

시판 instant curry 및 curry 사용원료의 생리활성

정명수 · 정승현 · 이진선¹ · 박기문^{1,*}

오뚜기중앙연구소, ¹성균관대학교 식품 · 생명자원학과

Physiological Activities of Commercial Instant Curry Powders and Individual Spices

Myong-Soo Chung, Seung-Hyeon Jung, Jin-Sun Lee¹ and Ki-Moon Park^{1,*}

Ottogi Research Center

¹Department of Food and Life Science, Sungkyunkwan University

Physiological activities of hot water extracts of 10 commercial instant curry powders and 6 spices, were investigated. All spice extracts except ginger showed significant antioxidant activities on the autoxidation of linoleic acid ($p<0.01$). Antioxidant activities of clove and fennel were significantly higher than α -tocopherol, instant curry powders, and other spices. Red pepper ($52.8 \pm 2.13\%$), clove, and coriander showed significant inhibitory activities against angiotensin-I-converting enzyme ($p<0.001$). Cytotoxic effects of instant curry powders and spices against human cancer cell lines were examined through MTT assay. Black pepper ($29.31 \pm 2.12\%$ cytotoxic rate) and cardamon ($19.41 \pm 3.92\%$) were effective against MCF-7 ($p<0.01$), Clove ($42.92 \pm 5.57\%$) against HeLa ($p<0.01$). Ginger ($34.21 \pm 1.11\%$), cardamon, and black pepper against A172 ($p<0.001$), garlic ($82.88 \pm 0.53\%$) against SN12C ($p<0.001$), garlic ($71.63 \pm 0.38\%$), red pepper, ginger, fenugreek, SPC, cumin, and MPC against SNU-638 ($p<0.001$), and cassia ($82.84 \pm 16.92\%$) against A549 ($p<0.001$).

Key words: curry, antioxidative activity, angiotensin-I converting enzyme(ACE), cytotoxic effect

서 론

즉석카레(Instant curry)란 순카레(카레분)를 원료로 하여 소맥분, 유지, 조미료 등을 첨가하여 식탁용으로 쉽게 조리할 수 있도록 가공한 것이다. 즉석카레의 주원료인 순카레는 향신료로 사용되고 있는 turmeric, coriander, fenugreek, cumin 등 10여종 이상의 건조분말을 혼합하여 일정기간 숙성시켜 제조한다. 일반적으로 향신료는 herb와 spice를 포함하며 식용으로 약 350여종이 알려져 있고 이 중 spice는 주로 음식물의 풍미부여에 이용되고 있는 방향성 또는 신미성 물질로 식물의 다양한 부위를 사용하여 제조하고 있다. 향신료의 식품학적 기능으로는 식욕 증진작용 및 냄새 제거작용, 향부작용, 착색작용 등이 있으며, 기타 기능으로 항산화작용 및 항균성, 생리·약리작용 등이 알려져 있다^(1,3). 이러한 curry 향신료의 기능성으로는 cinnamon, sage, nutmeg에 의한 *Porphyromonas gingivaris* 균등 치주염 발생균의 증식억제, 후두

염을 일으키는 *Haemophilus influenzae*의 증식억제 등의 항균작용과, 노화나 동맥경화 등을 일으키는 과산화물질의 발생을 억제할 수 있는 강한 항산화력을 가진 rosemary의 rosmarinol, sage의 carnothol 성분, 그리고 tumeric에 존재하는 curcuminoids 물질이 발견되었고, clove 중 생체 산화억제물질에 관한 연구도 진행되고 있다^(4,5). 또한, 항산화력을 가지고 있는 α -tocopherol 및 sulfur dioxide, polyphenol 류 등은 발암물질인 nitrosamine를 생성하는 nitrite를 분해하는 기능을 가지고 있으며 항신료 역시 항산화력이 높고 polyphenol 성분을 함유하고 있기 때문에 nitrite의 분해작용과 superoxide anion radical 제거 작용에도 효과가 있는 것으로 밝혀졌다⁽⁶⁻⁸⁾. 이와 같이 향신료에는 항산화 물질 및 nitrite 제거물질, superoxide anion radical 제거물질 등이 존재하기 때문에 이를 성분에 의한 암세포 증식억제 작용에 관련된 많은 연구가 보고되고 있다. 최근 항암효과를 검색하고 있는 향신료 중에는 curry에 노란색을 나타내는 강황(tumeric)의 주요 성분인 curcumin이 인체 대장암 세포의 증식을 저해하고, NIH 3T3과 악성 cancer cell line에 apoptosis를 유도하며, 방광암에 대해서도 세포독성을 가지고 있는 것으로 밝혀져 있고, 특히 암의 발생과정인 initiation, promotion, progression 단계를 전부 억제하는 것으로 보고하고 있다⁽⁹⁻¹²⁾. 또한, 항산화력이 강한 rosemary의 정유성분인 carnosol의 경우 발암물질 해

*Corresponding author : Ki-Moon Park, Department of Food and Life science, Sungkyunkwan University, 300 Chunchun-dong, Jangan-gu, Suwon, Kyunggi-do 440-746, Korea

Tel: 82-31-290-7806

Fax: 82-31-290-7816

E-mail: kimo@skku.ac.kr

독효소인 glutathione-s-transferase(GST)활성을 증가시키며, DNA adduct 형성을 억제하고, 항암 및 항 염증작용이 있는 것으로 알려져 있다^(13,14). 이외에 saffron의 항암 및 항염증 작용⁽¹⁵⁾, Cumin 및 basil의 GST활성 증가⁽¹⁶⁾ 등이 보고되어 있다. 그리고 녹차에 다량 함유되어 있는 polyphenol 성분의 angiotensin converting enzyme(ACE) 활성 저해작용에 의해 혈압강하 효과가 확인되었기 때문에 대부분의 향신료 정유 성분에 함유되어 있는 polyphenol 성분도 혈압강하 작용이 기대되고 있다⁽¹⁷⁾. 따라서 본 연구에서는 instant curry 및 curry 원료로 사용되는 향신료를 대상으로 인체 내 기능성 및 생리활성 여부를 검증하기 위하여 항산화성 및 고혈압 발생에 관련된 angiotensin converting enzyme(ACE) 활성 저해 효과를 측정하였으며 *in vitro*상에서 human 유래 암세포 주에 대한 cytotoxicity를 실험하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 instant curry 제품 10종과 curry 원료 16종은 Table 1과 같이 (주) “O”사로부터 제공받았으며 분쇄 후 355 µm(No. 45) sieve로 일정한 입자를 선별하여 사용하였다. 일반적인 instant curry 요리방법과 동일한 가열조건으로 각 원료 2g에 중류수 40 mL를 첨가하여, 100°C에서 10분 동안 가열한 후 증발한 수분을 다시 보충하고 18,000 g로 10분간 원심분리 한 후 상등액을 0.45 µm membrane filter로 여과하여 시료용액(20배 희석)으로 사용하였다.

항산화 활성

항산화력 실험은 Kiharu 등⁽¹⁸⁾의 방법에 따라 0.2%(w/v) linoleic acid(Sigma Co.) 1 mL와 1.0%(w/v) tween-20 용액 1 mL 그리고 1시간동안 aeration시킨 1.0 mL의 0.2 M potassium phosphate buffer(pH 7.4) 혼합액에 각 시료용액 6 µL를 첨가하여 혼합물을 제조하였다. 혼합물을 70°C에서 24시간동안 반응시키면서, 3시간 간격으로 반응액 0.1 mL를 취해 9.7 mL의 75% ethanol을 첨가하고, 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL와 0.02 M ferrous ammonium sulfate-3.5%

Table 1. Instant curries and its raw spices tested for physiological activities

No.	Sample	No.	Sample
1	Mild pure curry	14	Black pepper
2	Spicy pure curry	15	Celery seed
3	Garlic	16	Fennel
4	Cardamon	17	Instant curry 1
5	Coriander	18	Instant curry 2
6	Red pepper	19	Instant curry 3
7	Clove	20	Instant curry 4
8	Cumin	21	Instant curry 5
9	Cassia	22	Instant curry 6
10	Ginger	23	Instant curry 7
11	Nutmeg	24	Instant curry 8
12	Turmeric	25	Instant curry 9
13	Fenugreek	26	Instant curry10

hydrochloric acid 0.1 mL을 첨가한 다음, 3분 후 500 nm에서 지방산의 산화도에 따른 흡광도변화를 측정하였다. 또한, 식품에 많이 사용되고 있는 천연 항산화제인 α-tocopherol과 합성 항산화제인 dibutyl hydroxytoluene(BHT)를 0.01% 첨가하여 대조군으로 비교 실험하였다.

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성

ACE 활성저해 효과는 Chushman와 Cheung⁽¹⁹⁾의 방법에 따라 0.3 M NaCl 및 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)가 함유된 12.5 mM HHL(Hip-His-Leu, Sigma)기질용액 100 µL에 시료용액 5 µL와 0.1 M sodium borate buffer 45 µL를 가한 후 37°C에서 5분간 방치하였다. 여기에 ACE 효소액(rabbit lung acetone powder, Sigma Co.) 150 µL를 가하고 다시 37°C에서 1시간 반응시킨 후 0.5 N HCl 250 µL를 사용하여 반응을 정지시켰다. 반응용액에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 1분간 교반한 다음 2,800 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액 1 mL 취하였다. 이 상등액을 건조시킨 후 1 M NaCl 3 mL를 가해 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음 식에 의하여 ACE 활성 저해율을 나타내었다.

$$\text{ACE inhibition rate (\%)} = \frac{(Ec - Es)}{(Ec - Eb)} \times 100$$

Ec: 시료대신 중류수를 넣었을 때의 흡광도

Es: 시료첨가시의 흡광도

Eb: 반응 정지 후 시료 첨가한 것의 흡광도

인체 암 세포독성

세포배양을 위한 culture medium, fetal bovine serum(FBS), 항생제(penicillin (100 units/mL)/streptomycin(100 mg/mL))는 Gibco/BRL Co. 제품을 그 외의 모든 시약은 Sigma Co. 제품을 사용하였다. MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)는 5 mg/mL이 되게 phosphate buffer saline(PBS)에 용해하여 실험에 사용하였다. 향신료의 암세포에 대한 세포독성을 측정하기 위해서 한국세포주은행(KCLB)으로부터 human 유래의 A549(lung carcinoma, KCLB 10185), SN12C(kidney carcinoma, KCLB 80025), HeLa(cervix adenocarcinoma, KCLB 10002), MCF-7(breast adenocarcinoma, KCLB 30022), SNU-638(stomach adenocarcinoma, KCLB 00638), A172(brain glioblastoma, KCLB 21620)를 분양 받아 사용하였다. 세포주들은 56°C에서 30분간 heat inactivation 시킨 10%(v/v) FBS와 penicillin(100 units/mL)/streptomycin(100 mg/mL)을 함유하는 RPMI 1640(pH 7.2) medium에 배양하였다. 세포가 culture dish(φ100)에 90%정도 자랐을 때 0.05% trypsin/ EDTA를 가하여 세포를 분리 후 1:5의 비율로 계대배양 하면서 실험에 사용하였다. 향신료의 동물세포에 대한 cytotoxic effect를 측정하기 위해서 Carmichael 등⁽²⁰⁾의 방법에 따라 MTT assay를 하였다. 동물세포를 1×10^4 cells/well 농도로 96 well plate에 분주하고 세포가 plate 바닥에 부착될 수 있도록 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 전 배양을 하였다. 전 배양에 사용된 배지를 제거 후 새 배지 180 µL씩 분주하고 일정농도로 제조한 향신료 추출물을 20 µL씩 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 96시간 배양하였다. 96시간 배양 후 MTT용액(5 mg/mL)을 각 well

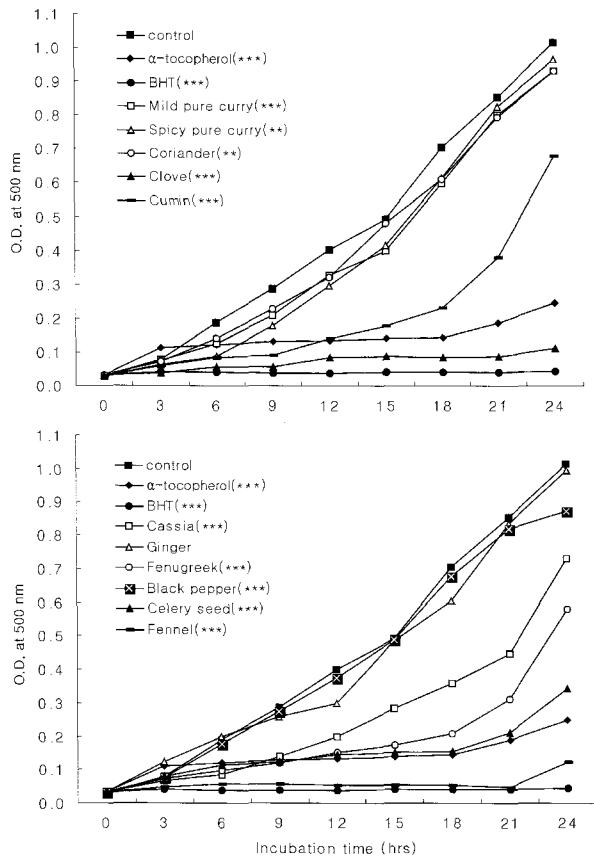


Fig. 1. Antioxidant effects of spices, α -tocopherol and dibutylhydroxytoluene (BHT) on the autoxidation rate of the linoleic acid stored at 70°C.

The values are mean \pm S.D. of 4 replications. Significantly different from control at * $p<0.05$, ** $p<0.01$ and *** $p<0.001$ by Student's t-test.

에 10 μ L씩 첨가하고 동일한 배양조건에서 4시간 배양하였다. 배양 후 상동액을 제거하고 PBS 100 μ L와 20% sodium dodecyl sulfate solution 50 μ L를 처리하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간동안 발색을 유도시킨 후 ELISA microplate reader(ELx800: Bio-tec, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 암세포 증식억제효과는 다음과 같이 증식억제 효과를 구하여 세포독성 활성의 지표로 하였고 대조구는 시료대신 배지를 첨가한 것으로 하였다.

$$\text{Growth inhibitory effect}(\%) =$$

$$\left\{ (\text{대조구의 흡광도} - \text{시료처리구의 흡광도}) / \text{대조구의 흡광도} \right\} \times 100$$

통계처리

분석결과는 실험군 당 평균치와 표준편차로 계산하였고, 처리간의 차이는 SAS package의 Student's t-test와 Student-Newman-Keuls test를 이용하였다.

결과 및 고찰

항산화 활성

Instant curry의 원료로 사용되는 향신료 열수 추출물의 첨

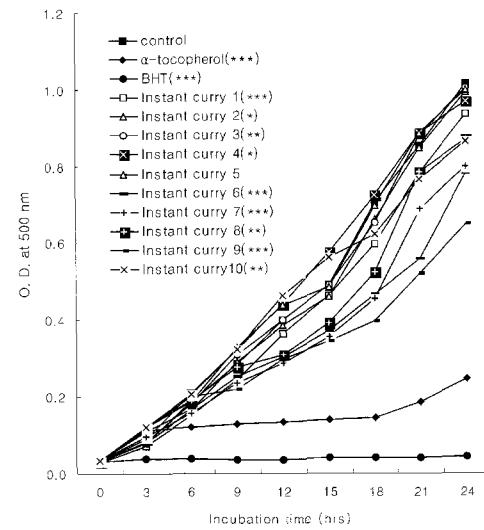


Fig. 2. Antioxidant effects of instant curries, α -tocopherol and dibutylhydroxytoluene(BHT) on the autoxidation rate of the linoleic acid stored at 70°C.

The values are mean \pm S.D. of 4 replications. Significantly different from control at * $p<0.05$, ** $p<0.01$ and *** $p<0.001$ by Student's t-test.

가가 linoleic acid의 자동산화 속도에 미치는 영향을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 즉, ginger 추출물을 제외한 모든 향신료 추출물이 유의성 있게 linoleic acid의 자동산화를 억제하는 것으로 나타났다($p<0.01$). 특히, clove의 경우 가장 높은 항산화력을 보였으며, α -tocopherol보다 강하고 BHT보다 약간 낮은 것으로 확인되었다. 그밖에 fennel의 경우에도 α -tocopherol보다 높은 항산화력을 나타냈으며, celery seed와 fenugreek 또한 높은 항산화력을 보였다. 그 외에 coriander, cumin, cassia, ginger, black pepper 등에서 항산화 활성이 존재함을 확인할 수 있었다. 또한 각 향신료를 혼합하여 제조하는 instant curry의 주원료인 순한 맛의 순카레(mild pure curry, MPC)와 매운 맛 순카레(spicy pure curry, SPC)에서도 항산화력이 존재함을 알 수 있었다($p<0.01$). 향신료의 항산화 활성에 대해서는 1950년대부터 많은 연구가 이루어져 왔으며 rosemary 및 sage가 가장 강력한 항산화력을 가진 것으로 밝혀져 있다⁽²¹⁾. 또한, lard를 이용한 항산화성 실험에서도 rosemary 및 sage 이외에 oregano, clove, mace, nutmeg, thyme, turmeric 등도 강한 항산화력을 보유하고 있으며. 이러한 향신료의 항산화 성분은 주로 정유성분으로 clove의 eugenol, rosemary의 rosmarinol 등 phenol 및 diterpene 화합물이 강한 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다^(22,23). 본 실험결과 nutmeg 및 turmeric 등에서 항산화력이 나타나지 않았고, fennel, celery seed, coriander, cumin, cassia의 경우 항산화 활성이 나타난 것은 기존의 결과가 hexane 및 석유ether 등 주로 유기용매로 추출한 정유성분의 항산화 활성을 실험하였으나 본 실험에서는 열수로 추출한 수용성 성분의 항산화 활성을 실험하였기 때문으로 판단된다. 그리고 순카레가 약 10% 함유된 instant curry 제품의 열수추출물에 의한 linoleic acid의 자동산화 억제 측정 결과는 Fig. 2와 같이 instant curry 5를 제외하고 모든 제품에서 유의성 있게 항산

Table 2. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition rate of hot water extracts isolated from raw spices of instant curries

Sample	General method	Pretreatment method
	Inhibition rate (%) ¹⁾	Inhibition rate (%)
Garlic	6.50 ± 3.60 ²⁾	8.05 ± 1.71**
Cardamon	2.91 ± 1.16	0
Coriander	10.32 ± 1.45***	11.81 ± 0.85***
Red pepper	52.80 ± 2.13***	64.39 ± 2.65***
Clove	13.48 ± 1.00***	0
Cumin	10.42 ± 1.39**	0
Ginger	4.56 ± 0.68*	0
Fenugreek	14.24 ± 2.91**	0

¹⁾The values are mean S.D. of 4 replications.²⁾Significantly different from blank at *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 by Student's t-test.

화력이 존재하는 것으로 나타났다(p<0.05).

ACE 저해활성

ACE 활성 저해효과 측정은 기질이 ACE의 저해물질로 작용하거나, ACE의 순도에 따라서 흔입될 수 있는 이종의 효소에 의해 ACE저해물질이 분해될 수도 있기 때문에 시료와 기질을 ACE와 함께 반응시키는 통상법(General method)과 미리 시료를 ACE와 반응시킨 후 기질을 첨가하여 반응시키는 전처리법(Pretreatment Method)을 이용하였다⁽¹⁹⁾.

Instant curry 및 curry 원료로 사용되는 향신료의 ACE 저해 활성을 측정한 결과 10종의 curry 제품에서는 ACE 저해 활성이 없는 것으로 확인되었으며, curry 원료로 사용되는 향신료 중 Table 2와 같이 8종의 향신료에서 ACE활성 저해효과가 나타났다. 즉, red pepper가 통상법(52.80 ± 2.13%)과 전

처리법(64.39 2.65%)에서 가장 높은 ACE 저해율을 보였으며 (p<0.001), coriander도 통상법에서 10.32 1.45%, 전처리법에서 11.81 ± 2.91%로 유의성 있게 ACE를 저해하였다(p<0.001). 그밖에 통상법에서는 clove가 13.48 ± 1.00%(p<0.001), cumin (10.42 ± 1.39%)과 fenugreek(14.24 ± 2.91%)이 p<0.01 수준에서, garlic(6.50 ± 3.60)과 ginger(4.56 ± 0.68%)가 p<0.05 수준에서 유의성 있게 ACE활성을 저해하였다. 따라서, Cho 등⁽²⁴⁾이 보고한 녹차 추출물의 ACE 활성을 저해에 따른 혈압 강하 작용이 curry의 원료로 사용되는 향신료의 열수추출물에서도 존재하는 것으로 나타났다.

인체 암 세포독성

Human 유래 암세포에 대한 instant curry 사용원료의 세포 독성을 실험한 결과는 다음의 Table 3과 같다. 즉, 유방암 세포주인 MCF-7에 대한 세포독성 실험결과 black pepper(29.31 ± 2.12%)와 cardamon(19.41 ± 3.92%)이 유의차(p<0.01) 있게 세포증식을 억제하였으며, celery seed(28.20 ± 5.98%)도 억제효과를 나타냈다(p<0.05). Turmeric의 경우 지용성 색소성분인 curcumin이 MCF-7 cell의 증식에 억제효과가 있다고 보고⁽²⁵⁾되어 있으며 본 실험에서 사용한 turmeric 열수추출물의 경우 유의성은 없었으나 약 10% 정도 증식을 억제하였다. 그러나, SPC의 경우 유의차(p<0.01) 있게 증식을 촉진하는 것으로 나타났으며, 전반적으로 유방암세포에 대한 curry사용 향신료 열수추출물의 세포독성은 미약한 것으로 밝혀졌다.

자궁암 세포주인 HeLa에 대한 세포독성 실험결과에서는 clove(42.92 ± 5.57%)의 경우 p<0.01 수준에서, 그리고 cassia (26.14 ± 7.41%)는 p<0.05 수준에서 유의성 있게 증식억제 효과가 나타났다. 그러나 MPC를 포함하여 coriander, turmeric, SPC, cardamon, red pepper, nutmeg, celery seed는 HeLa의 증식을 촉진하는 것으로 나타났다.

Table 3. Cytotoxic effects of hot water extracts isolated from raw spices of instant curry on human cancer cells^{1,2)}

Spice	Growth inhibition percentage (%)					
	MCF-7	HeLa	A172	SN12C	SNU-638	A549
Mild pure curry	-5.48 ± 4.17	-16.26 ± 7.71**	15.59 ± 1.54*	24.80 ± 3.30*	29.42 ± 2.00***	34.98 ± 11.24*
Spicy pure curry	-22.86 ± 7.89** ³⁾	-15.36 ± 4.11***	10.47 ± 3.06*	24.92 ± 3.72*	37.40 ± 1.12***	-65.85 ± 34.51*
Garlic	-11.00 ± 1.34	-10.65 ± 7.66	6.07 ± 16.55	82.88 ± 0.53***	71.63 ± 0.38***	25.39 ± 32.58
Cardamon	19.41 ± 3.92**	-19.87 ± 4.39**	31.89 ± 3.13***	27.65 ± 1.11**	5.06 ± 3.11	-42.86 ± 27.11
Coriander	0.80 ± 6.05	-13.48 ± 4.76***	2.64 ± 16.40	15.86 ± 2.85*	-25.16 ± 0.88***	-55.04 ± 19.41*
Ginger	6.60 ± 2.87	-3.14 ± 4.65	34.21 ± 1.11***	59.12 ± 4.03**	43.35 ± 2.01***	-2.50 ± 8.12
Red pepper	-13.70 ± 3.23	-14.97 ± 10.91**	-7.84 ± 9.13	15.50 ± 5.72*	59.44 ± 2.43***	-3.42 ± 3.17
Clove	-10.32 ± 9.20	42.92 ± 5.57***	-50.02 ± 3.14**	-55.54 ± 3.08**	-42.03 ± 2.35***	-135.03 ± 7.35***
Cumin	3.15 ± 2.40	-28.76 ± 14.48*	17.98 ± 3.30*	34.69 ± 1.59**	34.82 ± 2.04***	15.94 ± 10.53
Cassia	-20.98 ± 9.01	26.14 ± 7.41**	-23.31 ± 1.50**	2.73 ± 7.15	9.60 ± 4.87*	82.84 ± 16.92***
Nutmeg	1.30 ± 2.54	-22.30 ± 12.70**	0.92 ± 2.06	16.69 ± 4.51	-33.40 ± 6.98***	-119.61 ± 7.30***
Turmeric	10.14 ± 8.59	-23.03 ± 6.09***	3.50 ± 2.50*	15.33 ± 4.22	-30.69 ± 1.47***	-126.04 ± 26.62**
Fenugreek	-8.21 ± 0.97	-7.89 ± 1.17*	-49.32 ± 6.41***	5.82 ± 2.45	41.87 ± 5.30***	-106.48 ± 11.73***
Black pepper	29.31 ± 2.12**	-8.16 ± 17.98	31.35 ± 3.93***	33.29 ± 2.76*	-3.95 ± 13.45	-62.84 ± 1.64***
Celery seed	28.20 ± 5.98*	-21.21 ± 12.55**	11.69 ± 1.59*	34.26 ± 3.06*	33.46 ± 4.90**	-112.13 ± 7.45***
Fennel	10.95 ± 9.59	-2.22 ± 8.07	-10.44 ± 8.39	4.96 ± 3.72	12.20 ± 11.14	-123.07 ± 11.12***

¹⁾The values are mean ± S.D. of 4 replications.²⁾The concentration of spice extract used in this experiment was 20 µL/mL (1 mg spice/mL).³⁾Significantly different from blank at *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 by Student's t-test.

뇌종양 세포주인 A172에 대한 세포독성 실험결과 ginger ($34.21 \pm 1.11\%$) 및 cardamon ($31.89 \pm 3.13\%$), black pepper ($31.35 \pm 3.93\%$)가 $p<0.001$ 수준에서 유의성 있게 증식 억제 효과를 나타냈으며, 그 외에 cumin 및 MPC, SPC, turmeric, celery seed에서도 유의성 있게 증식을 억제하였다 ($p<0.05$). 그러나, clove ($-50.02 \pm 3.14\%$) 및 fenugreek ($-49.32 \pm 6.41\%$), cassia ($-23.31 \pm 1.50\%$)는 유의성 있게 A172 세포의 증식을 촉진하는 것으로 나타났다.

신장암 세포주인 SN12C에 대한 세포독성 실험결과 garlic ($82.88 \pm 0.53\%$)이 가장 높은 억제효과 ($p<0.001$)를 나타냈으며, ginger ($59.12 \pm 4.03\%$), cumin ($34.69 \pm 1.59\%$), cardamon ($27.65 \pm 1.11\%$)이 $p<0.01$ 수준에서 그리고 celery seed, black pepper, SPC, MPC, red pepper, coriander가 $p<0.05$ 수준에서 증식억제 효과를 나타내었다. 그러나 clove ($-55.54 \pm 3.08\%$)의 경우 증식을 촉진하는 것으로 나타났다 ($p<0.01$).

위암 세포주인 SNU-638에 대한 세포독성 실험결과 garlic ($71.63 \pm 0.38\%$)이 가장 높은 억제효과를 보였으며, red pepper ($59.44 \pm 2.43\%$), ginger ($43.35 \pm 2.01\%$), fenugreek ($41.87 \pm 5.30\%$), SPC ($37.40 \pm 1.12\%$), cumin ($34.82 \pm 2.04\%$), MPC ($29.42 \pm 2.00\%$) 등에서도 증식억제 효과를 나타내었다 ($p<0.001$). 그밖에 celery seed ($p<0.01$) 및 cassia ($p<0.05$)에서도 증식억제 효과가 있는 것으로 밝혀졌으나 clove 및 nutmeg, turmeric, coriander는 SNU-638세포의 증식을 촉진하는 것으로 나타났다 ($p<0.001$). Garlic의 위암 발생 억제효과에 대해서는 많은 연구가 보고되었듯이 본 실험에서도 가장 효과가 좋은 것으로 밝혀졌다⁽²⁶⁾.

폐암 세포주인 A549에 대한 세포독성 실험 결과 대부분의 원료에서 세포독성이 없었으나 cassia ($82.84 \pm 16.92\%$)가 가장 강한 억제효과를 나타냈고 ($p<0.001$), MPC ($34.98 \pm 11.2\%$)도 유의성 있게 증식을 억제하였다. 그러나 clove 및 nutmeg, fennel, celery seed, fenugreek, black pepper는 $p<0.001$ 에서, 그리고 turmeric, SPC, coriander도 유의성 있게 세포 증식을 촉진하는 것으로 나타나 대부분의 향신료 열수추출물이 A549 폐암세포의 증식을 억제하지 못하고 증식을 촉진하는 것으로 밝혀졌다.

이와 같이, instant curry에 사용되는 각 향신료 및 향신료 혼합물인 pure curry 추출물이 각종 암세포의 증식에 억제 효과를 보이는 것은 여러 연구자들에 의해서도 보고되었듯이 향신료의 주요성분인 phenol류 및 terpene류, allyl sulphides 등의 비 영양성분에 의해 작용한 것으로 판단된다⁽²⁷⁾. 또한, 일부 향신료의 열수추출물 첨가가 암세포 증식을 촉진하는 현상은 열수추출에 의해 동시에 추출되는 저분자 탄수화물 등에 의한 세포증식작용이거나 그 밖의 수용성 물질이 작용하는 것으로 판단되어 좀더 자세한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

그리고, instant curry와 curry 원료 추출물을 사용하여 *in vitro* 상에서 암세포에 대한 세포독성을 실험한 결과 curry 원료로 사용되는 각 향신료와 향신료의 혼합물인 pure curry에서는 각 암세포에 대해 일부 효과가 있는 것으로 밝혀졌으나, pure curry가 약 10% 정도 함유되어 있는 instant curry 제품의 경우 모든 암세포에서 세포독성이 나타나지 않았다. 이것은 각 향신료 및 pure curry의 경우 암세포에 대해 1.0

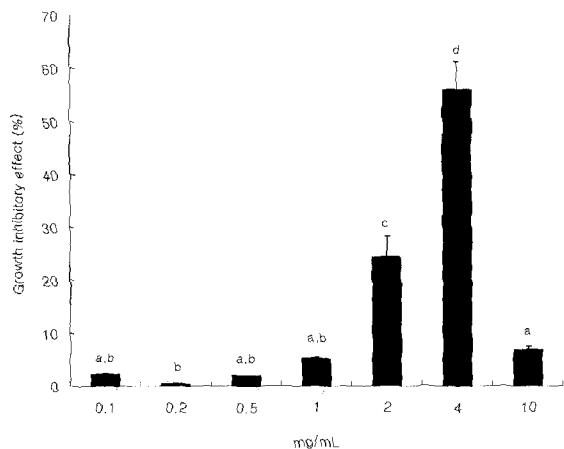


Fig. 3. Dose-response effects of hot water extract of mild pure curry on the cytotoxicity of SN12C kidney cancer cell.
Values are the mean \pm S.D. of 4 replicates. a-d Means with the same letter are not significantly different ($p<0.05$).

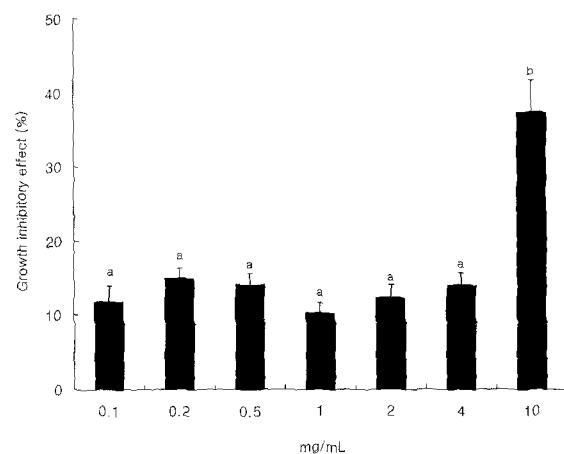


Fig. 4. Dose-response effects of hot water extract of mild pure curry on the cytotoxicity of A549 lung cancer cell.
Values are the mean \pm S.D. of 4 replicates. a,b Means with the same letter are not significantly different ($p<0.05$).

mg/mL의 향신료가 처리되었으나, instant curry의 경우 향신료 사용량 즉, pure curry 사용량이 10% 정도로 실제적으로는 암세포에 대해 0.1 mg/mL의 향신료가 처리되어 있어 나타난 결과로 판단된다. 향신료의 처리농도 증가에 따른 암세포의 세포독성을 확인하기 위하여 MPC 추출물을 SN12C와 A549 암세포에 농도별로 처리한 결과는 Fig. 3 및 4와 같다. 즉, 신장암 세포주인 SN12C에 대한 세포독성은 Fig. 3과 같이 첨가농도 0.1 mg/mL에서 1 mg/mL까지는 유의차 없이 비슷한 증식 억제율을 보이다가 2 mg/mL 및 4 mg/mL로 증가되면서 유의성 있게 증가하였고, 10 mg/mL에서는 다시 억제율이 급격히 떨어지는 것으로 나타났다 ($p<0.05$). 즉 SN12C의 경우 pure curry의 첨가농도가 높아질수록 세포독성이 증가하는 경향을 볼 수 있었다. 그리고 폐암 세포주인 A549의 경우 Fig. 4와 같이 농도가 0.1 mg/mL에서 4 mg/mL까지 처리하여도 유의성 없이 거의 동일한 세포독성을 보였으며 10 mg/mL에서 2배 이상 증가하는 것으로 나타났다 ($p<0.05$). 즉, 폐암세포인 경우 pure curry의 첨가농도 증가에 따른 세

포독성은 거의 변화없이 일정한 것으로 나타나 세포독성은 향신료의 종류뿐만 아니라 그 첨가 농도에 의해서도 각각 특성이 다르게 나타나는 것으로 밝혀졌다.

위와 같은 결과를 종합해 볼 때 curry 원료로 사용되는 각 향신료와 향신료의 혼합물인 pure curry가 *in vitro*상에서 일부 human 유래 암세포에 대한 중식 억제 효과가 있는 것으로 나타나 앞으로 *in vivo* 실험을 통해 instant curry 및 향신료 섭취가 암세포 증식억제에 미치는 영향에 대한 연구가 필요하리라 생각한다.

요 약

Instant curry 제품 및 원료로 사용되는 향신료의 열수추출물을 사용하여 생리활성을 실험하였다. Linoleic acid에 향신료 추출물을 첨가하여 자동산화를 측정한 결과 ginger 추출물을 제외한 모든 추출물이 자동산화를 억제하는 것으로 나타났다($p<0.01$). 특히, clove 및 fennel의 경우 α -tocopherol 보다 강한 것으로 나타났다. 향신료를 혼합하여 제조하는 mild pure curry(MPC, $p<0.001$)와 spicy pure curry(SPC, $p<0.01$)도 항산화 활성이 있었으며, instant curry 제품에서도 linoleic acid의 자동산화를 억제하는 것으로 나타났다($p<0.05$). Instant curry의 열수추출물이 angiotensin converting enzyme (ACE)의 활성억제작용은 없었으나, 원료로 사용되는 red pepper($52.8 \pm 2.13\%$)와 clove($13.48 \pm 1.00\%$), coriander ($10.32 \pm 1.45\%$)의 경우 ACE활성을 저해하였다($p<0.001$). 향신료 열수추출물의 세포독성 실험에서 유방암세포 MCF-7의 증식억제에 black pepper($29.31 \pm 2.12\%$)와 cardamon($19.41 \pm 3.92\%$)이 유의차($p<0.01$)있게 세포증식을 억제하였으며, celery seed($28.20 \pm 5.98\%$)도 억제효과를 나타냈다($p<0.05$). 그러나 SPC는 증식을 촉진하는 것으로 나타났다($p<0.01$). 자궁암세포 HeLa의 경우 clove($42.92 \pm 5.57\%$)는 $p<0.01$ 수준에서, cassia($26.14 \pm 7.41\%$)는 $p<0.05$ 수준에서 유의성있게 증식억제 효과가 나타났다. 그러나 MPC 및 coriander, turmeric, SPC, nutmeg, cardamon, red pepper, celery seed는 증식을 촉진하는 것으로 나타났다. 뇌종양세포 A172의 경우 ginger ($34.21 \pm 1.11\%$) 및 cardamon ($31.89 \pm 3.13\%$), black pepper ($31.35 \pm 3.93\%$)가 $p<0.001$ 수준에서, 그리고 cumin 및 MPC, SPC, turmeric, celery seed에 의해서도 세포증식이 억제되었다($p<0.05$). 그러나 clove 및 fenugreek, cassia에서는 A172 세포의 증식을 촉진하는 것으로 나타났다($p<0.01$). 신장암 세포 SN12C에 대해서는 garlic($82.88 \pm 0.53\%$)이 가장 높은 억제효과($p<0.001$)를 나타냈으며, ginger 및 cumin, cardamon이 $p<0.01$ 수준에서 증식억제를 나타내었다. 그러나 clove의 경우 증식을 촉진하는 것으로 나타났다($p<0.01$). 위암 세포주 SNU-638의 경우 garlic($71.63 \pm 0.38\%$)이 가장 높은 억제효과를 보였으며, red pepper 및 ginger, fenugreek, SPC, cumin, MPC 등에서도 증식억제 효과를 보여주었다($p<0.001$). 그러나 clove 및 nutmeg, turmeric, coriander는 증식을 촉진하는 것으로 나타났다($p<0.001$). 폐암 세포 A549에 대한 세포독성 실험 결과 대부분의 원료에서 세포독성이 없었으나 cassia ($82.84 \pm 16.92\%$)가 가장 강한 억제효과를 나타냈으나($p<0.001$), clove 및 nutmeg, fennel, celery seed, fenugreek, black pep-

per는 증식을 촉진하는 것으로 나타났다($p<0.001$). 또한, 신장암 세포 SN12C의 경우 MPC 열수 추출물의 첨가농도가 높아질수록 cytotoxicity가 증가하였으며, 폐암 세포주 A549의 경우 농도 증가에 따른 cytotoxicity 변화는 거의 없는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 오뚜기 장학재단의 연구비 지원으로 수행된 연구 결과로서 이에 감사드립니다.

문 헌

- Nakatani, N. Antibacterial and antioxidative activity and utilization of food preservation of spice components. Tomato Sauce 6: 6-16 (1992)
- Kouchi, Y. Function of spice: The lastest study report. Up to date Food Proc. 32: 21-24 (1997)
- Troll, W., Frenkel, K. and Teebor, G. Free oxygen radicals: necessary contributors to tumor promotion and cocarcinogenesis. Princess Takamatsu Symp. 14: 207-218 (1983)
- Kouchi, Y. Physiological actions of spices. Food Sci. 11: 48-58 (1992)
- Ruby, A.J., Kuttan, G., Babu, D.R. and Kuttan, R. Anti-tumor and antioxidant activity of natural curcuminoids. Cancer Lett. 94: 79-83 (1995)
- Kim, J.H. and Park, K.M. Nitrite scavenging and superoxide dismutase-like activities of herbs, spices and curries. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 706-712 (2000)
- Byers, T. and Perry, G. Dietary carotenes, vitamin C and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. Ann. Rev. Nutr. 12: 135-159 (1992)
- Kyrtopoulos, S.A. N-nitroso compound formation in human gastric juice. Cancer Surv. 8: 423-442 (1989)
- Nagabhushan, M and Bhide, S.V. Curcumin as an inhibitor of cancer. J. Am. Coll. Nutr. 11: 192-198 (1992)
- Puneet, S., James, A.H., Mirza, B., Rick, K. and Steven, H.S. Curcumin: a food spice with cytotoxic activity against urinary bladder cancer. J. Am. Coll. Surg., 191(4S): 94-95 (2000)
- Jiang, M.C., Yang-Yen, H.F., Yen, J.J. and Lin, J.K. Curcumin induced apoptosis in immortalized NIH 3T3 and malignant cancer cell line. Nutr. Cancer 26: 111-120 (1996)
- Hanif, R., Qiao, L., Shiff, S.J. and Rigas, B. Curcumin, a natural plant phenolic food additive, inhibits cell proliferation and induces cell cycle changes in colon adenocarcinoma cell lines by a prostaglandin-independendnt pathway. J. Lab. Clin. Med. 130: 576-584 (1997)
- Singletary, K.W. and Rokusek, J.T. Tissue-specific enhancement of xenobiotic detoxification enzymes in mice by dietary rosemary extract. Plant Foods Human Nutr. 50: 47-53 (1997)
- Keith, S., Christopher, M. and Matthew, W. Inhibition by rosemary and carnosol of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. Cancer Lett. 104: 43-48 (1996)
- Abdullaev, F.I. and Gonzalez, M.E. Antitumor activity of natural substances: lectins and saffron, Arch. Latinoamericanos de Nutr. 47: 195-202 (1977)
- Aruna, K., Sivaramakrishnan, V.M. Plant products as protective agents against cancer. Indian J. Exp. Biol. 28: 1008-1011 (1990)
- Suzuki, T., Ishikawa, N. and Meguro, H. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity in foods. Nippon Nogeigaku Kaishi 57: 1143-1146 (1983)
- Kiharu, I., Miho, I. and Toshimi, H. Major antioxidative substances in leaves of atsumi-kabu. Agric. Biol. Chem. 54: 1053-

- 1055 (1990)
19. Chushman, D.W. and Cheung, H.S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20: 1637-1648 (1971)
20. Carmichael, J.W.G., DeGraff, A., Gazdar, J.M. and Mitchell, J.B. Evaluation of a Tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay. Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.* 47: 936-942 (1987)
21. Chang, S.S., Ostric-Matijasevic, B., Hsieh, O.A.L. and Huang, C.L. Natural antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.* 42: 1102-1106 (1977)
22. Wu, J.W., Lee, M.H., Ho, C.T. and Chang, S.S. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59: 339-345 (1982)
23. Yoshihiro, K. Function of spice and its utilization. *Food Sci.* 220: 41-53 (1996)
24. Cho, Y.J., An, B.J. and Choi, C. Inhibition effect of against angiotensin converting enzyme of flavan-3-ols isolated Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 238-242 (1993)
25. Simon, A., Allais, D.P., Duroux, J.L., Basly, J.P., Durand-Fontaine, S. and Delage, C. Inhibitory effect of curcuminoids on MCF-7 cell proliferation and structure-activity relationships. *Cancer Lett.* 129: 111-116 (1998)
26. Buiatti, E., Palli, D., Decarli, A., Amadori, D., Avellini, C., Bianchi, S., Biserni, R., Cipriani, F., Cocco, P. and Giacosa, A. A case-control study of gastric cancer and diet in Italy. *Int. J. Cancer* 44: 611-616 (1989)
27. Dragsted, L.O., Strube, M. and Leth, T. Dietary levels of plant phenols and other non-nutritive components: Could they prevent cancer? *European J. Cancer Prevention* 6: 522-528 (1997)

(2002년 9월 4일 접수; 2003년 2월 5일 채택)