

## 비늘버섯류(*Pholiota* spp.)의 Phytosterol 조성 함량

조수목<sup>1\*</sup> · 서건식<sup>2</sup> · 김민경<sup>2</sup> · 이종수<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 국립농업과학원 농식품자원부, <sup>2</sup> 한국농수산대학, <sup>3</sup> 배재대학교 생명유전공학과

### Content of Phytosterol composition of *Pholiota* spp.

Soo-Muk Cho<sup>1\*</sup>, Geon-Sik Seo<sup>2</sup>, Min-Kyung Kim<sup>2</sup> and Jong-Soo Lee<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Agrofood Resources, National Academy of Agricultural Science, Suwon 441-853, Korea

<sup>2</sup>Korea National College of Agriculture and Fisheries, Hwasung, Kyonggi, 445-893, Korea

<sup>3</sup>Department of Life Science and Genetic Engineering, Pachai University, Daejeon 302-735, Korea

(Received December 3, 2009. Accepted December 29, 2009)

**ABSTRACT:** To elucidate the composition of phytosterols in the fruit body of *Pholiota* spp. 6 species (*P. adiposa*, *P. aurivella*, *P. highlandensis*, *P. nameko*, *P. squarrosa* and *Pholiota* sp.) were analyzed with Gas chromatography(GC). *Pholiota* spp. were contained campesterol, stigmasterol, and  $\beta$ -sitosterol as the major phytosterols.

**KEYWORDS:** *Pholiota* spp., Phytosterols, Campesterol, Stigmasterol,  $\beta$ -Sitosterol

식물성스테롤(Phytosterols)은 콜레스테롤과 구조가 유사하나 그 기능이 다르고 체내에서 합성이 되지 않는 것으로 알려져 있다(Salen et al., 2004). 콜레스테롤은 8개의 탄소원자로 구성된 side chain을 가진 반면, 식물성스테롤은 9 혹은 10개의 탄소원자로 구성된 side chain을 가지는 특성을 보인다. 식물에서는 44개의 sterol 들이 알려져 있으며(Beane, 1973), 주로  $\beta$ -sitosterol(24-a-ethylcholesterol), campesterol(24a-methylcholesterol)과 stigmasterol( $\Delta^2$ , 24a-ethylcholesterol)이다. Ergosterol( $\Delta^7$ , 22, 24a-methylcholesterol)은 주로 효모와 곰팡이에 분포하는 스테롤 화합물이다. 이러한 phytosterol 화합물들은 콜레스테롤 저하기능 등 다양한 생리학적 기능이 알려져 있다(Kritchevsky et al., 2005).

버섯류에서의 sterol에 관한 연구는 대부분 ergosterol과 그 유도체들에 관한 연구가 수행되어 보고되었으며(Mario et al., 1985, Simone et al., 1979, Yokokawa et al., 1981), 일부 sitosterol에 대한 연구도 보고되었다(Senatore et al., 1987). Yu 등(2007)은 비늘버섯(*Pholiota adiposa*)로부터 HMG-CoA reductase inhibitor 효과가 있는 phytosterol 화합물 stigmasterol을 분리 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서는 비늘버섯류의 함유된 phytosterols 함량을 비교 조사하여 새로운 기능성 버섯으로 개발 가능성을 제시하고자 한다.

본 연구에 사용된 비늘버섯류는 Table 1에 나타난 바와 같이 국립농업과학원 농업유전자원센터로부터 분양받은 균주(MKACC No.), 국내 오대산 및 표고버섯 골목으로부터

채취한 균주, 그리고 일본 후쿠오카에서 수집한 균주 등 총 15 균주이다. 각 균주들은 톱밥 배지를 이용하여 병재배 수확하여 동결건조한 다음 분말화하여 사용하였다.

비늘버섯류에 함유된 기능성 성분 phytosterol의 분석은 Quilez 등(2006)의 방법에 따라 실시하였다. 동결건조된 비늘버섯류의 지방을 Folch(1957)의 방법에 따라 동결건조된 시료 3 g에 chloroform과 methanol을 2:1 비율로 혼합한 시약을 100 ml 가한 다음 homogenizing하고 상온에서 2시간 동안 추출하여, whatman No. 1 여과지로 분액깔대기에 여과한 다음 2% NaCl 용액을 35 ml을 가하여 유기용매층을 250 ml round bottom flask에 whatman No. 1로 여과한 다음 농축하였다. 이와 같은 과정을 거쳐 얻은 지방은 10ml의 chloroform에 녹여 -20°C에 보관 사용하였다. 추출된 지방 용액은 완전히 농축한 다음 0.5 M ethanolic KOH 5을 가하여 녹인 다음 80°C에서 20분간 reflux 상태로 saponification을 하였다. Saponification된 용액에 cyclohexane 5 ml과 물 5 ml을 가하여 non-saponification 분획을 얻었으며 이 과정은 3회 실시하였다. 모아진 cyclohexane 층을 완전히 농축하고 chloroform 5 ml을 가하여 녹였다. 이때 첨가하는 chloroform 2 ml에 내부표준물질(betulin)을 1 첨가하였다. Chloroform에 녹아진 시료를 6 M HCl 수방울을 가하여 pH 2~5 정도로 조정하고 solid-phase extraction cartridge(500 mg $\times$ 5 m<sup>-1</sup>, J.T. Baker)에 적정한 다음 5% methanol과 95% chloroform 혼합 용액을 15 ml 흘려 모아 purified sterol 분획을 농축하여 얻는다. 농축액은 50 ml pyridine을 가하여 녹인 다음 50 ml 1%의 trimethyl chlorosilane (chlorotrimethylsilane, TMCS)가 첨가된 bis-

\*Corresponding author <E-mail: soomuk@korea.kr>

**Table 1.** Content of phytosterol composition of *Pholiota* spp.

Stain No.	Scientific Name	Origin	Phytosterols (/g)		
			Campesterol	Stigmasterol	$\beta$ -sitosterol
PAD-001	<i>P. adiposa</i>	Wild type, Mt Odaesan (04. 05. 31)	81.3	29.1	16.9
PAD-015	<i>P. adiposa</i>	MKACC 50110 (G2362)	98.3	263.0	15.0
PAD-017	<i>P. adiposa</i>	MKACC 50234 (A6734)	54.5	58.4	14.3
PAD-022	<i>P. adiposa</i>	MKACC 50461 (ASI 24018)	76.0	23.1	18.7
PAD-030	<i>P. adiposa</i>	MKACC 52540 (Yeon-2)	55.6	50.6	25.0
PAD-038	<i>P. adiposa</i>	Wild type, Shiitake log (05. 5. 13)	90.0	86.1	18.0
PAD-039	<i>P. adiposa</i>	Hukuoka, Japan (04. 12. 28)	97.2	97.3	11.4
PAR-001	<i>P. aurivella</i>	MKACC 52590 (ASI 24028)	109.2	79.4	45.5
PHI-001	<i>P. highlandensis</i>	MKACC 50457 (ASI 24011)	46.2	16.5	17.9
PHI-002	<i>P. highlandensis</i>	MKACC 50462 (ASI 24020)	337.1	7.0	13.0
PNA-014	<i>P. nameko</i>	MKACC 52603 (ASI 5007)	63.2	51.5	7.2
PNA-024	<i>P. nameko</i>	MKACC 53453 (ASI 5011)	60.5	56.3	8.7
PSP-010	<i>Pholiota</i> sp.	MKACC 51237 (A9818)	25.6	34.8	15.4
PSQ-001	<i>P. squarrosa</i>	MKACC 53457 (ASI 24006)	40.7	9.7	17.1
PSQ-002	<i>P. squarrosa</i>	MKACC 52581 (ASI 24002)	80.7	166.8	16.3

trimethylsilyl-trifluoro acetamide(BSTFA) 50 ml를 가하여 상온에서 overnight로 유도체화 하였다. 이와 같은 과정을 거쳐 얻어진 유도체는 가스 크로마토그래피(HP 5680, Agilent co.)로 phytosterol(stigmasterol)을 표준품에 대비하여 정량 분석하였다.

가스 크로마토그래피의 분석 조건은 컬럼으로 30 m capillary column 사용하였으며(SAC-5, Supelco co.), 기기조건은 컬럼 온도를 285°C로 유지하고 분석시간은 30분으로 하였다. 분석가스는 He을, 이때 유속은 25 cm/sec으로 조정하고, 주입기 온도는 300°C로 조정하고 split mode 100:1로, 검출기(FID)는 300°C로 조정하였다.

비늘버섯류의 중간 phytosterol의 함량을 비교 분석한 결과, 공시한 비늘버섯류 모두 campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -stigmasterol과 같은 phytosterols를 함유하고 있었다(Table 1). 특히 국내에서 채집된 검은비늘버섯(*P. adiposa* PAD-001, -015, -017, -038) 균주들의 경우 대부분 campesterol이 다른 phytosterol에 비해 함량이 비교적 높았다. 검은비늘버섯 PAD-015 균주의 경우 유등(2007)이 보고한 HMG-CoA reductase inhibitor 효과가 있는 stigmasterol의 함량이 263.0  $\mu$ g/g으로 다른 균주에 비해 높게 나타났다. 비늘버섯 종간에도 각각의 phytosterols 함량 차이를 보였는데, 재비늘버섯의 경우 PHI-001과 PHI-002 균주간에도 차이를 보였다. 특히 재비늘버섯(PHI-001)과 비늘버섯(PSQ-001) 균주의 경우 매우 낮은 stigmasterol 함량을 보였다. 맛버섯의 경우  $\beta$ -sitosterol의 함량이 다른 비늘버섯류에 비해 0.5배 이하 수준의 함량을 보였다.

비늘버섯류의 phytosterol 함량은 중간 및 균주간에도

종류에 따라 조금씩 차이를 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 또한, 실험에 사용한 모든 비늘버섯류가 식물에 주로 들어 있는 식물성스테롤 3종 모두를 함유함으로써 혈중 콜레스테롤 저하기능을 지닌 식품이나 phytoestrogen을 제공하는 식품 개발 가능성을 보였다.

## 적요

인공재배한 비늘버섯류 자실체의 phytosterol 종류 및 함량을 중간·균주간 Gas chromatography를 이용하여 비교 분석한 결과, 실험에 사용된 모든 비늘버섯류에서 campesterol, stigmasterol 및  $\beta$ -sitosterol 3종의 phytosterols가 있었으며 이들 각각의 phytosterols은 중간 및 균주간에 차이를 보였으나 유의적 차이는 보이지 않았다.

## 감사의 글

본 연구는 2006년 농림기술개발 연구비 지원으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Bean, G. A. 1973. Phytosterols. *Adv. Lipid Res.* 11:193-218.
- Folch, J., Less, M. and Sloanestanley, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues, *J. Biol. Chem.*, 226, 497-597.
- Kritchevsky, D. and Chen, S. C. 2005. Phytosterols-health benefits and potential concerns: a review. *Nutrition Res.*, 25:413-428.

- Mario, A., Mustacchi, S., Puntillo, D. and Senatore, A. 1985. Sterols from basidiomycetes. *Phytochemistry* 61(2):171-174.
- Quilez, J., Ruiz, Joan A., Gemma Brufau and Magda Rafecas. 2006. Bakery products enriched with phytosterols,  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene. Sensory evaluation and chemical comparison with market products. *Food Chemistry*, 94:399-405.
- Salen, G., Ahrens, Jr. E. H. and Grundy, S. M. 2004. Metabolism of beta-sitosterol in man. *J. Clin. Nutr.* 49:952-967.
- Simone, F., Senatore, F., Sica, D. and Zollo, F. 1979. Sterols from some basidiomycetes. *Phytochemistry*, 18:1572-1573.
- Senatore F., Dini, A. Cerri, R. and Schettino, O. 1987. Chemical constituents of some Tricholomataceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 15(6):639-641.
- Yokokawa, H. and Mitsuhashi, T. 1981. The sterol composition of mushrooms. *Phytochemistry* 20(6):1349-1351.
- Yu, H. E., Lee, D. H., Seo, G S., Cho, S. M. and Lee, J. S. 2007. Chracterization of a novel  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methyl glutaryl coenzyme A reductase-inhibitor from the mushroom, *Pholiota adiposa*. *Biotechnology Bioprocess Engineering*, 12:618-624.