

Antioxidant activity and total polyphenolics of Shiitake Mushroom extracts(*Lentinus edodes*)

Hee Hwan Lee, Jae Soon Jang and Eock Kee Hong

School of Biotechnology and Bioengineering Kangwon National University
Tel(033) 250-6275, FAX(033) 243-6350

Abstract

Methanol and water crude extracts, crude polysaccharides and crude polysaccharides-free of water crude extracts from Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) were investigated for their antioxidant capacity in total polyphenolics and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity. Total polyphenolics in the crude polysaccharides-free of water crude extracts were higher than that of the other ones. And crude polysaccharides-free of water crude extracts and water crude extracts show high on DPPH free radical scavenging activity. Positive correlations were found between total polyphenolics and their antioxidant activity.

서론

최근 노화 및 암 발병의 주된 요인 중 하나로 알려진 자유라디칼(free radical)은 superoxide anion radical, hydroxy radical, 과산화수소와 같은 활성 산소종의 산화적 대사산물로, 현대인에게는 이들 화성산소종이 체내에 축적될 기회가 많아 효소적, 비효소적인 방어 시스템에 의하여 정상적으로 소거되지 않으면 이로 인한 산화적 스트레스를 받을 수 있다. 이들 자유 라디칼은 생체내에서 단백질, 생체막, DNA 등에 작용하여 세포막 구성성분인 불포화지방산을 공격하여 과산화반응을 일으켜 체내 과산화 지질을 생성하고, DNA의 산화적 손상으로 암을 비롯한 뇌질환, 심장질환, 동맥경화, 염증, 노화 등 각종 질병이 유발될 수 있다. 이에 지금까지 항산화 성 효과와 경제성을 겸비한 페놀계 합성물질인 부틸화히드록시톨루엔(butylated hydroxytoluene)과 부틸화히드록시아니솔(butylated hydroxyanisole)이 많이 사용되어왔는데 이들이 장기간 사용시 체내에 축적되어 부작용

을 일으키는 인체에 대한 유해성이 보고되면서 사용이 점차 감소하고 있는 추세이다. 그러므로 천연물을 이용한 보다 안전한 항산화제 연구에 많은 관심이 이루어져 여러 생약재, 각종 식용식물이나 해초류, 향신료, 수산물 그리고 버섯 등에서 항산화 효과가 확인되었다. 그중 버섯류는 진균류에 속하는 담자균과 자낭균 중 자실체를 형성하는 고등균류로서 탄수화물, 단백질, 지질, 무기질 및 비타민 등의 영양소를 골고루 함유하고 있을뿐더러 독특한 향미성분과 약리효과 때문에 예로부터 널리 이용되고 있으며, 항산화, 항암, 생체기능조절, 혈당강하, 콜레스테롤 저하, 성인병 등에 대한 예방 및 개선효과 등의 여러 생리활성도 보고되고 있다. 또한 버섯의 phenolic compound는 이미 돌연변이 유발의 부작용도 없고 동맥경화와 항암 그리고 최근에는 콜레스테롤 저하효과도 있는 훌륭한 항산화제로 알려져 있다.

이에 본 연구에서는 표고버섯 추출물의 효능성분을 탐색하기 위하여 각각의 용매로 추출물을 제조한 다음 이들 추출물에 대한 항산화물질로 유력한 polyphenol의 함량과 항산화 물질의 가장 특징적인 역할 중 하나인 라디칼 소거능을 검정하여 그 관계를 알아보기 위하여 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 건조표고버섯(*Lentinus edodes*)은 경동시장에서 구입하여 분쇄기로 분말화한 후 사용하였다.

Extract 제조와 다당체(polysaccharide)와 다당체 제거물의 분리

표고버섯 분말 1g에 각각의 추출용매(Methanol, water) 50mL을 넣고 상온에서 추출하였다. 열수의 경우는 90℃로 유지된 항온수조에서 추출 하였다. 추출액의 분리를 위하여 여과지(Whatman # 4) 이용하여 여과 후 건조 하였다. 또한 다당체 부분과 다당체를 제거한 부분의 분리를 위해 열수추출을 수행한 추출액을 여과지(Whatman # 4)를 이용하여 여과후 여과액을 농축한 후 4배량의 에탄올(순도 95%이상)을 넣고 4℃에서 24시간동안 침전 대기하였다. 그리고 원심분리를 통하여 상등액과 침전물로 분리하여 상등액은 에탄올을 제거한 후 동결건조하여 crude polysaccharides를 제거한 부분을 얻었고, 침전물은 소량의 증류수로 침전물을 녹인 후 dialysis tube(MWCO: 12,400 Da)에 넣고 7일간 투석을 실시하고

침전물을 여과하여 제거하고 동결건조하여 crude polysaccharides를 분리하였다.

Total phenolics 과 DPPH radical 소거능 측정

분리한 각각의 sample들의 total phenolics 함량을 Folin-Denis의 방법을 응용하여 측정 하였다. 각 sample 1mL에 Folin-ciocalteu용액 1mL을 가한 후 3분 후에 Na_2CO_3 (10%) 1mL을 첨가하여 vortex mixer로 진탕하여 60분간 반응 시킨 후, spectrophotometer를 사용하여 700nm에서 흡광도를 측정 하였다. 그리고 DPPH 라디칼 소거능의 측정은 0.1mM DPPH(methanol) 0.5mL에 각 sample 1mL씩을 가한 후 spectrophotometer를 사용하여 520nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 이것을 시료 첨가구와 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 사용하여 백분율로 나타내었다.

결과 및 고찰

Extract 제조와 다당체(polysaccharide)와 다당체 제거물의 분리

표고버섯을 각각의 용매에 추출한 결과와 열수추출물에서 다당체와 다당체를 제거하여 분리한 결과는 Fig. 1과 같이 나타났다. 열수로 추출한 경우가 342mg으로 높았고 메탄올은 284mg으로 나왔다. 열수추출물에서 다당체 부분은 62mg으로 다당체를 제거하여 분리한 부분은 190mg으로 나타났다.

Total phenolics 과 DPPH radical 소거능 측정

각각의 sample의 total phenolics를 측정한 결과는 Fig. 2와 같이 나타났다. 열수 추출물에서 crude polysaccharides를 제거한 부분이 3.94로 가장 높게 나타났다. 열수로 추출한 경우가 3.08로 높았고, 메탄올과 crude polysaccharides는 각각 2.72, 0.85로 나타났다. 전자공여 작용은 활성라디칼에 전자를 공여하여 식품중의 지방질 산화를 억제할 뿐만 아니라, 인체내에서 활성라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용을 목적으로 이용되어지고 있다. DPPH radical 소거능으로 측정한 결과는 Fig. 3과 같이 나타났다. crude polysaccharides를 제거한 부분(10mg/mL)이 83%로 가장 높게 나타났다. 열수로 추출한 경우가 78%로 높았고, 메탄올과 crude polysaccharides는 각각 16%, 5%로 나타났다. Total phenolics가 높은 sample에서 높은 라디칼 소거능 즉, 높은 항산화 활성을 보였다. 이로 보아 표고버섯의 황산화 활성에 영향을 미치는 성분에 polyphenol이 큰 비중을 차지하고 있음을 알 수 있었다.

References

1. 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.
2. Kim, H.J., J.T. Bae, J.W. Lee, M.H. Hwang Bo, H.G. Im, and I.S. Lee,(2005) : Antioxidant activity and inhibitive effects on human leukemia cells of edible mushrooms extracts. /Korean J. Food Preserv, /Vol. 12, No. 1. 80-85.
3. Park, K.M. and B.W. Lee,(1998) : Extraction and purification of antitumor protein-bound polysaccharides from mycelia of *Lentinus edodes*. /Korean J. Food Sci. Technol., /30(5) 1236-1242.

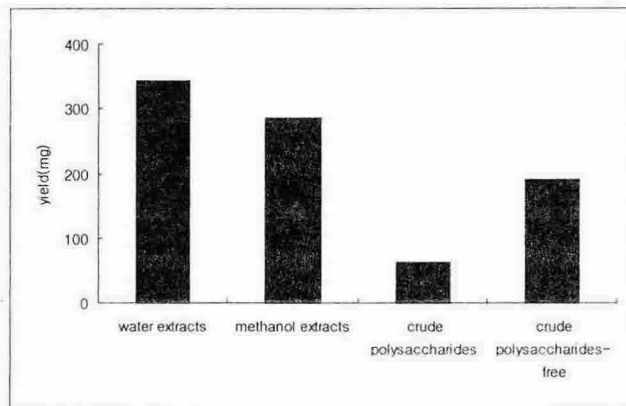


Fig. 1 Comparison of extraction yields extracted by various solvents.

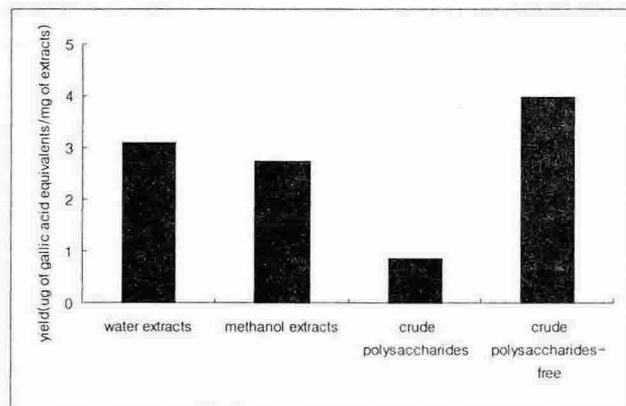


Fig. 2 Comparison of total polyphenolic contents extracted by various solvents.

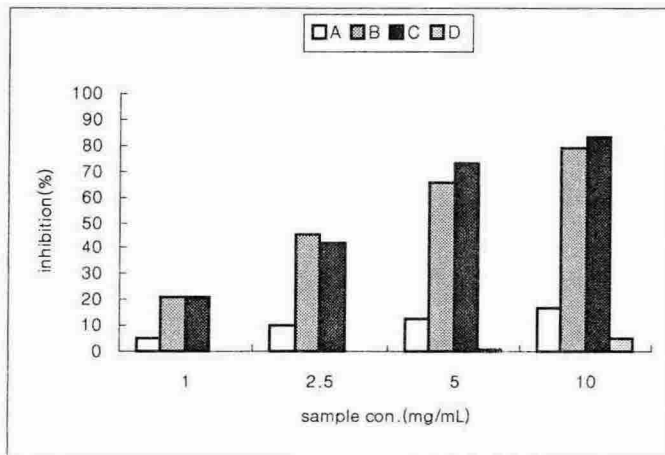


Fig. 3 Comparison of DPPH radical scavenging activity extracted by various solvents at different concentrations.

A: water extracts

B: methanol extracts

C: crude polysaccharides-free

D: crude polysaccharides