

사리장의 항산화 효과

- 연구노트 -

서보영¹ · 최미주¹ · 최은아² · 박은주^{1*}

¹경남대학교 식품영양학과
²(주)인산 죽염촌

In vitro Antioxidant Effects of Sarijang

Bo-Young Seo¹, Mi-Joo Choi¹, Eun-A Choi², and Eunju Park^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Kyungnam University, Gyeongnam 631-701, Korea
²InSan BamBoo Salt Inc., Gyeongnam 770-852, Korea

ABSTRACT Sarijang, a soy sauce made from fermented black soybean (*Rhynchosia nulubilis*), sulfur fed duck, dried bark of *Ulmus davidiana*, *Allium sativum*, and bamboo salt, has been demonstrated to exert anti-inflammatory and anti-tumor activities. However, the antioxidant properties of Sarijang have not yet been elucidated. In this study, the antioxidant effects of Sarijang were investigated by determining total phenolic content (TPC), DPPH radical scavenging activity (DPPH RSA), total radical trapping antioxidant potential (TRAP), oxygen radical absorbance capacity (ORAC), and cellular antioxidant capacity (CAC). The inhibitory effects of Sarijang on oxidative stress-induced DNA damage (200 μ M H₂O₂, 250 μ M Fe-NTA, and 200 μ M HNE) in human leukocytes were evaluated by comet assay. The TPC of Sarijang was 1.04 \pm 0.01 mg GAE/mL. DPPH RSA, TRAP, and ORAC values of Sarijang increased in a dose-dependent manner. The IC₅₀ for DPPH RSA of Sarijang was 11.2 \pm 0.3 mg/mL, whereas IC₅₀ of TRAP was 209.5 \pm 2.0 mg/mL. 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidative stress and oxidative stress-induced DNA damage in HepG2 cells were effectively abrogated by all tested concentrations of Sarijang (1~100 μ g/mL). These results suggest that Sarijang has antioxidative activity and protective effects against oxidative DNA damage.

Key words: Sarijang, antioxidant activity, DNA damage inhibition effect

서 론

음식을 이용하여 질병을 고치고 몸을 이롭게 하려는 시도는 오래전부터 진행되어 왔으며 최근 건강과 장수에 대한 관심이 증대됨에 따라 전통적인 약용식물이나 이를 기반으로 조제된 물질들의 기능성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(1,2).

항산화란 생체 내 에너지를 생산하는 과정에서 전자전달 체계가 산화적 스트레스에 의해 생성된 산화 정도를 조절하거나 산화물을 제거하는 체계로, 이 과정에서 과생성된 활성 산소종(ROS, reactive oxygen species)의 수준을 정상으로 돌려놓거나 생성을 억제시키는 방어기전으로 최근 질병의 원인이 되는 하나의 독립적인 기전으로 주목받고 있다(3). 환경적인 스트레스나 유전적인 결함에 의해 생성되는 활성산소종은 미토콘드리아의 호흡과정 중 생성되는 불완전한 전자를 인근의 분자로부터 전자를 취해 안정해지고자 하는 과정에서 생성된다(4). 이 상태가 지속되면 단백질과 지질에 영향을 미쳐 구성성분을 산화시킬 뿐만 아니라 pro-

oxidant로 작용하여 DNA나 RNA의 돌연변이 유발 및 암화 과정을 촉진하는 요인으로 작용한다(5).

사리장(대한민국 등록특허 10-0496531)은 서목태(*Rhynchosia nulubilis*, 鼠目太, 일명 귀눈이콩)를 백국균(*Aspergillus kawachii*)으로 발효시킨 후 유향오리, 유근피 및 마늘을 달인 액에 죽염을 혼합하여 숙성시킨 발효물로, 이미 오래전부터 민간에서 암, 당뇨 등을 포함한 각종 난치병 치료에 사용되는 것으로 알려져 왔으며 최근 면역증강 및 항암 활성 효과가 보고되었다(6).

콩의 발효는 일반적인 천연 영양성분의 활성을 증대시키는 가공 방법으로 알려져 있으며 특히 콩의 수용성비타민, 지방산 그리고 아미노산의 함량을 증대시킬 뿐만 아니라 항산화력 및 총 폴리페놀 함량을 증대시키는 것으로 보고된 바 있다(7). 또한 죽염은 알칼리성을 띠고 있을 뿐만 아니라 생체에 유용한 금속원소(K, Ca, Fe, Zn, Mn 등)를 골고루 함유하고 있어 섭취 시 각종 보조효소를 활성화시킴으로써 체내 항산화 체계에 긍정적인 영향을 미치며, 장기 복용 시에도 부작용이 거의 없는 것으로 알려져 있다(8). 여기에 항세포 독성, 항염증, 면역증강 및 항암 효능을 가진 유근피(9)와 마늘(10), 유향오리(11) 농축액이 추가되면서 그 효능이 훨씬 증대될 것으로 예상되나 이에 대한 학술적인 근거는

Received 12 December 2013; Accepted 20 March 2014

*Corresponding author.

E-mail: pej@kyungnam.ac.kr, Phone: +82-55-249-2218

매우 미약한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 오래전부터 여러 질병에 사용되어 온 사리장의 항산화 활성 분석을 통해 사리장 약리효능의 과학적 활성을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료 제조방법

사리장은 함양에 위치한 (주)인산 죽염촌으로부터 제공받아 분석에 이용하였다. 그 제조과정으로는 먼저 쥐눈이콩을 10~15시간 실온의 물에 침지한 후 강한 불에서 3시간, 약한 불에서 5시간 증기를 가하였다. 그 후 온도를 38°C로 맞추어 누룩을 접종하고 전통적인 방법으로 35°C에서 12시간 건조시켰다. 이외의 부재료인 유향오리, 유근피, 발마늘을 각각 24시간, 24시간, 18시간 동안 정제수에 열수 추출하여 식힌 후 자숙염, 1차 발효된 쥐눈이콩과 함께 1:1:1:0.7:0.8의 비율로 섞어 3개월간 2차 발효를 시행하였다. 발효조성물의 sodium 함량은 25% 내외로 나타났다. 이렇게 얻어진 사리장은 시료 자체를 분석에 이용하였으며, 농도는 쥐눈이콩의 함량을 기준으로 설정하였다.

총 폴리페놀 함량(total phenolic contents)

총 폴리페놀 함량은 시료를 취하여 증류수를 1:1 비율(v/v)로 가하여 희석하고 1 N Folin-Ciocalteu 시약을 가하여 실온에서 3분간 방치한 후 10% Na₂CO₃ 용액을 첨가하여 잘 섞은 후 상온에서 암실조건으로 방치하였다. 1시간 후 시료를 5분 동안 13,400×g에서 원심분리시킨 다음 상층액을 취하여 ELISA reader(Sunrise, Tecan Co., Ltd., Grödig, Austria)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 mg gallic acid equivalents(GAE)/mL 단위로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능(DPPH radical scavenging activity, RSA) 측정

DPPH 라디칼 소거능은 에탄올에 녹인 0.2 mM DPPH 용액 80 µL를 20 µL의 농도별 시료(0.1, 0.5, 1, 10, 20 mg/mL)에 처리한 후 상온에서 10분간 반응시켜 ELISA reader(Sunrise, Tecan Co., Ltd.)를 사용하여 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 DPPH radical 소거능은 아래의 식에 의해 계산하였으며, 대조구에는 20 µL의 DMSO로 처리하여 흡광도를 측정하였다. 원 시료의 색은 자체 흡광도를 측정 후 보정하였다.

Radical scavenging activity (RSA, %)=(1 - A/B)×100
A: 시료 첨가구의 흡광도, B: 대조구의 흡광도

TRAP(total radical trapping antioxidant potential) 활성 분석

TRAP 활성은 ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazol-

line-6-sulfonate), 150 mM]와 metmyoglobin(2.5 mM)을 H₂O₂(75 mM)로 활성화시킴으로써 생성된 ferryl myoglobin radical species와의 상호 작용에 의해 형성된 ABTS radical cation의 흡광도 발색 억제 정도를 나타내는 것으로서 시료에 들어 있는 antioxidant capacity에 비례하게 된다. 사리장을 농도별로 8분 동안 30°C에서 배양한 후 UV/VIS spectrometer(UV 1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 740 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 사리장의 TRAP 활성은 trolox의 calibration curve를 이용하여 계산하였으며 TEAC(trolox equivalent antioxidant capacity, mM)로 표현하였다.

ORAC(oxygen radical absorbance capacity) 활성 분석

사리장(1, 5, 10, 50 µg/mL)의 ORAC 활성은 Kurihara 등의 방법(12)을 이용하여 측정하였다. 즉 peroxy radical generator로 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride(AAPH)를 사용하여 최종 반응 농도가 20 nM이 되도록 처리하였다. 형광표준 용액인 fluorescein의 최종 반응 농도는 Ou 등의 방법(13)에 따라 40 nM이 되도록 처리하였으며, 최종 반응 농도 1 µM trolox를 control standard로 이용하였다. Free radical에 의한 fluorescein의 감소는 Tecan GENios multi functional plate reader(GENios; Tecan Trading AG, Salzburg, Austria)를 이용하여 excitation wavelength 485 nm, emission wavelength 535 nm에서 2시간 동안 2분 간격으로 측정하였다. 각 시료 추출물의 ORAC value는 형광이 감소하는 곡선 아래 부분의 총 면적(net area under the curve)을 산출하여 1 µM trolox equivalents(TE)로 나타내었으며 각 시료에 대한 실험은 최소 3회 반복 실험하였다.

Net area under the curve: net AUC =AUC_{sample}-AUC_{blank}
ORAC value=net AUC_{sample}/ net AUC_{trolox}

ROS 소거능(cellular antioxidant capacity, CAC) 분석

살아있는 세포내에서 시료의 항산화 활성을 검색하기 위해 HepG2 세포를 이용하여 CAC assay를 실시하였다. HepG2(ATCC 8065, human liver adenocarcinoma cell-line) 세포는 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입하였다. HepG2 세포는 비활성화한 fetal bovine serum(FBS) 10%와 1% 항생제(penicillin/ streptomycin)를 함유하는 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 환경에서 배양하였다.

CAC assay는 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) 방법(13)을 변형하여 측정하였다. 96-well plate에 HepG2 세포수를 5×10⁵ cells/mL로 계산하여 96-well plate(Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany)에 100 µL씩 가하여 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다. 24시간 후 배지를 제거하고 형광에 안정한 Hank's balanced salt solution(HBSS)을 각 well에 200 µL 분주한

후 최종 농도가 10, 50, 100 µg/mL가 되도록 각 시료 2 µL를 처리하여 30분 동안 배양하였다. HBSS 50 µL로 각 well을 세척하고 다시 HBSS 200 µL 분주한 후 peroxy radical generator로 8 mM AAPH 2 µL를 가하여 30분 동안 배양하였다. 형광 probe로 40 mM DCFH-DA 2 µL를 가한 후 30분 동안 배양한 후 Tecan GENios multi-functional plate reader(GENios; Tecan Trading AG)를 이용하여 excitation wavelength 485 nm, emission wavelength 535 nm에서 형광의 발생 정도를 측정하였다. Control은 DCFH-DA만을 처리하였으며, AAPH와 DCFH-DA를 처리하여 positive control로 하였다. Control의 형광값을 100%로 하여 각 시료와 positive control인 AAPH의 상대적인 형광값을 비교하였다. 각 시료에 대한 실험은 최소 3회 반복 실험하였다.

혈액 내 백혈구 세포 분리 및 시료처리

건강한 성인남성으로부터 채혈한 신선한 전혈을 Histo-paque 1077(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 이용해 백혈구를 분리한 후 본 실험에 사용하였다. Alkaline comet assay 방법에 따라 분리해 놓은 백혈구에 1, 5, 10, 50 µg/mL의 농도로 처리하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 백혈구를 phosphate buffered saline(PBS)로 세척한 후 인위적인 산화적 스트레스를 유발하기 위하여 200 µM의 H₂O₂를 4°C에 5분간, 250 µM의 ferric-nitritotriacetate (Fe-NTA)와 200 µM의 hydroxynonenal(HNE)을 37°C에서 30분간 각각 처리한 후 PBS로 세척하였다. Positive control을 위해 시료 대신 1% DMSO를 처리한 후 200 µM H₂O₂, 250 µM Fe-NTA, 200 µM HNE를, negative control(NC)은 1% DMSO만을 처리하였다.

Comet assay를 이용한 DNA 손상 측정

반응을 끝낸 백혈구를 75 µL의 0.7% low melting agarose gel(LMA)과 섞은 후 1.0% normal melting agarose (NMA)가 pre-coating된 슬라이드 위로 현탁액이 골고루 분산되게 한 후 커버글라스로 덮어 4°C에 방치하였다. 젤이 굳으면 커버글라스를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75 µL로 덮은 후 4°C에 방치하였다. 젤이 굳으면 차가운 alkali lysis buffer(2.5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris, 1% sodium lauryl sarcosine, 1% Triton X-100, 10% DMSO)에 슬라이드를 담가 암실에서 1시간 동안 침지시킨 후 백혈구를 용해시켜 핵막을 제거하였다. Lysis 과정이 끝난 후 슬라이드를 전기영동수조에 배열하고 4°C의 차가운 electrophoresis buffer(300 mM NaOH, 10 mM Na₂EDTA, pH>13)를 채워 20분 동안 방치하여 DNA의 이중가닥을 풀어주어 alkali labile sites가 드러나게 한 후 25 V/300±3 mA의 전압으로 20분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 차가운 중성용액(0.4 M Tris buffer, pH 7.5)에 5분간 3회 세척한 다음 에탄올에 5분간 침지,

건조시켰다. 20 µg/mL ethidium bromide로 염색한 슬라이드를 형광현미경(LEICA DMLB, Wetzlar, Germany)의 CCD 카메라(Nikon, Tokyo, Japan)를 통해 보내진 세포핵 이미지를 comet image analyzing system(Komet version 5.0, Kinetic Imaging, Liverpool, UK)을 이용해 분석하였다. 백혈구의 산화적 스트레스 유발에 의한 DNA의 손상 정도는 핵으로부터 꼬리 부분으로 떨어져 나간 꼬리 부분 내 DNA 함량(% tail intensity)을 PC 대비 환산값(% of positive control)으로 나타내었다.

통계처리

모든 데이터의 통계처리는 SPSS Windows 14.0(IBM, Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였고 결과는 평균± 표준편차(SD)로 나타내었으며, 신뢰 수준 95%(*P*<0.05)에서 평균값들에 대해 유의성을 검증하였다. Duncan's multiple range test를 이용하여 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다.

결 과

총 폴리페놀 함량(total phenolic content) 분석

사리장의 총 폴리페놀 함량은 1.04±0.01 mg GAE/mL로 나타났다.

항산화 활성 분석

사리장의 DPPH 라디칼 소거능(DPPH RSA)은 Fig. 1과 같다. 사리장의 DPPH 라디칼 소거능은 0.1, 0.5, 1, 10, 20 mg/mL 농도에서 15.5, 16.9, 31.3, 57.7, 72.1%로 라디칼 소거능이 농도 의존적으로 증가하는 결과를 나타내었으며, 라디칼을 50% 저해하는 시료의 농도를 의미하는 IC₅₀값을 계산한 결과, 11.2 mg/mL로 나타났다.

사리장의 총 유리기포집 항산화능(TRAP) 분석 결과, 25 mg/mL에서 0.36 mM, 50 mg/mL에서 0.48 mM, 100 mg/mL에서 1.21 mM로 나타나 농도 의존적으로 증가하는

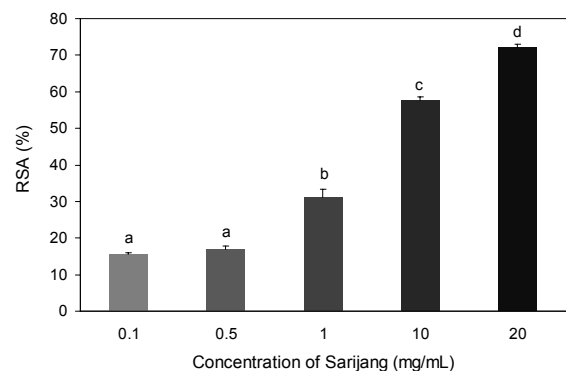


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity (RSA) of Sarijang. Values are mean with standard deviation (n=3). ^{a-d}Significant differences at *P*<0.05 are indicated by Duncan's multiple range test.

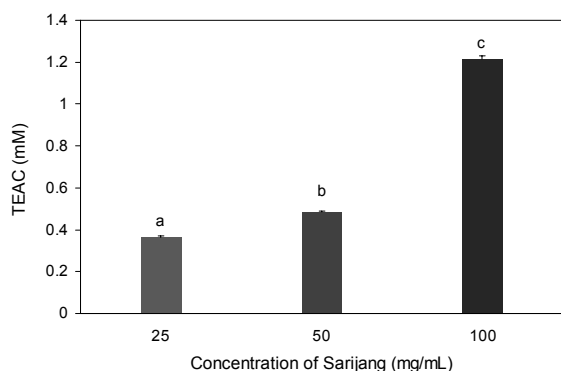


Fig. 2. Total radical trapping antioxidant potential (TRAP) of Sarijang. Values are mean with standard deviation (n=3). ^{a-c}Significant differences at *P*<0.05 are indicated by Duncan's multiple range test.

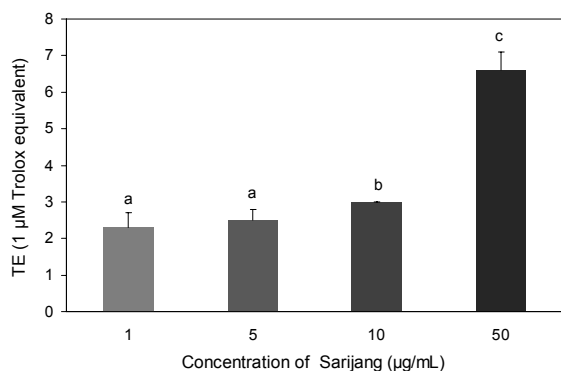


Fig. 3. Peroxyl radical-scavenging capacity of Sarijang. Values are mean with standard deviation (n=3). ORAC values expressed as Trolox equivalents (μM) according to the concentration of Sarijang. ^{a-c}Significant differences at *P*<0.05 are indicated by Duncan's multiple range test.

활성을 보였다(Fig. 2).

ORAC(oxygen radical absorbance capacity) 분석에 의해 측정된 사리장의 농도별 peroxyl radical 소거능은 Fig. 3에 제시하였다. 1, 5, 10, 50 μg/mL의 농도에서 각각 2.3, 2.5, 3.0, 6.6 TE로 농도 의존적 활성 증가를 보였다.

사리장에 의한 HepG2 세포내 활성산소 소거능에 관한 분석 결과는 Fig. 4에 제시하였다. Peroxyl radical generator인 AAPH를 처리하지 않은 negative control(NC)의 활성을 100%로 환산했을 때 시료를 처리하지 않고 AAPH만을 처리한 positive control이 148.8%인데 반해, 사리장을 10, 50, 100 μg/mL로 처리한 군에서는 형광값이 각각 93.6, 92.8, 88.4%로 나타나 PC에 비해 유의적으로 낮은 수치를 나타내었으며, 모든 농도에서의 활성산소 제거 수준은 대조군과 동일한 것으로 나타났다.

산화적 스트레스에 대한 DNA 손상 보호 효과

H₂O₂, Fe-NTA 그리고 HNE로 유도된 산화적 스트레스에 대한 사리장의 백혈구 DNA 손상 보호 효과는 Fig. 5에 제시하였다. 본 연구의 결과 사리장은 모든 산화적 스트레스

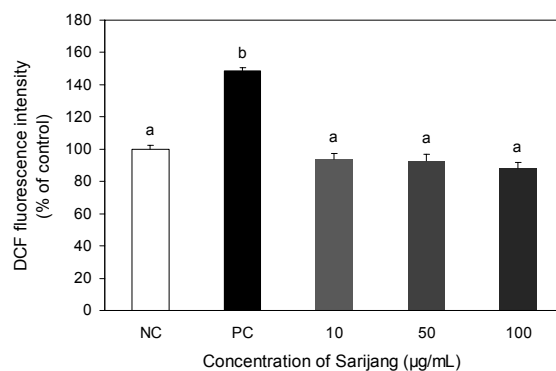


Fig. 4. Cellular antioxidant capacity of Sarijang against AAPH-induced oxidative stress in HepG2 cell model. Values are mean with standard deviation (n=3). ^{a,b}Significant differences at *P*<0.05 are indicated by Duncan's multiple range test.

유발에 대해 농도 의존적 DNA 손상을 감소시키는 것으로 확인되었다. 1, 5, 10, 50 μg/mL 농도로 처리하였을 때, H₂O₂의 경우 양성대조구(PC)를 100%로 환산하였을 때 76.4%, 72.4%, 55.8%, 53.2%로 나타났으며, fenton reaction을 통한 ROS 생성을 촉진하는 Fe-NTA 처리군에서는 61.3%, 56.0%, 46.4% 그리고 43.2%로 농도 의존적 손상 억제능을 보였다. 특히 50 μg/mL 농도 처리 시 NC의 43.9%와 동일한 억제 수준을 나타내었다. 지질과산화물인 HNE에 대한 사리장의 DNA 손상 보호 효과는 각 농도별로 87.9, 74.3, 69.8, 58.7%로 나타나 다른 산화적 스트레스 처리군과 마찬가지로 사리장이 DNA 손상을 농도 의존적 손상 보호 효과를 보이는 것으로 확인되었다. 이를 바탕으로 계산한 IC₅₀은 H₂O₂ 처리군이 13.4 μg/mL, Fe-NTA 처리군이 32.2 μg/mL, HNE 처리군이 59.9 μg/mL로 나타났다.

고 찰

본 연구에서 사용한 사리장은 서목태와 죽염을 기본재료로 하여 발마늘, 유향오리, 유근피를 첨가하여 만든 전통 발효물로서, 본 연구 결과 사리장이 다양한 라디칼 소거능에 대한 항산화 활성 및 산화적 스트레스에 의한 DNA 손상 보호 효과가 있는 것으로 나타났다. 현재까지 사리장의 효능에 대해 보고된 연구로는 Jin 등(6)의 사리장 처리에 의한 수지상세포의 성숙 유도와 Park 등(14)에 의한 lipopolysaccharide에 의해 활성화된 소교세포(BV2 microglia)로부터 유도되는 염증매개물질의 생성에 미치는 사리장의 효과 및 RAW 264.7 대식세포에서 mitogen-activated protein kinases(MAPKs) 경로 활성을 통한 사리장의 면역 활성 증가(15) 등이 있다. 최근 서목태의 콩의 생리활성 물질은 필수아미노산 및 불포화지방산을 비롯하여 phytic acid, triterpene, flavonoid, lignin 등 14종 이상의 phytochemical 외에도 풍부한 안토시아닌이라는 천연 항산화물이 함유되어 있는 것(16)으로 나타났다. 뿐만 아니라 안토시아닌을 포함한 여러 가지 항산화물은 oxygen free radical 소거

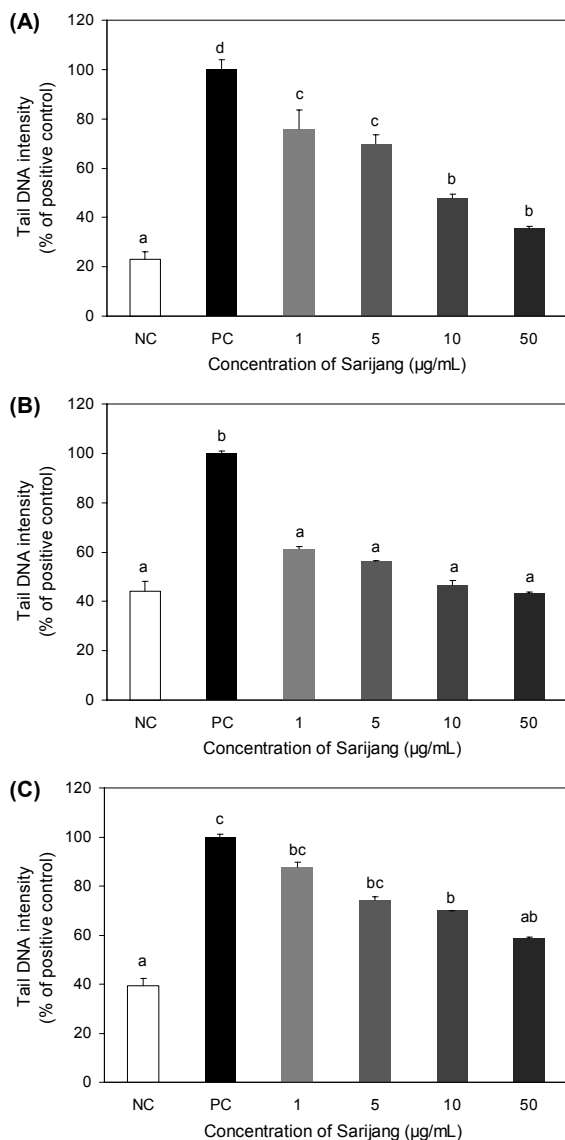


Fig. 5. DNA damage inhibition effect of Sarijang by comet assay. Values are mean with standard deviation (n=3). NC, 1% DMSO treated negative control; PC, (A) 200 µM H₂O₂, (B) 250 µM Fe-NTA, and (C) 200 µM HNE treated positive control. ^{a-d}Significant differences at $P < 0.05$ are indicated by Duncan's multiple range test.

능을 가지며, 항암, 항산화력을 가지는 것으로 선행연구에 의해 밝혀진 바 있다(17).

최근 전통식품에 대한 관심이 증대되면서 발효식품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데 콩의 생리활성 물질들은 발효에 의해 분해되어 새로운 물질로 전환되어 활성이 증대되는 것으로 밝혀진 바 있다(18). Coward 등(19)은 콩 발효 제품인 된장, 미소, 템페 등에는 콩 자체에 다량 함유되어 있는 isoflavone 성분이 발효과정을 거치면서 흡수되기 쉬운 aglycone 형태로 변화되어 genistein과 daidzein의 함량이 높아진다고 보고한 바 있다. 국내에서는 Shin 등(20)의 전통간장과 마늘첨가 간장의 생리활성 비교분석 연구와

Kim 등(21)의 황기 및 표고버섯 첨가 간장의 숙성기간별 품질특성 및 항산화 활성 연구 등에서 일반 전통간장에 비해 마늘이나 표고버섯 그리고 황기 등을 첨가한 간장에서 높은 항산화 활성을 보이는 것으로 나타났다. 간장의 항산화 활성은 숙성에 의해 일어나는 maillard 반응에 의한 melanoidine 함량 변화에 직접적인 영향을 받는 것으로 밝혀진 바 있으며, 이 물질은 질소화합물에서 유래된 저분자 펩타이드 및 아미노산 유래물질인 것으로 추정된다(22,23). 따라서 본 연구에서 나타난 사리장의 항산화 활성 또한 melanoidine에 의한 것으로 생각된다. 이외에도 Ahn 등(24)의 국내 시판된장 및 재래된장의 품질 및 항산화 특성, Lee 등(25)의 천일염 함유 청국장 항산화 효과 그리고 Song 등(26)의 마늘첨가 고추장의 항산화 및 항암 효과 분석 등 다양한 발효식품의 생리활성이 보고된 바 있다. 이러한 연구들의 공통된 결과로는 숙성과정 및 첨가 재료에 의한 다양한 항산화 활성을 보였으며, 특히 기본재료 외에 부재료를 첨가한 발효물의 항산화 활성이 그렇지 않은 것에 비해 높은 것으로 나타나 발효과정에 있어 시너지 작용을 하는 것으로 판단된다. 따라서 사리장 역시 죽염과 마늘, 유향오리 및 유근피 등의 부재료들이 발효에 의해 항산화물 증대에 영향을 미쳤을 것으로 사료되며 다양한 라디칼 소거에 작용하였을 것으로 판단된다. 사리장에 함유되어 있는 항산화물들이 다양한 산화적 스트레스에 의한 DNA 손상 억제에도 긍정적인 영향을 미쳤을 것으로 사료된다. 항산화물은 DNA 변형을 억제하는 항돌연변이 활성이나 DNA 손상 후 회복력에 긍정적인 반응을 유도한다는 것은 선행연구를 통해 알려진 바 있다(27). 그러나 이를 보완하기 위한 생리활성 성분의 탐색과 그들의 특징 조사에 관한 연구가 이루어져야 할 것이며, *in vivo* 모델을 이용한 사리장의 생리활성 연구가 함께 병행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 서목태를 기본으로 하여 제조된 전통 발효물인 사리장의 항산화 활성 분석 및 comet assay를 이용한 DNA 손상 억제 효과를 분석하고자 하였다. 사리장의 총 폴리페놀 함량은 1.04 ± 0.01 mg GAE/mL로 나타났다. 항산화 활성을 분석한 DPPH 라디칼 소거능 및 TRAP는 농도 의존적으로 활성이 증가하였으며, 각각의 IC₅₀은 11.2 mg/mL와 1.2 mM로 나타났다. ORAC 활성 역시 농도 의존적 증가 활성을 나타내었다. 세포의 ROS 소거능(CAC)은 사리장 처리구의 모든 농도(10~100 µg/mL)에서 NC와 동일한 수준의 ROS 억제 활성을 나타내었다. Comet assay를 이용한 DNA 손상 보호 효과는 H₂O₂, Fe-NTA 그리고 HNE에 의한 산화적 스트레스에 의한 DNA 손상을 농도 의존적으로 보호하는 것으로 나타났으며, IC₅₀은 H₂O₂ 처리군이 13.4 µg/mL, Fe-NTA 처리군이 32.2 µg/mL, HNE 처리군이 59.9 µg/mL로 나타났다. 이상의 결과들은 사리장이 항산화

관련 생리활성을 가지는 것으로 판단되며, 향후 사리장에 포함된 생리활성 성분의 탐색과 *in vivo* 모델을 통한 생리활성 연구가 이루어져야 할 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 중소기업청 농공상 융합형 과제(SA114158) 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Jang SO, Lee YJ. 2012. The effect of Yaksun food's on-line word-of-mouth characteristics on function value, satisfaction and loyalty for Yaksun food. *Journal of Foodservice Management Society of Korea* 15: 117-142.
- Cho YJ, Ju IS, Chun SS, An BJ, Kim JH, Kim MU, Kwon OJ. 2008. Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flower. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 276-281.
- Lee MY, Seo CS, Ha H, Jung D, Lee H, Lee NH, Lee JA, Kim JH, Lee YK, Son JK, Shin HK. 2010. Protective effects of *Ulmus davidiana* var. japonica against OVA-induced murine asthma model via up-regulation of heme oxygenase-1. *J Ethnopharmacol* 130: 61-69.
- Day BJ. 2014. Antioxidant therapeutics: Pandora's box. *Free Radic Biol Med* 66: 58-64.
- Eigner D, Scholz D. 1999. *Ferula asa-foetida* and *Curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. *J Ethnopharmacol* 67: 1-6.
- Jin CY, Han MH, Park C, Hwang HJ, Choi EA, Choi YH. 2011. Sarijang enhances maturation of murine bone marrow-derived dendritic cells. *J Life Sci* 12: 1789-1794.
- Chae GY, Ha BJ. 2011. The comparative evaluation of fermented and non-fermented soybean extract on antioxidation and whitening. *Toxicol Res* 27: 205-209.
- Juan MY, Chou CC. 2010. Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of black soybeans by solid state fermentation with *Bacillus subtilis* BCRC 14715. *Food Microbiol* 27: 586-591.
- Lee Y, Park H, Ryu HS, Chun M, Kang S, Kim HS. 2007. Effects of elm bark (*Ulmus davidiana* var. japonica) extracts on the modulation of immunocompetence in mice. *J Med Food* 10: 118-125.
- Nencini C, Cavallo F, Capasso A, Franchi GG, Giorgio G, Micheli L. 2007. Evaluation of antioxidative properties of *Allium* species growing wild in Italy. *Phytother Res* 21: 874-878.
- Choi GH, Kim CH. 2002. Growth inhibition of extract from sulfur fed duck carcass against various cancer cell line. *Korean J Food Sci Ani Resour* 22: 348-351.
- Kurihara H, Fukama H, Asami S, Totoda Y, Nakai M, Shibata H, Yao XS. 2004. Effects of oolong tea on plasma antioxidative capacity in mice loaded with restraint stress assessed using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Biol Pharm Bull* 27: 1093-1098.
- 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.
- Park HY, Choi YH, Choi EA. 2011. Anti-inflammatory effects of Sarijang in lipopolysaccharide-activated BV2 microglial cells. *Cancer Prevention Research* 16: 348-357.
- Park HY, Jeong JW, Choi YH, Choi EA. 2012. Immunostimulating activity of Sarijang through activation of MAPKs signaling pathway in RAW264.7 macrophages. *Cancer Prevention Research* 17: 324-330.
- Messina M. 1995. Modern application for an ancient bean: soybean and the prevention and treatment of chronic disease. *J Nutr* 125: 567S-569S.
- Liao HF, Chen YJ, Yang YC. 2005. A novel polysaccharide of black soybean promotes myelopoiesis and reconstitutes bone marrow after 5-fluorouracil- and irradiation-induced myelosuppression. *Life Sci* 77: 400-413.
- Cui CB, Oh HS, Park JC, Nam KB, Lee DS, Ham SS. 2004. Antioxidative, antimutagenic and cytotoxic effects of functional food manufactured from fermented soybean extract. *Korean J Food Preserv* 11: 214-220.
- Coward L, Barnes N, Setchell K, Barnes S. 1993. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem* 41: 1961-1967.
- Shin JH, Kang MJ, Yang SM, Lee SJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. 2010. Comparison of physicochemical properties and antioxidant activities of Korean traditional *Kanjang* and garlic added *Kanjang*. *J Agric & Life Sci* 44: 39-48.
- Kim HS, Lim JM, Kwon HJ, Yoo JY, Park PS, Choi YH, Choi JH, Park SY. 2013. Antioxidant activity and quality characteristics on the maruration period of the soy sauce containing *Astragalus memvranaceus* and Oak mushroom (*Lentinus edodes*). *Korean J Food Preserv* 20: 467-474.
- Kawamura H. 1983. Seventy years of the Maillard reaction. In *The Maillard Reaction in Foods and Nutrition*. Waller GR, Feather MS, eds. American Chemical Society, Washington, DC, USA. Vol 215, p 3-18.
- Moon GS, Cheigh HS. 1990. Separation and characteristics of antioxidative substances in fermented soybean sauce. *Korean J Food Sci Technol* 22: 461-465.
- Ahn JB, Park JA, Jo H, Woo I, Lee SH, Jang KI. 2012. Quality characteristics and antioxidant activity of commercial *Doenjang* and traditional *Doenjang* in Korea. *Korean J Food & Nutr* 25: 142-148.
- Lee JJ, Kim AR, Chang HC, Lee MY. 2009. Antioxidative effects of *Chungkukjang* preparation by adding solar salt. *Korean J Food Preserv* 16: 238-245.
- Song HS, Kim YM, Lee GT. 2008. Antioxidant and anti-cancer activities of traditional *Kochujang* added with garlic porridge. *J Life Sci* 18: 1140-1146.
- Nencini C, Cavallo F, Capasso A, Franchi GG, Giorgio G, Micheli L. 2007. Evaluation of antioxidative properties of *Allium* species growing wild in Italy. *Phytother Res* 21: 874-878.