008; 62: 34-40
- 36) Li W, Dai RJ, Yu YH, Li L, Wu CM, Luan WW, Meng WW, Zhang XS, Deng YL. Antihyperglycemic effect of *Cephalotaxus sinensis* leaves and GLUT-4 translocation facilitating activity of its flavonoid constituents. *Biol Pharm Bull* 2007; 30: 1123-1129
- 37) Jeong HJ. Effect of chicory inulin and oligosaccharides on blood glucose, lipid metabolism and immune functions in streptozotocin-induced diabetic mice [MS Thesis]. Daegu: Daegu University; 2003
- 38) Heo SJ, Lee KW, Song CB, Jeon YJ. Antioxidant activity of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Algae* 2003; 18: 71-81

- 39) Kim EK, Lee SJ, Lim BO, Jeon YJ, Song MD, Park TK, Lee KH, Kim BK, Lee SR, Moon SH, Jeon BT, Park PJ. Antioxidative and neuroprotective effects of enzymatic extracts from leaves of perilla frutescens var. japonica. *Food Sci Biotech* 2008; 17: 279-286
- 40) Cha JY, Shin HS, Cho YJ, Kim CT, Kim CJ. Influence of extrusion on the solubility of defatted soybean flour in enzymatic hydrolysis. *Food Sci Biotech* 2007; 16: 543-548