

감태 물 추출물의 Trypsin 저해활성에 대한 열 및 pH 안정성

정슬아¹ · 김꽃봉우리¹ · 김민지¹ · 김동현¹ · 선우찬¹ · 김현지¹ · 정다현¹

정희예¹ · 김태완² · 조영제³ · 안동현^{1*}

¹부경대학교 식품공학과 / 식품연구소

²안동대학교 식품생명공학과

³경북대학교 식품공학부

Trypsin Inhibitory Activity of Water Extracts from *Ecklonia cava* as Affected by Temperature and pH

Seul-A Jung¹, Koth-Bong-Woo-Ri Kim¹, Min-Ji Kim¹, Dong-Hyun Kim¹, Chan Sunwoo¹,
Hyun-Jee Kim¹, Da-Hyun Jeong¹, Hee-Ye Jeong¹, Tae-Wan Kim²,
Young-Je Cho³, and Dong-Hyun Ahn^{1*}

¹Dept. of Food Science and Technology / Institute of Food Science,

Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

²Dept. of Food Science and Biotechnology, Andong National University, Gyeongbuk 760-740, Korea

³School of Food Science of Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

This research was done to verify the inhibitory activity of water extracts from *Ecklonia cava* (WE-EC) against trypsin and the effects on various temperature and pH conditions. The WE-EC showed high trypsin inhibitory activity of 76, 62 and 60% at concentrations of 5, 2.5 and 1 mg/mL, respectively. In all heat treatments excepted for two conditions, such as 100°C for 20 min and 121°C for 15 min, the inhibitory activity was stable compared with the untreated group. With regard to pH stability, the WE-EC showed no significant changes at pH 2~8, but somewhat decreased inhibitory activity was revealed at pH 10. Therefore, the WE-EC could be used in the food industry as a natural trypsin inhibitor.

Key words: *Ecklonia cava*, water extract, trypsin inhibitor

서 론

Serine proteinase inhibitor는 동·식물계 및 미생물계에 널리 존재하며 serine 분해효소의 기능을 제어하는 단백질 또는 펩타이드로서 생체 내 중요한 생리학적 기능을 가지고 있다(1). 그 중 trypsin inhibitor가 광범위하게 연구되어 왔으며(2), trypsin inhibitor는 식물체에서는 곤충 및 해충의 공격에 대응하는 방어체로서 중요한 역할을 하고(3-6), 혈액 응고, 혈소판응집, 항발암성(7,8) 및 혈당감소에 의한 당뇨병 치료(9) 등 다양한 효능을 지니는 것으로 알려져 있다. 단백질 분해효소는 이와 같은 다양한 기능성 이외에도 식품에서 단백질 성분을 아미노산으로 분해하여 발효에 필수적인 젖산균의 균체증식을 촉진시켜 김치 등과 같은 발효 식품의 숙성에 큰 영향을 주는데(10), trypsin inhibitor가 이 작용을 조절 및 억제함으로써 발효식품의 숙성기간 조절 등 식품산업에 응용이 가능하다.

현재까지 콩과 식물은 많은 종류의 trypsin inhibitor가 밝혀지고 있고, mechanism도 구명되었다. 여기에는 Kunitz 타입과 Bowman-Birk 타입이 있고, Kunitz 타입은 약 20 kDa의 분자량을 가지며 총 181개의 아미노산 잔기로 구성되어 있고 두 개의 sulfide bond를 가진다(11). Bowman-Birk 타입은 약 8 kDa의 분자량을 가지며 총 71개의 아미노산 잔기에 7개의 disulfide bond를 가지는 저해 타입으로 amino terminal의 ser 17번, lys 16번과 carboxyl terminal의 leu 43번, ser 44번 두 개의 active site를 가지는 것으로 알려져 있으며 lys 16번 잔기가 trypsin의 asp 189번 잔기와 공유결합을 이루어 trypsin의 active site를 봉쇄시켜 trypsin의 활성을 저해한다고 밝혀졌다(12-14).

Trypsin inhibitor에 대한 연구는 대부분이 콩과 식물(15-17)에서 이루어졌으며 그 외, 택사(18), 메밀(19) 등 육상식물 위주로 이루어져 왔으나 해양식물에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

*Corresponding author. E-mail: dhahn@pknu.ac.kr
Phone: 82-51-629-5831, Fax: 82-51-629-5824

해양식물인 해조류는 오랜 기간 식용으로 사용되어 그 안전성이 입증되었을 뿐만 아니라 각종 미네랄과 비타민 및 섬유소, 단백질이 풍부하게 함유되어 있다. 특히, alginic acid, fucan-sulfate, laminaran 등 수용성 다당류가 풍부하며 이는 고지혈증 예방(20), 면역조절작용(21), 항염증(22), 항암(23), 항균 및 항산화(24) 등의 다양한 생리활성을 갖는 물질들을 함유하고 있는 것으로 알려져 새로운 생리활성물질로서 주목받고 있다. 감태(*Ecklonia cava*)는 다시마목(*Laminariales*) 미역과의 식물로서 우리나라에서는 주로 제주 연안에서 널리 서식하고 있다. 최근 감태는 다양한 생리활성이 밝혀지면서 식의약품의 원료로써 주목받고 있으며 다른 갈조류에 비해 다량의 polyphenolic compound를 함유하는 것으로 알려져 있다(25). 현재까지 감태에 대한 연구로는 lipase 저해활성(26), 항산화(27), 항염증(28), 항암(29) 및 항 고혈압(30) 등 여러 가지 기능성들이 밝혀져 있어 새로운 기능성 소재로서 충분한 가치가 있음이 보고되고 있다(31).

본 연구에서는 감태 물 추출물이 가지는 일반특성, trypsin 저해활성 측정 및 이를 식품에 적용 시 수반되는 열 및 pH에 대한 안정성을 확인하여 식품 산업에 천연 기능성 소재로서의 응용 가능성에 대해 살펴보았다.

재료 및 방법

실험재료

감태는 2009년 동해안 울진 앞바다에서 채취하여 담수로 깨끗이 세척한 후 동결건조 하여 분쇄기로(DA282-2, Deasung atron, Seoul, Korea) 잘게 분쇄시킨 뒤 -20°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다.

추출

분말상태의 시료에 10배량(v/w)의 물을 가하여 실온에서 24시간 동안 진탕 추출하였다. 추출물은 원심분리기(UNION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)로 2,090×g에서 10분간 원심분리한 후 상층액만 취하였다. 잔사는 이와 동일한 방법으로 2회 반복 추출하였다. 이를 여과지(Advantec 5A, Toyo Roshi Kaisha, Tokyo, Japan)로 여과한 후 37°C에서 rotary evaporator(RE200, Yamato Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하고 37°C에서 건조하였다. 이를 -20°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

일반성분

동결건조한 감태 분말의 일반성분은 수분, 조회분, 조단백 및 조지방의 항목을 AOAC법(32)에 준하여 분석하였다. 수분함량은 상압가열건조법, 조회분은 건식회화법, 조단백은 Kjeldahl법 그리고 조지방은 Soxhlet법으로 측정하였다. 탄수화물의 함량은 100에서 수분, 조회분, 조단백 및 조지방 함량을 뺀 값에서 구하였다.

색도

추출물의 색도는 1 mg/mL의 농도로 액체시료용 cell에 10 mL 취하여 색차계(JC 801, Color technosystem Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 각각의 색도를 명도(lightness, L*), 적색도(redness, a*), 황색도(yellowness, b*) 값으로 나타내었다. 이때 사용된 표준 백판값은 L*=93.73, a*=-0.12, b*=0.11이었다.

pH

추출물의 pH는 1 mg/mL의 농도로 pH meter(HM-30V, Toa, Kobe, Japan)를 사용하여 측정하였다.

Trypsin 저해활성

Trypsin 저해활성은 Hummel(33)의 방법을 사용하여 측정하였다. Porcine pancreatic trypsin(EC 3.4.21.4, Wako, Osaka, Japan) 2 mg, 0.5 M tris-HCl과 0.1 M CaCl₂를 각각 400 μL, 초순수 1.2 mL을 첨가하여 enzyme buffer를 준비하였다.

기질로서 Tos-Arg-OMe · HCl(TAME, Peptide institute, Inc., Osaka, Japan) 1.5 mL에 10 mM Tris-HCl 1.5 mL을 혼합하여 준비하였다. Enzyme buffer 10 μL와 시료 20 μL를 첨가한 것과 기질을 30°C water bath(PCWB-22, Lab Partner Co., Guri, Korea)에서 5분간 배양하였다. 배양 후 기질에 enzyme buffer와 시료 혼합액 6 μL를 첨가한 다음 UV/visible spectrophotometer(GENESYS 10 UV, Rochester, NY, USA)로 247 nm에서 흡광도를 측정하고 이를 다시 30°C에서 5분간 배양하였다. 기질과 반응시켜 남은 trypsin의 활성을 UV/visible spectrophotometer로 247 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대표적인 trypsin inhibitor인 soybean(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)를 positive control로 사용하였으며 trypsin 저해효과(%)는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Trypsin 저해효과(}\%) = [1 - (B - b) / A] \times 100$$

A: 시료를 첨가하지 않은 흡광도

B: 시료를 첨가한 흡광도

b: 효소를 첨가하지 않은 흡광도

열 및 pH 안정성에 대한 모델 실험

열 안정성은 추출물의 농도를 5 mg/mL로 하여 water bath(PCWB-22)를 이용하여 60°C에서 10, 30 및 60분, 80°C와 100°C에서 각각 10분과 20분, 가압멸균기(DW-AC 920, D.W. Industries, Busan, Korea)에서 온도 121°C, 게이지압 1 kg/cm²에서 15분간 열처리한 후 급냉하였다. 이를 4°C에서 보관하여 실험에 사용하였다.

pH 안정성은 추출물의 농도를 10 mg/mL로 하여 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 이를 5 mg/mL의 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

열 및 pH 처리한 시료를 trypsin 저해활성의 방법으로 측정하여 안정성을 평가하였으며 trypsin 저해효과(%)는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Trypsin 저해효과(}\%) = [1 - (B - b)/A] \times 100$$

A: 시료를 첨가하지 않은 흡광도

B: 시료를 첨가한 흡광도

b: 효소를 첨가하지 않은 흡광도

통계처리

각 실험에 대한 유의차 검정은 SAS software(ver. 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)에서 프로그램 된 general linear procedures, least square 평균값을 분산분석 한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test법에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

일반성분

감태는 탄수화물이 62.54%로 가장 높은 함량을 나타내었고 회분, 수분, 조단백 및 조지방이 각각 12.69%, 11.78%, 10.66% 및 2.33% 함유되어 있었다.

색도 및 pH

천연물은 chlorophyll, carotenoid 및 flavonoid 등 다양한 색소성분을 함유하고 있어 식품에 첨가 시 식품자체의 색에 영향을 주기 때문에 관능적으로 매우 중요한 요소이며 pH는 식품의 품질에 영향을 미치므로 추출물의 색도와 pH는 천연물을 첨가한 가공식품 제조 시 반드시 고려해야 할 사항이다. 따라서 감태 물 추출물의 색도 및 pH를 측정된 결과를 Table 1에 나타내었다. 색도는 명도, 적색도 및 황색도가 각각 86.21, 0.38 및 15.49로 명도가 높고 적색도와 황색도가 낮은 것으로 나타났다. 감태 물 추출물의 pH는 6.17의 값으로 약산성을 나타내었으며 이는 일반적인 식품의 pH가 약산성 또는 중성임을 미루어보아 감태 물 추출물을 식품에 적용 시 큰 문제가 되지 않을 것으로 사료되어진다.

감태 물 추출물의 trypsin 저해활성

감태 물 추출물을 5, 2.5 및 1 mg/mL 농도에서 trypsin 저해활성을 측정된 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 감태 물 추출물의 trypsin 저해활성은 5 mg/mL 농도에서 76%, 2.5 mg/mL 농도에서 62%, 그리고 1 mg/mL 농도에서 60%를 나타내어 농도 의존적으로 증가하였다. IC₅₀ 값이 0.83 mg/mL로 positive control로 사용한 soybean trypsin inhibitor

Table 1. Hunter color value and pH of water extract from *Ecklonia cava*

L*	Color		pH
	a*	b*	
86.21±0.27	0.38±0.03	15.49±0.07	6.17±0.06

Concentration: 1 mg/mL.

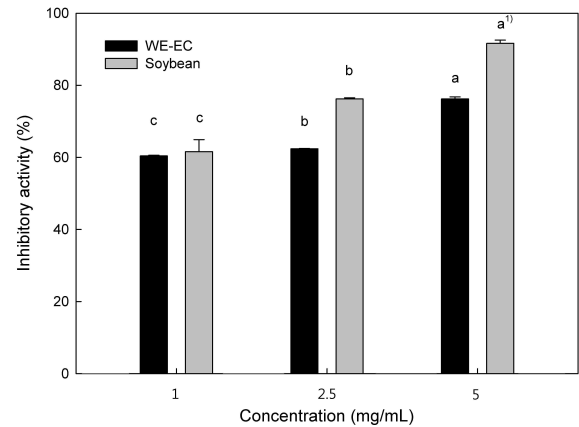


Fig. 1. Trypsin inhibitory activity of water extract from *Ecklonia cava* (WE-EC). ¹⁾Means in the same column bearing different superscripts in sample are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

의 IC₅₀ 값인 0.81 mg/mL와 유사한 값을 보여 뛰어난 trypsin 저해활성을 보였다. Trypsin은 serine protease group에 속하며 이는 arginine/lysine의 C-terminal에서 peptide bond의 가수분해를 촉매하는 역할을 하고 기질 특이성으로 trypsin의 촉매 부위에 asp-189를 가지고 있는 것으로 알려져 있다(34). 따라서 감태 물 추출물의 유효성분이 이 trypsin의 활성을 저해하거나 구조적인 변화를 일으킨 것으로 사료된다. Trypsin 저해활성을 가지는 것으로 밝혀진 천연물에는 pigeon pea, tepary bean, mung bean seed, australian wattle seed 및 *Putranjiva roxburghii* seed 등과 같은 콩과 식물의 유기용매 추출물에 의한 물질이 대부분이며 해조류 유래 trypsin 저해제는 아직 밝혀진 것이 없다.

Heo 등(25)은 감태의 효소적 가수분해 추출물이 다량의 phenolic compound를 함유하고 있다 하였으며 Bitou 등(35)은 해조류에 들어 있는 이러한 페놀성 물질이 효소나 단백질과 수소결합과 같은 상호작용을 통해 강한 복합체를 만들어 침전함으로써 효소의 활성을 저해한다고 보고하였다. 이를 통해 감태 물 추출물이 나타내는 trypsin 저해물질은 polyphenol 화합물이나 물에 용출이 잘 되는 수용성 물질일 것으로 사료된다. 물 추출물은 유기용매 추출물에 비해 안정성이 높아 식품소재로 활용하는데 있어 그 가치가 높을 것으로 판단된다.

열처리에 의한 trypsin 저해활성 변화

식품에 있어서 열처리 공정은 식품의 기호성 및 저장성 향상의 목적으로 식품 부패와 식중독 원인 미생물을 제어하는 살균처리 공정이 수반되므로 식품에 첨가하는 기능성 성분은 열에 안정해야 한다. 이에 감태 물 추출물의 열 안정성을 확인하기 위하여 감태 물 추출물을 60°C에서 10분, 30분 및 60분, 80°C와 100°C에서 10분과 20분, 121°C에서 15분간 열처리 하고 급냉한 후 trypsin 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 감태 물 추출물을 60~80°C에서 열처리한 것

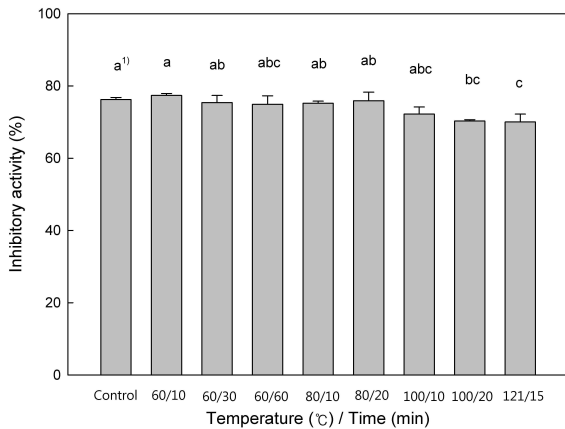


Fig. 2. Trypsin inhibitory activity of water extract from *Ecklonia cava* as affected by temperature and time. ¹⁾Means bearing different superscripts above bars are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Concentration: 5 mg/mL.

은 5 mg/mL의 농도에서 75~77%의 값을 보여 무처리구의 76%와 거의 변화 없이 안정하게 유지되었고 유의적으로도 큰 차이를 보이지 않았다. 100, 121°C에서는 70~72%로 무처리구에 비해 약 4~6% 정도로 약간 감소하여 유의적으로 감소하는 경향을 보였으나 전체적으로 열에 안정하여 높은 활성을 유지하였다. Adzuki bean seed와 thai mung bean seed에 존재하는 trypsin 저해제는 90°C까지 열처리 시 저해 활성이 증가하였으며 100°C에서는 90°C보다 저해활성이 약간 감소하여 본 연구 결과와 유사한 경향을 보였다(16,17). 반면 *Putranjiva roxburghii* seed에 존재하는 trypsin 저해제의 경우 70°C까지 열처리에 안정함을 보였으며 80°C 이상에서는 80% 이상으로 활성이 급격히 감소하는 경향을 보여 감태 물 추출물에 존재하는 trypsin 저해활성을 나타내는 물질이 열 안정성에 우수함을 확인하였다(15). 이러한 결과는 감태 물 추출물을 식품가공 시 수반되는 열처리 공정에 효과적으로 적용가능 할 것으로 사료되어진다.

pH처리에 의한 trypsin 저해활성 변화

식품은 자체가 지니는 고유의 pH가 있으며 이는 품질 특성에 중요한 영향을 미친다(36). 감태 물 추출물의 식품에 대한 적용 가능성을 확인하기 위하여 다양한 pH영역에서 trypsin 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 감태 물 추출물의 pH(pH 2, 4, 6 및 8)에 따른 trypsin 저해활성은 무처리구와 비교 시 약간 증가하거나 큰 차이를 보이지 않았고 pH 10 이상의 경우 약 3% 정도 감소하였으나 전체적으로 다양한 pH 영역에서 안정하였다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 감태 물 추출물의 trypsin 저해활성을 나타내는 물질은 다양한 pH 영역에서 안정한 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 *Putranjiva roxburghii* seed와 adzuki bean에 존재하는 trypsin inhibitor가 다양한 영역의 pH에서 안정한 저해활성을 보인 결과와 유사하다(15,16). Jung 등(26)은 감태 에탄올 추출물이 다양한 pH 영역에서 lipase 저해활성이 안정하

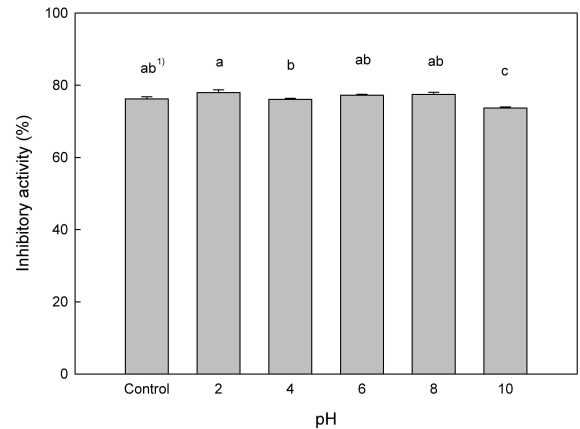


Fig. 3. Trypsin inhibitory activity of water extract from *Ecklonia cava* as affected by pH. ¹⁾Means in bearing different superscripts above bars are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Concentration: 5 mg/mL.

다고 보고하여 본 연구 결과와 유사한 경향을 보였다. 그러나 *Plathymenia foliosa* seed에 존재하는 trypsin inhibitor는 pH 6~8에서 안정한 활성을 보였으나 산성, 알칼리 영역에서는 불안정한 활성을 보여 본 연구와 다른 결과를 보여(37) 감태 물 추출물에 존재하는 trypsin 저해활성을 나타내는 물질이 다양한 pH 영역에 대한 안정성이 우수함을 확인하였다. 따라서 감태 물 추출물 유래의 trypsin 저해물질은 화학적으로 구조가 안정하여 pH에 영향을 받는 식품 가공공정 중에도 활성이 유지되어 효과적으로 이용 가능할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 감태 물 추출물의 일반특성과 trypsin 저해활성을 알아보고 산업적으로 이용가능성을 확인하기 위하여 열 및 pH에 대한 안정성을 실시하였다. 감태 물 추출물의 색도 및 pH를 측정된 결과, 색도는 명도가 86.21로 높고 적색도 및 황색도가 각각 0.38 및 15.49로 낮게 나타났으며 pH는 6.17로 약산성으로 나타났다. 감태 물 추출물의 trypsin 저해활성은 5, 2.5 및 1 mg/mL 농도에서 각각 76.21%, 62.41% 및 60.41%를 나타냈으며 IC₅₀값은 0.83 mg/mL이었다. 열 및 pH에 대한 안정성을 측정된 결과, 80°C까지 열처리에 안정하였고 pH 2~8 범위에서 안정하였으나 100°C와 121°C 열처리와 pH 10에서 활성이 약간 감소하였으나 전체적으로 높은 활성을 유지하여 열 및 pH에 안정한 것을 확인하였다. 이상의 결과를 통해 감태 물 추출물이 지니는 trypsin 저해활성이 열 및 pH에 대해 안정성을 지니 식품산업에 응용 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부의 2009년도 지역산업기술개발사업

의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

문헌

1. Neurath H. 1984. Evolution of proteolytic enzymes. *Science* 224: 350-357.
2. Laskowski MJ, Kato I. 1980. Protein inhibitors of proteinases. *Annu Rev Biochem* 49: 583-626.
3. Shewry PR, Lucas JA. 1997. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. *Adv Bot Res* 26: 135-192.
4. Sampaio CA, Oliva ML, Sampaio MU, Batista IFC, Bueno NR, Tanaka AS, Auerswald EA, Fritz H. 1996. Plant proteinase inhibitors. Structure and biochemical applications on plasma kallikrein and related enzymes. *Immunopharmacology* 32: 62-66.
5. Walker AJ, Ford L, Majerus MEN, Geoghegan AE, Birch N, Gatehouse JA, Gatehouse AMR. 1997. Characterization proteinase activity of the two-spot ladybird (*Adalia bipunctata*) and its sensitivity to proteinase inhibitors. *Insect Biochem Molec* 281: 73-180.
6. Franco OL, dos Santos RC, Batista JA, Mendes AC, de Araujo MA, Moneratt RG, Grossi-de-Sá MF, de Freitas SM. 2003. Effects of black-eyed pea trypsin/chymotrypsin inhibitor on proteolytic activity and on development of *Anthonomus grandis*. *Phytochemistry* 63: 343-349.
7. Kennedy AR. 1998. Chemopreventive agents: protease inhibitors. *Pharmacol Therapeut* 78: 167-209.
8. Oliva MLV, Souza-Pinto JC, Batista IFC, Araujo MS, Silveira VF, Auerswald EA, Mentele R, Eckerskorn C, Sampaio MU, Sampaio CAM. 2000. *Leucaena leucocephala* serine proteinase inhibitor: primary structure and action on blood coagulation, kinin release and rat paw edema. *Biochim Biophys Acta* 1477: 64-74.
9. Lundquist I, Ihse I, Amesjo B. 1976. Carbohydrate metabolism in normal and diabetic rats following long term oral trypsin inhibitor administration. *Scand J Gastroentero* 11: 369-375.
10. Min SG, Kim JH, Kim TW, Kim KN. 2003. Isolation and identification of protease producing bacteria in *kimchi*. *Korean J Food Sci Technol* 35: 666-670.
11. Kim SH, Hara S, Hase S, Ikenaka T, Toda H, Kitamura K, Kaizuma N. 1985. Comparative study on amino acid sequences of Kunitz-type soybean trypsin inhibitors, Tia, Tib, and Tic. *J Biochem-Tokyo* 98: 435-448.
12. Losso JN. 2008. The biochemical and functional food properties of the Bowman-Birk inhibitor. *Crit Rev Food Sci* 48: 94-118.
13. Birk Y. 1985. The Bowman-Birk inhibitor. Trypsin- and chymotrypsin-inhibitor from soybeans. *Int J Pept Protein Res* 25: 113-131.
14. Friedman M, Brandon DL. 2001. Nutritional and health benefits of soy proteins. *J Agric Food Chem* 49: 1069-1086.
15. Chaudhary NS, Shee C, Islam A, Ahmad F, Yernool D, Kumar P, Sharma AK. 2008. Purification and characterization of a trypsin inhibitor from *Putranjiva roxburghii* seeds. *Phytochemistry* 69: 2120-2126.
16. Klomklao S, Benjakul S, Kishimura H, Osako K, Tanaka M. 2009. A heat-stable trypsin inhibitor in adzuki bean (*Vigna angularis*): effect of extraction media, purification and biochemical characteristics. *Int J Food Sci Tech* 45: 163-169.
17. Klomklao S, Benjakul S, Kishimura H, Chaijan M. 2011. Extraction, purification and properties of trypsin inhibitor from Thai mung bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek). *Food Chem* 129: 1348-1354.
18. Kim JM, Park JO, Shin YH. 2008. Purification and characterization of trypsin inhibitor from *Alismatis Rhizoma* and its binding protein, 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase. *Yakhak Hoeji* 52: 79-84.
19. Lee JS, Lee MH, Son HS, Mang YS. 1996. Effects of buckwheat on the activities of pancreatic digestive enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 831-838.
20. Awad NE, Selim MA, Saleh MM, Matloub AA. 2003. Seasonal variation of the lipoidal matters and hypolipidaemic activity of the red alga *Corallina officinalis* L. *Phytother Res* 17: 19-25.
21. Liu JN, Yoshida Y, Wang MQ, Okai Y, Yamachita UB. 1997. B cell stimulating activity of seaweed extracts. *Int J Immunopharmacol* 19: 135-142.
22. Kim JY, Kim KH, Suh HS, Choi WC. 1997. Antiinflammatory effects of new chemical compounds, HS-1580 series (HS-1580, HS-1581, HS-1582). *J Life Sci* 16: 1181-1187.
23. Ryu BH, Kim DS, Cho K, Sin DB. 1989. Antitumor activity of seaweeds toward Sarcoma-180. *Korean J Food Sci Technol* 21: 595-600.
24. Kuda T, Kunii T, Goto H, Suzuki T, Yano T. 2007. Varieties of antioxidant and antibacterial properties of *Ecklonia kurume* products harvested and processed in the Noto Peninsula, Japan. *Food Chem* 103: 900-905.
25. Heo SJ, Park EJ, Lee KW, Jeon YJ. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresource Technol* 96: 1613-1623.
26. Jung JY, Kim KBWR, Lee CJ, Kwak JH, Kim MJ, Kim DH, Sunwoo C, Kim TW, Ahn DH. 2011. Inhibitory effect of *Ecklonia cava* extracts against lipase activity and stability effect of temperature and pH on their activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 969-974.
27. Li Y, Qian ZJ, Ryu BM, Lee SH, Kim MM, Kim SK. 2009. Chemical components and its antioxidant properties in vitro: an edible marine brown alga, *Ecklonia cava*. *Bioorgan Med Chem* 17: 1963-1973.
28. Jung WK, Ahn YW, Lee SH, Choi YH, Kim SW, Choi I, Park SG, Seo SK, Lee SW, Choi IW. 2009. *Ecklonia cava* ethanolic extracts inhibit lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression in BV2 microglia via the MAP kinase and NF- κ B pathways. *Food Chem Toxicol* 47: 410-417.
29. Kong CS, Kim JA, Yoon NY, Kim SK. 2009. Induction of apoptosis by phloroglucinol derivative from *Ecklonia Cava* in MCF-7 human breast cancer cells. *Food Chem Toxicol* 47: 1653-1658.
30. Lee SH, Li Y, Karadeniz F, Kim MM, Kim SK. 2009. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of phloroglucinol derivatives from edible marine brown alga, *Ecklonia cava*. *J Sci Food Agric* 89: 1552-1558.
31. Mabeau S, Fleurence J. 1993. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends Food Sci Tech* 4: 103-107.
32. AOAC. 2000. *Official methods of analysis*. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. Vol 3, p 1-25, Vol 31, p 10.
33. Hummel BCW. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. *Can J Biochem Physiol* 37: 1394-1399.
34. Durre S, Muhammad AR, Shafiq UR, Muhammad AA, Atta UR. 2011. An investigation of phenolic compounds from plant sources as trypsin inhibitors. *Nat Prod Res* 1: 1-7.

35. Bitou N, Ninomiya M, Tsujita T, Okuda H. 1999. Screening of lipase inhibitors from marine algae. *Lipids* 34: 441-445.
36. Kim SJ, Kweon DH, Lee JH. 2006. Investigation of anti-oxidative activity and stability of ethanol extracts of licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). *Korean J Food Sci Technol* 38: 584-588.
37. Ramos VS, Silva GS, Freire MGM, Machado OLT, Parra JRP, Macedo MLR. 2008. Purification and characterization of a trypsin inhibitor from *Plathymenia foliolosa* seeds. *J Agric Food Chem* 56: 11348-11355.

(2012년 3월 6일 접수; 2012년 4월 6일 채택)