

## 느타리버섯 김치의 생리활성

한서영 · 박미숙\* · 서권일\*

佐賀대학교 응용생물과학과, \*순천대학교 식품영양학과

### Biological Activities of Oyster Mushroom *Kimchi*

Seo-Young Han, Mi-Suck Park\* and Kwon-Il Seo\*

Department of Applied Biological Science, Saga University, Saga 840-8502, Japan

\*Department of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

#### Abstract

Physiological functions of oyster mushroom *Kimchi* were investigated. Oyster mushroom *Kimchies* were found to have antioxidant activities. The effect was in a dose-dependent manner, the effect was higher in oyster mushroom *Kimchies* than in control and higher in raw oyster mushroom *Kimchi* (ROMK) than in blanched oyster mushroom *Kimchi* (BOMK). Methanol extract of *Kimchi* revealed antimutagenic activity and suppressed growth of cancer cell in a dose-dependent manner, and the effects were higher in ROMK than in other *Kimchies*. The methanol extracts of oyster mushroom *Kimchi* alone did not appear proliferation effect of splenic immune cell, but revealed the effect with Con A. The proliferation effect was higher in ROMK than in BOMK.

Key words : oyster mushroom, *Kimchi*, antioxidant effect, anticancer effect, immunoregulatory effect

## 서론

김치는 대표적인 우리 고유의 전통 발효식품으로 다양한 재료를 사용하고 복잡한 발효과정과 생화학적 반응을 거쳐 각종 영양성분과 소화증진작용, 변비에방, 항돌연변이 및 발효과정중에 생성되는 유산균과 항암작용을 하는 영양소로 알려진 비타민 C,  $\beta$ -카로틴, 후라보노이드, 클로로필이 풍부하다(1,2). 또한 장내 유해균들의 생장억제와 기타 약리작용을 나타내는 기능성 성분들을 함유해 더욱 각광을 받고 동물성섭취 위주 식단에서 그 탁월한 기능성으로 인해 국내에서도 갈수록 수요가 크게 증가하고 있다. 더불어 다른 나라에서도 그 기능성에 관심을 보이고 세계시장에 다양하게 상품화하여 꾸준히 증가 추세에 있다. 그에 따라 최근 매실, 우엉, 호박, 가지, 인삼 등을 김치의 재료로 개발한 기능성 김치가 다양하게 개발되고 있으나(3), 버섯을 주원료로 하여 김치를 제조한 예는 전무한 상태이다. 특히 느타리 버섯은 저장중 조직이 견고하게 되어 이를 다시 연하게 하기에는 많은 어려움이 있는데, 김치를 제조할 경우 이와 같은 문제

점도 해결이 가능하리라 생각된다.

따라서 본 연구에서는 느타리 버섯을 이용한 기능성 김치를 개발하기 위하여 느타리 버섯을 이용하여 김치를 제조한 후 이들에 대한 항산화, 항돌연변이, 항암 및 면역활성 등의 기능적 특성을 구명하였다.

## 재료 및 방법

### 느타리버섯 김치의 제조

느타리 버섯을 수세하여 생체 또는 살짝 데친 후 약 2 x 3 cm 정도의 크기로 자르고 쪽파, 마늘, 생강, 멸치젓갈, 고춧가루, 통고추, 통깨, 참쌀풀 등의 재료를 배합하여 전체염도 3%가 되게 소금절임한 후 이를 상온(20℃)에서 2일간 발효시킨 후 생리활성 측정시료로 사용하였다.

### 느타리버섯 김치 추출물의 조제

동결건조한 버섯 김치를 잘게 절단한 후 환류냉각 장치를 이용하여 메탄올 추출물을 조제하였다.

### Linoleic acid에 대한 항산화 효과

버섯 김치의 항산화 효과를 linoleic acid의 과산화물가

Corresponding author : Kwon-Il Seo, Department of Food Science and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea  
E-mail : seoki@suncheon.ac.kr

(peroxide value, POV)를 측정하여 *in vitro*로 탐색하였다(4). 삼각플라스크에 linoleic acid 0.2 g, ethanol 2 mL 및 버섯 김치추출물을 첨가한 후 0.2 M 인산완충용액 5 mL을 가하여 40°C에서 일정기간 저장한 다음 chloroform 5 mL을 가하여 2-3회 반복 추출하였다. Chloroform 추출액에 acetic acid 5 mL과 포화 KI 용액 0.2 mL을 가하여 암소에서 5분간 방치한 다음 증류수 10 mL을 가하여 1/100 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 용액으로 적정하였다.

**흰쥐의 간 지질과산화 억제 효과**

버섯 김치추출물의 지질과산화 억제효과를 흰쥐의 liver homogenate을 사용하여 *in vitro*로 관찰하였다(5). 흰쥐의 간장을 적출하여 인산완충용액(pH 7.4)으로 균질화한 다음 균질액에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(1 M)와 FeSO<sub>4</sub> (50 mM) 및 버섯 추출물을 가하여 37°C에서 40분간 배양한 후 생성된 TBARS를 측정하였다.

**항돌연변이 효과**

항돌연변이 실험은 *Salmonella typhimurium* TA98과 100 균주를 이용하여 Maron과 Ames의 방법(6)으로 하였다. 즉, ice bath상에서 S-9 mixture 0.5 mL(직접 돌연변이원의 경우 phosphate buffer 0.5 mL), 하룻밤 배양한 균주(1-2×10<sup>9</sup> cells/mL) 0.1 mL, 시료와 돌연변이원을 각각 0.1 mL를 cap tube에 넣고 가볍게 vortex하여 37°C에서 30분간 예비 배양한 후 45°C의 top agar 2 mL를 첨가하여 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양 후 revertant 숫자를 헤아려 돌연변이 및 항돌연변이 유무를 판정하였다.

**암세포 성장 억제효과**

실험에 사용한 암세포는 인체 폐암세포주인 A549 및 인체 유방암 세포주인 MCF-7를 10% FBS를 첨가한 RPMI 1640 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 계대 배양하면서 실험에 사용하였는데, monolayer로 자란 암세포주를 0.25% trypsin-EDTA용액으로 처리하여 single cell로 만든 후 최종세포농도가 2 x 10<sup>5</sup> cells/mL 되도록 희석하여 24 well plate에 각 well 당 900 μl씩 seeding한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 preincubation하였다. 여기에 정제화합물 희석액을 100 μl씩 농도별로 첨가하고 48시간 배양한 후 세포증식 정도를 SRB 방법(7)에 의하여 측정하였다.

**면역세포의 분리**

생쥐(BALB/c)로부터 분리한 spleen을 single 세포로 만들어 세척한 다음 10%FCS RPMI 1640 배지로 희석하여 실험에 사용하였다.

**면역세포 증식능 측정**

생후 8~12주된 생쥐 (BALB/c) 암컷에서 분리한 비장세포에서 spleenocyte를 분리하여 96 well plate에 넣고 여기에 시료를 농도별로 넣어 배양한 다음 각 조건에 따른 증식정도를 측정하였다. 비장세포 증식측정은 배양 72시간 후, Cell titer 96<sup>®</sup>Aqueous One Solution Cell proliferation Assay(8)를 사용하여 각각 배양된 배양액 100 μl에 Cell titer 15 μl씩 첨가하여 4~8시간 동안 배양한 다음 490 nm에서 O.D값을 측정하였다.

**결과 및 고찰**

**느타리버섯 김치의 linoleic acid에 대한 항산화 효과**

버섯 김치의 linoleic acid에 대한 항산화력은 linoleic acid에 버섯 김치 메탄올 추출물을 첨가한 후 50°C에서 2일간 저장 후 과산화물가를 측정하였는데, 1 mg/mL의 농도로 처리하였을때는 효과가 없었지만 10 mg/mL의 이상의 농도로 처리하였을때는 농도에 의존적으로 과산화물가가 적게 나타나 버섯김치 추출물의 농도가 높을수록 항산화 효과가 높았으며, 이는 김치 추출물보다 모두 높은 값이었는데, 생버섯 김치가 데친버섯보다 그 효과가 더 높게 나타났다(Fig. 1).

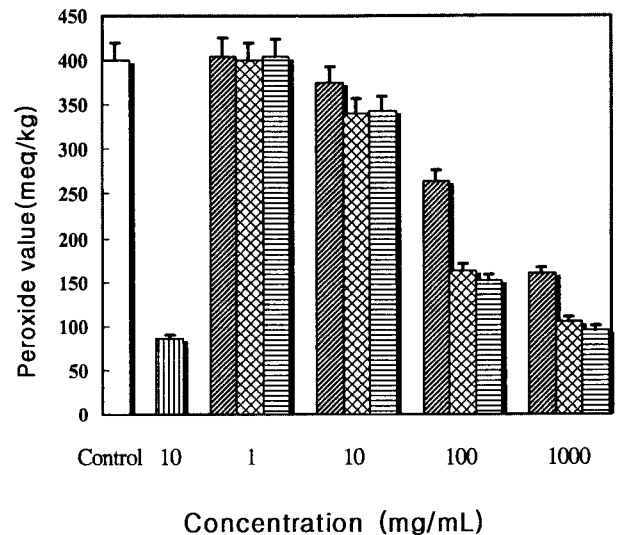


Fig. 1. Peroxide value of linoleic acid emulsion added oyster mushroom Kimchi extracts after autoxidation at 50°C for 2 days.

□ : Control, ▨ : BHT, ▩ : Chinese cabbage Kimchi extract, ▤ : Blanched oyster mushroom Kimchi extract, ▥ : Raw oyster mushroom Kimchi extract.

Linoleic acid에 버섯 김치 추출물을 각각 100 mg/mL씩 첨

가한 후 50℃에서 7일간 저장하면서 과산화물가를 측정한 결과 김치 추출물을 첨가하지 않은 대조구는 과산화물이 계속적으로 증가하여 저장 5일째에는 1290 meq/kg이었으며, 저장 7일째에는 증가폭이 거의 없었다. 그러나 김치 추출물을 첨가한 실험구의 과산화물가는 대조구에 비하여 과산화물가의 함량이 큰 폭으로 감소하였으며, 버섯김치 추출물이 배추김치 추출물보다 과산화물이 적게 생성되어 항산화 효과가 더욱 큰 것으로 나타났다(Fig. 2).

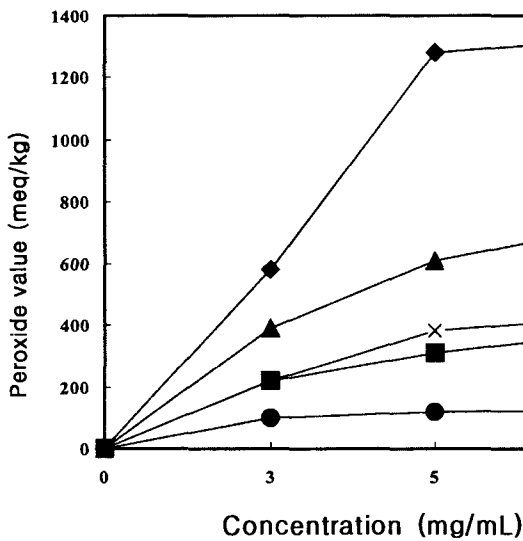


Fig. 2. Change in peroxide value of linolic acid emulsion added oyster mushroom *Kimchi* extract of 100 mg/ml after autoxidation at 50℃ for 7 days.

◆ : Control, ● : 0.1% BHT (10 mg/mL), ▲ : Chinese cabbage *Kimchi*, × : Blanched oyster mushroom *Kimchi*, ■ : Raw oyster mushroom *Kimchi*.

느타리버섯 김치의 흰쥐 간 지질에 대한 과산화 억제효과

버섯김치에 대한 항산화 효과를 측정하기 위하여, 흰쥐의 liver homogenate에 버섯 김치 메탄올 추출물을 첨가한 다음 42℃에서 72시간 동안 저장한 후 TBARS 함량을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다.

흰쥐의 간 지질에 대한 TBARS 함량은 버섯 김치 추출물 첨가시 농도 의존적으로 TBARS의 생성을 억제 하였으며, 버섯김치가 배추김치보다, 생버섯 김치가 데친버섯보다 항산화효과 더욱 높게 나타났다.

Lee 등(9)은 김치의 숙성 중 항산화 효과가 증가하였다고 보고한 바 있으며, Song 등(10)은 가열쇠고기에 갓김치 첨가 시 농도에 의존적으로 항산화 효과가 높았다고 보고하였으며, 류 등(11)은 김치를 섭취한 흰쥐 생체내의 과산화지질의 양을 측정된 결과 농도에 비례하여 TBA가 낮게 나타났다고 보고하였다. 또한 정 등(12)은 느타리버섯 자실체 및 균

사체 추출물의 항산화 효과에 대하여 보고한 바 있다. 따라서 본 연구결과 느타리버섯 김치의 항산화 효과는 느타리버섯 자체 및 김치의 숙성 중 생성되는 항산화물질에 기인되는 것으로 생각된다.

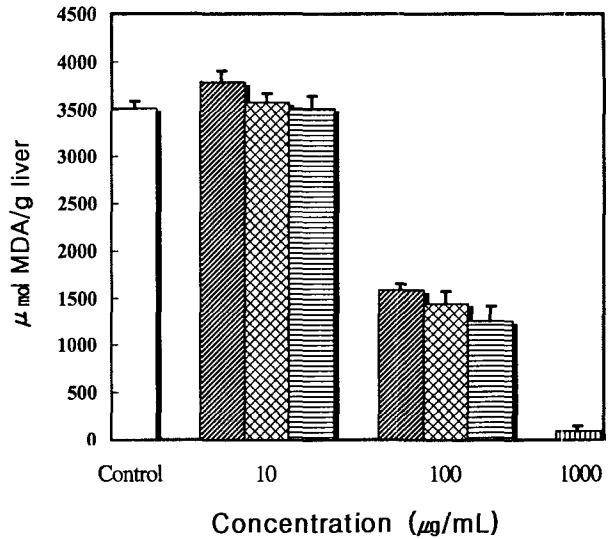


Fig. 3. Effect of oyster mushroom *Kimchi* methanol extract on TBA value of mouse liver.

Refer to the footnote in Fig. 1.

느타리버섯 김치의 항돌연변이 효과

버섯김치의 항돌연변이성을 확인하기 위해 Aflatoxin B<sub>1</sub>(1.0 μg/plate)이 처리된 *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100에 김치 메탄올 추출물을 500 μg/plate처리한 후 revertant/ plate 수를 Table 1에 나타내었다. TA98 및 100균주의 돌연변이수는 Blank에 비하여 김치 추출물에서 농도 의존적으로 감소하여 항돌연변이 효과가 상당히 있는 것으로 나타났는데, 생버섯김치 추출물, 데친버섯 추출물 및 배추김치 추출물의 순으로 그 효과가 크게 나타났다.

Table 1. Effect of mushroom *Kimchi* on the mutagenicity induced by aflatoxin B<sub>1</sub> (1.0 μg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA100

Sample	Extract concentration (μg/plate)	Revertants/plate			
		TA 98	Inhibition rate(%)	TA 100	Inhibition rate(%)
cc <i>Kimchi</i>	500	638±6.2 <sup>1)</sup>	42.3	675±5.7	44.7
RM <i>Kimchi</i>	500	583±6.4	48.2	543±3.4	57.8
BM <i>Kimchi</i>	500	612±4.0	45.1	636±7.2	48.6

<sup>1)</sup>Mean of triplicates±S.D.

정 등(13)은 부추 및 배추김치의 메탄올추출물이 농도에 비례하여 항돌연변이 효과가 크다고 보고하였으며, 박(14)도 김치의 항돌연변이에 대하여 보고한 바 있다.

느타리버섯 김치의 암세포주 성장 억제 효과

버섯 김치추출물 첨가에 따른 암세포주 성장 억제 효과를 측정된 결과 대조구에 비하여 농도 의존적으로 암세포의 성장을 억제하였으며, 10 µg/mL 농도로 첨가하였을 때 폐암세포 및 유방암세포 모두에서 20% 이상의 암세포 성장을 억제하였으며, 생버섯 김치, 데친버섯 김치 및 배추김치 추출물의 순으로 그 효과가 높게 나타났다(Fig. 4, 5).

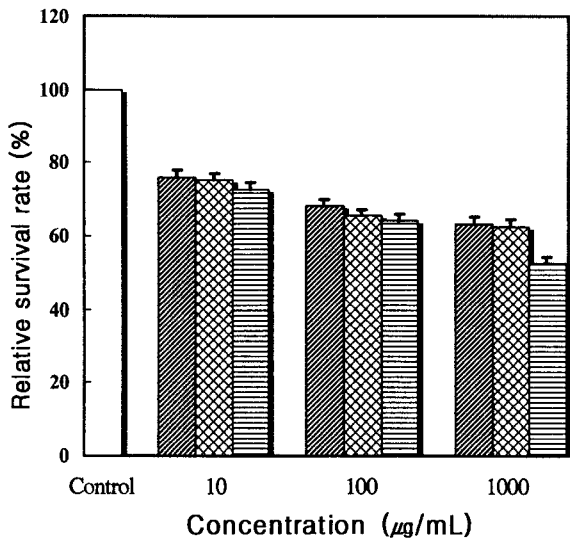


Fig. 4. Growth inhibitory effect of oyster mushroom *Kimchi* extracts on A549 cancer cell.

Refer to the footnote in Fig. 1.

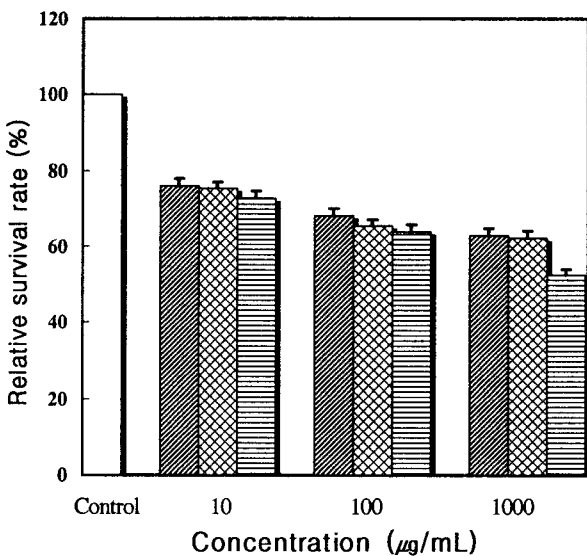


Fig. 5. Growth inhibitory effect of oyster mushroom *Kimchi* extracts on MCF-7 cancer cell.

Refer to the footnote in Fig. 1.

정 등(13)과 Park(14)은 김치 추출물이 농도에 의존하여 암세포주의 성장을 억제하였다고 보고하였으며, 김 등(15)은 조개 느타리버섯의 항암효과에 대하여, 박 등(16)은 느타리버섯에 항암효과에 대하여 보고하였다.

따라서 본 연구결과에서 느타리버섯 김치의 항암효과는 김치의 숙성중 생성되는 항암물질과 느타리 버섯자체의 항암물질에 기인하므로 배추김치에 비하여 그 효과가 더욱 큰 것으로 생각된다.

느타리버섯 김치의 면역증강 효과

느타리버섯 김치의 면역 증강 효과를 측정하기 위하여 생쥐의 비장 세포에 Con A 및 느타리버섯 추출물을 첨가한 후 비장세포의 증식능을 측정된 결과는 Fig. 6과 같다.

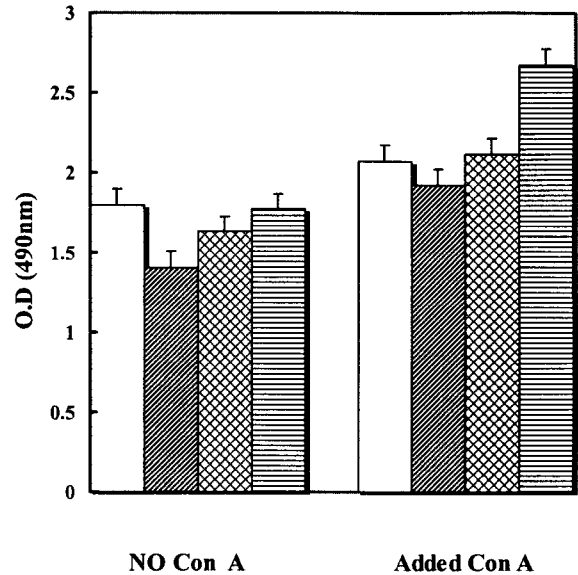


Fig. 6. Effect of oyster mushroom *Kimchi* extracts (100 µg/mL) on mouse spleen cell proliferation.

Refer to the footnote in Fig. 1.

김치 추출물을 100 µg/mL 농도로 처리시, Con A 무처리구에서는 비장세포의 증식을 유도하지는 못하였지만, ConA 처리구에서는 버섯 김치가 비장세포의 증식을 유도하였고, 생버섯김치가 데친버섯 김치보다 더 많은 증식을 유도하였다. 하지만 김치 추출물은 비장세포의 증식을 유도하지 못하였다.

장 등(17)은 느타리버섯 자실체로 분리한 당체가 면역활성을 나타낸다고 보고하였는데, 본 연구결과에서 느타리버섯 김치의 면역활성물질은 느타리버섯이 함유하고 있는 다당체에 의한 것으로 생각되며, 데친버섯 김치가 생버섯 김치에 비하여 그 활성이 낮게 나타난 것은 버섯을 데칠 때 손실되는 다당체에 기인하는 것으로 판단된다.

따라서 아직 더욱 많은 연구가 진행되어야겠지만 느타리

버섯을 이용하여 기능성 김치의 개발시 느타리버섯을 생체로 이용하여 제조하는 방법을 모색하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

## 요 약

느타리버섯을 이용하여 제조한 김치에 대한 항산화, 항돌연변이, 항암 및 면역활성 등의 기능적 특성을 구명하였다.

버섯김치의 항산화효과를 측정하기 위하여 linoleic acid에 대한 과산화물가 및 환취의 간에 대한 TBA가를 측정한 결과 버섯김치가 배추김치보다 항산화 효과가 크게 나타났고, 데친버섯보다는 생버섯 김치의 효과가 훨씬 크게 나타났다. 버섯 김치의 메탄올 추출물은 농도에 의존적으로 항돌연변이 및 암세포 성장억제 효과를 나타내었으며, 특히 생버섯 추출물의 경우 그 효과 더욱 크게 나타났다. 느타리버섯 김치 메탄올 추출물은 환취의 비장에서 분리한 면역세포의 증식을 단독으로는 유도하지는 못하였지만, Con A 처리구에서는 비장세포의 증식을 유도하였고, 생버섯김치가 데친버섯 김치보다 더 많은 증식을 유도하였다.

## 참고문헌

- Cheigh, H.S. and Park, K.Y. (1994) Biochemical, microbiological and nutritional aspects of Kimchi. *Critical Review in Food Sci. and Nutr.*, 34, 88-116
- 최홍식 (1995) 김치의 생화학적 특성. *동아시아식생활학회지*, 5, 89-101
- 송태희, 김상순 (1991) 인삼을 첨가한 김치의 품질특성에 관한 연구. *한국조리과학회지*, 7, 81-88
- A.O.A.C. (1984) *Official Method of Analysis*. 14th ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. U.S.A. p.223
- Gutteridge, J.M.C. (1982) Free-radical damage to lipids, amino acids, carbohydrates and nucleic acids determined by thiobarbituric acid reactivity. *Intl. J. Biochem.*, 14, 649-654
- Maron, D.M., and Ames, B.N. (1993) Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mut. Res.*, 113, 173-215
- Skehan P., Storeng R, Scudiero D. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.*, 82, 1107-1112
- Promega Protocol (2001) Cell titer 96<sup>®</sup>Aqueous One Solution Cell proliferation Assay, Promega. U.S.A.
- Lee, Y.O. and Cheigh, H.S. (1995) Antioxidative Effect of Kimchi on the Lipid Oxidation of Cooked Meat. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 24, 1005-1009
- Song, E.S., Jeon, Y.S. and Cheigh, H.S. (1997) Antioxidative Effect of Different Kinds of Kimchi on the Lipid Oxidation of Cooked Meat. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 26, 993-997
- 류승희, 문갑순 (1997) 김치의 섭취가 환취의 항산화효소에 미치는 영향. *한국식품영양과학회 추계학술발표회*
- 정인창, 박신, 박경숙, 하효철, 김선희, 권용일, 이재성 (1996) 느타리버섯 자실체 및 균사체 추출물의 항산화효과. *한국식품과학회지*, 28, 464-469
- 정균옥, 서명자, 이숙희, 박건영 (1997) 부추김치 추출물의 *in vitro* 항돌연변이 및 항암효과. *한국식품영양과학회 추계학술발표회*
- Park, K.Y. (1995) The Nutrition Evaluation, and Antimutagenic and Anticancer Effects of Kimchi. *Korean Soc. Food Nutr.*, 24, 169-182
- 김정우, 김성원, 김병각, 최응칠, 이정옥, 이경림, 김하원 (1985) 한국산 고등균류의 성분연구(제38보) 조가느타리버섯의 항암성분. *한국균학회지*, 13, 11-21
- 박무현, 오국용, 이병우 (1998) 표고버섯과 느타리버섯의 항암효과. *한국식품과학회지*, 30, 702-708
- 장효, 권미향, 임왕진, 성하진, 양한철 (1997) 느타리버섯 자실체로부터 분리한 면역조절 기능성 다당류. *한국농화학회 춘계학술발표회*

(접수 2001년 12월 18일)