

콩 발효 식품(청국장, 물두시, 낫또)의 특성, *In Vitro* 항돌연변이 및 항암 효과

— 연구노트 —

조 혼¹ · 주재현² · 박건영^{1,2}

¹충칭제2사범대학교 충칭시기능성식품협동혁신센터

²차의과대학교 식품생명공학과

Comparisons of Properties, *In Vitro* Anti-Mutagenicity, and Anti-Cancer Effects of Short-Term Fermented Soybean Foods (Chungkukjang, Shuidouchi, and Natto)

Xin Zhao¹, Jaehyun Ju², and Kun-Young Park^{1,2}

¹Chongqing Collaborative Innovation Center of Functional Food, Chongqing University of Education

²Department of Food Science and Biotechnology, Cha University

ABSTRACT The general characteristics, anti-mutagenicity, and *in vitro* anti-cancer effects of Chungkukjang, Shuidouchi, and Natto were studied. Representative brands of the three types of soybean-based short-term-fermented foods were chosen and evaluated. Chungkukjang showed the highest amino and ammonia type nitrogen contents, although Natto exhibited lower levels, and Shuidouchi showed the lowest pH and high acidity. Anti-mutagenicity was assessed by the Ames test and *in vitro* anti-cancer effects were assessed in HT-29 human colon cancer cells. Chungkukjang exhibited the highest anti-mutagenicity and anti-cancer effects. Based on these results, Chungkukjang showed the best functional effects, and Shuidouchi showed better functional effects than Natto. Even if such efficacies depend on raw materials and processing methods, our comparison of three types of foods from representative brands shows that Chungkukjang was the best soybean-derived product in terms of overall quality, followed by Shuidouchi and Natto. These results might be due to differences in duration of fermentation, processing method, and quality of raw materials, but further research on the basis of ethnic culture and administration method of each nation should follow.

Key words: Chungkukjang, Shuidouchi, Natto, anti-mutagenicity, anti-cancer

서 론

한국 장류식품의 기원에 대한 기록은 삼국사기에 “통일 신라 초기에 간장과 된장을 담아 식용했다”라고 기록되어 있으며(1,2), 이와 비슷한 시기에 청국장이 만들어졌을 것으로 추측되고 있다. 청국장은 고구려의 옛 영토인 지금의 만주지방에서 기마민족들이 단백질을 쉽게 섭취할 수 있도록 한 것으로 콩을 삶아서 말안장 밑에 넣고 말의 체온(37~40 °C)에 의하여 자연발효된 것으로 시(豉)라고 불렸으며, 이것이 한반도로 전파되어 서민의 단백질 공급원이자 왕가의 음식으로 이용되었다(3). 홍만선(洪萬選)의 산림경제(山林經濟)에는 전국장(戰國醬, 청국장)의 제조법이 소개되어 있으며, 1760년 유중임(柳重臨)의 증보산림경제(增補山林經濟)에는 “전국장제법(戰國醬製法)”에서 「대두(大豆)를 잘 씻고 삶아서 고석(藁席)에 싸서 따뜻하게 3일간을 두면 생사

(生絲)한다」라고 하였다. 이러한 청국장은 한국뿐 아니라 실크로드를 따라 네팔, 태국, 인도네시아, 부탄, 아프리카까지 전파되었으며, 특히 중국에서는 ‘물두시’, 일본에서는 ‘낫또(納豆)’라는 이름으로 불리고 있다(4).

물두시는 콩을 발효시켜 만든 한국의 청국장과 비슷한 식품으로 중국의 전통 발효식품이다(5). 두시(豆豉)는 검정콩, 노란콩을 원료로 하여 미생물 발효를 이용한 것으로 예로부터 유숙(幽菽)이라고 하였으며, 여기서 “숙(菽)”은 대두를 뜻하고 “유(幽)”는 대두를 쪄 후 발효되는 것을 의미한다(6). 진나라 때에 이르러 이를 “두시”라고 바꿔 말하기 시작하였으며 한대에 이르러 상당한 발전을 이루게 되었고 고대 중국에서부터 약용식품으로 이용되었다(7). 실제 두시는 중국의 의학학 분야에서 중약(中藥)으로 쓰이고 있으며, 중국 보건부(한국의 보건복지부에 해당)에서 정한 최초의 약용검 식용 제품으로 다량의 단백질과 여러 종류의 아미노산, 젖산, 인, 마그네슘, 칼슘 및 여러 가지 비타민과 광물질 등이 함유되어 있다. 두시는 소화를 돕고, 질병을 예방하며, 노화를 방지하고, 사고력을 향상시키고, 간의 해독기능을 강화하며, 고혈압을 방지하고, 피로를 풀어주며, 암을 예방할 수 있고, 숙취 해소 및 통증을 완화시킨다고 알려져 있다(5).

Received 21 June 2017; Accepted 30 August 2017

Corresponding author: Kun-Young Park, Department of Food Science and Biotechnology, Cha University, Seongnam, Gyeonggi 13488, Korea

E-mail: kunypark@cha.ac.kr, Phone: +82-31-881-7159

한편 낫또는 일본의 20세기 초반 이후부터 꾸준히 연구가 이루어져 온 전통식품으로서, 작은 콩(지름 5.5mm 이하)을 골라 침지(콩 부피의 2.2~2.7배 분량의 10°C 물에 10~12시간 담금)와 증자(1.5kg/cm² 하에서 20분)를 거친 후 *Bacillus natto*를 10³ CFU/g 분량으로 접종한 채로 포장용기에 담아 40°C 하에서 16~18시간 발효시킨 이토히키낫또(糸引納豆)와 대두에 식염을 첨가하여 만든 지낫또(寺納豆)로 나뉜다(8,9). 전통적인 제법 하에서는 썬 대두를 벗긴(낫또균이 부착되어 있는 것으로 알려져 있음)에 감싸서 눈 속에 묻어두거나 집 속의 따뜻한 곳에 보존하여 장시간 발효함으로써 제조하였으며, 현재는 순수배양을 통해 얻어진 낫또균을 갖 썬 콩 위에 분사하여 발효를 유도함으로써 제조하였다(9). 실제 낫또를 제조하는 과정에서 단백질 펩타이드와 아미노산의 변화에 대한 연구가 보고됨과 아울러 그 발효과정에서 생성되는 효소 중 혈전증을 예방이나 치료할 수 있는 낫또키나제(nattokinase)가 발견되기도 했으며, Ehrlich 암세포를 피하주사로 이식한 마우스 모델에 낫또를 주입하였을 때 마우스의 생육에는 해를 입히지 않으면서도 암종이 작아지거나 소멸한 것이 확인되기도 했다(8-10). 따라서 본 연구에서는 한-중-일 3개국의 주요 단기 콩발효식품인 한국의 청국장, 중국의 물두시와 일본의 낫또의 이화학적 특성, 항돌연변이 효과와 항암 기능성을 비교 연구하였다.

재료 및 방법

한국, 중국, 일본의 콩발효 상품

청국장, 물두시와 낫또는 각각 국가의 대표적인 상품을 선택하여 연구하였다. 한국 청국장은 순창 문옥례 청국장(문옥례식품, 전라북도 순창군)을 사용하였고, 중국 물두시는 Tanyutou 물두시(Sichuan Tanyutou Food and Alcohol Ltd., Chengdu, Sichuan, China)를, 낫또는 Okame 낫또(Takano Foods Co., Ltd., Omitama, Ibaraki, Japan)를 사용하였다. 청국장, 물두시와 낫또를 달리하여 만든 시료를 동결건조 시킨 후 마쇄하여 시료에 20배(w)의 메탄올을 첨가하여 12시간 교반을 3회 반복한 다음 여과하여 회전식 진공농축기(EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축하여 메탄올 추출물을 얻었다.

pH 및 산도

시료를 10배 희석하여 pH meter(Corning 220, Corning, Tewksbury, MA, USA)로 측정하였다. 산도는 시료의 여과액 20 mL를 취하여 pH 8.3이 될 때까지 소요되는 0.1 N NaOH의 양(mL)으로써 표현하였으며, 다음의 식을 사용하였다(8). 산도=(mL of 0.1 N NaOH×0.1×희석배율×0.09)/샘플 무게(g)×100.

아미노태 질소(NH₂-N) 측정

아미노태 질소 함량은 formol법으로 측정하였다. 즉 시료

2 g에 증류수 100 mL를 가하여 1시간 동안 상온에서 교반한 후 중성 formalin(pH 8.4) 용액 20 mL를 가한 다음, pH 8.4가 될 때까지의 0.1 N-NaOH로 적정하여 적정 mL 수를 측정하여 아미노태 질소의 함량을 측정하였다(11).

암모니아태 질소(NH₃-N) 측정

증류수를 가하여 청국장을 5배 희석, 진탕 추출 후 여과하여 여과한 여액을 AM505-K(Asan Pharmaceutical, Hwaseong, Korea)에 의한 Indophenol법으로 측정하였다(11).

항돌연변이 실험

청국장, 물두시와 낫또의 추출물들은 증류수(또는 dimethyl sulfoxide, DMSO)에 희석하여 Preincubation test에 사용하였다(12). S9 mix 0.5 mL(간접돌연변이인 경우), phosphate buffer, 하룻밤 배양된 균주(1~2×10⁹ cells/mL, *Salmonella* Typhimurium LT-2 histidine 영양요구성인 *Salmonella* Typhimurium TA100) 0.1 mL, 희석된 시료(50 μL)와 돌연변이 유발물질[aflatoxin B1(afb1)이나 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine(MNNG), 50 μL]을 ice bath에 담긴 cap tube에 넣고 가볍게 vortex 한 후 37°C에서 30분간 예비 배양하였다. 45°C의 top agar 2 mL씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex 하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 숫자를 계수하였다. 한편 실험에 사용된 시료와 돌연변이 유발물질의 농도는 예비실험(dose response 및 독성 실험)을 통하여 결정하였다. 돌연변이 억제효과의 정도(inhibition rate)는 아래 식에 의해 계산하였다. 억제율(%)=100×[(a-b)/(a-c)], a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연 복귀돌연변이의 개수임(5).

In vitro 항암실험

암세포(AGS 인체 위암 세포와 HT-29 인체 결장암 세포로서 모두 한국세포주은행으로부터 분양받음)는 100 units/mL의 penicillin-streptomycin과 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 주 2~3회 refeeding 하고 6~7일 간격으로 계대배양을 거쳤는데, flask 상에 증만해진 세포를 PBS로 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하여 원심분리(314×g, 3 min)로 침전시킨 암세포에 배지를 넣고 파이펫으로 현탁액(suspension)을 만들어 75 mL cell culture flask에 10 mL씩 일정 수 분할하여 주입함으로써 계대배양을 진행하면서 실험에 사용하였다. 이렇게 배양된 암세포는 96-well plate에 well당 2×10⁴ cells/mL가 되도록 180 μL씩 분주하고 청국장, 물두시와 낫또의 추출물을 일정농도로 제조하여 20 μL 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 72시간 배양하였다. 여기에 5 mg/mL의 농도로

phosphate-buffered saline(PBS)에 배합한 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 용액 20 μ L를 첨가하여 동일한 배양 조건에서 4시간 동안 더 배양하였다(13). 이때 생성된 formazan 결정을 DMSO에 녹여서 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 ANOVA를 구한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계 분석 하였다.

결과 및 고찰

청국장, 물두시와 낫또의 일반적인 특성

Fig. 1에는 청국장, 물두시와 낫또의 외관이 나타나 있다. 청국장의 경우 제조 과정에서 일부 으깨진 콩알이 발효과정에서 연한 갈색으로 바뀐 모습이 보인다. 물두시의 경우 콩알이 온전한 상태를 유지하면서 발효를 거치면서 황색으로 바뀐 모습이 보인다. 또한, 낫또의 경우 물두시처럼 콩알이 온전하게 유지되어 있으나 발효과정에서 표면에 생성된 실 모양의 끈적한 점액질 물질이 보인다.

생청국장은 잘 익은 배추김치나 백김치·상추 등에 싸 먹거나 구운 김에 싸서 진간장에 살짝 찍어 먹기도 한다. 한국의 청국장은 찌개를 끓이거나 나물을 무쳐먹기도 한다. 이외에도 청국장은 양념장이나 샐러드 소스로 활용할 수 있다. 물두시는 마유 혹은 기타 보조 재료를 섞어 밥과 함께 먹기도 하고 “마파두부”, “두시어”, “두시증 갈비” 등의 중국요리에 광범위하게 사용되고 있다(14). 물두시도 반찬으로 직접 먹기도 한다. 물두시는 먹기가 좋고 휴대가 간편해 여행, 출장, 야외작업 시 간편하게 휴대해 먹을 수 있다. 낫또를

먹는 전형적인 방법은 흰 쌀밥 위에 낫또를 얹어 같이 먹는 것이다. 일반적으로 상용화된 낫또는 거의 낫또+소유(醬油; 일본식 간장)+와카라시(和辛; 겨자)의 형태로 되어 있고 제조사에 따라서 무를 채로 간 것(다이콩 오로시)을 판매하기도 한다(15). 개인의 기호에 따라서 생계란을 같이 비벼서 먹기도 한다.

이화학적 특성

일본 낫또와 중국 두시의 발효 방법과 성분을 비교하였고 두시의 기능성 성분 함량이 낫또의 함량보다 높았다(16). 한국, 중국, 일본의 전통 대두 발효식품의 발효특성을 비교하여 Table 1에 나타내었다. 단기 콩 발효 식품인 청국장, 물두시와 낫또는 pH 6.29~7.00, 산도 0.52~1.63%로 비슷한 양상을 보였다. 특히 물두시는 pH 6.29로 다른 시료에 비해 낮았으며, 산도도 1.63%로 나타나 다른 시료보다 높았다. 아미노태 질소, 암모니아태 질소 함량의 경우 청국장이 각각 1,905.68 \pm 47.35 mg%, 118.30 \pm 7.39 μ g/dL로 가장 높은 수치를 나타내었다. 낫또는 발효기간이 짧아 발효 관련 인자들의 함량이 낮다. pH와 산도는 발효 전 기간 동안 미생물의 생존에 영향을 미치는 인자이며, 특히 산도가 높을수록 미생물의 생존에 불리한 영향을 미친다(17). 아미노태 질소는 단기간 콩 발효식품에 신선한 맛을 부여하는 물질로써 발효 과정에서 발생한다(18). 암모니아태 질소는 특별한 향미를 부여하는 물질로써 품질에 영향을 미칠 수 있다(19).

항돌연변이 효과

청국장, 물두시, 낫또의 메탄올 추출물로 Ames test를 실시하여 간접돌연변이원인 ABF₁에 대한 항돌연변이 효과를 비교하였다(Table 2). 1.25 mg/plate 농도에서는 청국장과 물두시는 각각 47%와 38%로 효과가 높게 나타났으며, 낫또는 27%로 가장 낮은 항돌연변이 효과를 보였다. 높은



Fig. 1. The exterior of 3 different kinds of soybean fermented products.

Table 1. pH, acidity, amino type nitrogens, and ammonia type nitrogens of 3 different kinds of soybean fermented products

Sample	pH	Acidity (%)	NH ₂ -N (mg%)	NH ₃ -N (μ g/dL)
Chungkukjang	6.78 \pm 0.01 ^b	1.00 \pm 0.01 ^b	1,905.68 \pm 47.35 ^a	118.30 \pm 7.39 ^a
Shuidouchi	6.29 \pm 0.02 ^c	1.63 \pm 0.01 ^a	1,528.71 \pm 39.78 ^b	84.32 \pm 8.82 ^b
Natto	7.00 \pm 0.02 ^a	0.52 \pm 0.01 ^c	778.25 \pm 38.97 ^c	22.35 \pm 4.65 ^c

Means with the different letters (a-c) in the same column are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 2. Effect of methanol extracts from 3 different kinds of soybean fermented products on the mutagenicity induced by aflatoxin B1 (AFB₁, 0.4 µg/plate) and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.4 µg/plate) in *Salmonella* Typhimurium TA100

Treatment (level of sample, mg/plate)	Revertants/plate (ABF ₁)		Revertants/plate (MNNG)	
	1.25	2.5	1.25	2.5
Spontaneous Control	97±12 1,118±65 ^a		44±3 835±36 ^a	
Chungkukjang	641±10 ^d (47) ¹⁾	466±22 ^d (64)	384±22 ^d (57)	316±11 ^c (66)
Shuidouchi	735±49 ^c (38)	497±18 ^c (61)	438±12 ^c (50)	338±16 ^c (63)
Natto	847±46 ^b (27)	559±14 ^b (55)	472±26 ^b (46)	359±10 ^b (60)

¹⁾Values in parentheses are the inhibition rates (%).

Means with the different letters (a-d) in the same column are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

농도(2.5 mg/plate)에서 모든 시료는 50% 이상의 높은 항돌연변이 효과를 나타냈으며, 특히 청국장(64%)의 돌연변이 유발 억제효과가 가장 크게 나타내었으며 물두시의 경우 61%, 낫또의 경우 55%로 나타나 시료 간에 유의적인 차이를 보였다($P<0.05$).

자연 발효한 물두시와 청국장의 항돌연변이 *in vitro* 효과가 좋게 나왔고(5,20), 또한 물두시의 항돌연변이 효과는 낫또보다 조금 좋게 나타났다(21). 직접 돌연변이원인 MNNG를 이용하여 Ames test를 한 결과, 1.25 mg/plate 농도에서 모든 시료는 돌연변이 억제율이 50% 전후로 높은 효과를 나타내었으며 청국장과 물두시는 57%와 50%, 낫또는 46%의 항돌연변이 효과를 나타내었다($P<0.05$). 높은 농도(2.5 mg/plate)에서도 낮은 농도에서와 비슷한 양상의 결과를 볼 수 있었으며 청국장과 물두시가 66%와 63%의 항돌연변이 효과를 보였고, 낫또가 60%의 항돌연변이 효과를 보였다. 따라서 3가지 대두발효식품 중에서 청국장의 돌연변이 유발 저해 효과가 가장 높았으며($P<0.05$), 물두시의 항돌연변이 효과도 높다는 것을 알 수 있었다. AFB₁과 MNNG가 전형적인 돌연변이물질이자 발암물질이고 이 두 가지 물질을 이용해 TA100의 돌연변이 유도 억제효능을 검증함으로써 항돌연변이 효과를 판정할 수 있으며, 궁극적으로는 본 실험계에서 이들의 돌연변이 억제효과는 암 예방의 가능성을 제시한 것으로 볼 수 있겠다(22).

In vitro 항암 효과

청국장, 물두시, 낫또의 암세포 성장 억제 효과 정도를 비교해 보고자 AGS 인체 위암세포와 HT-29 인체 결장암 세포를 이용하였다(Table 3). AGS 위암 세포에 시료를 2

mg/mL의 농도로 처리한 결과 물두시와 청국장이 12%, 낫또가 2%의 저해율을 보였다($P<0.05$). 4 mg/mL 하에서는 물두시가 77%, 청국장이 75%의 높은 저해율을 보였지만, 낫또는 11%의 저해율을 보였다. HT-29 인체 결장암세포에 처리한 결과 AGS 인체 위암세포를 이용하여 실험한 결과와 비슷한 경향을 보였다. 시료를 2 mg/mL의 농도로 처리한 결과 청국장이 15%로 가장 높은 저해율을 보였고, 물두시가 5%, 낫또가 3%의 저해율을 보였다($P<0.05$). 4 mg/mL 농도에서도 비슷한 경향을 볼 수 있었으며, 청국장이 76%로 가장 높은 저해율을 보인 반면에 물두시가 27%, 낫또가 15%로 낮은 저해율을 보였다($P<0.05$). 따라서 세 가지 시료의 암세포 성장 억제 효과를 비교해본 결과 청국장, 물두시, 낫또의 순으로 항암효과가 있는 것으로 나타났다. MTT assay는 식품의 *in vitro* 항암 효과를 측정하는 실험에서 많이 사용되어 온 방법으로 위암과 결장암 세포를 포함한 주요 암세포에서 이를 이용함으로써 식품의 암세포 억제 효과를 측정할 수 있다(23).

이러한 결과는 발효에 사용한 콩의 종류, 종균, 특히 발효 시간이 중요하다 하겠다. 낫또는 생으로 섭취하므로 발효취억제가 상당히 중요하기에 발효시간이 18시간 정도로 짧다. 그러나 청국장과 물두시는 발효기간이 3일 이상 진행되고 발효취도 있어서 국으로 끓여 먹는 식습관을 가지고 있다. 중국의 두시와 물두시의 항돌연변이 및 항암효과를 연구한 결과 오래 발효된 두시가 물두시보다 암 예방 효과가 좋았으며, 청국장의 경우도 역시 오래 발효된 된장이 청국장보다는 항암효과가 더 높다(5,24). 결국 낫또는 냄새는 거의 없으나 대신 콩의 섭취, 점질 물질 등 낫또에 있는 여타 기능성 물질과 일본인들의 식문화와 연관이 있는 것으로 보인다. 그러나

Table 3. Inhibitory effect of methanol extracts from 3 different kinds of soybean fermented products on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells and HT-29 human colon carcinoma cells in MTT assay

Treatment	AGS cells OD ₅₄₀ (level of sample, mg/mL)		HT-29 cells OD ₅₄₀ (level of sample, mg/mL)	
	2	4	2	4
Control	0.549±0.006 ^a		0.535±0.008 ^a	
Chungkukjang	0.484±0.016 ^b (12) ¹⁾	0.139±0.005 ^c (75)	0.457±0.021 ^b (15)	0.131±0.007 ^d (76)
Shuidouchi	0.483±0.009 ^b (12)	0.125±0.004 ^c (77)	0.510±0.015 ^a (5) ¹⁾	0.392±0.012 ^c (27)
Natto	0.536±0.011 ^a (2)	0.490±0.021 ^b (11)	0.521±0.020 ^a (3)	0.453±0.013 ^b (15)

¹⁾Values in parentheses are the inhibition rates (%).

Means with the different letters (a-d) in the same column are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

청국장이나 물두시는 자연발효를 하는 반면에 낫또는 중균을 사용한다는 점에서 품질이 더 일정하고 안전성이 있다고 하겠다.

요 약

본 연구에서는 콩에서 유래한 단기 발효식품인 청국장, 물두시, 낫또 제품 중 대표적인 제품을 각각 하나씩 선택하여 이들의 일반적 특성과 항돌연변이 효능 및 항암 효능을 비교 연구하였다. 청국장은 아미노태 질소 및 암모니아태 질소의 함량이 높았으나, 낫또는 그 함량이 낮게 나타났다. 물두시의 경우 여타 발효식품에 비해 pH가 낮고 산도가 높았다. Ames test 및 HT-29 인체 대장암세포를 이용한 실험에서는 청국장이 우월한 항돌연변이 및 항암 효능을 나타냈다. 이상의 결과로 볼 때 청국장은 전반적으로 기능성이 우수한 것으로 나타났으며, 물두시는 낫또에 비해 기능성이 더 나은 것으로 나타났다. 이는 발효 기간의 차이, 제조방식, 원재료의 품질 등에 의한 것으로 여겨지며, 향후 각국의 식문화 및 조리 방식 등의 차이에 기초를 둔 추가적인 연구가 필요할 것으로 여겨진다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 “국제기관 간 MOU 지원 사업-2015년도 한-중 협력연구사업”(No. 2015K2A2A2002538)의 일환으로 작성되었습니다.

REFERENCES

- Ryu KJ, Zhao X, Bak SS, Kim BK, Jeon JT, Park KY. 2008. *In vitro* anticancer effect of Chungkukjangs from folk villages of Sunchang region in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Prev Res* 13: 62-67.
- Yoo SM, Chang CM. 1999. Study on the processing adaptability of soybean cultivars for Korean traditional chonggugjang preparation. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 91-98.
- Choe JS, Kim JS, Yoo SM, Park HJ, Kim TY, Chnag CM, Shin SY. 1996. Survey on preparation method and consumer response of chungkukjang. *Korea Soybean Digest* 13(2): 29-43.
- Kim BN, Lee SY. 1995. Nattokinase, γ -GTP, protease activity and sensory evaluation of Natto added with spice. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 228-233.
- Zhao X, Bak SS, Rhee SH, Park KY. 2008. Fermentation period influences on antimutagenic and *in vitro* anticancer effects of Shuidouchi. *Cancer Prev Res* 13: 40-46.
- Feng X, Zhao X. 2016. Study on preventive effects of different vessels fermented Shuidouchi on CCl₄ induced hepatic damage. *Sci Technol Food Ind* 37: 338-342.
- Yin S, Wang XJ, Ai JW. 2015. Research on post-fermentation and flavoring technology of Guizhou Natto. *China Condiment* 40: 54-56.
- Kim BN, Park CH, Ham SS, Lee SY. 1995. Flavor component, fatty acid and organic acid of Natto with spice added. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 219-227.
- Park KY. 2009. *The sciences and health functionality of Jangs (Korea traditional soybean fermented foods)*. Korea Jang Cooperative, Dongseunambuk Publishing Co., Seoul, Korea.
- Sumi H, Hamada H, Tsushima H, Mihara H, Muraki H. 1987. A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean food in the Japanese diet. *Experientia* 43: 1110-1111.
- Park SK, Seo KI, Shon MY, Moon JS, Lee YH. 2000. Quality characteristics of home-made doenjang, a traditional Korean soybean paste. *Korean J Soc Food Sci* 16: 121-127.
- Moon SH. 1990. Antimutagenic effect of doenjang (Korean soy paste). *MS Thesis*. Pusan National University, Busan, Korea.
- Zhao X, Kim SY, Park KY. 2013. Bamboo salt has *in vitro* anticancer activity in HCT-116 cells and exerts anti-metastatic effects *in vivo*. *J Med Food* 16: 9-19.
- Zhao X, Song JL, Wang Q, Qian Y, Li GJ, Pang L. 2013. Comparisons of *Shuidouchi*, *Natto*, and *Cheonggukjang* in their physicochemical properties, and antimutagenic and anticancer effects. *Food Sci Biotechnol* 22: 1077-1084.
- Tahtacı S, Kılıç GB. 2015. Halophilic lactic acid bacteria and their application in the food industry. *GIDA - J Food* 40: 349-356.
- Li LT, Zhang JH, Li ZG, Eizo TS. 2003. The comparison of Natto, Tempeh and Douchi. *China Condiment* 2003: 3-7.
- Feng X, Zhao X. 2016. Study on comparison of physicochemical properties of Natto fermented with different vessels. *China Condiment* 41: 77-81.
- Zhang XL, Hu MH, Fu ZJ. 2008. Detection and analysis of amino acid nitrogen in soy sauce. *Chinese J Public Health Eng* 7: 191.
- He HP. 1996. Effect of ammonium nitrogen on soy sauce quality. *China Condiment* 1996: 15-16.
- Lee MY, Park SY, Jung KO, Park KY, Kim SD. 2010. Quality and functional characteristics of chungkukjang prepared with various *Bacillus* sp. isolated from traditional chungkukjang. *J Food Sci* 70: M191-M196.
- Zhao X, Ran LJ, Shao LN. 2008. Physicochemical properties and antimutagenic effects of Shuidouchi and Natto. *J Weifang Educ Coll* 21: 49-51.
- Zhao X, Song J, Lee JH, Kim SY, Park KY. 2010. Antioxidation and cancer cell (HT-29) antiproliferation effects of *Rubus coreanus* Miquel bamboo salt. *J Cancer Prev* 14: 306-312.
- Li G, Zhao X. 2014. Study on antimutagenic activity and *in vitro* anticancer effects of crude polysaccharide of large yellow croaker swim bladder on HCT-116 colon cancer cells. *Mod Food Sci Technol* 30: 19-24.
- Kwon EY. 2000. Standardization of Chungkookjang preparation and its cancer preventive effect. *MS Thesis*. Pusan National University, Busan, Korea.