

동충하초의 항산화작용 및 아질산염 소거작용

박찬성 · 권충정 · 최미애* · 박금순** · 최경호***

경산대학교 생명자원공학부, *양산대학 식품가공제과제빵과, **대구가톨릭대학교 가정관리학과,
***대구가톨릭대학교 식품영양학과

Antioxidative and Nitrite Scavenging Activities of *Cordyceps militaris* Extracts

Chan-Sung Park, Choong-Jung Kwon, Mi-Ae Choi*, Geum-Soon Park** and Kyoung-Ho Choi***

Faculty of Life Resources Engineering, Kyungsan University, Kyngsan 712-715, Korea

*Department of Food Processing and Baking, Yangsan College, Yangsan 626-040, Korea

**Department of Home Management, Catholic University of Daegu, Kyungsan 712-900, Korea

***Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu, Kyungsan 712-900, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate antioxidative and nitrite scavenging activities of extracts of *Cordyceps militaris*. Fruiting body and mycelia of artificially cultivated *Cordyceps militaris* were extracted with water and 70% ethanol. In *Cordyceps militaris* mycelia, electron donating ability (EDA) of water extract ranged from 37% to 47% and ethanol extract ranged from 57% to 70% at 300~1,000 ppm. In *Cordyceps militaris* fruiting body, EDA of water extract and ethanol extract were similar, ranged from 19% to 48% at 300-1,000 ppm. Nitrite scavenging ability (NSA) of extracts measured at various pH (1.2, 3.0, 4.2, 6.0) was the highest at pH 1.2 and decreased with increasing pH, suggesting it is pH dependent. In *Cordyceps militaris* mycelia, NSA of water extract 1,000 ppm was 23% and that of ethanol extract 1,000 ppm was 37% at pH 1.2. In *Cordyceps militaris* fruiting body, NSA of water extract 1,000 ppm was 12% and that of ethanol extract 1,000 ppm was 37% at pH 1.2. EDA and NSA of *Cordyceps militaris* were higher in extract of mycelia than fruiting body and higher in ethanol extract than water extract of each part.

Key words : *Cordyceps militaris*, mycelia, fruiting body. antioxidative activity, nitrite scavenging activity

서 론

천연식품의 일종인 버섯은 자실체를 가진 고등균류로서 옛날부터 식용은 물론 약용으로 많이 사용되어 왔으며 부작용이 없는 저칼로리 식품으로서, 영양적인 측면과 의약품으로서의 효능을 가진 "wholesome food"로 인식되어 소비량이 날로 증가하는 추세이다(1,2).

최근 많은 종류의 버섯이 항균작용(3,4), 항암작용(3-5), 항산화 작용(6-8)과 아질산염 소거능(6,9) 등의 다양한 기능성을 나타낸 것으로 보고되고 있으며 특히 버섯류는 일반 항암요법제와는 달리 뚜렷한 부작용이 없으며, 면역기능을 증강시킴으로써 항암력을 나타낸다는 점에서 새로운 항암 면역요법제로 관심의 대상이 되고 있다(5).

천연물질중에 함유된 페놀성 물질은 여러 가지 기능성 생

리활성을 가진 대표적 물질로 보고되고 있는데(10, 11), 이 등(6)은 버섯의 페놀성 성분을 추출하여 얻은 butanol 분획물에서 강력한 전자공여작용이 있음을 보고하여, 버섯으로부터 분리된 항산화 물질들은 유지의 자동 산화방지와 노화억제라는 측면에서 유익한 작용을 할 것으로 기대하고 있다.

동충하초는 동충하초균이 곤충의 몸속에 들어가 죽고 얼마 후 자실체를 형성하는 버섯의 일종으로서(12) 중국 육상선수들이 동충하초를 먹고 기록을 갱신했다는 사실이 밝혀진 후 동충하초에 대한 관심이 무척 높아지게 되어 천연 동충하초는 점점 희귀성이 심하게 되었다(13). 이런 문제를 해결하고자 중국 및 유럽에서는 동충하초의 균사체를 배양하여 분말, 캡슐, 정제, 환제, 음료 등 식·의약품과 주류 등을 생산, 판매하고 있다(14).

중국에서는 동충하초 균사체를 배양하여 그 효능을 자실체와 비교한 결과 거의 차이가 없는 것으로 보고되었으며(15) 우리나라에서도 많은 담자균류의 균사체와 자실체가 모두 우수한 항암효과 및 면역활성을 증가시키는 것으로 보고(16)된 이래 버섯류 균사체의 배양이 활기를 띠고 있다

Corresponding author : Chan-Sung Park, Faculty of Life Resource Engineering Kyungsan University, Kyungsan 712-715, Korea
E-mail: parkcs@kyungsan.ac.kr

(17). 우리나라에서는 누에나 번데기를 기주로 하여 동충하초를 재배하고 있는데, 번데기동충하초(*C. militaris*)는 동충하초의 유효성분인 *cordycepin*을 다량 함유한 것으로 알려져 있으며(14) 이들 인공 재배 동충하초의 항산화효과(7, 8)와 항 돌연변이원성효과(18, 19) 등이 보고되어 있다.

본 연구는 질병의 예방에 기여할 수 있는 기능성 발효음료의 개발을 위한 부재료로서, 번데기동충하초를 이용할 목적으로, 동충하초의 균사체와 자실체를 각각 물과 70% 에탄올로서 추출하여 항산화작용과 아질산염 소거능을 조사하여 건강음료의 제조를 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

재료

(주)KBF(김해시 소재)에서 인공재배한 번데기동충하초를 균사체와 자실체로 나누어 건조한 것을 제공 받아서 실험에 사용하였다.

시료의 제조

시료의 추출은 시료의 20배량의 용매로서 물추출물은 80°C, 에탄올 추출물은 70% 에탄올로서 70°C에서 3시간씩 2회 반복 추출하였다. 추출한 시료는 환류냉각관을 가진 진공증발 농축기로서 농축한 후 동결건조하여 사용하였다.

전자공여능 측정

전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Blois의 방법(20)으로 측정하였다. 각 추출시료 0.2 mL에 4×10^{-4} M DPPH용액 0.8 mL를 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕하여 10분 후 분광광도계로서 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도의 백분율로 나타내었다.

아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능(Nitrite scavenging ability, NSA)은 Gray와 Dugan의 방법(21)으로 측정하였다. 즉, 1m M NaNO₂용액 1 mL에 각 추출시료 0.2 mL를 가한 후 0.2 N 구연산 완충액을 사용하여, 반응용액의 pH를 1.2, 3.0, 4.2, 6.0으로 조정하여 반응용액의 부피를 10 mL로 조정하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간동안 반응시킨 후 각각 1 mL씩 취하고 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 다음, Griess 시약 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시킨 다음 15분간 방치시킨 다음 분광광도계로서 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산의 양을 구하였다.

결과 및 고찰

균사체와 자실체의 전자공여능

Fig. 1은 번데기동충하초 균사체의 물추출물과 에탄올 추출물의 전자공여능을 측정된 결과로서 물추출물은 100 ppm에서 약 33%, 300, 500 ppm에서 약 37%, 1,000 ppm에서 약 47%의 전자공여능을 나타내었다. 에탄올 추출물은 100 ppm에서 약 22%, 300 ppm에서 59%, 500 ppm에서 약 57%, 1,000 ppm에서 약 70%의 전자공여능을 나타내어 100 ppm을 제외한 300~1,000 ppm에서는 에탄올 추출물의 전자공여능이 물추출물에 비하여 약 1.5배 높았다.

균사체 에탄올추출물의 전자공여능은 김과 박(22)이 보고한 석이버섯의 ethyl acetate와 dimethylether 분획물의 전자공여능과 비슷한 수준이었다. 한편, 최 등(23)은 95종의 식물과 에탄올추출물, 정과 노(24)는 herb의 물과 메탄올추출물로서 항산화능을 조사한 결과에서도 물추출물에 비하여 에탄올과 메탄올추출물이 우수한 항산화능을 나타낸 것으로 보고하여 본 연구 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

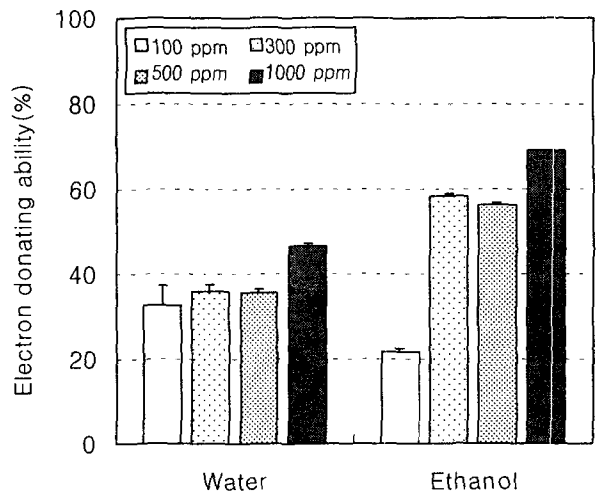


Fig. 1. Electron donating ability of mycelia extracts in *C. militaris*.

Fig. 2는 번데기동충하초 자실체 추출물의 전자공여능을 측정된 결과로서 물추출물과 에탄올 추출물 모두 100~500 ppm에서 30% 미만의 전자공여능을 나타내었으며 물추출물이 에탄올추출물보다 약간 높은 경향이었으나 그 활성은 농도의존적이지 않았다. 추출물 농도 1,000 ppm에서는 물과 에탄올추출물 모두 약 48%로서 두 추출물 간에는 비슷한 활성을 나타내었다. 자실체 에탄올 추출물의 전자공여능은 균사체 에탄올 추출물의 전자공여능(Fig. 1)에 비하여 훨씬 낮은 편이었다.

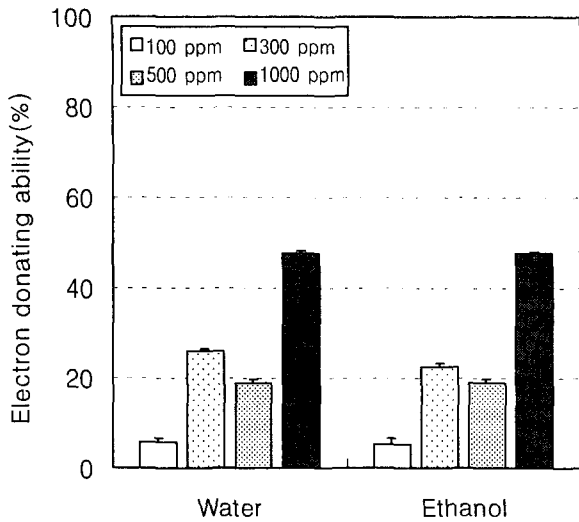


Fig. 2. Electron donating ability of fruiting body extracts in *C. militaris*.

위의 결과(Fig. 1, 2)에서 동충하초는 균사체와 자실체 추출물 모두 전자공여능이 있었는데 권 등(8)은 변태기동충하초의 건분과 물추출물로서 흰쥐의 지방대사, 항산화 및 면역능에 미치는 효과를 검토한 결과, 물추출물과 건분 모두 항산화 및 면역기능이 높은 것으로 밝혀졌으며 동충하초 내에는 SOD기능을 대체하거나 수행할 수 있는 성분이 있어 여러 가지 free radical을 직접적으로 포착(scavenging)할 것으로 추정하였다. 본 연구결과에서 균사체의 에탄올추출물이 가장 큰 항산화효과를 나타내었는데 이는 버섯이나 식물의 종류에 따라 활성을 나타내는 성분이 다르기 때문에 가장 적합한 용매를 사용하여 추출하는 것이 중요하다고 생각된다.

균사체의 아질산염 소거능

Fig. 3은 변태기동충하초 균사체 물추출물의 아질산염 소거능을 pH 1.2~6.0 범위에서 측정한 결과로서 소거능은 시험한 모든 pH에서 추출물의 농도증가에 따라 농도의존적으로 증가하였다. 100~1,000 ppm 범위에서의 소거능은 pH 1.2에서 17~23%로서 가장 컸으며, pH 3.0에서 4~14%였으나 pH 4.2와 6.0에서는 모두 10% 미만으로서 pH의 증가에 따라 소거능은 감소하였다.

Fig. 4는 균사체 에탄올추출물의 아질산염 소거능으로서 pH 1.2에서는 농도의존적으로 소거능이 증가하였으나 500 ppm에서도 17%에 불과하였다. 그러나 1,000 ppm에서는 37%로 증가하여 균사체의 물추출물(Fig. 3)에 비하여 약 1.5배 높은 소거능을 나타내었다. pH 3.0 이상에서는 100~1,000 ppm 범위에서의 소거능은 모두 10% 미만으로서 농도의존적이지 않았으며 물추출물보다 낮은 소거능을 나타내었다.

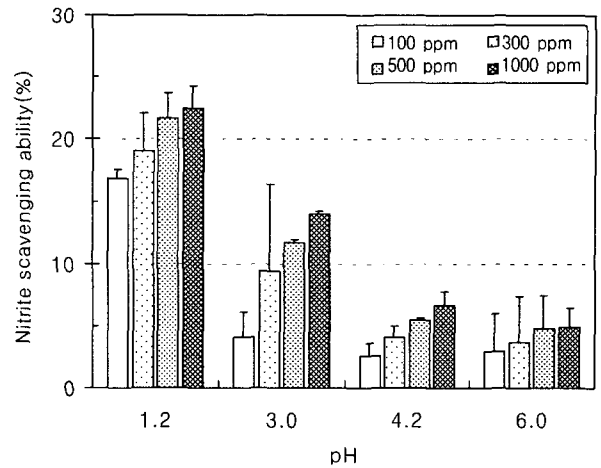


Fig. 3. Nitrite scavenging ability of water extract in mycelia of *C. militaris* at various pH.

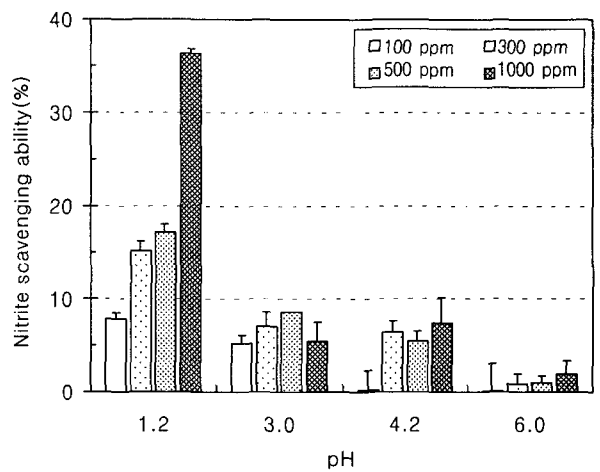


Fig. 4. Nitrite scavenging ability of ethanol extract in mycelia of *C. militaris* at various pH.

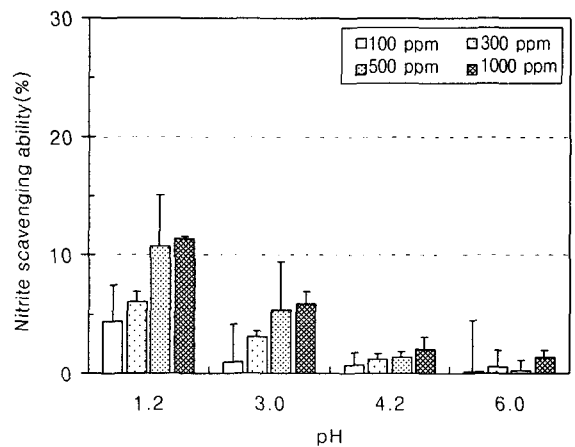


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of water extract in fruiting body of *C. militaris* at various pH.

자실체의 아질산염 소거능

번데기동충하초 자실체 물추출물의 아질산염 소거능은 Fig. 5와 같이 pH 1.2 - 6.0 범위에서 거의 모든 pH에서 추출물의 농도에 따라 농도의존적으로 증가하였으나 전체적으로 소거능이 대단히 낮은 편이었다. pH 1.2에서 500 ppm과 1,000 ppm의 소거능은 각각 11%, 12%로서 균사체 물추출물의 약 절반에 불과하였다.

Fig. 6은 자실체 에탄올추출물의 아질산염 소거능으로서 pH 1.2에서는 농도의존적으로 소거능이 증가하였으나 pH 3.0, 4.2, 6.0에서는 농도의존적이지 않았다. pH 1.2에서 자실체 에탄올추출물의 아질산염 소거능은 100, 300, 500, 1,000 ppm에서의 각각 8, 15, 17, 37%로서 균사체 에탄올추출물의 소거능(Fig. 4)과 거의 비슷한 수준이었다.

김과 박(22)은 8종류의 식용 버섯 자실체로서 아질산염 소거능을 조사한 결과, 버섯중 석이버섯이 가장 우수한 아질산염 소거능을 나타내었으며 추출용매는 ethyl acetate 획득 400 ppm 농도에서 약 40%의 소거능을 나타내었으나 chloroform, diethylether, butanol 분획물에서는 20% 미만의 활성을 나타낸 것으로 보고 하였다. 한편, 이 등(6)의 연구에서 양송이버섯 추출물에서 butanol추출물이 43%의 소거능을 나타낸 반면에 diethylether추출물은 소거능이 약 5%에 불과하여 추출용매에 따라 큰 차이가 있는 것으로 보고하였다.

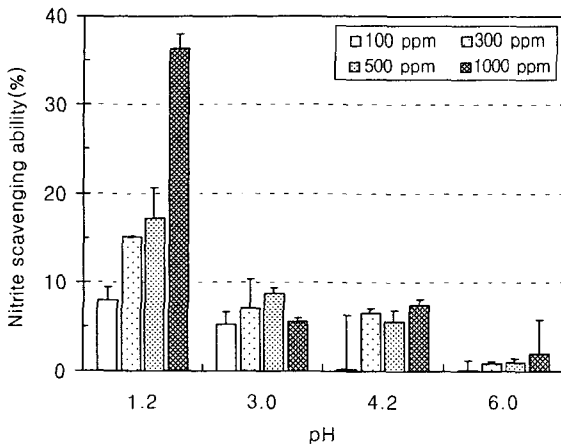


Fig. 6. Nitrite scavenging ability of ethanol extract in fruiting body of *C. militaris* at various pH.

이상의 결과(Fig. 3~Fig. 6)를 종합해보면, pH 변화에 따른 각 추출물의 소거능은 pH 1.2에서 가장 강하였고 pH의 증가에 따라 점차 감소하였는데, 정 등(25)은 녹즙추출물, 강 등(26)은 페놀성 화합물에서도 거의 같은 경향을 나타내었다. 아질산염은 식품제품에 발색제나 보존제로 이용되고 있으나 식품 중의 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성하는데 pH가 낮은 조건에서 반응이 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있으며(21) 본 실험 결과에서 pH 1.2에서 아

질산염 소거작용이 높았던 점으로 미루어 생체내에서도 nitrosamine의 생성을 억제할 것으로 추정된다.

본 실험에서 번데기동충하초 추출물의 기능성은 전자공여능과 아질산염 소거능 모두 균사체가 자실체보다 우수한 편이었다. Gregory 등(27)은 북미와 유럽지역에서 채집한 버섯의 자실체와 이들로부터 분리한 균사 배양물의 항암실험에서, Manabe 등(15)은 쥐의 간장 에너지 대사에 미치는 효능이 자실체와 차이가 없는 것으로 보고하였다. 우리나라에서도 신 등(16)이 영지버섯의 자실체와 배양 균사체가 모두 우수한 항암효과 및 면역활성을 증가시키는 것으로 보고하여 앞으로 버섯의 자실체를 대신할 수 있는 균사체의 배양이 더욱 활발해 질 것으로 판단된다.

요 약

인공재배한 번데기동충하초의 균사체와 자실체를 각각 물과 70% 에탄올로서 추출하여 전자공여능과 아질산염 소거능을 조사하였다. 균사체 추출물의 전자공여능은 300~1,000 ppm의 물추출물에서 37~47%였으나, 에탄올추출물에서 57~70%로서 에탄올 추출물이 우수하였다. 자실체 추출물의 전자공여능은 300~1,000 ppm에서 물추출물과 에탄올추출물 모두 19~48%로서 균사체 추출물에 비하여 낮은 편이었다. 아질산염 소거능은 pH 1.2, 3.0, 4.2, 6.0에서 측정된 결과, pH 1.2에서 가장 높았으며 pH 증가에 따라 감소하였다. 균사체 추출물의 아질산염 소거능은 pH 1.2에서 1,000 ppm의 물추출물은 23%, 에탄올추출물은 37%로서 에탄올 추출물이 우수하였다. 자실체 추출물의 경우에는 pH 1.2, 1,000 ppm 농도에서 물추출물은 12%, 에탄올추출물은 37%의 아질산염 소거능으로서 에탄올추출물이 우수하였다. 전자공여능과 아질산염 소거능에서 균사체 추출물이 우수하였으며 용매별로는 에탄올 추출물이 물추출물보다 우수하였다.

감사의 글

본 연구는 1999년 한국과학재단 산학협력연구(1999-21100-001-2) 결과의 일부로서 연구비 지원에 깊이 감사드립니다.

참고문헌

- Mizuno, T. (1995) Bioactive biomolecules of mushroom fungi. *Food Rev. Int.*, 11, 7-21.
- Ota, S. (1984) Shiitake (*Lentinus edodes*). *New. Food Industry*, 26, 49

3. 하여득 (2001) 저령추출물의 항암, 항산화 및 항균효과. 농산물저장유통학회지, 8, 481-487
4. 김성환 (1998) 영지버섯 다당체의 항미생물작용 및 항암 작용에 관한 연구. 한국식품영양과학회지, 27, 1183-1188
5. 조희정, 심미자, 최응칠, 김병각 (1985) 한국산 고등 균류의 성분 연구(제 57보) : 구름버섯의 항암성분. 한국균학회지, 16, 162-169
6. 이기동, 장학길, 김현구 (1997) 버섯류의 항산화성 및 아질산염 소거작용. 한국식품과학회지, 29, 432-436
7. 김미남, 오상화, 이득식, 함승시 (2001) 번데기 동충하초의 에탄올 추출물의 항산화성 및 항돌연변이원성 효과, 농산물저장유통학회지, 8, 109-117
8. 권상희, 우희종, 한대석, 감미경 (2001) 동충하초의 건분 및 물추출물이 흰쥐의 지방대사, 항산화 및 면역능에 미치는 효과, 한국영양학회지, 34, 271-284
9. 정은재 (1998) 석이버섯 용매 추출물의 항산화 및 아질산염 소거작용. 식품영양학회지, 11, 426-430
10. Avena, S.L. and Hinoat, L.V. (1977) Ferulic acid and other phenolics in oat seeds. J. Food Sci., 42, 551-554
11. Kozloska, H. and Zadernowski, R. (1983) Phenolic acids in rapeseed and mustard. J. Am. Oil Chem. Soc., 60, 1119-1122
12. 성재모, 이현경, 유영진, 최영상, 김상희, 김용욱, 성기호 (1998) 단백질 분석을 기초로 한 Cordyceps속 동충하초의 분류. 한국균학회지, 26, 1-7
13. 한대석, 송효남, 김상희 (1999) 동충하초 : 새로운 기능성식품 소재. 식품과학과 산업, 32, 56~63
14. 한대석, 송효남, 김영언 (1999) 동충하초의 현황, 문제점 및 연구방향. 식품과학과 산업, 32, 67-71
15. Manabe, N., Sugimoto, M., Azuma, Y., Taketomo, N., Yamashita, A., Tsuboi, H., Tsunoo, A., Kinjo, N., Nian-Lai, H., and Miyamoto, H. (1996) Effects of the mycelial extract of cultured Cordyceps sinensis on in vivo hepatic energy metabolism in the mouse. Jpn. J. Pharmacol., 70, 85-88
16. 신혜원, 김하원, 최응칠, 도상학, 김병각 (1985) 한국산 영지의 무기성분 및 면역 증강 작용에 관한 연구. 생약학회지, 16, 181-190
17. 성재모 (1996) 한국의 동충하초. 교학사, 서울, p.272-274
18. Wasser, S.P. and Weis, A.L. (1999) Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. Critical Rev. Immunol., 19, 65-96
19. 지정환, 김미남, 최근표, 정차권, 함승시 (2000) 아가리쿠스버섯(Agaricus blazei Murill) 추출물의 항돌연변이원성 및 세포독성효과. 한국식품과학회지, 32, 1371-1378
20. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature, 181, 1199-1200
21. Gray, J.I. and Dugan, Jr. L.R. (1975) Inhibition of N-nitrosoamine formation in model food systems. J. Food Sci., 40, 981-984
22. 김선희, 박찬성 (2001) 담자균 추출물의 항균작용 및 항산화작용. 농산물저장유통학회지, 8, 118-124
23. 최웅, 신동화, 장영상, 신재익 (1992) 식물성 천연 항산화 물질의 검색과 그 항산화력 비교. 한국식품과학회지, 24, 142-148
24. 정해정, 노경립 (2000) Herb 추출물의 전자공여능, 항균 활성 및 아질산염 소거능 검색. 한국조리과학회지, 16, 372-377
25. 정소영, 김낙경, 윤 선 (1999) 녹즙추출물의 아질산염 소거능에 대한 연구. 한국식품영양과학회지, 28, 342-347
26. 강윤한, 박용곤, 이기동 (1996) 페놀성 화합물의 아질산염 소거 및 전자공여 작용. 한국식품과학회지, 28, 232-239
27. Gregory, F.J., Healy, E.M., Agerborg, H.P.K., Jr. and Warren, G.H. (1966) Studies on antitumor substances produced by Basidiomycetes. Mycologia, 58, 80-90