

발효콩 추출물의 항돌연변이원성 및 세포독성 효과

최승필¹ · 이호진¹ · 문선영¹ · 김수현¹ · 이득식² · 함승시^{1†}

¹강원대학교 바이오산업공학부

²동해대학교 외식산업학과

Antimutagenic and Cytotoxicity Effects of Fermented Soybean Extract

Cheng-Bi Cui¹, Hyo-Jin Lee¹, Sun-Young Moon¹, Soo-Hyun Kim¹, Deuk-Sik Lee² and Seung-Shi Ham^{1†}

¹School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University

²Department of Foodservice Industry, Dong Hae University, Dong Hae 240-713, Korea

Abstract

This study was carried out to determine the antimutagenic and anticancer effects of fermented soybean using Ames test and cytotoxicity, respectively. The ethyl acetate fraction (200 g/plate) of fermented soybean in the *Salmonella typhimurium* TA100 strain showed 86.6% of inhibition rate against the mutagenesis induced by *N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG). In addition, the suppression of ethyl acetate fraction with same concentration of fermented soybean in the *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains showed 82.4% and 90.8% inhibition against 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indol (Trp-P-1), respectively. The cytotoxicity effects of fermented soybean against the cell lines with human lung carcinoma (A549), human gastric carcinoma (AGS) and human breast adenocarcinoma (MCF-7) were inhibited with the increase of the extract concentration. The treatment of 1.0 mg/mL ethyl acetate fraction of fermented soybean showed strong cytotoxicities of 71.6%, 91.5% and 80.7% against A549, AGS and MCF-7, respectively.

Key words : Fermented soybean, antimutagenicity, cytotoxicity.

서 론

콩은 단백질과 지방이 각각 40%와 20% 정도씩 함유되어 있어 단백질이 풍부하고 각종 비타민과 양질의 지방성분이 함유되어 있어서 영양뿐만 아니라 노화의 예방이라는 측면에서 유효하게 이용되고 있는 식품 중의 하나이다. 특히, 콩 관련 제품들이 항돌연변이원성이나 항산화성 등과 같은 생리활성 효과로 성인병 예방은 물론 암을 예방하는 건강식으로 알려져 있어 사람들의 관심을 모으고 있다 (Cheigh et al 1993, Parka et al 1990, Chung et al 1997). 이러한 생리활성 효과 중 항암효과는 원료인 콩에서 유래하는 성분과 발효과정에서 분해되거나 새롭게 만들어지는 성분에 의해서 나타나는 것으로 추정되고 있다. 콩에서 유래하는 항암활성 물질로는 protease inhibitor (Kennedy & Little 1981, Yavelow et al 1983, St Clair et al 1990), phytic acid (Shamsuddin et al 1988,

Shamsuddin et al 1989) 및 isoflavones (Tiisala et al 1994, Okura et al 1988, Peterson & Barnes 1991) 등이 보고되고 있으며, genistein을 비롯한 콩 isoflavone 성분의 항암효과에 대한 연구는 현재도 큰 관심속에서 진행되고 있다 (Messina & Messina 1991). 이들 성분들의 지속적인 섭취와 생활 습관병인 성인병 예방과의 밀접한 관련성이 알려져 있다. 일찌기 장류에 대한 연구를 추진해온 일본은 일본 장류의 생리활성 (항암, 고혈압 억제, 혈중 콜레스테롤 저하 등)을 연구하여 그 특성을 과학적으로 입증한 바 있다 (大下克典 1990, 海老根英雄 1990). 우리나라의 경우 콩 그리고 전통식품인 된장, 고추장, 간장, 청국장에 관한 연구가 절대다수를 차지하고 있으나 그 전통식품들의 주요 원료인 발효 콩 자체에 대한 연구는 많이 이루어지고 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 발효 콩을 제조하여 기존의 장류나 메주와 다른 새로운 기초자료를 제시하고 그 기능적 특성을 규명하기 위하여 항돌연변이원성 및 세포독성 효과를 검토하였다.

본 연구는 중소기업청 기술혁신개발사업의 지원으로 수행되었음.

† Corresponding author : Seung-Shi Ham, Tel : 033-250-6453, Email : hamss@cc.kangwon.ac.kr

재료 및 방법

1. 재료 및 발효 공 제조

본 실험에 사용한 공은 강원도 농협에서 국산 (2002년 산)을 구입하였으며 공을 정선하고 수돗물로 9~10 시간 정도 침지시켜 물기를 제거한 후, 1 L 삼각 플라스크에 각각 250 g씩 넣고 autoclave에서 121°C, 30~40분 정도 살균시켰다. 살균이 끝난 후, 증숙된 공을 32°C로 냉각시켜 미리 배양해 둔 *Aspergillus oryzae*와 *Bacillus licheniformis* 두 혼합균주(Choi et al 2003)를 2 mL (10^8 /mL)씩 분무하는 방법으로 균일하게 접종되게 하여 3일 동안 배양시킨 후 100°C에서 약 10~20분간 살균시키고 동결건조하여 분말화 시킨 후 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 시 약

직접 돌연변이원 (direct mutagen)으로서 *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine(MNNG), 그리고 glucose-6-phosphate는 Sigma(USA, Washington)회사로부터 구입하였다. 간접 돌연변이원 (indirect mutagen)으로 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido- (4, 3-b)indol (Trp-P-1) 그리고 L-histidine는 和光純藥(日本, 東京) 특급시약을 구입하였다. 세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 HEPES buffer, Fetal bovine serum (FBS), Trypsin-EDTA는 Gibco사 (USA, Newyork)로부터 구입하였다. 본 실험에 이용된 인간 폐암세포 A549 (Lung carcinoma, Human), 인간 위암세포 AGS (Gastric carcinoma, Human), 인간의 유방암세포 MCF-7 (Breast adenocarcinoma, Human) 및 정상세포 293 (transformed primary human embryonal kidney)은 Korea Cell Line Bank (KCLB)로부터 구입하여 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. 그외 추출 용매인 에탄올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 등은 특급시약을 사용하였다.

3. 시료의 추출 및 분획

동결건조된 발효공을 시료 중량으로 10배의 70% 에탄올을 첨가하고 70°C에서 8시간씩 3회 추출하였으며, 감압여과 장치에서 뜨거운 상태로 여과하여 -4°C 냉장실에 24시간 방치 후 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결건조기를 이용하여 건조시켰다. 70% 에탄올 추출물을 용매의 극성에 따라 분별분리를 행하여 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물층으로 극성의 차이에 의해 다섯 가지 분획으로 조제하였다. 분리된 각각의 용매 분획물은 70°C에서 감압농축 후, 동결건조하여 분획물을 얻었다.

4. 돌연변이원성 실험

발효공 추출물의 돌연변이원성 실험은 *S. typhimurium*의 변이주인 TA98과 TA100을 이용하여 Ames test를 개량한

preincubation법 (Yahagi et al 1997)으로 실시하였다. 건열멸균시킨 glass cap tube에 각각의 시료를 50 µg/plate씩 가하고 여기에 전배양시킨 배양균액 100 µL를 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 7.4)로 전체량이 700 µL가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar (45°C)를 2 mL씩 가하여 잘 혼합한 후 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고정화시켜 37°C에서 48시간 배양하여 생성된 복귀돌연변이 (his^+ revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

5. 항돌연변이원성 실험

Ames test를 개량한 preincubation법에 따라 항돌연변이원성 실험을 실시하였으며, 실험에 사용한 변이원은 MNNG와 Trp-P-1이었다. 건열멸균시킨 glass cap tube에 시료의 추출물을 각각 50 µL씩 첨가하고 이어서 변이원 물질을 각각 50 µL씩 첨가하였다. 간접 변이원인 경우 10% S-9 mix를 250 µL씩 첨가하였다. 여기에 전배양시킨 균액을 100 µL씩 주입한 후에 0.2 M sodium phosphate buffer를 가하여 최종부피가 700 µL가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 상기의 돌연변이원성 실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 복귀돌연변이 수를 측정하여 항돌연변이성 유무를 판정하였다. 발효 공의 추출물과 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며, 항돌연변이활성은 변이원물질의 활성에 대한 시료의 억제율 (inhibition, %)로 나타내었다.

6. 세포독성 실험

SRB (sulforhodamine B) assay는 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법 (Scudiero et al 1988)으로 10%의 fetal bovine serum과 각각의 세포들인 인간 폐암세포 (A549), 인간 유방암세포 (MCF-7), 인간의 위암세포 (AGS) 그리고 인간의 정상세포 (293)를 함유하는 RPMI 1640 배지를 5×10^4 cell/mL 농도로 100 µL씩 각 well에 첨가하여 하루 동안 배양 (37°C, 5% CO₂)시킨 후 PBS에 녹인 추출물들을 각각 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL씩 첨가하여 다시 48시간 배양시켰다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 차가운 10% TCA (4°C) 용액을 50 µL씩 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 10 mM Tris buffer 100 µL로 염색제를 충분히 녹인 후 540 nm에서 microplate reader

로 흡광도를 측정하였다.

7. 통계처리

본 실험에서의 모든 실험결과는 SPSS (Statistical package for social sciences) package program을 이용하였으며, 각 실험군당 평균 ± 표준편차로 표시하였고, 각 군의 평균치의 통계적 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 발효콩의 생리활성 물질의 추출 및 수율

발효콩 에탄올 추출물의 순차용매 분획별 수율은 Table 1과 같다. 70% 에탄올 추출물은 20.1%의 수율을 얻었으며, 극성이 가장 큰 물 분획물에서 수율 (39.9%)이 가장 높았으며, 에틸아세테이트에서 수율 (2.2%)이 가장 낮게 나타났다.

2. 돌연변이원성 및 항돌연변이원성

S. typhimurium TA98과 TA100을 이용한 Ames test를 행한 결과 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 18 ± 6 그리고 TA100은 183 ± 8 이었다. 발효콩 에탄올 추출물을 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 의 여러 농도를 첨가하여 실험한 결과, 집락수가 음성대조군에 비하여 농도 변화에 따른 집락수의 큰 변화를 나타내지 않으므로 발효콩 추출물들은 돌연변이원성을 나타내지 않은 것으로 판단되었다(Table 2).

발효 콩 에탄올 추출물과 분획물들의 돌연변이원성 억제 작용을 검토하기 위하여 Ames test에서 양성반응을 나타내며, 물질 그 자체로서 돌연변이를 유발하는 직접 변이원물질로 MNNG 그리고 대사활성을 필요로하는 간접변이원 물질인 Trp-P-1을 사용하여 각각의 농도에 따른 돌연변이원성 억제 효과를 검토하였다. 그 결과 (Fig. 1) 발효 콩 에탄올 추출물과 분획물에서 TA100균주에 대하여 직접변이원인 MNNG (0.4 $\mu\text{g}/\text{plate}$)의 변이원 물질의 경우, 농도 의존적으로 억제율이 증가하였으며, 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 의 농도를 첨가하였을 때 에탄

Table 1. The extraction yields of 70% ethanol extract and each fraction from fermented soybean

Sample	Yields of ethanol extract (%)	Step-wise fractionation of ethanol extract	Yields (%)
Fermented soybean	20.1	Hexane	7.0
		Chloroform	12.8
		Ethyl acetate	2.2
		Butanol	12.0
		Aqueous	39.9

Table 2. Mutagenicity of fermented soybean 70% ethanol extract in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100

Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	His+ revertants/plate ¹⁾	
	TA98	TA100
Spontaneous	18 ± 6	183 ± 8
50	19 ± 5	179 ± 6
100	17 ± 6	177 ± 9
150	18 ± 7	169 ± 7
200	19 ± 4	184 ± 9

¹⁾ Each value represents the mean±SD of three plates.

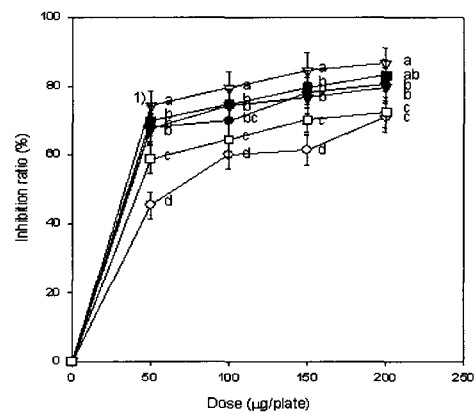


Fig. 1. Antimutagenic effects of solvent fraction of fermented soybean against MNNG (0.4 $\mu\text{g}/\text{plate}$) on *S. typhimurium* TA100.

● : Ethanol extract, ○ : Hexane fraction, ▲ : Chloroform fraction, ▼ : Ethyl acetate fraction, ■ : Butanol fraction, □ : Aqueous fraction.

¹⁾ Values are the mean±SD(n=3).

^{a-d} Means with the different in the same concentration are significantly by Duncan's multiple range test($p < 0.05$).

올 추출물과 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물층 분획물에서 각각 80.6%, 71.1%, 79.6%, 86.6%, 83.1% 그리고 72.4%의 비교적 높은 돌연변이원성 효과를 나타내었는데 에틸아세테이트 분획물에서 대부분의 시료농도에서 다른 시료보다 유의적으로 높은 항돌연변이원성 효과를 나타내었다 ($p < 0.05$).

한편, microsomal enzyme의 대사활성에 의해서만 돌연변이원성을 나타내는 간접변이원으로서 실제로 식품을 통해 흡수될 수 있는 아미노산 가열분해물인 Trp-P-1을 사용하여 실험을 수행하였다. TA98 균주의 경우 (Fig. 2) 에틸아세테이트 분획물에서 시료농도 모두에서 다른 시료보다 유의적으로 높은 돌연변이 억제 효과를 나타내었으며 ($p < 0.05$), 시료농도 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 에서는 82.4%의 비교적 높은 억제율을 나타내었

다. TA100 균주의 경우 (Fig. 3), 동일 시료 농도에서 각각 77.7%, 61.5%, 75.6%, 90.8%, 68.5% 그리고 69.5%로 에틸아세테이트 분획물이 TA98에서와 같이 다른 분획물보다 유의적으로 높은 억제율을 나타내었다 ($p<0.05$).

Park et al (1990)등은 전통된장에서 높은 항돌연변이 효과를 나타내었고 Yoon et al (1996) 등이 콩을 이용한 발효식품

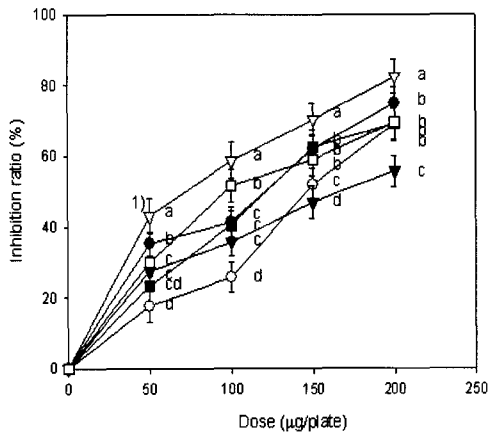


Fig. 2. Antimutagenic effects of solvent fraction of fermented soybean against Trp-P-1 (0.5 µg/plate) on *S. typhimurium* TA98.

● : Ethanol extract, ○ : Hexane fraction, ▼ : Chloroform fraction, ▽ : Ethyl acetate fraction, ■ : Butanol fraction, □ : Aqueous fraction.
 1) Values are the mean±SD(n=3).
 *d Means with the different in the same concentration are significantly by Duncan's multiple range test($p<0.05$).

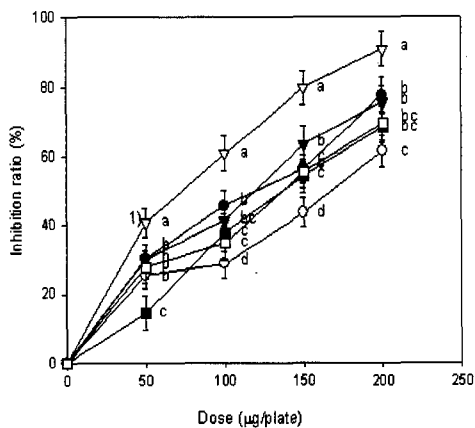


Fig. 3. Antimutagenic effects of solvent fraction of fermented soybean against Trp-P-1 (0.5 µg/plate) on *S. typhimurium* TA 100.

● : Ethanol extract, ○ : Hexane fraction, ▼ : Chloroform fraction, ▽ : Ethyl acetate fraction, ■ : Butanol fraction, □ : Aqueous fraction.
 1) Values are the mean±SD(n=3).
 *d Means with the different in the same concentration are significantly by Duncan's multiple range test($p<0.05$).

인 된장, 고추장, 간장 및 청국장 등의 메탄올 추출물이 높은 항돌연변이원성과 돌연변이원의 종류에 따라 서로 다른 항돌연변이원성을 나타낸다고 보고하였다. 본 연구에서도 이와 일치하는 결과를 나타내어 콩 및 콩 발효에 의해 생성되는 생리활성 성분인 isoflavones 등이 발효미생물의 작용으로 각종 성분 상호간의 작용이 상승효과를 촉진시켜 주는 것으로 사료된다. 본 실험에서 나타낸 에틸아세테이트 분획물에서 다른 분획물보다 유의적으로 높은 항돌연변이원성을 나타내어 향후 이 분획물에 대한 좀더 구체적인 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

3. 발효 콩 추출물의 인간 암세포 성장억제효과

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, MCF-7 및 AGS와 대조군으로서 정상세포 293을 이용하여 발효콩 에탄올 추출물과 각 분획물에 대하여 SRB assay를 행하였다.

Table 3은 발효콩 에탄올 추출물 및 각 분획물의 A549, MCF-7, AGS 등 인간의 암세포에 대한 저해효과를 나타낸 결과이다. 각 암세포에 대하여 시료농도의 증가에 따라 농도의 존적으로 암세포 성장 저해효과도 증가하였으며, 시료농도 1.0 mg/mL에서 발효콩 에탄올 추출물의 경우, A549, MCF-7 및 AGS에서 각각 68.4%, 85.7%, 그리고 85.6%의 억제효과를 나타내었다. 특히 인간의 유방암 세포의 경우는 85% 이상의 암세포 성장 저해효과를 나타내었다. 이는 발효콩 에탄올 추출물이 유방암에 대한 예방 효과를 줄 수 있다는 것을 시사해준다. 또한 발효콩 에탄올 추출물의 활성성분의 특성을 검토하고자 극성이 다른 용매에 대한 분획물을 이용하여 이들 암세포에 대한 성장 저해효과를 실험하였다 인간의 폐암세포인 A549에서 에틸아세테이트 분획에서 시료농도 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL 첨가시 각각 37.5%, 47.9%, 60.4% 그리고 71.6%로 다른 분획물보다 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었고 최고 시료농도 (1.0 mg/mL)에서는 부탄올 분획물을 제외한 다른 시료들 간에는 유의적인 차이가 인정되지 않았다 ($p<0.05$). 유방암 세포인 MCF-7에서는 에틸아세테이트 분획물에서 시료농도 1.0 mg/mL 첨가시 80.7%의 암세포 성장 억제효과를 나타낸 반면에 다른 분획물에서는 70% 전후의 암세포 성장 억제효과를 나타내어 에틸아세테이트 분획물에서 다른 시료보다 유의적으로 높은 유방암세포 성장 억제효과를 나타내었다 ($p<0.05$). 또한, 위암세포인 AGS의 경우는 모든 분획물에서 시료농도 1.0 mg/mL에서 모두 60% 이상의 암세포 성장억제 효과를 나타내었으며, 에틸아세테이트 분획

Table 3. Growth inhibitory effects of each fraction from 70% ethanol extract of the fermented soybean against human cancer cells (unit : %)¹⁾

Fermented soybean	Dose (mg/mL)	A549	AGS	MCF-7
Ethanol extract	0.25	21.2±4.0 ^{2)b}	25.4±3.5 ^c	35.1±4.4 ^{ab}
	0.50	34.5±3.7 ^{ab}	46.7±3.6 ^c	51.5±2.9 ^a
	0.75	42.5±4.1 ^c	75.4±5.4 ^{ab}	61.5±4.2 ^b
	1.00	68.4±4.0 ^a	85.6±4.6 ^{ab}	73.9±4.9 ^b
Hexane fraction	0.25	20.1±4.5 ^b	36.7±4.2 ^b	40.5±3.8 ^a
	0.50	34.6±4.6 ^{ab}	51.4±3.8 ^{ab}	51.2±4.0 ^a
	0.75	44.5±3.7 ^b	63.7±3.9 ^b	63.7±4.6 ^b
Chloroform fraction	0.25	15.6±3.7 ^b	45.9±3.8 ^a	40.3±5.0 ^a
	0.50	29.7±4.1 ^b	53.6±4.3 ^a	58.8±4.2 ^a
	0.75	51.6±5.0 ^b	67.3±4.5 ^b	64.5±4.5 ^b
Ethyl acetate fraction	0.25	37.5±4.3 ^a	46.5±4.3 ^a	33.6±4.3 ^{ab}
	0.50	47.9±3.7 ^a	59.9±5.0 ^a	56.4±4.6 ^a
	0.75	60.4±4.6 ^a	83.7±4.7 ^a	76.5±5.1 ^a
Butanol fraction	0.25	23.6±4.4 ^b	33.9±4.1 ^b	29.9±4.0 ^b
	0.50	40.5±4.5 ^a	46.1±3.7 ^b	51.5±3.8 ^a
	0.75	47.9±4.6 ^b	50.3±4.1 ^c	62.3±4.2 ^b
Aqueous fraction	0.25	17.8±2.9 ^b	35.6±3.7 ^b	40.2±4.6 ^a
	0.50	27.6±3.4 ^b	48.7±5.0 ^b	55.9±4.7 ^a
	0.75	48.7±4.1 ^b	59.8±4.8 ^b	67.8±3.8 ^{ab}
	1.00	64.3±3.6 ^a	66.6±4.6 ^{bc}	71.7±4.0 ^b

¹⁾ %=(OD₅₄₀ of positive control - OD₅₄₀ of sample)/OD₅₄₀ of positive control)×100.

²⁾ Values are the mean±SD.(n=3)

³⁾ Means with the different in the same concentration are significantly by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

물과 에탄올 추출물에서 동일 시료농도에서 각각 91.5%와 85.6%로 다른 시료보다 유의적으로 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었으나, 두 시료 간에는 유의적인 차이가 인정되지 않았다 ($p<0.05$). 본 실험에서 흥미로운 것은 에틸아세테이트 분획물에서는 다른 분획물보다 높은 억제활성을 나타내었으며, 모든 암세포에서 70%이상의 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었다. 시료농도가 0.5에서 1.0 mg/mL로 증가함에 따라 억제율도 높게 나타나는 것으로 보아 시료농도와 억제율은 상관관계가 있는 것이 인정되었다. 이에 반해, Fig. 4에서는 발효 콩 에탄올 추출물의 정상세포에 대한 독성효과

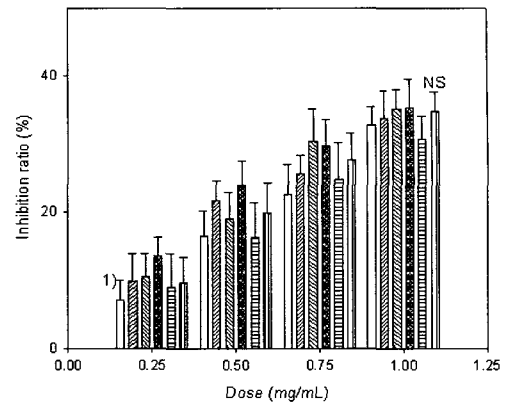


Fig. 4. Growth inhibitory effects of each fraction of fermented soybean 70% ethanol extract on human transformed primary embryonal kidney (293).

□ : Ethanol extract, ▨ : Hexane fraction, ▩ : Chloroform fraction, ▤ : Ethyl acetate fraction, ▥ : Butanol fraction, ▦ : Aqueous fraction.

¹⁾ Values are the mean±SD. (n=3)

NS Not significant.

를 살펴봐왔는데 인간의 정상세포인 293에 대하여 각 시료농도에서 모두 35% 이하의 낮은 억제 효과를 나타내어 정상세포에 대해 비교적 낮은 독성효과를 나타내었으며, 모든 시료농도 및 동일 시료 간에는 유의적인 차이가 인정되지 않았다 ($p<0.05$).

콩 및 콩 관련 식품들의 항암성에 대해서는 여러 차례 보고되어 있으며, 콩을 많이 섭취하는 동양인들은 기름진 식사를 주로 하는 서양인들에 비해 유방암, 결장암, 전립선암 등이 훨씬 낮으며 (Correa 1981, Phillips 1975), 콩에서 유래된 trypsin inhibitor가 마우스, hamster 등의 실험동물에서 췌장암 (Takahashi et al 1991), 구강암 (Messadi et al 1986), 대장암과 간암 (Billings et al 1990), 피부암, 유방암 (Becker 1981) 등에 대해서 항암효과를 나타낸다고 보고하였다. 본 실험결과는 기초적인 생리활성 데이터를 제시하였으며, 이를 바탕으로 각종 기능성 소재와 혼합하여 기능성 식품을 제조하여 그 기능에 대한 세부적인 연구를 진행 중에 있으며 좋은 결과가 있는 기능성 식품이 되리라 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

요약 및 결론

발효콩의 에탄올 추출물과 시료 자체는 돌연변이원성이 없는 것으로 나타내었다. 직접 변이원인 MNNG에 대한 항돌연변이 효과에서 *S. typhimurium* TA100 균주에 대해 발효콩 에틸아세테이트 분획물 (200 µg/plate)에서 다른 분획물보다 높은 86.6%의 억제효과를 나타내었다. 동일 시료 농도에서 Trp-P-1에 대해서는 *S. typhimurium* TA98과 TA100 두 균주가 각각 82.4%와 90.8%로 에틸아세테이트 분획물이 다른 분획

물보다 높은 억제효과를 나타내었다. 암세포 성장억제 효과를 검토한 실험에서는 에틸아세테이트 분획물이 가장 높은 억제활성을 나타내었으며, 시료농도의 증가와 함께 억제활성도 증가하는 경향을 나타내었고 시료농도 1 mg/mL에서 A549가 71.6%, AGS가 91.5% 그리고 MCF-7이 80.7%의 암세포 성장억제효과를 나타내었다.

문헌

- Becker FF (1981) Inhibition of spontaneous hepatocarcinogenesis in C3H/10T1/2 mice by Edi Pro A, an isolated soy protein. *Carcinogenesis* 12: 1213-1214.
- Billings OC, Newberne PM, Kennedy AR (1990) Protease inhibitor suppression of colon and gland carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. *Carcinogenesis* 11: 1083-1086.
- Cheigh HS, Lee JS, Lee CY (1993) Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. *J Kor Soc Food Nutr* 22: 570-575.
- Choi KK, Cui CB, Ham SS, Lee DS (2003) Isolation, Identification and Growth Characteristics of Main Strain Related to Meju Fermentation. *J Kor Soc Food Nutr* 32: 818-824.
- Chung KS, Yoon DJ, Hong SS, Choi SY (1997) Cytotoxicity of fermented soybean products with various tumor cell using MTT assay. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 477-482.
- Correa P (1981) Epidemiologic correlation between diet and cancer frequency. *Cancer Res* 41: 3685-3690.
- 大下克典 (1990) 醤油の機能性について. 醸協, 日本. 85: 762-770.
- 海老根英雄 (1990) みその機能性. 醸協, 日本. 85: 70-75.
- Kennedy AR, Little JB (1981) Effects of protease inhibitors on radiation transformation *in vitro*. *Cancer Res* 41: 2103-2108.
- Messadi DV, Billings PC, Shaklar G, Kennedy AR (1986) Inhibitions of oral carcinogenesis by a protease inhibitor. *J Natl Cancer Inst* 76: 447-452.
- Messina M, Messina V (1991) Increasing use of soyfoods and their potential in cancer prevention. *J Am Diet Assoc* 91: 836-840.
- Okura A, Arakawa H, Oka H, Yoshinari T, Monden Y (1988) Effect of genistein on topoisomerase activity and on the growth of [Val 12] haras-transformed NIH 3T3 cells. *Biochim Biophys Res Commun* 157: 183-189.
- Parka KY, Moon SH, Baik HS, Cheigh HS (1990) Antimutagenic effect of *doenjang* (Korean fermented soy paste) toward aflatoxin. *J Kor Soc Food Nutr* 19(2): 156-162.
- Peterson G, Barnes S (1991) Genistein inhibition of the human breast cancer cells; independence from estrogen receptors and the multi-drug-resistance gene. *Biochim Biophys Res Commun* 179: 661-667.
- Phillips RL (1975) Role of life-style and dietary habits in risk of cancer among Seventh Day Adventists. *Cancer Res* 35: 3515-3522.
- Scudiero DA, Shoemaker RH, Paul KD, Monks A, Tiemey S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D, Boyd MR (1988) 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.
- Shamsuddin AM, Elsayed AM, Ullah A (1988) Suppression of large intestinal cancer in F344 rats by inositol hexaphosphate. *Carcinogenesis* 9: 577-580.
- Shamsuddin AM, Ullah A, Chakravarthy AK (1989) Inositol and inositol hexaphosphate suppress cell proliferation and tumor formation in CD-1 mice. *Carcinogenesis* 10: 1461-1463.
- St Clair ST, Billings PC, Carew JA, McGandy CK, Newberne P, Kennedy AR (1990) Suppression of dimethylhydrazine-induced carcinogenesis in mice by dietary addition of the Bowman-Birk protease inhibitor. *Cancer Res* 50: 580-586.
- Takahashi M, Imaida K, Furukawa F, Hayashi Y (1991) Inhibitory effects of soybean trypsin inhibitor during initiation and promotion phases of N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine-induced hamster pancreatic carcinogenesis. In *Chemically induced cell proliferation: Implications for risk assessment*. Wiley-Less Inc, p 145.
- Tiisala S, Majuri ML, Carpen O, Renkonen R (1994) Genistein enhances the ICAM-1 and its counter-receptors. *Biochim Biophys Res Commun* 203: 443-449.
- Yahagi T, Nagao M, Seino Y, Matsushima T, Sugimura T, Okada M (1997) Mutagenicities of N-nitrosoamines on Salmonella. *Mutation Res* 48: 121-130.
- Yavelow J, Finlay TH, Kennedy AR, Troll W (1983) Bowman-Birk soybean protease inhibitor as an anticarcinogen. *Cancer Res* 43: 2454s-2459s.
- Yoon KD, Kwon DJ, Hong SS, Kim HS, Chung KS (1996) Inhibitory Effect of Soybean and Fermented Soybean Products on the Chemically Induced Mutagenesis. *Korea J Appl Microbiol Biotechnol* 24: 525-528.

(2004년 4월 1일 접수; 2004년 5월 28일 채택)