

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 항산화 및 tyrosinase 저해 효과

김수철¹ · 류한민¹ · 정성미¹ · 이용현¹ · 김혜수¹ · 김종옥² · 조용운¹ · 조수정^{1*}

경남과학기술대학교 제약공학과¹, 남경농산²

Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of *Hypsizygus marmoreus* (brown cultivar) methanol extracts

Su Cheol Kim¹, Han Min Ryu¹, Sung Mi Jung¹, Young Hyun Lee¹,
Hye Soo Kim¹, Jong Ok Kim², Young Un Cho¹ and Soo Jeong Cho^{1*}

¹Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongnam National University of Science and Technology,
33 Dongjin-ro, Jinju 660-758, Korea

²Namkyung Co., Ltd, Cheongdo-gun, Gyeongbuk 714-841, Korea

(Received December 11, 2013 / Revised December 23, 2013 / Accepted December 27, 2013)

ABSTRACT –The objective of this study was to evaluate antioxidant effect and tyrosinase inhibitory activity of methanol extracts from *Hypsizygus marmoreus*. The *Hypsizygus marmoreus* was divided into two parts (pileus and stipe) and extracted with methanol. Total polyphenolics and flavonoids in the methanol extracts were measured by spectrophotometric methods and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activities have been determined for antioxidant activities. The total polyphenolics and flavonoids contents of methanol extract of the pileus were higher than methanol extract of the stipes. The total polyphenolics contents in methanol extracts of the pileus and stipes were 8.7 ug/mg and 5.6 ug/mg, respectively. The total flavonoids contents in methanol extracts of the pileus and stipes were 2.8 ug/mg and 1.4 ug/mg, respectively. The tyrosinase inhibitory activity was proportional to concentration of methanol extract. The tyrosinase inhibitory activity of the methanol extract (200 mg/ml) of pileus (66.9%) and stipe (57.97%) was lower than those of positive control 2% arbutin. The DPPH radical scavenging activity of the methanol extract (20 mg/ml) of pileus and stipes was 52.55% and 30.35%, respectively. Moreover, the effects of methanol extracts on cell proliferation of B16BL6 mouse melanoma cells were investigated using WST-1 assay (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulphonate) and B16BL6 mouse melanoma cells treated with methanol extract of 200-2,000 ug/ml were higher proliferation rate than those of 0.04% adenosine.

KEYWORDS –Antioxidant, DPPH radical scavenging activity, *Hypsizygus marmoreus*, Tyrosinase inhibitory activity

I. 서 론

최근 들어 우리나라에서는 고령화 인구가 증가함에 따라 건강한 삶에 대한 관심이 증가하고 있으며 건강 유지와 노화 억제 등에 효과적인 의약품, 기능성 식품, 기능성 화장품 등에 대한 선호도가 증가하고 있다. 질병과 노화에 관련된 유해물질 중 하나인 활성산소는 대사과정이나 생체 방어를 위해 생성되는 전자쌍을 이루지 못한 자유라디칼(free radical)을 가진 불안정한 산소화합물로서 반응성이 큰 특징이 있다 (Droge, 2001). 활성산소는 superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase 등과 같은 인체 내 항산화 효소에 의해 제거됨으로써 산화-항산화 시스템

의 균형이 유지되고 있다. 그러나 이러한 산화-항산화 시스템의 균형이 깨지면 구조적으로 불안정한 활성산소는 체내의 불포화지방산, 지질, 콜레스테롤 등을 산화시켜 인체 내 세포를 파괴하는 과산화지질을 생성하고 혈관벽에 부착되어 혈류의 흐름을 방해하거나 혈관을 손상시켜 뇌졸중, 알츠하이머, 심장질환, 동맥경화, 당뇨, 암 등의 다양한 질병을 유발시킬 수 있을 뿐만 아니라 노화를 초래하게 된다(Halliewell과 Gutteridge, 1990; Vercke 등, 1992; Aitken 등, 1993; Baublis 등, 2000). 활성산소는 항산화제에 의해 제거될 수 있으며 항산화제에는 ascorbic acid, tocopherol, flavonoid 등의 천연물유래 항산화제와 butylated hydroxyl toluene(BHT), butylated hydroxyl anisol

*Corresponding author: sjcho@gntech.ac.kr

(BHA) 등의 합성 항산화제가 있다. 그러나 합성 항산화제에 의한 체내 부작용과 인체 유해성이 보고되면서 천연물유래 항산화제의 산화적 손상 억제 작용에 대한 관심이 증가하고 있다(Branien, 1975; Feskanich 등, 2000; Montonen 등, 2003).

또한 피부노화가 진행된다면 멜라닌(melanin)이 과잉으로 생산되어 색소침착(pigmentation)을 유발함으로써 피부의 색소반이 나타내게 된다. 멜라닌은 표피 기저층에 존재하는 melanocytes의 melanosome에서 tyrosine이 tyrosinase에 의해 산화되어 DOPA(dioxyphenyllalanin), dopaquinone이 되고 이것이 5, 6-dihydroxy indole, indol 5, 6-quinone으로 자동 산화되어 최종적인 중합 반응에 의해 멜라닌 중합체를 형성함으로써 생성된다(Hearing과 Ekel, 1976; Nita와 Young, 2005). 따라서 tyrosinase 활성이 저해되면 색소침착을 억제할 수 있기 때문에 tyrosinase 활성을 저해할 수 있는 화장품 소재에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며 (Aburjai와 Natshen, 2003) 최근 들어 우리나라에서는 피부 자극을 줄일 수 있는 천연물유래 화장품 소재에 대한 선호도가 증가하면서 한방화장품의 수요가 확대되고 있다.

버섯은 담자균과 자낭균에 속하는 자실체를 형성하는 고등균류로서 탄수화물, 단백질, 지질, 무기질, 비타민 등의 영양소를 골고루 함유하고 있을 뿐만 아니라 독특한 맛과 향미성분, 약리효과 등을 가지고 있어서 예로부터 식용 및 약용으로 널리 이용되어 왔다(Hirase 등, 1976; Chang과 Miles, 1989). 또한 최근에는 버섯추출물이 항산화, 항암, 성인병 예방 및 개선, 콜레스테롤 저하 등에 효과적이라는 연구결과들이 보고되고 있다(Lee와 Oh, 2007). 우리나라에서 재배되고 있는 식용버섯에는 양송이, 표고, 팽이, 느타리, 큰느타리, 느티만가닥 버섯 등이 있으며 약용버섯에는 저령, 복령, 영지, 상황 버섯 등이 있다. 이 중에서 느티만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus*)은 일본에서 처음으로 인공 재배되었으며(Ohashi, 2010) 우리나라에서는 2002년에 일본의 타카라주조와 기술제휴로 (주)풀무원에서 시험재배를 시작하여 보급된 버섯으로 최근 들어 생산과 소비가 증가되고 있는 버섯 중 하나이다(Zanabaatar 등, 2012). 느티만가닥버섯은 담자균류, 주름버섯목, 송이과에 속하는 식용 버섯으로서 다발성이 강한 특징과 단백질을 구성하는 아미노산 중 정미성분인 글루탐산(glutamic acid)을 많이 함유하고 있는 특징이 있다(Lee 등, 2011). 느티만가닥버섯의 생리활성으로는 항종양성 β (1-3)-Dglucan, 지용성 추출물의 peroxy와 alkoxy radical에 대한

효과, 항산화 활성 등이 보고되어 있다(Ikekawa, 1995; Matsuzawa 등, 1998).

본 연구에서는 시판 중인 갈색 느티만가닥버섯을 갓(pileus)과 대(stipes)로 분리하여 부위별 항산화 활성 및 tyrosinase 저해 활성을 조사함으로써 기능성 식품 및 화장품 소재로서 갈색 느티만가닥버섯 추출물의 이용 가능성을 제시하고자 한다.

II. 재료 및 방법

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 제조

본 실험에 사용한 갈색 느티만가닥버섯은 이마트에서 판매하는 백만송이(상품명)를 구입한 후 수세하여 사용하였다. 수세한 갈색 느티만가닥버섯은 표면의 물기를 제거한 후 갓과 대로 분리한 다음 세절하였으며 세절한 갓과 대는 각각 4배의 메탄올에 침지한 후 상온에서 4일 동안 2회 반복 추출하였다. 추출물은 Watman filter paper(No. 2)로 여과한 다음 회전감압 농축기(Eyela, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 감압농축하여 메탄올 추출물로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu reagent가 추출물에 의해 환원되면 몰리브덴 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 측정하였다(Singleton, 1981). 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물 100 μ l에 2% sodium carbonate(Na_2CO_3) 용액 2 ml를 첨가한 후 3분 동안 방치한 다음 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 μ l를 첨가하였다. 혼합액은 상온에서 30분 동안 반응시킨 후 720 nm에서 흡광도를 측정하였다. 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid(Sigma aldrich, USA)을 표준물질로 작성한 검량선을 이용하여 측정하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(1998)의 방법에 준하여 colorimetric assay법으로 측정하였다. 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물 1 ml에 증류수 4 ml를 첨가한 다음 5분 동안 반응시킨 후 5% sodium nitrate(NaNO_2) 용액 0.3 ml과 10% aluminium nitrate($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) 용액 3 ml를 첨가하였다. 혼합액을 6분 동안 반응시킨 다음 1 M sodium hydroxide(NaOH) 용액 2 ml를 첨가한 후 증류수로 반응액의 양을 10 ml로 정량하

였다. 안정화된 혼합액은 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량은 quercetin(Sigma aldrich, USA)을 표준물질로 작성한 검량선을 이용하여 측정하였다.

Tyrosinase 저해 활성

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 Tomita 등(1990)의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.1 M Sodium phosphate 완충용액(pH6.5) 220 ul에 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물 20 ul (200, 400, 600, 800, 1200 mg/ml)과 Mushroom tyrosinase (1800 U/ml) (Sigma aldrich, USA) 20 ul를 첨가하여 혼합한 후 1.5 mM L-Tyrosine(Sigma aldrich, USA) 40 ul를 첨가하였다. 혼합액은 37°C에서 15분 동안 반응시킨 다음 분광광도계(Softmax M5, Molecular devices, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물 대신 0.1 M sodium phosphate 완충용액(pH6.5)을 사용하였고 양성대조구는 2% 알부틴(arbutin)을 사용하였다. Tyrosinase 활성 저해율(%)은 다음 공식에 의하여 구하였다(a, 대조구 흡광도; b, 시료첨가구 흡광도; a', b', Mushroom tyrosinase 무처리구 흡광도).

$$\text{Tyrosinase 활성 저해율(\%)} = 100 - (b - b') / (a - a') \times 100$$

DPPH 라디칼소거 활성

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼소거 활성은 짙은 보라색을 띠는 안정한 라디칼인 DPPH가 항산화 물질의 전자공여능에 의해 수소 혹은 전자를 받아 탈색되는 원리를 이용한 Blois(1958)의 방법에 준하여 측정하였다. 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물 50 ul(0, 10, 20, 40, 80, 100, 140, 200 mg/ml)에 0.15 mM DPPH(Sigma aldrich, USA)를 200 ul 첨가한 후 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 분광광도계(Softmax M5, Molecular devices, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조구는 butylated hydroxyl toluene(BHT, Sigma aldrich, USA)를 사용하였으며 DPPH 라디칼소거 활성(%)은 시료첨가구와 대조구 사이의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼소거 활성(\%)} = \frac{\text{대조구 흡광도} - \text{시료첨가구 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

B16BL6 세포 배양

B16BL6 mouse melanoma cell은 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, KCLB 10092)으로부터 분양받아 사용하였고 10% fetal bovine serum(FBS, GIBCO, Rockville, MD, USA)과 1%의 penicillin-streptomycin(Lonza Walkersville, Inc., Walkersville, MD, USA)이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium(DMEM, GIBCO) 배지에서 37°C, 5% CO₂ 조건으로 3일 동안 배양하였다.

세포 생존율 측정

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물에 대한 B16BL6 mouse melanoma cell의 생존율은 수용성인 tetrazolium salt WST-1(4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulphonate, Biovison, USA)이 세포내 mitochondria의 dehydrogenase와 반응하여 오렌지색의 formazan으로 변하는 반응을 이용하여 확인하였다(Francoeur와 Assalian, 1996). 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물은 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹인 후 0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 2000 ug/ml 농도로 각각 희석한 다음 0.2 um membrane filter(Sartorius, USA)로 여과하여 사용하였다. 12-well plate에서 3일 동안 배양된 B16BL6 mouse melanoma cell에 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물을 0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 2000 ug/ml의 농도로 첨가한 후 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양하였으며 양성대조구는 0.04% adenosine을 사용하였다. 배양액에 tetrazolium salt WST-1 용액을 첨가한 다음 37°C에서 4시간 동안 배양한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

실험결과의 평균값과 표준오차는 SAS(Statistical analysis system, USA) program을 사용하여 구하였고 Duncan's 다중검정법으로 5% 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

폴리페놀은 식물이 광합성 과정에서 스트레스, 항산화소중, 상처, 초식 동물로부터 자신을 보호하는 과정에서 형성되는 대사산물로써 hydroxyl(-OH)기를 가지고 있기 때문에 단백질과 결합하여 항균활성, 항

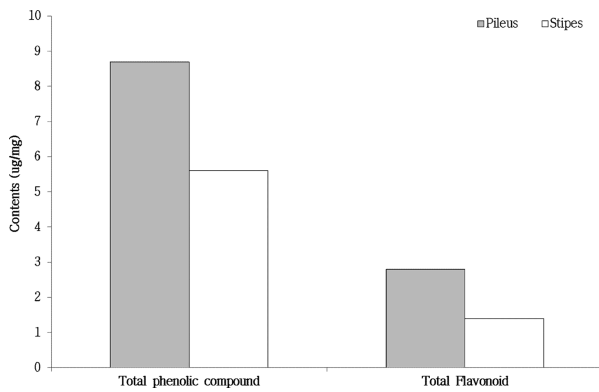


Fig. 1. Total polyphenolics and flavonoids contents of methanol extract from pileus and stipes of *Hypsizygos marmoreus*. Values are expressed as mean±SD (n=3), Values with different superscript letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

산화, 항암 등 다양한 생리활성을 나타내는 물질이다 (Yang 등, 2001; Chen 등, 2007). 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물 중 갓과 대의 총 폴리페놀 함량은 각각 8.7 ± 3.27 ug/mg과 5.6 ± 2.85 ug/mg으로 대에 비해 갓의 폴리페놀 함량이 더 높게 나타났다(Fig. 1). 홍(2013)이 보고한 갈색 만가닥버섯(*Lyophyllum fucosum*)의 폴리페놀 함량에 관한 보고에서도 대보다는 갓의 폴리페놀 함량이 높게 나타났다. 또한 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 홍(2013)이 보고한 갈색 만가닥버섯 메탄올 추출물(갓, 5.366 ± 9.7 ug/mg; 대, 3.574 ± 7.1 ug/mg)보다 높게 나타났고 Ferreira 등(2009)이 보고한 야생버섯의 총 폴리페놀 함량(0.391 - 1.725 mg/mg)보다도 높게 나타났다. Chang 등(1993)과 Barros 등(2007)의 보고에 의하면 버섯의 일반성분 및 생리활성물질은 버섯의 품종, 생육배지, 수확시기, 재배방법 등 생육환경에 따라 달라질 뿐만 아니라 생육 중 환경적인 스트레스가 높을수록 2차 대사산물인 생리활성물질의 생성이 자극되어 버섯의 총 폴리페놀 함량도 증가된다.

플라보노이드는 식물의 꽃, 잎, 줄기, 열매 등에 함유되어 있는 flavone 구조의 노란색 식물 색소를 총칭하며 식물에 존재하는 플라보노이드는 항산화, 에스트로젠, 항암 효과 등 다양한 생리활성을 나타낸다 (Kim 등, 2010). 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물 중 갓과 대의 플라보노이드 함량은 각각 2.8 ± 3.81 ug/mg과 1.4 ± 1.95 ug/mg으로 대에 비해 갓의 플라보노이드 함량이 2배 정도 높게 나타났다(Fig. 1). 홍(2013)이 보고한 갈색 만가닥버섯의 플라보노이드 함량에 관한 보고에서도 대보다는 갓의 플라보노이드

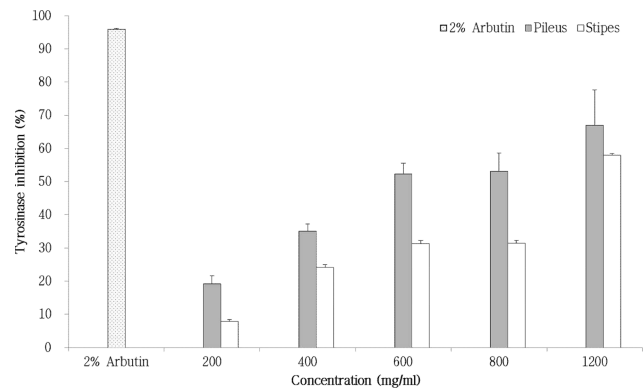


Fig. 2. Tyrosinase inhibitory activity of methanol extract from pileus and stipes of *Hypsizygos marmoreus*. Values are expressed as mean±SD (n=3), Values with different superscript letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

함량이 높게 나타났다. 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물 중 갓과 대의 플라보노이드 함량은 홍(2013)이 보고한 갈색 만가닥버섯 메탄올 추출물(갓, 0.208 mg/g; 대, 0.191 ± 2.3 mg/g) 보다 높게 나타났으나 총 폴리페놀 함량보다는 낮게 나타났다. 버섯류의 플라보노이드 함량이 총 폴리페놀 함량이 비해 낮게 나타나는 것은 버섯의 주요 페놀화합물이 페놀산(phenolic acid)이기 때문으로 생각된다(Ferreira 등, 2009).

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 tyrosinase 저해 활성

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 미백효과를 확인하기 위하여 tyrosinase 저해 활성을 측정하였으며 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 L-tyrosine을 기질로 사용하였을 경우 추출물의 농도에 따라 증가하였으나 양성 대조군으로 사용한 2% 알부틴에 비해 1200 mg/ml의 고농도에서도 갓은 66.9%, 대는 57.97%의 낮은 저해 활성을 나타내었다(Fig. 2). Yoon 등(2011)의 보고에 의하면 잣버섯 자실체의 메탄올 추출물은 1,000 ug/ml의 농도에서 56.5%의 tyrosinase 저해 활성을 나타내었고 Guk 등(2013)의 보고에 의하면 차가버섯 메탄올 추출물은 1,500 ug/ml의 농도에서 40.35%의 tyrosinase 저해 활성을 나타내었다. 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물은 L-tyrosine을 산화하여 L-DOPA로 전환시키는 멜라닌 생합성에 관여하는 tyrosinase 활성을 저해하는 효과가 높지 않은 것으로 나타나 추출물이 멜라닌 합성 초기단계를 저해하는 효과는 낮다고 사료된다.

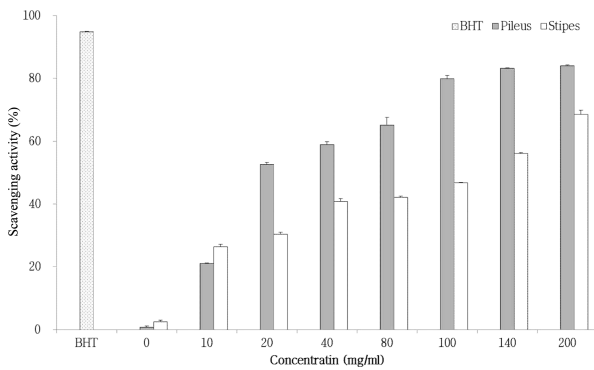


Fig. 3. DPPH-radical scavenging activity of methanol extract from pileus and stipes of *Hypsizygos marmoreus*. Values are expressed as mean \pm SD (n=3), Values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 항산화 활성은 DPPH에 의한 라디칼소거 활성을 측정하여 확인하였다. 항산화 물질은 자유라디칼에 전자를 공여하여 라디칼의 공유결합을 증가시키는 전자공여능이 높을수록 인체 내에서 활성산소에 의한 노화를 효과적으로 억제할 수 있다(Cha, 2009). 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물 중 갓과 대의 DPPH 라디칼 소거능은 20 mg/ml의 농도에서도 각각 52.55%와 30.35%로 낮게 나타났다(Fig. 3). Zanabaatar 등(2012)의 보고에서도 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 미약하였으며 메탄올 추출물보다는 물 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 우수하였다. 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물이나 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 낮고 물 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 높은 이유는 갈색 느티만가닥버섯에는 소수성의 생리활성물질보다는 친수성의 생리활성물질이 더 많이 함유되어 있기 때문으로 생각된다.

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물이 B16BL6 mouse melanoma cell에 미치는 영향

갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물이 B16BL6 mouse melanoma cell에 미치는 영향을 알아보기 위하여 B16BL6 mouse melanoma cell에 추출물을 0-2,000 ug/ml의 농도로 처리한 다음 WST-1 assay를 이용하여 세포생존율을 조사하였다. 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물은 갓과 대 모두 200-2,000 ug/ml의 농도로 처리하였을 때 B16BL6 mouse melanoma

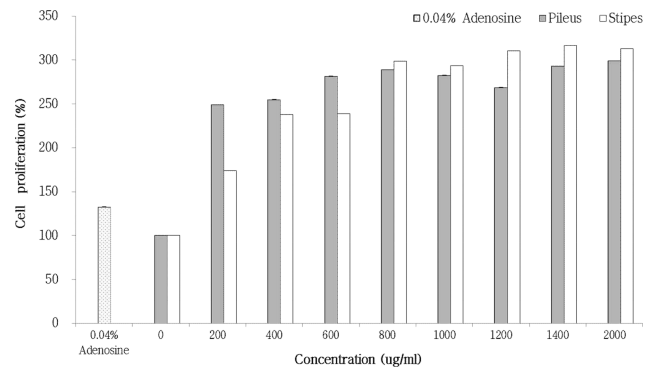


Fig. 4. Effects of methanol extract from pileus and stipes of *Hypsizygos marmoreus* on cell proliferation in B16BL6 mouse melanoma cell. The B16BL6 mouse melanoma cell was incubated for 24 hr in DMEM media with different concentration of methanol extract from *Hypsizygos marmoreus*. The cell proliferation was determined using WST-1 assay. Values are expressed as mean \pm SD (n=3), Values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

cell은 100% 이상의 생존율을 나타내었고 추출물의 처리 농도가 증가함에 따라 세포생존율도 증가하는 경향을 나타내었으며 양성대조군인 0.04% adenosine을 처리한 경우보다 세포생존율이 높게 나타났다(Fig. 4). 따라서 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물은 갓과 대 모두 200 ug/ml 이상의 고농도에서도 B16BL6 mouse melanoma cell에 독성을 나타내지 않는 것을 확인하였다. 특히 추출물을 600 ug/ml 이하의 농도로 처리하였을 때는 대보다 갓의 세포생존율이 높게 나타났으나 800 ug/ml 이상의 농도로 처리하였을 때는 갓보다 대의 세포 생존율이 더 증가하는 경향을 나타내었다. 이 결과는 B16/F10 melanoma cell에 차가버섯 메탄올 추출물을 처리할 경우 추출물의 처리 농도가 증가할수록 세포생존율이 감소한다는 Guk 등(2013)의 보고와 상반되는 결과로써 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물이 세포의 성장이나 분화를 촉진할 수 있는지에 관한 추가적인 연구가 필요하다.

적 요

본 연구에서는 기능성 식품 및 화장품 소재로써 갈색 느티만가닥버섯(*Hypsizygos marmoreus*)의 이용 가능성을 조사하기 위해서 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 항산화 활성 및 tyrosinase 저해 효과를 갓(pileus)과 대(stipes)로 분리하여 부위별로 조사

하였다. 메탄올 추출물 중 갓과 대의 총 폴리페놀 함량은 각각 8.7 ± 3.27 ug/mg과 5.6 ± 2.85 ug/mg이었고 플라보노이드 함량은 각각 2.8 ± 3.81 ug/mg과 1.4 ± 1.95 ug/mg이었으며 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량 모두 대보다 갓에서 높게 나타났다. Tyrosinase 저해 활성은 추출물의 농도에 따라 증가하는 경향을 나타내었으나 양성 대조군으로 사용한 2% 알부틴(arbutin)과 비교했을 때 1200 mg/ml의 고농도에서도 갓은 66.9%, 대는 57.97%의 낮은 저해 활성을 나타내었다. 항산화 활성은 DPPH에 의한 라디칼 소거 활성을 측정하여 확인하였으며 갓과 대의 DPPH 라디칼 소거능은 20 mg/ml의 농도에서도 각각 52.55%와 30.35%로 낮게 나타났다. 추출물이 B16BL6 mouse melanoma cell에 미치는 영향을 알아보기 위해 WST-1 assay (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulphonate)를 이용하여 세포생존율을 조사하였으며 갓과 대 모두 200-2,000 ug/ml의 농도로 처리하였을 때 100% 이상의 생존율을 나타내었고 추출물의 처리 농도가 증가함에 따라 세포생존율도 증가하는 경향을 나타내었으며 양성대조군인 0.04% adenosine을 처리한 경우보다 높게 나타났다.

감사의 말씀

본 연구는 2012년 경남과학기술대학교 기성회연구비 지원사업에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 홍명희, 2013. 시판버섯의 부위별 항산화활성 및 활성성분에 관한 연구. 석사학위논문. 성신여자대학교.
- Aburjai, T. and Natshen, F. M. 2003. Plants used in cosmetics. *Phytother. Res.* **17** : 987-1000.
- Aitken, R. J., Buntingham, D. and Harkiss, D. 1993. Use of xanthine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effect of reactive oxygen species on human spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* **97** : 441-450.
- Barros, L., Ferreira, M. J., Ferreira, I. C. F. R. and 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.
- Baublis, A. J., Lu, C., Clydesdale, F. M. and Decker, E. A. 2000. Potential of wheat-based breakfast grains as a source of dietary antioxidants. *J. Am. Coll. Nutr.* **19** : 308S-311S.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* **181** : 1199-1200.
- Branien, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52** : 59-63.
- Cha, J. Y. 2009. Functional components and biological activities of marketing black garlic. MS Thesis. Gyengsang National University.
- Chang, S. T., Buswell, J. A. and Chiu, S. W. 1993. Mushroom biology and mushroom product. The Chinese University Press. Hong Kong pp. 3-17.
- Chang, T. and Miles, P. G. 1989. Edible mushrooms and their cultivation. CRC press. pp. 27-40.
- Chen, H. Y., Lin, Y. C. and Yen, G. C. 2007. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guauva* L.) leaves. *Food Chem.* **101** : 686-694.
- Droge, W. 2001. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* **82** : 47-951.
- Ferreira, I., Barros, L. and Abreu, R. 2009. Antioxidants in wild mushrooms. *Current med. Chem.* **16** : 1543-1560.
- Feskanich, D., Ziegler, R. G., Michaud, D. S., Giovannucci, E. L., Speizer, F. E., Willett, W. C. and Colditz, G. A. 2000. Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *J. Natl. Cancer Inst.* **92** : 1812-1823.
- Francoeur, A. M. and Assalian, A. 1996. Microcat: A novel cell proliferation and cytotoxicity assay based on WST-1. *Biochemica.* **3** : 19-25.
- Guk, M. H., Kim, D. H., Lee, C., Jeong, E. S., Choi, E. J., Lee, J. S. and Lee, T. S. 2013. Antioxidant and skin whitening effects of inonotus obliquus methanol extract. *J. Mushroom Sci. Prod.* **11** : 99-106.
- Halliewell, B. and Gutteridge, J. M. 1990. Roles of free radicals and catalytic metal ions in human disease. An overview, *Methods Enzymol.* Fleischer, S. and packer, L. (eds.). Academic Press, New York, USA. **186** : 1-12.
- Hearing, V. J. and Ekel, T. M. 1976. Mammalian tyrosinase. *Biochem. J.* **157** : 549-557.
- Hirase, S., Nakai, S. and Akstus, T. 1976. Structure studies on the antitumor active polysaccharides from *Coriolus versicolor* (Basidiomycetes). I. Fractionation with barium hydroxide. *Yakugaku Zasshi.* **96** : 413-418.
- Ikekawa, T. 1995. Bunashimeji, *Hypsizygus marmoreus* antitumor activity of extracts and polysaccharides. *Food Rev. Int.* **11** : 207-209.
- Kim, D. J., Oh, S. K., Yoon, M. R., Chun, A. R., Hong, H. C., Lee, J. S. and Kim, Y. K. 2010. Antioxidant compounds and antioxidant activities of the 70% ethanol extracts from brown and milled rice by cultivar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39** : 467-473.
- Langton, A. K., Sherratt, M. J., Griffiths, C. E. and Watson, R. E. 2010. A new wrinkle on old skin: the role of elastic fibres in skin ageing. *Int. J. Cosmet. Sci.* **32** : 330 - 339.
- Lee, M. and Oh, S. I. 2007. S Antioxidative stress and antimutagenic effects of *Lentinus edodes* ethanol extracts. *Korean J. Food & Nutr.* **20**:341-348.
- Lee, J. S., Bolormaa, Z., Kim, M. K., Seo, G. S. and Lee, Y. W. 2011. Screening and physiological functionality of *Hypsizygus marmoreus* (White Cultivar) fruiting body. *Korean J of Mycol.* **39** : 185-188.

- Matsuzawa, T., Sano, M., Tomita, I., Saitoh, H., Ohkawa, M. and 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.
- Montonen, J., Knekt, P. R., Jarvinen, R., Aromaa, A. and Reunanen, A. 2003. Whole-grain and fiber intake the incidence of type 2 diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.* **77** : 622-629.
- Nita, A. and Young, A. R. 2005. Melanogenesis: A photoprotective response to DNA damage? *Mutation Research*. **571** : 121-132.
- Ohashi, H. 2010. Trends of mushroom production and marketing. InL "Annual report of mushroom 2010" (ed. by Ohashi, H.). p. 18. Plant's world Co. Ltd. Tokyo. Japan.
- Singleton, V. L. 1981. Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. *Adv. Food Res.* **27** : 149-242.
- Tomita, K., Oda, N., Ohbayashi, M., Kamei, H., Miyaki, T. and Oki, T. 1990. A new screening method for melanin biological synthesis inhibitor using *Streptomyces bikiniensis*. *J. Antibiotics*. **43** : 1601-1605.
- Verckei, A., Toncsev, H., Feher, J. and Hajdu, E. 1992. Relationship between the extent of coronary artery disease and indicators of free radical activity. *Clin. Cardiol.* **15** : 706-707.
- Yang, C. S., Landau, J. M., Hung, M. T. and Newmak, H. L. 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu. Rev. Nutr.* **21** :3 81-406.
- Yoon, K. N., Lee, K. R., Shin, P. G., Cheong, J. C., Yoo, Y. B. and Lee, T. S. 2011. Antioxidant and antityrosinase activities of various extracts from the fruiting bodies of *Lentinus lepideus*. *Molecules*. **16** : 2334-2347.
- Zanabaatar, B., Kang, M. G., Seo, G. S., Lee, Y. W. and Lee, J. S. 2012. Analysis of nutritional characteristics and physiological functionality of *Hypsizygus marmoreus* (Brown cultivar). *Kor. J. Mycol.* **40** : 104-108.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1998. The determination flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. **64** : 555-559.