

정향으로부터 추출한 항응고활성 획분의 기능적 특성

이종임 · 이현순* · 전우진 · 유광원 · 신동훈[†] · 홍범식 · 조홍연 · 양한철

고려대학교 생명공학원

*고려대학교 생명공학연구소

Physiological Characteristics of Anticoagulant Fractions from *Eugenia caryophyllata*

Jong-Im Lee, Hyun-Sun Lee*, Woo-Jin Jun, Kwang-Won Yu, Dong-Hoon Shin[†],
Bum-Shik Hong, Hong-Yun Cho and Han-Chul Yang

Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

*Institute of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

Abstract

The alkali extraction of anticoagulant from a clove revealed 3- to 6-fold more effective than hot-water extraction. The highest anticoagulant activity was found with 0.1 N NaOH at 70°C. The anticoagulant fractions from a clove, EC-2B and EC-2C were separated by alkali extraction, ethanol precipitation, cetavlon treatment, and ultrafiltration. The anticoagulant activities of these two fractions were, respectively, 6.57 and 8.63 times higher than those extracted with hot-water. As of the sensory evaluation, boiled pork added with EC-2B fraction revealed similar sensory acceptability to raw clove material, while EC-2C fraction had low sensory acceptability due to a mild chemical odor. Antibacterial characteristics against pathogenic microorganism of both fractions were confirmed in the control strain. The inhibitory effect of growth by EC-2B was noticed above 0.016% in *S. aureus*. Also, EC-2C showed the inhibitory effect at 0.004% in both *E. coli* and *S. aureus* control strains.

Key words: *Eugenia caryophyllata*, anticoagulant, sensory evaluation, antibacterial

서 론

최근 조사된 사망원인 통계 결과에 의하면 남녀 전체로 뇌혈관계질환, 심장질환, 운수사고 순으로 높았다. 특히 10~40대 사이는 운수사고가 사망원인으로 높은 반면 50대 이후로는 뇌혈관계 질환이 급증하고 있다(1). 혈전은 혈류부전, 혈관상해, 혈관 내피세포 및 지질 침착 등의 원인에 의해 생성되어 혈액순환을 방해하고 조직으로의 영양공급 및 산소공급을 차단하여 뇌출혈, 뇌혈전, 심근경색, 동맥경화 등의 중대한 성인병을 일으키므로(2,3) 혈전에 대한 항응고성 물질에 관한 연구가 진행 중에 있다(4,5).

기능성 식품(functionally functional foods)은 식품 중의 각종 생체조절 기능을 갖는 성분의 특성을 최대한 살린 것으로 질병을 예방하거나 생체 리듬을 조절한다는 기능에서는 의약품과 유사하지만 일상적으로 섭취가 가능한 식품으로 의약품에서 오는 심리적 부담감 없이 섭취할 수 있는 장점이 있다(6,7).

본 연구자들은 국내에서 상용되는 80여종의 향신료

(香辛料) 식물을 대상으로 항응고 활성을 검색하여 정향(*Eugenia caryophyllata*, clove)이 높은 항응고 활성을 가지고 있음을 알 수 있었다(8). 정향은 정향나무의 피지 않은 꽃봉오리를 말린 것으로 유럽에서는 기원전부터, 중국에서는 한나라 때부터 사용되었다. 국내에서는 육류에 많이 첨가되고 있으며 식품 이외 담배제조에 향원료로 쓰이며 기타 혼증향료, 방충제, 곰팡이 방제 등의 목적으로 쓰이고 있다(9). 정향은 항산화 효과가 있음이 보고되었으나(10) 현재까지 항응고 효과가 있음이 보고되어진 바는 없다.

따라서 본 연구자들은 정향으로부터 추출한 항응고 활성 획분을 이용하여 소스를 제조하였고 관능검사 및 항균활성검사를 통하여 정향으로부터 추출한 항응고활성 획분의 기능적 특성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 정향은 향원 스파이스사(Seoul, Korea)

[†]To whom all correspondence should be addressed

를 통해 플렌드산을 구입하여 사용하였으며 항응고 활성 측정용 시약인 Dade[®] Actin[®] Activated Cephaloplastin Reagent는 Dade사(New York, USA) 제품을 사용하였다. 관능검사용 시료인 편육용 돼지고기와 불고기용 쇠고기는 서울시 사당동 축협에서 국내산을 당일 구입하여 사용하였다.

정향 추출물의 제조

정향 1,600 g을 1.0 N NaOH로 70°C에서 추출한 추출물(EC-0)을 3배(w/v)의 에탄올 침전을 실시하여 고분자 획분인 crude extract(EC-1)와 저분자 획분인 EC-E로 분획하였다. 조획분 EC-1을 이온강도에 따라 분획하기 위하여 양이온 계면 활성제인 cetavlon(cetyltrimethyl ammonium bromide)을 처리하여 3개의 획분으로 분리하였

다(11). Cetavlon 처리 결과 얻은 주 항응고 활성 획분, EC-2는 Prep/Scale-TFF Cartridges(Millipore, Bedford, USA) 및 10 KDa와 100 KDa regenerated cellulose cartridge(Millipore, Bedford, USA)를 이용하여 한외여과(12)를 실시하여 분자량별로 분자량 10 kDa이하인 획분 EC-2A와 10~100 KDa인 EC-2B 및 100 kDa 이상인 EC-2C 획분으로 분획한 후 동결건조하여 시료로 사용하였다(Fig. 1).

항응고 활성 측정

각 분획물의 항응고 활성은 10인 이상의 성인으로부터 채혈한 혈장(platelet poor plasma)과 blood coagulation analyzer(Clot 1A, Hospitex Diagnostics, Italy)를 이용하여 activated partial thromboplastin time(APTT)을 3회

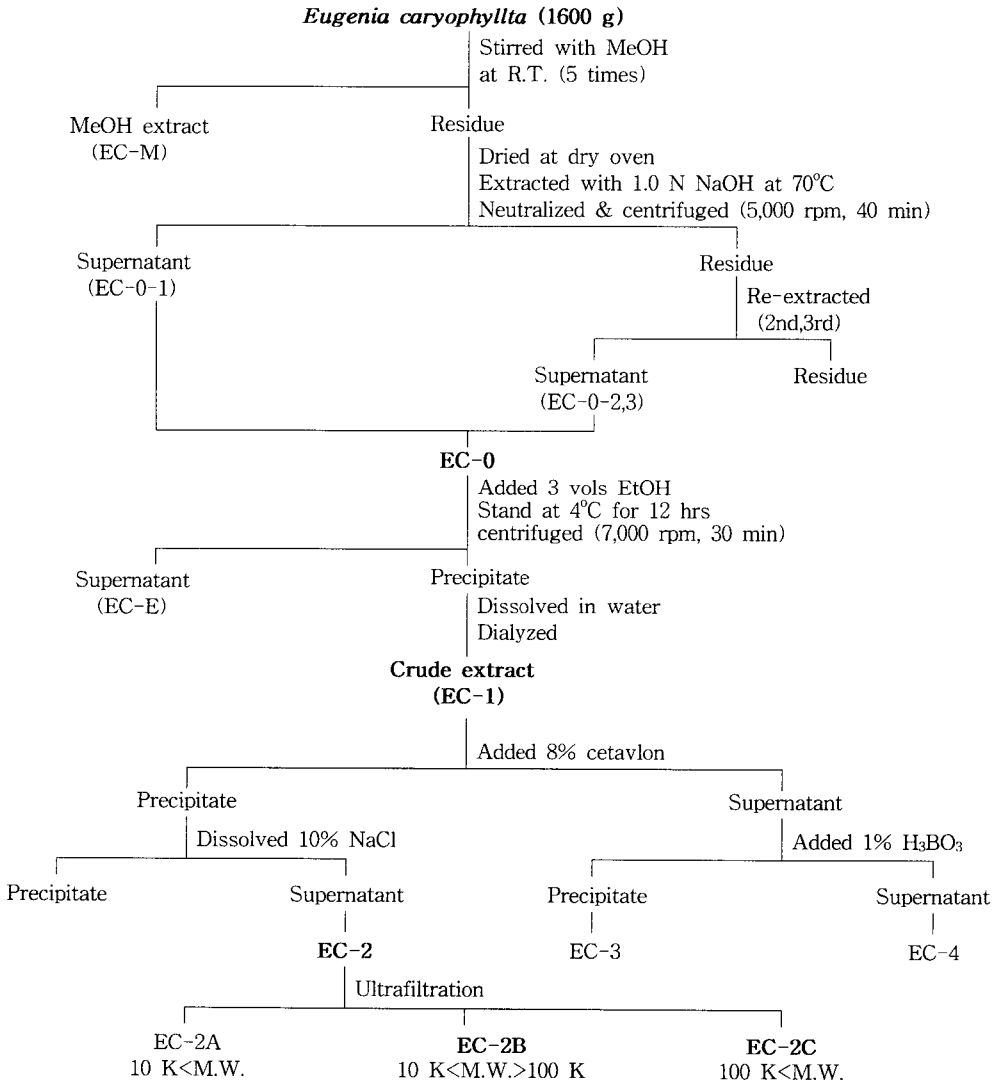


Fig. 1. Isolation procedure of anticoagulant fractions from *Eugenia caryophyllata*.

반복 실시하여 평균 응고시간을 측정하였다(13).

시료의 제조

편육의 제조

정향의 첨가량은 식품 조리시 첨가되는 수준인 0.2%로 정하였으며 정향 추출물의 첨가량은 추출 수율을 감안하여 0.04%로 첨가하였다. 조리량은 25명의 검사원들이 2회 검사할 수 있는 양으로 각 군마다 1,000 g으로 정하였다.

편육용 돼지고기는 핏물을 제거한 후 수돗물 2 L을 냄비에 넣고 끓기 시작하면 돼지고기 등심과 각각의 시료를 넣어 가스불에서 처음에는 센불에서 끓이다가 중불에서 50분간 조리하여 4종의 시료(정향 무첨가군(control), 정향 첨가군(raw material), 정향추출물 첨가군(EC-2B, EC-2C))를 제조하였다.

소스의 제조

정향 및 정향 추출물의 첨가량 및 조리량은 편육과 동일하게 실시하였다. 소스의 제조는 물 1,000 mL에 대파 50 g, 마늘 50 g, 생강 15 g, 양파 50 g, 통후추 8 g만을 첨가한 군을 대조군으로 하고, 이 대조군에 각각 정향 2 g, 정향 추출물 EC-2B 및 EC-2C를 0.4 g 첨가하여 처음에는 센불에서 시작하여 끓으면 중불에서 40분 정도 끓여 체에 걸러서 각각의 향신료를 제조하였다. 각각의 향신료 1컵에 동량의 간장을 혼합하여 제조한 양념간장 60 g에 다진파(2 Ts), 마늘(2 Ts), 설탕(1 Ts) 및 참기름(1 Ts)을 넣어 제조한 소스에 소고기 400 g을 혼합하여 10분간 실온에서 방치한 후 타지 않도록 가열하여 4종의 시료를 제조하였다.

관능검사

관능검사에 참여한 25명의 검사원은 수도요리학원 수강생 중 20대 후반의 여성집단을 선정하여 실시하였다. 소비자 패널은 검사 1시간 전 검사 방법에 대하여 설명한 후 제시된 검사물을 9점 기호도 척도법(최고 9점, 최저 1점)에 따라 좋아하는 정도를 표시하도록 지시하였으며 line scaling method를 이용해 순간적으로 느끼는 맛을 망각하기 전에 바로 질문지에 표현할 수 있도록 하였다. 시료의 번호에서 선입관을 없애기 위해 세자리 숫자의 난수표 번호 방식을 이용하였다(14). 편육은 4×5 cm, 두께 0.3 cm로 절편 후 3쪽을 제시하였으며, 불고기는 20 g씩 흰색 접시에 담아 동시에 제공하였다. 검사항목은 향, 조직감, 전체적인 풍미, 전반적인 기호도로 하였다. 검사방법은 1회에 4종의 시료(대조군, 정향원물, 정향추출물 EC-2B, 정향추출물 EC-2C)를 전부 평가하였으며, 시료 사이 사이에는 무색, 무미, 무취의 물을 제공하여 입을 헹구도록 하였다. 시료용 불고기의 짠맛을 고려하여 관능검사 사이 사이에 짠맛을 가질 수 있도록 가장자리를 잘라낸

부드러운 조각을 제공하였으며 시료는 2회 평가할 수 있도록 허용하였다. 조리의 기호에 대한 통계적인 유의성 검정은 SAS package의 분산분석법을 실시한 후, Duncan's multiple range test에 의해 검사물의 평균 점수를 비교하였다(15).

병원성 미생물에 대한 항균성 검사

편육과 불고기의 정향 추출물 첨가시 저장기간의 연장 효과를 확인하기 위하여 37°C에서 15일간 시료를 보관하면서 각각의 대장균수를 측정하여 colony-forming unit (CFU)/mL로 표시하였다(16).

Disc 확산법

Plate count agar 배지에 시험균주를 도말하고 멸균된 paper disc에 정향추출물을 1~0.001% 시료로 조제한 후 50 µL 접종하여 24시간 배양하였다. 시험균주를 영양배지(nutrient broth)에 접종하고 37°C에서 1~2일간 생육시킨 후 다시, 영양배지에 옮겨 18시간 배양하여 균주를 활성화시켜 사용하였으며 영양한천배지(nutrient agar)를 멸균하여 미리 조제한다. 시험시료를 6 mm disc에 0.5 mL씩 떨어뜨린 후 액이 충분히 흡수되도록 한 다음 조제된 영양한천배지에 활성화된 시험균주를 도말봉으로 도말하였다. 시험균주가 도말되어 준비된 배지에 시험시료를 떨어뜨린 disc를 올려 놓고 잘 누른 후 평판을 뒤집어서 37°C에서 1일간 배양한 다음 배양된 평판에서 disc 주위의 저해환의 생성 및 크기를 확인하였다(17).

액상 MIC 시험법(시험관 희석법)

시험균주로 그람양성균으로는 대장균(*E. coli* KCCM 11234), 녹농균(*P. aeruginosa* KCCM 11802), 살모넬라균(*S. typhimurium* KCCM 11806)를 사용하였으며 그람양성균으로는 황색포도구균(*S. aureus* KCCM 11812)을 사용하였다. 상기 시험균주는 미리 멸균 처리된 영양배지(nutrient broth)에 접종하고 37°C에서 1~2일간 생육시킨 다음 다시, 영양배지에 옮겨 18시간 배양하여 균주를 활성화시켜 사용하였다.

실험방법은 멸균된 영양배지에 처리농도의 10배로 만들어진 시험시료를 무균적으로 여과하여 주입하였으며 처리농도별로 준비된 영양배지에 활성화된 시험균주액을 0.1 mL씩 접종하고 37°C에서 1일간 배양한다. 배양된 시험관 중에서 생육이 일어나지 않은 시험관의 최소농도를 MIC로 하였다(17).

결과 및 고찰

정향의 알칼리 추출조건의 최적화

Lee 등의 연구(8)에 의하면 정향추출물의 항응고 활성은 NaOH>HCl>D.W. 순으로 높았으므로 정향으로부터

항응고 활성물질의 최적 추출조건을 검토하기 위하여 추출용매는 증류수, 0.1 N NaOH, 1.0 N NaOH, 2.5 N NaOH를 사용하여 25°C, 70°C, 100°C, 121°C의 추출온도에서 각각의 추출물을 제조한 후 항응고 활성을 측정하였다(Fig. 2). 그 결과 1.0 N NaOH, 70°C의 추출물의 활성이 500 µg/mL의 농도에서 290초로 가장 높았으며 1.0 N NaOH, 100°C 추출물이 274초로 높은 활성을 나타내었다. 추출용매와 추출온도에 따른 활성은 1.0 N NaOH > 2.5 N NaOH > 0.1 N NaOH > 증류수의 순서로, 70°C > 100°C > 25°C > 121°C 순서로 높았다. 이는 순수한 물보다는 알맞은 알칼리 용액에 의한 추출이 약 3~6배 높은 추출효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이는 항응고 활성 물질이 구조적으로 함황성 다당류(12,18)인 점을 고려하면 순수한 물보다는 산이

나 알칼리 용액에서의 높은 추출효과를 기대할 수 있으며, 기존에 보고된 해조류 기원 항응고성 물질이 산성 추출물(5,19)과는 다르지만, 육상 식물인 구름버섯의 항응고 활성을 연구한 Lee 등(20)의 보고와는 일치함을 알 수 있었다.

정향으로부터 항응고성 활성획분의 분획

정향 1,600 g을 Fig. 1의 방법에 따라 1.0 N NaOH, 70°C에서 추출하여 EC-0을 얻었다. EC-0은 에탄올 분획, cetavlon 처리 및 한외여과를 이용하여 10만 이하의 분자량으로 추정되는 EC-2B 획분과 10만 이상으로 추정되는 EC-2C 획분 얻었다(Table 1). EC-2B와 EC-2C 획분은 기존의 열수추출보다 각각 6.57배 및 8.63배 높은 항응고 활성 획분으로 이는 heparin과 비교시 5.0 unit/mg 과 EC-2C는 8.8 unit/mg에 해당되는 활성이다. 이 두 획분의 독성검사 결과(결과 생략) 두 획분 모두 경구투여시는 독성이 없었으며 EC-2B 획분은 1,000 mg/kg(mouse, intravenours)에서도 독성이 없는 반면 EC-2C 획분의 LD₅₀(mouse, intravenous)은 322 mg/kg으로 heparin(750 mg/kg)이나 chitosan(775 mg/kg)보다 높은 독성을 가지고 있었다(21).

따라서 기능성 식품은 기능성과 안전성이 모두 고려되어야 하므로 EC-2B와 EC-2C 획분 모두를 시료로 선정하였다.

정향추출물의 관능검사

정향이 식품에서 육류요리의 누린내 제거용으로 가장 많이 이용되고 있으며 육류의 섭취가 혈전의 생성과 전혀 무관하지 않는 점을 감안하여 정향 추출물을 편육제조와 불고기 양념장 소스를 제조시 첨가하여 관능검사를 실시

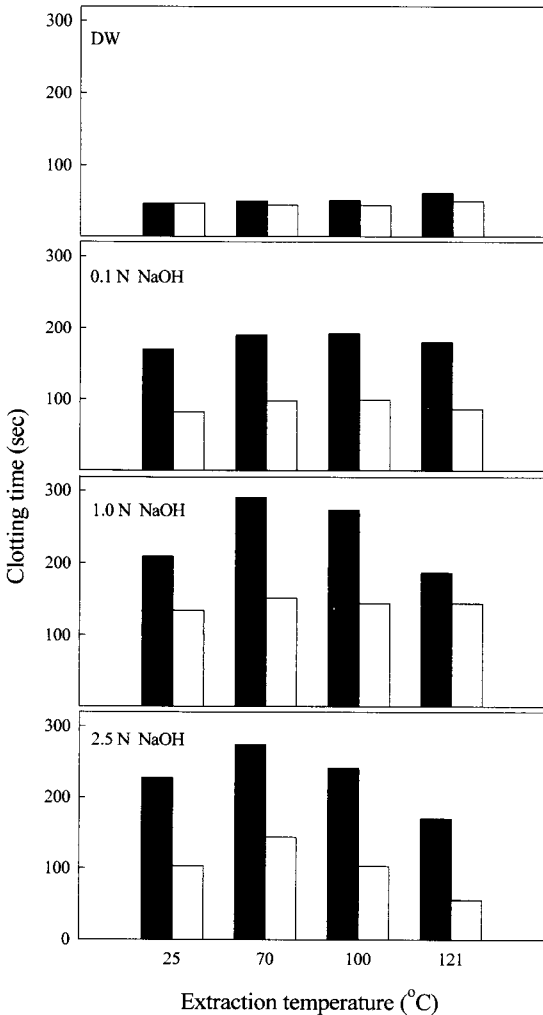


Fig. 2. Anticoagulant activities of extracts from *Eugenia caryophyllata* in the different extraction conditions. Anticoagulant activity of each sample was determined by activated partial thromboplastin time (APTT). The control time of APTT was 30 sec. ■ : 500 µg/mL, □ : 250 µg/mL.

Table 1. Yields and anticoagulant activities of fractions extracted from *Eugenia caryophyllata*

Fraction	Yield (g)	Anticoagulant activity ¹⁾
EC-M	240.0	25.6 ± 1.3 ^{2h}
EC-0	268.0	113.0 ± 5.7 ^c
EC-1	208.8	228.9 ± 8.7 ^c
EC-E	45.8	49.6 ± 1.5 ^f
EC-2	53.5	332.8 ± 14.9 ^b
EC-3	25.1	142.8 ± 6.6 ^d
EC-4	21.9	53.7 ± 1.4 ^f
EC-2A	8.4	35.1 ± 0.8 ^g
EC-2B	19.9	292.0 ± 12.9 ^b
EC-2C	21.9	383.2 ± 15.8 ^{a3)}

¹⁾ Anticoagulant activity of each sample (250 µg/mL) was determined by activated partial thromboplastin time (APTT) and its control time was 30 sec.
²⁾ All values are mean ± SD (n=3).
³⁾ Means followed by different letters in the same assay are significantly different (p<0.01).

하였다.

편육에 대한 관능검사를 실시한 결과는 Table 2-1과 같았다. 모든 검사항에서 정향, EC-2B, EC-2C 그리고 대조군 순으로 높았으며 향기 부분에서 대조군은 육류의 누린내가 EC-2C 첨가군에서는 약한 화학취가 감지된다고 응답하였다. 따라서 EC-2B 및 EC-2C 획분 모두 첨가시 누린내 제거의 관능적 기능을 효과로 기대할 수 있었으며 특히 EC-2B 획분은 항응고 활성과 정향과 거의 유사한 관능적 기능을 모두 가지고 있으나 EC-2C 획분은 항응고 활성을 가지나 추출조작 중 생김 화학적 이취로 인해 기호도가 저하됨을 알 수 있었다.

불고기에 대한 관능검사를 실시한 결과는 Table 2-2와 같았다. 정향을 첨가한 군에서 기호도가 가장 높았으며 편육의 기호도와 달리, 불고기에서는 대조군의 기호도가 높았는데 이는 처리한 고기의 종류와 소스 제조시 첨가되는 부재료에 의해 정향 원료의 기능인 향미 증진효과가 감소된 것으로 추정된다.

보존성 향상 효과

정향은 향미증진 이외에도 훈증향료, 방충제, 곰팡이 방제 등의 목적으로 쓰이고 있다(9). 따라서 관능검사시 제조된 4종의 시료를 37°C에서 15일간 보관하면서 대장균의 증식을 관찰하였다. 수육의 보존성 향상 효과를 측정 한 결과(Fig. 3(A)) 모든군에서 저장기간이 증가할 수록 균수는 증가하였으나 정향이 첨가된 군에서는 대조군 보다 낮은 대장균수가 관찰되는 것으로 보아 대장균의 증식을 정향 추출물 첨가시에도 기대할 수 있음을 알 수 있었다.

불고기의 보존성은 수육과 대장균수는 대조군에 비교

해 정향 첨가지 균수가 감소함을 알 수 있었으며 정향 추출물 EC-2B와 EC-2C 또한 미생물의 수가 감소함을 알 수 있었다. 그러나 대조군의 낮은 증식율로 보아 정향의 보존성 효과 이외에도 소스제조시 첨가되는 간장이나 마늘에 의해 그 효과가 상승된 것으로 추정된다(Fig. 3(B)).

병원성 미생물 항균효과

정향 추출물의 미생물에 대한 증식억제 효과가 있음을 Fig. 3에 의해 알 수 있었으나 소스 제조시 첨가되는 파, 마늘, 생강, 양파 등의 동반시료에 의한 상승효과도 있었으므로 EC-2B와 EC-2C 획분을 육류에서 쉽게 발견되는 병원성 미생물을 대상으로 항균효과를 확인하기 위하여 disc 확산법과 액상 MIC 시험법을 실시하였다.

Disc 확산법을 이용한 시험결과(Table 3) 정향 추출물인 EC-2B와 EC-2C 모두 1% 이상에서 저해환의 생성을 확인할 수 있었다. 액상 MIC 시험은 정향 추출물 EC-2C

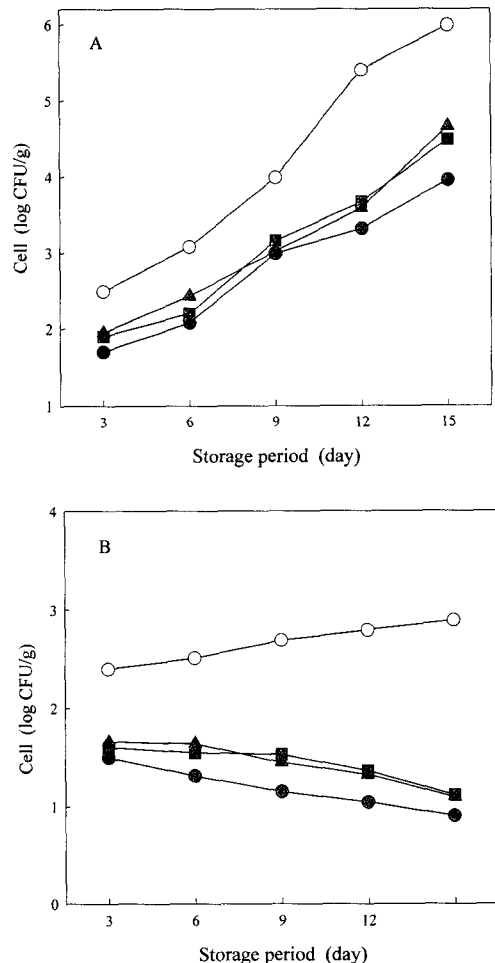


Fig. 3. Preservative effects of *Eugenia caryophyllata* extracts for boiled pork (A) and bulgogi sauce (B) ○: Control, ●: Raw material, ■: EC-2B, ▲: EC-2C

Table 2-1. Scores of sensory properties of boiled pork¹⁾

Sample	Control	Raw material	EC-2B	EC-2C
Color	4.1 ^c	5.5 ^{a2)}	5.0 ^b	5.1 ^b
Flavor	3.4 ^b	4.9 ^a	5.0 ^a	4.0 ^b
Texture	4.3 ^c	5.6 ^a	5.0 ^b	5.2 ^{ab}
Taste	3.6 ^c	5.0 ^a	5.0 ^a	4.6 ^b
Overall acceptability	3.5 ^c	5.2 ^a	5.0 ^a	4.5 ^b

Table 2-2. Scores of sensory properties of bulgogi sauce¹⁾

Sample	Control	Raw material	EC-2B	EC-2C
Flavor	5.4 ^b	6.0 ^{a2)}	5.8 ^{ab}	5.5 ^b
Texture	5.0 ^b	6.4 ^a	5.2 ^b	5.5 ^b
Taste	5.4 ^c	6.1 ^a	5.7 ^b	5.3 ^c
Overall acceptability	5.6 ^b	6.1 ^a	5.8 ^{ab}	5.5 ^b

¹⁾Each value represented the mean of 25 observations of 1 (dislike extremely) to 9 (like extremely).

²⁾Means followed by different letters within a column indicate are significantly different (p<0.05).

Table 3. Anti-microbial activity of extracts from *Eugenia caryophyllata* by Disc diffusion method (Unit: mm)

	Conc.	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
EC-2B	0.001%	nd ¹⁾	nd	nd	nd	nd
	0.01%	nd	nd	nd	nd	nd
	0.1%	nd	nd	nd	nd	nd
	1%	8	10	8	8	8
EC-2C	0.001%	nd	nd	nd	nd	nd
	0.01%	nd	nd	nd	nd	nd
	0.1%	nd	nd	nd	nd	nd
	1%	9	9	8	8	10

¹⁾nd: not detected.

Table 4. Anti-microbial effect of clove extract under MIC test (ΔOD: 660 nm)

	Conc.	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>
EC-2B	0.004%	0.600	0.702	1.112	0.412
	0.016%	0.543	0.542	0.923	0.142
	0.06%	0.421	0.422	0.910	0.054
	0.25%	0.300	0.305	0.760	0.020
	1%	0.010	0.195	0.015	0.050
EC-2C	0.004%	0.280	0.658	1.008	0.047
	0.016%	0.131	0.558	0.890	0.053
	0.06%	0.075	0.483	0.771	0.035
	0.25%	0.076	0.375	0.755	0.030
Control		0.577	0.749	1.095	0.497

의 경우 용해성 문제로 인하여 0.25%가 최고 농도로 실험을 실시하였다. EC-2B의 경우 대장균과 녹농균은 0.25%, 살모넬라균은 1%, 황색포도구균은 0.016% 이상에서 미생물이 배양동안 생육을 1/2이하로 저해되는 것을 확인할 수 있었으며, EC-2C는 대장균과 황색포도상구균에서는 0.004%에서도 생육 저해효과가 나타났고, 살모넬라와 녹농균은 0.25%이상에서 생육 저해효과를 확인할 수 있었다.

따라서 정향 추출물 EC-2B와 EC-2C는 높은 항응고 활성을 가지고 있어 혈전생성을 억제함과 동시에 정향의 독특하고 고유한 향으로 육류 등의 좋지 못한 냄새를 제거하여 풍미증진 및 항균성이 있어 이를 이용한 소스나 수육 첨가물 제조시 기능성 식품의 소재의 충분한 활용가치가 있음을 알 수 있었다.

요 약

정향으로부터 알칼리 추출시 열수 추출보다 3~6배의 높은 항응고 활성을 기대할 수 있었으며 최적 추출조건은 1.0 N NaOH, 70°C임을 알 수 있었다. 정향을 alkali 추출, 에탄올침전, cetavlon 처리 및 한외여과를 이용하여 항응고 활성 획분 EC-2B와 EC-2C를 얻었다. 이 두 획분은 열수 추출보다 각각 6.57배 및 8.63배 높은 항응고 활성 획분으로 이는 heparin과 비교시 5.0 unit/mg과 EC-2C는 8.8 unit/mg에 해당되는 활성이다. 이 두 획분을 이용하여 수육을 제조하여 관능검사를 실시한 결과 EC-2B 획

분은 정향원물과 유사한 기호도를 가지고 있었으나 EC-2C 획분은 약간의 화학취로 기호도가 낮았다. 보존성 향상효과 또한 정향원물과 정향추출물(EC-2B 및 EC-2C)에서 관찰되었으며 병원성 미생물에 대한 항균 효과 측정 결과 두 획분 모두 항균성을 확인할 수 있었다. EC-2B의 경우 황색포도구균은 0.016% 이상부터 EC-2C는 대장균과 황색포도상구균에서는 0.004%에서도 생육 저해효과가 나타났다. EC-2C 획분이 항응고 활성과 항균활성이 우수하나 안전성과 기호도에서 EC-2B가 우수하였다. 따라서 정향으로부터 추출한 두 항응고 획분 중 EC-2B 획분이 기능성 식품의 소재로 적합함을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 1998년 농림부 농림기술개발과제에 의해 수행된 결과의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. National Statistical Office of Republic of Korea : Korea statistical yearbook (1999)
2. Hirsh, J. and Fuster, V. : Guide to anticoagulant therapy part 1: Heparin. *Circulation*, **83**, 1449-1468 (1994)
3. Hirsh, J., Raschke, R., Wakentim, T., Dalen, J.E., Deykin, D. and Poller, L. : Heparin. Mechanism of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy, and safety. *Chest*, **108**, 258-275 (1995)
4. Scully, M.F., Ellis, V. and Kakkar, V.V. : The anticoag-

- ulant properties of mast cell product, chondroitin sulphate E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **41**, 489-499 (1986)
5. Collic, S., Fisher, A.M., Tapon-Breaudiere, J., Boisson, C., Durant, P. and Jozefonvicz, J. : Anticoagulant properties of a fucoidan fraction. *Thromb. Res.*, **64**, 143-154 (1991)
 6. Yamada, H. : Natural products of commercial potential as medicines. *Plant Biotechnology*, **2**, 203-210 (1991)
 7. 川辛男 : 月刊フードケミカル. 3月號, p.40 (1994)
 8. Lee, J.I., Lee, H.S., Jun, W.J., Yu, K.W., Shin, D.H., Hong, B.S., Cho, H.Y. and Yang, H.C. : Screening of anticoagulant activities in extracts from edible herbs. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 335-341 (2000)
 9. Bremness, L. : The complete book of herbs. Dorling Kindersley, London (1988)
 10. Yamaguchi, N., Kanoo, M. and Kimiko, I. : Antioxidative activities of horseradish and mustard powder. *Nippon Shokuhin Koggo Gakkaishi*, **31**, 114-118 (1984)
 11. Lloyd, K.O. : Isolation characterization and partial structure of peptide galactomannans from the yeast of *Cladosporium werneckii*. *Biochem.*, **9**, 3666-3670 (1970)
 12. Kaefter, B., Bénard, C., Lahaye, M., Blottière, H.M. and Cherbut, C. : Biological properties of ulvan, a new source of green seaweed sulfated polysaccharide, on cultured normal and cancerous colonic epithelial cells. *Planta Med.*, **65**, 527-531 (1999)
 13. Fox, I., Dawson, A., Loynds, R., Eisner, J., Findlen, K., Levin, E., Hanson, D., Mant, T., Wagner, J. and Maragaonre, J. : Anticoagulant activity of HirulogTM, a direct thrombin inhibitor, in Humans. *Thrombosis and Haemostasis*, **69**, 157-165(1993)
 14. Kim, B.S. and Kim, S.K. : Prediction of shelf-life of instant noodle by hexanol content. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **25**, 311-335 (1994)
 15. Statistical Analysis System : *User's Guide: Statistics*. Verson 6.03 edition, SAS Institute INC., Cary, NC, USA (1988)
 16. Kim, Y.S., Park, K.S., Kyung, K.H., Shim, S.T. and Kim, H.K. : Antibacterial activity of garlic extract against *Escherichia coli*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 730-735 (1996)
 17. Piddock, L. : Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacterio.*, **68**, 307-310 (1990)
 18. Scully, M.F., Ellis, V. and Kakkar, V.V. : The anticoagulant properties of mast cell product, chondroitin sulphate E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **41**, 489-491 (1986)
 19. Nishino, T., Kiyohara, H., Yamada, H. and Nagumo, T. : An anticoagulant fucoidan from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Phytochemistry*, **30**, 535-539 (1991)
 20. Lee, H.S., Kweon, M.H., Lim, W.J., Sung, H.J. and Yang, H.C. : An anticoagulant polysaccharide isolated from the alkali extracts of *Coriolus versicolor*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 369-375 (1997)
 21. Horton, D. and Renst, K.J. : Preparation from chitin of (1→4)-2-amino-2-deoxy-β-D-glucopyranuronan and its 2-sulfoamino analog having blood-anticoagulant propertied. *Carbohydrate Res.*, **29**, 173-179(1973)

(2000년 4월 4일 접수)