

방울토마토 (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) 라이코펜 품종의 기능적 특성

최 석 현 · 안 준 배[¶]
서원대학교 호텔외식조리학과[¶]

Functional Properties of the Lycopene Cultivar of Cherry Tomato (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*)

Suk Hyun Choi · Jun Bae Ahn[¶]
Dept. of Food Service & Culinary Arts, Seowon University[¶]

Abstract

This study was carried out to investigate the effectiveness of the Lycopene cultivar of cherry tomatoes as a functional food and food material by measuring the total polyphenol and flavonoid content, anti-oxidative and anticancer activity. The contents of polyphenol and flavonoid were 12.28±1.78 mg and 3.89±0.54 mg per one g of dried cherry tomatoes respectively. The anti-oxidative activity of the cherry tomato was verified by measuring α - α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity (DSA), 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) radical scavenging activity (ASA) and ferric reducing antioxidant power (FRAP). 50% of radical scavenging concentrations (IC₅₀) of DSA and ASA were 328.64±4.19 μ g/mL and 350.61±3.30 μ g/mL respectively. FRAP value was 26.92±0.68 μ mol Fe²⁺/g. The effects of the cherry tomato extract on the growth of a normal lung cell (HeL299), lung cancer cell (A549), cervical cancer cell (HeLa) and a liver cancer cell (HepG2) were investigated using MTT assay. The cherry tomato extract showed a significantly strong growth inhibition effects against A549 cell and IC₅₀ was 375.46±33.67 μ g/mL. The extract also inhibited growths of HeLa and HepG2 cells weakly. In this study we found that Lycopene cultivar of cherry tomato had anti-oxidative activity and strong inhibition effect against lung cancer cells. These results indicate that the Lycopene cultivar of cherry tomato would be a functional food and food material.

Key words: cherry tomato, Lycopene cultivar, DPPH, ABTS, FRAP, anticancer, MTT assay

I. 서 론

토마토는 세계적으로 가공품이나 생과 형태로 소비가 많은 채소이며, 다양한 영양소와 기능성 성분이 다량 함유되어 있다(Friedman M 2002; Frusciante L et al 2007). 다양한 품종의 토마토가

세계 각지에서 재배되고 있는데, 크기에 따라 일반 토마토와 방울토마토(cherry tomato)로 구분될 수 있다(Kim SJ et al 2012).

일반 토마토에는 비타민 A, B, C, E, K 및 무기질 등 영양성분과 lycopene이나 β -carotene 생리활성 성분이 다량 함유된 것으로 알려져 있고, 이에

[¶]: 안준배, +82-10-4231-5825, given@seowon.ac.kr, 충청북도 청주시 서원구 무심서로 377-3(모충동) 서원대학교

관해서는 많은 연구가 축적되어 영양성분과 생리활성 성분의 분포에 대해 비교적 자세히 알려져 있다(Lee HB et al 1972; Davies JN & Hobson GE 1981; Lenucci MS et al 2006; Choi SH et al.. 2010). 또한, 일반 토마토에 포함된 생리활성 성분의 기능성을 규명한 연구 결과도 다수 존재하는데, 이를 통해 lycopene이나 β -carotene의 항산화 효과(Frusciante L et al 2007), LDL의 산화억제 효과(Oshima S et al 1998; Stahl W et al 2001) 등 기능성이 확인되었다. 그리고 역학적 연구(epidemiological study)를 통해 토마토, 토마토 가공품, lycopene의 섭취와 다양한 암의 발생 빈도와의 상관관계가 규명되어, 이들의 섭취가 전립선암, 폐암, 유방암 등 다양한 암의 발생위험을 낮추며(Mayne ST et al 1994; Agudo A et al 1997; Giovannucci E et al 1995; Giovannucci E 1999; Barber NJ & Barber J 2002; Hwang ES & Bowen PE 2004; Polozza P et al 2011) 치료 중인 폐암 환자들의 생존율을 높이는(Goodman MT et al 1992) 등 항암활성이 밝혀졌다.

이와 같이 일반 토마토는 그 성분이나 생리활성에 대해서 많은 연구가 축적되어 기능성 식품 또는 식품 소재로서의 유용성이 밝혀져 있으나, 방울토마토에 대해서는 충분히 연구가 이루어지지 않았다. 방울토마토는 일반토마토에 비해 조리나 가공식품 원료로 많이 활용되고 있지 않으나, 우리나라에서는 생과로 섭취량이 늘어나고 있는 추세이며, 해외에서는 소스, 시럽 등 가공품으로 활용되고 있다(Lenucci MS et al 2006). 방울토마토의 식품학적 가치와 활용도를 높이기 위해서는 방울토마토의 영양성분 및 생리활성 성분과 기능성에 대한 체계적인 연구가 필요하다고 사료된다. 지금까지 방울토마토의 이화학적 성분이나 기능성에 관한 연구는 일반성분, 비타민 A, 비타민 C, 카로티노이드 등의 함량과 항산화 효과(Raffo A et al 2006; Lenucci MS 2006), ACE 저해효과와 lectin의 생화학적 특징에 관한 연구(Na YP et al 2007; Roh KS 2010)가 있다. 그러나 방울토마토

의 성분과 기능성을 이해하기 위해서는 좀 더 많은 연구가 필요한 실정이다.

본 연구팀은 선행 연구(Kim HR & Ahn JB, 2014)에서 방울토마토 라이코펜 품종의 유리아미노산, 아미노산 대사산물의 함량, 폴리페놀 화합물의 종류와 함량을 HPLC, LC-MS/MS로 분석, 동정한 바 있다. 선행연구를 통해 방울토마토에는 L-글루탐산을 비롯한 18종의 아미노산들이 고루 함유되어 있고, 알리지 억제효능(Yamamoto T et al 2004; Iwamura C et al 2010), 염증억제 효과(Hirai S et al 2007), 2형 당뇨병 비만억제 효과(Horiba T et al 2010) 등이 알려진 naringenin chalcone, 항산화효과(Metodiewa D et al 1997), 혈액응집억제(Navarro-Núñez L et al 2008), 천식억제작용(Jung CH et al 2007) 등이 알려진 quercetin-3-rutinoside 등 생리활성물질이 다량 함유되어 있음을 밝혔다.

본 연구에서는 방울토마토 라이코펜 품종의 기능적 특성을 규명하기 위해 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 정량하였고, 다양한 방법으로 항산화 활성을 검증하여 보았다. 또한, MTT assay를 통해 다양한 종류의 암세포에 대한 생육억제 효과를 확인하였다. 본 연구의 결과는 방울토마토 라이코펜 품종의 식품 또는 식품소재로서의 가치를 밝히고, 활용성을 높이는데 기여할 것으로 판단된다. 본 연구는 방울토마토 중 라이코펜 한 품종에 대해 항산화효과 및 암세포 억제 활성을 검증하여 보았으나, 방울토마토의 식품학적 가치를 규명하기 위해서는 좀 더 많은 품종에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

방울토마토 라이코펜 품종은 부여 토마토시험장(Chung-Nam, Korea)에서 2012년에 수확된 것을 사용하였다.

α - α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azi-

nobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS), 2,4,6-tripyridyl-*s*-triazine (TPTZ) 등 시약은 Sigma-Aldrich사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Chang, Hel299, A549, HeLa, HepG2 세포는 American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)으로부터 구입하여 사용하였고, α -MEM, RPMI 1640 등 세포 배양 배지 및 시약은 Gibco BRL (Life technologies, Cergy-Pontoise, France)로부터 구입하였다.

2. 방울토마토 건조 시료 제조

방울토마토 건조 시료는 선행 연구(Kim HR & Ahn JB, 2014)에서 사용한 방법에 따라 제조하였다. 최대한 균일한 크기의 방울토마토의 꼭지를 제거하고, 과육을 잘게 썰어 액체 질소에서 급냉시킨 후 동결건조기(PVTFD 10R, Ilsinbiobase Co. Ltd., Donduchon-si, Korea)를 사용하여 건조하였다. 동결건조된 방울토마토를 Wiley mill(Thomas Model 4, Thomas Scientific, Swedesboro, USA)로 곱게 분쇄한 후, 20 mesh 체를 통과시켜 분말 시료를 제조하였다.

3. 추출물 제조

동결건조 분말 100 mg 당 80%(v/v) 메탄올 50 mL를 가하여 초음파 수조에 넣고, 30°C에서 60분간 추출하였다. 추출액을 감압 여과(Whatman No. 2)하여 18,000 g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액을 0.45 μ m nylon filter (Millipore, Bedford, MA, USA)를 사용하여 여과액을 volumetric flask에 모은 후 80%(v/v) 메탄올을 가하여 50 mL로 정용하여 메탄올 추출액을 제조하였다. 추출액을 감압 농축(EYELA N-1110, Rikakikai Co. Ltd., Tokyo, Japan)한 후 10 mL vial에 옮겨 동결건조하였다. 메탄올 추출액은 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 정량하는데 사용하였으며, 추출 건조물은 80%(v/v) 메탄올에 농도별로 희석하여 DPPH radical scavenging activity를 측정하였고, dimethyl sulfoxide (DMSO)로 희석하여 ABTS

radical scavenging activity 및 FRAP assay, 암세포 억제 활성 검증에 사용하였다.

4. 총 폴리페놀의 정량

방울토마토 라이코펜 품종 메탄올 추출액의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis의 방법(Rha YA et al 2014)을 변형하여 측정하였다. 추출액 1 mL에 10%(w/v) Na_2CO_3 용액을 가하여 혼합하고, 상온에서 2분간 방치한 후 Folin Ciocalteus reagent 0.5 mL와 증류수 7 mL를 첨가하여 1시간 동안 발색시켜 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량을 정량하기 위해 gallic acid를 표준물질로 0~100 μ g/mL 범위에서 표준곡선을 작성하여 검량식 $y=0.0158x$ ($R^2=0.9981$)을 얻었으며, 이에 따라 총 폴리페놀 함량을 정량하였다.

5. 총 플라보노이드의 정량

총 플라보노이드 함량은 Dewanto V et al (2002)의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출액 1 mL를 10 mL volumetric flask에 넣고 60%(v/v) 에탄올 8 mL와 5%(w/v) NaNO_2 0.2 mL를 순차적으로 첨가하여 6분간 방치하였다. 여기에 0.2 mL 10%(w/v) AlCl_3 를 첨가하여 6분간 반응시킨 후, 0.6 mL의 4%(w/v) NaOH를 가하였다. 소량의 증류수를 첨가하여 10 mL로 정용한 후 415 nm에서 흡광도를 측정하여 총 플라보노이드 함량을 정량하였다. 정량을 위해서는 quercetin을 표준물질로 0~75 μ g/mL 범위에서 표준곡선을 작성하여 검량식($y=0.0028x+0.0406$, $R^2=0.993$)을 얻어 총 폴리페놀 함량을 정량하였다.

6. DPPH 라디칼 소거활성 측정

방울토마토 라이코펜 품종 추출물의 항산화 활성을 측정하기 위해 Brand-Williams W et al (1995)의 방법에 따라 α - α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성(radical scavenging activity)을 측정하였다. 추출 건조물을 80%(v/v) 메탄올에 희석하여 각각 50, 100, 250, 500 μ g/mL 농도로

시료를 제조하였다. 시료 0.8 mL를 0.15 mM DPPH 0.2 mL와 혼합하여 상온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 80%(v/v) 메탄올(blank)과 시료(sample) 처리시 흡광도 차이에 따라 다음식으로 산출하였다.

DPPH free radical의 생성을 50% 억제하는 시료의 농도를 IC₅₀으로 정의하여 산정하였다. 양성 대조구는 합성 항산화제인 butylated hydroxyanisole(BHA)을 사용하였다.

DPPH radical scavenging activity(%)

$$= (1 - A_{\text{sample}}/A_{\text{blank}}) \times 100$$

7. ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS(2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) 라디칼 소거활성은 Re R et al (1999)의 방법을 사용하여 측정하였다. 7 mM ABTS 수용액과 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하고, 상온, 암소에서 24시간 보관하여 ABTS^{•+}용액(양이온 라디칼)을 제조하였다. 제조된 ABTS^{•+}용액을 732 nm에서 흡광도가 0.7±0.02가 되도록 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 희석하였다. 시료는 방울토마토 추출 건조물을 DMSO에 각각 50, 100, 250, 500 µg/mL로 농도별로 희석하여 제조하였다. 시료 10 µL와 ABTS^{•+}용액 990 µL를 혼합하여 1분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. DMSO(blank)와 시료(sample)를 처리하였을 경우, 흡광도를 비교하여 다음식에 따라 ABTS 라디칼 소거활성을 구하였다.

ABTS cation radical의 생성을 50% 억제하는 시료의 농도를 IC₅₀으로 정의하여 산정하였다. 양성 대조구는 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid(Trolox)를 사용하였다.

ABTS radical scavenging activity (%)

$$= (1 - A_{\text{sample}}/A_{\text{blank}}) \times 100$$

8. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) 측정

Benzie IFF & Strain JJ(1996)의 방법에 따라 방울토마토 라이코펜 품종 추출물이 ferric ion (Fe³⁺)을 Ferrous ion (Fe²⁺)로 환원시키는 능력 (FRAP)을 측정하였다. TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 용액은 40 mM HCl에 ferric-tripyridyl-triazine(Fe³⁺-TPTZ)을 10 mM 농도로 용해하여 제조하였다. FRAP reagent는 300 mM acetate buffer (pH 3.6) 100 mL, TPTZ 용액 10 mL, 20 nM FeCl₃·6H₂O 10 mL를 혼합하여 제조하였다. 시료의 FRAP를 측정하기 위해서 시료 60 µL에 FRAP reagent 1.8 mL를 가하고, 증류수 180 µL를 첨가하여 37°C에서 4분간 반응시켜 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도는 0~2.0 범위에서 측정하였으며, 범위를 벗어나면 시료를 희석하여 측정하였다. 항산화력은 FRAP 값(µmole Fe²⁺/g)으로 나타내었는데, 시료가 생성하는 Ferrous ion (Fe²⁺)의 양을 FeSO₄·7H₂O를 표준물질로 사용하여 이에 상당하는 양으로 표시하였다. FeSO₄·7H₂O (0.1~1 mM)를 사용하여 얻어진 표준곡선으로부터 검량선(y=0.3283x+0.0028, R²=0.9987)을 구하여 시료의 FRAP값을 산출하였다.

9. 암세포 억제활성 측정

방울토마토 라이코펜 품종 추출물이 암세포 생육에 미치는 영향은 MTT assay를 실시하여 살펴 보았다. 시료는 방울토마토 추출 건조물을 DMSO에 각각 10, 50, 100, 250, 500 µg/mL 농도로 희석하여 제조하였다. 정상 폐세포(Hel299), 폐암세포(A549), 간암세포(HepG2), 자궁경부암세포(He-La)를 α-MEM 또는 RPMI 1640 배지에 10% fetal bovine serum(FBS), 1% Penicillin/Streptomycin을 첨가하여 CO₂ incubator(MCO-20 AIC, Sanyo, San Diego, California, USA)에서 37°C, 5% CO₂ 하에서 배양하여 약 1×10⁵ cell/well이 되게 96 well plate에 100 µL씩 분주하였다. 각 well에 농도별로 희석된 시료를 10 µL씩 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24 시간 배양하였다. 50 µL MTT solution(0.1 mg/mL)을 각 well에 넣고, 37°C에서 4시간 배양한 후 100 µL의 DMSO를 첨가하

고, microplate reader(Spectra MAX 190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포의 생육저해 활성은 DMSO(blank)와 시료(sample) 처리시 흡광도 차이를 비교하여 다음과 같이 측정하였다.

% inhibition of cells

$$= 100 \times (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}$$

10. 통계분석

실험값은 3회 이상 반복 측정한 결과를 평균±표준편차로 나타내었으며, 통계분석은 SAS 프로그램을 사용하여 one-way ANOVA를 실시한 후 평균간 유의성 검정은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

식물체에 포함된 폴리페놀 화합물은 항산화 활성을 비롯한 다양한 기능성을 갖는다는 것은 널리 알려져 있다. 특히 플라보노이드 성분 중에는 생리활성이나 약리활성을 보이는 화합물이 다수 알려져 있다. 본 연구팀은 선행연구(Kim HY & Ahn JB 2014)에서 방울토마토 라이코펜 품종에 알려진 억제효능(Yamamoto T et al 2004; Iwamura C et al 2010), 염증억제 효과(Hirai S et al 2007) 등이 알려진 naringenin chalcone, 항산화효과(Metodiewa D et al 1997), 혈액응집억제(Navarro-Núñez L et al 2008), 천식억제작용(Jung CH et al 2007) 등이 밝혀진 quercetin-3-rutinoside 등 생리활성 플라보노이드가 다량 함유되어 있음이 밝혀졌다.

방울토마토 라이코펜 품종 추출물에 함유된 폴리페놀 화합물과 플라보노이드 함량은 <Table 1> 과 같다. 방울토마토 건조물 1 g당 폴리페놀은 12.28±1.78 mg, 플라보노이드는 3.89±0.54 mg이 포함되어 있었다. Na HS et al (2013)은 국내 재배 지역별 일반 토마토에 원물 중량(fresh weight)

<Table 1> Total polyphenol and flavonoid contents in the Lycopen cultivar of cherry tomato

Polyphenol content (mg/g dry weight)	Flavonoid content (mg/g dry weight)
12.28±1.78	3.89±0.54

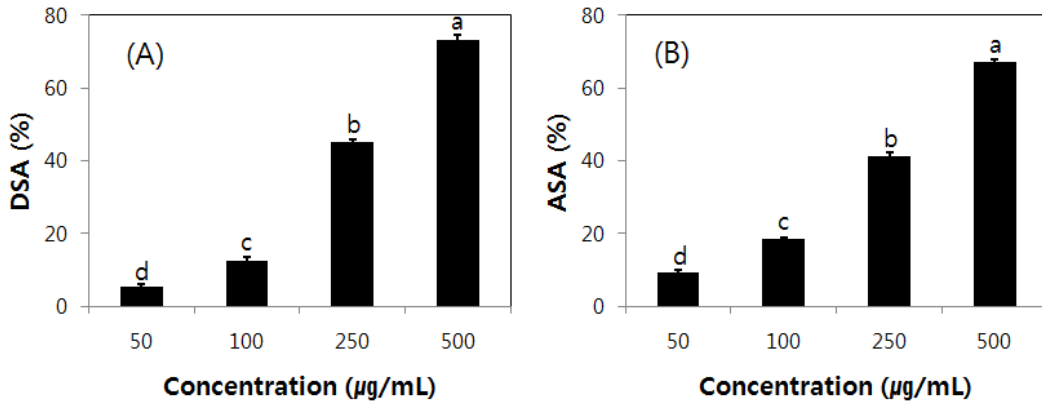
100 g당 폴리페놀과 플라보노이드가 각각 19.43~32.44 mg, 6.56~10.93 mg이 함유되어 있다고 보고하였다. 일반 토마토의 수분함량이 약 90%임을 고려하면 방울토마토 라이코펜 품종에 포함된 폴리페놀 함량은 일반 토마토에 포함된 폴리페놀 함량의 평균값과 유사하였다. 반면, 플라보노이드 함량은 일반토마토에 비해 약 4~6배 높음을 알 수 있었다. 일반토마토와 방울토마토의 함량 차이를 정확히 비교하기 위해서는 좀더 많은 품종의 방울토마토의 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 분석하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

2. 항산화 활성

방울토마토 라이코펜 품종 추출물의 항산화 활성을 알아보기 위해 DPPH radical scavenging activity(DSA), ABTS radical scavenging activity (ASA) 및 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)를 측정하였다.

DSA와 ASA는 각각 DPPH와 ABTS에 의해 생성되는 free radical에 전자를 공여하여 제거함으로써 산화를 억제하는 능력을 측정하는 방법으로 비교적 측정 방법이 간단하고 짧은 시간내 측정이 가능하여 항산화활성을 측정하는데 널리 사용되는 방법이다(Rha YA et al 2014). FRAP는 항산화 능력이 있는 물질이 대부분 환원력을 가지고 있다는 사실을 바탕으로 Fe^{3+} 을 Fe^{2+} 으로 환원시키는 능력을 측정함으로써 항산화활성을 측정하는 방법이다(Benzie IFF & Strain JJ 1996). 방울토마토 라이코펜 품종 추출물을 농도별로 희석하여 DSA와 ASA를 측정한 결과는 <Fig. 1> 및 <Table 2>와 같다.

DSA를 측정하기 위해 추출물을 50, 100, 250,



<Fig. 1> Antioxidative activities of the Lycopene cultivar of cherry tomato.

(A): DPPH radical scavenging activity(DSA), (B): ABTS radical scavenging activity(ASA)

Bars with different superscripts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

<Table 2> 50% radical scavenging concentration(IC₅₀) and FRAP value of the extract from the Lycopene cultivar of cherry tomato

	DPPH value, IC ₅₀ (µg/mL)	ABTS value, IC ₅₀ (µg/mL)	FRAP value (µmol Fe ²⁺ /g)
Extract	328.64±4.19	350.61±3.30	26.92±0.68
BHA ¹⁾	4.35±0.31	-	-
Trolox ²⁾	-	6.73±0.17	-

¹⁾ BHA(butylated hydroxyanisole) is the control substance to measure DPPH radical scavenging activity.

²⁾ Trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) is the control substance to measure ABTS radical scavenging activity.

500 µg/mL 농도로 처리하였을 때 각각 5.35±0.62, 12.42±1.14, 45.29±0.39, 73.34±1.14%의 DPPH 라디칼 소거활성을 보였으며, 처리 농도가 증가함에 따라 유의적으로 소거활성이 증가함을 알 수 있었다(Fig. 1A). 그리고 DPPH에 의해 생성된 라디칼을 50% 감소시키는 추출물의 농도인 IC₅₀은 328.64±4.19 µg/mL이었다(Table 2). 이와 같은 결과는 방울토마토 라이코펜 품종 추출물이 항산화 활성이 있음을 보여준다. Choi SH et al (2011)은 국내에서 재배된 11종 일반 토마토에 대해 DPPH 방법으로 항산화 활성을 측정한 결과, IC₅₀이 145~496 µg/mL라고 하였는데, 본 연구 결과와 유사함을 알 수 있었다.

방울토마토 라이코펜 추출물의 ASA를 측정한 결과는 <Fig. 1B>에 나타내었다. 추출물을 50, 100,

250, 500 µg/mL 농도로 조절하여 ASA를 측정한 결과, 각각 9.42±0.62, 18.58±0.45, 41.38±0.99, 67.04±0.92%의 ABTS 라디칼 소거활성을 보여 처리 농도가 높아짐에 따라 유의적으로 활성이 증가하였다. 또한, ABTS 방법에 의한 추출물의 IC₅₀은 350.61±3.30 µg/mL로 나타나(Table 2) 방울토마토 라이코펜 품종 추출물의 항산화 활성이 검증되었다.

방울토마토 라이코펜 품종의 FRAP 값을 측정한 결과, 26.92±0.68 µmol Fe²⁺/g임을 알 수 있었다(Table 2). 국내 일반 토마토를 대상으로 FRAP를 측정해 본 Choi SH et al (2011)의 연구에 의하면 FRAP 값이 12~45 µmol Fe²⁺/g라고 하였는데, 방울토마토 라이코펜 품종의 FRAP 값과 유사함을 알 수 있었다. 반면, Morales-Soto A et al (2014)

은 44종의 스페인산 과일과 채소의 항산화활성을 비교한 연구에서 일반 토마토의 FRAP 값이 29.10 ~ 67.2 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ 이라고 보고하였는데, 방울토마토 라이코펜 품종 추출물의 FRAP 값에 비해 약간 높은 값이었다.

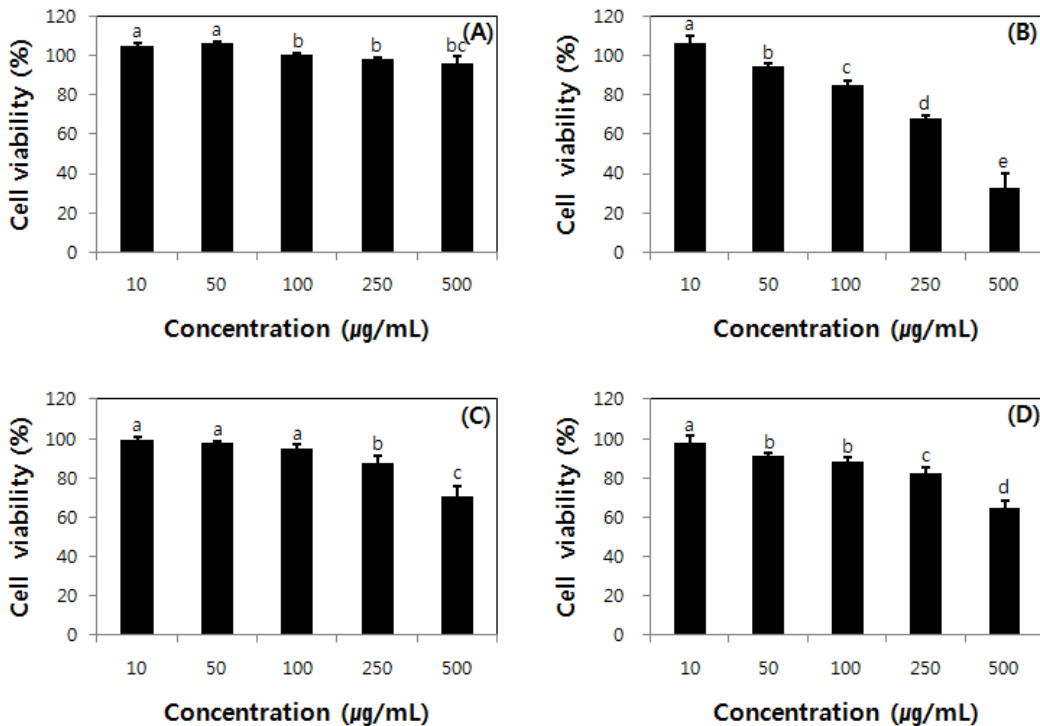
방울토마토 라이코펜 품종의 항산화 활성을 DSA, ASA 및 FRAP 등 세가지 방법으로 검증해 본 결과, 항산화 활성이 있음을 확인할 수 있었다. 라디칼 소거활성을 측정하는 DSA와 ASA를 측정한 결과, IC_{50} 이 각각 $328.64 \pm 4.19 \mu\text{g/mL}$, $350.61 \pm 3.30 \mu\text{g/mL}$ 로 유사하였다. 그리고 FRAP 값을 측정해 본 결과를 통해서도 항산화 활성이 확인되었다. 일반 토마토의 항산화 활성과 비교한 결과, 매우 유사한 결과를 얻었으나, 좀 더 정확한 비교를 위해서는 국내에서 재배되는 더 많은 품종의 방울토마토에 대한 항산화활성 검증이 필요할

것으로 사료된다.

3. 암세포 억제 활성

방울토마토 라이코펜 품종 추출물을 정상 폐세포(Hel299), 폐암세포(A549), 자궁경부암세포(HeLa) 및 간암세포(HepG2)에 처리함으로써 암세포의 생육에 미치는 영향을 알아본 결과는 <Fig. 2>와 같다. 또한, 각 세포의 생육을 50% 억제하는 추출물의 농도인 IC_{50} 을 <Table 3>과 같이 산정하였다.

방울토마토 라이코펜 추출물을 10, 50, 100, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ 로 농도별로 정상 폐세포(Hel299)에 처리한 결과, 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 고농도로 처리하였을 때 4.34%의 약한 생육 억제가 관찰되었다(Fig. 2A). 그러나 처리 농도에 따라 유의적인 생육 저해 효과가 없는 것으로 보아, 추출물은 정상 폐세



<Fig. 2> Inhibitory effects of the Lycopene cultivar of cherry tomato against normal lung cell(Hel299, A), lung cancer cell(A549, B), cervical cancer cell(HeLa, C) and liver cancer cell(HepG2, D). Bars with different superscripts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

<Table 3> 50% inhibition concentration (IC₅₀) of the extract from the Lycopen cultivar of cherry tomato against normal lung cell(HeL299), lung cancer cell(A549), cervical cancer cell(HeLa) and liver cancer cell(HepG2)

50% inhibition concentration, IC ₅₀ (μg/mL)			
Hel299	A549	HeLa	HepG2
> 500 ¹⁾	375.46±33.67	> 500	> 500

¹⁾ Estimated IC₅₀ is above maximal treatment concentration (500 μg/mL)

포의 생육에 거의 영향이 없는 것으로 판단되었다.

폐암세포인 A549에 추출물을 처리하였을 경우에는 처리 농도에 따라 유의적으로 생육 저해 활성을 보였다(Fig. 2B). 방울토마토 라이코펜 추출물을 100, 250, 500 μg/mL 농도로 처리하였을 경우, 각각 14.81, 32.21, 67.39%의 생육 저해 효과를 보여 강한 암세포 억제 효과가 있음이 밝혀졌다. 또한, A549의 생육을 50% 억제하는 추출물의 농도(IC₅₀)는 375.46±33.67 μg/mL임을 알 수 있었다(Table 2). 일반 토마토의 폐암세포 A549에 대한 암세포 억제 활성을 측정된 Choi SH et al (2011)의 연구에서도 일반 토마토 추출물이 폐암세포에 대해 억제 활성이 있음이 확인된 바 있는데, 이는 방울토마토를 대상으로 한 본 연구의 결과와 유사하였다.

추출물이 자궁경부암세포(HeLa)의 생육에 미치는 영향을 관찰한 결과(Fig. 2C), 추출물을 10~100 μg/mL의 저농도로 처리하였을 경우, 유의적인 생육 억제 효과는 관찰되지 않았으나, 250 μg/mL, 500 μg/mL의 고농도로 처리하였을 때 각각 12.44%, 29.33%의 약한 생육 억제 효과가 확인되었다. 추출물을 고농도로 처리하였을 경우, 통계적으로 유의적인 생육 억제가 관찰되기는 하였으나, IC₅₀이 최대 처리 농도인 500 μg/mL를 초과하여 산정하지 못하였으며(Table 2) HeLa 세포에 대한 생육 억제 효과는 크지 않은 것으로 판단되었다. 선행연구 결과를 살펴보면 일반 토마토 음료 제조의 부산물인 토마토 박(tomato waste) 추출물을 25 mg/mL 농도로 처리하였을 경우 HeLa 세포의 생육이 80% 이상 저해되었고(Cetkovic G

et al 2012), 일반 토마토의 glycoalkaloid를 분리하여 처리하였을 경우, 1 μg/mL 이하의 낮은 농도에서 HeLa 세포의 생육이 거의 100% 저해되었다는 보고(Choi SH et al 2010)가 있다. 방울토마토 라이코펜 품종 추출물에서는 HeLa 세포에 대한 약한 생육 억제 효과가 관찰되었으나, 일반토마토를 대상으로 한 선행연구 결과와 같은 강한 생육 억제 효과는 확인되지 않았다.

간암세포(HepG2)의 생육에 미치는 추출물의 영향을 알아본 결과도 HeLa에 대한 영향과 유사하게 추출물을 10~100 μg/mL의 저농도로 처리하였을 경우 유의적인 생육 억제 효과는 관찰되지 않았으나, 250 μg/mL, 500 μg/mL의 고농도로 처리하였을 때 각각 17.29%, 35.26%의 약한 생육 억제 효과를 보였다(Fig. 2D). 또한, IC₅₀도 최대 처리 농도인 500 μg/mL를 초과하여 산정하지 못하였다(Table 2). Friedman M et al (2009)의 연구에 의하면 일반 토마토 9종의 메탄올 추출물 중 glycoalkaloid 분획물이 HepG2 세포에 강한 생육저해 효과를 보이며 IC₅₀이 0.2~12.3 μg/mL라고 보고하였는데, 방울토마토 라이코펜 품종 추출물이 HepG2 세포에 대해 약한 생육 억제 활성을 보인 것과는 다소 차이가 있었다.

상기와 같이 방울토마토 라이코펜 품종 추출물이 암세포의 생육에 미치는 영향을 관찰하여 보았는데, 정상 폐세포(HeL299)에 대해서 추출물을 500 μg/mL의 고농도로 처리하였을 경우 매우 약한 생육 억제 활성을 보였으나, 처리 농도에 따라 통계적인 유의차는 없는 것으로 판단되어 정상세포에 대한 독성은 없는 것으로 생각된다. 추출물을 자궁경부암세포(HeLa) 및 간암세포(HepG2)에

처리한 결과, HeLa 세포와 HepG2에 대해 통계적으로 유의차는 있으나, 약한 생육 억제 효과가 관찰되었다. 반면, 추출물을 폐암세포인 A549에 처리하였을 경우, 처리 농도별에 따라 유의적으로 암세포 생육을 강하게 억제함을 알 수 있었다.

V. 요약 및 결론

본 연구에서는 방울토마토 라이코펜 품종의 기능적 특성을 규명하기 위해 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 정량하였고, 다양한 방법으로 항산화 활성을 검증하여 보았다. 또한, MTT assay를 통해 다양한 종류의 암세포에 대한 생육억제 효과를 측정하였다. 결과는 다음과 같다.

방울토마토 라이코펜 품종은 건조물 1 g당 폴리페놀은 12.28 ± 1.78 mg, 플라보노이드는 3.89 ± 0.54 mg을 함유하고 있다. 폴리페놀 함량은 국내에서 재배된 일반 토마토와 유사한 수준이었으며, 플라보노이드는 일반 토마토에 비해 약 4~6배 높았다.

방울토마토 라이코펜 품종의 항산화 활성을 검증하기 위해 DPPH radical scavenging activity (DSA), ABTS radical scavenging activity(ASA) 및 Ferric reducing antioxidant power(FRAP)를 측정하였다. DSA를 측정하기 위해 추출물을 50, 100, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 처리하였을 때 각각 5.35 ± 0.62 , 12.42 ± 1.14 , 45.29 ± 0.39 , $73.34 \pm 1.14\%$ 의 DPPH 라디칼 소거활성을 보였으며, 처리 농도가 증가함에 따라 유의적으로 소거활성이 증가함을 알 수 있었다. 그리고 DPPH에 의해 생성된 라디칼을 50% 감소시키는 추출물의 농도인 IC_{50} 은 328.64 ± 4.19 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 추출물을 50, 100, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 조절하여 ASA를 측정한 결과 각각 9.42 ± 0.62 , 18.58 ± 0.45 , 41.38 ± 0.99 , $67.04 \pm 0.92\%$ 의 ABTS 라디칼 소거활성을 보여 처리 농도가 높아짐에 따라 유의적으로 활성이 증가하였다. 또한, ABTS 방법에 의한 추출물의 IC_{50} 은

350.61 ± 3.30 $\mu\text{g/mL}$ 임을 알 수 있었다. 방울토마토 라이코펜 품종의 FRAP 값을 측정한 결과, 26.92 ± 0.68 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ 이었다. 이와 같은 결과를 통해 방울토마토 라이코펜 품종은 항산화 활성이 있음을 확인할 수 있었다.

방울토마토 라이코펜 품종의 세포 독성과 암세포 억제 활성을 알아보기 위해 추출물을 정상 폐세포(HeL299), 폐암세포(A549), 자궁경부암세포(HeLa) 및 간암세포(HepG2)에 처리하여 보았다. 방울토마토 라이코펜 추출물을 정상 폐세포(HeL299)에 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 고농도로 처리하였을 때 4.34%의 약한 생육 억제가 관찰되었으나, 처리 농도에 따라 유의적인 생육 저해 효과가 없는 것으로 보아 정상 폐세포에 대한 세포 독성은 없는 것으로 판단되었다. 반면, 방울토마토 라이코펜 추출물은 폐암세포인 A549에 강한 생육 억제 효과를 보였고, 자궁경부암세포(HeLa) 및 간암세포(HepG2)에 대해서도 약한 생육 억제 효과를 보였다. 추출물을 폐암세포(A549)에 100, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 처리하였을 경우, 각각 14.81, 32.21, 67.39%의 강한 생육 저해 효과를 보였으며, A549의 생육을 50% 억제하는 추출물의 농도(IC_{50})는 375.46 ± 33.67 $\mu\text{g/mL}$ 로 밝혀졌다. HeLa 세포와 HepG2 세포에 저농도(10~100 $\mu\text{g/mL}$)로 처리하였을 경우에는 유의적인 생육 억제 효과가 없었으나, 250~500 $\mu\text{g/mL}$ 의 고농도로 처리하였을 경우에는 통계적으로 유의적인 생육 억제가 관찰되었다. 추출물을 HeLa 세포에 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 고농도로 처리하였을 때 각각 12.44%, 29.33%의 약한 생육 억제 효과가 확인되었고, HepG2 세포에 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리하였을 경우, 각각 17.29%, 35.26%의 약한 생육 억제 효과를 보였다. 이와 같은 결과는 방울토마토 라이코펜 품종이 특정암에 대해 효과적인 항암식품이 될 수 있음을 시사한다고 할 수 있다. 물론, 항암식품으로서의 가치를 정확하게 규명하기 위해서는 방울토마토의 섭취 빈도와 암 발생 위험도 간의 상관관계에 대한 장기적인 역학적

연구(epidemiological study)가 필요하다. 일반 토마토의 경우, 섭취 빈도가 높을수록 전립선암, 폐암, 유방암 등 다양한 암의 발생위험을 낮추며 (Mayne ST et al 1994; Agudo A et al 1997; Giovannucci E et al 1995; Giovannucci E 1999; Barber NJ & Barber J 2002; Hwang ES & Bowen PE 2004; Polozza P et al 2011), 치료 중인 폐암 환자들의 생존율을 높이는(Goodman MT et al 1992) 등 많은 연구결과가 축적되어 있어 항암식품으로서의 가치가 규명되었으나, 방울토마토에 대한 역학적인 연구는 찾아 볼 수 없어 항암식품으로서의 활용성을 알아보기 위해서는 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상의 결과를 통해 방울토마토 라이코펜 품종은 기능성 식품 또는 식품 소재로서의 가치가 매우 높음을 확인할 수 있었다. 본 연구의 결과는 방울토마토 라이코펜 품종의 식품 또는 식품소재로서의 가치를 밝히고 활용성을 높이는데 기여할 것으로 판단된다. 본 연구는 방울토마토 중 라이코펜 한 품종에 대해 항산화효과 및 암세포 억제 활성을 검증하여 보았으나, 방울토마토의 식품학적 가치를 규명하기 위해서는 좀 더 많은 품종에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

한글 초록

본 연구에서는 방울토마토 라이코펜 품종의 기능성 식품 또는 식품 소재로서의 효용성을 알아보기 위하여 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량, 항산화 활성, 암세포 생육억제 효과를 검증하여 보았다. 방울토마토 라이코펜 품종의 폴리페놀 함량은 건조물 1 g당 12.28±1.78 mg으로 국내산 일반 토마토와 유사하였으며, 플라보노이드는 건조물 1 g당 3.89±0.54 mg이 함유되어 있어, 일반 토마토에 비해 4~6배 가량 높았다. 방울토마토 라이코펜 품종의 항산화 활성을 알아보기 위해 DP-PH radical scavenging activity(DSA), ABTS radical scavenging activity(ASA) 및 Ferric reducing

antioxidant power(FRAP)를 측정하였다. DSA와 ASA를 측정한 결과, 추출물의 농도가 증가함에 따라 유의적으로 라디칼 소거 활성이 증가하였으며, IC₅₀은 각각 328.64±4.19 µg/mL, 350.61±3.30 µg/mL이었다. 또한, FRAP값은 26.92±0.68 µmol Fe²⁺/g으로 밝혀져 방울토마토 라이코펜 품종은 항산화 활성이 있음이 확인되었다. 방울토마토 라이코펜 품종의 세포독성과 암세포 생육억제 효과를 검증한 결과, 폐암세포(A549)에 대해 강한 생육 억제 효과를 확인할 수 있었다. 방울토마토 라이코펜 추출물은 처리 농도가 증가함에 따라 유의적으로 A549 세포의 생육을 억제하였다. 추출물을 500 µg/mL 농도로 처리하였을 경우, 67.39%의 암세포 억제 효과를 보였으며, IC₅₀은 375.46±33.67 µg/mL이었다. 또한, 방울토마토 라이코펜 추출물은 자궁경부암세포(HeLa)와 간암세포(HepG2)에 대해서도 약한 생육억제 효과를 보임을 확인할 수 있었다. 이상의 결과를 통해 방울토마토 라이코펜 품종은 기능성 식품 또는 식품 소재로서의 가치가 매우 높음이 확인되었다.

참고문헌

- Agudo A, Esteve MG, Pallares C, Martinez-Ballarín I, Fabregat X, Malats N (1997). Vegetable and fruit intake and the risk of lung cancer in women in Barcelona, Spain. *Eur J Cancer* 33(8):1256-1261.
- Barber NJ, Barber J (2002). Lycopene and prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* 5(1):6-12.
- Benzie IFF, Strain JJ (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem* 239(1):70-76.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995). Use of a free radical method of evaluates antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol* 28

- (1):25-30.
- Cetkovic G, Savatovic S, Canadanovic-Brunet J, Djilas S, Vulic J, Mandic A, Cetojevic-Simin D (2012). Valorisation of phenolic composition, antioxidant and cell growth activities of tomato waste. *Food Chem* 133(3):938-945.
- Choi SH, Kim HY, Kim HJ, Lee IS, Kozukue N, Levin CE, Friedman M (2011). Free amino acid and phenolic contents and antioxidative and cancer cell- inhibiting activities of extracts of 11 greenhouse-grown tomato varieties and 13 tomato-based foods. *J Agric Food Chem* 59 (24):12801-12814.
- Choi SH, Lee SH, Kim HJ, Lee IS, Nobuyuki K, Levin CE, Friedman M (2010). Changes in free amino acid, phenolic, chlorophyll, carotenoid, and glycoalkaloid contents in tomatoes during 11 stages of growth and inhibition of cervical and lung human cancer cells by green tomato extracts. *J Agric Food Chem* 58(13):7547-7556.
- Davies JN, Hobson GE (1981). Constituents of tomato fruit - the influence of environment, nutrition, and genotype. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 15(3):205-280.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50(10): 3010-3014.
- Friedman M (2002). Tomato glycoalkaloids : role in the plant and in the diet. *J Agric Food Chem* 50(21):5751-5780.
- Friedman M, Levin CE, Lee SU, Kim HJ, Lee IS, Byun JO, Kozukue N (2009). Tomatine-containing green tomato extracts inhibit growth of human breast, colon, liver, and stomach cancer cells. *J Agric Food Chem* 57(13):5727- 5733.
- Frusciante L, Carli P, Ercolano MR, Pernice R, Di Matteo A, Fogliano V, Pellegrini N (2007). Antioxidant nutritional quality of tomato. *Mol Nutr Food Res* 51(5):609-617.
- Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC (1995). Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 87(23): 1767-1776.
- Giovannucci E (1999). Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst* 91 (4):317-331.
- Goodman MT, Hankin JH, Wilkens LR, Kolonel LN (1992). High-fat foods and the risk of lung cancer. *Epidemiology* 3(4):288-299.
- Hirai S, Kim YI, Goto T, Kang MS, Yoshimura M, Obata A, Yu R, Kawada T (2007). Inhibitory effect of naringenin chalcone on inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Life Sci* 81(16): 1272-1279.
- Horiba T, Nishimura I, Nakai Y, Abe K, Sato R (2010). Naringenin chalcone improves adipocyte functions by enhancing adiponectin production. *Mol Cellular Endocrinol* 323(2):208-214.
- Hwang ES, Bowen PE (2004). Effects of tomatoes and lycopene on prostate cancer prevention and treatment. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33 (2):455-462.
- Iwamura C, Shindoda K, Yoshimura M, Watanabe Y, Obata A, Nakayama T (2010). Naringenin chalcone suppresses allergic asthma by inhibiting the Type-2 function of CD4 T cells. *Allergol Int* 59(1):67-73.
- Jung CH, Cho CH, Kim CJ (2007). Anti-asthmatic action of quercetin and rutin in conscious gui-

- nea-pigs challenged with aerosolized ovalbumin. *Arch Pharmacol Research* 30(12):1599-1607.
- Kim HY, Ahn JB (2014). Analysis of free amino acids and polyphenol compounds from Lycopersicon variety of cherry tomato. *Korean J Culinary Research* 20(3):37-49.
- Kim SJ, Kim JY, Chang YE (2012). Physiological activities of saccharified cherry tomato gruel containing different levels of cherry tomato puree. *Korean J Food Cookery Sci* 28(6):773-779.
- Lee HB, Yang CB, Yu TJ (1972). Studies on the chemical composition of some fruit vegetables and fruits in Korea(I). *Korean J Food Sci Technol* 4(1):36-43.
- Lenucci MS, Cadinu D, Taurino M, Piro G, Dalessandro G (2006). Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. *J Agric Food Chem* 54(7):2606-2613.
- Mayne ST, Janerich DT, Greenwald P, Chorost S, Tucci C, Zaman MB (1994). Dietary beta carotene and lung cancer risk in U.S. non-smokers. *J Natl Cancer Inst* 86(1):33-38.
- Metodiewa D, Kochman A, Karolczak S (1997). Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active N,N-diethylaminoethyl ethers of flavone oximes: A comparison with natural polyphenolic flavonoid rutin action. *IUBMB Life* 41(5):1067-1075.
- Morales-Soto A, Garcia-Salas P, Rodriguez-Perez C, Jimenez-Sanchez C, Cadiz-Gurrea M, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutierrez A (2014). Antioxidant capacity of 44 cultivars of fruits and vegetables grown in Andalusia (Spain). *Food Research International* 58(1):35-46.
- Na HS, Kim JY, Yun SH, Park HJ, Choi GC, Yang SI, Lee JH, Gho JY (2013). Phytochemical contents of agricultural products cultivated by region. *Korean J Food Preserv* 20(4):451-458.
- Na YP, Lee SM, Roh KS (2007). Biochemical characterization of lectin isolated from cherry tomato. *J Life Sci* 17(2):254-259.
- Navarro-Núñez L, Lozano ML, Palomo M, Martínez C, Vicente V, Castillo J, Benavente-García O, Diaz-Ricart M, Escolar G, Rivera J (2008). Apigenin inhibits platelet adhesion and thrombus formation and synergizes with aspirin in the suppression of the arachidonic acid pathway. *J Agric Food Chem* 56(9):2970-2976.
- Oshima S, Ojima F, Sakamoto H, Ishiguro Y, Terao J (1998). Supplementation with carotenoids inhibits singlet oxygen-mediated oxidation of human plasma low-density lipoprotein. *J Agric Food Chem* 44(8):2306-2309.
- Polazza P, Simone RE, Catalano A, Mele MC (2011) Tomato lycopene and lung cancer prevention: From experimental to human studies. *Cancers* 3(2):2333-2357.
- Raffo A, Malfa GL, Fogliano V, Maiani G, Quaglia G (2006). Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). *J Food Comp Anal* 19(1):11-19.
- Rha YA, Choi MS, Park SJ (2014). Antioxidant and anti-adipogenic effects of fermented *Rhus verniciflua*. *Korean J Culinary Research* 20(3):137-147.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26(9/10):1231-1237.
- Roh KS (2010). Antifungal activity and biochemical characterization of lectin isolated from

- fluid of cherry tomato fruit. *KSBB Journal* 25(3):289-296.
- Stahl W, Heinrich U, Wiseman S, Eichler O, Sies H, Tronnier H (2001). Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in human. *J Nutr* 131(5):1449-1451.
- Yamamoto T, Yoshimura M, Yamaguchi F, Kouchi T, Tsuji R, Saito M, Obata A, Kikuchi M (2004). Anti-allergic activity of naringenin chalcone from a tomato skin extract. *Biosci Biotechnol Biochem* 68(8):1706-1711.
-
- 2014년 09월 22일 접수
2014년 10월 25일 1차 논문수정
2014년 11월 15일 2차 논문수정
2014년 11월 30일 3차 논문수정
2014년 12월 05일 논문게재확정