

다시마 분말을 첨가한 전통된장 에탄올 추출물의 항돌연변이성 및 항암효과

최승필 · 이의용 · 이득식* · 함승시†

강원대학교 바이오산업공학부
*동해대학교 관광의식산업학과

Antimutagenic and Anticancer Effects of Ethanol Extract from Korean Traditional *Doenjang* Added Sea Tangle

Cheng-Bi Cui, Eue-Yong Lee, Deuk-Sik Lee* and Seung-Shi Ham†

School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

*Dept. of Tourism and Foodservice Industry, Dong Hae University, Dong Hae 240-150, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate antimutagenic and anticancer effects of ethanolic extract of Korean traditional *doenjang* added sea tangle. Most of the mineral content of *doenjang* was increased by addition of sea tangle. In the Ames test, the antimutagenic effect of ethanol extract of Korean traditional *doenjang* added 5% sea tangle was higher than that of control (no additive), 10%, and 15% sea tangle additions. The inhibition rate of ethanol extract (200 µg/plate) of *doenjang* added 5% sea tangle in the *S. typhimurium* TA100 strain showed 97.0% inhibition against the mutagenesis induced by MNNG. In addition, the suppression of ethanol extract (200 µg/plate) of *doenjang* added 5% sea tangle in the *S. typhimurium* TA98 and TA100 strains showed 60.2% and 69.1% inhibition respectively, against the mutagenesis induced by 4NQO. The suppressions under the same condition against B(a)P and Trp-P-1 in the TA98 and TA100 strains were 71.7% and 87.3%, and 66.6% and 80.8%, respectively. In the anticancer effects, the cytotoxicity of *doenjang* added 5% sea tangle on the cell lines with human lung carcinoma (A549), human hepatocellular carcinoma (HepG2), and human gastric carcinoma (KATOIII) were inhibited with increasing the extract concentration. The treatment of 1.0 mg/mL *Doenjang* added 5% sea tangle showed strong cytotoxicity of 56.4%, 87.6%, and 89.5% against A549, HepG2, and KATOIII, respectively.

Key words: sea tangle, *doenjang*, cytotoxicity, micronucleus

서 론

전통식 된장은 우리의 식생활에서 주요한 위치를 차지하고 있어 단백질은 물론, 탄수화물, 지방 등의 영양소가 골고루 들어 있는 콩 발효식품이며 그 옛날 육류 섭취량이 적었던 시절에 단백질 공급원으로서 최고의 영양식이었다. 최근에는 된장이 항돌연변이원성·항산화성 등과 같은 생리활성 효과로 성인병 예방은 물론 암을 예방하는 건강식으로 알려져 사람들의 관심을 모으고 있다(1-3). 이러한 생리활성 효과 중 항암효과는 원료인 콩에서 유래하는 것과 발효과정에서 분해되거나 새롭게 만들어지는 성분에 의해서 나타나는 것으로 추정되고 있다. 대두에서 유래하는 항암활성 물질로는 protease inhibitor(4-6), phytic acid(7,8) 및 isoflavones(9-11) 등이 보고되고 있으며, 특히 genistein을 비롯한 대두 isoflavone 성분의 항암효과에 대한 연구는 현재도 큰 관심속에서 진행되고 있다(12). 일찌기 장류에 대한 연구를 추진해온 일

본은 일본 장류의 생리활성(항암, 고혈압 억제, 혈중 콜레스테롤 저하 등)을 연구하여 그 특성을 과학적으로 입증한 바 있다(13,14). 이러한 전통식품을 좀더 현대인의 소비자 기호에 맞게 변형시키려는 노력 이외에 근래에는 여러 가지 기능성 소재를 첨가하여 그 기능성을 향상시키는 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 실험에 사용된 기능성 소재중 하나인 다시마(*Laminaria longissima*)는 갈조류에 속하는 다시마과의 한 속으로서 한국, 일본 및 중국 등의 극동 아시아 지역에 서식하며, 독특한 맛과 향으로 기호성이 양호하다(15). 또한 갈조류 중에는 중성다당인 laminaran과 황산기를 함유한 산성다당인 fucoidan과 alginate이며(16), fucoidan은 heparin과 같은 혈액응고 활성 이외에 항암 및 항 AIDS 등의 활성이 있다는 보고가 있다(17).

이와 같이 다시마의 독특한 기능성 성분과 된장의 영양 및 기능성이 함유된 전통된장은 소비자의 기호 및 상품성이

†Corresponding author. E-mail: hamss@cc.kangwon.ac.kr
Phone: 82-33-250-6453. Fax: 82-33-250-6453

충분히 기대가 된다. 따라서 본 연구에서는 기능성 된장 제조 시 다시마를 농도별로 첨가하여 항암활성 및 항돌연변이 효과를 분석하여 관능 및 기능성이 우수한 기능성 전통 된장을 제조하여 산업화를 하는데 그 기초자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 다시마 분말은 강원도 고성군 2000년산을 사용하였으며 콩, 소금 등은 시판되는 것으로 하였고 누룩은 상주 곡자회사로부터 구입하였다.

시약

직접 돌연변이원(directmutagen)으로서 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG), glucose-6-phosphate는 미국 Sigma 회사로부터 구입하였다. 간접 돌연변이원(indirect mutagen)으로 benzo(*a*)pyrene(B(*a*)P)과 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indol(Trp-P-1) 그리고 L-histidine는 일본 和光純藥 특급시약을 구입하였다. 세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 Hepes buffer, Fetal bovine serum(FBS), Tripsin-EDTA는 Gibco사(USA)로부터 구입하였다. 본 실험에 이용된 인간 폐암세포 A549(Lung carcinoma, Human), 인간 간암세포 HepG2(Human hepatocellular carcinoma), 인간 위암세포 KATOIII(Gastric carcinoma, Human) 및 정상세포 293(transformed primary human embryonal kidney)은 Korea Cell Line Bank (KCLB)로부터 구입하여 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. 그외 추출 용매인 에탄올은 특급시약을 사용하였다.

된장의 제조 및 추출

된장의 원료 배합비율은 콩, 쌀코오지, 소금은 10:20:3의 비율로 하였고, 다시마 분말은 5%, 10% 그리고 15%를 첨가하여 3개월간 숙성시켜 된장을 제조하였다. 제조된 된장에 10배의 70% 에탄올을 첨가하고 80°C에서 8시간씩 3회 추출하였으며, 감압여과 장치에서 뜨거운 상태로 여과시킨 후 감압농축하여 추출용매를 제거한 후 동결건조기를 이용하여 건조시켜 실험에 사용하였다.

일반분석

일반성분은 AOAC법(18)과 식품공전(19)의 방법에 따라 3회 분석하여 평균값으로 하였다. 즉 수분은 105°C 상압건조법, 조회분은 건식회화법, 조지방은 에테르추출법, 조단백질은 Kjeldahl법으로 분석하였다. 염분은 AgNO₃ 적정법으로 분석하였으며 탄수화물은 100에서 수분, 조회분, 조단백질, 조지방, 염분을 뺀 값으로 하였다. 무기물은 식품공전에 의해 분석하였다.

돌연변이원성 실험

다시마 분말을 농도별로 첨가한 된장의 돌연변이원성 실험

은 *S. typhimurium*의 변이주인 TA98과 TA100을 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation법(20)으로 실시하였다. 건열멸균시킨 glass cap tube에 각각의 시료를 50 µg/plate씩 가하고 여기에 전배양 시킨 배양균액 100 µL를 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700 µL가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar(45°C)를 2 mL씩 가하여 잘 혼합한 후 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판고정화시켜 37°C에서 48시간 배양하여 생긴 복귀돌연변이(his⁺ revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

항돌연변이원성 실험

Ames test를 개량한 preincubation법에 따라 항돌연변이원성 실험을 실시하였고, 실험에 사용한 변이원물질은 4NQO, MNNG, B(*a*)P 및 Trp-P-1이다. 건열멸균시킨 glass cap tube에 시료의 추출물을 각각 50 µL씩 첨가하고 이어서 변이원 물질을 각각 50 µL씩 첨가하였다. 간접 변이원인 경우 10% S-9 mix를 250 µL씩 첨가하였다. 여기에 전배양시킨 균액을 100 µL씩 주입한 후에 0.2 M sodium phosphate buffer를 가하여 최종부피가 700 µL가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 상기의 돌연변이원성 실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 복귀돌연변이 수를 측정하여 항돌연변이성 유무를 판정하였다. 다시마 분말을 첨가한 된장의 추출물과 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며, 항돌연변이활성은 변이원물질의 활성에 대한 시료의 억제율(inhibition, %)로 나타내었다. 그림에서 나타난 억제율은 3회 반복실험을 실시하여 평균치를 나타낸 것이다.

$$\text{Inhibition}(\%) = [(M - S_1) / (M - S_0)] \times 100$$

M: 돌연변이 물질만 존재한 경우의 복귀 돌연변이 수

S₀: 자연 복귀 돌연변이 수

S₁: 시료를 첨가하였을 때의 복귀 돌연변이 수

세포독성 실험

SRB[sulforhodamine B] assay는 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법(21)으로 10%의 fetal bovine serum과 각각의 세포들인 인간 폐암세포(A549), 인간 간암세포(HepG2), 인간 정상세포(293)를 함유하는 RPMI 1640 배지를 5×10⁴ cell/mL 농도로 100 µL씩 각 well에 첨가하여 하루동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후 PBS에 녹인 추출물들을 각각 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL씩 첨가하여 다시 48시간 배양시켰다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 차가운 10% TCA(4°C) 용액을 50 µL씩 첨가하여 세포들을 well 바닥에 고정시켰다. 한시간 동안 4°C에서 배양시킨 후, TCA와 배지들을 제거하기 위하여 증류수로 다섯번 행구었다. Plate를 건조시키고 여기에 1% acetic acid에 녹인 0.4% SRB를 첨가해서 30분 동안 염색시킨 후 결합하지

많은 SRB염색액을 제거하기 위해 1% acetic acid 용액으로 네번 세척하였다. 건조기에서 건조된 plate는 10 mM Tris buffer 100 μ L로 염색제를 충분히 녹인 후 540 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다.

MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide) assay는 세포의 생육 및 분화를 측정하는 방법(22)으로서, 이 실험은 살아 있는 세포의 미토콘드리아 내의 dehydrogenase가 황색 수용성 물질인 MTT에 의해 dark blue formazan을 생성해내는 점을 기초로 한다. 인간 위암세포(KATOIII)세포와 10% fetal bovine serum을 함유한 RPMI 1640배지를 5×10^4 cell/mL 농도로 각각의 well에 100 μ L씩 첨가하여 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후 각각의 시료를 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 mg/mL의 농도로 100 μ L씩 첨가하여 48시간동안 다시 배양하였다. 여기에 MTT(5 μ g/ μ L) 용액을 20 μ L씩 첨가하여 4시간 동안 배양시켜 formazan을 형성시킨 후 조심스럽게 aspirator로 상등액을 제거시켰다. 그리고 DMSO(dimethyl sulfoxide) 150 μ L를 첨가하여 formazan을 녹인 후 540 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

$$\text{EDA}(\%) = [1 - (A/B)] \times 100$$

A: 시료의 흡광도

B: 대조구 흡광도

결과 및 고찰

된장의 일반분석

다시마, 메주, 다시마 분말을 첨가한 된장의 일반성분 분석 결과는 Table 1 및 Table 2에 나타내었다. 다시마 분말을 첨가한 전통된장의 주원료가 되는 메주, 다시마 그리고 된장의 일반성분을 식품 성분표(23)와 비교하여 볼 때, 약간의 차이가 나는 것은 주원료 및 부원료의 수확시기, 재배조건, 기후, 품종, 제조방법 등의 여러 조건에 기인한 것으로 사료된다. 다시마 분말 무첨가 된장에서는 조단백질 함량이 19.5%이었고, 다시마 분말을 첨가한 5%, 10%, 15%의 된장은 조단백질 함량이 각각 17.0%, 15.1%, 13.0%로 다시마 분말 무첨가 된장에 비해 조단백질 함량이 2.5%이상 감소하였다. 조지방, 탄수화물도 다시마 분말 무첨가 된장에 비해 첨가군에서는 각각 1.4%, 1.3% 이상 감소되었고, 수분과 염분의 함량은 다

Table 1. Proximate composition of sea tangle, *meju* and *doenjang* (unit: %)

Composition	Sea tangle	<i>Meju</i>	Addition of sea tangle <i>doenjang</i>			
			0%	5%	10%	15%
Moisture	10.4	9.2	42.5	44.8	46.0	50.2
Protein	7.3	42.0	19.5	17.0	15.1	13.0
Fat	1.2	14.5	13.6	12.2	11.1	9.0
Ash	30.8	5.8	10.1	12.3	13.4	13.6
Salt	18.7	0.1	9.0	9.7	10.4	10.9
Carbohydrate	31.6	28.4	5.3	4.0	4.0	3.3

Table 2. Mineral content of sea tangle, *meju* and *doenjang* (unit: %)

Inorganic composition	Sea tangle	<i>Meju</i>	Addition of sea tangle <i>doenjang</i>			
			0%	5%	10%	15%
Fe	11.5	13.0	2.9	3.0	3.3	3.4
Mn	0.5	4.2	1.4	1.4	1.5	1.4
Cu	0.1	1.0	0.7	0.5	0.4	0.4
Zn	1.2	5.1	2.4	1.9	1.8	1.6
P	168.2	811.6	177.8	178.4	186.3	194.5
Ca	939.2	197.6	111.1	120.6	132.5	140.1
Mg	764.8	296.2	77.2	79.7	86.6	89.8
K	8159.3	1890.5	792.3	912.0	986.1	1006.7

다시마 분말 첨가 된장이 무첨가군보다 증가된 것으로 나타났다. 또한 무기물 중 Fe, Mn, P, Ca, Mg, K의 함량은 증가되었는데 특히, K의 함량은 다시마 분말 무첨가군 된장에 비해 첨가군에서 119.7 mg% 이상 증가하였다. Cu, Zn의 함량은 다시마 분말 무첨가 된장이 다시마 분말 첨가 된장에 비해 각각 0.2%, 0.3% 이상 감소된 것으로 나타났다. 이는 다시마 분말의 첨가량이 증가함에 따라 주원료인 메주의 양은 감소되기 때문인 것으로 추정되었다.

Ames test를 이용한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성

S. typhimurium TA98과 TA100을 이용한 Ames test를 행한 결과 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 17 ± 3 그리고 TA100은 174 ± 7 이었다. 다시마 분말을 첨가한 된장 에탄올 추출물을 50, 100, 150, 200 μ g/plate의 여러 농도를 첨가하여 실험한 결과, 집락수가 음성대조군에 비하여 농도 변화에 따른 집락수의 큰 변화를 나타내지 않으므로 다시마 분말을 첨가한 된장 에탄올 추출물은 돌연변이원성을 나타내지 않은 것으로 판단되었다(테이타 생략). 다음에 돌연변이원성 억제작용을 검토하기 위하여 Ames test에서 양성반응을 나타내며, 물질 그 자체로서 돌연변이를 유발하는 직접 변이원물질로 MNNG와 4NQO 그리고 대사활성을 필요로 하는 간접 변이원물질인 B(α)P과 Trp-P-1을 사용하여 각각의 농도에 따른 돌연변이원성 억제효과를 검토하였다. 다시마 분말을 첨가한 된장의 에탄올 추출물을 가지고 항돌연변이 실험을 한 결과, 식품의 조리과정 중 발생하는 강력한 발암물질로써 직접변이원으로 사용된 MNNG(0.4 μ g/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 200 μ g/plate에서 5% 다시마 분말 첨가 된장이 97.0%의 높은 억제효과를 나타내었고 다시마 무첨가군과 10%, 15%의 첨가군에서 각각 89.3%, 83.6% 그리고 82.1%로 5% 다시마 분말을 첨가한 된장에 비해 약간 낮은 억제효과를 나타내었다(Fig. 1). Fig. 2는 4NQO(0.15 μ g/plate)에 대한 *S. typhimurium* TA98과 TA100의 실험결과로써 두 경우 모두 5%의 다시마 분말 첨가 된장에서 다른 첨가군에 비해 높은 억제효과를 보였다. TA98의 경우는 에탄올 추출물이 시료농도 200 μ g/plate에서 60.2%를 나타내는데 비해 무첨가, 10%, 15% 다시마 첨가 된장의 경우 각각 49.5%, 43.7%, 45.8%의 억제

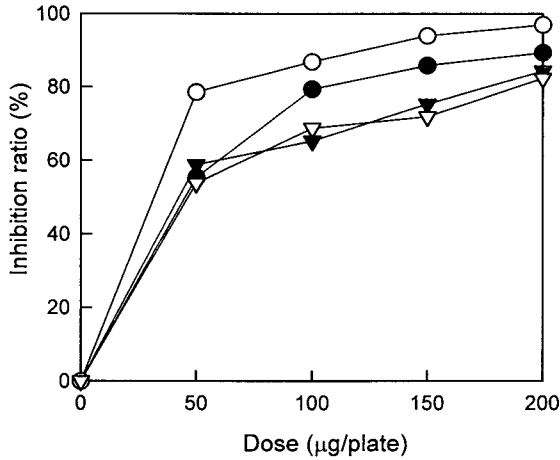


Fig. 1. Antimutagenic effects of *doenjang* ethanol extracts against MNNG (0.4 µg/plate) on *S. typhimurium* TA100. ●: control (no addition), ○: 5% addition of sea tangle, ▼: 10% addition of sea tangle, ▽: 15% addition of sea tangle.

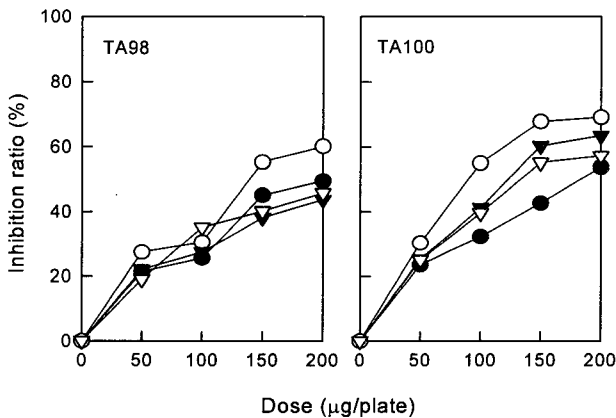


Fig. 2. Antimutagenic effects of *doenjang* ethanol extracts against 4NQO (0.15 µg/plate) on *S. typhimurium* TA98 and TA100. ●: control (no addition), ○: 5% addition of sea tangle, ▼: 10% addition of sea tangle, ▽: 15% addition of sea tangle.

효과를 나타내었다. TA100 균주의 경우에는 5% 다시마 분말을 첨가한 된장의 경우 같은 시료농도에서 69.1%로, 무첨가, 10%, 15% 다시마 첨가 된장에서 각각 53.7%, 63.4% 그리고 57.2% 순으로 나타났다. 이와 같이 다시마 분말을 5% 첨가한 된장의 에탄올 추출물은 시료 농도 증가에 따라 TA98과 TA100 균주 모두에서 각 변이원에 대한 돌연변이 억제효과도 증가하였다.

한편, microsomal enzyme의 대사활성에 의해서만 돌연변이원성을 나타내는 간접변이원으로서 실제로 식품을 통해 흡수될 수 있는 polycyclic aromatic hydrocarbon인 B(a)P와 아미노산 가열분해물인 Trp-P-1을 사용하여 실험을 수행하였다.

B(a)P(10 µg/plate)를 사용한 경우(Fig. 3)에서는 *S. typhimurium* TA98, TA100 두 균주 모두에서 시료농도 증가에 따라 억제효과 또한 증가하는 경향을 보였다. 5% 다시마 분말

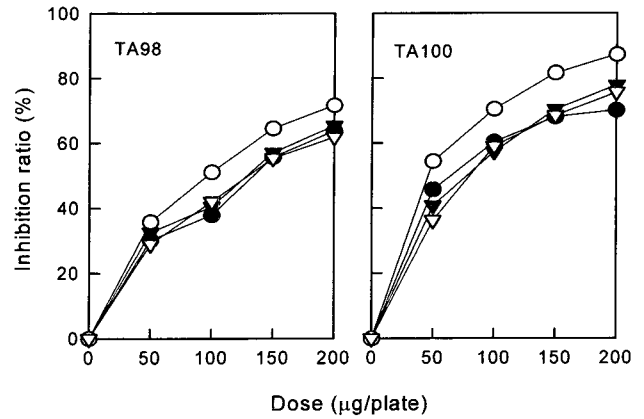


Fig. 3. Antimutagenic effects of *doenjang* ethanol extracts against B(a)P (10 µg/plate) on *S. typhimurium* TA98 and TA100. ●: control (no addition), ○: 5% addition of sea tangle, ▼: 10% addition of sea tangle, ▽: 15% addition of sea tangle.

첨가군에서는 TA98 균주에서 시료농도 200 µg/plate로 한 경우 다른 첨가군보다 다소 높은 71.7%의 억제율을 나타내었다. TA100의 경우는 5% 다시마 분말을 첨가한 된장이 같은 농도에서 87.3%로 다른 첨가군보다 높은 억제효과를 보였다. 또한 Trp P-1(0.15 µg/plate)에서는 TA98 균주의 경우 시료농도 200 µg/plate 농도에서 5% 다시마 분말 첨가군이 66.6%로, 다시마 무첨가, 10%, 15%첨가군은 각각 57.7%, 61.3%, 58.1%의 억제율을 나타내었다. TA100 균주에서는 다시마 분말 5% 첨가군 에탄올 추출물이 시료농도 200 µg/plate 농도에서 80.8%의 억제 효과를 보였으며, 같은 농도에서 다시마 무첨가, 10%, 15% 첨가군에서 각각 63.5%, 71.4%, 73.8%로 5%의 첨가군보다 약간 낮은 억제율을 나타내었다 (Fig. 4).

이상의 결과에서와 같이 된장의 항돌연변이원성은 그 자체로도 효과를 나타내었으며, 다시마 분말 첨가로 더욱 높은

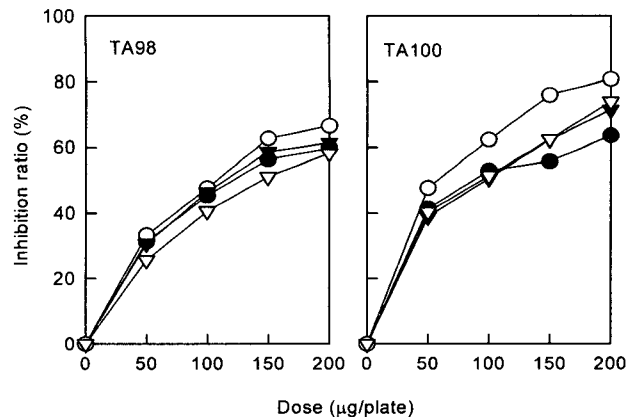


Fig. 4. Antimutagenic effects of *doenjang* ethanol extracts against Trp-P-1 (0.5 µg/plate) on *S. typhimurium* TA98 and TA100. ●: control (no addition), ○: 5% addition of sea tangle, ▼: 10% addition of sea tangle, ▽: 15% addition of sea tangle.

항돌연변이 효과를 나타내었다. 특히 다시마 분말 첨가는 된장과의 시너지 효과를 나타내어 더욱 높은 생리활성 효과를 나타내었다. 이러한 결과는 Park 등(2)이 보고한 전통된장의 항돌연변이 효과에 관한 연구와도 일치하는 결과를 나타내었다. 본 연구에서 된장에 다시마 분말을 첨가함으로써 시너지 효과를 보인 것은 다시마의 함유 산성다당인 fucoidan과 alginate(11)의 성분 등이 된장의 생리활성 성분과 공동으로 작용한 것으로 사료된다. 그리고 다시마 분말 첨가량이 10%, 15%로 증가함에 따라 항돌연변이원성이 약간 낮게 나타났던 것은 생리활성의 시너지 효과는 다시마 5%내외의 첨가량이 더 효과적이라는 것을 암시해주었다. 이러한 결과는 다시마 유래의 식이섬유나 alginate, fucoidan 등의 생리활성 기능을 갖고 있는 성분들과 대두의 생리활성 성분인 isoflavones 등이 발효미생물의 작용으로 각종 성분 상호간의 작용 및 생성된 미지의 화합물이 상승효과를 촉진시켜 주는 것으로 사료된다.

된장 추출물의 인간 암세포 성장억제효과

암 유발 초기단계에서 돌연변이가 매우 중요한 작용을 하고 대부분의 발암물질이 돌연변이원이라는 공통점은 항돌연변이원성을 나타내는 물질이 항암활성을 가질 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 본 실험에서는 각종 암세포에 대한 세포 독성을 규명하기 위해 암세포로 A549, HePG2, KATOIII와 대조로서 정상세포 293을 이용하여 다시마 분말을 첨가한 된장의 에탄올 추출물에 대하여 SRB assay 및 MTT assay를 행하였다. 이들 에탄올 추출물의 암세포에 대한 성장 저해 효과를 검토하기 전에 정상세포에 대한 독성효과를 살펴보았는데 인간의 정상세포인 293에 대하여 최고 농도 1.0 mg/mL에서 모두 30%이하의 낮은 억제 효과를 나타내어 정상세포에 대해 비교적 낮은 독성효과를 나타내었다(Fig. 5).

Fig. 6은 다시마 분말을 첨가한 된장의 에탄올 추출물이 인간 폐암세포 A549에 대한 저해효과를 나타내었다. 그 결과

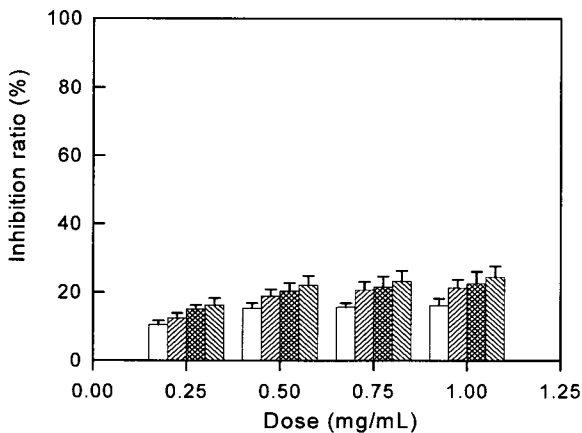


Fig. 5. Growth inhibitory effects of doenjang ethanol extracts on human transformed primary embryonal kidney (293).
□: control (no addition), ▨: 5% addition of sea tangle, ▩: 10% addition of sea tangle, ▭: 15% addition of sea tangle.

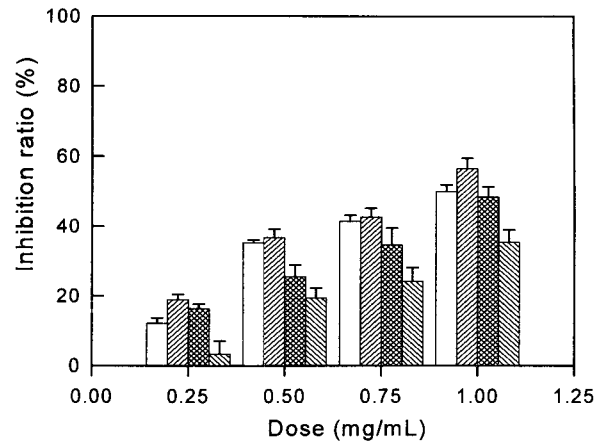


Fig. 6. Growth inhibitory effects of doenjang ethanol extracts on human lung carcinoma (A549).

□: control (no addition), ▨: 5% addition of sea tangle, ▩: 10% addition of sea tangle, ▭: 15% addition of sea tangle.

0.5, 0.75, 1.0 mg/mL의 농도에서 다시마 분말을 5% 첨가한 된장이 다른 첨가군에 비해 약간 높은 36.7%, 42.6% 그리고 56.4%의 억제효과를 나타내었다. Fig. 7에서는 다시마 분말 첨가 된장의 에탄올 추출물을 이용하여 인간 간암세포 Hep-G2에 대한 저해효과를 나타내었으며, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL의 시료농도에서 다시마 분말 5% 첨가시 다시마 무첨가, 10%, 그리고 15% 다시마 첨가 된장의 경우보다 활성이 높은 53.2%, 74.4%, 87.6%의 억제효과를 나타내었다. 한편 Fig. 8은 KATOIII 세포에 대한 다시마 분말을 첨가한 된장 에탄올 추출물의 암세포 성장 억제효과를 나타낸 것으로 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL 첨가시 다시마 분말을 5% 첨가한 된장이 다른 첨가군에 비해 비교적 높은 55.4%, 78.6%, 89.5%의 암세포 성장 억제효과를 나타내었다. 이상의 결과에서와 같이 다시마 분말 무첨가군 및 첨가군에서 HepG2와 KATOIII에 대해서 매우 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었으며, 특히 5% 다시마 분말 첨가군에서 유의적(p<0.05)으로 다른 첨가군보다 높

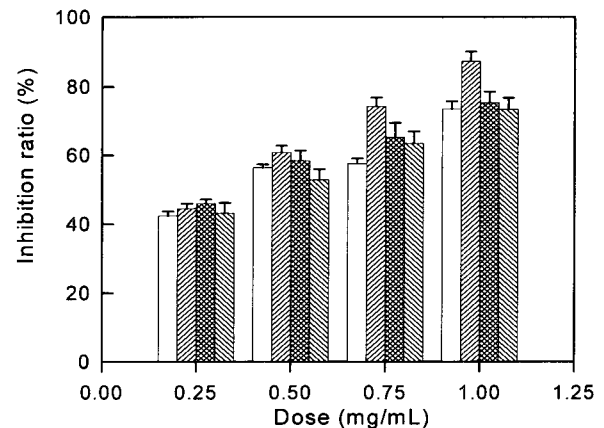


Fig. 7. Growth inhibitory effects of doenjang ethanol extracts on human hepatoblastoma (HepG 2).

□: control (no addition), ▨: 5% addition of sea tangle, ▩: 10% addition of sea tangle, ▭: 15% addition of sea tangle.

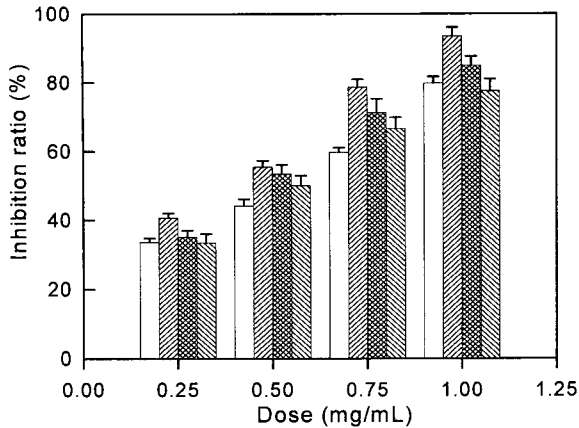


Fig. 8. Growth inhibitory effects of *doenjang* ethanol extracts on human gastric carcinoma (KATO III).

□: control (no addition), ▨: 5% addition of sea tangle, ▩: 10% addition of sea tangle, ▪: 15% addition of sea tangle.

은 억제활성을 나타내었다. 또한 시료농도가 0.5에서 1.0 mg/mL로 증가함에 따라 억제율도 높게 나타나는 것으로 보아 시료농도와 억제율은 상관관계가 있음을 암시하였다.

Choi 등(24)은 된장 분획물이 시료농도 10 µL/mL의 농도에서 간암세포(HepG2)에 대하여 대부분 75%이상의 암세포 억제효과를 나타내는 것으로 보고하여 본 실험결과와 거의 일치하는 것을 알 수 있었다. 콩 및 콩 관련 식품들의 항암성에 대해서는 여러 차례 보고되어 있으며, 콩을 많이 섭취하는 동양인들은 기름진 식사를 주로 하는 서양인들에 비해 유방암, 결장암, 전립선암 등이 훨씬 낮으며(25,26), 콩에서 유래된 trypsin inhibitor가 마우스, hamster 등의 실험동물에서 췌장암(27), 구강암(28), 대장암과 간암(29), 피부암, 유방암(30) 등에 대해서 항암효과를 가진다고 보고되고 있다. 이상의 실험결과로부터 된장에 다시마 분말 5% 첨가가 생리활성을 높이는 시너지 효과가 가장 큰 것으로 나타났으며, 향후 항돌연변이 활성 및 세포독성 효과가 높게 나타난 5% 다시마 분말 첨가 된장의 에탄올 추출물에 대해서는 유용 생리활성 물질만을 분리정하는 실험을 진행할 필요가 있을 것으로 사료된다.

요 약

배주와 다시마 그리고 이들 재료를 사용하여 자연발효에 의해 제조한 전통된장에 대한 일반성분을 분석한 결과 기존의 된장에 비해 대부분의 무기물 함량이 증가하였다. 직접 변이원인 MNNG에 대한 항돌연변이 효과(200 µg/plate)에서 *S. typhimurium* TA100 균주에 대해 다시마 분말 5% 첨가 된장이 다른 첨가 농도보다 높은 97.0%의 억제효과를 나타내었다. 4NQO에서도 5%의 다시마 분말을 첨가한 된장이 *S. typhimurium* TA98 균주와 TA100 균주에 대해서 시료농도 200 µg/plate에서 각각 60.2%와 69.1%로 다른 첨가군보다 높은 억제효과를 나타내었다. B(a)P에 대한 억제효과에

서는 시료의 농도 200 µg/plate에서 TA98, TA100 두균주에 대하여 다시마 분말 5% 첨가 된장이 각각 71.7%와 87.3%로 다른 첨가군보다 높은 억제활성을 나타내었으며, Trp-P-1에 대해서는 두 균주가 시료농도 200 µg/plate에서 각각 66.6%와 80.8%로 다른 다시마 분말 첨가 농도보다 높은 억제효과를 나타내었다. 암세포 성장억제 효과를 검토한 실험에서는 5% 다시마 분말을 첨가한 된장이 1 mg/mL에서는 A549가 56.4%, HepG2가 87.6% 그리고 KATOIII이 89.5%의 암세포 성장억제효과를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 강원도 고성군 농업기술센터의 지원으로 수행한 결과의 일부이며 연구지원에 감사를 드립니다.

문 헌

- Cheigh HS, Lee JS, Lee CY. 1993. Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. *J Kor Soc Food Nutr* 22: 570-575.
- Park KY, Moon SH, Baik HS, Cheigh HS. 1990. Antimutagenic effect of *doenjang* (Korean fermented soy paste) toward aflatoxin. *J Kor Soc Food Nutr* 19: 156-162.
- Chung KS, Yoon DJ, Hong SS, Choi SY. 1997. Cytotoxicity of fermented soybean products with various tumor cell using MTT assay. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 477-482.
- Kennedy AR, Little JB. 1981. Effects of protease inhibitors on radiation transformation *in vitro*. *Cancer Res* 41: 2103-2108.
- Yavelow J, Finlay TH, Kennedy AR, Troll W. 1983. Bowman-Birk soybean protease inhibitor as an anticarcinogen. *Cancer Res* 43: 2454s-2459s.
- St Clair WH, Billings PC, Carew JA, McGandy CK, Newberne P, Kennedy AR. 1990. Suppression of dimethylhydrazine induced carcinogenesis in mice by dietary addition of the Bowman-Birk protease inhibitor. *Cancer Res* 50: 580-586.
- Shamsuddin AM, Ullah A, Chakravarthy AK. 1989. Inositol and inositol hexaphosphate suppress cell proliferation and tumor formation in CD-1 mice. *Carcinogenesis* 10: 1461-1463.
- Shamsuddin AM, Elsayed AM, Ullah A. 1988. Suppression of large intestinal cancer in F344 rats by inositol hexaphosphate. *Carcinogenesis* 9: 577-580.
- Tiisala S, Majuri M-L, Carpen O, Renkonen R. 1994. Genistein enhances the ICAM-1 and its counter-receptors. *Biochim Biophys Res Commun* 203: 443-449.
- Okura A, Arakawa H, Oka H, Yoshinari T, Monden Y. 1988. Effect of genistein on topoisomerase activity and on the growth of [Val 12] haras-transformed NIH 3T3 cells. *Biochim Biophys Res Commun* 157: 183-189.
- Peterson G, Barnes S. 1991. Genistein inhibition of the human breast cancer cells; independence from estrogen receptors and the multi-drug resistance gene. *Biochim Biophys Res Commun* 179: 661-667.
- Messina M, Messina V. 1991. Increasing use of soyfoods and their potential in cancer prevention. *J Am Diet Assoc* 91: 836-840.

13. 大下克典. 1990. 醤油の機能性について. 醸協, 日本. 85: 762-770.
14. 海老根英雄. 1990. みその機能性. 醸協, 日本. 85: 70-75.
15. Ito K, Tsuchiya Y. 1972. The effect of algal polysaccharides on the depressing of plasma cholesterol levels in rat. In Proc. of 7th Int. Seaweed Symp. Nishizawa K, ed. Univ. Tokyo Press, Japan. p 558-561.
16. Kim DS, Park YH. 1985. Uronic acid composition, block structure and some related properties of alginic acid. *J Korean Fish Soc* 18: 29-36.
17. Collic S, Fischer AM, Tapon-Breaudiere J, Boisson C, Durand P, Jozefonvicz J. 1991. Anticoagulant properties of a fucoidan fraction. *Thromb Res* 64: 143-154.
18. AOAC. 1995. *Official methods for analysis*. 16th ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC. Ch 27, p 31.
19. 食品醫藥品安全廳. 2000. 食品公典(別冊). 문영사, 서울. p 69-72, p 273-277.
20. Yahagi T, Nagao M, Seino Y, Matsushima T, Sugimura T, Okada M. 1977. Mutagenicities of N-nitrosoamines on *Salmonella*. *Mutation Res* 48: 121-130.
21. Scudiero DA, Shoemaker RH, Paul KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D, Boyd MR. 1988. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res* 48: 4827-4836.
22. Martin A, Martin C. 1997. Comparison of 5 microplate colorimetric assay for *in vitro* cytotoxicity testing and cell proliferation assays. *Cytotechnology* 11: 49-54.
23. The food composition table. 1996. Fifth revision, National Rural Living Scien Institute, R.D.A. p 84, p 300, p 336-339.
24. Choi SY, Cheigh MJ, Lee JJ, Kim HJ, Hong SS, Chung KS, Lee BK. 1999. Growth suppression effect of traditional fermented soybean paste (*doenjang*) on the various tumor cells. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 28: 458-463.
25. Correa P. 1981. Epidemiologic correlation between diet and cancer frequency. *Cancer Res* 41: 3685-3690.
26. Phillips RL. 1975. Role of life-style and dietary habits in risk of cancer among Seventh Day Adventists. *Cancer Res* 35: 3515-3522.
27. Takahashi M, Imaida K, Furukawa F, Hayashi Y. 1991. Inhibitory effects of soybean trypsin inhibitor during initiation and promotion phases of N-nitrosobis (2-xoopropyl) amine-induced hamster pancreatic carcinogenesis. In *Chemically induced cell proliferation: Implications for risk assessment*. Wiley-Less Inc. p 145.
28. Messadi DV, Billings PC, Shaklar G, Kennedy AR. 1986. Inhibitions of oral carcinogenesis by aprotease inhibitro. *J Natl Cancer Inst* 76: 447-452.
29. Billings OC, Newberne PM, Kennedy AR. 1990. Protease inhibitor suppression of colon and gland cacinogenesis induced by dimethylhydrazine. *Carcinogenesis* 11: 1083-1086.
30. Becker FF. 1981. Inhibition of spontaneous hepatocarcinogenesis in C3H/10T1/2 mice by Edi Pro A, an isolated soy protein. *Carcinogenesis* 12: 1213-1214.

(2002년 2월 2일 접수; 2002년 3월 25일 채택)