

복령(*Poria cocos*) 균사체의 항산화성 및 아질산염 소거작용

김대곤[†] · 손동화^{*} · 최응규^{**} · 조영석^{***} · 김수민^{****}

대구산업정보대학 식품영양과, *대구산업정보대학 조리과,
^{**}(주) 티엠바이오텍, ^{***}롯데중앙연구소, ^{****}경산대학교 생명자원공학부

The Antioxidant Ability and Nitrite Scavenging Ability of *Poria cocos*

Dae-Gon Kim[†], Dong-Hwa Son^{*}, Ung-Kyu Choi^{**}, Young-Suk Cho^{***} and Soo-Min Kim^{****}

Dept. of Food Science and Nutrition, Daegu Polytechnic College, Daegu 706-711, Korea

^{*}Dept. of Food Science and Technology, Daegu Polytechnic College, Daegu 706-711, Korea

^{**}TM Bio-Tech Co., Ltd., Daegu 706-711, Korea

^{***}Lotte R&D Center, Seoul 150 866, Korea

^{****}Faculty of Life Resources Engineering, Kyungsan University, Kyungsan 712-715, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the efficacy of antioxidant ability and nitrite scavenging ability of *Poria cocos*. *Poria cocos* mycelium and *Poria cocos* fermented with rice were extracted with water and ethanol for measurement of degree of fat acidification against fish oil. Lower TBARS values of *Poria cocos* mycelium and *Poria cocos* fermented with rice were shown compared with control. Iron chelating ability of *Poria cocos* mycelium against Fe²⁺, Cu²⁺ was higher than *Poria cocos* fermented with rice. Electron donating ability of water extract and ethanol extract of *Poria cocos* mycelium were 76.8% and 79.9%, respectively. Higher nitrite scavenging ability was shown at ethanol extract than water extract of *Poria cocos* mycelium.

Key words: *Poria cocos*, antioxidant ability, electron donating ability, nitrite scavenging ability, iron chelating ability

서 론

버섯의 식품학적 가치로서는 독특한 맛과 향기를 지니고 있으면서 각종 영양소가 골고루 함유되어 있다는 점을 들 수 있으며 특히, 근래에는 식생활의 다양화와 함께 자연식품, 저칼로리 식품, 무공해식품의 선호추세로 인하여 버섯의 수요가 증대될 뿐 아니라 버섯에 관한 연구도 활발히 진행되고 있다(1).

복령은 소나무 뿌리에서 기생하는 갈색부후균으로서 분류학상 담자균아문(擔子菌亞門) 균심균강 민주름버섯목 구멍장이버섯과 복령속에 속하는 버섯류의 일종으로 이노작용, 진정작용, 심신수축 강화작용 등 각종 효능이 잘 알려져 있다(2).

복령에 관한 연구로는 Chihara 등(3)이 복령균사체에서 항암효과가 있는 pachymaran과 carboxymethyl pachymaran 등을 분리하였으며, Takao 등(4)은 항암물질인 U-pachymaran f를 검출하였다. Kanayama 등(5)은 mouse 종양 sarcoma 180에 대하여 강한 항종양 활성을 나타내는 물질 (1,3)-(1,6)-β D-glucan에 대해 보고하였고, Nukaya 등(6)은 복령 중의 triterpene 성분이 항구토, 항염증, 항피부암 등의 효과를 가

진 것으로 보고한 바 있다.

본 연구는 복령 균사체의 기능성 식품첨가물로서 이용하기 위한 기초자료로 복령균사체 및 복령을 배양한 쌀의 항산화성을 검토하고 육가공품에서 문제시되는 아질산염에 대한 소거작용을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 시약은 특급시약이고, trichloroacetic acid (TCA), Griess reagent(sulfanilic acid, naphthylamine) 등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)에서 구입하였고, 2-thiobarbituric acid(TBA)는 Eastern Organic Chemicals (Roochester, NY)에서 구입하였다.

균주 및 복령쌀 제조

실험에 사용한 균주는 경상북도 경주에서 채집한 복령(*Poria cocos*)을 재료로 배양한 뒤 분리하여 보존 중인 균주 중 가장 생육이 우수한 균주를 선별하여 PDA(potato dextrose agar)에서 25°C, 7일간 배양하였다. 복령쌀의 제조를

[†]Corresponding author. E-mail: dgkim@mail.tpic.ac.kr
Phone: 82-53-749-7020, Fax: 82-53-754-4548

위해서는 쌀에 1.3배의 증류수를 넣고 20분간 상온에서 방치한 후 121°C에서 20분간 멸균하고 상온으로 식힌 뒤 전배양한 복령균사체를 0.1%(v/w) 접종하여 25°C에서 7일간 발효시켰다.

시료조제

시료는 복령균사체와 복령쌀에 각각 100배의 증류수와 에탄올을 첨가하여 상온에서 10,000 rpm으로 균질화하였다. 균질액은 다시 10,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 그 상등액을 시료로 사용하였으며, BHA(buthyl hydroxy anisole)는 복령균사체와 쌀의 농도와 같은 1% 용액으로 제조하여 사용하였다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 측정

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)는 Buege와 Aust의 방법(7)에 따라 측정하였다. Oil emulsion은 사용하기 전에 만들고 pH 6.5로 보정한 0.1 M maleic acid buffer, 8 mL를 넣은 다음 50 µL의 Tween-20 과 0.5 mL 정도의 fish oil을 넣고 15분간 교반한 후 KOH 2~3 조각을 넣고 교반하면서 0.1 N HCl로 pH 6.5가 되도록 제조하여 사용하였다. Oil emulsion 0.5 mL에 시료와 50 ppm의 금속이온(Fe^{2+} , Cu^{2+})을 각각 0.1 mL씩 넣은 후 총 1 mL가 되게 증류수를 가하여 혼합물을 만들고, 혼합물이 채워진 시험관을 37°C water bath 에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝나자마자 50 µL dibutylhydroxytoluene(BHT) 7.2%를 시료에 가하여 산화반응을 정지시켰다. 반응혼합물을 잘 섞은 다음 2 mL TCA/TBA 시약을 가하고 다시 혼합 후 끓는 물에서 15분간 가열시켰다. 가열 후 찬물에서 식힌 후 2,000×g의 속도로 15분간 원심분리시켰다. 상등액의 흡광도를 분광광도계(Hitachi UV-2001)로 531 nm에서 측정하였고, 공시료는 시료 대신에 증류수를 가하여 같은 방법으로 측정하였다. TBARS값은 L 반응혼합물에 대해서 mg malondialdehyde (MDA)로 표시하였다.

전자공여능 측정

전자공여능은 Blois(8)의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 2 mL에 2×10^{-4} M DPPH 1.0 mL를 넣고 vortex 한 후 30분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 $100 - [(시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도) \times 100]$ 으로 나타내었다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 Marklund와 Marklund의 방법(9)에 따라 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris [hydroxymethyl] amino-methane + 10 mM EDTA) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여 $100 - [(시료첨가구의 흡광도/무첨가구의$

흡광도) × 100]으로 나타내었다.

아질산염 소거작용 측정

아질산염 소거작용 측정은 Kato 등(10)의 방법으로 1 mM $NaNO_2$ 용액 2 mL에 각 시료 1 mL를 가하고, 0.1 N HCl(pH 1.2), 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, pH 6.0)으로 각각 pH 1.2, 3.0, 6.0으로 보정한 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 2% 초산용액 2 mL와 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent(1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine = 1 : 1) 0.4 mL를 가한 후 vortex하여 실온에서 15분간 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Griess reagent 대신 증류수를 가하여 측정하였으며, 아질산염 소거능은 $100 - [(시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도) \times 100]$ 으로 나타내었다.

통계처리

통계처리는 각각의 시료에 대해 평균 ± 표준오차로 나타내었으며, 각 군에 따른 유의차 검증은 분산분석을 한 후 Duncan's multiple range test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

복령 균사체 및 쌀이 지방산화에 미치는 영향

항산화제란 금속이온의 착염화기능, enzyme활성과 enzyme유사활성 물질에 의한 free radical 포집력으로 radical 반응을 종결시키는 것으로 알려져 있다(11,12). 이에 복령균사체와 복령쌀의 항산화효능을 알아보고자 복령균사체와 복령쌀을 열수와 에탄올로 추출하여 fish oil에 대한 지방산화도를 측정하였다(Fig. 1). 저장기간이 경과함에 따라 TB

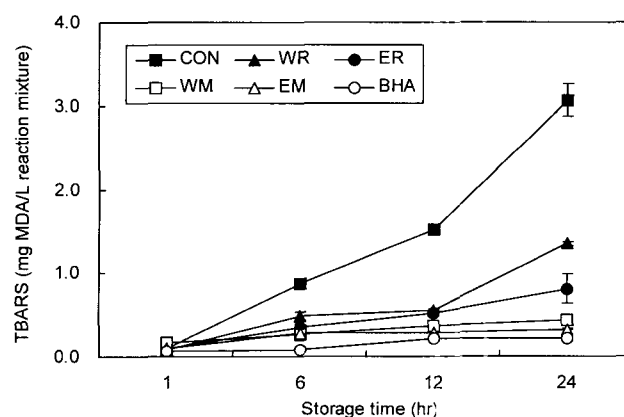


Fig 1. Effects of *Poria cocos* mycelium and *Poria cocos* fermented with rice on TBARS according to extraction method and storage time at 24 hr.

CON: control, WR: water extracts of *Poria cocos* fermented with rice, ER: ethanol extracts of *Poria cocos* fermented with rice, WM: water extracts of *Poria cocos* mycelium, EM: ethanol extracts of *Poria cocos* mycelium, BHA: buthyl hydroxy anisole.

ARS의 값은 증가하였으며, 대조구에 비하여 복령균사체 및 복령쌀 첨가구가 낮은 TBARS값을 나타내었다. 또한 복령균사체 및 복령쌀의 첨가구는 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물이 저장기간 동안 낮은 TBARS값을 나타내었으며, 복령균사체가 복령쌀에 비하여 낮은 TBARS값을 나타내었다. 복령균사체 및 복령쌀 추출물은 합성항산화제인 BHA보다는 약간 높은 TBARS값을 나타내었으나, 저장 24시간째 BHA 첨가구 0.22 MDA ppm에 비하여 복령 균사체의 열수와 에탄올 추출물이 각각 0.43 MDA ppm, 0.33 MDA ppm을 나타내어 BHA 첨가구와 유사한 값을 나타내었다. Jung 등(13)이 느타리버섯 균사체추출물이 BHA보다 항산화성이 우수하다는 보고에서는 균사체 추출물의 농도를 BHA의 농도보다 15배가 높은 농도에서 측정할 결과이며 본 실험에 사용된 복령 균사체는 BHA와 같은 농도에서 실험한 결과이므로 본 실험에 사용된 복령균사체는 합성항산화제인 BHA와 유사한 값을 나타내어 천연 항산화제로서의 활용이 기대된다.

금속이온 봉쇄작용

지방산화 촉진인자인 Fe²⁺, Cu²⁺이온에 대한 복령균사체 및 쌀의 금속이온 봉쇄작용은 Fig. 2와 같이 Fe²⁺에 대한 금속이온 봉쇄작용은 복령쌀보다는 균사체에서 높은 활성을 나타내었으며, Cu²⁺이온에 대한 금속이온 봉쇄작용은 모든 처리구에서 20% 정도의 다소 낮은 활성을 나타내었다. 복령균사체의 금속이온 봉쇄작용은 합성항산화제인 BHA보다는 낮은 활성을 나타내었으나, Kim 등(14)이 보고한 마늘의 Fe²⁺ 봉쇄작용과 유사한 값을 나타내었다.

전자공여능

복령균사체와 복령쌀의 전자공여능은 Fig. 3과 같이 추출 방법에 관계없이 복령쌀에서는 25% 미만의 전자공여능을 나타낸 반면 균사체에서는 열수와 에탄올 추출물에서 각각

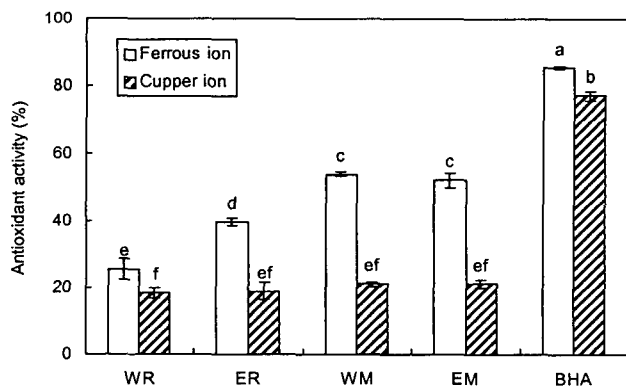


Fig 2. Iron chelating ability of *Poria cocos* mycelium and *Poria cocos* fermented with rice. WR: water extracts of *Poria cocos* fermented with rice, ER: ethanol extracts of *Poria cocos* fermented with rice, WM: water extracts of *Poria cocos* mycelium, EM: ethanol extracts of *Poria cocos* mycelium, BHA: buthyl hydroxy anisole. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at p<0.05.

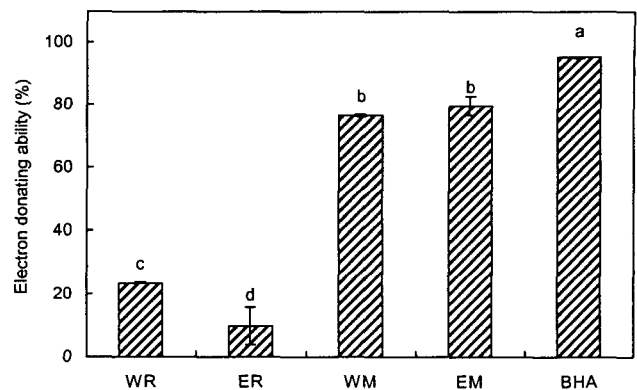


Fig. 3. Electron donating ability of *Poria cocos* mycelium and *Poria cocos* fermented with rice. WR: water extracts of *Poria cocos* fermented with rice, ER: ethanol extracts of *Poria cocos* fermented with rice, WM: water extracts of *Poria cocos* mycelium, EM: ethanol extracts of *Poria cocos* mycelium, BHA: buthyl hydroxy anisole. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at p<0.05.

76.8, 79.9%의 높은 활성을 나타내었다. 합성항산화제인 BHA와의 비교에서는 복령균사체가 다소 낮은 활성을 나타내었으나, 동일 농도에서 Jung과 Noh(15)가 보고한 herb 추출물 중 rosemary 추출물보다는 높은 활성을 나타내었으며, sage와 유사한 값을 나타내었다.

SOD 유사활성능

자연의 항산화 효소중의 하나인 superoxide dismutase (SOD)는 세포에 해로운 환원 산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이다. SOD는 30 KDa 이상의 분자량을 가진 단백질 물질로 체내에 쉽게 흡수되지 못하고 체외로 배출되며(16,17) 열과 pH에 불안정하다(18). 이에 SOD와 유사한 활성을 가지면서 SOD의 단점을 보완할 수 있는 SOD 유사활성 물질을 찾는 연구가 활발히 진행되고 있다. Fig. 4는 복령균사체와 복령쌀의 SOD 유사활성을 측정된 것으로 모든 처리구에서 25% 미만의 낮은 활성을 나타내었으며, BHA에서는 SOD 유사활성이 나타나지 않았다. 또한 전자공여능과는 반대로 복령균사체에 비하여 복령쌀에서의 SOD 유사활성이 높게 나타났다. 이는 쌀자체의 SOD 유사활성이 있기 때문이라 사료되며, 복령쌀의 열수추출물의 SOD 유사활성능은 Hong 등(19)이 보고한 무즙의 SOD 유사활성도 24%와 유사한 값을 나타내었다.

아질산염 소거작용

육제품의 발색제로 사용되는 아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급, 3급 등의 아민류와 반응하여 니트로사민을 생성(20)하는 것으로 알려져 있다. 복령균사체 및 버섯쌀의 아질산염의 소거작용은 Fig. 5에서와 같이 pH가 감소할수록 아질산염 소거작용은 증가하였으며, Kim 등(14)이 보고한 식물체 추출물의 아질산염 소거작용은 에탄올 추출보다는 열수 추출물의 아질산염 소거작

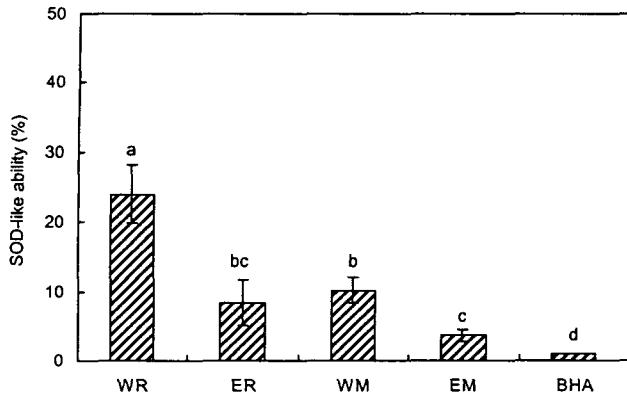


Fig. 4. SOD-like ability of *Poria cocos* mycelium and *Poria cocos* fermented with rice.
 WR: water extracts of *Poria cocos* fermented with rice, ER: ethanol extracts of *Poria cocos* fermented with rice, WM: water extracts of *Poria cocos* mycelium, EM: ethanol extracts of *Poria cocos* mycelium, BHA: buthyl hydroxy anisole. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

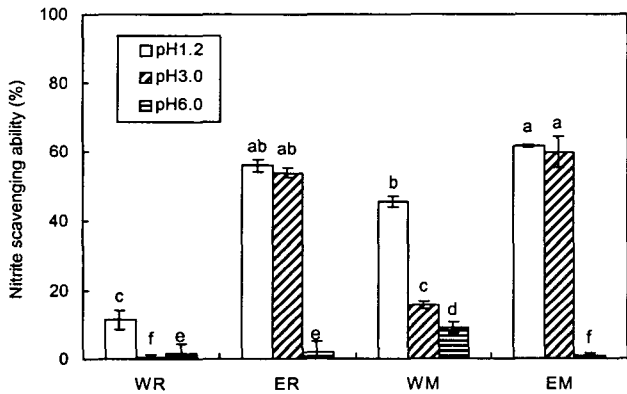


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of *Poria cocos* mycelium and *Poria cocos* fermented with rice.
 WR: water extracts of *Poria cocos* fermented with rice, ER: ethanol extracts of *Poria cocos* fermented with rice, WM: water extracts of *Poria cocos* mycelium, EM: ethanol extracts of *Poria cocos* mycelium. Values are means of 4 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

용이 우수하다는 결과와는 상반되게 에탄올 추출물의 아질산염 소거작용이 높게 나타났다. 또한 복령쌀보다는 복령균사체의 아질산염 소거작용이 우수하였으며, pH 3.0에서의 균사체 에탄올 추출물은 59.1%의 소거능을 나타내 Lee 등(21)의 diethylether로 추출한 양송이(4.7%)와 표고버섯(3.5%) 추출물의 아질산염 소거능보다는 우수하였으며, 영지버섯 추출물의 68.3%보다는 낮은 소거능을 나타내었다.

요 약

복령 균사체의 항산화성 및 아질산염 소거작용을 알아보기 고자 복령균사체와 복령쌀을 열수와 에탄올로 추출하여 fish oil에 대한 지방산화도를 측정된 결과 대조구에 비하여 복령

균사체 및 복령쌀 첨가구가 낮은 TBARS값을 나타내었다. 복령균사체 및 복령쌀 추출물은 합성항산화제인 BHA보다는 약간 높은 TBARS값을 나타내었으나, 저장 24시간째 BHA 첨가구 0.22 MDA ppm에 비하여 복령균사체의 열수와 에탄올 추출물이 각각 0.43 MDA ppm, 0.33 MDA ppm을 나타내어 BHA 첨가구와 유사한 값을 나타내었다. 복령균사체 및 쌀의 Fe^{2+} , Cu^{2+} 대한 금속이온 봉쇄작용은 복령쌀보다는 복령균사체에서 높은 활성이 나타났다. 전자공여능은 복령쌀에서는 25% 미만인 반면 복령균사체에서는 열수와 에탄올 추출물에서 각각 76.8, 79.9%의 높은 활성을 나타내었다. SOD 유사활성은 모든 처리구에서 25% 미만의 낮은 활성을 나타내었으며, BHA에서는 SOD 유사활성이 나타나지 않았다. 아질산염의 소거작용은 열수추출보다는 에탄올 추출물에서 높게 나타났다. 복령균사체 에탄올 추출물이 가장 높은 아질산염 소거능을 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 2001년도 대구산업정보대학 교비 연구비에 의한 것으로 연구비지원에 감사드립니다.

문 헌

- Hong JS, Kim YH, Lee KR, Kim MK, Cho CI, Park KH, Choi YH, Lee JB. 1988. Composition of organic acid and fatty acid in *Pleurotus ostreatus*, *Leninus edodes* and *Agaricus bisporus*. *Korean J Food Sci Technol* 20: 100-105.
- Kwom MS, Chung SK, Choi JU, Song KS, Kang WW. 1998. Quality and functional characteristics of cultivated Hoelen (*Poria cocos* Wolf) under the picking date. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1034-1040.
- Chihara G, Hamuro J, Yamashita Y, Ohsaka Y, Maeda Y. 1971. Carboxymethylpachymaran, a new water soluble polysaccharide with marked antitumour activity. *Nature* 233: 486-490.
- Takao N, Takahashi N, Kobayash M, Shoji S. 1980 A polysaccharide by laboratory cultivation of *Poria cocos* Wolf. *Carbohydrate Research* 87: 161-164.
- Kanayama H, Adachi N, Togami M. 1983. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf. *Chem Pharm Bull* 31: 1115-1119.
- Nukaya H, Yamashiro H, Fukazawa H, Ishida H, Tsuji K. 1996. Isolation of inhibitors of TPA-induced mouse ear edema from Hoelen, *Poria cocos*. *Chem Pharm Bull* 44: 847-850.
- Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Method in Enzymol* 105: 302-310.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.

11. Chan WKM, Decker EA, Lee JB, Butterfield DA. 1994. EPR spin-trapping studies of the hydroxyl radical scavenging activity of carnosine and related dipeptides. *J Agric Food Chem* 42: 1407-1410.
12. Decker EA, Crum AD, Calvert JT. 1992. Differences in the antioxidant mechanism of carnosine in the presence of copper and iron. *J Agric Food Chem* 40: 756-759.
13. Jung IC, Park S, Park KS, Ha HC, Kim SH, Kwon YI, Lee JS. 1996. Antioxidative effect of fruit body and mycelial extracts of *Pleurotus ostreatus*. *Korean J Food Sci Technol* 28: 464-469.
14. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
15. Jung HJ, Noh KL. 2000. Screening of electron donating ability, antibacterial activity and nitrite scavenging effect of some herbal extracts. *Korean J Soc Food Sci* 16: 372-377.
16. Donnelly JK, McLellan KM, Walker JL, Robinson DS. 1989. Superoxide dismutase in foods. A review. *Food Chem* 33: 243-270.
17. Kim SJ, Han DS, Moon KD, Rhee JS. 1995. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. *Biosci Biotech Biochem* 59: 822-826.
18. Korycka-Dahl M, Richardson T, Hicks CL. 1979. Superoxide dismutase activity in bovine milk serum. *J Food Prot* 42: 867-871.
19. Hong HD, Kang NK, Kim SJ. 1998. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1484-1487.
20. Do JR, Kim SB, Park YH, Park YB, Kim DS. 1993. The nitrite-scavenging effects by the component of traditional tea materials. *Korean J Food Sci Technol* 25: 530-534.
21. Lee GD, Chang HG, Kim HK. 1997. Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J Food Sci Technol* 29: 432-436.

(2002년 6월 25일 접수; 2002년 12월 6일 채택)