

## 버섯(*P. eryngii* spp.) 추출물의 항산화 활성과 총 페놀함량

지희연\* · 김규현\*\* · 공원식\*\*\* · 김선림\* · 김진애\*\*\*\* · 정일민\*\*\*\* · 김정태\*†

\*작물과학원, \*\*천안연암대학 원예학과, \*\*\*농업과학기술원, \*\*\*\*건국대학교 생명환경과학대학

## Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds of *P. eryngii* spp. Extracts

Hee-Youn Chi\*, Kyu-Hyun Kim\*\*, Won-Sik Kong\*\*\*, Sun-Lim Kim\*,  
Jin-Ae Kim\*\*\*\*, Ill-Min Chung\*\*\*\*, and Jung-Tae Kim\*†

\*National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea

\*\*Dept. of Horticulture, Cheonan Yeonam College, Cheonan 330-709, Korea

\*\*\*National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-857, Korea

\*\*\*\*Dept. of Applied Life Science, College of Life & Environment Science, Konkuk Univ., Seoul 143-701, Korea

**ABSTRACT:** This objective of this study was to determined the activity of antioxidants of DPPH, SOD and total phenolic compounds in mushroom(*P. eryngii* spp.) extracts. The antioxidant activity using DPPH showed that strain No. 2007(31.78%) and strain No. 2014(27.45%) were the highest DPPH inhibition. Among the thirteen mushroom examined, strain No. 2014(58.30%) and strain No. 2010(57.19%) had the highest SOD activity. The highest total phenol content were in strain No. 2013(1465.03 µg/g) and strain No. 2005(1401.09 µg/g). Our study suggest that it may be possible to improve mushroom with high natural antioxidant

**Keywords:** mushroom, *P. eryngii* spp, antioxidant, DPPH, SOD, total phenolics

**최근** 생활수준의 향상과 소득수준이 올라감에 따라 삶의 질 향상에 대한 많은 관심이 높아지고 있으며, 특히 노화와 암의 대처방안으로 천연 항산화 물질등의 생리활성물질 개발에 관심이 집중되고 있다(Culter, 1984)

인체에 유해한 물질로 발생된 활성산소는 단백질, DNA, 효소 및 T세포와 같은 면역계통의 인자를 손상시키고, 특히 세포 생체막의 불포화지방산을 공격하여 과산화반응을 일으켜 체내 과산화 지질을 축적시키며 노화 및 성인병을 유발하는 주요 요인으로 알려져 있다. 이러한 활성 산소를 제거하기 위한 인공항산화제의 개발에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며, 특히 자연항산화물질로서의 superoxide dismutase(SOD: EC 1.15.1.1)는 환원산소종을 과산화물로 전화시키는 촉매역활로 생성된 과산화물은 catalase등에 의해 산소와 물 분자로 전산화된다(Chung *et al.*, 1995). 또한 많은 식품에는 자연적으로

발생되어있는 여러 가지 항산화 능력을 포함하고 있는 화합물 중 페놀은 식품속에 널리 분포하는 2차 대사산물중의 하나로 phenolic acid(C6-C1), coumarins(C6-C3), flavonoids(C6-C3-C6), condensed tannins으로 크게 4가지그룹으로 나누어진다(Lee & Lee, 1994). 특히, Hayes *et al.* (1997)은 Chlorogenic acid 과 caffeic acid 등은 매우 높은 항산화 효과를 가진다고 보고하였으며, Lee & Lee(1994)는 페놀화합물이 높은 항산화 능력이 있다고 하였다.

최근 식품 중에서 자연적으로 기능성물질을 섭취하려는 요구의 증가와 함께 버섯에 대한 관심이 높아가고 있는데, 한국에는 1000여종이상의 버섯이 있는 것으로 보고되어있다. 지금까지 조사된 버섯의 기능으로는 혈압 cholesterol 저하, 혈압 조절, 항산화 효과, 각종 성인병 예방 및 치료효과가 있는 것으로 알려지고 있다(Ohimori *et al.*, 1991; Suzuki and Oshima 1976; Komatsu *et al.*, 1963; Cheung *et al.*, 2003). Kong *et al.*(2004)은 80개의 수집된 버섯 균주에서 항산화실험결과 버섯이 항산화능력이 있음을 보였고, Chung *et al.*(2005)은 *Pholiota adiposa*에서 stigmasterol 등을 분리하여 cytotoxic 활성이 있는 것으로 보고하였다.

따라서 본 연구는 수집된 *P. eryngii* spp.에 대한 항산화능력을 검정을 통한 기초자료 제공을 통하여 버섯 육종의 기초 자료를 제공하고자 실험을 실시하였다.

### 재료 및 방법

실험재료로 표준 느타리버섯 재배법으로 재배된 아위느타리 버섯(*P. eryngii* var. *ferulae*) 계통 8개, 백령고(*P. eryngii* var. *nebrodensis*) 3계통을 새송이 버섯을 대조군으로 하여 실험을 실시하였다. 버섯 계통은 Table 1과 같다.

†Corresponding author: (Phone) +83-31-290-6793 (E-mail) kjt740@rda.go.kr

**Table 1.** The number of mushroom strains used in this experiment.

Strain NO.	Scientific name	Koraen name
2001	<i>P. eryngii</i> var. <i>ferulae</i>	아위느타리버섯
2004	<i>P. eryngii</i> var. <i>fossulatus</i>	아위느타리버섯
2005	<i>P. eryngii</i> var. <i>ferulae</i>	아위느타리버섯
2006	<i>P. eryngii</i> var. <i>ferulae</i> KCTC26065	아위느타리버섯
2007	<i>P. eryngii</i> var. <i>ferulae</i>	아위느타리버섯
2008	<i>P. eryngii</i> var. <i>nebrodensis</i>	백령고
2010	<i>P. eryngii</i> var. <i>ferulae</i>	아위느타리버섯
2011	<i>P. eryngii</i> var. <i>ferulae</i>	아위느타리버섯
2012	<i>P. eryngii</i> var. <i>nebrodensis</i>	백령고
2013	<i>P. eryngii</i> var. <i>ferulae</i>	아위느타리버섯
2014	<i>P. eryngii</i> var. <i>nebrodensis</i>	백령고
2015	<i>P. eryngii</i>	새송이버섯

**DPPH radical 소거능 측정**

DPPH 활성을 검정하기 위하여 버섯류(자실체와 균사체)를 저온진공 냉동 건조기에서 건조시켰다. 건조시료를 분쇄(40 mesh)한 후 분쇄 시료 5 g을 80% methanol을 이용하여 물질을 추출하고 감압농축기를 이용하여 농축하여 DPPH radical 소거능 측정을 위한 시료를 조제하였다.

DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 30 mg을 ethanol 200 ml에 녹인 후 증류수 200 ml을 가하여 DPPH solution을 만들었다. 50% ethanol을 대조군으로 하여 DPPH solution의 흡광도를 2.0으로 조절하였다. DPPH solution 2.5 ml와 DMSO(dimethylsulfoxide)에 용해한 1% 시료용액 0.25 ml을 혼합하여 1분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 radical scavenging activity를 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A : 시료첨가시의 흡광도

B : 시료무첨가시의 흡광도

**SOD(superoxide dismutase)효소활성 측정**

SOD 효소활성은 Chung *et al.* (1995)의 방법을 응용하여 측정하였다.

**효소추출:** 버섯의 SOD 활성을 측정하기 위하여 동결건조시킨 버섯을 분석용 시료로 사용하였다. 분석용 시료 0.2 g과 효소추출 완충용액(pH 7.0 0.1 M phosphate, polyvinyl pyrrolidone, 0.5 M EDTA, 0.01 M sodium ascorbate) 2 ml을 넣은 후 곱게 갈아서 얻은 조추출액을 12,000 g에서 20분간 원심분리하였다. 원심분리하여 얻은 상등액을 탈염완충용액 (50 mM phosphate, pH 7.0 0.2 mM EDTA)으로 평형시킨 후 Sephadex G-25 column을 이용하여 탈염 후 효소활성 검정용으로 사용하였다.

**SOD 활성 측정 :** NBT(Nitro Blue Tetrazolium)환원법을 이

용하여 SOD활성을 검정하였다. 반응용액이 들어있는 시험관을 25°C의 온도 및 광조절 식물생장상의 광원에서 균일하게 7분간 조사시킨 후 분광광도계를 이용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였고, SOD 활성 정도는 NBT환원저해율로 표시하였다.

$$\text{SOD activity (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A : 시료첨가시의 흡광도

B : 시료무첨가시의 흡광도

**총 페놀함량 :** 버섯의 총 페놀 함량을 측정하기 위하여 Folin-Denis방법을 이용하였다. 동결건조된 시료 2 g을 80% Methanol 50 ml을 가하여 shaking bath에서 24시간동안 추출한 후 Whatman No. 42을 이용하여 추출 시료용액을 얻었다. 추출 시료용액 1 ml에 3차 증류수 3 ml을 첨가한 후 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1ml을 넣고 5분간 27°C의 shaking bath에서 혼합하였다. 혼합한 용액을 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화용액 1 ml을 넣어 다시 혼합한 다음 1시간동안 방치시킨 후 640 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 caffeic acid, chlorogenic acid, catechin, ferulic acid을 이용하여 작성된 표준곡선을 이용하여 각각의 검량선을 작성하여 총 페놀 함량을 계산하였다.

**결과 및 고찰****항산화 활성 측정**

새송이버섯과 수집된 12개 버섯계통을 DPPH와 SOD에 의한 항산화 활성을 평가한 결과는 Table 2와 같다. 전체적으로 항산화 검정에서 SOD가 DPPH 보다 높은 항산화 능력을 보여주었다. DPPH 활성에서는 수집된 버섯 계통은 새송이버섯보다 모두 높은 활성을 보여주었다. DPPH 활성검정은 strain No. 2007(31.78%)과 strain No. 2014(27.45%)을 나타내어 free radical에 대한 소거율이 가장 높은 것으로 평가되었고, strain No. 2013(15.45%)과 strain No. 2005(15.53%)은 가장 낮은 억제율을 나타내었다. SOD 활성검정에서는 strain No. 2005(36.20%)을 포함하는 두가지 계통에서만 새송이버섯에 비하여 SOD 활성이 낮았으며, strain No. 2014(58.30%)와 strain No. 2010(57.19%)는 가장 높은 SOD활성을 보였다.

수집된 버섯 계통에서의 항산화 활성 검정은 최근 많이 이용되고 있는 새송이버섯과 비교해볼때 높은 DPPH free radical 소거효과를 보여주었다. 이것은 Kong *et al.*(2005)의 결과처럼 버섯이 식품을 이용한 천연항산화제로 역할을 할수 있다고 보고한 결과와 일치하였다.

특히, DPPH 활성과 SOD 활성과 비교해볼때 strain No. 2007은 본 실험에서 실시한 두가지의 활성검정에서 높은 활성능력을 보였고, Strain No. 2005는 DPPH와 SOD 활성에서

**Table 2.** Antioxidant activity of extracts of mushrooms by DPPH and SOD method.

Strain No.	DPPH		SOD	
	----- Inhibition (%) -----			
2001	18.14	42.87		
2004	21.87	42.34		
2005	15.53	36.20		
2006	19.20	49.55		
2007	31.78	40.90		
2008	15.63	46.94		
2010	15.83	57.19		
2011	20.29	52.25		
2012	23.10	51.06		
2013	15.45	45.95		
2014	27.45	58.30		
2015	17.33	48.80		
King oyster mushroom	10.28	41.01		
LSD(0.05)	3.33	7.05		

모두 가장 낮은 항산화 활성이 나타내었다. 그러나 DPPH 활성에서 가장 높은 활성을 보인 strain No. 2007은 SOD에서 낮은 활성능력을 보였다. 이것은 strain No. 2007은 항산화 능력이 있는 SOD 효소의 함량이 적거나 활성능력이 낮지만, DPPH 활성 검정을 위해 80% methanol로 추출한 조추출물 속에 free radical을 소거할 수 있는 다른 활성 화합물들이 많이 포함되어있을 것으로 생각되어진다. Chung *et al.*(2005)은 버섯에서 stigmaterol, 1-linoleic-2-olein 등을 분리 동정하였는데, 이러한 화합물들이 strain No. 2007에 함량이 많아 free radical 소거에 기여하는 것으로 생각되어지며 금후보다 구체

적인 분리 동정 등의 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

### 총 페놀 함량

식품 속에 함유되어있는 많은 생리 활성 phytochemical 중 에서 페놀은 가장 널리 함유되어 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다(Lee & Lee, 1994; Choi *et al.*, 2005). 본 실험에서 버섯류의 총 페놀 함량을 구하기 위하여 caffeic acid, chlorogenic acid, catechin 및 ferulic acid의 4가지 표준물질로 함량을 계산하였다(Table 3). 각각의 페놀표준물질에 따라 같은 버섯 계통에서도 총 페놀 함량이 차이가 나타났다. 이것은 각 표준물질의 흡광도를 이용한 검량곡선을 통해 얻어진 결과를 이용하였기에, 같은 농도에서 서로 다른 표준물질간 흡광도의 차이에 의한 결과로 생각되어진다. 따라서 버섯 뿐만 아니라 다른 식품에서도 총 페놀 함량을 Folin-Denis방법을 이용하여 총 페놀함량을 계산할 때 페놀표준물질의 선택에 있어서 신중한 선택이 필요하며, 각 식품에서 총 페놀 함량을 측정을 위해 선택할 표준물질에 대한 연구가 진행되어야 할 것이다.

새송이 버섯과 12개 버섯계통에서의 caffeic acid를 기준으로 한 총 페놀함량은 strain No. 2011(652.38 µg/g), strain No. 2001(867.30 µg/g), strain No. 2010(877.46 µg/g)으로 새송이 버섯(936.52 µg/g)보다 총 페놀 함량이 낮았다. strain No. 2013 (1465.03 µg/g)과 strain No. 2005(1401.09 µg/g)은 가장 많은 페놀 함량을 나타냈다. Cheung *et al.*(2003)은 버섯 추출물과 항산화 능력간에는 서로 정의 상관관계가 있다고 하였으며, 따라서 버섯은 자연 항산화물로의 잠재성이 있다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서 얻어진 총 페놀 함량이 많은 버섯은 고향산 화능력을 포함하는 버섯 육종 이용의 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각되어진다.

**Table 3.** The variation of total phenol contents among 13 mushrooms according to phenolic standards.

Strain No.	Caffeic acid				Chlorogenic acid				Catechin				Ferulic acid			
	----- µg/g -----															
2001	867.30	1329.08	1210.48	2055.85												
2004	1376.68	2059.43	1913.48	3254.82												
2005	1401.09	2096.63	1947.52	3312.65												
2006	1215.15	1827.99	1690.58	2874.65												
2007	982.39	1497.10	1369.78	2327.24												
2008	1302.64	1918.21	1805.78	3074.67												
2010	877.46	1340.14	1223.94	2079.17												
2011	652.38	1030.92	915.43	1551.63												
2012	1196.83	1815.60	1667.48	2833.85												
2013	1465.03	2180.26	2034.51	3461.82												
2014	1207.61	1821.87	1680.91	2857.68												
2015	1264.83	1901.19	1759.46	2991.92												
King oyster mushroom	936.52	1431.67	1306.54	2219.34												

## 인용문헌

- Cheung, L. M., Peter, C. K. Cheung and Vincent E.C. Ooi. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry* 81 : 249-255
- Choi, S. Y., S. H. Lim, J. S. Kim, T. Y. Ha, S. R. Kim, K. S. Kang and I. K. Hwang. 2005 Evaluation of the Estrogenic and Antioxidant Activity of Some Edible and Medicinal Plants. *Korean J. Food. Sci. Technol.* 37 : 549-556
- Chung I. M., W. S. Kong, O. K. Lee, J. S. Park and Ateepue Ahmad. 2005. Cytotoxic Chemical Constituents from the Mushroom of *Pholiota adiposa*. *Food Sci. Biotechnol.* 14 : 255-258
- Chung, I. M., S. J. Yun, J. T. Kim, J. G. Gwag, J. D. Sung, and H. S. Suh. 1995. Test of Superoxide Dismutase Characteristic and Antioxidant Activity in Perilla Leaves. *Korean J. Crop Sci.* 40(4) : 504-511
- Cutler, R. G. Antioxidants aging, and longevity. 1984. In W. A. Pryor (ed) *Free Radicals in Biology*. Academic Press. 6 : 371-423
- Hayes, R. E., G. N. Bookwalter, and E. B. Eagley. 1997. Antioxidant activity of soybean flour and derivatives- a review. *J. Food Sci.* 6 : 1527-1532
- Komatsu, J., H. Terekawa, K. Nakanishi and Y. Watanabe. 1963 *Flammulina velutipes* with antitumor activities. *J. Antibiot., Ser. A.* 16 : 139-143
- Kong W. S., S. H. Kim, J. S. Park, S. J. Hahn and I. M. Chung. 2004. Evaluation and Selection of Antioxidative Activities of 80 Collected and Mated Mushroom Strains. *Food Sci. Biotechnol.* 13 : 689-693
- Lee, J. H. and S. R. Lee. 1994. Analysis of phenolic substances content in Korean plant foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26 : 310-316
- Ohmori, T., K. Tamura, A. Wakaiki, G. Kawanishi, S. Tsuru, T. Yadomae, and K. Nomoto. 1988. Dissociation of a glucan fraction (CO1) from protein-bound polysaccharide of *cordyceps ophioglossoides* and analysis of its antitumor effect. *Chem. Pharm. Bull.* 36:4512-4518
- Suzuki, S. and S. Oshima. 1976. Influence of shitake (*Lentinus edodes*) on human serum cholesterol. *Mushroom Sci.* 9:463-467