

## 발효콩 대두황권의 항산화 및 항암효과

손미예<sup>1,2</sup> · 이상원<sup>2,3</sup> · 남상해<sup>2,4\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>한국전통발효식품연구소  
진주산업대학교 <sup>3</sup>미생물공학과 및 <sup>4</sup>식품과학과

## Antioxidant and Anticancer Activities of Glycine Semen Germinatum Fermented with Germinated Black Soybean and Some Bacteria

Mi-Yae Shon<sup>1,2</sup>, Sang-Won Lee<sup>2,3</sup> and Sang-Hae Nam<sup>2,4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>2</sup>Korea Fermented Food Research Institute, Jinju 660-984, Korea

<sup>3</sup>Department of Microbiological Engineering, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea

<sup>4</sup>Department of Food Science, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea

### Abstract

This study was conducted to evaluate the antioxidant (ABTS, DPPH radical scavenging and reducing power), nitric oxide (NO) production and anticancer activities against human cancer cells (HeLa, HepG2, HT-29 and MCF-7) for methanol extracts of Glycine Semen Germinatum (*Daedoowhangkeun* in Korean) fermented with germinated black soybean and some bacteria. Antioxidant activities were increased by increasing the concentration of the extract at dose-dependent manner. Their activities of black soybean were higher than those of yellow soybean. Non fermented sample was slightly higher than Glycine Semen Germinatum fermented with *Bacillus subtilis* and lactic acid bacteria. In 1 mg/mL of the extract, NO production levels were 0.374  $\mu$ M for yellow soybean, 0.368  $\mu$ M for black soybean, and 0.367  $\mu$ M and 0.358  $\mu$ M for Glycine Semen Germinatum fermented with *B. subtilis* and lactic acid bacteria, respectively. Methanol extract of Glycine Semen Germinatum fermented with mixture broth of lactic acid bacteria was shown to be the highest activity for anticancer activities against human cancer cells tested and their activities were exhibited in the order of HeLa > HT-29 > HepG2 > MCF-7 cell.

**Key words** : Glycine Semen Germinatum, antioxidant, anticancer activity, NO production, *B. subtilis*, lactic acid bacteria

### 서 론

콩(*Glycine max*)은 야생의 들콩(명굴콩)으로부터 재배작물로 발달되었다고 하며, 그 원산지는 야생콩의 자생 지역이면서 야생콩, 중간콩, 재배종이 가장 많은 곳으로 보이는 맥족의 발생지이자 고구려의 옛 땅인 만주 남부로 추정하고 있다. 이와 같은 콩은 주로 대두를 말하는데 장류 제조의 주재료이며, 예로부터 오곡의 하나로 쌀을 주식으로 하는

우리에게는 단백질과 지방질을 보충하는데 좋은 공급원 역할을 해왔다. 최근 들어서 식품영양학적 가치가 뚜렷이 구별되는 '신데렐라 작물'이라고 할 만큼 웰빙 식품재료로서 그 인기가 높다. 특히 콩을 섭취하는 민족에게는 서구인에게 흔한 비만, 당뇨, 골다공증, 난소암과 유방암 및 전립선암 등의 특정 암, 심혈관계질환 등과 같은 만성 퇴행성 질환의 발생이 적다는 것이 역학조사와 동물실험을 통해서 밝혀지고 있으며(1,2), 그 기능성 성분으로는 콩 속에 들어있는 이소플라본, 사포닌, 대두 펩타이드, 레시틴, 리놀레산, 올리고당 등으로 밝혀지고 있다(3,4).

장류의 주재료인 콩은 한국, 일본, 중국 등에서는 대두

\*Corresponding author. E-mail : shnam@jinju.ac.kr,  
Phone : 82-55-751-3274, Fax : 82-55-751-3279

자체로 이용한 식품인 두부, 된장, 청국장, 고추장, 간장 및 기타 대두가공식품(두유, 식용유) 및 발아제품(콩나물)으로 대량 소비되어지고 있다. 반면 미국 등에서는 비만인구와 건강관심 증가로 소이버거(soy burger), 콩아이스크림, 콩단백 스낵(health bar), 콩기름 등의 다양한 콩 제품이 만들어지고 있다(5).

대두황권(大豆黃卷)은 한방에서 생콩으로 기른 콩나물순으로 길금(蘆術) 짝을 말하는데, 한방에서는 부종(浮腫)과 근육통을 다스리고 위장의 열을 없애는데 사용된다고 알려져 있다(6). 이와 같은 콩은 발아되면서 단백질, 지방질 및 올리고당의 분해에 따른 함량 감소(7-9)와 물성변화(10), isoflavone의 콩 발아초기 증가 및 aglycone 형태로 전환을 증가(8, 9) 등의 이화학적 변화가 일어난다고 알려져 있다. 콩의 발아에 의한 생리활성 증진에 관한 연구로는 발아 콩의 주요 기능성분(8,9) 변화와 생리기능성 개선 및 활용에 관한 보고가 있으며(6,11), 대두황권에 관한 품질 특성과 기능(12,13) 분석, 시험관내 혹은 경구투여에 따른 동물체내의 MAO 저해활성(14), 피부의 세포재생과 콜라겐 분해억제를 통한 주름개선 효과(15,16)에 관한 보고가 있다.

본 연구에서는 콩의 기능성을 증진시키기 위한 연구의 일환으로 검정콩을 발아시킨 대두황권과 그 젖산균 및 고초균 발효물에 대한 ABTS와 DPPH라디칼의 소거능 및 환원력의 항산화능 효과, 일산화질소 생성 및 인체암 세포주(Hela, HepG2, HT-29, MCF-7)의 항암활성에 대하여 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

대두황권의 제조를 위한 대두(*Glycine max* L. Merrill)는 한국전통발효식품연구소 직영농장에서 2005년 가을에 수확한 노란콩 대광 및 검정콩 서리태를 구입하여 사용하였다.

### 공시균주

대두황권의 발효를 위한 미생물은 진주산업대학교 미생물공학과 생물공학연구실에서 전통된장으로부터 순수 분리하여 농촌진흥청 농업미생물자원센터에 기탁한 *Bacillus subtilis* KACC 9122P와 한국중균협회로부터 분양받은 *Lactobacillus bulgaricus* KCTC-3635 및 일본 식품종합연구소 효소학연구실로부터 분양받은 *L. reuteri* KFRI-661을 사용하였다.

### 발효균주의 배지 및 배양

대두황권의 발효를 위한 *B. subtilis* KACC 9122P의 보존 및 생육을 위한 배지는 soluble starch 1%, yeast extract 0.5%, peptone 0.5% 및  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  0.05%를 함유한 SY 배지,

젖산균은 MRS 배지(Difco)를 사용하였다. *B. subtilis* KACC 9122P 및 젖산균의 배양은 300 mL 삼각플라스크에 SY 및 MRS 액체배지를 각각 100 mL씩 첨가하고 121°C, 15분 멸균한 후 동일 배지에서 전배양한 배양용액을 각 5 mL씩 접종한 다음, *B. subtilis* KACC 9122P는 35°C에서 160 rpm으로 24시간 배양하였으며, 젖산균은 혐기성 jar fermenter를 이용하여 24시간 정치배양하였다. 이 배양용액을 8,000×g에서 15분 동안 원심분리하여 균체를 회수한 다음 멸균증류수로 세척하는 과정을 2회 반복하였다. 최종 균체농도의 흡광도는 660 nm에서 흡광도(optical density) 값이 0.9가 되도록 멸균 증류수로 조정하여 대두황권의 발효를 위한 접종원으로 사용하였다.

### 대두황권의 제조 및 발효

대두황권의 제조는 수돗물로 6시간 대두와 검정콩을 불린 다음, 2시간 실온에서 물 빼기를 한 후 배수구가 있는 통의 바닥에 모래를 5 cm 정도 깔고 그 위에 불린 콩을 담아 깨끗한 모래를 2 cm 정도 덮어 매일 미지근한 물을 2회 주어 싹의 길이가 5 cm 정도가 되도록 성장한 것을 선별하였다. 대두황권의 발효는 500 mL 삼각플라스크에 건조한 대두황권을 각각 30 g 정도로 넣고, 수분을 50%(w/v) 함유시킨 다음, 전배양한 *B. subtilis* KACC 9122P와 혼합 젖산균의 균체현탁액을 3 mL 접종하여 37°C에서 4일 동안 행하였다. 발효가 종료된 대두황권은 동결건조한 후 분석용 시료로 사용하였다.

### ABTS 라디칼 소거활성 측정

대두황권의 ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] 라디칼 소거 활성을 BHA 및 vitamin C와 비교하여 측정하였다(17). ABTS 라디칼을 7 mM ABTS와 2.45 mM  $K_2S_2O_8$ 을 암소에서 12시간 반응시켜 발생시켰으며, pH 7.0 PBS 용액으로 734 nm에서 흡광도가 0.7이 되게 희석하였다. 96-well plate 당 10  $\mu$ L의 시료를 넣고 희석된 ABTS 용액 190  $\mu$ L를 가하여 7분간 반응시킨 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료에 의하여 라디칼이 소거되는 만큼의 흡광도가 감소되는 정도를 측정하였다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거활성(\%)} = (1 - 7\text{분 후 측정된 시료의 흡광도 변화}) \times 100 / \text{대조구의 흡광도}$$

### DPPH 라디칼 소거활성 측정

전자공여작용은 대두황권 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여 효과를 측정하였다(18). 즉 96-well 플레이트에 에탄올에 녹인  $1.5 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액 90  $\mu$ L 와 시료 10  $\mu$ L 를 첨가한 후 10분 간 반응을 시킨 다음 microplate reader로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 농도에 따른 DPPH 라디칼 소거 활성을 아래의

식에 따라 계산하였으며, DPPH 용액 대신 에탄올을 첨가한 시료의 흡광도를 blank로 하였으며, 메탄올을 넣은 것을 대조구로 하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거활성(\%)} = (1 - 10\text{분 후 측정된 시료의 흡광도 변화}) \times 100/\text{대조구의 흡광도}$$

### 환원력 측정

대두황권 추출물의 환원력의 측정은 시험관에 다양한 농도의 추출물에 sodium phosphate buffer 2.5 mL와 potassium ferricyanide 2.5 mL를 혼합하여 50°C에서 20분 동안 반응시킨 후 trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가하고, 10분 동안 5,000 rpm으로 원심분리를 시켰다. 상청액 5 mL에 0.1% ferric chloride 1 mL를 가한 후, spectrophotometer (CE2021, CECIL, England) 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구로 비타민 C를 표준 환원제로 사용하여 측정하였다(19).

### 대식세포의 일산화질소 생성 분석

단핵세포 세포주인 RAW264.7 세포로부터 NO 생산의 지표로서 배양 상층액 내에 안정된 NO 산화물인 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (nitrite)를 Griess 반응으로 측정하였다(20). EDTA(ethylenediamine tetra acetic acid)가 들어 있는 50 mM potassium phosphate buffer로 조직을 마쇄한 후에 4°C, 10,000×g에서 15분 동안 원심 분리하여 조직의 상층액을 준비하였으며, 각각의 상층액 100 µL를 96 well plate에 넣고, 여기에 Griess 시약(0.1% N-1-naphthyl-ethylenediamine/ H<sub>2</sub>O : 1% sulfanilamide / 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> = 1 : 1)을 동량 첨가하여 10분간 반응시킨 후, microplate reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도는 NaNO<sub>3</sub>를 이용하여 얻은 표준곡선과 비교하여 계산하였다.

### 암세포 성장억제 효과 측정

실험에 사용한 암세포는 인체의 자궁경부암 HeLa cell, 간암 HepG2 cell, 대장암 HT-29 cell과 유방암 MCF-7 cell을 Korea Cell Line Bank(KCLB)로부터 구입하여 실험에 사용하였으며, 각각 5% FBS(fetal bovine serum, Hyclone, U.S.A.) 및 항생제 혼합액을 첨가한 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium, GIBCO, N.Y., USA) 배양액을 사용하였다. 암세포에 대한 암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] assay를 실시하였다(21). 암세포를 96well plate에 1×10<sup>5</sup> cells/well 이 되게 300 µL 씩 분주하여 24시간 후 시료를 일정한 농도로 제조하여 10 µL 첨가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 72시간 배양하였다. 여기에 PBS(phosphate-buffered saline)에 5 mg/mL의 농도로 제조한 MTT용액 20 µL를 첨가하고 동일한 배양 조건에서 4시간

을 배양하였다. 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO (dimethyl sulfoxide) 300 µL를 가하여 ELISA reader (Molecular Devices, SpectraMAX 340pc, USA)로 517 nm에서 흡광도를 측정하여 inhibition rate(%)를 구하였다. 이상에서 모든 실험의 각 항목은 blank를 포함하여 3회 반복하여 측정된 평균치(mean)와 표준편차(SD)로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### ABTS 라디칼 소거활성

황대두와 흑대두 및 그 발아콩을 고초균과 혼합 젖산균으로 각각 발효시킨 대두황권의 추출액의 ABTS 라디칼 소거활성은 Fig. 1과 같다. 각 시료 추출물의 농도가 증가할수록 ABTS라디칼 소거능은 대체로 비례적으로 증가하였다. 그리고 합성항산화제 BHA와 비타민 C는 100 µg/assay에서 각각 46.1%, 32.6% 소거활성을 나타내었으며, 이에 비하여 황대두, 흑대두, 고초균-발아흑대두, 젖산균-발아흑대두 시료는 3.6~5.5%로서 낮은 활성을 나타내었다. 흑대두는 600 µg/assay에서 11.6%로서 황대두 6.4%에 비하여 1.8배 높게 나타났다. *B. subtilis*(BSBS 실험균)와 *L. bulgaricus*와 *L. reuteri*로 구성된 혼합 젖산균(BSLB 실험균) 배양액으로 발효시킨 발아콩 대두황권은 각각 10.5%와 9.1%로서 비발효 흑대두보다는 약간 낮은 ABTS 라디칼 소거능을 나타내었다. 이는 발효과정을 통하여 증진되는 효과보다는 제조과정 중에 침지 및 증자과정에서 발아콩 흑대두 종피에 포함되어 있는 검정색 안토시아닌 색소를 포함한 항산화성 물질이 일부 누출되어 다소 그 ABTS 라디칼 소거능이 감소되는 경향을 나타낸 것으로 판단된다.

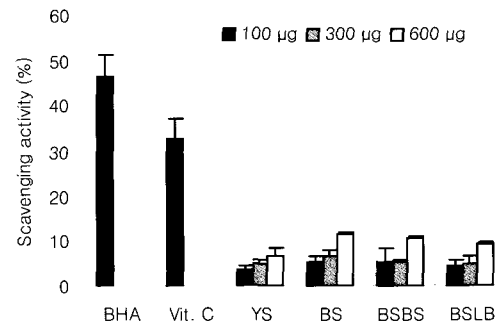


Fig. 1. ABTS radical scavenging activity of methanol extracts from Glycine Semen Germinatum of oriental medicinal herb.

YS, Yellow soybean ; BS, Black soybean ; BSBS, Black soybean+*B. subtilis* ; BSLB, Black soybean+Lactic acid bacteria.  
Data were presented as the mean±SD of triplicate determinations.

### DPPH 라디칼 소거활성

전자공여능 측정은 DPPH 라디칼 소거법으로 측정하며,

DPPH는 비교적 안정한 라디칼을 갖는 물질로 항산화 활성이 있는 물질과 반응하면 라디칼이 소거되어 탈색되는 점을 이용하여 항산화 활성을 검정하는데 널리 사용되고 있다. 황대두와 흑대두 및 그 발아콩을 고초균과 혼합 젖산균으로 각각 발효시킨 대두황권의 추출액의 DPPH 라디칼 소거활성은 Fig. 2와 같은데, ABTS 라디칼 소거능에 비하여 각 시료 추출물의 농도 증가에 따른 소거능은 비례적으로 증가하였으나 그 증가 폭이 적게 나타났다.

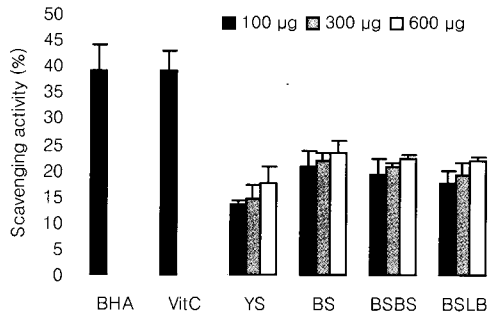


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of methanol extracts from Glycine Semen Germinatum of oriental medicinal herb.

YS, Yellow soybean ; BS, Black soybean ; BSBS, Black soybean+B. subtilis ; BSLB, Black soybean+Lactic acid bacteria. Data were presented as the mean±SD of triplicate determinations.

대조구로 사용한 합성항산화제 BHA와 비타민 C는 100 µg/assay에서 각각 39.1%, 39.1% 소거활성으로 서로 비슷하였으며, 이에 비하여 황대두, 흑대두, 고초균-발아흑대두, 젖산균-발아흑대두 시료의 라디칼 소거능은 13.5~20.6%로서 약간 낮은 활성을 나타내었다. 그리고 600 µg/assay에서는 흑대두는 23.2%로서 황대두 17.5%에 비하여 1.3배 높았으며, 이는 ABTS 라디칼 소거능 1.8배보다 차이가 적었다. 또한 발아콩 발효 시료군인 BSBS 실험군과 BSLB 실험군의 대두황권은 각각 22.1%와 21.6%로서 상호 비슷한 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었는데, 황대두보다는 각각 1.3배와 1.2배 높았지만 흑대두보다는 약간 낮았다.

Kang 등(22)은 시료 중의 환원력이 높은 phenolic acid, flavonoid 및 기타 phenol성 화합물들에 의하여 전자공여능이 높게 나타난다고 보고하였으며, DPPH 라디칼 소거능이 높으면 자유라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 높아 항산화활성 및 활성산소와 같은 자유라디칼의 소거작용 증진으로 인체내 노화를 억제하는 효과가 있을 것으로 알려져 있다(23,24). 전자공여능이 클수록 강한 항산화력을 나타내므로, 항산화 효과는 전자공여능과 밀접한 관계가 있다고 보고하였다. 자유라디칼은 epinephrine의 산화, 미토콘드리아, 식물세포 또는 세포질 중 xanthin oxidase나 glutathione reductase 등의 flavo enzyme에 의한 정상적인 대사 과정과 같은 여러 가지 생물학적 반응에 의해 형성되며 전자공여작용은 이러한 산화성 생물활성 자유 라디칼에 전자를 공여하

여 산화를 억제하는 척도가 된다(25). 또한 전자공여능은 지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 활성을 갖는 자유 라디칼에 전자를 공여하여 산화를 억제시키며, 식물 중에 존재하는 대부분의 생리활성 물질은 일반적으로 산화성 자유 라디칼과 반응하기 때문에 항산화제로서 작용한다(26).

환원력 효과

황대두와 흑대두 및 그 발아콩을 고초균과 혼합 젖산균으로 각각 발효시킨 대두황권의 추출액을 100, 300, 600 µg/assay로 첨가하여 금속이온을 환원시키는 환원력(reducing power)을 흡광도 수치로 나타낸 결과는 Fig. 3과 같다. 여기에 나타낸 대두황권 추출물의 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타내며, 높은 흡광도 수치는 높은 환원력을 나타내는데, 추출물의 농도 증가에 따른 환원력도 대체로 비슷한 비율로 높아지는 경향을 나타내었다. 그리고 시료 추출물(600 µg/assay)의 황색 대두는 흡광도 0.4와 흑대두에서는 0.6이 측정되었으며, 대조구인 BHT와 L-ascorbic acid는 100 µg/assay에서 각각 흡광도 1.1과 1.3으로 측정되었다. 발아콩 발효 시료군인 BSBS 실험군과 BSLB 실험군의 600 µg/assay에서 대두황권은 각각 0.46과 0.49로서 혼합 젖산균 배양액을 이용한 발효콩 대두황권이 약간 높은 환원력을 나타내었는데, 황대두보다는 약간 높았지만 흑대두보다는 약 25% 낮은 환원력을 나타내었다. 한편 환원력 실험은 potassium ferricyanide reduction 법을 사용한 추출물의 환원력을 평가하는 것으로서 reductone의 항산화 반응은 hydrogen atom을 제공함으로써 자유 라디칼 연쇄를 변환시키며, reductone은 또한 과산화의 일정한 전구물질과 반응하여 과산화의 형성을 방해한다. Flavonol 물질은 이 안정된 생성물로 그들을 전환시키기 위해 자유라디칼과 반응하거나 전자를 제공함으로써 reductone과 같은 유사한 형태에서 반응하고 자유 라디칼 연쇄 반응을 끝낸다고 보고되어 있다(27).

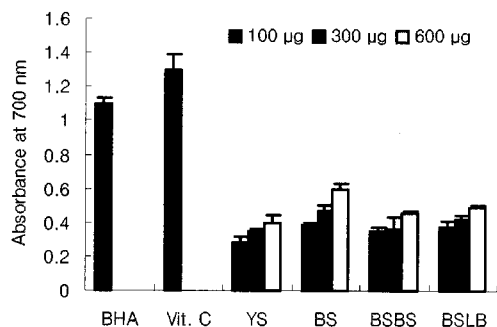


Fig. 3. Reducing power of methanol extracts from Glycine Semen Germinatum of oriental medicinal herb.

YS, Yellow soybean ; BS, Black soybean ; BSBS, Black soybean+B. subtilis ; BSLB, Black soybean+Lactic acid bacteria. Data were presented as the mean±SD of triplicate determinations.

### 대식세포의 NO 생성

황대두와 흑대두 및 그 발아콩을 고초균과 혼합 젖산균으로 각각 발효시킨 대두황권의 추출액을 1, 0.5, 0.2 mg/mL 농도로 첨가하여 단핵세포 대식세포주인 RAW264.7 세포와 함께 배양하였을 때, 추출물에 의한 NO 생성을 측정할 결과는 Table 1과 같다. 대조군의 NO 함량은 0.47  $\mu$ M로서 다른 시료들에 비하여 높은 함량을 나타내었으며, 원료 및 발아콩 발효 대두황권 시료의 추출물 농도를 증가시킬수록 NO 생성은 농도 의존적으로 약간씩 감소하는 경향을 나타내었다. 시료 추출물의 1 mg/mL 농도에서 황색대두 0.374  $\mu$ M과 흑대두 0.386  $\mu$ M보다는 발효콩 흑대두 대두황권의 BSBS 실험군과 BSLB 실험군은 각각 0.367  $\mu$ M과 0.358  $\mu$ M로서 약간 낮은 NO 생성을 나타내었다. 이러한 NO는 염증 반응에 관여하는 활성기이며 phagocyte cell로부터 유리된 활성기는 염증 반응에 매우 중요한 역할을 하며 그들은 NF- $\kappa$ B를 활성화시키고 이것은 염증 항체와 cox-2를 유도하며 항산화제는 이들의 활성을 방해하여 염증 발현을 억제한다(28,29).

**Table 1.** Effect of methanol extracts from Glycine Semen Germinatum of oriental medicinal herb on NO production in RAW 264.7 cells

Sample	Conc. (mg/mL)	NO content ( $\mu$ M)
YS	1.0	0.374 $\pm$ 0.010
	0.5	0.401 $\pm$ 0.006
	0.2	0.439 $\pm$ 0.058
BS	1.0	0.386 $\pm$ 0.012
	0.5	0.409 $\pm$ 0.006
	0.2	0.408 $\pm$ 0.014
BSBS	1.0	0.367 $\pm$ 0.006
	0.5	0.391 $\pm$ 0.001
	0.2	0.393 $\pm$ 0.013
BSLB	1.0	0.358 $\pm$ 0.004
	0.5	0.385 $\pm$ 0.001
	0.2	0.379 $\pm$ 0.008

YS, Yellow soybean ; BS, Black soybean ; BSBS, Black soybean+B. subtilis ; BSLB, Black soybean+Lactic acid bacteria.

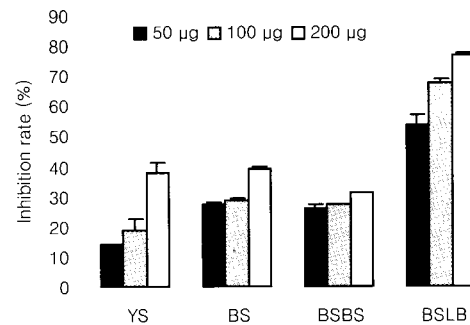
Data were presented as the mean $\pm$ SD of triplicate determinations.

### 항암활성

황대두와 흑대두 및 그 발아콩을 고초균과 혼합 젖산균으로 각각 발효시킨 대두황권의 추출액을 50, 100, 200  $\mu$ g/assay로 인체의 자궁경부암 HeLa cell, 간암 HepG2 cell, 대장암 HT-29 cell과 유방암 MCF-7 cell에 첨가하여 세포증식억제를 측정할 결과는 Fig. 4~7과 같다. 여기에 나타난 바와 같이 시험한 모든 암 세포주는 첨가되는 추출물 농도가 50~100  $\mu$ g/assay로 높아짐에 따라서 항암활성은 비례적으로 증가되었으며, 특히 혼합 젖산균 발아콩 대두황권의 추출물이 가장 높은 항암활성을 나타내었는데, 그 효과는 자궁경부암 > 대장암 > 간암 > 유방암 세포주 순으로 나타

났다.

자궁경부암 HeLa 세포(Fig. 4)는 추출물 200  $\mu$ g/assay에서 흑대두 39.4%로 황대두 38.0%보다 다소 높은 활성을 나타내었으며, 발아콩 흑대두 대두황권에서는 혼합 젖산균으로 발효시킨 BSLB 실험군은 저농도 50  $\mu$ g/assay에서도 53.6%를 나타내었고, 고농도 200  $\mu$ g/assay에서는 77.0%로 흑대두나 고초균으로 발효시킨 BSBS 실험군에 비하여 각각 2배와 2.5배 이상 높은 활성을 나타내었다.

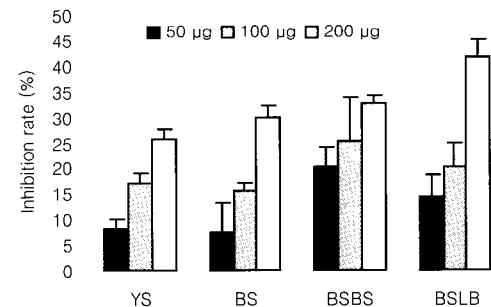


**Fig. 4.** Inhibitory effects of methanol extracts from Glycine Semen Germinatum of oriental medicinal herb on HeLa cell growth.

YS, Yellow soybean ; BS, Black soybean ; BSBS, Black soybean+B. subtilis ; BSLB, Black soybean+Lactic acid bacteria.

Data were presented as the mean $\pm$ SD of triplicate determinations.

간암 HepG2 세포(Fig. 5)는 추출물 200  $\mu$ g/assay에서 비발효 시료에서 흑대두는 29.7%로 황대두 25.6%보다 약간 높은 활성을 나타내었으며, 발아콩 흑대두 대두황권은 고초균 B. subtilis를 이용한 BSBS 실험군과 혼합 젖산균으로 발효시킨 BSLB 실험군 모두에서 황색대두와 흑대두의 비발효 시료보다 항암활성이 높게 나타났다. 특히 BSLB 실험군은 200  $\mu$ g/assay에서 활성이 41.5%로서 모든 실험군에 가장 높았으며 황색대두와 흑대두보다 각각 1.6배와 1.4배 높게 나타났다.



**Fig. 5.** Inhibitory effects of methanol extracts from Glycine Semen Germinatum of oriental medicinal herb on HepG2 cell growth.

YS, Yellow soybean ; BS, Black soybean ; BSBS, Black soybean+B. subtilis ; BSLB, Black soybean+Lactic acid bacteria.

Data were presented as the mean $\pm$ SD of triplicate determinations.

대장암 HT-29 세포(Fig. 6)는 흑대두 추출물은 50  $\mu$ g/assay에서 35.9%로 다른 시료에 비하여 상대적으로 저농도에서 다소 높은 활성을 나타내었으며, 200  $\mu$ g/assay에서는 황대두 16.6%보다 2.8배 이상 높은 활성을 나타내었다. 또한 발아콩 흑대두 대두황권에서는 혼합 젖산균으로 발효시킨 BSLB 실험군은 저농도 50  $\mu$ g/assay에서도 53.6%를 나타내었고, 고농도 200  $\mu$ g/assay에서는 77.0%로 흑대두나 고초균으로 발효시킨 BSBS 실험군에 비하여 각각 2배와 2.5배 이상 높은 활성을 나타내었다.

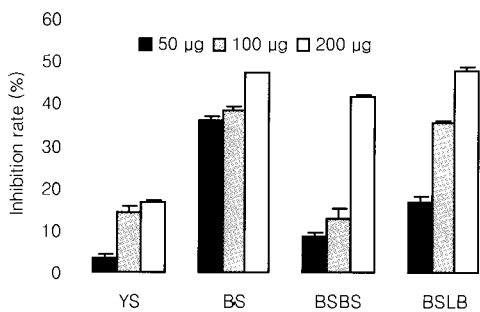


Fig. 6. Inhibitory effects of methanol extracts from Glycine Semen Germinatum of oriental medicinal herb on HT-29 cell growth.

YS, Yellow soybean ; BS, Black soybean ; BSBS, Black soybean+B. subtilis ; BSLB, Black soybean+Lactic acid bacteria. Data were presented as the mean $\pm$ SD of triplicate determinations.

유방암 MCF-7 세포(Fig. 7)는 황색대두와 흑대두의 각 농도별 활성은 비슷하였으며, 발효에 따른 항암활성의 변화는 간암 HepG2 세포와 유사하였으며, 200  $\mu$ g/assay에서 고초균과 혼합 젖산균으로 발효시킨 대두황권 추출물이 비발효 황색대두 24.9%와 흑대두 25.2%에 비하여 항암활성이 대체로 1.4~1.5배 이상 높게 나타났다.

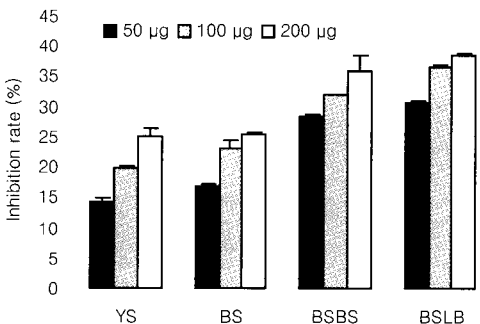


Fig. 7. Inhibitory effects of methanol extracts from Glycine Semen Germinatum of oriental medicinal herb on MCF-7 cell growth.

YS, Yellow soybean ; BS, Black soybean ; BSBS, Black soybean+B. subtilis ; BSLB, Black soybean+Lactic acid bacteria. Data were presented as the mean $\pm$ SD of triplicate determinations.

## 요 약

발아콩의 기능성을 평가하기 위하여 검정콩으로 발아시킨 대두황권을 고초균과 혼합 젖산균으로 각각 발효시킨 추출물에 대한 ABTS와 DPPH 라디칼 소거능 및 환원력의 항산화능, 일산화질소(NO) 생성 및 인체암 세포주(Hela, HepG2, HT-29, MCF-7)의 항암활성에 대하여 조사하였다. 항산화능은 추출물에 대한 농도 의존적으로 증가하였고, 흑대두는 황색대두에 비하여 높았으며, 발효콩 대두황권보다는 비발효 시료가 약간 높게 나타났다. 일산화질소 생성은 시료 추출물의 1 mg/mL 농도에서 황색대두 0.374  $\mu$ M과 흑대두 0.386  $\mu$ M보다는 발효콩 흑대두 대두황권의 BSBS 실험군과 BSLB 실험군은 각각 0.367  $\mu$ M과 0.358  $\mu$ M로서 약간 낮은 NO 생성을 나타내었다. 또한 인체암 세포주에 대한 항암활성은 비발효콩이나 고초균 시료보다 혼합 젖산균 발효콩 대두황권의 추출물이 가장 높게 나타났는데, 그 효과는 자궁경부암 > 대장암 > 간암 > 유방암 세포주 순이었다.

## 감사의 글

본 논문은 2005년 진주산업대학교 구조개혁 선도대학 지원금 및 간접연구경비를 지원 받아 수행된 연구과제로 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Korean Society of Food Science & Technology (2000) International symposium on soybean and human health. Food Sci. Ind., 33, 60-64
2. Song Y.S. (2005) Functional properties of soybean. Spring scientific meeting of Korea Society of Food & Cookery Science. Program and abstracts, Seoul, Korea. p.2-51
3. Kim, S.O. (2006) Research and industrial trend of the functional components of soybean. Food Sci. Ind., 39, 2-10
4. Kim, S.R. (2000) Studies on functional and physiological properties of bioactive components in soybean and its application. Report of Technology Development Program for Agriculture and Forestry, Ministry of Agriculture and Forestry, Korea
5. 장지현 (1993) 한국 전래 대두이용 음식의 조리·가공사적 연구. 명가 김치박물관 학술총서 1, 수확사, 서울. p.46

6. Won, M.H. (2005) The physiological function characteristic improvement due to the germination of the soybean and will reach and the product development which it uses. Report of Technology Development Program for Agriculture and Forestry, Ministry of Agriculture and Forestry, Korea
7. Yang, C.B. and Kim, Z.U. (1980) Changes in nitrogen compounds in soybean sprout. J. Korean Agric. Chem. Soc., 23, 7-13
8. Kim, J.S., Kim, J.G. and Kim, W.J. (2004) Changes in isoflavone and oligosaccharides of soybeans during germination. Korean J. Food Sci., Technol., 36, 294-298
9. Kim, W.J., Lee, H.Y., Won, M.H. and Yoo, S.H. (2005) Germination effect of soybean on its contents of isoflavone and oligosaccharides. Food Sci. Biotechnol., 14, 498-502
10. Lee, H.S., Eom, K.Y., Choi, H.S., Kim, D.H., Yoo S.H. and Kim, W.J. (2006) Functional properties of germinated whole soy flour. Korean J. Food Sci. Technol., 38, 483-487
11. Lee, Y.S. (2005) Effect of the intake of germinated soybeans on physiological and cognition activities in mice. Ph.D thesis, Hallym University, Chuncheon, Korea
12. Hur, D. (2007) Physicochemical properties and functionality of Glycine Semen Germinatum. MS thesis, Daegu Haany University, Daegu, Korea
13. 식품의약품안전청 (2002) 대한약전의 한약(생약) 규정집. 의약품각조 - 대두황권. p. 116
14. Hwang, K.H. (2003) Development of new food materials for anti-stress and promoting effect. Inhibitory activities of MAO(moamine oxidase) from extracts of Glycine Semen Germinatum (NP20-031). Annual Report of Ministry of Science and Technology, p.58-66
15. Lee, D.Y. (2005) In-vitro study the effect of heat clearing herbs(清熱藥) on the skin. MS thesis, Pochon CHA University, Pochon, Korea.
16. Kim, H.Y. 2006. Health food for the skin-aging protection containing extract of Glycine Semen Germinatum. Korean Patent 10-0572025
17. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biol. Med., 26, 1231-1237
18. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 26, 1199-1200
19. Oyaizu, M. (1986) Studies on products of browning reactions : antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn. J. Nutr., 44, 307-315
20. Chi, Y.S., Cheon, B.S. and Kim, H.P. (2001) Effect of wogonin, a plant flavone from *Scutellaria radix*, on the suppression of cyclooxygenase-2 and the induction of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated RAW264.7 cell. Biochem. Pharmacol., 61, 1195-1203
21. Hansen, M.B., Neilsen, S.E. and Berg, K. (1989) Reexamination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. J. Immunol. Methods, 119, 203-210
22. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol., 28, 232-239
23. Aoshima, H., Tsunoue, H., Koda, H. and Kiso, Y. (2004) Aging of whisky increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. J. Agric. Food Chem., 52, 5240-5244
24. Kim, H.K., Kim, Y.E., Do, J.R., Lee, Y.C. and Lee, B.Y. (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. Korean J. Food Sci. Technol., 27, 80-85
25. Jim, Q., Park, J.R., Kim, J.B. and Cha, M.H. (1999) Physiological activity of *Zizyphus jujaba* leaf extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 28, 593-599
26. Park, Y.K., Kim, H.M., Park, M.W., Kim, S.R. and Choi, I.W.. (1999) Physicochemical and functional properties of Turnip. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 28, 333-341
27. Wettasinghe, M. and Shahdi, F. (1999) Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage(*Borago officinalis* L.) seeds. Food Chem., 67, 399-414
28. Kang, J.L., Park, W., Pack, I.S., Lee, H.S., Kim, M.J. and Lim, C.M. (2002) Inhaled nitric oxide attenuates acute lung injury via inhibition of nuclear factor-kappa B and inflammation. J. Appl. Physiol., 92, 793-801
29. Wu, C.C. (2004) Nitric oxide and inflammation. Curr. Med. Chem. Anti- Inflammatory Anti-Allergy Agents, 3, 217-222