

말뚝진흙버섯 및 버들송이버섯의 균사체 및 배양액의 항산화활성

이항우* · 이동우¹ · 하효철¹ · 정인창² · 이재삼¹

계명대학교 전통미생물 자원센터, ¹영남대학교 자연자원대학 식품가공학과
²서라벌대학 관광호텔 조리과

Antioxidant Activities of the Mycelium and Culture Broth of *Phellinus igniarius* and *Agrocybe cylindracea*

Hang-Woo Lee*, Dong-Woo Lee¹, Hyo-Cheol Ha¹, In-Change Jung² and Jae-Sung Lee¹

Traditional Microbiology Resource Center, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

¹Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

²Department of Tourism and Hotel Culinary Arts, Sorabol College, Gyeongju City, 780-711, Korea

(Received November 30, 2001)

ABSTRACT: The fractions obtained from the mycelia and their culture broth of *Agrocybe cylindracea* and *Phellinus igniarius* were tested for the antioxidation activities. In electron donating ability test, strong activities more than 70% were observed in ethyl acetate and butanol fractions of *A. cylindracea* mycelium, butanol fraction of *A. cylindracea* culture broth, diethyl ether fraction of *P. igniarius* mycelium, and diethyl ether and ethyl acetate fractions of *P. igniarius* culture broth. Lipid peroxidation inhibition was observed in diethyl ether, butanol and water fractions of *A. cylindracea* mycelium, and water fraction of *A. cylindracea* culture broth. In xanthine oxidase activity test, fractions obtained from the mycelium and culture broth of *A. cylindracea* induced the decrease in uric acid production. Activities of 50~60% of nitrite scavenging ability were observed in diethyl ether fraction of *A. cylindracea* mycelium, ethyl acetate and water fractions of *A. cylindracea* culture broth, diethyl ether fraction of *P. igniarius* mycelium, and diethyl ether, chloroform, butanol and water fractions of *P. igniarius* culture broth. In melanin biosynthesis inhibition activity measurement, water fraction of *A. cylindracea* mycelium and butanol fraction of *P. igniarius* mycelium showed twice higher activities than control. From these results, the fungi of *P. igniarius* and *A. cylindracea* had strong antioxidant activities.

KEYWORD: *Agrocybe cylindracea*, Antioxidant activities, Liquid cultures, *Phellinus igniarius*

버섯은 자연 생태계의 유기물 분해자로서 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 예로부터 인류 생활과는 밀접한 관계를 맺어왔다. 분류학상으로 대부분 담자균에 속하는 버섯은 전세계적으로 약 15,000여 종이 알려져 있으며 그중 식용으로 개발 가능한 것은 약 2,000여 종으로 알려져있다.

한국에 자생하는 버섯류는 약 970여 종이 기록되어 있으며 이중 약 20여 종 이상이 재배되고 있으며 그들은 대부분 식품 혹은 기능성 식품(functional food)으로 사용되고 있다. 일반적으로 이러한 버섯류의 식품적 기능은 영양적 가치에 의한 1차적 기능과 기호성에 따른 2차적 기능, 식용후 인체내의 다양한 조절기능에 관여하는 3차기능으로 나눌수 있는데 최근 이러한 기능을 이용하기 위해 많은 연구가 진행중에 있다(水野·川습, 1992; Chang and Buswell, 1996). 특히 이러한 기능중에서 3차 기능을 이용하기 위해서 버섯 자실체(일반적으로 버섯이라고 함) 보다 대량생산이 용이한 균사체 및 이들이

생산해내는 세포외 기능성 물질의 이용에 더 많은 관심을 갖게 되었다(이 등, 1999; 하 등, 1995; Kim *et al.*, 2001; Muraoka and Shinozawa, 2000; Ng, 1998).

지구상의 모든 호기성 생물은 산소를 전자수용체로 하는 호흡을 통해 에너지를 획득한다. 그러나 이와같이 생명유지에 절대적으로 필요한 산소이지만 대사 과정의 불균형, 화학물질, 공해물질 등과 같은 물리·화학적 요인으로 인해 생체내에서 여러 대사 경로를 거쳐 과산화수소(hydrogen peroxide, H₂O₂), 슈퍼옥사이드 아니온(superoxide anion, O₂⁻), 하이드록실 라디칼(hydroxyl radical, OH) 등과 같은 반응성이 매우 큰 활성산소(active oxygen)로 전환되면 생체에 치명적인 산소독성을 일으키는 양면성을 지니고 있어, 이 활성산소들의 강한 산화력으로 인해 생체막의 불포화지방산을 산화시켜 지질과산화물의 축적과 조직의 과산화적 손상을 초래하고, 나아가 노화나 각종 성인병 및 암의 발생원인이 된다고 알려져 있다(김, 1998; Cross *et al.*, 1987; Fridovich, 1986; McCord, 1987). 이러한 산화 반응을

*Corresponding author <E-mail: hwlee@yu.ac.kr>

억제할 수 있는 물질은 동식물에 널리 분포되어 있으며, 100년전부터 관련 연구가 수행되었으며, 특히 많은 연구가 이루어진 분야는 식물성 물질들이다.

한편, 현재 사용되어지고 있는 항산화제 중 tocopherol류는 그 효과가 비교적 낮은편(Cort, 1974)이고, butylated hydroxyanisole(BHA)와 butylated hydroxytoluene(BHT)와 같은 인공합성 항산화제는 뛰어난 효과와 경제성에도 불구하고 안정성에 논란이 있어 소비자의 거부감이 날로 심해지고 있다. 따라서 천연 항산화물질을 분리, 이용하려는 시도가 활발히 이루어지고 있다. 버섯균으로부터의 항산화 활성탐색 연구는 몇몇 버섯 자실체로부터 이루어져 왔으나 실제 산업적으로 실용화 될 수 있는 액체배양법에 의해 생산되는 균사체 및 배양액으로부터의 연구는 미비한 실정이다. 이에 본 연구에서는 백색부후균으로 알려져 있으며 식용 및 약용으로 이용되고 있는 말뚝진흙버섯(*Phellinus igniarius*)과 버들송이버섯(*Agrocybe cylindracea*)을 액체배양한 균사체 및 배양액으로부터 항산화 활성을 조사하여 천연 항산화제로서의 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

균주

본 연구에 사용된 균주는 영남대학교에서 보관중인 버들송이버섯(*A. cylindracea* AC-1, 일본 야생균주로부터 분리), 농업과학기술원 응용미생물과에서 분양받은 말뚝진흙버섯(*P. igniarius* 26005)를 본 연구실에서 계대배양하면서 공시균주로 사용하였다.

배양방법

버들송이버섯의 배양에는 이 등(1989)이 확립한 ACM 한천배지(Starch 2%, Bacto-soytone 0.4%, yeast extract 0.6%, MgSO₄·7H₂O 0.05%, KH₂PO₄ 0.046%, K₂HPO₄ 0.1%, agar 1.5%)에 접종하여 28±1°C에서 7일간 배양한 후 균사의 가장자리를 5 mm cork borer로 절단하여 ACM 액체배지에 접종하였다. 그리고 말뚝진흙버섯은 MYGA(malt extract 1%, yeast extract 0.4%, Dextrose 0.4%) 배지에 접종한 후 28±1°C에서 9일간 배양한 다음 5 mm cork borer로 균사체를 떼어내 이를 MYG 액체배지에 접종하였다. 액체배지에서 배양시 두 균주는 모두 28±1°C, 125 rpm에서 말뚝진흙버섯은 6일간 그리고 버들송이버섯은 8일간 진탕배양하였다. 이 액체배양물을 homogenizer(Nissei AN-11, Japan)로 균질화 한 후 5%(v/v)의 비율로 액체배지에 접종하여 28±1°C에서 버들송이버섯은 8일, 말뚝진흙버섯은 6일간 진탕배양한 후 각각 1일간 정치배양하였다.

분획물의 조제

균사체는 배양액과 동량의 methanol로 추출한 후 감

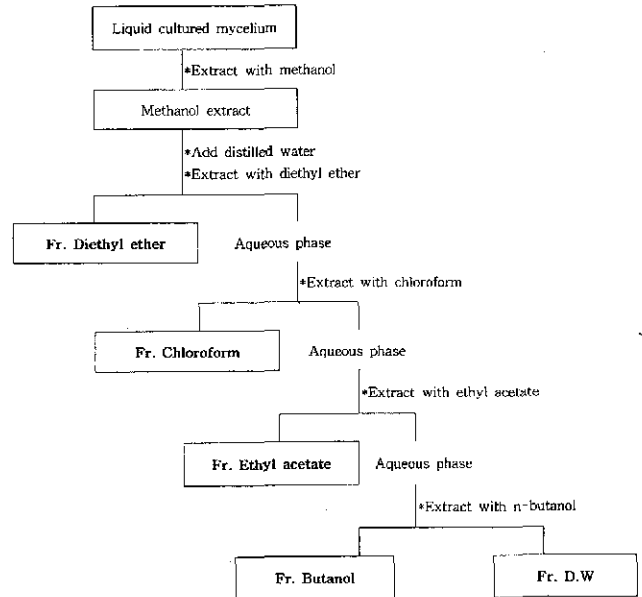


Fig. 1. Fractionation of liquid cultured mycelium of *Agrocybe cylindracea* and *Phellinus igniarius*.

압 농축하고, 이것을 적정량의 증류수로 분산시킨 후 Fig. 1과 같은 방법으로 순차 분획하였다. 즉, 분획 끝때기에서 3배량의 diethyl ether를 가한 후, 2회씩 추출, 농축하여 분획을 얻었고, 계속해서 같은 방법으로 물층을 chloroform, ethyl acetate, n-butanol로 순차적으로 추출, 농축하여 각각의 분획 및 최종 물층을 농축한 분획을 동결건조하여 얻은 분말을 본 실험에 사용하였다. 또한 배양액의 분획은 배양액을 동량의 용매를 이용하여 같은 방법으로 실시하였다(Fig. 2).

간균질액의 조제

Rat(체중 200±10 g의 Spraque-Dawley계 숫컷 흰쥐)

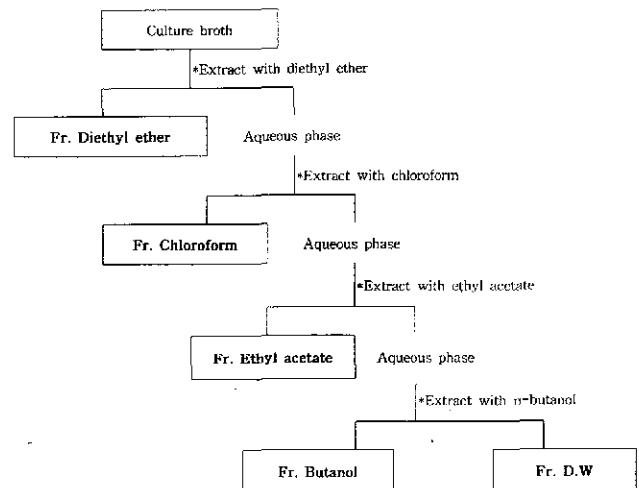


Fig. 2. Fractionation of culture broth of *Agrocybe cylindracea* and *Phellinus igniarius*.

를 ether로 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복한 후 복부대동맥으로부터 혈액을 제거하고, 생리식염수로 간을 관류하여 간조직에 남아 있는 혈액을 제거한 후 간을 적출하였다. 이를 생리식염수로 씻고 여지로 압박하여 이물질을 제거한 후 간조직 1 g당 4배량의 0.1 M K. P. buffer(pH 7.4)를 가하여 빙냉상태에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄균질액을 4°C 이하에서 600 g로 10분간 원심분리하여 마쇄되지 않은 부분을 제거한 뒤 상등액을 사용하였다. 상기의 모든 조작은 0-4°C에서 실시하였다.

전자공여능의 측정

전자공여능은 Blois(1958)의 방법에 의하여 시료의 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH)에 대한 환원력으로 측정하였다. 즉, 각 시료 4 ml(1000 µg/ml)에 1.5×10^{-4} M의 DPPH 용액(absolute methanol에 용해) 1 ml를 가하고, vortex에서 10초간 진탕한 후 실온에서 30분 동안 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 $100 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{시료 무첨가구의 흡광도}) \times 100$ 으로 나타내었다.

지질과산화도 측정

과산화지질 함량 측정은 Ohkawa 등(1979)의 방법에 준해 각 시료 0.1 ml에 K. P. buffer 0.4 ml와 균질액 0.3 ml를 넣고 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후, 8.1% sodium dodecyl sulfate(SDS) 0.2 ml, 20% acetate buffer(pH 3.5) 1.5 ml 및 0.8% thiobarbituric acid(TBA)용액 1.5 ml를 가해 95°C에서 1시간 동안 반응시키고 실온으로 냉각하였다. 생성된 홍색의 TBA reactive substance를 n-butanol:pyridine(15:1, v/v) 혼합액으로 이행시켜 파장 532 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 과산화지질의 함량은 표준검량선에 따라 단백질 1 mg당 malondialdehyde(MDA)의 양을 nmole로 나타내었다.

Xanthine oxidase의 활성도 측정

Xanthine oxidase 활성 측정은 Stirpe와 Della(1969)의 방법에 준해 0.1 M K. P. buffer(pH 7.5) 2.7 ml에 시료 0.1 ml와 기질인 xanthine monosodium salt 0.2 ml 및 xanthine oxidase 1.0 ml를 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 다음, 20% trichloroacetic acid(TCA)를 0.5 ml 가하여 제단백시키고 원심분리하였다. 이 때 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 표준검량선에 따라 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 uric acid 양을 µmole로 나타내었다.

아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능력은 Gray와 Dugan(1975)의 방법에

준해 측정하였다. 1 mM NaNO₂ 용액 1 ml에 각각의 시료를 가하고 0.1 N HCl(pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정한 다음 총량을 10 ml로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 각 반응액을 1 ml씩 취하여 2% acetic acid 용액 5 ml, Griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 하여 사용직전 혼합한 것) 0.4 ml를 가하여 잘 혼합하였다. 이를 실온에서 15분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하고 잔존하는 아질산염을 계산하였다. 아질산염 소거능력은 $100 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{시료 무첨가구의 흡광도}) \times 100$ 으로 나타내었다.

Melanin 생합성 저해능의 측정

Melanin 색소의 침적은 피부노화나 피부손상을 초래하고 이런 손상의 대부분은 세포내의 산화에 기인하는 것이다. 따라서 본실험에서는 항산화효과를 갖는 산화저해제의 효과를 확인하기 위해 melanin 색소 생합성능을 가진 *Streptomyces bikiniensis* NRRL B-1049의 증식억제효과를 통해 그 효과를 검증하고자 하였다. Melanin 생합성 저해 활성 측정은 이 등(1995)의 방법을 인용하였다. *S. bikiniensis* NRRL B-1049를 Papavizas' VDYA agar 사면배지(V-8 juice 200 ml, glucose 2 g, yeast extract 2 g, CaCO₃ 1 g, agar 20 g, 증류수 800 ml, pH 7.2)에서 2주간 28°C로 배양시켜 포자를 생성시킨 후 멸균수로 포자 현탁액을 만들었다. Yeast extract 0.2%를 첨가한 ISP No. 7 평판배지(glucose 1.5%, L-tyrosine 0.05%, L-asparagine 0.1%, K₂HPO₄ 0.05%, MgSO₄ · 7H₂O 0.05%, NaCl 0.05%, FeSO₄ · 7H₂O 0.001%, bacto-agar 2%)에 포자현탁액 0.2 ml씩을 도포한 후 배지표면에 시료를 적신 paper disc(Advantec, Japan, ø8 mm)를 올리고 28°C에서 배양하였다. 48시간 배양 후 생성된 melanin 생성 저해환의 크기를 측정하고, 대표적 melanin 생성 저해물질인 hydroquinone을 대조구로 하여 melanin 생합성 저해여부를 관찰하였다.

통계처리

실험결과는 통계처리하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 실험에 대한 유의성 검정은 Student's t-test를 이용하여 나타내었다.

결과 및 고찰

전자공여 작용

비틀송이버섯 균사체 추출물 및 배양액의 전자공여능 실험결과, 균사체 추출물의 ethyl acetate 분획, butanol 분획과 배양액의 diethyl ether 분획, butanol 분획에서 각각 76.7%, 83.1%, 66.0%, 73.6%로 강한 활성을 나

타내었다. 말뚱진흙버섯의 전자공여능 실험결과도 *A. cylindracea*와 비슷한 양상을 나타내었는데, 균사체 추출물의 diethyl ether 분획과 ethyl acetate 분획에서 각각 78.7%, 53.4%의 활성이 나타났고, 배양액의 diethyl ether 분획, ethyl acetate 분획과 butanol 분획에서 각각 82.6%, 71.2%, 69.4%로 측정되었는데 *P. igniarius*에서는 균사체 추출물 보다 배양액에서 각 분획의 활성이 조금 더 좋은 것으로 나타났으며, 전체적으로 비극성, 극

Table 1. Electron donating abilities of various fractions obtained from *Agrocybe cylindracea* and *Phellinus igniarius*.

	Fractions ^a	Electron donating abilities (%) ^b
Mycelium	BHT	93.70
	ACME	38.88
	ACMC	23.84
	ACMA	76.68
	ACMB	83.14
	ACMD	24.54
Culture Broth	ACBE	65.97
	ACBC	35.32
	ACBA	45.10
	ACBB	73.56
	ACBD	- ^c
	Mycelium	PIME
PIMC		25.51
PIMA		53.40
PIMB		34.05
PIMD		25.33
Culture Broth		PIBE
	PIBC	6.00
	PIBA	71.20
	PIBB	69.44
	PIBD	44.63

^aBHT : Positive control, ACME : Diethyl ether fraction of *A. cylindracea* mycelium, ACMC : Chloroform fraction of *A. cylindracea* mycelium, ACMA : Ethyl acetate fraction of *A. cylindracea* mycelium, ACMB : Butanol fraction of *A. cylindracea* mycelium, ACMD : Distilled water fraction of *A. cylindracea* mycelium, ACBE : Diethyl ether fraction of *A. cylindracea* culture broth, ACBC : Chloroform fraction of *A. cylindracea* culture broth, ACBA : Ethyl acetate fraction of *A. cylindracea* culture broth, ACBB : Butanol fraction of *A. cylindracea* culture broth, ACBD : Distilled water fraction of *A. cylindracea* culture broth, PIME : Diethyl ether fraction of *P. igniarius* mycelium, PIMC : Chloroform fraction of *P. igniarius* mycelium, PIMA : Ethyl acetate fraction of *P. igniarius* mycelium, PIMB : Butanol fraction of *P. igniarius* mycelium, PIMD : Distilled water fraction of *P. igniarius* mycelium, PIBE : Diethyl ether fraction of *P. igniarius* culture broth, PIBC : Chloroform fraction of *P. igniarius* culture broth, PIBA : Ethyl acetate fraction of *P. igniarius* culture broth, PIBB : Butanol fraction of *P. igniarius* culture broth, PIBD : Distilled water fraction of *P. igniarius* culture broth. Each sample was tested at a concentration of 1000 µg/ml.

^bThe values are mean of 5 replications.

^c- : not determined.

성 모두에서 높은 활성을 나타내었다(Table 1).

이 등(1997)이 각각의 국내산 자실체 *Ganoderma lucidum*(영지버섯), *Agaricus bisporus*(신령버섯), *Lentinus edodes*(표고버섯)에서의 diethyl ether 분획물과 butanol 분획물의 전자공여능을 측정한 결과, *G. lucidum*의 diethyl ether 분획물에서 95.09%, *A. bisporus*의 diethyl ether 분획물에서 33.77%, *L. edodes*의 diethyl ether 분획물에서 38.35%의 결과를 보였고, butanol 분획물에서는 모두 95% 이상의 결과를 나타내었으므로 버섯 자실체의 전자 공여능에 관여하는 성분은 보다 극성의 성분 일 것이라고 추정되었다.

자실체와 액체배양 균사체 및 배양액에서 다같이 전자공여능을 관찰할 수 있었으나 그 활성을 나타내는 성분은 다소간 있을 수 있다고 생각된다.

지질과산화 반응의 억제효과

각 분획물의 과산화지질 생성 억제 실험결과는 Table 2 와 같다. 무첨가구의 과산화지질 함량과 비교해 볼 때, *A. cylindracea* 균사체 추출물의 diethyl ether 분획과

Table 2. Inhibitive effect of fractions on the lipid peroxidation

	Fractions ^a	Malondialdehyde ^b (nmoles/mg proteins)	Inhibitory activity (%) ^c
	Control	3.260±0.282	100.00
	Ascorbic acid ^d	1.822±0.089**	42.27
Mycelium	ACME	2.545±0.167**	21.93
	ACMC	4.096±0.127**	- ^e
	ACMA	3.952±0.220*	-
	ACMB	2.854±0.667*	12.45
	ACMD	2.649±0.604**	24.26
	Culture Broth	ACBE	3.490±0.533
ACBC		3.698±0.163	-
ACBA		3.342±0.398	-
ACBB		3.334±0.517	-
ACBD		2.836±0.624	13.00
Mycelium		PIME	3.822±0.584*
	PIMC	3.610±0.655	-
	PIMA	4.397±0.357**	-
	PIMB	3.390±0.424	-
	PIMD	3.295±0.354	-
	Culture Broth	PIBE	3.931±0.369**
PIBC		3.733±0.252**	-
PIBA		4.068±0.388*	-
PIBB		3.815±0.719	-
PIBD		3.479±0.254	-

^aSymbols are the same as Table 1.

^bThe values are mean±S.D. of 5 replications. Significantly different from control group (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

^cEach sample was tested at the concentration of 1000 µg/ml.

^dAscorbic acid : positive control.

^e- : no effect.

butanol 분획, 물분획 처리구에서 과산화지질 억제효과가 있었고, *A. cylindracea* 배양액의 물분획 에서도 감소를 나타내었다. 반면에 *P. igniarius* 균사체 추출물 및 배양액 에서는 과산화지질 함량의 감소는 없었다. 과산화지질의 축적은 생체내 조직, 특히 불포화 지방산과 인지질 함량이 풍부한 세포막 손상의 지표로서 생체 노화 과정에서 대단히 중요한 요인으로 알려져 있는데 (Plaa and Witschin, 1976) *A. cylindracea*에서 과산화지질 억제효과를 알 수 있었고, 항산화성 생리활성물질이 함유되어 있을 것으로 생각된다.

박 등(1998)의 버섯 ethanol 추출물의 지질과산화 실험에서는 *Daedalea dickinsii*(데미로 버섯), *Armillariella mellea*(뽕나무 버섯), *Fomitella fraxinea*(장수 버섯)의 ethanol 추출물에서 지질과산화 반응을 억제시킨다고 보고하였으며, 정 등(1996)의 실험에서도 *Pleurotus ostreatus*(느타리버섯) 균사체의 ethanol 추출물에서 지질과산화

반응을 억제한다고 보고하였다.

Xanthine oxidase 활성도

각 분획물의 xanthine oxidase의 효소활성에 대한 결과는 Table 3과 같다. 무첨가구와 비교해 볼 때, *A. cylindracea* 균사체 추출물의 diethyl ether 분획과 chloroform 분획, butanol 분획, 물분획 처리구에서 uric acid의 양이 감소하였고, 배양액의 diethyl ether 분획과 ethyl acetate 분획, butanol 분획, 물분획 처리구에서도 감소하는 것으로 추정되었다. *P. igniarius* 균사체 추출물의 diethyl ether 분획도 약간의 감소를 보였지만, 나머지 분획과 배양액 에서는 uric acid의 감소량이 없었다.

*A. cylindracea*의 균사체 추출물 및 배양액을 처리한 실험구에서 uric acid양의 감소를 볼 수 있었고, 또한 과산화지질 억제 실험에서의 결과와도 일치하여 항산화성 생리활성물질의 함유 가능성을 높여주었다.

아질산염 소거작용

아질산염 소거능 측정 결과, *A. cylindracea* 균사체 추출물의 diethyl ether 분획 첨가구에서 55.3%의 소거능

Table 3. Inhibitory effect of fractions obtained for *Agrocybe cylindracea* and *Phellinus igniarius* against xanthine oxidase activity

Fractions ^a	Uric acid ^b (μ moles/mg protein/min)	Inhibitory activity (%) ^c
Control	1.774 \pm 0.033	100.00
Ascorbic acid ^d	1.031 \pm 0.025***	41.89
Mycelium		
ACME	1.328 \pm 0.029**	25.14
ACMC	1.321 \pm 0.057**	25.54
ACMA	2.757 \pm 0.026**	- ^e
ACMB	1.521 \pm 0.021**	14.26
ACMD	1.287 \pm 0.021**	27.45
Culture Broth		
ACBE	1.765 \pm 0.028	0.51
ACBC	2.018 \pm 0.025**	-
ACBA	1.314 \pm 0.038**	25.93
ACBB	1.343 \pm 0.030**	24.30
ACBD	1.443 \pm 0.023**	18.66
Mycelium		
PIME	1.743 \pm 0.048	0.51
PIMC	2.589 \pm 0.023**	-
PIMA	2.645 \pm 0.028**	-
PIMB	2.148 \pm 0.024**	-
PIMD	2.855 \pm 0.024**	-
Culture Broth		
PIBE	2.916 \pm 0.029**	-
PIBC	2.894 \pm 0.034**	-
PIBA	3.406 \pm 0.048**	-
PIBB	3.013 \pm 0.049**	-
PIBD	2.428 \pm 0.044**	-

^aSymbols are the same as Table 1.

^bThe values are mean \pm S.D. of 5 replications. Significantly different from control group (* p < 0.05, ** p < 0.01).

^cEach sample was tested at the concentration of 1000 μ g/ml.

^dAscorbic acid : positive control.

^e- : no effect.

Table 4. Nitrite scavenging abilities of various fractions obtained from *Agrocybe cylindracea* and *Phellinus igniarius*.

Fractions ^a	Nitrite scavenging abilities (%) ^b
BHT ^c	96.29*
Mycelium	
ACME	55.27
ACMC	23.66
ACMA	24.19
ACMB	31.95
ACMD	21.40
Culture Broth	
ACBE	- ^d
ACBC	26.12
ACBA	51.89
ACBB	31.23
ACBD	58.14
Mycelium	
PIME	51.00
PIMC	39.48
PIMA	39.36
PIMB	35.89
PIMD	37.21
Culture Broth	
PIBE	67.40
PIBC	64.87
PIBA	-
PIBB	55.08
PIBD	54.23

^aSymbols are the same as Table 1.

^bEach sample was tested at the concentration of 1000 μ g/ml.

^cBHT : positive control.

^d- : not determined.

* The values are the mean of 5 replications.

이 나타났고, 나머지 분획에서도 20~30%의 소거능이 측정되었다. 배양액 에서도 ethyl acetate 분획과 물분획에서 각각 51.9%, 58.1%로 활성이 높게 나타났다.

한편, *P. igniarius* 균사체 추출물의 diethyl ether 분획에서 51.0%의 활성이, 나머지 분획에서도 35~40%의 고른 활성이 측정되었다. 배양액에서도 diethyl ether 분획, chloroform 분획, butanol 분획, 물분획 첨가구에서 각각 67.4%, 64.9%, 55.1%, 54.2%로 높은 활성이 나타났는데 전반적으로 *P. igniarius* 분획물이 *A. cylindracea* 분획물에 비해 아질산염 소거능이 좋은 것으로 측정되었다(Table 4).

이 등(1997)의 버섯류 추출물의 아질산염 소거작용에 대한 실험결과, *G. lucidum*의 diethyl ether 추출물에서 68.34%, butanol 추출물에서 44.44%, *A. bisporus*의 diethyl ether 추출물에서 4.76%, butanol 추출물에서 43.39%, *L. edodes*의 diethyl ether 추출물에서 3.45%의 결과를 보였고, butanol 추출물에서 63.23%를 나타내는 것으로 보고되어 있다. 아질산염은 그 자체가 지니는 독성 때문에 일정 농도 이상 섭취하게 되면 혈중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobinemia

등과 같은 각종 중독 증상을 일으키는 것으로 보고되어 있는데(Peter, 1975), 본 실험에서의 결과를 볼 때, 버섯을 아질산염이 존재할 수 있는 가공식품과 함께 섭취할 경우 각종 중독 증상 및 암발생과 같은 질병을 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

Melanin 생합성 저해 활성 효과

Melanin 생성 저해 활성에 대한 결과는 Table 5와 같다. *A. cylindracea* 균사체 추출물의 물분획에서 18 mm 지름의 저해환이 나타났고, *P. igniarius* 균사체 추출물의 butanol 분획에서는 19 mm 지름의 저해환이 측정되어 무첨가구에 비해 2배 이상의 저해활성을 나타내었다. 전반적으로 melanin 생성 저해에 영향을 미치는 항산화성 생리활성성분은 극성 물질일 것으로 추측이 되고, melanin 생합성 저해활성을 가진 tyrosinase 저해제인 4-hydroxyanisole, 5-hydroxyindole 및 hydroquinone 등과 같은 합성 저해제에 비해 미생물 유래의 천연 항산화물로서 안정성이 높을 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에 이용된 *A. cylindracea*와 *P. igniarius*의 균사체 및 배양액은 각종 항산화활성 및 멜라닌 생합성 저해효과를 가지는 것으로 판단되어 담자균을 이용한 기능성 식품으로서의 개발 가능성이 가능할 것으로 사료된다.

적 요

버들송이버섯(*A. cylindracea*)와 말뚝진흙버섯(*P. igniarius*)의 균사체 추출액과 배양액을 용매별 분획 후 각 분획별로 항산화 효과를 검색하였다. 전자공여능의 측정 결과, *A. cylindracea* 균사체 추출액의 ethyl acetate 분획과 butanol 분획, 배양액의 butanol 분획 그리고 *Phellinus igniarius* 균사체 추출액의 diethyl ether 분획, 배양액의 diethyl ether 분획, ethyl acetate 분획에서 모두 70% 이상의 강한 항산화 활성을 나타내었다. 과산화지질 생성 억제 실험에서는 *A. cylindracea* 균사체 추출액의 diethyl ether 분획과 butanol 분획, 물분획 그리고 배양액의 물분획에서 과산화지질의 생성이 억제되었다. Xanthine oxidase의 활성 측정에서는 *A. cylindracea* 균사체 추출액에서 uric acid 양이 감소하는 것으로 측정되었다. 아질산염 소거능의 측정 결과에서는 *A. cylindracea* 균사체 추출액의 diethyl ether 분획과 배양액의 ethyl acetate 분획, 물분획 그리고 *P. igniarius* 균사체 추출액의 diethyl ether 분획과 배양액의 diethyl ether 분획, chloroform 분획, butanol 분획, 물분획에서 50~60%의 고른 활성을 나타내는 것으로 측정되었으며, melanin 생성 저해 활성에 대한 결과는 *A. cylindracea* 균사체 추출액의 물분획과 *P. igniarius* 균사체 추출액의 butanol 분획에서 무첨가구에 비해 2배 이상의 저해 활성이 있는 것으로 조사되었다. 이상의 결과 말뚝진흙버섯과 버

Table 5. Inhibition activity of fractions against growth by *Streptomyces bikiniensis*

	Fractions ^a	Inhibition zone diameter (mm) ^b
Mycelium	Control	8
	Hydroquinone ^c	22
	ACME	- ^d
	ACMC	-
	ACMA	-
	ACMB	11
	ACMD	18
Culture Broth	ACBE	10
	ACBC	-
	ACBA	10
	ACBB	10
	ACBD	9
	Mycelium	PIME
PIMC		-
PIMA		9
PIMB		19
PIMD		9
Culture Broth		PIBE
	PIBC	9
	PIBA	10
	PIBB	10
	PIBD	11

^aEach sample a Symbols are the same as Table 1.

^bEach sample was tested at the concentration of 2000 µg/ml.

^cHydroquinone : positive control.

^d- : not determined.

들송이버섯의 균사체추출액이 강한 항산화활성을 나타내었다.

참고문헌

- 김종평. 1998. 항산화제 탐색. 방선균 생물학의 최근 연구동향과 실험법, 한국방선균 연구회, KIST-생명공학 연구원, 대전. Pp 231-253.
- 박상신, 유국현, 민태진. 1998. 버섯추출물의 항산화활성에 관한 연구. 한국균학회지 **26**(1): 69-77.
- 이기동, 장학길, 김현구. 1997. 버섯류의 항산화성 및 아질산염 소거작용. 한국식품과학회지 **29**(3): 432-436.
- 이재성, 박신, 박경숙. 1989. *Agrocybe cylindracea*의 영양매지 조성 및 배양조건의 최적화. 한국식품과학회지 **21**: 399-403.
- 이충환, 전효곤, 정병철, 이호재, 배경숙, 고영희. 1995. *Trichoderma* sp. MR-93 균주가 생산하는 isocyanide 계열의 melanin 생성 저해물질. 산업미생물학회지 **23**: 209-213.
- 이현진, 김종식, 허건영, 이경복, 이인구, 송경식. 1999. 담자균추출물의 prolyl endopeptidase, acetylcholine esterase 저해 및 항혈전 응고활성. 한국농화학회지 **42**(4): 336-343.
- 정인창, 박신, 박경숙, 하효철, 김선희, 권용일, 이재성. 1996. 느타리버섯 자실체 및 균사체 추출물의 항산화효과. 한국식품과학회지 **28**(3): 464-469.
- 하효철, 박신, 박경숙, 이춘우, 정인창, 김선희, 권용일, 이재성. 1995. 톱밥배양한 버섯송이 균사체로부터 단백당류의 분리 및 정제. 한국균학회지 **23**(2): 121-128.
- 水野 卓, 川合正允. 1992.キノコの化學・生化學. 學會出版センター. Pp 13-26.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **4617**: 1199-1200.
- Chang, S. T. and Buswell, J. A. 1996. Mushroom nutraceuticals. *World J. Microbiology and Biotechnology* **12**: 473-476.
- Cort, W. M. 1974. Antioxidant activity of tocopherols, ascorbyl palmitate, ascorbic acid and their mode of action. *J. American Oil Chemist's Society* **51**: 321-325.
- Cross, E. E., Halliwell, B., Borish, E. T., Pryor, W. A., Ames, B. N., Saul, R. L. and McCord, J. M. 1987. Oxygen radicals and human disease (clinical conference). *Ann. Intern. Med.* **107**: 526-545.
- Fridovich, I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* **247**: 1-11.
- Gray, J. I. and Dugan, J. L. R. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J. Food. Sci.* **40**: 981-984.
- Kim, D. H., Yang, B. K., Jeong, S. C., Park, J. B., Cho, S. P., Das, S., Yun, J. W. and Song, C. H. 2001. Production of a hypoglycemic, extracellular polysaccharide from the submerged culture of the mushroom, *Phellinus linteus*. *Biotechnol. Lett.* **23**: 513-517.
- McCord, J. M. 1987. Oxygen-derived radicals; a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed. Proc.* **46**: 2402-2406.
- Muraoka, S. and Shinozawa, T. 2000. Effective production of amanitins by two-step cultivation of the basidiomycete, *Galerina fasciculata* GF-060. *J. Biosci. Bioeng.* **89**(1): 73-76.
- Ng, T. B. 1998. A review fo research on the protein-bound polysaccharide (polysaccharopeptide, PSP) from the mushroom *Coriolus versicolor*. *General Pharmacology* **30**: 1-4.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. 1979. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**: 351-358.
- Peter F. S. 1975. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food. Agric.* **52**: 1761-1764
- Plaa, G. L. and Witschin, H. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Am. Rev. Toxicol. Pharmacol.* **16**: 125-141
- Shon, Y. H., Lee, J. S., Lee, H. W. and Nam K. S. 1999. Antimutagenic potential of *Phellinus igniarius*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **9**(4): 525-528.
- Stirpe, F. and Della, C. E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase; Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J. Biol. Chem.* **244**: 3855-3863.