pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 38, No. 6, pp. 551~556 (2023)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2023.38.6.551

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

염소고기 열수추출물 처리에 따른 항산화 활성 및 암 세포주에서 항암 관련 단백질 발현량 확인

오제이 · 윤요한*
숙명여자대학교 식품영양학과

Antioxidant Activity of Goat Meat Hot Water Extract and Effect of Extract on Expression of Apoptosis-Related Proteins

Jei Oh, Yohan Yoon*
Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul, Korea

(Received September 20, 2023/Revised November 17, 2023/Accepted November 22, 2023)

ABSTRACT - This study was conducted to evaluate *in vitro* antioxidant activity of goat meat hot water extracts and the changes in apoptosis-related protein expression levels in the cancer cells treated with these extracts. Goat meat hot water extracts were prepared using different cuts of goat meat, including foreleg, hindleg, loin, and rib. Among these extracts, the foreleg and hindleg extracts displayed higher (P<0.05) ABTS radical scavenging activity than the other two extracts. Protein expression levels of BAX, p53, and p21 were not different in the cells treated with the extracts from different cuts, regardless of the cell type. Only p53 expression in HT-29 cells was elevated (P<0.05) after loin extract treatment. These results suggest that antioxidant activity and apoptosis-related effects of goat meat hot water extract varied with cut of meat under *in vitro* conditions. Because all data was obtained from the *in vitro* experiment, the ability to generalize conclusions is limited. Additional *in vivo* studies are necessary.

Key words: Goat meat, Antioxidant activity, Cancer cell, Cell cycle, Apoptosis

지난 몇 년간 인구 증가로 많은 국가들의 육류 소비가 증가하였으며, 육류 중 염소고기의 소비 증가가 관찰되었다[1,2]. 우리나라의 경우, 2020년 염소 사육 농장수와 사육 두수가 2014년 대비 각각 115.4% 및 102.6%로 증가하였으며 도축 마리수 또한 증가한 것으로 나타나 국내 염소고기 소비 또한 점차 확대될 것으로 전망되어진다[3]. 염소고기는 최근 고단백질 급원 식품으로써 소고기, 양고기와 같은 주요 소비 적색육과 비교하여 유사한 수준의 단백질을 가지며 낮은 포화지방과 콜레스테롤을 가지고 있는 것으로 보고되었다[4,5].

예로부터 염소는 고기 자체보다는 고기 추출물 또는 뼈 추출물 형태의 약용으로 소비가 더 많이 이루어져왔다[6]. 특히 흑염소 고기 추출물의 경우, 임산부 뿐만 아니라 어린이, 고령층 및 회복기 환자에게도 좋은 약용 식품으로 알려져 있다[6]. 이는 흑염소 고기가 지방 함량이 낮은 반면, 리신, 트립토판, 트레오닌 등의 아미노산과 칼슘, 철분, 비타민 E와 같은 무기질 및 비타민 함량이 높으며 소화흡수율이 좋기 때문인 것으로 추정되어진다[7,8].

식품과 관련된 염소고기 선행 연구로는 급여 사료에 따른 이화학적 특성 확인[9-11], 조리방법에 따른 물리적 특성 분석[3], 영양성분 조성 분석[12], 약용을 위한 추출물 제조법[13] 등으로 기본적인 특성 분석에 집중되어 있다. 이에 반해, 염소고기 자체의 생리활성 및 기능성 탐색과 관련된 연구는 상대적으로 부족한 실정이며, 부위별 염소고기에 대한 영양학적 평가 또한 제한적으로 이루어지고 있다[6,13].

따라서 본 연구는 염소고기 부위별(앞다리, 뒷다리, 등심, 갈비) 열수 추출물의 항산화 활성을 분석하고 추출물 처리에 따른 암세포주의 항암 관련 단백질 발현량 확인을 통해 *in vitro* 상에서 염소고기의 생리활성을 탐색하였다.

*Correspondence to: Yohan Yoon, Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 04310, Korea
Tel: +82-2-2077-7585, Fax: +82-2-710-9479
E-mail: yyoon@sookmyung.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Materials and Methods

염소고기 열수추출물 제조

본 실험에서 부위별 염소고기 열수추출물을 제조하기 위해 생후 12개월령 염소의 앞다리, 뒷다리, 등심, 갈비 부위를 가온유통주식회사(Gangjin, Korea)로부터 구입하였다. 염소고기 앞다리, 뒷다리, 등심, 갈비 부위 20 g을 각각 믹서기(SHMF-3080SS, Hanil Electric, Seoul, Korea)로 분쇄하고 증류수 80 mL을 가한 다음 100°C에서 160분 가열하였다[14]. 가열된 혼합액을 원심분리(1,400×g, 25°C, 30 min) 후, 상등액을 No. 1 filter paper (Cytiva Whatman™, Marlborough, MA, USA)로 여과하여 -20°C에서 보관하며 시료로 사용하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy (DPPH; Alfa Aesar, Ward Hill, MA, USA)를 이용하여 각 부위별 염소고기 열수추출물의 자유라디칼 소거능을 측정하였다. 0.2 mM DPPH 300 μL와 추출물 300 μL를 혼합하여 실온 암실에서 30분간 반응시킨 뒤, 원심분리(9,358×g, 10 min)하여 얻은 상등액 100 μL를 96-well microtiter plate (SPL Life Sciences Co., Ltd, Pocheon, Korea)에 옮겨 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 추출물 대신 추출에 사용된 용매만을 넣은 것으로 시료와 같은 방법을 통해 측정되었으며, DPPH 라디칼 소거능은 다음 식을 이용하여 백분율로 나타내었다[15,16].

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = 1 - (OD_{\text{시료첨가군}}/OD_{\text{대조군}}) \times 100$$

ABTS 라디칼 소거능 측정

각 부위별 염소고기 열수추출물 시료 50 μL를 2,2'-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Gemany) 라디칼 용액 950 μL와 혼합하여 30°C 암실에서 30분간 반응시킨 뒤, 원심분리(9,358×g, 10 min) 후 얻은 상등액 100 μL를 96-well microtiter plate에 옮겨 734 nm에서 흡광도를 측정하였다[6]. ABTS 라디칼 용액 준비를 위해 가장 먼저 2.45 mM potassium persulfate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 7 mM ABTS 용액을 혼합하여 12시간 동안 실온 암실에서 보관하였다. Potassium persulfate-ABTS 혼합액은 증류수를 이용하여 734 nm에서 흡광도가 0.70±0.02이 되도록 조정한 뒤 분석에 사용되었다. ABTS 라디칼 소거능은 시료 첨가군과 대조군의 흡광도 차이를 다음 식을 이용하여 백분율로 나타내었다[17].

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = 1-(OD_{\text{시료첨가군}}/OD_{\text{대조군}})\times 100$$

암세포주 배양 및 Western blot 분석

위암 세포주 AGS는 10% fetal bovine serum (FBS; WelGENE Inc., Gyeongsan, Korea)과 1% penicillin and streptomycin (PS; Gibco, Rockville, MD, USA)을 첨가한 RPMI-1640 (WelGENE Inc.)에 배양하였으며, 대장암 세포주 HT-29는 10% FBS와 1% PS를 첨가한 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM; WelGENE Inc.)에 배양하였다. 두 세포주는 모두 37°C, 5% CO_2 배양기에서 계대 배양된 뒤 실험에 사용되었다. AGS 세포와 HT-29 세포를 각각의 배양 배지에 5×10^5 cells/mL이 되도록 희석한 뒤 6-well microtiter plate에 seeding하여 37°C, 5% CO_2에서 24시간 배양하였다. 배양된 세포를 Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS; WelGENE Inc.)로 1회 세척한 뒤, 10배 희석된 각 부위별 추출물을 각 세포에 처리하여 37°C, 5% CO_2에서 3시간동안 배양하였다[14]. 세포의 회수를 위해 각 well의 배지를 제거하고 차가운 DPBS로 1회 세척한 뒤 200 μL의 RIPA buffer (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea)를 첨가하여 30분 동안 얼음 위에서 방치하였다. 회수된 세포의 원심분리(15,814×g, 4°C, 15 min) 이후 상등액을 새로운 microcentrifuge tube로 이동시켜 단백질 추출을 완료하였다. 추출된 단백질은 DC™ Protein Assay (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)를 통해 정량 후 12% sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 통해 크기별로 분리하였다. 이어서 Polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane (GE Healthcare Life Sciences, Marlborough, MA, USA)에 단백질을 이동시키고, 5% skim milk (KisanBio Co., Ltd, Seoul, Korea)를 membrane에 20°C에서 1시간동안 처리하였다. 이어서 western blotting을 위해 사용된 1차항체는 BAX (sc-7480, 1:300), p53 (sc-100, 1:300), p21 (sc-6246, 1:300), β-actin (sc-81178, 1:1000)이며, Santa Cruz Biotechnology (Dallas, TX, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 2차항체는 goat anti-mouse IgG (WG321764, 1:5,000; Invitrogen, Waltham, MA, USA)를 사용하였다. 세포의 단백질 발현량 확인을 위해 Bio Molecular Imager (Amersham Imager 600; GE Healthcare Life Science)를 통해 밴드를 확인하였으며, GelQuant software v.2.7. (DNR Bio Imaging Systems, Jerusalem, Israel)을 사용하여 밴드의 intensity를 정량하였다.

통계학적 분석

모든 실험은 3회 이상 반복되었으며, 통계처리를 위해 SAS® ver. 9.4 (SAS OnDemand on, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하였다. SAS® ver. 9.4의 일반선형모델(general linear model)을 이용하여 통계적 유의성을 확인하였으며, 통계적 유의 수준은 $P<0.05$ 수준으로 평가하였다.

Results and Discussion

항산화 활성

DPPH와 ABTS 라디칼 소거능 측정은 식품 시료에 존재하는 항산화능을 측정하기 위한 대표적인 방법들로 색깔을 띤 합성 라디칼이 분석 시료에 의해 얼마나 소거될 수 있는지 흡광도를 통해 측정하는 방법이다[18]. 염소고기 부위별 열수추출물 처리에 따른 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능은 Fig. 1과 같다. 앞다리, 뒷다리, 등심, 갈비 네 가지 부위에 따른 염소고기 추출물 사이에는 DPPH 라디칼 소거능에 대한 유의적 차이가 나타나지 않았다. 반면, ABTS 라디칼 소거능 측정 결과 앞다리와 뒷다리 부위에서 각각 64.8±2.5%, 63.6±7.2%로 등심과 갈비 부위보다 높게 나타났다(P<0.05). ABTS 라디칼은 비극성 물질에 한정된 DPPH 라디칼과 비교하여 다양한 식품 내에 존재하는 극성 또는 비극성을 띄는 항산화 성분과 반응할 수 있다[19,20]. 또한, pH 작용 범위가 넓어 ABTS 라디칼 소거능 측정이 DPPH 라디칼 소거능 측정보다 더 적용 범위가 넓은 것으로 알려져 있다[21]. Mirzaae 등[22]에 따르면 염소고기 가슴 부위의 DPPH 라디칼 소거능은 31%로 본 연구결과의 4가지 부위에 대한 DPPH 라디칼 소거능(29.3-32.9%)과 유사하게 나타났으며, ABTS 라디칼 소거능은 70%로 본 연구 결과와 같이 DPPH보다 ABTS 값이 더 높게 나타났다. Moon 등[23]의 연구에 따르면 염소 다리 부위의 트레오닌, 아스파르트산, 세린 및 글루탐산과 같은 아미노산 함량이 목, 등심, 갈비 부위보다 높게 확인되었으며, FRAP 활성 측정 시 다리 부위가 갈비와 등심 부위보다 높게 확인되어 본 연구결과에서 나타난 ABTS 라디칼 소거능 결과와 유사한 경향으로 확인되었다. 이처럼 염소고기를 구성하고 있는 성분과 이에 따른 생리학적 활성 또한 부위별로 측정결과가 어느정도 다르게 나타날 수 있어 염소고기 열수추출물의 항산화 활성이 부위에 따라 다르게 나타난 것으로 추정되나 추가적인 연구를 통해 좀 더 확증적 결과를 얻을 필요가 있다.

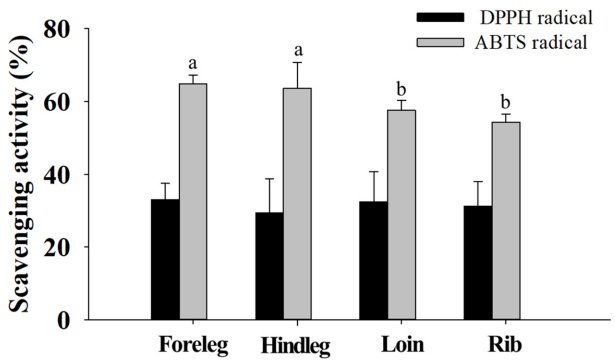

Fig. 1. DPPH radical scavenging activity(%) and ABTS radical scavenging activity (%) of goat meat extract.
[a-b]Values are significantly different at P<0.05.

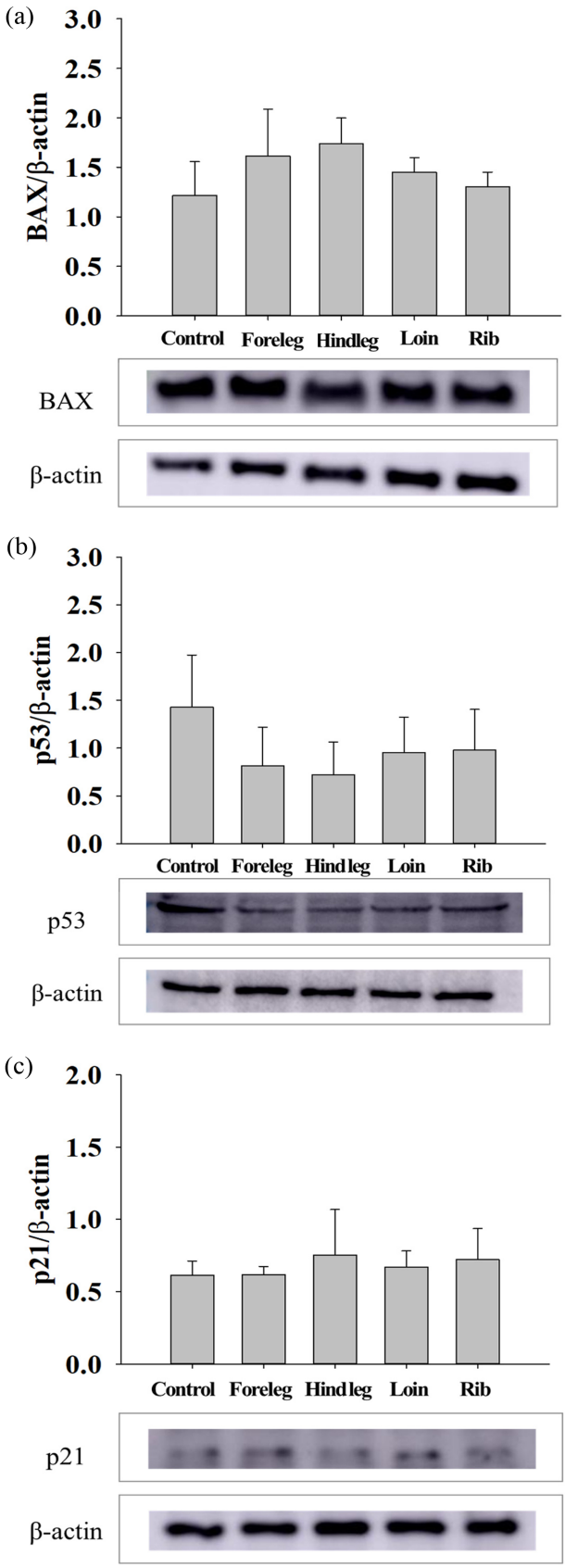

Fig. 2. Apoptosis-related protein expression levels in AGS cells treated with goat meat extract. (A) BAX, (B) p53, and (C) p21.

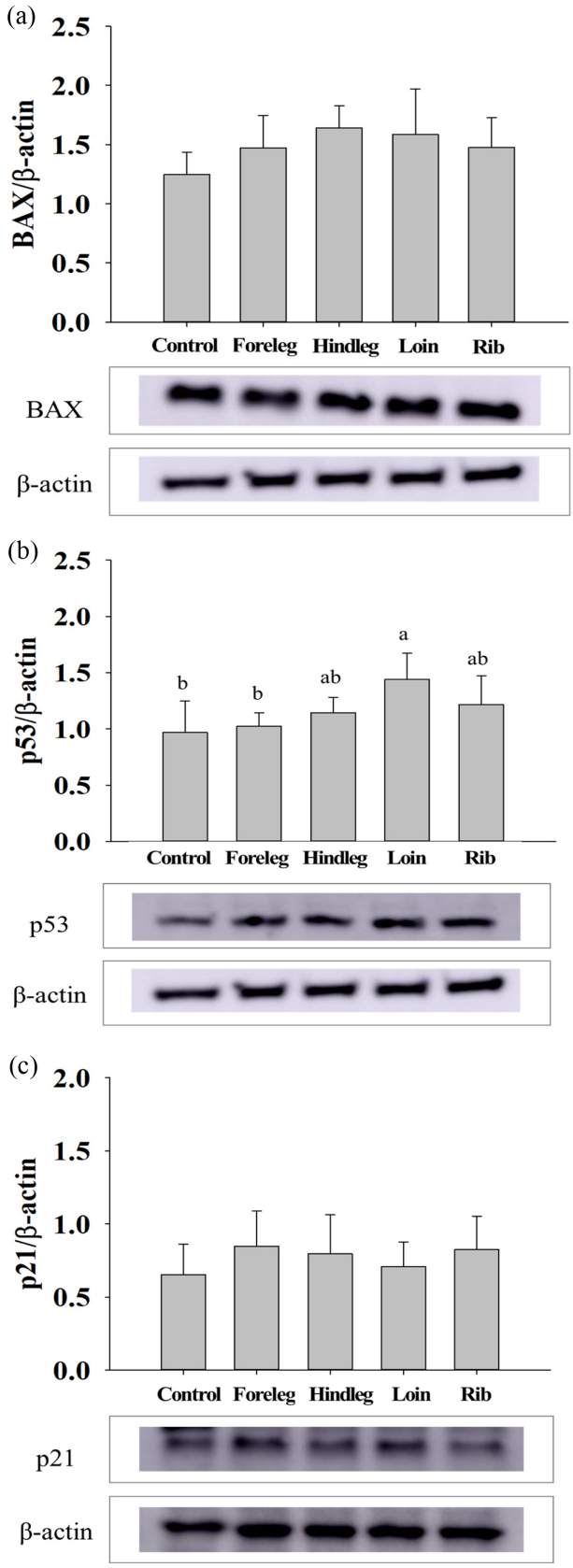

Fig. 3. Apoptosis-related protein expression levels in HT-29 cells treated with goat meat extract. (A) BAX, (B) p53, and (C) p21. [a-b]Values are significantly different at $P<0.05$.

암 세포주의 BAX, p53, p21 발현량

종양의 발생은 세포의 재생과 사멸이 적절하게 조절되지 못하고 계속적으로 세포가 증식하는 특성에 의해 나타나는 것으로 알려져 있다[24-26]. 종양학에서 많이 연구되어지고 있는 세포의 사멸 조절 기전은 세포자멸사로 BAX, p53, p21이 주요 관여 인자들로 알려져 있다[26,27]. p53은 암 발생과 관련된 주요 종양억제인자로 DNA 손상 시에 p21의 발현량을 증가시켜 세포주기 진행 및 DNA 합성을 억제 시키고, BAX의 발현량을 증가시켜 세포자멸사를 유발할 수 있다[26,28]. 본 연구에서는 염소고기 부위별 열수추출물 처리에 따른 암 세포주의 BAX, p53, p21 발현량을 확인하기 위해 위암 세포주 AGS와 대장암 세포주 HT-29를 활용하였으며, loading control로 house-keeping protein인 β-actin을 사용하여 단백질 발현량을 표준화(normalization) 하였다[29]. 염소고기 부위별 열수추출물 처리에 따른 AGS 세포의 BAX, p21 단백질 발현량은 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하였을 때, 유의적인 차이가 확인되지 않았다(Fig. 2). AGS와 유사하게 염소고기 부위별 열수추출물 처리에 따른 HT-29의 BAX, p21 단백질 발현량은 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 유의차가 없었으며, 단지 HT-29 세포의 p53 발현량은 등심 부위 처리군에서만 대조군과 비교하여 유의적으로 높은 발현량이 확인되었다($P<0.05$) (Fig. 3). 이 결과는 염소고기에 한정된 것으로 향후 다른 육류들과의 비교실험을 통해 관련 단백질의 발현을 비교할 필요가 있다.

결론적으로 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 통한 염소고기 부위별 열수추출물의 항산화능 측정 결과, 다른 부위와 비교하여 앞다리와 뒷다리 부위에서 높게 확인되었다. BAX, p53, p21의 단백질 발현량은 부위에 따른 염소고기 열수추출물 처리 시 AGS 세포주 및 HT-29 세포주에서 모두 비슷한 수준으로 나타났으나, 단지 HT-29에 대한 등심 부위 처리군에서 일부 높게 확인되었다. 하지만, 본 연구 결과는 *in vitro*에서만 수행된 것으로써 적용 또는 일반화 할 수 있는 한계가 있으므로 *in vivo* 및 구체적인 염소고기 열수추출물 성분 분석과 같은 후속 연구들이 필요하다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청의 국립축산과학원 공동연구사업(과제번호: PJ016217)의 지원을 받아 수행된 연구 결과이며 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구는 *in vtiro* 상에서 부위별 염소고기 열수 추출물의 항산화 활성을 측정하고 추출물 처리에 따른 암세포

주의 세포자멸사 관련 단백질 발현 수준의 변화를 확인하였다. 부위별 염소고기 열수 추출물의 경우, 앞다리, 뒷다리, 등심 및 갈비 부위의 분할육으로 제조하였다. 제조된 열수추출물 중 앞다리와 뒷다리 부위 추출물의 ABTS 라디칼 소거능이 다른 두 부위 추출물보다 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). BAX, p53, p21의 단백질 발현량은 부위에 따른 염소고기 열수추출물 처리 시 AGS 세포주 및 HT-29 세포주에서 모두 비슷한 수준으로 나타났다. 단지, 등심 부위 열수 추출물 처리 시 HT-29 세포주의 p53 발현량이 대조군과 비교하여 유의적으로 높았다(P<0.05). 본 연구 결과는 염소고기 열수 추출물의 항산화 활성 및 일부 세포자멸사 관련 단백질 발현량 변화가 부위에 따라 다르게 나타남을 보이고 있으나 본 결과는 *in vitro*에서만 수행된 것으로써 결과의 적용 또는 일반화에 한계가 있기 때문에 *in vivo*에서 후속 연구가 필요하다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Jei Oh https://orcid.org/0000-0002-7215-1495
Yohan Yoon https://orcid.org/0000-0002-4561-6218

References

1. Kadim, I.T., Sahi, A.B.A., Health aspects of camel meat: a review of literature. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, **6**, 271–272 (2018).
2. Mazhangara, I.R., Chivandi, E., Mupangwa, J.F., Muchenje, V., The potential of goat meat in the red meat industry. *Sustainability*, **11**, 3671 (2019).
3. Lee, J.A., Kim, H.W., Seol, K., Cho, S., Kang, S.M., Effect of cooking method on the nutritional composition and tenderness of loin from Korean black goat crossbreed. *Resour. Sci. Res.*, **4**, 105-114 (2022).
4. Ivanović, S., Pavlović, I., Pasinov, B., The quality of goat meat and it's impact on human health. *Biotechnol. Anim. Husb.*, **32**, 111-122 (2016).
5. Madruga, M., Bressan, M.C., Goat meats: Description, rational use, certification, processing and technological developments. *Small Rumin. Res.*, **98**, 39-45 (2011).
6. Kim, H.J., Kim, H.J., Jang, A., Nutritional and antioxidative properties of black goat meat cuts. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, **32**, 1423-1429 (2019).
7. Gil, B., Song, H., Establishment of quality index on the black-goat meat extracts. *Korean J. Food Nutr.*, **14**, 322-328 (2001).
8. Lalhriatpuii, M., Singh, A.K., 2021. Goat meat: No less source of protein in comparison to other meat for human consumption. In: (Ed.), Goat science - environment, health and economy. Intech Open, London, UK.
9. Choi, S.H., Park, B.Y., Cho, Y.M., Choi, C.Y., Kwon, E.G., Kim, Y.K., Hur, S.N., Effects of feeding browses on growth and meat quality of Korean native goats. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, **45**, 819-824 (2003).
10. Choi, S.H., Kim, S.W., Park, B.Y., Sang, B.D., Kim, Y.K., Myung, J.H., Hur, S.N., Effects of dietary crude protein level on growth and meat quality of Korean native goats. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, **47**, 783- 788 (2005).
11. Jeong, C.H., Soe, K.I., Shim, K.H., Effects of fermented grape feeds on physio-chemical properties of Korean goat meat. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **35**, 145-149 (2006).
12. Panayotov, D., Study on chemical composition, fatty acid composition and technological quality of meat in Boer goat kids. *Bulg. J. Agric. Sci.*, **27**, 1248-1257 (2021).
13. Song, H.N., Leem, K.H., Kwun, I.S., Effect of water extract and distillate from the mixture of black goat meat and medicinal herb on osteoblast proliferation and osteoclast formation. *J. Nutr. Health.*, **48**, 157-166 (2015).
14. Kang, J., Kim, S., Lee, Y., Oh, J., Yoon, Y., Effects on goat meat extracts on α-glucosidase inhibitory activity, expression of Bcl-2-associated X (BAX), p53, and p21 in cell line and expression of Atrogin-1, Muscle Atrophy F-Box (MAFbx), Muscle RING-Finger Protein-1 (MuRF-1), and Myosin Heavy Chain-7 (MYH-7) in C2C12 myoblsts. *Food Sci. Anim. Resour.*, **43**, 359-373 (2023).
15. Kang, K.M., Kim, H.Y., Kim, Y.J., Shin, D.H., Yu, S.H., Yoon, J.W., Lee, P.L., Jang, M.S., Kim, D.W., Antioxidant activity of beef tteokgalbi added with raspberry and shiitake mushroom powder. *Resour. Sci. Res.*, **2**, 86-95 (2020).
16. Choi, S.G., Kim, Y.S., Quality characteristics and antioxidant activity of puffed rice vinegar added with lemon balm extracts. *J. Food Hyg. Saf.*, **35**, 503-512 (2020).
17. Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Voss, H., Bast, A., Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chem. Toxicol.*, **42**, 45-49 (2004).
18. Floegel, A., Kim, D., Chung, S., Koo, S.I., Chun, O.K., Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J. Food Compos. Anal.*, **24**, 1043-1048 (2011).
19. Cho, A.R., Park, K.W., Kim, K.M., Kim, S.Y., Han, J.J., Influence of roasting conditions on the antioxidant characteristics of Colombian coffee (*Coffea arabica L.*) beans. *J. Food Biochem.*, **38**, 271-280 (2014).
20. Lee, J.J., Son, H.Y., Choi, Y.M., Cho, J.H., Min, J.K., Oh, H.K., Physicochemical components and antioxidant activity of Sparassis crispa mixture fermented by lactic acid bacteria. *Korean J. Food Preserv.*, **23**, 361-368 (2016).
21. Martysiak-Żurowska, D., Wenta, W., A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, **11**, 83–89 (2012).
22. Mirzaee, A., Afshoon, E., Barmak, M.J., Antioxidant activ-

ity of meat from chicken and goat cooked in microwave cooking system. *Int. J. Adv. Biotechnol.*, **8**, 1090-1094 (2017).
23. Moon, S.H., Kim, N.Y., Seong, H.J., Chung, S.U., Tang, Y., Oh, M., Kim, E.K., Comparative analysis of proximate composition, amino acid and fatty acid content, and antioxidant activities in fresh cuts of Korean native goat (*Capra hircus coreanae*) meat. *Korean J. Food Preserv.*, **28**, 303–312 (2021).
24. Brown, J.M., Wouters, B.G., Apoptosis, p53, and tumor cell sensitivity to anticancer agents. *Cancer Res.*, **59**, 1391-1399 (1998).
25. Houghton, J.A., Apoptosis and drug response. *Curr. Opin. Oncol.*, **11**, 475-481 (1999).
26. Park, S.Y., Lee, E.H., Kim, K.W., Kay, C.S., Kim, S.C., Suhr, J.W., Lee, K.S., Expression of P53, Bcl-2, Bax, and P-glycoprotein in relation to chemotherapeutic response in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Korean Cancer Assoc.*, **33**, 158-162 (2001).
27. Kim, H.Y., Ju, J., Lee, K.H., Park, K.Y., *In vitro* anticancer effect of salt on HepG2 human hepatocellular carcinoma cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **45**, 137-142 (2016).
28. Vogelstein, B., Lane, D., Levine, A.J., Surfing the p53 network. *Nature*, **408**, 307-310 (2000).
29. Nie, X., Li, C., Hu, S., Xue, F., Kang, Y. J., Zhang, W., An appropriate loading control for western blot analysis in animal models of myocardial ischemic infarction. *Biochem. Biophys. Rep.*, **12**, 108-113 (2017).