

방울토마토(*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) Betatini 품종 추출물의 항산화 및 암세포 억제 활성

김현룡 · 안준배*

서원대학교 호텔외식조리학과

Antioxidative and Anticancer Activities of the Betatini Cultivar of Cherry Tomato (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) Extract

Hyen Ryung Kim and Jun Bae Ahn*

Dept. of Food Service & Culinary Arts, Seowon University

Abstract

The aim of this study is to investigate the effectiveness of a cherry tomato (Betatini cultivar) as a functional food and food material by measuring total polyphenol and flavonoid content, antioxidative and anticancer activities. The contents of polyphenols and flavonoids were 11.02 ± 1.98 mg and 4.53 ± 0.59 mg per gram of dried cherry tomato, respectively. The antioxidative activity of the cherry tomato extract was verified by measuring α - α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity (DSA), 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) radical scavenging activity (ASA) and ferric reducing antioxidant power (FRAP). Half of the radical scavenging concentrations (IC_{50}) of DSA and ASA were 340.26 ± 4.28 μ g/mL and 350.77 ± 7.79 μ g/mL, respectively. The FRAP value was 25.47 ± 0.79 μ mol Fe^{2+} /g. The effects of the cherry tomato extract on the growth of normal liver cell (Chang), normal lung cell (Hel299), lung cancer cell (A549), cervical cancer cell (HeLa) and liver cancer cell (HepG2) were also investigated using MTT assay. The cherry tomato extract showed high growth inhibition effects against HeLa and HepG2 cell. These results indicate that the Betatini cultivar of cherry tomato would be a functional food and food material.

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

서론

토마토에는 다양한 영양소와 기능성 성분이 다량 함유되어 있어 생과뿐만 아니라 가공품으로 소비가 많은 채소이다(Frusciante et al., 2007; Friedman, 2002). 세계적으로 다양한 품종의 토마토가 재배되고 있는데 국내에서는 일반 토마토와 방울토마토(cherry tomato)가 주종을 이루고 있다(Kim et al., 2012).

일반 토마토에 포함된 영양성분과 생리활성 성분에 관해서는 많은 연구가 진행되어 아미노산, 카로티노이드를 포함한 폴리페놀성 화합물 등의 분포에 대해 비교적 자세히 알려져 있다(Lee et al., 1972; Davies & Hobson, 1981; Lenucci et al., 2006; Choi et al., 2010). 그리고 일반 토마

토에 포함된 lycopene이나 β -carotene은 항산화효과(Frusciante et al., 2007), LDL의 산화억제 효과(Oshima et al., 1998; Stahl et al., 2001) 등 기능성을 보이는 것이 확인되었다. 또한, 역학적 연구(epidemiological study)를 통해 lycopene, 토마토 및 토마토 가공품의 섭취와 다양한 암의 발생 빈도와의 상관관계를 규명하여 전립선암 억제 효과(Giovanucci, 1999; Barber & Barber, 2002), 폐암 억제 효과(Polazza et al., 2011) 등 토마토의 항암활성이 밝혀졌다.

반면, 방울토마토의 이화학적 성분이나 기능성에 관한 연구는 드문 실정으로 방울토마토의 일반성분, 비타민 A, 비타민 C, 카로티노이드 등의 함량과 항산화효과(Raffo et al., 2006; Lenucci, 2006), ACE 저해효과와 lectin의 생화학적 특성에 관한 연구(Na et al., 2007; Roh, 2010)가 일부 존재한다. 최근에 국내에서도 소비량이 늘어나고 있는 방울토마토의 식품학적 가치를 규명하기 위해서는 생리활성 성분과 기능성에 관한 연구가 더 많이 필요할 것으로 사료된다.

선행 연구(Kim & Ahn, 2014)에서 본 연구팀은 방울토마토 Betatini 품종의 유리아미노산, 아미노산 대사산물 및 폴리페놀 화합물을 HPLC, LC-MS/MS로 분석, 동정한 바

*Corresponding author: Jun Bae Ahn, Department of Food Service & Culinary Arts, Seowon University, Cheongju 361-742, Korea
Tel: +82-43-299-8461; Fax: +82-43-299-8460
E-mail: given@seowon.ac.kr
Received September 15, 2014; revised October 2, 2014; accepted October 2, 2014

있다. 특히, 알리지 억제효능(Yamamoto et al., 2004; Iwamura et al., 2010), 염증억제 효과(Hirai et al., 2007), 2형 당뇨병 비만억제 효과(Horiba et al., 2010) 등이 알려진 naringenin chalcone, 항산화효과(Metodiewa et al., 1997), 혈액응집억제(Navarro-Núñez et al., 2008), 친식억제작용(Jung et al., 2007) 등이 알려진 quercetin-3-rutinoside 등 생리활성물질이 다량 함유되어 있음을 보고하였다.

본 연구에서는 방울토마토 Betatini 품종의 기능적 특성을 규명하기 위해 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 정량하였고, 다양한 방법으로 항산화 활성을 검증하여 보았다. 또한, MTT assay를 통해 다양한 종류의 암 세포에 대한 생육억제 효과를 확인하였다. 본 연구의 결과는 방울토마토의 식품 또는 식품소재로서의 가치를 밝히고 활용성을 높이는 데 기여 할 것으로 판단된다.

재료 및 방법

실험 재료

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

α - α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azinobis-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.

방울토마토 건조 시료 제조

방울토마토는 최대한 균일한 크기의 20 개 개체를 모아 꼭지를 제거하고 과육을 4-5 mm 두께로 썰어 액체 질소에 담가 급냉시킨 후 동결건조기(PVTFD 10R, Ilsinbiobase Co. Ltd., Donducheon-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.

추출물 제조

동결건조 분말 100 mg 당 80%(v/v) 메탄올 50 mL를 가하여 초음파 수조에 넣고 30°C에서 60분간 추출하였다. 추출액을 감압 여과한(Whatman No. 2) 후 여액을 분리하여 18,000 g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액을 회수하여 0.45 μ m nylon filter(Millipore, Bedford, MA, USA)를 통과시켜 여과액을 volumetric flask에 모은 후 80%(v/v) 메탄올을 가하여 50 mL로 정용하여 메탄올 추출액을 제조하였다. 추출액을 감압 농축 한(EYELA N-1110, Rikakikai

Co. Ltd., Tokyo, Japan) 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 activity 측정, dimethyl sulfoxide (DMSO)로 희석하여 ABTS radical scavenging activity 및 FRAP assay, 암세포 억제 활성 검증에 사용하였다.

총 폴리페놀의 정량

방울토마토 Betatini 품종 메탄올 추출액의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis의 방법(Gutfinger, 1981)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. 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.

총 플라보노이드의 정량

추출액의 총 플라보노이드 함량은 Dewanto 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) NaOH 를 가하고 소량의 증류수를 첨가하여 10 mL로 정용하였다. 반응액을 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 얻었으며 이에 따라 총 폴리페놀 함량을 정량하였다.

DPPH radical scavenging activity(DSA) 측정

방울토마토 Betatini 품종 추출물의 항산화 활성을 측정하기 위해 Brand-Williams et al.(1995)의 방법에 따라 α - α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH) free radical 소거활성을 측정하였다. 추출 건조물을 80%(v/v) 메탄올에 각각 50, 100, 250, 500 μ g/mL로 농도별로 제조하여 0.8 mL를 0.15 mM DPPH 0.2 mL와 혼합하여 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거활성은 다음 식에 따라 산출하였으며 DPPH free radical의 생성을 50% 억제하는 시료의 농도를 IC_{50} 으로 정의하였다. 양성 대조구는 합성 항산화제인 butylated hydroxyanisole(BHA)을 사용하였다.

DPPH radical scavenging activity(DSA, %) = $(1 - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100$

ABTS radical scavenging activity(ASA) 측정

ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) 라디칼 소거활성은 Re et al.(1999)의 방법을 사용하여 측정하였다. 추출 건조물을 DMSO에 각각 50, 100, 250, 500 µg/mL로 농도별로 제조하였다. ABTS cation radical(ABTS⁺)을 생성시키기 위해 7 mM ABTS 수용액을 만든 후 potassium persulfate를 2.45 mM이 되도록 첨가하여 빛을 차단하여 상온에서 24시간 보관하여 ABTS⁺용액을 제조하였다. 제조된 ABTS⁺용액을 732 nm에서 흡광도가 0.7±0.02가 되도록 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)로 희석하여 소거활성 측정에 사용하였다. 농도별로 희석된 추출 건조물 10 µL와 ABTS⁺용액 990 µL를 혼합하여 1분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거활성은 다음식에 따라 산출하였으며 ABTS cation radical의 생성을 50% 억제하는 시료의 농도를 IC₅₀으로 정의하였다. 양성 대조구는 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid(Trolox)를 사용하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity(ASA, \%)} = (1 - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100$$

Ferric reducing antioxidant power(FRAP) 측정

방울토마토 Betatini 품종 메탄올 추출물이 Ferric ion (Fe³⁺)을 Ferrous ion(Fe²⁺)로 환원시키는 능력(FRAP)을 Benzie IFF & Strain(1996)의 방법에 따라 측정하여 항산화력을 알아보았다. TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 용액은 40 mM HCl에 ferric-tripyridyltriazine(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 항산화력을 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 방울토마토 메탄올 추출물의 FRAP값을 정량하였다.

암세포 억제활성 측정

방울토마토 Betatini 품종 추출물이 정상세포와 암세포 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 정상 간세포(Chang), 정상 폐세포(Hel299), 폐암세포(A549), 간암세포(HepG2), 자궁경부암세포(HeLa)를 사용하여 MTT assay를 실시하였다. 세포주는 α-MEM 또는 RPMI 1640 배지에

10% fetal bovine serum(FBS), 1% Penicillin/Streptomycin을 첨가하여 CO₂ incubator(MCO-20 AIC, Sanyo, San Diego, CA, USA)에서 37°C, 5% CO₂ 하에서 배양, 유지하였다. 배양된 세포를 1×10⁵ cell/well이 되게 96 well plate에 100 µL씩 분주하고 DMSO에 각각 10, 50, 100, 250, 500 µg/mL 농도로 희석된 시료를 10 µL씩 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator 에서 24 시간 배양하였다. 50 µL MTT solution(0.1 mg/mL)을 각 well에 넣고 37°C에서 4시간 배양 한 후 100 µL의 DMSO를 첨가하고 microplate reader (Spectra MAX 190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 저해 활성은 대조구(DMSO)와 시료의 흡광도 차이를 구하여 다음과 같이 측정하였다.

$$\% \text{ inhibition of cells} = 100 \times (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}$$

통계처리

표준편차, 선형회귀분석 등은 Microsoft Office Excell 2007을 사용하였고 유의성 검정을 위해서는 SAS software를 사용하여 일원분산분석(one-way ANOVA)을 실시 한 후 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

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. 선행연구(Kim & Ahn, 2014)를 통해 방울토마토 Betatini 품종에 histamine 방출을 억제하여 알러지 억제효능(Yamamoto et al., 2004; Iwamura et al., 2010), 염증억제 효과(Hirai et al., 2007), 2형 당뇨병 비만억제 효과(Horiba et al., 2010) 등이 알려진 naringenin chalcone, 항산화효과(Metodiewa et al., 1997), 혈액응집억제(Navarro-Núñez et al., 2008), 천식억제작용(Jung et al., 2007) 등이 알려진 quercetin-3-rutinoside 등 생리활성 플라보노이드가 다량 함유되어 있음이 밝혀졌다.

방울토마토 Betatini 품종 메탄올 추출물에 함유된 폴리페놀 화합물과 플라보노이드 함량은 Table 1과 같다. 방울토마토 건조물 1g 당 폴리페놀은 11.02±1.98 mg, 플라보노이드는 4.53±0.59 mg이 포함되어 있었다. Na et al.(2013)은

Table 1. Total polyphenol and flavonoid contents in the Betatini cultivar of cherry tomato.

Polyphenol content (mg/g dry weight)	Flavonoid content (mg/g dry weight)
11.02±1.98	4.53±0.59

국내 재배지역별 일반 토마토에 원물 중량(fresh weight) 100 g 당 폴리페놀과 플라보노이드가 각각 19.43–32.44 mg, 6.56–10.93 mg이 함유되어 있다고 보고하였다. 일반 토마토의 수분함량이 약 90%임을 고려하면 방울토마토 Betatini 품종에 포함된 폴리페놀 함량은 일반 토마토에 포함된 폴리페놀 함량의 평균값과 유사하였다. 반면 플라보노이드 함량은 일반토마토에 비해 4 배 이상 높음을 알 수 있었다. 일반토마토와 방울토마토의 함량 차이를 정확히 비교하기 위해서는 좀더 많은 품종의 방울토마토의 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 분석하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

항산화 활성

방울토마토 Betatini 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. FRAP는 항산화 능력이 있는 물질이 대부분 환원력을 가지고 있다는 사실을 바탕으로 Fe^{3+} 을 Fe^{2+} 으로 환원시키는 능력을 측정함으로써 항산화활성을 측정하는 방법이다(Benzie & Strain, 1996). 방울토마토 Betatini 품종 메탄올 추출물을 농도별로 희석하여 DSA와 ASA를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. DSA를 측정하기 위해 추출물을 50, 100, 250, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리하였을 때 각각 4.62 ± 1.51 , 11.76 ± 1.68 , 42.29 ± 0.56 , $71.89 \pm 0.93\%$ 의 DPPH 라디칼 소거활성을 보였으며 처리 농도가 증가함에 따라 유의적으로 소거활성이 증가함을 알 수 있었다. 또한, 추출물을 50, 100, 250, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 조절하여 ASA를 측정한 결과 각각 9.01 ± 0.39 , 17.61 ± 0.67 , 39.90 ± 0.66 , $68.08 \pm 1.65\%$ 의 ABTS 라디칼 소거활성을 보여 처리 농도가 높아짐에 따라 유의적으로 활성이 증가하였다.

항산화활성의 정도를 정량화하기 위하여 DPPH와 ABTS에 의해 생성되는 free radical을 50% 소거시키는 추출물의 농도를 IC_{50} 으로 정의하여 산출하였으며 FRAP 값은 추출물 1 g 당 생성하는 Fe^{2+} 의 양을 측정하였다(Table 2).

DPPH 방법에 의한 항산화 활성을 측정한 결과 추출물의 IC_{50} 은 $340.26 \pm 4.28 \mu\text{g}/\text{mL}$ 이었다. 또한, ABTS 방법에 의해 항산화 활성을 측정한 결과 추출물의 IC_{50} 은 $350.77 \pm 7.79 \mu\text{g}/\text{mL}$ 로 나타나 라디칼 소거능력을 측정하는 두가지 방법에서는 거의 유사한 결과를 얻을 수 있었다. FRAP를 측정한 결과 추출물 1 g 당 $25.47 \pm 0.79 \mu\text{mol } Fe^{2+}$ 를 생성함을 알 수 있었다. 이와 같은 결과를 통해 방울토마토 Betatini 품종은 항산화 활성을 가지고 있음을 알 수 있었다.

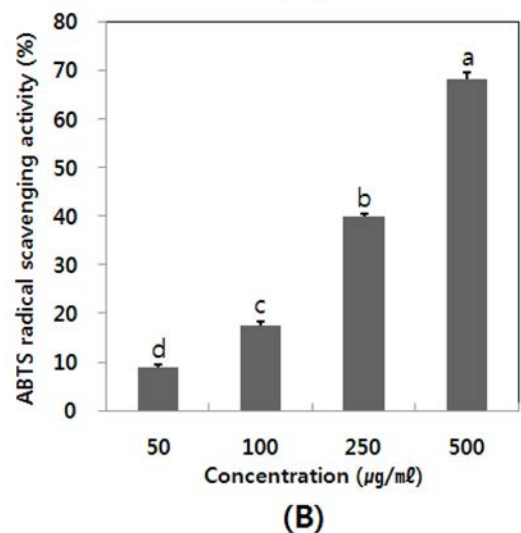
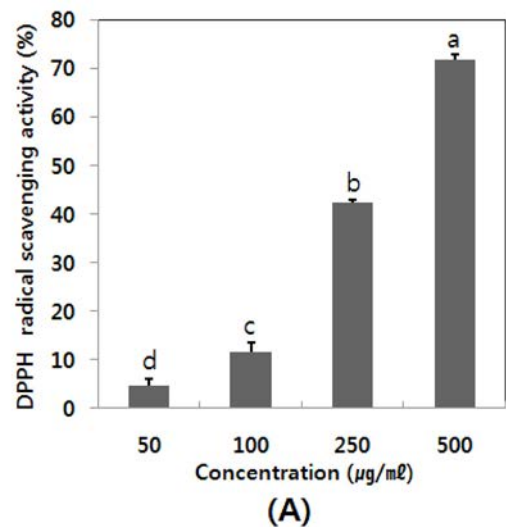


Fig. 1. Antioxidative activities of the Betatini cultivar of cherry tomato.

(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.

Choi et al.(2011)은 국내에서 재배된 11 종 일반 토마토의 항산화활성을 측정한 결과 DPPH 방법에 의한 IC_{50} 이

Table 2. 50% radical scavenging concentration (IC_{50}) and FRAP value of the extract from the Betatini cultivar of cherry tomato.

	DPPH value, IC_{50} (mL)	ABTS value, IC_{50} (mL)	FRAP value ($\mu\text{mol } Fe^{2+}/\text{g}$)
Extract	340.26 ± 4.28	350.77 ± 7.79	25.47 ± 0.79
BHA ¹⁾	4.35 ± 0.31	-	-
Trolox ²⁾	-	6.73 ± 0.17	-

¹⁾BHA (butylated hydroxyanisole) is the control substance for measuring DPPH radical scavenging activity.

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

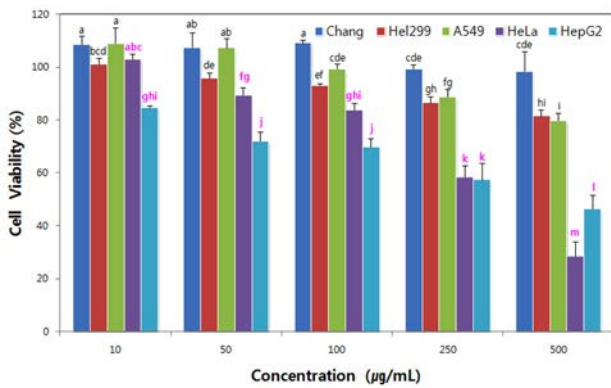


Fig. 2. Inhibitory effects of the Betatini cultivar of cherry tomato against normal liver cell (Chang), normal lung cell (Hel299), lung cancer cell (A549), cervical cancer cell (HeLa) and liver cancer cell (HepG2).

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

145–496 µg/mL, FRAP 값이 12–45 µmol Fe²⁺/g라고 보고 하였는데 이는 방울토마토 Betatini 품종 추출물의 IC₅₀과 유사하였다. 또한, Morales-Soto et al.(2014)은 44 종의 스페인산 과일과 채소의 항산화활성을 비교한 연구에서 일반 토마토의 FRAP 값이 29.1–67.2 µmol Fe²⁺/g 이라고 보고 하였는데 방울토마토 Betatini 품종 추출물의 FRAP 값에 비해 약간 높은 값이었다. 일반 토마토와 방울토마토의 항산화활성을 좀더 정확하게 비교하기 위해서는 국내에서 재배되는 더 많은 품종의 방울토마토에 대한 항산화활성 검증이 필요하리라고 판단된다.

암세포 억제 활성

방울토마토 Betatini 품종 추출물이 정상 간세포(Chang), 정상 폐세포(Hel299), 폐암세포(A549), 자궁경부암세포(HeLa) 및 간암세포(HepG2)의 생육에 미치는 영향을 알아본 결과는 Fig. 2와 같다. 그리고 각 세포의 생육을 50% 억제하는 추출물의 농도인 IC₅₀을 산정하여 Table 3에 나타내었다.

방울토마토 Betatini 추출물을 10, 50, 100, 250, 500 µg/mL로 농도별로 각 세포에 처리한 결과 정상 간세포(Chang)에서는 유의적인 생육 저해나 증가 효과가 나타나지 않았고 정상 폐세포(Hel299)는 500 µg/mL의 고농도로 처리하였을 경우 약하게 생육이 저해 되었다. 또한, 폐암세포인 A549에 추출물을 처리하였을 경우에도 정상 폐세포의 경우와 유사하게 500 µg/mL의 고농도로 처리하였을 경우 약한 생육저해 효과가 관찰되어 추출물은 정상 폐세포와 폐암세포 모두에 약한 생육 저해 효과를 보임을 알 수 있었다. 추출물의 Hel299 및 A549에 대한 생육저해 효과가 최대 처리 농도인 500 µg/mL에서 각각 18.56%, 20.36%로 낮아 IC₅₀은 산정할 수 없었다. Choi et al.(2011)은 일

Table 3. 50% inhibition concentration (IC₅₀) of the extract from the Betatini cultivar of cherry tomato against normal liver cell (Chang), normal lung cell (Hel299), lung cancer cell (A549), cervical cancer cell (HeLa) and liver cancer cell (HepG2).

50% inhibition concentration, IC ₅₀ (µg/mL)				
Chang	Hel299	A549	HeLa	HepG2
>500 ¹⁾	>500 ²⁾	>500	326.24±16.83	385.13±24.60

¹⁾ No inhibition

²⁾ Estimated IC₅₀ is above the maximal treatment concentration (500 µg/mL)

반 토마토 추출물이 폐암세포(A549)에 약한 저해 효과가 있다고 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였다.

추출물을 자궁경부암세포(HeLa)에 처리하였을 경우 처리 농도에 따라 유의하게 세포의 생육이 억제되어 250 µg/mL, 500 µg/mL를 처리하였을 때 각각 41.78%, 71.6%의 높은 생육억제 효과를 보였고 HeLa 세포에 대한 추출물의 IC₅₀은 326.24±16.83 µg/mL로 산정되었다. 선행연구 결과를 살펴보면 토마토 음료 제조의 부산물인 토마토 박(tomato waste) 추출물을 25 mg/mL 농도로 처리하였을 경우 HeLa 세포의 생육이 80% 이상 저해되었고(Cetkovic et al., 2012) 토마토의 glycoalkaloid를 분리하여 처리하였을 경우 1 µg/mL이하의 낮은 농도에서 HeLa 세포의 생육이 거의 100% 저해되었다는 보고(Choi et al., 2010)가 있어 방울토마토 Betatini 추출물이 HeLa 세포에 대해 강한 저해 활성을 갖는다는 본 연구의 결과와 일치함을 알 수 있었다.

간암세포(HepG2)의 생육에 미치는 추출물의 영향을 알아본 결과 250 µg/mL, 500 µg/mL를 처리하였을 때 각각 42.82%, 56.46%의 생육억제 효과를 보였다. HepG2 세포에 대한 추출물의 IC₅₀은 385.13±24.60 µg/mL이었다. Friedman et al.(2009)의 연구에서는 일반 토마토 9 종의 메탄올 추출물 중 glycoalkaloid 분획물이 HepG2 세포에 강한 생육저해 효과가 있음이 밝혀졌는데 이는 방울토마토 Betatini 품종 메탄올 추출물이 HepG2 세포에 억제 활성을 갖는다는 본 연구와 유사하였다.

방울토마토 Betatini 품종 추출물이 정상세포와 암세포의 생육에 미치는 영향을 알아본 결과 정상 간세포(Chang)의 생육에는 거의 영향이 없었으나 자궁경부암세포(HeLa)와 간암세포(HepG2)에 대해서 일반 토마토와 유사하게 상당한 저해 활성이 있음을 확인하였다. 이는 방울토마토 Betatini 품종이 특정암에 대해 효과적인 항암식품이 될 수 있음을 시사한다고 할 수 있다. 물론, 항암식품으로서의 가치를 정확하게 규명하기 위해서는 더 많은 암세포에 대한 억제 효과와 방울토마토의 섭취 빈도와 암 발생 위험도간의 상관관계에 대한 장기적인 역학적 연구(epidemiological study)가 필요하다. 일반 토마토의 경우섭취 빈도가 높을수록 전립선암, 폐암, 유방암 등 다양한 암의 발생위험을 낮추며(Mayne et al., 1994; Giovannucci et al., 1995; Agudo

et al., 1997; Giovannucci, 1999; Barber & Barber, 2002; Hwang & Bowen, 2004; Polozza et al., 2011) 치료 중인 폐암 환자들의 생존율을 높이는(Goodman et al., 1992) 등 많은 연구결과가 축적되어 있어 항암식품으로서의 가치가 규명되었으나 방울토마토에 대한 역학적인 연구는 찾아 볼 수 없으므로 방울토마토 Betatini 품종의 항암식품으로서의 활용성을 알아보기 위해서는 좀더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 방울토마토 Betatini 품종의 기능성식품으로서의 효용성을 알아보기 위하여 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량, 항산화 활성, 암세포 생육억제 효과를 검증하여 보았다. 방울토마토 Betatini 품종의 폴리페놀 함량은 건조물 1 g 당 11.02±1.98 mg으로 국내산 일반 토마토와 유사하였으며 플라보노이드는 건조물 1 g 당 4.53±0.59 mg이 함유되어 있어 일반 토마토에 비해 4 배 가량 높았다. 방울토마토 Betatini 품종의 항산화활성을 알아보기 위해 DPPH radical scavenging activity(DSA), ABTS radical scavenging activity(ASA) 및 ferric reducing antioxidant power(FRAP)를 측정하였다. DSA와 ASA를 측정할 결과 IC₅₀은 각각 340.26±4.28 µg/mL, 350.77±7.79 µg/mL이었으며 FRAP값은 25.47±0.79 µmol Fe²⁺/g으로 밝혀져 항산화 활성이 확인되었다. 방울토마토 Betatini 품종의 암세포 생육억제 효과를 검증한 결과 자궁경부암세포(HeLa)와 간암세포(HepG2)에 대해서 높은 생육억제 효과를 확인할 수 있었다. 이상의 결과를 통해 방울토마토 Betatini 품종은 기능성 식품 또는 식품 소재로서의 가치가 매우 높음을 확인하였다.

References

- 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: 1256-1261.
- Barber NJ, Barber J. 2002. Lycopene and prostate cancer. *Prostate Cancer P. D.* 5: 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: 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: 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: 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. Agr. Food Chem.* 59: 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. Agr. Food Chem.* 58: 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: 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. Agr. Food Chem.* 50: 3010-3014.
- Friedman M. 2002. Tomato glycoalkaloids : role in the plant and in the diet. *J. Agr. Food Chem.* 50: 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. Agr. Food Chem.* 57: 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: 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: 1767-1776.
- Giovannucci E. 1999. Tomatoes, Tomato-Based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. *J. Natl. Cancer Inst.* 91: 317-331.
- Goodman MT, Hankin JH, Wilkens LR, Kolonel LN. 1992. High-fat foods and the risk of lung cancer. *Epidemiology* 3: 288-299.
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *JAOCS* 58: 966-967.
- 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: 1272-1279.
- Horiba T, Nishimura I, Nakai Y, Abe K, Sato R. 2010. Naringenin chalcone improves adipocyte functions by enhancing adiponectin production. *Mol. Cell. Endocrinol.* 323: 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: 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: 67-73.
- Jung CH, Cho CH, Kim CJ. 2007. Anti-asthmatic action of quercetin and rutin in conscious guinea-pigs challenged with aerosolized ovalbumin. *Arch. Pharmacol. Research* 30: 1599-1607.
- Kim HY, Ahn JB. 2014. Physicochemical properties of a Betatini variety of *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (cherry tomato). *Food Eng. Prog.* 18: 222-228.
- 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: 773-779.
- Lee HB, Yang CB, Yu TJ. 1972. Studies on the chemical compo-

- sition of some fruit vegetables and fruits in Korea(I). Korean J. Food Sci. Technol. 4: 36-43.
- Lenucci MS, Cadinu D, Taurino M, Piro G, Dalessandro G. 2006. Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. J. Agr. Food Chem. 54: 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. nonsmokers. J. Natl. Cancer Inst. 86: 33-38.
- Metodiewa D, Kochman A, Karolczak S. 1997. Evidence for anti-radical 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: 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 Res. Int. 58: 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: 451-458.
- Na YP, Lee SM, Roh KS. 2007. Biochemical characterization of lectin isolated from cherry tomato. J. Life Sci. 17: 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. Agr. Food Chem. 56: 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. Agr. Food Chem. 44: 2306-2309.
- Polazza P, Simone RE, Catalano A, Mele MC. 2011. Tomato lycopene and lung cancer prevention: From experimental to human studies. Cancers 3: 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: 11-19.
- 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: 1231-1237.
- Roh KS. 2010. Antifungal activity and biochemical characterization of lectin isolated locular fluid of cherry tomato fruit. KSBB Journal 25: 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: 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: 1706-1711.