

죽염 처리 청국장의 기능성 증진

부산대학교 식품영양학과

김수옥 · 박수영 · 이숙희 · 박건영

Increased Functional Properties of Chungkukjang Prepared with Bamboo Salt

Su-Ok Kim, Su-Young Park, Sook-Hee Rhee and Kun-Young Park

Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

In order to investigate the effect of variety of salt on the functional properties of chungkukjang preparation, we prepared chungkukjangs with various kinds and contents of salt (purified salt: hanju salt, chunil salt and bamboo salt). The antioxidative effect, antimutagenicity, cancer cell growth inhibitory effect and fibrinolytic activity of the chungkukjangs were carried out by DPPH free radical method, Ames test, MTT assay and fibrin plate method, respectively. Chungkukjang prepared with the different kinds of salt had high effects on hydrogen-donating activity and on the inhibition of mutagenicity compared to one prepared without salt. In particular, chungkukjang prepared with 2% bamboo salt (1×) had the highest effects. The chungkukjangs prepared with 2% bamboo salt (1×) inhibited significantly the growth of HT-29 human colon carcinoma cells. However, the chungkukjang prepared with various kinds of salt and various concentrations of bamboo salt (2, 4, 7%) resulted in no differences among samples in AGS human gastric adenocarcinoma cells. The fibrinolytic activity was higher in bamboo salt (1×) added chungkukjang than others and the fibrinolytic activity of the bamboo salt added chungkukjang increased with the increased levels of bamboo salt.

Key Words: Chungkukjang, Bamboo salt, Antioxidation, Antimutagenicity, Fibrinolytic activity

서 론

청국장은 한국인의 식생활에서 중요한 전통적인 대두 발효식품으로 제조기간이 짧고 풍미가 특이하며 영양학적으로도 단백질과 지방 함량이

높은 고영양식품이다. 최근 보고에 의하면 청국장은 발효과정 중 점질성 물질 등 각종 생리활성 물질을 생성하며,¹⁾ 생리 활성 중에는 혈중 콜레스테롤 감소기능, 항돌연변이성, 항암성, 항산화성, 혈전 용해기능 등이 알려져 있다.²⁾ 청국장과 유사한 일본의 전통 발효식품인 낫또(natto)에서

도 발효과정 중 생성되는 단백질 분해효소 중에서 혈전의 주성분인 fibrin을 용해시키는 혈전 용해효소가 확인되었고, 이것을 nattokinase (NK)라고 명명하였으며,³⁾ 이 효소를 경구투여 시 생체 내의 혈전용해능을 높일 수 있었다는 보고가 있었다.⁴⁾ 우리나라의 청국장의 발효에 관여하는 *Bacillus* sp.도 이와 유사한 생리활성 기능을 갖는 혈전용해효소를 생성하며 발효된 청국장도 혈전분해활성이 있음이 확인되었다.^{5,6)} 보통 청국장은 맛을 향상시키거나 저장성을 증가시키기 위해 발효 후에 2~7% 정도의 소금을 첨가한다.⁷⁾ 한편 우리나라는 소금 섭취량이 일반적으로 많으며, 이로 인해 고혈압 등 성인병 발병률도 높다고 할 수 있다.⁸⁾ 소금에는 여러 종류가 있는데 KS 규격에 따라 정제염의 규격을 원용하면 크게 천일염과 정제염으로 나누어지고 정제염은 기계염과 가공염으로 분류된다.⁹⁾ 천일염은 서해안의 해수를 모아 태양열과 바람에 의해 수분을 증발시켜 염의 결정을 얻은 것이다. 이에 비해 고도로 정제된 기계염은 바닷물을 끌어 들여 이온 교환막을 이용해 염화나트륨만을 추출한 소금(한주소금)으로 대량생산을 한다. 최근에 시중에 나와 있는 가공염은 가열공정을 거쳐 가공하는 방법이 공통적이다. 그 중에서도 죽염은 우리나라의 사찰 등지에서 제조되어 오던 가공염의 일종으로 천일염을 대나무 속에 다져 넣고 대나무 입구는 진흙을 반죽하여 봉한 후 가마에서 1,000~1,300°C로 8회 가열한 후 9번째에는 송진 가루를 장작 위에 뿌려 1,300~1,700°C로 가열하면 소금은 용융되고 식으면 죽염의 결정이 된다.¹⁰⁾ 소금에 대한 연구로는 천일염이나 정제염보다는 구운 소금, 죽염 등의 가공염이 낮은 보돌연변이 효과를 나타낸다고 보고되고 있고,¹¹⁾ 죽염은 항산화 효과가 있다고 보고된 바 있다.¹²⁾ 양 등¹³⁾의 실험에서는 죽염이 항암효과와 혈압하강 효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 이런 연구는 대부분 소금 자체에 대한 것으로 전통발효식품과 관련된 소금의 연구는 미미하다.

따라서 본 연구에서는 전통발효식품일 뿐만 아니라 기능성 식품인 청국장의 저장성과 기능성을 더욱 증진시키기 위해 발효 후 첨가되는 소

금의 종류를 달리하여 제조한 청국장으로 혈전 용해효소활성, DPPH free radical 소거법을 이용한 항산화효과, Ames test를 이용한 항돌연변이효과, MTT assay를 이용한 암세포성장억제효과 등을 비교하였다.

재료 및 방법

1) 청국장 및 추출물의 제조

먼저 대두를 정선 및 수세하여 1.5배의 물(15°C)에 12시간 침지하고 물빼기 하였다. 이를 고압 멸균기(1.0~1.5 kg/cm²)에서 45분 동안 증자하여 50°C로 냉각한 후 벗짚을 원료에 넣어 40°C incubator에서 72시간(3일) 발효시켰다. 발효가 끝난 청국장에 2~7%의 소금을 첨가, 혼합한 후 동결건조 하였다.⁷⁾ 소금은 천일염, 정제염(한주소금), 죽염(1회 가공)을 사용하였고, 소금의 농도는 각각 2, 4, 7%씩 첨가하였다. 항산화, 항돌연변이 및 항암실험 시에는 건조한 청국장을 메탄올로 추출, 농축한 메탄올 추출물을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 사용하였으며, 혈전용해실험 시에는 phosphate buffer saline (PBS)으로 추출하여 원심분리한 후 상층액을 이용하였다.

2) DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성 측정

각 시료의 항산화 효과를 측정하기 위해 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl, Sigma, USA)에 대한 전자공여능(electron donating ability)을 측정하였다. 희석한 시료 100 µl를 96well plate에 넣은 후 메탄올에 녹인 60 µM DPPH 시액 100 µl를 가하고 실온에서 30분간 정치 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.¹⁴⁾

3) 항돌연변이 효과

Salmonella typhimurium TA100균주를 이용하여 histidine 요구성, deep rough (*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하여 사용하였고, 돌연변이 유발물질인 aflatoxin B₁ (AFB₁)는 Sigma사에서 구입하여 DMSO에 녹여서 사용하였다.

Preincubation mutagenicity test¹⁵⁾는 S9 mixture 0.5 ml, 하룻밤(12 hr) 배양된 균주($1\sim 2 \times 10^9$ cells/ml) 0.1 ml, 희석된 시료($50 \mu\text{l}$)와 돌연변이 유발 물질($50 \mu\text{l}$)을 cap tube에 넣고, 45°C 의 top agar 2 ml씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C 에서 48시간 배양한 후 형성된 복귀돌연변이의 colony 수를 계수하였다.

4) MTT assay

실험에 이용한 AGS 인체 위암세포(AGS human gastric adenocarcinoma cell)와 HT-29 인체 결장암세포(HT-29 human colon adenocarcinoma cell)는 한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 분양받아 배양하면서 실험에 사용하였다. 암세포는 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640을 사용하여 37°C , 5% CO_2 incubator에서 배양하였다. 배양된 각각의 암세포는 일주일에 2~3회 refeeding하고 6~7일 만에 PBS로 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하여 원심분리한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 끌고 루 분산되도록 잘 혼합하여 75 ml cell culture flask에 5 ml씩 분할하여 주입하고 계속 6~7일 마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

시료의 암세포 성장저해효과는 MTT assay¹⁶⁾로 살펴보았다. 배양된 암세포는 96well plate에 well 당 1×10^4 cells/ml가 되게 $180 \mu\text{l}$ 씩 분주하고 시료를 일정농도로 제조하여 $20 \mu\text{l}$ 첨가하여 37°C , 5% CO_2 배양기에서 72시간 배양하였다. 여기에 PBS에 5 mg/ml의 농도로 제조한 MTT (3-(4,5-dimethyl-thiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 용액 $20 \mu\text{l}$ 를 첨가하여 동 배양조건에서 4시간 더 배양하였다. 이를 $550 \times \text{g}$ 에서 10분간 원심분리하여 상정액을 제거하고, 각 well 당 DMSO $150 \mu\text{l}$ 를 가하여 30분간 교반한 후 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 cytotoxicity (암세포성장억제)를 구하였다.

5) 혈전용해효소 활성 측정

10 mM 인산완충용액(pH7.8, 0.15 M NaCl 포함)에 fibrinogen을 0.6%가 되도록 용해시키고, 완

전히 용해된 fibrinogen용액 5 ml에 위와 동일한 인산완충용액에 녹인 1% agarose 용액 5 ml를 첨가하여 충분히 혼합하였다. 여기에 다시 thrombin (100 NIH/ml) 0.1 ml를 첨가하여 혼합한 후 즉시 10 cm plate에 붓고 실온에서 5~10분간 방치하여 고화시킨 다음 fibrin plate당 5~7개의 구멍을 만들어 fibrin 플레이트를 제조하였다.¹⁷⁾ 각 시료 $5 \mu\text{l}$ 를 취하여 fibrin plate의 구멍에 주입하고, 37°C 에서 18시간 반응시킨 다음, fibrin 플레이트의 용해면적을 측정하였다. 대조구로 혈전용해효소인 plasmin (1.0 unit/ml)을 사용하였고, 시료의 혈전용해면적을 비교하여 각 시료의 fibrinolytic activity를 측정하였다.

6) 통계처리

각 시료로부터 얻은 실험자료는 SAS system에서 Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)를 이용하여 통계분석을 하였다.

결 과

1) DPPH free radical 소거활성

청국장 및 첨가 소금(2%) 종류에 따른 청국장의 항산화 효과를 살펴보았다(Table 1). 무염청국장과 한주소금을 첨가하여 제조한 청국장은 2.5 mg/ml의 농도에서 각각 55%, 53%의 수소공여능을 나타내는데 비해, 1회 죽염을 첨가한 청국장은 72%의 효과를 나타내어($p < 0.05$), 소금종류 중 죽염의 첨가는 청국장의 항산화 활성을 높이는 것으로 나타났다.

2) 항돌연변이 효과

소금의 종류에 따른 청국장의 암예방 효과를 측정하기 위해 소금종류를 달리한 청국장을 동결건조한 뒤 메탄올로 추출한 시료로 Ames test를 실시하여 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과를 비교해 보았다(Table 2). 죽염을 첨가한 청국장의 메탄올 추출물이 첨가농도 5 mg/plate에서 59%의 돌연변이 유발억제 효과를 보여 소금을 첨가하지 않은 경우(48%)와 한주소금을 첨가한 청국장(47%)보다 항돌연변이 효과가 높은 것으로 나타났다. 천일염첨가청국장도 이 경우 한주소금첨

Table 1. Antioxidative effects of 2% salt added *chungkukjang* on the DPPH free radical

Sample	OD ₅₄₀	
	1 mg/ml	2.5 mg/ml
DPPH (Control)	0.168 ± 0.001 ^a	0.167 ± 0.002 ^a
<i>Chungkukjang</i> + No salt	0.124 ± 0.001 ^b (26)*	0.076 ± 0.000 ^c (55)
+ Purified (Hanju) salt	0.124 ± 0.001 ^b (26)	0.078 ± 0.001 ^b (53)
+ Chunil salt	0.110 ± 0.000 ^c (35)	0.053 ± 0.002 ^d (68)
+ 1×Bamboo salt	0.104 ± 0.001 ^d (38)	0.047 ± 0.001 ^c (72)

*The values in the parentheses are inhibition rate(%)

^{a-c}Means with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test

Table 2. Effect of the methanol extracts from 2% salt added *chungkukjangs* on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 0.4 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Sample	Revertants/plate	
	2.5 mg/plate	5 mg/plate
Spontaneous AFB ₁ (Control)	53 ± 5	837 ± 15 ^a
<i>Chungkukjang</i> + No salt	533 ± 58 ^c (39)*	458 ± 28 ^b (48)
+ Purified (Hanju) salt	636 ± 45 ^b (26)	467 ± 57 ^b (47)
+ Chunil salt	483 ± 47 ^{cd} (45)	392 ± 14 ^c (56)
+ 1×Bamboo salt	414 ± 26 ^d (54)	371 ± 46 ^c (59)

*The values in the parentheses are inhibition rate (%)

^{a-d}Means with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test

Table 3. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay of methanol extracts from 2% salt added *chungkukjangs* against HT-29 human colon adenocarcinoma cells and AGS human gastric adenocarcinoma cells

Sample	OD ₅₄₀	
	0.25 mg/ml	
	HT-29	AGS
Control (PBS)	0.460 ± 0.007 ^a	0.526 ± 0.002 ^a
<i>Chungkukjang</i> + No salt	0.343 ± 0.037 ^b (25)*	0.470 ± 0.014 ^b (11)
+ Purified (Hanju) salt	0.336 ± 0.027 ^b (27)	0.478 ± 0.007 ^b (9)
+ Chunil salt	0.329 ± 0.016 ^b (28)	0.476 ± 0.009 ^b (10)
+ 1×Bamboo salt	0.248 ± 0.011 ^c (46)	0.465 ± 0.004 ^b (12)

*The values in the parentheses are inhibition rate(%)

^{a-c}Means with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test

Table 4. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay of methanol extracts from *chungkukjang* added various contents of Bamboo salt against AGS human gastric adenocarcinoma cells

Sample	OD ₅₄₀	
	0.1 mg/ml	1 mg/ml
Control (PBS)	0.597 ± 0.005 ^a	0.560 ± 0.012 ^a
<i>Chungkukjang</i> + No salt	0.509 ± 0.037 ^b (15)*	0.402 ± 0.027 ^b (29)
+ 2% Bamboo salt	0.525 ± 0.012 ^b (12)	0.398 ± 0.012 ^b (30)
+ 4% Bamboo salt	0.512 ± 0.023 ^b (14)	0.399 ± 0.024 ^b (29)
+ 7% Bamboo salt	0.512 ± 0.018 ^b (14)	0.360 ± 0.043 ^b (36)

*The values in the parentheses are inhibition rate(%)

^{a-b}Means with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test

Table 5. Fibrinolytic activity of *chungkukjang* added various kinds and contents of salts

Treatment	Fibrinolytic activity (unit/ml)		
	2%	4%	7%
Steamed Soybean	0	0	0
<i>Chungkukjang</i> + No salt	3.3 ± 0.2 ^{ns, NS}	3.3 ± 0.2 ^b	3.3 ± 0.2 ^b
+ Purified (Hanju) salt	3.5 ± 0.5 ^{NS}	3.8 ± 0.3 ^b	3.3 ± 0.1 ^b
+ Chunil salt	3.5 ± 0.6 ^{NS}	3.4 ± 0.3 ^b	3.8 ± 0.4 ^b
+ Bamboo salt	3.7 ± 0.2 ^B	4.3 ± 0.2 ^{AA}	4.9 ± 0.4 ^{AA}

The fibrin lyzed zone of plasmin (1 unit/ml) is 202.2 ± 5.9 mm²

^{a-b}Means with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test

^{A-B}Means with the different letters in the same row are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test

^{ns} values and ^{NS} values are not significantly different in the same column and row, respectively.

가청국장이나 소금을 첨가하지 않은 청국장보다도 향돌연변이 효과가 높아 정제된 한주소금 첨가는 효과가 떨어지는 것으로 나타났다.

3) MTT 실험계에서의 항암효과

AGS 인체위암세포와 HT-29 인체결장암세포에 대한 소금종류별 청국장의 세포독성을 살펴본 결과는 Table 3에 나타내었다. 청국장의 세포독성은 암세포의 종류에 따라 다른 양상을 나타내었는데, AGS 인체위암세포에 대한 소금종류별 청국장의 암세포성장억제효과에서는 차이가 없었다. 그러나 HT-29 인체결장암세포에 대한 세포

독성은 무염청국장과 한주소금, 천일염은 저해효과에 큰 차이가 없었으나(25~28% 저해) 죽염을 첨가한 청국장은 46%의 저해효과(p<0.05)를 나타내어 청국장에 죽염을 첨가하는 것은 청국장의 항암활성을 증진시킬 수 있는 것으로 나타났다. Table 4에는 청국장에 죽염의 첨가농도(2, 4 및 7%)를 달리 하였을 경우 AGS 인체위암세포에 대한 세포독성을 살펴본 결과 청국장에 죽염의 농도가 높아지더라도 청국장의 항암활성에는 크게 영향을 미치지 않았으며, 7% 죽염 첨가 시 36%의 저해효과를 나타내어 2, 4% 첨가의 29, 30%의 저해효과보다 높았다.

4) 혈전용해효소 활성화

청국장 및 청국장에 첨가되는 소금의 종류 및 함량에 따른 혈전용해효소생성의 변화를 측정할 결과는 Table 5에 나타난 바와 같다. 청국장의 주재료인 찌콩 자체는 혈전분해능이 없었으나 발효된 청국장은 소금의 종류 및 첨가 함량에 관계없이 모두 혈전용해능을 보였다. 대조구로 사용한 plasmin의 혈전용해면적에 따른 청국장의 혈전용해활성은 소금을 첨가하지 않은 청국장이 3.3 unit/ml을 나타내었으나, 소금을 첨가하였을 때 그 활성은 높아졌다. 소금 종류별 청국장에서는 정제염(한주소금)이나 천일염에 비하여 죽염을 첨가하였을 때 혈전용해효소의 활성이 컸으며, 죽염의 첨가 함량이 높아질수록 활성도 높게 나타나 7%의 죽염 첨가 시 4.9 unit/ml의 활성을 나타내었다. 그러나 한주소금과 천일염의 경우 소금 무첨가군이나 소금의 첨가함량에 따라 혈전용해효소의 활성이 일정한 경향을 나타내지 않았다.

고 찰

전통발효식품의 하나인 청국장은 중요한 단백질의 공급원으로서 이용되어 왔다. 청국장의 원료인 대두는 항동맥경화, 항암, 항산화, 혈압강화 효과 등의 건강기능성을 갖는 것으로 알려져 있고,^{2,18)} 더욱이 청국장은 발효과정에서 생성되는 다른 여러 생리활성물질들에 의해 고혈압방지효과, 항암, 혈전용해, 골다공증예방, 혈중알콜농도 저하, 철분흡수, 항미생물효과 등을 나타내는 것으로 알려지고 있다.^{18,19)}

손 등²⁰⁾은 대두와 소립 및 대립 검정콩 청국장에서 높은 수소공여능과 아질산염 소거능을 나타냈다고 하였으며 이는 원료콩 자체 및 발효 중 생성되는 물질에 의한 것으로 보고하였고, 이 등²¹⁾은 탈지 대두, 메주 및 된장 phenol 물질의 수소공여능을 측정한 결과 시료 모두에서 그 효과가 나타났다고 보고하였다. 또한 대두발효식품에서 항돌연변이 활성을 살펴본 결과 직접돌연변이원인 MNNG와 간접돌연변이원인 aflatoxin B₁에 대해서 된장과 청국장의 높은 활성을 보고하였고,

열처리(100°C)에 따라서도 그 활성이 유지된다고 하였으며,²²⁾ 박 등²³⁾이 대두와 된장의 추출물에 대해 Ames test한 결과 대두에 비해 된장의 항돌연변이 활성이 더 높다고 하여, 대두 발효과정에서 항돌연변이 활성을 가지는 물질이 생성되는 것으로 보고하였다. 청국장의 항암활성은 암세포의 종류에 따라 다른 양상을 나타내어, 정 등²⁴⁾이 대두발효식품의 암세포에 대한 세포독성을 조사한 결과, 된장과 청국장 메탄올 추출물은 쥐의 암세포 P388D1, L1210과 사람의 암세포 SNU-16, HepG2, WiDr 모두에 대해 성장억제효과를 나타내었고, 청국장 메탄올추출물은 사람의 대장암세포(WiDr)에 대한 암세포 성장저지효과가 가장 높았다.

혈전은 상처복구 시 생체내의 복잡한 blood cascade mechanism에 의해 형성된 혈액응고의 최종산물인 fibrin clot에 의해 생기며, 이것이 제거되는 과정을 fibrinolysis라고 하며,²⁵⁾ 이것은 혈전 중에 존재하는 일종의 단백분해효소인 plasmin에 의해 수행된다. 우리나라의 전통 대두 발효식품인 청국장에서 혈전용해능을 가진 *Bacillus* 균주를 분리하였으며 이 균주가 생산하는 효소가 우수한 혈전용해능을 가진다는 보고가 있었다.^{5,6,26)}

이러한 청국장의 기능성은 재료, starter의 종류, 발효기간 및 부재료의 첨가 등에 의해 달라진다고 보고된 바 있으며⁷⁾ 청국장에 혼합되는 부재료 중인 하나인 소금이 이 활성에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 이루어지지 않았다. 본 연구의 항산화실험과 항돌연변이 실험에서 모두 소금을 첨가하지 않은 청국장이나 한주소금을 첨가한 청국장보다는 천일염이나 죽염을 첨가하여 제조한 청국장이 항산화효과와 항돌연변이 효과가 높았다. 전래적으로 청국장의 보존성을 높이기 위해 소금을 첨가하고 어떤 경우는 마늘, 고춧가루도 첨가하여 맛을 증가하고 저장성을 높이려 하였다. 그래서 청국장 발효 후 소금을 넣는 것은 기능성에 오히려 도움을 주며 소금 종류 중 죽염을 넣을 경우 그 효과가 증가됨을 알 수 있었다. 또한 HT-29 인체 결장암세포를 이용한 MTT assay에서도 죽염을 첨가한 청국장이 높은 암세포 증식억제효과를 나타내었다.

Ames 실험계로 소금종류(한주소금, 천일염, 구

운소금, 생금, 죽염)별로 돌연변이 효과를 살펴본 결과 모든 처리군에서 MNNG에 대해 보돌연변성이 관찰되었으나 가공염인 구운소금, 생금, 죽염에서는 다소 낮은 보돌연변이 효과를 나타낸다고 하였다.²⁷⁾ SOS chromotest와 마우스 말초혈의 소핵실험으로 한주소금, 구운소금, 죽염의 돌연변이효과를 비교하였는데 보돌연변이활성을 나타낸 한주소금에 비해 죽염은 적정 농도에서 항돌연변이 활성을 나타낸다고 하였고,¹²⁾ 죽염이 랫드의 미란성위염에 대해 예방 및 개선효과가 있다고 발표한 바 있다.²⁸⁾

죽염의 농도를 달리하여 제조한 청국장(청국장)의 기능성을 MTT assay와 혈전용해능의 측정으로 검토해 본 결과 죽염의 농도에 따른 청국장의 암세포 증식억제효과는 큰 차이를 보이지 않았으나, 죽염의 농도가 높은 청국장(죽염 7%)은 죽염의 농도가 낮은 청국장(죽염 2%) 보다 혈전용해능이 높은 것으로 나타나 청국장에 첨가하는 소금은 죽염이 좋으며 통상 첨가했던 7.9%까지는 청국장 기능성에 좋은 효과가 있는 것으로 보인다.

결 론

항산화, 항돌연변이, 혈전용해능 등을 비롯한 여러 가지 생리활성을 나타내는 청국장에 부재료중 하나인 소금을 다른 종류 및 농도별로 첨가하여 청국장의 활성을 살펴보았다. 소금을 첨가하지 않거나 한주소금을 첨가한 청국장에 비하여 천일염과 죽염을 첨가한 청국장에서 수소공여능과 항돌연변이활성 및 결장암세포에 대한 항암활성의 증진을 나타내었다. 죽염의 농도에 따른 청국장의 활성은 암세포에 대한 세포독성의 경우 농도에 따른 차이가 거의 없었으나 이 경우 혈전용해활성은 죽염의 농도가 증가함에 따라 그 활성도 증가하였다. 이로서 청국장 제조 후 어떤 소금을 이용하느냐가 청국장의 기능성에 영향을 끼치는 것으로 보이며 정제된 한주소금 보다는 우리전통으로 사용해온 죽염은 청국장의 보존성과 기능성을 높이는데 좋은 역할을 하는 것으로 사료되며 이에 대한 더욱 자세한 연구가 필요하다고 하겠다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 대구대학교 농산물저장·가공 및 산업화 연구센터와 고려전통식품의 지원에 의한 것입니다.

참 고 문 헌

- 1) Kim SH, Yang JL, Song YS. Physiological Functions of Chongkukjang. *Food Industry Nutr* 1999; 4: 40-46.
- 2) 박건영. 청국장의 생리적 기능성. 10월 9일 청국장의 날 학술세미나 “청국장의 기능성과 건강”, 한국전통발효식품연구소, 2003. 10.9
- 3) Sumi H, Hamada H, Tsushima H, Mihara H, Muraki H. A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese natto, A typical and popular soybean food in the Japan diet. *Experientia* 1987; 43: 1110-1111.
- 4) Sumi H, Hamada H, Nakinishi K, Hiratani H. Enhancement of the fibrinolytic activity in plasma by oral administration of nattokinase. *Acta Haematologica* 1990; 84: 139-143.
- 5) Kim YT, Kim WK, Oh HI. Screening and identification of the fibrinolytic bacterial strain from chungkook-jang. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 1995; 23: 1-5.
- 6) Kil JO, Kim GN, Park IS. Production and characterization of fibrinolytic enzyme: Optimal condition for production of the enzyme from *Bacillus sp.* KP-6408 isolated from Chungkook-jang. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1998; 27: 51-56.
- 7) 권은영. 청국장 제조의 표준화와 암예방 효과. 2000. 부산대학교 석사학위논문
- 8) Park CK, Choe M, Ju JS. Comparison of sodium intakes pattern in the family members of normal and stomach cancer patients. *J Kor Soc Food Nutr* 1992; 21: 648-654.
- 9) 비락연구실 가공 2팀. 소금에 관한 보고서. 주(비락) 비락연구실, 김해. 1995.
- 10) 이 성, 김익진. 열처리된 sodium chloride (Rack Salt) 구조분석 및 위생학적 연구의 결과 보고서 “열처리 조건에 따른 sodium chloride 결정의 물리화학적 및 열적변화에 따른 성분규명과 인체에 미치는 위생학적 영향에 따른 연구. 한서대학교 식품생물공학과, 1995.
- 11) Jung KO, Lee SM, Rhee SH, Park KY. Reduced

- comutagenic and antimutagenic effects of bamboo salt prepared with KCl and NaCl. *J Kor Assoc Cancer Preven* 2001; 6: 140-147.
- 12) 정근옥, 이강윤, 이성갑, 박건영. 소금이 마우스에서 고형암의 성장과 면역활성 및 지질과산화에 미치는 영향. *대한암예방학회* 2002; 7: 134-142.
 - 13) Yang JS, Kim OH, Chung SY, Yoo TM, Roh YN, Yk SY, Chung MO, Ahn MR, Choi HJ, Rheu HM. Pharmacological Evaluation of Bamboo Salt. *J Appl Pharmacol* 1999; 7: 178-184.
 - 14) Blios MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 1958; 181: 1199-1201.
 - 15) Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. Factors modulating mutagenicity in microbial test. In: eds, by Norphth KH and Gamcer RC. Short terms for detecting carcinogens, pp 273-285, Berlin, Springer, 1980.
 - 16) Skenhan P, Storeng R, Monks SA, McMahon J, Vsitica D, Warren JT, Bokesch J, Kenney S, Boyd KR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1107-1112.
 - 17) Astrup T, Mullertz S. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch Biochem Biophys* 1952; 40: 346-351.
 - 18) 권태완, 송영선, 김정삼, 문갑순, 김정인, 홍경화. 콩식품의 생리활성에 관한 국내연구동향. *한국콩연구회지* 1998; 15: 147-160.
 - 19) 고한수, 조대회, 황성연, 김영만. 청국장 제조방법에 따른 항미 증진 효과. *한국식품영양학회지* 1999; 12: 1-6.
 - 20) Shon MY, Seo KI, Lee SW, Choi SH, Sung NJ. Biological activities of Chungkugjang prepared with black bean and changes in phytoestrogen content during fermentation. *Kor J Food Sci Technol* 2000; 32: 936-941.
 - 21) Rhee SH, Kim SK, Cheigh, HS. Studies on the lipids in Korean soybean fermented foods. *Kor J Food Sci Technol* 1983; 15: 399-403.
 - 22) Yoon KD, Kwon DJ, Hong SS, Kim SI, Chung KS. Inhibitory effect of soybean and fermented soybean products on the chemically induced mutagenesis. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 1996; 24: 525-528.
 - 23) 박건영, 문숙희, 백형석, 최홍식. 된장의 aflatoxin B₁에 대한 항돌연변이 효과. *한국영양식량학회지* 1990; 19: 156-162.
 - 24) 정건갑, 윤기도, 권동진, 홍석산, 최신양. 대두발효 식품의 암세포주에 대한 세포독성 조사. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 1997; 25: 477-482.
 - 25) Voet D, Voet JG. *Biochemistry*. John Willy & Sons, New York, 1990; pp 1087.
 - 26) Lee SK, Heo S, Bae DH, Choi KH. Medium optimization for fibrinolytic enzyme production by *Bacillus subtilis* KDK-7 isolated from Korean traditional Chungkookjang. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 1998; 26: 226-231.
 - 27) 하정옥, 박건영. 소금의 종류에 따른 과산화효과와 보돌연변이성. *대한암예방학회지* 1999; 4: 44-51.
 - 28) 이수민. 한국인산죽염에 의한 흰쥐 미란성 위염의 예방과 치료작용 관찰. *한국인산죽염 임상 및 기초 실험연구보고 논문집* 1993; pp 79.