

다시마 분말을 첨가한 전통고추장 에탄올 추출물의 생리활성 효과

최승필 · 오상화 · 이득식* · 함승시

강원대학교 바이오산업공학부, *동해대학교 관광외식산업학과

Effects of the Biological Activities of Ethanol Extract from Korean Traditional *Kochujang* Added with Sea Tangle (*Laminaria longissima*)

Cheng-Bi Cui, Sang-Wha Oh, Deuk-Sik Lee* and Seung-Shi Ham

School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

*Department of Tourism and Foodservice Industry, Dong Hae University, Dong Hae 240-150, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate antimutagenic and anticancer effects of Korean traditional *Kochujang* added with sea tangle (*Laminaria longissima*). Most of the mineral content in *Kochujang* added with sea tangle was increased when compared to traditional *Kochujang*. In the Ames test, the inhibition rate of ethanol extract (200 µg/plate) of *Kochujang* added with 5% sea tangle in the *S. typhimurium* TA100 strain showed 87.2% against the mutagenesis induced by MNNG. And also, the inhibition rate of ethanol extract (200 µg/plate) of *Kochujang* added with 5% sea tangle in the *S. typhimurium* TA98 and TA100 strains was 62.9% and 71.6%, respectively, against the mutagenesis induced by 4NQO. The suppression under the same condition against B(α)P and Trp-P-1 in the TA98 and TA100 strains showed 70.2% and 80.8%, and 62.9% and 73.1%, respectively. In the anticancer effects, the treatment of 1.0 mg/mL *Kochujang* added with 5% sea tangle showed strong cytotoxicity of 78.6% and 79.4% against KATOIII and HepG2, respectively.

Key words : sea tangle, *kochujang*, cytotoxicity, micronucleus

서 론

고추장은 된장류와는 달리 콩과 쌀을 적당한 비율로 섞어 만든 메주와 함께 쌀 등 전분질 원료, 엿기름 그리고 고춧가루를 섞어 발효시킨 제품으로 세계에서 그 유래를 찾아볼 수 없는 우리의 식탁에 없어서는 안될 고유하고 독특한 향신 발효 조미료의 일종이다. 고추장은 고추에서 오는 매운맛과 함께 전분질이 분해되어 생성된 당류에 의한 단맛, 그리고 콩 단백질 분해물로 인한 구수한 맛이 잘 조화된 특징을 가지고 있다. 전통식 고추장에 대한 연구로는 조 등(1)의 제조법과 신 등(2, 3)의 맛과 품질 특성 그리고 숙성에 영향을 미치는 효소의 변화에 관한 보고(4, 5) 등이 있다. 최근에는 고추장의 제조방법 개선과 품질개선 등이 이루어지면서 여러면에서의 연구가 이루어지고 있으며, 부재료를 이용한 맛의 차별화, 기호성 및 기능성 향상 등이 한 예라고

할 수 있다(7-11). 본 연구에서는 부재료중 하나인 다시마를 이용한 기능성 고추장을 개발하여 생리활성 효과에 대한 실험을 하였다. 실험에 사용된 기능성 소재인 다시마 (*Laminaria longissima*)는 갈조류에 속하는 다시마과의 한 속으로서 한국, 일본 및 중국 등의 극동 아시아 지역에 서식하며, 독특한 맛과 향으로 기호성이 양호하다(12). 또한 육상 식물에 비하여 비타민 및 미네랄, 특히 마그네슘, 칼슘, 요오드, 철 등의 함량이 높고, 해조류를 구성하고 있는 다당류의 독특한 구조적인 특성으로 생리활성이 강한 물질로 알려지고 있어 최근 건강식품으로 많이 이용되고 있다(13, 14). 갈조류 중에는 중성다당인 laminaran과 황산기를 함유한 산성다당이 다량 함유되어 있는데 그 대표적인 함황 산성다당이 fucoidan과 alginate이며(15), 특히 fucoidan은 heparin과 같은 혈액응고 활성 이외에 항암 및 항 AIDS 등의 활성이 있다는 보고가 있다(16).

이와 같이 기존 고추장의 기능성을 높여주고 고추장의 영양과 다시마의 독특한 영양성분들이 혼합된 다시마 분말을 첨가한 고추장은 국민들의 건강 증진에 기여할 수 있다고 여겨지며, 이에 대한 효과를 확인하기 위해 본 연구에서는 농도를 달리한 다시마 분말을 첨가한 고추장을 제조하여 그

Corresponding author : Seung-Shi Ham, School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
E-mail : hamss@cc.kangwon.ac.kr

생리활성에 미치는 영향을 연구하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 다시마 분말은 강원도 고성군 2000년산을 사용하였으며 콩, 소금, 고춧가루 등은 시판되는 것으로 하였고 쌀코오지는 상주 곡자회사로부터 구입하였다.

고추장의 제조 및 추출

고추장의 원료 배합비율은 콩, 쌀코오지, 소금, 고춧가루를 10:20:3:3의 비율로 하였고, 다시마 분말을 5%, 10% 및 15%를 첨가하여 3개월간 숙성시켜 고추장을 만들어 시료로 하여 실험에 사용하였다. 제조된 고추장에 10배의 70% 에탄올을 첨가하고 80℃에서 8시간씩 3회 추출하였으며, 감압여과 장치에서 80℃의 뜨거운 상태로 여과시켜 회전감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결건조기를 이용하여 건조시켜 실험에 사용하였다.

일반분석

일반성분은 A.O.A.C.법(17)과 식품공전(18)의 방법에 따라 3회 분석하여 평균값으로 하였다. 즉 수분은 105℃ 상압건조법, 조회분은 건식회화법, 조지방은 에테르추출법, 조단백질은 Kjeldahl법으로 분석하였다. 염분은 AgNO₃ 적정법으로 분석하였으며 탄수화물은 100에서 수분, 조회분, 조단백질, 조지방, 염분을 뺀 값으로 하였다. 무기물은 식품공전에 의해 분석하였다.

돌연변이원성 실험

다시마 분말을 농도별로 첨가한 고추장의 돌연변이원성 실험은 *S. typhimurium*의 변이주인 TA98과 TA100을 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation법(19)으로 실시하였다. 즉, 건열멸균시킨 glass cap tube에 각각의 시료를 50 μg/plate씩 가하고 여기에 전배양 시킨 배양균액 100 μl를 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700 μl가 되도록 하였다. 이것을 37℃에서 20분간 진탕배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar(45℃)를 2 mL씩 가하여 잘 혼합한 후 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판고정화시켜 37℃에서 48시간 배양하여 생긴 복귀돌연변이(his⁺ revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

항돌연변이원성 실험

Ames test를 개량한 preincubation법에 따라 항돌연변이원성 실험을 하였고, 실험에 사용한 변이원물질은 4NQO, MNNG, B(a)P 및 Trp-P-1을 이용하였다. 건열멸균시킨 glass cap tube에 시료의 추출물을 각각 50 μl씩 첨가하고 이어서 변이원물질을 각각 50 μl씩 첨가하였다. 간접 변이원인 경우 10% S-9 mix를 250 μl씩 첨가하였다. 여기에 전배양시킨 균액을 100 μl씩 주입한 후에 0.2 M sodium phosphate buffer를 가하여 최종부피가 700 μl가 되도록 하였다. 이것을 37℃에서 20분간 진탕배양한 다음 상기의 돌연변이성 실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 복귀돌연변이 수를 측정하여 항돌연변이성 유무를 판정하였다. 다시마 분말을 첨가한 고추장의 추출물과 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며, 항돌연변이활성은 변이원물질의 활성에 대한 시료의 억제율(inhibition, %)로 나타내었다. 그림에서 나타낸 억제율은 3회 반복실험을 실시하여 평균치를 나타낸 것이다.

$$\text{Inhibition (\%)} = [(M-S_1) / (M-S_0)] \times 100$$

M : 돌연변이 물질만 존재한 경우의 복귀 돌연변이 수

S₀ : 자연 복귀 돌연변이 수

S₁ : 시료를 첨가하였을 때의 복귀 돌연변이 수

세포독성 실험

SRB [sulforhodamine B] assay는 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법(20)으로 10%의 fetal bovine serum과 각각의 세포들인 인간 폐암세포(A549), 인간 간암세포(HepG2), 인간 정상세포(293)를 함유한 RPMI 1640 배지를 5×10⁴ cell/mL 농도로 100 μl씩 각 well에 첨가하여 하루동안 배양(37℃, 5% CO₂)시킨 후 PBS(Phosphate Buffer Saline)에 녹인 추출물들을 각각 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL씩 첨가하여 다시 48시간 배양시켰다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 차가운 10% TCA (Xrichloacetic acid)(4℃) 용액을 50 μl씩 첨가하여 세포들을 well 바닥에 고정시켰다. 한시간동안 4℃에서 배양시킨 후, TCA와 배지들을 제거하기 위하여 증류수로 다섯번 씻어내었다. Plate를 건조시키고 여기에 1% acetic acid에 녹인 0.4% SRB를 첨가해서 30분 동안 염색시킨 후 결합하지 않은 SRB염색액을 제거하기 위해 1% acetic acid 용액으로 세번 세척하였다. 건조기에서 건조된 plate는 10 mM Tris buffer 100 μl로 염색제를 충분히 녹인 후 540 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다.

MTT (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay는 세포의 생육 및 분화를 측정하는 방법(21)으로서 이 실험은 살아있는 세포의 미토콘드리아 내의 dehydrogenase가 황색 수용성 물질인 MTT에 의해 dark blue formazan을 생성해내는 점을 기초로 한다. 인간 위암세포(KATOIII)와 10% fetal bovine serum을 함유한 RPMI 1640 배

지를 5×10^4 cell/mL 농도로 각각의 well에 100 μ l씩 첨가하여 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후 각각의 시료를 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 mg/mL의 농도로 100 μ l씩 첨가하여 48 시간동안 다시 배양하였다. 여기에 MTT(5 μ g/ μ l)용액을 20 μ l씩 첨가하여 4시간 동안 배양시켜 formazan을 형성시킨 후 조심스럽게 aspirator로 상등액을 제거시켰다. 그리고 DMSO (dimethyl sulfoxide) 150 μ l를 첨가하여 formazan을 녹인 후 540 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

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

A : 시료의 흡광도

B : 대조구 흡광도

결과 및 고찰

고추장의 일반분석

다시마, 메주, 고춧가루 그리고 고추장의 일반성분 분석결과는 Table 1 및 Table 2에 표시하였다. 다시마 분말을 첨가한 전통고추장의 주원료가 되는 메주, 다시마, 고춧가루 그리고 다시마 첨가 고추장의 일반성분을 분석한 결과, 식품성분표(22)와 비교해 볼 때, 약간의 차이가 나는 것은 수확시기, 재배조건, 기후, 품종, 제조방법 등 여러 조건에 기인한 것으로 사료된다. 5%, 10%, 15% 다시마 분말 첨가 고추장에서 조지방의 함량은 각각 3.4%, 2.8%, 2.0%이었고 다시마 분말 무첨가 고추장에서는 3.6%로 다시마 분말 첨가군은 다시마 분말 무첨가 고추장에 비해 조지방의 함량이 0.2%이상 낮았으며, 조단백질, 탄수화물의 함량은 각각 다시마 첨가 고추장이 다시마 무첨가 고추장에 비해 각각 0.8%, 4.1% 이상 낮았다. 수분, 조회분, 염분은 다시마 첨가 고추장이 다시마 무첨가 고추장보다 함량이 높은 것으로 나타났다. 또한 무기물 중 Fe, P, Ca, Mg, K의 함량은 다시마 첨가 고추장이 무첨가 고추장에 비해 높게 나타났으며, 특히 Ca과 K의 함량은 다시마 무첨가 고추장이 각각 57.0 mg%, 644.8 mg%를 나타내었다. 이에 비해 5% 다시마 첨가 고추장에서는 각각 76.4 mg%, 758.3 mg%로 나타내어 다시마 무첨가 고추장에 비해 Ca과 K의 함량은 각각 19.4 mg%와 113.5 mg%이상 증가되었다. Mn, Cu, Zn의 함량은 다시마 첨가 고추장이 다시마 무첨가 고추장에 비해 각각 0.2 mg%, 0.05 mg%, 0.1 mg%이상의 함량이 낮은 것으로 나타났다. 이는 다시마 분말이 첨가됨에 따라 메주, 고춧가루의 함량이 감소되는 것에 의해 기인된 것으로 추정된다.

Table 1. General composition contents of sea tangle, meju, red pepper powder and kochujang (unit : %)

Ingredient	Sea tangle	Meju	Red pepper powder	Addition of sea tangle Kochujang			
				0	5	10	15
Moisture	10.4	9.2	10.6	38.6	42.4	47.1	50.8
Crude protein	7.3	42.0	13.9	6.7	5.9	5.4	5.4
Crude fat	1.2	14.5	12.9	3.6	3.4	2.8	2.0
Crude ash	30.8	5.8	5.2	7.9	8.3	8.9	9.2
NaCl	18.7	0.1	0.4	6.0	6.9	7.1	7.4
Carbohydrate	32.6	28.4	57.0	37.2	33.1	28.7	25.2

Table 2. Mineral contents of sea tangle, meju, red pepper powder and kochujang (unit : %)

Mineral	Sea tangle	Red pepper powder	Meju	Addition of sea tangle Kochujang			
				0	5	10	15
Fe	11.5	5.5	13.0	2.5	2.8	3.5	3.6
Mn	0.5	4.0	4.2	1.1	0.8	0.9	0.9
Cu	0.1	0.7	1.0	0.14	0.09	0.06	0.03
Zn	1.2	2.2	5.1	0.9	0.8	0.7	0.7
P	168.2	325.9	811.6	142.4	160.8	169.3	188.1
Ca	939.2	60.0	197.6	57.0	76.4	118.9	188.3
Mg	764.8	131.2	296.2	56.0	58.4	68.9	69.8
K	8159.3	2837.4	1890.5	644.8	758.3	922.9	1286.5

Ames test를 이용한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성

S. typhimurium TA98과 TA100을 이용한 Ames test를 행한 결과 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 18 ± 5 , 그리고 TA100은 177 ± 6 이었다. 다시마 분말을 첨가한 고추장의 에탄올 추출물을 50, 100, 150, 200 μ g/plate의 여러 농도를 첨가하여 시험한 결과, 집락수가 음성대조군에 비하여 농도 변화에 따른 집락수의 큰 변화를 나타내지 않으므로 다시마 분말을 첨가한 고추장의 에탄올 추출물은 돌연변이원성을 나타내지 않은 것으로 판단되었다(데이터 생략). 다시마 분말을 첨가한 고추장의 에탄올 추출물로 항돌연변이 실험을 한 결과, 직접 변이원으로 사용된 MNNG(0.4 μ g/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 200 μ g/plate에서 5% 다시마 분말을 첨가한 고추장이 87.2%의 높은 억제활성을 나타내었다. 이에 비해 무첨가, 10%, 15%의 첨가군에서는 각각 64.7%, 67.3%, 59.7%로 5% 첨가군에 비해 약간 낮은 억제효과를 나타내었다(Fig. 1). Fig. 2는 직접 변이원인 4NQO(0.15 μ g/plate)에 대한 *S. typhimurium* TA98과 TA100의 균주 실험결과로써 두 경우 모두 5%의 다시마 분말을 첨가한 고추장에서 다른 첨가군에 비해 높은 억제효과를 보였다. TA98의 경우에는 시료농도 200 μ g/plate에서 62.9%를 나타내는데 비해, 무첨가, 10%, 15%첨가 고추장의 경우 각각 48.6%, 54.3%, 51.4%로 다소 낮은 억제효과를 나타내었다. TA100 균주의 경우는 5% 다시마 분말을 첨가한 고추장의 경우 같은 시료농도에서 71.6%의 억제효과를 나타내었으며, 무첨가, 10%, 15% 다시마 첨가 고추장에서는 각각 56.8%, 70.3% 및 58.1%를 나타내었다.

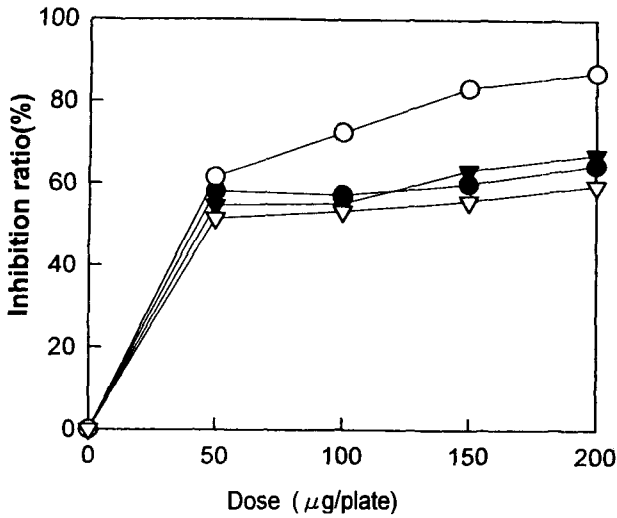


Fig. 1. Antimutagenic effects of *Kochujang* ethanol extracts against MNNG (0.4 µg /plate) in *S. typhimurium* TA100.

● : Control (no addition) ○ : 5% addition of sea tangle
 ▼ : 10% addition of sea tangle ▽ : 15% addition of sea tangle

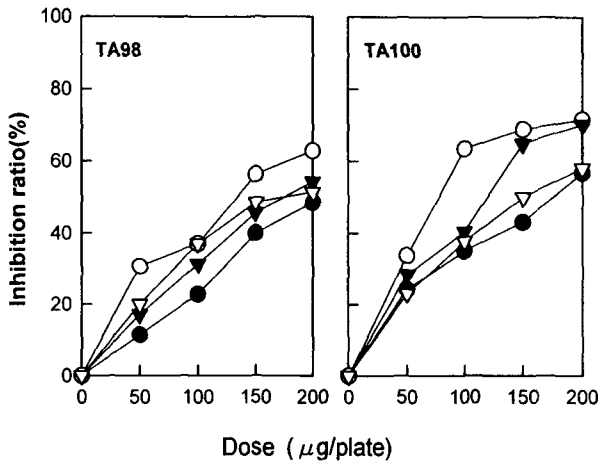


Fig. 2. Antimutagenic effects of *Kochujang* ethanol extracts against 4NQO (0.15 µg /plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100.

● : Control (no addition) ○ : 5% addition of sea tangle
 ▼ : 10% addition of sea tangle ▽ : 15% addition of sea tangle

한편, microsomal enzyme의 대사활성에 의해서만 돌연변이 원성을 나타내는 간접변이원으로서 B(a)P(10 µg/plate)를 사용한 Fig. 3에서는 *S. typhimurium* TA98, TA100 두 균주 모두에서 시료농도 증가에 따라 억제효과 또한 증가하는 경향을 보였다. TA98균주에서는 5% 다시마 분말 첨가군이 시료농도 200 µg/plate에서 다른 첨가군보다 높은 70.2%의 억제효과를 나타내었다. TA100의 경우에도 5% 다시마 분말 첨가 고추장이 같은 농도에서 80.8%로 다른 첨가군보다 높은 억제효과를 보였다. 또한 Trp-P-1(0.15 µg/plate)에서는 TA98 균주의 경우 200 µg/plate 농도에서 5% 다시마 분말

첨가군에서 62.9%로 무첨가, 10%, 15% 첨가군의 50.1%, 53.9%, 51.4%보다 높은 억제율을 보여주었고, TA100 균주에 대해서도 다시마 분말 5% 첨가한 고추장의 에탄올 추출물이 200 µg/plate 농도에서 73.1%의 효과를 보였으며, 같은 농도에서 무첨가, 10%, 15% 다시마 분말 첨가군에서 각각 54.7%, 69.4%와 65.3%로 5%의 첨가군보다 다소 낮은 억제율을 나타내었다(Fig. 4). 이와 같이 다시마 분말 5% 첨가 고추장의 에탄올 추출물은 시료 농도 증가에 따라 TA98과 TA100 균주 모두에서 각 변이원에 대한 돌연변이 억제효과도 증가하였다.

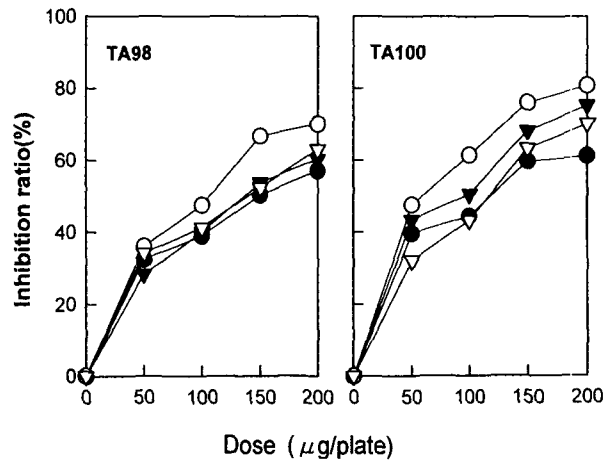


Fig. 3. Antimutagenic effects of *Kochujang* ethanol extracts against B(a)P (10 µg /plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100.

● : Control (no addition) ○ : 5% addition of sea tangle
 ▼ : 10% addition of sea tangle ▽ : 15% addition of sea tangle

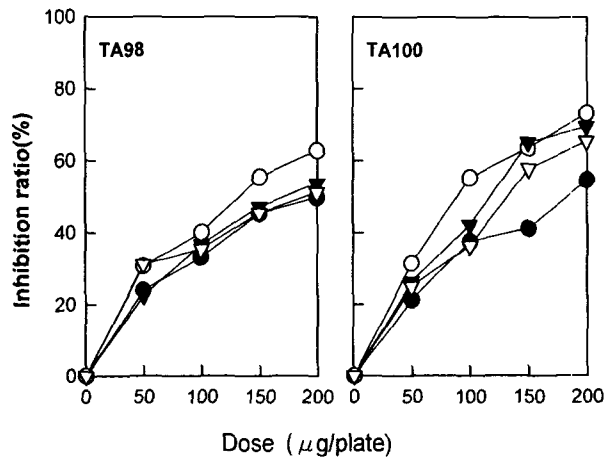


Fig. 4. Antimutagenic effects of *Kochujang* ethanol extracts against Trp-P-1 (0.5 µg /plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100.

● : Control (no addition) ○ : 5% addition of sea tangle
 ▼ : 10% addition of sea tangle ▽ : 15% addition of sea tangle

전통장류에 대한 생리활성 효과에 관한 연구에서 Chung등(23)은 전통장류의 항돌연변이성 및 항암성에 대해 그 효과가 있음을 보고하였으며, Yoon 등(24)은 발효식품인 된장, 고추장, 간장 및 청국장 등의 메탄올 추출물이 높은 항돌연변이원성과 돌연변이원의 종류에 따라 서로 다른 항돌연변이원성을 나타낸다는 보고를 하였다. 본 연구에서의 항돌연변이성 효과는 다시마의 함황 산성다당인 fucoidan과 alginate(15)의 성분 등이 고추장의 생리활성 성분과 공동으로 작용한 것으로 생각된다. 또한 다시마를 첨가하였을 때 다시마 유래의 식이섬유나 alginate 그리고 fucoidan 등의 생리활성 기능을 갖고 있는 성분들과 대두의 생리활성 성분인 isoflavone, 고춧가루 매운맛의 성분인 capsaicin 등이 미생물의 작용하에서 고추장의 발효과정에서 상호작용 및 생성된 미지의 신규 화합물이 상승효과를 촉진시켜 준 것으로 사료된다.

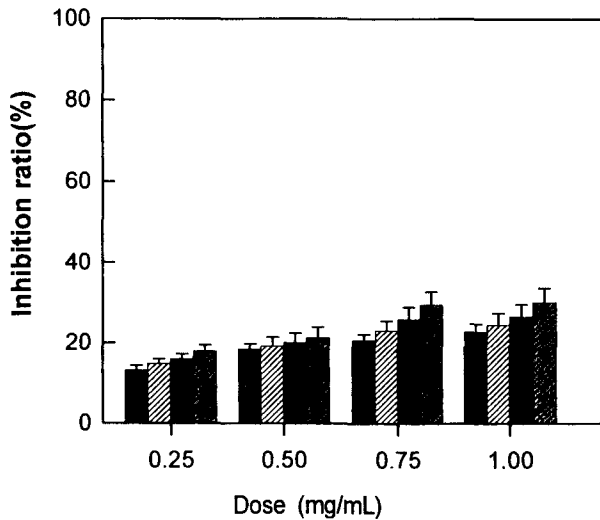


Fig. 5. Growth inhibitory effects of Kochujang ethanol extracts on transformed primary human embryonal kidney(293).

■ : Control (no addition) ▨ : 5% addition of sea tangle
 ■ : 10% addition of sea tangle ▩ : 15% addition of sea tangle

고추장 추출물의 인간 암세포 성장억제효과

본 실험에서는 각종 암세포에 대한 세포독성을 규명하기 위해 대조로 정상세포인 293과 암세포로 A549, HePG2, KATOIII를 이용하여 다시마 분말을 첨가한 고추장의 에탄올 추출물에 대하여 SRB assay 및 MTT assay를 행하였다. 우선 인간의 정상 세포인 293에 대한 독성효과를 살펴보았는데 최고 농도 1.0 mg/mL에서 모두 30%이하의 낮은 억제효과를 나타내어 정상세포에 대해 비교적 낮은 독성효과를 나타내었다(Fig. 5). Fig. 6은 다시마 분말을 첨가한 고추장의 에탄올 추출물이 인간 폐암세포 A549에 대한 저해효과를 나타내었다. 그 결과 0.5~1.0 mg/mL의 농도에서 다시마 분말을 첨가한 고추장이 20~30%범위에서 모두 낮은 억제효과를 나타내었다. 인간 간암세포 HepG2에 대한 저해효과에

서는 0.5 mg/mL의 시료농도에서는 다시마 분말 무첨가, 5%, 10%, 15%첨가 고추장이 각각 46.4%, 55.9%, 45.2%, 53.7%이었고, 0.75 mg/mL에서는 54.1%, 67.5%, 57.7%, 60.6% 그리고 1.0 mg/mL의 시료농도에서는 각각 66.8%, 79.4%, 67.8%, 69.9%로 5%의 다시마 분말을 첨가한 고추장이 다른 첨가군보다 다소 높은 억제효과를 나타내었다(Fig. 7). Fig. 8은 인간의 위암세포인 KATOIII 세포에 대한 다시마 분말을 첨가한 고추장 에탄올 추출물의 암세포 성장 억제효과를 나타낸 것으로서 0.25, 0.5, 0.75 그리고 1.0 mg/mL의 시료농도에서 다시마 분말을 5% 첨가한 고추장이 각각 39.7%, 53.8%, 60.7%, 78.6%로 다시마 무첨가, 10%, 15% 다시마 첨가 고추장에 비해 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었다.

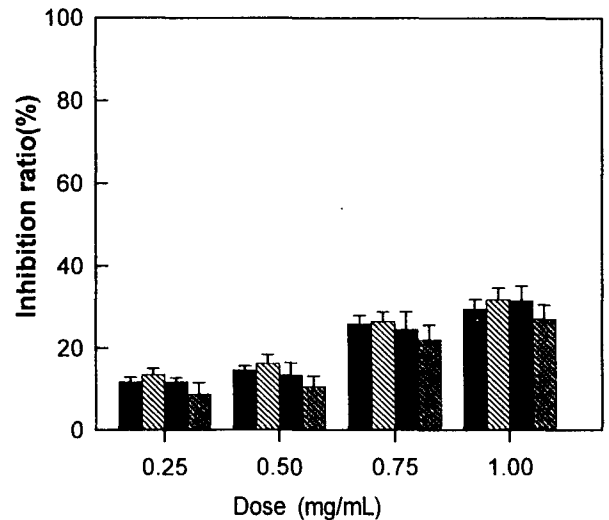


Fig. 6. Growth inhibitory effects of Kochujang ethanol extracts on human lung cancer cell (A549).

■ : Control (no addition) ▨ : 5% addition of sea tangle
 ■ : 10% addition of sea tangle ▩ : 15% addition of sea tangle

Tiisala 등(25)은 콩에 함유되어 있는 isoflavone 성분이 in vitro에서 지방암과 난소암을 감소시키는 것으로 추정되고 있다고 보고하였으며, 전통적으로 콩을 많이 먹는 일본 여성의 소변에는 핀란드 여성보다도 30배나 많은 isoflavone이 들어 있다는 사실(26)은 암 발생과의 연관성을 시사하는 것으로 현재도 큰 관심속에서 연구가 진행되고 있다. 본 실험에서 다시마 분말을 5% 첨가한 고추장이 항돌연변이원성과 암세포 성장억제 효과가 가장 높았으며, 10%, 15% 첨가시에는 무첨가군보다 낮게 나타난 경우도 있었다. 이것은 콩 발효에 의한 isoflavone과 다시마의 fucoidan 등 생리활성 성분의 시너지 효과에 의한 것으로 추정된다. 이상의 실험결과로부터 다시마 분말 5% 첨가가 생리활성이 가장 높게 나타났으며 상품화의 가능성을 시사하였다. 따라서 항돌연변이 및 세포독성 효과가 높게 나타난 5% 다시마 분말 첨가 고추장의 에탄올 추출물에 대해서는 유용 생리활성 물질만을 순수 분리하여 실험을 더욱

더 진행할 필요가 있는 것으로 사료된다.

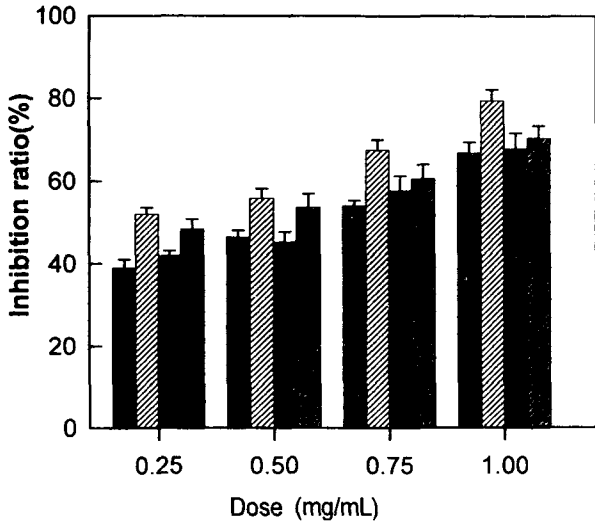


Fig. 7. Growth inhibitory effects of *Kochujang* ethanol extracts on human hepatocellular carcinoma (Hep G2).

■ : Control (no addition) ▨ : 5% addition of sea tangle
 ■ : 10% addition of sea tangle ▩ : 15% addition of sea tangle

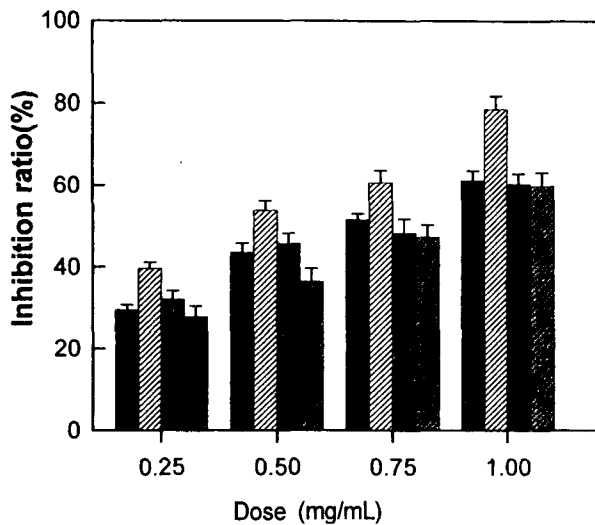


Fig. 8. Growth inhibitory effects of *Kochujang* ethanol extracts on human gastric cancer cell (KATOIII).

■ : Control (no addition) ▨ : 5% addition of sea tangle
 ■ : 10% addition of sea tangle ▩ : 15% addition of sea tangle

요약

자연발효에 의해 다시마를 첨가하여 제조한 전통고추장에 대한 일반성분을 분석한 결과, 기존 고추장에 비해 대부분의 무기물 함량이 증가하였다. MNNG에 대한 항돌연변이 효과(200 μ g/plate)에서 *S. typhimurium* TA100 균주에 대해

다시마 분말을 5% 첨가한 고추장이 다른 첨가 농도보다 높은 87.2%의 억제효과를 나타내었다. 4NQO에서는 5%의 다시마 분말 첨가 고추장이 *S. typhimurium* TA98 균주와 TA100 균주에 대해서 시료농도 200 μ g/plate에서 각각 62.9%와 71.6%로 다른 첨가농도보다 높은 억제효과를 나타내었다. B(α)P의 경우는 TA98, TA100 두균주에 대하여 다시마 분말 5% 첨가한 고추장이 각각 70.2%와 80.8%이었고, Trp-P-1에서는 각각 62.9%와 73.1%로 다른 첨가 농도보다 높은 억제효과를 나타내었다. 각종 암세포 성장 억제효과를 검토한 결과 추출물의 농도 1.0 mg/mL에서 KATOIII의 경우 78.6%, 그리고 HepG2의 경우 79.4%로 모두 5% 다시마 분말을 첨가한 고추장이 다른 농도에 비해 높은 억제효과를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 강원도 고성군 농업기술센터의 지원으로 수행한 결과의 일부이며 연구지원에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Cho. H.O., Kim, J.G., Lee, H.J., Kang, J.H. and Lee, T.S. (1981) Brewing method and composition of traditional kochuzang (red pepper paste) in junrabookdo area. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.*, 24, 21-28
2. Shin. D.H., Kim, D.H., Choi, U., Lim, D.K. and Lim, M.S. (1996) Studies in taste components of traditional kochujang. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 28, 152-156
3. Shin, D.H., Kim, D.H., Choi, U., Lim, D.K. and Lim, M.S. (1996) Studies on the physicochemical characteristics of traditional kochujang. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 28, 157-161
4. Lee, K.H., Lee, M.S. and Park, S.O. (1976) Studies on the microflora and enzymes influencing on Korean native kochujang (red pepper soybean paste) aging. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.*, 19, 82-92
5. Jung. Y.C., Choi, W.J., W.J., Oh, N.S. and Han, M.S. (1996) Distribution and physiological characteristics of yeasts in traditional and commercial kochujang. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 28, 253-259
6. Lee. K.S and Kim, D.H. (1985) Trial manufacture of low salted kochuzang (red pepper soybean paste) by the addition of alcohol. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 17, 146-154

7. Ji, W.D., Jeong, M.S., Choi, U.K., Choi, D.H. and Chung, Y.G. (1998) Growth inhibition of garlic (*Allium sativum* L.) juice on the microorganisms. *Agric. Chem. and Biotechnol.*, 41, 1-5
8. Sheo, H.J. (1999) The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 94-99
9. Lee, K.S., Moon, C.O., Baek, S.H. and Kim, D.H. (1986) Effect of garlic on quality of barley kochuzang brewed with whole red pepper. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 14, 225-232
10. Lee, S.K., Lee, T.S. and Nam, S.H. (1978) Studies on the effect of garlic on the enzyme production and growth of *Aspergillus oryzae*. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.*, 21, 123-130
11. Kim, D.H. and Lee, J.S. (2001) Effect of condiments on the physicochemical characteristics of traditional kochujang during fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 33, 353-360
12. Collic, S., Fischer, A.M., Tapon-Brethaudiere, J., Boisson, C., Durand, P. and Jozefonvicz, J. (1991) Anticoagulant properties of a fucoidan fraction. *Thromb. Res.*, 64, 143-154
13. Cho, D.M., Kim, D.S., Lee, D.S., Kim, H.R. and Pyeun, J.H. (1995) Trace components and functional saccharides in seaweed-1. *Kor. J. Fish. Soc.*, 28, 49-59
14. Cho, D.M., Kim, D.S., Lee, D.S., Kim, H.R. and Pyeun, J.H. (1995) Trace components and functional saccharides in seaweed-2. *Kor. J. Fish. Soc.*, 28, 270-278
15. Kim, D.S. and Park, Y.H. (1985) Uronic acid composition, block structure and some related properties of alginic acid. *Kor. J. Fish. Soc.*, 18, 29-36
16. Ahn, J.M. and Song, Y.S. (1992) Physico-chemical and sensory characteristic of cakes added sea Mustard and sea tangle powder. *Kor. J. Soc. Food Nutr.*, 28, 534-541
17. AOAC (1995) *Official Methods for Analysis*. 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., Ch. 27, p.31
18. 식품약품안전청 (2000) *식품공典(別冊)*. 문영사, 서울, p.69-72, p.273-277
19. Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T. and Okada, M. (1977) Mutagenicities of N-nitrosoamines on Salmonella. *Mutation Res.*, 48, 121-130
20. Scudiero, D.A., Shoemaker, R.H., Paul, K.D., Monks, A., Tiemey, S., Nofziger, T.H., Currens, M.J., Seniff, D. and Boyd, M.R. (1988) Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res.*, 48, 4827-4836
21. Martin, A. and Martin, C. (1997) Comparison of 5 microplate colorimetric assay for in vitro cytotoxicity testing and cell proliferation assays. *Cytotechnology*, 11, 49-54
22. 농촌진흥청 농업생활연구소 (1996) *식품성분표*, 제5개정판
23. Chung, K.S., Yoon, D.J., Hong, S.S. and Choi, S.Y. (1997) Cytotoxicity of fermented soybean products with various tumor cell using MTT assay. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 25, 477-482
24. Yoon, K.D., Kwon, D.J., Hong, S.S., Kim, H.S., Chung, K.S. (1996) Inhibitory effect of soybean and fermented soybean products on the chemically induced mutagenesis. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 24, 525-528
25. Tiisala, S., Majuri, M-L., Carpen, O. and Renkonen, R. (1994) Genistein enhances the ICAM-1 and its counter-receptors. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 203, 443
26. 최청 (1998) 장류의 생리활성과 산업화 전망. 제6회 인체 식품과학 FORUM 논총. p.122-151