

콩 종류에 따른 청국장항돌연변이 효과

¹건국대학교 식품공학과, ²선문대학교 식량자원학부, 부산대학교 식품영양학과

고현숙¹ · 주현규² · 정근옥 · 박건영

Antimutagenic Effect of *Chungkookjangs* Prepared with the Different Kinds of Soybeans

Hyun-Sook Ko¹, Hyun-Kyu Ju², Keun-Ok Jung and Kun-Young Park

Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

¹*Department of Food Science and Technology, Kon-Kuk University, Seoul 143-701, Korea*

²*Division of Food Resources, Sun-Moon University, Chonan 330-150, Korea*

Antimutagenic effect of *chungkookjangs* prepared with the different kinds of soybeans compared with *doenjang* were studied against aflatoxin B₁(AFB₁) using Ames test and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) using SOS chromotest. The antimutagenic effects of methanol extracts from raw soybeans, non-fermented and fermented *chungkookjang* were also evaluated in the same systems. *Chungkookjang* samples exerted the different antimutagenicity according to the prepared variety of soybeans in the Ames test using *Salmonella typhimurium* TA100. The *chungkookjang* manufactured with var. Manrikong among the employed 1 year old soybeans showed the highest antimutagenic effect against AFB₁. The *chungkookjangs* prepared with Manrikong, Jinpumkong and Hwangkeumkong among the freshly harvested soybeans exhibited strong antimutagenic activity in the same system. The fermented *chungkookjang* had the strongest inhibitory effects on the mutagenicity induced by AFB₁, however, the non-fermented *chungkookjang* showed lower inhibition rate than the raw soybeans in the Ames test. In particular, the *chungkookjang* prepared with the freshly harvested soybeans showed higher antimutagenic activity than that with the old soybeans. In the SOS chromotest, the patterns of antimutagenic effects were almost the same as shown in the Ames test system. The *chungkookjang* manufactured with var. Manrikong in both the old and the fresh soybeans showed higher inhibitory effect than *doenjang* on the SOS response induced by MNNG. These results indicate that the variety, harvested time of the soybeans and the fermentation time of the *chungkookjang* differ the degrees of the antimutagenicity of the manufactured final *chungkookjangs*.

Key Words: Kinds of soybeans, *Chungkookjang*, Antimutagenicity, AFB₁, MNNG

서 론

청국장은 콩을 원료로 한 우리나라의 중요한 발효 식품으로 간장, 된장, 고추장 등과 함께 오늘날까지 상용 되어 온 전통 장류 중의 하나로, 곡류를 주식으로 하는 우리 민족이 결핍되기 쉬운 필수아미노산 및 지방산의 급원 식품으로서 중요한 역할을 담당하여 왔다.¹⁾ 청국장은 콩과 벼짚에 붙어 있는 *Bacillus subtilis*를 이용하여 발효 숙성시킨 것으로, 콩 발효식품 중 가장 짧은 기일(2~3일)에 완성할 수 있으면서도 그 풍미가 독특하고 영양적, 경제적으로도 가장 효과적인 콩의 섭취 방법으로 인정되고 있다.²⁻³⁾ 재래식 청국장은 가을에서 초봄까지 메주를 쑀어 식기 전에 시루에 벼짚을 깔고, 그 위에 뜨거운 메주콩을 담은 뒤 아랫목에 이불을 씌워 40~50°C에서 2~3일간 보온하여 만들며, 이때 벼짚에 붙어 있는 야생 고초균의 일종인 *Bacillus subtilis*가 번식하여 실모양의 끈끈한 점질물이 생성되고, 대두 단백질이 분해되어 가용성 질소화합물인 peptone, polypeptide, amino acid, amide 등이 생성된다. 2~3일 정도 발효가 끝난 청국장은 소금과 마늘, 고춧가루 등의 양념을 넣어 절구에 찧거나 mixer로 곱게 갈아 독에 담아 일정기간 동안 후숙시킨다.⁴⁾

콩과 콩 발효식품인 된장, 청국장, 고추장 등은 항돌연변이 및 항암효과가 있다고 알려져 있으며,⁵⁻¹¹⁾ 이런 효과는 원료로 사용하는 콩에서 유래하는 물질 또는 발효에 관여하는 미생물의 작용으로 생성되는 물질에 의한 것으로 추측되고 있다. 콩에서 기인된 항암활성 물질로는 trypsin inhibitor,¹²⁻¹⁴⁾ isoflavone,^{15,16)} phytic acid,¹⁷⁾ saponin,¹⁸⁾ lignan¹⁹⁾과 비타민 E²⁰⁾를 비롯하여 불포화지방산²¹⁾ 등이 알려져 있는데, 이런 활성물질의 함량과 조성은 콩의 품종과 재배지역, 재배연도와 같은 재배환경에 따라 차이가 있다.^{22,23)} 또한 발효여부에 따라서도 이들의 함량이 달라져, 비발효식품보다 발효식품에서 항돌연변이 및 항암효과가 높다고 보고된 바 있다.²⁴⁾

이에 본 실험에서는 품종과 재배 연도가 다른 콩으로 제조된 청국장장의 항돌연변이 효과를 비교하여 청국장장의 기능성에 콩의 종류가 미치는 영향을 살펴보고, 원료인 콩과 발효하지 않은 청국장 및 발효한 청국장을 비교하여 청국장장의 항돌연변이 기능이 콩에 의한 것인지 다른 발효산물에 의한 것인지도 살펴보았다.

재료 및 방법

1) 시료의 조제

(1) 청국장 시료

시료로 사용한 콩은 1996년에 수확된 묵은콩(소립종: 단백질(100립 중 14 g, 조단백질 48.5%, 조지방 17%), 중립종: 신팔달콩2호(100립 중 19.5 g, 조단백질 42%, 조지방 20%), 만리콩(100립 중 20 g, 조단백질 41%, 조지방 20%), 중대립종: 검정콩1호(100립 중 29 g, 조단백질 41%, 조지방 20%))와 1997년도에 재배된 햇콩(소립종: 단백질, 중립종: 신팔달콩2호, 만리콩, 진품콩, 중대립종: 검정콩1호, 대립종: 황금콩)을 수원시의 작물시험장에서 수확한 것을 구입하여 사용하였다. 정선한 대두를 15시간 침지한 후 물빼기를 한 다음 121°C에서 45분간 증자 후 청국장 발효기((주)보성식품부설 한국청국장연구소)에 넣어 40°C에서 48시간 발효시킨 청국장 메주에 소금 7%, 고춧가루 2.64%, 마늘 1.19%를 넣어 혼합, 마쇄하고 이를 20°C에서 20일간 숙성시킨 것을 청국장 시료로 하였다.

(2) 된장

김²⁵⁾의 경기도 과천시지역의 된장으로 장엽콩을 원료로 재래식으로 메주를 만들어 대두/물/소금=5:1:3의 비율로 섞어 3개월간 발효시킨 후 간장을 만들고 난 후 메주를 꺼내어 6개월간 발효한 것을 사용하였다.

(3) 추출물 조제

동결건조시킨 시료(청국장, 된장, 생콩, 삶은콩)를 마쇄하여 분말을 조제하고 분말시료에 20배(w/v)의 메탄올을 첨가하여 12시간 교반을 2회 반복하여 여과한 후 회전식 진공 농축기로 농축하여 메탄올 추출물(methanol extract)을 얻었다. 이들 추출물들은 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 희석하여 실험에 사용하였다.

2) Ames 돌연변이 유발 실험

(1) 실험균주 및 돌연변이 유발물질

Salmonella typhimurium TA100은 *Salmonella typhimurium* LT-2의 histidine 요구성 균주로서 미국 California대학의 B. N. Ames박사로부터 제공받아 정기적으로 histidine 요구성, deep rough (*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하

면서 실험에 사용하였다. 돌연변이 유발물질인 aflatoxin B₁ (AFB₁)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 DMSO에 녹여 실험에 사용하였다.

(2) 시료의 독성실험 및 돌연변이 유발물질의 농도 결정

균주에 대한 시료의 독성유무를 살펴보기 위해서 실험에 사용하기 전에 독성실험을 행하여 독성이 나타나지 않는 범위 내에서 시료의 농도를 결정하였다. 먼저 멸균된 cap test tube에 top agar 2 ml를 분주한 후, 균주 100 μ l ($1 \sim 2 \times 10^9$ cells/ml)와 시료를 첨가하고 가볍게 vortex한 후 nutrient agar plate에 분주, 고화시켜서 37°C에서 24시간 배양시킨 다음, 그 독성유무를 판정하였다.^{26,27)}

(3) 항돌연변이 효과 실험

간접 돌연변이원(AFB₁)을 활성화시키기 위하여 Maron과 Ames의 방법^{26,27)}에 따라 S9 mixture를 첨가하였다. S9 mixture는 쥐의 간으로부터 얻은 S9 fraction 10%에 MgCl-KCl salts (2%), 1 M glucose-6-phosphate (0.5%), 1M NADP (4%), 0.2M phosphate buffer (pH 7.4) 및 멸균수를 혼합하여 S9 mixture를 조제하였다. 항돌연변이 실험은 preincubation mutagenicity test²⁸⁾를 이용하여 미리 건열 멸균시킨 cap test tube에 S9 mixture 0.5 ml (간접 돌연변이원인 경우) 혹은 인산 완충액 0.5 ml (직접 돌연변이원인 경우), 하룻밤 배양된 균주 0.1 ml ($1 \sim 2 \times 10^9$ cells/ml)와 돌연변이 유발물질(50 μ l) 및 희석된 된장 시료(50 μ l)를 가하여 37°C에서 20분간 예비 배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar (45°C) 2 ml씩을 가하고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계수하였다.

돌연변이 억제효과의 정도(inhibition rate)는 아래 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = 100 \times [(a-b)/(a-c)]$$

여기서 a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연 복귀돌연변이의 수이다.

3) SOS chromotest

(1) 돌연변이 유발물질

Direct mutagen인 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)는 Aldrich Chemical Co. (USA)에서 구입하여 증류수에 녹여 실험에 사용하였다.

(2) 항돌연변이 효과 실험

Quillardet의 방법을 변형시킨 백과 함²⁹⁾의 방법을 사용하였다. 냉동 보관된 균주 50 μ l를 5 ml의 L medium에 접종하고 37°C에서 흡광도가 0.3 ~ 0.4에 이를 때까지 2시간 동안 진탕 배양시킨 후, 여기서 얻은 균주를 L medium에 1/10로 희석하였다. 각 농도별로 준비된 시료와 돌연변이 유발물질이 혼합된 것 20 μ l를 미리 분주해 둔 96 well plate의 각 well에 위의 희석된 균주 100 μ l씩 분주하고 90분간 37°C에서 진탕 후 SOS 반응을 유도한 후 한쪽에는 β -galactosidase의 활성 측정을 위해 ONPG (*o*-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside) 100 μ l, 다른 쪽에는 alkaline phosphatase의 활성측정을 위해 PNPP (*p*-nitrophenyl phosphate disodium) 100 μ l를 첨가하였다. 발색시간은 10분으로 하였으며 β -galactosidase는 1.5 M Na₂CO₃ 100 μ l, alkaline phosphatase는 1 M HCl 50 μ l로 효소에 의한 발색반응을 정지시키고 5분 후 alkaline phosphatase쪽에 50 μ l의 2 M Tris buffer를 첨가하여 HCl을 중화하고 spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 O.D. 420 nm값은 Miller³⁰⁾의 공식에 의해 enzyme unit (Eu)값을 구하였다.

$$\text{Eu} = \frac{(1000 \times A_{420})}{t \text{ (min.)}}$$

4) 통계분석

실험 data로부터 ANOVA를 구한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석을 행하였다.

결 과

1) Ames 실험계에서의 항돌연변이 효과

품종이 다른 묵은 콩으로 제조한 청국장 메탄올추출물의 *Salmonella typhimurium* TA100 균주에서 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과를 검토한 결과는 Table 1과 같다. 청국장제조에 사용된 묵은 콩의 품종에 따라 청국장의 항돌연변이 효과가 다르게 나타났는데, 만리콩

으로 제조한 청국장이 2.5 mg/plate의 농도에서 46%의 돌연변이 유발억제효과를 보여 단백콩(10%), 실팔달콩2호 (5%), 검정콩1호(35%)보다 높은 저해효과를 보였다. 햇콩으로 제조한 청국장의 항돌연변이 효과를 Ames 실험계에서 비교해 본 결과(Table 2), 만리콩, 진품콩, 황금콩을 사용한 청국장이 돌연변이 억제효과가 높았는데, 2.5 mg/plate의 농도에서 AFB₁에 의한

돌연변이 유발을 50% 이상 저해하였다. 특히 만리콩으로 제조된 청국장은 2.5 mg/plate의 농도에서 된장(68%)과 비슷한 69%의 돌연변이 억제효과를 보였다. 이러한 청국장의 항돌연변이효과가 청국장 제조 중 생성된 물질에 의한 것인지 콩 자체 내에 존재하는 물질에 의한 것인지를 검토하기 위하여 생콩, 발효하지 않은 청국장과 발효한 청국장의 항돌연변이 효과를 비교

Table 1. Effect of methanol extracts of *chungkookjang* manufactured with 1 year old soybeans and *doenjang* on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 0.5 µl/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Sample	1.25 mg/plate		2.5 mg/plate	
	Revertant/plate	Inhibition rate (%)	Revertant/plate	Inhibition rate (%)
Spontaneous	125±12 ¹⁾	–	125±12	–
Control (AFB ₁)	762±15 ^a	–	762±15 ^a	–
AFB ₁ +Danpeakkong C ²⁾	748± 5 ^a	2	700±10 ^c	10
Sinpaldalkong 2 C	765±17 ^a	–	728±15 ^b	5
Manrikong C	545±12 ^c	34	469±11 ^e	46
Gumjungkong 1 C	594±10 ^b	26	539±17 ^d	35
Doenjang ³⁾	413± 6 ^d	55	359±19 ^f	63

¹⁾The values are means of triplicate±S.D.

²⁾*Chungkookjang*

³⁾Traditionally manufactured *doenjang*

^{a-f} Means with the different letters beside symbols are significantly different at 0.05 level of significance as determined by Duncan's multiple range test

Table 2. Effect of methanol extracts of *chungkookjang* manufactured with the freshly harvested soybeans and *doenjang* on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 0.75 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Sample	1.25 mg/plate		2.5 mg/plate	
	Revertant/plate	Inhibition rate (%)	Revertant/plate	Inhibition rate (%)
Spontaneous	87± 6 ¹⁾	–	87± 6	–
Control (AFB ₁)	726±23 ^a	–	726±23 ^a	–
AFB ₁ +Danpeakkong C ²⁾	548±27 ^c	28	367±18 ^c	56
Sinpaldalkong 2 C	655±29 ^b	11	434±26 ^b	46
Manrikong C	409±17 ^e	50	282±13 ^d	69
Gumjungkong 1 C	463±22 ^d	41	417±17 ^b	48
Jinpumkong C	445±18 ^{ed}	44	373±17 ^c	55
Hwangkeumkong C	558±13 ^c	26	347±20 ^c	59
Doenjang ³⁾	340±28 ^f	60	292±15 ^d	68

¹⁾The values are means of triplicate±S.D.

²⁾*Chungkookjang*

³⁾Traditionally manufactured *doenjang*

^{a-f} Means with the different letters beside symbols are significantly different at 0.05 level of significance as determined by Duncan's multiple range test

Table 3. Effect of methanol extracts of raw soybean and cooked soybean and *chungkookjang* samples on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 0.75 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Sample	1.25 mg/plate		2.5 mg/plate	
	Revertant/plate	Inhibition rate (%)	Revertant/plate	Inhibition rate (%)
Spontaneous	87 ± 6 ¹⁾	–	87 ± 6	–
Control (AFB ₁)	726 ± 23 ^a	–	726 ± 23 ^a	–
AFB ₁ +Raw soybean	456 ± 9 ^c	48	362 ± 17 ^d	57
Cooked soybean +Condiments ²⁾	542 ± 18 ^b	29	454 ± 18 ^b	43
<i>Chungkookjang</i> 1 ³⁾	409 ± 17 ^d	50	282 ± 13 ^e	69
<i>Chungkookjang</i> 2 ⁴⁾	457 ± 11 ^c	42	403 ± 10 ^c	51

¹⁾The values are means of triplicate ± S.D.

²⁾Red pepper powder+crushed garlic+salt

³⁾Manufactured with the freshly harvested soybean

⁴⁾Manufactured with 1 year old soybean

^{a-e} Means with the different letters beside symbols are significantly different at 0.05 level of significance as determined by Duncan's multiple range test

Table 4. SOS response of methanol extracts from *chungkookjang* manufactured with 1 year old soybeans and *doenjang* (100 µl/assay) against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 50 ng/assay) in *E. coli* PQ37

Sample	β-galactosidase (β)		Alkaline phosphate (a)		β/a	R ⁴⁾	Inhibition rate (%)
	OD ₄₂₀	Unit	OD ₄₂₀	Unit			
Spontaneous	0.427 ± 0.043 ¹⁾	14.2	0.312 ± 0.015	10.4	1.37	1.00	–
Control (MNNG)	1.932 ± 0.001	64.4	0.303 ± 0.001	10.1	6.40	5.03	–
MNNG+Danpeakkong C ²⁾	1.205 ± 0.019	40.2	0.223 ± 0.017	7.4	5.41	3.95	27
Sinpaldalkong 2 C	1.159 ± 0.002	38.6	0.260 ± 0.004	8.7	4.45	3.25	44
Manrikong C	0.959 ± 0.080	32.0	0.255 ± 0.030	8.5	3.76	2.74	57
Gumjungkong 1 C	1.487 ± 0.023	49.6	0.274 ± 0.011	9.1	5.43	3.96	27
<i>Doenjang</i> ³⁾	1.166 ± 0.016	38.9	0.282 ± 0.007	9.4	4.14	3.02	50

¹⁾The values are means of triplicate ± S.D.

²⁾*Chungkookjang*

³⁾Traditionally manufactured *doenjang*

⁴⁾
$$R = \frac{\beta\text{-galactosidase units}}{\text{Alkaline phosphatase units}}$$

해 본 결과 (Table 3) 발효된 청국장인 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과가 가장 높아 1.25 mg/plate의 농도에서도 50%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 찌콩에 고춧가루, 마늘, 소금을 혼합한 발효하지 않은 청국장은 발효된 청국장 뿐 아니라 생콩보다도 낮은 항돌연변이 효과를 나타내었다.

2) SOS chromotest에서의 항돌연변이 효과

SOS chromotest는 시료에 함유된 histidine에 의해 영향을 받지 않으면서 frame shift mutation과 point mutation을 동시에 측정할 수 있는 장점이 있다. Quillardet 등^{31,32)}은 83종의 화학물질에 대하여 두 가지 방법으로 시험을 실시한 결과, Ames test에서 밝혀진

Table 5. SOS response of methanol extracts from *chungkookjang* manufactured with the freshly harvested soybeans and *doenjang* (100 µl/assay) against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 40 ng/assay) in *E. coli* PQ37

Sample	β-galactosidase (β)		Alkaline phosphate (a)		β/a	R ⁴⁾	Inhibition rate (%)
	OD ₄₂₀	Unit	OD ₄₂₀	Unit			
Spontaneous	0.631±0.002 ¹⁾	21.0	0.611±0.004	20.4	1.03	1.00	-
Control (MNNG)	2.322±0.020	77.4	0.590±0.022	19.7	3.93	3.82	-
MNNG+Danpeakkong C ²⁾	1.853±0.059	61.8	0.615±0.021	20.5	3.01	2.92	32
Sinpaldalkong 2 C	1.943±0.046	64.8	0.644±0.005	21.5	3.02	2.93	32
Manrikong C	1.495±0.042	49.8	0.654±0.010	21.8	2.29	2.22	57
Gumjungkong 1 C	1.862±0.062	62.1	0.609±0.006	20.3	3.06	2.97	30
Jinpumkong C	1.463±0.012	48.9	0.656±0.019	21.9	2.23	2.17	59
Hwangkeumkong C	1.540±0.011	51.3	0.619±0.018	20.6	2.49	2.42	50
Doenjang ³⁾	1.505±0.074	50.2	0.602±0.001	20.1	2.50	2.43	49

¹⁾The values are means of triplicate±S.D.

²⁾*Chungkookjang*

³⁾Traditionally manufactured *doenjang*

⁴⁾
$$R = \frac{\beta\text{-galactosidase units}}{\text{Alkaline phosphatase units}}$$

Table 6. SOS response of methanol extracts from raw soybean and cooked soybean and *chungkookjang* (100 µl/assay) against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 40 ng/assay) in *E. coli* PQ37

Sample	β-galactosidase (β)		Alkaline phosphate (a)		β/a	R ⁴⁾	Inhibition rate (%)
	OD ₄₂₀	Unit	OD ₄₂₀	Unit			
Spontaneous	0.631±0.002	21.0	0.611±0.004	20.4	1.03	1.00	-
Control (MNNG)	2.322±0.020	77.4	0.590±0.022	19.7	3.93	3.82	-
MNNG+Raw soybean	1.524±0.005	50.8	0.620±0.009	20.7	2.46	2.39	51
Cooked soybean +Condiments ²⁾	1.858±0.077	61.9	0.501±0.020	16.7	3.71	3.62	7
<i>Chungkookjang</i> 1 ³⁾	1.305±0.078	43.5	0.550±0.037	18.3	2.37	2.30	54
<i>Chungkookjang</i> 2 ⁴⁾	1.277±0.040	42.6	0.527±0.040	17.6	2.42	2.35	52

¹⁾The values are means of triplicate±S.D.

²⁾Red papper powder+crushed garlic+salt

³⁾Manufactured with the freshly harvested soybean

⁴⁾Manufactured with 1 year old soybean

⁵⁾
$$R = \frac{\beta\text{-galactosidase units}}{\text{Alkaline phosphatase units}}$$

돌연변이 물질의 약 90%가 SOS 유발물질이었으며, 이 두 방법간에 정량적인 상관관계가 있다고 보고하였다. MNNG에 대한 청국장과 된장의 SOS 반응억제효과는 β-galactosidase unit와 alkaline phosphatase unit

의 비율(R)로 계산하였다. SOS chromotest에서도 Ames 실험계에서와 같은 경향으로 만리콩, 진품콩, 황금콩으로 제조된 청국장이 SOS 반응을 억제하는 효과가 높았다(Table 4). MNNG에 대해서 묵은콩으로 제

조한 청국장 만리콩이 57%의 저해효과를 보여 된장의 50%보다 높은 SOS 반응 억제효과를 나타냈으나 단백질, 신팔달콩2호, 검정콩1호는 27%, 44%, 27%로 낮은 저해효과를 나타내었다. 햇콩으로 제조한 청국장도 만리콩과 진품콩으로 제조한 청국장이 57%, 59%의 돌연변이 억제효과를 나타내어 된장의 49%에 비해 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다(Table 5). 한편 단백질, 신팔달콩2호, 검정콩1호, 황금콩은 MNNG에 의한 SOS 반응을 각각 32%, 32%, 30%, 50% 억제하였다. 이것으로 묵은콩에서는 만리콩이, 햇콩에서는 만리콩과 진품콩이 된장보다 저해효과가 높은 것으로 나타났다. 생콩, 발효하지 않은 청국장과 발효한 청국장의 SOS 반응억제 효과를 관찰한 결과(Table 6) 찐 콩에 고춧가루, 마늘, 소금을 혼합하여 발효하지 않은 청 국장은 7%의 낮은 저해율을 보였고 생콩과 발효된 청 국장은 각각 51%와 54%의 높은 저해효과를 보여 Ames test에서와 같이 SOS chromotest에서도 발효한 청국장, 생콩, 발효하지 않은 청국장의 순서로 MNNG에 대한 항돌연변이성을 나타내었다.

고 찰

청국장은 콩 발효식품 중 가장 짧은 기일(2~3일)에 완성할 수 있으면서도 그 풍미가 독특하고 영양적, 경제적으로도 가장 효과적인 콩의 섭취방법으로 인정되고 있다.^{2,3)} 된장을 비롯한 콩 발효식품은 항돌연변이성 및 항암성이 있다고 보고되고 있으며, 이런 활성은 콩에서 유래하는 것과 발효과정에서 분해되거나 새롭게 합성되는 성분에 의해 나타난다고 알려지고 있다. 콩에서 기인된 항암활성 물질로는 trypsin inhibitor,^{12,14)} isoflavone,^{15,16)} phytic acid,¹⁷⁾ saponin,¹⁸⁾ lignan¹⁹⁾과 비타민 E²⁰⁾를 비롯하여 불포화지방산²¹⁾ 등이 알려져 있는데, 이런 활성물질의 함량과 조성은 콩의 품종과 재배지역, 재배연도와 같은 재배환경에 따라 차이가 있으며^{22,23)} 또한 발효여부에 따라서도 이들의 함량이 달라져, 비발효식품보다 발효식품에서 항돌연변이 및 항암효과가 높다고 보고된 바 있다.²⁴⁾ 이에 본 실험에서는 품종과 재배 연도가 다른 콩으로 제조된 청국장의 항돌연변이 효과를 비교하여 청국장의 기능성에 콩이 미치는 영향을 살펴보고, 원료인 콩과 발효하지 않은 청국장 및 발효한 청국장을 비교하여 청

국장의 기능성이 콩에 의한 것인지 다른 발효산물에 의한 것인지도 살펴보고자 하였다. Ames 실험계에서 청국장의 항돌연변이효과는 콩의 품종에 따라 큰 차이를 보였는데, 묵은 콩으로 제조한 청국장 중에서는 중립종인 만리콩(조단백질 41%, 조지방 20%)으로 제조한 청국장이 소립종인 단백질(조단백질 48.5%, 조지방 17%)으로 제조한 청국장보다 항돌연변이 효과가 높았다. 또한 햇콩으로 제조한 청국장에서도 중립종인 만리콩과 진품콩 그리고 대립종인 황금콩으로 제조된 청국장이 높은 항돌연변이효과를 나타내었다. 묵은 콩으로 제조한 청국장의 경우 된장보다 낮은 항돌연변이효과를 보였으나 햇콩으로 제조한 청국장의 경우는 된장과 비슷한 활성을 보여 묵은 콩으로 제조한 청국장보다 햇콩으로 제조한 청국장이 돌연변이 억제효과가 뛰어난 것으로 나타났다. 박 등⁹⁾은 된장, 콩된장, 청국장, 미소 및 콩의 메탄올추출물은 간접돌연변이원인 AFB₁과 직접돌연변이원인 MNNG에 대해 항돌연변이 효과가 있었고, 된장의 활성이 가장 컸으며 다음으로 청국장, 일본의 미소, 콩의 순이었다고 하였다. 한편 발효방법으로도 오랫동안 콩으로 발효된 재래식 된장이 콩된장, 청국장보다 항돌연변이 활성이 컸으며, 청 국장은 콩으로 발효된 것이지만 단기간 내에 발효가 된 것으로 오랜 기간동안 발효과정을 거친 재래식 된장 및 콩된장보다는 활성이 낮았다고 보고하였다.^{6,7,9)} 따라서 발효기간이 짧은 청국장의 경우 원료인 콩의 품종이 청국장의 항돌연변이효과에 미치는 영향이 클 것으로 여겨지며, 청국장제조시 콩은 조지방함량이 낮은 소립종보다는 조지방함량이 높은 중립종이나 대립종을 사용하는 것이 유리할 것으로 보인다.

원료인 콩과 발효하지 않은 청국장 및 발효한 청국장을 비교하여 청국장의 기능성이 콩에 의한 것인지 다른 발효산물에 의한 것인지를 살펴본 결과 찐 콩에 양념을 첨가하여 발효하지 않은 것은 생콩보다도 낮은 항돌연변이 효과를 보였고, 발효된 청국장은 생콩보다 높은 활성을 나타내었다. 이는 박⁶⁾의 생콩과 삶은콩과 된장의 항돌연변이성을 측정된 결과, 된장, 생콩, 삶은 콩의 순서로 생콩이 삶은 콩보다 항돌연변이성이 강하다는 결과와 일치하였다. 생콩에 존재하는 trypsin inhibitor의 항발암효과는 이미 보고된 바 있으며^{12,14)} 이 단백질이 열에 불안정하여 장시간 삶는 동안 파괴되었기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 발효된 청 국장은 발효하지 않은 청국장보다 돌연변이억제효과가

높아 청국장을 발효시키는 과정에서 다른 발효산물들이 효과적으로 항돌연변이성을 나타내는 것으로 생각된다.

SOS chromotest에서도 Ames 실험계에서와 같이 콩의 품종에 따라 청국장의 항돌연변이 효과에 큰 차이를 보였는데, 묵은 콩으로 제조한 청국장 중에서는 중립종인 만리콩으로 제조한 청국장이 SOS 반응을 가장 크게 억제하였으며, 햇콩으로 제조한 청국장에서도 중립종인 만리콩과 진품콩 그리고 대립종인 황금콩으로 제조된 청국장이 높은 항돌연변이효과를 나타내었다. 만리콩으로 제조된 청국장은 묵은콩과 햇콩 모두에서 MNNG에 대해 된장보다 높은 항돌연변이효과를 보였다. 발효된 청국장은 생콩보다 높은 활성을 나타내었으며, 찐 콩에 양념을 첨가하여 발효하지 않은 것은 생콩보다도 낮은 항돌연변이 효과를 보였다. 정등¹¹⁾은 SOS chromotest에서 콩 및 콩 발효식품인 간장, 된장, 고추장, 청국장의 용매추출물(물, 메탄올, 헥산추출물)의 직접돌연변이원인 MNNG에 대한 항돌연변이효과를 비교한 결과 모든 용매추출물에서 청국장이 가장 항돌연변이효과가 높았고 된장, 콩, 고추장의 순으로 활성을 보였다고 하였다. 그러나 임³³⁾은 된장, 청국장, 미소 및 콩의 메탄올추출물의 MNNG에 대한 돌연변이억제효과를 SOS chromotest로 비교한 결과 된장이 청국장보다 미소 및 콩보다 높은 항돌연변이효과를 나타내었다고 보고하여 이 결과와 상이한 결과를 나타내었다. 따라서 청국장의 항돌연변이활성은 콩의 품종과 발효에 의해 달라질 것으로 생각되며 청국장의 암 예방효과를 증진시킬 수 있는 재료 및 발효방법의 개발이 필요하다.

참고 문헌

- 1) 김진숙, 유선미, 최정숙, 박홍주, 홍선표, 장창문. 전통청국장의 이화학적 특성. 한국농화학회지 1998; 41(5): 377-383.
- 2) 윤숙자. 한국의 저장 발효음식. 신광출판사 1997; pp. 73.
- 3) 이강무, 이시경, 주현규. CaCO₃가 *Bacillus subtilis*에 의한 청국장메주 발효에 미치는 영향. 한국농화학회지 1994; 37(6): 421-426.
- 4) 조미자, 이순옥, 김상순. 한국 전통식품과 조리. 효일문화사 1997; pp 93.
- 5) 박건영. 된장의 안전성과 암예방 효과. 대한암예방학회지 1997; 2: 27-37.
- 6) 박건영. 전통 콩 발효식품(된장, 청국장, 간장)의 기능 및 생리적 활성. 건국대학교 개교 50주년 기념 제 1회 국제 심포지움 1996; 37-58.
- 7) 박건영. 재래식 된장의 안전성과 항암효과. 농촌생활과학 1996; 17(4): 36-41.
- 8) Park KY, Moon SH, Cheigh HS, Baik HS. Anti-mutagenic effects of doenjang (Korean soy paste). *J Food Sci Nutr* 1996; 1(2): 151-158.
- 9) 박건영, 임선영, 이숙희. 된장의 항돌연변이 및 항발암효과. 대한암예방학회지 1997; 1(2): 99-107.
- 10) Kim, SJ, Jung KO, Park KY. Inhibitory effect of Kochujang extracts on chemically induced mutagenesis. *J Food Sci Nutr* 1999; 4(1): 38-42.
- 11) 정건섭, 윤기도, 홍석산, 권동진. 전통장류의 항돌연변이성 및 항암성 효과. 식품과학기술지 1996; 1: 75-85.
- 12) Kennedy AR. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. *J Nutr* 1995; 125: 733s-743s.
- 13) Kennedy AR and Little JB. Effects of protease inhibitors on radiation transformation *in vitro*. *Cancer Res* 1981; 41: 2103-2108.
- 14) Kuroki T, Drevon C. Inhibition of chemical transformation in C3H/10T1/2 cells by protease inhibitors. *Cancer Res* 1979; 39: 2755-2761.
- 15) Adlercreutz CHT, Goldin BR, Gorbach SL, Watanabe S, Hämäläinen EK, Markkanen MH, Höckerstedt KAV, Mäkelä TH, Wähälä KT, Hase TA, Fotsis T. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *J Nutrition* 1995; 125(3 Suppl): 757s-770s.
- 16) Jing Y, Waxman S. Structural requirements for differentiation-induction and growth-inhibition of mouse erythroleukemia cells by isoflavones. *Anticancer Res* 1995; 15: 1147-1152.
- 17) Shamsuddin AM. Inositol phosphates have novel anticancer function. *J Nutrition* 1995; 125: 725s-732s.
- 18) Rao AV, Sung MK. Saponins as anticarcinogens. *J Nutrition* 1995; 125: 717s-724s.
- 19) Adlercreutz H. Lignans and phytoestrogens. Possible preventive role in cancer. *In: Progress in Diet and Nutrition*. Switzerland. 1988; 14: 165.
- 20) Paganelli GM. Effects of vitamin A, C, and E supplementation on rectal cell proliferation in patient with colorectal adenomas. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 47-51.
- 21) Nicholson ML, Neoptolemos JP, Clayton HA, Talbot IC, and Bell PRF. Inhibition of experimental colorectal carcinogenesis by dietary N-6-polyunsaturated fats. *Carcinogenesis* 1990; 11: 2191-2197.
- 22) Choi JS, Kwon TW, Kim JS. Isoflavone contents in some varieties of soybean. *Foods Biotechnol* 1996;

- 5: 167-169.
- 23) Wang H, Murphy PA. Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa: effects of variety, crop year and location. *J Agric Foods Chem* 1994; 42: 1674-1677.
- 24) Kiyosawa I, Matsuyama J, Arai C, Setoguchi T. Suppressive effects of the methanol extracts from soybean products on SOS response of *Salmonella typhimurium* induced by mutagens and their contents of isoflavones. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi* 1995; 42: 835-842.
- 25) 김문경. Sarcoma-180 투여 마우스에서 재래식 된장의 항암효과. 부산대학교 대학원 석사 학위논문 1998.
- 26) Maron DM, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 1983; 113: 173-215.
- 27) Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat Res* 1975; 31: 347-364.
- 28) Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. Factors modulating mutagenicity in microbial test, In: Norphth KH and Gamer RC, eds. Short terms for detecting carcinogens. Berlin, Springer, 1980; pp 273-285.
- 29) 백창원, 함승시. SOS chromotest에 의한 사과와 효소 갈변 반응 생성물의 항돌연변이 효과. 한국식품과학회지 1990; 22: 618-624.
- 30) Miller J. Experiments in molecular genetics. Cold spring harbor laboratory, Cold Spring Harbor NY, 1972.
- 31) Quillardet P, Huisman O, D'Ari R, Hofnung M. SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K12 to measure genotoxicity. *Proc Natl Acad Sci* 1982; 79: 5971-5975.
- 32) Quillardet P, Bellecombe C, Hofnung M. The SOS chromotest a colorimetric bacterial assay for genotoxin; Validation study with 83 compounds. *Mutat Res* 1985; 147: 65-78.
- 33) 임선영. 된장의 항돌연변이 및 항암효과. 부산대학교 대학원, 박사학위논문 1997.