

한천 유기산 가수분해물의 생리활성

주동식^{1*} · 이창호² · 조순영³

¹한중대학교 외식산업학과

²강릉대학교 생물학과

³강릉대학교 동해안해양생물자원연구센터

Functional Properties of Hydrolysates Prepared from Agar Treated with Organic Acids

Dong-Sik Joo^{1*}, Chang-Ho Lee², and Soon-Yeong Cho³

¹Dept. of Foodservice Industry, Hanzhong University, Gangwon 240-713, Korea

²Dept. of Biology, and ³East Coastal Marine Bioresources Research Center, Kangnung National University, Gangwon 210-702, Korea

Abstract

This study was concerning various physiological activities of agar hydrolysates. All agar hydrolysates showed strong antimicrobial activity against *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus*. Also, the agar hydrolysates prepared at the temperature of 110°C or 120°C showed antimicrobial activity against *St. aureus* and *E. coli*. Among the agar hydrolysates, several hydrolysates treated with citrate or malate at 110°C or 120°C conditions showed tyrosinase activity inhibition, and their inhibition rates of tyrosinase activity were about 80%. Some tested samples treated with 0.5% organic acid at 100°C or 110°C inhibited the growth of cancer cell. Two agar hydrolysates prepared with 0.5% citrate and lactate at 110°C for 180 min had relatively high cancer cell growth inhibition among the tested samples. The agar hydrolysates treated with citrate and lactate at 110°C for 180 min obtained the main peaks of six and seven from Sephadex G-15 column chromatography. Among the main peaks, the cancer cell growth inhibition of C-3 and L-3 fractions were higher than that of other fractions.

Key words: agar hydrolysates, antimicrobial activity, physiological activity, agar, cell growth inhibition

서 론

올리고당(oligosaccharide)은 단당이 2~10여개가 결합된 감미료로서 장내세균군의 개선, 항콜레스테롤효과, 항충치성 등 여러 가지 생리기능이 밝혀지면서 활발한 연구가 이루어진 바 있으며 아울러 식품에 사용할 경우 저감미, 비발효성, 저칼로리, 보습성, 갈변방지 등의 물리화학적 기능을 발현시킬 수도 있는 것으로 알려져 있다(1).

한편, 해조 다당으로 식품산업이나 공업용으로 널리 이용되고 있는 한천은 이용분야 만큼이나 다양한 연구가 여러 분야에서 행해져 왔고(2-4), 최근에는 한천 당질을 효소적 또는 산가수분해로 올리고당을 제조하려는 시도와 응용에 대한 연구가 국내외에서 진행된 바 있다(5-7). 한천을 소재로 한 올리고당의 제조는 미생물 유래의 효소나 저농도 산으로 가수분해하는 방법이 있으나, 현재까지도 여러 가지 이유로 산업적 응용의 단계에는 이르지 못하고 있는 실정이다. 한편, 효소적 분해에 의한 한천 올리고당의 제조는 특정 올

리고당을 선택적으로 제조할 수 있다는 장점이 있지만, 효소 제조, 올리고당 제조 후 정제 공정, 생산비 등의 문제로 제한적인 요소가 많으며, 또한 산 가수분해의 경우는 특정 올리고당의 선택적 생산이 곤란한 문제점 등이 있다. 그러나 최근에는 분자량이 다른 몇 가지 한천 올리고당이 혼합된 한천 가수분해물을 기능성식품 소재로 활용하기 위해 저농도 유기산의 한천 올리고당 제조에의 효율성에 대한 연구가 이루어진 바 있다(8).

본 연구는 한천 올리고당 혼합물의 기능성식품 소재로의 활용을 위해 저농도 유기산으로 한천을 가수분해하여 제조된 올리고당이 다량 함유된 한천 가수분해물의 생리활성 여부를 시험하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시험 시료

Joo 등(8)이 보고한 한천 가수분해물의 제조 조건, 즉 한천

*Corresponding author. E-mail: dsjoo777@hanzhong.ac.kr
Phone: 82-33-520-9253, Fax: 82-33-520-9098

(agar-agar)과 초산, 구연산, 젖산, 사과산, 숙신산 등의 유기산은 시판 제품(Sigma Co., USA)을 구입하여 이용하였다. 0.3~0.5% 농도의 유기산 용액에 한천을 1% 농도로 첨가하여 80~120°C의 가열 조건에서 각 반응시간에 따라 가수분해 처리하여 얻어진 시료를 실험에 사용하였다.

환원당 및 분해율 측정

환원당은 Somogyi법(9), 즉 시료용액 1 mL와 동(銅)시약 1 mL를 test tube에 각각 취하고 water bath에서 20분간 가열하여 산화 제1동(Cu₂O)을 생성시켰다. 여기에 몰리브덴 용액 1 mL를 가하여 발색시킨 다음, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선으로부터 환원당을 정량하였다. 전당은 페놀-황산법(10) 즉, 시료 용액 0.5 mL에 5% phenol 용액 1 mL를 첨가하여 섞은 후 황산 5 mL를 직하시켜 20분간 상온 방치하여 발색시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선으로부터 전당 함량을 측정하였다.

Sephadex G-15 chromatography

기능 특성이 확인된 시료는 활성 획분을 확인하기 위해 Sephadex G-15를 이용하여 겔 크로마토그래피를 행하였다. 유리칼럼(Φ2.5 cm×100 cm)에 80 cm 정도 수지를 충전한 다음, 시료를 동결건조 하여 일정량을 물(5~10 mL)에 녹인 후 칼럼에 loading하여 증류수(pH 7.0)로 용출시켰다. 용출된 시료를 fraction collector를 이용하여 튜브에 각각 6 mL씩 분획하였다. 얻어진 획분별로 전당과 환원당 함량을 측정하였고, 전당과 환원당 함량에 따라 용출 획분을 분리하여 생리활성을 재측정하였다.

항균활성 및 항충치 활성

한천의 분해조건별로 얻어진 유기산 가수분해물의 항균 활성을 paper disk 법으로 측정하였다(11). 즉, 멸균 petri dish에 nutrient agar를 15 mL씩 부어 평판을 만들고 시험 균주들을 37°C에서 12시간 배양시킨 균액을 면봉을 이용하여 petri dish 상에 도말하여 접종하고, 25°C에서 2시간 전배양시킨 후 paper disk(8 mm, Advance Toyo, Japan)를 평판 위에 올려놓고 그 위에 0.45 μm membrane filter로 여과한 가수분해물 25 및 50 μL를 멸균 마이크로피펫으로 가한 후 37°C로 조절된 배양기에서 배양하였다. 배양 12시간과 24시간 경과 후 paper disk 주위의 투명환의 생성 여부로 항균성 유무를 판별하였고, 대조실험은 0.5% 유기산 용액에 1% 농도로 한천을 용해한 것을 사용하였다. 본 실험에 사용한 균주는 *B. cereus* KCTC3674, *B. subtilis* KCTC3729, *E. coli* KCTC1039, *Staphylococcus aureus* KCTC1928 및 *Enterobacter aerogenes* KCTC2190 등으로 유전자은행(KCTC)로부터 분양받아 사용하였다.

항충치능은 충치균 배양 배지인 BHI(brain heart infusion) broth에 1.5% agar를 첨가하여 기층용 배지를 만들어 멸균 petri dish에 분주하여 미리 평판을 제조하였고, 중층

용 배지(0.75% agar 함유)를 2.5 mL씩 시험관에 분주한 다음 멸균한 후 50°C 정도로 식힌 후 시험균액을 0.1 mL씩 가하여 잘 혼합하고 기층 배지용 평판에 도포한 다음 응고시켰다. 여기에 paper disk를 놓고 0.45 μm filter paper로 여과한 시험 용액을 일정량 분주한 다음 4°C에서 1시간 방치한 후, 37°C로 조절된 CO₂ 배양기(Sanyo Co., Japan)에서 48시간 배양한 다음 투명환을 관찰하였다. 사용된 균주는 *Streptococcus mutans* KCTC3065로 KCTC로부터 분양받아 사용하였다.

Bifidobacterium 생육 촉진능

여과기로 제균된 시험 시료 1 mL를 멸균된 10 mL MRS 배지(0.005% L-cysteine 함유)가 들어있는 시험관에 가하여 37°C, 48시간 배양한 다음 성장 정도를 650 nm에서 흡광도를 측정하여 상대값으로 나타내었다(12). 사용한 비피더스균은 *Bifidobacterium infantis* KCTC3127, *Bifidobacterium longum* KCTC3128로 유전자은행에서 분양받은 것이었다.

Tyrosinase 활성 저해능 측정

Tyrosinase 활성 저해 작용은 tyrosine을 멜라닌으로 산화시키는 phenoloxidase의 활성을 저해하는 능력을 측정하였다(13). 즉, 시료용액 1 mL에 0.05% tyrosinase 용액 0.1 mL와 1/15 M 인산 완충액(pH 6.8) 0.9 mL를 가하여서 25°C, 10분간 가온하였다. 여기에 0.03% DOPA(3,4-dihydroxyphenyl alanine, pH 6.8) 1 mL를 가하여서 25°C에서 5분간 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하였다(D₁). 한편, 가열하여 실활시킨 효소를 이용하여 동일한 실험을 행한 것(D₂)과 시료 무첨가 실험(D₃)으로부터 저해율을 산출하였다.

$$\text{효소활성 저해율(\%)} = \frac{D_3 - D_1}{D_3 - D_2} \times 100$$

ACE(angiotensin-I converting enzyme) 저해능 측정

ACE 저해능은 일정 농도의 유기산 분해물 용액 50 μL에 ACE 조효소액 200 μL 및 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3) 200 μL를 가한 후 37°C에서 5분간 전 반응시켰다. 여기에 기질로써 Hippuryl-His-Leu 용액(25 mg/2.5 mL sodium borate buffer) 100 μL를 가하여 다시 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 500 μL를 가하여 반응을 정지시켰다(공시험은 시료 대신에 증류수를 사용하였으며, 대조구는 1 N HCl 500 μL를 가한 다음 ACE 조효소액 200 μL를 가함). 여기에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 15초간 vortex한 후, 3,000 rpm에서 5분간 원심분리 하여 상층액 1 mL를 취하였다. 이것을 완전히 건조시킨 후 증류수 3 mL를 가하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 의해 ACE 저해율을 계산하였다(14).

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

여기서, A는 시료 첨가구의 흡광도, B는 시료 무첨가구의 흡광도(단, A, B 모두 대조구의 흡광도를 제외한 수치임)

Table 1. Antimicrobial and anticavity activity of hydrolysates prepared from agar-agar treated with organic acid

Test strain	Citrate ¹⁾				Malate			
	90 ²⁾	100	110	120	90	100	110	120
<i>B. cereus</i>	+ ³⁾	+	+	++	+	++	++	++
<i>S. aureus</i>	+	-	+	+	+	-	+	+
<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	++	++	++	++	++	++	++	+++
<i>Ent. aerogenes</i>	-	±	±	±	-	±	-	-
<i>St. mutans</i>	-	±	±	±	-	-	-	-

¹⁾Preparation conditions of test samples: hydrolysis time, 180 min; organic acid concentration, 0.5%.

²⁾Temperature (°C) of hydrolysis.

³⁾Sample injection concentration for test: 0.2~0.5 mg (as total sugar).

Antimicrobial activity detected from clear zone size: - $\varnothing < 8.5$ mm, \pm 8.5 mm $< \varnothing < 9.0$ mm, + 9.0 mm $< \varnothing < 11.0$ mm, ++ 11.0 mm $< \varnothing < 13.0$ mm, +++ $\varnothing > 15.0$ mm.

항혈액응고능 측정

혈장은 정맥혈 9.0 mL를 채취하여 1 mL의 sodium citrate(3.8%) 용액과 혼합한 다음 1,500 rpm에서 5분간 원심분리 하여 혈장을 분리하였다. 분리한 혈장은 -20°C에 저장해 두고 실험에 사용하였다. 활성 트롬보플라스틴 시간 측정(APTT, activated partial thromboplastin time)은 혈장 100 μ L에 시료용액 10 μ L를 넣고 교반한 후 37°C 항온수조에서 3분간 가온하였다. 여기에 100 μ L actin을 첨가한 후 다시 37°C 항온수조에서 3분간 가온하였다. 3분이 되는 순간 미리 37°C로 가열하여둔 0.025 M CaCl₂ 용액 100 μ L를 넣음과 동시에 응고시간을 측정하였다(15).

세포성장 억제작용

세포성장 억제작용은 WST-1(4-[3-(4-iodophenyl)-2-(nitrophenyl)-2H-5-tetrazolol]-1,3-benzene disulfonate) 방법을 이용하여 측정하였다(Roche Applied Science Inc.). U-937 세포를 96 well plate에 10⁴ cells/mL 농도로 심은 후 10% fetal bovine serum이 포함된 DME 배양액에서 키웠다. 세포의 수가 약 60% 정도 confluent해지면 배양액을 2% fetal bovine serum이 포함된 배양액으로 교환하고 12시간 preincubation을 해주었다. 그 다음으로 실험하고자하는 시료를 적절한 농도(20 μ L/100 μ L media/well)로 처리하고, 세포의 성장속도에 따라 36~48시간 정도 경과하면 배양액에 직접 WST-1용액을 처리하여, 1~2시간 incubation한 후 plate reader로 흡광도(450 nm/700 nm)를 측정하였다.

통계처리

실험의 결과는 평균(mean) \pm 표준편차(SD)로 나타내었으며, 유의성을 검증하기 위해 ANOVA 분석을 행한 후 p=0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

항균 및 항충치 활성

올리고당류는 충치를 예방하거나 병원균의 생육을 억제하는 효과가 알려져 있는데, 이를 확인하기 위해 한천 가수

분해물의 항균활성을 시험한 결과(Table 1), 가수분해 효율이 가장 좋았던 citrate와 malate 가수분해 시료의 경우(8), 100°C 이상의 온도에서 가수분해된 시료에서 *B. cereus*와 *B. subtilis*에 강한 항균활성을 나타내었고, 특히 malate 가수분해물에서 활성이 높은 것으로 나타났다. *E. coli*에 대해서도 확실한 항균 효과를 나타내었고, *S. aureus*에 대해서도 항균활성을 나타내었다. 한편, 효소적으로 가수분해된 한천 가수분해물 혼합액의 경우 상기한 균들에 대해 미약한 항균활성을 나타내었고, 각 올리고당 획분으로 분획된 시료에서는 *B. subtilis*, *B. cereus* 및 *S. aureus*에 대해서 항균활성이 확인된 바 있다(7). 가수분해 온도가 낮아 가수분해가 적은 시료에서는 상대적으로 항균활성이 낮은 것으로 나타났고, 높은 온도에서 처리된 시료가 항균활성이 높았다. 이러한 항균활성의 차이는 한천 가수분해물의 크기 즉, 올리고당의 크기에 따른 것으로 여겨지며, 구균보다는 *Bacillus*속과 같은 간균에 대해 항균 효과가 큰 것으로 나타났다. 한편, *St. mutans* 균을 이용한 한천 가수분해물의 항충치 효과를 시험한 결과, 전 시험 시료에서 충치균 증식 억제 효과가 나타나지 않았다.

Bifidus균 증식효과

일반적으로 올리고당은 장내 비피더스균의 증식을 촉진하는 bifidus factor로 널리 알려져 있는데(16), 한천 가수분해물의 비피더스균 증식 효과를 확인한 결과(Table 2), 온도에 관계없이 lactate, citrate 및 malate로 가수분해된 시료에서 *B. infantis* 균에 대해 증식효과가 확인되었다. 그러나 *B. logum* 균에 대한 증식효과는 나타나지 않았다.

Tyrosinase 활성 저해능

한천 가수분해물의 갈변방지 효과를 확인하기 위해 tyrosinase 활성 저해능을 실험한 결과(Table 3), citrate와 malate로 가수분해된 시료에서 55~80%의 tyrosinase 활성을 저해하는 것으로 나타났다. 한편, 가수분해 처리 시간과 처리 온도에 따라 tyrosinase 활성 저해능의 차이를 보였는데, 특히 처리 시간에 따라 활성의 차이가 나타났다. 한천 가수분해물의 tyrosinase 활성 저해능은 그다지 크지 않았

Table 2. Effect of growth on *Bifidobacterium infantis* and *Bifidobacterium longum* of hydrolysates prepared from agar-agar treated with organic acid

Hydrolysis temp. (°C)	Hydrolysis time (min)	Citrate ¹⁾		Lactate		Malate	
		<i>B. infantis</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>B. longum</i>
100	60	0.342±0.011 ^{2)bc3)}	0.102±0.017 ^a	0.541±0.022 ^a	0.198±0.014 ^c	0.358±0.018 ^b	0.122±0.020 ^a
	180	0.268±0.009 ^c	0.113±0.011 ^a	0.425±0.021 ^b	0.125±0.007 ^a	0.342±0.004 ^b	0.115±0.019 ^a
110	60	0.405±0.009 ^a	0.120±0.005 ^b	0.344±0.018 ^c	0.136±0.003 ^b	0.340±0.007 ^b	0.142±0.002 ^a
	180	0.419±0.016 ^a	0.100±0.012 ^a	0.383±0.023 ^d	0.108±0.008 ^d	0.370±0.019 ^a	0.138±0.013 ^a
120	60	0.349±0.011 ^b	0.136±0.015 ^a	0.301±0.012 ^e	0.111±0.018 ^d	0.285±0.017 ^c	0.091±0.003 ^b
	180	0.410±0.003 ^a	0.132±0.006 ^c	0.352±0.008 ^c	0.128±0.014 ^a	0.437±0.025 ^d	0.114±0.007 ^a

¹⁾Organic acid concentration: 0.5%, sugar concentration of hydrolysate: 10 mg/mL.

²⁾O.D. value on 650 nm (mean±SD, n=3).

³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 3. Effect of tyrosinase activity inhibition of hydrolysates prepared from agar-agar treated with organic acid

Hydrolysis temp. (°C)	Citrate ¹⁾		Lactate		Malate	
	90 ²⁾	120	90	120	90	120
110	—	78.2±1.3 ^{3)ab4)}	25.4±1.4 ^b	35.5±1.2 ^a	73.4±1.5 ^b	71.2±1.2 ^b
120	61.2±1.8	55.4±2.1 ^b	48.8±0.9 ^a	33.6±2.8 ^a	84.5±2.2 ^a	78.4±1.9 ^a

¹⁾Organic acid concentration: 0.5%, sugar concentration of hydrolysate: 10 mg/mL.

²⁾Hydrolysis time (min).

³⁾Inhibition ratio of tyrosinase activity (%).

⁴⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 4. Angiotensin-I converting enzyme inhibition ratio of hydrolysates prepared from agar-agar treated with organic acid

Hydrolysis temp. (°C) ¹⁾	Citrate		Lactate		Malate	
	0.3 ²⁾	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5
Control	19.4±2.1 ^{3)ab4)}	12.4±2.4 ^c	25.6±1.7 ^c	17.5±1.6 ^b	19.4±1.8 ^c	13.1±2.1 ^b
80	20.2±1.3 ^b	21.1±1.7 ^a	33.7±2.5 ^b	25.4±2.2 ^a	35.9±1.7 ^a	—
100	22.7±3.1 ^b	16.3±2.8 ^b	35.4±1.4 ^b	18.9±3.2 ^b	25.6±2.6 ^b	12.9±0.8 ^b
120	30.8±2.8 ^a	7.9±1.2 ^d	41.7±1.6 ^a	4.4±2.5 ^c	26.4±2.1 ^b	20.1±1.8 ^a

¹⁾Hydrolysis time: 180 min.

²⁾Organic acid concentration (%), sugar concentration of hydrolysate: 10 mg/mL.

³⁾ACE inhibition ratio (mean±SD, n=3).

⁴⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

고, 특히 120°C에서 처리된 시료에서 활성이 전반적으로 나타났으나 110°C 이하의 온도에서 처리된 시료에서는 tyrosinase 활성 저해 정도가 미약하였다.

ACE 저해능

일반적으로 ACE 저해능이 있는 물질은 고혈압의 유발을 억제하는 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 특정의 저분자 peptide에서 그 효과가 발현되는 것으로 널리 알려져 있고, 몇몇 천연 물질에서도 발현되는 것으로 알려져 있다(17). 한천 가수분해물도 ACE 저해능을 가지는지를 실험한 결과 (Table 4), 유기산의 종류와 처리 조건에 관계없이 저해능은 30% 이하로 활성이 거의 나타나지 않았다.

항혈액응고활성

황산기를 함유한 다당류가 일반적으로 가지는 항혈액응고활성(15,18)을 가지는 것으로 알려져 있는데, 본 한천 가수분해물의 혈액응고방지 효과가 있는지를 실험한 결과(Table

5), 본 연구에서 제조한 한천 가수분해물의 조건별 시료의 종류에 관계없이 35~50초의 APTT를 나타내어 대부분의 시료가 항혈액응고활성이 거의 없는 것으로 나타났다.

세포 증식 억제능

한천 가수분해물이 가지고 있는 특정 암세포에 대한 성장 억제나 저해효과를 통해 항암효과의 유무를 확인하기 위해 각 조건에서 가수분해되어진 한천 가수분해물들의 세포 증식 억제능 실험을 행한 결과(Fig. 1), 가수분해물 무첨가구에서는 세포수가 약 1.2(A450 nm/A700 nm)였고, 0.5% 유기산 농도로 110°C에서 180분 처리된 시료 중에서 citrate와 lactate로 분해된 시료 희분에서 각각 70 및 60% 정도의 세포 증식을 억제하는 것으로 나타났고, 그 외의 시료 희분은 세포 증식 억제효과가 그다지 높지 않았다. 한편, 세포 증식 억제 효과가 강하게 나타났던 두 시료(No.17 & 18)에 대해 각각 Sephadex G-15 겔 크로마토그래피를 행하여(Fig. 2), 0.5% citrate로 110°C에서 180분 처리된 시료에서 7개의 희

Table 5. Anticoagulant activity of hydrolysates prepared from agar-agar treated with organic acid (APTT: sec)

Hydrolysis temp. (°C) ¹⁾	Citrate		Lactate		Malate	
	0.3 ²⁾	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5
Control	34.4±1.8 ^{3)(d4)}	33.9±1.1 ^d	32.7±0.9 ^e	34.2±1.5 ^d	31.2±1.1 ^c	31.9±1.3 ^c
90	48.1±1.1 ^a	45.5±1.0 ^b	44.0±1.1 ^a	49.2±1.4 ^a	46.2±1.8 ^a	44.6±1.3 ^a
100	43.0±1.4 ^b	46.5±1.9 ^b	39.1±1.6 ^{cd}	42.4±1.3 ^{bc}	45.0±1.6 ^a	40.0±1.4 ^b
110	38.1±0.9 ^c	40.4±1.5 ^c	42.1±1.7 ^{ac}	44.5±1.2 ^b	41.1±1.6 ^b	44.1±1.5 ^a
120	42.2±1.1 ^b	50.4±1.6 ^a	41.8±1.3 ^c	42.0±1.6 ^c	43.7±1.8 ^{ab}	42.1±1.5 ^{ab}

¹⁾Hydrolysis time: 180 min.

²⁾Organic acid concentration (%), sugar concentration of hydrolysate: 10 mg/mL.

³⁾Anticoagulant activity (sec, mean±SD, n=3).

⁴⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

분으로 분획하였고, 얻어진 각 citrate 획분의 U-937 monocytic cell line을 이용한 세포 성장 억제능을 확인한 결과

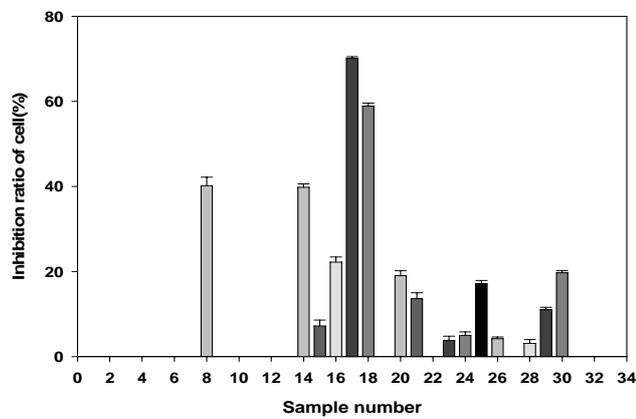


Fig. 1. Comparison of cell growth inhibition activity of agar-agar hydrolysates. Sample 8 was treated with 0.5% lactate at 100°C for 60 min. Sample 14 and 15 were each treated with 0.5% malate and succinate at 110°C for 60 min. Sample 16, 17, 18 and 20 were each treated with 0.5% acetate, 0.5% citrate, 0.5% lactate and 0.5% succinate at 110°C for 180 min. Sample 21, 23, 24, and 25 were each treated with 0.5% acetate, 0.5% lactate, 0.5% malate and 0.5% succinate at 120°C for 60 min. Sample 26, 28, 29, and 30 were each treated with 0.5% acetate, 0.5% lactate, 0.5% malate, and 0.5% succinate at 120°C for 180 min.

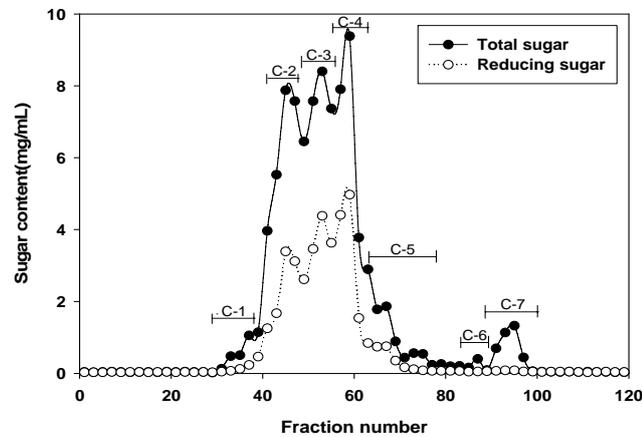


Fig. 2. Sephadex G-15 chromatogram of agar hydrolysates prepared from agar-agar treated with 0.5% citrate at 110°C for 180 min.

(Fig. 3), C3 획분은 1~3% 농도로 주입한 모두에서 세포수가 약 0.12~0.15(A450 nm/A700 nm)로 가수분해물 무침가구에 비해 90% 정도의 세포 성장을 억제하는 것으로 나타났다. C2와 C4 획분은 농도가 증가함에 따라 세포 억제능이 증가하여 3% 농도에서 약 90% 정도의 세포 성장 억제능을 나타내었다. 한편, 0.5% lactate로 110°C에서 180분 처리된 시료에서는 6개의 획분을 얻었으며(Fig. 4), citrate와 동일한

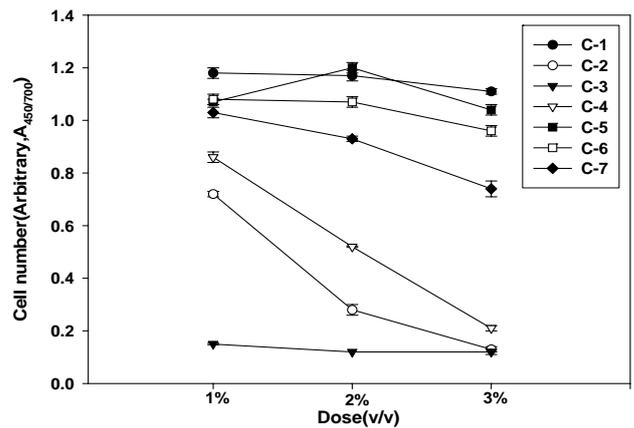


Fig. 3. The effects of agar hydrolysate fractions (Fig. 2) on the cell proliferation and/or survival of U937 monocytic cell line. The number of cell was estimated using WST-1 assay kit.

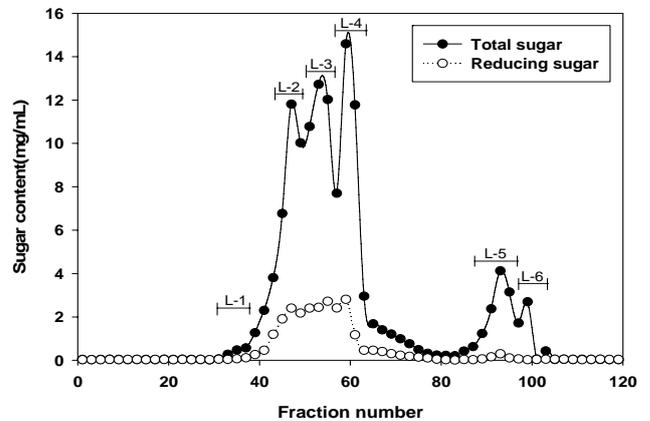


Fig. 4. Sephadex G-15 chromatogram of agar hydrolysates prepared from agar-agar treated with 0.5% lactate at 110°C for 180 min.

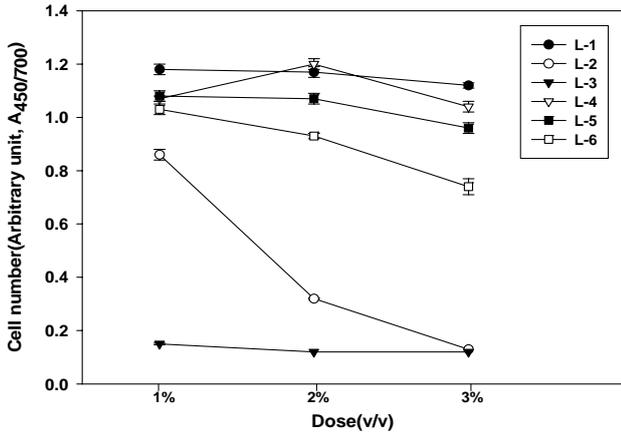


Fig. 5. The effects of agar hydrolysate fractions (Fig. 4) on the cell proliferation and/or survival of U937 monocytic cell line. The number of cell was estimated using WST-1 assay kit.

실험을 행한 결과, lactate로 분해 처리한 획분에서도 citrate로 처리한 획분과 유사한 결과를 나타내었다(Fig. 5).

요 약

한천 가수분해물의 각종 생리활성을 실험한 결과, 100°C 이상의 조건에서 가수분해된 시료에서 *B. cereus*와 *B. subtilis*에 강한 항균활성을 나타내었는데 특히, malate 가수분해물에서 활성이 높은 것으로 나타났으며, 일부 획분에서는 *E. coli*에 대해서도 확실한 항균 효과를 나타내었고, 약하지만 *S. aureus*에 대해서도 항균활성을 나타내었다. Citrate와 malate로 가수분해된 시료에서 55~80%의 tyrosinase 활성을 저해하는 것으로 나타났으나 전체적으로 활성이 낮았다. 한천 가수분해물의 비피더스균 증식 효과는 온도에 관계없이 lactate, citrate 및 malate로 가수분해된 시료에서 *B. infantis* 균에 대해 증식효과가 확인되었다. 한천 가수분해물에서는 ACE 저해능이 확인되지 않았으며, 항혈액응고활성도 거의 나타나지 않았다. 한편, 세포증식 억제능은 0.5%의 citrate와 lactate로 110°C에서 180분간 가수분해되어진 시료에서 강한 활성이 확인되었으며, 이들 시료를 정제하여 얻어진 특정 획분(C3과 L3)에서도 강한 세포 증식 억제능이 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 지정 강릉대학교 동해안해양생

물자원연구센터(RIC)의 지원에 의한 것입니다.

문 헌

- Alonso S, Setser C. 1994. Functional replacements for sugars in foods. *Trends Food Sci Technol* 5: 139-146.
- Araki CL. 1965. Some recent studies on the polysaccharides of agarophytes. In *Proc. Int. Seaweed Symp. 5*. Young EG, Maclahan JL, eds. Pergamon Press, London. p 3-17.
- Durkworth M, Yaphe W. 1970. Thin-layer chromatographic analysis of enzymic hydrolysates of agar. *J Chrom* 49: 482-487.
- Harris P. 1990. *Food gels*. Elsevier Applied Science, London. p 1-34.
- Kato I. 1999. The functions of agar and agarooligosaccharides. *Food & Develop* 33: 44-46.
- Groleau D, Yaphe W. 1977. Enzymatic hydrolysis of agar; purification and characterization of β -neogaroetraose hydrolase from *Pseudomonas atlantica*. *Can J Microbiol* 23: 672-679.
- Joo DS, Cho SY, Lee EH. 1998. Preparation of agar hydrolysates by agarase and functionality of the hydrolysates. *Korean J Biotechnol Bioeng* 13: 378-382.
- Joo DS, Kim OS, Cho SY, Lee CH. 2003. Preparation conditions of agarooligosaccharides with organic acids. *J Korean Fish Soc* 36: 6-10.
- Somogyi M. 1952. Notes on sugar determination. *J Biol Chem* 195: 19-23.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal Chem* 28: 350-356.
- Lorian V. 1991. *Antibiotics laboratory medicine*. Williams & Wilkins, Baltimore. p 17-105.
- Teraguchi S, Uehara M, Ogasa K, Mitsuoka T. 1978. Enumeration of bifidobacteria in dairy products. *Jpn J Bacteriol* 33: 753-758.
- Horowitz NH, Fling M, Macleod HA, Sheoka N. 1960. Genetic determination and enzymatic induction of tyrosinase in *Neurospora*. *J Mol Biol* 2: 96-104.
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochim Pharmacol* 20: 1637-1648.
- Nishimo T, Nagumo T. 1992. Anticoagulant and antithrombin activities of oversulfated fucans. *Carbohydr Res* 229: 355-362.
- Bullen CL, Teale PV, Willis AT. 1976. Bifidobacteria in the intestinal tract on infants. An *in vivo* study. *J Med Microbiol* 3: 338-344.
- Marayama S, Mitachi H, Tanaka H, Tomizuka N, Suzuki H. 1987. Studies on the active site and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitors derived from casein. *Agric Biol Chem* 51: 1581-1586.
- Hirata A, Itoh W, Tabata K, Kojima T, Itoyama S, Sugawara I. 1994. Anticoagulant activity of sulfated schizophyllan. *Biosci Biotech Biochem* 58: 406-407.

(2008년 9월 29일 접수; 2008년 12월 2일 채택)