

느타리속 버섯류의 영양성분 및 생리활성

엄수나 · 진경언 · 박계원 · 유영복¹ · 박기문*

성균관대학교 식품생명공학과, ¹농촌진흥청

Physiological Activity and Nutritional Composition of *Pleurotus* Species

Suna Um, Gyoung-ean Jin, Kye Won Park, Young-bok Yu¹, and Ki-Moon Park*

Department of Food Science & Biotechnology, Sungkyunkwan University

¹National Institute of Horticultural & Herbal Science, Rural Development Administration

Abstract In this study, the anti-oxidant, anti-tumorigenic, anti-hypertensive, anti-thrombic, anti-diabetic, and anti-inflammatory properties of 18 different species of genus *Pleurotus* were investigated. In addition, the amino acid, β -glucan, and polyphenol content were also measured. All species contained more than 20 mg% of polyphenol with the highest contents found in *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus* (yellow *pleurotus*) (39.13 ± 0.82 mg%). The β -glucan contents was also the highest in yellow *Pleurotus* (37.67 ± 0.22 %) followed by Won-Hyeong1 (C, 28.75 ± 0.61 %) and Jang-an PK (A, 27.95 ± 0.33 %). The yellow *Pleurotus* exhibited the highest antioxidant activity as assessed by the DPPH scavenging rate with an IC_{50} value of 2.94 ± 0.44 mg/mL. Ethanol extracts from the yellow *Pleurotus* treated at 1% concentration showed cytotoxic activity up to 36.9% in the human embryonic kidney 293T cell lines. The yellow *Pleurotus* also showed the highest inhibitory effects on ACE activity (60.52 ± 0.2 %). Finally, the yellow *Pleurotus* exhibited anti-diabetic and anti-inflammatory properties as shown by inhibition of α -amylglucosidase activity (50.5 ± 0.8 %) and nitric oxide production (68.4 ± 0.3 %). Taken together, our data indicate the yellow *pleurotus* is a promising functional food ingredients.

Key words: *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*, physiological activity, nutritional composition

서 론

버섯은 일반적인 균류와 다르게 대형 자실체를 이루는 것이 큰 특징으로 대부분이 담자균류와 자낭균류에 속하는 고등균류이다 (1). 다양한 버섯들로부터 면역증강 및 항암, 항바이러스, 항당뇨, 항혈전, 항고혈압 등의 생리활성 효과가 밝혀져 건강식품 또는 기능성 식품으로 생산과 소비가 증가추세에 있다(2).

우리나라에서 식용으로 이용되고 있는 버섯류 중 대표적인 것으로 느타리 및 표고, 양송이, 송이버섯 등이 있으며 1965년경부터 농가소득 향상을 위한 장려정책으로 인공재배법이 널리 보급되면서 계절에 구애 받지 않고 식용으로 이용할 수 있게 되었고 영양학적으로 우수한 식품으로 인정받고 있다(3). 일반적으로 식용 및 약용 버섯의 대부분은 목재 부후균에 해당하며 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌 등을 분해하여 영양분으로 섭취하고 성장하여 성숙한 자실체가 된다. 현재 인공재배법의 발달로 인해 생산량 및 버섯의 종류도 증가하고 있으며 전세계적으로 연간 약 700만톤 생산에 10조원의 시장을 이루고 있다. 국가별 생산량은 중국 350만톤, 미국 40만톤, 일본이 38만톤을 생산하고 있으며 국내 생산량은 연간 약 15만톤으로 연간 총생산액은 약 7천억원

정도이다. 특히 버섯 중에서 느타리버섯이 재배면적과 생산량이 가장 많으며, 농산 버섯류 생산량의 35.1%를 점유하고 있다(1). 느타리버섯은 다양한 폴리페놀 화합물을 가지고 있어 강한 항산화능을 나타내는 것으로 보고 되었다(4). 그 밖에 lactic acid, oxalic acid, fumaric acid, succinic acid, malic acid, citric acid, 및 pyroglutamic acid 등의 유기산과 지방산이 함유되어 있으며 (5), trehalose, glucose, fructose, mannitol, arabinol, glycerol 등의 유리당 및 당알콜류가 함유되어 있다고 보고하였다(6). 이처럼 버섯류는 기호식품 및 기능성 식품으로의 제품화할 부가가치가 높은 식품소재라 할 수 있다. 담자균류의 생리활성에 관한 연구는 1955년 Bose(7)가 수종의 담자균류로부터 분리한 물질의 항균성분에 대한 보고를 시작으로 그들에 대한 성분확인 및 다양한 생리활성에 관한 연구가 이루어져 왔다. Park 등(8)은 표고버섯과 느타리버섯의 조단백 다당체 분말을 생리식염수에 용해시켜 쥐에게 투여한 후 sarcoma 180을 주사하여 암을 유도시켰을 때, 모든 단백질 다당체가 항암효과를 보였으며 간암에서는 느타리버섯 자실체에서 높은 저지율을 나타냈다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 느타리버섯의 생리활성을 품종 별로 평가하기 위하여 일반 느타리버섯 재배품종인 *Pleurotus ostreatus* 및 *P. sajor-caju* 와 노랑, 분홍, 청색 등의 특정 색상을 보이는 *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus*, *P. salmoneostramineus* 등의 영양성분 및 생리활성을 비교 분석하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 느타리버섯 품종은 2008년도에 농촌진흥청

*Corresponding author: Ki-Moon Park, Department of Food Science and Biotechnology, Sungkyunkwan University, Suwon, Gyeonggi 440-746, Korea
 Tel: 82-31-290-7806
 Fax: 82-31-290-7816
 E-mail: pkm1001@skku.edu
 Received July 1, 2009; revised November 10, 2009;
 accepted November 16, 2009

국립원예특작과학원 버섯과에서 재배한 일반 품종 13종(*P. ostreatus* 11종과 *P. sajor-caju* 2종)과 노랑느타리(*P. cornucopiae* var. *citrinopileatus*) 1종, 분홍느타리(*P. salmoneostramineu*) 1종, *P. ostreatus* 품종이면서 청색 및 백색, 흑색인 느타리 각 1종씩 총 18품종의 자실체를 사용하였다.

추출물 제조

버섯자실체를 동결건조시켜 분쇄한 후 건조 시료의 20배(v/w)의 80% ethanol을 가하여 상온에서 48시간 추출한 후 흡입 여과하였고, 여과액을 감압 농축하여 에탄올 추출물을 제조하였다.

아미노산 분석

Acid stable amino acids의 전처리 과정에서는 0.5 mm 이하로 분쇄 한 시료를 test tube에 넣고 6 N 염산 15 mL를 첨가한 후, 1분간 질소가스로 충전, 밀봉하고 110°C dry oven에서 24시간 가수분해 한 후 냉각시키고 분쇄된 시료를 55°C에서 감압농축 농축하였다. pH 2.2 dilution buffer를 사용하여 25 mL로 정용하고, 0.45 µm membrane filter(Acrodisc CR PTFE, Gelman, New York, NY, USA)로 여과 후 분석하였다. 그리고 Sulfur containing amino acids 과정에서는 0.5 mm 이하로 분쇄 한 시료 5 g을 test tube에 넣고 performic acid 15 mL를 첨가한 후, 0°C에서 24시간 방치하였다. 여기에 48% HBr 0.75 mL를 첨가하고 가스발생 후 0°C에서 1시간 반응시킨 다음 50°C에서 감압 농축하였다. 감압 농축 된 시료에 6 N HCl 15 mL를 하고 acid stable amino acid 전처리과정과 동일하게 처리한 후 SYKAM S433(Sykam, Eresing, Germany)을 사용하여 분석하였다.

Polyphenol 함량분석

동결 건조한 samples 0.5 g에 62.5% aqueous methanol 40 mL와 6 M HCl 10 mL를 첨가한 후 천천히 교반하면서 2시간 동안 90°C에 반응시키고 상온에서 냉각시킨 다음 methanol 100 mL을 넣고 5분 동안 sonication 시켰다. 그리고 0.45 µm filter로 여과한 후 Table 1의 조건하에서 HPLC(Waters Co., Milford, MA, USA)로 분석하였다.

β-glucan 함량측정

베타글루칸 함량은 BETA-GLUCAN kit(Megazyme, Wicklow, Ireland)를 사용하여 측정하였다. 즉, β-glucan의 함량은 total glucan과 glucan 이외의 당 함량을 구한 후, α-glucan과 glucan 이외의 당 함량 차이로 측정하였다. 즉, 시료에 37% 염산을 첨가하여 100°C에서 2시간 동안 가수분해 시킨 후 2 N KOH를 이용하여 pH를 조정하였다. 가수 분해액을 200 mM의 sodium acetate buffer(pH 5.0)로 희석한 후 원심분리하고 상층액 100 µL을 취하여 exo 1,3-β-glucanase와 β-glucosidase를 첨가한 후 glucose determination reagent(Megazyme)를 첨가하고, 510 nm에서 흡광도를 측정하여 total glucan과 glucan 이외의 당 함량을 분석하였다. α-glucan과 glucan 이외의 당함량은 시료에 2 M KOH를 넣고 20

분간 얼음이 채워진 수욕에서 반응 후 1.2 M sodium acetate buffer(pH 3.8)를 첨가하고 amyloglucosidase와 invertase 를 넣고, 이후 새 튜브에 옮겨 GOPOD reagent 3mL을 넣어 40°C에서 20 분간 반응시킨 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Total glucan (\%w/w)} = \Delta E \times F / W \times 90$$

$$\alpha\text{-glucan (\%w/w)} = \Delta E \times F / W \times 90 \text{ (final volume 100 mL)}$$

$$\beta\text{-glucan} = \text{Total glucan} - (\alpha\text{-glucan})$$

$$\Delta E = \text{reaction absorbance} - \text{blank absorbance}$$

$$F = 100 / \text{GOPOD reagent absorbance for } 100 \mu\text{g of D-glucose standard}$$

$$W = \text{weight of sample}$$

전자공여능 측정

DPPH 소거능 실험은 Blois의 방법(9)에 따라 99.9% methyl alcohol에 녹인 0.05 mM DPPH solution 3.9 mL에 버섯시료 에탄올 추출물 0.1 mL을 넣고 10초간 혼합한 후 빛을 차단한 상태에서 30분간 상온에서 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Negative control은 sample과 동일한 양의 D.W로 하였고, positive control은 ascorbic acid(1 mg/mL)를 사용하였으며, DPPH 소거능은 대조군에 대한 50% 흡광도 감소를 나타내는 시료의 농도(IC₅₀ µg/mL)로 표시하였다.

세포 독성 시험

세포 독성 실험은 Kotakenara 등(10)의 방법에 따라 cell culture media는 1% streptomycin(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)와 10% fetal bovine serum(Sigma Chemical Co.) 포함하는 RPMI-1640와 DMSO(Sigma Chemical Co.)를 사용하였으며, 동물 세포주는 293T 신장 암세포와 TM3 정상세포를 사용하였다. 즉 5×10⁴ cell/well 농도로 96 well plate에 분주하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 72시간 배양한 후, 배양에 사용된 배지를 제거하고 새로운 배지 180 µL와 버섯시료 에탄올 추출물 1% 농도의 시료 200 µL를 첨가하였다. 다시 24시간 배양한 후 배지를 제거하고 MTT 시약을 분주하여 4시간 후 ELISA microreader model680(Biorad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

ACE 저해활성

고혈압 발생 원인물질을 생성하는 효소인 angiotensin converting enzyme(ACE) 활성저해 효과는 Cushman과 Cheung의 spectrophotometric assay 방법(11)에 의하여 측정하였다. 즉, borate buffer (0.05 M Na₂B₄O₇, 0.2 M H₃BO₃, pH 8.3)에 용해한 12.5 mM hipuryl-L-histidyl-L-leucine(Hip-His-Leu, 0.4 M NaCl 함유, Sigma Co.) 기질 용액과 시료를 각 150, 60 µL를 첨가한 후 37°C에서 5 분간 반응시키고 1 g의 rabbit lung acetone powder(Sigma Co.)에 borate buffer 10 mL을 가해 4°C에서 24시간 방치한 후 4°C, 12,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 얻은 상등액의 효소용액 150 µL(60 mU/mL)를 혼합하여 37°C incubator에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 µL로 효소반응을 정지시켰다. 여기에 1.5 mL의 ethylacetate를 첨가한 후 5분 이상 충분히 혼합하고 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상등액 1 mL을 취해 120°C dry oven에서 40분간 ethylacetate를 완전히 제거하였다. 잔유물을 증류수 1 mL로 용해하고 228 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 또한 시료 및 기질, 효소를 첨가하고 반응 전에 1 N HCl을 동량 첨가하여 효소반응을 정지시킨 sample blank군을 함께 측정하였고 대조군은 시료 대신 borate buffer를 사용하였다.

Table 1. Operating condition of HPLC for polyphenols

Column	Capcell Pak C18
Solvent	45% methanol in phosphate buffer (pH 2.4)
Flow rate	0.5 mL/min
Run time	90 min
Detector	UV-visible: 280 nm
Inject	20 µL

항혈전 활성

혈전용해활성은 fibrinogen(Sigma F-8630, Sigma Co.) 및 thrombin(Sigma T-6634, Sigma Co.)으로 제조한 fibrin plate를 사용하여 측정하였다(12). 즉, 직경 90 mm petri dish에 50 unit/mL thrombin 용액 200 μ L와 0.5% fibrinogen 용액 10 mL을 첨가한 후 plate를 제조하였다. 30분경과 후 thrombin에 의해 fibrinogen이 fibrin으로 되면서 gel상의 fibrin plate가 만들어지면, 각 plate에 시료를 50 μ L를 점적하여 37°C incubator에서 17시간 반응시킨 후, 대조구인 plasmin과 용해정도를 비교하였다. 추출액의 혈전용해 활성은 대조구의 용해면적에 대한 시료의 용해면적의 상대적인 비율로 환산하여 산출하였다.

항당뇨 활성

α -1,4 및 α -1,6 글루코시드결합을 분해하는 효소인 α -amylglucosidase(Sigma 10115, Sigma Co.)를 사용하여 버섯 추출물이 이 효소의 활성을 저해함으로써 단당류의 소화흡수를 저해하는 정도를 측정, 간접적인 항당뇨 활성을 측정하였다. 즉, α -amylglucosidase를 50 mM sodium acetate(pH 5.0)으로 희석하고 기질로 20 mg/mL의 maltose용액을 사용하였다. 버섯시료 에탄올 추출물 100 μ L 와 α -amylglucosidase 100 μ L를 넣고 10분간 37°C에서 pre-incubation후 동량의 기질을 넣어주고 1시간 반응시킨 후 0.2 M NaOH를 첨가해서 반응을 종결시키고 0.2 M acetate를 첨가해서 중화 시켰다. 그리고 DNS(3,5-dinitrosalicylic acid) 환원당 정량법에 의하여 동량의 DNS를 넣고 90°C에서 10분간 끓이고 실온으로 냉각 후 증류수 1 mL 가해 575 nm에서 흡광도를 측정하였다. 반응 후 생성되는 유리 glucose양을 측정하여 α -glucoamylase의 활성을 측정하였다.

항염 활성

내독소인 lipopolysaccharide(Sigma L52930, Sigma Co.)를 RAW264.7 cell에 처리하고 버섯 추출물 시료를 첨가하여, 생성되는 염증 유발물질의 생성량을 비교하였다. 즉, DMEM 배지를 사용하여 RAW264.7 세포를 5×10^5 cell/well로 조절한 후 24 well plate에 접종하고 버섯시료 에탄올 추출물과 LPS를 동시 처리해서 20시간 배양하였다. 생성된 NO의 양은 griess reagent system 이용하여 측정한다. 세포배양 상등액과 griess 시약을 1:1 양으로 혼합하여, 96-well plate에 반응 후 측정하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복하였으며 통계처리는 SPSS 10.0 for Windows 프로그램을 이용하여 평균 및 표준편차를 구하였으며, 각 실험의 평균차에 대한 통계적 유의성 검정은 Duncan의 다중 검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)으로 하였다.

결과 및 고찰

영양성분 분석

먼저 아미노산 성분분석에서 느타리버섯 18품종의 아미노산을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 느타리버섯 품종 중 백느타리(P), 흑느타리(Q), 노랑느타리(R)를 제외한 나머지 품종에서 전반적으로 높은 함량을 나타낸 아미노산은 glutamic acid 였으며, 품종에 따른 함량의 차이가 존재하는 것으로 나타났다. 느타리버섯 품종 중 장안PK(A)의 경우에는 cystine이, 백느타리(P), 흑느타리(Q), 노랑느타리(R)는 serine이 glutamic acid 보다 높게 나타났다. 또한 필수아미노산인 valine, leucine, isoleucine, methionine, threonine,

Table 2. Composition and content of amino acids in *Pleurotus* species (mg/g)

Amino acids	Sample name ¹⁾																	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
Aspartic acid							0.80	1.23	7.71			7.17	5.14					
Serine	5.33	3.17	2.12	3.71	0.98	2.69	0.24	0.34	1.70	6.87	1.31	13.86	7.79	4.23	7.35	10.09	6.46	7.45
Glutamic acid	6.60	5.47	4.82	5.75	4.07	4.96	2.84	3.08	7.91	7.60	6.29	16.74	8.27	6.09	7.22	3.35	1.11	1.55
Glycine	5.06	5.34	2.55	3.73	0.83	2.62	1.28	1.57	2.02	6.48	2.07	12.15	6.25	4.40	6.48	5.06	2.02	2.62
Histidine	3.11		1.93	2.50	1.30	2.16	0.35	0.60	1.69	3.13				2.50	2.81	3.11	1.70	2.81
NH ₃	4.04	2.39	1.40	2.72	0.49	1.63	0.02	0.09	1.04	6.33				2.72	6.33	4.05	3.98	1.63
Arginine	3.66	1.99	1.28	2.01	0.87	1.46	0.22	0.40	1.18	4.43	0.60	6.47	4.30	2.30	4.72	3.09	1.18	1.46
Threonine	5.33	2.87	2.33	3.34	0.66	2.68	0.03	0.24	1.29	5.63	5.56	10.79	6.69	3.34	5.63	5.33	1.29	2.69
Alanine	8.32	4.51	4.21	6.13	2.55	4.42	0.90	1.73	2.09	8.81	2.20	16.57	12.38	6.13	7.69	8.33	2.09	3.86
Proline	3.41	1.92	2.29	2.98	0.51	2.62	0.41	1.50	2.32	3.65		6.59		3.41	3.22	3.78	1.89	2.62
Cystine	22.60	4.23	4.32	3.85	5.43	2.13	0.98	0.73	4.37	5.14	0.97			2.62	6.40	2.21	0.51	2.62
Tyrosine	3.42	2.08	1.70	2.45	0.83	2.02	0.27	0.41	1.51	3.90	0.26	5.35	4.04	2.45	3.35	3.42	1.52	2.30
Valine	7.46	3.81	4.00	5.78	1.87	4.58	1.24	0.73	3.58	8.21	2.41	17.40		5.78	8.21	7.46	3.58	4.58
Methionine	2.49	1.21	1.82	2.24	0.86	1.83	0.55	0.44	1.82	2.18	1.06	3.66	2.77	1.90	2.19	2.49	2.16	1.83
Lysine	2.29	1.54	1.70	1.67	0.88	1.63	0.21	0.28	1.95	1.54	0.76	3.20	2.62	1.67	1.54	2.29	1.95	1.63
Isoleucine	4.60	3.53	3.02	4.61	1.52	3.70	0.58	0.66	2.70	6.50		11.81	7.76	4.23	4.97	4.60	3.08	4.46
Leucine	6.92	3.35	3.28	5.17	1.48	3.88	0.53	0.65	2.88	7.81		18.62	9.39	5.18	7.81	5.02	2.88	3.88
Phenylalanine	5.53	3.04	2.39	3.89	1.27	2.82	0.32	0.43	1.88	5.83	1.19	10.07	6.71	3.29	5.83	5.53	1.89	2.82

¹⁾A-R indicate the name those mean the different or improved species from genus *Pleurotus*. A, Jang-an PK (*Pleurotus ostreatus*); B, Heuk-pyeong (*P. ostreatus*) C, Won-hyeong1 (*P. ostreatus*); D, Won-hyeong2 (*P. ostreatus*); E, Won-hyeong 3 (*P. ostreatus*); F, Chun-chu2 (*P. ostreatus*); G, Sambok (*P. sajor-caju*); H, Yeo-lm (*P. sajor-caju*); I, Chung-do21 (*P. ostreatus*); J, Heukjinju (*P. ostreatus*); K, Sin-nong46 (*P. ostreatus*); L, Su-hanmu (*P. ostreatus*); M, Su-han (*P. ostreatus*); N, Pink (*P. salmoneostramineu*); O, Blue (*P. ostreatus*); P, White (*P. ostreatus*); Q, Black(*P. ostreatus*); R, Yellow (*P. cornucopiae* var. *citrinopileatus*).

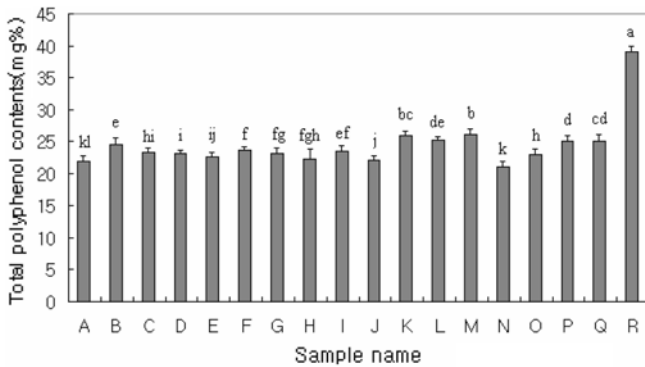


Fig. 1. Total polyphenol contents of *Pleurotus* species. Values represent the mean±SD of three replications. Different letters indicate significant differences at the level of $p < 0.05$ among samples. See Table 2 for abbreviation.

lysine, 및 phenylalanine 등이 수한무(L) 에서 다량 함유되어 있는 것으로 나타났다. Glutamic acid 함량이 높은 버섯일수록 맛이 좋은 경향을 나타내는 것으로 알려져 느타리버섯 18품종은 전반적으로 맛 성분뿐만 아니라 필수아미노산도 일반적으로 함유되어 있는 것을 알 수 있었다(13).

다음으로 polyphenol 함량분석을 하였다. 페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로 항산화, 항균 활성 등의 생리 활성 기능을 나타내며 일반적으로 페놀성 화합물이 항산화 활성을 나타내는 물질로 작용하는 것으로 알려져 있다(14,15). 또한 Cooney 등(16)은 guaiacol, resorcinol 등의 페놀성 물질은 니트로화 반응을 강력하게 억제한다고 보고하였다. 느타리버섯 18품종의 polyphenol 함량분석 결과는 Fig. 1과 같이 노랑느타리(R)에서 $39.13 \pm 0.82 \text{ mg\%}$ 로 가장 많은 함량을 나타냈고 그 다음으로 수한(M)이 $26.13 \pm 0.71 \text{ mg\%}$, 신농46(K)이 $26.01 \pm 0.34 \text{ mg\%}$, 수한무(L)에서 $25.32 \pm 0.45 \text{ mg\%}$ 의 높은 순을 나타냈다. 그리고 가장 낮은 함량을 나타낸 것은 분홍느타리(N) $20.19 \pm 0.92 \text{ mg\%}$ 였다. Kim(17)은 목질진흙버섯의 페놀성 화합물의 함량은 버섯의 메탄올 추출물에서 33.3 mg\% , 열수추출물 20.7 mg\% 및 클로로포름 추출물 0.2 mg\% 를 나타냈다고 보고하였다. 또한 Kim은 영지버섯 에테르 및 부탄올 추출물에서 각각 $11.5, 15.5 \text{ mg\%}$ 를 나타냈다고 보고하였다. 본 실험의 연구결과 목질진흙버섯과 노랑느타리(R)의 함량이 비슷한 수치를 나타냈고 그 외에 일반느타리에서도 20 mg\% 이상 함유되어 있어 영지버섯보다 높은 수치로 측정되었다. 이와 같이 노랑느타리(R)는 다른 느타리 버섯 품종과 비교하여 적게는 약 0.5배에서 많게는 약 2배 가량의 polyphenol 함량차이를 나타내었다. 또한 다른 품종의 버섯류와 비교하였을 때 상당히 높은 polyphenol 함량을 가지는 것으로 나타났다.

영양성분의 마지막 분석으로 β -glucan 함량측정을 실시하였다. 일반적으로 담자균류의 자실체는 $\beta(1 \rightarrow 3), \beta(1 \rightarrow 4), \beta(1 \rightarrow 6)$ 결합이 복잡한 구조를 이루고 있으며, 배양균사체의 경우도 균사체 내 β -glucan을 함유하거나 배지 내로 분비하며, β -1,3-glucan을 주쇄로 하여 β -1,6-glucan이 함유된 다당류가 풍부하게 존재하는 것으로 보고되었다(20). 담자균류 유래의 다당류는 solid tumor에 대한 증식억제효과가 높은 것으로 밝혀져 있으며, 버섯 100 g 당 $\beta(1 \rightarrow 3)$ D글루칸 함량은 꽃송이버섯 43.6 g, 잎새버섯 15-20 g, 영지버섯 8-15 g, 송이버섯 18.1g에 존재하는 것으로 알려져 있다(21,22). 느타리버섯 18품종의 β -glucan을 분석한 결과 Fig. 2과 같이, 노랑느타리(R)에서 $37.67 \pm 0.22\%$ 으로 가장 높은 β -glucan 함

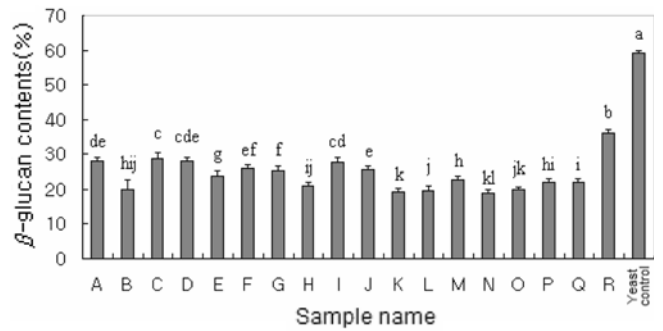


Fig. 2. beta-glucan contents of *Pleurotus* species. Values represent the mean±SD of three replications. Different letters indicate significant differences at the level of $p < 0.05$ among samples. See Table 2 for abbreviation.

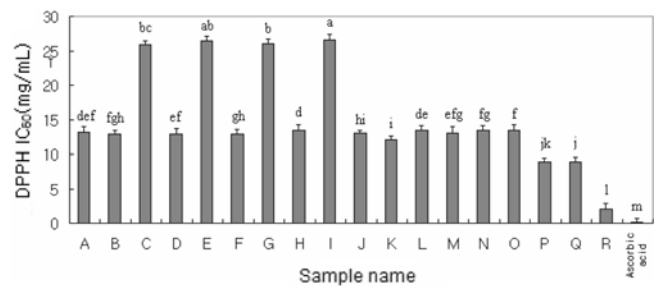


Fig. 3. Free radical scavenging activities (DPPH IC₅₀) of ethanol extracts from *Pleurotus* species. Values represent the mean±SD of three replications. Different letters indicate significant differences at the level of $p < 0.05$ among samples. See Table 2 for abbreviation.

량을 나타냈으며, 그 다음으로 원형1(C) $28.75 \pm 0.61\%$, 장안PK(A) $27.95 \pm 0.33\%$, 원형2(D) $27.94 \pm 0.36\%$ 순으로 나타났다. 그리고 분홍느타리(N)가 $19.03 \pm 0.47\%$, 신농46(K) $19.32 \pm 0.33\%$, 수한무(L) $19.73 \pm 0.57\%$ 로 함량이 낮은 것으로 나타났다. 따라서 노랑느타리(R)가 다른 품종보다 면역 및 항암활성이 높은 것으로 판단되었다. 이렇듯 가장 많은 베타글루칸 함량을 가지고 있는 꽃송이버섯과 비교하였을 때 노랑느타리가 다소 함량이 떨어졌다. 그러나 다른 잎새버섯, 영지버섯, 송이버섯에 비해서는 베타글루칸 함량이 높은 것으로 나타나, 꽃송이버섯 다음으로 비교적 높은 함량을 가진 품종으로 판단되었다.

전자공여능 측정

생체 내 free radical 생성을 억제하는 것은 질병예방을 위한 중요한 대사작용으로 활성산소를 제거하기 위한 생체방어 시스템은 효소적 방어체제와 식품을 통해 섭취 가능한 항산화 물질에 의한 비효소적 방어체제가 있다(18). 따라서 항산화 물질을 함유한 식품을 섭취함으로써 항산화 물질간의 상호작용으로 free radical이나 활성산소에 대한 생체방어 시스템을 지속적으로 유지할 수 있다. 느타리버섯의 항산화 활성을 확인하기 위해 DPPH radical 소거활성측정을 한 결과 Fig. 3와 같이 노랑느타리(R) 품종의 DPPH(IC₅₀ μg/mL) 값이 $2.93 \pm 0.44 \text{ mg/mL}$ 로 가장 낮은 수치를 나타내었고, 이는 활성능저해율로는 83%로 항산화 활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 다음으로 흑느타리(Q) 품종이 $8.92 \pm 0.61 \text{ mg/mL}$, 백느타리(P) 품종이 $8.92 \pm 0.52 \text{ mg/mL}$ 로 항산화활성이 우수한 것으로 나타났다. Song 등(19)은 항산화능이 뛰어난 쫄레 영지버섯추출물의 전자공여능이 91.3%라고 보고하였다. 이와 비교

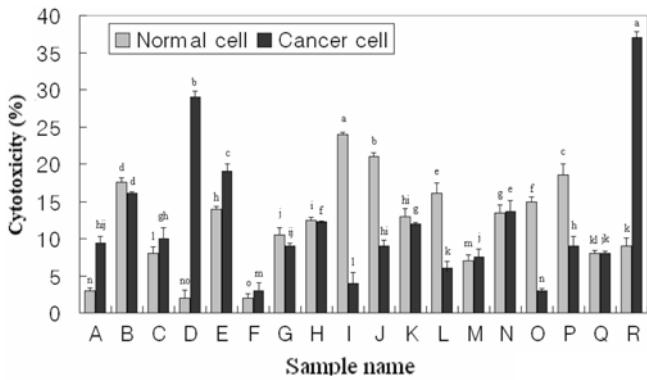


Fig. 4. Cytotoxic activities of ethanol extracts from *Pleurotus* species on normal cells (TM3) and cancer cells (293T). Values represent the mean±SD of three replications. Different letters indicate significant differences at the level of $p < 0.05$ among samples. See Table 2 for abbreviation.

할 때 노랑느타리(R)도 전자공여능이 우수하다는 사실을 알 수 있었다. 또한 전자공여능이 우수하는 것은 항산화능이 우수한 것인데, 이는 polyphenol 함량과도 밀접한 관계가 있다. Polyphenol은 대표적 항산화 물질이다. 앞서 나온 polyphenol 함량 결과에서도 노랑느타리(R)가 가장 높은 함량을 나타내었는데, 전자공여능 분석과도 동일한 결과가 나와 항산화능이 우수하다는 것을 명확히 입증하게 되었다.

세포 독성 시험

천연자원으로부터 항암활성이 있는 다당체 분리는 계속 되어 오고 있으며, 이중 담자균류의 항암활성이 가장 광범위하게 연구되고 있다. 버섯의 생리활성능에 대한 연구 중 항암효과에 대하여 표고버섯의 경우 액체 배양한 균사체로부터 분리한 단백단백체가 항암효과를 가진다고 발표되었다(23). 또한 아가리쿠스버섯 추출물의 임상적 이용에 대해서도 자궁경부암환자에서 경구투여시 보조적 효과에 대해서도 발표된바 있다(24). Kim 등(25)이 구름버섯, 표고버섯, 느타리버섯 등의 자실체의 열수추출물이 sarcoma 180에 대한 강한 저지력이 있음을 밝혔다.

느타리 버섯 추출물의 항암활성을 알아보자 MTT assay 방법으로 실험한 결과는 Fig. 4와 같이 나타났다. 즉, 신장암세포와 고환 정상세포의 세포사멸을 통하여 세포독성을 측정된 실험 결과 버섯시료 에탄올 추출물 1% 처리시 암세포에 대한 독성이 노랑느타리(R)가 36.90%, 원형2(D)는 28.71%로 나타났으며 대조구인 정상세포에서는 미미한 독성이 나타났다. 그 밖의 느타리 품종에서는 노랑느타리(R)에 비해 상대적으로 항암활성이 미약한 것으로 나타났다.

항고혈압 활성

고혈압의 치료제로 사용되는 ACE 억제제는 관상동맥질환과 심근경색의 발생을 감소시키며, neurohormonal effect에 의해 혈관벽에 가해지는 스트레스를 감소시켜 심혈관계 질환에 효과를 나타낸다. 그러나 일반적인 고혈압 치료제로 알려진 ACE 저해제들은 부작용을 나타낼 가능성이 있기 때문에 식품기원의 ACE 저해활성을 가진 소재류를 찾는 연구가 다방면에서 이루어지고 있다. Hagiwara 등(26)의 연구에 의하면 노랑느타리 버섯류인 *P. cornucopiae*의 열수추출물이 항고혈압 활성을 가진 것으로 밝혀졌으며 phytochemical의 하나인 mannitol이 그러한 작용을 가진다고 보고하였다. 또한 Kim 등(27)의 연구에 의하면 송이즙의 항

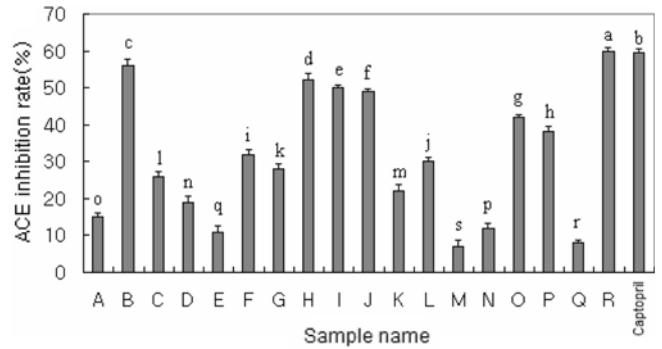


Fig. 5. Angiotensin I converting enzyme (ACE)-inhibitory effects of ethanol extracts from *Pleurotus* species. Values represent the mean±SD of three replications. Different letters indicate significant differences at the level of $p < 0.05$ among samples. See Table 2 for abbreviation.

고혈압 활성은 양성대조구로 사용된 captopril과 비교해 보았을 때 우수한 생리활성을 보인다고 보고하였다. ACE 저해활성 효과는 Choi 등(28)이 연구한 결과에 따르면 왕송이 버섯 자실체의 경우 61.3%, 잎새버섯 58.7%, 운지버섯 37.7%, 술잔버섯 37.5%로 나타났다. 또한 Lee 등(29)은 비늘버섯은 66%, 잎새버섯은 61%의 ACE 저해활성이 있다고 발표하였다.

느타리버섯 18품종의 ACE 저해활성 효과를 측정한 결과 노랑느타리(R)에서 60.5±0.2%의 가장 높은 저해능을 나타내었으며, 이는 positive control로 사용한 captopril의 저해능과 비슷한 결과로 항고혈압제로의 가능성이 우수한 것으로 판단 되었다. 그 다음으로 흑평(B)이 56.7±1.1%, 여름(H)이 52.4±1.3% 그리고 청도21(I)이 50.6±0.1%로 높은 저해활성이 나타났으며, 가장 낮은 저해율로는 수한(M)이 7.2±0.3%로 나타났다.

항혈전 활성

혈전은 여러 가지 원인에 의해 fibrin 섬유소와 혈소판의 점착, 응집으로 형성되며, 혈관벽에 쌓여 동맥경화나 심근경색을 유발하고, 혈관을 따라 이동하여 뇌출혈, 뇌혈전증, 심부전증, 심장마비 등의 원인이 된다. 혈전증의 치료제로는 urokinase, streptokinase, tPA(tissue type plasminogen activator), nattokinase, plasminogen activator 등이 알려져 있다. 그리고 식품에서 혈전용해 효소를 얻기 위한 연구들이 수행되고 있으며, 발효식품으로부터 혈전용해효소의 정제 및 생산균주의 분리가 보고되었고, 버섯을 통한 연구도 많이 이루어지고 있다(30). 느타리버섯 18품종이 혈전형성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 fibrin plate method를 이용하여 용해환의 면적을 plasmin의 면적과 비교하였다. 즉, 느타리버섯 자실체의 추출물의 혈전용해력을 plasmin(1 U/mL)과 비교하여 저해능으로 측정된 결과 Fig. 6과 같이 전반적으로 농도가 증가함에 따라 농도의존적으로 혈전용해 활성이 증가하는 경향을 보였다. 흑평(B)과 삼복(G)을 제외한 품종에서 버섯시료 에탄올추출물 3%에서 50%이상의 활성을 나타냈다. 특히, 노랑느타리(R)의 fibrin 용해활성이 농도가 증가할수록 높은 활성을 나타냈으며, plasmin(1U/mL)과 비슷한 활성을 나타내었다. 이러한 추출액의 혈전용해활성은 대조구의 용해면적에 대한 시료의 용해면적의 상대적인 비율로 환산하여 산출하였다.

항당뇨 활성

혈당 상승예방을 위해 사용되는 경구용 혈당강하제로는 탄수화물의 소화를 제한하여 식후 고혈당을 예방하는 α-glucosidase

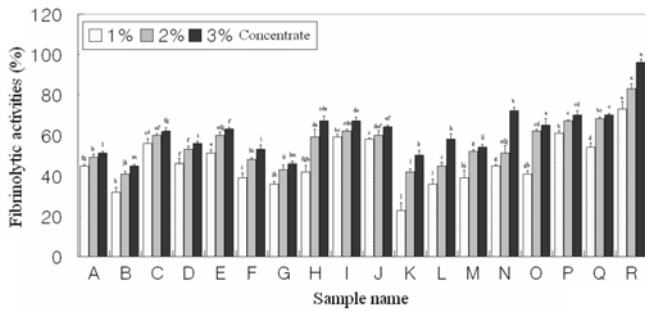


Fig. 6. Fibrinolytic activities of ethanol extracts from *Pleurotus* species. Values represent the mean±SD of three replications. Different letters indicate significant differences at the level of $p < 0.05$ among samples. See Table 2 for abbreviation.

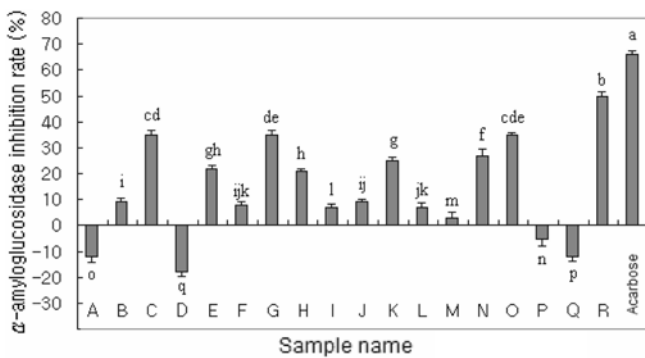


Fig. 7. α -amyloglucosidase-inhibitory effects of ethanol extracts from *Pleurotus* species. Values represent the mean±SD of three replications. Different letters indicate significant differences at the level of $p < 0.05$ among samples. See Table 2 for abbreviation.

저해제로 acarbose 및 miglitol, 등과 인슐린 분비를 촉진하는 sulfonylurea, 인슐린 감수성을 촉진시키며 hepatic glucose output 을 감소시키는 metformin, thiazolidinedione 등이 알려져 있다. 그러나 혈당강하제 중 일부는 간독성 및 체중증가, 신부전 증상 악화 등 부작용의 위험성을 고려하지 않을 수 없다(31). 항당뇨 기능성식품을 개발하기 위해서는 인슐린 작용 향상, 포도당 자극에 의한 인슐린 분비 촉진, 베타세포수의 증가, 간에서 포도당 신생합성의 억제 및 식후 혈당 상승 방지를 위한 탄수화물의 소화 흡수를 지연시킬 수 있는 소재가 필요하다. 이 중에서 소장 내 효소를 저해해서 탄수화물의 소화를 방해하는 소재개발 연구가 다양하게 진행되고 있다. 본 실험에 사용된 α -amyloglucosidase는 α -1,4 및 1,6 glucoside 결합을 가수분해하는 효소로 본 실험에서는 단당류 소화작용을 갖는 이 효소의 활성 억제율을 측정하였고, positive control로 acarbose를 사용하였다. 그 결과 Fig. 7과 같이 노랑느타리(R)에서 50.5±0.8%의 비교적 가장 높은 유리 포도당의 생성 감소를 나타내, 다른 느타리 품종에 비해 그 효과가 우수한 것으로 나타났다. Positive control인 acarbose의 활성과 비교했을 때 노랑 느타리의 특정성분을 정제한다면 항당뇨제로서의 활성이 기대되었다.

항염 활성

대식세포는 선천면역, 획득면역 등 여러 숙주반응에 관여함으로써 항상성유지에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 염증반응 시에는 nitric oxide와 cytokine을 생산하여 감염초기에 생체방어에 중요한 역할을 한다. 일반적으로 nitric oxide는 체내 방어기능, 신

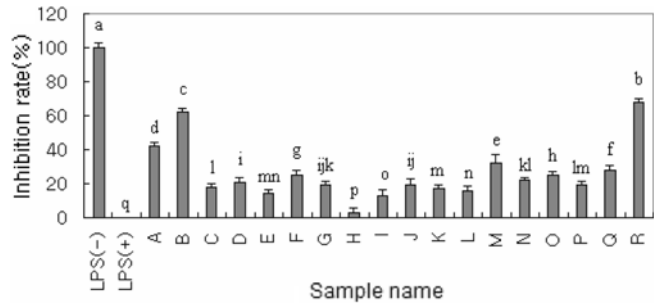


Fig. 8. Inhibitory effects of ethanol extracts from *Pleurotus* species on nitric oxide production in LPS-activated macrophages. Values represent the mean±SD of three replications. Different letters indicate significant differences at the level of $p < 0.05$ among samples. See Table 2 for abbreviation.

호전달기능 등 다양한 생리 기능을 가지고 있으나, 과량의 nitric oxide는 염증반응을 촉진, 심화시킨다(32). 대식세포인 RAW 264.7 세포에 염증성 매개물질을 증가시키는 LPS(1 µg/mL)를 첨가하여 nitric oxide의 생성을 유도한 후 느타리버섯 추출물을 1 mg/mL 농도로 처리하여 nitric oxide 생성 억제율을 측정된 결과는 Fig. 8과 같다. 즉, LPS를 단독으로 처리했을 때 100% nitric oxide 생성으로 환산하여 비교한 결과 노랑느타리(R)에서 68.4±0.3%의 가장 높은 억제율을 기록했으며 그 다음으로 흑평(B)이 62.5±0.4%로 나타났다. 가장 낮은 활성은 여름(H)으로 3.0±0.8%로 나타나 항염효과가 거의 없었으며 그 외의 품종에서도 전반적으로 10-20% 수준의 저해율을 나타냈다. Nitric oxide 생성저해 능력이 잘 알려진 낙엽송 총버섯(*Phellinus pini*)의 경우에는 75%로 노랑느타리(R)에 비해 그 활성이 높은 것으로 알려져 있다(33).

요 약

일반 느타리 13품종과 색상 느타리 5품종을 사용하여 아미노산 및 polyphenol, β -glucan 함량을 분석하고, 생리활성으로 항산화 및 항암, 항고혈압, 항혈전, 항당뇨, 항염활성을 측정하였다. 느타리버섯 18종의 아미노산 분석결과 전반적으로 감칠맛을 내는 glutamic acid 함량이 비교적 많이 함유되어 있었고, 필수아미노산 성분도 고르게 분포되어 있었다. Polyphenol 함량에서는 전 품종에서 20 mg% 함량이상을 나타냈으며, 노랑느타리(R)가 39.13 ± 0.82 mg%로 가장 높았다. β -glucan 함량은 노랑느타리(R)에서 37.67±0.22%로 가장 높았으며, 그 외에 원형1(C), 장안PK(A)에서 각각 28.75±0.61%, 27.95±0.33%의 순으로 나타났다. 전자공여능에서는 노랑느타리(R) 버섯의 DPPH IC₅₀값이 2.93±0.44 mg/mL로 가장 낮아 항산화 활성이 가장 우수한 것으로 나타났으며, 세포독성 실험에서는 노랑느타리(R) 에탄올 추출물 1% 처리시 신장암세포에 대해 36.90%의 세포 억제율을 보였다. ACE 저해활성의 경우 노랑느타리(R) 에탄올 추출물 1%농도에서 60.5±0.2%의 저해율이 측정되었고, 흑평(B) 56.7±1.1%, 여름(H) 52.4±1.3% 수준으로 나타났다. 항혈전 활성에서는 3%농도에서 흑평(B)과 삼복(G)을 제외한 나머지 느타리버섯 에탄올 추출물에서 50%이상의 용해 활성을 보였으며 노랑느타리(R)에서 거의 plasmin과 동등한 활성을 나타냈다. 항당뇨 활성에서는 노랑느타리(R)의 경우 50.5±0.8%의 비교적 높은 효소저해율이 측정되었고, 항염활성에서는 노랑느타리(R)에서 68.4±0.3%의 억제율이 측정되었다. 이상의 결과로 일반 느타리 13 품종과 육종 재배된 색상 느타리 5품종 중 노랑느타리(R)가 가장 우수한 생리활성을 나타내 향후 기

능성 소재로의 활용가능성이 기대되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국책기술개발사업 “UPOV 대비 버섯 품목별 농가 시험재배 및 보급체계 구축연구”로 수행된 연구결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사합니다.

문 헌

- Kim HS, Ha HC, Kim TS. Research and prospects in new functional mushroom-*Tremella fuciformis*, *Grifora frondosa*, and *Hypsizigus marmoreus*. Food Sci. Ind. 36: 42-46 (2003)
- Hong JS, Kim TY. Contents of free-sugars & free-sugar alcohols in *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes*, *Agaricus bisporus*. Korean J. Food Sci. Technol. 20: 459-462 (1988)
- Yang HC, Song CH, Kweon MH. Mycelial new material, food functional technology. Hanlimwon, Seoul, Korea. pp. 187-189 (1996)
- Jung IC, Park S, Park KS, Ha HC, Kim SH, Kwon YI, Ha HC. Antioxidative effect of fruit body and mycelial extracts of *Pleurotus ostreatus*. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 464-469 (1996)
- Hossain S, Hashimoto M, Choudhury EK, Alam N. Dietary mushroom *Pleurotus ostreatus* ameliorates atherogenic lipid in hypercholesterolaemic rats. Clin. Exp. Pharmacol. P. 30: 470-475 (2003)
- Lillian B, Paula B, Daniela M, Susana C, Beatriz O, Isabel C. Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. Food Chem. 105: 140-145 (2007)
- Bose SR. Campestrin, the antibiotics of *Psalliota campestris*. Nature 175: 468-468 (1955)
- Kim HJ, Ahn MS, Kim GH, Kang MH. Anti-cancer activity of *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 702-708 (1998)
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181: 1191-1200 (1958)
- Kotakenara E, Kushihiro M, Zhang H, Sugawara T, Nagao K. Carotenoids affect proliferation of human prostate cancer cells. J. Food Sci. Nutr. 131: 3303-3306 (2001)
- Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharmacol. 20: 1637-1648 (1971)
- Astrup A, Mullertz S. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. Arch. Biochem. Biophys. 40: 3446-351 (1952)
- Bano Z, Rajarathnam S. *Pleurotus* mushrooms. Part II. Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation, and role as human food. Crit. Rev. Food Sci. 27: 87-158 (1988)
- Durkee AB, Thivierge PA. Ferulic acid and other phenolics in oat seeds. J. Food Sci. 42: 551-558 (1977)
- Kozłowska H, Rotkiewicz DA, Zadernowski R, Sosulski FW. Phenolic acids in rapeseed and mustard. J. Am. Oil Chem. Soc. 60: 1119-1131 (1983)
- Cooney RV, Ross PD. N-nitrosation and nonitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution: Effects of vanillin and related phenols. J. Agr. Food. Chem. 35: 789-798 (1978)
- Kim HG. Development of processed foods from mushroom. Korea Food Res. Inst., Korea. pp. 33-96 (1997)
- Gardner PR, Fridovich I. Superoxide sensitivity of *Escherichia coli* 6-phosphogluconate dehydratase. J. Biol. Chem. 266: 1478-1783 (1991)
- Song JH, Lee HS, Hwang JK, Chung TY, Hong SR, Park LM. Physiological activities of *Phellinus ribis* extracts. J. Food Sci. Technol. 35: 690-695 (2003)
- Nakajima A, Ishida T, Koga M, Takeuchi M. Effect of hot water extract from *Agaricus blazei* Murill on antibody producing cells in mice. Int. Immunopharmacol. 2: 1205-1211 (2002)
- Miura T, Ohno N, Miura NN, Shimada S, Yadomae T. Inactivation of a particle β -glucan by proteins in plasma and serum. Biol. Pharm. Bull. 20: 1103-1107 (1997)
- Kajimura M, Suga T. Research and development of functional food including superfine BETA-glucan (Lentinan). Chemical Industry 55: 466-475 (2004)
- Lee BW, Park KM. Anti-tumor activity of protein-bound polysaccharides extracted from mycelia of *Lentinus edodes*. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 665-671 (1998)
- Ahn WS, Kim DJ, Chae GI, Lee JM, Bae SM, Sin JI, Kim TW, Namkoong SE, Lee IP. Natural killer cell activity and quality of life were improved by consumption of a mushroom extract, *Agaricus blazei* Murill Kyowa, in gynecological cancer patients undergoing chemotherapy. Int. J. Gynecol. Cancer 14: 589-594 (2004)
- Kim BK, Park EK, Shim MJ. Studies on constituents of higher fungi of Korea, antineoplastic activities of *Coriolus versicolor* Qel, *Pleurotus ostreatus* Kummer and *Lentinus edodes* Sing. Arch. Pharm. Res. 2: 145-151 (1979)
- Hagiwara SY, Takahashi M, Shen Y, Kaihou S, Tomiyama T, Yazawa M, Tamai Y, Sin Y, Kazusaka A, Terazawa M. A phytochemical in the edible *tamogi-take* mushroom, D-mannitol, inhibits ACE activity and lowers the blood pressure of spontaneously hypertensive rats. Biosci. Biotech. Biochem. 69: 1603-1605 (2005)
- Kim YE, Kwon EK, Han IH, Ku KH. Antioxidant activity, fibrinolysis, and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of pine mushroom juice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 37: 535-541 (2008)
- Choi HS, Cho HY, Yang HC, Ra KS, Suh HJ. Angiotensin I converting enzyme inhibitor from *Grifola frondosa*. Food Res. Int. 34: 177-182 (2001)
- Lee DH, Kim JH, Cheong JC, Gong WS, Yoo YB, Park JS, Yoo CH, Lee JS. Screening of mushrooms having angiotensin I converting enzyme inhibitor. Korean J. Mycol. 31: 148-154 (2003)
- Lee KY, Kim JH, Son JR, Lee JS. Detection and extraction condition of physiological functional compounds from bran of Heugjinju rice. Korean J. Postharv. Sci. Technol. 8: 296-301 (2001)
- Park KJ, Oh YJ, Lee SY, Kim HS, Ha HC. Anti-diabetic effect of crude polysaccharides from *Grifola frondosa* in KK-A^y diabetic mouse and 3T3-L1 adipocyte. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 330-335 (2007)
- Higuchi M, Hisgahi N, Taki H, Osawa T. Cytolytic mechanisms of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine dependent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanisms of activated macrophages. J. Immunol. 144: 1425-1431 (1990)
- Jang HJ, Kim AK, Pyo MY, Yang KS. Inhibitors of nitric oxide synthesis from *Phellinus pini* in murine macrophages. Yakhak Hoeji 51: 430-434 (2007)