

다시마와 미역의 섭취가 발암물질에 의한 DNA 손상과 칼슘 및 철 흡수에 미치는 영향*

성미경^{1)§} · 한경희²⁾ · 권훈정³⁾ · 박유경³⁾ · 부소영¹⁾

숙명여자대학교 식품영양학과,¹⁾ 서원대학교 식품영양학과,²⁾ 서울대학교 식품영양학과³⁾

Effect of Seatangle and Seamustard Intakes on Carcinogen Induced DNA Adduct Formation and the Absorption of Calcium and Iron*

Sung, Mi-Kyung^{1)§} · Han, Kyung-Hee²⁾ · Kwon, Hoon-Jeong³⁾
Park, You-Gyung³⁾ · Bu, So-Young¹⁾

Department of Food and Nutrition,¹⁾ Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

Department of Food and Nutrition,²⁾ Seowon University, Cheongju 361-247, Korea

Department of Food and Nutrition,³⁾ Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

ABSTRACT

A number of epidemiological studies has indicated lifestyles including dietary habits are closely related to the development of certain forms of cancer. These findings have led several investigators to identify the ways in which these factors modulate the risk of cancer. Seaweeds are rich sources of non-digestible polysaccharides which possibly possess physiological functions. *In vitro* studies showed several components in seaweeds inhibit tumor cell growth and mutagenicity of known food mutagens. On the other hand, non-digestible polysaccharides of different food sources negatively affect mineral nutrition by decreasing mineral absorption. The objectives of this study was to investigate the effect of major seaweed intake on azoxymethane(AOM) - induced DNA damage, a known cancer initiation step, and on apparent absorption of calcium and iron. To accomplish these objectives, twenty five ICR mice were divided into five groups and fed one of the following diets for 10 days: control diet, diet containing 10% water-soluble fraction of seamustard or seatangle, diet containing 10% water-insoluble fraction of seamustard or seatangle. AOM was injected 6 hours before sacrifice and N⁷-methylated guanines from the colonic DNA were quantified using a gas chromatography - mass spectroscopy. Fecal samples were collected on days 4 and 8. Calcium and iron contents of the diets and feces were analyzed using an atomic absorption spectrophotometry to determine the apparent absorption of these minerals. Results are as follows. AOM-induced guanine methylation of colon was decreased in animals fed diets containing water-soluble fractions of seamustard or seatangle compared to those in animals fed control diet, although only the seatangle fed group showed statistically significant effect. Apparent calcium absorption was significantly reduced in animals fed diets containing water-insoluble fractions of seaweeds. Iron absorption was significantly decreased, and negatively balanced in animals fed diets containing water-insoluble fractions of both seaweeds, and water-soluble fraction of seatangle. In conclusion, seamustard and seatangle intakes may effectively prevent colon tumorigenesis by reducing a carcinogen-induced DNA damages, and more mechanistic studies on possible role of these seaweeds on carcinogenesis are required. Also, adverse effects of seaweed diets containing a large amount of polysaccharides on mineral nutrition should be carefully monitored. (*Korean J Nutrition* 33(7) : 717~724, 2000)

KEY WORDS: colon tumorigenesis, seaweed, seatangle, seamustard, DNA methylation, calcium, iron.

서론

보건복지부에서 발표한 '98년 중앙 암 등록 사업 조사 결

채택일 . 2000년 10월 12일

*This research was supported by 1998 grants from The Center for Industrial Technology in Seowon University.

§To whom correspondence should be addressed.

과에 의하면 1987년에 2,073건이었던 대장암이 1998년에는 7,384건으로 2.6배의 증가율을 나타내었고 부위별 암 발생빈도에서도 위암, 간암, 폐암에 이어 4위를 기록하고 있다" 이러한 현상은 식생활과 밀접한 관련을 가지며 특히 육류 및 지방의 섭취증가 및 복합당질의 섭취감소가 직접적으로 기여하는 것으로 보인다.²⁾

암은 개시(initiation), 촉진(promotion) 및 진행(progression)의 단계적 과정을 거쳐서 발생한다.³⁾⁴⁾ 즉 발암물

질에 의해 세포변이가 일어나고 이러한 변이세포들의 수가 늘면서 촉진물질에 의해 비정상적인 세포분열이 계속 될 때 암 조직이 형성되기 시작하며 이 과정은 대개 수 십 년을 소요한다. 개시단계에서 발암물질 전구체는 체내에서 대사 되어 궁극적인 발암물질(ultimate carcinogen)로 변한 후 DNA, RNA 및 단백질과 공유 결합한 adduct를 형성하여 세포변이를 일으킨다. 특히 발암물질과 DNA의 adduct 형성은 암화 과정 중 개시단계(initiation)의 중요한 표지자로 사용되고 있다.⁵⁾ 식품 중에 함유된 다양한 영양소 및 비영양화합물들은 발암물질 또는 촉진물질의 역할을 할 수도 있는 반면 그러한 물질들의 작용을 억제함으로써 암화과정을 조절하게 된다.⁶⁾

삼면이 바다로 둘러싸인 우리 나라와 일본 등지에서는 해조류의 섭취량이 다른 지역에 비해 월등히 높다(하루 평균 7.5g/1인).⁷⁾ 대부분의 해조류 중의 다당류는 인체내의 효소에 의해 소화되지 않기 때문에 식이 섬유질로 간주되고,^{8,9)} 특히 갈조류에는 수용성 형태의 섬유질이 다량 함유되어 있다. 이들 수용성 섬유질은 laminarans, fucans, 알긴산 등이며, 불용성 섬유질은 대부분 셀룰로오스이다.¹⁰⁾

해조류의 항암효과에 관한 기전으로는 발암물질 흡착에 의한 항돌연변이 활성이 가장 많이 연구되어 있다. Chiharu 등¹¹⁾은 알긴산과 펙틴산 등의 섬유질이 식품의 조리, 가공, 저장 중에 생성되는 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole(Glu-P-1), 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1), nitrosamine 등과 같은 발암원을 흡착함으로써 소장에서 흡수되는 것을 감소시켜 암의 발생을 억제한다고 보고하였다. Yasuji 등¹²⁾은 미역, 톳, 다시마를 뜨거운 물로 추출한 분획의 돌연변이 활성 억제를 보고하였으며 미역과 다시마 에탄올 추출물은 nitrosamine중에서 가장 강력한 발암물질로 알려진 NDMA(N-nitrosodimethylamine)를 이용한 돌연변이 실험에서 높은 항 돌연변이 효과를 나타내었다.¹³⁾ 또 다양한 해조류에 함유된 식이 섬유 및 알긴산은 양이온 교환능 및 강한 흡착능에 의해 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP) 및 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline(MeIQx)과 같은 돌연변이원성 물질의 돌연변이능을 저해한다고 보고되었다.¹⁴⁾¹⁵⁾ 이와 같이 해조류의 생리활성에 관한 연구는 최근 꾸준히 이루어지고 있으나, 식품으로서의 해조류의 항암 효과를 입증하기보다는 분리, 정제된 성분만을 사용하여 그 효과를 밝혀왔다. 항암 연구의 경우 대부분 시험관내 실험으로 수행되었고, 특히 미생물을 이용해 시험한 항돌연변이 활성을 제외하고는 암의

개시단계에서의 해조류의 효과에 대한 연구는 전무한 실정이다.

그러나 해조류에 함유된 소화가 용이하지 않은 다당류는 위에서 언급된 가능한 항암효과 이외에 필수 미량 영양소의 이용율을 감소시키는 부정적인 측면도 지니고 있다.¹⁶⁾ 섬유소가 풍부한 귀리를 과다 섭취했을 때, 저 칼슘혈증 및 tetany 증후군이 나타났고,¹⁷⁾ 곡류가 풍부한 식품을 주식으로 하는 어린이들에게서도 아연의 흡수부족으로 인한 아연 결핍증이 보고되었다.¹⁸⁾ Harmuth-Hoene과 Schelenz¹⁹⁾의 연구에 의하면, 특히 알긴산은 구리, 철, 아연의 흡수를 방해한다고 하였다. 서구에 비해 비교적 섬유소 함량이 많은 동양인의 식이는 평균 10~15g/d의 섬유소를 함유하고 있어서 적당한 수준이라고 할 수 있으나 25g이 넘는 섬유소의 섭취, 특히 불용성 섬유소의 함량이 높은 식이는 미량 영양소의 영양상태에 부정적인 영향을 줄 수 있다고 한다.²⁰⁾ 특히 국민영양조사(1995) 결과 그 섭취량이 권장량에 미달되는 것으로 나타나고 있는 칼슘과, 섭취량에 비해 흡수 이용률이 낮은 철의 영양 상태는 고섬유질 함유 식품의 섭취와 밀접하게 관련되어 섬유소 함량이 많은 식품을 장기적으로 다량 섭취할 경우 여성이나 청소년기, 노인층의 무기질 영양 불균형을 초래할 수도 있을 것으로 보고되었다.¹⁹⁾²¹⁾

따라서 본 연구에서는 ICR mouse를 이용하여 다시마와 미역의 수용성 분획과 불용성 분획의 섭취가 발암물질인 azoxymethane(AOM)의 투여에 의해 생성되는 DNA-adduct인 N⁷-methylguanine의 형성에 미치는 효과를 규명하고, 동시에 칼슘과 철의 흡수율에 미치는 영향을 살펴 보고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 해조류 수용성 및 불용성 분획의 추출

건조 다시마(*Laminaria japonica*)와 미역(*Undaria pinnatifida*)은 전남 완도산을 농업협동조합으로부터 구입하였다. 시료는 재 건조 후 mixer를 이용하여 균질화 하였고 시료 20g당 1000ml의 증류수를 첨가하여 6시간동안 70℃의 물로 추출하였다. 이 시료 용액을 200 × g에서 30분간 원심분리한 다음 상층액과 침전물을 분리하여 동결건조(Labconco)한 후 분말화 하고, 상층액은 수용성 분획 시료로, 침전물은 불용성 분획 시료로 사용하였다. 미역과 다시마 추출결과 수율은 미역의 경우 수용성 분획 16.65%, 불용성 분획 83.35% 이었고 다시마는 수용성 분획 44.5%, 불용성 분획 55.5% 였다.

2. 실험동물의 사육 및 식이 조성

실험동물은 무게 25~30g의 ICR mouse(수컷) 25마리를 국립보건원 동물사육장에서 분양 받았다. 처음 4일 동안은 일반사료로 적응시킨 후 5마리씩 대조군과 각 해조류 분획 식이군으로 나누어 실험 식이를 10일간 실시하였다. 실험 식이는 AIN-76 식이를 대조군 식이로 하고 다시마와 미역의 수용성, 불용성 분획을 대조군 식이에 각각 10% 첨가하여 각 군의 실험 식이로 하였다(Table 1). 다시마와 미역의 수용성과 불용성 분획의 첨가로 발생하는 단백질과 지방 증가는 각각 casein과 corn oil로 보정 하여 단백질과 지방의 함량이 일정하도록 하였고 각 군 식이의 열량 함량이 유사하도록 corn starch의 양을 조절하였다. 실험군은 Control(대조군), Seamustard-S(미역수용성분획첨가군), Seamustrad-IS(미역불용성분획첨가군), Seatangle-S(다시마수용성분획첨가군), Seatangle-IS(다시마불용성분획첨가군)로 명명하였다. 사육실의 온도는 22 ± 1℃, 습도는 50~60%로 유지하여 주었으며 light-dark cycle을 12시간 단위로 해주었다. 물과 사료는 자유급식으로 하였고 이틀에 한번씩 일정한 시간에 식이 섭취량을 측정하고 일주일에 한번씩 체중증가량을 기록하였다. 변 중의 무기질 분석을 위하여 실험식이 실시 4일과 8일째에 24시간동안의 변을 수집하였다. 실험식이 실시 10일 후에 AOM을 투여하고(20mg/kg b.w.) 6시간 뒤에 dry ice를 이용한 CO₂ inhalation으로 희생시켰다. 대장을 적출하여 찬 생리식염수

로 행군 다음 분석 전까지 -80℃ 냉동고에서 보관하였다.

3. DNA adduct 분석

1) DNA 분리

대장 조직에서의 DNA 분리는 Ozawa 등(1988)²²⁾의 방법을 참조하였다. 간략히, 조직을 균질화한 후 1% SDS를 함유한 추출완충액을 첨가하여 37℃에서 12시간 반응시켰다. 용해된 세포액에 동량의 phenol: chloroform-isoamylalchol(24 : 1)을 가해 20,000 × g에서 10분 동안 원심 분리하고 상층액을 취하여 다시 위의 과정을 반복하였다. 상층액의 최종 부피의 1/5 분량의 5M NaCl을 넣고, 두 배 분량의 99% 에탄올을 넣은 후 -80℃ 냉동고에서 1시간동안 방치함으로써 DNA를 침전시켰다. 실온평형 후 20,000 × g에서 15~20분간 원심분리하여 얻어진 DNA pellet은 1ml의 70% 에탄올로 세척하였다. DNA를 10mM TE(TrisCl · EDTA, pH 8.0)에 용해시킨 다음 DNA 100µl를 진공 가수분해관에서 건조시켜 분말화 하였다.

2) 가수분해 및 유도체 생성

건조된 DNA가 담긴 가수분해관내에 88% formic acid를 첨가한 후 밀폐하고 145℃로 30분 동안 가열하여 염기를 유리시켰다. DNA 가수분해물에서 산을 제거한 다음 guanase(4mU/100µg DNA) 처리를 한 후 N, O - bis

Table 1. Composition of the experimental diet

Ingredients	(g/100g)					
	Group	Control	Seamustard -S ¹⁾	Seamustard -IS ²⁾	Seatangle -S ³⁾	Seatangle -IS ⁴⁾
Casein		20.0	17.5	19.4	18.7	19.3
Corn starch		40.0	32.7	30.8	31.6	30.7
Sucrose		27.5	27.5	27.5	27.5	27.5
Corn oil		7.5	7.3	7.3	7.2	7.5
α-cellulose		5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Vitamin mixture ⁵⁾		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture ⁶⁾		3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Choline chloride		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-Methionine		0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Seaweeds powder		0.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Total calories(kcal)		417.5	416.5	416.5	416.0	417.5

1) Water soluble fraction of seamustard

2) Water-insoluble fraction of seamustard

3) Water soluble fraction of seatangle

4) Water-insoluble fraction of seatangle

5) Vitamin mixture(mg/100g)

Vitamin D₃ 0.582, α-tocopherol-acetate 1200.0, Retinol-acetate 93.2, Vitamin K₁ 6.0, Thiamin-HCl 59.0, Vitamine B₁₂ 0.2, Vitamin C 588.0, Pyridoxine-HCl 29.0, D-biotin 1.0, Folic acid 2.0, Inositol 1176.0, Ca-pantothenate 235.0, Riboflavin 59.0, Nicotinic acid 294.0, Sucrose 96257.017

6) Mineral mixture(g/100g)

CaCO₃ 29.29, CaHPO₄ · 2H₂O 0.43, KH₂PO₄ 34.31, NaCl 25.06, MgSO₄ · 2H₂O 9.98, Fe(C₆H₅O₇)₂ · 6H₂O 0.623, CuSO₄ · 5H₂O 0.156, MnSO₄ · H₂O 0.121, (NH₄)₂MoO₇ · 4H₂O 0.0025, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.0015, ZnCl₂ 0.02, KI 0.005

(Tri-methylsilyl) trifluoroacetamide(BSTFA): acetonitrile을 2 : 1(v/v)로 섞은 시약을 120 μ l 첨가하고 120 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 가열하여 유도체화 하였다. 내부표준물질인 8-azaadenine과 표준물질 N⁷-medG도 같은 조건에서 가수분해와 유도체화를 실시하였다.

3) GC/MS 분석

유도체화 된 DNA 가수분해물을 SPB-5 fused silica capillary column(Supelco, 50m \times 0.2mm, 0.33 μ m thickness)을 장착한 가스 크로마토그래피(Hewlett Packard, GC 6890)로 분리하여 질량분석기(Hewlett Packard, MS 5973)로 분석하고 표준물질을 이용하여 정량하였다.

4. 무기질 이용율

무기질 분석에 사용된 모든 초자기구는 30% HNO₃용액에 96시간 동안 담근 후 3차 증류수로 행구어 사용하였다.

1) 칼슘과 철 표준용액 제조

칼슘과 철의 표준곡선을 그리기 위한 표준용액은 각각 0.5ppm, 1ppm, 2ppm의 농도로 제조하여 사용하였다.

2) 분해 및 분석

실험식어와 변을 균질화하고 일정량을 취하여 600 $^{\circ}$ C 회화로에서 6시간동안 회화한 후 질산을 첨가하여 분해시켰다. 분해된 시료는 3차 증류수에 용해시켜 stock solution을 제조한 후 10% LaCl₃용액으로 희석하였다. 원자흡광광도계(AA-6000 atomic absorption/flame emission spectrometer, Shimadzu)를 이용해 시료당 3회 반복 측정하여 정량하였다.

3) 흡수율 계산

본 연구에서의 무기질 흡수율은 외견적 흡수율(apparent absorption)로서 식이 중의 칼슘 또는 철의 량에서 변 중의 칼슘 철의 값을 빼준 값을 식이 중으로 섭취한 칼슘 또는 철의 함량으로 나눈 값으로 하였다.

$$\text{Apparent absorption \%} = \{[(\text{dietary mineral intake(g)} - \text{fecal mineral excretion})/\text{dietary mineral intake(g)}] \times 100$$

5. 통계처리

각 실험 결과에 대하여 평균 및 표준오차를 구한 후 군간의 비교는 two-way ANOVA로 분석하고, Duncan's multiple range test와 Fisher's least significant difference에 의해 p < 0.05 수준에서 검정하였다. 모든 통계적 분석은 SAS 통계 프로그램(SAS/STAT version 6, Sas Institute Inc., Cary NC)을 이용하였다.

실험 결과

1. 사료 섭취량, 체중 증가량, 변 중량

1일 평균 사료 섭취량은 군별로 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 해조류 섭취시 체중 증가량은 대조군과 차이가 없었다. 단 해조류 섭취군간 체중 증가를 비교하면 미역 불용성분획 섭취군이 다른 해조류 분획 섭취군에 비해 높게 나타났다. 실험 4일 째와 8일 째에 수집된 대변의 하루 평균 중량(g)은 미역 불용성군이 3.44 \pm 1.39g, 다시마의 불용성군이 3.62 \pm 1.20g으로 다른 군들에 비해 유의적으로 높게 나타났다(Table 2).

2. DNA adduct 형성

대장조직에서 분리한 DNA에서의 N⁷-methylguanine의 생성은 다시마의 수용성 분획 식이를 섭취한 경우 0.98 \pm 0.32nmol/mg DNA로 대조군의 2.44 \pm 1.30nmol/mg DNA보다 유의적으로 낮았다. 미역 수용성 분획 식이를 섭취한 동물의 대장조직내 N⁷-methylguanine 함량 역시 1.31 \pm 1.17nmol/mg DNA로 평균값은 대조군과 비교하여 낮으나 유의차는 나타나지 않았다(Table 3).

3. 칼슘 및 철 흡수율

동물의 대변중 칼슘 및 철 함량을 분석한 결과 다시마와

Table 2. Food intake, body weight gain and fecal weight of animals

Group	Food intake(g/day)	Weight gain(g) ³⁾	Fecal weight(g/d) ⁴⁾
Control	11.85 \pm 2.67 ^{a12)}	3.02 \pm 1.10 ^{ab}	1.40 \pm 0.75 ^{b13)}
Seamustard-S	10.13 \pm 0.55 ^a	2.12 \pm 0.63 ^b	1.56 \pm 0.90 ^b
Seamustard-IS	10.79 \pm 1.44 ^a	4.21 \pm 0.49 ^a	3.44 \pm 1.39 ^a
Seatangle-S	10.12 \pm 0.66 ^a	3.08 \pm 1.71 ^{ab}	1.99 \pm 1.02 ^{ab}
Seatangle-IS	10.17 \pm 0.67 ^a	2.54 \pm 0.35 ^b	3.62 \pm 1.20 ^a

1) Data are means \pm S.E.M.

2) Means with different letters within a column are significantly different from each other at p < 0.05 as determined by Duncan's multiple range test

3) Weight gain during a 10-day experimental period

4) 24hr fecal samples were collected on the 4th and the 8th day

미역의 불용성 분획을 섭취한 군과 다시마 수용성 분획을 섭취한 군의 경우는 하루에 대변으로 배설하는 칼슘과 철의 양이 다른 군들에 비해 유의적으로 많았다(Table 4, 5). 칼슘과 철의 외견상 흡수율은 칼슘의 경우 다시마와 미역 불용성 분획식이군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 철의 흡수율은 미역과 다시마의 불용성분획 식이군과 다시마의 수용성분획 식이군에서 다른 군들에 비해 유의적으로 낮았으며 각각 $-49.74 \pm 20.43\%$, $-38.77 \pm 31.7\%$, $-8.22 \pm 19.54\%$ 로 음의 흡수율을 나타냈다(Table 4, 5).

고 찰

1. 식이 섭취량, 체중 증가량 및 대변 중량

본 연구에서 사용된 동물들의 식이 섭취량은 각 실험 식이

Table 3. Effect of fractionated seamustard and seatangle intakes on colon DNA methylation

Group	N ⁷ -methylguanine/DNA(nmol/mg)
Control	2.44 ± 1.30 ^{ab(1)}
Seamustard-S	1.31 ± 1.17 ^a
Seamustard-IS	2.02 ± 1.35 ^{ab}
Seatangle-S	0.98 ± 0.32 ^a
Seatangle-IS	3.11 ± 1.36 ^a

- 1) Data are means ± SE
- 2) Means with different letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ as determined by Fisher's least significant difference test

Table 4. Effect of fractionated seamustard and seatangle intakes on apparent calcium absorption

Group	Dietary Ca intake(mg/day)	Fecal Ca excretion(mg/day) ³⁾	Apparent absorption(%)
Control	58.25 ± 3.18 ^{b(1,2)}	15.77 ± 2.68 ^d	72.82 ± 5.77 ^a
Seamustard-S	59.50 ± 7.96 ^b	17.33 ± 4.09 ^d	69.91 ± 10.82 ^a
Seamustard-IS	72.38 ± 4.73 ^{ab}	35.44 ± 3.62 ^b	51.03 ± 4.59 ^b
Seatangle-S	63.60 ± 4.18 ^b	22.46 ± 0.93 ^c	64.54 ± 3.64 ^{ab}
Seatangle-IS	87.11 ± 19.63 ^a	38.94 ± 2.31 ^a	53.62 ± 11.76 ^b

- 1) Data are means ± S.E.M.
- 2) Means with different letters within a column are significantly different from each other at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test
- 3) 24hr fecal samples are collected on the 4th day and the 8th day, and averaged for one day

Table 5. Effect of fractionated seamustard and seatangle intakes on apparent iron absorption

	Dietary Fe intake(mg/day)	Fecal Fe excretion(mg/day) ³⁾	Apparent absorption(%)
Control	0.24 ± 0.01 ^{ab(1,2)}	0.16 ± 0.03 ^c	32.49 ± 16.09 ^a
Seamustard-S	0.25 ± 0.03 ^{ab}	0.16 ± 0.04 ^c	33.75 ± 22.97 ^a
Seamustard-IS	0.28 ± 0.02 ^a	0.43 ± 0.06 ^a	-49.74 ± 20.43 ^b
Seatangle-S	0.19 ± 0.01 ^b	0.20 ± 0.02 ^b	-8.22 ± 19.54 ^b
Seatangle-IS	0.30 ± 0.07 ^a	0.41 ± 0.01 ^a	-38.77 ± 31.76 ^b

- 1) Data are means ± S.E.M.
- 2) Means with different letters within a column are significantly different from each other at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test
- 3) 24hr fecal samples are collected on the 4th day and the 8th day, and averaged for one day

군 모두 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않아, 해조류 분획의 첨가가 사료 섭취에 영향을 주지 않았음을 알 수 있었다. 해조류를 첨가한 사료를 섭취한 동물의 체중 증가량도 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나 본 연구결과 해조류 첨가 식이는 변 중량을 유의하게 증가시키는 것으로 관찰되었다. 이는 다시마와 미역의 불용성 분획 내 불용성 섬유소에 의한 부피 증가인 것으로 보인다.²⁹⁾ 수용성 섬유소의 경우에도 발효에 의한 대장 미생물의 양 증가가 변 중량의 증가에 기여하는 것으로 보고되었으나²⁴⁾ 본 실험에서는 대조군과 비교하여 유의한 차이가 나타나지 않았다.

식이 섬유소에 의한 변의 중량 증가는 대장암을 포함한 대장질환 예방 효과가 있는 것으로 보고되었다.²⁸⁾ Cummings 등²⁰⁾은 대장암은 변중량이 적고 장 통과시간이 느릴 때 주로 발생하는데, 이런 현상은 주로 섬유소의 섭취가 적을 때 일어난다고 하였다. 섬유소 섭취에 의한 대변량의 증가는 대장 특히 대장암과 케실증(diverticulosis)이 매우 잘 일어나는 부위인 결장에서 변이 머무르는 시간을 감소시켜 소화기계 질병 및 암을 예방하는 효과가 큰 것으로 생각되고 있다.²⁷⁾ 따라서 다시마와 미역에 존재하는 불용성 섬유질 섭취는 대장 질환의 예방에 효과가 있을 것으로 생각된다.

2. 다시마와 미역의 수용성, 불용성 분획이 대장 조직과 관 조직에서 AOM으로 유도된 DNA adduct 형성에 미치는 영향

대장암의 발생에는 장 내용물 중의 발암물질이나 세포분

열 촉진 인자들이 중요한 역할을 한다. 즉 이러한 물질들과의 접촉이 빈번해지고 이것이 장기간 지속될 경우 정상적인 대장점막에서 종양이 발생된다. 대장 점막은 발암물질을 활성화시켜 돌연변이성 대사체로 만들기엔 충분한 다양한 기능의 산화시스템을 함유할 뿐 아니라 간에서 반응성이 큰 대사산물로 전환된 후 담즙으로 배출되거나 장을 따라 유리되어 내려오면서 acetyltransferase 등에 의해 활성화되어 대장세포의 DNA와 반응하게 된다.²⁸⁾²⁹⁾

본 연구 결과 발암물질인 AOM의 투여는 대장조직의 DNA methylation을 유도하였고, N⁷-methylguanine의 생성은 다시마 수용성 분획 식이를 섭취한 경우 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. 본 연구에서 사용된 해조류에 다량 함유된 수용성 다당류인 푸코이단과 알긴산은 양이온 결합능력이 보고된 바 있으며,³⁰⁾³¹⁾ PhIP 및 MeIQx에 대한 항 돌연변이원성 실험에서도 다시마와 미역에는 알긴산, 푸코이단 및 헤미셀룰로오스와 같은 다당류들이 발암물질을 흡착하는 것으로 나타났다.³²⁾ 또한 수용성 식이 섬유소는 대장의 박테리아에 의해 발효되어 acetate, butyrate, propionate 등의 저급 지방산을 생성하고 저급 지방산은 장내의 pH를 낮추어 이차 담즙산의 생성을 저해하여 담즙산에 의한 점막의 손상을 방지하고 그로 인해 발암물질이 점막과 쉽게 반응하지 못하도록 한다. 뿐만 아니라 이러한 장내의 pH 변화는 일부 대장 미생물의 활성을 저하시켜 대장 점막 내에서 β -glucosidase, β -glucuronidase, tryptophanase 등 발암물질대사에 관여하는 효소의 활성을 변화시킴으로써 발암물질이 생성되는 것을 억제하게 된다.³²⁻³⁴⁾ 이 이외에도 이들 다당류는 수분보유 및 장 통과시간 단축 등의 물리적 특성으로 발암물질과 장벽의 접촉을 저해하게 된다.³⁵⁾

한편 다시마와 미역 등의 해조류의 수용성 분획 중에는 항돌연변이 활성을 지닌 배당체들이 존재하는 것으로 보여¹³⁾¹⁹⁾³⁶⁾ 해조류 수용성 분획은 다양한 기전을 통해 발암 물질에 의한 DNA 손상을 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

3. 다시마와 미역의 수용성 또는 불용성 분획의 섭취가 철과 칼슘의 흡수율에 미치는 영향

칼슘과 철은 우리 나라 식사에서 가장 부족 되기 쉬운 영양소로 1995년 국민영양조사보고서에 의하면 우리 나라 사람들의 1일 평균 칼슘 섭취량은 523mg으로 1일 권장량 700mg에 못 미치는 것으로 나타났으며, 철은 그 급원이 대부분 이용율이 낮은 비헴철(non-heme iron)을 함유하고 있는 식품들이다.³⁷⁾³⁸⁾ 미역과 다시마를 포함한 해조류는 무기질의 함량이 높아 특히 우리 나라 식이 에서 무기질의 주요 급원이 되고 있으나 식이 섬유질의 함량이 매우 높아 무

기질의 흡수에 많은 영향을 줄 것으로 보인다. 본 연구결과 칼슘과 철의 외견적 흡수율(apparent absorption ratio)은 미역과 다시마 섭취에 의해 유의하게 저하되는 것으로 나타났다.

식품 내 섬유질의 물리, 화학적 특성은 철과 칼슘의 결합에 영향을 미치는데, 특히 철과 칼슘은 섬유질에 많이 존재하는 전하를 띤 carboxylic acid 잔기에 의하여 단단한 이온결합을 유지하게 된다.³⁹⁾ 특히 해조류에 다량 함유된 알긴산은 carboxylic acid 잔기를 소유한 mannuronic acid와 guluronic acid가 함유되어 있어 칼슘과 철 흡수를 저해하였을 것으로 보인다. 또한 mannuronic acid와 guluronic acid로 구성된 block은 양이온과 결합하여 겔을 형성하고, 갈조류의 세포벽에 위치한 함황 다당류인 푸코이단도 칼슘 및 철과 결합 할 수 있다.³⁹⁾ 반면, 섬유질 중의 칼슘은 이용율이 높다는 보고도 있는데,³⁹⁾ 섬유질이 소화되지 않은 상태로 대장에 도달하면 수용성 다당류가 대장에서 발효되는 과정 중에 생성된 uronic acid가 칼슘의 흡수를 촉진하는 것으로 나타났다.⁴⁰⁾ 본 실험 결과에서 해조류 수용성 분획 섭취시 칼슘 흡수율은 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다.

반면 다시마와 미역의 섭취시 철의 흡수는 크게 감소하여 미역 수용성, 불용성 분획과 다시마 불용성 분획의 경우 철 흡수율이 음의 평형을 나타내었다. 실제로 구리나 밀의 껍질, 두류 등을 식이에 첨가하였을 때(12~20g/d) 철의 인체 내 이용율이 유의적으로 저하되었다.³⁷⁾ 이같은 철흡수율의 감소는 위에서 언급한 섬유소의 특성에 의한 것으로 생각되며 그 이외에도 장간 순환에 의해 담즙 증으로 섞인 철이 대장 pH 저하에 의해 담즙의 침전이 발생하여 함께 배설 된다는 보고도 있다.⁴¹⁾ 정상적인 생리적 조건하에서는 담즙은 철의 주된 배설경로가 아니지만, 식이 섬유질을 섭취한 경우 담즙의 배설이 촉진되고 이로 인한 담즙의 순환율이 감소하면 담즙을 통한 철의 배출이 계속적으로 이루어지게 된다.⁴²⁾⁴³⁾ 한편 일부 철은 장 점막 세포의 재생과정에서 손실되는 것으로 알려져 있고 특히 섬유질 섭취가 많은 경우 장 점막에 손상을 일으켜 장세포의 손실과 재생을 증가시키는 것으로 보고되었다.⁴⁴⁾ 따라서 섬유질 섭취와 무기질의 이용율에 관한 위의 문헌들과 본 연구결과를 종합하면 식이 섬유질 함량이 많은 다시마와 미역 섭취의 경우 무기질 영양 상태 개선을 위해서는 다른 식품 급원을 통한 충분한 무기질 섭취 등이 권장되어야 할 것으로 보인다.

요약 및 결론

본 연구는 다시마와 미역의 섭취가 생체 내에서의 암의

개시단계에 미치는 영향과 칼슘 및 철의 흡수에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수행되었다. ICR-mice를 다시마와 미역의 수용성 및 불용성 분획 식이 군으로 나누어 10일간 실험 식이를 실시하였다. 발암 전구물질인 AOM 투여시 생성되는 DNA adduct인 N⁷-methylguanine 함량과 칼슘과 철의 외견적 흡수율을 측정된 결과는 다음과 같다.

1) 다시마와 미역의 수용성, 불용성 분획을 섭취한 군에서의 식이 섭취량과 체중 증가량은 군 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나 실험식이 기간동안 수거한 변 중량을 측정된 결과 다시마와 미역의 불용성 식이를 섭취한 군에서 변중량이 유의적으로 높게 나타났으며(p < 0.05) 특히 다시마와 미역의 불용성 분획을 섭취한 군의 변 중량 증가가 매우 높음을 알 수 있었다.

2) 다시마와 미역의 수용성 분획 식이군은 대조군과 비교하여 대장조직 DNA내 N⁷-methylguanine 생성량이 낮았고, 특히 다시마군은 통계적 유의차를 나타내었다(p < 0.05).

3) 칼슘의 흡수율은 다시마와 미역의 불용성 분획을 섭취한 군에서 유의적으로 감소하였고(p < 0.05), 철의 흡수율은 다시마의 수용성과 불용성 분획 및 미역의 불용성분획을 섭취한 군에서 유의적인 감소를 보였으며(p < 0.05) 음의 흡수율을 나타내었다.

이상의 연구결과를 종합해보면 다시마와 미역은 발암원 투여시 생성되는 대장의 DNA-adduct 생성을 감소시킴으로써 암화 과정의 개시단계를 억제하는 효과를 지닐 것으로 보인다. 다시마와 미역의 이러한 효과는 장내의 pH조절, 발암물질 대사에 관여하는 효소활성변화, 발암물질을 흡착 등에 의한 것으로 생각되며 이에 대한 보다 구체적 기전 연구가 진행되어야 할 것이다. 그러나 다시마와 미역의 섭취는 칼슘과 철의 흡수율을 유의하게 감소시키는 것으로 나타나 활용시 무기질 영양에 유의하여야 할 것으로 보인다.

Literature cited

- 1) The Ministry of Health & Welfare, Annual Report of the Central Cancer Registry in Korea, Korea, 1998
- 2) Sung MK. The anticarcinogenic properties of soybeans. *Kor Soybean Digest* 13 19-31, 1996
- 3) Harris CC. Chemical and physical carcinogenesis advances and perspectives for the 1990's. *Cancer Res* 51 5023S-5044S, 1991
- 4) Pitot HC, Dragon YP. The multistage nature of chemically induced hepatocarcinogenesis in the rat. *Drug Metab Rev* 26 209-220, 1994
- 5) La DK, Swenberg JA. DNA adducts biological markers of exposure and potential application to risk assessment *Mutat Res* 365 129-146, 1996
- 6) Johnson IT, Wilamson G, Musk SRR. Anticarcinogenic factors in plant foods a new class of nutrients? *Nutr Res Rev* 7 175-204, 1994
- 7) The Ministry of Health & Welfare. National Nutrition Survey Report, Korea, 1998
- 8) Trowell H. Why a new term for dietary fiber? *Am J Clin Nutr* 30 1003-1004, 1977
- 9) Southgate DA. The definition and analysis of dietary fibre. *Nutr Rev* 35. 31-37, 1977
- 10) Michel C, Lahaye M, Bonnet C, Mabeau S, Barry J. *In vitro* fermentation by human faecal bacteria of total and purified dietary fibres from brown seaweeds. *Bi J Nutr* 75 263-280, 1996
- 11) Chiharu N, Tadashi N, Toshimara Y. Effect of pH on the *in vitro* absorption of mutagens to dietary fibers *Biosci Biotech Biochem* 56 1100-1105, 1992
- 12) Yasuji O, Kiyoka HO. Identification of antimutagenic activities in the extract of an edible brown algae *Hyuka fusiforme*(Hijiki) by *ume* gene expression system in *Salmonella typhimurium*(TA 1538/pSK 1002). *J Sci Food Agri* 66 103-109, 1994
- 13) Oh CK, Oh MC, Kim SH, Lim SB, Kim SH. Antimutagenic and antimicrobial effect of ethanol extracts from sea-mustard and sea-tangle. *J Kor Fish Soc* 31. 90-94, 1998
- 14) Park YB, Ahn JK, Yoo SJ, Park DC, Kim IS, Park YH, Kim SB. Elucidation of anti-tumor initiator and promoter derived from seaweed-4 desmutagenic principles of *Ecklonia stolonifera* extracts against carcinogenic heterocyclic amines. *Kor J Food Sci Nutr* 27 537-543, 1998
- 15) Park YB, Kim IS, Yoo SJ, Ahn JK, Lee TG, Park DC, Kim SB. Elucidation of anti-tumor initiator and promoter derived from seaweed-2. Investigation of seaweed extracts suppressing mutagenic activity of PhIP and MeIQx. *J Kor Fish Soc* 31 581-586, 1998
- 16) Shankar S, Lanza E. Dietary fiber and cancer prevention *Hematol Oncol Clin North Am* 5 25-41, 1991
- 17) James WP, Branch WJ, Southgate DA. Calcium binding by dietary fibre *Lancet* 1(8065) 638-639, 1978
- 18) Ismail-Beigi F, Faraji B, Reinhold JG. Binding of zinc and iron to wheat bread, wheat bran, and their components. *Am J Clin Nutr* 30 1721-1725, 1977
- 19) Harmuth-Hoene AE, Schelenz R. Effect of Dietary fiber on mineral absorption in growing rats *J Nutr* 110 1774-1784, 1980
- 20) Godara R, Kaur AP, Bhat CM. Effect of cellulose incorporation in a low fiber diet on fecal excretion and serum levels of calcium, phosphorus and iron in adolescent girls *Am J Clin Nutr* 34. 1083-1086, 1981
- 21) Oh HI, Ly SY. A Study on nutritional characteristics of common Korean dietary fiber rich foods. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 27 296-299, 1998
- 22) Ozawa T, Tanaka M, Sugiyama S, Hatton K, Ito T, Ohno K, Takahashi A, Sato W, Takada G, Mayumi B. Multiple mitochondrial DNA deletions exist in cardiomyocytes of patients with hypertrophic or dilated cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 170. 830-836, 1990
- 23) Baird JM, Walters RL, Davies PS, Hill MJ, Drasar BS, Southgate DA. The effects of two dietary fiber supplements on gastrointestinal transit, stool weight and frequency, bacterial flora, and fecal bile acids in normal subjects. *Metabol* 26 117-128, 1977
- 24) Chen HL, Haack VS, Janecky CW, Vollendorf NW, Marlett JA. Mechanisms by which wheat bran and oat bran increase stool weight in humans. *Am J Clin Nutr* 68 711-719, 1998
- 25) Heaton KW, Pomare EW. Effect of bran on blood lipids and calcium. *Lancet* 1(7846) 49-50, 1974
- 26) Cummings JH, Hill MJ, Jivraj T, Houston H, Branch WJ, Jenkins DJA. The effect of meat protein and dietary fiber on colonic function and metabolism *Am J Clin Nutr* 32. 2086-2093, 1979
- 27) Slavin JL, Marlett JA. Influence of refined cellulose on human bowel function and calcium and magnesium balance. *Am J Clin Nutr* 33 1932-1939, 1980
- 28) Bach KW. Metabolic polymorphism affecting activation of toxic and mutagenic arylamines *Trends Pharmacol Sci* 13 223-226, 1992
- 29) Lang NP, Butler MA, Massengill J, Lawson M, Stotts RC, Houser-Jen-

- sen M, Kadlubar FF. Rapid metabolic phenotypes for acetyltransferase and cytochrome P450 1A2 and putative exposure of food-borne heterocyclic amines increase the risk for colorectal cancer or polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 3: 675-682, 1994
- 30) Murata K, Inose T, Hisano T, Abe S, Yonemoto Y, Yamashita T, Takagi M, Sakaguchi K, Kimura A, Imanaka T. Bacterial alginate lyase: enzymology, genetics and application. *J Ferment Bioengineering* 76: 427-437, 1993
- 31) Logeart DP, Prigent-Richard S, Bousson-Vidal C, Chaubet F, Durand P, Jozefonvicz J, Letourneur D. Fucans, sulfated polysaccharides extracted from brown seaweeds, inhibit vascular smooth muscle cell proliferation. II. Degradation and molecular weight effect. *Eur J Cell Biol* 74: 385-390, 1997
- 32) Ohkami H, Tazawa K, Yamashita I, Shimizu T, Murai K, Kobashi K, Fujimaki M. Effects of apple pectin on fecal bacterial enzymes in azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis. *Jpn J Cancer Res* 86: 523-529, 1995
- 33) Bauer HG, Asp N, Dahlqvist A, Fredlund PE, Nyman M, Oste R. Effect of two kinds of pectin and guar gum on 1,2-dimethylhydrazine inhibition of colon tumors and on fecal β -glucuronidase activity in the rat. *Cancer Res* 41: 2518-2523, 1981
- 34) Suaeayun R, Kinouchi T, Arimochi H, Vinitketkumnuen U, Ohnishi Y. Inhibitory effect of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) on formation of azoxymethane-induced DNA adducts and aberrant crypt foci in the rat colon. *Carcinogenesis* 5: 949-955, 1997
- 35) Ferguson LR, Harris PJ. Studies on the role of specific dietary fibres in protection against colorectal cancer. *Mutat Res* 350: 173-184, 1996
- 36) Ahn BW, Lee DH, Yeo SG, Kang JH, Do JR, Kim SB, Park YH. Inhibitory action of natural food components on the formation of carcinogenic nitrosamine. *Bull Kor Fish Soc* 26: 289-296, 1993
- 37) Yu CH, Hong HO. A Study on Ca Metabolism of college women eating usual Korean diet. *Kor J Nutr* 28: 1049-1056, 1995
- 38) Lee LH, Lee IY, Roh YH, Paik HY, Kim KS, Cho JH. A Study on Ca, P and Fe excretions in healthy adult Koreans on their usual diet. *Kor J Nutr* 21: 317-324, 1988
- 39) Kim H, Zemel MB. In vitro estimation of the potential bioavailability of calcium from sea mustard (*Undaria pinnatifida*), milk, and spinach under simulated normal and reduced gastric acid conditions. *J Food Sci* 51: 957-959, 1986
- 40) Greger JL. Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. *J Nutr* 129: 1434S-1435S, 1999
- 41) Sanyal AJ, Hirsch JL, Moore EW. Evidence that bile salts are important for iron absorption. *Am J Physiol* 266: G318-G323, 1994
- 42) Cikrt M, Ponka P, Necas E, Neuwirt J. Biliary iron excretion in rats following pyridoxal isonicotinoyl hydrazone. *Br J Haematol* 45: 275-283, 1980
- 43) Petersen KM, Parkinson AJ, Nobmann ED, Bulkow L, Yip R, Mokdad A. Iron deficiency anemia among Alaska Natives may be due to fecal loss rather than inadequate intake. *J Nutr* 126: 2774-2783, 1996