KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 45, No. 2, pp. 221~226 (2013)
http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.2.221

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

©The Korean Society of Food Science and Technology

작두콩 청국장 첨가 고추장의 항산화, tyrosinase 저해 및 암세포 증식 억제 효과

장문익 · 김재영 · 김운성[1] · 백승화[2]*
식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 잔류물질과,
[1]한국보건산업진흥원 품질향상평가팀, [2]충북도립대학교 바이오식품생명과학과

Antioxidant, Tyrosinase Inhibitory, and Anti-proliferative Activities of *Gochujang* Added with *Cheonggukjang* Powder Made from Sword Bean

Moon-Ik Chang, Jae-Young Kim, Un-Sung Kim[1], and Seung-Hwa Baek[2]*
Residues of Pesticide and Veterinary Drugs in Foods Division, Department of Food Safety Evaluation, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety
[1]Quality Improvement Evaluation Team, Korea Health Industry Development Institute
[2]Department of Biofood Science and Biotechnology, Chungbuk Provincial University

Abstract This study aimed to examine the antioxidant, tyrosinase inhibitory, and anti-proliferative activities (A549, G361, HT-29, and MDA-MB-231) of fermented *gochujang* (made from sword bean *cheonggukjang* powder (SBC) for 90 days. *Gochujang* was prepared by adding 0 (SBC 0), 2 (SBC 2), 5 (SBC 5), 8 (SBC 8) and 10% (SBC 10) levels with SBC, and all experiments were measured at diluted levels of 20, 50 and 100 times. The antioxidant activity and tyrosinase inhibitory effect demonstrated that SBC 10 increased approximately 1.2 and 1.1 times compared with SBC 0, respectively, at diluted levels of 50 and 100 times. The anti-proliferative effects of A549, G361, and HT-29 presented that SBC 10 were 2.8, 1.1, and 8.9 times higher compared with SBC 0, respectively, at diluted levels of 50, 20, and 100 times. In the case of MDA-MB-231, SBC 10 was 3.7 times higher compared with SBC 5 at diluted level of 20 times. As a result, we confirmed that SBC *gochujang* was improved for physiological activities and anti-proliferative effects.

Keywords: sword bean *cheonggukjang*, *gochujang*, physiological activity, anti-proliferative effect, cancer cell

서 론

식품산업의 발달로 현대인들은 영양이 풍부한 식사를 하고 있는 반면 긴장의 연속, 업무량 과다 및 운동량의 감소로 인하여 건강에 대한 염려가 점점 증가하고 있다. 따라서 건강 유지 및 증진에 도움이 되고자 기능성이 풍부하다 알려진 콩을 발효하여 제조한 청국장, 된장, 간장 및 고추장 등과 같은 장류에 대해 관심이 높아지고 있다. 이들 장류 발효 식품 중 특히 고추장은 메주에서 유래되는 미생물들에 의해 분비하는 효소들과 복합적인 작용을 하여 고춧가루, 콩 단백질 및 전분질이 분해되고 매운맛, 단맛 그리고 구수한 향미를 조미료인 동시에 저장성이 우수한 가공식품으로서 동양인의 식생활에서 차지하는 비중이 높다(1-3). 한편 고추장에 대한 연구동향은 1990년대 중반 이후에 들어와 식품을 조리하거나 가공하는데 있어 고추장의 풍미와 영양을 개선하는데 만족하지 않고, 생리 활성을 확인 또는 증진시킬 수 있는 연구들이 진행되면서 항비만 효과 및 항암 효과 등의 연구 결과 발표와 함께 기능성 소재를 첨가하여 만든 고추장의 개발 연구도 활발히 진행되고 있다(3-16).

본 연구에서는 고추장의 주재료 중 하나인 대두의 일부를 작두콩으로 대체하여 기능성 고추장을 개발하였다. 작두콩(*Canavalia gladiata* (Jacq.) DC.)은 칼콩, 넝쿨 작두콩 및 줄작두콩 등으로 불리는 콩과의 한해살이 덩굴성 식물로 현재 식품으로 사용하는 콩 가운데 제일 큰 품종으로 개화기는 6-7월, 결실기는 8-10월로, 이때 열매인 꼬투리가 맺고 늦가을에 익는다(17). 열매는 그 모양이 작두 같다고 하여 일명 도두(刀豆)라 부르기도 한다. 작두콩 깍지의 길이는 10-30 cm 정도로 그 속에 10-14개의 콩이 들어있다. 식용부위는 종실뿐만 아니라 뿌리, 꼬투리 및 잎 등 식물체 모두 식용 또는 약용으로 사용한다(18). 또한 작두콩은 urease, 혈구응집소(PHA: phytohemagglutinin) 및 canavanine이 함유되어 있어, 유두에서는 canavalia gibberellin I 및 II가 분리되고 비타민 A, B_1, B_2, C, niacin 등이 풍부하여 종양 억제 작용, 소염 및 혈액 순환 촉진 작용에 도움이 되며 딸국질, 축농증, 비염, 백일해 및 신허 요통 등의 개선 치료에 대한 민간요법으로 사용되고 있다(18,19). 한편, 일본에서는 작두콩을 비염, 치통, 치조농루, 습진, 종기, 화농성 및 염증성 질환 등의 개선을 위한 민간치료 요법으로 사용되고 있다(17). 이처럼 작두콩에는 영양 성분, 기능성 및 약리 효과가 우수함에도 불구하고 이용량이 많지 않은 것은 그의 가공 방법이 확립되지 않은데 있고, 그 결과 작두콩의 소비가

*Corresponding author: Seung Hwa Baek, Department of Biofood Science and Biotechnology, Chungbuk Provincial University, Okcheon, Chungbuk 373-806, Korea
Tel: 82-43-730-6381
Fax: 82-43-731-8337
E-mail: jinho@cpu.ac.kr
Received November 6, 2012; revised December 19, 2012; accepted January 2, 2013

적어 이를 재배하는 농가들의 수익이 낮은 실정이다. 이와 같은 문제를 개선하여 농가 소득 작물로서 육성하기 위해서는 건강 증진에 유익한 기능성 물질이 많이 함유되었음을 알리며, 다양한 가공방법을 개발함으로서 이용 분야를 확대시키는 일이 중요하다. 이의 일환으로 전통식품이면서 다소비 식품인 고추장에 첨가하여 그 효과를 확인하는 것이 바람직하다고 판단된다.

따라서 본 연구는 작두콩의 다양한 기능성 활용과 부가가치 제고 및 소비를 촉진시키고자 사철 다소비 식품인 고추장의 단백질원인 메주 사용량을 줄이는 대신, 간편하게 제조할 수 있고 다양한 생리 활성을 지닌 것으로 알려진 작두콩으로 제조한 고추장의 항산화 활성, tyrosinase 저해 활성 및 A549 (Lung cancer), G361 (Melanoma), HT-29 (Colon cancer) 및 MDA-MB-231 (Breast cancer) 등 4종의 암세포 증식 억제에 의한 항암성에 대해 측정한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

재료

고추장의 원료는 찹쌀가루, 고춧가루, 메주가루, 작두콩 청국장 분말, 맥아 및 식염을 사용하였다. 고추장 제조에 사용된 메주가루 및 작두콩 청국장 가루는 충북 진천군 초평면에 소재한 (주)콩세상에서 직접 제조한 것을 분양받아 사용하였다. 작두콩 청국장의 일반성분 함량은 수분함량이 10.5%, 조단백질 32.4%, 조지방 23.1%, 조섬유 11.0%, 조회분 9.7%, 탄수화물이 24.4%이었다. 그리고 메주의 수분함량은 12.3%, 조단백질 38.1%, 조지방 16.9%, 조섬유 4.8%, 조회분 4.8% 및 탄수화물이 23.2%가 함유된 것을 고추장 제조에 사용하였다. 고춧가루는 전북 순창군에서 생산된 청양고추를, 소금은 꽃소금(Hanil Food, Andong, Korea)을 사용하였다. 전통 고추장과 작두콩 고추장의 제조는 순창 전통 고추장 표준 배합비에 준하여 Table 1의 비율로 Fig. 1과 같이 고추장을 제조한 다음 고추장 8 kg을 옹기그릇에 담아 숙성실(27±1°C)에서 90일간 발효한 고추장을 분석에 사용하였다.

시료 전처리

고추장 100 g을 마쇄한 후, 80% 에탄올 1 L씩 첨가한 후 3회 반복하여 상온에서 12시간 교반 추출하였다. 이를 여과한 후, 여과액을 동결 건조하여 분석용 시료로 사용하였으며, 모든 분석은 시료를 20, 50 및 100배로 희석한 용액으로 측정하였다.

Table 1. Mixing ratios of materials for preparation of *gochujang* added with *cheonggukjang* powder made from sword bean

Material	*Gochujang*				
	SBC 0	SBC 2	SBC 5	SBC 8	SBC 10
	---------- w/w% ----------				
Glutinous rice powder	27.8	27.8	27.8	27.8	27.8
Red pepper	16.6	16.6	16.6	16.6	16.6
Meju	10	8	5	2	0
SBC[1)]	0	2	5	8	10
Malt powder	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2
Salt	9.8	9.8	9.8	9.8	9.8
Water	31.6	31.6	31.6	31.6	31.6
Sum (%)	68.4	68.4	68.4	68.4	68.4

1)SBC: *Cheonggukjang* powder made from sword bean.

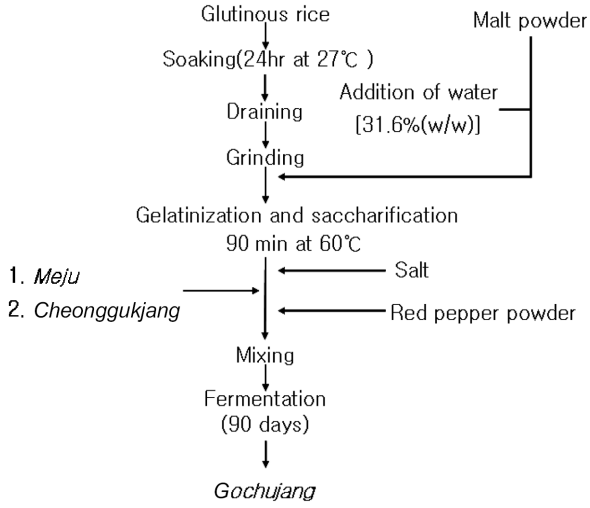

Fig. 1. Schematic diagram of *gochujang* preparation.

항산화 활성

항산화 활성은 DPPH radical-scavenging activity test에 의해 Blois (20)와 Kim 등(21)의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 2 mL에 0.2 μM DPPH (2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; Sigma chemical, St. Louis, MO, USA) 1.0 mL를 시험관에 넣고 30초 동안 진탕한 액을 암소에서 30분간 방치한 후 UV-vis spectrophotometer(Jasco, Tokyo, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 결과는 아래 식에 의해 산출하였다.

$$\text{Electron donating ability (\%)} = \left(100 - \frac{A - B}{C}\right) \times 100$$

A: Absorbance of sample after reaction
B: Absorbance of sample
C: Absorbance of blank

Tyrosinase 저해 효과

Tyrosinase 저해 효과는 Yagi의 방법(22)에 준하여 측정하였다. 시험관에 0.2 mL의 0.175 M phosphate buffer solution (pH 6.8), 5 mM L-3,4-dihydroxyphenylalanine solution [w/v, L-DOPA, 0.175 M phosphate buffer solution (w/v, pH 6.8); Sigma chemical)] 및 0.5 mL의 고추장 추출액을 넣어 혼합한 후 0.1 mL의 mushroom tyrosinase solution [110 unit/mL, 0.175 M phosphate buffer solution (w/v, pH 6.8); Sigma chemical]을 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시킨 후 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 UV-vis spectrophotometer (Jasco)를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정하고 다음과 같은 식으로 저해율을 산출하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition rate (\%)} = \left(1 - \frac{S_{Abs} - B_{Abs}}{C_{Abs}}\right) \times 100$$

S_{Abs}: Absorbance of sample
B_{Abs}: Absorbance of buffer solution except for enzyme
C_{Abs}: Absorbance of buffer solution except for sample

암세포 증식 억제 효과

실험에 사용된 세포주는 A549, G361, HT-29, 및 MDA-MB-231 4종으로 Korean cell line bank (KCLB, Daejeon, Korea)로부

터 분양받아 사용하였다. 각 세포의 배양은 10%(w/v) fetal bovine serum (Sigma chemical), 100 units/mL의 penicillin (Sigma chemical) 및 streptomycin 1% (w/v, Sigma chemical)를 첨가한 RPMI 1640 배지(Invitrogen, Carsbad, CA, USA)를 사용하였으며, 37°C 및 5% CO_2 incubator에 적응시켜 배양하였다. 암세포주에 대한 증식 억제 효과는 Charmichael 등(23)의 방법에 따라 MTT assay를 실시하였다. 암세포주를 96 well plate에 1×10^4 cells/well이 되게 180 μL 분주하고 각 시료를 2배 희석하여 20 μL 첨가한 후 37°C) 및 5% CO_2(v/v) 항온기에서 48시간 배양하였다. 또한, 대조군의 경우에도 시료와 동일한 양의 증류수를 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 여기에 5 mg/mL로 조제한 MTT (N-methylthiotetrazol, Sigma chemical) 용액 20 μL를 첨가하여 4시간 더 배양하였다. 배양 종료 후 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO(Sigma chemical) 150 μL를 가하여 30분간 교반한 후 ELISA reader (ELISA processor II, Behring, Marburg, Germany)로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 암세포 증식 억제효과는 다음과 같은 계산식으로 산출하였다.

$$\text{Anti-proliferative effect (\%)}=\frac{A-B}{A}\times100$$

A: Absorbance of blank
B: Absorbance of sample

통계 처리

분석 항목에 대한 실험은 3회 반복하였고, 얻은 결과들은 Excel software (Microsoft, Bellevue, WA, USA)를 사용하여 평균, 표준오차 및 그래프를 작성하였다. 또한 One way ANOVA에 의해 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test로 데이터들 간의 유의차를 분석하였다.

결과 및 고찰

항산화 활성

노화와 성인병 질환의 원인은 생체 내에서 발생하는 hydroxyl radical (·OH), super oxide radical (O_2^-), hydroperoxyl radical (HO_2^-), singlet oxygen ($^1O_2$), hydrogen peroxide (H_2O_2) 등과 같은 활성산소종(reactive oxygen species)에 의한 산화적 대사 부산물에 기인할 수 있는데(24), 이런 활성산소 종들을 조절하는데 관여하는 물질로 여러 항산화제가 존재한다(25-28). 따라서 작두콩 청국장 분말(SBC: *cheonggukjang* powder made from sword bean)을 첨가하여 제조한 고추장에도 천연 항산화제 물질로서의 기능이 있는지를 평가하기 위해 항산화 활성을 측정하였다(Fig. 2).

SBC 함량을 달리한 시료를 20, 50 및 100배로 희석하여 측정한 결과, 추출물의 농도가 높을수록, 즉, 100<50<20배순으로 증가하였다. 특히, 50배의 결과에서 SBC 10의 경우가 85.5%로 SBC 0 (68.4%)보다 약 1.2배 높아짐을 알 수 있었다. 이는 SBC 함량이 높을수록 증가하는 경향을 관찰할 수 있었으며, 20 및 100배 수준에서도 SBC 첨가량이 높을수록 항산화능이 증가하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 SBC가 강한 항산화 능력을 보유하고 있음을 시사하며 메주만으로 만든 고추장에 비해 SBC 첨가량이 높은 고추장일수록 항산화 능력이 향상됨을 알 수 있었다. 이는 작두콩으로 제조한 청국장의 항산화 능력이 전통 청국장보다 높았다는 결과(29)에서 그 원인을 찾을 수 있는데, 항산화 활성의 증가 원인은 작두콩 유래의 phenolic acid와 당, 아미노산 및 단백질 등이 상호 작용하여 생성된 화합물이 free radical

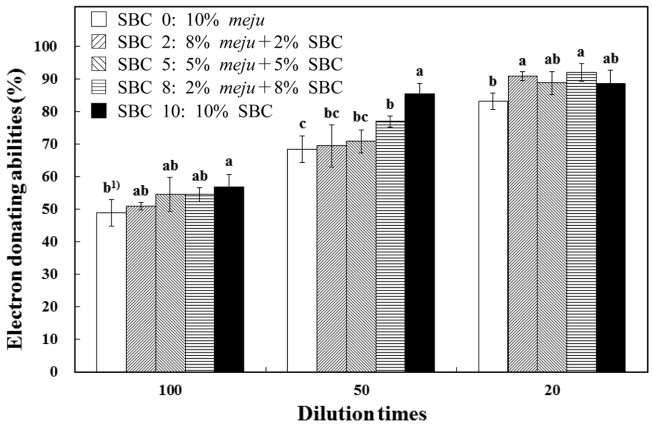

Fig. 2. Electron donating abilities of *gochujang* by adding SBC amounts and diluted levels. [1)]a-c: Means with the same letter superscript in histograms are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

을 쉽게 소거시키거나 또는 phenolic acid와 금속이 결합하여 착체를 형성하므로 free radical의 생성을 억제한 것으로 판단된다(30,31). 또한, 청국장 발효 과정에서 작두콩에 들어있는 단백질, peptide, 아미노산, amines 및 당류의 carbonyl기, 지방산화에 의한 carbonyl기들에 의해 maillard 반응으로 생성되는 물질인 3-deoxyglucosone가 항산화 능력이 우수하다 한바 있어 발효 과정 중에 항산화 활성을 가지는 물질이 생성되는 것으로 판단된다(32). 한편, Lim 등(3)에 따르면 마늘유를 첨가한 고추장의 경우, 40%의 전자공여능력을 나타내어 전통고추장보다 2배의 항산화 활성이 있다 보고하였다. 이를 본 연구와 비교한 바 마늘유 첨가 고추장보다는 높지 않으나 전통고추장보다 높은 경향을 나타낸 점이 유사하였다. 또한 Song 등(8)의 결과에서도 생마늘 및 마늘죽 첨가 고추장이 일반고추장보다 각각 1.3 및 1.7배 높아 본 연구의 SBC 첨가 고추장도 이러한 항산화 능력이 향상됨을 알 수 있었다.

Tyrosinase 저해 효과

Tyrosinase는 melanin 생합성 과정의 key enzyme으로 작용하는 페놀 화합물중 tyrosine을 기질로 이용하는 구리 함유 효소이다(33). Tyrosine은 tyrosinase에 의하여 L-3,4-dihydroxyl-L-phenylalanine (L-DOPA)로, L-DOPA는 dopaquinone으로 산화되어, 이는 다시 5,6-dihydroxyindole 및 indole 5,6-quinone으로 산화되어 최종적으로는 중합에 의해 melanin이 생합성 된다. 이러한 melanin 생성이 과도할 경우, 인체의 부작용(기미, 주근깨, 검버섯, 피부 노화 및 피부암 유발)과 식품의 품질 저하(채소, 생선 및 과일 등의 갈변화 현상) 등의 문제를 야기한다(33-35). 이러한 문제를 막기 위한 검증 방법으로 tyrosinase 활성 저해 연구가 진행되고 있으며, 최근에는 안전성을 고려한 천연물에서의 tyrosinase 효소 활성 저해 연구가 보고되고 있는데, tyrosinase 저해제로서 aloesin, hinokitol, hydroquinone, quercetin, 4-hydroxyanisole, azelaic acid, ascorbic acid 및 kojic acid 등이 여러 연구 결과를 통해 밝혀진바 있다(36-38). 따라서 SBC 첨가 비율을 달리하여 제조한 고추장이 이와 같은 tyrosinase 저해 능력의 기능성이 있는지를 평가한 결과는 Fig. 3과 같다.

SBC 첨가량을 달리한 시료를 20, 50 및 100배로 희석하여 측정한 결과 100<50<20배순으로 추출물의 농도가 증가할수록 높았다. SBC 첨가 효과는 20 및 50배 희석 용액의 경우, 유의성은 관찰할 수 없었으나 평균값은 높아지는 경향이었고, 100배 희석

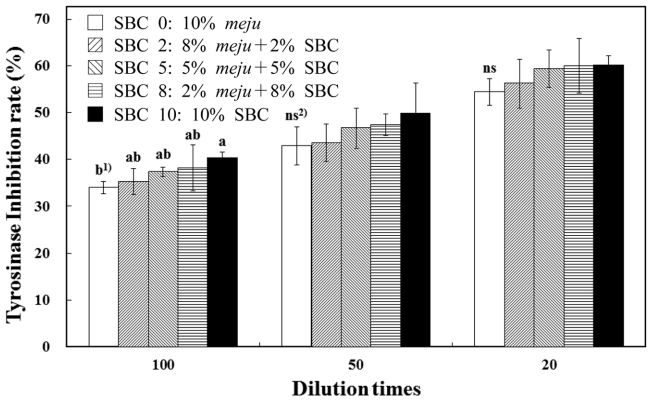

Fig. 3. Tyrosinase inhibitory effect of of *gochujang* by adding SBC amounts and diluted levels. [1)]a-b: Means with the same letter superscript in histograms are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test, [2)]ns: not significant.

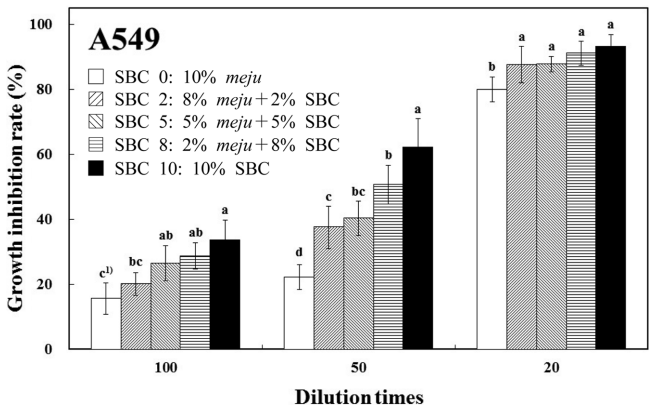

Fig. 4. Effect of SBC *gochujang* on growth inhibition of A549 (lung cancer). [1)]a-d: Means with the same letter superscript in histograms are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

용액의 경우는 SBC 10이 40.3%로 SBC 0 (34.0%)보다 약 1.2배가 증가됨을 알 수 있었다. 따라서 항산화 활성 결과와 유사하게 SBC 첨가량이 증가함에 따라 높아지는 경향이었다. 한편 Kwak 등(36)에 의하면 치자 추출물의 tyrosinase 저해 효과가 물 추출의 경우 62.7%, 에탄올 추출의 경우 81.5%를 나타냈는데 본 연구의 결과는 치자 추출물보다 낮은 수준이었으나 20배 희석 용액의 경우가 54.4-60.2% 수준으로 치자 추출물의 저해 활성도에 근접함을 알 수 있었다. 또한 Hwang 등(39)이 보고한 앵두 과즙의 tyrosinase 활성 저해 효과가 10 및 20% 과즙에서 각각 34.2 및 52.1%이었는데 SBC 첨가 고추장 추출물의 경우 20배 희석 용액의 경우가 약간 높음을 알 수 있었다. 따라서 희석 수준에 따라 각기 다른 결과를 나타내었지만 SBC 첨가 고추장에도 이러한 미백 효과 등의 기능성을 가진 tyrosinase 저해 능력이 있음을 확인하였다.

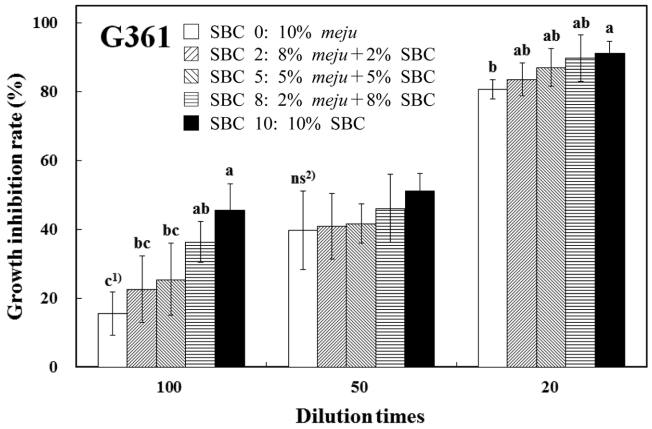

Fig. 5. Effect of SBC *gochujang* on growth inhibition of G361 (melanoma). [1)]a-c: Means with the same letter superscript in histograms are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test, [2)]ns: not significant.

암세포 증식 억제 효과

암세포의 생성은 돌연 변이가 중요한 요인으로 작용하며 대부분의 발암 물질은 돌연 변이원을 가지고 있다. 즉, 이러한 항돌연변이원성을 가진 물질이 항암 효과를 가질 수 있는데(40), 이러한 효과를 SBC 첨가 고추장에서 검증하고자 하였다. 따라서 SBC 첨가 고추장을 농도별로 4종 암세포(A549 (Lung cancer), G361 (Melanoma), HT-29 (Colon cancer), MDA-MB-231 (Breast cancer))에 투여한 후 암세포주의 증식 억제 효과를 관찰한 결과는 Fig. 4, 5, 6 및 7에 나타내었다.

A549 세포(폐암세포)의 증식 억제 효과는 SBC 첨가량의 증가와 추출물의 농도가 높을수록 증식 억제 효과가 높아졌다. SBC 첨가 효과를 보면 메주로 담금한 SBC 0 고추장보다 SBC 2, 5, 8 및 10 고추장의 순서로 억제율 차이를 보였으며(p<0.05), 억제 효과가 가장 현저한 유의성을 보인 결과는 50배였다. 50배 희석 용액의 경우, SBC 0, 2, 5, 8 및 10 고추장의 폐암세포 증식 억제율이 각각 22.2, 37.6, 40.4, 50.6 및 62.4%로 SBC 함량 증가에 따라 뚜렷한 유의성을 나타냈으며(p<0.05), SBC 10 고추장이 SBC 0 고추장보다 약 2.8배 높은 것으로 나타났다. Ham 등(16)에 따르면 해양 심층수염 및 다시다 분말을 첨가한 고추장의 폐암세포 증식 억제율이 1 mg/mL 농도 수준에서 77.7%를 나타내어 다른 암세포에 비해 높은 억제율을 나타내었다 하였고, Song 등(8)은 마늘죽 첨가 고추장이 폐암세포에 대한 성장 억제 효과가 49.7%이었다 보고한 바 있다. 따라서 이러한 결과를 종합해보면 대두 대신 작두콩을 사용하여 고추장을 제조할 경우, 탁월한 폐암세포 증식 억제 효과가 있는 것으로 판단된다.

G361 세포(피부암세포)의 증식 억제 효과는 추출물의 농도가 높을수록 높았고, SBC의 첨가량 증가에 따라 높아져 메주로 담근 SBC 0 고추장 보다 SBC 2<5<8<10 고추장 추출물의 순으로 억제율의 차이를 보여주었으며, 억제 효과가 가장 우수한 희석 배수는 20배였다. 20배 희석 용액의 경우, SBC 0, 2, 5, 8 및 10 고추장의 피부암세포 증식 억제율이 각각 80.6, 83.5, 87.0, 89.8 및 91.1%로 SBC 첨가량 증가에 따라 유의적인 증가를 보였으며(p<0.05), SBC 0 고추장보다 SBC 10 고추장의 억제율이 약 1.1배 정도 높아졌다. 이는 An 등(41)이 보고한 진달래꽃 추출물(1000 ppm)의 피부암세포 증식 억제율이 51.4-55.3%라 하였던 결과보다도 SBC 첨가 고추장의 50배 희석 경우가 약간 낮았으나 20배 희석의 경우 83.5-91.1%로 더 높은 억제력을 나타내었다.

HT-29 세포(대장암세포)의 증식 억제 효과는 추출물의 농도가 높을수록, 즉 희석 배수 100<50<20배 순으로 높았고, SBC의 첨가량 증가에 따라 높았다. 이와 같은 억제 효과가 현저한 유의성을 보인 결과는 100배 희석 용액이었고, 100배 희석 농도의 SBC

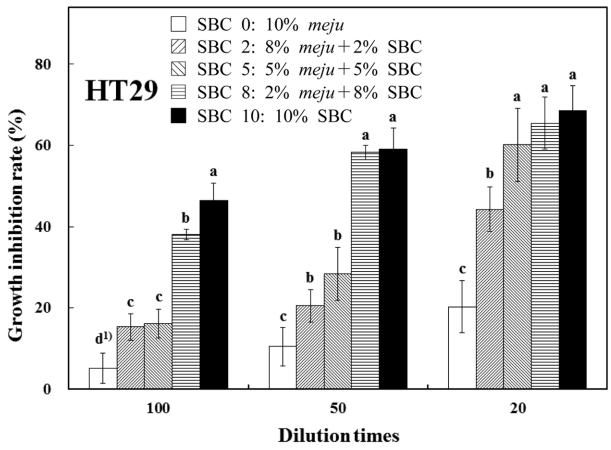

Fig. 6. Effect of SBC *gochujang* on growth inhibition of HT-29 (colon cancer). [1)]a-d: Means with the same letter superscript in histograms are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

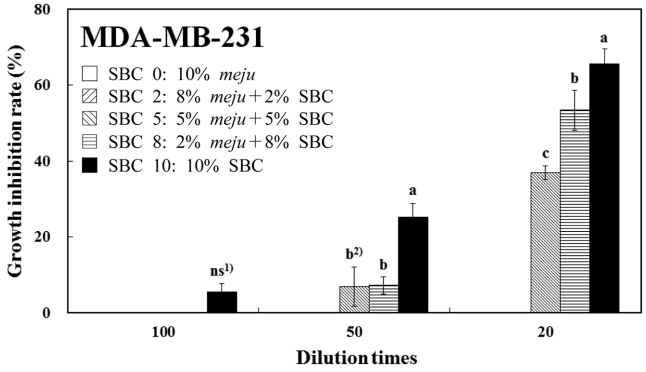

Fig. 7. Effect of SBC *gochujang* on growth inhibition of MDA-MB-231 (breast cancer). [1)]ns: not significant, [2)]a-c: Means with the same letter superscript in histograms are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

0, 2, 5, 8 및 10 고추장의 증식 억제율은 각각 5.2, 15.4, 16.2, 38.0 및 46.4%로 첨가량 증가에 따라 뚜렷한 유의성을 나타내는 경향이었다($p<0.05$). 따라서 SBC 10 고추장의 증식 억제 정도가 SBC 0 고추장보다 약 8.9배 높은 것으로 나타나 작두콩 청국장으로 담근 고추장이 대장암세포의 증식 억제에 탁월한 효과가 있음을 확인하였다. Song 등(8)에 따르면 시판 일반 고추장 및 생마늘 첨가 고추장과 마늘죽 첨가 고추장의 대장암세포 억제 효과가 각각 33.7, 35.3 및 45.7%으로 나타나 마늘죽 첨가 고추장의 경우가 가장 높게 나타났다 하였으며, Kong 등(13)은 푸코이단 첨가 고추장의 대장암세포 항암 효과가 3 및 5% 첨가량에 따라 1, 2, 4 및 5 mg/mL 농도에서 각각 5, 13, 55 및 67%와 16, 43, 64 및 70%의 수준 이었다 보고한바 있어 본 연구의 작두콩 청국장 첨가 고추장에도 이러한 대장암세포 증식 억제 효과가 탁월한 수준인 것으로 판단되었다.

MDA-MB-231 세포(유선암세포)의 증식 억제 효과는 SBC 첨가량이 5% 이상인 SBC 5, 8 및 10 고추장에서 억제 효과가 나타났으며, 추출물의 농도가 증가할수록 억제 효과가 높았다. 이외에 SBC 첨가량이 5% 미만인 SBC 0 및 2 고추장의 경우, 유선암세포주의 증식 억제 효과가 나타나지 않았다. 따라서 SBC 5<8<10 고추장 순으로 증가하는 경향이었고, 억제 효과가 우수한 희석 배수는 20배였다. SBC 5, 8 및 10 고추장의 증식 억제율은 50배 희석 용액의 경우, 각각 6.9, 7.2 및 25.3%로 SBC 10 고추장의 경우가 SBC 5 고추장보다 억제율의 차이가 약 3.7배 높았고, 20배 희석 용액의 경우는 50배 희석 용액보다도 훨씬 증가하여 각각 36.9, 53.4 및 65.6%로 유의성을 나타냈고($p<0.05$), 각각 5.4, 7.4 및 2.6배 높게 나타났다. Jang(42)에 따르면 MDA-MB-231 유선암 세포주에 대한 청국장 물 추출물의 증식 억제 능력이 500 및 2000 ppm에서 각각 11.9 및 18.7%이었던 결과보다 SBC 첨가 고추장의 경우가 100배 희석 용액은 SBC 10 고추장, 50배 희석 용액은 SBC 5, 8 및 10 고추장이 더 탁월한 효과가 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합하면 SBC의 첨가가 4종의 A549, G361, HT-29 및 MDA-MB-231 암세포의 증식을 억제하는 것으로 나타났고, 특히 MDA-MB-231에 SBC 첨가와 더불어 첨가량 증가가 선택적으로 작용하는 특징을 보였다. Tiisala 등(43)은 콩에 함유되어 있는 isoflavone 성분이 유방암과 난소암의 증식을 억제 한다 보고한바 있어, 작두콩에 함유되어있는 isoflavone류가 증가함에 따라 작두콩에 함유되어 있는 여러 성분들과 함께 상승 요인으로 작용하여 첨가량이 증가함에 따라 암세포 증식 억제 효과가 나타낸 것으로 판단된다. 이와 같이 SBC 첨가로 인한 암세포 증식 억제 효과가 나타나고 있는 것에 대하여 그 성분을 동정·분리하고 동물 및 임상 실험을 통해 유효 성분에 대한 기능성 확인 연구가 추가적으로 진행되어야 할 것이라 생각되었다.

요 약

본 연구는 고추장을 제조할 때 품질 향상 및 기능성을 부여하기 위한 방법으로서 생리 활성 기능이 높다고 알려진 작두콩으로 제조한 청국장 분말을 메주 대신 사용하여 그 첨가량을 0, 2, 5, 8 및 10%로 하여 고추장을 제조한 후, 90일 숙성된 고추장에 대해 생리 활성 그리고 *in vitro*에서 A549, G361, HT-29 및 MDA-MB-231 등 4종의 암세포에 대한 증식 억제 효과를 조사한 결과는 다음과 같다. 항산화 활성은 50배 희석 수준의 경우, SBC 10 고추장이 85.5%로 SBC 0 고추장(68.4%)보다 약 1.2배 증가되었으며, SBC 첨가량이 많을수록 증가되었다. Tyrosinase 저해 효과는 100배 희석 수준에서 SBC 10 고추장이 40.3%로 SBC 0 고추장(34.0%)보다 약 1.1배 증가되었다. 암세포주인 A549, G361, HT-29 및 MDA-MB-231에 대한 SBC 0, 2, 5, 8 및 10 고추장의 증식 억제 효과는 농도가 높을수록 억제 효과가 우수하였다. A549 폐암세포 증식 억제 효과는 50배 희석 용액 기준에서 SBC 0보다 SBC 10의 억제율이 2.8배 높았다. G361 피부암세포 증식 억제 효과는 20배 희석 용액 기준에서 SBC 0보다 SBC 10의 억제율이 1.1배 높았다. HT-29 대장암세포 증식 억제 효과는 100배 희석 용액 기준에서 SBC 0보다 SBC 10의 억제율이 8.9배 높았다. MDA-MB-231 유선암세포 증식 억제 효과는 20배 희석 용액 기준에서 SBC 5보다 SBC 10의 억제율이 3.7배 높았다. 이상의 결과를 종합하면 고추장 제조 과정 중 작두콩 청국장의 첨가 효과는 항산화 및 tyrosinase 저해 효과의 생리 활성 증진과 인간 암세포주의 증식 억제 등 다양한 기능성을 향상시킴을 확인하였다.

문 헌

1. Chang MI, Kim JY, Kim SJ, Baek SH. Effect of sword bean *chueonggukjang* addition on quality of *gochujang*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 1292-1299 (2011)
2. Kim DH, Choi HJ. Physicochemical properties of *gochujang* pre-

pared by *Bacillus* sp. *koji*. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 1174-1181 (2003)
3. Lim SI, Choi SY, Cho GH. Effects of functional ingredients addition on quality characteristics of *gochujang*. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 779-784 (2006)
4. Na SE, Seo KS, Choi JH, Song GS, Choi DS. 1997. Preparation of low salt and functional *gochujang* containing chitosan. Korean J. Food Nutr. 10: 193-200 (1997)
5. Chung SH, Suh HJ, Choi YM, Noh DO, Bae SH. Enzyme activities and inhibitory effect on angiotensin converting enzyme of *Monascus-koji* for the *gochujang* production. Food Sci. Biotechnol. 8: 179-183 (1999)
6. Kim YS, Park YS, Lim MH. Antimicrobial activity of *Prunus* mume and *Schizandra* chinenis H-20 extracts and their effects on quality of functional *gochujang*. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 893-897 (2003)
7. Lee SJ, Kim SJ, Han MS, Chang KS. Changes of rutin and quercetin in commercial *gochujang* prepared with buckwheat flour during fermentation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 34: 509-512 (2005)
8. Song HS, Kim YM, Lee KT. Antioxidant and anticancer activities of traditional *gochujang* added with garlic porridge. J. Life Sci. 18: 1140-1146 (2008)
9. Choo JJ. Anti-obesity effects of *gochujang* in rats fed on a high-fat diet. Korean J. Nutr. 33: 787-793 (2000)
10. Rhee SH, Kong KR, Jung KO, Park KY. Decreasing effect of *gochujang* on body weight and lipid levels of adipose tissues and serum in rats fed a high-fat diet. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 882-886 (2003)
11. Kim SJ, Jung KO. In vitro anticancer effect of *gochujang* (Korean red pepper soybean paste) and its ingredients in AGS human gastric cancer cells. Cancer Prevent. Res. 9: 42-48 (2004)
12. Kong CS, Kim SO, Jung KO, Kil JH, Rhee SH, Han MS, Park KY. Increased anticancer effect of *gochujang* (Korean red pepper soybean paste) prepared with garlic powder dried with different methods. Cancer Prevent. Res. 10: 128-133 (2005)
13. Kong CS, Jung HK, Kim SO, Rhee SH, Han MS, Park KY. *In vitro* anticancer effect of fucoidan and fucoidan added *gochujang* (Korean red pepper soybean paste). Cancer Prevent. Res. 10: 264-269 (2005)
14. Kim JY, Park KW, Yang HS, Cho YS, Jeong CH, Shim KH, Yee ST, Seo KI. Anticancer and immuno-activity of methanol extract from onion *gochujang*. Korean J. Food Preserv. 12: 173-178 (2005)
15. Park KY, Jung KO, Rhee SH, Choi YH. Antimutagenic effects of *doenjang* (Korean fermented soypaste) and its active compounds. Mutat. Res. 523-524: 43-53 (2003)
16. Ham SS, Choi HJ, Kim SH, Oh HT, Chung MJ. Antimutagenic and cytotoxic effects of *gochujang* extracts added deep sea water salt and sea tangle. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 37: 410-415 (2008)
17. Cho YS, Seo KI, Shim KH. Antimicrobial activities of Korean sword bean (*Canavalia gladiata*) extracts. Korean J. Food Preserv. 7: 113-116 (2000)
18. Kim CM, Shin MG, Ahn DG, Lee KS. Great Dictionary of Chinese Medicinal Plant. Jungdam Press, Seoul, Korea. pp. 1029-1032 (1997)
19. Lee SJ. Bonchogangmok. Eusungdang Press, Seoul, Korea. p. 585 (1994)
20. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)
21. Kim SD, Do JH, Oh HI. Antioxidant activity of *Panax ginseng* browning products. J. Korean Agric. Chem. Soc. 24: 161-166 (1981)
22. Yagi K. Lipid peroxide and human disease. Chem. Phys. Lipids 45: 337-351 (1987)
23. Charmichael J, Degraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Michell JB. Evaluation of tetrazolium based semiautomated colorimetric assay, assessment of chemosensitivity testing. Cancer Res. 47: 963 (1987)
24. Wiseman H. Dietary influences on membrane function: Importance in protection against oxidative damage and disease. J. Nutr. Biochem. 7: 2-6 (1996)
25. Kim SJ, Kim GH. Quantification of quercetin in different parts of onion and its DPPH radical scavenging and antibacterial activity. Food Sci. Biotechnol. 15: 39-43 (2006)
26. Lee KM, Jeong GT, Park DH. Study of antimicrobial and DPPH radical Scavenger activity of wood vinegar. J. Biotechnol. Bioeng. 19: 381-384 (2004)
27. Lee DJ, Lee JY. Antioxidant activity by DPPH assay. Korean J. Medicinal Crop Sci. 12: 187-194 (2004)
28. Choi JS, Oh JI, Hwang IT, Kim SE, Chen JC, Lee BH, Kim JS, Kim TJ, Cho KY. Application and high Throughput screening of DPPH free radical scavenging activity by using 96-well plate. Korean J. Pesticide Sci. 7: 92-99 (2003)
29. Kim US, Kim JY, Kim SJ, Moon KH, Baek SH. Isoflavonoid contents, antibacterial activities, and physiological activities of *cheonggukjang* made from sword bean. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 174-181 (2012)
30. Natella F, Nardini M, Felice MD, Scaccini C. Benzoic acid and cinnamic acid derivatives as antioxidants: Structure-activity relation. J. Agr. Food Chem. 47: 1453-1459 (1999)
31. Kweon MH, Hwang HJ, Sung HC. Identification and antioxidant of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). J. Agr. Food Chem 49: 4646-4655 (2001)
32. Moon GS, Cheigh HS. Antioxidative effect of soybean sauce on the lipid oxidation of cooked meat. Korean J. Food Sci. Technol. 18: 313-318 (1986)
33. Lerner AB, Fitzpatrick TB. Biochemistry of melanin formation. Physiol. Rev. 30: 91-126 (1950)
34. Bell AA, Weeler MH. Biosynthesis and function of fungal melanin. Ann. Rev. Phytophathol. 24: 411-451 (1986)
35. Chen JS, Wei CI, Marshall MR. Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidase. J. Agr. Food Chem. 39: 1897-1901 (1991)
36. Kwak JH, Chang HR, Park CW, Han YH. Inhibitory effect of gardenia fruit extracts on tyrosinase activity and melanogenesis. Korean J. Biotechnol Bioeng. 19: 437-440 (2004)
37. Sung KC, Kim KJ. Tyrosinase activated inhibition effect and analysis of pine-needles extract. J. Korean Oil Chem. Soc. 22: 71-76 (2005)
38. Hwang SW, Lee J, Kwon HS, Lee KD, Nam SH, Park KH, Yang MS. Comparison of tyrosinase inhibitory effect of the natural antioxidants from *Cedrela sinensis*. Agric. Chem. Biotechnol. 48: 144-147 (2005)
39. Hwang HS, Kim JM, Song YA, Jeon YJ. Inhibitory effect of ethanol extracts and juice of the Korean cherry (*Prunus tomentosa* Thunberg) on tyrosinase activity *in vivo*. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 760-763 (2001)
40. Lee HJ, Cui HT, Kim SH, Ham YA, Lee DS, Ham SS. Biological activities of the vaporized liquid of water boiled pine needle. Korean J. Food Preserv. 12: 179-183 (2005)
41. An BJ, Lee CE, Son JH, Lee JY. Antioxidant, anticancer and tyrosinase inhibition activities of extracts from Rhododendrom mucronulantum T. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem 48: 280-284 (2005)
42. Jang YM. Research on Quality improvement of *cheonggukjang* (fermented soybean pastes) by *Bacillus subtilis.* PhD thesis, Sungshin Women's University, Seoul, Korea (2004)
43. Tiisala S, Majuri ML, Carpen O, Renkonen R. Genistein enhances the ICAM-1 and its counter-receptors. Biochim. Bioph. Res. Co. 203: 443-449 (1994)