

## 대식세포에서 나문재 분말을 함유한 된장의 항염증 효과

길나영 · 최보영\* · 여수환\*\* · †김소영\*\*\*

농촌진흥청 국립농업과학원 발효가공식품과 연구원, \*한국기초과학지원연구원 전주센터 연구원,  
\*\*농촌진흥청 국립농업과학원 발효가공식품과 농업연구관, \*\*\*농촌진흥청 국립농업과학원 발효가공식품과 농업연구사

### Anti-Inflammatory Effect of Fermented *Doenjang* Containing a Halophytes *Suaeda asparagoides* (Miq.) Powder on RAW 264.7 Cells

Na-Young Gil, Bo-Young Choi\*, Soo-Hwan Yeo\*\* and †So-Young Kim\*\*\*

Researcher, Fermented and Processed Food Science Division, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Korea

\*Researcher, Jeonju Center, Korea Basic Science Institute, Jeonju 54907, Korea

\*\*Senior Researcher, Fermented and Processed Food Science Division, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Korea

\*\*\*Junior Researcher, Fermented and Processed Food Science Division, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Korea

#### Abstract

*Suaeda asparagoides* (Miq.) is a salt marsh plant, long been prescribed in traditional medicine for the treatment of hypertension and liver toxification in Asian countries. The powder of *S. asparagoides* was added at the ratio of 0, 5, and 10%, respectively, of grain-type *Meju* to manufacture *Doenjang* in brine according to the salt concentration (8 and 12%). After 24 weeks of fermentation, the *Doenjang* samples were determined to have an anti-inflammatory effect on RAW 264.7 cells. Evaluation of the anti-inflammatory effect of *Doenjang* added *S. asparagoides* powder extracted using 80% EtOH, was performed to study the inhibition of pro-inflammatory factors such as NF- $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B), NO (nitric oxide), TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha), IL-6 (interleukin-6), iNOS (inducible nitric oxide synthase), and COX-2 (cyclooxygenase-2) in lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW 264.7 cells. The results showed that the *Doenjang* extracts reduced the production of NO, IL-6, COX-2, and iNOS increased in the LPS-stimulated RAW cell without cytotoxicity. In the case of the NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  there was no significant difference between the control and samples. In conclusion, these results suggest that *Doenjang* added with the *S. asparagoides* powder acts as functional fermented food with anti-inflammation effect.

Key words: *Doenjang*, *Suaeda asparagoides* (Miq.), anti-inflammation

#### 서 론

된장은 예로부터 탄수화물이 주식인 우리나라 식생활에서 부족하기 쉬운 필수 아미노산 및 지방산을 공급해주는 영양공급원의 역할을 해왔고(Kang 등 2016), 대두 원료로 만든 된장의 기능성에 관한 연구 또한 콜레스테롤 저하(Lee & Mok 2010), 항비만(Bae 등 2013), 혈전용해능 및 항동맥경화(Kim 등 2004; Hyun 등 2005) 등 다양한 생리활성들이 현재 까지도 지속적으로 활발히 이루어지고 있다. 그러나 된장은

발효 과정 중 미생물로 인한 부패를 억제하여 저장성을 높이기 위한 목적으로 사용되는 식염으로 인해 나트륨의 과다섭취, 이로 인한 각종 질병을 유발하는 것과 관련성이 높다고 인식되어 있어 소비자들은 장류 소비에 대한 불안감을 가지고 있다(Kim & Jeong 2016).

염생식물은 염분 농도가 높은 토양에서 생육하는 식물로, 주로 염습지나 간척지 옆 갯벌, 해안가 등에서 서식하는데, 육상식물과는 달리 다양한 무기질이나 페놀성 화합물을 포함한 2차 대사산물이 풍부하여 최근에는 항산화, 항고혈압,

† Corresponding author: So-Young Kim, Junior Researcher, Fermented and Processed Food Science Division, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Korea. Tel : +82-63-238-3610, Fax : +82-63-238-3843, E-mail : foodksy@korea.kr

항암, 항당뇨 등의 다양한 생리활성이 밝혀지면서 유용 생물 자원으로 주목받고 있다(Ksouri 등 2012). 우리나라에 자생하는 염생식물로는 통통마디(*Salicornia herbacea*), 칠면초(*Suaeda japonica*), 나문재(*Suaeda asparagoides* (Miq.)), 갯개미자리(*Spergularia marina*), 가는갯쟁이(*Atriplex gmelinii* C. A. Mey.), 해홍나물(*Suaeda maritima*) 등이 있다(Baik & Chiang 2011). 이러한 염생식물에 관한 연구로는 염생식물의 생리적 기작 및 생태적 특성에 관련된 연구(Min BM 1998)와 암세포 성장 억제 연구(Jung 등 2008), 항산화 효과에 대한 연구(Lee 등 2004) 등 식품산업뿐만 아니라, 다양한 분야에서 관심을 가지고 연구가 진행되고 있다. 대표적으로 잘 알려진 통통마디(*Salicornia herbacea*, 일명 함초)는 그 메탄올 추출물이 동물 실험에서 혈중 콜레스테롤 및 혈중 지질을 감소시켰다는 연구결과가 보고되어 있고, quercetin 및 isorhamnetin 배당체를 분리하여 이들의 free radical 소거 활성능도 보고된바 있다(Jo 등 2002; Min 등 2002; Park & Kim 2004). 또한, 함초에 함유된 플라보노이드 성분의 항산화 작용(Kim 등 2007)과 체중 조절, 항당뇨, 콜레스테롤 저하, 면역 증강 작용에 관한 연구가 진행되어(Kim & Song 1983) 기능성 식품 소재로 다양하게 활용되고 있다. 하지만 이에 반해 나문재(*Suaeda asparagoides* Miq.)에 대해서는 현재까지 나문재의 생리활성 변화(Nam 등 2007), 나문재의 생육 특성과 이용 가능성(Lee & Ryu 2002), 나문재 추출물 함유 크림의 안정성 평가(Jeon 등 2007), 나문재 성분분석(Yang & Park 2008) 등의 보고가 있으며, 음식에 기능성 재료인 나문재를 첨가한 연구에는 식빵(Hong GJ 2011), 스핀지케이크(An 등 2016) 등이 있으나, 기능성 식품으로서 개발 가능성에도 불구하고 지역 주민에게도 귀찮은 잡초로 여겨지고, 염전에서는 번거로운 풀로 인식되어 그 영양적 가치나 항산화 활성, 세포보호 작용 및 약리작용 등에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다.

본 연구에서는 염생식물이 함유한 염분을 이용하여 된장 제조 시 사용하는 식염을 일부 대체하고, 이로 인해 건강식품으로서 된장의 기능성을 증강시키고자 나문재 분말을 첨가한 된장을 제조하여 항염증 효과를 평가하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에 사용된 나문재 분말은 전라남도 신안 지역에서 2016~2017년에 재배되어 열풍 건조하여 분말화한 것을 (주)미가식품 업체에서 2회 구입하였으며, 소금은 전라남도 신안군에서 생산된 3년간 간수를 뺀 천일염을 대형마트에서 구입하였고(CJ), 대두는 대원콩 품종으로 2016년 5월 안동에서 생산된 것을 구입하여 실험에 사용하였다.

### 2. 나문재 분말 첨가 된장의 제조

된장 제조 전, 완성된 된장의 최종 염도를 조절하기 위하여 나문재 분말의 염도(약 20%)를 측정하였으며, 나문재 분말이 가지고 있는 염도를 고려하여 염도 8, 12%의 나문재 분말 첨가 된장을 제조하고자 하였다.

콩알메주의 제조는 Park 등(2002) 또는 Gil 등(2017)의 방법을 참고하여 제조하였으며, 장류용 종균으로 황국균인 *Aspergillus oryzae*(KACC 46471)를 농촌진흥청 국립농업과학원(KACC)에서 분양받아 사용하였다. 배양 배지로 Potato Dextrose Agar(Difco, USA)에 도말하여 30°C에서 48~72시간 배양 후 생리식염수로 포자를 수거하여  $1 \times 10^7$  spore/mL 수로 일정하게 희석하여 접종균을 준비하였다. 일정량의 콩은 세척 후 15시간 수침하여 불린 과정을 거친 후, 1시간 동안 탈수하고, 고압 멸균기(Vision scientific co., Daejeon, Korea)에 121°C에서 60분간 증자하였다. 증자한 콩 무게에서 *Aspergillus oryzae*를 증자 콩 총량의 2% 수준으로 접종하여 항온함습기(Ilsin Lab Co. Ltd., Korea)에 온도 30°C, 상대습도 80%에서 24시간 배양 후 하얗게 균사체가 발견되면 발효를 종료하였다. 완성된 콩알메주를 믹서기(HMF-3500TG, Hanil, Seoul, Korea)를 이용해서 거칠게 갈고, Table 1에 따라 물, 소금, 나문재 분말을 배합하여 된장을 제조하였다. 제조된 된장(약 2 kg)은 밀폐용기에 담아 30°C에서 0~6개월간 발효시키면서 4주간격으로 시료를 채취하여 분석에 사용하였다.

### 3. 세포 배양

세포 배양은 세포주인 RAW 264.7 macrophage cell은 한국 세포주은행(KCLB, Korea Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 세포의 배양을 위하여 10% FBS(Fetal Bovin Serum, Gibco BRL, Rockville, USA), 1% Penicillin/streptomycin(Gibco, Grand Island, NY, USA)가 함유된 DMEM (Dulbecco's Modified of Eagle's Medium, Gibco BRL, CA, USA) 배지를 사용하였으며, 세포주를 활성화시키기 위해 LPS(lipopolysaccharide, Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, MO, USA) 1 µg/mL를 처리하였으며, 양성 대조군은 LPS와 추출물의 처리를 하지 않고 된장의 추출물 처리는 발효기간 별로 농도 10, 50, 100 µg/mL로 처리하여 CO<sub>2</sub> incubator(VS-9160C, Vision Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea)에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 계대배양 횟수는 5~10회 이내이며, 시료 처리 전에 24시간 배양 후 사용하였다.

RAW-Blue cells(InvivoGen, San Diego, USA)은 NF-κB (Nuclear factor-κB)를 측정하기 위한 세포로 RAW 264.7 macrophage cell과 동일한 조건에서 배양하였고, 4~5회 계대 후 Zeocin(InvivoGen, San Diego, CA) 항생제를 처리 후 사용하였다.

**Table 1. The composition of *Doenjang* manufactured according to the concentration of salt and *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder (fix the amount of grain-type *Meju*)**

NaCl	Sample name	Powder (g)	Grain-type <i>Meju</i> (g)	Salt (g)	Water (g)
	8G <sup>1)</sup>	0	1,800	160	40
8%	85N <sup>2)</sup>	110	1,800	154	140
	810N <sup>3)</sup>	240	1,800	144	260
	12G <sup>4)</sup>	0	1,800	264	136
12%	125N <sup>5)</sup>	110	1,800	264	260
	1210N <sup>6)</sup>	240	1,800	260	400

<sup>1)</sup> 8G: control, 8% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

<sup>2)</sup> 85N: 8% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

<sup>3)</sup> 810N: 8% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

<sup>4)</sup> 12G: control, 12% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

<sup>5)</sup> 125N: 12% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

<sup>6)</sup> 1210N: 12% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

#### 4. NF-κB 활성 억제능

면역활성 억제능 평가는 Gil 등(2018)의 방법을 참고하여 수행하였으며, 추출물 시료 제조는 다음과 같다. 각 된장을 5 g 취해 80% 에탄올을 넣고 진탕배양기(Water bath, Wisebath, DH, Korea)에서 3회 추출하였으며, 이를 원심분리하여 상층 액만을 취하여 Whatman No. 2 여과지로 여과한 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 감압 농축 후 동결건조기(Bondiro, Ilshin, Dongducheon, Korea)로 건조하여 시료를 준비하였고, 실험에 사용 전까지 -70°C에서 보관하였다.

본 실험에 사용된 대식세포는 *in vitro*상에서 된장 추출물이 NF-κB pathway를 활성화시키는 지 확인하기 위하여 NF-κB/AP-1 reporter cell line(RAW-Blue™ cells, Invivo Gen, San Diego, USA)으로 mouse RAW 264.7 macrophages에서 유래된 세포로 NF-κB/AP-1-inducible SEAP reporter 유전자를 가지고 있어 면역반응에 의해 자극되면 활성화되어 Quanti blue 지시약에 의해 색이 분홍색에서 파란색계열로 변화한 것으로 활성화 여부를 판단하게 된다. 20 μL의 세포 배양액과 200 μL의 QUANTI-Blue(InvivoGen, San Diego, USA) 지시약을 37°C의 암실에서 15분간 반응시킨 후 Microplate reader(Libra S35, Biochrome Ltd., England)를 이용하여 620 nm의 흡광도에서 측정하였다.

#### 5. Nitric oxide(NO) 생성량 측정

Nitric oxide의 농도는 N-(1-naphthyl)-ethylenediamine, sulfanilamide, 그리고 NO<sub>2</sub>가 반응하여 azo coupling을 이루는데, 이 두 개의 링 형태가 540 nm 파장의 흡광도에서 최대값을 가지는 것을 이용한 Luo 등(1993)의 방법을 변형하여 실시하였다. RAW 264.7 macrophage cell을 24-well plate에 1.0 × 10<sup>5</sup> cells/mL의 농

도로 분주하고, 세포 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 24시간 동안 배양한 후, 된장 추출물을 농도별(10, 50, 100 μg/mL)로 처리하고 4시간 배양 후 LPS를 1 μg/mL의 농도로 처리하여 다시 20시간 동안 배양하였다. 배양 완료 후 세포 배양액 100 μL를 96 well plate에 취하고, Griess reagent(Promega, Madison, USA) 100 μL를 혼합하여 빛을 차단한 상태에서 실온에서 10분간 반응시킨 후, Microplate Reader(Libra S35, Biochrome Ltd., England)를 이용하여 550 nm의 흡광도에서 측정하였다. NO의 함량은 아질산 나트륨(sodium nitrite)으로 표준곡선을 작성하여 산출하였고, 각 시료에 대한 NO의 측정치는 LPS 처리군과 비교하여 NO의 생성량이 줄어든 정도로 판단하였다.

#### 6. 면역활성물질(Cytokine) 생성량 측정

Gil 등(2018)의 방법을 참고하여 NF-κB에 의해 조절되는 cytokine 중 Tumor necrosis factor(TNF-α), Interleukin-6(IL-6)의 생성량을 측정하였다. 24-well plate에 RAW 264.7 macrophage cell을 1.0 × 10<sup>5</sup> cells/mL의 농도로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 새로운 배양액으로 교체한 후 된장 추출물을 10, 50, 100 μg/mL의 농도로 4시간 배양 후 LPS를 1 μg/mL의 농도로 처리하여 다시 20시간 동안 배양하였다. 이후, 1,200 rpm에서 5분간 원심 분리한 상등액을 취하여 효소결합면역흡착검사(Enzymelinked immunosorbent assay, ELISA)를 통해 TNF-α 및 IL-6의 cytokine량을 mouse cytokine kit(Mouse TNF-α, IL-6 ELISA Ready-SET-Go, eBioscience Co., San Diego, California, USA)를 사용하여 측정하였다. 사이토카인(TNF-α와 IL-6)의 항체가 코팅되어 있는 각각의 well plate에 100 μL의 상층액 시료를 넣고, 상온에서 2시간 반응시킨 후 상층액을 제거하고, Tween 20(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)과 PBS를 섞어 만든 washing buffer로 5회 이상 세

척하였다. Detection antibody solution을 넣어 항체와 반응시킨 후, Avidin과 결합된 Horseradish Peroxidase(HRP) enzyme을 넣어 상온에서 15분 동안 반응시켰다. 이후 HRP 효소에 대한 기질로 TMB solution을 넣어 반응시켜 색상의 변화를 확인하였다. 시료에 사이토카인이 생성되어 존재하면 색상의 변화가 나타나므로, 이 변화를 통해 사이토카인(TNF- $\alpha$ 와 IL-6) 생성량을 측정하였다. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 제조한 Stop solution을 넣어 HRP 효소와 TMB 기질의 반응을 종결시킨 후, Microplate reader(Libra S35, Biochrome Ltd., England)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 7. Western blot assay

Kim 등(2016)의 방법을 참고하여 된장 추출물의 항염증 효능을 평가하기 위하여 염증 반응에 직접적으로 관여하는 대표적인 단백질인 COX-2(Cyclooxygenase-2)와 iNOS(Inducible nitric oxide synthase)의 발현에 영향을 미치는지를 Western blot assay를 통해 측정하였다. 100 mm dish에 RAW 264.7 macrophage cell을  $3.0 \times 10^5$  cells/mL의 농도로 분주한 뒤 24 시간 배양하였고, 된장 추출물을 10, 50, 100  $\mu$ g/mL의 농도로 4시간 배양 후 염증 반응을 유도하기 위해 LPS를 1  $\mu$ g/mL의 농도로 처리하여 다시 20시간 동안 배양하였다. 배양 후 세포를 회수하기 위해 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS, Gibco, USA)로 3회 세척 후 세포를 모아 원심분리하여 pellet에 RIPA buffer(GenDEPOT, Barker, TX, USA)를 첨가한 다음, 4°C, 13,000  $\times$  g에서 10분간 원심 분리하고 상등액을 취하여 Microcentrifuge tube에 옮겨 담는다. 단백질 정량은 Bradford(Bio-Rad, Hercules, USA)를 이용하였고, 각각의 시료를 10% SDS polyacrylamide gel에서 전기영동하고, Nitrocellulose membrane(NC membrane)으로 전사하였다. 전사된 NC membrane을 blocking buffer(0.5% BSA in TBS)에서 blocking한 후 1차 antibody(COX-2, iNOS,  $\beta$ -actin; Abcam, Cambridge, UK)를 1:200-1:1,000으로 희석하여 넣고 over night하였다. 다시 2차 antibody(Anti-mouse IgG, Anti-rabbit IgG; Abcam, Cambridge, UK)를 1:1,000으로 희석하여 넣고 1시간 동안 반응시킨 다

음, ECL solution(GE Healthcare, Bio-Sciences Co., Piscataway, NJ, USA)을 반응시켜 Amersham Imager 600(GE Healthcare, Freiburg, Germany)을 사용하여 단백질 발현량을 측정하였다.

### 8. RT-PCR

RAW 264.7 macrophage cell에서 발현되는 분자지표인 iNOS와 COX-2의 유전자 발현에서 된장 추출물이 미치는 영향을 알아보기 위해 Kim 등(2016)의 방법을 참고하여 RT-PCR을 수행하였다. Western blot assay와 동일한 방법으로 세포를 획득하였으며, Total RNA의 추출은 RNeasy mini kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)를 사용하였고, total RNA에서 cDNA의 합성은 oligo dT primer와 amfIRicert cDNA Synthesis Platinum Master Mix(GenDEPOT, USA)를 사용하였다. 이 cDNA를 template로 사용하여 iNOS and COX-2의 유전자를 RT-PCR (Reverse transcription-polymerase chain reaction)으로 증폭하였다. 이 때 housekeeping 유전자인  $\beta$ -actin 유전자를 포함하여 Internal control로 사용하였다. 각 PCR 산물들을 1% agarose gel에 loading하여 100V, 30 min 전기영동하고 safe-pinky DNA Gel staining solution을 이용하여 염색한 후 Amersham imager 600(GE Healthcare, Freiburg, Germany)을 사용하여 UV상에서 관찰하였다. 측정하고자 하는 mRNA를  $\beta$ -actin으로 수치를 정량화 하였고, Image lab statistical software(Bio-Rad, CA, USA)을 사용하여 계산하였다. 각 mRNA primer는 Cosmo Genetech (Seoul, Korea)에서 제작하였으며, Table 2와 같다.

### 9. 염 농도에 따른 나문재의 총폴리페놀 함량 변화

나문재 건조분말을 5 g, 10 g씩 삼각플라스크에 정량하여 담고, 증류수, 8% NaCl, 그리고 12% NaCl 용액을 넣고 Shaker incubator에서 30°C, 180 rpm 조건에서 4시간 shaking한 후 24시간 동안 4°C 저온저장고에 보관하였다가, 5분간 원심 분리(8,000 rpm, 4°C)한 후 상층액만을 취하여 여과하여 분석 시료로 사용하였다.

총폴리페놀 함량 분석을 위해 시료추출물 250  $\mu$ L에 Folin Ciocalteu reagent 1 mL와 1N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 mL를 가하여 혼합한

Table 2. The primers used in this study

Gene		Primer sequences	References
$\beta$ -Actin	Sense	5'-GTGGGCCGCCCTAGGCACCG-3'	Lee et al.(2006)
	Anti-sense	5'-GGAGGAAGAGGATGCGGCAGT-3'	
COX-2	Sense	5'-CACTACATCCTGACCCACTT-3'	Lee et al.(2006)
	Anti-sense	5'-ATGCTCCTGCTTGAGTATGT-3'	
iNOS	Sense	5'-AATGGCAACATCAGTTCGGCCATCACT-3'	Choi et al.(2014)
	Anti-sense	5'-GCTGTGTGTCACAGAAGTCTCGAACTC-3'	

다음 1시간 동안 암실에서 방치한 후 분광광도계를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총폴리페놀 함량은 표준물질로 tannic acid( Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, MO, USA)를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 환산하여 나타내었다.

## 10. 통계처리

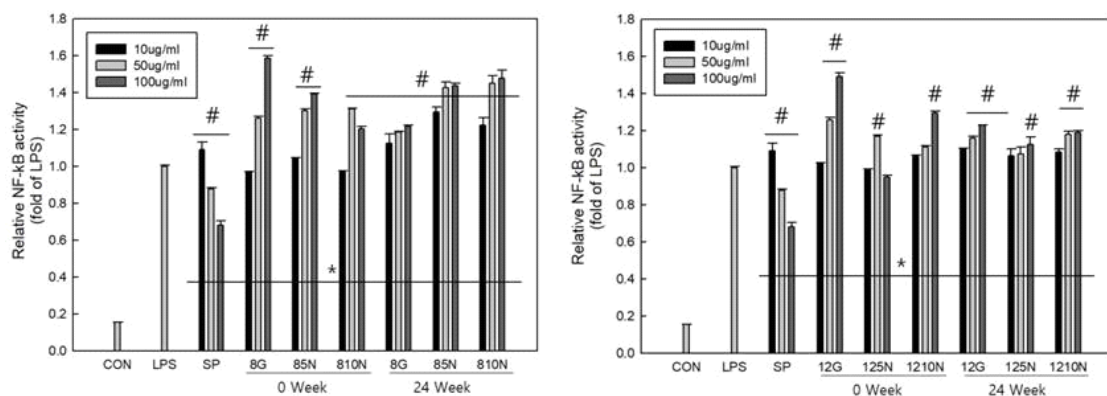
이번 실험에서 도출된 결과들은 3회 반복 실험을 통해 데이터를 생산하고 Mean±SEM으로 나타내었으며, 각 실험구간의 유의성( $p<0.05$ ) 검증을 위해 Statistical Analysis System (version 9.2, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 분산분석(analysis of variance, ANOVA) 및 Duncan's multiple range test로 다중비교를 수행하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. NF-κB 활성 억제능

본 연구는 염생식물 중 나문재에 함유된 염분을 이용하여 된장 제조 시 사용하는 식염을 일부 대체하여 만든 6개월 간 발효시킨 나문재 분말 첨가 된장의 항염증 효과를 평가하고자 수행되었다. 나문재 추출물과 나문재 분말을 첨가하여 제조한 된장의 발효 전후 추출물에 의한 세포 독성을 측정한 결과에서 실험에 사용한 80% 에탄올 추출물 모든 시료들은 well 당 최종 농도를 10, 50, 100 µg/mL로 처리하였을 때 대식세포 RAW 264.7 cell line에 대한 세포독성은 나타나지 않았다(data not shown).

나문재 추출물과 나문재 분말을 첨가하여 제조한 된장의 발효 전후 추출물에 의한 대식세포 활성화를 측정하여 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 대식세포는 LPS로 자극시키면 다양한 염증 인자들이 증가하게 되는데, 그 중 림프구나 대식세포 등이 활성화되어 생성되는 염증 반응 관련 전사인자인 NF-κB의 활성 억제능을 살펴보았다. 그 결과, 나문재 분말 추출물을 50과 100 µg/mL의 농도로 처리한 경우, LPS 자극으로 활성화된 NF-κB 활성을 유의적으로 억제하였고, 10 µg/mL의 낮은 농도로 처리한 경우에는 활성 억제능을 보이지 않았다. 8% 염도로 제조한 된장의 경우, 발효 전의 된장 추출물 중 무첨가 된장(8G), 10% 나문재 분말 첨가 된장(810N) 추출물을 10 µg/mL 농도로 처리한 경우에만 활성 억제능을 나타내었다. 그리고 12% 염도로 제조한 된장의 경우에는 발효 전의 5% 나문재 분말 첨가 된장(125N) 추출물을 10과 100 µg/mL 농도로 처리하였을 때에 LPS 자극으로 활성화된 NF-κB를 억제하였으나 통계적인 유의성은 보이지 않았고, 발효 후의 된장 추출물에서도 NF-κB의 활성 억제능이 거의 나타나지 않았다. NF-κB의 활성화와 면역학적 기능에 관한 연구(Chae SW 2005)에서 NF-κB는 염증반응의 발생과 소실 단계 모두에 관여함으로써 염증반응을 조절하는 중요한 역할을 하게 되는데, 초기에는 친염증성 매개물들을 생산하여 염증반응을 유발시키지만, 후기에는 반염증성 매개물들을 생산함으로써 염증반응의 소실을 유도하는 기능을 함께 한다고 보고하고 있어 이번 실험 결과에서는 나문재 분말의 추출물은 NF-κB의 활성 억제능을 보였으나, 나문재를 된장에 분말 상



**Fig. 1. Effects of Doenjang extract with *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder on the production of NF-κB in lipopolysaccharide(LPS, 1 µg/mL)-induced RAW-Blue cell.** NF-κB were carried out as described in Materials and Methods. The data represent the mean±SD of triplicate experiments. \*  $p<0.05$  VS. control, #  $p<0.05$  VS. LPS. SP: extract of *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 8G: control, 8% NaCl Doenjang added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 85N: 8% NaCl Doenjang added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 810N: 8% NaCl Doenjang added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 12G: control, 12% NaCl Doenjang added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 125N: 12% NaCl Doenjang added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

태로 첨가하였을 때는 발효 과정에서 미생물의 작용에 의해 생성된 대사산물의 변화로 인해 NF- $\kappa$ B 활성 억제능이 보이지 않은 것으로 사료된다. 그러나 본 연구와 다른 방법으로 Park JM(2005)은 나문재 추출물에 의한 MCP-1 mRNA 발현 억제, 염증성 사이토카인 조절 등 항염증 효과를 보고하고 있어 나문재의 기능성 소재로서의 개발 가능성을 확인할 수 있었다.

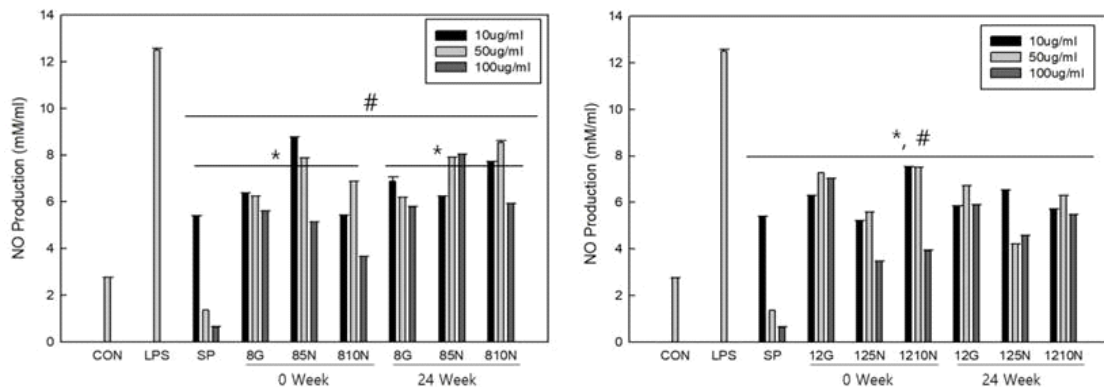
## 2. Nitric oxide(NO) 생성량 측정

나문재 에탄올 추출물과 나문재 분말을 첨가하여 제조한 된장의 발효 전후 추출물에 의한 LPS 자극되어 활성화된 대식세포의 NO 생성량을 측정하여 결과를 Fig. 2에 나타내었다. Kim 등 (2017)은 NO는 활성산소의 일종으로 염증 유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 높은 반응성을 가진 생체 생성분자로서 NOS(Nitric oxide synthase)에 의해 L-arginine으로부터 생성되는데, 특히 iNOS(Inducible NOS)가 염증 반응에 관여하며, TNF- $\alpha$ , LPS와 같은 염증성 cytokine의 자극이 있을 때 발현된다고 보고하고 있는데, 이번 실험에서는 염증 유발물질로 LPS를 처리하여 RAW 264.7 cell을 자극한 후 각각 나문재와 된장 추출물을 처리한 세포배양액 중에 생성된 NO의 양을 측정하였는데, LPS만 처리한 경우 NO 생성량은 12 mM/mL 이상으로 가장 높은 값을 나타내었고, 나문재 분말 추출물과 된장 추출물의 처리로 인해 그 양이 유의적으로 감소되는 경향을 보였다. 그리고 나문재 분말 추출

물은 농도 의존적으로 NO 생성량이 감소한 반면, 나문재 분말을 첨가한 된장의 추출물에서는 농도 의존적으로 감소하지 않았다. 발효 전 8% 염도 된장 추출물 중 10% 나문재 분말 첨가 된장(810N) 추출물을 100  $\mu$ g/mL 처리한 경우 가장 낮은 NO 생성량을 보였고, 발효 후에는 무첨가 된장(8G), 10% 나문재 분말 첨가 된장(810N) 추출물을 100  $\mu$ g/mL 처리했을 때 낮은 NO 생성량을 보였다. 12% 염도 된장 추출물에서는 발효 전후 모두 5% 나문재 분말 첨가 된장(125N) 추출물을 100  $\mu$ g/mL 처리한 경우 가장 낮은 NO 생성량을 보였다. 발효 후 염도별 비교에서는 8% 염도의 된장 추출물보다 12% 염도의 된장에서 다소 감소된 것을 관찰할 수 있었는데, 염 농도가 다른 조건에서 나문재 된장 내 함유되어 있는 유용성분의 추출이 용이해져 이로 인한 효과가 높아진 것으로 판단된다.

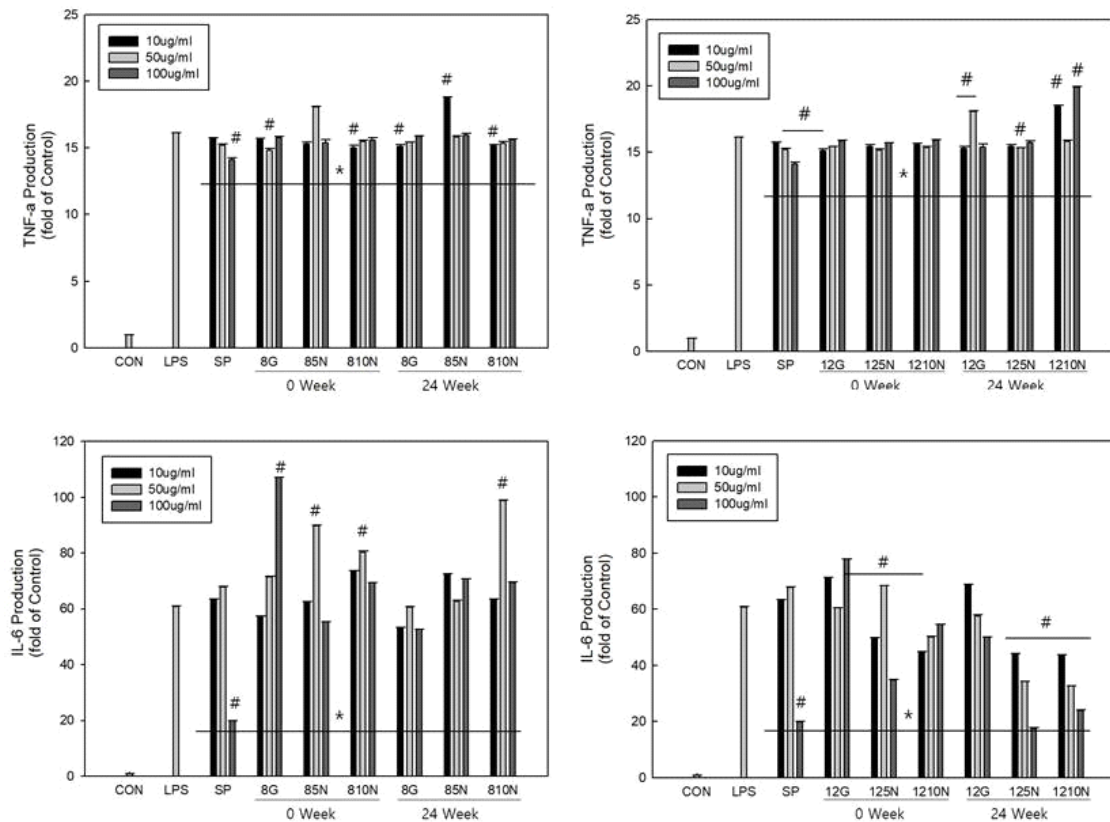
## 3. 면역세포 활성물질(Cytokine) 생성량 측정

나문재 추출물과 나문재 분말을 첨가하여 제조한 된장의 발효 전후 추출물에 의한 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 cytokine 생성량 측정 결과는 Fig. 3에 각각 나타내었다. Lee & Shin(2013)의 보고에 따르면 cytokine 중에서 TNF- $\alpha$ , IL-6는 대표적인 염증성 cytokine은 림프구나 대식세포 등 면역세포가 LPS로 자극되면 다양한 염증인자들이 증가하게 되는데, 그 중 염증반응에 관여하는 것으로 알려진 전사인자 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 생성량의 변화를 측정하여 항염증 활성을 평가하였다.



**Fig. 2.** Effects of *Doenjang* extract with *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder on the production of NO in lipopolysaccharide (LPS, 1  $\mu$ g/mL)-induced RAW 264.7 cell. NO were carried out as described in Materials and Methods. The data represent the mean $\pm$ SD of triplicate experiments. \*  $p$ <0.05 VS. control, #  $p$ <0.05 VS. LPS. SP: extract of *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 8G: control, 8% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 85N: 8% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 810N: 8% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 12G: control, 12% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 125N: 12% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 1210N: 12% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.





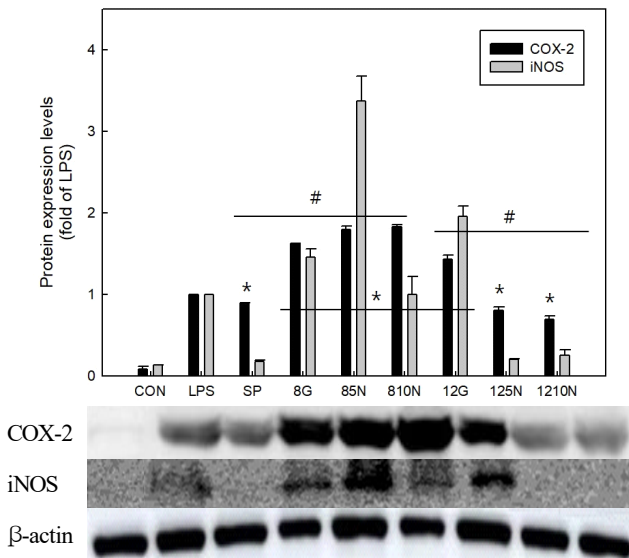
**Fig. 3. Effects of *Doenjang* extract with *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder on the production of TNF- $\alpha$  and IL-6 in lipopolysaccharide (LPS, 1  $\mu$ g/mL)-induced RAW 264.7 cell.** The data represent the mean $\pm$ SD of triplicate experiments. \*  $p < 0.05$  VS. control, #  $p < 0.05$  VS. LPS. SP: extract of *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 8G: control, 8% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 85N: 8% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 810N: 8% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 12G: control, 12% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 125N: 12% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 1210N: 12% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

먼저, LPS 처리로 인해 생성된 TNF- $\alpha$ 의 양을 측정한 결과, 나문재 분말 추출물 처리군은 농도 의존적으로 LPS 처리로 인해 생성된 TNF- $\alpha$ 를 감소시켜, Park JM(2005)의 연구결과에서 유기용매로 추출한 나문재 분획물이 LPS를 처리한 대식세포에서는 염증성 사키토카인인 TNF- $\alpha$ 에는 효과를 나타내지 않았다는 보고와는 상이하였다. 그러나 나문재 분말이 첨가된 모든 된장 추출물 시료들에서는 TNF- $\alpha$  생성량에는 뚜렷한 감소 효과를 보이지 않았다. 반면에 LPS 처리로 인해 생성된 IL-6의 양을 측정한 결과, 나문재 분말 추출물의 경우 100  $\mu$ g/mL의 농도로 처리했을 때, 가장 높은 감소 효과를 보였다. 된장 추출물의 경우에는 8% 염도의 된장 추출물에서는 나문재의 첨가 유무나 발효 전후에 따른 효과를 보이지 않았다. 12% 염도의 된장 추출물의 경우 발효 전에는 효과를 보이지 않은 반면, 발효 후에 농도 의존적으로 감소하였고, 나문재 무첨가 된장보다 나문재의 첨가 된장의 감소효과가

컸지만, 나문재 함량에 따른 차이는 통계학적으로 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 염도별 비교에서는 NO와 동일하게 8% 염도의 된장 추출물보다 12% 염도의 된장에서 다소 감소된 것을 관찰할 수 있었다.

#### 4. 염증유발 단백질 발현량 측정

나문재 추출물과 나문재 분말을 첨가하여 제조한 발효 후 된장 추출물에 의한 대식세포의 염증 유발 단백질 발현량 측정 결과는 Fig. 4와 같다. LPS로 염증이 유발된 RAW 264.7 cell에 추출물의 처리가 염증 유발에 관여하는 단백질인 COX-2, iNOS의 발현에 미치는 효과를 Western blot을 통하여 확인하였다. 세포 내에 존재하지 않는 iNOS가 LPS 자극에 의해 유도되면 NO를 생성하여 혈관확장, 세포독성, 조직 손상과 같은 작용을 하며 염증을 심화시키는 것으로 알려져 있다(Ryu 등 2003).



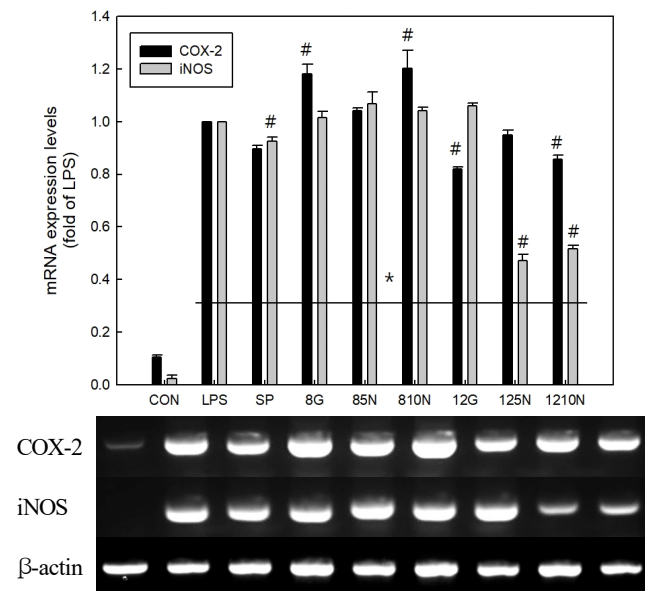
**Fig. 4.** Effects of *Doenjang* extract(100 $\mu$ g/mL) with *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder on the protein expression levels of COX-2 and iNOS in lipopolysaccharide (LPS, 1  $\mu$ g/mL)-induced RAW 264.7 cell. Untreated represents the negative control without LPS treatment.  $\beta$ -actin was used as an internal control. Data represent the mean $\pm$ S.D. with three separate experiments. Values are expressed as the mean $\pm$ SD (n=3). \*  $p$ <0.05 VS. control, #  $p$ <0.05 VS. LPS. SP: extract of *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 8G: control, 8% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 85N: 8% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 810N: 8% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 12G: control, 12% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 125N: 12% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 1210N: 12% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

그 결과, LPS에 의해 유도된 COX-2, iNOS 단백질 발현은 발효 후의 된장 추출물을 처리했을 때, 나문재 분말 추출물과 12% 염도의 나문재 분말 첨가 된장 추출물에서 유의적인 감소 효과를 보였으며, 발현량이 감소한 것을 육안으로도 확인할 수 있었다. 반면 8% 염도의 된장은 나문재 첨가 유무에 상관없이 대식세포의 염증 유발 단백질 발현량이 늘어나 항염증 효과를 확인할 수 없었다. 이러한 결과는 앞에서 살펴본 NO 및 염증성 사이토카인(IL-6) 생성량이 감소되는 결과와 상관성이 있는 결과라 보인다. Park JM(2005)은 나문재 추출물의 항산화, 항염증, 항변비 및 간보호 효과 등이 있고, 나문재의 주성분인 flavonoid계열 화합물 (quercetin, isorhamnetin 및 그 배당체)에 의한 활성으로 보고하고 있어, 본 연구 결과

에서 나문재 분말 추출물과 이를 함유한 된장에서 항염증 효과를 높이는데, 이들 기능성 물질이 영향을 주었을 것으로 사료된다.

#### 5. 염증유발 mRNA 유전자 발현량 및 총폴리페놀 함량 측정

나문재 추출물과 나문재 분말을 첨가하여 제조한 발효 후 된장 추출물에 의한 대식세포의 mRNA 발현량 측정 결과는 Fig. 5와 같다. LPS로 염증이 유발된 RAW 264.7 cell에 추출물의 처리가 염증 유발에 관여하는 단백질인 COX-2, iNOS의 발현에 미치는 효과를 RT-PCR을 통하여 mRNA 수준에서 확인하였다.



**Fig. 5.** Effects of *Doenjang* extract with *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder on the mRNA expression levels of COX-2 and iNOS in lipopolysaccharide (LPS, 1  $\mu$ g/mL)-induced RAW 264.7 cell. Untreated represents the negative control without LPS treatment.  $\beta$ -actin was used as an internal control. Data represent the mean $\pm$ S.D. with three separate experiments. Values are expressed as the mean $\pm$ SD (n=3). \*  $p$ <0.05 VS. control, #  $p$ <0.05 VS. LPS. SP: extract of *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 8G: control, 8% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 85N: 8% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 810N: 8% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 12G: control, 12% NaCl *Doenjang* added with 0% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 125N: 12% NaCl *Doenjang* added with 5% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder, 1210N: 12% NaCl *Doenjang* added with 10% *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.



그 결과, COX-2의 경우 나문재 분말 추출물과 8% 염도의 된장에서는 효과를 보이지 않았으나, 12% 된장과 나문재 분말이 10% 첨가된 된장의 추출물에서는 유의적인 감소효과를 보였다. LPS로 유도된 iNOS의 mRNA 발현량은 나문재 분말 추출물에서 약간의 유의적인 감소를 보였으며, 8% 된장의 추출물에서는 효과를 보이지 않았고, 12% 염도의 나문재 첨가 된장 추출물에서 유의적으로 뚜렷한 감소를 보여 단백질 발현량과 일치하였다. *In vitro*상 세포실험에서는 높은 활성을 보인 나문재 분말 추출물의 경우 mRNA 수준에서는 그 효과가 확인되지 않은 반면, 항염증 효과를 나타내었던 발효 후 12% 염도의 된장 추출물의 경우에는 COX-2, iNOS 발현에서 8% 염도의 된장 추출물에 비해 뚜렷하게 감소 효과를 나타내었다.

위에서 도출된 결과와의 상관성을 찾기 위해 Table 3에 나타난 것처럼 추가적으로 8과 12% 염도를 달리한 NaCl 용매를 사용하여 나문재 분말 추출물(5~10%)을 제조하여 총폴리페놀 함량변화를 측정해 본 결과, 증류수를 사용한 대조군보다 NaCl이 포함된 8%, 12% 용매를 가지고 추출한 경우 각각  $364.23 \pm 10.35$ ~ $639.39 \pm 7.17$ 와  $393.66 \pm 1.06$ ~ $702.48 \pm 0.00$ 로 대조군( $170.23 \pm 1.22$ ~ $204.95 \pm 0.51$ )에 비해 2배 이상 총폴리페놀 함량이 높아졌다. 이를 근거로 식물 중에 함유되어 있는 유효성분이 염도가 높은 환경에서는 삼투압 작용에 의해 추출수율이 높아질 수 있어, 이번 연구결과에서 8% 염도의 나문재 분말 첨가 된장에 비해 12% 된장에서 항염증 효과가 높게 나타난 것과 상관성이 있다고 판단된다.

결론적으로, 염증유발물질인 LPS 처리로 유도된 대식세포에서 발효된 나문재 분말 첨가 된장이 다른 군과 비교했을 때, NO 생성을 감소시키고, 염증성 인자인 iNOS, TNF- $\alpha$ , COX-2, IL-6 등의 단백질 또는 유전자 발현을 억제시켜 항염증 효과를 나타내었고, 특히 6개월 발효된 12% 염도의 나문재 분말 첨가 된장이 8% 된장 및 나문재 분말 추출물 등에 비해 높은 항염증 효과를 보여, 이와 같은 결과는 건강기능성이 강화된 장류 개발에 활용 가능할 것으로 사료된다.

**Table 3. The composition of *Doenjang* manufactured according to the concentration of salt and halophyte powder (fix the amount of grain-type *Meju*)**

SA powder <sup>1)</sup>	The content of total polyphenol (ppm) according to NaCl solution		
	0%	8%	12%
5%	$170.23 \pm 1.22$ <sup>2)</sup>	$364.23 \pm 10.35$	$393.66 \pm 1.06$
10%	$204.95 \pm 0.51$	$639.39 \pm 7.17$	$702.48 \pm 0.00$

<sup>1)</sup> SA: *Suaeda asparagoides* (Miq.) powder.

<sup>2)</sup> The data represent the mean $\pm$ SD of triplicate experiments.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 된장 제조 시 나문재 분말을 첨가하여 품질과 맛의 향상, 그리고 기능성이 강화된 제품을 제조하고자 중균을 첨가한 콩알메주에 나문재 분말을 혼합하여 염도별 된장을 제조하여 LPS를 자극시켜 대식세포인 RAW 264.7 macrophage cell에 대한 항염증 효과를 평가하고자 하였다. 나문재 분말을 첨가한 된장을 제조하기 위하여 황국균을 이용해 콩알메주를 만들었으며, 여기에 최종 된장 염도가 8, 12%가 되도록 나문재 분말과 소금을 첨가하여 조정하였다. 나문재 분말과 나문재 분말을 첨가하여 제조한 된장의 에탄올추출물로 대식세포인 RAW 264.7 macrophage cell에 처리하여 항염증 효과를 평가한 결과, 실험에 사용된 추출물시료에서 세포독성은 없었으며, NF- $\kappa$ B는 나문재 분말 추출물을 50과 100  $\mu$ g/mL의 농도로 처리한 경우에만 NF- $\kappa$ B 활성 억제능을 나타내었고, 된장 추출물의 경우 나문재 분말 첨가 여부와 무관하게 8% 식염농도의 된장 추출물을 10  $\mu$ g/mL로 처리하였을 때만 약간의 활성을 나타내었다. 반면, LPS 처리군의 경우 NO 생성량이 가장 높았으나, 나문재 분말 추출물과 된장 추출물의 처리로 인해 그 양이 유의적으로 감소되는 경향을 보였다. Cytokine 생성량 측정 결과, TNF- $\alpha$ 에서는 유의적 차이를 보이지 않았으나, IL-6에서는 12% 염도의 나문재 분말 첨가 된장의 추출물에서 농도 의존적으로 생성량을 낮추는 것을 확인하였다. 또한 Western blot assay 결과, 12% 된장의 추출물에서 COX-2, iNOS 단백질 발현이 억제된 것을 관찰하였으며, RT-PCR을 통한 COX-2와 iNOS의 mRNA 발현량 변화에서는 12% 염도의 나문재 분말 첨가 된장의 추출물에서 뚜렷한 감소효과를 확인하였다. 이상의 결과로부터 나문재 분말 자체의 *in vitro*상 항염증 효과를 확인하였고 이를 된장 제조 시 첨가하여 발효시킨 12% 염도의 나문재 분말 첨가 된장에서도 무첨가 된장에 비해 높은 항염증 효과를 확인하였다. 따라서 나문재 분말을 첨가한 된장은 염증 인자에 대한 상당한 영향을 미치기 때문에 항염증과 관련된 기능성이 강화된 식품을 개발하는데 활용 가능할 것으로 기대된다.

## 감사의 글

이번 연구는 농촌진흥청 농업기초기반연구사업(PJ013418)의 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

## References

An HK, Cho SG, Hong GJ. 2016. The characteristics of sponge

- cake added with *Suaeda asparagoides*. *Culin Sci Hosp Res* 22:1-10
- Bae CR, Kwon DY, Cha YS. 2013. Anti-obesity effects of salted and unsalted *Doenjang* supplementation in C57BL/6J mice fed with high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1036-1042
- Baik JA, Chiang MH. 2011. Effects of different soil on the growth of *Salicornia herbacea*. *J Bio-Environ Control* 20: 216-220
- Chae SW. 2005. Function and activation of NF- $\kappa$ B in immune system. *Korean J Otolaryngol* 48:284-288
- Choi HS, Seo HS, Kim SR, Choi YK, Shin YC, Ko SG. 2014. Anti-inflammatory and anti-proliferative effect of herbal medicines (APR) in RAW264.7 cells. *Mol Med Rep* 9:1569-1574
- Gil NY, Choi BY, Park SY, Cho YS, Kim SY. 2017. Physico-chemical properties of *Doenjang* using grain type *Meju* fermented by *Aspergillus oryzae* and protease. *Korean J Food Preserv* 24:697-706
- Gil NY, Lee SM, Mun JY, Yeo SH, Kim SY. 2018. Screening of immunoactive ingredients in frequently consumed food in Korea. *J Biomed Transl Res* 19:92-102
- Hong GJ. 2011. Bread development and usage plan of added halophyte *Suaeda glauca* and *Spergularia marina*. Ph.D. Thesis, Kyonggi Univ. Korea
- Hyun KW, Lee JS, Ham JH, Choi SY. 2005. Isolation and identification of microorganism with potent fibrinolytic activity from Korean traditional *Deonjang*. *Korean J Microbiol Biotechnol* 33:24-46
- Jeon SM, Ahn JY, Park SN. 2007. A study on the stability test for the cream containing *Suaeda asparagoides* extract. *J Soc Cosmet Sci Korea* 33:231-238
- Jo YC, Ahn JH, Chon SM, Lee KS, Bae TJ, Kang DS. 2002. Studies on pharmacological effects of glasswort (*Salicornia herbacea* L.). *Korean J Med Crop Sci* 10:93-99
- Jung BM, Park JA, Bae SJ. 2008. Growth inhibitory and quinone reductase induction activities of *Salicornia herbacea* L. fractions on human cancer cell lines *in vitro*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:148-153
- Kang HJ, Kim JH, Kim RR, Kim KS, Hong SP, Kim MJ, Yang HJ. 2016. Quality characteristics and composition profile of traditional *Doenjang* and manufactured *Doenjang* during storage time. *Korean J Food Nutr* 29:785-794
- Kim CS, Song TG. 1983. Ecological studies on the halophyte communities at western and southern coasts in Korea(IV)-the halophyte communities at the different salt marsh habitats. *Korean J Ecol* 6:167-176
- Kim DH, Song HP, Kim KY, Kim JO, Byun MW. 2004. A correlation between fibrinolytic activity and microflora in Korean fermented soybean products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33:41-46
- Kim EJ, Jang YJ, Kim SY, Choi HS, Park SY. 2016. Protective effects of quality certified traditional *Doenjang* in Korea on TNF- $\alpha$ -induced vascular inflammation in human umbilical vein endothelial cells. *Korean J Food Preserv* 23:378-386
- Kim EJ, Song BN, Jeong DS, Kim SY, Cho YS, Park SY. 2017. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of fermented turmeric (*Curcuma longa* L.) by *Rhizopus oryzae*. *J Life Sci* 27:1315-1323
- Kim JB, Choe SN, Choe KH, Lim SH, Chai SJ. 2007. Funtional components of holophyte-antioxidant substances in *Salicornia herbacea* L. *J Fish Mar Sci Educ* 19:197-205
- Kim SH, Jeong YJ. 2016. Domestic and international trends in sodium reduction and practices. *Food Sci Ind* 49:25-33
- Ksouri R, Ksouri WM, Jallali I, Debez A, Magne C, Hiroko I, Abdelly C. 2012. Medicinal halophytes: Potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. *Crit Rev Biotechnol* 32:289-326
- Lee HJ, Hyun EA, Yoon WJ, Kim BH, Rhee MH, Kang HK, Cho JY, Yoo ES. 2006. *In vitro* anti-inflammatory and anti-oxidative effects of *Cinnamomum camphora* extracts. *J Ethnopharm* 103:208-216
- Lee HJ, Kim YA, Ahn JW, Lee BJ, Moon SG, Seo YW. 2004. Screening of peroxyxynitrite and DPPH radical scavenging activities from salt marsh plants. *Korean J Biotechnol Bioeng* 19:57-61
- Lee JO, Ryu CH. 2002. Preparation of low salt *Doenjang* using by nisin-producing lactic acid bacteria. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31:75-80
- Lee JY, Mok CK. 2010. Changes in physicochemical properties of low salt soybean paste (*Doenjang*) during fermentation. *Food Eng Prog* 14:153-158
- Lee MS, Shin KS. 2013. Macrophage activation by polysaccharides from Korean's commercial and traditional soy sauces. *Korean J Food Nutr* 26:797-805
- Luo D, Knezevich S, Vincent SR. 1993. N-methyl-d-aspartate-induced nitric oxide release: An *in vivo* microdialysis study. *Neuroscience* 57:897-900

- Min BM. 1998. Vegetation on the west coast of Korea. *Ocean and Polar Res* 20:167-178
- Min JG, Son KT, Kim JH, Kim TJ, Park JH. 2002. Physiological and functional properties of *Salicornia herbacea* (tungtungmadi) leaf extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 7:261-264
- Nam YK, Baik JA, Chiang MH. 2007. Effects of different NaCl concentrations on the growth of *Suaeda asparagoides*, *Suaeda maritima* and *Salicornia herbacea*. *Korean J Soil Sci Fert* 40:349-353
- Park BJ, Jang KS, Kim DH, Yook HS, Byun MW. 2002. Changes of microbiological and physicochemical characteristics of *Doenjang* prepared with low salt content and gamma irradiation. *Korean J Food Sci Technol* 34:79-84
- Park JM. 2005. *In vitro* antioxidative and anti-inflammatory effects of solvent-extracted fractions from *Suaeda asparagoides* Miq. Master's Thesis, Chungnam National Univ. Daejeon. Korea
- Park SH, Kim KS. 2004. Isolation and identification of antioxidant flavonoids from *Salicornia herbacea* L. *J Korea Soc Appl Biol Chem* 47:120-123
- Ryu JH, Ahn H, Kim JY, Kim YK. 2003. Inhibitory activity of plant extracts on nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophages. *Phytother Res* 17:485-489
- Yang HJ, Park SN. 2008. Component analysis of *Suaeda asparagoides* extracts. *J Soc Cosmet Sci Korea* 34:157-165

---

Received 일 월, 2019

Revised 일 월, 2019

Accepted 일 월, 2019