

잎새버섯(*Grifola frondosa*) 추출물 및 잎새버섯과 흰목이(*Tremella fuciformis*) 혼합추출물의 급성독성시험

오영주¹, 박금주¹, 하효철¹, 김현수^{2*}

¹풀무원 식문화연구원 기능성연구소, ²한국국제대학교 제약공학과

Acute toxicity evaluation of maitake mushroom extract and the mixture of maitake and white jelly mushroom extract

Young-Joo Oh¹, Kum-Ju Park¹, Hyo-Cheol Ha¹ and Hyun-Su Kim^{2*}

¹R&D Center for Functional Foods, Institute of Food and Culture, Pulmuone Co., Ltd. Seoul, 120-600, Korea

²Department Pharmaceutical Engineering, International University of Korea, 660-759, Korea

(Received June 14, 2010, Revised June 24, 2010, Accepted June 28, 2010)

ABSTRACT: The acute toxicity of a crude extract of maitake mushroom(*Grifola frondosa* practical compound: GFPC) and the mixture of maitake mushroom extract and white jelly mushroom extract(*Tremella fuciformis* practical compound: TFPC). For acute oral toxicity test, male and female ICR mice were randomly assigned to five groups, consisting of 12 animals each, six males and six females, received either GFPC or the mixture of GFPC and TFPC, at dose of 0, 2,000 and 5,000mg/kg b.w. by orally(10ml/kg b.w.). For the period of 48hr, clinical signs, body weight and food intake were measured. All animals survived during the study and did not show any clinical signs. Food intake was mildly decreased in both GFPC and the mixture of GFPC and TFPC treated groups, however, body weight gain showed no significant difference among the groups. It is suggested that LD50 of GFPC and the mixture of GFPC and TFPC by oral administration was estimated to be over 5,000mg/kg in both sexes of mice. These results conform that GFPC and the mixture of GFPC and TFPC are safe and no toxic at average dietary level.

KEYWORDS : Acute oral toxicity, *Grifola frondosa* practical compound(GFPC), *Tremella fuciformis* practical compound(TFPC)

서론

만성적인 고혈당은 체내 단백질을 당질화시키고 이는 눈, 신장, 신경 및 관절 등에 2차 합병증을 유발시킨다. 따라서 당뇨병 치료의 1차적인 목적은 혈당강하에 있다. 그러나 현재 혈당 상승 예방을 위하여 사용되어지고 있는 경구 혈당강하제에 대한 부작용과 독성이 밝혀지고 있어 이러한 부작용의 위험성을 해소할 수 있는 혈당 강하 소재의 개발이 절실한 실정이다(Yamamoto 등, 2001; Tolman 등, 2003).

이러한 현실에 발맞추어, 국내뿐 아니라 일본 및 미국을 중심으로 한 선진국에서도 천연물로부터 혈당 강하 소재를 개발하기 위한 연구가 활발히 진행중이다. 국내에 지금까지 소개 되어진 혈당 강하 활성을 가지는 천연물에는 메밀, 달맞이꽃 종자유, 누에 및 그 관련소재 등 매우 다양하다. 또한 최근에는 큰느타리버섯, 표고버섯 등 버섯에서 추출한 당체가 혈당 강하 활성을 가진다는 보고도 있다(김 등, 1994; 김 등, 1994; 이 등, 1995; 강 등, 2001; 송 등, 2001; 유 등,

2002; Gupta 등, 2008).

이러한 배경에 발맞추어 본 연구자들은 잎새버섯과 흰목이를 이용한 혈당강하 기능성 제품의 개발을 위한 연구를 진행하였다. 잎새버섯(*Grifola frondosa*, Polyporaceae)은 식용담자균류의 일종으로 일본을 중심으로 오랫동안 식용되어져 왔고, 최근의 연구를 통해 다양한 약리작용이 보고되어지고 있다. 대표적인 약리작용은 면역부활로 잎새버섯의 다당류에서 정제한 MD-fraction은 상품화되어져 있고 이 밖에도, 항종양, 항고혈압, 항고지혈증 등 다양한 약리작용이 보고된바 있다(Kabir 등, 1987; Adachi 등, 1988; Nanba, 1995; Nanba와 Kubo 등, 1997; Mark, 2001; Matsui 등, 2001; Talpur 등, 2002).

또한 잎새버섯은 항당뇨 효과를 가진다는 결과가 일부 보고 되어져 있어 혈당 강하 소재로서의 개발 가능성이 충분하다고 판단되었고, 흰목이(*Tremella fuciformis*) 또한 식용담자균류의 일종으로 중국에서 오래전부터 식용되어져 온 식용버섯이다(Horio 등, 2001; Manohar 등, 2002); 박 등, 2007).

특히 흰목이는 식이섬유를 비롯한 β -glucan의 함량이

* Corresponding author (hs.kim4@hanmail.net)

Table 1. Clinical signs of ICR mice after a single oral administration

Sex	Treatment	Dose(mg/kg)	Observations	Range
Male	Control	0	Appears normal	0~48hr
	GFPC	2,000	Appears normal	0~48hr
		5,000	Appears normal	0~48hr
	Mixutre	2,000	Appears normal	0~48hr
5,000		Appears normal	0~48hr	
Female	Control	0	Appears normal	0~48hr
	GFPC	2,000	Appears normal	0~48hr
		5,000	Appears normal	0~48hr
	Mixutre	2,000	Appears normal	0~48hr
5,000		Appears normal	0~48hr	

^a *Grifola frondosa* Practical Compound.

^b *Grifola frondosa* Practical Compound + *Tremella fuciformis* Practical Compound.

Table 2. Mortality of ICR mice after a single oral administration

Sex	Treatment	Dose(mg/kg)	0hr	24hr	48hr
Male	Control	0	0/6	0/6	0/6
	GFPC	2,000	0/6	0/6	0/6
		5,000	0/6	0/6	0/6
	Mixutre	2,000	0/6	0/6	0/6
5,000		0/6	0/6	0/6	
Female	Control	0	0/6	0/6	0/6
	GFPC	2,000	0/6	0/6	0/6
		5,000	0/6	0/6	0/6
	Mixture	2,000	0/6	0/6	0/6
5,000		0/6	0/6	0/6	

^a The number of dead animals/the number of animals per group.

^b *Grifola frondosa* Practical Compound.

^c *Grifola frondosa* Practical Compound + *Tremella fuciformis* Practical Compound.

높아 혈당 강하 소재로서의 충분한 가능성을 가지고 있다. 실제로 각각의 버섯으로부터 추출한 각각의 조다당체와 추출 복합물 대하여 STZ 당뇨 모델 rat과 유전적 당뇨 실험동물 모델인 kk/Ay mouse에서 혈당강하효과를 실험한 결과, 유의적인 혈당강하효과를 관찰 할 수 있었다(김 등, 2004; 김, 2007).

이에 본 연구에서는 혈당강하 소재로서 가능성이 확인된 잎새버섯 추출물과 잎새버섯 및 흰목이 추출 혼합물의 안전성과 대한 평가를 통해 기능성 식품으로서 개발을 위한 자료를 제공하고자 마우스를 이용한 단기 경구독성시험을 통해 안전성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

잎새버섯 열수추출물의 제조

자실체(중국 복건성 생산제품)를 분쇄하고 자실체 무게에 대하여 10배 가수하여 12시간 동안 냉수침지 한 후 냉수침지액을 제거하고, 다시 20배 가수하여 100℃에서 12시간 동안 열수 추출하였다. 추출 후 추출물을 여과막(150 mesh)을 이용하여 2차례 여과시켜 농축한 다음 동결건조하고 분쇄하여 분말상태가 되도록 하였다.

잎새버섯 및 흰목이 버섯 추출 혼합물 제조

잎새버섯 열수추출물 분말과 흰목이 열수추출물 분말을 20 : 1 의 비율(조성 비율은 회사의 제품설계)로 혼합하여 제조하였고, 이에 사용된 흰목이 열수추출물 분말의 제조

Table 3. Body weight of ICR mice after a single oral administration

Sex	Treatment	Dose (mg/kg)	g/rat		
			0hr	24hr	48hr
Male	Control	0	27.56± 0.80	27.60± 0.50	28.72± 0.94
		2,000	27.47± 0.83	27.25± 0.74	28.54± 0.71
	GFPC	5,000	27.47± 0.98	27.67± 0.87	28.81± 0.82
		2,000	27.49± 0.90	28.11± 1.21	29.30± 1.24
	Mixture	5,000	27.42± 0.95	27.01± 1.08	28.00± 1.02
		0	24.28± 0.92	24.32± 0.72	24.86± 1.06
Female	Control	2,000	24.08± 0.96	23.86± 1.08	24.28± 1.21
		5,000	24.13± 0.82	25.20± 0.91	26.01± 0.99
	GFPC	2,000	24.04± 0.44	23.77± 0.84	24.28± 1.18
		5,000	24.16± 0.97	23.94± 1.07	24.38± 1.00
	Mixture	2,000			
		5,000			

^a Data are expressed as mean± SD.

^b *Grifola frondosa* Practical Compound.

^c *Grifola frondosa* Practical Compound + *Tremella fuciformis* Practical Compound.

Table 4. Food consumption of ICR mice after a single oral administration

Sex	Treatment	Dose (mg/kg)	g/day	
			24hr	48hr
Male	Control	0	3.92	5.24
		2,000	4.22	4.82
	GFPC	5,000	2.96	4.90
		2,000	4.50	5.08
	Mixture	5,000	3.47	4.73
		0	4.22	4.36
Female	Control	2,000	3.33	3.87
		5,000	3.54	4.28
	GFPC	2,000	3.63	4.09
		5,000	3.29	3.60
	Mixture	2,000		
		5,000		

^a *Grifola frondosa* Practical Compound.

^b *Grifola frondosa* Practical Compound + *Tremella fuciformis* Practical Compound.

는 다음과 같다. 흰목이(*Tremella fuciformis*) 자실체(중국 복건성 생산제품)를 분쇄하고 자실체 무게에 대하여 40배 가수하여 12시간 동안 냉수침지 한 후 냉수침지액을 제거하고, 다시 50배 가수하여 100℃에서 12시간 동안 열수 추출하였다. 추출 후 추출물을 여과막(150 mesh)을 이용하여 2차례 여과시켜 농축한 다음 동결 건조하여 분말상태가 되도록 하였다.

안전성 시험(safety test)

4주령 ICR mice를 (주)샘타코 코리아(경기도, 오산)에서 구입하였으며, 사육실은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간, 조도 150–300 Lux 조건하에 일주일간 순화기간을 두어 육안으로 일반증상을 관찰하고 건강한 동물

암,수 모두 60마리(암30, 수30)를 시험에 사용하였다. 실험 동물은 체중이 비슷한 동물을 무작위법으로 균등히 암, 수 각 군 당 6마리씩 분배하였다. 순화기간 및 시험기간 중에는 플라스틱제 사육상자(W)260×(D)420×(H)180mm)에 6마리씩 사육하였고, 실험동물용 고형사료(㈜샘타코 코리아, 오산)와 음수 가능한 상수도수를 자유 급여 하였다.

투여량 설정 및 시험물질 투여

투여용량은 식품의약품안전청에서 고시한 “식품의약품 등의 독성시험기준”에 따라 2,000mg/kg 체중의 1용량을 설정하고 이보다 고농도인 5,000mg/kg을 국제 기준을 참고하여 설정하였다. 시험물질의 투여액은 일반증류수로 희석하여 투여당일 측정된 체중을 기준으로 10ml/kg의 투여

액량으로 통일하여 단회 경구 투여 하였으며 투여 후 48시간 동안 일반 증상을 관찰하였다(식품의약품안전청, 고시 제1999-61호, 2005; Schlede 등, 2005).

관찰 항목

일반증상 및 사망동물

시험기간 중 매일 동물의 행동, 보행이상 등에 관한 일반증상 및 증독증상을 관찰하고 사망동물의 유무를 조사하였다.

체중변화

시험에 사용된 모든 개체에 대해 투여개시전과 투여 후 매일 체중을 측정하였다.

사료 섭취량

사육 케이지별로 매일 일정량의 사료를 공급하고 익일 같은 시간에 사료의 잔량을 측정하여 일일 평균사료섭취량(g/animal/day)을 계산하였다.

통계처리

통계분석은 SPSS 10.1 package를 이용하여 분석하였고, 시험물질 투여군과 대조군 간의 비교는 One-Way ANOVA를 이용하여 군 간의 차이를 검정한 후($\alpha=0.05$), Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 검정 하였다.

결과 및 고찰

안전성 시험

일반증상

시험물질 투여 후 48시간 동안 임상 증상을 관찰한 결과 GFPC 섭취군과 잎새버섯 및 흰목이 혼합물 섭취군의 암수 모두 운동 상태, 외관변화 등 특별한 소견이 관찰되지 않았다(Table1).

사망률

GFPC 섭취군과 잎새버섯 및 흰목이 버섯 혼합물 섭취군 암, 수 모두 시험기간동안 사망하지 않았다(Table2).

체중변화

전 시험기간 동안 암, 수의 체중 증가율 변화는 암컷의 경우, GFPC 고용량 섭취군에서 다소 체중 증가가 높은 것으로 나타났으나 대조군과 유의적인 차이는 없었으며, 수컷의 경우 전 투여용량에서 시험물질 섭취군과 대조군과의 유의적인 차이가 발생하지 않았다(Table3).

사료섭취량

전 시험기간 동안 암, 수의 사료섭취량은 시험 물질군이 대조군보다 다소 낮은 섭취량을 보였으나 통계적 유의성을 보이지 않았다(Table4).

적 요

본 연구에서는 혈당강하 소재로서 가능성이 확인된 GFPC와 잎새버섯 및 흰목이 추출 혼합물의 안전성을 평가하기 위하여 수행되었다. 마우스에 대한 급성경구독성을 평가하기 위해 체중 kg 당 최고 5g의 각 시험물질을 마우스 위에 직접 투여하여 48시간 동안 관찰 한 결과 모든 실험군에서 사망예가 관찰되지 않아 LD50 은 5g/kg B.W. 이상으로 계산되었으며, 임상 증상이나 체중에서도 유의할만한 소견이 관찰되지 않았다. 따라서 본 실험의 GFPC와 잎새버섯 및 흰목이 추출 혼합물은 마우스에 있어서 단기 급성 경구독성이나 부작용을 유발하지 않는 안전한 식품소재로 평가되었다. 결론적으로 GFPC와 잎새버섯 및 흰목이 추출 혼합물은 급성 독성이나 부작용을 유발하지 않아 임상사용의 가능성을 제시하여 주었다.

참고문헌

- 강태수, 강미선, 성재모, 강안석, 손형락, 이신영. 2001. 큰느타리버섯이 당뇨쥐의 혈당 및 혈중콜레스테롤에 미치는 영향. 한국균학회지 29 ; 86-90.
- 김진엽, 박중열, 이기업. 1994. : 달개비풀, 인삼, 달맞이꽃 종자유등이 스트렙토조토신 당뇨백서에서 포도당대사에 미치는 영향. 당뇨병과 민간요법 18 ; 377-381.
- 김현수, 변유량, 현형환. 2004. 잎새버섯 및 흰목이를 이용한 당뇨조절용 기능성 식품개발. 보건의료기술연구개발 사업 최종보고서.
- 김현수. 2007. 생물신소재탐색법 제안, 기능성식품 및 화장품 개발 프로세스. 연세대학교 생물소재공학 인력양성사업단. 식품의약품안전청. 2005. 의약품등의 독성시험기준. 식품의약품안전청 고시 제1999-61호.
- 박금주, 오영주, 이상윤, 김현수, 하효철. 2007. 3T3-L1지방세포 및 제2형 당뇨모델 (kk/Ay)에서 잎새버섯(*Grifola frondosa*)조다당체 추출물의 항당뇨 효과. 한국식품과학회지. 39 ; 330-335.
- 송지영, 윤기주, 윤혜경, 구성자. 2001. 표고버섯과 보리에서 추출한 β -glucan이 Alloxan 유발 당뇨 마우스의 혈당 및 지질 성분에 미치는 영향. 한국식품과학회지. 33 ; 802-807.
- 유수경, 김미지, 김진원, 이순재. 2002. YK-209 뿌잎이

- Streptozotocin 유발 당뇨쥐 소장의 이당류분해 효소 활성과 혈당강하에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지. 31 ; 1071-1077.
- 이정선, 이명현, 장유경, 주진순, 손홍수. 1995. 메밀식이가 제2형 당뇨병환자의 혈당과 혈중지질 대사에 미치는 영향. 한국영양학회지 28 ; 809-817.
- Adachi, K. Nanba, H. Otsuka, M. and Kuroda, H. 1988. Blood pressure-lowering activity present in the fruit body of *Grifola frondosa* (maitake). I. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). 36 ; 1000-6.
- Gupta, A. Upadhyay, NK. Sawhney, RC. and Kumar, R. 2008. A poly-herbal formulation accelerates normal and impaired diabetic wound healing. Wound Repair Regen, 16 ; 784-790.
- Horio, H. and Ohtsuru, M. 2001. Maitake (*Grifola frondosa*) improve glucose tolerance of experimental diabetic rats. J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo). 47 ; 57-63.
- Kabir, Y. Yamaguchi, M. and Kimura S. 1987. Effect of shiitake (*Lentinus edodes*) and maitake (*Grifola frondosa*) mushrooms on blood pressure and plasma lipid of spontaneously hypertensive rats. J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo). 33 ; 341-6.
- Kubo, K. and Nanba, H. 1997. Anti-hyperliposis effect of maitake fruit body (*Grifola frondosa*). I. Biol. Pharm. Bull. 20 ; 781-5.
- Manohar, V. Talpur, NA. Echard, BW. Lieberman, S. and Preuss, HG. 2002. Effects of a water-soluble extract of maitake mushroom on circulating glucose/insulin concentrations in KK mice. Diabetes Obes. Metab., 4 ; 43- 48.
- Mark, Mayell. 2001. Maitake extracts and their therapeutic potential-A Review. Altern. Med. Rev. 6 ; 48-60.
- Matsui, K. Kodama, N. and Nanba, H. 2001. Effects of maitake (*Grifola frondosa*) D- fraction on the carcinoma angiogenesis. Cancer Lett. 172 ; 193-8.
- Nanba, H. and Kubo, K. 1997. Effect of maitake D-fraction on cancer prevention. Ann. N. Y. Acad. Sci. 29 ; 204-7.
- Nanba, H. 1995. Activity of maitake D-fraction to inhibit carcinogenesis and metastasis. Ann. N. Y. Acad. Sci. 30 ; 243-5.
- Talpur, NA. Echard, BW. Fan, Ay. Jaffari, O. Bagchi, D. and Preuss, HG. 2002. Antihypertensive and metabolic effects of whole maitake mushroom powder and its fractions in two rat strains. Mol. Cell Biochem. 237 ; 129-36.
- Schlede E, Genschow E, Spielmann H, Stropp G. and Kayser D. 2005. Oral acute toxic class method; A successful alternative to the oral LD50 test. Regulatory Toxicology and Pharmacology 42 ; 15-23.
- Tolman, K. G. and Chandramouli, J. 2003. Hepatotoxicity of the thiazolidinediones. Clinics in Liver Disease 7 ; 369-379.
- Yamamoto, Y. Nakajima, M. Yamazaki, H. and Yokoi, T. 2001. Cytotoxicity and apoptosis produced by troglitazone in human hepatoma cells. Life Sciences 70 ; 471-482.