

청국장암의 암예방 증진 연구

1. 대두 및 Starter 종류에 따라 제조된 청국장의 항돌연변이 활성효과

부산대학교 식품영양학과

박 건 영 · 권 은 영 · 정 근 옥

Studies on Enhancing Chemopreventive Effect of *Chungkookjangs*

1. Antimutagenic Activity of *Chungkookjangs* Prepared
with the Different Varieties of Soybean and Starter

Kun-Yong Park, Eun-Young Kwon and Keun-Ok Jung

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

Antimutagenic effects of *chungkookjangs* prepared with the different varieties of soybean and starter were studied against aflatoxin B₁ (AFB₁) using Ames test and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) using SOS chromotest. *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. Joonjuhri and Manrikong effectively reduced the mutagenicity induced by AFB₁. The revertants of the *S. typhimurium* TA100 strain induced by AFB₁ were not decreased when Hwangkeumkong- and US No. 1-used *chungkookjangs* were added to the test system. MNNG induced SOS response of the *E. coli* PQ37 was also blocked by *chungkookjangs* manufactured with var. Joonjuhri and Manrikong in the SOS chromotest. The *chungkookjangs* fermented with rice straw and starter cultures had the strong inhibitory effects on the mutagenicity induced by AFB₁, while the *chungkookjang* prepared with inoculation-free method showed low inhibition rate in the Ames test. In the SOS chromotest, the patterns of antimutagenic effects were almost the same as shown in the Ames test system. The *chungkookjangs* fermented with rice straw and starter culture showed higher inhibitory effect than *chungkookjang* prepared with inoculation-free method. These results indicate that the variety of the soybeans and the starter of the *chungkookjang* differ the degrees of the antimutagenicity of the manufactured final *chungkookjangs*.

Key Words: Variety of soybean, Starter, *Chungkookjang*, Antimutagenicity

서 론

청국장은 콩을 원료로 한 우리나라의 중요한 발효식품으로 간장, 된장, 고추장 등과 함께 오늘까지 상용되어 온 전통 장류 중의 하나로, 곡류를 주식으로 하는 우리 민족이 결핍되기 쉬운 필수 아미노산 및 지방산의 급원 식품으로서 중요한 역할을 담당하여 왔다.¹⁾ 청국장은 콩을 삶아서 실이 나게 띄워 소금, 고춧가루, 마늘 등의 향신료를 함께 섞어 마쇄하여 후숙한 것으로서 간장, 된장, 고추장과는 달리 장류 중 유일하게 무염 하에서 숙성(2~3일)으로 고온(40~50°C)에서 발효시킨 것이다. 청국장은 발효과정 중에 고초균(*Bacillus subtilis*)이나 납두균(*Bacillus natto*) 등이 생산하는 효소에 의해서 그 특유의 구수한 맛과 냄새를 내는 동시에 끈적끈적한 점질물이 생성되며, 대두 단백질이 분해되어 가용성 질소화합물인 peptone, polypeptide, amino acid, amide 등이 생성된다.²⁾ 또한 청국장은 콩으로부터 유래된 trypsin inhibitor,³⁻⁵⁾ isoflavone,^{6,7)} phytic acid,⁸⁾ saponin,⁹⁾ lignan¹⁰⁾과 비타민 E¹¹⁾ 및 불포화지방산¹²⁾ 등의 항암활성물질을 다량 함유하고 있기 때문에 기능성 식품으로서 그 중요성이 재조명되고 있다.

한편 발효과정이 청국장과 비슷한 일본의 낫또(納頭, natto)는 *Bacillus natto* 균을 순수하게 배양한 것으로 증자대두에 낫또균을 살포하여 용기를 봉해 40~50°C의 발효실에서 16~24시간 발효시켜 제조한다. 청국장은 소금, 마늘, 고춧가루, 파 또는 생강 등을 넣어 마쇄한 다음 이를 후숙시켜 저장성을 갖게 한 점이 낫또와는 다르며 그 식용방법도 청국장은 찌개로 끓여 먹는 반면 낫또는 간장이나 겨자와 곁들여 저어서 아침이나 저녁 식사 때 주식인 밥과 함께 그대로 먹는 것이 일본에서 일반적으로 식용하는 방법이다.¹³⁾

이러한 청국장은 발효숙성기간이 짧고 미생물을 이용하는 관계로 원료의 종류, 볶짐에 부착된 고초균의 종류, 숙성온도 및 기간, 통기 상태, 식염농도 등 발효 기법상의 차이에 따른 특유의 풍미의 우열이 청국장의 품질을 결정하는 가장 큰 요인이 되고 있다.¹⁴⁾ 일반적으로 청국장 제조에 사용되는 콩은 대립종의 메주콩이지만 흡수율이

좋고 조직의 연화가 빠르며 지질함량이 작고 탄수화물 함량이 많아 고초균이나 납두균이 잘 번지는 소립종을 사용하기도 한다. 또한 청국장의 제조방법은 볶짐을 이용하거나 삶은 콩만을 이용(무접종)하는 재래식과 균을 접종시키는 개량식 방법으로 대별된다. 따라서 본 실험에서는 콩 품종과 starter를 달리하여 제조된 청국장의 항돌연변이 효과를 비교하여 청국장의 암예방 기능성에 원료의 종류와 고초균의 종류가 미치는 영향을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1) 대두종류 및 Starter를 이용한 청국장의 제조

(1) **사용대두:** 소립종인 준저리(100립 중 10 g, 조단백질 41%, 조지방 19%), 중립종인 만리콩(100립 중 20 g, 조단백질 41%, 조지방 20%), 대립종인 황금콩(100립 중 25 g, 조단백질 41%, 조지방 20%), 수입콩인 U.S. No.1 (100립 중 16 g, 조단백질 35%, 조지방 18%)은 각각 영남 농업 시험장과 수원의 작물시험장, 장류조합에서 분양 받아 청국장 제조 재료로 사용하였다.

(2) **Starter를 달리한 청국장의 제조:** 전통 청국장 제조 방법으로는 무접종법과 볶짐을 이용한 청국장을 제조하였고 개량식 방법으로 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus licheniformis* 균주를 접종한 청국장을 제조하였다. 무접종법은 증자(상압, 4시간) 냉각된 대두를 그대로 40°C 항온기에서 3일간 발효하였고 볶짐을 이용한 청국장제조에서는 5~7 cm로 절제한 볶짐을 깐 상자에 3 cm 두께로 대두를 깔고 그 위에 볶짐을 덮어 발효시켰다. 개량식 방법으로는 균종을 달리하여 전배양한 종균액을 원료의 1% (v/w) 접종하여 동일조건으로 발효시킨 청국장을 제조하여 실험하였다.

(3) **청국장 제조용의 종균 및 배양:** 공시균주는 *Bacillus subtilis* (KCCM 11315)로 한국 미생물 보존센터에서 분양 받아 사용하였으며 제주에서 분리한 *Bacillus licheniformis* CN-115¹⁵⁾균주는 영남대 장류연구소에서 분양받아 사용하였다. 균은 glucose 0.5%를 첨가한 NB배지(Difco, nutrient broth: beef extract 0.3%, peptone 0.5%)에 균을 각각 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후, 균체 농도를 조

절(흡광도 600 nm=0.8)하여 종균액으로 사용하였다.

(4) **청국장의 제조:** 본 실험에 사용한 청국장은 문헌에 의해 표준화된 개량식 방법과 전통식 방법으로 제조하였다.¹⁶⁾ 개량식 청국장을 제조하기 위해 먼저 대두를 정선 및 수세하여 1.5배의 물 (15°C)에 12시간 침지하고 물빼기 하였다. 이를 Erlenmeyer flask에 담아 고압 멸균기(1.0~1.5 kg/cm²)에서 60분 동안 증자하여 50°C로 냉각하였다. 전 배양한 *Bacillus subtilis* 종균액(흡광도 600 nm=0.8)을 원료의 1% (v/w) 접종하고 40°C incubator에서 72시간 발효시켰다. 발효가 끝난 청국장 메주에 소금을 7.6% 첨가하여 혼합·마쇄하여 본 실험에 사용하였다. 또한 전통 청국장은 증자시 상압에서 4시간 삶고 냉각한 후 5~7 cm로 절제한 벗질을 깐 상자에 3 cm 두께로 대두를 깔고 그 위에 벗질을 덮어 발효시켰다.

(5) **시료조제 및 추출:** 동결건조시킨 시료를 마쇄하여 시료에 20배(w/v)의 메탄올을 첨가하여 12시간 교반을 3회 반복한 후 여과하여 회전식 진공 농축기(EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Japan)로 농축하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이들 추출물들은 증류수에 희석하여 실험에 사용하였다.

2) Ames 돌연변이 유발 실험

(1) **실험균주 및 돌연변이 유발물질:** *Salmonella typhimurium* TA100은 *Salmonella typhimurium* LT-2의 histidine 요구성 균주로서 미국 California 대학의 B. N. Ames 박사로부터 제공받아 정기적으로 histidine 요구성, deep rough (*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하면서 실험에 사용하였다. 돌연변이 유발물질인 aflatoxin B₁ (AFB₁)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 각각 DMSO에 녹여 실험에 사용하였다.

(2) **시료의 독성실험 및 돌연변이 유발물질의 농도 결정:** 균주에 대한 시료의 독성유무를 살펴 보기 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 (1~2 $\times 10^9$ cells/ml)와 시료를 첨가하고 가볍게 vortex한 후 nutrient agar plate에 분주, 고화시켜서 37°C

에서 24시간 배양시킨 다음, 그 독성유무를 판정하였다.^{17,18)}

(3) **항돌연변이 효과 실험:** 간접 돌연변이원(AFB₁)을 활성화시키기 위하여 Maron과 Ames의 방법^{17,18)}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%), 1 M NADP (4%), 0.2 M phosphate buffer (pH 7.4) 및 멸균수를 혼합하여 S9 mixture를 조제하였다. 항돌연변이 실험은 preincubation mutagenicity test¹⁹⁾를 이용하여 미리 진열 멸균시킨 cap test tube에 S9 mixture 0.5 ml, 하룻밤 배양된 균주 0.1 ml (1~2 $\times 10^9$ 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 함²⁰⁾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°C에

서 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 Miller²¹⁾의 공식에 의해 enzyme unit (Eu)값을 구하였다.

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

Table 1. Effect of methanol extracts from *chungkookjang* that fermented with various kinds of soybean on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 0.5 μ l/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatment	Concentration (mg/plate)	
	1.25	2.5
Spontaneous AFB ₁ (Control)	141±23 996±56 ^a	141±23 996±56 ^a
AFB ₁ +Joonjuhri-C ¹⁾	681±70 ^c (37) ²⁾	572±51 ^c (50)
+Manrikong-C	683±65 ^c (37)	532±11 ^c (54)
+Hwangkeumkong-C	915±13 ^b (9)	763±48 ^b (27)
+US No.1-C	898±83 ^b (11)	792±7 ^b (24)

¹⁾Chungkookjang

²⁾The values in the parantheses are inhibition rate (%)
^{a-c}Means with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test

4) 통계분석

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

결 과

1) 대두 품종을 달리한 청국장장의 항돌연변이 효과

대두품종을 달리하여 제조한 개량식 청국장장의 메탄올 추출물의 항돌연변이 효과를 검토하기 위해 *Salmonella typhimurium* TA100 균주에서 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과를 검토한 결과는 Table 1과 같다. 수입콩인 미국산 황색 1호와 대립종인 황금콩으로 제조한 청국장은 2.5 mg/plate의 농도에서 30% 이하의 낮은 항돌연변이효과를 보였으나 소립종인 준저리와 중립종인 만리콩을 이용한

Table 2. SOS response of methanol extracts (250 μ g/ assay) from *chungkookjang* that fermented with various kinds of soybean against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 70 ng/assay) in *E. coli* PQ37

Treatment	β -galactosidase (β)		Alkaline phosphatase (a)		I/a	R ²⁾	Inhibition rate (%)
	OD ₄₂₀	Unit	OD ₄₂₀	Unit			
Spontaneous Control (MNNG)	0.359±0.030 0.896±0.028	12.0 29.9	0.234±0.008 0.233±0.006	7.80 7.77	1.53 3.84	1.0 2.51	- -
Joonjuhri-C ¹⁾	0.784±0.054	26.1	0.274±0.006	9.13	2.86	1.87	42
Manrikong-C	0.756±0.016	25.2	0.271±0.034	9.03	2.79	1.82	46
Hwangkeumkong-C	0.808±0.120	26.9	0.228±0.001	7.60	3.54	2.31	13
US No.1-C	0.785±0.025	26.2	0.233±0.044	7.77	3.37	2.20	21

¹⁾Chungkookjang

²⁾R = $\frac{\beta \text{ - galactosidase units}}{\text{Alkaline phosphatase units}}$

청국장은 1.25 mg/plate의 농도에서도 모두 37%의 돌연변이유발 억제효과를 보였다. 또한 준저리와 만리콩으로 제조한 청국장은 2.5 mg/plate의 농도

에서 50% 이상의 항돌연변이 효과를 나타내어 미국산 황색 1호이나 황금콩으로 제조된 청국장보다 높은 돌연변이유발 억제효과를 보였다($p < 0.05$). 미국산 황색 1호는 중소립종 이지만 청국장으로 제조하였을 때 항돌연변이 효과가 낮았다.

Table 3. Effect of methanol extracts from *chungkookjang* that fermented with various kinds of starter on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 0.5 μ l/ plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatment	Concentration (mg/plate)	
	1.25	2.5
Spontaneous	141 \pm 23	141 \pm 23
AFB ₁ (Control)	996 \pm 56 ^a	996 \pm 56 ^a
AFB ₁ +Inoculation-free C	886 \pm 53 ^b (13) ⁴⁾	819 \pm 21 ^b (21)
+Rice straw used C	752 \pm 137 ^{bc} (29)	567 \pm 119 ^c (50)
+BS ¹⁾ inoculated C	683 \pm 65 ^c (37)	532 \pm 11 ^c (54)
+BL ²⁾ inoculated C ³⁾	629 \pm 21 ^c (43)	454 \pm 7 ^c (63)

¹⁾BS: *Bacillus subtilis* KCCM 11315

²⁾BL: *Bacillus licheniformis* CN-115

³⁾*Chungkookjang*

⁴⁾The values in the parantheses are inhibition rate (%)

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

SOS chromotest를 이용하여 MNNG에 대한 대두의 종류를 달리한 4 종류의 청국장의 SOS 반응 억제효과를 살펴본 결과(Table 2) Ames 실험계에 서와 유사한 효과를 보였다. 250 μ g/assay 농도에서 대립종인 황금콩과 미국산 황색 1호로 제조한 청국장은 각각 13%와 21%의 항돌연변이 효과를 나타내었으나 중립종인 만리콩과 소립종인 준저리로 제조한 청국장은 모두 MNNG에 의한 *E. coli* PQ37의 SOS response를 40% 이상 억제하였다.

위의 결과로부터 암예방효과가 높은 청국장을 제조하기 위한 원료 대두로는 일반적으로 대립종 보다는 소립종 및 중립종이 우수한 것으로 나타났다.

2) Starter를 달리한 청국장의 항돌연변이 효과

Starter를 달리하여 제조한 청국장의 메탄올 추출물로 Ames test를 실시하여 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과를 비교한 결과는 Table 3과 같다. Starter를 첨가하지 않고 증자 대두만으로 제조한 전통식 청국장은 2.5 mg/plate에서도 21%의 낮은

Table 4. SOS response of methanol extracts (250 μ g/assay) from *chungkookjang* that fermented with various kinds of starter against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 70 ng/assay) in *E. coli* PQ37

Treatment	β -galactosidase (β)		Alkaline phosphate (a)		μ /a	R ²⁾	Inhibition rate (%)
	OD ₄₂₀	Unit	OD ₄₂₀	Unit			
Spontaneous	0.359 \pm 0.030	12.0	0.234 \pm 0.008	7.80	1.53	1.0	-
Control (MNNG)	0.896 \pm 0.028	29.9	0.233 \pm 0.006	7.77	3.84	2.51	-
Inoculation-free C	0.720 \pm 0.016	24.0	0.239 \pm 0.008	7.97	3.01	1.97	36
Rice straw used C	0.784 \pm 0.039	26.1	0.271 \pm 0.028	9.03	2.89	1.89	41
BS ¹⁾ inoculated C	0.756 \pm 0.016	25.2	0.271 \pm 0.034	9.03	2.79	1.82	46
BL ²⁾ inoculated C ³⁾	0.686 \pm 0.027	22.9	0.249 \pm 0.021	8.30	2.76	1.80	47

¹⁾BS: *Bacillus subtilis* KCCM 11315, ²⁾BL: *Bacillus licheniformis* CN-115, ³⁾*Chungkookjang*

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

항돌연변이 효과를 보였으나 벗짚을 첨가하여 제조한 전통식 청국장은 1.25 mg/plate에서도 29%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 또한 2.5 mg/plate의 농도에서는 AFB₁에 의한 *Salmonella typhimurium* TA100 균주의 복귀돌연변이를 50% 억제하였다. 접질능이 우수한 *Bacillus licheniformis* CN-115를 사용하여 제조한 청국장은 1.25 mg/plate와 2.5 mg/plate의 농도에서 각각 43%와 63%의 돌연변이유발 억제효과를 나타내어 starter를 달리하여 제조한 청국장 중 가장 높은 항돌연변이 효과를 보였다. SOS chromotest에서도 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus licheniformis* CN-115을 균을 접종하여 제조한 개량식 청국장이 증자 대두만으로 제조한 전통식 청국장보다 10% 이상 높은 항돌연변이 효과를 보였다(Table 4). 이상의 결과로부터 기능성의 측면에서 가장 적절한 청국장의 종균으로는 *Bacillus licheniformis* CN-115이 우수함을 알 수 있었다.

고 찰

장류 중에서 청국장은 발효숙성기간이 짧은 속성장이기 때문에 전통적으로 콩을 수확한 뒤 늦가을부터 초봄 사이에 각 가정에서 손쉽게 제조 이용하여 왔다. 그 제조방법이 정형화된 것은 없었지만 경험에 의해서 전래된 방법대로 제조하여 온 것이 사실이다. 그러나 청국장은 각 지방 또는 가정마다 제조방법이 일정하지 않으며 그 품질은 콩의 종류와 벗짚에 부착된 고초균의 종류 및 발효조건 등에 따라 크게 다르게 된다.²⁾

일반적으로 청국장 제조에 사용되는 콩은 대립종의 메주콩이지만, 흡수율이 좋고 조직의 연화가 빠르며 지질함량이 작고 탄수화물 함량이 많아 고초균이나 납두균이 잘 번지는 소립종을 사용하기도 한다.^{22,23)} 원료대두는 알이 고르고 험잡물이 없는 것이 좋고 국산 햇콩이 선호되고 있으나 산업체에서는 단가를 낮추기 위해 수입콩을 사용하고 있음이 조사된 바 있다.²⁴⁾ 따라서 본 연구에서는 우리나라의 청국장과 비슷한 일본 natto의 원료 대두인 준저리(소립종), 항돌연변이 및 항암효과가 우수하였던 만리콩(중립종),²⁵⁾ 민간에 장류의 원료 대두로 널리 이용되는 황금콩(대립종),

그리고 수입콩인 미국산 황색 1호를 이용한 청국장을 제조하여 Ames 실험계와 SOS chromotest에서 항돌연변이효과를 비교하였다. 대립종인 황금콩이나 수입콩인 미국산 황색 1호로 제조된 청국장 보다 소립종인 준저리와 중립종인 만리콩으로 제조된 청국장이 2배 이상 높은 항돌연변이효과를 나타내었다. 고등²⁵⁾은 품종과 재배년도가 다른 콩으로 제조된 청국장의 항돌연변이 효과를 비교한 결과 묵은 콩보다는 햇콩으로 제조된 청국장이 돌연변이 유발 억제효과가 높았으며 중립종인 만리콩으로 제조된 청국장이 중대립종인 검정콩 1호나 대립종인 황금콩으로 제조된 청국장보다 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다고 하였다. 또한 이²⁴⁾는 국산콩과 외국산콩으로 청국장을 제조하여 관능검사를 실시한 결과 국산콩이 미국산콩에 비해 발효가 잘 되고 관능적으로 우수하다고 하였다. 이는 상대적으로 국산콩이 외국산콩에 비해 단백질 함량이 높아 청국장균이 자라는 배지로서의 조건이 우수하며 외국산 콩은 수송과정에서 발생하는 부패와 해충을 방지하기 위한 약제 살포로 인하여 청국장 균이 자라는 조건을 저하시키는 것으로 사료된다고 하였다.

따라서 청국장의 암예방효과를 증진시키기 위해서 원료대두는 국산 햇콩 중 중립종인 만리콩을 사용하는 것이 유리한 것으로 사료된다.

청국장의 제조방법은 벗짚을 이용하거나 삶은 콩만을 이용(무접종)하는 재래식과 균을 접종시키는 개량식 방법으로 대별된다. 이때 재래식 청국장제조 과정에서 벗짚을 이용할 경우 벗짚을 찢콩 사이에 꽂아서 하기도 하지만 대부분 벗짚을 깎아 시루에 대두를 넣고 벗짚을 덮어서 축축한 면보자기나 담요를 씌워서 따뜻한 방 아래쪽(습도 80~90%, 40°C)에서 3일 발효시킨다. 이 기간 동안 벗짚에 붙어있던 청국장 균이 증자에 옮겨서 발효를 하게 되는데 벗짚은 비위생적이고 재현성도 좋지 않기 때문에 개량식 방법에서는 *Bacillus subtilis* 종균을 이용하여 원료무게의 1%를 접종하여 40°C 72시간 발효시키는 방법을 이용한다.³⁾ 이 실험에서 재래식 방법으로 무접종법과 벗짚 이용법, 개량식 방법으로 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus licheniformis* CN-115를 이용한 청국장을 제조하여 항돌연변이 효과를 비교하였다. 그 결과 무접종법

보다는 벗짚을 사용하거나 균을 접종하는 것이 항돌연변이 효과가 높았다.

권¹⁶⁾은 대두를 그대로 자연 발효시킨 청국장은 pH와 아미노태 질소함량이 낮아 전반적으로 발효가 되지 않았고 벗짚을 이용한 청 국장은 아미노태 질소의 함량은 높고 암모니아태 질소의 함량은 낮아 발효능이 우수하였으며, *Bacillus licheniformis* CN-115를 이용하여 제조한 청국장이 pH, 아미노태 질소와 암모니아태 질소 함량 및 ATP활성이 높아 발효능이 가장 우수하다고 하였다. 고등²⁵⁾은 발효된 청국장은 발효되지 않은 청국장보다 돌연변이 억제효과가 높아 청국장을 발효시키는 과정에서 다른 발효산물들이 효과적으로 항돌연변이성을 나타내는 것으로 보인다고 하였다. 이 결과로 볼 때 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus licheniformis* CN-115 등의 균주를 접종하여 제조한 청국장의 높은 항돌연변이 효과는 종균의 발효력에 의한 것으로도 사료된다. 따라서 위생적이고 재현성이 있으며 암예방효과가 높은 청국장을 제조하기 위해서는 *Bacillus licheniformis* CN-115와 같은 우수한 종균을 접종하여 청국장을 제조하는 것이 바람직 한 것으로 보인다.

결 론

Salmonella typhimurium TA100 균주를 이용하여 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과를 검토한 결과 소립종(준저리)이나 중립종(만리콩)을 이용한 청국장이 대립종(황금콩)이나 수입콩(미국산 황색 1호)으로 제조된 청국장보다 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다. SOS chromotest에서는 중립종인 만리콩으로 제조된 청국장이 돌연변이유발 억제 효과가 높았다. Starter를 달리하여 제조한 청국장 중에서는 개량식 방법으로 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus licheniformis* CN-115를 접종하여 제조한 청국장이 높은 항돌연변이 효과를 보였다. 전통식 방법으로 제조된 청국장 중에서 벗짚을 이용한 청국장이 삶은 콩만을 이용(무접종)한 청국장보다 AFB₁에 대한 돌연변이 유발억제효과가 높았다. SOS chromotest에서도 벗짚이나 starter 균주를 이용한 청국장이 높은 항돌연변이효과를 나타내어 암예방 효과가 높은 청국장을 제조하기 위해서는

소립종이나 중립종의 콩을 사용하고 starter 균주를 이용하는 것이 유리한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 대구대학교 농산물 저장·가공 및 산업화 연구센터의 지원에 의한 것으로 이에 감사를 드립니다.

참고 문헌

- 1) 김진숙, 유선미, 최정숙, 박홍주, 홍선표, 장창문. 전통청국장의 이화학적 특성. 한국농화학회지 1998; 41(5): 377-383.
- 2) 장창문. 청국장의 품질 특성. 농촌생활과학 1996; 17(4): 52-57.
- 3) Kennedy AR. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. *J Nutr* 1995; 125: 733s-743s.
- 4) Kennedy AR, Little JB. Effects of protease inhibitors on radiation transformation *in vitro*. *Cancer Res* 1981; 41: 2103-2108.
- 5) Kuroki T, Drevon C. Inhibition of chemical transformation in C3H/10T1/2 cells by protease inhibitors. *Cancer Res* 1979; 39: 2755-2761.
- 6) 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 Nutr* 1995; 125(3 Suppl): 757s-770s.
- 7) Jing Y, Waxman S. Structural requirements for differentiation-induction and growth-inhibition of mouse erythroleukemia cells by isoflavones. *Anticancer Res* 1995; 15: 1147-1152.
- 8) Shamsuddin AM. Inositol phosphates have novel anticancer function. *J Nutrition* 1995; 125: 725s-732s.
- 9) Rao AV, Sung MK. Saponins as anticarcinogens. *J Nutr* 1995; 125: 717s-724s.
- 10) Adlercreutz H. Lignans and phytoestrogens. Possible preventive role in cancer. In: Progress in Diet and Nutrition. Switzerland. 1988; 14: 165.
- 11) 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.
- 12) Nicholson ML, Neoptolemos JP, Clayton HA, Talbot IC, Bell PRF. Inhibition of experimental colorectal

- carcinogenesis by dietary N-6-polyunsaturated fats. *Carcinogenesis* 1990; 11: 2191-2197.
- 13) 이한창. 발효식품. 신광출판사 1996; pp 108-110.
 - 14) 최웅규, 지원대, 정영진. *Bacillus subtilis* DC-2로 제조한 청국장의 특성. 한국식품영양과학회지 1998; 27(5): 846-851.
 - 15) 석영란, 김영환, 김성, 우희섭, 김태완, 이선호, 최 청. *Bacillus licheniformis* CN-115균주를 이용한 청국장 제조과정에 있어서 단백질 아미노산의 변화. 한국농화학회지 1994; 37: 65-71.
 - 16) 권은영. 청국장 제조의 표준화와 암예방 효과. 부산대학교 대학원 석사학위논문 2000.
 - 17) Maron DM, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 1983; 113: 173-215.
 - 18) 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.
 - 19) 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.
 - 20) 백창원, 함승시. SOS chromotest에 의한 사과와 효소갈변반응 생성물의 항돌연변이 효과. 한국식품과학회지 1990; 22: 618-624.
 - 21) Miller J. Experiments in molecular genetics. Cold spring harbor laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., 1972.
 - 22) 주현규. 청국장은 기능성 건강식품. 농촌문화 가을 1996; pp 15.
 - 23) 장창문. 전통 청국장의 품질 향상과 산업화 기술 연구. 제1회 장류심포 지움 및 장류전시회 1998; pp 157.
 - 24) 이법권. 국산콩과 외국산콩의 청국장(무염발효 콩) 발효비교. 한국콩연구회지 1996; 13: 25-28.
 - 25) 고현숙, 주현규, 정근옥, 박건영. 콩 종류에 따른 청국장의 항돌연변이 효과. 대한암예방학회지 1999; 4: 204-212.
-