

브로콜리잎 분말 첨가 재래식 고추장의 이화학적 및 기능적 특성

오유성¹ · 백진우¹ · 박경열² · 황준호^{1,3} · 임상빈^{1,2*}

¹제주대학교 생명과학기술혁신센터

²제주대학교 식품생명공학과

³제주대학교 생물학과

Physicochemical and Functional Properties of *Kochujang* with Broccoli Leaf Powder

You-Sung Oh¹, Jin-Woo Baek¹, Kyeong-Yeol Park², Joon-Ho Hwang^{1,3}, and Sang-Bin Lim^{1,2*}

¹Biotechnology Regional Innovation Center, ²Dept. of Food Bioengineering, and

³Dept. of Biology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

Abstract

Home-made broccoli *Kochujang* (HMBK) was prepared with the addition of 5% broccoli leaf powder. Its physicochemical and functional properties were measured in extracts (80% methanol, 80% ethanol, and distilled water) and compared with home-made *Kochujang* (HMK) and factory-produced *Kochujang* (FPK). Total phenolic content (TPC) was 22% higher in methanol extract from HMBK (524.2 GAE/100 g) compared to HMK (431.0 GAE/100 g). TPC was 8% higher in ethanol extract from HMBK (541.9 GAE/100 g) compared to HMK (499.9 GAE/100 g). DPPH radical scavenging activity was 1.6 times higher in the methanol extracts from HMBK than HMK. In contrast there was no difference in DPPH radical scavenging activity between HMBK and HMK. Oxygen radical absorbance capacities in methanol and ethanol extracts from HMBK were similar to HMK, but both were higher than extracts from FPK (55% and 23% higher, respectively). Inhibition of angiotensin I converting enzyme activity in methanol extracts from HMBK was similar to HMK, but it was 2.6 times higher than inhibition activities from FPK. Interestingly, only ethanol extract from HMBK showed a 10.7% and 18.3% inhibition on cell growth of the human colon adenocarcinoma grade II cell line (HT-29) and human lung carcinoma cell line (NCI-H1229), respectively. These results indicate home-made *Kochujang* with broccoli leaf powder contains high total phenolics, antioxidant activities, and cancer cell growth inhibition activities.

Key words: broccoli *Kochujang*, total phenolics, antioxidant activity, anticancer activity

서 론

고추장은 탄수화물의 가수분해로 생긴 단맛, 콩 단백질에서 오는 아미노산의 감칠맛, 고추의 매운맛, 소금의 짠맛이 조화를 이룬 식품으로 전통 향신료인 동시에 기호식품이다(1). 고추장의 제조법에는 콩을 자연 발효하여 만든 메주를 사용하는 재래식 방법과 koji를 사용하여 제조하는 개량식 방법이 있는데, 발효과정에서 미생물의 종류와 소금의 농도에 따라 숙성 중의 성분변화가 다양하며, 맛에도 큰 영향을 미친다. 재래식 고추장은 메주를 띄우는 과정에서 많은 종류의 곰팡이와 세균이 증식하고, 고추장의 숙성과정에서 이들이 분비하는 효소작용에 의해 고유의 풍미를 가지며, 비교적 숙성기간이 길고 메주에 번식한 세균의 작용으로 제품에 이취가 생기기도 한다. 그리고 지역 혹은 가정마다 원료 및 담금 방법을 달리하여 다양한 특성을 가지고 일정한

기준의 제법이 없이 제조되는 특징을 가지고 있다. 반면 개량식은 주로 국군의 효소작용과 효모의 발효작용에 의하여 풍미를 높이며 발효기간이 짧은 특성을 갖는다. 따라서 재래식 고추장과 개량식 고추장은 제조과정, 원료배합, 전분질 원료의 종류 등에서 큰 차이를 나타내어 이화학적 품질특성에서도 차이를 나타낸다(2,3).

최근 전통식품의 우수성이 과학적으로 입증되면서 고추장 선택기준은 과거에 중시해온 색, 맛, 향기 등의 관능적 품질특성 이외에 식염의 과잉섭취를 줄이기 위해 저식염화 및 기능성 소재의 첨가에 의한 기능성 향상을 중시하는 경향으로 바뀌고 있다(4). 고추장에 대한 연구로는 제조과정 및 품질표준화를 위한 재래식 및 개량식 고추장의 효모 분포 및 생리특성, 세균수의 변화 및 세균의 동정·분포 등에 관한 연구를 통하여 미생물 발효에 의한 아미노태질소, 환원당 등의 성분이 숙성 과정 중의 변화 등이 보고되었으며, 홍삼,

*Corresponding author. E-mail: sblim@jejunu.ac.kr
Phone: 82-64-754-3617, Fax: 82-64-726-3539

단감 등 기능성 소재를 첨가한 고추장의 품질 및 이화학적 특성에 관한 연구가 많이 보고되고 있다(5,6). 기능적 특성에 관한 연구로는 고추장의 항고혈압 및 항암효과 등이 보고되고 있다(7-9).

브로콜리는 십자화과 채소로서 부위별 추출물의 항산화 및 항균 활성을 비롯하여 브로콜리에 함유되어 있는 플라보노이드류, 비타민류, 미네랄류가 기능성 성분으로 잘 알려져 있다. 특히 glucosinolates의 효소적 가수분해 산물인 isothiocyanates, nitriles, sulfides는 항암효과 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(10-12). 그런데 브로콜리는 주로 화퇴 부분만을 식용으로 사용하고 있으며 전체 중량의 약 70%에 이르는 나머지 부분은 대부분 폐기되고 있는 실정이다. 따라서 브로콜리 비가식부를 활용하는 방안 에 대한 연구가 필요하다. 지금까지 브로콜리를 이용한 가공 식품에 관한 연구로는 브로콜리 분말을 첨가한 빵류의 품질 특성을 제외하고는 거의 알려져 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 기능성 고추장을 제조하기 위하여 브로콜리잎 분말을 첨가하여 고추장을 제조하였으며, 80% 메탄올, 80% 에탄올, 물로 추출하여 총페놀 함량과 항산화 및 항암활성을 분석하여 재래식 고추장 및 개량식 고추장과 비교하였다.

재료 및 방법

실험 재료

브로콜리잎 분말 첨가 고추장은 제주지역에서 재배한 브로콜리의 잎을 건조한 후 분말화하여 도내 전통장류 제조업체인 D영농조합에서 재래식 고추장 제조시 첨가하여 제조하도록 기술 지도하였다. 개량식 고추장은 시내 대형매장에서 구입하여 사용하였다. 재래식 고추장의 성분비율은 고춧가루(국내산) 35%, 메주분말(제주콩메주) 11%, 조청(국내산) 7%, 찹쌀가루(국내산) 8%, 천일염(국내산) 10%, 정제수 29%이며, 브로콜리 고추장은 재래식 고추장에 정제수 대신에 브로콜리 분말을 5% 첨가하여 제조하였다. 그리고 개량식 고추장의 주요 재료는 고춧가루 6.0%, 물엿, 소맥분, 정제수, 고추양념(고춧가루 5.3%, 정제소금, 마늘, 양파), 밀쌀, 정제소금, 찹쌀, 메주가루, 주정, 혼합미분, 종국이었다.

일반성분 분석

일반성분 함량은 AOAC법(13)에 따라 측정하였다. 수분은 105°C 상압건조법, 조지방은 건식회화법, 조지방은 에테르 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법으로 분석하였다. pH는 시료 10 g에 증류수 10 mL를 가하여 교반한 후 pH meter (Mettler Toledo Ltd., Leicester, UK)를 이용하여 측정하였다. 염도는 시료 5 g을 증류수 50 mL로 희석한 후 2% K₂CrO₄를 지시약으로 하고 0.01 N AgNO₃로 적정하여 계산하였다.

기능성 분석을 위한 추출물 제조

고추장 50 g에 80% 메탄올, 80% 에탄올, 물을 각각 1 L 가하고 24시간 동안 3회 추출하여 상층액을 여과한 후 감압 농축하였다. 농축된 고추장 추출물은 동결건조하여 분말화 시킨 후 EtOH:PBS=1:1 용액을 가하여 100 mg/mL로 제조한 후 0.45 µm syringe filter(Millipore Co., Billerica, MA, USA)로 여과하여 사용하였다.

총페놀 함량 측정

고추장 추출물의 총페놀 함량은 Folin-Denis 방법으로 측정하였다(14). 추출물(1 mg/mL) 100 µL와 증류수 900 µL를 혼합하고, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 µL를 가하여 잘 섞은 후 5분간 상온에서 반응시켰다. 이 용액에 20% Na₂CO₃ 300 µL를 가하여 혼합한 다음 증류수를 가하여 2 mL로 조정하였다. 이 용액을 23°C에서 2시간 동안 방치한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였고, gallic acid를 이용한 검량선과 비교하여 총페놀 함량을 산출하였다.

DPPH radical 소거활성 측정

고추장 추출물의 DPPH radical 소거활성은 Blois 방법(15)을 약간 변형하여 측정하였다. 즉 추출물 100 µL와 100 µM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 용액 900 µL를 혼합한 후 실온(암실)에서 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조군으로는 항산화제인 L-ascorbic acid, butylated hydroxy anisole(BHA), quercetin(Sigma-Aldrich Co.)을 사용하였으며, DPPH radical 소거활성은 아래와 같이 계산하였다.

$$\% \text{ DPPH} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A: Absorbance of the control

B: Absorbance of the sample

Oxygen radical absorbance capacity(ORAC) 측정

고추장 추출물의 활성산소 흡수능력(ORAC)은 peroxy radical의 생성과 소멸에 의한 fluorescent의 감소율로 측정하였는데, 과산화 radical의 생성을 위해 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride(AAPH, Sigma-Aldrich Co.)를 사용하여 측정하였다(16). 본 실험에서 표준용액의 농도별 희석과 실험용 시료의 제조에는 중성 phosphate buffer(0.075 M K₂HPO₄: 0.075 M NaH₂PO₄=61.5:38.5 (v/v))를 사용하였다. 검량선 작성을 위한 표준용액으로는 trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Sigma-Aldrich Co.)에 인산완충액을 가해 각각 1.65, 3.12, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0 µM을 제조하여 사용하였다. Fluorescent 표준 용액은 Ou 등(17)의 방법에 따라 fluorescein sodium salt(Sigma-Aldrich Co.)를 75 mM phosphate buffer에 가하여 78 nM 농도로 제조하였다. 고추장 추출물에 100 µL에 fluorescent 표준 용액 50 µL를 가하고,

과산화 radical 유발물질인 AAPH를 인산완충액에 가해 34 mM로 희석한 후 50 μ L 가하여 반응시킨 후 FLUOstar OPTIMA(BMG Labtech, Inc., Offenburg, Germany)를 사용하여 excitation 485 nm, emission 538 nm에서 1시간 동안 3분마다 흡광도를 측정하였다.

ORAC은 trolox 표준곡선으로부터 산출하였는데, 그 식은 아래와 같다.

$$AUC(\text{area under the curve})=1+(f1/f0)+(f2/f0)+(f3/f0)+\dots+(f19/f0)+(f20/f0)$$

$$\text{Relative ORAC value}=[(AUC_{\text{sample}}-AUC_{\text{blank}})/(AUC_{\text{trolox}}-AUC_{\text{blank}})]\times(\text{molarity of trolox/g sample})$$

α -Glucosidase 저해활성 측정

α -Glucosidase 저해 활성은 Watanabe 등(18)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉 고추장 추출물(10 mg/mL) 50 μ L를 α -glucosidase 효소액(0.3 U/mL) 50 μ L, 200 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 50 μ L와 혼합하여 37°C에서 15분간 예비 배양한 후 3 mM pNPG(p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside) 100 μ L를 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 0.1 M Na₂CO₃를 750 μ L 가하여 반응을 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 acarbose (78.125 μ g/mL)를 사용하였다.

Angiotensin I converting enzyme(ACE) 저해활성 측정

ACE 저해활성은 Cushman과 Cheung(19)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉 고추장 추출물(1 mg/mL) 0.05 mL에 assay mixture(100 mM potassium phosphate buffer pH 8.3, 300 mM NaCl, 5 mM hippuryl-his-leu)를 0.1 mL 가한 후 37°C에서 5분간 방치하였다. Blank로는 증류수를 사용하였다. 여기에 ACE 효소액(0.2 unit) 0.1 mL를 가하고 37°C에서 1시간 반응 후 1 N HCl 0.25 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 15초 동안 잘 섞어주고 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 ethyl acetate 층을 새 tube에 옮긴 후 120°C에서 15분간 완전히 건조시켰다. 여기에 증류수 1 mL를 가하여 잘 녹인 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 captopril(100 μ g/mL)을 사용하였다.

암세포 성장 저해활성 측정

사람의 정상 섬유아세포주인 Hs68, 대장암 세포주인 HT-29, 그리고 폐암 세포주인 NCI-H1229는 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)으로부터 분양 받았다. 세포는 100 units/mL의 penicillin과 100 μ g/mL의 streptomycin(Gibco Inc., Grand Island, NY, USA), 10%의 fetal bovine serum (FBS, Gibco Inc.)이 함유된 RPMI 1640 배지와 DMEM (Gibco Inc.) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였다. 암세포 성장 저해효과는 MTT assay를 이용하여 측정하였다(20). Hs68 세포(1.0 \times 10⁵ cells/mL) 및 HT-29와 NCI-H1229 세포(2.5 \times 10⁵ cells/mL)를 96 well plate에 분주

하여 24시간 배양한 후 추출물을 농도별로 20 μ L 가하였다. 24시간 동안 배양한 다음 MTT 용액(200 μ g/mL)을 가하고 4시간 동안 반응시켰다. 여기에 DMSO(Sigma-Aldrich Co.) 150 μ L를 가하여 MTT의 환원에 의해 생성된 formazan을 microplate reader(Bio-tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조군으로 Hs68 세포의 성장과 비교하여 증식 저해활성과 세포 독성을 나타내었다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복 실시하여 평균 \pm 표준편차로 표기하였고, 각 군의 차이는 분산분석 및 Duncan's multiple range test와 Student's t-test로 수행하였다. 각 처리구간의 유의적인 차이는 p<0.05에서 검증하였다.

결과 및 고찰

일반성분 함량

브로콜리 고추장, 재래식 고추장, 개량식 고추장의 일반성분 함량은 Table 1에 나타내었다. 수분 함량은 브로콜리 고추장, 재래식 고추장, 개량식 고추장이 각각 48.55, 43.98, 39.61%로, 브로콜리 고추장이 가장 높은 반면 개량식 고추장이 가장 낮게 나타났다. Jeong 등(21)은 일반 가정 고추장의 수분 함량이 46.71%였다고 보고하였는데, 재래식 고추장의 수분 함량과 유사하였다. 다양한 원료를 첨가하여 제조한 고추장은 숙성기간이 경과함에 따라 수분함량이 증가한다고 알려져 있는데, 이는 숙성 중 미생물이 분비하는 여러 효소의 작용에 의해 유리수의 증가에 의한 것으로 추정하고 있다.

조단백 함량은 브로콜리 고추장, 재래식 고추장, 개량식 고추장이 각각 7.78, 7.43, 5.45%로 브로콜리 고추장은 재래식 고추장과 유사하였으나 개량식 고추장보다 약 1.4배 높았다. 브로콜리에 함유되어 있는 조단백 함량은 총고형분 함량의 50% 이상으로(22) 브로콜리를 첨가하면 조단백 함량이 증가할 것으로 예상하였으나 재래식 고추장과 유의적으로 차이가 없었는데 이는 브로콜리잎 분말 첨가량이 5%로 다소 작기 때문인 것으로 추정되었다.

Table 1. Physicochemical properties of home-made *Kochujang* with (HMBK) and without (HMK) broccoli leaf powder, and factory-produced *Kochujang* (FPK)

Properties	HMBK	HMK	FPK
Moisture (%)	48.55 \pm 0.78 ^c	43.98 \pm 0.85 ^b	39.61 \pm 0.91 ^a
Crude protein (%)	7.78 \pm 1.88 ^b	7.43 \pm 0.09 ^{ab}	5.45 \pm 0.01 ^a
Crude lipid (%)	0.03 \pm 0.03 ^a	0.12 \pm 0.17 ^a	0.03 \pm 0.02 ^a
Carbohydrate (%)	36.88 \pm 2.29 ^a	42.11 \pm 0.84 ^b	47.72 \pm 0.79 ^c
Ash (%)	6.76 \pm 0.21 ^b	6.36 \pm 0.18 ^a	7.19 \pm 0.19 ^c
pH	4.87 \pm 0.01 ^b	4.90 \pm 0.01 ^c	4.63 \pm 0.02 ^a
Salinity (%)	6.73 \pm 1.67 ^a	5.94 \pm 0.35 ^a	7.10 \pm 1.32 ^a
Energy (kcal)	178.93 \pm 2.97 ^a	199.26 \pm 1.90 ^b	212.93 \pm 2.91 ^c

Values with different letters in the row (a-c) are significantly different at p<0.05 according to Duncan's multiple range test.

탄수화물 함량은 브로콜리 고추장, 재래식 고추장, 개량식 고추장이 각각 36.88, 42.11, 47.72%로 브로콜리 고추장이 가장 낮았고 개량식 고추장이 가장 높았다. 회분 함량은 브로콜리 고추장, 재래식 고추장, 개량식 고추장이 각각 6.76, 6.36, 7.19%로 재래식 고추장이 가장 낮게 나타났다.

pH는 브로콜리 고추장, 재래식 고추장, 개량식 고추장이 각각 4.87, 4.90, 4.63으로 개량식 고추장이 가장 낮았다. 홍삼과 산야초 발효액을 첨가한 고추장은 pH가 4.27이며(23), 전북지역의 일반가정에서 제조한 고추장의 pH인 4.60(24)과 비교해보면 브로콜리 고추장과 재래식 고추장의 pH는 다소 높음을 알 수 있었다.

열량은 브로콜리 고추장이 재래식 고추장과 개량식 고추장보다 가장 낮은 경향을 나타내었는데, 이는 브로콜리 고추장의 탄수화물과 조지방의 함량이 낮기 때문인 것으로 추정된다.

고추장의 품질 특성은 숙성 중 미생물의 작용과 연관이 있는 것으로 알려져 있는데, 개량식 고추장은 단시간에 대량의 고추장을 생산하는데 적합한 전분질을 제국 기질로 사용하고 발효에 적합한 황국균(*Aspergillus oryzae*)을 첨가하지만, 재래식 고추장은 자연에 존재하는 다양한 미생물에 의해 발효되므로 개량식 고추장과는 맛과 향이 다른 것으로 알려져 있다(3). 다양한 미생물의 작용에 의한 차이는 발효 식품의 큰 특징으로서 재래식과 개량식 고추장의 이화학적 및 관능적 차이는 물론 기능적 특성의 차이가 있을 것으로 추정된다.

총페놀 함량 및 항산화 효과

고추장을 80% 메탄올, 80% 에탄올, 그리고 물로 추출하여 추출물 중의 총페놀 함량을 측정하였다(Table 2). 총페놀 함량은 80% 메탄올과 80% 에탄올 추출물에서 브로콜리 고추장이 각각 524.2와 541.9 mg GAE/100 g으로 재래식 고추장의 431.0과 499.9 mg GAE/100 g보다 각각 22%와 8% 높게 나타났다. Hwang 등(6)도 단감 분말을 3~5% 첨가하여 제조한 고추장의 총페놀 함량은 13.72~16.09 mg tannic acid equivalent/100 g으로 단감 분말의 첨가량이 많아질수록 총페놀 함량이 높아 단감 분말의 첨가는 고추장의 기능성을 높인데 긍정적인 영향을 미친다고 보고하였다. 본 연구에서도 브로콜리 분말의 첨가로 재래식 고추장에 비해 브로

Table 2. Total phenolic contents of extracts from home-made *Kochujang* with (HMBK) and without (HMK) broccoli leaf powder, and factory-produced *Kochujang* (FPK)

<i>Kochujang</i>	Total phenolics (mg GAE/100 g)		
	80% MeOH	80% EtOH	Distilled water
HMBK	524.2±7.0 ^{bB}	541.9±2.1 ^{bB}	487.0±2.9 ^{aA}
HMK	431.0±1.2 ^{aA}	499.9±8.3 ^{aB}	500.2±2.8 ^{aB}
FPK	579.3±2.5 ^{cA}	690.6±2.3 ^{cB}	684.5±3.3 ^{bB}

Values with different letters in the row (A,B) and the column (a-c) are significantly different at p<0.05 according to Duncan's multiple range test.

콜리 고추장의 총페놀 함량이 유의적으로 높게 나타나 기능적으로 우수할 것으로 추정되었다. 한편 개량식 고추장은 80% 메탄올, 80% 에탄올, 물 추출물에서 총페놀 함량이 각각 579.3, 690.6, 684.5 mg GAE/100 g으로 브로콜리 고추장의 524.2, 541.9, 487.0 mg GAE/100 g보다 각각 10, 27, 40% 높게 나타났다.

DPPH radical 소거능(Table 3)은 80% 메탄올 추출물에서는 브로콜리 고추장이 재래식 고추장보다 1.6배 높았으나 80% 에탄올 추출물에서는 유사하였다. 물 추출물에서는 모든 고추장 추출물의 DPPH radical 소거능이 유사하였다. Lee와 Park(12)은 브로콜리의 부위별로 추출용매에 따른 radical 소거능을 분석한 결과 에탄올, 아세톤, 물 추출물 중 에탄올 추출물이 가장 높았고, 증류수 추출물이 가장 낮은 활성을 나타내었다고 보고하였다. Lim 등(4)도 키토산, 은행, 동아, 홍국분말 소재를 첨가하여 제조한 고추장의 DPPH radical 소거능을 분석한 결과, 동아와 홍국분말 첨가 시험군에서 대조군보다 각각 28%와 33%가 향상됨을 보고한 바 있다. 한편 개량식 고추장의 DPPH radical 소거능은 재래식 고추장보다 80% 메탄올 추출물과 80% 에탄올 추출물에서 각각 2.03배와 1.3배 높았다.

활성산소 흡수능력(ORAC)에서는 80% 메탄올 추출물에서 브로콜리 고추장이 재래식 고추장보다 높았으나 데이터의 높은 표준편차로 인하여 유의적인 차이를 나타내지 않았고 개량식 고추장보다 55% 높았다(Table 3). 80% 에탄올 추출물에서도 브로콜리 고추장이 재래식 고추장보다 높았으나 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 개량식 고추장보다 23% 높았다. 이와 같이 고추장의 유기용매 추출물의 총페놀 함량과 DPPH radical 소거능 사이에는 상관관계는 높

Table 3. Antioxidant activities of extracts from home-made *Kochujang* with (HMBK) and without (HMK) broccoli leaf powder, and factory-produced *Kochujang* (FPK)

<i>Kochujang</i>	DPPH radical scavenging activity (%) (at 5 mg/mL)			ORAC value (μmol of Trolox equivalent/mg)		
	80% MeOH	80% EtOH	Distilled water	80% MeOH	80% EtOH	Distilled water
HMBK	25.1±1.1 ^{bA}	23.4±1.5 ^{aA}	26.6±1.7 ^{aA}	90.0±5.8 ^{bB}	94.7±5.4 ^{bB}	59.5±5.4 ^{aA}
HMK	15.9±2.6 ^{aA}	23.1±2.2 ^{aB}	26.0±1.3 ^{aB}	83.8±3.3 ^{bB}	87.8±4.7 ^{bB}	72.0±5.1 ^{bA}
FPK	32.3±2.3 ^{cA}	30.2±3.3 ^{aA}	23.0±2.4 ^{aA}	58.1±2.2 ^{aA}	77.0±4.7 ^{aC}	69.2±2.7 ^{bB}

Values with different letters in the row (A-C) and the column (a-c) are significantly different at p<0.05 according to Duncan's multiple range test.

DPPH radical scavenging activity (%) of the control groups: ascorbic acid (50 μg/mL) 96.6±0.6%, BHA (100 μg/mL) 88.7±0.4%, quercetin (25 μg/mL) 96.2±0.1%.

았으나 총페놀 함량과 활성산소 흡수능력과 상관관계는 높지 않았는데, 이로 보아 고추장은 다양한 재료의 혼합과 미생물에 의한 2차 산물 생성에 의해 기능성이 나타날 것으로 예상되는 바 페놀화합물 이외에 다른 물질이 활성산소 흡수능력에 영향을 미치는 것으로 추정되며 차후 이에 대한 심도 있는 연구가 더 필요하다. Kwon 등(11)은 브로콜리의 부위별로 항산화물질인 ascorbic acid, β -carotene, chlorophyll 함량을 분석한 결과, 브로콜리의 적숙기와 과숙기에 버려지는 잎과 줄기에서 높은 함량을 나타내었다고 보고하여 이들 물질이 항산화 활성에 영향을 미치는 것으로 추정되었다.

α -Glucosidase와 angiotensin I converting enzyme (ACE)의 저해 효과

α -Glucosidase는 소장점막의 미세융모막에 존재하는 효소로서 다당류의 탄수화물을 단당류로 분해하므로 소화와 흡수과정에 필수적인 효소이다. 따라서 이 효소의 활성을 저해하면 다당류의 분해 방지 또는 소장에서 glucose의 흡수를 지연시켜 식후 혈당의 급격한 상승을 막는다(25). α -Glucosidase의 저해활성은 모든 고추장에서 대부분의 추출물에서 75% 이상을 나타냈으며 브로콜리 고추장이 재래식 고추장 보다 조금 높았으나 유의적으로 차이는 없었다 (Table 4).

ACE는 불활성형인 angiotensin I을 활성형인 angiotensin II로 전환시켜 혈압을 상승시킨다고 알려져 있으므로(26) ACE를 저해시킴으로써 혈압상승 억제를 기대할 수 있을 것이다. ACE 저해 활성은 80% 메탄올 추출물에서 브로콜리 고추장은 재래식 고추장과는 유사하였으나 개량식 고추장 보다는 2.6배 높았다. 그리고 80% 에탄올 추출과 물 추출물에서는 브로콜리 고추장보다 재래식 고추장이 1.6~1.9배 높았다(Table 4). Suh 등(7)은 고추장의 추출방법에 따른 혈압 강하 효과가 열수, 메탄올, 냉수, 에탄올 추출물이 각각 42%, 37%, 32%, 23%를 나타내어 열수와 메탄올 추출물이 가장 높았다고 보고하였다.

브로콜리 고추장이 조단백질의 함량이 가장 높아 ACE 저해활성이 높을 것으로 기대했으나 재래식 고추장보다 유의적으로 낮게 나타났다. Shin 등(8)은 된장의 물 추출물에서 총 질소회수율이 높을수록 ACE 저해활성이 높았으며,

ACE 저해활성이 높은 추출물의 구성 아미노산을 분석한 결과 histidine의 함량이 특징적으로 높았다고 보고하였다. 본 연구에서 브로콜리 고추장이 재래식 고추장보다 ACE 저해활성이 낮은 이유는 조단백질 함량보다는 고추장의 숙성에 의한 분해산물의 영향으로 생각되며, 브로콜리 고추장과 재래식고추장의 숙성 과정 중 아미노산 분석이 필요할 것으로 추정된다.

암세포 성장 저해효과

대장암 세포주(HT-29)와 폐암 세포주(NCI-H1229)에 각각의 고추장 추출물(5 mg/mL)로 처리하여 정상세포주인 피부섬유 아세포(Hs68)의 성장과 비교하여 증식 저해활성을 나타내었다(Table 5). 대장암 세포주(HT-29)인 경우는 80% 메탄올 추출물에서는 모든 고추장에서 세포 성장 저해효과를 나타내지 않았으나, 80% 에탄올 추출물에서는 브로콜리 고추장만이 10.7%의 성장 저해효과를 나타내었다. 물 추출물에서는 모든 고추장에서 11.3~14.4%의 성장 저해효과를 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다. 폐암 세포주(NCI-H1229)에서는 80% 메탄올 추출물에서 모든 고추장이 5.6~6.6%의 성장 저해효과를 나타내었으나 유의적인 차이는 없었으며, 80% 에탄올 추출물에서는 브로콜리 고추장만이 18.3%의 성장 저해효과를 나타내었다. 그리고 물 추출물에서는 브로콜리 고추장, 재래식 고추장, 개량식 고추장이 각각 12.9, 15.5, 16.9%의 성장 저해효과를 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다. 이와 같이 항암활성은 브로콜리 고추장의 80% 에탄올 추출물인 경우 대장암 세포주(HT-29)와 폐암 세포주(NCI-H1229)에서 각각 10.7과 18.3%의 성장 저해효과를 나타내었는데, 이는 브로콜리의 주요 황화합물인 glucosinolates의 분해산물에 기인하는 것으로 추정된다(12).

Kim 등(27)은 양파 첨가 고추장의 메탄올 추출물(1 mg/mL)은 폐암 세포주(A549)에서 15.6%, 유방암 세포주(MCF-7)에서 20%의 성장 저해활성을 나타내었는데, 이는 양파에 함유되어 있는 allicin을 비롯한 황화합물과 고추장 숙성 중 생성되는 여러 가지 성분에 의한 시너지 효과에 기인하는 것으로 보고하였다.

한편 세포독성을 측정한 결과 고추장 추출물에서 5 mg/mL 농도까지는 정상 세포주(HT-68), 대장암 세포주(HT-29), 폐암 세포주(NCI-H1229)에서 독성을 나타내지 않았다.

Table 4. α -Glucosidase and angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activities of extracts from home-made *Kochujang* with (HMBK) and without (HMK) broccoli leaf powder, and factory-produced *Kochujang* (FPK)

<i>Kochujang</i>	α -Glucosidase inhibitory activity (%) (at 5 mg/mL)			ACE inhibitory activity (%) (at 5 mg/mL)		
	80% MeOH	80% EtOH	Distilled water	80% MeOH	80% EtOH	Distilled water
HMBK	81.8±0.3 ^{abA}	83.0±0.6 ^{aA}	82.0±0.7 ^{aA}	14.7±1.8 ^{ba}	13.2±1.9 ^{aA}	15.0±1.8 ^{aA}
HMK	79.3±1.8 ^{aA}	82.2±0.1 ^{aA}	75.7±4.1 ^{aA}	14.2±1.8 ^{ba}	25.1±1.6 ^{bB}	23.9±1.6 ^{bB}
FPK	90.6±5.5 ^{ba}	88.8±0.2 ^{ba}	82.0±0.1 ^{aA}	5.7±2.0 ^{aA}	8.1±2.0 ^{aA}	14.6±1.8 ^{aB}

Values with different letters in the row (A,B) and the column (a,b) are significantly different at p<0.05 according to Duncan's multiple range test.

α -Glucosidase inhibitory activity (%) of acarbose (78.1 μ g/mL): 99.4±0.1%.

ACE inhibitory activity (%) of captopril (100 μ g/mL): 92.8±0.4%.

Table 5. Inhibitory effects of cell growth of solvent-extracts from home-made *Kochujang* with (HMBK) and without (HMK) broccoli leaf powder, and factory-produced *Kochujang* (FPK)

Cell line	<i>Kochujang</i>	Inhibitory activity of cell growth (%) (at 5 mg/mL)		
		80% MeOH	80% EtOH	Distilled water
HT-29 ²⁾	HMBK	ND ^{A1)}	10.7±0.5 ^B	11.3±1.6 ^{ab}
	HMK	ND ^A	ND ^A	14.4±2.4 ^{ab}
	FPK	ND ^A	ND ^A	13.3±0.8 ^{ab}
NCI-H1229 ³⁾	HMBK	5.6±1.1 ^{aa}	18.3±3.3 ^B	12.9±0.8 ^{ab}
	HMK	5.6±0.2 ^{aa}	ND ^A	15.5±0.4 ^{abB}
	FPK	6.6±2.4 ^{aa}	ND ^A	16.9±1.8 ^{bb}
Hs68 ⁴⁾	HMBK	ND	ND	ND
	HMK	ND	ND	ND
	FPK	ND	ND	ND

¹⁾ND: not detected.

²⁾HT-29: Human colon adenocarcinoma grade II cell line.

³⁾NCI-H1229: Human lung carcinoma cell line.

⁴⁾Hs68: Human foreskin fibroblast cell line.

Values with different letters in the row (A,B) and the column (a,b) are significantly different at $p < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

결론적으로 재래식 고추장에 브로콜리잎 분말을 첨가하여 제조한 고추장은 조단백과 총페놀 함량이 높으며, 80% 메탄올 추출물에서는 재래식 고추장보다 항산화 활성(DPPH 소거활성)이 높으며, 80% 에탄올 추출물에서는 재래식 고추장보다 대장암 세포주(HT-29)와 폐암 세포주(NCI-H1229)에서 높은 성장저해 활성을 나타내어 브로콜리잎 분말의 첨가에 의해 고추장의 기능성이 향상될 것으로 추정되었다.

요 약

기능성 고추장을 제조할 목적으로 브로콜리잎 분말을 첨가하여 고추장을 제조한 후 80% 메탄올, 80% 에탄올, 물로 추출하여 총페놀 함량과 항산화 및 항암활성을 측정하여 재래식 고추장 및 개량식 고추장과 비교하였다. 총페놀 함량은 80% 메탄올과 80% 에탄올 추출물에서 브로콜리 고추장이 각각 524.2와 541.9 mg GAE/100 g으로 재래식 고추장의 431.0과 499.9 mg GAE/100 g보다 각각 22%와 8% 높았다. DPPH radical 소거능은 80% 메탄올 추출물에서는 브로콜리 고추장이 재래식 고추장보다 1.6배 높았으나, 80% 에탄올 추출물에서는 브로콜리 고추장과 재래식 고추장이 비슷하였다. 활성산소 흡수능력은 80% 메탄올과 80% 에탄올 추출물에서 브로콜리 고추장이 재래식 고추장보다 높았으나 유의적인 차이를 나타내지 않았으며 개량식 고추장보다는 각각 55%와 23% 높았다. ACE 저해 활성은 80% 메탄올 추출물에서 브로콜리 고추장은 재래식 고추장과는 유사하였으나 개량식 고추장보다는 2.6배 높았다. 항암활성은 브로콜리 고추장의 80% 에탄올 추출물인 경우 대장암 세포주(HT-29)와 폐암 세포주(NCI-H1229)에서 각각 10.7과 18.3%의 성장 저해효과를 나타내었다. 따라서 브로콜리잎의 건조분말을 첨가하여 재래식 방법으로 제조한 고추장은 총페놀 함량이 높으며, 재래식 고추장이나 공장식 고추장보다 다소 높은 항산화 활성과 암세포 성장 저해효과를 나타내어

브로콜리 분말의 첨가에 의해 고추장의 기능성이 향상되었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부의 고부가식품산업 전문인력양성 교육사업비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- Shin DH, Kim DH, Choi U, Lim DK, Lim MS. 1996. Studies on taste components of traditional *Kochujang*. *Korean J Food Sci Technol* 28: 152-156.
- Jung YC, Choi WJ, Oh NS, Han MS. 1996. Distribution and physiological characteristics of yeasts in traditional and commercial *Kochujang*. *Korean J Food Sci Technol* 28: 253-259.
- Shin DH, Kim DH, Choi U, Lim MS, An EY. 1997. Changes in microflora and enzymes activities of traditional *Kochujang* prepared with various raw materials. *Korean J Food Sci Technol* 29: 901-906.
- Lim SI, Choi SY, Cho GH. 2006. Effects of functional ingredients addition on quality characteristics of *Kochujang*. *Korean J Food Sci Technol* 37: 779-784.
- Shin HJ, Shin DH, Kwak YS, Choo JJ, Kim SY. 1999. Changes in physicochemical properties of *Kochujang* by red ginseng addition. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 760-765.
- Hwang SJ, Kim JY, Eun JB. 2011. Physical characteristics and changes in functional components of *Gochujang* with different amounts of sweet persimmon power. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1668-1674.
- Suh HJ, Chung SH, Yoo KW, Son HS. 1997. Inhibitory effect of *kochujang* on angiotensin converting enzyme. *J Allied Health Sci* 23: 21-25.
- Shin ZI, Ahn CW, Nam HS, Lee HJ, Lee HJ, Moon TH. 1995. Fractionation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean paste. *Korean J Food Sci Technol* 27: 230-234.
- Kim SO, Kong CS, Kil JH, Kim JY, Han MS, Park KY. 2005. Fermented wheat grain products and *kochujang* inhibit the growth of AGS human gastric adenocarcinoma

- cells. *J Food Sci Nutr* 10: 349-352.
10. Stoewsand GS. 1995. Bioactive organosulfur phytochemicals in *Brassica oleracea* vegetable—a review. *Food Chem Toxicol* 33: 537-543.
 11. Kwon YD, Ko EY, Hong SJ, Park SW. 2008. Comparison of sulforaphane and antioxidant contents according to different parts and maturity of broccoli. *Kor J Hort Sci Technol* 26: 344-349.
 12. Lee HS, Park YW. 2005. Antioxidant activity and antibacterial activities from different parts of broccoli extracts under high temperature. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 759-764.
 13. AOAC. 2005. *Official methods of analysis*. 18th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA. Chapter 4, p 33-36.
 14. Zhang Q, Zhang J, Shen J, Silva A, Dennis D, Barrow CJ. 2006. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *J Appl Phycol* 18: 445-450.
 15. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 16. Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Prior RL. 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J Agric Food Chem* 50: 4437-4444.
 17. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* 49: 4619-4626.
 18. Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. 1997. Isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from tochucha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci Biotech Biochem* 61: 177-178.
 19. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1348.
 20. Ferrari M, Fornasiero MC, Isetta AM. 1990. MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro. *J Immunol Methods* 131: 165-172.
 21. Jeong DY, Shin DH, Song MR. 2001. Studies on the physicochemical characteristics of Sunchang traditional *Kochujang*. *Korean J Food Culture* 16: 260-267.
 22. Kim MR, Kim JH, Wi DS, Na JH, Sok DH. 1999. Volatile sulfur compounds, proximate components, minerals, vitamin C content and sensory characteristics of the juices of kale and broccoli leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1201-1207.
 23. Youn K, Kim J, Yeo HR, Jun M. 2011. Improving the functional quality of *Kochujang* added with red ginseng and fermented wild herbal extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1675-1679.
 24. Shin DH, Kim DH, Choi U, Lim DK, Lim MS. 1996. Studies on the physicochemical characteristics of traditional *Kochujang*. *Korean J Food Sci Technol* 28: 157-161.
 25. Matsui T, Ueda T, Oki T, Sugita K, Terahara N, Matsumoto K. 2001. α -Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity. *J Agric Food Chem* 49: 1948-1951.
 26. Kuba M, Tanaka K, Tawata S, Takeda Y, Yasuda M. 2003. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides isolated from tofuyo fermented soybean food. *Biosci Biotech Biochem* 67: 1278-1283.
 27. Kim JY, Park KW, Yang HS, Cho YS. 2005. Anticancer and immuno-activity of methanol extract from onion *Kochujang*. *Korean J Food Preserv* 12: 173-178.

(2013년 1월 21일 접수; 2013년 4월 9일 채택)