버섯 추출물과 이를 함유한 유산균 발효유가 *in vivo* 및 *in vitro* 과산화지질에 미치는 영향

차재영[1] · 전병삼[1] · 박정원[1] · 신갑균[1] · 김범규[1] · 배동원[1] · 유지현 · 전방실 · 조영수*

동아대학교 응용생명공학부, [1](주)바이오허브

Received January 19, 2004 / Accepted May 20, 2004

Antioxidative Effects of Mushroom Extract and Fermented Milk Containing Its Extract on *in vivo* and *in vitro* Lipid Peroxidation. Jae-Young Cha[1], Beong-Sam Jeon[1], Jeong-Won Park[1], Gab-Gyun Shin[1], Beom-Kyu Kim[1], Dong-Won Bae[1], Ji-Hyun Yoo, Bang-Sil Jeon and Young-Su Cho*. *Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 604-714, Korea, [1]BioHub Co., Ltd, 33-617 Institute of Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea* – The antioxidative effects of fermented milk, mushroom extract and fermented milk containing its extract (*Lentinus edodes, Ganoderma lucidum*, and *Pleurotus ostreatus*) on the lipid peroxidation in the tissues of female Sprague-Dawley rats and on the DPPH (α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl) radical donating ability were studied. The total concentrations of polyphenolic compound in *Lentinus edodes, Ganoderma lucidum* and *Pleurotus ostreatus* were 0.34, 0.20 and 0.34%, respectively. The DPPH donating abilities of mushroom extract, fermented milk, fermented milk containing its extract and BHT (butylated hydroxytoluene) as standard were 33.9, 34.9, 51.9 and 95.6%, respectively. Experimental diet groups were divided into five groups: the normal diet (ND), the cholesterol diet (CD), and cholesterol+fermented milk diet (CDFM), cholesterol +mushroom extract diet (CDME) and cholesterol+fermented milk containing mushroom extract diet (CDFMME). The concentrations of lipid peroxide in liver and its microsome were significantly lower in both CDFM and CDFMME groups than in the other groups. The kidney concentration of lipid peroxide was significantly higher in the CD group than in the ND group, but this rise were significantly decreased in the CDFM and CDFMME groups. Meanwhile, the concentrations of heart and spleen and their fractions were not significantly different among dietary groups. This study was suggested that the fermented milk diet containing mushroom extract effectively reduced the lipid peroxidation in liver and kidney of cholesterol-fed female rats.

Key words – fermented milk, lipid peroxidation, mushroom, DPPH

경제성장의 발달로 풍족한 식생활을 영위하며 평균수명도 날로 증가하고 있으나, 식생활 패턴의 변화로 인해 뇌 혈관계 질환, 심장병, 고혈압 및 당뇨병 등의 순환기계 질환과 암으로 인한 사망률이 크게 높아져 건강에 대한 관심이 고조되고 있다[2]. 생체 내에서 산화 스트레스에 의한 free radical 생성은 생체막 지질을 산화 시켜 생성된 과산화자질이 여러 조직을 손상시켜 대사 장해를 초래함으로써 만성 퇴행성질환들의 유발과 밀접한 관련을 가진 것으로 알려지고 있다[1,18]. 따라서 생체 내에서 free radical 형성에 의한 체내의 산화적 손상을 억제시킬 수 있는 생리활성 물질이 있다면 이는 순환기계 질환과 암 등 만성질환의 발병률을 낮추는 데에도 크게 기여할 것으로 생각된다.

최근, 건강 증진을 위한 생리활성 물질 탐색에 관한 연구가 여러 방향에서 활발하게 진행되고 있으며, 우리가 일상적으로 섭취하고 있는 식품 재료 중에서도 항산화 효과가 있는 천연성분이 다수 보고[9-11]됨으로써 식용 및 약용으로 널리 이용되고 있는 버섯류도 천연 항산화 물질로서 큰 관심을 끌고 있다[5,12,14,16,32]. 최근 천연 식물자원인 진균류에 속하는 버섯은 항암 효과[25], 항당뇨 효과[31], 혈압억제 효과[17], 혈청 지질 저하 효과[4,13,19,21], 면역증강 효과[25] 등 노화억제 및 생활습관병 예방과 치료에 효험이 있는 것으로 알려지면서 식용뿐만 아니라 약용으로도 그 이용성이 날로 증대하고 있다. 이러한 생리활성이 기대되는 버섯류에는 영지, 표고, 느타리, 상황, 아가리쿠스, 먹물, 목이 및 석이 등의 식용 및 약용 버섯류가 알려져 있다. 특히 영지버섯의 약효성분으로 열수 추출액에 함유되어 있는 다당류와 단백질 복합체인 polysaccharide protein complex가 보고된 바 있으며, 암세포 생육 억제, 본태성 고혈압 치료, 과산화지질 생성 억제 효과 등이 보고된 바 있다[17,19,20]. 식용으로 널리 이용되고 있는 표고버섯에는 항암작용, 콜레스테롤 저하작용, 강장, 이뇨, 고혈압, 신장염, 천식, 위궤양 등의 치료에도 효능이 있어 약용으로도 널리 이용되고 있으며, 표고버섯 열수 추출물은 혈청 및 간장의 지질 저하 작용 및 간 손상 억제 작용이 보고된 바 있다[13,14,19,25]. 또한, 느타리버섯의 다당류 추출물은 혈청 콜레스테롤 저하효과 및 사염화탄소 유발 간 손상 억제 작용과 느타리버섯 자실체 및 균사체 추출물의 항산화효과가 있는 것으로 보고된 바 있다[4,16,19,25]. 그러나, 지금까지

*Corresponding author
Tel : +82-51-200-7586, Fax : +82-51-200-7505
E-mail : choys@daunet.donga.ac.kr.

이들 버섯에 대한 과산화지질 억제 작용을 비롯한 생리활성 작용은 대부분 단일 품종에 의한 *in vivo* 또는 *in vitro* 실험계에서 이루어져 왔다. 따라서, 이러한 다양한 생리활성 기능을 가진 버섯의 기능성을 증대시키기 위한 방법으로 식용과 약용으로 우리 일상생활에서 많이 섭취되고 있는 표고버섯(*Lentinus edodes*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*), 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)의 혼합 추출물과 이를 첨가한 유산균 발효유를 각각 콜레스테롤 함유 식이에 첨가하여 4주 동안 섭취시킨 흰쥐에서 각 조직의 과산화지질에 미치는 영향을 *in vivo* 실험계에서 검토하였다. 또한 버섯 추출물과 이를 첨가한 유산균 발효유의 항산화 효과를 DPPH radical 공여능(Electron donating activity: EDA)으로 *in vitro* 실험계에서 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 발효유 제조 방법

실험재료인 표고버섯과 영지버섯의 건조품 및 느타리버섯은 경남 진주시 인근 버섯 재배 농장에서 직접 구입하여 사용하였다. 이들 버섯을 세절하거나 분쇄한 후 각각 10% 농도로 3시간 동안 열수 추출하여 발효유 제조에 사용하였다. 또한, 버섯 추출물 투여군을 위한 열수 추출액은 백설탕을 가하여 당도를 5%로 조정하여 냉장 보관하면서 시료로 사용하였다. 유산균 발효유는 탈지분유 8% (w/v)와 백설탕 5% (w/v) 함유 살균액에 시판 유산균으로 널리 사용되고 있는 *Lactobacillus bulgaricus*를 전배양 시킨 starter를 첨가하여 30℃에서 12시간 발효시켜 유산균 발효유를 제조하였다. 버섯 추출물 함유 유산균 발효유는 열수 추출물 50% (v/v)에 탈지분유 8%와 백설탕 5%를 첨가하고 나머지는 시판 생수로 채워 살균한 배양액에 전배양 시킨 *Lactobacillus bulgaricus*의 starter를 첨가하여 30℃에서 12시간 배양하여 버섯 추출물 함유 유산균 발효유를 제조하였다.

버섯 추출물의 Total Polyphenol 화합물 함량 측정

총 폴리페놀 화합물의 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdate와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 Folin-Denis법[26]을 약간 변형시켜 측정하였다. 본 실험에 사용한 각각의 10% (w/v) 농도의 표고버섯, 영지버섯, 느타리버섯 열수 추출물에서 총 폴리페놀 화합물을 측정하였다.

이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

DPPH법에 의한 항산화 활성 측정

DPPH 용액은 100 ml 에탄올에 DPPH 16 mg을 녹인 후 증류수 100 ml를 혼합하여 whatman filter paper No. 2에 여과시켜 만들었다. 이 용액 5 ml에 버섯 추출물과 유산균 발효유 및 버섯 추출물 함유 유산균 발효유의 상등액 1 ml를 혼합한 후 528 nm에서 흡광도의 감소를 측정하여 전자공여능(EDA)으로 나타내었다[9]. 이때 대조구인 BHT는 0.05%의 시료와 동일 농도로 첨가하여 위에서와 동일한 방법으로 흡광도 감소를 측정하였다. EDA는 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도차를 백분율로 표시하였다.

실험동물, 사육조건 및 식이 조성

실험동물은 180 g 전후의 SD계 암컷 흰쥐를 경상대학교 의과대학 동물실험실에서 분양 받아 온도 22±2℃, 습도 50±5%, 명암주기 12시간 (명주기: 07:00~19:00)이 자동 설정된 동물 사육실에서 1주일간 시판 고형식이로 사육한 후, 다시 정상 기본 식이로 4일간 예비 사육하여 환경에 적응시킨 후, 평균체중이 동일하게 6마리씩 5군으로 나누어 본 실험을 시작하였다. 실험 식이군은 정상 식이군 (ND), ND에 0.5% (w/w) 콜레스테롤과 0.125% (w/w) 콜산나트륨을 첨가한 콜레스테롤 식이군 (CD), CD에 유산균 발효유를 5% 첨가한 실험군 (CDFM), 버섯 추출물 5% 첨가한 실험군 (CDMP) 및 버섯 추출물 함유 유산균 발효유를 5% 첨가한 실험군 (CDFMMP)으로 구성하였다 (Table 1). 이렇게 조제한 실험 식이와 음료수는 4주간 자유급여(*ad libitum*) 시켰으며 체중은 1주일에 한번씩 측정하였다.

분석시료의 조제

실험 최종일 실험동물을 12시간 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 복부 대동맥으로부터 채혈하여 탈혈사 시킨 후 각 조직을 적출하여 미리 냉각된 0.9% 생리식염수로 충분히 세척하고 물기를 제거한 다음 무게를 측정하고, 과산화지질 농도 분석에 제공하였다.

각 조직 획분의 조제 및 과산화지질 농도 정량

적출한 각 조직은 1.15% KCl 10 mM phosphate buffer (pH 7.4)를 가하여 homogenizer로 균질화 시켰다. 이 용액의 일부를 homogenate 획분으로 하고, 나머지 용액으로부터 microsome 획분과 mitochondria 획분을 분리하였다[26]. 각 조직의 과산화지질 농도는 전보의 방법[4]에 준하여 측정하였다. 즉, 각 조직 homogenate, microsome 및 mitochondria 획분 용액 1 ml에 각각 thiobarbituric acid (TBA) 시약 2 ml을 가하여 잘 혼합하고, 수욕조상에서 15분간 가열한 후 냉각시켜 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 한 후 상층액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 조직의 과산화지질 농도는 malondialdehyde를 nmol/g으로 나타내었다.

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과치는 평균치와 표준오차 (mean±S.E.)로 표시하였으며, 각 실험 군간의 유의성 검정은 $p<$

Table 1. Composition of experimental diets (%)

Ingredients	ND	CD	CDFM	CDME	CDFMME
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
α-Corn starch	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Soybean oil	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
AIN-93 mineral mixture	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
AIN-93 vitamin mixture	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
L-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	0.0	0.5	0.5	0.5	0.5
Sodium cholate	0.0	0.125	0.125	0.125	0.125
Sucrose	44.5	43.38	40.38	40.38	40.38
Fermented milk(FM)	0.0	0.0	4.0	0.0	0.0
Mushroom extract(ME)	0.0	0.0	0.0	4.0	0.0
Fermented milk containing ME	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0

ND : the normal diet.
CD : the cholesterol diet.
CDFM : the cholesterol + fermented milk diet.
CDME : the cholesterol + mushroom extract diet.
CDFMME : the cholesterol + fermented milk containing mushroom extract diet.

0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 하였다[15].

결과 및 고찰

총 폴리페놀 화합물의 함량

본 실험에 사용한 10% (w/v) 농도의 표고버섯, 영지버섯, 느타리버섯 각각의 열수 추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량을 tannic acid를 표준곡선으로 하여 측정한 결과는 Table 2와 같다. 수용성 추출물 중의 총 폴리페놀 화합물은 표고버섯 0.34%, 영지버섯 0.20%, 느타리버섯 0.34%가 함유되어 있었다. 국내산 식용 식물 중 버섯 종류의 총 폴리페놀 화합물 함량은 느타리버섯 0.4%와 표고버섯 0.21%로 본 실험 결과와 비슷하였다[23].

DPPH법에 의한 전자공여능

DPPH는 비교적 안정한 radical로서 아스코르빈산, 토코페롤, polyphenol류, 방향족 아민류에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 정도에 따라 항산화 물질의 전자공여능을 측정할 때 사용되는 유용한 방법으로 알려져 있다[3]. 이러한 전자공여능은 활성라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되고 있을 뿐만 아니라 인체 내에서 활성라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 목적으로 이용되고 있다. 식물성 추출물의 항산화 활성을 간단하게 측정할 뿐 아니라 실제 항산화 활성과도 매우 연관성이 높다. 시판 항산화제인 BHT를 0.05% 농도로 하여 측정한 결과 EDA가 95.6%로 높은 활성을 나타내었다 (Fig. 1). 그러나

Table. 2. Total polyphenol concentrations in each mushroom extract by Folin-Denis method

Mushroom samples	Total polyphenol (%)
Lentinus edodes	0.34
Ganoderma lucidum	0.20
Pleurotus ostreatus	0.34

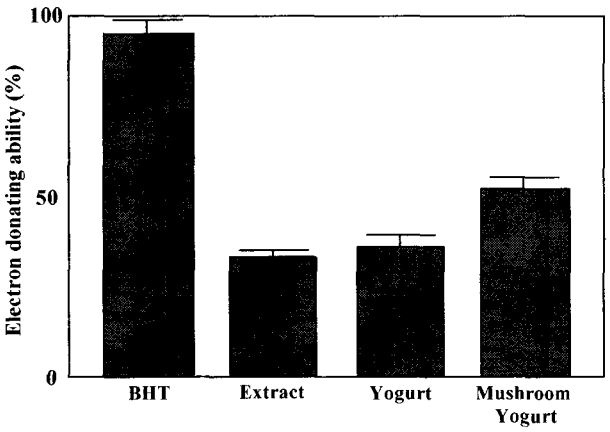

Fig. 1. DPPH electron donating activity of the test samples (n=3).
BHT : butylated hydroxytoluene.
Extract : Hot water extract from *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, and *Pleurotus ostreatus*.
Yogurt : Fermented milk produced by *Lactobacillus bulgaricus*.
Mushroom yogurt : Fermented milk produced by *Lactobacillus bulgaricus* containing hot water extract from *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, and *Pleurotus ostreatus*.

버섯 수용성 추출물과 유산균 발효유의 항산화 활성은 각각 33.9% 및 34.9%로 나타났으나, 버섯 수용성 추출물 함유 유산균 발효유 51.9%로 이들 각각 보다 상당히 높았다. 느타리버섯 에탄올 추출물이 지질과산화를 억제 시키는 작용이 강한 것으로 나타났으며 첨가농도가 높을수록 항산화 작용이 강하다고 보고하였고[16], 표고 및 영지버섯의 diethylether 추출물의 EDA는 각각 38.3% 및 95.1%로 항산화작용이 있는 것으로 보고되었다[5,22,32].

체중 및 각 장기 무게에 미치는 영향

버섯 추출물, 유산균 발효유 및 버섯 추출물을 포함하는 유산균 발효유를 4주간 투여한 흰쥐에서 체중은 실험 군간에 유의적인 차이가 없었다 (Table 3). 그러나 유산균 발효유 식이군(CDFM군)에서 체중 증가가 다른 식이군들에 비해 적게 나타났다. 유산균 발효유 첨가 식이에 의한 체중 감소가 체내 지방조직의 무게가 다른 식이군들에 비해 상대적으로 낮았다는 보고가 있어서 이들과 상호 관련성이 있는 것으로 사료된다[19]. 간장 조직의 무게는 정상 식이군(ND군)에 비교해서 콜레스테롤을 함유한 모든 식이군에서 증가하는 경향을 나타내었다(Table 3). 콜레스테롤 식이군(CD군)에 비해 유산균 발효유 식이군(CDFM군) 및 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 식이군(CDFMME군)에서는 감소경향을 나타내었고, 버섯 추출물 식이군(CDME군)과는 유의한 차이가 없었다. 일반적으로 콜레스테롤의 섭취는 간장 조직에서 지질대사 이상을 초래하여 지질의 침착을 일으켜 간 조직의 무게를 증가시키는 것으로 알려져 있어[6,7,23], 본 실험에서도 콜레스테롤 섭취에 의한 것으로 생각된다. 그러나, 다른 조직인 심장, 신장 및 비장의 무게는 각 실험군 간에 유의한 차이는 나타나지 않았다.

각 조직의 과산화지질 농도에 미치는 영향

생체내의 지질 과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물 또는 당뇨병 등에 의한 병태 생리학적 현상이나 조직의 손상 정도를 나타내는 가장 중요한 기전으로 인정되고 있다[1,18]. 이러한 기전은 조직내 세포의 산화적 스트레스에 의한 free radical 생성 증가 및 체내 항산화적 방어력의 감소로 인해 야기된다. 동물 체내에서 생체막 과산화지질의 생성 정도를 나타내는 과산화지질 농도를 측정한 결과는 Table 4와 같다. 각 조직에 있어서 과산화지질 농도의 상대적 함량은 정상 식이군과 콜레스테롤 식이군 모두에서 간장, 신장, 심장, 비장 순으로 나타났다. 콜레스테롤 식이를 2주간 수컷 흰쥐에 자유섭취 시킨 결과에서는 신장, 심장, 간장, 비장의 순으로 나타났으며[10], 정상 식이로 사육한 6개월 수령의 수컷 흰쥐에서 각 조직의 상대적 과산화지질 농도는 심장, 간장, 신장의 순으로 나타나, 본 실험의 결과와는 약간 다른 경향으로서 종간의 차이, 수령, 식이 조성 등에 의해 조직 간의 과산화지질 생성 정도가 다르다는 것을 시사하였다[10,30].

간 조직의 과산화지질 농도는 정상 식이군에 비해 콜레스테롤 식이군에서 유의차 없이 3.2% 증가하였으나, 이러한 콜레스테롤 식이군에 비해 유산균 발효유 식이군과 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 식이군에서 각각 15.9% 및 18.4%씩 유의한 감소가 인정되었다 (Table 4). 이러한 결과는 간장 과산화지질 농도의 저하 효과가 버섯 추출물 식이군에서는 거의 없는 것으로서 주로 유산균 발효유 작용에 의한 것으로 사료되어진다. 실험적 당뇨유발 흰쥐에 *Lactobacillus* GG 세포 배양액의 투여에 의해서도 간장의 지질과산화 농도를 유의적으로 낮추는 것으로 보고되었다[7]. 그러나, 고콜레스테롤혈증 흰쥐와 비만형 당뇨병 모델쥐에서 식용버섯 섭취에 의해서도 간장 지질농도를 낮추는 동시에 항산화 작용을 가진 것으로 보고되었으며[5], 또한 영지 및 표고버섯의 열수 추출액에 함유되어 있는 다당체가 과산화지질 생성을 억제시킨 결과도 보고된 바 있다[14,20]. 과산화지질은 지질성분인 불포화지방산에 산소가 첨가되어 산화된 지질로 특히 생체 내에서 과산화 현상은 세포막의 주요구성 성분인 인지질을 구성하는 불포화지방산이 활성 산소와 결합하여 생성되는데 이러한 현상은 미토콘드리아나 마이크로솜 등 불포화지방산과 인지질이 풍부한 세포막에서 쉽게 일어나 날 수 있다[17]. 본 실험에서 간장 조직의 과산화지질 농도의 변화가 있어서 마이크로솜과 미토콘드리아 획분을 얻어 세포막 구성지질의 불포화지방산들이 free radical 의해 산화적 분해를 일으켜 생성되는 malondialdehyde를 측정한 결과는 Table 5와 같다. 간세포 분획인 microsome의 과산화지질 농도도 정

Table 3. Body weight gain and tissues weight in female rats

Ingredients	ND[1)]	CD	CDFM	CDME	CDFMME
Final body weight (g)	275.0±5.91	267.2±6.82	258.3±11.86	262.3±9.08	272.3±16.15
Tissue weight (g)					
Liver	8.34±0.31[a]	9.82±0.22[b]	9.26±0.72[ab]	10.35±0.72[b]	9.22±0.56[ab]
Kidney	1.79±0.05	1.74±0.04	1.61±0.11	1.70±0.10	1.77±0.09
Heart	0.89±0.02	0.86±0.03	0.82±0.07	0.80±0.05	0.84±0.03
Spleen	0.51±0.03	0.48±0.02	0.54±0.04	0.62±0.09	0.59±0.07

Values are means±SE of six rats per group. Between the groups, values with different letters are significantly different at $p<0.05$.
[1)]See footnote of Table 1.

Table 4. The lipid peroxide concentrations of tissues in female rats. (nmol/g tissue)

Ingredients	ND[1)]	CD	CDFM	CDME	CDFMME
Liver	117.74±4.71[a]	121.45±3.43[a]	102.15±9.52[b]	123.37±10.28[a]	99.07±5.68[b]
Heart	25.50±0.37	24.27±0.42	24.16±0.56	24.17±0.53	23.55±0.67
Kidney	14.52±0.35[a]	27.42±0.71[b]	22.75±2.70[c]	28.34±0.48[b]	20.52±1.12[c]
Spleen	13.74±0.43	13.64±0.42	13.95±0.73	14.60±0.51	14.28±0.65

Values are means±SE of six rats per group. Between the groups, values with different letters are significantly different at $p<0.05$.
[1)]See footnote of Table 1.

Table 5. The lipid peroxide concentrations of the microsome and mitochondria of liver and kidney in female rats. (nmol/mg protein)

Ingredients	ND[1)]	CD	CDFM	CDME	CDFMME
Microsome					
Liver	9.62±0.37[ab]	10.78±0.35[a]	8.77±0.43[b]	10.44±0.57[a]	9.72±0.15[ab]
Kidney	2.86±0.01[ab]	3.19±0.07[a]	2.72±0.26[b]	3.21±0.28[a]	2.96±0.17[ab]
Mitochondria					
Liver	10.79±0.42	10.36±0.16	10.31±0.88	11.05±0.40	10.74±0.32
Kidney	3.11±0.17[a]	2.98±0.19[a]	2.45±0.08[b]	3.29±0.05[a]	2.33±0.11[b]

Values are means±SE of six rats per group. Between the groups, values with different letters are significantly different at $p<0.05$.
[1)]See footnote of Table 1.

상 식이군에 비해 콜레스테롤 식이군에서 높게 나타났으며, 버섯 추출물 식이군에서도 약간 높게 나타났다. 그러나 간조직과 마찬가지로 유산균 발효유 식이군과 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 식이군에서는 다른 실험군들 보다 낮게 나타났다. 간 조직의 mitochondria 분획에서는 각 군간의 유의한 차이는 없었다(Table 5). 한편, *Streptococcus thermophilus* 5종 및 *Lactobacillus bulgaricus* 6종의 유산균 108 세포 추출액에서 linoleic acid peroxidation을 현저히 저하시켰는데, 이는 시판 항산화제 butylated hydroxytoluene (BHT) 25~96 ppm에 상당하는 농도로 상당히 높은 항산화 활성을 나타낸 것이다[24]. 따라서 유산균 발효유 또는 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 투여로 간조직에서 지질과산화물이 감소되는 것은 생체내에서 지질과산화물 생성 반응이 free radical 제거능을 가진 유산균 발효유의 항산화적 방어계의 작용에 의해 억제된 것으로 생각된다.

신장 조직의 과산화지질 농도는 정상 식이군에 비해 콜레스테롤 식이군에서 1.8배로 유의적인 증가를 나타내었고, 간조직에서와 마찬가지로 콜레스테롤 투여에 의한 이러한 증가는 버섯 추출물 식이에 의해서는 어떠한 영향도 없었다(Table 4). 그러나 콜레스테롤 식이군에서 유산균 발효유 및 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 투여에 의해서는 유의적인 감소가 인정되어 간조직과 동일한 효과를 나타내었다. 신장 조직microsome 분획의 과산화지질 농도는 정상 식이군에 비해 콜레스테롤 식이군에서 증가경향을 나타내었다(Table 5). 그러나 콜레스테롤 식이군에서의 이러한 증가는 특히 유산균 발효유 식이군에서 유의하게 감소하였고, 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 식이군에서 감소경향을 나타내었다. 한편, 신장 세포 mitochondria 분획의 과산화지질 농도는 다른 실험군에 비해 유산균 발효유 식이군 및 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 식이군에서 유의한 감소를 나타내었다. 생체의 대사과정에서 생성된 노폐물을 체외로 배설시키고 체액의 항상성 유지와 항이뇨 호르몬 생성에 관여하는 내분비 기능을 가진 신장은 혈류량이 많고 노폐물을 여과시키는 과정에서 혈액 속에 들어있는 독성물질에 노출될 기회가 많기 때문에 이 조직에서의 과산화지질을 생성하는데 좋은 환경을 제공하여 조직의 손상을 초래할 수가 있다[29]. 콜레스테롤 섭취 동물의 신장, 간장 및 혈액에서 과산화지질의 증가와 뇨 중의 8-hydroxydeoxyguanosine 증가는 신장에서 어떤 기능장애가 일어난 것을 암시해준다[11,27]. 본 실험의 결과에서 정상 식이군에 비해 콜레스테롤 첨가 식이군에서 과산화지질 농도의 증가도 이러한 원인에 의한 것으로 생각된다. 따라서 콜레스테롤 식이에 의한 신장 세포 microsome 및 mitochondria 분획의 과산화지질 농도 증가는 유산균 발효유 및 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 첨가로 인해 감소되는 것으로 나타나, 간 조직에서와 마찬가지로 신장 조직에서도 과산화지질을 억제시키는 작용이 있는 것으로 나타났다.

한편, 심장 및 비장 조직의 과산화지질 농도는 각 실험군간에 유의한 차이가 없었으며 (Table 4), microsome 및 mitochondria 분획에서도 이들의 변화가 없는 것으로 나타났다(결과 미제시). 이전의 실험 결과[8,10]와 마찬가지로 흰쥐 조직 중에서 비장은 과산화지질 생성에 있어서 식이에 의한 영향을 가장 적게 받는 조직으로 사료되는 부분이다.

본 실험의 결과, 버섯 추출물 함유 유산균 발효유는 DPPH radical 공여능의 *in vitro* 실험계 뿐만 아니라 이를 투여한 흰쥐 간장 및 신장 조직의 과산화지질 생성을 감소시키는 *in vivo* 실험계에서도 항산화 작용이 있는 것으로 밝혀졌다.

요 약

유산균 발효유, 버섯(표고, 영지, 느타리) 추출물 및 이를 함유한 유산균 발효유가 SD계 암컷 흰쥐의 각 조직 과산화지질 농도 및 DPPH 전자공여능에 미치는 항산화 효과를 검토하였다. 표고, 영지, 느타리버섯 추출물의 Folin-Denis 법에 의한 총 폴리페놀 화합물 농도는 각각 0.34, 0.20, 0.34%로 나타났다. 유산균 발효유, 버섯 추출물, 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 및 이들 시료의 standard로서 사용된 BHT의 DPPH법에 의한 전자공여능은 각각 33.9, 34.9, 51.9 및 95.6%로 나타났다. 실험 식이군은 정상군, 콜레스테롤군, 콜레스테롤+유산균 발효유군, 콜레스테롤+버섯 추출물군 및 콜레스테롤+버섯 추출물 함유 유산균 발효유군으로 구성하였다. 간 조직 및 microsome 획분의 과산화지질 농도는 콜레스테롤+유산균 발효유군 및 콜레스테롤+버섯 추출물 함유 유산균 발효유군이 다른 실험군 보다 유의적으로 감소하였다. 신장 조직의 과산화지질 농도는 정상군에 비해 콜레스테롤군에서 현저히 증가하였고, 이러한 콜레스테롤 식이에 의한 증가는 유산균 발효유 및 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 첨가로 인해 유의적으로 감소하였다. 한편, 심장 및 비장 조직, 이들의 microsome 및 mitochondria 획분의 과산화지질 농도는 각 실험군간에 유의한 차이가 없었다. 본 실험의 결과, 버섯 추출물 함유 유산균 발효유 식이는 흰쥐 간장 및 신장 조직의 과산화지질 생성을 감소시키는 작용이 있는 것으로 밝혀졌다.

참 고 문 헌

1. Alordmann, R., C. Ribierre and H. Rouach. 1990. Ethanol induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol.* **25**, 231-237.
2. Annual report on the cause of death statistics. 2002. National Statistical Office, Republic of Korea.
3. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1204.
4. Bobek, P., E. Ginter, L. Kuniak, J. Babala, M. Jurcovicova, L. Ozdin and J. Cerven. 1991. Effect of mushroom *Pleurotus ostreatus* and liver lipid in Syrian hamsters with hyperlipoproteinemia. *Nutrition* **7**, 105-109.
5. Bobek, P., L. Ozdin and L. Kuniak. 1995. Antioxidative effect of oyster mushroom(*Pleurotus ostreatus*) in hypercholesterolemic rat. *Pharmazie.* **50**, 441-442.
6. Cha, J. Y. and Y. S. Cho. 1999. Effect of potato polyphenolics on hyperlipidemia in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 274-279.
7. Cha, J. Y., Y. S. Cho and T. Yanagita. 1999. Effect of cholesterol on hepatic phospholipid metabolism in rats fed a diet containing fish oil and beef tallow. *Korean Soc. Food Nutr.* **4**, 125-129.
8. Cha, J. Y. and Y. S. Cho. 2001. Effect of stem bark extract from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid concentrations of lipid and tissue lipid peroxidation in the cholesterol-fed rats. *Korean J. Food Sci. Thechnol.* **33**, 128-134.
9. Cha, J. Y., H. J. Kim, C. H. Chung and Y. S. Cho. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1310-1315.
10. Cha, J. Y., H. J. Kim and Y. S. Cho. 2000. Effect of water-soluble extract from leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid peroxidation in tissues of rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 531-536.
11. Cha, J. Y. and Y. S. Cho. 1999. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1131-1136.
12. Chang, J. S., H. J. Kim, J. T. Bae, S. H. Park, S. Y. Lee, O. M. Kim and K. R. Lee. 1998. Inhibition effects of *Auricularia auricula-judae* methanol extract on lipid peroxidation and liver damage in benzo(a)pyrene-treated mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 712-717.
13. Chibada, I., K. Okumura, S. Takeyama and A. Kotera. 1969. Lentinacin, a new hypocholesterolemic substance in *Lentinus edodes*. *Experientia.* **25**, 1237-1242.
14. Choi, M. Y., S. S. Lim and T. Y. Chung. 2000. The effects of hot water soluble polysaccharide from *Lentinus edodes* on lipid metabolism in the rats fed butter yellow. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 294-299.
15. Duncan, D. B. 1959. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* **1**, 1-42.
16. Jung, I. C., S. Park, K. S. Park, H. C. Ha, S. H. Kim, Y. I. Kwon and J. S. Lee. 1996. Antioxidative effect of fruit body and mycelial extracts of *Pleurotus ostreatus*. *Korean J. Food Sci. Thechnol.* **28**, 464-469.
17. Kabir, Y., S. Kimura and T. Tamura. 1988. Dietary effect of *Ganoderma lucidum* mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats(SHR). *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **34**, 433-438.
18. Khalil. Z. and B. Khodr. 2001. A role for free radicals and nitric oxide in delayed recovery in aged rats with chronic constriction nerve injury. *Free Radic. Biol. Med.* **31**, 430-439.
19. Kim, B. K., G. G. Shin, B. S. Jeon. and J. Y. Cha. 2001. Cholesterol-lowering effect mushroom powder in hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 510-515.

20. Kubo, M., H. Tatsuda, S. Nogami. and T. Takahashi. 1983. Studies on *Ganoderma lucidum* (IV). Effects on the disseminated intravascular coagulation. *Yakugaku Zasshi* **103**, 871-878.
21. Kubo, K. and H. Nanba. 1996. The effect of maitake mushrooms on liver and serum lipids. *Altern Ther. Health Med.* **2**, 62-69.
22. Lee, G. D., H. G. Chang and H. K. Kim. 1997. Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 432-436.
23. Lie, C. H., M. T. Huang. and P. C. Huang.1995. Sources of triglyceride accumulation in liver of rats fed a cholesterol-supplemented diet. *Lipids* **30**, 527-532.
24. Lin, M. Y. and C. L. Yen. 1999. Reactive oxygen species and lipid peroxidation product-scavenging ability of yogurt organisms. *J. Dairy Sci.* **82**, 1629-1634.
25. Park, M. H., K. Y. Oh. and B. W. Lee. 1998. Anti-cancer activity of *Lentinus edoeds* and *Pleurotus astreatus*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 702-708.
26. Schnaitman, C., V. G. Erwin. and J. W. Greenwalt. 1967. The submitochondrial localization of monoamine oxidase; An enzymatic marker for the outer membraine of rat liver mitochondria. *J. Cell. Biol.* **32**, 719-723.
27. Suzuki, S., Y. Hinokio, K. Komatu, M. Ohtomo, M. Onoda, S. Hirai, M. Hirai, A. Hirai, M. Chiba, S. Kasuga, H. Akai. and T. Toyota. 1999. Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to diabetic complications. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **45**, 161-168.
22. Tabuchi, M., M. Ozaki, A. Tamura, N. Yamada, T. Ishida, M. Hosoda. and A. Hosono. 2003. Antidiabetic effect of *Lactobacillus* GG in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 1421-1424.
29. Wong, S. F., B. Holliwell, R. Richimond. and W. R. Skowroneck. 1981. The role of superoxide and hydroxyl radical in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorganic. Biochem.* **14**, 127-134.
30. Xia, E., G. Rao, H. V. Remmen, A. R. Heydari. and A. Richardson. 1995. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J. Nutr.* **125**, 195-201.
31. Yuan, Z., P. He, J. Cui. and H. Takeuchi. 1998. Hypoglycemic effect of water-soluble polysaccharide from *Auricularia auricula-judae* Quel. on genetically diabetic KK-A^y mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 1898-1903.
32. Zhana, Y., G. L. Mills. and M. Nair. 2002. Cyclo-oxygenase inhibitory and antioxidant compounds from the mycelia of the edible mushroom *Grifola frondosa*. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 7581-7585.