

추출용매에 따른 울금 추출물의 라디칼 소거능 및 항비만 효과

박정진¹ · 이정민² · 전우진^{1*}

¹전남대학교 식품영양학과

²경희대학교 의학영양학과

Radical Scavenging and Anti-obesity Effects of Various Extracts from Turmeric (*Curcuma longa* L.)

Jeongjin Park¹, Jeongmin Lee², and Woojin Jun^{1*}

¹Div. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Gwangju 550-757, Korea

²Dept. of Medical Nutrition, Kyung Hee University, Gyeonggi 130-701, Korea

ABSTRACT In the present study, the levels of phenolic compounds and flavonoids, as well as activities of radical scavenging (DPPH and ABTS radical scavenging activity) and anti-obesity were assessed with cold water (CLC), hot water (CLH), and methanolic (CLM) extracts of *Curcuma longa* L. (turmeric). Our results showed that the phenolic compounds of CLC, CLH and CLM were 3.68±0.80%, 3.94±0.74% and 9.01±0.73%, respectively. The DPPH and ABTS radical scavenging activities of the CLM were significantly higher than that of the water extracts (CLC and CLH). During the adipocyte differentiation, the treatment of CLM more significantly inhibited lipid accumulation in 3T3-L1 cells than that of the water extracts. These results indicate that the stimulation of radical scavenging potential and the inhibition of adipogenesis were brought on by the lipophilic compounds of turmeric.

Key words: turmeric, radical scavenging, 3T3-L1, adipogenesis, anti-obesity

서 론

비만은 체내에 지방조직이 과다한 상태를 의미하며 그 자체로도 건강에 문제가 되지만 고혈압, 당뇨병, 고지혈증 등과 더불어 대사증후군을 일으키는 주요 원인이 되고 있다. 최근 연구에 의하면 지방세포 내 생성된 활성산소종(reactive oxygen species)은 지방세포 분화와 밀접한 연관성을 갖는다고 한다(1-3). 비만의 경우 지방세포에서 기초 지방분해율(basal lipolysis)이 정상에 비해 매우 증가되어 많은 양의 유리지방산이 만들어지게 된다(4). 이러한 유리지방산이 증가되면 활성산소종 및 과산화물의 생산이 증가되어 세포와 조직층에 독성을 일으켜 질병 유발의 원인이 된다(5-7). 활성산소종은 세포내 항산화 효소에 의해 조절되거나 식품으로부터 섭취되는 항산화성분에 의해 소거되는 것으로 알려져 있다. 과거에는 효과와 경제성이 뛰어난 합성 항산화제인 BHT 및 BHA가 많이 사용되어 왔으나, 최근 이러한 합성물질들의 인체에 독성 및 안전성 문제가 대두되면서 법적으로 규제되고 있으며 그 사용이 점차 감소되고 있다(8,9). 이에 따라 합성 항산화제를 대체할 수 있는 천연 항산화제에 대한 관심이 증가하고 개발이 요구되어져 있다.

최근 대사성 질환을 야기하는 주요 원인인 비만을 억제하기 위하여 식이조절, 에너지 소비 증가, 지방 전구 세포의 분화억제, 지방합성 억제 및 지방분해 촉진 등의 기전이 제안되며 그 예방에 대한 많은 연구들이 지속되고 있다(10-12). 지방세포는 에너지 항상성 유지 및 지질대사에 중요한 역할을 하고, 지방전구세포인 3T3-L1은 여러 호르몬과 다양한 전사인자들에 의해 지방세포로 분화되면서 세포내 지방을 축적한다. 따라서 전지방세포로부터 지방세포로 분화를 억제하는 식품성분을 이용한 예방의학적 차원에서의 비만에 대한 연구가 진행 중에 있다(13).

울금은 생강과에 속하는 다년생 초본식물로서 열대아시아 원산으로 인도, 중국, 동남아시아 등지에서 주로 재배되며, 최근 우리나라 남부지역인 진도군에서도 지속적으로 재배되고 있는 추세이다. 울금의 약리효과로는 살균(14), 해독(15), 항염(16), 간기능 개선(17), 항암 및 항산화(18) 효능이 알려져 있다. 또한 맵고 뜨거운 성질이 있어서 혈액순환을 개선시키고, 특유의 진한 색을 가지고 있어 과거로부터 천연 염색제로서 사용되어져 왔으며, 한방에서는 약재로 쓰이기도 한다. 울금의 대표적인 유효성분으로는 curcumin이 있으며, 그 유도체로서 demethoxycurcumin 및 bisdemethoxycurcumin이 있다. 이들에 대한 연구로는 울금 에탄올추출물의 항산화 활성 비교(19), 항암성(20), 항돌연변이성 항염증 및 항균성 효과(21,22), curcumin 및 curcuminoids의 항

Received 26 November 2013; Accepted 3 December 2013

*Corresponding author.

E-mail: wjjun@chonnam.ac.kr, Phone: 82-62-530-1337

산화작용 등(23)이 보고되어져 있으나, 울금 추출물의 라디칼 소거능 및 항비만 활성에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내산 울금의 용매별 추출물을 대상으로 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 분석하고, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성을 측정하였으며, 3T3-L1 지방세포를 이용하여 분화단계에서 지방축적 억제 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 연구에 사용된 울금은 전남 진도군에서 수확한 것을 구입하여 -20°C 냉동고에 저장하면서 냉장온도에서 해동시킨 후 일정량을 취하여 실험에 사용하였다. 본 실험에 사용된 Folin-Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, catechin hydrate, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), ABTS, insulin, dexamethasone(DEX), 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMx) 및 Oil red O는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), newborn calf serum(NCS), fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin(P/S), phosphate-buffered saline(PBS) 및 trypsin-EDTA는 Hyclone(Logan, UT, USA)으로부터 구입하여 사용하였다.

추출용매별 울금 추출물의 제조

구입한 울금을 세척하여 절편한 후 건조시킨 뒤 분쇄하여 시료 중량 대비 20배의 냉수로 stirring 또는 증류수 및 메탄올로 250°C에서 3시간 동안 환류냉각 하여 추출하였다. 추출한 용액은 Whatman filter paper No.6 여과지(Maidstone, UK)를 사용하여 여과한 뒤 rotary vacuum evaporator(Eyela, Tokyo, Japan)로 감압농축 한 후 동결건조기(Ilshin Lab, Seoul, Korea)를 이용하여 완전 동결건조 하여 건조물의 무게를 측정하고 -20°C에 보관하면서 시료로 사용하였다.

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's의 방법을 변형하여 Folin-Ciocalteu's phenol reagent가 각 시료의 페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 원리를 이용하여 측정하였다(24). 제조된 각각의 울금 추출물 1 mL에 증류수 9 mL를 넣은 후 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 혼합하여 90분 방치 후 spectrophotometer(V-530, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. 또한 총 플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등(25)의 방법을 이용하여 비색정량하였다. 각 추출물 1 mL에 증류수 4 mL를 넣은 후 NaNO₂

와 AlCl₃ 첨가 후 혼합하여 상온에서 일정시간 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며 catechin을 이용하여 작성한 표준곡선을 이용하여 함량을 구하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

각 추출물의 DPPH assay는 free radical에 대한 시료의 소거활성을 평가하기 위한 방법으로 Blois(26)의 방법을 변형하여 측정하였다. 에탄올에 용해시킨 0.1 mM DPPH 용액 950 µL와 시료 50 µL를 첨가하여 vortex로 5초간 진탕하고 암소에서 30분 동안 방치 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 값은 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 라디칼의 소거활성으로 나타냈으며 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다. 실험은 3회 반복하여 평균값을 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능 측정은 ABTS 양이온 라디칼의 흡광도가 시료에 의해 소거되어 특유의 청록색으로 탈색되는 현상을 이용한 방법으로 Re 등(27)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 100 mM potassium persulfate 용액을 제조하여 섞은 후, 암소에 하루 동안 방치하여 양이온 라디칼을 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도의 값이 1.0 이하가 되도록 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 1 mL에 농도별로 제조된 시료 20 µL를 첨가한 뒤 30분 후 흡광도의 변화를 측정하였다. 항산화 활성은 ascorbic acid를 대조군으로 사용하여 대조군에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

α-Amylase 저해효과 측정

α-Amylase 저해 활성을 측정하기 위해 Bhandari 등(28)의 방법을 변형하여 측정하였다. 100 mM PBS에 2 g/L BSA와 0.01 g/L NaN₃와 함께 0.7 unit porcine pancreatic α-amylase(Sigma-Aldrich Co.)를 용해시켜 효소용액을 만들고, para-nitrophenyl-α-D-maltohexaoside를 PBS에 5 mM 농도로 용해시켜 기질용액을 만든 후 효소액 0.5 mL와 울금 추출물 및 추출물의 비교로서 acarbose를 0.1 mL씩 혼합하고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 반응전의 흡광도 측정 후 기질용액을 첨가하여 30분간 반응시킨 후, 405 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 변화로부터 효소 저해활성을 계산하였다.

3T3-L1 세포 배양 및 분화

본 실험에 사용된 마우스 유래 3T3-L1 세포주는 American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구입하여 사용하였다. ATCC에서 구입한 전지방 세포는 10% NCS 및 1% P/S를 함유한 DMEM에서 37°C, 5% CO₂의 조건에서 배양하였으며 60% 세포가 자랐을 때,

계대배양을 하도록 하였다. 세포의 분화는 6-well plate에 well당 1×10^6 세포를 분주하여 세포가 100% 밀집되게 배양한 후 2일 뒤, 전지방세포에서 지방세포로의 분화를 위해 분화유도 물질(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ insulin, 1 μM DEX, 0.5 mM IBMX)을 10% FBS 및 1% P/S이 함유된 DMEM 배지에 첨가하여 각각의 울금 추출물 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 와 함께 세포에 3일 동안 처리하였다. 다시 10% FBS와 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ insulin을 포함한 DMEM에 각각의 추출물과 함께 3일 동안 처리하였으며 그 이후는 10% FBS를 포함한 DMEM에 추출물과 함께 배양하며 세포내 지방구 형성을 근거로 지방세포로 분화시켰다.

XTT assay를 이용한 세포독성 평가

3T3-L1 지방세포의 세포독성 평가는 XTT 시약을 이용하여 측정하였다. 96-well plate에 well당 1×10^5 세포로 seeding하여 24시간 동안 배양하였다. 그 후 -20°C 에 보관 중인 XTT 및 PMS reagent를 37°C 에서 완전히 해동시킨 후, 1 mL의 XTT reagent와 20 μL PMS reagent를 혼합하여 반응액을 준비해 놓고, pipette을 이용하여 각 well에 조심스럽게 첨가하고 좌우로 가볍게 흔들어 혼합하였다. 혼합 후 2시간 동안 37°C , 5% CO_2 incubator에서 배양한 후 microplate reader(BioTek, Winooski, VT, USA)로 450 nm 흡광도에서 측정하였다.

Oil red O staining을 이용한 지방축적 억제효과 관찰

추출물 처리에 의한 3T3-L1 세포 내 지방축적량을 측정하고자 배양액을 제거한 후, 10% formalin 용액을 첨가하여 5분간 실온에서 방치한 뒤 제거하였다. 그 후 동량의 formalin 용액으로 분화된 3T3-L1 세포를 1시간 이상 실온에서 방치한 후 제거하고, 60% isopropanol 용액 500 μL 로 세척하여 세포를 완전히 건조하였다. 완전히 건조된 세포들은 미리 제조해 놓은 Oil red O working solution(Oil red O : DW=6:4)으로 세포내 축적된 지방성분들을 충분히 염색한 후, 증류수를 이용하여 세포를 3~4회 세척하고 완전히 건조시켰다. 세포내 축적된 지방 성분과 결합한 Oil red O는 100% isopropanol로 모두 용출시킨 후 microplate reader를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

실험결과는 평균(mean) \pm 표준편차(SD)로 나타내었으며 각 군간의 결과 비교 및 유의성 검정은 Student t-test와 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계처리한 후 $P < 0.05$ 수준에서 유의수준을 검정하였다.

결과 및 고찰

울금 추출물의 수율

건조된 울금을 냉수, 열수 및 메탄올로 추출하였다. 이들

Table 1. Yields of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.)¹⁾

Extract ²⁾	CLC	CLH	CLM
Yield (%)	10.5 \pm 0.9	18.7 \pm 0.6	9.9 \pm 0.1

¹⁾Data express the mean \pm SD of triplicate experiments.

²⁾CLC, cold water extract of turmeric; CLH, hot water extract of turmeric; CLM, methanolic extract of turmeric.

을 추출용매에 대해 차지하는 비율로 환산하면 Table 1에 제시한 것과 같이 각각 10.5%, 18.7%, 9.9%로 열수추출물의 수율이 가장 높았다. Kang 등(20)의 연구결과에 의하면 추출수율이 12.8%로 본 연구결과와 유사하였다. 추출 수율이 낮으면 경제성이 낮아지는데, 이러한 관점에서 현재 국내에서 산업적 생산에 사용되는 추출물의 수율이 일반적으로 7~10%인 것으로 보아 본 실험에 사용된 울금은 추출수율 면에서 활용 가능성이 있는 식물소재라 할 수 있다.

울금 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

식물계에는 많은 폴리페놀성 분자들이 함유되어 있는데 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 산화-환원 반응에서 기질로 작용하며, 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl(-OH)기가 효소 단백질과 같은 거대 분자들과 결합하여 체내에서 항산화, 항암 및 항비만 등과 같은 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(29,30). 그중 플라보노이드는 식물에서 합성되는 폴리페놀류의 가장 큰 부류에 속하고 구조에 따라 6가지로 분류되며 각 구조별로 여러 가지 생리활성을 가지고 있다. Choi 등(31)의 연구에 의하면 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높은 추출물일수록 높은 지방세포 분화억제능을 보유하고 있다고 하였으며, Kim 등(32)도 플라보노이드를 주성분으로 함유한 추출물의 경우 체중증가와 관련된 비만인자에 직접적인 효과를 나타내었다고 보고하였다. Table 2에 의하면 울금 추출물의 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량은 각각 냉수추출물에서는 3.68 \pm 0.80%, 1.22 \pm 0.04%, 열수추출물에서는 3.94 \pm 0.74%, 1.31 \pm 0.13%로 나타났으며, 메탄올 추출물에서는 9.01 \pm 0.73%, 6.88 \pm 0.44%로 나타났다. 이로부터 울금은 물 추출물보다는 유기용매 추출물에서 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 높음을 알 수 있다. 폴리페놀 화합물이나 플라보노이드는 여러 식품에 분포되어 있으며 천연항산화제로서

Table 2. Levels of phenolic compounds and flavonoids in the various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.)¹⁾ (%)

Extract ²⁾	CLC	CLH	CLM
Phenolic compounds	3.68 \pm 0.80 ^{b3)}	3.94 \pm 0.74 ^b	9.01 \pm 0.73 ^a
Flavonoids	1.22 \pm 0.04 ^b	1.31 \pm 0.13 ^b	6.88 \pm 0.44 ^a

¹⁾Data express the mean \pm SD of triplicate experiments.

²⁾CLC, cold water extract of turmeric; CLH, hot water extract of turmeric; CLM, methanolic extract of turmeric.

³⁾Values with different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

의 작용에 대한 연구들이 보고되고 있는바, 울금 추출물이 천연항산화제로서 우수한 작용을 나타낼 수 있을 것으로 추정된다. 또한 용매별 추출물의 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 차이는 지방세포의 분화억제능에도 영향을 미치게 되는데, 특히 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높은 메탄올 추출물의 경우, 높은 지방세포 분화억제능을 예측할 수 있다.

울금 추출물의 라디칼 소거능

시료의 항산화 활성을 평가하는 방법은 여러 가지가 존재한다. 특히 식품의 항산화물질의 경우, 대부분 환 구조의 형태로 hydroxyl기를 하나 이상 함유하여 수소공여를 하는 특징을 가진다. 라디칼 소거능은 DPPH와 ABTS를 이용하여 확인하였다. 그중 DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 화학적으로 안정화된 수용성 자유기로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되는 것을 이용하여 항산화물질을 검색하는데 이용되고 있다. 용매별 울금 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Fig. 1에 나타나있다. 양성대조군으로 사용된 ascorbic acid(0.1 mg/mL)는 80.1%로 높은 활성을 보였으며, 울금 냉수 및 열수추출물의 경우 25.1% 및 28.4%, 메탄올 추출물의 경우 58.4%의 활성을 나타내었다. ABTS assay는 potassium persulfate와의 반응으로 생성된 peroxide radical 성격의 ABTS가 항산화성 물질에 의해 제거되면서 청록색이 탈색되어지는 것을 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법이다. 앞에서의 DPPH assay의 경우 유리라디칼이 소거되어지는 것을 이용하는 반면, ABTS assay는 양이온 라디칼이 소거되어지는 것을 이용한 방법이다. Fig. 2는 ABTS 라디칼 소거능을 나타낸 것으로 울금 냉수, 열수 및 메탄올 추출물은 각각 31%, 45%와 75%의 효과를 나타내었다. 이상의 결과로 볼 때, 울금 메탄올 추출물은 물 추출물에 비해 높은 활성을 보였고 이는 유기용매에 의해 추출되는 저분자 화합물 중 주류를 이루는 페놀성 화합물 및 플라보노이드와 유의적인 상관관계를 나타내는 것으

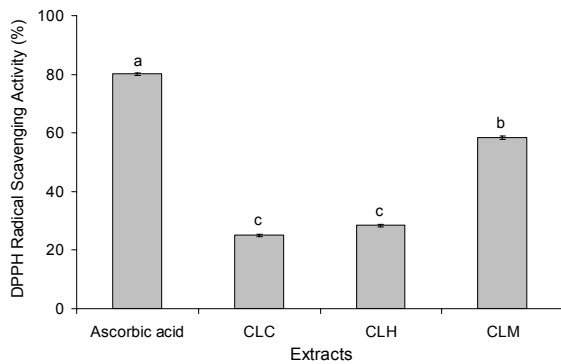


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.). Data express the mean±SD. Bars with different letters indicate statistically significant differences by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). CLC, cold water extract of turmeric; CLH, hot water extract of turmeric; CLM, methanolic extract of turmeric.

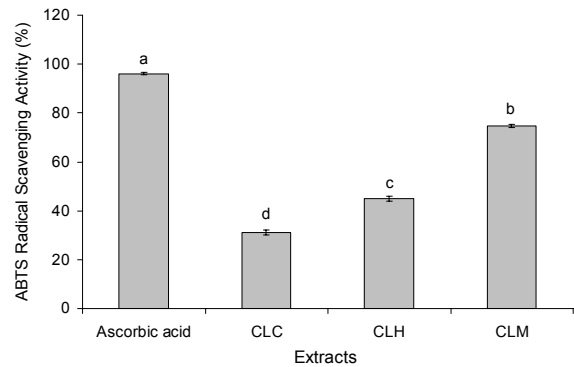


Fig. 2. ABTS radical scavenging activities of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.). Data express the mean±SD. Bars with different letters indicate statistically significant differences by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). CLC, cold water extract of turmeric; CLH, hot water extract of turmeric; CLM, methanolic extract of turmeric.

로 추측된다. 산화적 스트레스는 비만과 인슐린저항성, 고혈압 등의 질환과 연관되어져 있다. 일반적으로 천연물에 존재하는 많은 종류의 생리활성 물질은 페놀성 화합물로서 항산화 능력을 보유하고 있는 것으로 알려져 있으며, 항산화제의 섭취와 체중감량 효과와는 밀접한 관계가 있다고 보고되어져 있다(33).

울금 추출물의 α-amylase 저해효과

비만은 당뇨, 고지혈증, 고혈압 등 만성질환의 주요 위험인자로 꼽히고 있으며, 최근 비만환자가 크게 증가함에 따라 비만 개선을 위한 다양한 연구들이 진행되고 있다. 소장에서 음식물 중의 전분은 α-amylase에 의하여 포도당과 같은 단당으로 분해되어 흡수되는데 과도한 포도당의 유입은 지방으로 전환되어 비만을 일으킬 수 있는 간접적인 요인이 될 수 있다(34). 따라서 소장의 α-amylase를 저해함으로써 탄수화물 및 포도당의 흡수를 지연시켜 비만, 당뇨 등을 예방할 수 있다. 근래에 α-amylase 저해제에 대한 관심이 높아지면서 천연물에서 그 저해제를 찾고자 하는 연구가 많이 진행되고 있다(35). 울금 추출물의 α-amylase 저해활성을 측정된 결과, 메탄올 추출물의 경우 35% 이상의 저해율을 보였으며 양성대조군으로 사용된 acarbose는 39%의 저해율을 보였다(Fig. 3). 이는 울금추출물이 acarbose와 같은 α-amylase 활성저해에 의한 비만억제 효능을 보유하고 있음을 나타내는 것으로 천연물에서 기원한 α-amylase 저해제로써 활용가능성이 있음을 보여주며, 약물치료로 인한 부작용을 예방할 수 있어 그 활용가치가 높을 것으로 기대된다.

XTT assay를 이용한 세포독성

3T3-L1 지방세포에 대한 용매별 울금 추출물의 세포독성을 평가하기 위하여 XTT assay를 실시하였다. 용매별 추출물의 세포 생존율은 Fig. 4와 같았다. 모든 추출물을 10, 20, 30, 40, 50 µg/mL의 농도로 세포독성을 측정된 결

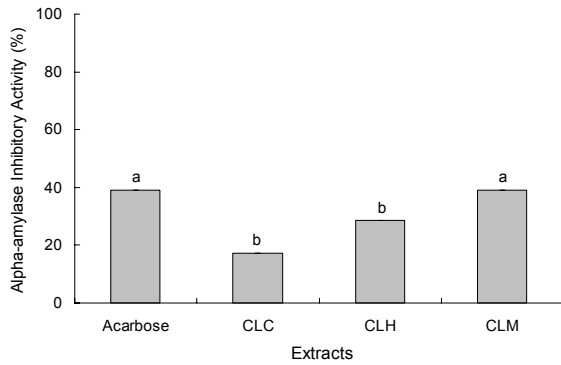


Fig. 3. α -amylase inhibitory activities of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.). Data express the mean \pm SD. Bars with different letters indicate statistically significant differences by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). CLC, cold water extract of turmeric; CLH, hot water extract of turmeric; CLM, methanolic extract of turmeric.

과 울금 메탄올 추출물의 경우 50 μ g/mL의 농도까지 세포 독성이 나타나지 않았으며, 현미경 상에서의 morphology 변화도 관찰되지 않았다. 울금 냉수 및 열수 추출물에서는 40 μ g/mL에서부터 독성이 나타났다. 따라서 3T3-L1 지방 세포에 처리하는 추출물의 농도는 모든 용매에서 안전한 20 μ g/mL를 사용하여 항비만 활성을 평가하였다.

Oil red O staining 을 이용한 지방축적 억제효과

3T3-L1 지방세포 분화 억제효과를 확인하기 위하여 전 지방세포를 분화유도 후 lipid droplet만 특이적으로 염색시키는 Oil red O 시약을 통해 지방세포 내 생성된 중성지방의 양을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. Oil red O 염색은 중성지방, cholesterol ester만이 염색되고 그 외 유리지방산 및 인지질은 염색이 되지 않는다. 따라서 lipid droplet이 축적

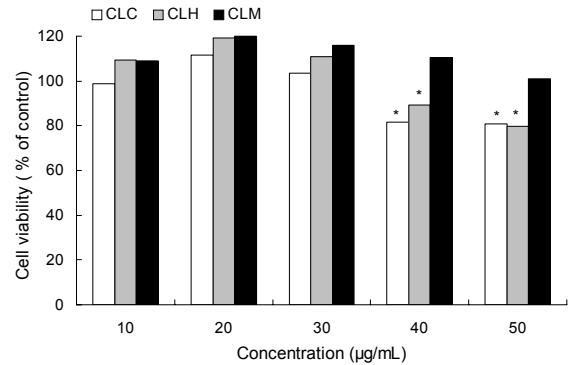


Fig. 4. Effects of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.) on cell viability. Cell viability was measured by XTT assay. Data express the mean \pm SD. *Significantly different from control by Student t-test ($P<0.05$). CLC, cold water extract of turmeric; CLH, hot water extract of turmeric; CLM, methanolic extract of turmeric.

된 부분은 대부분 중성지방이기 때문에 염색이 가능하다. 본 연구에서는 지방전구세포가 지방세포로 분화과정 중에 추출물 처리가 lipid droplet에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위해 각 울금추출물을 20 μ g/mL씩을 처리하였다. 처리 후 Oil red O 염색을 시행한 결과, 냉수 및 열수인 물 추출물에서는 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 나타나지 않았으나, 메탄올 추출물에 의해서는 염색된 지방구의 수가 급격히 감소함으로써 유의적인 억제효과가 나타났음을 알 수 있었다. 비만은 지방전구세포의 분화 및 지방생성 과정에 의하여 지방세포의 세포 내 중성지방의 축적으로 발생하며 이러한 지방생성기전을 조절하는 것이 비만억제의 효과적인 예방방법으로 알려져 있다(36). 상기의 결과들로부터 상대적으로 높은 폴리페놀을 함유하고 있는 울금 메탄올 추출물의 처리가 지방축적을 억제하는 효과가 있음을 확

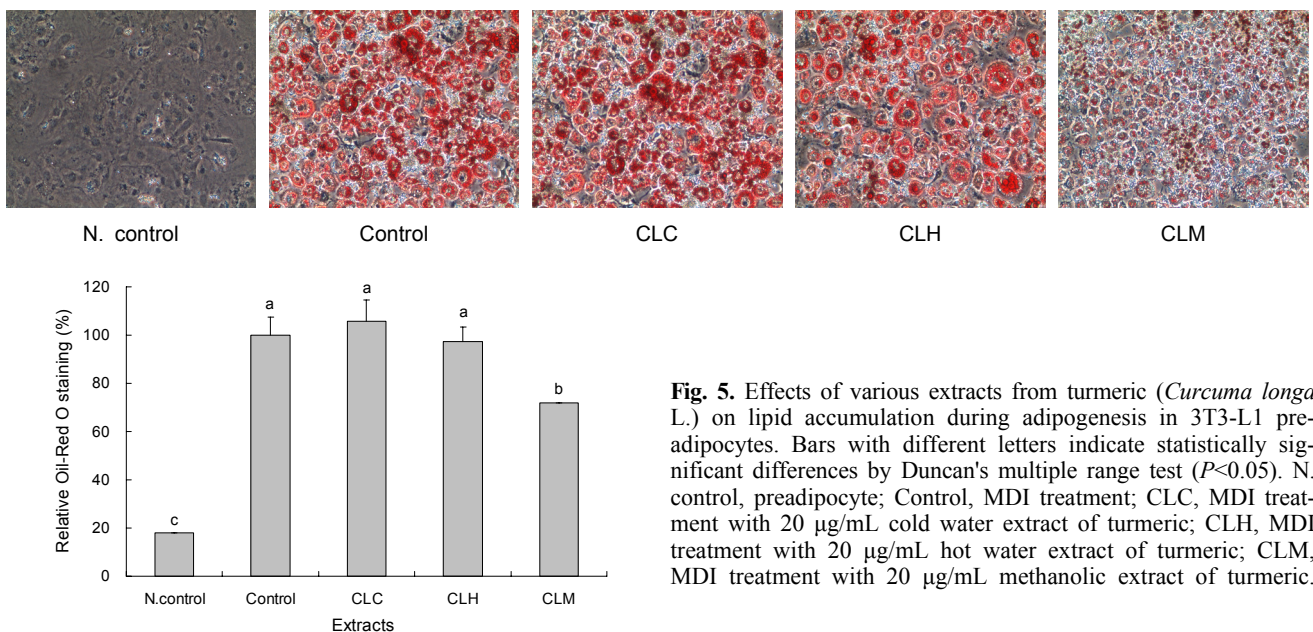


Fig. 5. Effects of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.) on lipid accumulation during adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. Bars with different letters indicate statistically significant differences by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). N. control, preadipocyte; Control, MDI treatment; CLC, MDI treatment with 20 μ g/mL cold water extract of turmeric; CLH, MDI treatment with 20 μ g/mL hot water extract of turmeric; CLM, MDI treatment with 20 μ g/mL methanolic extract of turmeric.

인하였으며, 이는 울금 내 지용성 폴리페놀류들이 항비만 활성에 중요한 역할을 하는 것을 암시하고 또한 항산화 활성이 항비만 활성에 유의적인 영향을 미치는 것으로 추정되어진다. 향후 후속연구를 통해 분자수준에서의 작용 기전을 밝힘으로써 항비만 활성 보유 기능성 소재 및 식품으로서 울금의 활용가치를 높일 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 울금 냉수, 열수 및 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량, 라디칼 소거활성 및 항비만 활성을 평가하였다. 총 폴리페놀 함량은 울금의 냉수, 열수 및 메탄올 추출물에서 각각 3.68±0.80%, 3.94±0.74%와 9.01±0.73%로 나타났으며 플라보노이드 함량 역시 물 추출물에 비해 메탄올 추출물에서 6.88±0.44%로 높게 나타났다. 또한 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 결과로부터 울금의 메탄올 추출물은 높은 항산화 활성을 보유하고 있음을 확인하였다. 울금 추출물들을 3T3-L1 전지방세포에 분화 유도물질과 함께 처리했을 때, 메탄올 추출물은 분화과정 중 세포내 지방축적을 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났다. 이상의 결과로부터 울금 메탄올 추출물은 높은 항산화 활성을 보유하고 있으며, 이는 메탄올 추출물이 전지방세포에서 지방세포로의 분화를 유의적으로 감소시키는 결과에 영향을 미치는 것으로 추정된다.

REFERENCES

1. Lee OH, Kwon YI, Hong HD, Park CS, Lee BY, Kim YC. 2009. Production of reactive oxygen species and changes in antioxidant enzyme activities during differentiation of 3T3-L1 adipocyte. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 52: 70-75.
2. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 114: 1752-1761.
3. Yamashita A, Soga Y, Iwamoto Y, Asano T, Li Y, Abiko Y, Nishimura F. 2008. DNA microarray analyses of genes expressed differentially in 3T3-L1 adipocytes co-cultured with murine macro phage cell line RAW264.7 in the presence of the toll-like receptor 4 ligand bacterial endotoxin. *Int J Obesity (Lond)* 32: 1725-1729.
4. Park MJ. 2005. Recent advances in regulating energy homeostasis and obesity. *Korean J Pediatr* 48: 126-137.
5. Ward PA. 1991. Mechanisms of endothelial cell injury. *J Lab Clin Med* 118: 421-425.
6. Park SJ, Choi JH, Jung YS, Yu MH. 2013. Inhibitory effect of *Rumex Crispus* L. fraction on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Korean J Food Sci Technol* 45: 90-96.
7. Lee YJ, Han OT, Choi HS, Lee BY, Chung HJ, Lee OH. 2013. Antioxidant and anti-adipogenic effects of PineXol®. *Korean J Food Sci Technol* 45: 97-103.
8. Kim HK, Kwon YJ, Kim YE, Nahmgang B. 2004. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Aster scaber* Thunb extracts with different microwave-assisted ex-

- traction conditions. *Korean J Food Preserv* 11: 88-95.
9. Kim TK, Shin HD, Lee YH. 2003. Stabilization of polyphenolic antioxidants using inclusion complexation with cyclodextrin and their utilization as the fresh-food preservative. *Korean J Food Sci Technol* 35: 266-271.
10. Bae SM, Kim JH, Cho CW, Jeong TJ, Ha JU, Lee SC. 2001. Effect of microwave treatment on the antioxidant activity of rice processed by-products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1026-1032.
11. Halliwell B. 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 16: 33-50.
12. Morrissey PA, O'Brien NM. 1998. Dietary antioxidants in health and disease. *Int Dairy J* 8: 463-472.
13. Bray GA. 2006. Obesity: The disease. *J Med Chem* 49: 4001-4007.
14. Oh H, Park H, Ju MS, Jung SY, Oh MS. 2010. Comparative study of anti-oxidant and anti-inflammatory activities between *Curcuma longa* Radix and *Curcuma longa* Rhizoma. *Kor J Herbology* 25: 83-91.
15. Roth GN, Chandra A, Nair MG. 1998. Nobel bioactivities of *Curcuma longa* constituents. *J Nat Prod* 61: 542-545.
16. Andrew AM, Mitchell SM, Mohan RS. 2000. Isolation of curcumin from tumeric. *J Chem Educ* 77: 359.
17. An BJ, Lee JY, Park TS, Pyeon JR, Bae JH, Song MA, Beak EJ, Park JM, Son JH, Lee CE, Cho IK. 2006. Antioxidant activity and whitening effect of extraction conditions in *Curcuma longa* L. *Korean J Medicinal Crop Sci* 14: 168-172.
18. Ryn GY, No KH, Ryu SR, Yang HS. 2005. Study of separation and analysis method an effective component from UIGeum (*Curcuma longa*) and a contained curcumin as product of national and partial region cultures. *Appl Chem* 9: 57-60.
19. Ammon HR, Wahl MA. 1991. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Med* 57: 1-7.
20. Kang WS, Kim SH, Park EJ, Yoon KR. 1998. Antioxidative property of turmeric (*Curcuma Rhizoma*) ethanol extract. *Korean J Food Sci Technol* 30: 266-271.
21. Song EK, Cho H, Kim NY, An NH, Kim JA, Lee SH, Kim YC. 2001. Diarylheptanoids with free radical scavenging and hepatoprotective activity *in vitro* from *Curcuma longa*. *Planta Med* 67: 876-877.
22. Masuda T, Isobe T, Jitoe A, Nakatani N. 1992. Antioxidative curcuminoids from rhizomes of *Curcuma xanthorrhiza*. *Phytochem* 31: 3645-3647.
23. Russeff LR. 1988. High performance liquid chromatographic separation and spectral characterization of the pigments in turmeric and annatto. *J Food Sci* 53: 1823-1826.
24. Duval B, Shetty K. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J Food Biochem* 25: 361-377.
25. Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
26. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
27. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
28. Bhandari MR, Jong-Anurakkun N, Hong G, Kawabata J. 2008. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of

- Nepalese medicinal herb Parkhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). *Food Chem* 106: 247-252.
29. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr* 81: 215S-217S.
 30. Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177: 67-80.
 31. Choi JH, Park YH, Lee IS, Lee SP, Yu MH. 2013. Antioxidant activity and inhibitory effect of *Aster scaber* Thunb. extract on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Korean J Food Sci Technol* 45: 356-363.
 32. Kim SG, Choi JW, Park HJ, Lee SM, Jung HJ. 2009. Anti-hyperlipidemic effects of the flavonoid-rich fraction from the methanol extract of *Orostachy japonicas* in rats. *Kor J Pharmacogn* 40: 51-58.
 33. Valdecantos MP, Pérez-Matute P, Martínez JA. 2009. Obesity and oxidative stress: role of antioxidant supplementation. *Rev Invest Clin* 61: 127-139.
 34. Liu S, Li D, Huang B, Chen Y, Lu X, Wang Y. 2013. Inhibition of pancreatic lipase, α -glucosidase, α -amylase, and hypolipidemic effects of the total flavonoids from *Nelumbo nucifera* leaves. *J Ethnopharmacol* 149: 263-269.
 35. Son EH, In SW, Kim BO, Pyo S. 2005. Anti-obesity drugs: A current research insight. *J Exp Biomed Sci* 11: 89-101.
 36. Chen HC, Farese RV Jr. 2005. Inhibition of triglyceride synthesis as a treatment strategy for obesity: lessons from DGAT1-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25: 482-486.