

다시마 분말을 첨가한 막장 에탄올 추출물의 항돌연변이원성 및 세포독성 효과

최승필 · 조미애 · 전윤영 · 이득식* · 함승시

강원대학교 바이오산업공학부

동해대학교 관광외식산업학과*

Antimutagenicity and Cytotoxic Effect of Ethanol Extract from Korean Traditional *Mackjang* Added Sea Tangle

Cheng-Bi Cui, Mi-Ae Cho, Yon-Young Jun, Deuk-Sik Lee* and Seung-Shi Ham

School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University

Department of Tourism and Foodservice Industry, Dong Hae University, Dong Hae 240-713, Korea*

Abstract

This study was carried out to investigate antimutagenic and cytotoxic effects of Korean traditional *Mackjang* added with sea tangle powder. The content percentage of most of minerals among general composition increased by adding sea tangle powder. By the Ames test, the antimutagenic effect of ethanol extract of Korean traditional *Mackjang* added with 5% sea tangle powder was strongest, exceeding the control, 10%, and 15% sea tangle additions. The ethanol extract (400 μ g/plate) of *Mackjang* added with 5% sea tangle powder in the *S. typhimurium* TA100 strain showed inhibition rate of 95.0% against the mutagenesis induced by MNNG. The inhibition rate of ethanol extract (400 μ g/plate) of *Mackjang* added with 5% sea tangle powder in the *S. typhimurium* TA98 and TA100 strains was 81.4% and 88.8%, respectively, against the mutagenesis induced by 4NQO. Under the same conditions, the suppression against B(α)P and Trp-P-1 in the TA98 and TA100 strains were 85.3% and 91.0%, and 96.5% and 92.0%, respectively. For the anticancer effects, an investigation was done on the cytotoxicity of *Mackjang* added with 5% sea tangle powder on the cell lines with human lung carcinoma (A549), human hepatocellular carcinoma (HepG2), and human gastric carcinoma (KATOIII). The cytotoxicities were inhibited with increasing the extract concentration. The treatment of 1.0 mg/mL *Mackjang* added with 5% sea tangle powder showed relatively strong cytotoxicity of 61.2%, 61.8% and 66.8% against A549, KATOIII, and HepG2, respectively.

Key words : sea tangle, *Mackjang*, antimutagenic effect, cytotoxicity.

I. 서 론

최근 콩을 재료로 한 장류, 두부 및 두유 등 콩
관련 식품이 건강 증진 및 질병예방과 연관되어 세

본 연구는 2001년 강원도 고성군 농업기술센터의 지원으로 수행한 결과의 일부임.

계적인 관심을 모으고 있다. 장류는 옛부터 우리들의 식생활에서 없어서는 안될 중요한 식품으로 이용되어 온 조미식품이다. 장류에는 콩을 주 원료로 하여 만든 된장, 간장, 고추장, 청국장, 막장 등이 있으며 단백질은 물론 탄수화물과 지방 등의 영양소가 골고루 들어 있어서 육류 섭취량이 적었던 시절에는 단백질 공급원으로서 최고의 영양식이었으며 근래에는 각종 기능성이 밝혀지고 있는 전통 발효식품이다. 또한 장류의 항돌연변이원성·항산화성 효과로 암을 예방하는 건강식으로 알려져 있어¹⁻³⁾ 장류에 대한 많은 연구가 이루어지고 있는 상황이다. 주로 연구되고 있는 전통식품은 된장, 고추장 간장, 청국장 등에 관한 것이 절대다수를 차지하고 있으나 계절의 변화에 따라 담그는 별미장인 막장에 대한 연구는 거의 이루어지고 있지 않는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 최근에 각광을 받고 있는 기능성 소재인 다시마 분말을 첨가하여 막장을 제조하여 기능성을 높이고 상품화 가능성을 검토하고자 하였다. 실험에 사용된 다시마는 학명이 *Laminaria longissima*로 갈조류에 속하는 다시마과의 한 속으로서 2~3년생인 해조이다⁴⁾. 다시마는 육상식물에 비하여 비타민 및 미네랄, 특히 마그네슘, 칼슘, 요오드 및 철 등의 함량이 높고, 해조류를 구성하고 있는 fucoidan, alginate 등의 생리활성이 강한 다당류를 많이 포함하고 있어 기능성 소재나 건강식품으로 많이 이용되고 있다^{5,6)}.

본 연구에서는 막장의 영양과 다시마의 독특한 영양성분들이 혼합된 다시마 분말을 첨가한 막장을 제조하여 일반성분 분석과 항돌연변이원성 및 세포독성 효과를 시험하였으며, 다시마 분말을 첨가한 막장의 상품화 가능성을 검토하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

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

2. 시 약

직접 돌연변이원(directmutagen)으로서 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), N-me-thyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG), glucose-6-phosphate은 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-his-tidine은 일본 和光純藥 특급시약을 구입하였다. 세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 HEPES buffer, Fetal bovine serum(FBS), Trypsin-EDTA는 Gibco사(U.S.A.)로부터 구입하였다. 본 실험에 이용된 인간 폐암세포 A549(Lung carcinoma, Human), 인간 간암세포 HepG2 (Human hepatocellular carcinoma), 및 인간 위암세포 KATOⅢ(Gastric carcinoma, Human), 정상세포로는 293(ransformed primary human embryonal kidney)은 Korea Cell Line Bank (KCLB)로부터 구입하여 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. 그의 추출용매인 에탄올은 특급시약을 사용하였다.

3. 막장의 제조 및 추출

막장의 원료배합비율은 콩, 쌀코오지, 소금을 10:20:3으로 배주를 만든 후 메주가루에 따듯한 찹쌀밥 그리고 다시마 분말 5%, 10% 및 15%를 첨가하여 1개월간 숙성시켜 시료로 하여 실험에 사용하였고, 제조된 막장에 10배의 70% 에탄올을 첨가하고 80°C에서 8시간씩 3회 추출하였으며, 감압여과 장치에서 뜨거운 상태로 여과시켜 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결건조기를 이용하여 건조시킨 후 실험에 사용하였다.

4. 일반분석

일반성분은 AOAC법⁷⁾과 식품공전⁸⁾의 방법에 따라 3회 분석하여 평균값으로 하였다. 즉 수분은 105°C 상압건조법, 조회분은 건식회화법, 조지방은 에테르 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법으로 분석하였다. 염분은 AgNO₃ 적정법으로 분석하였으며 탄수화물은 100에서 수분, 조회분, 조단백질, 조지방, 염분을 뺀 값으로 하였다. 무기물은 식품공전에 의해 분석하였다.

5. 돌연변이원성 실험

다시마 분말을 농도별로 첨가한 막장의 돌연변이

원성 실험은 *S. typhimurium*의 변이주인 TA98과 TA100을 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation 법⁹⁾으로 실시하였다. 각 시료를 건열멸균시킨 glass cap tube에 각각의 시료를 50 μ l씩 가하고 여기에 전배양 시킨 배양균액 100 μ l을 가한 다음 0.2M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700 μ l가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양 한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar(45°C)를 2ml씩 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.

6. 항돌연변이성 실험

Ames test를 개량한 preincubation법에 따라 항돌연변이원성 실험을 실시하였으며 실험에 사용하는 변이원물질은 4NQO, MNNG, B(α)P 및 Trp-P-1이었다. 건열멸균시킨 glass cap tube에 시료의 추출물을 각각 50 μ l씩 첨가하고 이어서 변이원 물질을 각각 50 μ l씩 첨가하였다. 간접 변이원인 경우 10% S-9 mix를 250 μ l씩 첨가하였다. 여기에 전배양시킨 균액을 100 μ l씩 주입한 후에 0.2M sodium phosphate buffer를 가하여 최종부피가 700 μ l가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 상기의 돌연변이성 실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 복귀돌연변이 수를 측정하여 항돌연변이성 유무를 판정하였다. 막장의 추출물과 변이원물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며, 항돌연변이활성은 변이원물질의 활성에 대한 시료의 억제율(inhibition, %)로 나타내었다. 그럼에서 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

7. 세포독성 실험

SRB[sulforhodamine B] assay는 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법¹⁰⁾으로 10%의 fetal bovine serum과 각각의 세포들인 인간 폐암세포(A549), 인간 간암세포(HepG2), 인간 정상세포(293)를 함유하는 RPMI 1640 배지를 5 \times 10⁴ cell/ml 농도로 100 μ l씩 각 well에 첨가하여 하루동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후 PBS에 녹인 추출물들을 각각 0.25, 0.5, 0.75, 1.0mg/ml씩 첨가하여 다시 48시간 배양시켰다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 차가운 10% TCA(4°C) 용액을 50 μ l씩 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 않은 SRB염색액을 제거하기 위해 1% acetic acid 용액으로 네번 세척하였다. 건조기에서 건조된 plate는 10mM Tris buffer 100 μ l로 염색제를 충분히 녹인 후 540nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다.

MITT(3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide) assay는 세포의 생육 및 분화를 측정하는 방법¹¹⁾으로서 이 실험은 살아있는 세포의 미토콘드리아 내의 dehydrogenase가 황색 수용성 물질인 MTT에 의해 dark blue formazan을 생성해내는 점을 기초로 한다. 인간 위암세포(KATO III)를 10% fetal bovine serum을 함유한 RPMI 1640배지를 5 \times 10⁴ 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, 1.0mg/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 540nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

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

A : 시료의 흡광도

B : 대조구 흡광도

III. 결과 및 고찰

1. 막장의 일반분석

다시마, 제주, 막장의 일반성분 분석결과는 Table 1, 2에 나타내었다. 다시마 분말을 첨가한 막장의 주 원료가 되는 제주와 다시마 그리고 다시마 첨가 막장의 일반성분을 분석한 결과, 식품 성분표¹²⁾와 비교해 볼 때, 약간의 차이가 나는 것은 수확시기, 재배 조건, 기후, 품종, 제조방법 등 여러 조건에 기인한 것으로 사료된다. 다시마 무첨가 막장에서는 조단백질 함량이 13.4%, 그리고 다시마 분말 5%, 10%, 15% 첨가에서는 각각 13.1%, 12.3%, 11.4%로 다시마 분말 무첨가 막장에 비해 조단백질 함량이 0.3%이상 감소하였다. 조지방, 탄수화물의 함량도 다시마 첨가 막장이 다시마 무첨가 막장에 비해 각각 3.4%, 1.8% 이상 감소되었다. 수분, 회분, 염분의 함량은 다시마 첨가 막장이 다시마 무첨가 막장에 비해 증가된 것으로 나타났다. 또 무기물 중 P, Ca, Mg, K의 함량은 다시마 무첨가 막장에 비해 다시마 첨가 막장의 함량이 증가되었는데, 특히 P, K의 함량이 각각 68.1mg

%와 255.5 mg%이상 증가되었다. Fe, Mn, Cu, Zn의 함량은 다시마 첨가 막장이 다시마 무첨가 막장에 비해 감소된 것으로 나타났다. 이는 다시마 분말의 첨가에 따라 메주의 양이 감소됨으로써 기인된 것으로 추정되었다.

2. Ames test를 이용한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성

S. typhimurium TA98과 TA100을 이용한 Ames test를 행한 결과 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 19±5 그리고 TA100은 181±8을 나타내었다. 다시마를 첨가한 막장의 에탄올 추출물을 100, 200, 300, 400µg/plate의 여러 농도로 첨가하여 시험한 결과, 집락수가 음성대조군에 비하여 농도 변화에 따른 집락수의 큰 변화를 나타내지 않으므로 다시마 분말첨가 막장 에탄올 추출물은 돌연변이원성을 나타내지 않은 것으로 판단되었다(데이터 생략). 돌연변이원성 억제작용을 검토하기 위하여 Ames test에서 양성반응을 나타내며, 물질 그 자체로서 돌연변이를 유발하는 직접변이원 물질인 MNNG와 4NQO, 그리고 대사활성을 필요로 하는 간접변이원 물질인 B(α)P와 Trp-P-1을 사용하여 농도 변화에 따른 돌연변이원성 억제효과를 검토하였다. 다시마 분말을 첨가한 에탄올 추출물로 막장의 항돌연변이 실험을 한 결과, MNNG(0.4 µg/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA100균주에서 시료농도 400µg/plate에서 5% 다시마 분말을 첨가한 막장이 95.0%(p<0.05)인데 비해 대조구인 무첨가군과 10%, 15%의 첨가군에서 각각 85.3%, 82.9%, 71.1%로 약간 낮은 억제효과를 나타내었다(Fig. 1). Fig. 2는 4NQO(0.15 µg/plate)에 대한 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주의 실험결과로써, 두 경우 모두 5%의 다시마 분말 첨가 막장에서 다른 첨가군에 비해 높은 억제효과를 보였다. TA98의 경우 에탄올 추출물이 시료농도 400 µg/plate에서 81.4% (p<0.05)를 나타내었으며, 다시마 무첨가, 그리고 10% 및 15% 다시마 첨가의 경우 각각 74.0%, 63.1%, 79.2%를 나타내어 무첨가, 10%의 경우보다 5%와 15%의 다시마 분말 첨가군이 다소 높은 억제효과를 나타내었다. TA100 균주의 경우 5% 다시마 분말을 첨가한 막장의 경우 같은 시료농도에서 88.8%

Table 1. General composition content of Sea tangle, Meju and mackjang (unit : %)

Ingredients	Sea tangel	Meju	Addition of sea tangle Mackjang			
			0%	5%	10%	15%
Moisture	10.4	9.2	47.0	51.5	52.9	54.0
Crude protein	7.3	44.0	13.4	13.1	12.3	10.4
Crude fat	1.2	15.5	8.9	5.5	5.5	4.2
Crude ash	30.8	5.8	10.8	11.0	12.1	13.9
Salt	18.7	0.1	8.5	9.3	10.5	10.5
Carbohydrate	32.6	30.4	11.4	9.6	6.8	6.0

Table 2. Mineral content of Sea tangle, Meju and Mackjang (unit : mg%)

Inorganic compounds	Sea tangel	Meju	Addition of sea tangle Mackjang			
			0%	5%	10%	15%
Fe	11.5	13.0	5.2	4.6	4.3	3.9
Mn	0.5	4.2	2.0	1.6	1.4	1.1
Cu	0.1	1.0	0.4	0.3	0.3	0.2
Zn	1.2	5.1	1.9	1.5	1.4	1.1
P	168.2	811.6	138.1	206.2	236.4	300.3
Ca	939.2	197.6	94.8	98.4	120.7	123.6
Mg	764.8	296.2	72.5	72.4	74.1	72.3
K	8159.3	1890.5	845.2	1100.7	1225.1	1663.5

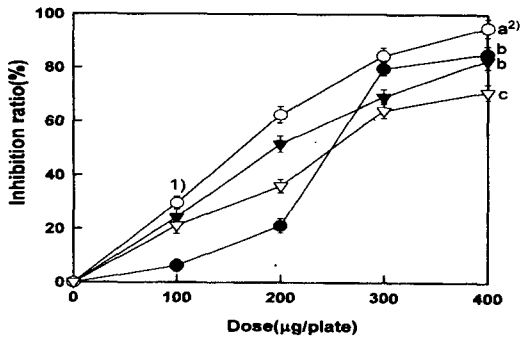


Fig. 1. Antimutagenic effects of *Mackjang* ethanol extracts against MNNG(0.4 µg/plate) in *S. typhimurium* TA100.
 1) Values are the mean ± SD(n=3).
 2) Means with the different letters in the same concentration are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

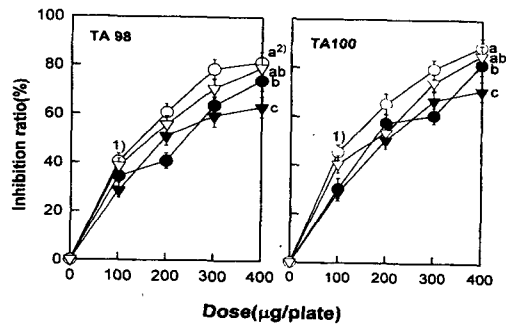


Fig. 2. Antimutagenic effects of *Mackjang* ethanol extracts against 4NQO(0.15 µg/plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100.
 1), 2) See Fig. 1.

(p<0.05)의 억제효과를 나타내었으며, 다시마 무첨가, 10%, 15% 다시마 분말 첨가 막장에서는 각각 81.8%, 71.0%, 85.4%를 나타내었다. 이와 같이 다시마 분말 5% 첨가 막장의 에탄올 추출물은 시료 농도 증가에 따라 TA98과 TA100 균주 모두에서 각 변이원에 대한 돌연변이 억제효과도 증가하였다. 다시마 분말첨가 15%의 경우도 다소 높은 억제효과를 나타내었지만, 관능특성상 5%와 비교하여 상품가치는 없는 것으로 판단되었다(데이터 미제시).

B(a)P(10 µg/plate)를 사용한 Fig. 3에서는 *S. typhimurium* TA98, TA100 두 균주 모두에서 시료농도 증

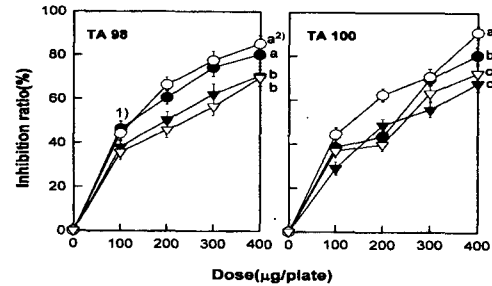


Fig. 3. Antimutagenic effects of *Mackjang* ethanol extracts against B(a)P(10 µg /plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100.
 1), 2) See Fig. 1.

가에 따라 억제효과 또한 증가하는 경향을 보였다. TA98균주의 경우, 5% 및 무첨가 시험군에서 시료농도 400 µg/plate에서 85.3% 및 80.4%(p<0.05)의 높은 억제율을 나타내었으며, TA100의 경우는 5% 다시마 분말 첨가군 막장만이 동일농도에서 91.0% (p<0.05)로 다른 첨가군보다 높은 억제효과를 나타내었다. 또한 Trp-P-1(0.15 µg/plate)에서는 TA98 균주의 경우 400 µg/plate 농도에서 5% 다시마 분말 첨가군에서 96.5%(p<0.05)로 다시마 무첨가, 10% 및 15% 다시마 첨가군은 각각 71.0%, 76.6%, 75.9%의 억제율을 보여 주었다. TA100 균주에서는 다시마 분말 5% 첨가군 에탄올 추출물이 동일농도에서 92.0%(p<0.05)의 효과를 보였으며, 다시마 무첨가, 10%, 15% 다시마 분말 첨가군에서 각각 81.2%, 87.1%와 75.4%의 억제율을 나타내었다(Fig. 4). 항돌연변이원성 시험에서는 이상

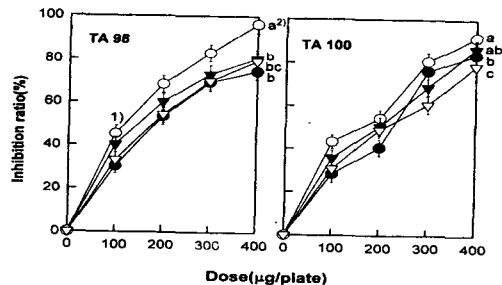


Fig. 4. Antimutagenic effects of *Mackjang* ethanol extracts against Trp-P-1(0.5 µg/plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100.
 1), 2) See Fig. 1.

의 결과에서 나타내었듯이 다시마 분말첨가 5%의 경우가 다른 시험군과 비교하여 일부 유의차가 없는 경우도 있으나, 5% 다시마 분말 첨가군이 항돌연변이원성에 있어서 높은 억제효과를 나타내었다. 또한 관능상 무첨가, 5%, 10%, 15%의 4가지 시험군중 5% 다시마 첨가군이 가장 좋은 풍미를 갖는 것으로 확인되었다(데이터 미제시).

윤 등¹³⁾은 콩을 이용한 발효식품인 된장, 고추장, 간장 및 청국장 등의 메탄올 추출물이 높은 항돌연변이원성과 돌연변이원의 종류에 따라 서로 다른 항돌연변이원성을 나타낸다고 보고하였으며, 본 실험결과에서도 알 수 있듯이 다시마 분말이 첨가된 막장 또한 항돌연변이원성이 높은 결과는 장류 발효식품이 그 기능성에 있어서 상호연관성이 있다는 것을 시사해 주었다. 다시마 분말의 첨가 농도가 높아짐에 따라서 항돌연변이원성이 다소 낮아진 이유는 다시마 농도가 높아지면 역으로 메추의 함량이 그만큼 줄어들어 발효콩 유래의 생리활성 성분의 함량이 낮아짐으로써 활성강도도 낮아진 것으로 추정되었다. 그러나 5% 다시마 첨가농도는 다시마 유래의 식이섬유나 alginate 그리고 fucoidan 등의 생리활성 기능을 갖고 있는 성분들과 발효콩의 생리활성 성분인 isoflavone 등과의 상호작용으로 상승효과를 촉진시켜 주는 것으로 생각되었다.

3. 막장 추출물의 인간 암세포 성장 억제효과

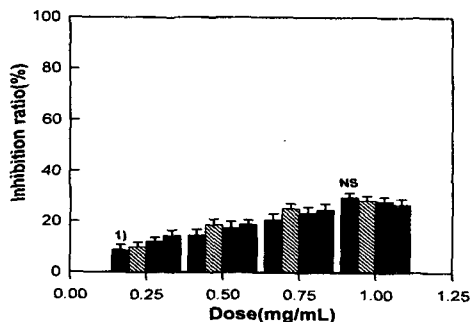


Fig. 5. Growth inhibitory effects of *Mackjang* ethanol extracts against on transformed primary human embryonal kidney (293).

1) Values are the mean \pm SD (n=3).

NS: Not significant.

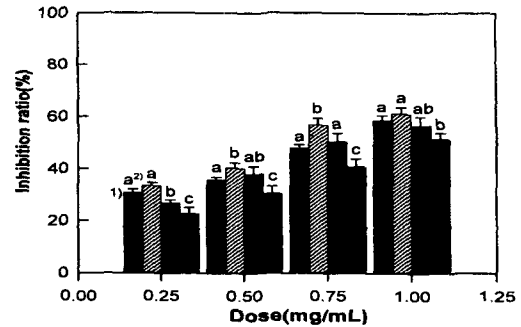


Fig. 6. Growth inhibitory effects of *Mackjang* ethanol extracts against on human lung cancer cell (A549).

1), 2) See Fig. 1.

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 세포독성을 규명하기 위해 암세포로 A549, HePG2, KATOⅢ와 대조로서 정상세포인 293을 이용하여 다시마 분말 막장의 메탄올 추출물에 대하여 SRB assay 및 MTT assay를 행하였다. 우선 먼저 다시마 분말 첨가 막장의 정상세포에 대한 독성효과를 살펴보았는데 인간의 정상세포인 293에 대하여 시료농도 1mg/ml에서 모두 30%이하($p < 0.05$)의 낮은 억제 효과를 나타내어 정상세포에 대해 비교적 낮은 독성효과를 나타내었다(Fig. 5). Fig. 6은 다시마 분말을 첨가한 막장의 메탄올 추출물이 인간 폐암세포 A549에 대한 저해효과를 나타낸 것이다. 그 결과 0.5mg/ml와 0.75mg/ml 농도에서 다시마 분말을 5% 첨가한 막장이 다른 첨가군에 비해 다소 높은 저해효과를 나타내었으며, 가장 높은 농도인 1.0mg/ml에서는 네가지 시료 모두 50%($p < 0.05$) 이상의 억제효과를 나타내었다. Fig. 7에서는 다시마 분말 첨가 막장의 메탄올 추출물이 인간 간암세포 HepG2에 대한 저해효과를 나타낸 것인데, 1.0mg/ml의 시료농도에서 다시마 분말 무첨가, 분말 5%, 10%, 15% 첨가 막장이 각각 63.0%, 66.8%, 64.0% 그리고 48.1%로 무첨가, 분말 5%, 10% 첨가군에서 다소 높은 억제효과를 나타냄과 동시에 이들 간에는 유의차($p < 0.05$)가 없었다. Fig. 8은 KATOⅢ 세포에

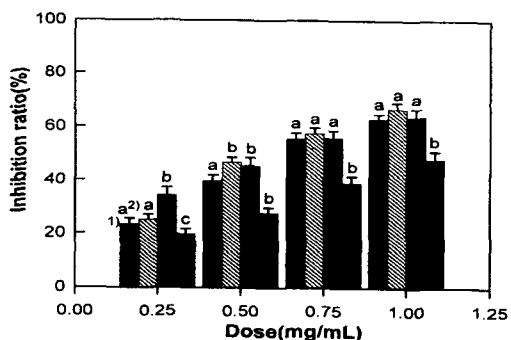


Fig. 7. Growth inhibitory effects of *Mackjang* ethanol extracts against on human hepatocellular carcinoma (Hep G2). 1), 2) See Fig. 1.

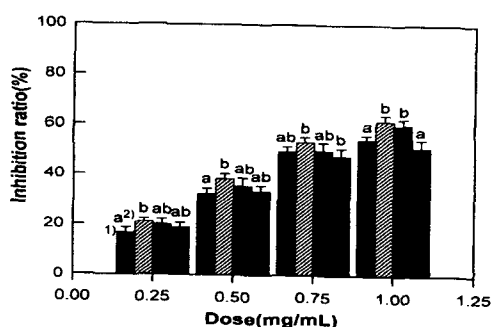


Fig. 8. Growth inhibitory effects of *Mackjang* ethanol extracts against on human gastric cancer cell (KATOIII). 1), 2) See Fig. 1.

대한 다시마 분말 막장 에탄올 추출물의 암세포 성장 억제효과를 나타낸 것으로 1.0mg/ml 첨가시 다시마 분말 5%와 10% 첨가 막장이 61.8%와 60.3% ($p < 0.05$)로 다른 시험군에 비해 약간 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었다.

이상과 같은 결과에서 알 수 있듯이 콩 및 콩 관련 식품들의 항암성에 대해서는 여러차례 보고되고 있고, 콩을 많이 섭취하는 동양인들은 기름진 식사를 주로 하는 서양인들에 비해 유방암, 결장암, 전립선암 등이 훨씬 낮다는 보고^{14,15)}가 있다. 본 실험에서 다시마 분말을 5% 첨가시 항돌연변이원성 및 암세포 성장 억제효과가 가장 높은 것으로 나타났다. 이것은 막장이 메주, 다시마, 찹쌀 등이 발효과정을 거치면서 isoflavones이나 fucoidan 등의 생리활성 성분

의 상승효과에 기인하는 것으로 추정된다. 이상의 실험결과로부터 막장의 다시마 분말 5%의 첨가가 생리활성을 높이는데 가장 적합한 것으로 나타났으며, 향후 항돌연변이활성, 세포독성 효과가 높게 나타난 5% 다시마 분말 첨가 막장의 에탄올 추출물에 대해서는 좀 더 세부적으로 유용 생리활성 물질만을 순수분리하여 실험을 진행할 필요가 있을 것으로 사료된다.

IV. 요약

식품재료인 메주와 다시마 그리고 이들 재료를 사용하여 자연발효에 의해 제조한 전통 막장에 대한 일반성분을 분석한 결과 기존의 막장에 비해 무기물의 함량이 증가하였다. MNNG에 대한 항돌연변이 효과(400 $\mu\text{g}/\text{plate}$)에서 *S. typhimurium* TA100 균주에 대해 다시마 분말 5% 첨가 막장이 다른 첨가 농도보다 높은 95.0%의 강한 억제효과를 나타내었다. 4NQO에서도 5%의 다시마 분말을 첨가한 막장이 TA98과 TA100 두균주에 대해서 400 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 에서 각각 81.4%와 88.8%로 다른 첨가 군보다 높은 억제효과를 나타내었다. B(a)P에 대한 억제효과에서는 동일농도에서 TA98, TA100 두균주에 대하여 다시마 분말 5% 첨가 막장이 각각 85.3%와 91.0%로 다른 첨가군보다 높은 억제활성을 나타내었으며, Trp-P-1에 대해 두균주에 대해서는 96.5%와 92.0%로 다른 농도보다 높은 억제효과를 나타내었다. 암세포 성장 억제효과를 검토한 결과에서는 5% 다시마 분말 첨가 막장이 1.0mg/ml 시료농도에서 A549가 61.2%, KATOIII는 61.8%, 그리고 HepG2는 66.8%의 성장억제 효과를 나타내었다.

V. 문헌

- Cheigh, H. S., Lee, J. S. and Lee, C. Y. : Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce, J. Korean. Soc. Food Nutr., 22: 570-575, 1993.
- Para, K. Y., Moon, S. H., Baik, H. S. and Cheigh, H. S. : Antimutagenic effect of *doenjang* (Korean fermented soy paste) toward aflatoxin, J. Korean

- Soc. Food Nutr., 19(2): 156-162, 1990.
3. Chung, K. S., Yoon, D. J., Hong, S. S. and Choi, S. Y. : Cytotoxicity of fermented soybean products with various tumor cell using MTT assay, Korea J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 25: 477-482, 1997.
 4. Ahn, M. J. : Effects on the fermentation of soy sauce by the addition of the *Laminaria longissima*. M.S. Thesis, Korea Univesity, Korea, 1985.
 5. Cho, D. M., Kim, D. S., Lee, D. S., Kim, H. R. and Pyeum, J. H. : Trace components and functional saccharides in seaweed-1, Korean J. Fish. Soc., 28: 49-59, 1995.
 6. Cho, D. M., Kim, D. S., Lee, D. S., Kim, H. R. and Pyeum, J. H. : Trace components and functional saccharides in seaweed-2, Korean J. Fish. Soc., 28: 270-278, 1995.
 7. AOAC : Official methods for analysis. 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., Ch, 27, p.31, 1995.
 8. 식품醫藥品安全廳 : 食品公典(別冊). 문영사, p.69-72, p.273-277, 서울, 2000.
 9. Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T. and Okada, M. : Mutagenicities of N-nitrosoamines on Salmonella, Mutation Res., 48: 121-130, 1977.
 10. Scudiero, D. A., Shoemaker, R. H., Paul, K. D., Monks, A., Tiemey, S., Nofziger, T. H., Currens, M. J., Seniff, D. and Boyd, M. R. : 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, 1988.
 11. Martin, A. and Martin, C. : Comparision of 5 microplate colorimetric assay for *in vitro* cytotoxicity testing and cell proliferation assays. Cytotechnology, 11: 49-54, 1997.
 12. The Food composition table : Fifth Revision, National Rural Living Scien Institute, R.D.A., p.84, p.300, p.336-339, 1996.
 13. Yoon, K. D., Kwon, D. J., Hong, S. S., Kim, H. S. and Chung, K. S. : Inhibitory Effect of Soybean and Fermented Soyben Products on the Chemically Induced Mutagenesis, Korean J. Appl. Microbiol. Biolechnol., 24: 525-528, 1996.
 14. Correa, P. : Epidemiologic correlation between diet and cancer frequency, Cancer Res., 41: 3685-3690, 1981.
 15. Phillips, R. L. : Role of life-style and dietary habits in risk of cancer among Seventh Day Adventists, Cancer Res., 35: 3515-3522, 1975.