

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 부위별 항산화 활성

박민정¹ · 유찬열² · 조수정^{1*}¹경상국립대학교 제약공학과²경남산림환경연구원Antioxidant activities of brown beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*) pileus and stipeMin Jeong Park¹, Chan Yeol Yu², and Soo Jeong Cho^{1*}¹Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongsang National University, 33 Dongjin-ro, Jinju 52725, Korea²Forest Research Department, Gyeongsangnam-do Forest Environment Research Institute, 386 Sumokwon-ro, Jinju 52615, Korea

ABSTRACT: This study was carried out to evaluate potential of *Hypsizygus marmoreus* (brown cultivar) as a functional food and drug materials. *H. marmoreus* were divided into pileus and stipe and extracted in hot water and 80% ethanol. The total polyphenol content was highest in the hot water extracts (pileus 17.15 ± 0.19 mg of GAE/g, stipe 7.37 ± 0.16 mg of GAE/g) and pileus compared to the ethanol extracts (pileus 10.23 ± 0.14 mg of GAE/g, stipe 3.76 ± 0.19 mg of GAE/g) and stipe. Also, hot water extracts of pileus from *H. marmoreus* (brown cultivar) was more effective DPPH, ABTS, ORAC value, reducing power than ethanol extracts and stipe extracts. The pileus and stipe extracts were confirmed to be non-cytotoxic in the mouse macrophage cell line RAW 264.7 determined by WST-1 (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolol]-1,3-benzene disulphonate) assay. Overall, extracts of *H. marmoreus* (brown cultivar) was higher antioxidant activity than other mushrooms, and no cytotoxicity. Therefore, *H. marmoreus* (brown cultivar) showed potential as a functional food and drug materials. The brown cultivar of *H. marmoreus* have higher antioxidant activity than white cultivar, *H. marmoreus* seem to have different antioxidant activity depending on the cultivar.

KEYWORDS: Antioxidant activity, functional materials, *Hypsizygus marmoreus* (brown cultivar), pileus, stipe

서론

최근들어 우리나라는 의학 기술의 발전과 생활수준의 향상으로 인해 평균수명이 증가하면서 빠른 속도로 인구 고령화가 진행되고 있으며, 인구 고령화와 더불어 건강에

대한 관심이 높아지면서 항노화에 관한 관심도 높아지고 있다. 또한 웰빙(well-being)에 대한 관심이 증가하고, 의료 패러다임이 치료 중심에서 예방 중심으로 바뀌면서 개인 맞춤형 건강기능식품과 친환경, 유기농 기능성 제품으로 항노화 제품의 소비패턴이 변하고 있다(Ryu *et al.*, 2018).

노화의 원인에는 여러 가지가 있지만 주된 요인은 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)인 O_2^- (superoxide anion), OH^\cdot (hydroxyl radical), 1O_2 (singlet oxygen) 및 H_2O_2 (hydrogen peroxide) 등이다. 활성산소는 일반적인 산소 분자(O_2)보다 반응성이 큰 분자로서 자외선이나 흡연 등의 외적 요인과 호흡, 미토콘드리아 대사과정 등의 내적 요인에 의해서 생성되며, 생성된 활성산소가 세포 내에서 증가하게 되면 산화적 스트레스가 유발되어 세포 내 단백질, 지질, DNA 등이 손상될 수 있다. 그러나, 우리 인체에는 다양한 내부 자극과 외부 자극으로부터 생체 기능을 일정하게 유지할 수 있는 방어시스템이 있기 때문에 산화적 스트레스가 유발되면 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), isocitrate dehydratase 2 (IDH2), forkhead box O3 (FOXO3a), glutathione peroxidase

J. Mushrooms 2021 December, 19(4):322-328
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2021.19.4.322>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

Min Jeong Park (Graduate Student), Chan Yeol Yu (Researcher),
 and Soo Jeong Cho (Professor)

*Corresponding author

E-mail : sjcho@gnu.ac.kr

Tel : +82-55-772-3397, Fax : +82-55-772-3399

Received November 29, 2021

Revised December 21, 2021

Accepted December 24, 2021

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

(GPx) 등이 분비되어 활성산소를 제거하거나 활성산소가 분해될 때 생성되는 H_2O_2 를 물과 산소로 전환시킨다. 항산화 효소는 내인성 항산화제로서 세포 내에서 산화·환원 상태를 조절하여 활성산소를 낮추는 역할을 하는데, 활성산소 조절 기전에 이상이 생기게 되면 세포 내 활성산소가 증가되어 산화적 스트레스가 유발되고, 산화적 스트레스는 노화와 대사증후군, 암, 뇌졸중, 파킨슨병, 심장질환, 동맥경화, 염증 등 다양한 질병을 유발할 수 있다. 또한 활성산소는 항산화효소 뿐만 아니라 항산화제에 의해서도 제거될 수 있는데, 천연물 유래 항산화제에는 ascorbic acid, tocopherol, flavonoid 등이 있고, 합성 항산화제에는 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) 등이 있다. 천연 항산화제는 인체에는 안전하지만 단독으로는 탁월한 효과를 나타내지 못하므로 거의 사용되지 않고 있고, 합성 항산화제는 뛰어난 항산화력과 저렴한 가격으로 경제성이 높아 널리 사용되고 있다(Kim *et al.*, 2016). 그러나 합성 항산화제의 부작용과 유해성이 보고되면서 장기간 사용해도 인체에 무해하며 강력한 항산화력을 가진 천연 유래 항산화제에 대한 수요가 증가하고 있다(Hong, 2009; Na *et al.*, 2016; Nam *et al.*, 2018).

버섯은 예로부터 단백질, 아미노산, 무기질, 비타민 등과 같은 영양성분이 풍부하고 맛과 식감이 우수해서 식용으로 사용되어 왔을 뿐만 아니라 항균, 항산화, 항암, 항염증, 면역증진, 혈당 강하 및 콜레스테롤 저하 등과 같은 약리효과도 가지고 있어서 약용으로도 사용되어왔다(Kwon, 2018). 버섯 중에서도 느티만가닥(*Hypsizygus marmoreus*)은 beech mushroom으로 알려져 있는 주름버섯목, 만가닥버섯과에 속하는 식용버섯으로 일본에서는 부나시메지(Bunashimeji)라고 불리고, 우리나라에서는 백일송이라고 부르고 있다. 느티만가닥버섯은 여러 개체가 무리 지어 발생하며 갓의 크기에 비해 대의 길이가 길어서 엽가락처럼 보이기도 하고, 갓은 초기에는 둥근 단추 모양 또는 반구형이었다가 시간이 지날수록 점차 편평해지고 색은 열어지면서 갓 표면이 거북이 등 모양처럼 갈라져 무늬를 이루는 특징이 있다(Kim *et al.*, 2018; Kim, 2020). 느티만가닥버섯에는 갈색 품종과 흰색 품종이 있는데, 갈색 품종과 흰색 품종의 차이점은 갓의 색이 다르고 흰색 품종에 비해 갈색 품종의 쓴 맛이 강하다는 것이다. 또한 갈색 품종의 갓 부위에는 흰색 품종보다 조단백, 조희분이 많이 함유되어 있고, 갈색 품종의 대 부위에는 흰색 품종보다 조지방이 많이 함유되어 있다(Kim, 2015). 느티만가닥버섯에는 단백질을 구성하는 아미노산 중 정미성분인 글루탐산이 많이 함유되어 있고 느티만가닥버섯에 함유되어 있는 hypsin은 항진균, 항종양 활성을 가지며, 다당류인 β -(1-3)-D-glucan은 항종양 활성을 나타내고, HM23과 테르펜류인 hypsiziprenol A9은 항암 효과를 나타낸다고 알려져 있다(Zanabaatar *et al.*, 2011; Zanabaatar *et al.*, 2012; Shin *et al.*, 2019). 이처럼 다양한 생리활성을 가진

느티만가닥버섯은 일본에서는 주로 독특한 질감과 맛 때문에 식용으로 많이 소비되고 있지만, 한국에서는 느티만가닥버섯의 독특한 쓴맛과 갓 표면의 무늬로 인해 선호도가 낮은 편이다.

본 연구에서는 갈색 느티만가닥버섯을 갓과 대로 분리하고 추출 용매에 따른 부위별 항산화 활성을 비교하여 기능성 식의약품 소재로서 갈색 느티만가닥버섯의 이용 가능성을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

느티만가닥버섯 추출물의 제조

본 실험에 사용된 갈색 느티만가닥버섯은 (주) 그린피스에서 육종한 품종이며, 갈색 느티만가닥버섯은 갓과 대로 분리하여 동결건조한 다음 분쇄하여 사용하였다. 분쇄한 갓과 대는 5배 (v/v)의 열수와 80% 에탄올에 각각 침지한 후 50°C에서 2시간 동안 3회 반복 추출하였다. 추출물은 Watman filterpaper (No. 2)로 여과한 다음 회전 감압 농축기(Eyela, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 감압 농축하여 용매를 완전히 제거한 후 조추출물로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

갈색 느티만가닥버섯의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu reagent가 추출물에 의해 환원되어 푸른색으로 발색되는 원리를 이용한 Singleton (1981)의 방법에 따라 측정하였다. 추출물 500 μ l에 2.5 ml의 50% Folin-Ciocalteu reagent를 첨가하여 3분 동안 반응시킨 후에 2 ml의 7.5% sodium carbonate (Na_2CO_3) 용액을 첨가하였다. 혼합액은 37°C에서 2시간 동안 반응시킨 다음 분광광도계(Molecular devices, SpectraMax M5, USA)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid (Sigma Aldrich, USA)를 표준물질로 이용하여 작성한 표준 검량곡선으로 구하였다.

DPPH 라디칼 소거 활성

갈색 느티만가닥버섯의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 활성은 짙은 보라색을 띠는 안정한 라디칼인 DPPH가 추출물의 전자공여능에 의해 전자 혹은 수소를 받아 탈색 되는 원리를 이용한 Blois (1958)의 방법에 따라 측정하였다. 추출물 50 μ l에 200 μ l의 0.15 mM DPPH (Sigma Aldrich, USA)를 첨가한 후 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 분광광도계(Molecular devices, SpectraMax M5, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조구로 butylated hydroxyl toluene (BHT, Sigma Aldrich, USA)를 사용하였고, DPPH 라디칼 소거 활성(%)은 시료 처리구와 대조구인 BHT의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거 활성 (%) =
(대조구 흡광도 - 시료 처리구 흡광도) / 대조구 흡광도 × 100

ABTS 라디칼 소거 활성

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) 라디칼 소거활성은 청록색을 띠는 ABTS⁺ 라디칼이 추출물의 전자공여능에 의해 수소 혹은 전자를 받아 탈색되는 원리를 이용한 Re *et al.* (1999)의 방법에 따라 측정하였다. 추출물 100 ul에 900 ul의 ABTS 용액(Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 첨가한 다음 분광광도계(Molecular devices, SpectraMax M5, USA)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조구로 L(+)-ascorbic acid (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였으며 ABTS 라디칼 소거활성은 시료 처리구와 대조구인 L(+)-ascorbic acid의 흡광도 차이를 구하여 백분율로 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거 활성 (%) =
(대조구 흡광도 - 시료 처리구 흡광도) / 대조구 흡광도 × 100

Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) 측정

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 oxygen radical absorbance capacity (ORAC)는 Cao *et al.* (1993)의 방법에 따라 peroxy 라디칼의 생성과 소멸에 의한 fluorescent의 감소를 측정하여 확인하였다. 추출물 10 ul에 20 ul의 300 mM 2,2-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH, Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)와 2.7 ml의 250 nM fluorescein (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 첨가한 다음 분광광도계(Molecular devices, SpectraMax M5, USA)를 이용하여 485 nm (excitation wavelength)와 535 nm (emission wavelength)에서 1시간 동안 2분마다 형광을 측정하였다. 추출물의 ORAC 지수는 Trolox (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 이용하여 작성한 표준 검량곡선으로 구하였다.

환원력(Reducing power) 측정

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 환원력은 추출물이 수소를 공여하여 ferric ion (Fe³⁺)을 ferrous ion (Fe²⁺)으로 환원시키는 능력을 측정하는 potassium ferricyanide법을 이용하여 측정하였다(Oyaizu, 1986). 추출물 500 ul에 500 ul의 0.2 M phosphate buffer (pH 6.6)와 500 ul의 10% potassium ferricyanide (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 첨가한 후 50°C에서 20분 동안 반응시킨 다음 500 ul의 trichloroacetic acid (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 첨가하고 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하였다. 상등액 1 ml과

증류수 1 ml을 혼합한 후 200 ul의 1% ferric chloride (Sigma-aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 첨가한 다음 분광광도계(Molecular devices, SpectraMax M5, USA)를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포 생존율 측정

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 세포독성은 대식세포주 RAW 264.7에 추출물을 처리한 후 Francoeur and Assalian (1996)의 방법에 따라 tetrazolium salt WST-1 (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzenedisulphonate, Biovision, USA)가 세포 내 mitochondria의 dehydrogenase와 반응하면 오렌지색의 수용성 formazan으로 변하는 성질을 이용하여 확인하였다. 대식세포주 RAW 264.7는 한국 세포주 은행(Korean CellLine Bank, KCLB 10092)에서 분양받아 사용하였다. 대식세포주 RAW 264.7은 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco, Rockville, Md, USA)과 1%의 penicillin-streptomycin (Gibco, Rockville, Md, USA)이 첨가된 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM, Gibco, Rockville, Md, USA)에서 37°C, 5% CO₂ 조건으로 2일 동안 배양하였다. 배양된 대식세포주 RAW 264.7는 24 well plate에 10⁵-10⁶ cells/well이 되도록 분주한 다음 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양한 후 추출물을 4-32 mg/ml의 농도로 처리하였다. 추출물이 처리된 24 well plate는 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양한 다음 24 well plate의 각 well에 WST-1 용액을 첨가한 후 분광광도계(Molecular devices, SpectraMax M5, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

모든 실험은 5회 이상 반복실험을 수행하여 얻어진 결과이며 실험결과와 평균값과 표준오차는 SAS (Statistical analysis system, USA) program을 사용하여 구하였다. 실험결과와 유의성은 Duncan's 다중검정법으로 $p < 0.05$ 수준에서 통계적 검정을 실시하여 확인하였다.

결과 및 고찰

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 총 폴리페놀 함량

갈색 느티만가닥버섯 갓과 대의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid equivalents (GAE)을 이용하여 구하였고, 그 결과는 Fig. 1과 같다. 열수추출물 갓과 대의 총 폴리페놀 함량은 각각 17.15±0.19 mg GAE/g과 7.37±0.16 mg GAE/g이었으며, 에탄올 추출물 갓과 대의 총 폴리페놀 함량은 각각 10.23±0.14 mg GAE/g과 3.76±0.19 mg GAE/g이었다. 갈색느티만가닥버섯은 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물의 총 폴리페놀 함량이 높게 나타났고, 대에 비해 갓의 총 폴리페놀 함량이 더 높게 나타났다. 또한

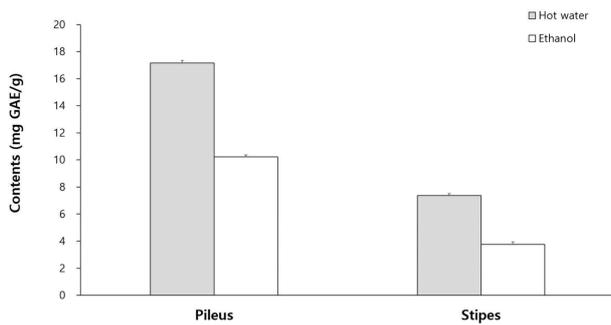


Fig. 1. Total polyphenol contents of hot water and ethanol extracts from pileus and stipe of *H. marmoreus* (brown cultivar).

갈색 느티만가닥버섯의 총 폴리페놀 함량은 그린피스에서 육중한 또다른 느티만가닥버섯 품종인 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물 갖(11.37 mg GAE/g)과 대(7.00 mg GAE/g)보다 높게 나타났고 에탄올 추출물 갖(9.23 mg GAE/g)과 대(3.24 mg GAE/g)보다도 높게 나타났다(Kim *et al.* 2016). 이 결과는 대에 비해 갖의 총 폴리페놀 함량이 높다는 시판버섯의 부위별 항산화능에 관한 연구, 부위별 새송이 추출물의 항산화효과, 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 항산화 효과에 관한 연구 등의 결과와 일치하는 결과이다(Hirase *et al.*, 1976; Ikekawa, 1995; Kim *et al.*, 2006). 일반적으로 버섯의 일반 성분 및 생리활성물질은 버섯의 품종, 생육배지, 수확시기, 재배방법 등에 따라 달라질 수 있을 뿐만 아니라 생육 중 환경적 스트레스가 높아지면 2차 대사산물인 생리활성물질의 생성량은 증가될 수 있는 것으로 알려져 있다(Barros *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 1993; Hong *et al.*, 2012). 또한 느티만가닥버섯 흰색 품종과 갈색 품종의 총 폴리페놀 함량에 차이가 있는 것으로 보아 항산화 성분인 총 폴리페놀의 함량은 느티만가닥버섯의 품종에 따라 차이가 있는 것으로 판단된다.

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 항산화 활성을 확인하기 위해 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 2와 같다. 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 갖과 대 모두 농도 의존적으로 증가하였으며, 대에 비해 갖에서 높게 나타났고, 에탄올 추출물에 비해 열수추출물에서 높게 나타났지만, 20 mg/ml 이상의 높은 농도에서는 갖 열수 추출물에 비해 갖 에탄올 추출물에서 높게 나타났다. 갈색 느티만가닥버섯의 DPPH 라디칼 소거 활성이 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물에서 높게 나타난 이유는 갈색 느티만가닥버섯에는 소수성의 생리활성물질보다 친수성의 생리활성물질이 더 많이 함유되어 있기 때문이다(Kim *et al.* 2013). 이 결과는 시판버섯의 DPPH 라디칼 소거 활성은 대 부위에 비해 갖 부위에서 높게 나타나는 Hong *et al.* (2012)의 연구 결과와도 일치하는 결과이

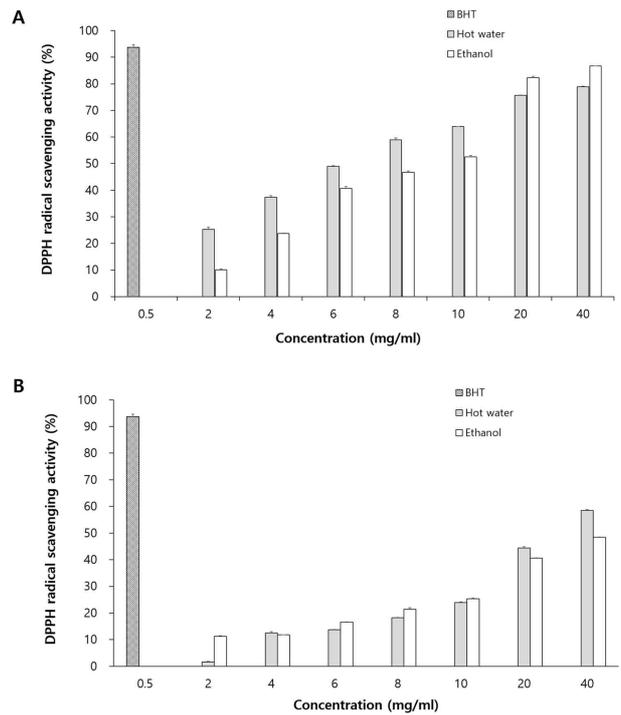


Fig. 2. DPPH radical scavenging of hot water and ethanol extracts from pileus (A) and stipe (B) of *H. marmoreus* (brown cultivar). BHT was used as a positive control.

다. 또한 갈색 느티만가닥버섯의 DPPH 라디칼 소거능은 그린피스에서 육중한 또다른 느티만가닥버섯 품종인 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물 갖(31.02%)과 대(21.50%)보다 높게 나타났고 에탄올 추출물 갖(47.32%)과 대(35.31%)보다도 높게 나타났다(Kim *et al.* 2016). 따라서 갈색 느티만가닥버섯은 다른 버섯에 비해 항산화지표인 총 폴리페놀 뿐만 아니라 DPPH 활성도 높기 때문에 기능성 식의약품 소재로써 이용가능성이 있을 것으로 판단된다.

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 라디칼 소거 활성은 DPPH 라디칼 소거 활성과 함께 항산화 활성을 확인하기 위해 많이 이용되는 방법으로 비교적 안정한 free radical인 ABTS는 hydrogen donating antioxidants와 chain breaking antioxidants 물질의 항산화력 측정에 이용되고 있다(Ikekawa, 1995). 갈색 느티만가닥버섯 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성은 대에 비해 갖에서 높게 나타났으며 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물에서 높게 나타났다(Fig. 3). 10 mg/ml의 농도에서 열수 추출물 갖과 대의 ABTS 라디칼 소거 활성은 각각 91.91%, 20.22%였고 에탄올 추출물 갖과 대의 ABTS 라디칼 소거 활성은 각각 54.73±0.44%, 14.60±0.44%였다. 갈색 느티만가닥버섯의 ABTS 라디칼 소거 활성이 DPPH 라디칼 소거 활성보다 높은 활성을 나타내는 이유는 일반적으로 ABTS 라디칼 소거 활성은 DPPH 라디칼 소거 활성과는 달리 친수성 물질과 소수성 물질의 항산화

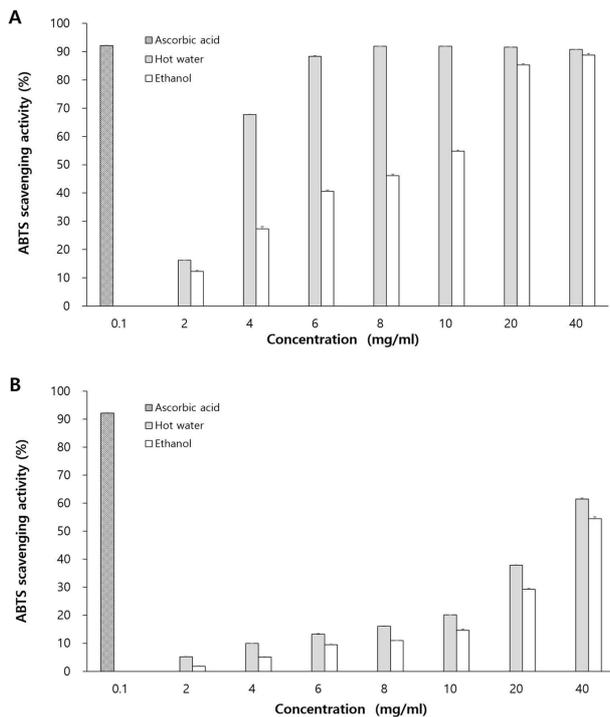


Fig. 3. ABTS radical scavenging of hot water and ethanol extracts from pileus (A) and stipe (B) of *H. marmoreus* (brown cultivar). Ascorbic acid was used as a positive control.

력 측정이 가능하기 때문이다(Prior *et al.*, 2003; Jang *et al.*, 2015).

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

ORAC 지수는 수소전자의 전달이론을 바탕으로 radical chainbreaking antioxidant capacity를 측정하는 방법으로 친수성 및 소수성 성분 모두에 반응하기 때문에 응용범위가 넓다는 장점을 가지고 있다(Makato, 1986; Matsuzawa *et al.*, 1998). 갈색 느티만가닥버섯 갓과 대의 ORAC 지수는 Trolox equivalents (TE)로 구하였으며, 그 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 열수 추출물 갓과 대의 ORAC 지수는 각각 115.96 ± 1.36 uM TE/g과 63.66 ± 1.81 uM TE/g 이었고, 에탄올 추출물 갓과 대의 ORAC 지수는 각각 96.29 ± 0.87 uM TE/g과 53.88 ± 1.56 uM TE/g으로 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물에서 높게 나타났고 대에 비해 갓에서 높게 나타났다. Dubost *et al.*의 보고와 비교하면 갈색 느티만가닥버섯 갓 열수 추출물의 ORAC 지수는 흑목이(83.87 uM/g), 갈색목이(91.57 uM/g), 표고버섯(62.67 uM/g), 양송이(86.33 uM/g), 잎새버섯(39.33 uM/g)에 비해 높은 것으로 나타났다(Dubost *et al.*, 2007; Jo *et al.*, 2012). 또한 갈색 느티만가닥버섯의 ORAC 지수는 그린피스에서 육종한 또다른 느티만가닥버섯 품종인 흰색 느티만

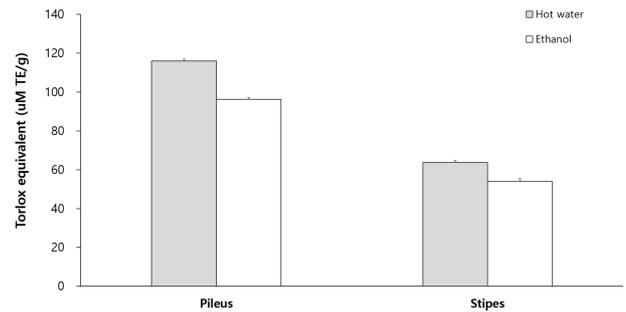


Fig. 4. Oxygen radical absorbance capacity of hot water and ethanol extracts from pileus and stipe of *H. marmoreus* (brown cultivar).

가닥버섯 열수 추출물 갓(93.34 uM TE/g)과 대(58.33 uM TE/g)보다도 높게 나타났고 에탄올 추출물 갓(64.76 uM TE/g)과 대(46.22 uM TE/g)보다도 높게 나타났다(Kim *et al.* 2016). 갈색 느티만가닥버섯은 다른 버섯에 비해 ORAC 지수를 포함한 항산화지표들이 높기 때문에 기능성 식의약품 소재로써 이용가능성이 있을 것으로 판단된다.

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 환원력(Reducing power) 측정

갈색 느티만가닥버섯 추출물의 환원력 측정 결과는 Fig. 5와 같다. 갈색 느티만가닥버섯 추출물의 환원력은 갓과 대 모두 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물의 환원력이 높게 나타났고 대에 비해 갓의 환원력이 높게 나타났다. 10 mg/ml의 농도에서 열수 추출물 갓과 대의 환원력은 각각 0.85 ± 0.49 , 0.33 ± 0.22 였고 에탄올 추출물 갓과 대의 환원력은 각각 0.49 ± 0.01 , 0.22 ± 0.01 였다. 또한 갈색 느티만가닥버섯은 그린피스에서 육종한 또다른 느티만가닥버섯 품종인 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물 갓(0.47)과 대(0.43)보다 높은 환원력을 나타내었고 에탄올 추출물 갓(0.26)과 대(0.22)보다도 높은 환원력을 나타내었다(Kim *et al.* 2016). Xu *et al.*(2007)의 보고에 의하면 해송이는 열수 추출할 경우 추출 시간에 따라 아미노산과 탄수화물이 분리되기 때문에 추출 시간이 경과함에 따라 추출물의 환원력이 증가된다. 따라서 갈색 느티만가닥버섯도 추출 시간 및 조건에 따라 환원력이 달라질 수 있으므로 이에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

갈색 느티만가닥버섯 추출물이 대식세포 RAW 264.7의 세포생존율에 미치는 영향

대식세포주 RAW 264.7에 대한 갈색 느티만가닥버섯 추출물의 세포 독성은 대식세포주 RAW 264.7에 열수 추출물을 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 mg/ml의 농도로 처리한 다음 WST-1 assay를 이용하여 확인하였다. 열수 추출물이 처리된 대식세포주 RAW 264.7의 세포생존율을 측

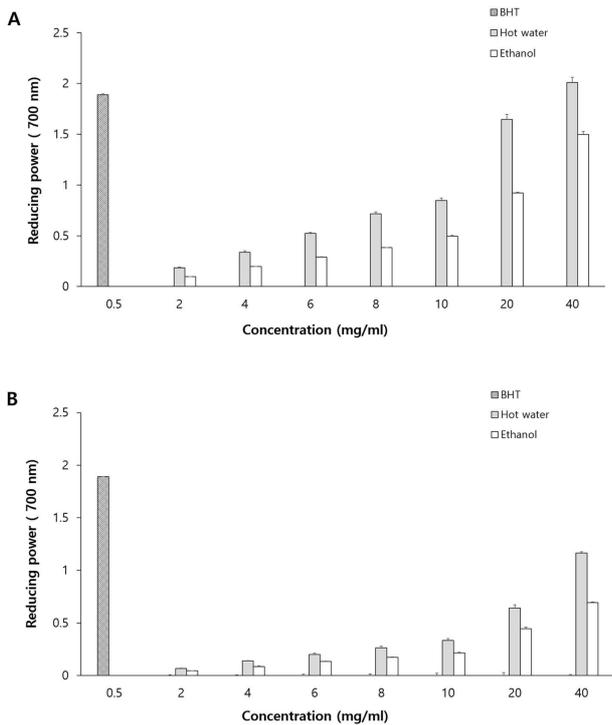


Fig. 5. Reducing power of hot water and ethanol extracts from pileus (A) and stipe (B) of *H. marmoreus* (brown cultivar). BHT was used as a positive control.

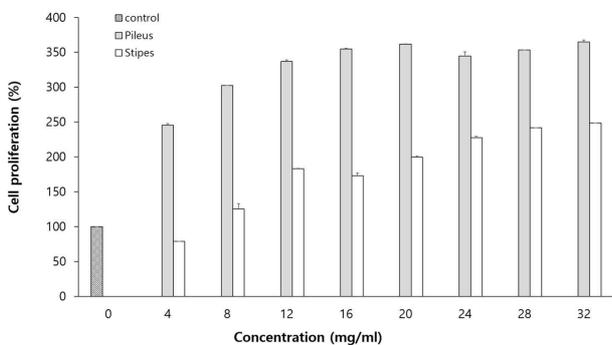


Fig. 6. Effects of hot water extracts from pileus and stipe of *H. marmoreus* (brown cultivar) on cell proliferation in mouse macrophage cell line RAW 264.7 by WST-1 assay. The RAW 264.7 cell was incubated for 24 hr in DMEM media with different concentration of hot water extracts form *H. marmoreus* (brown cultivar).

정한 결과, 열수 추출물 갖과 대는 각각 300%와 200% 이상의 세포 생존율을 나타내었기 때문에 갈색 느티만가닥 열수 추출물은 세포독성이 없는 것으로 판단되며 추출물 처리구의 세포생존율이 증가하는 경향을 나타내었기 때문에 이에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다(Fig. 6).

이상의 결과를 종합하면 갈색 느티만가닥버섯은 높은 농도에서도 독성이 없고, 다른 버섯에 비해 항산화지표인

총 폴리페놀 함량, DPPH 및 ABTS 소거활성, 환원력, ORAC 지수 등이 높기 때문에 기능성 식의약품 소재로서 이용 가능성이 있다고 판단된다. 또한 흰색 느티만가닥버섯에 비해 갈색 느티만가닥버섯의 항산화 활성이 높은 것으로 보아 느티만가닥버섯은 품종에 따라 항산화 활성에 차이가 있다.

적 요

본 연구에서는 기능성 식의약품 소재로써 갈색 느티만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus*)의 이용 가능성을 조사하기 위해 갈색 느티만가닥버섯의 부위별, 추출 용매별 항산화 활성을 조사하였다. 열수 추출물 갖과 대의 총 폴리페놀 함량은 17.15 ± 0.19 mg GAE/g과 7.37 ± 0.16 mg GAE/g이었으며 에탄올 추출물 갖과 대의 총 폴리페놀 함량은 각각 10.23 ± 0.14 mg GAE/g과 3.76 ± 0.19 mg GAE/g으로 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물의 폴리페놀 함량이 높게 나타났고 대에 비해 갖의 폴리페놀 함량이 높게 나타났다. 또한 갈색 느티만가닥버섯 추출물의 DPPH, ABTS, ORAC 지수, 환원력도 10 mg/ml의 농도에서 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물에서 높게 나타났고 대에 비해 갖에서 높게 나타났으며 흰색 느티만가닥버섯에 비해 갈색 느티만가닥버섯의 총 폴리페놀 함량, DPPH, ORAC 지수, 환원력이 높은 것으로 나타났다. 추출물의 세포독성은 WST-1 assay (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulphonate)를 이용하여 열수 추출물의 처리 농도에 따른 대식세포주 RAW 264.7의 세포 생존율로 확인하였으며 갈색 느티만가닥버섯 열수 추출물 처리구에서 대식세포주 RAW 264.7의 세포 생존율이 증가하였기 때문에 세포독성은 없는 것으로 판단된다. 이상의 결과를 종합하면, 느티만가닥버섯은 품종에 따라 항산화 활성에 차이가 있고, 갈색 느티만가닥버섯은 다른 버섯보다 항산화 활성이 높기 때문에 기능성 식의약품 소재로서 이용 가능성이 있다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2020-2021년도 경상국립대학교 대학회계 연구비 지원에 의해 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Barros L, Ferreira MJ, Queiros B, Ferreira ICFR, Baptista P. 2007. Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem* 103: 413-419.
 Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 Cao G, Alessio HM, Cutler RG. 1993. Oxygen-radical absorbance

- capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biol Med* 14: 303-311.
- Chang ST, Buswell JA, Chiu SW. 1993. Mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Hong Kong. 3-17.
- Dubost NJ, Ou B, Beelman RB. 2007. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chem* 105: 727-735.
- Francoeur AM, Assalian A. 1996. Microcat: A novel cell proliferation and cytotoxicity assay based on WST-1. *Biochemica* 3: 19-25.
- Hirase S, Nakai S, Akatsu T, Kobayashi A, Oohara M. 1976. Structural studies on the anti-tumor active polysaccharides from *Coriolus versicolor* (Basidiomycetes). I. Fractionation with barium hydroxide. *Yakugaku Zasshi* 96: 413-418.
- Hong JK. 2009. A Study on Skin Aging Caused by Free-Radical and on Efficacy of Anti oxidant Vitamins. *Kor J Aesthet Cosmetol* 7: 51-62.
- Hong MH, Jin YJ, Pyo YH. 2012. Antioxidant properties and ubiquinone contents in different parts of several commercial mushrooms. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr* 41: 1235-1241.
- Ikekawa T. 1995. Bunashimeji, *Hypsizygus marmoreus* antitumor activity of extracts and polysaccharides. *Food Rev Int* 11: 207-209.
- Jang YA, Lee JT. 2015. The evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and anti-aging of extract solvent and *Poria cocos* by parts. *Kor J Aesthet Cosmetol* 13: 377-383.
- Jo SH, Kim TH, Yu YB, Oh JN, Jang MJ, Park KM. 2012. A comparative study on the physiological activities of *Auricularia* spp. *Korean J Food Sci Technol.* 44: 350-355.
- Kim HJ, Ahn MS, Kim GH, Kang MH. 2006. Antioxidative and antimicrobial activities of *Pleurotus eryngii* extracts prepared from different aerial part. *Korean J Food Sci Technol.* 38: 799-804.
- Kim MK. 2020. Analysis of Morphological and Genetic Relationships among Isolates of the Artificially Cultivated Mushroom, *Hypsizygus marmoreus*. *Kor. J. Mycol.* 48: 313-323.
- Kim SC. 2015. Study on the Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of *Hypsizygus marmoreus* by Cultivars. M. S. Thesis. Gyeongnam National University of Science and Technology. Jinju, Korea.
- Kim SC, Kwon HS, Kim CH, Kim HS, Lee CY, Cho SJ. 2016. Comparison of Antioxidant Activities of Pileus and Stipe from White Beech Mushrooms (*Hypsizygus marmoreus*). *J Life Sci* 26: 928-935.
- Kim SC, Kim HS, Cho SJ. 2018. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*) extracts. *J Mushrooms* 16: 324-330.
- Kwon HJ. 2018. Antiaging and antioxidant activity of *Hypsizygus marmoreus* extracts. *J. Oil & Appl. Sci.* 35: 1081-1087.
- Lee SY, Choi HD, Yu SN, Kim SH, Park SK, Ahn SC. 2015. Biological activities of *Mesembryanthemum crystallinum* (Iceplant) extract. *J Life Sci* 25: 638-645.
- Makato O. 1986. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J Nutr* 44: 307-315.
- Matsuzawa T, Saitoh H, Sano M, Tomita I, Ohkawa M, Ikekawa T. 1998. Studies on antioxidants of *Hypsizygus marmoreus*. II. Effects of *Hypsizygus marmoreus* for antioxidants activities of tumor-bearing mice. *Yakugaku Zasshi* 118: 476-481.
- Na EJ, Jang HH, Kim GR. 2016. Review of Recent Studies and Research Analysis for Anti-oxidant and Anti-aging Materials. *Asian J Beauty Cosmetol* 14: 481-491.
- Nam CH, Jeong GW, Nah JW. 2018. Preparation and Characterization of Chitosan Microsphere for Encapsulation of Natural Antioxidant with Effective Protection against ROS. *Polymer(Korea)* 42: 793-799.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction: Anti oxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap. J Nutr* 44: 307-315.
- Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, Hampsch-Woodill M, Huang D, Ou B, Jacob R. 2003. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC)) of plasma and other biological and food samples. *J Agric Food Chem.* 51: 3273-3279.
- 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 Radical Biol Med* 26: 1231-1237.
- Ryu BM, Jeon YJ. 2018. Development of functional food products with natural materials derived from marine resources. *Food Sci and Ind* 51: 157-164.
- Shin BE, Baek IS, Kim JH, Lee YH. 2019. Protease activity and meat-tenderizing effect of *Hypsizygus marmoreus*. *J Mushrooms* 17: 235-240.
- Singleton VL. 1981. Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. *Adv. Food Res* 27: 149-242.
- Tominaga H, Ishiyama M, Ohseto F, Sasamoto K, Hamamoto T, Suzuki K, Watanabe M. 1999. A water-soluble tetrazolium salt useful for colorimetric cell viability assay. *Anal Commun* 36: 47-50.
- Xu X, M Jun JY, Jeong IH. 2007. A study on the antioxidant activity of *Hae-Songi* mushroom (*Hypsizygus marmoreus*) hot water extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1351-1357.
- Zanabaatar B, Kim MK, Seo GS, Lee YW, Lee JS. 2011. Screening and Physiological Functionality of *Hypsizygus marmoreus* (White Cultivar) Fruiting Body. *Kor. J. Mycol.* 39: 185-188.
- Zanabaatar B, Kim MK, Seo GS, Lee YW, Lee JS. 2012. Analysis of Nutritional Characteristics and Physiological Functionality of *Hypsizygus marmoreus* (Brown cultivar). *Kor J Mycol* 40: 104-108.