

## 시장성이 없는 품질의 갈변 표고버섯(*Lentinus edodes*) 추출물의 항산화 활성

강미영<sup>1</sup> · 김설이 · 윤혜정<sup>1</sup> · 남석현\*

<sup>1</sup>경북대학교 식품영양학과, 이주대학교 생명과학과

### Antioxidative Activity of the Extracts from Brownd Oak Mushroom (*Lentinus edodes*) with Unmarketable Quality

Mi-Young Kang<sup>1</sup>, Sulyi Kim, Hye-Jung Yun<sup>1</sup>, and Seok-Hyun Nam\*

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University,  
Department of Biological Science, Ajou University

Physiological functionality of brownd oak mushroom was evaluated with focusing its electron-donating ability to DPPH radicals, scavenging ability to superoxide radicals and hydroxyl radicals, and inhibitory activity on lipid peroxidation. The results showed that overall antioxidative activities of brownd oak mushroom were superior to those of raw oak mushroom with marketable quality, implying possible involvement of resultant browning reaction products in an increment of antioxidativity. The increased radical-scavenging ability was suggested to mainly be exerted by direct quenching of both superoxide and hydroxyl radicals, not by inhibition of xanthine oxidase activity and Fe<sup>2+</sup> chelation, respectively. Collectively, these results indicate a possible use of unmarketable brownd mushroom as a material for manufacturing various processed functional foods.

**Key words:** brownd oak mushroom, antioxidative activity, DPPH radical, ROS scavenging, lipid peroxidation

### 서 론

표고버섯(*Lentinus edodes*)은 담자균류 주름버섯목 느타리과에 속하는 버섯으로 특유한 향과 맛을 띠어 기호성이 높은 식품 소재이다. 무공해 자연식품이라는 이미지가 있어서 건강식품으로서의 수요가 지속적으로 증대되는 품목으로서 재배농가와 생산량이 매년 증가하고 있는 고소득 작목이다. 표고버섯은 수분 함량이 높고 조직이 연하여 신선한 상태를 장기간 유지하기 어렵고 주 생산 시기가 한정되어 있어 생산된 표고버섯의 대부분은 열풍 또는 천일건조에 의하여 건조된 후 저장 유통되고 있다. 그러나 건조 표고버섯은 건조 시 부피의 감소로 인한 조직의 변화와 버섯 특유의 향, 맛, 색깔 등의 변화가 발생됨에 따라 생 표고버섯에 비하여 품질이 열등하고 조리하기 전 수침을 통한 원형 복원시 유용성분이 용출되어 영양측면에서의 손실도 크다(1). 표고버섯을 신선한 상태로 유통시키고자 냉장 저장(2), 상온에서의 MA저장(3), 화학적 처리(4), 및 폴리에틸

렌 필름을 이용하여 밀봉 후 저온저장 방법(5) 등 다각적인 방법을 모색하고 있지만, 신선하게 보관하면서 상품가치를 지속 시키기에는 미흡한 점이 많아 저장방법의 개선이 요구되고 있다. 재배기술의 발전에 힘입어 표고버섯의 작황은 상당히 좋아졌지만 수요에 한계가 있고, 또한 이러한 현실적인 문제점들 때문에 저장에 따른 상품성 하락폭이 너무 크다는 단점들이 있다. 뿐만 아니라, 채취 후 방치된다거나, 채취시기에 습기가 많으면 검게 갈변하여 상품가치가 급격히 하락하여 결국에는 폐기하게 되는 경우도 있기 때문에 고소득 작목임에도 불구하고 농가 수익 면에서는 위험성이 뒤따르는 작목이다. 따라서 채취 후 출하가 늦어지거나, 기상악화로 인하여 유통 시 상품가치가 떨어지는 표고버섯들을 이용한 잼, 편, 묵, 소스 등 기호성이 우수한 기능성 식품을 지속적으로 개발해야 할 필요성이 대두되고 있는데, 이 경우 갈변된 표고버섯이 유용하게 이용될 것으로 생각된다. 본 연구에서는 건강 기능성 식품 제조를 위한 경제성 있는 소재로서, 갈변된 표고버섯을 적극적으로 이용하기 위한 기반 자료를 얻기 위한 시도의 하나로, 신선한 표고버섯을 실험적으로 갈변 처리시킨 표고버섯들이 신선한 표고버섯들에 비하여 항산화 활성에 어떠한 변화가 생기는지에 대해서 열수 추출물 및 70% 에탄올 추출물이 가지는 전반적인 항산화 효과, 활성산소종에 대한 소거효과 및 지질과산화에 대한 억제효과에 초점을 맞추어 이들의 기능성을 평가하였다.

\*Corresponding author: Seok Hyun Nam, Department of Biological Science, Ajou University, 5 Wonchon-dong, Yongtong-gu, Suwon 443-749, Korea  
Tel: 82-31-219-2619  
Fax: 82-31-219-1615  
E-mail: shnam@ajou.ac.kr

## 재료 및 방법

### 시료 및 시약

버섯시료로는 생 표고버섯, 건조 표고버섯, 그리고 갈변 표고버섯을 사용하였다. 생 표고버섯은 신선한 상태의 버섯을 사용하였고, 건조 표고버섯은 신선한 표고버섯을 0.5 cm 두께로 잘라서 40°C에서 열풍 건조시켜 제조하였다. 갈변 표고버섯은 신선한 표고버섯에 적당히 물을 뿌리면서, 30°C에서 일주일간 갈변 반응을 유도시켜 외견상 상품가치를 떨어뜨려 제조하였다. 각각의 시료에 10배량의 탈이온수를 첨가하여 4시간 autoclave로 가압 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 1 paper)로 여과 후, 수분을 증발시켜 100 mg/mL의 농도로 만들어 열수추출물 분획을 제조하였다. 동일한 버섯 시료에 5배량의 70% 에탄올로 80°C에서 3시간 reflux로 얻은 추출물을 열수추출물의 경우와 같이 감압 건조시킨 후 DMSO에 용해시켜 100 mg/mL의 농도로 만들어 에탄올 추출분획으로 하였고, 각각의 추출분획은 -20°C에 냉동 보관하면서 사용하였다. TCA (trichloroacetic acid), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 Junsei사(Tokyo, Japan)에서 구입하였고, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), TBA(thiobarbituric acid), ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, BHT(butylated hydroxytoluene) 등의 기타 화학시약은 Sigma Chemicals(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다.

### DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능

에탄올 1 mL, 시료 10  $\mu$ L, 100 mM sodium acetate buffer (pH 5.5) 990  $\mu$ L를 분주한 시험관에 0.5 mM EtOH에 용해한 DPPH 용액 0.5 mL를 넣고 교반하여, 30초간 반응을 유도한 후, 잔존 radical 농도를 517 nm에서 측정하였다. 전자공여능(%)은 [(1 - As/Ac) × 100]으로 산출하였으며, 여기서 As와 Ac에 각각 실험군과 대조군의 흡광도를 대입하였다(6).

### Superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 생성 및 ESR 측정조건

Superoxide radical 소거활성의 측정에 사용된 superoxide radical은 hypoxanthine(HPX)을 기질로 xanthine oxidase(XOD)를 사용하는 발생시스템(HPX/XOD system)을 이용하여 생성시켰으며, 생성된 라디칼은 spin trap agent인 5,5-dimethylpyrrolidine-N-oxide(DMPO)과 반응시킨 후 Electron spin resonance(ESR) spectrometer(TE-200, JEOL, Japan)로 정량하였다(7). 간단히 설명하면, 적당량의 시료를 35  $\mu$ L의 5.5 mM diethylenediamine-pentaacetic acid(DETAPAC), 15  $\mu$ L의 9.2 M DMPO와 0.02 unit의 xanthine oxidase와 혼합하여 0.1 M 인산 완충액(pH 7.4)으로 용량을 1 mL로 조절하였다. ESR spectroscopy를 위한 기기 설정 조건은 다음과 같다. Modulation amplitude: 0.1 mT, recording range: 4 mT, recording time: 1 min, time constant: 0.1 sec, microwave power: 1.8 mW, microwave frequency: 9.40432.

### Xanthine oxidase에 대한 억제활성 측정

Xanthine oxidase의 억제활성은 Noro의 방법(8)에 따라 수행하였다. 200 mM 인산완충액(pH 7.5)에 0.4 unit/mL의 xanthine oxidase를 첨가하여 37°C에서 10분간 preincubation 시켰다. 반응 후, 2 mM hypoxanthine 50  $\mu$ L를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킴으로써 생성되는 uric acid의 양을 UV/VIS spectrophotometer(V-550, Jasco, Japan)로 295 nm에서 흡광도를 측정함으로써 정량하였다.

### Hydroxy radical( $\cdot$ OH) 생성 및 ESR 측정조건

Hydroxy radical 소거활성의 측정에 사용된 hydroxy radical은 Fenton 반응(9)을 이용하여 생성시켰으며, 생성된 radical은 superoxide radical 소거활성의 측정과 같은 방법으로 spin trap agent인 DMPO와 반응시킨 후 ESR spectrometer(TE-200, JEOL, Japan)로 정량하였다(10). 즉, 적당량의 시료를 50  $\mu$ L의 0.3 M DMPO와 50  $\mu$ L의 10 mM FeSO<sub>4</sub>, 50  $\mu$ L의 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 혼합하고 0.1 M 인산 완충액(pH 7.4)으로 전체 용량을 200  $\mu$ L로 조절하였다. Hydroxy radical을 정량하기 위한 ESR spectroscopy 기기작동 조건은 superoxide radical 측정의 경우와 동일하다.

### Fe chelation 효과 측정

Fe<sup>2+</sup> 포착활성은 Carter의 방법(11)에 따라 수행하였다. 간단히 설명하면, 10 mM 인산완충액(pH 7.0)에 Fe<sup>2+</sup> 용액(10 mM FeSO<sub>4</sub> in 10 mM HCl)을 첨가하고, 여기에 시료와 reducing agent(0.02% ascorbic acid in 0.2 N HCl)를 넣어 37°C에서 5분간 반응시켰다. 반응 후, 반응액에 잔존하는 Fe<sup>2+</sup>의 양은 UV/VIS spectrophotometer(V-550, Jasco, Japan)로 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 반응액에 잔존하는 Fe<sup>2+</sup>의 양은 Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>을 이용하여 동일한 반응조건에서 수행하여 얻은 표준곡선에 의하여 산출하였다.

### 지질과산화 억제활성 측정

Linoleic acid model system을 이용한 지질 과산화 억제효과는 0.13% linoleic acid 5 mL, 증류수 2.4 mL, 50 mM 인산완충액(pH 7.0) 5 mL 및 시료 100  $\mu$ L를 cap tube에 넣고 40°C incubator에 10일간 incubation 할 때 얻어지는 지질 과산화 정도를 thiocyanate법(12)에 의해서 측정하였다. 즉, 반응액 100  $\mu$ L에 4.7 mL의 75% EtOH, 100  $\mu$ L의 30% NH<sub>4</sub>SCN 용액을 넣고 20 mM의 FeCl<sub>2</sub> 용액으로 발색시켰으며, 반응에서 나타난 발색 정도는 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 500 nm에서 흡광도로 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 갈변 표고버섯 추출물의 DPPH radical에 대한 전자공여능

DPPH radical은 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 청남색이 없어지는 특성이 있으므로 이러한 색차를 비색정량하여 시료가 가지는 전자공여능력을 측정할 수 있다. 비록 화학적으로 유도되는 라디칼이지만, lipoxygenase로 촉매되는 지질 산화반응계에서 측정된 항산화 활성과도 잘 부합되므로 간편하고 신뢰성이 높은 항산화 활성 측정 방법으로 널리 이용되고 있는 방법이다(13). 본 실험에서는 우선 신선한 생 표고버섯, 건조 표고버섯, 갈변된 표고버섯에서 조제한 각각 0.02, 0.2, 2 mg의 열수추출물 및 에탄올추출물의 전자공여능을 대표적인 천연, 또는 인공 항산화제인 ascorbic acid(0.1 mg)와  $\alpha$ -tocopherol(0.1 mg), BHT(0.1 mg)와 비교하여 Table 1에 나타내었다. 열수추출물의 경우, 0.02 mg의 시료첨가에서는 모든 표고버섯 시료들에서 전자공여능을 거의 발견할 수 없었다. 그러나 0.2 mg 시료첨가에서는 건조 표고버섯 또는 갈변된 표고버섯들이 신선한 표고버섯 보다 약 4배정도 높은 전자공여효과가 있음을 알 수 있었고, 더 높은 농도인 2 mg의 시료첨가에서는 약 2배 정도의 전자공여 효과가 있음을 알 수 있었다. 한편 70% 에탄올추출시료들의 경우에는, 0.02 mg의 시료첨가 조건에서 열수추

**Table 1. Electron donating ability of the hot water or 70% ethanolic extracts from oak mushrooms on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals**

Experiments	Dose (mg/tube)	Absorbance (at 517nm)	Inhibition (%)	
Control	-	0.3812 ± 0.0043	0.00	
Ascorbic acid	0.01	0.0303 ± 0.0002	92.1	
α-Tocopherol	0.01	0.0513 ± 0.0000	86.5	
BHT	0.01	0.0312 ± 0.0010	91.8	
Hot water extracts	2	0.2211 ± 0.0028	42.0	
	Raw	0.2	0.3678 ± 0.0003	3.51
		0.02	0.3892 ± 0.0078	0.00
	Dried	2	0.0704 ± 0.0021	81.5
		0.2	0.3247 ± 0.0005	14.8
		0.02	0.3809 ± 0.0120	0.08
70% Ethanolic extracts	2	0.0957 ± 0.0049	74.9	
	Browned	0.2	0.3344 ± 0.0040	12.3
		0.02	0.3864 ± 0.0053	0.00
	Raw	2	0.2363 ± 0.0450	38.0
		0.2	0.3675 ± 0.0068	3.6
		0.02	0.4043 ± 0.0187	-6.2
70% Ethanolic extracts	2	0.1454 ± 0.0240	61.9	
	Dried	0.2	0.3803 ± 0.0314	0.2
		0.02	0.3893 ± 0.0078	-2.1
	Browned	2	0.0741 ± 0.0146	80.5
		0.2	0.3742 ± 0.0005	1.8
		0.02	0.3973 ± 0.0042	-4.2

Each value is reported as mean ± SD (n = 3).

출물의 경우와 마찬가지로 모든 시료에서 전자공여능은 발견되지 않았다. 0.2 mg의 조건에서도 생 표고버섯 추출물이 미약한 전자공여능을 보였을 뿐으로, 전반적으로 거의 전자공여능을 관찰할 수 없었다. 그러나 2 mg의 시료를 첨가했을 때는 모든 추출물이 뚜렷한 전자공여능을 나타내었는데, 특히 갈변 표고버섯 추출물이 80.5%의 전자공여능을 보여, 가장 활성이 강한 것으로 나타났고, 반면 생 표고버섯은 38%로 활성이 제일 낮았다. 이상의 실험 결과는 생 표고버섯보다는 건조 표고버섯이나 갈변 표고버섯이 라디칼에 대한 전자공여능이 훨씬 우수함을 나타내고 있다. 이 사실은 지금까지 생산이나 유통과정에서 상품성을 상실한 갈변 표고버섯이 건강기능성 생리활성을 판별하는 가장 일반적인 지표인 항산화 활성에 있어서 생 표고버섯이나 건조표고버섯보다 오히려 우수하다는 것을 나타내고 있어서, 갈변표고버섯이 고부가가치성 건강기능성 식품재료의 소재로 충분히 이용될 수 있음을 시사한다.

#### 갈변 표고버섯 추출물의 $\cdot O_2^-$ (superoxide radical) 소거활성

산소호흡으로 세포에너지를 획득하는 생물에 있어서 호흡과정의 부산물로 발생하는 유해 활성산소종(ROS; reactive oxygen species)이 생체 고분자의 산화를 통하여 노화나 암발생 등 만성질환의 원인이 된다는 사실이 널리 알려져 있다(14). 따라서 항산화 활성 측정의 한 방법으로써 각종 표고버섯 추출물들이 세포의 산화적 손상을 촉발시키는 요인인 ROS를 소거할 수 있는지 여부를 조사하고자 하였고, 우선 superoxide radical에 대한 소거활성을 조사하였다. 이를 위하여 사용한 실험계는 HPX/XOD system으로서, hypoxanthine을 기질로 xanthine oxidase가 uric acid를 생성하는 반응을 통하여 superoxide radical이 생성

되는데, 반감기가 매우 짧은 이 superoxide radical을 spin trapping agent와 반응시켜서 안정화시킨 다음, ESR spectroscopy로 측정하는 것이다. 이 방법은 기타 발색반응에 의한 간접적인 superoxide radical 측정법에 비하여 직접적으로 라디칼을 측정할 수 있다는 장점이 있다. Fig. 1에 표시된 peak가 DMPO에 의하여 안정화된 superoxide radical에 해당하는 peak이며, 시료의 superoxide radical 소거활성은 시료처리 후 변화된 peak의 높이를 측정함으로써 소거효과를 계산하여 항산화 활성의 방편으로 하였다. Table 2에서 알 수 있듯이 열수추출물의 경우 0.5 mg/mL의 시료농도에서 건조 표고버섯의 superoxide radical 소거효과가 약 45% 정도로 가장 크지만, 갈변된 표고버섯도 superoxide radical 소거효과가 약 32% 정도라서 신선한 표고버

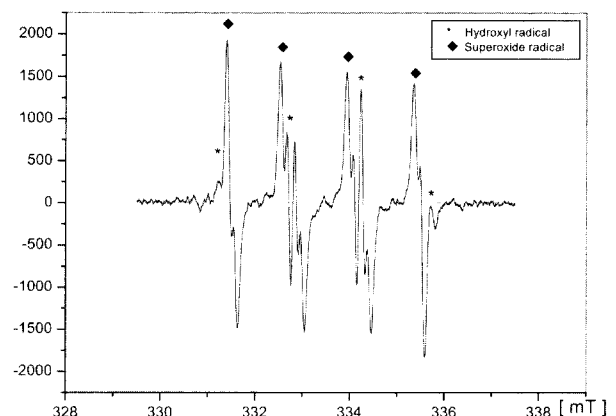


Fig. 1. ESR spectrum of DMPO- $O_2$  spin adducts.

Table 2. Scavenging effect of the hot water or 70% ethanolic extracts from oak mushrooms on superoxide radicals

Experiments	Concentration (mg/mL)	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> scavenging ability (%)	XOD inhibition (%)
Hot water extracts	Raw	0.5	16.15 ± 0.71
		5	60.51 ± 4.21
	Dried	0.5	45.53 ± 1.54
		5	83.20 ± 3.18
	Browned	0.5	31.93 ± 3.50
		5	61.82 ± 0.30
70% Ethanolic extracts	Raw	0.5	25.97 ± 3.29
		5	60.36 ± 0.10
	Dried	0.5	29.53 ± 1.33
		5	63.05 ± 0.20
	Browned	0.5	42.84 ± 4.93
		5	64.51 ± 4.11

Each value is reported as mean ± SD (n = 3).

섯(16% 소거)보다는 약 2배 정도의 라디칼 소거활성이 있었다. 또한 에탄올 추출물의 경우에도 생 표고버섯(26% 소거) 및 건조 표고버섯(30% 소거)에 비해서 갈변화가 진행된 표고버섯은 약 43% 정도의 superoxide radical 소거효과를 나타내고 있어 약 1.5배 정도의 항산화 효과가 있다는 고무적인 결과를 얻었다. 이 사실은 이미 기술한 전자공여능의 결과와 같은 경향을 보이는 것으로서, 갈변된 표고버섯이 superoxide radical 소거에 있어서도 상품성이 있는 생 표고버섯보다 활성이 높다는 사실을 확인하였다. 5 mg/mL의 시료농도에서는 추출 방법에 관계없이 60% 이상의 비슷한 수준의 소거활성을 보였으나, 특히 건조 표고버섯이 83% 정도로 소거활성이 제일 높았다. 시료의 농도가 증가함에도 불구하고 이에 비례하여 활성이 증가하지 않는 것은 아마도 특정 화합물이 아닌 다양한 화합물의 복합적 상호작용에 의한 결과일 가능성을 암시한다. Superoxide radical은 세포에서 NADH oxidase나 xanthine oxidase에 의하여 발생하는 대표적인 ROS이지만 세포독성은 그다지 크지 않은 것으로 보고되어 있다(15,16). 그러나 생성된 라디칼은 세포 내 불균화반응으로 만들어진 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 세포독성이 강한 hydroxyl radical로 전환될 잠재력이 있으므로, superoxide radical 소거활성이 높다는 것은 세포의 산화적 손상을 방지하는데 중요한 의미가 있다고 보겠다.

#### 갈변 표고버섯 추출물의 xanthine oxidase에 대한 억제활성

ESR로 표고버섯 시료들의 superoxide radical 소거활성을 평가함에 있어서, 실험조건 상 hypoxanthine/xanthine oxidase system(HPX/XOD)에서 발생하는 superoxide radical을 사용하기 때문에, 측정된 소거활성이 표고버섯 추출물들에 의한 직접적인 라디칼 scavenging의 결과인지 또는 superoxide radical 생성에 있어서 반응 촉매로 작용하는 xanthine oxidase 자체를 blocking함으로써 나타나는 결과인지를 구별하기 어렵다. 따라서 본 실험에서는 추출물 시료가 효소의 활성을 경쟁적 또는 비경쟁적 방법에 의하여 억제했는지 여부를 검토하기 위해서 표고버섯 추출물의 xanthine oxidase에 대한 억제효과를 측정하였다. Table 2에서 알 수 있듯이 열수추출물의 경우, 생 표고버섯은 약 23%, 건조표고버섯은 약 18%, 갈변된 표고버섯은 약 17% 정도로 xanthine oxidase의 활성을 억제하고 있었다. 즉 생 표고버섯이

갈변된 표고버섯보다 xanthine oxidase의 활성 자체를 약 35% 정도 blocking하는 효과가 있지만, superoxide radical의 소거효과는 오히려 갈변된 표고버섯이 200% 정도 효과가 있었기 때문에, 결과적으로 생 표고버섯보다는 갈변화가 진행된 표고버섯의 superoxide radical 소거효과가 뛰어나게 높다는 결과를 얻을 수 있었다.

#### 갈변 표고버섯 추출물의 ·OH(hydroxyl radical) 소거활성

활성산소종 가운데 superoxide radical과 더불어 생체 고분자의 산화에 중요한 역할을 담당하는 라디칼인 hydroxyl radical에 대해서도 superoxide radical과 동일한 기기분석법으로 표고버섯 추출물들의 소거활성을 측정하였다. 특히, hydroxyl radical은 superoxide radical에 비하여 세포독성이 강하며, 생체 내 산화적 손상의 주역으로 보고되어 있으므로(17), 각 버섯추출물의 hydroxyl radical 소거활성은 항산화 활성을 지표로 한 건강기능성 탐색의 기준으로 가장 중요하다고 생각된다. 정확한 hydroxyl radical 소거활성을 측정하기 위하여, superoxide radical 측정 시와 마찬가지로 spin trap agent인 DMPO와 반응으로 생성된 DMPO-OH를 ESR spectroscopy로 측정하였고, 각 시료의 라디칼 소거활성은 시료 처리후의 변화되는 peak의 높이로부터 소거능을 산출하는 방법을 취하였다. Table 3에 나타난 바와 같이 열수추출물의 경우 0.5 mg/mL의 시료농도에서도 superoxide radical 소거효과가 마찬가지로 갈변된 표고버섯의 hydroxyl radical 소거활성이 45%로 가장 컸으며, 건조 표고버섯(41% 소거) > 생 표고버섯(32% 소거)의 순이었다. 그리고 70% 에탄올 추출물의 경우에도 0.5 mg/mL의 시료농도에서는 열수추출물의 경우와 유사한 경향을 나타내고 있어, 갈변된 표고버섯의 소거활성이 43%로 가장 높았으며, 생 표고버섯과 건조 표고버섯을 모두 36%로서 같은 수치를 나타내고 있었다. 한편 5 mg/mL의 시료농도에서는 열수추출물 및 70% 에탄올추출물 양쪽 모두 시료에 관계없이 약 77-81%로 유사한 정도의 hydroxyl radical 소거활성을 나타내었다. 이 실험의 결과도 갈변된 표고버섯이 시장에서의 상품성과는 관계없이 유해 산소라디칼인 hydroxyl radical을 소거하는 생리활성은 우수하다는 사실을 보여주고 있어서, 갈변된 표고버섯이 항산화 활성이 우수한 건강 기능성 식품의 소재로 이용될 수 있는 가능성을 제시한다.

**Table 3. Scavenging effect of the hot water or 70% ethanolic extracts from oak mushrooms on hydroxyl radicals**

Experiments		Concentration (mg/mL)	·OH scavenging ability (%)	Fe <sup>2+</sup> chelating ability (%)
Hot water extracts	Raw	0.5	31.83 ± 2.89	-4.549 ± 0.398
		5	76.90 ± 1.43	-3.890 ± 0.441
	Dried	0.5	40.80 ± 0.39	-6.120 ± 1.983
		5	81.04 ± 0.17	-7.040 ± 1.802
	Browned	0.5	45.10 ± 0.44	-4.208 ± 0.621
		5	79.75 ± 0.71	-4.701 ± 0.383
70% Ethanolic extracts	Raw	0.5	36.22 ± 2.96	-5.082 ± 0.434
		5	78.86 ± 0.79	-6.448 ± 1.960
	Dried	0.5	35.96 ± 2.94	-4.590 ± 0.751
		5	77.46 ± 0.54	-2.244 ± 0.600
	Browned	0.5	42.89 ± 0.02	-4.918 ± 1.933
		5	77.02 ± 1.01	-3.204 ± 0.610

Each value is reported as mean ± SD (n = 3).

**Table 4. Inhibitory effect of hot water or 70% ethanolic extracts from on oak mushrooms on linoleic acid peroxidation**

Experiments	Dose (mg/tube)	2 days		8 days		
			Absorbance (at 500 nm)	Inhibition (%)	Absorbance (at 500 nm)	Inhibition (%)
Hot water extracts	-	Control	1.382 ± 0.104	0.0	2.593 ± 0.000	0.0
		1	BHT	0.431 ± 0.034	68.8	0.230 ± 0.052
	2	Raw	0.905 ± 0.226	34.5	1.654 ± 0.342	36.2
		Dried	0.932 ± 0.065	32.6	2.113 ± 0.233	18.5
		Browned	0.804 ± 0.112	41.8	1.586 ± 0.396	38.8
	20	Raw	0.550 ± 0.067	60.2	0.772 ± 0.119	70.2
Dried		0.479 ± 0.002	65.3	0.399 ± 0.051	84.6	
Browned		0.459 ± 0.075	66.8	0.295 ± 0.040	88.6	
70% Ethanolic extracts	2	Raw	1.214 ± 0.071	12.2	1.708 ± 0.243	34.1
		Dried	0.593 ± 0.046	57.1	0.884 ± 0.164	65.9
		Browned	0.635 ± 0.038	54.1	1.000 ± 0.151	61.3
	20	Raw	0.532 ± 0.028	61.5	0.739 ± 0.120	71.5
		Dried	0.526 ± 0.030	61.9	0.492 ± 0.091	81.0
		Browned	0.536 ± 0.029	61.2	0.368 ± 0.043	85.8

Each value is reported as mean ± SD (n = 3).

#### 갈변 표고버섯 추출물의 Fe<sup>2+</sup> chelation 활성

Hydroxyl radical 소거활성의 측정에 사용된 hydroxyl radical 은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 Fe<sup>2+</sup>의 존재 하에서 Fenton 반응(9)에 의하여 H<sub>2</sub>O가 될 때 생성된 것이다. 따라서 측정된 hydroxyl radical 소거활성이 시료가 직접적으로 radical을 소거한 것인지, 또는 시료가 Fe<sup>2+</sup>을 포착함으로써 반응계 내 Fe<sup>2+</sup>의 고갈로 인하여 발생한 것인지를 구별할 필요가 있다. 이 두 가지의 가능성을 구명하기 위하여 각 표고버섯 추출물의 Fe<sup>2+</sup> 포착능을 측정하였다. Table 3에서 보는 것처럼, Fe<sup>2+</sup> 포착능은 모든 시료에서 음의 수치를 나타내고 있어 시료자체는 이가 금속 양이온의 chelator로써 작용하지 않는다는 사실을 알 수 있었다. 이 실험의 결과와 hydroxyl radical 소거활성에 대한 실험 결과를 종합하면, 열수추출물과 70% 에탄올 추출물 모두에서 0.5 mg/mL의 농도가 되도록 시료를 첨가했을 때, hydroxyl radical 소거효과는 시장에서 상품성이 없는 갈변된 표고버섯이 상품성을 가진 건조 표고버섯 및 생 표고버섯보다 훨씬 우수함을 확인할 수 있었다.

#### 갈변 표고버섯 추출물의 linoleic acid 자동산화에 대한 억제 효과

Linoleic acid 자동산화 모델계를 이용하여 표고버섯 종류별 열수추출물 및 70% 에탄올추출물 20 mg과 2 mg에 대한 지질 과산화물의 생성 억제효과를 각각 측정 비교하였으며, 실험의 대조군으로서 합성 항산화제인 BHT를 1 mg 사용하였다(Table 4). *In vitro*에서 지질 자동산화가 유발된 2일 째에는 표고버섯의 열수추출물 및 70% 에탄올추출물 모두의 경우에 있어서 20 mg의 시료첨가에서 나타나는 지질 자동산화에 대한 억제효과는 1 mg의 BHT가 보이는 효과와 유사한 수준이었으며, 표고버섯 시료를 2 mg 첨가한 경우에는 건조 표고버섯과 갈변화가 진행된 표고버섯들은 70% 에탄올추출물이 열수추출물에 비해서 지질과산화 억제효과가 높았다. 반면, 신선한 생 표고버섯의 경우에는 70% 에탄올추출물의 지질과산화 억제활성이 열수추출물에 비하여 매우 낮았다. 한편 지질과산화가 유발된 후 10일째에는 열수추출물 및 70% 에탄올추출물 20 mg을 첨가했

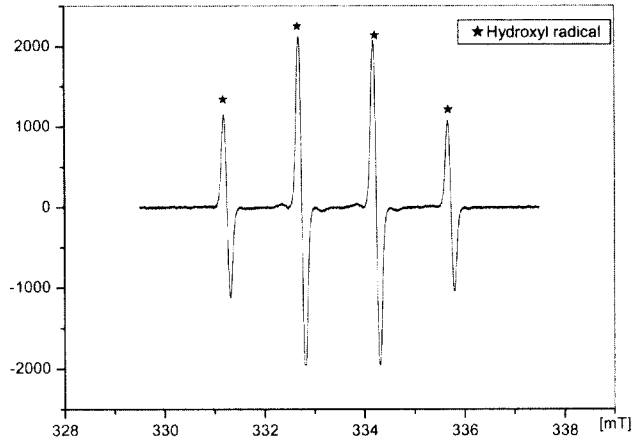


Fig. 2. ESR spectrum of DMPO-OH spin adducts.

을 때 얻어지는 지질과산화 억제효과가 1 mg의 BHT가 보이는 억제 효과보다 약간 낮았으며, 열수추출물과 70% 에탄올 추출물은 거의 비슷한 수준의 억제활성을 보였다. 그리고 각 시료들에 있어서 지질과산화 억제활성은 갈변 표고버섯 > 건조 표고버섯 > 생 표고버섯의 순서로 낮아지는 경향을 보였다. 각 표고버섯 추출물을 2 mg 첨가했을 때 나타나는 억제효과는 70% 에탄올추출물들의 지질과산화 억제효과가 열수추출물에 비해서 전반적으로 높았으며, 특히 신선한 생 표고버섯의 70% 에탄올추출물은 다른 시료에 비하여 50% 이상 지질과산화 억제활성이 떨어지는 것으로 나타났다.

본 연구의 목적은 시장에서 상품성을 상실한 갈변 표고버섯을 건강기능성 식품산업의 소재로 활용할 수 있는 가능성을 탐색하는 일환으로서 갈변 표고버섯의 생리활성을 항산화 활성을 지표로 평가하는데 있다. 본 연구에서는 DPPH 라디칼에 대한 전자공여능과 활성산소종에서 특히 중요한 superoxide radical 및 hydroxyl radical에 대한 소거활성, 그리고 linoleic acid 자동산화반응에 대한 억제활성을 조사하여 각 추출물의 항산화 활성을 평가하였다. 실험 결과, 상품성을 상실한 갈변 표고버섯이 추출 방법이나 시료의 첨가량에 따라 약간의 차이는 있지만, 전자공여능, 주요 활성산소종에 대한 소거활성 및 지질과산화 억제활성이 상품성을 가진 생 표고버섯보다 높은 경향을 보였으며, 건조 표고버섯에 비해서도 대체로 비슷하거나 오히려 높은 수준의 항산화 지표를 보인다는 사실을 알았다. 이와 같은 결과는 예상했던 것으로서, 갈변화 반응에 의하여 melanoidine류의 폴리페놀 화합물이 생성됨에 따라 페놀 화합물의 항산화 활성이 발현된 결과라고 생각된다(18,19). 다행히도 표고버섯의 원래 색깔이 갈색에서 흑색이기 때문에 가공과정 중의 갈변화로 인한 상품의 색을 소비자는 오히려 선호할 것으로 보며, 저장성이 저하됨에 따라서 조리용으로 상품가치가 떨어진 것에 대한 문제점도 자연스럽게 극복할 수 있으리라고 보지만, 갈변화에 수반된 독성의 출현 등, 식품 위생상의 문제점에 대한 검토는 반드시 수반하여야 할 필요성이 있다. 갈변화 반응산물의 생리활성으로서 항암활성이 보고되어 있음을 생각할 때, 표고버섯 생산 및 유통과정 중에 필연적으로 발생하는, 현재로는 상품성이 없어 폐기되고 있는 갈변 표고버섯이 활용된 다양한 건강기능성을 지향한 가공식품의 개발과 기능성 평가에 보다 집중적인 연구가 필요하다고 본다.

## 요 약

갈변된 표고버섯을 건강기능성 식품산업의 소재로 활용할 수 있는 가능성을 탐색하는 일환으로서 갈변된 표고버섯의 생리활성을 항산화 활성을 지표로 평가하였다. 본 연구에서는 DPPH 라디칼에 대한 전자공여능과 superoxide radical 및 hydroxyl radical에 대한 소거활성, 그리고 linoleic acid 자동산화반응에 대한 억제활성을 조사하여 각 추출물의 항산화 활성을 평가하였다. 그 결과, 갈변 표고버섯의 전자공여능은 생 표고버섯보다 추출방법에 따라 2-4배 정도 높았지만, 건조 표고버섯보다는 높거나 비슷한 수준을 보였다. Superoxide radical에 대한 소거활성도 DPPH에 대한 전자공여능과 유사한 경향을 보였는데, 갈변 표고버섯의 소거활성은 생 표고버섯보다 2배 정도 높았다. 또한 이와 같은 갈변화에 따른 superoxide radical 소거활성의 증가는 직접적인 radical 소거작용의 결과일 가능성이 제시되었다. Hydroxyl radical 소거활성의 경우, 추출방법에 관계없이 소거활성은 갈변 표고버섯 > 건조 표고버섯 > 생 표고버섯의 순서로 낮아졌으며, superoxide radical 소거작용과 마찬가지로 시료가 직접적으로 hydroxyl radical을 소거했을 가능성이 암시되었다. Linoleic acid 자동산화반응을 이용한 지질과산화에 대한 억제활성을 측정된 결과, 전반적으로 70% 에탄올추출물의 활성이 열수추출물보다 높았고, 억제활성도 갈변 표고버섯 > 건조 표고버섯 > 생 표고버섯의 순서로 낮아지는 경향을 보였다. 이상의 결과는 상품성을 상실한 갈변 표고버섯이 건강기능성을 지향한 다양한 가공식품의 개발을 위한 적절한 소재임을 보여주었다.

## 문 헌

1. Aoyaki Y, Sugahara T. Studies on the rehydration of dried Shiitake mushroom. J. Food Sci. Technol. 33: 224-228 (1986)
2. Minamida T, Habu T, Ogata K. Effect of storage temperature on keeping freshness of mushroom after harvest. J. Food Sci. Technol. 27: 281-286 (1980)
3. Yamashita IK, Takahashi T, Shimona T, Kikuchi K, Shibata S. Changes in some chemical characteristics in Shiitake mushroom during modified atmosphere packaging storage and on exposure to air. J. Food Sci. Technol. 34: 834-840 (1987)
4. Zixin A. Studies on retaining freshness and preventing discoloration of mushrooms. Food Ferment. Ind. 5: 32-37 (1982)
5. Lee SE, Kim DM, Kim KH. Changes in quality of Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*) during modified atmosphere (MA) storage. J. Korean Soc. Food Nutr. 20: 133-138 (1991)
6. Yen CG, Chen HY. Antioxidative activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. J. Agric. Food Chem. 43: 27-32 (1995)
7. Mitsuda K, Mizuta Y, Kohno M, Hiramatsu M. The application of ESR spin-trapping technique to the evaluation of SOD-like activity of biological substances. Bull. Chem. Soc. Jpn. 63: 187-190 (1990)
8. Noro T, Noro K, Miyase T, Kuroyanagi M, Umehara K, Ueno A, Fukushima S. Inhibition of xanthine oxidase by anthraquinones. Chem. Pharm. Bull. 35: 4314-4316 (1987)
9. Bray TM, Levy MA. Model and Methods in Cell Signaling and Gene Expression. OICA International, London, UK. pp. 1-14 (2000)
10. Rosen GM, Rauckman EJ. Spin trapping of free radicals during hepatic microsomal lipid peroxidation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 7346-7349 (1981)
11. Carter P. Spectrometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (Ferrozine). Anal. Chem. 40: 450-458 (1971)

12. Osawa T, Namiki MA. Novel type antioxidant isolated from leaf wax of Eukalyptus leaves. *Agric. Biol. Chem.* 45: 735-740 (1981)
13. Lee MH, Son HS, Choi OK, Oh SK, Kwon TB. Changes in physico-chemical properties and mineral contents during buckwheat germination. *Korean J. Food Nutr.* 7: 267-273 (1994)
14. Droge W. Free radical in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 82: 47-95 (2002)
15. Deliconstantinos G, Villiotou V, Stavrides JC. Alteration of nitric oxide synthase and xanthine oxidase activities of human keratinocytes by ultraviolet B radiation. *Biochem. Pharmacol.* 51: 1727-1738 (1997)
16. Heyneman RA. Subcellular localization and properties of the NAD(P)H oxidase from equine polymorphonuclear leukocytes. *Enzyme* 29: 198-207 (1983)
17. Goldstein M, Kaplan HB, Edelson HS, Weissman G. Ceruloplasmin: an acute phase reactant that scavenges oxygen-derived free radicals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 389: 368-379 (1982)
18. Tsuchihashi H, Kigoshi M, Iwatsuki M, Niki E. Action of  $\beta$ -carotene as an antioxidant against lipid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 323: 137-147 (1995)
19. Lindenmeier M, Faist V, Hofmann T. Structural and functional characterization of pronyl-lysine, a novel protein modification in bread crust melanoidins showing *in vitro* antioxidative and phase I/II enzyme modulating activity. *J. Agric. Food Chem.* 50: 6997-7006 (2002)

---

(2004년 3월 8일 접수; 2004년 7월 6일 채택)