

버섯첨가된장의 생리활성 작용

이수진 · 이경임* · 이숙희 · 박건영†
부산대학교 식품영양학과 및 김치 연구소
*양산대학 호텔조리과

Physiological Activity in *Doenjang* Added with Various Mushrooms

Soo-Jin Lee, Kyeoung-Im Lee*, Sook-Hee Rhee, Kun-Young Park†
Dept. of Food Science and Nutrition, and Kimchi Research Institute, Pusan National University
*Dept. of Hotel Culinary Arts, Yangsan College

Abstract

The study was carried out to evaluate the radical scavenging activity, and antimutagenic and anticancer effects in Korean soybean paste(*doenjang*) added with various mushrooms. *Ganoderma lucidum doenjang*(*Gl*-TD) showed significant inhibitory activity against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical, with an IC_{50} value of $245\mu\text{g/ml}$. In contrast, the other *doenjang* varieties appeared to have weaker antioxidant activity. Four kinds of *doenjang* didn't have any antimutagenic activity against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) by adding of 5mg/plate, but exhibited a strong inhibitory effect(55~70%) against aflatoxin B₁(AFB₁). Especially *Phellinus linteus doenjang*(*Pl*-TD) inhibited more than 70% of the mutagenicity induced by AFB₁ in *Salmonella typhimurium* TA100. On the other hand, the mushroom *doenjang* varieties showed relatively weak activity toward MNNG in SOS chromotest, their inhibitory rate ranging from 23% to 33%. Methanol extracts of *Gl*-TD and *Pl*-TD inhibited by 91~92% the growth of AGS gastric cancer cells in a concentration of $100\mu\text{g/ml}$.

Key Words : radical scavenging activity, antimutagenic effects, mushroom *doenjang*, MTT

1. 서 론

우리나라 전통 장류의 하나인 된장은 대두로부터 복잡한 미생물 발효를 통하여 만들어진 식품으로 원료 대두에서 유래하는 우수한 영양원으로써 뿐만 아니라 여러 가지 생리활성도 갖고 있는 것으로 알려져 있다¹⁾. 특히 된장의 항암작용과 항암물질의 분리에 관한 연구가 많이 행해지고 있으며 전통 한식된장의 효능은 우수한 것으로 평가되고 있다²⁻⁵⁾.

버섯은 진균류에 속하는 담자균과 자낭균 중에서 자실체를 형성하는 고등균류로 탄수화물, 단백질, 지질, 무기질 및 비타민과 같은 영양소를 골고루 함유하고 있으며 맛과 향이 독특하여 식용으로 널리 사용되고 있다. 또한 버섯에는 항암작용, 생체기능조절

및 뇌졸중, 신장병 등의 성인병을 예방하는 효과가 뛰어나기 때문에 예로부터 약용으로도 많이 이용되어 왔다⁶⁾. 즉 표고버섯, 운지버섯, 자작나무버섯, 영지버섯 등에서 항종양 효과가 있다고 보고되었으며⁷⁾ 상황버섯도 항돌연변이 효과와 암세포에 대한 항암작용이 매우 강한 것으로 보고되고 있다⁸⁻¹¹⁾. 버섯에서 항종양 작용을 가진 물질로 다당류가 분리되었으며 이들은 암세포를 직접적으로 공격하기보다 숙주의 면역계에 작용하여 생체방어력을 증가시켜서 작용을 나타낸다고 하였다¹²⁾. 특히 표고버섯에는 순수 다당체인 lentinan이 항암작용을 나타내며¹³⁾, 영지버섯에서는 다당류와 단백질이 결합된 복합체가 항암작용을 나타낸다고 보고되고 있다¹⁴⁾.

이와 같이 인체에 유용한 성분이 다량 함유되어 있는 각종 버섯을 된장에 첨가함으로써 현재 알려진 된장의 암예방 효과를 더욱 증진시키며 각종 성인병 예방효과도 가질 것으로 기대된다. 따라서 본 연구에서는 식품으로 널리 이용되는 표고버섯, 약용으로

Corresponding author: Kun-Young Park, Pusan National University, 30 Jang Jun-Dong, Keum Jung-Ku, Busan 609-735, Korea
Tel : 82-51-510-2839
Fax : 82-51-510-2839
E-mail : kumypark@pusan.ac.kr

이용되고 있는 영지버섯과 상황버섯을 첨가하여 제조한 된장에서 DPPH 라디칼 소거효과, 돌연변이 유발억제 효과 및 암세포 생존 억제율을 관찰하였으므로 이를 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 된장 시료의 제조

실험에 사용된 된장은 전보와 같은 방법으로 제조하였다^{15,16}. 즉 재래식으로 제조된 메주를 구입하여 메주와 물을 1:4의 비율로 넣고 소금을 섞어 염의 농도를 Be' 17로 맞추었다. 이 때 사용된 소금은 천일염을 1년간 보관하여 간수를 빼 것이었다. 표고버섯된장, 영지버섯된장 및 상황버섯된장은 메주 13kg, 소금 4kg에 대하여 각각 건조하여 가루로 낸 표고버섯(*Lentinus edodes*) 600g, 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 600g과 상황버섯(*Phellinus luteus*) 60g을 첨가하여 제조하였다. 제조된 된장은 2월말에서 5월말까지 3개월간 항아리에 넣어 상온에서 숙성시켰다.

이렇게 제조된 된장을 동결건조한 후 메탄올로 추출하여 실험에 사용하였다.

2. DPPH 라디칼의 소거능 측정

버섯된장의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼에 대한 소거 효과는 Hatano 등의 방법¹⁷에 따라 관찰하였다. 메탄올로 용해한 시료 100 μ l와 DPPH 용액 60 μ M을 microwell에 넣어 온화하게 vortex하여 상온에서 30분간 방치한 후 Microplate Reader (ELx800, Bio-Tek Instruments, INC. USA)로 540nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH 라디칼의 양을 정량하였다. 각 시료의 항산화력은 log-dose inhibition curve로 계산하여 IC₅₀(50%까지 DPPH 라디칼의 형성을 저해하는데 필요한 ml당 μ g 농도)으로 나타내었다.

3. Ames test

균주 : 미국 캘리포니아 대학의 Ames 박사로부터 제공받은 *Salmonella typhimurium* TA100을 균주로 실험에 사용하였으며 실험하기 전 histidine 요구성, deep rough(*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하였다.

돌연변이원/발암원 : Aflatoxin B₁ (AFB₁)은 미국 Sigma 회사에서 구입하여 dimethylsulfoxide(DMSO)에 녹여 실험에 사용하였고, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)는 미국 Aldrich 회사로부터 구입하여 증류수에 녹여서 사용하였다.

S9 mixture 조제 : Maron 등의 방법¹⁸에 따라 Sprague-Dawley rat의 간을 적출하여 S9을 만들었으며 이 S9 fraction(10%)을 MgCl-KCl salts(2%), 1M glucose-6-phosphate(0.5%), 1M NADP(4%), 0.2M phosphate buffer(pH 7.4) 및 멸균수와 혼합하여 S9 mixture를 조제하였다.

항돌연변이 실험 : 실험에 사용하기 전 시료의 독성 실험을 행하여 독성이 나타나지 않는 범위 내에서 시료의 농도를 결정하였다.

S9 mix 0.5ml(간접 돌연변이인 경우) 혹은 인산 완충액 0.5ml(직접 돌연변이인 경우), 하룻밤 배양된 균주($1 \sim 2 \times 10^9$ cells/ml) 0.1ml, 시료 50 μ l와 돌연변이 유발물질 50 μ l를 ice bath에 담긴 cap tube에 넣고 가볍게 vortex한 후 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 예비 배양하였다. 45 $^{\circ}$ C의 top agar 2ml씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37 $^{\circ}$ C에서 48시간 동안 배양한 후 복귀돌연변이의 숫자를 계수하였다¹⁹.

4. SOS chromotest

균주 : 사용된 균주는 *Escherichia coli* GC4436에서 유래된 *E. coli* PQ37/plasmid pKM101(PQ37)로 90% glycerol과 L 배양액(증류수 1,000ml, bacto trypton 10g, bacto yeast extract 5g, NaCl 5g을 섞어 멸균한 것)에서 하룻밤 배양한 균액을 1:1로 혼합하여 -20 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 균주를 6개월마다 새로 준비하였으며 그때마다 *uvrB* 돌연변이, *rfa* 돌연변이와 PHO^C 유전자의 constitutivity 및 *sfiA::lacZ* fusion의 inducibility를 검사하였다.

항돌연변이 실험 : Quillard 등²⁰과 Baik 등²¹의 방법을 이용하여 SOS chromotest를 행하였다. 냉동 보관된 PQ37 균액 50 μ l를 5ml L 배양액에 접종하여 37 $^{\circ}$ C에서 하룻밤 진탕 배양한 후 이것을 다시 5ml L 배양액에 접종하여 37 $^{\circ}$ C에서 660nm에서의 흡광도가 0.3~0.4가 될 때까지 2시간 정도 진탕 배양하였다. 이때 얻어진 균액을 L 배양액에 1/10로 희석하여 각 농도별로 준비된 시료와 돌연변이원을 혼합한 시료 20 μ l를 미리 분주하여 둔 96 well plate에 100 μ l씩 분주하였다. 이것을 90분간 37 $^{\circ}$ C에서 진탕하여 SOS반응을 유도한 후 한쪽에는 β -galactosidase(β -G)의 활성 측정을 위하여 o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside(ONPG) 100 μ l를, 다른 쪽에는 alkaline phosphatase(A-P)의 활성을 측정하기 위하여 p-nitrophenyl phosphate disodium(PNPP) 100 μ l를 첨가하였다. 발색 시간은 5분(증류수) 또는 20분(DMSO)으로 하였으며 β -G는

1.5M Na₂CO₃ 100μl로 A-P는 1M HCl 50μl로 효소에 의한 발색 반응을 정지시켰다. 5분 후 A-P쪽에 50μl의 2M tris buffer를 첨가하여 HCl을 중화시키고 분광광도계로 420nm에서 흡광도를 측정하여 Miller의 공식²²⁾에 따라 enzyme unit(Eu)값을 구하였다.

$$Eu = (1000 \times A_{420}) / t(\text{min})$$

5. 항암실험

1) 암세포 및 배양

사람의 위암세포인 AGS를 한국세포주은행(서울의대)으로부터 분양받아 incubator에서 배양하면서 실험에 사용하였다.

100units/ml의 penicillin-K-streptomycin과 fetal bovine serum(FBS) 10%가 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Gibco Co., USA)을 사용하여 flask에 암세포를 이식시킨 후 5% CO₂가 공급되는 37℃ humidified incubator에서 배양하였다. 일주일에 2~3회 feeding하고 6~7일 만에 PBS로 세척한 후 0.05% trypsin-EDTA로 부착된 세포를 분리하여 계대배양하였다²³⁻²⁶⁾.

2) MTT assay

배양된 암세포를 96 well plate에 1×10⁴cells/well이 되게 180μl씩 분주하고 일정 농도의 시료를 20μl 첨가하여 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 72시간 동안 배양하였다. 이것을 인산생리식염수에 5mg/ml의 농도로 제조한 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 용액 20μl를 첨가하여 37℃에서 4시간 더 배양하였다. 이를 2,000rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고, 각 well 당 DMSO를 150μl 가하여 30분간 교반한 후 ELISA reader로 540nm에서 흡광도를 측정하였다^{27,28)}.

$$\text{Cytotoxicity}(\%) = \frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료처리구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

III. 결과 및 고찰

1. DPPH 라디칼의 소거 효과

Table 1은 버섯첨가된장의 DPPH 라디칼에 대한 소거 효과를 나타낸 것이다. 일반 재래식 된장을 첨가하였을 때 IC₅₀는 500μg/ml이었으며, 표고버섯된장과 상황버섯된장은 IC₅₀ 값이 각각 444μg/ml와 469μg/ml를 나타내어 일반된장과 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 영지버섯첨가된장은 IC₅₀ 값이 245μg/ml를 나타내어 다른 된장에 비하여 DPPH 라디칼

의 저해활성이 훨씬 높은 것을 알 수 있었다.

Lee 등¹⁵⁾이 보고한 부재료 첨가된장의 DPPH 라디칼에 대한 저해활성을 살펴보면 매실과 마늘첨가된장의 IC₅₀ 값이 각각 93μg/ml와 94μg/ml, 생강첨가된장 및 씀장이 100μg/ml를 나타내어 본 실험에서 사용한 버섯첨가된장보다 효과가 높게 나타났다. 이는 된장에 첨가된 재료의 농도가 다르므로 효과를 비교하는데 다소 무리가 있으나 된장의 맛, 향 등의 관능적 차이를 나타내는 표고버섯과 상황버섯의 첨가농도¹⁶⁾에서 DPPH 라디칼의 소거 효과는 낮은 것으로 생각된다. 그러나 영지버섯된장의 IC₅₀ 값은 일반된장의 절반 정도이므로 항산화 효과가 기대된다.

2. Ames test에 의한 항돌연변이 효과

Salmonella typhimurium TA100 균주에 대한 일반된장 및 표고버섯, 상황버섯, 영지버섯첨가된장의 MNNG에 대한 돌연변이유발 억제작용을 살펴본 결과는 Table 2와 같다. 시료의 농도를 1mg/plate와 5mg/plate로 하였을 때 농도의 증가에 따라 MNNG의 돌연변이 유발성을 약간 저해하였으나 큰 효과는 나타내지 않았다.

된장의 농도를 plate당 1mg과 5mg으로 첨가하였을 때 MNNG의 돌연변이 유발을 크게 억제하지 못하였으나 AFB₁의 돌연변이성은 상당히 억제하는 것을 볼 수 있었다(Fig. 1). 일반된장의 경우 5mg/plate 첨가로 AFB₁에 의해 유발된 돌연변이성을 55% 억제하였고 표고버섯, 영지버섯 및 상황버섯첨가된장은 60~70%의 저해효과를 나타내었다. 상황버섯된장은 5mg/plate 첨가로 AFB₁의 돌연변이유발을 70%까지 억제하였으며 특히 된장을 담글 때 상황버섯의 첨가량이 표고버섯과 영지버섯의 1/10의 양이었음에도 불구하고 4가지 된장 가운데 항돌연변이 효과가 가장 강하게 나타났다.

Table 1. IC₅₀ Values of various *doenjang* against the DPPH radical

Samples	IC ₅₀ (μg/ml)
TD ¹⁾	500
Le-TD ²⁾	444
Pl-TD ³⁾	469
Gl-TD ⁴⁾	245

¹⁾TD : Traditional *doenjang*.

²⁾Le-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Lentinus edodes*.

³⁾Pl-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Phellinus linteus*.

⁴⁾Gl-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Ganoderma lucidum*.

Table 2. Inhibitory effect of various *doenjang* on the mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.35µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatments	Concentration (mg/plate)	
	1	5
Spontaneous	139± 7	
MNNG(Control)	966±24	
MNNG + TD ¹⁾	1290±14	993± 4
+ <i>Le</i> -TD ²⁾	1361±44	1117±66
+ <i>Pl</i> -TD ³⁾	1417±12	1082±78
+ <i>Gl</i> -TD ⁴⁾	1294±60	1069±13

¹⁾TD : Traditional *doenjang*.
²⁾*Le*-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Lentinus edodes*.
³⁾*Pl*-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Phellinus linteus*.
⁴⁾*Gl*-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Ganoderma lucidum*.

Ji 등⁹⁾은 상황버섯이 *Sal. typhimurium* TA98과 TA100 균주에 대해 MNNG, 4-NQO, Trp-p-1 및 B(a)P의 돌연변이 유발을 크게 저해한다고 보고하였으며 간세포, 유방암세포 및 폐암세포의 성장억제 작용도 가지고 있다고 보고하였다.

3. SOS chromotest에 의한 항돌연변이 효과

SOS chromotest는 *E. coli* PQ37에 genotoxin이 작용하여 DNA에 손상을 주게 되면 SOS 반응이 유발되면서 생성되는 β-galactosidase의 활성을 비색정량하여 DNA가 변이원에 손상받는 정도를 측정하는 방법이다²⁶⁾.

항돌연변이 실험을 하기 전에 carcinogen MNNG의 dose response를 행했으며 그 결과 ONPG/PNPP의 발색은 30분으로 하였고 dose에 따른 SOS chromotest 결과로부터 최적 농도인 70ng/assay를 구하였다. 실험 결과 버섯 첨가된장은 일반 재래식 된장에 비해

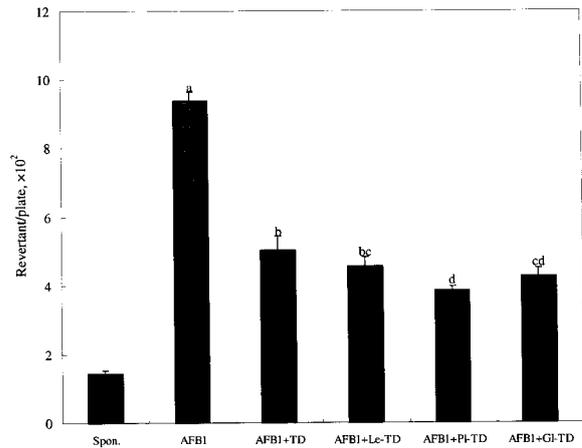


Fig. 1. Effect of methanol extracts from various kinds of mushroom added traditional *doenjang* on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁(AFB₁, 0.5µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100.

TD : Traditional *doenjang*.
Le-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Lentinus edodes*.
Pl-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Phellinus linteus*.
Gl-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Ganoderma lucidum*.

^{a-d)}Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

저해율이 높았으며, 특히 영지버섯 첨가된장과 상황버섯 첨가된장의 경우 각각 66%, 53%로 표고버섯을 첨가한 된장에 비해 높은 SOS 반응 억제효과를 보였다(Table 3).

한편 된장의 MNNG에 대한 SOS 반응 억제효과에 대한 연구에서¹⁵⁾ 일반 재래식 된장은 대조군과 비교하여 36%의 항돌연변이 억제효과가 있었지만 매실, 마늘 및 생강첨가된장의 경우에 55~59%의 항돌연변이 효과를 나타내었다고 하였다.

Table 3. SOS response of methanol extracts(250µg/assay) from various kinds of mushroom added traditional *doenjang* against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG, 70ng/assay) in *E. coli* PQ37

Treatments	β-Galactosidase(β)		Alkaline phosphatase(a)		β/a	Inhibition rate(%)
	OD ₄₂₀	Unit	OD ₄₂₀	Unit		
Spontaneous	0.690±0.050	23.0	0.691±0.010	23.0	1.0	-
Control(MNNG)	1.353±0.032	45.1	0.670±0.006	22.3	2.02	-
TD ¹⁾	1.061±0.045	35.4	0.687±0.017	22.9	1.54	46
<i>Le</i> -TD ²⁾	1.018±0.037	33.9	0.666±0.024	22.2	1.53	48
<i>Pl</i> -TD ³⁾	0.992±0.026	33.1	0.673±0.019	22.4	1.47	53
<i>Gl</i> -TD ⁴⁾	0.913±0.032	30.4	0.678±0.025	22.6	1.35	66

¹⁾TD : Traditional *doenjang*.
²⁾*Le*-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Lentinus edodes*.
³⁾*Pl*-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Phellinus linteus*.
⁴⁾*Gl*-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Ganoderma lucidum*.

4. MTT 실험계에서의 *in vitro* 항암효과

생존 세포의 효소작용에 의해서 MTT가 환원되어 formazan crystal로 침전되는 정도를 흡광도로 측정함으로써 암세포의 사멸 또는 증식 억제 정도를 결정하는 실험방법인 MTT 실험계에서 여러 버섯첨가 된 장류를 AGS 인체 위암세포를 이용하여 *in vitro*에서 항암실험을 행하였다. 재래식 된장에 비해 버섯 첨가된장이 더 높은 항암효과를 나타내었다. 특히 영지버섯을 첨가한 된장과 상황버섯을 첨가한 된장은 위암세포의 생존을 크게 억제하여 메탄올 추출물을 100µg 첨가하였을 때 각각 92% 및 91%의 생존 저해효과를 나타내었으며 50µg 첨가시 각각 84%와 82%의 높은 저해율을 나타내었다(Table 4).

따라서 재래식 된장이 가지고 있는 항돌연변이와 항암작용에 마늘, 생강 및 다양한 버섯의 첨가는 이러한 작용이 더욱 상승된 우수한 기능성 된장이 될 것으로 생각된다.

IV. 요약 및 결론

표고버섯, 상황버섯 및 영지버섯을 첨가하여 재래식 방법으로 제조된 된장에서 항산화, 항돌연변이 및 항암효과를 살펴보았다. DPPH 라디칼을 소거하는 효과는 영지버섯된장의 IC₅₀가 245mg/ml로 일반 된장보다 약 2배 정도 활성이 높았으나 표고버섯과 상황버섯을 첨가한 된장은 일반된장의 IC₅₀와 비슷하

였다. Ames test에 의한 항돌연변이 작용은 된장을 1mg/plate와 5mg/plate의 농도로 첨가하였을 때 *Sal. typhimurium* TA100에 대한 MNNG의 돌연변이 유발성을 저해하는 효과는 거의 나타나지 않았으나 간접 돌연변이원인 AFB₁의 돌연변이 유발은 55~70%까지 억제하였다. 특히 상황버섯된장은 5mg/plate의 첨가로 AFB₁의 돌연변이 유발을 70% 억제하여 항돌연변이 효과가 강한 것으로 나타났다. 또한 SOS chromotest에 의한 항돌연변이 작용도 시료 0.5% 첨가시 23~33%의 활성을 나타내었으며 영지버섯된장이 가장 높은 활성을 나타내었다. MTT 실험계에서 암세포 생존 억제를 관찰한 결과 일반재래식된장을 비롯하여 버섯첨가된장은 모두 강한 활성을 나타내었으며 이 가운데 상황버섯과 영지버섯된장은 100µg/assay의 첨가로 91~92%의 암세포생존 억제율을 나타내었다. 따라서 표고, 상황 및 영지버섯을 첨가하여 제조한 재래식 된장은 항산화, 돌연변이유발 억제 작용 및 암세포 생존억제 작용을 가지고 있는 것으로 평가되었다.

V. 참고문헌

1. 송형익, 신중엽 : 현대 발효공학. p.234, 지구문화사, 서울, 1996
2. Moon, SH : Antimutagenic effect of Doenjang(Korean soy paste). master thesis, Pusan National University, 1990
3. Park, KY, Moon, SH, Baik, HS and Cheigh, HS : Antimutagenic effect of Doenjang(Korean fermented soy paste) toward aflatoxin. J. Kor. Soc. Food Nutr. , 19(2):156, 1990
4. Cheigh, HS, Lee, JS and Lee, CY : Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. J. Kor. Soc. Food Nutr., 22:570, 1993
5. Choi, SY, Cheigh, MJ, Lee, JJ, Kim, HJ, Hong, SS, Chung, KS and Lee, BK : Growth suppression effect of traditional fermented soybean paste(Doenjang) on the various tumor cells. J. Korean Soc. Food Sci. Nuri., 28(2):458, 1999
6. Kim, GH and Han, HK : The effect of mushroom extracts on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nuri., 27:326, 1998
7. Hartwell, JL : Plants used against cancer. A. Survey. Lloyd., 34:386, 1971
8. Choi, JH, Ha, TM, Kim, YH and Rho, YD : Studies on the main factors affecting the mycelial growth of *Phellinus linteus*. Kor. J. Mycol., 24:214, 1996
9. Ji, JH, Kim, MN, Chung, CK and Ham, SS : Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Phellinus linteus* extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 29(2): 322, 2000
10. Chang, ST, John, AB and Chiu, SW : Mushroom biology

Table 4. Effect of methanol extracts from traditional doenjang added with various mushrooms on growth inhibitiob by MTT assay in AGS human gastric cancer cells

Treatments (mg/ml)	OD ₅₄₀	
	0.05	0.1
Control(PBS)	0.618±0.013 ^a	0.619±0.003 ^a
TD ¹⁾	0.243±0.009 ^{b(61)} ³⁾	0.148±0.011 ^{b(76)}
Le-TD ²⁾	0.208±0.004 ^{c(66)}	0.106±0.006 ^{c(83)}
Pl-TD ³⁾	0.112±0.008 ^{d(82)}	0.055±0.001 ^{d(91)}
Gl-TD ⁴⁾	0.098±0.007 ^{d(84)}	0.050±0.006 ^{d(92)}

¹⁾TD : Traditional *doenjang*.

²⁾Le-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Lentinus edodes*.

³⁾Pl-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Phellinus linteus*.

⁴⁾Gl-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding *Ganoderma lucidum*.

³⁾Inhibition rate(%)= $\frac{OD_{540} \text{ of control} - OD_{540} \text{ of sample}}{OD_{540} \text{ of control}} \times 100$

^{a-d)}Means with the different letters in the same column are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

- and mushroom products. World scientific, Washington, D.C., p.1-20, 1993
11. Ji, JH, Kim, MN, Chung, CK and Ham, SS : Antigenotoxic effects of *Phellinus linteus* and *Agaricus blazei* Murill extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 29(3):513, 2000
 12. Kweon, MH, Lim, EJ and Sung, HJ : Studies on biological polysaccharides isolated from *Agaricus bisporus* (in Korean). J. Kor. Agric. Chem. Biotechnol., 41:60, 1998
 13. Goro, C, Junji, H, Yukiko, Y, Yoshiko, A and Fumoko, F : Fractionation and purification of the polysaccharides with masked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes*. Cancer Res., 30:2776, 1970
 14. Kim, SW : Studies on anti-microbial and anti-cancer functions of polysaccharide extracted *Ganoderma lucidum*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27:1183, 1988
 15. Lee, KI, Moon, RJ, Lee, SJ and Park, KY : The quality assessment of doenjang added with Japanese apricot, garlic and ginger, and samjang. Korean T. Soc. Food Cookery Sci., 17(5):472, 2001
 16. Lee, KI, Kwon, SJ and Moon, RJ : The taste components composition in various mushrooms-added Korean soybean paste(Doenjang). The Korean J. Community Living Science, 13(1):41, 2002
 17. Hatano, T, Edamatsu, R, Hiramatsu, M, Mori, A, Fujita, Y, Yasuhara, T, Yoshida, T and Okuda, T : Effects of the interactions of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Chem. Pharm. Bull., 37:2016, 1989
 18. Maron, DM and Ames, BN : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutat. Res. 113:173, 1983
 19. Ames, BN, McCann, J and Yamasaki, E : Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian-microsome mutagenicity test. Mutat. Res., 31:347, 1975
 20. Quillardet, P and Hofnung, M : The SOS chromotest a colorimetric bacterial assay for genotoxins. Mutat. Res., 147:65, 1985
 21. Baik CW, Ham SS. Antimutagenic effects of browning products reacted with polyphenol oxidase extracted from apple by using SOS chromotest. Korean J. Food Sci. Technol., 22:618, 1990
 22. Miller J. : Experiments in molecular genetics. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York. 1972
 23. Goldin, A, Schepartz, SA, Venditti, JM and DeVita, VT : Historical development and current strategy of the National Cancer Institute Drug Development Program. In *Methods in Cancer Research*, Vol. 16. Cancer Drug Development, Part A, DeVita, VT and Busch, H (eds.), Academic Press, New York, p.165, 1979
 24. Park, JG, Frucht, H, LaRocca, RV, Bliss, DP, Kurita, Y, Chen, TR, Henslee, JG, Trepel, JB, Jensen, RT, Johnson, BE, Bang, YJ, Kim, JP and Gazdar, AF : Characterization of cell lines established from human gastric carcinoma. Cancer Res., 50:2773, 1990
 25. Hwang, WI, Cha, S and Lee, SY : A study on the extraction of anticancer components from Korean medicinal plants and the determination of their cytotoxic activities on the cancer cells. Korean Biochem. J., 13:25, 1980
 26. Franceschi, RT, James, WM and Zerlauth, G. : $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D_3 specific regulation of growth, morphology and fibronectin in a human osteosarcoma cell line. J. Cellular Physiol. 123:401, 1985
 27. Park, JG, Kramer, BS, Steinber, SM, Carnichael, J, Collins, JM, Minna, JD and Gazdar, AF : Chemosensitivity testing of human colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium-based colorimetric assay. Cancer Res., 47:5875, 1987
 28. Skehan, P, Storeng, R, Monks, SA, McMahon, J, Vistica, D, Warren, JT, Bokesch, H, Kenney, S and Boyd, MR : New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. J. Natl. Cancer Inst., 82:1107, 1990

(2004년 7월 6일 접수, 2004년 8월 9일 채택)