

표고버섯 분말을 첨가한 천연 조미료 추출물의 항산화성, 항돌연변이성 및 세포독성 효과

유수정 · 김수현 · 최형택 · 오현택 · 최현진 · 함승시[†]

강원대학교 바이오산업공학부 식품공학과

Antioxidative, Antimutagenic and Cytotoxic Effects of Natural Seasoning Using *Lentinus edodes* Powder

Su-Jung Yoo, Soo-Hyun Kim, Houn-Taek Choi, Hyun-Taek Oh,
Hyun-Jin Choi and Seung-Shi Ham[†]

School of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Abstract

This study was performed to determine the antioxidative, antimutagenic and cytotoxic effects of the natural seasoning using *Lentinus edodes* powder (NSLP) by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical donating method, Ames test, and cytotoxicity, respectively. The scavenging effect on DPPH radical in ethyl acetate fraction of NSLP showed 155 µg of RC₅₀. The direct antimutagenic effects of ethanol extract and its solvent fractions of NSLP were examined by Ames test using *Salmonella* Typhimurium TA98 and TA100. In the Ames test, ethanol extract of NSLP alone did not exhibit any mutagenicity and most of the samples showed high antimutagenic effects against mutation induced by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitroso guanidine (MNNG) and 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO). Ethyl acetate fraction of NSLP (200 µg/plate) showed approximately 82% inhibitory effect on the mutagenesis induced by 4NQO against TA98 strain, whereas 84% and 80% inhibitions were observed on the mutagenesis induced by 4NQO and MNNG against TA100 strain. In anticancer effects of ethanol extract and its solvent fractions of NSLP against cancer cell lines including human lung carcinoma (A549), human breast adenocarcinoma (MCF-7), human hepatocellular carcinoma (Hep3B), human cervical adenocarcinoma (HeLa) and human gastric carcinoma (AGS) were investigated. The treatment of 1 mg/mL ethyl acetate fraction of NSLP showed strong cytotoxicity of 56.7%, 84.9%, 64.6%, 85.1% and 71.5% against A549, MCF-7, Hep3B, HeLa and AGS, respectively. In contrast 1 mg/mL treatment of NSLP extract and its solvent fractions had only 4~40% cytotoxicity on human transformed primary embryonal kidney cell (293). From this result, it is suggested that NSLP is believed to have possible antioxidative, antimutagenic and anticancer capacities.

Key words: natural seasoning, using *Lentinus edodes* powder, antioxidation, antimutagenicity, cytotoxicity

서 론

최근 생활수준이 향상되고 더불어 건강과 wellbeing에 대한 관심이 급속히 높아짐에 따라 음식문화 또한 크게 변화되고 있다. 따라서 자연식품이나 건강식품, 기능성식품 등 보다 건강지향적인 식습관으로 변화하게 되었다. 이러한 점에서 버섯은 식품의 3차적 기능 즉 영양적 특성, 기호적 특성 및 생체조절 특성을 모두 갖춘 식품재료로 기호도와 소비량이 증가하고 있으며 생산량 또한 증가하고 있는 추세이다(1,2).

버섯은 담자균류에 속하는 균식물로서 탄수화물, 단백질, 지질, 무기질 및 비타민 등의 영양소를 골고루 함유하고 있을 뿐만 아니라 예로부터 식용 및 약용으로 널리 이용되어

왔으며 자연식품, 저칼로리식품 및 무공해식품으로도 인정되는 식품이다(3,4). 우리나라에서 식용으로 이용하고 있는 버섯류 중 대표적인 표고버섯(*Lentinus edodes*)은 활엽수에 기생하는 담자균류 느타리과 잔버섯속 혹은 표고속으로 분류되는 버섯으로 특유한 향과 맛을 갖고 있어 기호성이 높은 식품소재이다(5,6). 또한 열량이 높고 단백질과 비타민의 함량이 많기 때문에 세계 여러 나라 사람들이 많이 이용하고 있으며 식품으로서의 이용뿐만 아니라 강장, 이뇨, 고혈압, 신장염, 신경쇠약, 불면증, 천식, 위궤양 등의 치료에 효능이 있으며 더욱 각종 미네랄과 식이섬유를 포함하여 저칼로리성 건강식품으로도 각광을 받고 있다(7-9). 그러나 표고버섯은 수분함량이 높고 조직이 연하여 신선한 상태를 유

[†]Corresponding author. E-mail: hamss@kangwon.ac.kr
Phone: 82-33-250-6453, Fax: 82-33-250-6453

지하기 어렵고 주 생산 시기가 한정되어 있어 생산된 표고버섯의 대부분은 열풍 또는 천일건조 방법에 의해 건조된 후 저장 유통되고 있지만(10) 상품가치를 지속시키기에는 미흡한 점이 많아 저장방법의 개선이 요구되고 있다. 따라서 이러한 표고버섯들을 이용한 잼, 편, 묵, 소스 및 조미료 등 기호성이 우수한 기능성식품을 지속적으로 개발해야 할 필요성이 대두되고 있다(11). 최근 조미료 시장은 가공식품 및 외식산업의 발전과 소비자들의 기호가 다양하기 때문에 글루탐산소다 및 핵산계 조미료만으로는 미각의 다양화를 피하거나 독특한 풍미를 낼 수 없으며, 또한 합성조미료는 안전성에 대한 문제로 인해 천연조미료를 이용하려는 사람들이 증가하고 있는 실정이다(12).

따라서 본 연구에서는 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료를 이용하여 생리활성을 살펴보고자 수소전자공여작용, Ames test를 이용한 항돌연변이성 및 cytotoxicity 등의 생리활성 측정을 통해 기능성식품으로서의 적용을 위한 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 시료는 강원도 양양군에서 재배되고 있는 표고버섯을 분말화한 후 산업화를 위하여 신원 F&I에서 표고버섯분말, 다시마분말 및 양파분말 등을 첨가하여 가공한 조미료를 실험에 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

분말상태인 시료를 시료 중량 10배의 70% 에탄올을 첨가하고 8시간씩 80°C에서 3회 추출한 후, 감압여과 장치에서 뜨거운 상태에서 여과한 후 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결건조하였다. 분획물의 제조는 동결건조물로부터 용매의 극성에 따라 분별분리를 행하여 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물층으로 극성의 차이에 의해 다섯 가지 분획물을 분리한 후 감압농축 후 동결건조하여 실험에 사용하였다.

시약

직접 돌연변이원(direct mutagen)으로서 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine(MNNG)은 미국 Sigma사에서 구입하여 사용하였고, 이들 변이원 물질은 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 세포주는 암세포로 인간 폐암세포 A549(Human lung carcinoma, KCLB NO. 10185), 인간 유방암 세포 MCF-7(Human breast adenocarcinoma, KCLB NO. 30022), 인간 간암세포 Hep3B(Human hepatocellular carcinoma, KCLB NO. 88064), 인간 자궁암세포 HeLa(Human cervical adenocarcinoma, KCLB NO. 10002) 및 인간 위암세포 AGS(Human gastric carcinoma, KCLB

NO. 21739)가 이용되었고, 정상세포로는 293(Transfected primary human embryonal kidney, KCLB NO. 21573)을 Korea Cell Line Bank(KCLB)로부터 구입하여 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. A549 및 AGS 세포주는 10% fetal bovine serum이 함유된 RPMI Medium 1640 복합 배지를 MCF-7, Hep3B, HeLa 및 293 세포주는 10% fetal bovine serum이 함유된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂에 적응시켜 각각 배양시켰다.

수소전자공여능에 의한 항산화 활성

표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료 70% 에탄올 추출물과 각 분획물은 Choi 등(13)의 방법에 의한 수소전자공여능(electron donating ability)에 의해 항산화 활성을 측정하였다. 여러 농도의 시료를 메탄올에 녹여 1.5×10^{-4} M DPPH 용액(in methanol) 1 mL를 첨가한 후 30분 간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하였으며 RC₅₀은 시료가 대조구의 흡광도를 1/2로 감소시키는 농도로 표시하였으며, 검체의 농도에 따른 수소전자공여능(standard curve)을 통해 결정하였다.

돌연변이원성 실험

돌연변이원성 실험은 *Salmonella* Typhimurium의 변이주인 TA98과 TA100을 이용하여 Ames test를 개량한 pre-incubation법(14)으로 실시하였다. 추출물 및 분획물을 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 각각 50 µL씩 가하고 여기에 전배양시킨 균액 100 µL를 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700 µL가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 30분간 preincubation한 다음 hisitidine/biotin이 첨가된 top agar를 2 mL씩 가하여 잘 혼합한 후에 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고화시켜 37°C에서 48시간 배양하여 생긴 복귀 돌연변이(His⁺ revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

항돌연변이원성 실험

항돌연변이원성 실험에 사용된 발암물질은 4NQO와 MNNG를 사용하였다. 건열 멸균시킨 glass cap tube에 추출물 및 분획물을 각각 50 µL씩 첨가하고 변이원 물질을 각각 50 µL 첨가하였다. 여기에 하룻밤 배양시킨 균액을 100 µL씩 주입한 후에 0.2 M sodium phosphate buffer를 가하여 최종 부피가 700 µL가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 30분간 진탕 배양한 다음 상기의 돌연변이원성 실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 복귀 돌연변이 수를 측정하여 항돌연변이원성 유무를 판정하였다. 시료와 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며 항돌연변이 활성은 변이원 물질의 활성에 대한 시료의 억제율(inhibition, %)로 나타내었다.

세포독성 실험

SRB assay(sulforhodamine B)는 세포 단백질 염색을 이용하여 세포증식이나 독성을 측정하는 방법이다(15). 10% fetal bovine serum 및 각각의 인간 암세포(A549, Hep3B, MCF-7, AGS 및 HeLa)와 인간 신장 정상세포(293)를 함유하는 RPMI-1640과 DMEM배지를 5×10^4 cells/mL 농도로 100 μ L씩 각 well에 첨가하여 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후 0.2 M 이하의 DMSO로 녹인 시료를 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 mg/mL의 농도로 100 μ L씩 첨가하여 48시간 동안 다시 배양하였다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 냉장 보관한 10%(w/v) TCA를 100 μ L씩 첨가한 후 1시간 동안 4°C에서 방치한 후 증류수로 다섯 번 정도 행구었다. 실온에서 건조시킨 후 1%(v/v) acetic acid에 녹인 0.4%(w/v) SRB용액 100 μ L를 첨가해 30분 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 SRB 염색액은 1%(v/v) acetic acid 용액으로 네 번 정도 행구어, 다시 건조시킨 후 10 mM Tris buffer(pH 10.5) 100 μ L로 염색제를 충분히 녹인 후 540 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

DPPH radical 소거능에 의한 항산화 활성

DPPH radical은 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 청남색이 없어지는 특성이 있으므로, 색차를 비색정량하여 시료가 가지는 전자공여능력을 측정할 수 있다. 비록 화학적으로 유도되는 라디칼이지만 lipoxygenase로 촉매되는 지질 산화반응계에서 측정된 항산화 활성과도 잘 부합되는 간편하고 신뢰성이 높은 항산화 활성 측정 방법으로 이용되고 있다(16). 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료의 항산화 활성을 측정한 결과(Table 1) 에틸아세테이트 및 부탄올 분획물의 경우 각각 155 및 158.5 μ g을 나타내어 278.5 μ g의 RC₅₀ 값을 나타낸 에탄올 추출물보다 높은 항산화 값을 나타내었다.

Ames test를 이용한 돌연변이원성

S. Typhimurium TA98과 TA100을 이용한 Ames test를

Table 1. DPPH radical scavenging activity of 70% ethanol extract and its solvent fractions from natural seasoning containing *Lentinus edodes* powder

Sample	RC ₅₀ ¹⁾ (μ g)
70% ethanol extract	278.5
Hexane fraction	263.9
Chloroform fraction	270.9
Ethyl acetate fraction	155.0
Butanol fraction	158.5
Aqueous fraction	358.9
α -Tocopherol	14.7
BHA ²⁾	12.4

¹⁾Amount required for 50% inhibition of DPPH after 30 min.

²⁾Butylated hydroxyanisole.

행한 결과 음성 대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 26 ± 4 , TA100은 172 ± 6 이었다. 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료 에탄올 추출물을 50, 100, 150 및 200 μ g/plate로 시료의 농도를 증가시켜 본 결과 농도 증가에 따른 His⁺ revertant colony 수의 증감이 없는 것으로 보아 본 실험에 사용한 표고버섯을 이용한 천연조미료 에탄올 추출물 자체로는 돌연변이원성이 없는 것으로 판단되었다(Table 2).

Ames test를 이용한 항돌연변이원성

표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료 에탄올 추출물과 각 분획물의 항돌연변이원성을 검토하기 위하여 먼저 세포내의 DNA에 직접적으로 손상을 주어 돌연변이를 유발하는 직접돌연변이물질인 MNNG와 4NQO를 이용하여 항돌연변이원성 효과를 조사하였다. MNNG(0.4 μ g/plate)의 경우 S. Typhimurium TA100 균주의 실험결과 Fig. 1에서와 같이 시료농도 200 μ g/plate에서 헥산, 에틸아세테이트 분획물 및 에탄올 추출물에서 76~84%의 강한 억제율을 보였다. 그리고 클로로포름과 물 분획물에서도 각각 69% 및 65%의 비교

Table 2. Mutagenicity of 70% ethanol extract from natural seasoning containing *Lentinus edodes* powder in *Salmonella* Typhimurium TA98 and TA100

Dose (μ g/plate)	His ⁺ revertants/plate ¹⁾	
	TA98	TA100
Spontaneous	26 ± 4	172 ± 6
50	26 ± 5	161 ± 2
100	25 ± 2	162 ± 5
150	21 ± 4	175 ± 9
200	20 ± 1	158 ± 3

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

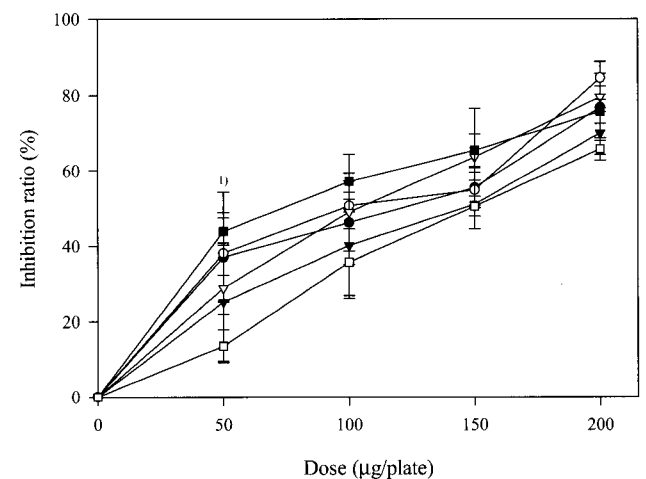


Fig. 1. Inhibitory effects of ethanol extract and its solvent fractions from natural seasoning containing *Lentinus edodes* powder on the mutagenicity by MNNG (0.4 μ g/plate) in *Salmonella* Typhimurium TA100.

● : ethanol extract, ○ : hexane fraction, ▲ : chloroform fraction, ▼ : ethylacetate fraction, ■ : butanol fraction, □ : aqueous fraction.

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

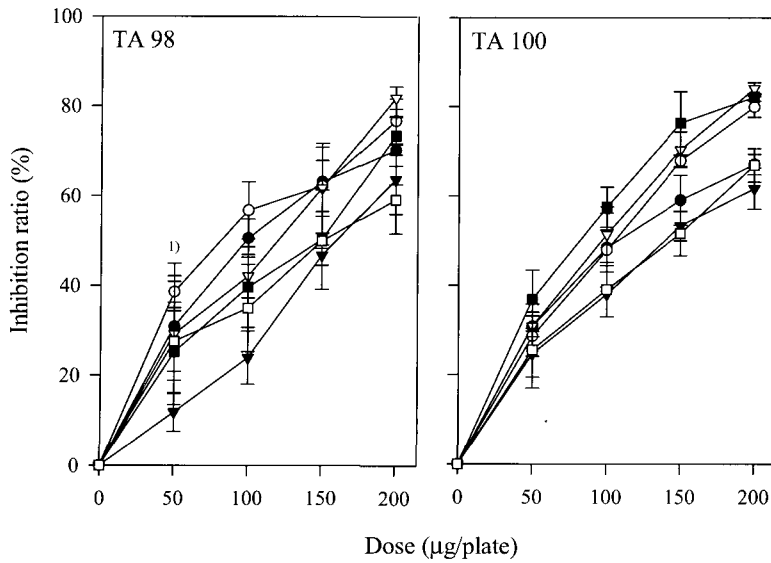


Fig. 2. Inhibitory effects of ethanol extract and its solvent fractions from natural seasoning containing *Lentinus edodes* powder on the mutagenicity by 4NQO (0.15 µg/plate) in *Salmonella* Typhimurium TA98 and TA100. ● : ethanol extract, ○ : hexane fraction, ▼ : chloroform fraction, ▽ : ethylacetate fraction, ■ : butanol fraction, □ : aqueous fraction. ¹⁾ Each value represents the mean ± SD of three plates.

적 높은 돌연변이 저해효과를 나타내었으며 시료 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 변이원성 억제효과를 나타내었다. 이러한 결과는 영지버섯 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 항돌연변이능도 증가한다는 결과와 유사한 결과를 나타내었다(17). 한편 직접변이원인 4NQO(0.15 µg/plate)에 대한 억제효과에서도 농도 의존적으로 억제활성을 나타내었으며 *S. Typhimurium* TA98 균주의 경우 시료농도 50, 100, 150 및 200 µg/plate에서 에틸아세테이트 분획물이 각각 29.1, 42.0, 61.7 및 81.8%로 다른 분획물에 비하여 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 같은 농도에서 물 분획물의 경우 59.1% 가장 낮은 억제효과를 보였으나 야생버섯 중의 하나인 그물버섯 및 밀버섯 메탄올 추출물보다 높은 억제효과를 나타내었다(18). *S. Typhimurium* TA100 균주의 경우 시료 최고 농도인 200 µg/plate에서 에틸아세테이트 및 부탄올 분획물에서 각각 84% 그리고 82.1%의 억제효과를 나타내어서 61.6% 및 66.8%의 억제율을 보인 클로로포름 및 물 분획물보다 높은 억제효과를 나타내었다(Fig. 2). 최근 건강식품으로 각광 받고 있는 버섯에 대한 항돌연변이에 관한 연구는 상황버섯, 먹물버섯, 아가리쿠스버섯, 동충하초 및 노루궁뎅이버섯 등이 보고되었고 우리나라 산야에 존재하고 있는 야생식용버섯에 대해서도 보고되고 있다(3,19-23).

암세포 성장 억제효과

돌연변이 억제 활성을 가진 물질들 중에는 종종 암세포의 성장을 저해하는 효과가 존재하는 것은 여러 연구에서 보고되고 있다(3,20). 따라서 본 실험에서는 각종 암세포에 대한 세포독성을 규명하기 위해 암세포로 A549, MCF-7, Hep3B, HeLa 및 AGS를 이용하여 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료 에탄올 추출물 및 각 분획물들에 대하여 SRB assay를 행하였다. 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료 에탄올 추출물 및 각 분획물의 인간 암세포 성장 억제효과를 검토한 결과를 Table 3에 나타내었다. 자궁암 세포인 HeLa에 대해서

에탄올 추출물 및 각 분획물들은 시료 최고 농도 1 mg/mL의 경우 62~85%의 높은 암세포 저해활성을 보였으며 시료농도가 증가할수록 억제효과 또한 증가하는 경향을 보였다. 인간 간암 세포인 Hep3B에서는 부탄올 분획물에서 시료 최고 농도 1 mg/mL 첨가 시 72.7%로 높은 억제효과를 나타내었으며 인간 유방암 세포인 MCF-7에서는 hexan, 에틸아세테이트 및 부탄올 분획물에서 각각 83.3, 84.9 및 79.7%의 암세포 성장 억제효과를 나타내어 51.6%의 억제율을 나타낸 물 분획물보다 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었다. 인간 위암세포인 AGS의 경우 시료 최고 농도 1 mg/mL에서 hexan과 에틸아세테이트 분획물이 각각 75.8 및 71.5%의 암세포 성장 억제효과를 나타냈으며 폐암세포인 A549에서는 시료농도가 증가할수록 세포증식 억제효과를 보였으나 hexan 분획물 1 mg/mL에서만 69.7%의 저해능을 보였고 나머지 시료에서 56% 이하의 비교적 낮은 저해활성을 보였다. 암세포에 대해서 대부분 높은 활성을 토대로 인간 신장 정상세포 293에 대한 시료농도에 따른 세포독성 효과를 나타낸 결과, 1 mg/mL의 시료를 첨가 시 40% 이하의 낮은 생육 억제율을 보였다(Fig. 3). Ji 등(20)의 아가리쿠스 추출물의 세포독성 실험결과 인간 간 정상세포 WRL68에 대한 시료농도 1 mg/mL 첨가 시 50% 이하의 생육 억제율을 보였다. 이러한 결과를 바탕으로 추출물 및 분획물들이 암세포에 대한 높은 억제효과에 비해 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성효과를 가짐을 알 수 있었다.

버섯류의 항암효과는 Ikekawa 등(24)에 의해서 항종양 활성이 있다는 것이 발표되었으며, 최근 국내에서는 한국산 야생버섯 추출물의 암세포 성장 억제효과에 관한 연구들이 보고되고 있다(18). Chang 등(25)에 의해 보고된 자료에 의하면 표고버섯은 높은 항암력을 지닌 버섯 중의 하나로 손꼽히고 있으며 자궁경부암 동물세포에 대한 성장억제 실험에서도 높은 억제효과를 확인하였다(26). 활성성분들은 대부

Table 3. Inhibitory effects of 70% ethanol extract and its solvent fractions from natural seasoning containing *Lentinus edodes* powder on the human cancer cell lines

	Dose (mg/mL)	Growth inhibition (%)				
		A549	MCF-7	Hep3B	HeLa	AGS
70% ethanol	0.25	3.0±1.8 ¹⁾	4.3±3.4	9.1±3.8	27.2±6.7	4.6±2.3
	0.50	12.0±2.3	21.6±2.9	19.4±1.8	51.4±4.7	10.4±2.9
	0.75	23.7±3.7	50.7±3.1	50.3±1.9	68.7±2.7	38.4±1.6
	1.00	36.7±1.3	81.3±1.2	61.0±4.1	83.3±0.4	58.9±3.9
Hexane	0.25	19.7±2.8	21.9±3.1	9.7±0.5	18.4±2.7	36.5±3.2
	0.50	33.0±2.6	57.2±0.5	29.4±1.8	39.7±1.5	55.0±3.8
	0.75	56.2±2.4	72.4±5.1	57.3±1.4	68.5±2.0	56.2±2.4
	1.00	69.7±2.8	83.2±2.9	66.5±2.5	79.8±1.6	75.8±0.3
Chloroform	0.25	7.1±2.4	23.2±2.2	2.5±3.1	12.8±2.0	15.3±1.5
	0.50	17.8±2.0	43.1±2.9	13.5±3.1	21.1±3.2	35.7±5.5
	0.75	31.1±1.8	55.0±0.3	41.6±3.1	40.4±1.5	57.1±4.8
	1.00	38.9±1.0	63.5±0.9	54.1±3.9	66.7±2.0	67.6±1.2
Ethyl acetate	0.25	8.2±4.3	23.8±0.4	8.8±2.6	38.5±4.4	35.5±0.8
	0.50	19.9±2.7	51.8±2.9	18.2±1.5	53.0±3.0	50.5±2.3
	0.75	41.7±2.6	71.5±2.3	41.8±4.0	77.3±2.2	59.1±2.0
	1.00	56.7±0.3	84.9±0.7	64.6±0.6	85.1±2.4	71.5±1.2
Butanol	0.25	22.5±5.0	12.6±1.0	24.5±3.4	36.5±2.6	20.6±4.3
	0.50	36.7±1.0	39.0±0.2	41.1±1.0	62.3±2.4	37.6±3.8
	0.75	41.2±0.5	63.5±0.4	67.1±0.5	75.3±1.2	54.0±4.3
	1.00	46.4±2.3	79.7±4.1	72.7±0.8	82.2±0.3	64.0±1.7
Aqueous	0.25	8.6±4.4	10.6±0.4	12.7±3.6	17.4±4.3	7.2±2.1
	0.50	19.0±0.4	30.6±0.9	34.3±1.7	36.7±2.7	14.2±4.4
	0.75	27.5±0.9	37.9±4.1	42.6±2.9	46.5±2.8	27.5±0.9
	1.00	30.9±3.4	51.6±0.6	58.4±2.0	62.3±3.8	29.0±1.2

¹⁾Values are the mean±SD (n=3).

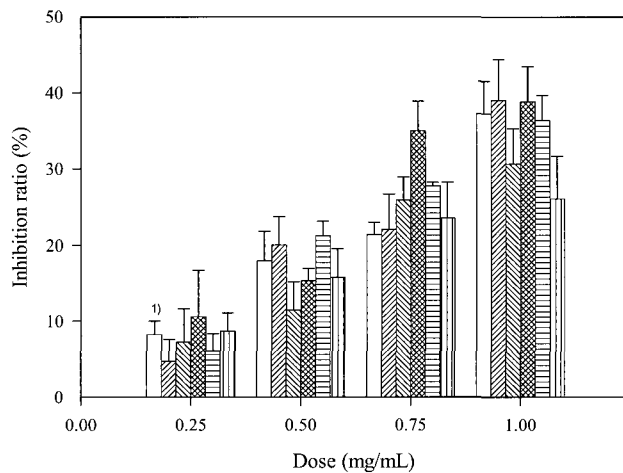


Fig. 3. Inhibitory effects of 70% ethanol extract and its solvent fractions from natural seasoning containing *Lentinus edodes* powder on human transformed primary embryonal kidney cells.

□ : ethanol extract, ▨ : hexane fraction, ▩ : chloroform fraction, ▤ : ethylacetate fraction, ▥ : butanol fraction, ▦ : aqueous fraction.

¹⁾Values are the mean±SD (n=3).

분 버섯 자실체나 액체배양 균사체로부터 추출된 다당류로서 표고버섯의 자실체에서 분리한 순수 다당체 lentinan이 sarcoma 180에 대하여 강한 항종양작용을 가진다고 보고되었다(27). 이러한 버섯 다당체의 항종양작용은 암세포를 직

접적으로 공격하는 것이 아니고 숙주의 면역계에 작용하여 생체방어력 증가에 의한 것으로 알려지고 있다(28).

따라서 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료의 추출물 및 분획물은 변이원에 대한 항돌연변이원성이 확인되었으며 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성효과를 나타내면서 인간유래 암세포에 대해서는 높은 억제효과를 가짐을 알 수 있었다. 앞으로 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료 시료의 효능에 대한 정보를 얻기 위해 정확한 성분분석과 좀 더 다양한 변이원 및 암세포, 여러 검색계를 이용하여 더 많은 연구와 함께 기능성식품으로의 기능성에 대한 검토가 필요하다고 하겠다.

요 약

표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료의 추출물 및 분획물에 대한 항산화 활성은 에틸아세테이트 분획물에서 RC₅₀값 155 µg으로서 다른 시료보다 강한 항산화 활성을 나타내었다. 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료 추출물 및 그 분획물들의 항돌연변이 효과의 검토는 *Salmonella* Typhimurium의 변이주인 TA98과 TA100을 이용한 Ames test로 확인하였다. 그 결과 직접변이원인 MNNG에 대해 시료농도 200 µg/plate에서 핵산과 에틸아세테이트 분획물은 TA100에서 79~84%의 강한 항돌연변이원성을 보였고 다른 시료에서

도 65% 이상의 저해효과를 보였다. 4NQO에 대해서는 TA98과 TA100에서 에틸아세테이트 분획물이 가장 높은 저해효과를 나타내었다. 암세포 성장 억제효과를 검토한 결과 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료 에탄올 추출물 1 mg/mL 첨가 시 HeLa, Hep3B, MCF-7, AGS 및 A549에서 각각 83.3%, 61%, 81.3%, 58.9% 및 36.7%의 억제효과를 보였다. 표고버섯 분말을 첨가한 천연조미료 분획물에 대한 억제효과는 시료 농도 1 mg/mL 첨가 시 에틸 아세테이트 분획물의 경우 폐암세포인 A549 세포에 대하여 56.7%의 억제효과를 보인 것을 제외하고는 71~85% 정도의 높은 억제효과를 보였으나 물 분획물의 경우 다른 추출물과 비교 시 암세포에 대해 상대적으로 낮은 억제효과를 나타내었다. 이러한 암세포에 대한 높은 억제효과에 비해 인간 신장 정상세포 293에 대한 시료를 첨가 시 40% 이하의 생육 억제율을 나타냄으로써 정상세포에 대해서는 낮은 독성효과를 가짐을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 강원도 양양군 배다니식품의 지원으로 이루어졌으며 연구비 지원에 감사드립니다.

문헌

- Hong KH, Kim BY, Kim HK. 2004. Studies on the biological activity of *Pleurotus ferulea*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 791-796.
- Roh SH. 2000. A study on baking white bread product development according to the amounts of mushroom powder added. *Culinary Research* 6: 281-289.
- Ji JH, Kim MN, Ham SS. 2000. Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Phellinus linteus* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 322-328.
- Zhang Y, Talalay P, Cho CG. 1992. An anticarcinogenic protective enzyme from broccoli. *Proc Natl Acad Sci* 90: 2399-2404.
- Hong JS. 1980. Nutrition value and medicine efficacy of mushroom. *Food Ind* 53: 79-84.
- Ko JW, Lee WY, Ha YS, Choi YH. 1999. Absorption characteristics of dried shiitake mushroom powder using different drying methods. *Korean J Food Sci Technol* 31: 128-137.
- Park MH, Oh KY, Lee BW. 1998. Anticancer activity of *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*. *Korean J Food Sci Technol* 30: 702-708.
- Hong JS, Lee KR, Kim YH, Kim DH, Kim MK, Lim YS, Yeo KY. 1988. Volatile flavor compounds of Korean shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *Korean J Food Sci Technol* 20: 606-612.
- Choi MY, Lim SS, Chung TY. 2000. The effects of hot water soluble polysaccharides from *Lentinus edodes* on lipid metabolism in the rats fed butter yellow. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 294-299.
- Lee SH, Park HJ, Cho SY, Jeong HJ. 2004. Supplementary effect of *Lentinus edodes* on serum and hepatic lipid levels in spontaneously hypertensive rat. *Korean J Nutr* 37: 509-514.
- Kang MY, Kim S, Yun HJ, Nam SH. 2004. Antioxidative activity of the extracts from browned oak mushroom (*Lentinus edodes*) with unmarketable quality. *Korean J Food Sci Technol* 36: 648-654.
- Kim SK, Byun HG, Jeon YJ, Joo DS, Kim JB. 1999. Development of natural seasoning using desalinated tuna boiled extract. *J Korean Fish Soc* 32: 75-82.
- Choi JS, Park JH, Kim HG, Young HS, Mun SI. 1993. Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principle from *Prunus daviana*. *Kor J Pharmacol* 24: 299-303.
- Yahagi T, Nagao M, Seino Y, Matsushima T, Sugimura T, Okada M. 1997. Mutagenicities of N-nitrosamines in *Salmonella*. *Mutat Res* 48: 121-130.
- Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D, Boyd MR. 1998. 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: 4827-4833.
- Lee MH, Son HS, Choi OK, Oh SK, Kwon TB. 1994. Changes in physico-chemical properties and mineral contents during buckwheat germination. *Korean J Food & Nutr* 7: 267-273.
- Oh SI, Lee MS. 2005. Antioxidative and antimutagenic effects of *Ganoderma lucidum* Krast extracts. *Korean J Food & Nutr* 18: 54-62.
- Kim HJ, Lee IS. 2004. Antimutagenic and cytotoxic effects of Korean wild mushrooms extracts. *Korean J Food Sci Technol* 36: 662-668.
- Kim HJ, Lee BH, Kim OM, Bae JT, Park DC, Lee KP. 1999. Antimutagenic effect of the fruiting body and the mycelia extracts of *Coprinus comatus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 452-457.
- Ji JH, Kim MN, Choi KP, Chung CK, Ham SS. 2000. Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Agaricus blazei* Murill extracts. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1371-1378.
- Kim MN, Oh SH, Lee DS, Ham SS. 2001. Antioxidative and antimutagenic effects of the ethanol extract from *Cordyceps militaris*. *Korean J Food Preserv* 11: 214-220.
- Park SH, Kim OM, Lee KR. 2001. Antimutagenic and quinone reductase inducing activities of *Hericium erinaceus* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1287-1292.
- Kim HJ, Lee BH, Kim OM, Lee KD, Lee KR. 1998. Screening for antimutagenic effects of the wild mushrooms in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 30: 688-692.
- Ikekawa J, Nakamishi M, Uehara N, Chihara G, Fukuoka F. 1968. Antitumor action of some basidiomycetes especially *Phellinus linteus*. *Gann* 59: 155-157.
- Chang ST, John AB, Chiu SW. 1993. *Mushroom biology and mushroom products*. World scientific, Washington DC. p 1-20.
- Park JM, Lee SH, Kim JO, Park HJ, Park JB, Sin JI. 2004. *In vitro* and *in vivo* effects of extracts of *Lentinus edodes* on tumor growth in a human papillomavirus 16 oncogenes-transformed animal tumor model. *Korean J Food Sci Technol* 36: 141-146.
- Chihara G, Hamuro J, Maeda Y, Arai Y, Fukuoka F. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom). *Cancer Res* 30: 2776-2781.
- Kweon MH, Lim EJ, Sung HC. 1998. Studies on bioactive polysaccharide isolated from *Agaricus bisporus*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 41: 60-66.

(2007년 1월 30일 접수; 2007년 4월 9일 채택)