

수삼을 기질로 한 담자균 배양물로부터 분리한 조사포닌의 항산화 효과

정재현* · 위재준¹ · 신지영² · 조주현³ · 정동현

충주대학교 식품생명공학과, ¹(주)케이티앤지, ²충청대학 다이어트건강관리학과, ³에프이엔바이오텍(주)

Antioxidative Effect of Crude Saponin Fraction Prepared from Culture Product of Basidiomycota cultured with Fresh Ginseng as Substrate

Jae-Hyun Jeong*, Jae-Joon Wee¹, Ji-Young Shin², Ju-Hyun Cho³, and Dong-Hyun Jung

Department of Food and Biotechnology, Chung Ju National University

¹KT&G, ²Department of Health and Diet, Chung Cheong University

³Fen Biotech Co., Ltd

Antioxidative activity of crude saponin fraction (CSF) prepared from Basidiomycota cultured with fresh ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) as substrate was investigated by analyzing CSFs for ginsenoside and phenolic compounds. On TLC chromatogram, ginsenosides such as Rg₂, Rg₃, and Rh₁, which were rare in fresh ginseng, were identified. CSF of *Phellinus linteus* culture product showed the highest total phenolic content and electron-donating ability (EDA), suggesting phenolic compounds contribute to EDA. *In vitro* lipid peroxidation was inhibited most by CSF of *Ganoderma lucidum*, indicating that the highest EDA does not imply highest inhibition against lipid peroxidation. Tyrosinase was also inhibited mostly by CSF of *G. lucidum*. These results suggest culture of Basidiomycota with fresh ginseng has more active substances than fresh ginseng alone.

Key words: DPPH, Antioxidative, Fresh ginseng, *Phellinus linteus*, *Ganoderma lucidum*, *Heridium erinaceum*

서 론

인삼(*Panax ginseng* C. A. mayer)은 한국, 일본, 중국 등지에서 적어도 2000년 이상 가장 고귀한 생약재료로 사용되어 왔다. 인삼의 화학성분과 약리효능은 현대 과학적인 연구를 통해 사포닌이 주요 유효성분으로 밝혀졌고, 그 약리작용으로는 중추신경 억제작용(1), 단백질 합성 촉진작용(2), 면역기능 조절작용(3), 인슐린 유사작용(4), 해독작용(5), 항발암과 항암작용(6) 등이 보고 되었다. 사포닌은 당부(glycone)와 비당부(aglycone)로 구성된 배당체로서 식물계에 널리 분포하고 있는데, 인삼 사포닌은 비당부가 dammarane계 triterpene인 접이 특징적이고 PD 및 PT계로 나누어지며 현재까지 30여종 이상의 화학구조가 밝혀져 있다. 인삼분말을 에테르로 추출하면 얻어지게 되는 1-2%의 지용성 성분에는 페놀계 화합물, 폴리아세틸렌, 알칼로이드(7,8) 및 테르펜(9,10) 등이 포함된다. 이중 페놀계 화합물의 경우, 홍삼으로부터 항산화 효과를 나타내는 유효 성분이 분리된 이래(11) 관심의 대상이 되어 수삼과 백삼으로부터 많은 항산화 물질이 분리되었다(12). 항산화 물질은 지질과산화

에 대해 강력한 억제효과 및 α - α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH)소거 활성을 나타냄으로써 지질과산화를 억제하여 노화 방지에 효과적일 것이라고 보고되고 있다(13).

한편, 버섯류의 경우에도 다양한 연구를 통해 여러 가지 생리활성이 높은 소재로 인식되고 있다. 이중 노루궁뎅이버섯(*Heridium erinaceum*)은 오래전부터 식용 및 약용으로 이용되어 왔으며 항암 및 면역기능 증강, 만성위염, 신체허약 등에 약리효능이 있다고 알려지고 있다(14). 최근에는 노루궁뎅이버섯으로부터 치매 치료제로 이용 가능한 물질이 분리되어 그 구조까지 밝혀졌으며, 또한 노루궁뎅이버섯 열수 추출액의 암세포 증식 억제효과 및 Sacoma 180 세포에 대한 항종양 효과도 보고 되었다(15). 목질진흙버섯의 경우에는 Maeda 등(16)에 의해 항암 활성이 96.7%라고 보고하였다. Chung 등(17)은 목질진흙버섯 균사체의 단백당체가 Sacoma 180 복수암 및 고형암을 효과적으로 억제한다고 하였다. 한편 Han 등(18)은 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 균사체의 세포벽에서 추출한 수용성 다당류인 β -glucan성 ganderan을 Sarcoma 180 세포주가 이식된 쥐에 투여하여 94%의 종양 억제율이 나타냄을 보고한바 있으며, Chung(19)은 건조한 영지버섯 자체 추출물로부터 항산화 물질을 검색하여 천연 항산화제로의 이용 가능성을 보고하였다.

수삼, 목질진흙버섯, 영지버섯 및 노루궁뎅이버섯에는 항암, 면역, 항산화 효과를 가진 성분을 포함하여 여러 가지 다양한 생리활성물질이 함유되어 있다. 따라서, 본 연구에서는 담자균을 인삼에 배양할 경우 보다 강화된 유용 물질을 생산할 수 있

*Corresponding author: Jae-Hyun Jeong, Department of Food and Biotechnology, Chung Ju National University, 123 Geomdan-ri Iryu-myeon Chungju, Chungbuk, 380-702 Korea
Tel: 82-43-841-5248
Fax: 82-43-841-5240
E-mail: jhjeong@chungju.ac.kr

을 것으로 사료되어, 수삼에 고등균류인 담자균을 발효 배양하여 얻은 균사체 배양물로부터 조사포닌을 분리하여 항산화 활성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 공시균주로 사용한 목질진흙버섯(*Phellinus linteus*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 및 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceum*) 균사체는 광주농업기술연구원에서 분양받아 충주대학교 생화학실험실에서 potato dextrose agar(PDA, Difco, USA) 배지에 15일 간격으로 계대배양(multi room incubator, VS-1203, Vision)하여 보관하면서 사용하였다. 각 균주를 접종할 기질로 사용하기 위해 충남 금산 인삼 시장에서 5년근 수삼(한 뿌리당 45-50 g, $\phi 2.5 \times 27$ cm)을 구입하였다. 인삼사포닌 표준품 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₂, Rg₃, Rh₁ 10 종은 KT&G 중앙연구원에서 분리한 것을 사용하였다.

균주별 배양조건 및 균중제조

배지는 mushroom complete media(MCM) 혼합배지를 사용하였으며, 목질진흙버섯 및 영지버섯은 30°C, 노루궁뎅이버섯은 25°C에서 15일간 배양하였다. 평판에 고체 배양시킨 균주를 8 mm 유리관으로 편칭하여 100 mL MCM액체배지에 5개씩 접종하였다. 목질진흙버섯 및 영지버섯은 30°C에서 100 rpm으로 10일간 진탕 배양(shaking incubator, SI-4000R, Jeio Tech)하였고, 노루궁뎅이버섯은 25°C에서 140 rpm으로 15일간 배양하였다. 액체 배양한 것을 균질기(Waring blender, BL91, Waring)로 균질화하여 10 mL씩 100 mL의 MCM 액체배지에 접종하여 7일간 진탕 배양한 것을 종균으로 사용하였다.

수삼을 기질로 한 담자균 배양

수삼을 물로 깨끗이 세척한 다음 어긋하게 마름모꼴로 칼집을 내어 48시간 동안 상온에서 건조시킨 후 121°C에서 2시간 멸균시킨 다음 방냉한 것을 기질로 사용하였다. 기질(수삼 한 뿌리)에 각각의 종균을 20 mL씩 접종하여 각각의 배양온도에서 20일간 발효 배양한 균사체 배양물을 -80°C 초저온냉동기(deep freezer, VX490E, Jouan)에서 24시간 동결시킨 후 동결건조기(freeze dryer, FT8512, Ilshin)에서 72시간 동결 건조시킨 것을 마쇄하여 시료로 사용하였다.

수삼 및 수삼 배양물로부터 조사포닌 추출 및 조제

Shin 등(20)의 방법에 따라 분말시료 100 g에 70% 메탄올 900 mL를 첨가하여 환류관이 부착된 맨틀(80°C)에서 24시간씩 3회 반복 환류 추출하였다. 추출액은 60°C에서 감압 농축기(rotary vacuum evaporator, N-N series, Eyela)로 농축하여 용액이 100 mL가 될 때까지 메탄올을 제거한 후 여기에 물을 가하여 200 mL로 정용하였다. 이 시료 200 mL를 Diaion HP-20($\phi 2.5 \times 35$ cm, Mitsubishi chemical, Japan)수지에 흡착시켰다. 흡착 후 증류수(1500 mL)로 수지를 충분히 세척한 다음 90% 메탄올(500 mL)로 용출하여 조사포닌 분획을 얻었다. 이 조사포닌 분획을 진공농축기로 농축하여 메탄올을 제거한 후 동결건조(-80°C, 9 mmHg)하여 조사포닌 시료로 사용하였다.

Ginsenoside의 TLC 분석 조건

분리한 조사포닌 1 mg을 1 mL의 50% 에탄올에 용해시켜 10

μ L씩 silica gel TLC plate에 점적하였다. 전개용매로는 CHCl₃/CH₃OH/H₂O(13 : 7 : 2, 하층)를 사용하였으며, 발색시약은 30% H₂SO₄를 분무하여 110°C에서 10분간 발색하였다.

페놀성 화합물 정량

시료 10 mg을 50% 에탄올 1 mg/mL의 농도로 희석하여 AOAC의 Folin-Denis법을 일부 변형하여 비색 정량하였다. 시료 0.2 mL(1 mg/mL)에 Na₂CO₃를 2.0 mL 가하고 2분간 실온에서 방치한 후 50% Folin-Denis 시약을 0.2 mL 가하고 혼합하여 실온에서 30분 정치한 후 분광광도계(UV-Vis spectrophotometer, UV-1601, Shimadzu)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 chlorogenic acid의 농도를 달리하여 조제한 후 표준곡선을 작성하였다.

DPPH free radical 소거법에 의한 전자공여능

추출물의 전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Blois(21)의 방법을 변형하여 분석하였다. 각 시료용액 1 mL에 4×10^{-4} M의 DPPH 1 mL를 넣고 교반한 후 30분간 실온에 방치한 다음 분광광도계로 520 nm에서 흡광도를 측정하였고 식 (1)에 따라 EDA를 산출하였다.

$$EDA(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}}\right) \times 100 \quad (1)$$

지질과산화 억제 작용

Mitsuda 등(22)의 방법에 따라 실험하였다. 기질용액(linoleic acid)을 조제한 후 기질용액 10 mL에 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0) 9.6 mL 및 추출시료 용액 0.4 mL를 넣고 40°C에서 24시간 동안 반응시켰다. 반응액 2 mL에 35% trichloroacetic acid(TCA) 1 mL 및 0.75% thiobarbituric acid(TBA) 2 mL를 혼합하여 95°C에서 40분간 발색반응 시켰다. 실온에서 냉각한 후 acetic acid 1 mL와 chloroform 2 mL를 첨가하고 세차게 흔든 다음 3,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상등액을 분광광도계로 532 nm에서 흡광도를 측정하였고 (2)식에 따라 지질과산화 억제율을 산출하였다.

$$\text{Inhibition effect of lipid peroxidation}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}}\right) \times 100 \quad (2)$$

Tyrosinase 저해 활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DL- β -3,4-dihydroxyphenyl alanine(DOPA) chrome을 비색법에 의해 측정하는 Masamoto 등(23)의 방법에 준하여 실험하였다. 기질로서 5 mM DL-DOPA solution 0.2 mL, 0.1 M phosphate buffer(pH 6.8) 0.2 mL 및 시료용액 0.5 mL의 혼합액에 tyrosinase(250 unit/mL) 0.1 mL를 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시킨 다음 475 nm에서 흡광도를 측정하고 식 (3)에 따라 tyrosinase 저해율을 산출하였다.

$$\text{Inhibition ratio}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}}\right) \times 100 \quad (3)$$

통계처리

본 연구 결과는 평균으로 나타내었고 실험군 간의 비교분석은 SAS(Statistical analysis system)를 이용하여 ANOVA 분석 후 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

Table 1. Yields of crude saponin prepared from fresh ginseng and culture products of Basidiomycota

Sample	Content (% w/w)
FG ¹⁾	4.0 ± 0.2 ^b
GP ²⁾	4.3 ± 0.2 ^a
GG ³⁾	4.6 ± 0.2 ^a
GH ⁴⁾	4.2 ± 0.2 ^b

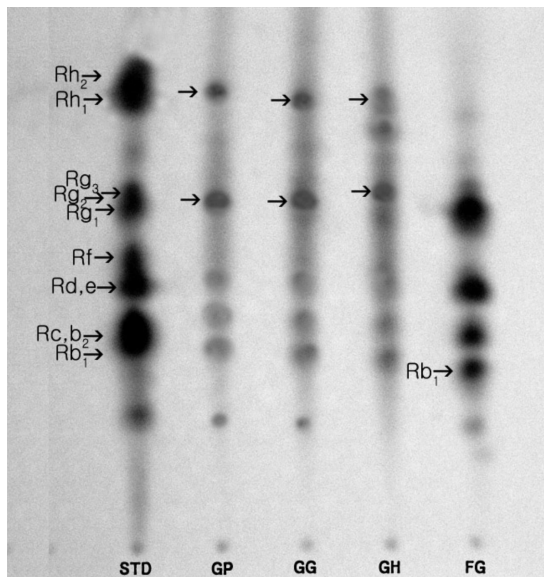
^{a,b}Mean values (3 replication) with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

¹⁾FG: Fresh Ginseng.

²⁾GP: Ginseng-*Phellinus linteus*.

³⁾GG: Ginseng-*Ganoderma lucidum*.

⁴⁾GH: Ginseng-*Hericium erinaceum*.

**Fig. 1. TLC profiles of crude saponin prepared from fresh ginseng and culture products of Basidiomycota.**

Abbreviations are the same as in Table 1.

결과 및 고찰

배양물 중 조사포닌의 추출 수율

수삼 및 수삼을 기질로 한 목질진흠버섯(*Phellinus linteus*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 및 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceum*) 균사체 배양물의 조사포닌 추출 수율은 Table 1과 같이 각각 4.0, 4.3, 4.6 4.2%로 수삼을 기질로 한 영지버섯 균사체 배양물의 추출수율이 가장 높았다.

Ginsenoside의 TLC 분석

수삼 및 수삼을 기질로 한 각 균사체 배양물로부터 분리된 조사포닌을 TLC 분석한 결과는 Fig. 1과 같이 수삼을 기질로 한 각 균사체 배양물의 조사포닌 모두에서 수삼 사포닌과 같은 위치에 소량의 ginsenoside가 남아 있음을 알 수 있었다. 특히 목질진흠버섯 및 영지버섯 균사체 배양물 조사포닌에서는 Rg₂와 Rh₁ 위치에서 spot을 볼 수 있었으며, 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물에서는 Rg₃와 Rh₁과 같은 위치에서 spot을 볼 수 있었는데, 이는 수삼을 홍삼으로 제조하는 과정 중에 생성되는 물질들로 수삼기질의 멸균공정을 거치면서 생성된 것이거나(24) 담자균 발효과정 중에 생성된 것으로 볼 수 있다. 이와 같이

Table 2. Total phenolic contents in the crude saponin prepared from fresh ginseng and culture products of Basidiomycota

Sample	Total phenolic content (%)
FG	1.04 ± 0.02 ^d
GP	1.11 ± 0.03 ^c
GG	1.45 ± 0.03 ^a
GH	1.29 ± 0.01 ^b

^{a,d}Mean values (3 replication) with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

Notes are the same as in Table 1.

수삼을 기질로 한 담자균 균사체 배양물에서는 인삼 사포닌이 잔류하고 있음을 알 수 있었다. Ginsenoside Rg₂는 기억학습능력의 장애를 개선시키는 효능(25)이 알려진바 있고, ginsenoside Rg₃는 암세포의 기저막 침윤을 유의하게 저지하는 활성을 나타낸다(26)고 보고 되었다. 최근에는 ginsenoside Rh₁는 사람 유방암 세포인 MCF-7 세포에서 estrogen 수용체를 활성화 시킨다고 보고되었다(27).

총페놀성 화합물 정량

Han 등(28)은 mouse에 과량의 에탄올을 투여하였을 때 야기되는 지질과산화 및 지방간에 대하여 페놀성분이 효과가 있었으며 순수 사포닌에서는 과산화억제효과가 없다고 보고 하였다. Mei 등(29)은 인삼 조사포닌이 혈관 내피세포의 산화적 손상방어효과가 있다고 하였으며, Chen 등(30)은 심근 과산화지질 억제와 SOD활성을 증가시켰다고 보고하였다. 또한 Kim(31)은 목질진흠버섯의 페놀성 화합물 중에는 활성산소 소거, 지단백 산화 억제 및 혈소판 응고 억제가 크다고 보고 하였다. 본 실험에서는 수삼기질 배양물의 조사포닌 분획중 항산화 효과와 관련이 높은 것으로 알려진 총페놀성 화합물 함량을 측정 한 결과 Table 2와 같이 수삼, 목질진흠버섯, 영지버섯 및 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물 조사포닌에서 1.04, 1.11, 1.45, 1.29%를 나타내어 수삼보다는 수삼의 균사체 배양물들이 모두 높은 페놀성 화합물 함량을 나타냈으며, 이중 영지버섯 균사체 배양물에서 가장 높은 페놀성 화합물 함량을 나타내었다. Shin 등(20)은 HP-20수지를 통과 시켜 제조한 인삼의 조사포닌 중에는 페놀함량이 2.2%를 나타내었다고 보고하여 본 결과보다는 다소 높았다. Kim(31)은 목질진흠 버섯의 페놀성 화합물의 함량은 버섯의 메탄올 추출물에서 33.3 mg%, 열수추출물 20.7 mg% 및 클로로포름 추출물 0.2 mg%를 나타냈다고 보고하였다. 또한 Kim(32)은 영지버섯 에테르 및 부탄올 추출물에서 각각 11.5, 15.5 mg%를 나타내었다고 보고하였는데 본 연구 결과와는 상호 비교하기가 곤란한 점이 있다. 그 이유는 Kim(32)의 측정치는 버섯 자실체의 메탄올 추출물에서 직접 페놀함량을 측정 한 것이고 본 연구에서는 수삼을 기질로 한 담자균 균사체 배양물로부터 추출 및 분리한 조사포닌으로 측정하였기 때문이다. 따라서 앞으로 동일한 실험 조건에서 수삼을 기질로 한 담자균 균사체 배양물과 버섯 배양물간의 페놀성 화합물 함량을 상호 비교해 봄으로써 수삼이 배양물의 페놀성 화합물 함량에 미치는 영향을 살펴보고자 한다.

DPPH free radical 소거법에 의한 전자공여능

DPPH 분자내 질소는 쉽게 전자를 받아들임으로써 본래의 짙은 자색을 잃어버리는 성질을 갖는다. 이러한 전자 공여 작용은 지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 활성 free radical에

Table 3. Electron donating ability (EDA) of crude saponin prepared from fresh ginseng and culture products of Basidiomycota

Sample	EDA (%)		
	0.1	1	10 (mg/mL)
BHA ¹⁾	85.7 ± 1.9 ^b	86.5 ± 1.2 ^d	93.9 ± 1.7 ^{c,d}
CA ²⁾	94.3 ± 2.7 ^a	95.8 ± 1.7 ^a	95.8 ± 0.9 ^{a,b}
AA ³⁾	95.4 ± 0.7 ^a	95.9 ± 0.8 ^a	97.8 ± 1.7 ^a
FG ⁴⁾	23.9 ± 0.1 ^d	90.4 ± 0.2 ^c	93.3 ± 0.4 ^{b,c}
GP ⁵⁾	31.1 ± 0.6 ^c	92.8 ± 0.8 ^b	94.9 ± 1.2 ^{b,c}
GG ⁶⁾	28.6 ± 0.2 ^c	83.9 ± 0.1 ^e	94.4 ± 0.1 ^{b,c}
GH ⁷⁾	25.5 ± 0.4 ^d	86.5 ± 0.5 ^d	91.9 ± 1.1 ^d

^{a-d}Mean values (3 replication) within a column that followed by same letters are not significant different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

¹⁾BHA: Butylated hydroxyanisole.

²⁾CA: Chlorogenic acid.

³⁾AA: Ascorbic acid.

⁴⁾FG: Fresh ginseng.

⁵⁾GP: Ginseng-*Phellinus linteus*.

⁶⁾GG: Ginseng-*Ganoderma lucidum*.

⁷⁾GH: Ginseng-*Hericium erinaceum*.

전자를 공여하여 산화를 억제시키는 척도가 된다. 이러한 활성 free radical은 인체 내에서 각종 질병과 노화를 일으키기 때문에 이들과 반응하여 그 활성을 소거시키는 능력을 지닌 항산화제로 작용할 수 있는 새로운 물질을 탐색할 필요성이 있다. 수삼 및 수삼을 기질로 한 배양물로부터 분리한 조사포닌의 전자공여능은 Table 3에 나타내었다. 수삼 및 수삼을 기질로 한 배양물의 조사포닌의 농도별 전자공여능력을 보면 0.1 mg/mL에서는 낮은 전자공여능력을 나타내었으나 1 mg/mL 및 10 mg/mL에서는 잘 알려진 천연 및 합성 항산화제와 견줄만한 높은 전자공여능력을 나타내었다. 즉, 1 mg/mL에서 BHA, chlorogenic acid, ascorbic acid는 각각 86.5, 95.8, 95.9%를 나타내었는데, 수삼 및 수삼을 기질로 하여 배양한 목질진흙버섯, 영지버섯 및 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물 조사포닌은 각각 90.4, 92.8, 83.9 및 86.5%를 나타냄으로써 수삼 및 배양물 조사포닌 중에 항산화 활성 물질이 다량 함유됨을 알 수 있었다. 한편, 10 mg/mL에서는 각각 93.3, 93.9, 94.9 및 91.9%로서 BHA, chlorogenic acid, ascorbic acid와 같이 높은 수준의 전자공여능력을 나타내었다. 수삼을 기질로 한 배양물 조사포닌 중에는 목질진흙버섯 균사체 배양물의 경우 1 mg/mL 및 10 mg/mL에서는 각각 92.8, 94.9%로 가장 높은 전자공여능력을 나타내었는데, 이는 Table 2에 나타난 총페놀성 화합물 함량의 결과와 일치한다. Kim(31)은 목질진흙버섯 자실체 메탄올 추출물의 전자공여능력이 1 mg/mL에서 78-88%임을 보고하였으며, Chung (33)의 연구에서는 배양 목질진흙버섯 물 추출물에서 1.2, 10 mg/mL에서 8.3, 15%로 낮은 전자공여능력을 나타내었는데, 본 실험에서는 수삼을 기질로 한 균사체 배양물의 조사포닌 1 mg/mL에서 92.8%로서 Kim(31)과 Chung(33)의 결과보다 높은 전자공여능력을 보여주고 있다. 이것은 수삼을 기질로 한 균사체 배양물로부터 조사포닌을 추출 및 분리하는 과정에서 균사체 또는 수삼 중에 함유된 페놀 성분이 함께 추출 및 농축됨으로써 조사포닌 중에 페놀 함량이 메탄올 또는 물 추출물 보다 높기 때문인 것으로 사료된다.

지질과산화 억제작용

수삼 및 수삼을 기질로 한 각 균사체 배양물의 지질과산화

Table 4. Inhibition effect of crude saponin prepared from fresh ginseng and culture products of Basidiomycota against lipid peroxidation

Sample	Inhibition effect (%)
	10 (mg/mL)
BHA	71.4 ± 0.17 ^a
CA	57.1 ± 1.11 ^b
AA	11.9 ± 0.87 ^c
FG	7.10 ± 0.20 ^f
GP	16.2 ± 0.26 ^d
GG	29.5 ± 0.60 ^e
GH	11.9 ± 0.34 ^c

^{a-e}Mean values (3 replication) with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.01$).

Notes are the same as in Table 3.

억제 효과는 0.1, 1 mg/mL에서 지질과산화 억제 작용이 없었으며, 10 mg/mL에서는 Table 4에서 보는 바와 같이 각각 7.1, 16.2, 29.5, 11.9%로 수삼보다 균사체 배양물의 지질과산화 억제 효과가 좋은 것으로 나타났으며 담자균류에 따라 큰 차이가 있음을 알 수 있었다. 특히 영지버섯 균사체 배양물 조사포닌의 효과는 29.5%로 수삼의 조사포닌이나 목질진흙버섯 균사체 또는 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물 조사포닌보다 높은 지질과산화 억제 효과를 나타내었다. 전자공여능의 경우에는 수삼을 기질로 한 균사체 배양물 조사포닌이 합성 또는 천연 항산화제와 유사한 수준의 활성을 나타내었으나, 지질과산화 억제에서는 합성 항산화제 BHA 또는 chlorogenic acid에 비해 훨씬 떨어지는 것으로 나타났다. 이는 전자공여능이 크다고 해서 반드시 지질과산화 억제활성이 높지 않음을 의미한다. 특히 전자공여능에 있어서는 목질진흙버섯 균사체 배양물 조사포닌이 가장 높게 나타났으나 지질과산화 억제에 있어서는 영지버섯 균사체 배양물 조사포닌에서 가장 높게 나타난 점도 이와 같은 맥락이라고 사료된다. 한편, 전자공여능에서와 같이 지질과산화 억제활성에서도 수삼을 기질로한 담자균 배양물 조사포닌이 수삼 단독의 조사포닌 보다 활성이 높게 나타난 것으로 보아 수삼을 기질로 하여 담자균을 배양함으로써 보다 강화된 활성물질을 제조할 수 있음을 보여준다.

Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성을 측정된 결과 1, 10 mg/mL에서 보다 0.1 mg/mL에서 높은 tyrosinase 저해 활성이 나타났으며, Fig. 2에서 보는 바와 같이 0.1 mg/mL에서 수삼 및 수삼을 기질로 한 목질진흙버섯, 영지버섯 및 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물 조사포닌에서 각각 61.2, 61.9, 65.6 및 59.6%를 나타내었는데, 이는 66.3%와 63.8%를 나타낸 BHA와 ascorbic acid와 대등한 수준이다. 특히, 수삼을 기질로 한 영지버섯 균사체 배양물의 조사포닌의 tyrosinase 저해활성이 65.5%로서 배양물 중 가장 높았다. Park 등(34)은 목질진흙버섯으로부터 조제한 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 추출이 1 mg/mL 농도에서 29.8, 100, 95.6, 19.6, 13.7%의 tyrosinase 저해활성을 나타냈다고 보고하였는데, 활성측정 시료 조제 방법과 사용한 농도가 본 실험과 달라 상호 비교에 어려운 점이 있다. 특히, Kim (31)이 사용한 목질진흙버섯의 클로로포름과 에틸아세테이트 추출물에서 매우 강한 tyrosinase 저해활성이 나타난 점이 특징적이다. 이에 앞으로 본 실험에서 사용한 균사체 배양물도 클로

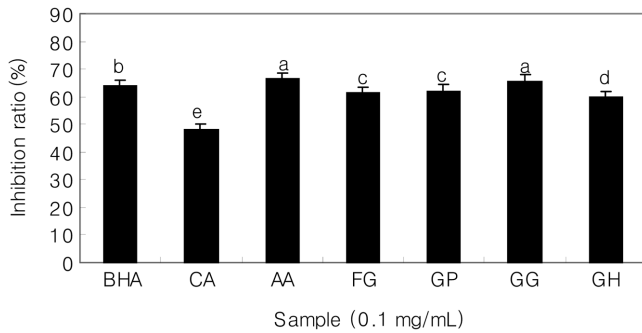


Fig. 2. Tyrosinase inhibition effect of crude saponin prepared from fresh ginseng and culture products of Basidiomycota.

^{a-c}Mean values (3 replication) with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

Notes are the same as in Table 3.

로포름 또는 에틸아세테이트로 추출물을 제조하여 tyrosinase 저해활성을 측정해 볼 필요가 있다고 사료된다. Tyrosinase 저해활성 물질 탐색은 화장품 산업의 미백효과 및 식품산업의 갈변화 방지에 있어서 매우 중요한 부분이 될 수 있으며 특히 멜라닌 생합성을 억제할 수 있는 화장품 개발에 활용될 것으로 기대된다.

요 약

수삼 및 수삼을 기질로 한 배양물로부터 조사포닌을 분리하여 TLC를 확인한 결과 목질진흠버섯 및 영지버섯 균사체 배양물 조사포닌에서 R_{g2}와 Rh₁ 위치에서 spot을 볼 수 있었으며, 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물에서는 R_{g3}와 Rh₁과 같은 위치에서 spot을 볼 수 있었다. 배양물의 총페놀성 화합물 함량은 수삼, 목질진흠버섯, 영지버섯 및 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물 조사포닌에서 1.04, 1.11, 1.45, 1.29%로 나타나 수삼보다는 수삼 배양물에서 높았으며, 특히 영지버섯 균사체 배양물에서 가장 높은 페놀성 화합물 함량을 나타내었다. 수삼 배양물 조사포닌의 전자공여능의 경우 목질진흠버섯 균사체 배양물 1 mg/mL 및 10 mg/mL에서 각각 92.8, 94.9%로 가장 높았다. 지질과산화 억제효과는 영지버섯 균사체 배양물 조사포닌이 29.5%로 목질진흠버섯 균사체나 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물 보다 높았다. Tyrosinase 저해활성은 영지버섯 균사체 배양물 조사포닌이 65.5%로 가장 높았다.

감사의 글

본 연구는 2002-2004년 충청북도 첨단생물산업 연구개발사업에 수행된 연구 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Benishin CG, Lee R, Wang LCH, Liu HJ. Effect of ginsenoside Rb₁ on central cholinergic metabolism. *J. Pharmacol.* 42: 223-229 (1991)
- Lee KY, Park JA, Chung E, Lee YH, Kim SI, Lee SK. Ginsenoside Rh₂ blocks the cell cycle of SK-HEP-1 cells at the G₁/S boundary by selectively inducing the protein expression P^{kip1}. pp. 88-101. In: Korea-Japan Ginseng Symposium October 4, Novotel Ambassador Hotel, Seoul, Korea. Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Seoul, Korea (1996)

- Lee YS, Kim YR, Kim KM. Effect of *Panax ginseng* on morphine-induced immune suppression. *J. Appl. Pharmacol.* 3: 177-181 (1995)
- Elma ZT, Ilian EZ, Christina IH. Effect of ginsenoside Rg₁ on insulin binding in mice liver and brain membranes. *Phytotherapy Res.* 5: 46-48 (1991)
- Kim HS, Lee MK. Effect of ginsenoside on the development of morphine-induced tolerance and physical dependence in mice. *Korean J. Pharmacol.* 20: 123-127 (1989)
- Kikuchi Y, Sasa H, Kita T, Hirata J, Tode T. Inhibition of human ovarian cancer cell proliferation *in vitro* by ginsenoside Rh₂ and adjuvant effects of cisplatin *in vivo*. *England Anticancer Drugs* 2: 63-67 (1991)
- Park JD, Kim MW, Yoo SJ, Wee JJ. A thiazole and two β -carboline constituents from *Panax ginseng*. *Arch. Pharmacol. Res.* 11: 52-55 (1988)
- Park JD, Kim MW, Yoo SJ, Wee JJ. Chemical studies on the ether soluble alkaloidal fraction of *Panax ginseng*. Isolation of 1-carbobutoxy- β -carboline and 1-carbomethoxyoxy- β -carboline. *Arch. Pharmacol. Res.* 10: 197-199 (1987)
- Jeong BS. Studies on the components of Korean ginseng (II). *Korean J. Pharmacol.* 7: 41-45 (1976)
- Kim MW, Choi KJ, Wee JJ. Volatile flavor components of fresh ginseng. pp. 185-190. In: The 4th International Ginseng Symposium September 18, Daejeon, Korea. Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Seoul, Korea (1984)
- Han BH. Studies on the anti-oxidant components of Korean ginseng. pp. 13-17. In: The 2nd International Ginseng Symposium September 7, Seoul, Korea. Korea Ginseng Research Institute, Seoul, Korea (1978)
- Wee JJ, Park JD, Kim MW, Lee HJ. Identification of phenolic antioxidant component isolated from *Panax ginseng*. *Korean J. Applid Bio. Chem.* 32: 50-56 (1989)
- Kim MW, Choi KJ, Cho YH, Hong SK. Study on the components of the antioxidant activity of *Panax ginseng*. *Korean J. Agric. Chem.* 23: 251-255 (1984)
- Ahn DK. Medicinal fungi in Korea. *Korean J. Mycology.* 20: 154-166 (1992)
- Kawagishi H, Shimada A, Hosokawa S, Mori H, Sakamoto H, Ishiguro Y, Sakemi S, Bordner J, Kojima N, Furukawa S. Erinacines E, F and G stimulators of nerve growth factor synthesis from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Tetrahedron Lett.* 37: 7399-7402 (1996)
- Maeda YY, Ishimura K, chihara G. Antitumor polysaccharides and host defence against cancer; a new way for cancer immunotherapy. *Protein Nucleic Acid Enzyme* 21: 426-436 (1976)
- Chung KS, Kim SS, Kim HS, Kim KY, Han MW, Kim KH. Effect of Kp, an antitumor protein-polysacchride from mycelial culture of *Phellinus linteus* on the humoral immune response of tumor bearing ICR mice to sheep red blood cells. *Arch. Pharmacol. Res.* 16: 336-338 (1993)
- Han MD, Jeong H, Lee JW, Back ST, Kim SU, Yoon KH. The composition and bioactivities of ganoderan by mycelial fractionation of *Ganoderma lucidum* IY009. *Korean J. Mycology.* 23: 285-297 (1995)
- Chung DO. Studies on antioxidative substances of *Ganoderma lucidum*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 24: 497-503 (1992)
- Shin JY, Choi EH, Wee JJ. New methods for separation of crude ginseng saponins. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 166-172 (2001)
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 26: 1198 (1958)
- Mitsuda H, Yasumoto K, Iwami K. Antioxidative action of indol X compounds during the antioxidation of linolic acid. *Eiyo to shokuro* 19: 210-214 (1966)
- Masamoto Y, Kubo SLM. Inhibitory effect of chinese crude drugs on tyrosinase. *Planta Medica* 40: 361-365 (1980)
- Kasai R, Besso H, Tanaka O, Sarunatari Y, Fuwa T. Saponins of red ginseng. *Chem. Pharm. Bull.* 31: 2120-2125 (1983)
- Ma TC, Yu QH. Effect of 20(S)-ginsenoside-Rg₂ and cyproheptadine on two way active avoidance learning and memory in rats. *Arzneim Forsch. Drug Res.* 43: 1049-1052 (1993)

26. Mochizuki M, Yoo YC, Matsuzawa K, Sato I, Tonoka S, Azuma I. Inhibitory effects of tumor metastasis in mice by saponin, ginsenoside-Rb₂, 20(R)-and 20(S)-ginsenoside-Rg₃ of red ginseng. *Bio. Pharm. Bull.* 18: 1197-1202 (1995)
 27. Lee YJ, Jin YR, Lim WC, Ji SM, Choi SH, Jang S, Lee SK. A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. *J. Steroid Biochem. Molecular Biol.* 84: 463-468 (2003)
 28. Han BH, Park MH, Woo LK, Woo WS, Han YN. Studies on the antioxidant components of Korea ginseng. *Korean J. Biochem.* 12: 33-40 (1979)
 29. Mei B, Wang YF, Wu JX, Chen WZ. Protective effects of ginsenosides on oxygen free radical induced damages of cultured vascular endothelial cells *in vitro*. *Acta Pharmaceutica Sinica.* 29: 801-808 (1994)
 30. Chen X, Li YJ, Deng HW, Yang BC, Li DY, Shen N. Protective effects of ginsenosides on an oxia/reoxygenation of cultured rat myocytes and on reperfusion injuries against lipid peroxidation. *Biomed Biochem. Acta.* 46: 646-649 (1987)
 31. Kim TH. Antioxidant and free radical-scavenging properties of *Phellinus baumi* extracts. M S thesis, Gyeongsang National University, Jinju, Korea (2002)
 32. Kim HG. Development of processed foods from mushroom. Vol. I, pp. 33-96. In: Report of Korea Food Research Institute, Seoul, Korea. Korea Food Research Institute, Seoul, Korea (1997)
 33. Cheung YJ. Physiological activities and constituents of the cultivated fruit body of *Phellinus linteus*. PhD thesis, Sookmyung Women's University, Seoul, Korea (2001)
 34. Park YH, Kim MR. A study on the tyrosinase inhibitor from mushroom *Phellinus ribis*. *Soonchunghyang J. Nat. Sci.* 1: 183-188 (1995)
-

(2004년 5월 13일 접수; 2004년 12월 20일 채택)