J Korean Soc Food Sci Nutr
37(6), 684~690(2008)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2008.37.6.684

상황버섯 열수 및 에탄올 추출물의 항산화 효과 및 생리활성

김정옥[1] · 정미정[2] · 최향자[3] · 이진태[4] · 임애경[5] · 홍주헌[5] · 김대익[5†]

[1](재)대구경북한방산업진흥원, [2]강원대학교 생명공학부
[3]소리소 화장품, [4]대구한의대학교 화장품약리학과
[5]대구바이오산업지원센터

Antioxidative and Biological Activity of Hot Water and Ethanol Extracts from *Phellinus linteus*

Jung-Ok Kim[1], Mee-Jung Jung[2], Hyang-Ja Choi[3], Jin-Tae Lee[4], Ae-Kyoung Lim[5], Joo-Heon Hong[5], and Dae-Ik Kim[5†]

[1]*Daegu Gyeongbuk Institute for Oriental Medicine Industry, Gyeongsan 712-210, Korea*
[2]*School of Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea*
[3]*Soriso Co. Ltd., Daegu 706-711, Korea*
[4]*Dept. of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea*
[5]*Daegu Bio Industry Center, Daegu 704-801, Korea*

Abstract

To investigate the applicability of hot water extract (PLW) and ethanol extract (PLE) from *Phellinus linteus* as functional food and cosmeceutical materials, its total flavonoids content, total phenolics content, electron donating ability (EDA), nitrite-scavenging ability (NSA), SOD-like activity, inhibitory effect of tyrosinase and elastase were examined. Total flavonoids contents of PLW and PLE were 17.31 mg/g and 42.61 mg/g, respectively, and total phenolics contents were estimated as 149.92 mg/g for PLW and 432.42 mg/g for PLE. The EDA of PLW and PLE were 6.49~92.98% and 22.61~94.28%. The EDA and total phenolics contents had a high correlation of 0.83. The NSA was pH dependent, and was highest at pH 1.2 and lowest at pH 6.0. The NSA of PLE was higher than that of PLW. The SOD-like activities of PLW and PLE were 14.36~35.21% and 17.27~81.84%, respectively, and the activity was dependent on the sample concentration. The tyrosinase inhibitory activity was the highest in PLE (10.51~80.93%) while that of PLW was 4.77~43.69%. Finally, the elastase inhibitory activity was 10.01~76.02% at PLE. Based on the above results, we deemed that the ethanol extract of *Phellinus linteus* was the most pertinent for use as functional food and cosmeceutical materials.

Key words: *Phellinus linteus*, antioxidative activity, tyrosinase inhibition, elastase inhibition

서 론

최근 생활환경과 식생활 패턴의 변화 등으로 현대인들은 노화를 포함한 각종 성인병 발생의 원인이 되고 있는 활성산소가 주목받고 있다. Free radical 중에서 가장 많은 부분을 차지하는 활성산소들은 불안정하고 반응력이 높아 여러 생체물질과 쉽게 반응하여 세포와 조직에 비가역적인 손상을 유발시켜 세포노화, DNA 합성 억제, 돌연변이 유발, 암의 유발 그리고 효소의 불활성 등을 초래한다(1-3). 활성산소를 조절할 수 있는 항산화제는 superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase 등의 효소 계열의 예방적 항산화제와 phenol성 화합물, flavone 유도체, tocopherol류, ascorbic acid, carotenoids, glutathione, 아미노산 등의 천연 항산화제가 있으며, 합성 항산화제인 BHA와 BHT 등은 안전성에 대하여 논란이 제기되어 현재에는 허용대상 식품이나 사용량이 법적으로 엄격히 규제되어 있다(4-6).

한편 천연물 특히 약용식물이나 허브를 중심으로 한 미백효과, 노화 억제 및 자외선 차단 기능을 가진 기능성 화장품의 개발이 활발히 이루어지고 있다(7). 피부노화 현상은 여러 가지 구조적, 기능적 변화를 보이는데 특히 나이, 자외선 등 내외적인 여러 가지 스트레스는 피부의 탄력성과 윤택성을 감소시키고 기미, 주근깨 등 피부 색소를 침착시켜 주름이 생기게 하는 등 피부노화 현상을 촉진한다(8). 자연계에 널리 존재하는 페놀류의 고분자 천연 색소인 멜라닌은 피부에서는 세포내의 tyrosinase라는 효소의 생합성 과정에서 만들어지며, 자외선, 건조, 극한 온도 등에 대한 피부의 저항력

†Corresponding author. E-mail: crs3814@hanmail.net
Phone: 82-53-602-1891, Fax: 82-53-602-1898

을 높여주지만, 과도한 멜라닌 생성은 인체에 기미, 주근깨, 검버섯 등과 같은 색소 침착을 일으키고, 피부의 노화를 촉진시킨다(9). 또한 피부의 진피 조직 속에는 collagen과 피부의 탄력성과 관련된 elastin이 그물망 구조를 형성하고 있는데, 이러한 그물망 구조가 깨어지면서 즉, elastin이 elastase에 의해 분해되어 피부가 처지고 주름이 생기므로 내인성 피부 노화가 발생한다(10). 그러므로 피부 노화의 주원인인 tyrosinase 및 elastase의 활성을 저하시킴으로써 피부노화를 억제할 수 있다.

상황버섯(*Phellinus linteus*)은 소나무 비늘버섯과(hymenochaetaceae)에 속하는 백색부후균으로 이와 유사한 종류로는 마른 진흙버섯(*Phellinus gilvus*), 말똥진흙버섯(*Phellinus isniarius*), 찰진흙버섯(*Phellinus robustus*), 검은 진흙버섯(*Phellinus nigricans*), 낙엽송층버섯(*Phellinus pini*)과 *Phellinus conchaius*, *Phellinus densus*, *Phellinus hatigii* 등이 있다(11,12). 예로부터 상황버섯은 소화기 계통의 암인 위암, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암을 비롯한 간암수술 후 화학요법을 병행할 때 면역기능을 항진시키며, 자궁 출혈 및 대하, 월경불순, 장출혈, 오장기능을 활성화시키고 해독작용을 한다고 알려져 있다(13,14). 이에 대한 연구로는 상황버섯의 항암활성에 대한 Rhee 등(15)과 Kwon 등(16)의 보고, 간보호 활성 및 고지혈에 대한 Jung 등(17)의 보고 및 Min 등(18)의 항보체 효과를 갖는 상황버섯의 furan 화합물에 관한 보고 등이 있다. 최근에는 천연물을 대상으로 페놀류, catechin과 같은 탄닌류, flavonoids류 등 각종 생리적 기능성이 뛰어난 물질을 탐색 및 분리하고, 천연 항산화제나 식품 및 화장품 첨가제, 보존제 등으로 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다(19,20).

이에 본 연구에서는 상황버섯의 항산화 활성 및 피부 미백 및 주름개선 효과를 측정하여 기능성식품 및 화장품 소재로서의 이용 가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 상황버섯은 2007년 3월에 대구의 약령시장에서 구입하여 사용하였으며, 시료의 추출방법은 열수 추출물의 경우 시료 중량 대비 10배의 증류수를 가하여 100°C에서 3시간 동안 환류냉각 추출하였으며, 에탄올 추출물의 경우 80% 에탄올을 가하여 24시간 동안 실온에서 3회 반복 추출하였다. 각 추출물은 Whatman No. 2 여과지로 여과하여 잔사를 제거하고 감압농축한 후 동결건조하여 본 실험의 시료로 사용하였다.

총플라보노이드 및 총페놀성 화합물 함량 측정

총플라보노이드 함량은 Davis 변법(21)을 이용하였다. 시료 용액 1 mL에 diethylene glycol 10 mL 및 1 N NaOH 1 mL를 가하고 잘 혼합한 후 30°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 검량곡선은 naringin(Sigma Co., USA)을 이용하여 작성하였다.

총페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis 법(22)에 의해 비색정량하였다. 즉, 시료 1 mL에 Folin-reagent 1 mL를 가하여 3분간 정치한 후 10% Na_2CO_3 1 mL를 혼합하고 1시간 실온에서 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 tannic acid(Sigma Co., USA)를 이용하여 작성하였다.

전자공여능 측정

시료의 전자공여능은 1,1-diphenyl-2-pycrylhydrazyl (DPPH)을 사용한 방법으로 측정하였다(23). 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 50% ethanol 용액을 첨가하여 DPPH 용액의 흡광도를 517 nm에서 약 1.0으로 조정한 후, 추출액 0.5 mL에 DPPH 용액 5 mL를 혼합하여 흡광도를 측정하고 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{전자공여능}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

아질산염소거능 측정

추출물 및 용매 분획물이 발암성 nitrosamine 생성의 전구물질인 아질산염을 소거하거나 또는 분해하는 작용을 알아보기 위하여 Kato 등(24)과 Kim 등(25)의 방법에 따라 1 mM $NaNO_2$ 용액 1 mL에 시료 용액 1 mL를 첨가하고, 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.2 M 구연산완충용액(pH 3.0 및 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0 및 6.0으로 조정한 다음 총량을 10 mL로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 1 mL를 취하여 여기에 2% 초산 용액을 5 mL 첨가하고 Griss 시약(30% 초산으로 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 각각 조제하여 1:1의 비율로 사용직전 혼합한 것) 0.4 mL를 가하여 실온에서 15분간 방치한 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염의 양을 산출하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 1 mL 가하여 상기와 같은 방법으로 실시하며, 아질산염소거능은 추출액을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{아질산염소거능}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

SOD 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund의 방법(26)에 준하여 측정하였다. 각 시료용액 0.2 mL에 Tris-HCl 완충용액(50 mM tris+10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 M HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도

감소율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 Yagi 등(27)의 방법에 따라 측정하였다. 반응구는 0.175 M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 0.5 mL에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 mL와 시료용액 0.1 mL의 혼합액에 mushroom tyrosinase(110 U/mL) 0.2 mL을 첨가하여 25℃에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{Tyrosinase 저해활성}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

Elastase 저해활성 측정

James 등(28)의 방법에 따라 시료를 0.2 M Tris-Cl buffer(pH 8.0)로 희석배수에 따라 희석하고(10~1000 μg/mL), 희석된 시료 20 μL에 buffer 200 μL를 가한 다음, 0.8 mM N-succinyl-(Ala)3-ρ-nitroanilide 20 μL를 가하였다. 이것을 25℃에서 10분간 배양한 다음, 1.0 μg/mL의 porcine pancreatic elastase(PPE)를 20 μL씩 첨가하였다. 반응혼합물은 다시 25℃에서 20분간 배양한 후, 냉침으로 반응을 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 시료 대신 증류수를 가해 효소의 활성을 측정하였다.

$$\text{Elastase 저해활성}(\%) = [1 - (B - C)/(A - D)] \times 100$$

A: 시료 대신 증류수를 넣고 효소를 첨가하여 반응한 후의 흡광도
B: 효소를 첨가하여 반응한 후의 시료의 흡광도
C: 효소 대신 증류수를 첨가하여 반응한 후의 시료의 흡광도
D: 시료와 효소 대신 각각 증류수를 첨가해 반응한 후의 흡광도

통계처리

본 실험은 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험결과를 평균±표준편차로 나타내었다. 실험군 간의 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA로 분석 후 Duncan's multiple range test에 의해 $p<0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

총플라보노이드 및 총페놀성 화합물 함량

페놀성 물질은 2차 대사산물의 하나로 식물계에 널리 분포되어 있으며 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지므로 단백질 및 거대분자들과 쉽게 결합하여 항암 및 항산화 활성과 같은 다양한 생리활성을 나타낸다(29,30). 상황버섯의 열수 및 에탄올 추출물의 총플라보노이드 및 총페놀성 화합물 함량을 측정한 결과 Table 1에 나타난 것처럼, 총플라보노이드 함량은 에탄올 추출물이 42.61 mg/g으로 열수 추출물 17.31 mg/g의 약 2.5배, 총페놀성 화합물은 에탄올 추출물이 432.42 mg/g으로 열수 추출물 149.92 mg/g의 약 2.8배 이상 유의적으로 높은 함량을 나타내었다. Hyun 등(31)은 제주 자생식물의 총페놀성 화합물 함량을 조사한 결과 이질풀, 아그배나무, 자금우, 짚신나물, 사람주나무의 70% 메탄올 추출물이 각각 281.8, 268.0, 261.6, 259.6, 245.6 mg/g의 높은 함량을 나타낸다고 보고하였다. 국내에서 시판되는 다류 중 홍차, 인삼차, 녹차, 한차의 폴리페놀 함량은 각각 101.51, 28.30, 94.90, 95.81 μg/mg이고, 플라보노이드 함량은 각각 16.75, 3.29, 6.72, 6.06 μg/mg로 보고되었다(32). 이들 결과와 비교해 볼 때 상황버섯 에탄올 추출물은 상당히 많은 총플라보노이드 및 총페놀성 화합물을 함유하고 있어 천연 항산화제로써 이용가치가 높은 것으로 사료된다.

Table 1. Contents of total phenolics and flavonoids from *Phellinus linteus* (mg/g)

Sample[1)]	Total flavonoid	Total phenolics
PLW	17.31±2.27[a2)]	149.92±29.04[a]
PLE	42.61±9.12[b]	432.42±15.38[b]

[1)]PLW: *Phellinus linteus* water extract, PLE: *Phellinus linteus* ethanol extract.
[2)]All value are mean±SD of triplicate determinations. Different letters (a,b) within the same column differ significantly ($p<0.05$).

전자공여능

상황버섯 열수 및 에탄올 추출물의 전자공여능을 측정한 결과를 Table 2에 나타내었다. 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 100~10,000 μg/mL의 농도범위에서 전자공여능은 농도가 높아질수록 활성이 증가하였다. 에탄올 추출물의 전자공여능은 100 μg/mL의 농도에서 22.61%의 전자공여능을 나타내었으나, 500 μg/mL의 농도에서는 78.59%의 활성을 나타내었는데, 이와 같은 결과는 저농도에서는 활성이 약하나 500 μg/mL 이상의 농도에서는 대조물질로 사용한 ascorbic acid와 유사한 전자공여능을 나타내어 우수한 항산화 활성을 가짐을 확인할 수 있었다. 그러나 에탄올 추출물과 ascorbic acid의 IC_{50}이 295.71 μg/mL 및 120.63 μg/mL인데 반해 열수 추출물의 IC_{50}은 947.67 μg/mL로 항산화 활성이 낮게 나타났다. 이러한 결과는 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 높은 함량의 총페놀성 화합물에 기인하는 것으로 사료된다. Chung(33)은 다류 에탄올 추출물의 항산화 효과는 총페놀 함량 및 전자공여능과 밀접한 관계가 있다고 보고하였다. 또한 Lee 등(34)은 보고에서 항산화 성분 함량과 free radical 소거능과의 상관관계에서 폴리페놀 함량에 비례하여 활성이 증가한다고 하였는데(R^2=0.82), 본 연구에서

Table 2. Electron donating ability of extract from *Phellinus linteus*

Sample	Concentration (μg/mL)	Electron donating ability (%)	IC_{50}[2)] (μg/mL)
PLW[1)]	100	6.49±1.21[ax3)]	947.67
	500	30.58±1.62[bx]	
	1,000	52.27±1.26[cx]	
	5,000	82.03±2.03[dx]	
	10,000	92.98±2.66[e]	
PLE[1)]	100	22.61±2.50[ax]	295.71
	500	78.59±1.73[bx]	
	1,000	80.30±2.32[cy]	
	5,000	91.68±1.06[dy]	
	10,000	94.28±2.22[d]	
Ascorbic acid	100	49.64±2.74[ay]	120.63
	500	56.62±2.82[by]	
	1,000	76.85±1.52[cy]	
	5,000	90.81±2.93[dy]	
	10,000	97.33±1.50[e]	

[1)]The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 1.
[2)]IC_{50} values represent the concentration requires for 50% inhibition of DPPH.
[3)]All values are mean±SD of triplicate determinations. Different letters (a-e) within the same groups differ significantly ($p<0.05$) and different letters (x, y) among the groups with the same concentration differ significantly ($p<0.05$).

도 총페놀 화합물 함량과 전자공여능 사이에 높은 상관관계(R^2=0.83, data not shown)가 있는 것으로 나타났다.

아질산염소거능

아질산나트륨 용액에 상화버섯 열수 및 에탄올 추출물을 100~10,000 μg/mL의 농도로 첨가하고 pH 조건을 각각 1.2, 3.0 및 6.0으로 조정하여 아질산염에 대한 소거율을 측정하였다(Table 3). pH 1.2에서 상황버섯 열수 및 에탄올 추출물의 아질산염소거능은 모든 농도에서 85% 이상의 높은 활성을 나타내었다. 또한 pH 3.0의 조건하에서는 열수 추출물에서는 7.30~66.20%, 에탄올 추출물에서는 16.39~80.34%의 활성을 보였으며, 시료의 농도에 따라 유의적인 차이를 나타내었다. pH 6.0의 조건하에서는 열수 추출물은 5,000~10,000 μg/mL의 농도에서 10.21~19.85%의 활성을 나타내었으며, 에탄올 추출물은 1,000~10,000 μg/mL의 농도에서 14.42~35.21%의 아질산염소거능을 나타내었다. 모든 pH 조건하에서 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 높은 아질산염소거능을 나타내었으며, 대조물질로 사용된 ascorbic acid는 pH 6.0의 조건하에서도 1,000 μg/mL의 농도에서 50% 이상의 소거능을 나타내었다. 아질산염소거능은 pH 1.2에서 가장 높았으며, pH에 의존적인 활성을 나타내었는데, 이러한 결과는 Kang 등(35)이 각종 phenol성 화합물을 농도별로 제조한 후 아질산염소거능을 여러 pH 조건에서 측정한 결과 pH 1.2에서 가장 높은 활성을 나타내었으며, pH가 증가할수록 감소하였다는 보고와 일치하였다.

Table 3. Nitrite-scavenging ability of extract from *Phellinus linteus*

Concentration (μg/mL)		Nitrite-scavenging ability (%)		
		PLW[1)]	PLE[1)]	Ascorbic acid
pH 1.2	100	85.74±1.53[a2)]	87.57±3.04[a]	88.53±1.71[a]
	500	88.23±1.86[abx]	89.40±1.07[ax]	95.83±2.02[by]
	1,000	89.11±1.54[abx]	88.45±1.86[abx]	98.42±0.46[cy]
	5,000	89.40±3.61[abx]	92.54±1.33[bx]	98.84±0.32[cy]
	10,000	91.96±3.29[bx]	96.05±0.76[cy]	98.94±0.33[cy]
pH 3.0	100	7.30±6.33[ax]	16.39±8.30[ax]	68.08±1.02[ay]
	500	19.47±3.79[bx]	31.65±3.35[by]	87.67±0.76[bz]
	1,000	29.87±5.80[cx]	57.02±5.80[cy]	97.23±1.05[cz]
	5,000	45.60±7.80[dx]	64.88±1.56[cy]	98.58±0.32[cdz]
	10,000	66.20±2.34[ex]	80.34±8.29[dy]	98.86±0.30[dz]
pH 6.0	100	0.00±0.00[ax]	0.00±0.00[ax]	16.62±2.68[ay]
	500	0.00±0.00[ax]	0.00±0.00[ax]	31.30±1.71[by]
	1,000	0.00±0.00[ax]	14.42±5.22[by]	51.13±2.81[cz]
	5,000	10.21±4.48[bx]	26.41±8.65[cy]	71.54±2.02[dz]
	10,000	19.85±2.39[cx]	35.21±2.65[dy]	87.59±1.63[ez]

[1)]The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 1.
[2)]All values are mean±SD of triplicate determinations. Different letters (a-e) within the same groups differ significantly ($p<0.05$) and different letters (x-z) among the groups with the same concentration differ significantly ($p<0.05$).

아질산염은 식품의 가공 및 저장, 특히 수산물이나 식육제품에 첨가하여 독소생성억제와 발색, 산패방지제로 널리 이용되지만, 그 자체가 독성을 나타내어 과량 섭취 시 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 아민류와 아질산염이 반응하면 발암성 물질인 nitrosamine을 생성하는데 이 과정은 pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다(36,37). 이상의 결과에 의하면 상황버섯 추출물의 아질산염소거능은 인체의 위내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 우수한 활성을 나타내어 인체에 안전한 천연물로서 기능성 식품 및 화장품 소재로 이용이 가능하리라 생각된다.

SOD 유사활성

SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 주로 phytochemical에 속하는 저분자 물질이 SOD와 유사한 역할을 하여 superoxide의 반응성을 억제하여 superoxide로부터 생체를 보호한다고 보고되어 있다. 따라서 SOD 유사활성을 갖는 물질은 인체 내의 superoxide를 제거함으로써 노화 억제와 더불어 산화적 장애의 방어 효과를 가진다(38).

Marklund와 Marklund의 방법(26)에 의하여 농도에 따른 상황버섯 추출물의 SOD 유사활성을 측정한 결과 Table 4에서와 같이 열수 추출물에서는 14.36~35.21%, 에탄올 추출물에서는 17.27~81.84%의 범위로 분석되었으며, 농도에 따른 유의적 증가현상을 보였다. 100~1,000 μg/mL 농도에서는 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 약간 높은 활성을 나타내었으나 5,000 μg/mL 이상의 농도에서는 에탄올 추출물에

Table 4. SOD-like activity of extract from *Phellinus linteus*

Sample	Concentration (μg/mL)	SOD-like activity (%)	EC_{50}[2] (μg/mL)
PLW[1]	100	14.36±2.38[ax3]	>10,000
	500	17.19±2.40[abx]	
	1,000	20.74±2.70[bx]	
	5,000	27.77±2.64[cx]	
	10,000	35.21±1.28[dx]	
PLE[1]	100	17.27±1.58[ax]	3,829.13
	500	18.87±3.21[ax]	
	1,000	23.51±2.95[ax]	
	5,000	60.96±7.15[by]	
	10,000	81.84±4.21[by]	
Ascorbic acid	100	48.48±3.42[ay]	124.56
	500	73.23±5.21[by]	
	1,000	80.65±2.27[cy]	
	5,000	90.88±2.45[dz]	
	10,000	97.49±2.38[dz]	

[1]The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 1.
[2]EC_{50} values are effective concentrations which have 50% SOD-like activity.
[3]All values are mean±SD of triplicate determinations. Different letters (a-e) within the same groups differ significantly ($p<0.05$) and different letters (x-z) among the groups with the same concentration differ significantly ($p<0.05$).

서 월등히 높은 활성을 나타내었다. 본 실험결과는 Lee 등(39)의 싸리 추출물의 경우와, Lee(40)의 구릿대 잎 추출물, An과 Lee (41)의 산사 추출물의 SOD 유사활성은 에탄올 추출물에서 더 높게 나타난다는 보고와 일치하였다. 대조물질로 사용된 ascorbic acid는 500 μg/mL 이상의 농도에서 73%이상의 SOD 유사활성을 나타낸데 비해 상황버섯 추출물의 활성은 매우 낮게 나타났다. 그러나 Hong 등(42)의 보고에서 사과착즙액, 케일농축액, 키위착즙액, 무착즙액은 14.6, 26.7, 27.6, 24.1% 정도의 SOD 유사활성을 나타낸다는 결과와 An과 Lee(41)의 산사 열수 및 에탄올 추출물 5,000 ppm의 SOD 유사활성이 각각 19.6, 24.5%였다는 보고 및 Lim 등(43)의 한국산 약용식물을 대상으로 한 SOD 유사활성 측정 결과와 비교할 때 상황버섯은 기존에 보고된 여러 천연물보다 높은 활성을 나타냄을 확인할 수 있었다.

Tyrosinase 저해활성

상황버섯 열수 및 에탄올 추출물에 대하여 melanin의 합성에 가장 중요한 역할을 하는 tyrosinase의 저해활성을 측정하여 Table 5에 나타내었다. 열수 추출물에서 4.77~43.69%, 에탄올 추출물에서 10.51~80.93%의 저해활성을 나타내었으며, 농도가 높아짐에 따라 유의적으로 증가하였다. Tyrosinase 저해효과가 높은 천연물질로 알려져 있는 ascorbic acid는 100 μg/mL의 농도에서 74% 이상의 높은 활성을 나타내었다.

Hyun 등(31)은 제주 자생식물의 70% 메탄올 추출물에 대하여 tyrosinase 저해활성을 측정한 결과 IC_{50} 값이 자금우가 903 ppm으로 가장 낮았고, 소귀나무, 이삭여뀌, 붉나무,

Table 5. Effect of extract from *Phellinus linteus* on tyrosinase inhibition rate

Sample	Concentration (μg/mL)	Tyrosinase inhibition (%)	IC_{50}[2] (μg/mL)
PLW[1]	100	4.77±0.34[ax3]	>10,000
	500	6.20±1.37[abx]	
	1,000	10.11±2.29[bx]	
	5,000	18.87±3.23[cx]	
	10,000	43.69±2.59[dx]	
PLE[1]	100	10.51±1.08[ay]	3,276.89
	500	16.11±3.03[ay]	
	1,000	28.09±2.47[by]	
	5,000	66.58±3.64[cy]	
	10,000	80.93±6.29[dy]	
Ascorbic acid	100	74.92±3.14[az]	<100
	500	86.53±3.01[bz]	
	1,000	94.01±2.81[cz]	
	5,000	96.93±1.54[cdz]	
	10,000	99.00±1.01[dz]	

[1]The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 1.
[2]IC_{50} values represent the concentration requires for 50% inhibition of tyrosinase.
[3]All values are mean±SD of triplicate determinations. Different letters (a-e) within the same groups differ significantly ($p<0.05$) and different letters (x-z) among the groups with the same concentration differ significantly ($p<0.05$).

산딸나무에서 각각 974, 1,092, 1,284, 7,244 ppm이었다고 보고하였다. 본 연구에서 상황버섯 에탄올 추출물의 IC_{50} 값은 3,276.89 μg/mL이지만, 지금까지 tyrosinase 억제활성이 보고(44)된 것이 phenyl chromone류, flavon 3-ol류, vanilyl alcohol류, isoflavonoid류 등 phenolic compound라는 것을 감안할 때 단일물질이 아닌 추출물이 나타낸 활성으로서 매우 가치가 있다고 사료된다.

Elastase 저해활성

Elastase는 피부진피에 존재하여 피부의 탄력을 유지하는 엘라스틴을 분해하는 효소이다. Elastase의 활성을 저해시켜 주름 생성을 억제시킴으로써 피부노화를 방지하려는 연구가 활발히 진행되어 지금까지 α-1-proteinase inhibitor, mucus proteinase inhibitor, α-2-macroglobulin, inter-a-trypsin, bowman-birk inhibitor, verapamil, beta lactam, chondroitin sulfates, deoxycycline, heparin 등의 elastase 저해제들이 보고되고 있다(45).

상황버섯의 피부주름 개선 물질로서의 사용 가능성을 알아보기 위하여 elastase 저해 물질로 알려진 ursolic acid를 대조군으로 하여 상황버섯 열수 및 에탄올 추출물의 elastase 저해활성을 측정하였다. 그 결과 Table 6과 같이 열수 추출물의 저해활성은 3.37~53.42%, 에탄올 추출물은 10.09~76.02%의 저해율을 나타내었으며, 농도에 의존적으로 증가하였다. 에탄올 추출물의 elastase 저해활성은 대조군으로 사용된 urosolic acid의 약 42~81%에 해당하는 활성을 나타내었으며, 열수 추출물에 비해 약 1.4배 이상 높았다. Kim

Table 6. Effect of extract from *Phellinus linteus* on elastase inhibition rate

Sample	Concentration (μg/mL)	Elastase inhibition (%)	IC_{50}[2)] (μg/mL)
PLW[1)]	100	3.37±2.13[ax3)]	8,861.52
	500	9.79±5.08[bx]	
	1,000	22.28±1.36[cx]	
	5,000	38.40±2.42[dx]	
	10,000	53.42±2.06[ex]	
PLE[1)]	100	10.01±0.54[ay]	3,387.05
	500	19.42±3.47[by]	
	1,000	31.50±3.37[cy]	
	5,000	62.50±4.56[dy]	
	10,000	76.02±4.39[ey]	
Ursolic acid	100	24.06±1.96[az]	782.95
	500	38.75±1.33[bz]	
	1,000	58.63±2.76[cz]	
	5,000	84.52±4.15[dz]	
	10,000	93.30±2.73[ez]	

1)The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 1.
2)IC_{50} values represent the concentration requires for 50% inhibition of elastase.
3)All values are mean±SD of triplicate determinations. Different letters (a-e) within the same groups differ significantly ($p<0.05$) and different letters (x-z) among the groups with the same concentration differ significantly ($p<0.05$).

등(46)은 주목 추출물의 elastase 저해효과를 측정한 결과, 줄기, 잎, 씨앗 추출물에서 각각 23.5, 13.7 및 66.0%로 줄기와 잎보다 씨앗 추출물에서 저해효과가 높았다고 보고하였으며, Kwak 등(47)은 각종 약용작물 유기용매 추출물에 대한 elastase 저해효과를 측정한 결과 복분자 메탄올 추출물이 85%의 저해활성을 나타낸다고 하였다. 현재까지 개발되어 일부 이용되고 있는 피부 노화 억제제는 그 효능과 부작용이 확실히 검증되지 않았고, 비교적 가격이 비싼 문제점이 있다. 상황버섯 추출물은 항산화 활성은 물론 피부 미백과 주름개선에 우수한 효과를 나타내고 있으므로 이러한 부작용이 없는 효능이 우수한 기능성 화장품 소재로서 이용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

요 약

상황버섯의 기능성식품 및 화장품 소재로서의 이용 가능성을 조사하기 위해 상황버섯 열수 및 에탄올 추출물의 총플라보노이드 함량, 총페놀 화합물 함량, 전자공여능, 아질산염소거능, SOD 유사활성, tyrosinase의 저해활성 및 elastase 저해활성을 측정하였다. 상황버섯 추출물의 총플라보노이드 함량은 열수 추출물 17.31 mg/g, 에탄올 추출물 42.61 mg/g이었으며, 총페놀성 화합물은 열수 추출물 149.92 mg/g, 에탄올 추출물 432.42 mg/g으로 에탄올 추출물에서 총플라보노이드 및 총페놀성 화합물을 다량 함유한 것으로 나타났다. 전자공여능은 열수 추출물에서 6.49~92.98%, 에탄올 추출물에서 22.61~94.28%의 범위였으며, 에탄올 추출물에서 비교적 높은 활성을 나타내었다. 또한 총페놀성 화합물 함량과 전자공여능 사이에 높은 상관관계(R^2=0.83)가 있는 것으로 나타났다. 아질산염소거능은 모든 pH 조건하에서 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 높은 아질산염소거능을 나타내었으며, pH가 증가할수록 감소하였다. 상황버섯 추출물의 SOD 유사활성을 측정한 결과 열수 추출물에서는 14.36~35.21%, 에탄올 추출물에서는 17.27~81.84%의 범위로 분석되었으며, 농도에 따른 유의적 증가현상을 나타내었다. 상황버섯 추출물에 대하여 tyrosinase의 저해활성을 측정한 결과 열수 추출물에서 4.77~43.69%, 에탄올 추출물에서 10.51~80.93%의 저해활성을 나타내어, 에탄올 추출물에서 tyrosinase 저해활성이 우수함을 확인하였다. 또한 상황버섯의 피부주름 개선 물질로서의 사용 가능성을 조사한 결과 에탄올 추출물이 10.01~76.02%의 elastase 저해활성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부의 지역산업공통기술개발사업(과제번호: 70000475)의 지원에 의한 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Imalay IA, Limm S. 1989. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* 240: 1302-1309.
2. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. 1993. Oxidants antioxidants and the degenerative disease of aging. *P Natl Acad Sci USA* 90: 7915-7922.
3. Mccord JM. 1987. Oxygen derived radicals: A link between repercussion injury and inflammation. *Fed Proc* 46: 2402-2406.
4. Duh PD, Tu YY, Yen GC. 1999. Antioxidant activity of water extract of Harng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensm Wiss Technol* 32: 269-277.
5. Osborn-Barnes HT, Akoh CC. 2003. Effect of α-tocopherol, β-carotene, and isoflavones on lipid oxidation of structured lipid-based emulsions. *J Agric Food Chem* 51: 6856-6860.
6. Yen GC, Hsieh CL. 1998. Antioxidant activity of extracts from Du-zhong (*Eucommia ulmoides*) toward various lipid peroxidation models in vitro. *J Agric Food Chem* 46: 3431-3436.
7. Wiedow OJ, Schroder M, Christophers E. 1990. Elafin: An elastase specific inhibition of human skin. *J Biol Chem* 265: 14791-14801.
8. Voegeli R. 1996. Elastase and tryptase determination on human skin surface. *Cosmetic & Toiletries* 111: 51-58.
9. Ivengar R, McEvily AJ. 1992. Anti-browning agents: alternatives to the use of sulfites in foods. *Trends Food Sci Technol* 3: 60-63.
10. Lee SY, An JH, Cho HY. 2003. Isolation and characterization of MMP-1 inhibitor peptide from *Crataegus pinnatifida* Bunge in fibroblast cell line HS68 cells. *J Kor Soc Agric Chem Biotechnol* 46: 60-65.
11. Choi JH, Ha TM, Kim YH, Rho YD. 1996. Studies on the main factors affecting the mycelial growth of *Phellinus*

linteus. *Kor J Mycol* 24: 214-222.
12. Lee KH, Kwon HJ, Chun SS, Kim JH, Cho YJ, Cha WS. 2006. Biological activities of extracts from *Phellinus linteus*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 298-303.
13. Lee HD. 1999. *Korean medicinal mushroom pictorial book*. Kyohaksa, Seoul. p 576-580.
14. Sung JM, Ryu YB, Cha DR. 1998. *Mushrooms*. Gyohak press, Seoul. p 593.
15. Rhee YK, Han MH, Park SY, Kim DH. 2000. In vitro and in vivo antitumor activity of the fruit body of *Phellinus linteus*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 477-480.
16. Kwon SH, Kim CN, Kim CY, Kwon ST, Park KM, Hwangbo S. 2003. Antitumor activities of protein-bound polysaccharide extracted from mycelia of mushroom. *Korean J Food & Nutr* 16: 15-21.
17. Jung ME, Ham SS, Nam SM, Kang IJ, Kim SJ, Chung CK. 2001. Biochemical and histological effects of *Phellinus linteus* methanol extract on liver lipid metabolism of rats fed CCl_4 and high fat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 331-337.
18. Min BS, Yun BS, Lee HK, Jung HJ, Jung HA, Choi JS. 2006. Two novel furan derivatives from *Phellinus linteus* with anti-complement activity. *Bioorg Med Chem Lett* 16: 3255-3257.
19. Hatano T. 1995. Constituents of natural medicines with scavenging effect on effective oxygen species-tannins and related polyphenols. *Nat Med* 49: 357-363.
20. Akaike T, Ijiri S, Sato J, Katsiki T, Maeda H. 1995. Determination of peroxyl radical-scavenging activity in food by using bactericidal action alkylperoxyl radical. *J Agric Food Chem* 43: 1864-1870.
21. Lee JM, Son ES, Oh SS, Han DS. 2001. Contents of total flavonoid and biological activities of edible plants. *Korean J Dietary Culture* 16: 504-514.
22. Amerinem MA, Ough CS. 1958. *Method for Analysis of Musts and Win*. Wiley & Sons, New York. p 176-180.
23. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
24. Kato H, Lee IE, Chyuen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibitory of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
25. Kim DS, Ahn BW, Yeum DM, Lee DH, Kim SB, Park YH. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components-1. Nitrite-scavenging effects of vegetable extracts. *Bull Korean Fish Soc* 20: 463-468.
26. Marklund G, Marklund S. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
27. Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Medica* 3981: 517-519.
28. James AEK, Timothy DW, Gorden L. 1996. Inhibition of human leukocyte and porcin pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic tyrosin inhibitors. *Biochemistry* 35: 9090-9096.
29. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1127-1132.
30. Whang HJ, Han WS, Yoon KR. 2001. Quantitative analysis of total phenolic content in apple. *Anal Sci Technol* 14: 377-383.
31. Hyun SH, Jung SK, Jwa MK, Song CK, Kim JH, Lim SB. 2007. Screening of antioxidants and cosmeceuticals from natural plant resources in Jeju island. *Korean J Food Sci Technol* 39: 200-208.
32. Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
33. Chung HJ. 1999. Antioxidant effect of ethanolic extracts of some tea materials on red pepper seed oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1316-1320.
34. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J Food Sci Technol* 37: 233-240.
35. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compound. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
36. Hotchkiss JH. 1998. A review of current literature on N-nitroso compounds in foods. *Adv Food Res* 31: 54-115.
37. Macrae R, Robinson RK, Sadler MJ. 1993. *Encyclopedia of food science food technology and nutrition*. Academic press, New York, USA. p 3240-3249.
38. Kitani K, Minami C, Amamoto T, Kanai S, Ivy GO, Carrillo MC. 2002. Pharmacological interventions in aging and age-associated disorders: potentials of propargylamines for human use. *Ann N Y Acad Sci* 959: 295-307.
39. Lee YS, Joo EY, Kim NW. 2005. Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. *Korean J Food Preserv* 12: 75-79.
40. Lee YS. 2007. Antioxidative and physiological activity of extracts of *Angelica dahurica* leaves. *Korean J Food Preserv* 14: 78-86.
41. An BJ, Lee JT. 2002. Studies on biological activity from extract of *Crataegi fructus*. *Kor J Herbology* 17: 29-38.
42. Hong HD, Kand NK, Kim SS. 1998. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1484-1487.
43. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM. 2004. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 191-202.
44. Lee SH, Kim SY, Kim JJ, Jang TS, Chung SY. 1999. The isolation of the inhibitory constituents on melanin polymer formation from the leaves of *Cercis chinensis*. *Korean J Pharmacogn* 30: 397-403.
45. Lee SH, Shin DJ, Kim DW, Jun JB, Kim JC, Chung SL. 1999. Level of plasma elastase-α1-proteinase inhibitor in patients with Behcet's disease. *Ann Dermatol* 11: 9-12.
46. Kim IK, Lee KJ, Jung SW, Lee JD, Lyoo HC, Zhoh CK. 2002. A study on the effects of Taxus extracts in cosmetic industry. *J Cosmet Scientists Korea* 28: 80-89.
47. Kwak YJ, Lee DH, Kim NM, Lee JS. 2005. Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 13: 213-216.

(2008년 3월 20일 접수; 2008년 4월 4일 채택)