

## 전통 메주에서 분리된 단독균으로 제조한 메주추출물의 혈액암세포에 대한 저해효과

한 정 · 김현정 · 이상선<sup>1</sup> · 이인선\*

계명대학교 자연과학대학 식품가공학과  
<sup>1</sup>한국교원대학교 대학원 생물과학 및 생물교육학 전공

## Inhibitive Effects of Meju Extracts Made with a Single Inoculum of the Fungi Isolated from the Traditional Meju on the Human Leukemia Cell Line

Jung Han, Hyun-Jeong Kim, Sang-Sun Lee<sup>1</sup> and In-Seon Lee\*

Department of Food Technology and Science, Keimyung University, Teagu 704-701, Korea  
<sup>1</sup>Major in Biological Science and Education, Graduate School, Korea National University of Education, Chung-Puk 363-791, Korea

**ABSTRACT:** In order to study the antitumoral effect of meju extracts, which was made with a single inoculum of the microorganism, the cytotoxicity effects on several human leukemia cells such as promyelocytic leukemia cell (HL60), histiocytic lymphoma cell (U937) and acute T-cell leukemia Jurkat cell, and lymphocyte were analyzed by MTT assay. Twenty one microbes, mainly fungal genera, were isolated from Korean traditional mejus of different regions. From those collected isolates, meju was manufactured and extracted with 80% methanol, respectively. Meju methanol extracts exhibited low activities in cytotoxicity tests on HL60 cell, but high antitumoral effects of meju methanol extracts were shown on U937 and Jurkat cells. Meju methanol extracts made with a genera of *Mucor*, *Absidia* and *Aspergillus* showed prominent cytotoxic activities, especially. However all these extracts had no inhibitory effects on the cell growth of lymphocyte under the same conditions.

**KEYWORDS:** Cytotoxicity, Leukemia cell, Lymphocyte, Meju, MTT

우리나라 전통식품 중 된장과 간장 등의 장류는 한국인의 식생활에서 가장 기본이 되는 발효식품이다. 일반 가정에서 만들어지는 메주는 가열처리한 콩을 공기 중에 노출시켜 발효한 것으로 *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, 효모 그리고 세균 등 다양한 발효균들이 관여하고(조와 이, 1972), 특히 *Mucor*와 *Rhizopus*는 메주 발효 초기에 주로 성장하며, 이 시기에 중요한 균으로 작용한다고 알려져 있다(이 등, 1997).

이처럼 재래식 메주는 여러가지 자연상태의 혼합균에 의해 발효되기 때문에 혼재한 해로운 곰팡이의 기생으로 생성될 수 있는 mycotoxin에 의한 유해성, 특히 carcinogenic effect 등이 우려되어 왔다. 그러나 최근들어 메주가 발암물질인 aflatoxin B<sub>1</sub>과 benzo(a)pyrene에 의한 돌연변이성을 억제하고(Shin *et al.*, 1989), 콩에 존재하는 trypsin inhibitor에 의한 항발암효과가 있으며(Messadi *et al.*, 1986), 재래식 발효 메주에 대한 동물 실험에서도 메주중에는 급성 내지 아급성 중독을 일으키는 어떤 종류의 toxicant도 포함되지 않은 것으로 보고되었다(서와 정, 1991). 또한 *Aspergillus flavus* 등에 의해 생성될 수 있는 aflatoxin 자체는 일반적으

로 비교적 안정하다고 하지만 자외선, 산, 알칼리 및 산화제, bisulfate 등에 의해 쉽게 파괴된다고 알려지기도 하였다(김 등, 1977).

이와 같이 전통 메주 중에는 암을 예방하는 활성물질이 존재하고 여러가지 처리에 의해 aflatoxin 자체가 파괴될 수 있다고 하나, 좀 더 과학적인 방법 즉 전통적 메주 발효에 관련된 순수분리한 starter를 이용한 통제된 메주 제조를 통해 미량일지라도 곰팡이 독에 의한 오염이 일어나는 것을 방지한 다음 이 메주에 대한 항암 활성을 검색하고자 하였다. 또한 메주에 관한 대부분의 연구가 다양한 발효균들이 관련된 메주로부터 진행되었으므로 순수분리한 starter를 이용한 메주에 대한 항암 활성을 살펴보고자 하였다.

따라서 본 연구에서는 먼저 우리나라 전역에서 수집한 재래식 메주로부터 약 21종의 메주균을 순수분리한 다음, 이들 균을 이용하여 단독균의 메주를 제조하였다. 이들 메주로부터 각각 메탄올 추출물을 제조한 다음, 이들 추출물들이 특히 혈액암세포주 성장에 미치는 영향을 *in vitro* assay로 조사하여 단독균의 메주 추출물들이 나타내는 암세포 성장 억제 효과를 살펴보았다.

\*Corresponding author

**Table 1.** The fungi and bacteria isolated from the Korean traditional mejus

Source	Isolate strains
1 경북 금능군	<i>Absidia gluaca</i>
2 경북 금능군	<i>Absidia spinosa</i>
3 전남 순창군	<i>Mucor</i> sp.
4 전남 순창군	<i>Penicillium citrium like fungi</i>
5 제주도	<i>Mucor hiemalis</i> (brown sporangia)
6 충남 금산군	<i>Absidia gluaca</i> (white colonies with long hair)
7 충남 남연군	<i>Penicillium citrium</i> (dark green blue colonies in center)
8 충남 남연군	<i>Rhizopus stolonifer</i> (black spora)
9 충남 예산군	<i>Botrytis cinerea</i> (Yellow green colonies)
10 충남 예산군	<i>Cladosporium dadosporioides</i> (dark black colonies)
11 충북 괴산군	<i>Bacteria</i> sp. (white clue-like colonies)
12 충북 진천군	<i>Aspergillus niger</i> (black colonies)
13 충북 진천군	<i>Aspergillus niger</i> (no blight yellow colonies)
14 충북 진천군	<i>Paecilomyces varioti</i> (pale green)
15 충북 청원군	<i>Aspergillus oryzae</i> (pale green colonies)
16 충북 청원군	<i>Mucor hiemalis</i>
17 충북 청원군	<i>Mucor racemosus</i>
18 충북 청원군	<i>Rhizopus oryzae</i> (dark spora)
19 충북 청원군	<i>Scopulariopsis brevicaulus</i> (dark brown)
20 충북 청주시	<i>Penicillium thambii</i>
21 충북 청주시	<i>Scopulariopsis brevicaulus</i> (but different from No. 2)

### 재료

재래식 메주는 경북 금능군, 전남 순창군, 제주도, 충남 금산군, 충남 남연군, 충남 예산군, 충북 괴산군, 충북 진천군, 충북 청원군 그리고 충북 청주시 등 우리나라 전국에서 제조된 메주를 수집하였으며, 수집된 메주에서 균이 서식한 부위를 잘라낸 다음, 이 균들은 분생자의 색깔과 형태에 따라 구별하여 각 균을 순수분리하였다(Table 1). 순수분리된 균을 멸균된 콩에 접종하여 28°C에서 2주 동안 배양하여 21종의 단일균의 메주를 제조하였다.

### 시료 제조

21종의 단일균 메주는 각각 분쇄기를 사용하여 분말로 만든 후, 10배의 80% methanol을 첨가하여 37°C에서 1,500 rpm의 shaking incubator(HK-S125, Korea)에서 10시간 동안 3회 반복 추출하여 상정액을 모으고, 이 액을 rotary evaporator(YAMATO SCI. RE47A, Japan)로 농축한 후 동결건조하여 메주 메탄올추출물을 제조하였다. 이들 시료는 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

### 암세포주 배양

암세포주는 인간 유래의 서로 다른 혈액암 세포인 histiocytic leukemia(U937)과 promyelocytic leukemia(HL-60)는 한

국세포주은행으로부터 분양받아 사용하였고 급성 T-cell leukemia Jurkat은 경북대학교 김영호 박사로부터 분양받아 사용하였다. 이들 세포는 각각 RPMI-1640배지에 10% FBS (fetal bovine serum)와 1% antibiotics(penicillin/streptomycin)을 첨가하여 37°C의 5% CO<sub>2</sub> incubator(Forma 315A, USA)에서 배양하면서, 2~3일에 한번씩 계대배양하였다.

### MTT assay

메주의 암세포주에 대한 세포증식 억제효과는 MTT assay(Papaxisis *et al.*, 1997)로 조사하였다. 배양된 cell에 RPMI-1640 배지를 첨가하고 잘 혼합하여 cell수를 1×10<sup>5</sup> cells/ml로 조정된 다음, 96-well microtiter plate에 준비된 cell을 100 μl씩 첨가하고, 각 농도의 메주 메탄올추출물을 10 μl씩 well에 첨가한 후 37°C의 5% CO<sub>2</sub> 하에서 48시간 배양하였으며, 이때 대조군은 시료 대신 DMSO를 동량 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 배양후 5 mg/ml의 MTT [3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide] 시약 10 μl를 각 well에 첨가한 후 다시 4시간 더 배양하였다. 배양종료 후 1,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 생성된 formazan결정을 DMSO로 용해시켜 cell plate reader(Bio-Rad Co. U.S.A.)로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포증식 억제 효과는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

### 정상 임파구 분리

20~25세의 건강한 성인 남자로부터 heparin 처리한 주사기를 사용하여 혈액을 채취한 후, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 층의 경계면을 pasteur pipette으로 회수한 다음, 회수한 액에 2배의 배지를 넣어 잘 섞어 비중차 용액인 histopaque-1077 위에 서서히 중층하였다. 중층후 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 histopaque-media 접촉면의 임파구층을 pasteur pipette로 회수한 다음, 다시 배지를 섞어 4,000 rpm에서 1분간 원심분리하여 임파구 세포를 가라앉게 하였다. 이 과정을 3회 정도 반복하여 세척한 후 1×10<sup>6</sup> cells/ml이 되도록 임파구 세포수를 조절하여 사용하였다(이 등, 1996).

### 임파구 세포 독성 검색

메주 시료의 정상 임파구에 대한 세포 독성 검사는 임파구 세포수를 1×10<sup>6</sup> cells/ml이 되게 조절한 다음 각 메주 시료를 첨가하여 암세포주와 동일한 방법으로 MTT assay를 수행하여 임파구의 생존 세포수를 조사하였다.

$$\text{Survival rate (\%)} = \frac{\text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

### 통계처리

대조군과 각시료에서 얻은 실험자료로부터 ANOVA를

구한 후 Student's t test를 이용하여 통계분석하였다.

## 결과 및 고찰

재래식 메주에서 분리된 21종의 단일균으로 제조된 메주 메탄올추출물의 항암 효과의 검색을 위해 사람으로부터 유래한 몇가지 혈액암 세포주를 사용하였으며, 시료자체의 독성을 측정하기 위하여 사람의 임파구를 분리하여 MTT assay를 수행하였다. MTT assay는 종양세포의 성장 억제의 검색을 위해 많이 사용되고 있는 방법으로, 살아있는 세포는 미토콘드리아의 탈수소효소 작용에 의하여 노란색의 수용성인 MTT tetrazolium을 자주색을 띠는 비수용성의 MTT formazan으로 환원시켜 550 nm의 파장에서 흡광도를 측정하는 것이다(Papazisis *et al.*, 1997; Park *et al.*, 1987).

먼저 재래식 메주에서 분리된 21종의 단일균으로 제조된 메주 메탄올추출물을 몇종의 혈액암 세포주를 사용하여 암 세포 저해효과를 살펴보았다. 인간 유래의 promyelocytic leukemia cell인 HL60에 대한 메주 메탄올추출물의 세포 증식 저해율은 비교적 낮은 경향으로 나타났으며 그 결과는 Table 2와 같다. HL60에 대해 시료 0.5 mg/ml 처리시 *Mucor hiemalis*(MJ5)와 *Mucor racemosus*(MJ17)에서만

58% 정도의 저해율을 보였으나 저해율이 나타나지 않은 시료도 많은 것으로 나타났다. 시료 1 mg/ml의 처리시에는 약 12종의 시료에서 50% 이상의 활성을 보였으며, 그 중 *Cladosporium dadosporioides*(MJ10)와 *Aspergillus niger*(MJ12) 접종의 메주 메탄올추출물이 67~68%의 가장 높은 저해율을 보였으며, *Absidia glauca*(MJ1), *Mucor sp.*(MJ3) 제조의 메주 메탄올추출물들에서도 60% 이상의 높은 저해율을 확인할 수 있었다.

그리고 인간 유래의 histiocytic lymphoma cell인 U937는 세포 분화에 관한 model로 많이 이용되는 세포로 알려져 있다. 이 U937의 경우 Table 3과 같이, 시료 0.5 mg/ml를 투여했을 때는 *Mucor racemosus*(MJ17), *Mucor hiemalis*(MJ16), *Absidia glauca*(MJ6) 접종의 메주추출물에서만 50% 이상의 비교적 높은 저해율을 보였고, 대부분의 시료는 낮은 저해율을 보였다. 그러나 시료 1 mg/ml를 투여했을 때는 대부분의 시료에서 60% 이상의 비교적 높은 저해효과가 있는 것으로 나타났다. 그 중 *Mucor sp.*(MJ3)으로 제조된 메주 메탄올추출물에서 76.5%로 가장 높은 저해율을 나타내었으며, *Mucor hiemalis*(MJ5), *Mucor racemosus*(MJ17), *Absidia glauca*(MJ1, 6), *Aspergillus oryzae*(MJ15), *Aspergillus niger*(MJ13), *Mucor hiemalis*(MJ5) 등으로 제조된 메주

**Table 2.** Inhibitory effect of meju methanol extracts (0.5 mg/ml and 1 mg/ml) on the growth of human promyelocytic leukemia cell (HL60)

Meju methanol extract <sup>a</sup>	Isolate strains	0.5 mg/ml		1.0 mg/ml	
		O.D	Inhibition rate (%)	O.D	Inhibition rate (%)
	Control				0.247±0.015 <sup>b</sup>
MJ1	<i>Absidia glauca</i>	-	-	0.098±0.001	60.3*
MJ2	<i>Absidia spinosa</i>	0.225±0.019	8.9	0.191±0.012	20.2
MJ3	<i>Mucor sp.</i>	0.244±0.017	1.2	0.162±0.009	58.7*
MJ4	<i>Penicillium citrium like fungi</i>	-	-	0.221±0.015	10.9
MJ5	<i>Mucor hiemalis</i>	0.103±0.01	58.3*	0.099±0.075	59.9*
MJ6	<i>Absidia glauca</i>	0.170±0.013	31.2	0.111±0.071	55.1*
MJ7	<i>Penicillium citrium</i>	0.250±0.021	0	0.171±0.091	31.2
MJ8	<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.242±0.020	2.8	0.111±0.008	55.5*
MJ9	<i>Botrytis cinerea</i>	-	-	0.133±0.081	47.4
MJ10	<i>Cladosporium dadosporioides</i>	0.203±0.018	17.8	0.079±0.008	68.0*
MJ11	<i>Bacteria sp.</i>	-	-	0.183±0.012	25.9
MJ12	<i>Aspergillus niger</i>	0.235±0.019	4.9	0.081±0.007	67.2*
MJ13	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	0.229±0.017	7.3
MJ14	<i>Paecilomyces varioti</i>	-	-	0.159±0.011	35.6
MJ15	<i>Aspergillus oryzae</i>	0.251±0.016	0	0.107±0.080	56.7*
MJ16	<i>Mucor hiemalis</i>	0.276±0.019	28.7	0.118±0.071	52.2*
MJ17	<i>Mucor racemosus</i>	0.101±0.008	59.2*	0.104±0.071	57.9*
MJ18	<i>Rhizopus oryzae</i>	-	-	0.161±0.010	34.8
MJ19	<i>Scopulariopsis brevicaulus</i>	0.244±0.017	1.2	0.117±0.082	52.6*
MJ20	<i>Penicillium thambii</i>	-	-	0.152±0.012	38.5
MJ21	<i>Scopulariopsis brevicaulus</i> (but different from No. 2)	-	-	-	-

<sup>a</sup>Meju methanol extracts made with a single inoculum of the fungi and bacteria isolated from the Korean traditional mejus.

<sup>b</sup>The values are means±S.D.

\*Significantly different from the control by student's t test: p<0.05.

**Table 3.** Inhibitory effect of methanol extracts of meju on the growth of human histiocytic lymphoma cell (U937)

Meju methanol extracts <sup>a</sup>	0.5 mg/ml		1.0 mg/ml	
	O.D	Inhibition rate (%)	O.D	Inhibition rate (%)
Control		0.303±0.019 <sup>b</sup>		
MJ1	0.179±0.013	40.9	0.088±0.009	70.9*
MJ2	0.203±0.015	33.0	0.104±0.010	65.8*
MJ3	0.184±0.012	39.4	0.071±0.009	76.5*
MJ4	0.275±0.018	9.2	0.165±0.007	45.5
MJ5	-	-	0.090±0.010	70.4*
MJ6	0.147±0.012	51.4*	0.085±0.012	72.0*
MJ7	0.267±0.018	11.8	0.15±0.009	50.5*
MJ8	0.208±0.014	31.5	0.119±0.010	60.7*
MJ9	0.209±0.011	31.2	0.17±0.009	61.4*
MJ10	0.204±0.016	32.8	0.123±0.013	59.3*
MJ11	0.25±0.014	17.4	0.174±0.009	42.7
MJ12	0.243±0.018	19.7	0.145±0.008	52.1*
MJ13	0.298±0.020	1.7	0.116±0.007	61.7*
MJ14	0.243±0.019	19.7	0.145±0.011	52.1*
MJ15	0.245±0.021	19.0	0.097±0.010	70.1*
MJ16	0.15±0.010	50.5*	0.083±0.006	72.9*
MJ17	0.14±0.013	53.9*	0.08±0.007	73.5*
MJ18	0.277±0.018	8.7	0.117±0.011	61.4*
MJ19	0.246±0.017	18.8	0.115±0.006	62.0*
MJ20	0.215±0.014	29.2	0.114±0.012	62.4*
MJ21	-	-	0.218±0.019	28.0

<sup>a</sup>Meju methanol extracts made with a single inoculum of the fungi and bacteria isolated from the Korean traditional mejus.

<sup>b</sup>The values are means±S.D.

\*Significantly different from the control by student's t test: p<0.05.

메탄올추출물에서도 70% 이상의 높은 저해율을 보여주었다. 이와 같이 *Mucor*속(MJ3, 5, 16, 17)과 *Absidia*속(MJ1, 6), *Aspergillus*속(MJ13) 접종 메주 메탄올추출물들이 U937에 대해 비교적 높은 증식 억제활성이 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 메주 메탄올추출물들은 U937에 대해서도 시료 농도가 증가할수록 더 큰 저해활성을 가지는 농도 의존적인 경향을 보였다.

인간 유래의 급성 T-cell leukemia Jurkat cell에서는 Table 4와 같이, 시료 0.5 mg/ml를 투여할 경우 대부분의 시료에서 약 30~70% 정도의 저해활성을 보였으나, 1 mg/ml를 투여했을 때는 대부분의 시료에서 약 70% 이상의 비교적 높은 저해율을 보여주었다. 그 중에서도 *Aspergillus niger*(MJ12)로 제조된 메주 메탄올추출물의 1 mg/ml 투여 시 78.8%로 가장 저해효과가 높은 것으로 나타났으며, *Mucor hiemalis*(MJ3), *Mucor racemosus*(MJ5), *Rhizopus stolonifer*(MJ16), *Botrytis cinerea*(MJ20) 등으로 제조된 메주 메탄올추출물에서도 각각 73~75%의 저해효과가 높은 것으로 나타났다. Jurkat cell의 경우도 다른 암세포와 마찬가지로 시료농도가 0.5 mg/ml에서 보다는 1 mg/ml에서 더 높은 농도 의존적인 저해활성을 가짐을 알 수 있었다. 특히

**Table 4.** Inhibitory effect of methanol extracts (0.5 mg/ml and 1 mg/ml) of meju on the growth of human acute T-cell leukemia Jurkat

Meju methanol extracts <sup>a</sup>	0.5 mg/ml		1.0 mg/ml	
	O.D	Inhibition rate (%)	O.D	Inhibition rate (%)
Control		0.378±0.018 <sup>b</sup>		
MJ1	0.180±0.016	52.4*	0.098±0.006	74.1*
MJ2	0.211±0.021	44.2	0.118±0.008	68.8*
MJ3	0.193±0.012	48.9	0.086±0.005	77.2*
MJ4	0.135±0.011	64.3*	0.177±0.009	53.2*
MJ5	0.123±0.009	67.5*	0.111±0.010	70.6*
MJ6	0.130±0.011	65.6*	0.111±0.009	70.6*
MJ7	0.132±0.008	65.1*	0.122±0.010	67.7*
MJ8	0.130±0.013	65.6*	0.098±0.006	74.1*
MJ9	0.115±0.007	69.9*	0.094±0.007	75.1*
MJ10	0.115±0.006	69.9*	0.113±0.006	70.1*
MJ11	0.137±0.007	36.8	0.129±0.011	65.9*
MJ12	0.185±0.008	51.1*	0.080±0.009	78.8*
MJ13	0.138±0.012	63.5*	0.134±0.016	64.6*
MJ14	0.238±0.010	37.0	0.117±0.007	69.0*
MJ15	0.233±0.009	38.4	0.113±0.004	70.1*
MJ16	0.216±0.014	66.7*	0.101±0.008	69.3*
MJ17	0.104±0.008	72.5*	0.093±0.009	75.4*
MJ18	0.277±0.015	26.7	0.124±0.012	67.2*
MJ19	0.213±0.016	43.7	0.116±0.008	69.3*
MJ20	0.235±0.021	37.8	0.119±0.010	68.5*
MJ21	0.618±0.028	-	0.743±0.026	-

<sup>a</sup>Meju methanol extracts made with a single inoculum of the fungi and bacteria isolated from the Korean traditional mejus.

<sup>b</sup>The values are means±S.D.

\*Significantly different from the control by student's t test: p<0.05.

*Mucor*속으로 제조된 메주 메탄올추출물의 경우 농도에 관계없이 높은 증식 억제 효과를 가지는 것으로 나타났다.

따라서 재래식 메주에서 분리된 21종의 단일균으로 제조된 메주 메탄올추출물은 HL60에 비해 U937과 Jurkat cell에 대해서 비교적 높은 암세포 성장 저해 효과가 있음을 확인할 수 있었고, 특히 곰팡이 중 *Mucor*속, *Absidia*속, *Aspergillus*속으로 제조된 메주 메탄올추출물은 혈액암 세포에 대한 높은 저해 활성이 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 *Mucor giemalis*, *Mucor racemosus*, *Aspergillus niger* 등으로 제조된 메주 메탄올추출물이 3종류의 혈액암 세포에 대한 저해활성이 높은 것으로 보아 이들 균을 이용한 메주 제조도 의미가 있다고 생각된다.

문(1990)은 메주의 메탄올 추출물은 발암물질인 MNNG와 4-NQO에서도 항돌연변이 활성을 가지며, benzo(a)pyrene의 발암성 역시 크게 저해하는 효력을 나타낸다고 보고한 바 있다. 또한 Kurechi 등(1981)에 의하면 일본된장을 비롯한 콩으로 만든 식품 중의 trypsin inhibitor는 pre-carcinogen인 nitrite를 파괴하고 N-nitrosamine 생성을 방해하므로 이들로 인한 암 발생을 감소시켜 준다고 보고하면서, 이것은 콩의 발효시 생성된 발효산물 및 메주내 존재하

는 불포화지방산과 페놀계 화합물에 의한 항암 효과로 추정하였다. 특히 메주내 linoleic acid는 여러가지 암세포의 성장을 억제하며 *in vivo*에서도 암세포의 유리지방산 조성에 영향을 끼쳐 세포독성 효과를 일으켜 tumor 생성 억제 및 생명연장 효과가 확인된 바 있다(임, 1994; 이, 1993). 또한 linoleic acid는 불안정해 약조건에서는 산화를 일으켜 free radical의 생성 등 세포건강에 악영향을 끼칠 수 있으나, 메주의 경우 어느 식품보다 항산화 효과가 큰 것으로 확인되었고, 특히 linoleic acid는 장내에 있는 한 안전하게 보호되어 항암 효과를 나타내었다(박, 1997). 그리고 메주내 존재하는 식이섬유소, 비타민 등도 암을 예방하는 물질로 보고되기도 하였다(박, 1997). 그러므로 본 실험에 사용된 단일균에 의해 제조된 메주 추출물들의 경우도 혈액암세포들의 성장 저해 효과를 가지는 것은 이들 성분에 기인한다고 생각된다. 특히 곰팡이 중 *Mucor*속, *Absidia*속, *Aspergillus*속으로 제조된 메주 메탄올추출물은 혈액암세포에 대한 높은 저해 활성이 가지므로, 이들 균이 메주발효 과정에서 중요한 대사를 하리라 사료된다.

한편 몇가지 혈액암세포에 대한 메주시료의 저해효과가 특이적인 작용인지를 검색하기 위하여 정상 성인의 혈액에

**Table 5.** Effect of meju methanol extracts on the growth of lymphocyte

Meju methanol extracts <sup>a</sup>	0.5 mg/ml		1.0 mg/ml	
	O.D	Survival rate <sup>1)</sup> (%)	O.D	Survival rate (%)
Control		0.141±0.009 <sup>b</sup>		
MJ1	0.140±0.006	99.2	0.137±0.011	97.4
MJ2	0.134±0.011	94.8	0.134±0.006	95.1
MJ3	0.135±0.007	95.5	0.135±0.010	95.8
MJ4	0.133±0.009	94.5	0.133±0.014	94.5
MJ5	0.140±0.010	99.5	0.136±0.007	96.2
MJ6	0.141±0.012	100.2	0.139±0.006	98.7
MJ7	0.143±0.009	101.5	0.138±0.008	98.1
MJ8	0.142±0.013	101.0	0.139±0.012	98.9
MJ9	0.134±0.009	95.1	0.138±0.008	99.1
MJ10	0.142±0.015	100.4	0.137±0.014	97.1
MJ11	0.133±0.011	94.6	0.134±0.009	95.1
MJ12	0.133±0.007	94.5	0.132±0.007	95.3
MJ13	0.139±0.016	98.7	0.139±0.013	98.9
MJ14	0.139±0.013	98.3	0.140±0.010	99.5
MJ15	0.134±0.009	95.2	0.139±0.009	98.4
MJ16	0.143±0.008	101.8	0.142±0.014	100.7
MJ17	0.134±0.002	95.1	0.135±0.005	95.8
MJ18	0.135±0.009	95.6	0.139±0.007	98.7
MJ19	0.140±0.012	99.2	0.140±0.014	99.6
MJ20	0.135±0.009	96.4	0.140±0.009	99.5
MJ21	0.145±0.004	103.1	0.144±0.006	102.3

<sup>1)</sup>Survival rate(%) =  $\frac{\text{O.D of treated cells}}{\text{O.D of control cells}} \times 100$ .

<sup>a</sup>Meju methanol extracts made with a single inoculum of the fungi and bacteria isolated from the Korean traditional mejus.

<sup>b</sup>The values are means ± S.D.

서 분리한 임파구에 대한 작용을 검색하였다. Table 5에서 보는 바와 같이 모든 시료에서 90% 이상의 생존율을 확인할 수 있었다. 특히 암세포 성장 저해효과가 크게 나타났던 *Mucor*속과 *Absidia*속 역시 90% 이상의 생존율을 나타내어, 본 실험에서 사용한 메주 시료는 정상 임파구세포의 성장에는 거의 영향을 주지 않으면서 혈액암세포에만 특이적으로 작용하는 물질일 것으로 추측되었다.

이와 같이 재래식 메주에서 분리된 21종의 단일균으로 제조된 메주 메탄올추출물들은 몇종의 혈액암세포주에 대한 증식 억제 활성이 있음을 확인할 수 있었다. 특히 메주는 각종 생리활성 성분과 함께 여러 가지 건강 기능성 성분들이 존재하여 암을 비롯한 각종 성인병 예방 및 치료효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 따라서 앞으로는 메주의 안전성을 확보하면서 과학화와 함께 생리활성을 더욱 강조한 기능성 된장의 개발에 이들 균으로 메주를 제조하는 것도 가능하리라 생각된다.

## 적 요

우리나라 중요한 식품 원료인 전통 메주로부터 분리한 단독균의 접종 메주의 암세포 저해효과를 검색하기 위하여, 인간유래의 혈액암 세포주에 대한 저해활성을 MTT assay로 분석하였다. 먼저 전통 메주로부터 21종의 단독균을 분리한 후 각각 접종하여 발효된 단독균의 메주시료를 조제한 다음 80% methanol로 추출하였다. 메주 메탄올추출물은 혈액암세포중 HL60에서는 다소 낮은 성장 저해효과를 보였으나, U937과 Jurkat cell에서는 저해효과가 큰 것으로 나타났다. 특히 *Mucor*속과 *Absidia*속, *Aspergillus*속으로 제조된 메주들에서 이들 혈액암세포에 대해 저해효과가 큰 것으로 나타났다. 그러나 모든 메주 메탄올추출물들은 인간의 정상 lymphocyte에서 대해서는 90% 이상의 높은 생존율을 나타내어 정상 세포에 대한 성장 저해 효과가 거의 없음을 보여주었다. 이는 단독균의 메주시료가 가지는 세포독성이 암세포에 대한 특이적인 작용인 것으로 나타났다.

## 참고문헌

- 김용화, 황보정숙, 이서래. 1977. 몇가지 한국식품 중 aflatoxin의 검출. 한국식품과학회지 **9**(1): 73-80.
- 문숙희. 1990. 된장의 항 돌연변이 효과에 관한 연구. 부산대학교 대학원 석사학위논문.
- 박건영. 1997. 한국 전통발효식품(된장, 김치)의 발암안정성, 항 돌연변이 및 항암 기능성. 식품과학과 산업 **30**(2): 89-100.
- 서화중, 정두래. 1991. 한국산 재래식 발효메주의 안전성에 관한 연구. 한국영양식품학회지 **20**(1): 13-20.
- 이상선, 성창근, 배종찬, 유진영. 1997. 메주에서 분리되어 단독균으로 발효된 메주와 간장. 한국식품영양학회지 **26**(5): 751-758.
- 이인선, 박성희, 이인자. 1996. 전통 약용 식물 권백(*Selaginella tamariscina*)의 항암효과에 대한 혈액암세포주 U937의 감수성 및 그 작용기구에 대한 분자생물학적 연구. *J. Food.*

- Hyg. Safety.* **11**(1): 71-75.
- 이정민. 1993. 된장추출물과 Linoleic acid의 항돌연변이 및 항암효과. 부산대학교 대학원 석사학위논문.
- 임선영. 1994. Linoleic acid의 항돌연변이 및 항암효과. 부산대학교 대학원 석사학위논문.
- 조덕현, 이우진. 1972. 한국 재래식 간장의 발효 미생물 연구. *한국 농화학회지* **13**(1): 10-17.
- Kurechi, T., Kikugawa, K., Fukuda, S. and Hasunuma, M. 1981. Inhibition of N-nitrosamine formation by soya products. *Fd. Cosmet. Toxicol.* **19**: 425-429.
- Messadi, D. V., Billing, P., Shklar, G. and Kennedy, A. R. 1986. Inhibition of oral carcinogenesis by a protease inhibitor. *J. Natl. Cancer Inst.* **76**(3): 447-453.
- Papaxisis K. T., Geromichalos, G. D., Dimitriadis, K. A. and Kortsaris, A. H. 1997. Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay. *J. Immunol. Methods* **208**: 151-158.
- Park, J. G., Karmer, B. S., Carmichael, J., Collins, J. M., Minna J. D. and Gazkar, A. F. 1987. Chemosensitivity testing of Human colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium-based colorimetric assay. *Cancer Res.* **47**: 8575-8580.
- Shin, S. H., Jhee, E. C., Rapp, N. S., Hong, I. S., Chang, S. H. and Seel, D. J. 1989. Mutagenicity and antimutagenicity of Meju, host sauce and other Korean foods by *Salmonella*/mammalian-microsome test. The 5th Federation of Asian and Oceanian Biochemists, August, 13-18, Seoul, Korea.