

송이(*Tricholoma matsutake* Sing.)의 ABTS Radical 소거능과 암세포 성장 억제효능의 검색

김영언^{1*} · 양지원¹ · 이창호¹ · 권은경²

¹한국식품연구원
²(주)아워홈

ABTS Radical Scavenging and Anti-Tumor Effects of *Tricholoma matsutake* Sing. (Pine Mushroom)

Young-Eon Kim^{1*}, Ji-Won Yang¹, Chang-Ho Lee¹, and Eun-Kyung Kwon²

¹Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

²OurHome Inc., Gyeonggi 462-120, Korea

Abstract

Pine mushroom (*Tricholoma matsutake* Sing.) is an expensive and highly prized delicacy in Korean and Japanese cuisines with its unique flavor and functional properties. The pine mushroom juice (PMJ) was investigated for its antioxidant and anti-tumor activities with ABTS radical scavenging method and MTT assay. The phenolic contents in pine mushroom juice ranged from 1.19 to 54.99 GAEs mg/100 mL at the concentrations of 1~50 mg/mL. The ABTS radical scavenging activities of pine mushroom juice were 7.0%, 81.7% and 91.8% at the concentrations of 1, 10 and 50 mg/mL, respectively. The IC₅₀ values of pine mushroom juice were 605.9, 788.4, 583.6 and 232.5 µg/mL on the cytotoxicities against AGS, HeLa, HepG2 and HT-29, respectively, and PMJ showed the strongest growth inhibitory activity against HT-29 cell. These results suggested therapeutic potential for pine mushroom juice as an anti-oxidant and anti-tumor agent.

Key words: *Tricholoma matsutake*, antioxidant effect, anti-tumor effect

서 론

산소는 인간 등 호기성 생물에게 생명유지를 위해 절대적으로 필요한 분자로 안정된 상태인 경우 체내에서 대사되는 과정 중 생명유지를 위한 작용을 하지만, 반면에 일부는 각종 물리·화학적 요인 등에 의해 활성산소를 발생시킨다(1). 활성산소는 인체대사에 유익한 작용을 가지고 있지만 환경오염과 화학물질, 자외선, 혈액순환장애, 스트레스 등으로 활성산소의 양이 과다할 경우에는 세포막, DNA, 그 외의 모든 세포구조가 손상되고 손상의 범위에 따라 세포가 기능을 잃거나 변질되며 이와 함께 몸속의 여러 아미노산을 산화시켜 단백질의 기능저하도 가져온다. 그리고 핵산을 손상시켜 핵산염기의 변형과 유리, 결합의 절단, 당의 산화분해 등을 일으켜 돌연변이나 암의 원인이 되기도 한다. 또한 생리적 기능이 저하되어 각종 질병과 노화의 원인이 되기도 한다(2,3).

현대인의 질병 중 약 90%가 활성산소와 관련이 있다고 알려져 있으며, 그 중 암은 전 세계적으로 가장 널리 퍼져있는 질병으로 해마다 많은 인구가 사망하고 있다(4). 우리나

라의 경우, 보건복지부에서 발간한 '2007년 보건복지 통계연보'에 따르면 2006년에 암으로 인한 사망률이 1위를 나타내고 있으며 발생률도 증가하고 있다(5). 특히 이 시기에 가장 많이 발생한 암은 위암이었으며, 그 다음으로 폐암, 대장암, 간암, 갑상선암, 유방암 및 자궁경부암의 순으로 발생률이 높았다. 암의 발생 원인과 기전을 해명하여 암을 예방하고 치료하고자 하는 많은 연구가 진행되어 왔고 인체에 대한 부작용이 적으면서도 좋은 항암효과를 발현하는 천연물질 항암제 개발 연구가 활발하게 이루어지고 있다(6).

최근 천연식품들 중에서 기능성 물질을 섭취하려는 요구의 증가와 함께 노화와 암, 당뇨 등의 성인병에 대한 대처방안으로 천연 항산화물질과 같은 생리활성물질의 개발에 노력하고 있으며, 그 중에서도 질병의 치료 및 예방에 효과가 있는 천연물로 버섯이 주목 받고 있다(7,8). 다양한 버섯류 사이에서 특히 송이(*Tricholoma matsutake*)는 한국, 일본, 중국 등지의 소나무 숲에서 발생하는 식용 및 약용버섯으로 맛과 향이 뛰어나 최고의 버섯으로 취급되고 있다. 또한 항암활성 및 면역강화, 콜레스테롤 억제, 항당뇨, 혈액순환 증

*Corresponding author. E-mail: radog@kfri.re.kr
Phone: 82-31-780-9072, Fax: 82-31-780-9073

진 등의 다양한 생리활성이 보고되어있어 기능성식품 및 의약품 소재로 크게 주목 받고 있다(9-13). 송이는 채취 후 시간이 지남에 따라 선도가 급격히 저하되기 때문에, 신선도 유지를 위해 약 3일 이내에 판매가 이루어지지 않은 송이는 급속냉동 하여 저장하고 있다. 생송이와 냉동송이의 향기성분은 1-octen-1-ol의 함량에서 차이를 보였으나, 관능검사 결과로는 차이가 없다고 평가를 하였다(14). 즉 냉동송이나 그 부산물을 이용해서 품질이 우수한 가공제품 개발이 이루어질 경우 소비자와 생산자 모두가 만족할 수 있을 것으로 예상된다.

본 연구는 장기간 저장을 위해 냉동한 송이의 해동 시에 유출되는 송이착즙액(이하 송이즙)으로 제품개발을 함에 있어서 식품가공원료로의 이용가치를 증대시키기 위하여 기능성을 탐색하고자 하였다. 이를 위해 송이즙의 총 페놀 함량과 ABTS radical scavenging activity를 통하여 항산화능을 조사하였다. 그리고 송이즙의 암세포 증식억제효과를 조사하고자 위암, 자궁암, 간암, 결장암 세포주에 대한 MTT assay를 이용한 세포독성실험을 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 송이즙은 2007년도 강원도 양양의 ㈜양양 자연송이농산으로부터 구매한 냉동송이를 해동한 후 탈수기에서 탈수과정을 통해 채취한 것으로 송이즙 채취과정 중에 물을 전혀 첨가하지 않은 순수한 송이즙을 시료로 사용하였다. 송이즙의 가용성 고형분 함량은 5°brix이었고 이를 증류수에 적정농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

기기 및 시약

세포배양에 사용된 RPMI1640(L-glutamine, 300 mg/L), antibiotic-antimycotic, fetal bovine serum(FBS)는 Gibco BRL(Invitrogen Co., USA) 제품을 사용하였다.

실험에 사용된 시약은 Folin-ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, ABTS(2,2'-azino-bis 3-ethylbenzenothiazolin-6-sulfonic acid), AAPH(2,2'-azo-bis 2-amidinopropane dihydrochloride), Trolox®, MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] solution은 Sigma (Sigma Co., USA) 제품을 사용하였고 그 외의 시약은 특급을 사용하였다. 실험에 사용한 기기로는 UV spectrophotometer(V-550, JASCO, USA), microplate reader(Bio-Rad, USA), CO₂ incubator(MCO-17AIC, Sanyo, Japan), high speed centrifuger(MF-550, Hanil Science Industrial, Korea) 등이었고, 그 외 실험실에서 사용하는 일반기구들을 사용하였다.

총 페놀 함량 분석

송이즙에 대한 총 페놀 함량은 Folin-Denis 방법(15)에

따라 분석하였다. 송이즙을 증류수에 일정농도로 녹인 시료 1 mL과 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 1 mL을 넣고 혼합하여 실온에서 3분간 정치한 뒤 10% 탄산나트륨 포화용액 1 mL을 가하여 혼합한 후 실온에서 1시간 방치시키고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량을 정량분석하기 위해 표준물질인 gallic acid를 증류수에 녹여 일정한 농도별로 조제하고 시료와 동일한 방법으로 실험하여 검량선을 작성하고 각 분획의 총 페놀 함량을 측정하였다.

ABTS radical scavenging activity

송이즙에 대한 ABTS radical 소거활성은 Van den Berg 등의 방법(16)을 변형하여 측정하였다. 1.0 mM의 AAPH는 100 mM PBS buffer에 녹인 2.5 mM의 ABTS와 혼합한 후 68°C의 항온조에서 12분 동안 반응시켰다. ABTS 용액의 농도는 734 nm에서 흡광도가 0.650±10.2 정도가 되도록 조정하였다. 농도별로 희석한 송이즙 시료 20 µL와 980 µL ABTS 용액을 37°C water bath에서 10분간 반응시키면서 734 nm에서 감소하는 흡광도의 정도를 측정하였으며 이때 양성대조군은 Trolox® 1 mg/mL을 사용하였다. 송이즙의 ABTS radical 소거능은 다음의 식에 따라 계산하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \frac{(\text{Blank O.D.} - \text{Sample O.D.})}{\text{Blank O.D.}} \times 100$$

세포배양

실험에 사용된 인체기원 암세포주는 위암세포주인 AGS, 자궁암세포주인 HeLa, 간암세포주인 HepG2 및 결장암세포주인 HT-29로 한국세포주은행(KCLB, Korean Cell Line Bank, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 모든 세포주에 대한 세포배양 배지는 56°C에서 30분간 열처리한 fetal bovine serum(FBS) 10%와 항생제(antibiotic-antimycotic)를 함유한 RPMI1640 배지를 사용하였으며, 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 이 때 배지는 2~3일에 한 번씩 교환하여 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

MTT assay를 이용한 세포 생존율 측정

MTT(3-[4,5-dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)는 살아있는 세포의 미토콘드리아 내막에 존재하는 oxido-reductase의 효소 작용에 의해 환원되어 보라색의 불용성 formazan을 생성하고, 이들 용해액의 발색정도를 흡광도로 측정함으로써 살아있는 세포수를 계속하는데 이용되는 방법이다(17). 본 실험에서는 송이즙에 의한 농도 의존적 세포 생육의 저해효과를 분석하였다. 종양세포를 RPMI1640배지에서 72시간 배양하여 0.25% trypsin-EDTA로 처리하여 세포를 플라스크에 수집하여 세포수를 각각 2×10⁴ cell/mL의 농도가 되도록 조절한 후 96-well plate에 100 µL/well씩 분주하고 37°C, 5%, CO₂ 배양기에서 24시간 배양 후, 전 배양에 사용된 배지를 제거하고 배지 90 µL와 200, 400, 600, 800, 1000 µg/mL 농도의 시료를 10 µL씩 첨가

하였다. 이와 같이 시료가 첨가된 well plate를 48시간 동안 배양하였다. 대조구에는 시료 대신 phosphate buffered saline(PBS) 10 μ L를 첨가하였다. 48시간 배양 후 MTT를 이용하여 세포독성을 측정하였다. 이 때, 배양이 끝나기 4시간 전에 MTT시약을 PBS에 5 mg/mL의 농도로 녹인 후 여과 멸균하여 제조한 MTT 용액 10 μ L씩을 각각의 well plate에 첨가한 후 37°C, CO₂배양기에서 4시간 동안 추가 배양하여 formazan 침전에 PBS 완충액 50 μ L와 이것을 용해시키기 위하여 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 각 well당 100 μ L씩 첨가하여 완전히 녹인 후 교반기를 사용하여 5분간 교반하였다. 이후, microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포독성을 조사하였다. 이 때 측정된 흡광도는 생존하는 세포의 미토콘드리아에 함유된 탈수소효소에 의해 MTT가 formazan으로 전환된 양을 나타내며, 생존하는 세포수와 비례한다. 흡광도 측정 시 사용한 blank에는 세포 부유액 대신 RPMI1640 배지만 100 μ L 가하고 PBS를 10 μ L 첨가하였다. 항암효과는 세포성장 저해율로 평가하였으며, 저해율이 50% 이상일 때를 항암효과가 있는 것으로 판정하였다. 대조군을 100%로 하여 상대적인 세포성장율을 측정하였다.

통계처리

모든 실험 결과들은 3반복을 수행하였으며, 통계처리는 SAS V8 프로그램을 이용하여 일원 배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시한 후 Duncan's multiple range test에 따라 $p < 0.001$ 수준에서 유의성을 검증하였으며 모든 값은 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 값으로 표기하였다.

결과 및 고찰

총 페놀 함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사 산물의 하나로 항산화 및 항균 활성 외에 다양한 생리활성을 나타낸다. 일반적으로 항산화 활성을 나타내는 것은 페놀성 화합물이 작용하는 것으로 알려져 있으며(18,19) 항산화 활성이 증가함에 따라 총 페놀성 함량도 증가한다. 송이즙 농도별 총 페놀 함량을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 송이즙의 농도별로 1 mg/mL에서 1.19 mg GAEs/100 mL, 10 mg/mL에서 11.24 mg GAEs/100 mL, 50 mg/mL에서 54.99 mg GAEs/100 mL로 나타났다. 송이즙의 농도에 따라 총 페놀의 함량도 비례적으로 증가하는 경향을 보였다. Lim 등(20)은 등급별로 분리한 송이의 ethyl acetate와 butanol 분획물의 총 페놀 함량을 측정된 결과를 보고하였다. 송이의 ethyl acetate 분획의 경우에는 약 47.3~92.4 mg/g의 농도로 함유하고 있었고 butanol 분획은 42.9~68.0 mg/g 정도였으며 등급이 좋을수록 그 함량이 증가하는 경향을 보였다고 하였다. Xu 등의 연구(21)에서는 해송이 열수 추출물의 총 페놀

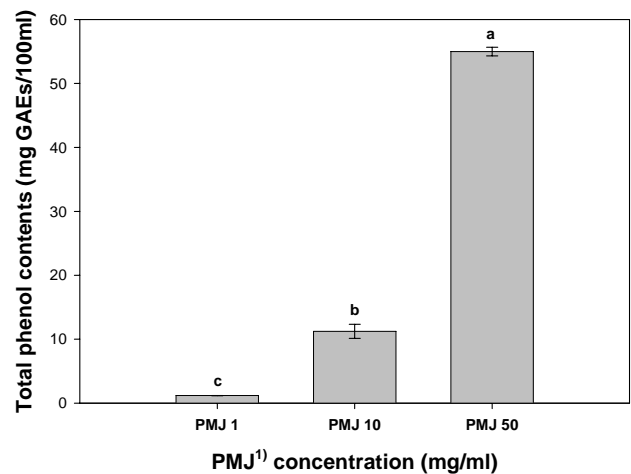


Fig. 1. Total polyphenol contents of pine mushroom juice. Mean values were significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.001$). ¹Pine mushroom juice.

함량을 측정된 결과, 채취시기와 추출시간에 따라 미량의 차이는 보였으나 해송이 추출물 1 mg/mL의 농도에서 약 1.35~1.68 mg GAEs/100 mL의 농도로 나타나 본 연구와 유사한 결과를 보였다. 한편, 차가버섯의 온도별 물 추출물의 총 페놀함량을 분석한 보고(22)에서는 각 추출물의 건조 회분을 1000 ppm의 농도로 희석하여 측정된 결과, 총 페놀의 함량이 1차 추출물(80°C)에서 약 $263 \pm 5.8 \mu\text{g GAEs/mL}$ 의 범위의 농도로 나타났다. 이는 송이즙의 총 페놀 함량에 비해 약 20배가량 높은 수치로 가열하여 페놀이 함량이 매우 높다고 보고되었다. 또한 Kim 등의 연구(23)에서는 국내 유통 중인 식물 추출물에 대한 총 페놀의 함량을 측정하였으며, 그 결과로 볼 때 대추, 모과, 브로콜리, 삼백초 및 회향 등이 약 10.3~14.4 mg/g 정도로 송이즙과 유사한 수준의 총 페놀 함량을 가짐을 알 수 있었다.

ABTS radical scavenging activity

ABTS radical을 이용한 항산화능의 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS free radical이 추출물 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법으로 Van den Berg 등의 방법(16)을 변형하여 측정하였다. 송이즙의 농도별 항산화능의 측정 결과는 Fig. 2와 같다. 송이즙의 농도별로 1 mg/mL에서 7.0%, 10 mg/mL에서 81.7%, 50 mg/mL에서 91.8%의 ABTS radical 소거능을 나타내었다. 그리고 양성 대조군인 Trolox[®]의 경우 1 mg/mL의 농도에서 93.6%의 소거능을 나타내어 송이즙의 농도가 50 mg/mL일 때의 소거능과 비슷한 항산화력을 나타내었다. 또한 송이즙의 농도가 증가할수록 항산화력도 증가하는 경향을 보였으며 농도에 따라 유의한 차이를 나타내었다. 전보(13)에서는 송이즙의 DPPH radical 소거능을 측정된 결과, 송이즙 1 mg/mL의 농도에서 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid 0.1 mg/mL

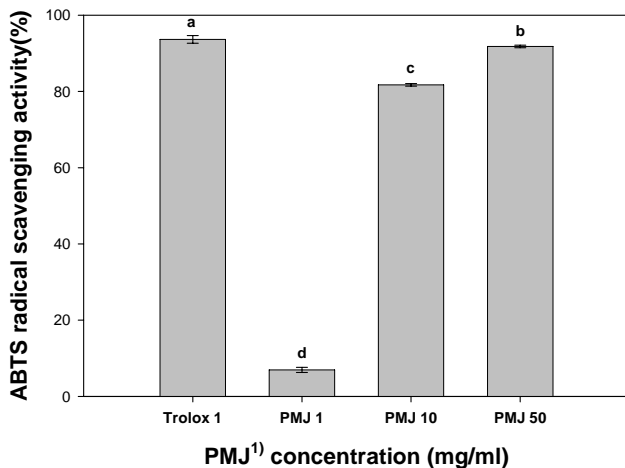


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of pine mushroom juice. Trolox used for positive control was tested at the concentration of 1 mg/mL. Mean values were significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.001$). ¹⁾Pine mushroom juice.

의 항산화력과 비슷한 것으로 나타났다. Lim 등의 연구(20)에서는 송이를 등급별로 분류하여 여러 용매로 추출하고 이들의 DPPH 소거능을 측정된 결과, 물 추출물의 경우 1 mg/mL의 농도에서 1등급 송이의 경우 25.6%의 소거능을 보였으며 등급이 낮아짐에 따라 소거능이 낮아지는 경향을 보였다고 보고하였다. 팽이버섯, 표고버섯 및 느타리버섯의 항산화 활성을 검색한 보고(24)에서는 DPPH radical 소거능은 전반적으로 6.4 mg/mL의 농도에서 약 42.9~81.8% 정도의 소거능을 보였으며, hydroxyl free radical의 소거능은 40 mg/mL의 농도에서 54.3% 정도의 항산화 활성을 보였다고 하였다. Mau 등(25)은 대만에서 상업적으로 이용되는 4종의 버섯을 메탄올로 추출하여 항산화 활성을 측정된 결과, *Dictyophora indusiata* > *Hericium erinaceus* > *Grifola frondosa* > *Tricholoma giganteum*의 순으로 항산화 활성을 나타내었으며 이들의 항산화 활성은 총페놀의 함량과 상관관계가 높다고 보고하였다. 또한 Lim 등(20)은 송이의 항산화 활성과 총페놀 및 플라보노이드류의 함량과의 상관관계를 분석한 결과 약 0.8230에서 0.9877의 상관관계를 보였다고 하였다. 이는 본 연구와도 유사한 결과로 송이즙의 우수한 항산화 활성은 총페놀의 함량과 관련성이 크다고 할 수 있다.

암세포 증식억제효과

농도별 송이즙의 *in vitro*에서의 세포독성을 규명하기 위해 위암, 자궁암, 간암 및 결장암(AGS, HeLa, HepG2 및 HT-29)의 인체 암세포주를 이용하여 세포생존율을 MTT 방법으로 조사하였다. 송이즙을 각각 200, 400, 600, 800, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도가 되도록 암세포주에 첨가하여 72시간 배양한 후에 나타난 암세포의 증식능을 측정하였으며 그 결과는 Fig. 3에 나타내었다.

위암 세포주인 AGS에 대한 증식능은 실험 최고 농도인

1000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 9.5%를 나타내었으며, 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 9.8%, 600 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 47.4%, 400 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 92.3%, 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 94.8%를 나타내었다. 다시 말해, 송이즙의 첨가는 1000 $\mu\text{g/mL}$ 와 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 약 90%의 세포증식억제효과를 나타내었다. 그러나 400 $\mu\text{g/mL}$ 와 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 미약한 세포증식억제효과를 나타내었다. 자궁암 세포주인 HeLa의 증식능은 1000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 32.2%를 나타내었으며, 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 49.6%, 600 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 62.8%, 400 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 87.1%, 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 97.3%를 나타내었다. 간암 세포주인 HepG2의 증식능은 1000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 26.1%를 나타내었으며, 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 45.8%, 600 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 47.4%, 400 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 53.4%, 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 72.7%를 나타내었다. 결장암 세포주인 HT-29의 증식능은 1000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 25.6%를 나타내었으며, 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 26.8%, 600 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 29.2%, 400 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 37.4%, 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 52.5%를 나타내었다. 즉, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 와 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 약 80%의 세포증식억제효과를 나타내었으며, 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서도 약 50%의 세포증식억제효과를 나타내어 다른 세포주들에 비해 저농도에서 높은 억제활성을 보였다.

이러한 결과를 토대로 인체 암세포주에 대한 50% 억제농도(IC_{50} value)를 계산한 결과(Table 1), 위암세포주인 AGS는 605.9 $\mu\text{g/mL}$, 자궁암 세포주인 HeLa는 788.4 $\mu\text{g/mL}$, 간암세포주인 HepG2는 583.6 $\mu\text{g/mL}$ 및 결장암세포주인 HT-29는 232.5 $\mu\text{g/mL}$ 로 각각 나타났다. 이로써 송이즙의 투여는 결장암세포주인 HT-29에서 가장 높은 세포증식억제효과를 가짐을 알 수 있었다.

해송이(21), 능이버섯(26) 및 찔레영지버섯(27)의 경우, 위암세포주인 AGS에 대한 세포증식억제효과는 1000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 약 70, 50, 68%로 송이즙 1000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 90.5%보다 낮은 세포증식억제효과를 나타내었다. 찔레영지버섯 물 추출물의 경우, 자궁암 세포주인 HeLa에 대한 세포증식억제효과는 1000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 10% 미만의 낮은 증식억제효과를 나타내었다(27). 해송이, 차가버섯, 띠미로버섯, 까치버섯 및 물 추출물의 경우, 간암세포주인 HepG2에 대한 세포증식억제효과는 1000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 약 40~57.1%정도의 범위로 송이즙 1000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 74%보다 낮은 세포증식억제효과를 나타내었다(21,28-30). 송이의 자실체에서 추출한 조다당류가 세포주에 대한 세포독성효과에 대한 보고(31)에서는 암세포주인 Sarcoma 180과 HT-29에 대해서 0.01~2.00 mg/mL의 농도에서 세포독성을 나타내었다고 보고하였다. 이는 본 연구에서 송이즙이 HT-29 세포주에 대해 함양 효과가 다른 세포주에 비해 탁월하다는 결과와도 일치하였다.

이상의 결과를 종합해 보면, 송이즙은 ABTS radical 소거능이 우수하며, 인간암세포주에 대한 항암활성을 지니며 그

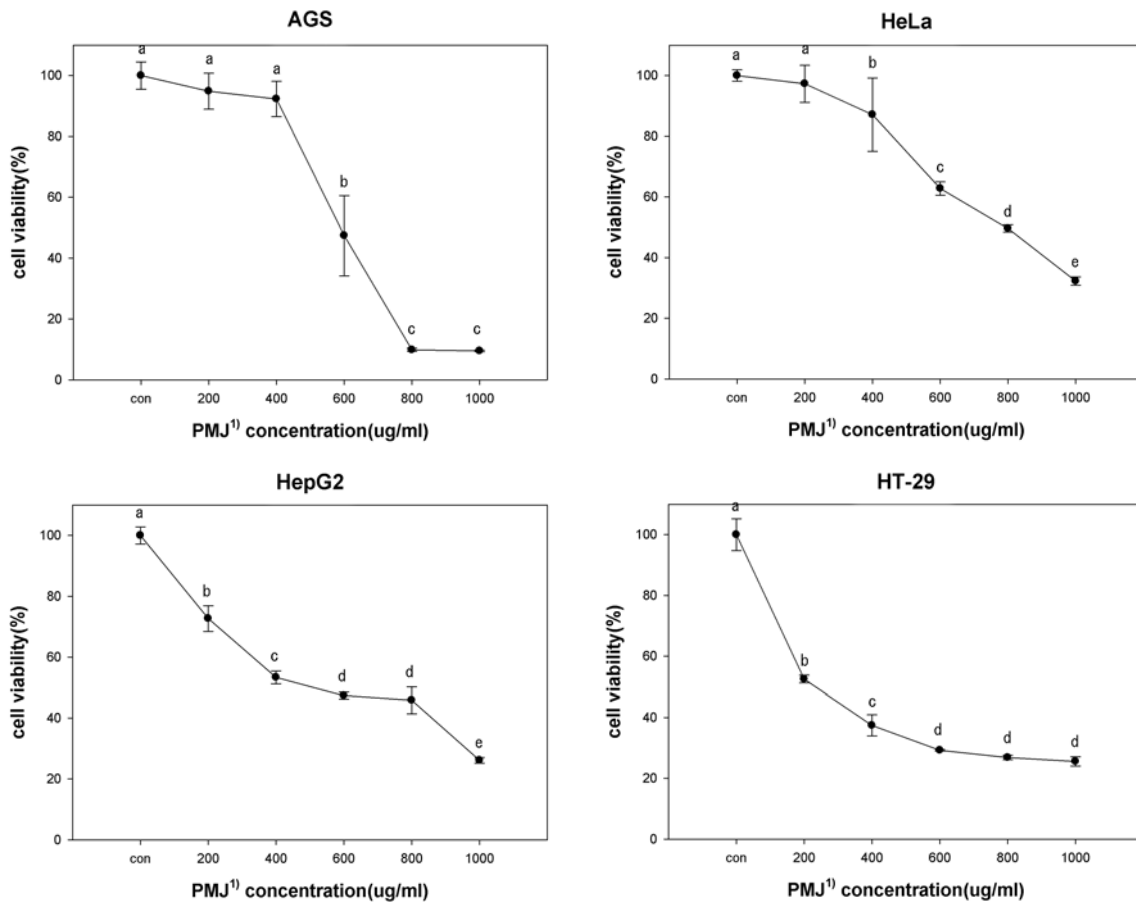


Fig. 3. Inhibitory activities of the pine mushroom juice on cancer cell growth. Cells (AGS: human stomach cancer cells, HeLa: human uterine cancer cells, HepG2: human liver cancer cells, HT-29: human colon cancer cells, 2×10^4 cell/mL) were treated with different concentrations of PMJ (200–1000 $\mu\text{g/mL}$) at 37°C , 5% CO_2 for 72 hr. Cell growth was determined by the MTT assay. Mean values were significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.001$). ¹⁾Pine mushroom juice.

Table 1. IC₅₀ values of the pine mushroom juice towards four different tumor cell lines

	Humun cancer cells ¹⁾			
	AGS	HeLa	HepG2	HT-29
IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	605.9	788.4	583.6	232.5

¹⁾AGS: human stomach cancer cells, HeLa: human uterine cancer cells, HepG2: human liver cancer cells, HT-29: human colon cancer cells.

중에서도 특히 HT-29에 대한 세포독성이 뛰어난 것을 알 수 있었다. 이러한 생리활성은 송이즙에 포함되어있는 총 페놀과 연관성이 있을 것으로 유추할 수 있으며, 이러한 이유로 송이즙을 기능성 소재로의 유용성을 기대할 수 있을 것이다.

요 약

송이는 맛과 향기가 뛰어난 고급 기호식품이며 고부가가치작물 중의 하나이다. 본 연구는 냉동송이의 해동 시에 유출되는 송이즙의 활용성을 증대시키기 위하여 생리활성을 탐색하고자 항산화 활성 및 항암활성을 측정하였다. 총 페놀

함량은 송이즙의 농도 1, 10, 50 mg/mL에서 각각 1.19, 11.24, 54.99 mg GAEs/100 mL로 이는 해송이버섯의 열수추출물과 비교할 때 비슷한 결과를 보였다. ABTS radical을 이용한 항산화 활성은 시료의 농도에 따라 증가하였고, 시료농도 50 mg/mL에서 양성대조군인 Trolox[®] 1 mg/mL 일때와 비슷한 수준의 ABTS radical 소거능을 보여 항산화능을 가진 기능성 소재로서의 가치가 있는 것으로 나타났다. 송이즙의 농도에 따른 암세포의 증식억제효과를 조사하고자 MTT법을 이용하여 세포독성 실험을 실시한 결과, 4가지의 암세포에 대한 항암효과는 송이즙의 농도가 증가할수록 증식억제 효과가 더 뚜렷함을 알 수 있었다. 특히 결장암세포주인 HT-29의 경우 다른 세포주에 비해 저농도(200 $\mu\text{g/mL}$)에서도 50% 정도의 억제효과가 있으며 그때의 IC₅₀ value가 232.5 $\mu\text{g/mL}$ 로 계산되어 송이즙은 결장암세포주에 대해 우수한 항암효과를 가지는 것으로 확인되었다. 이상의 결과를 종합해 보면 송이즙에서 항산화 활성과 항암효과를 확인할 수 있었으며 이를 이용한 기능성 신소재로의 활용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(ARPC)의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Fukuzawa K, Takaishi Y. 1990. Antioxidants. *J Act Oxyg Free Rad* 1: 55-70.
- Halliwell B. 1996. Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev Nutr* 16: 33-50.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 219: 1-14.
- Doll R, Peto R. 1981. The cause of cancer; quantitative estimate of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 66: 1191-1308.
- KNSO. 2007. Annual report on the case of death statistics. Korea National Statistical Office, Seoul, Korea.
- David ID. 2000. An overview of cancer immunotherapy. *Immunol Cell Biol* 78: 179-195.
- Kim HJ, Bae JT, Lee JW, HwangBo MH, Im HG, Lee IS. 2005. Antioxidant activity and inhibitive effects on human leukemia cells of edible mushroom extracts. *Korean J Food Preserv* 12: 80-85.
- Chi HY, Kim KH, Kong WS, Kim SL, Kim JA, Chung IM, Kim JT. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of *P. eryngii* spp. extracts. *Korean J Crop Sci* 50: 216-219.
- Wei Y, Xu H, Wan C. 2004. Purification and component analysis of anti-tumor glycoprotein from *Tricholoma matsutake* Sing. *Chin J Pharm* 35: 650-652.
- Kim JY, Byeon SE, Lee YG, Lee JY, Park JS, Hong EK, Cho JY. 2008. Immunostimulatory activities of polysaccharides from liquid culture of pine-mushroom *Tricholoma matsutake*. *J Microbiol Biotechnol* 18: 95-103.
- Eun JS, Yang JH, Kim DG. 1989. Effect of *Tricholoma matsutake* extract on hyperlipemia in rats. *J Kor Pharm Sci* 19: 137-143.
- Kim SS, Lim KS, Kim HJ, Chong MS, Cho HE, Choi YH, Lee KN. 2008. Effects of extracts from mixed culture with *Tricholoma matsutake* mycelium and *Cordyceps militaris* mycelium on blood glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 22: 365-370.
- Kim YE, Kwon EK, Han DS, Kim IH, Ku KH. 2008. Antioxidant activity, fibrinolysis and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of pine mushroom juice (*Tricholoma matsutake* Sing.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 535-541.
- Ku KH, Cho MH, Park WS. 2002. Characteristics of quality and volatile flavor compound in raw and frozen pine-mushroom (*Tricholoma matsutake*). *Korean J Food Sci Technol* 34: 625-630.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. p 8-35.
- Van den Berg R, Haenen GR, Van den Berg H, Bast A. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem* 66: 511-517.
- Denizot F, Rita L. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods* 22: 271-277.
- Madsen HL, Andersen CM, Jorgensen LV. 2000. Radical scavenging by dietary flavonoids. *Eur Food Technol* 211: 240-246.
- Madsen HL, Nielsen BR, Bertelsen G, Skibsted LH. 1996. Screen of antioxidative activity of spices. *Food Chem* 57: 331-337.
- Lim HW, Yoon JH, Kim YS, Lee MW, Park SY, Choi HK. 2007. Free radical-scavenging and inhibition of nitric oxide production by four grades of pine mushroom (*Tricholoma matsutake* Sing.). *Food Chem* 103: 1337-1342.
- Xu XM, Jun JY, Jeong IH. 2007. A study on the antioxidant activity of *Hae-Songi* mushroom (*Hypsizygus marmoreus*) hot water extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1351-1357.
- Lee SO, Kim MJ, Kim DG, Choi HJ. 2005. Antioxidative activities of temperature-step wise water extracts from *Inonotus obliquus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 139-147.
- Kim KB, Yoo KH, Park HY, Jeong JM. 2006. Anti-oxidative activities of commercial edible plant extracts distributed in Korea. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 328-333.
- Yang JH, Lin HC, Mau JL. 2001. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem* 77: 229-235.
- Mau JL, Lin HC, Song SF. 2001. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res Intern* 35: 519-526.
- Song JH, Lee HS, Hwang JK, Han JW, Ro JG, Keum DH, Park KM. 2003. Physiological activity of *Sarcodon aspratus* extracts. *Korean J Food Sci Ani Resour* 23: 172-179.
- Song JH, Lee HS, Hwang JK, Chung TY, Hong SR, Park KM. 2003. Physiological activities of *Phellinus ribis* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 35: 690-695.
- Park KC, Han HS, Lee YJ. 2007. The comparative study of the effects of *Fructification Inonoti Obliqui* aqueous extract according to the extraction temperature (II)-anti-oxidative activity, anti inflammatory effect and cancer cell multiplication inhibition effect. *Kor J Herbology* 22: 187-199.
- Yang KH, Yang JH, Ryu BH. 1997. Antitumor effects of extracts obtained from *Daedalea dickinsii*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 178-182.
- Han J, Lee IS. 2000. Antioxidation and anticancer effects of *Polyozellus multiplex*. *Han'guk Kyunhakhoe* 28: 55-59.
- Hur H, Choi YI, Lee TS. 2008. Antitumor and immunopotentiating activity against mouse sarcoma 180 by crude polysaccharides extracted from fruiting body of *Tricholoma matsutake*. *J Life Sci* 18: 1290-1298.

(2009년 3월 9일 접수; 2009년 4월 29일 채택)