

## 천연식물로부터 추출한 색소성분의 항산화 및 항비만 활성

황초롱<sup>1</sup> · 강민정<sup>1</sup> · 심혜진<sup>1</sup> · 서화진<sup>2</sup> · 권오운<sup>2</sup> · 신정혜<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(재)남해마늘연구소

<sup>2</sup>(재)경북천연염색산업연구원

### Antioxidant and Antiobesity Activities of Various Color Resources Extracted from Natural Plants

Cho-Rong Hwang<sup>1</sup>, Min Jung Kang<sup>1</sup>, Hye Jin Shim<sup>1</sup>, Hwa Jin Suh<sup>2</sup>,  
Oh Oun Kwon<sup>2</sup>, and Jung-Hye Shin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Namhae Garlic Research Institute

<sup>2</sup>Gyeongbuk Natural Color Institute

**ABSTRACT** The objective of this study was to investigate the antioxidant and antiobesity activities of various color resources extracted from natural plants such as, clove, persimmon, gall nut, amur cork, gardenia, safflower, and annatto. Total phenolic content was the highest in gall nut extract (2,441.45 mg/kg) followed by clove extract (1,346.48 mg/kg). DPPH, and ABTS radical scavenging activities and ferric reducing antioxidant power (FRAP) were also higher in gall nut extract.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity (IC<sub>50</sub>) was highest in persimmon extract (22.83  $\mu$ g/mL) followed by gall nut extract.  $\alpha$ -Amylase and lipase inhibitory activities were also higher in persimmon extract (49.45% and 61.01%, respectively). Lipid accumulation in 3T3-L1 cells was lower in persimmon, clove, and annatto extracts (81.54%, 83.36%, and 85.70% at 20  $\mu$ g/mL, respectively). Triglyceride content in 3T3-L1 cells was lowest in clove extract (66.11%) followed by persimmon extract (88.88%). The results of this study suggest that gall nut extract has the highest antioxidant activity, whereas persimmon and clove extract show the antiobesity activities by inhibition of digestive enzymes and fat accumulation in 3T3-L1 cells. These extracts are useful materials for the development of antioxidant and antiobesity functional foods.

**Key words:** natural plants, color resource, antioxidant, antiobesity

## 서 론

최근 친환경에 대한 사람들의 욕구가 증대되면서 복합기능을 갖는 다기능성 천연색소 소재에 대한 관심이 날이 증가하고 있다. 더욱이 천연색소는 합성색소에 비해 환경과 인체에 대한 독성 및 발암성이 적고 향균, 향암, 항염 등의 생리적 기능성이 있음이 알려짐에 따라 섬유염색에만 한정되어 이용되던 것이 근래에는 식품, 화장품, 비누, 모발 염색 및 페인트 등 다양한 분야에 소재로 응용되고 있다(1). 천연색소는 크게 두 가지로 분류될 수 있는데 첫째는 보통식품으로 사용하지 않고 착색 목적으로 사용하는 아나토, 코치닐, 치자, 오배자 및 홍화황 색소 등이 있고 둘째는 보통식품으로 사용하는 포도과피, 파프리카, 홍국, 비트 및 카카오 색소 등이 있는데, 이러한 색소는 주로 식물류에서 그 원료를 추출하는 것이 대부분이나 코치닐 색소와 같이 선인장에 기생하

는 연지벌레를 원료로 추출하는 동물성 색소도 존재한다(2).

식물체는 다양한 형태의 항산화 물질을 함유하고 있는데, 그중에서도 페놀성 화합물은 대표적인 식물 유래의 색소성분으로 생체 내의 DNA 손상, 암유발, 노화 등 다양한 질병의 원인이 되는 유리 라디칼에 의한 손상을 방지함으로써 생체를 보호하는 중요한 유용성분으로 주목받고 있다(3,4). 그중 안토시아닌은 플라보노이드계 색소로 적자색 식재료에 많이 함유되어 있고 향암, 항산화, 항바이러스 및 면역증강 등에 효과가 있는 것으로 보고되어 있으며(5), 명계껍질로부터 추출한 alloxanthin, halocynthiaxanthin, halocynthiaxanthin과 같은 카로테노이드 색소는 항산화 활성 및 염증 억제 효능이 있는 것으로 보고되어 있다(6). 시금치나 갓으로부터 추출한 클로로필 색소 또한 강력한 항산화 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다(7,8).

본 연구에서 사용한 천연색소 소재로 정향(Clove, *Syzygium aromaticum*)은 꽃봉오리를 주로 염료로 이용하는데 정향유의 주성분인 eugenol은 항균성, 항곰팡이성 및 항바이러스 등에 효과가 있고, 정향 추출물로 염색할 경우 염색포의 항균성과 자외선 차단 효과가 증가되는 것으로 보고되어

Received 10 October 2014; Accepted 17 December 2014

Corresponding author. Jung-Hye Shin, Namhae Garlic Research Institute, Namhae, Gyeongnam 668-812, Korea  
E-mail: whanbee@hanmail.net, Phone: +82-55-860-8947

있다(9,10). 감(Persimmon, *Diospyros kaki*)에서 분리되는 카로티노이드 색소는 주로 탄닌 성분으로 산화·환원반응을 기질로 하여 색상을 나타내는 특징을 가지며(11), 폴리페놀 성분들은 항산화, 항암 및 항아토피 등에도 효능을 가지는 것으로 보고되어 있다(12,13). 오배자(Gallnut, *Aphis chinensis*)는 옻나무과에 속하는 붉나무에 진딧물이 기생하여 생긴 벌레집으로 주요 물질인 pyrogallol tannin은 항산화(14), 항혈전(15), 항바이러스(16) 및 멜라닌 합성 억제 활성(17) 등과 관련성이 높고, 무색이지만 산화되면 짙은 갈색, 황색 또는 갈색을 나타내어 천연염료로도 두루 사용되고 있다. 황벽(Amur cork, *Phellodendron amurense*)은 황벽나무의 노란 수피로 예전부터 약재 및 염색료로 이용되어 왔고, 황벽 황색색소의 주성분인 berberine은 지방분해 활성(18), 피부 멜라닌 저해 활성(19) 및 항산화 활성(20) 등에 효과가 있는 것으로 보고되어 있다. 이상의 연구와 같이 일부 천연색소는 색상을 띠고 동시에 약리적 작용이 인정되어 이미 식품 또는 염료로 활용되고 있고 대다수가 특정 색소의 원료를 소재로 하여 다양한 분야에서 기능성을 검증하고 있으나, 그 원료에서 추출한 색소 자체의 특성 및 생리적 기능성 등을 비교한 연구는 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 천연색소 소재로 널리 이용되고 있는 정향, 감, 오배자, 황벽 외에도 치자(*Gardenia*, *Gardenia jasminoides for. grandiflora*), 홍화황(*Safflower*, *Carthamus tinctorius* L.) 및 아나토(*Annatto*, *Bixa orellana* L.) 7종의 색소를 이용하여 항산화 및 항비만 활성을 비교·분석함으로써 향후 이들 소재를 활용한 기능성 식품 개발에 대한 기초자료를 제공하고 자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 추출물의 제조

천연색소 소재로 정향, 감, 오배자, 황벽, 치자, 홍화황 및 아나토는 한약건재상에서 건조된 것을 구입하여 시료로 사용하였다. 천연 식물 소재로부터 색소 성분을 분리하고 추출물을 제조하기 위하여 각각의 건조 시료 1 kg에 10 L의 물을 가한 후 catalase(Biotouch®CAT200, AB Enzymes, Rajamäaki, Finland) 및 alcalase(Alcalase®, Novozymes, Dittingen, Switzerland)를 1% 농도로 첨가하고 45°C에서 10시간 동안 반응시킨 다음 80°C로 조절된 추출기(Cosmos660, Kyungseo, Incheon, Korea)를 이용하여 2시간 동안 추출하였다. 그 후 추출물을 여과하여 농축기(rotavapor R-220, BUCHI, Flawil, Switzerland)로 농축한 다음 분무건조기를 이용하여 분말화해 실험용 시료로 사용하였다. 추출물 제조에 사용된 건조 시료량 대비 완성 분말의 양(w/w)으로부터 추출 수율을 산정하였다.

### 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(21)에 따라 각 추출물 1

mL에 Foline-Ciocalteau 시약 1 mL를 넣고 3분 후 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 1 mL씩을 가한 다음 혼합하고 실온의 암실에서 1시간 정치하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 페놀 함량을 계산하였다.

### DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성 측정

DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois(22)의 방법에 따라 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여 활성으로 나타내었다. 즉 추출물과 DPPH 용액(5 mg/100 mL methanol)을 동량으로 혼합한 다음 실온에서 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ABTS[2,2-azino-bis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonate)] 라디칼 소거 활성은 Re 등(23)의 방법에 따라 7 mM의 ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16시간 동안 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정된 ABTS 용액을 사용하였으며, ABTS 용액에 동량의 시료액을 혼합하여 실온에서 10분간 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거 활성은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도비로 계산하여 그 활성이 50% 감소되는 데 필요한 시료의 농도(inhibition concentration, IC<sub>50</sub>, µg/mL)로 표기하였다.

### FRAP법에 의한 환원력 측정

FRAP(ferric reducing antioxidant power)법에 의한 항산화 활성은 Benzie와 Strain(24)의 방법에 따라 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 용액 및 20 M ferric chloride를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 37°C의 수욕상에서 가온한 것을 FRAP 기질액으로 사용하였다. 96 well plate에 시료액 40 µL, FRAP 기질액 100 µL 및 증류수 40 µL를 차례로 혼합하여 37°C에서 4분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, ferrous sulfate를 표준물질로 하여 얻은 표준검량선으로부터 계산하였다.

### 소화효소 저해 활성 측정

**α-Glucosidase 저해 활성 측정:** Watanabe와 Kawabata(25)의 방법에 따라 10 mg/mL 농도의 시료액 10 µL를 0.7 unit/mL α-glucosidase 효소액 50 µL와 혼합하여 405 nm에서 반응 전의 흡광도를 측정하였다. 5분간 실온에 방치하고 기질액 5 mM pNPG(p-nitrophenyl-α-glucopyranoside) 50 µL를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후, 다시 405 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 변화로부터 효소 저해 활성을 계산하였다.

**α-Amylase 저해 활성 측정:** Pancreatin 기원의 α-amylase 저해 활성은 Lim 등(26)의 방법을 변형하여 시료

액 50  $\mu\text{L}$ 에 1 unit/mL의  $\alpha$ -amylase 효소액 250  $\mu\text{L}$ 와 50 mM potassium phosphate buffer(pH 6.9) 250  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 0.5% starch를 500  $\mu\text{L}$  가하여 다시 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응액에 48 mM DNS(3,5-dinitrosalicylic acid, 30% potassium sodium tartrate in 0.5 M NaOH) 발색시약 500  $\mu\text{L}$ 를 넣고 100°C에서 15분간 끓여 반응을 중지시킨 후 냉각하고 증류수 3 mL를 가하여 희석시켰다. 이때 각 blank로는 효소액 첨가 후 기질을 넣기 전에 DNS 발색시약을 먼저 넣은 것을 사용하였다. 반응액은 540 nm에서 흡광도를 측정하여 각 blank와의 차이를 구한 후 대조군과 비교하여 저해율을 계산하였다.

**Lipase 저해 활성 측정:** Lipase 저해 효과 측정은 Saisuburamaniyan 등(27)의 방법을 변형하여 시료액 0.25 mL에 800 unit/mL lipase 0.5 mL와 0.05 M potassium phosphate buffer(pH 6.5) 0.5 mL를 혼합하여 37°C에서 15분간 전 처리한 후 10%로 isoctane에 용해시킨 olive oil 1.25 mL를 첨가하여 37°C에서 20분간 진탕배양 하였다. Acetone 5 mL로 반응을 정지시킨 후 5% cupric acetate 1 mL를 첨가하여 혼합한 뒤 상온에서 정치하여 상층액 1 mL를 취해 720 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군의 흡광도 값과 비교하여 저해율을 계산하였다.

### 3T3-L1 세포에서 항비만 활성 측정

**3T3-L1 세포배양 및 분화:** 실험에 사용된 지방전구세포인 3T3-L1 세포는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)에서 분양받아 10% bovine calf serum(BCS, Hyclone, Logan, UT, USA), 1% penicillin/streptomycin(Sigma-Aldrich Co.)을 첨가한 Dulbecco's modified Eagle medium(DMEM, Gibco, Grand Island, NY, USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 3T3-L1 세포가 confluent 한 상태가 되면 10% fetal bovine serum(FBS, Hyclone), 1  $\mu\text{M}$  dexamethasone (Sigma-Aldrich Co.), 0.5 mM methylisobutylxanthine (IBMX, Sigma-Aldrich Co.), 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  insulin(Gibco, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 포함하는 DMEM 배지로 교환한 후 3일 동안 지방세포 분화를 유도하였다. 그 후 2일간격으로 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 insulin이 포함된 DMEM 배지를 이용하여 시료 추출물과 함께 처리한 다음 분화가 완성되는 시점에서 insulin을 포함하지 않은 DMEM 배지로 교환하여 분화시켰다.

**세포독성 측정:** 시료 추출물이 3T3-L1 세포의 생존율에 미치는 영향을 확인하기 위해 MTT(3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-di-phenyl-tetrazolium bromide) assay를 수행하였다. 96 well plate에 3T3-L1 세포를  $5 \times 10^4$  cells/well 농도로 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 24시간 배양한 후 각 시료 추출물을 농도별(1~100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )로 처리하여 24시간 동안 다시 배양하였다. 그 후 5 mg/mL의 MTT 시약을 10

$\mu\text{L}$ 씩 처리하여 2시간 동안 배양시킨 후 상층액을 제거하고 dimethyl sulfoxide(DMSO, AMERSCO, Solon, OH, USA)를 100  $\mu\text{L}$  넣어 10분간 교반한 다음 570 nm에서 ELISA reader(Epoch, BioTek Instrument, Winooski, VT, USA)로 이용하여 흡광도를 측정하였다.

**지방 축적율 및 triglyceride 함량 측정:** 3T3-L1 세포 내 지방 축적율은 Oil Red-O staining법으로 측정하였다. 분화된 세포를 먼저 PBS로 세척한 다음 10% formalin으로 1시간 동안 고정하였다. 고정액을 제거하고 60% isopropanol로 2회 세척한 후 Oil Red-O solution을 첨가하여 20분간 실온에서 염색하였다. 염색된 세포는 100% isopropanol을 첨가하여 염색된 지방을 추출한 다음 ELISA reader를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지방축적 측정율은 control에 대한 백분율로 나타내었다.

Triglyceride 함량은 triglyceride colorimetric assay kit(Cayman, Ann Arbor, MI, USA)을 이용하여 확인하였다. 세포는 PBS(pH 7.4)를 이용하여 3회 세척한 후 lysis buffer(1% Triton X-100 in PBS)를 첨가하여 스크래퍼로 모은 후 4°C에서 30초간 sonication 하여 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 다음 상층액을 분리하였다. 상층액 10  $\mu\text{L}$ 에 150  $\mu\text{L}$ 의 enzyme buffer solution을 첨가하여 혼합한 다음 실온에서 15분간 반응시킨 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 통계처리

각 실험은 3~5회 반복 실험한 결과에 대하여 SPSS 12.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 통계처리 하였으며, 각각의 시료에 대해 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었다. 각 시료군에 대한 유의차 검정은 분산분석을 한 후  $P < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 따라 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 천연색소 소재의 추출수율 및 총 페놀 화합물의 함량

7종의 천연식물 유래 색소 소재의 추출수율 및 총 페놀 화합물의 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 추출수율은 오배자, 정향, 치자가 30% 이상으로 높았으며, 감은 수율이 가장 낮아 4%에 불과하였다. Gallic acid를 기준물질로 하였을 때 천연색소 성분 중 총 페놀 화합물의 함량은 오배자 추출물에서 2,441.45 mg/kg으로 가장 높게 정량되었으며, 다음으로 정향 추출물에서 1,346.48 mg/kg으로 높았다. 감, 황벽 및 홍화황 추출물은 447.74~455.91 mg/kg의 범위로 비슷한 함량이었으며, 아나토 추출물은 95.53 mg/kg으로 가장 낮은 함량이었다.

Bae 등(28)은 건조 오배자 80% 메탄올 및 물 추출물의 총 페놀 함량이 각각 220 mg/kg 및 42 mg/kg으로 본 연구의 오배자 추출물보다 더 낮은 함량이라고 하였는데, 이는 시료의 추출부위 및 추출용매에 따른 차이로 생각된다. Do

**Table 1.** Yield and total phenolic compounds contents of various color resource from natural plants

Sample name	Yield (%)	Gallic acid equiv./extract (mg/kg)
Gardenia ( <i>Gardenia jasminoides</i> for. <i>grandiflora</i> )	30	160.31±5.76 <sup>B</sup>
Annatto ( <i>Bixa orellana</i> L.)	28	95.53±1.09 <sup>A</sup>
Persimmon ( <i>Diospyros kaki</i> )	4	447.74±1.89 <sup>C</sup>
Amur cork ( <i>Phellodendron amurense</i> )	24	450.25±3.93 <sup>C</sup>
Safflower ( <i>Carthamus tinctorius</i> L.)	10	455.91±1.09 <sup>C</sup>
Gallnut ( <i>Aphis chinensis</i> )	37	2,441.45±9.50 <sup>E</sup>
Clove ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	33	1,346.48±8.81 <sup>D</sup>

Each value represents mean±SD, n=3.

<sup>A-E</sup>Means with different letters in the same column are significantly different at  $P<0.05$ .

등(29)은 정향 종자 에탄올 추출물의 총 페놀 함량이 229.38 mg/g으로 보고하였고, Dong 등(30)은 용매별 정향 추출물에서 총 페놀 함량이 물 추출물(23.1%)에 비해 메탄올(42.8%) 및 에테르 추출물(34.9%)에서 더 높았는데, 이는 정향의 주요 페놀 화합물 성분인 eugenol 및 phenylpropene이 비극성인 에테르나 메탄올에서 용이하게 용출되기 때문이라고 보고하였다.

식물에 존재하는 페놀성 화합물들은 체내의 효소단백질과 같은 거대분자들과 결합하는 성질을 가지고 있어 항산화, 항당뇨 및 항비만 활성과 연관성이 높은 것으로 보고되어 있는데(31,32), 본 연구의 오배자 및 정향 추출물의 경우 다른 시료 추출물에 비해 페놀 화합물이 다량 함유되어 있으므로 인체 내 생리활성 증강에 더 효과적인 것으로 추측된다.

### 천연색소 소재의 항산화 활성

천연염색 원료 식물에 대한 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성과 환원력을 측정할 결과는 Table 2와 같다. DPPH 라디칼 소거 활성은 오배자 추출물의 IC<sub>50</sub> 값이 20.50 µg/mL로 가장 높았으며, 다음으로 정향 추출물(28.36 µg/mL), 황

**Table 2.** DPPH and ABTS radical scavenging activity and FRAP of various color resource from natural plants

Sample name	DPPH IC <sub>50</sub>	ABTS IC <sub>50</sub>	FRAP
	(µg/mL)		(FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O eq µM)
Gardenia	>900	>200	53.21±0.32 <sup>B</sup>
Annatto	>2,000	>200	9.52±0.95 <sup>A</sup>
Persimmon	71.02±2.32	57.44±1.22	252.56±7.58 <sup>E</sup>
Amur cork	>500	70.16±4.85	200.83±2.94 <sup>D</sup>
Safflower	>500	87.16±6.87	132.11±2.63 <sup>C</sup>
Gallnut	20.50±0.40	8.18±0.09	1,016.42±9.60 <sup>G</sup>
Clove	28.36±0.16	11.57±0.15	657.75±2.87 <sup>F</sup>

FRAP treated sample with 250 µg/mL concentration. IC<sub>50</sub> value in the concentration of sample required for 50% inhibition.

Each value represents mean±SD, n=3.

<sup>A-G</sup>Means with different letters in the same column are significantly different at  $P<0.05$ .

벽 추출물(71.02 µg/mL)의 라디칼 소거 활성이 높았다. 반면에 치자 및 아나토 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 고농도로 라디칼 소거 활성이 매우 낮은 것으로 나타났다.

ABTS 라디칼 소거 활성은 DPPH 라디칼 소거 활성과 유사한 경향으로 오배자 추출물의 IC<sub>50</sub> 값이 8.18 µg/mL로 라디칼 소거 활성이 가장 높았다. 정향 추출물도 IC<sub>50</sub> 값이 11.57 µg/mL로 감(57.44 µg/mL) 및 황벽(70.16 µg/mL) 추출물에 비해 높은 라디칼 소거 활성을 나타내었다.

250 µg/mL 농도로 조절된 천연색소 추출물의 환원력을 FRAP법으로 측정한 결과, 오배자(1,016.42 µM) 및 정향(657.75 µM) 추출물의 활성이 타 시료에 비해 월등히 높았다. 특히 오배자 추출물은 감과 황벽 추출물에 비해서 약 5배 정도 높은 활성을 나타내었다. 이에 비해 치자, 아나토 및 홍화황은 낮은 항산화 활성을 나타내었다.

Han 등(33)은 국내 자생 식물 23종에 대한 전자공여능을 측정할 결과 오배자 추출물이 70.33%로 가장 높은 활성을 나타내는 것으로 보고하였고, Bae 등(28)은 용매 분획별 오배자 추출물의 라디칼 소거능을 측정할 결과 페놀 함량이 높았던 에틸아세테이트층에서 높은 소거 활성이 있음을 보고하였는데, 이는 에틸아세테이트층에 오배자의 주성분인 gallotannin 및 triterpenoid 화합물과 같은 페놀 화합물이 다량 존재하기 때문으로 보고하였다. 또한 DPPH 라디칼 소거 활성에 대한 정향 메탄올 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 17.06 µg/mL(34), 정향 에탄올 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 5.9 µg/mL로 정향 추출물도 항산화 활성이 뛰어난 식물성 소재로 보고되어 있다(35).

천연식물의 항산화 활성은 페놀 화합물의 함량에 비례하며(36), FRAP법에 의한 환원력도 시료의 총 페놀 함량이 높을수록 활성이 높다고 보고되어 있는데(37), 본 연구에서도 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 높았던 오배자와 정향 추출물에서 라디칼 소거 활성과 환원력이 높게 나타났다.

### 천연색소 소재의 소화효소 저해 활성

식물류 색소원료의 α-glucosidase, α-amylase 및 lipase에 대한 저해 활성을 측정할 결과는 Table 3과 같다. α-Glucosidase에 대한 천연색소 추출물의 저해 활성을 IC<sub>50</sub> 값으로 측정할 결과, 감 추출물이 22.83 µg/mL로 저해 효과가 가장 높았으며, 다음으로 오배자 추출물이 67.37 µg/mL, 정향 추출물이 248.69 µg/mL 순이었다.

α-Amylase에 대한 저해 활성은 감 추출물이 49.45%로 positive control로 사용한 acarbose(49.60%)와 유사한 수준으로 높은 저해 활성을 나타내었으며, 오배자와 정향 추출물은 각각 40.27% 및 31.91%로 acarbose보다는 낮은 수준이었다. 치자 및 황벽 추출물은 11% 이하로 활성이 낮았으며, 홍화황 추출물은 α-amylase에 대한 저해 활성이 없는 것으로 나타났다.

Oh 등(38)은 산초 열매 에탄올 및 메탄올 추출물의 α-glucosidase에 대한 억제능을 분석할 결과, IC<sub>50</sub> 값은 각각

**Table 3.**  $\alpha$ -Glucosidase,  $\alpha$ -amylase, and lipase inhibition activity of various color resource from natural plants

Sample name	$\alpha$ -Glucosidase IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)	$\alpha$ -Amylase (%)	Lipase (%)
Gardenia	>2,000	9.07±1.49 <sup>A</sup>	8.6±1.61 <sup>A</sup>
Annatto	>500	22.25±0.58 <sup>B</sup>	32.91±1.67 <sup>D</sup>
Persimmon	22.83±1.60	49.45±0.65 <sup>E</sup>	61.01±0.69 <sup>F</sup>
Amur cork	ND	10.97±1.65 <sup>A</sup>	22.12±1.34 <sup>C</sup>
Safflower	>2,000	ND	ND
Gallnut	67.37±2.21	40.27±0.94 <sup>D</sup>	46.69±1.19 <sup>E</sup>
Clove	248.69±9.38	31.91±0.41 <sup>C</sup>	19.18±0.66 <sup>B</sup>
Acarbose	-	49.60±0.31 <sup>E</sup>	-

$\alpha$ -Amylase and lipase inhibition activity treated sample with 1 mg/mL concentration.

IC<sub>50</sub> value in the concentration of sample required for 50% inhibition.

Each value represents mean±SD, n=5.

<sup>A-F</sup>Means with different letters in the same column are significantly different at  $P<0.05$ .

ND: not detected.

275.66  $\mu$ g/mL 및 264.44  $\mu$ g/mL인 것으로 보고하였고, Kim 등(39)은 11종의 양치식물 중 쟁고비, 석위 및 개고사리 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성 측정 결과, IC<sub>50</sub> 값이 12.93~19.47  $\mu$ g/mL의 범위로 항산화 활성이 높았던 시료에서  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성도 우수한 것으로 보고하였다.

Hwang과 Han(40)은 조릿대 용매분획별 추출물의  $\alpha$ -amylase 저해 활성을 측정한 결과, 에틸아세테이트층이 56.31%, 부탄올층이 43.66%로 acarbose보다 높은 저해 활성을 나타내었다고 보고하였고, Park 등(41)은 비타민 부위별 추출물을 10 mg/mL 농도로 제조하여  $\alpha$ -amylase에 대한 억제 효과를 측정한 결과, 잎의 물 추출물에서 54.7%로 줄기 및 뿌리 추출물에 비해 높은 활성을 나타내었는데, 이는 잎 추출물이 다른 부위보다 페놀 함량이 높았기 때문인 것으로 보고하였다. Lee 등(42)도 식물의 2차 대사산물인 안토시아닌, proantocyanidins 등과 같은 페놀성 물질은  $\alpha$ -amylase 저해 효과를 가진다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 페놀 함량 및 항산화 활성이 높았던 오배자와 정향 추출물보다는 감 추출물에서 높은 저해 활성을 나타내었는데, 감 추출물은 여타 추출물에 비해  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성이 높고,  $\alpha$ -amylase도 acarbose와 유사한 수준의 높

은 저해 활성을 보였다. 이는 페놀 화합물 외에 감에 함유되어 있는 다른 유용성분들의 상호 작용에 의한 것으로 추정되며, 감 추출물은 탄수화물의 소화속도 조절에 관여하여 단당류의 분해 및 흡수를 지연시킴으로써 혈당 조절에 영향을 줄 것으로 사료된다.

천연색소 추출물의 pancreatic lipase 저해 활성을 측정한 결과 감 추출물이 61.01%로 가장 높은 활성을 나타내었고, 다음으로 오배자 추출물이 46.69%, 아나토 추출물이 32.91% 순이었다. 치자와 정향 추출물은 20% 미만으로 활성이 낮았다.

Pancreatic lipase는 triacylglycerol을 2-monoacylglycerol과 두 분자의 fatty acid로 분해하는 효소로 흡수된 지방의 체내 흡수에 있어 매우 중요한 작용을 하는 것으로 보고되어 있다(43). Kim 등(44)은 지층이 에탄올 및 물 추출물을 5 mg/mL 농도로 조절하여 lipase 저해 활성을 측정한 결과 각각 37% 및 22%로 나타났으며, Bitou 등(45)은 54종의 해조류 중 27종의 해조류가 43~100%의 lipase 저해 활성을 가지는 것으로 확인하였는데, 이는 해조류에 포함되어 있는 tannin과 같은 폴리페놀 화합물에 의한 것으로 보고하였다. Daiber(46)는 폴리페놀 화합물 중 축합형 탄닌이 효소 저해 효과를 가지나 카테킨은 효과가 없어 효소 활성의 저해는 폴리페놀의 양과 종류에 따라 달라지는 것으로 보고하였다.

감의 주요 색소 물질인 탄닌은 gallic acid 및 그 유도체에 phenol류가 결합한 축합형으로(47) 감에는 300~600 mg% 정도의 탄닌이 함유되어 있는 것으로 보고되어 있는데(48), 본 연구에서도 감 추출물이 여타 시료에 비해 lipase 저해 활성이 높은 것으로 보아 감에 함유되어 있는 탄닌 물질이 효소 저해 작용에 큰 영향을 미쳤을 것으로 생각된다.

**3T3-L1 세포에 대한 천연색소 추출물의 세포 생존율**

3T3-L1 세포에 대한 천연색소류의 유효농도 설정을 위하여 각 시료 추출물을 1~100  $\mu$ g/mL 농도로 조절한 후 세포의 생존율을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 대조군과 비교하여 각 시료 추출물을 1  $\mu$ g/mL 농도로 처리 시 아나토 추출물을 제외하고는 88.95~98.17% 생존율을 보여 독성이 적은 것으로 나타났다. 아나토 추출물의 경우 5  $\mu$ g/mL

**Table 4.** Cell viability in 3T3-L1 immature adipocytes treated with various color resource from natural plants (%)

Sample name	Sample concentration ( $\mu$ g/mL)			
	1	5	10	100
Gardenia	92.05±4.79*	90.89±4.19*	89.70±4.00*	88.49±9.51
Annatto	82.90±4.23*	78.79±2.94*	75.64±2.26*	70.43±7.67*
Persimmon	91.94±6.39*	91.54±6.09*	88.44±5.56*	90.50±6.54*
Amur cork	95.08±7.33*	90.94±8.43*	90.24±7.19*	86.69±6.01*
Safflower	98.17±9.95	92.18±5.19*	91.50±6.34*	91.43±5.03*
Gallnut	88.95±3.12*	82.90±3.13*	76.13±6.32*	71.92±5.60*
Clove	89.86±2.77*	88.37±2.69*	86.45±2.82*	86.17±2.70*

Means with an asterisk in the same column are significantly different of compared with control (only cultured 3T3-L1 cells) and each natural color resource extracts treated (1~100  $\mu$ g/mL) cells at  $P<0.05$ .

**Table 5.** Lipid accumulation rate of 3T3-L1 mature adipocytes treated with various color resource from natural plants (%)

Sample name	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	5	10	20
Gardenia	102.14 $\pm$ 4.22	95.79 $\pm$ 5.29	95.27 $\pm$ 4.21
Annatto	112.15 $\pm$ 4.52	102.47 $\pm$ 4.52	85.70 $\pm$ 3.29*
Persimmon	104.52 $\pm$ 1.40	87.91 $\pm$ 4.00*	81.54 $\pm$ 3.03*
Amur cork	112.42 $\pm$ 4.25	103.26 $\pm$ 3.97	97.32 $\pm$ 4.08
Safflower	100.10 $\pm$ 5.71	89.18 $\pm$ 9.35	91.13 $\pm$ 4.65
Gallnut	101.62 $\pm$ 4.83	97.70 $\pm$ 5.46	92.63 $\pm$ 5.54
Clove	101.06 $\pm$ 4.77	92.91 $\pm$ 5.51	83.36 $\pm$ 2.72*

Control was only cultured 3T3-L1 cells, and it's lipid accumulation rate 100%.

Means with an asterisk in the same column are significantly different of compared with control and each natural color resource extracts treated cells at  $P < 0.05$ .

농도 이상의 범위에서는 80% 미만으로 세포의 생존율이 크게 감소하는 경향이었고, 오배자 추출물도 10  $\mu\text{g/mL}$  농도 이상의 범위에서는 80% 미만으로 세포의 생존율이 감소하였는데, 특히 100  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 아나토 및 오배자 추출물은 70.43% 및 71.92%로 시료 중 세포에 대한 독성이 다른 시료에 비해 상대적으로 높았다.

### 3T3-L1 세포에 대한 천연색소 추출물의 지방 축적을 및 triglyceride 함량

천연색소 추출물이 3T3-L1 세포가 전지방 세포에서 지방세포로의 분화과정에 작용하여 3T3-L1세포 내에 생성된 지방의 축적 정도를 Oil Red O 염색법으로 측정한 결과를 Table 5에 나타내었다. 각 추출물을 5  $\mu\text{g/mL}$  농도로 조절하여 처리 시 모든 시료에서 지방의 축적이 감소되는 효과를 보이지 않았으나, 각 추출물을 10  $\mu\text{g/mL}$  농도로 처리 시 감 추출물에서 87.91%로 대조군에 비해 지방 축적이 유의적으로 낮았다. 20  $\mu\text{g/mL}$  농도로 처리 시 지방 축적율은 감 추출물이 81.54%, 아나토 추출물이 85.70%, 정향 추출물이 83.36%로 대조군에 비해 유의적으로 지방 축적이 감소됨을 확인하였다.

3T3-L1 세포 내에 생성된 지방의 양을 정량적으로 평가하기 위해 염색된 지방을 추출하여 triglyceride 함량을 측정한 결과(Table 6), 지방 축적율과 유사한 경향으로 감 및 정향 추출물에서 triglyceride 함량이 유의적으로 감소되었는데, 특히 정향 추출물이 66.11%로 가장 낮았고 감 추출물은 88.88%로 나타났다. 그 외 추출물에서는 대조군과 비교하여 유의차가 없었다.

비만은 지방전구세포의 분화 및 adipogenesis 과정에서 세포 내 triglyceride 축적으로 발생하는데(49), adipogenesis 과정은 PPAR $\gamma$  및 C/EBP $\alpha$ 와 같은 adipogenic transcription factor들에 의해 조절되며, 지방세포 내에서 triglyceride의 축적을 억제하거나 전사인자들의 활성을 조절하는 것이 중요한 비만 억제 치료 방법으로 알려져 있다(50).

**Table 6.** Triglyceride content of 3T3-L1 mature adipocytes treated with various color resource from natural plants (%)

Sample name	Triglyceride contents
Gardenia	105.12 $\pm$ 3.43
Annatto	92.43 $\pm$ 4.87
Persimmon	88.88 $\pm$ 4.98*
Amur cork	116.18 $\pm$ 5.54
Safflower	121.77 $\pm$ 4.97
Gallnut	101.71 $\pm$ 7.47
Clove	66.11 $\pm$ 3.83*

Control was only cultured 3T3-L1 cells, and it's triglyceride contents 100%.

Sample treatment concentration was 20  $\mu\text{g/mL}$ .

Means with an asterisk in the same column are significantly different of compared with control and each natural color resource extracts treated cells at  $P < 0.05$ .

Ji 등(51)은 들미나리 추출물을 1~200  $\mu\text{g/mL}$ 로 처리하여 지방세포의 중성지방 함량을 측정된 결과 농도 의존적으로 그 함량이 감소되어 200  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 80% 이상의 중성지방 축적 억제 효과가 있음을 보고하였다. Lee 등(52)은 지방세포에 용아초 추출물을 50  $\mu\text{g/mL}$  및 100  $\mu\text{g/mL}$ 로 처리한 결과 각각 58% 및 80%의 지방세포 분화 억제 효과를 나타내었는데, 이러한 추출물들은 PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$  및 C/EBP $\beta$ 의 발현을 억제함으로써 lipid droplet의 생성과 triglyceride의 축적을 감소시키는 것으로 추정하였다.

본 실험 결과 감 추출물과 정향 추출물은 3T3-L1 지방세포에 대하여 독성이 없으며 지방세포 분화 시 관찰되는 지방의 축적율과 지방세포 내의 triglyceride 함량도 억제시키는 것으로 확인되어 비만을 예방하는 데 도움을 줄 것으로 사료되나, 이와 관련된 전사 인자 및 단백질 발현에 관련된 연구는 좀 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

## 요 약

정향, 감, 오배자, 황벽, 치자, 홍화황 및 아나토와 같은 천연 식물로부터 얻어진 색소 추출물의 항산화 및 항비만 활성을 비교·분석하였다. 총 페놀 함량은 오배자 추출물에서 2,441.45 mg/kg으로 가장 높았고, 다음으로 정향 추출물에서 1,346.48 mg/kg으로 높았다. DPPH와 ABTS 라디칼 소거 활성 및 환원력을 이용한 항산화 활성은 오배자 추출물에서 가장 높았다.  $\alpha$ -Glucosidase에 대한 저해 활성은 감 추출물에서 ( $\text{IC}_{50}$ =22.83  $\mu\text{g/mL}$ ) 가장 높았고, 다음으로 오배자 추출물에서 높았다.  $\alpha$ -Amylase 및 lipase에 대한 저해 활성 역시 감 추출물 처리 시 각각 49.45% 및 61.01%로 높은 활성을 보였다. 20  $\mu\text{g/mL}$  농도로 처리 시 3T3-L1 세포 내 지방 축적율은 감, 정향 및 아나토 추출물 처리군에서 각각 81.54%, 83.36% 및 85.70%로 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. 3T3-L1 세포 내 triglyceride 함량은 정향 추출물 처리군이 66.11%로 가장 낮았고 다음으로 감 추출물 처리군에서 88.88%로 유의적으로 낮았다. 천연식물료로부터 추

출한 색소 원료 중 오메자 추출물이 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 감 추출물은 소화효소 저해 활성과 3T3-L1 세포 내의 지방 축적 억제 효과를 가짐으로써 항비만 활성을 나타내는 것으로 판단된다.

### 감사의 글

본 논문은 산업통상자원부 지역특화기술융복합연구지원사업(과제번호: R0002039) 성과의 일부이며, 지원에 감사드립니다.

### REFERENCES

1. Boo HO, Shin JS, Hwang SJ, Bae CS, Park SH. 2012. Antimicrobial effects and antioxidative activities of the cosmetic composition having natural plant pigments. *Korean J Plant Res* 25: 80-88.
2. Song JC, Cho WD. 1997. Processed food and food colorants. *Food Technology* 10: 63-80.
3. Azuma K, Nakayama M, Koshika M, Ippoushi K, Yamaguchi Y, Kohata K, Ito H, Higashio H. 1999. Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J Agric Food Chem* 47: 3963-3966.
4. Huang MT, Ho CT, Lee CY. 1992. Phenolic compounds in food. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II*. Maple Press, New York, NY, USA. p 2-7.
5. Jang JR, Kim KK, Lim SY. 2009. Effects of solvent extracts from dried beet (*Beta vulgaris*) on antioxidant in cell systems and growth of human cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 832-838.
6. Bernadeth T, Zuliyati R, Munkhjagal BE, Park SH, Choi BD. 2013. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of ascidian tunic carotenoids as a source of color cosmetics. *Korean Soc Biotechnol Bioengineer J* 28: 36-41.
7. Song ES, Jeon YS, Cheigh HS. 2001. Antioxidative effect of chlorophylls and carotenoids in mustard leaf kimchi activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 421-425.
8. Lee MH, Han JS, Kozukue N. 2005. Changes of chlorophyll contents in spinach by growth periods and storage. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 339-345.
9. Lee HS, Chang JH, Kim IH, Nam SW. 1998. Dyeing of cotton with clove extract. *J Korean Soc Dyers Finishers* 10: 29-35.
10. Lee OH, Jung SH, Son JY. 2004. Antimicrobial activity of clove extract by extraction solvents. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 494-499.
11. Huh MW, Bae JS, An SY. 2008. Dyeability and functionality of silk fabrics treated with persimmon juice. *J Korean Soc Cloth Ind* 19: 1036-1044.
12. Jo YH, Park JW, Lee JM, Ahn GH, Park HR, Lee SC. 2010. Antioxidant and anticancer activities of methanol extracts prepared from different parts of Jangseong Daebong persimmon (*Diospyros kaki* cv. Hachiya). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 500-505.
13. Heo JC, Lee KY, Lee BG, Choi SY, Lee SH, Lee SH. 2010. Anti-allergic activities of ultra-fine powder from persimmon. *Korean J Food Perserv* 17: 145-150.
14. Cha BC, Lee SB, Rhim TJ, Lee KH. 2000. Constituents of antioxidative activity and free radical scavenging effect from *Galla Rhois* (*Rhus javanica* Linne). *Kor J Pharmacogn* 31: 185-189.
15. Song GY, Park BJ, Kim SH. 2002. Antithrombotic effect of *Galla Rhois*. *Kor J Pharmacogn* 33: 120-123.
16. Kurokawa M, Basnet P, Ohsugi M, Hozumi T, Kadota S, Namba T, Kawana T, Shiraki K. 1999. Anti-herpes simplex virus activity of moronic acid purified from *Rhus javanica* in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 289: 72-78.
17. Chen LG, Chang WL, Lee CJ, Lee LT, Shin CM, Wang CC. 2009. Melanogenesis inhibition by gallotannins from Chinese galls in B16 mouse melanoma cells. *Biol Pharm Bull* 32: 1447-1452.
18. Kim KH, Ahn SC, Lee MS, Kweon OS, Oh WK, Kim MS, Sohn CB, Ahn JS. 2003. Adipocyte differentiation inhibitor isolated from the barks of *Phellodendron amurense*. *Korean J Food Sci Technol* 35: 503-509.
19. Lee JG, Choi JY, Oh JS, Jung HW, Choi EH, Lee HS, Kim JA, Chang TS, Son JK, Lee SH. 2007. Isolation of melanin biosynthesis inhibitory compounds from the Phellodendri Cortex. *Kor J Pharmacogn* 38: 387-393.
20. Lee SE, Seong NS, Bang JK, Park CG, Sung JS, Song J. 2003. Antioxidative activities of Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 127-134.
21. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *JAOCS* 58: 966-968.
22. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
23. Re R, Pellegrini N, 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.
24. Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability (FRAP) of plasma as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.
25. Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. 1997. Isolation and identification of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from tochi-cha. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 177-178.
26. Lim CS, Li CY, Kim YM, Lee WY, Rhee HI. 2005. The inhibitory effect of *Cornus walteri* extract against  $\alpha$ -amylase. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 103-108.
27. Saisubramanian N, Krithika L, Dileena KP, Sivasubramanian S, Puvanakrishnan R. 2004. Lipase assay in soils by copper soap colorimetry. *Anal Biochem* 330: 70-73.
28. Bae JS, Lee HS, Lee HY, Yoo BH, Kim TW, Kim YH, Kim TH. 2012. Evaluation of acetylcholinesterase inhibitory and antioxidative activities of *Rhus javanica*. *Korean J Food Preserv* 19: 751-756.
29. Do JR, Kim KJ, Park SY, Lee OH, Kim BS, Kang SN. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of ethanol extracts of medicinal plants. *J Food Sci Nutr* 10: 81-87.
30. Dong S, Jung SH, Moon JS, Rhee SK, Son JY. 2004. Antioxidant activities of clove by extraction solvent. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 609-613.
31. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr* 81: 215-217.
32. 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.
33. Han SH, Woo NRY, Lee SD, Kang MH. 2006. Antioxidative and antibacterial activities of endemic plants extracts in Korea. *Korean J Medicinal Crop Sci* 14: 49-55.
34. Lee SE, Sung NS, Park CG, Seong JS. 2002. Screening for antioxidative activity of oriental medicinal plant materials. *Korean J Crop Sci* 10: 171-176.

35. Kim J, Kim SA, Yun WK, Kim EJ, Woo MK, Lee MS. 2004. Antioxidative effect of ethanol extract for 5 kinds of spice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1426-1431.
36. Labuza TP. 1971. Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Crit Rev Food Technol* 2: 335-405.
37. Lee HR, Jung BR, Park JY, Hwang IW, Kim SK, Choi JU, Lee SH, Chung SK. 2008. Antioxidant activity and total phenolic contents of grape juice products in the Korean market. *Korean J Food Preserv* 15: 445-449.
38. Oh SM, Han W, Wang MH. 2010. Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity from different extracts of *Zanthoxylum schinifolium* fruits. *Kor J Pharmacogn* 41: 130-135.
39. Kim NR, Chi LW, Lee CH. 2013. Alpha-glucosidase inhibition activity of methanol extracts obtained from nine pteridophyte species native to Korea. *Korean J Plant Res* 26: 411-416.
40. Hwang JY, Han JS. 2007. Inhibitory effects of *Sasa borealis* leaves extracts on carbohydrate digestive enzymes and postprandial hyperglycemia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 989-994.
41. Park YH, Lim SH, Ham HJ, Jeong HN, Lee KJ, Kim KH, Kim SM. 2010. Comparison of biological activities of extracts from different parts of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 976-979.
42. Lee WY, Ahn JK, Park YK, Park SY, Kim YM, Lee HI. 2004. Inhibitory effects of proanthocyanidin extracted from *Distylium racemosum* on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activities. *Kor J Pharmacogn* 35: 271-175.
43. Bitou N, Nimomiya M, Tsujita T, Okuda H. 1999. Screening of lipase inhibitors from marine algae. *Lipids* 34: 441-445.
44. Kim DH, Kim BWE, Kim MJ, Sun WC, Jung SA, Kim HJ, Jung DH, Kim TW, Cho YJ, Ahn DH. 2012. Effects of heat, pH, and gamma irradiation treatments on lipase inhibitory activity of *Sargassum thunbergii* ethanol extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 566-570.
45. Bitou N, Ninomiya M, Tsujita T, Okuda H. 1999. Screening of lipase inhibitors from marine algae. *Lipids* 34: 441-445.
46. Daiber KH. 1975. Enzyme inhibition by polyphenols of sorghum grain and malt. *J Sci Food Agric* 26: 1399-1411.
47. Jung JS, Park JS, Kim TK. 2008. Coloration of cotton fabrics with tannins of persimmon extracts by heating process. *J Korean Soc Dyers Finishers* 20: 25-30.
48. No HK, Lee MH. 1998. Removal of astringency in persimmons by chitosan. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 648-652.
49. Peter GK. 2000. Obesity as a medical problem. *Nature* 404: 635-643.
50. Wellman NS. 2002. Causes and consequences of adult obesity: health, social and economic impacts in the United States. *Asia Pac J Clin Nutr* 11: 705-709.
51. Ji HH, Jeong HY, Jin SJ, Kwon HJ, Kim BW. 2012. Inhibition of adipocyte differentiation by methanol extracts of *Oenanthe javanica* seed in 3T3-L1 preadipocytes. *J Life Sci* 22: 1688-1696.
52. Lee JA, Ahn EK, Hong SS, Oh JS. 2012. Anti-obesity effect of ethyl acetate extracts from *Agrimonia pilosa* Ledeb. in 3T3-L1 preadipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 161-167.