

재배방법을 달리한 복령 에탄올추출물의 항산화 효과

김유진^{1#}, 박해진², 이진상³, 도은주³, 손형락⁴, 전선만⁵, 염정현⁶, 김미려^{1,3*}

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실, 2 : 경북대학교 식품영양유전체연구센터,
3 : (재)대구테크노파크 한방산업지원센터 4 : 경상북도 농업기술원
5 : 보현산청정약초영농조합법인 6 : 경북대학교 바이오섬유소재학과

Antioxidant effect of ethanol extract from *Poria cocos* depending on cultivation methods

Yoo-Jin Kim^{1#}, Hae-Jin Park², Jin Sang Lee³, Eunju Do³, Hyeong Rack Sohn⁴,
Seon Man Jeon⁵, Jeong Hyun Yeum⁶, Mi Ryeo Kim^{1,3*}

1 : Department of Herbal Pharmacology, Daegu Hanny University, Daegu, Korea
2 : Center for Food and Nutritional Genomics Research, Kyungpook National University, Daegu, Korea
3 : Korean Medicine Industry Support Center, Daegu Technopark, Daegu, Korea
4 : Gyongsangbuk-do Agricultural Research & Extension Services, Seongju, Korea
5 : Department of Bio-fiber and Materials Science, Kyungpook National University, Daegu, Korea
6 : Bohyunsan Medicinal Plant Agricultural Association Corporation, Yeongcheon, Korea

ABSTRACT

Objectives : *Poria cocos* Wolf has been widely used in Korean medicine as a medicinal fungus. In this study, we investigated that comparative anti-oxidant effects of ethanol extract from wild *Poria cocos* (WP) and plastic bag-cultivated *Poria cocos* (PBP).

Methods : Total polyphenol and flavonoid contents in WP and PBP extract were monitored. And DPPH, ABTS, hydroxyl (\cdot OH) free radical scavenging capacity, reducing power and xanthine oxidase inhibition activities of them were determined at 5, 1, 0.5 mg/ml concentrations.

Results : Higher total polyphenol contents were found in the PBP extract (52.07 ± 0.6 mg/TAEg) than in the WP extract (28.44 ± 0.26 mg/TAEg). The flavonoid contents in WP and PBP extract were 17.29 ± 0.30 mg/ RUEg, 21.36 ± 0.40 mg/ RUEg, respectively. Also, DPPH, ABTS and \cdot OH free radical scavenging capacity of PBP extract in treated concentrations (5, 1, 0.5 mg/ml) significantly increased compared to those of WP-treated group. In particular, DPPH, ABTS free radical scavenging capacity and reducing power of PBP extract at 5 mg/ml concentration were similar to positive control (BHA or vit. C). Xanthine oxidase (XO) inhibition rate in both extract increased dose dependently. But it was significantly increased in PBP-treated group, only at 5 mg/ml, compared to those of WP-treated group. Then, their inhibition rate by PBP was similar to positive control (BHA).

Conclusions : These results suggest that PBP extract is superior to WP extract in anti-oxidant capacity thus PBP can be applied in variable antioxidative products as a substitute for WP.

Key words : Anti-oxidant, wild *Poria cocos*, plastic bag-cultivated *Poria cocos*, free radical scavenging capacity, total polyphenols

*Corresponding author : Mi Ryeo Kim, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University
· Tel : +82-53-770-2300 · Fax : +82-53-770-2312 · E-mail : mrkim@dhu.ac.kr

#First author : Yoo-Jin Kim, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University
· Tel : +82-53-770-2241 · Fax : +82-53-770-2241 · E-mail : puppy3128@naver.com
· Received : 12 August 2016 · Revised : 5 September 2016 · Accepted : 20 September 2016

I. 서론

복령(*Poria cocos* Wolf)은 소나무의 뿌리에 기생하는 잔나비겉상과(Polyporaceae)의 진균으로, 색깔에 따라 백복령과 적복령으로 구분되며, 소나무 뿌리를 포함하고 있는 것은 복신이라 한다¹⁾. 복령은 탄수화물, 수분, 조섬유질, 무기질 및 미량의 단백질로 구성되어 있으며, 예로부터 진정작용, 이뇨작용, 강장작용 등의 목적으로 많은 처방에 사용된 한약재로²⁾ 항암활성, 항염증, 항산화 활성에 관하여 많은 연구가 되고 있다³⁻⁶⁾. 주요 약리성분으로는 β -glucan 및 triterpene, pachyman 등이 있다.³⁾ 이들 중 β -glucan과 triterpene은 생체조직재생과 치유기능, 항산화기능, 항균, 항염증, 항바이러스 등의 효과가 보고되어 있다⁷⁻⁹⁾. 복령 중에 함유되어 있는 pachyman은 β -1,3-glucan에서 β -1,6분지를 가지는 고분자 다당류이고, pachyman은 pachyman의 β -1,3-glucan에서 β -1,6분지를 가지지 않은 복령다당으로¹⁰⁾, pachyman은 자체 항종양 활성은 없지만 구조가 변하여 pachyman이 되면 강력한 항암활성을 나타낸다.³⁾

복령(Hoelen)은 복령(*Poria cocos* Wolf)의 바깥층을 제거한 것으로, 자연산 복령은 오염된 껍질의 제거를 위해 거피과정을 거치는데, Feng¹¹⁾은 복령의 껍질인 복령피의 영양물질이 복령의 내부보다 높다고 보고하였다. 따라서 자연산 복령의 거피과정은 영양적 손실을 가져올 수도 있다. 국내 유통되고 있는 복령은 수입산이 국내산보다 많으며, 주요 수입국인 중국의 수출제한으로 인해 가격의 인상 등이 초래되고 있다¹²⁾.

최근 양 등¹³⁾은 비닐봉지를 이용한 인공재배기술을 개발하였는데, 대량 생산이 가능한 이 방법이 널리 보급된다면 국내 복령 생산량 및 품질의 증대에 도움이 될 것이라고 보고하였다.

인체의 생명유지에 필요한 에너지를 얻는 호흡과정에서 흡입한 산소 중 일부가 유독물질인 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 전환되는데 체내에서 각종 항산화 효소와 항산화 물질로 이를 제어하고 있지만 각종 환경요인에 의해 다량의 활성산소가 생성되어 이것의 강한 산화력으로 단백질 분해, 지방산화, DNA 합성억제 등 인체 내 생리적 세포손상을 일으킨다^{14,15)}.

활성산소 생성을 막기 위한 대표적인 합성 항산화제인 butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA)의 경우 우수한 효과와 저렴한 가격으로 식품첨가제 등에 널리 사용되고 있지만 지질변화 및 발암독성과 같은 부작용들이 밝혀지면서 천연항산화제에 대한 중요성이 높아지고 그것에 대한 연구도 활발히 진행 중이다¹⁶⁻²¹⁾. 따라서 본 연구에서는 자연산 복령 추출물과 대량 생산이 가능한 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 항산화 효능을 비교해보고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 시약 및 기기

Folin & Ciocalteu's phenol reagent, tannic acid, rutin hydrate, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, L-ascorbic

acid, potassium persulfate, thiobarbituric acid, 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid, diammonium salt (Sigma), diethylene glycol, sodium carbonate (Junsei), UV/VIS spectrophotometer (Lambda35, Perkin Elmer), vortex mixer (G-560, Scientific industries), water bath (WB-11, Daihan scientific), iron(II) sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), EDTA, NaOH (Generay Biotech), trichloroacetic acid, phosphoric acid, potassium ferricyanide (Duksan)을 사용하였다.

2) 시료

본 실험에 사용한 복령(*Poria cocos* Wolf)은 자연산 복령(안동산, wild *Poria cocos*; WP)과 양 등¹³⁾이 개발한 비닐봉지법으로 재배된 복령(plastic bag-cultivated *Poria cocos*; PBP)을 보현산청정약초영농조합법인에서 제공받았으며, 약전 규격에 부합되는 것만을 선정하여 시료로 사용하였다.

2. 방법

1) 시료 추출

절단, 분쇄하여 선별된 복령(WP, PBP)을 세척, 건조하여 각 시료 1 kg당 1:1(V/V)비율로 주정과 물을 혼합한 용매 10 L를 넣고 추출기 (KSNP B1 130-240L, 경서기계산업)로 100℃에서 12시간 환류 추출하였다. 이 전탕액을 부크너 깔대기에 여과지(와트만, No. 2)를 이용하여 여과한 다음, 감압 회전 농축기 (N-1100, EYELA)로 농축하고 동결 건조시킨 후 건조 분말화된 추출물을 사용하였고, WP와 PBP의 수득율은 각각 0.23%, 0.38%였다.

2) 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Denis법²²⁾을 이용하여 측정하였다. 즉, 증류수에 희석한 10 mg/ml의 각 시료들 500 μ l와 Folin & Ciocalteu's phenol reagent (Sigma) 500 μ l를 분주하여 잘 혼합한 뒤 상온에서 3분간 반응시키고, 10% Na_2CO_3 (sodium carbonate, Junsei) 500 μ l를 첨가하여 충분히 혼합시킨 뒤 상온에서 1시간 반응시켰다. 표준검정곡선은 tannic acid (Sigma)를 표준물질로 하여 작성하였고 UV/VIS Spectrophotometer (Lambda35, Perkin Elmer)로 흡광도 760 nm에서 측정하였다.

3) 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량 측정은 Jia Z²³⁾을 변형하여 측정하였다. 추출시료를 10 mg/ml의 농도로 증류수에 희석하여 diethylene glycol (Junsei) 2 ml, 0.1 N NaOH (Generay Biotech) 0.2 ml를 첨가하여 상온에서 1시간 동안 방치하였다. 표준검정곡선은 rutin hydrate (Sigma)을 표준물질로 하여 작성하였고 흡광도 420 nm에서 측정하였다.

4) DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical 소거활성 측정

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical

소거활성 측정은 Blois 방법²⁴⁾을 이용하였다. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma)는 에탄올에 희석하여 0.4 mM 농도로 사용하였고 농도별로 희석한 각 시료 1 ml와 DPPH 50 μ l를 10초간 vortex mixer (G-560, Scientific industries)로 혼합한 후 상온에서 30분간 차광하여 반응시킨 후 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5) ABTS radical 소거 활성 측정

ABTS Radical 소거활성은 Ven den berg²⁵⁾ 등의 방법을 이용하여 측정하였고 양성 대조군은 L-ascorbic acid (Sigma)를 사용하였다. 2.45 mM potassium persulfate (Sigma)에 100 ml 증류수로 희석한 후 7 mM ABTS (2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, Sigma)를 희석된 potassium persulfate와 혼합한 후 상온의 암소에서 16시간 방치시켜 ABTS+를 생성시켰다. 16 시간 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.7 ± 0.05 가 되도록 에탄올에 희석하여 만든 ABTS 시약 1 ml와 각각 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml 농도의 복령 추출물 0.05 ml를 혼합하여 30°C 항온수조 (WB-11, Daihan scientific)에 20분 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였고 양성 대조군으로 L-ascorbic acid (Sigma)를 사용하였다.

6) Hydroxyl radical (\cdot OH) 소거활성 측정

\cdot OH 소거활성 측정은 Halliwell 등²⁶⁾을 응용하여 측정하였고 양성 대조군은 BHA를 사용하였다. 각 농도 별 시료 200 μ l에 10 mM iron(II) sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 200 μ l, 10 mM EDTA (Generay) 200 μ l, 10 mM 2-deoxy-D-ribose 200 μ l, 10 mM H_2O_2 200 μ l를 가하여 혼합한 후 항온수조 37°C에서 1시간 동안 반응시킨다. 1시간 후 2.8% TCA (trichloroacetic acid, Duksan) 1 ml, 1% TBA (thiobarbituric acid, Sigma) 1 ml를 가하여 항온수조 100°C, 10분간 반응 후 급속히 냉각시킨 후 520 nm에서 측정하였다.

7) Reducing power (환원력) 측정

Reducing power (환원력) 측정은 각 농도 별 시료 0.1 ml에 0.2 M 인산 완충액 (phosphoric acid, Duksan, pH 6.8) 0.25 ml와 1% potassium ferricyanide ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, Duksan) 0.25ml를 혼합하여, 항온수조 50°C에서 20분간 반응시켰다. 0.25 ml의 10% TCA (trichloroacetic acid, Duksan)를 첨가하고 3000 rpm에서 10분간의 원심분리를 통하여 얻어진 상층액을 취하고 0.1% ferric chloride (FeCl_3) 0.05ml를 넣어서 발색반응을 유도시킨 다음, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8) Xanthine oxidase (XO) 저해활성 측정

Xanthine oxidase 활성은 Rajagopalan²⁷⁾방법을 참고하여 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate 완충액 (pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 1 ml에 XO (0.25 U/ml) 100 μ l와 농도별 시료 100 μ l를 첨가하고, 대조군에는 시료액 대신 증류수를 100 μ l를 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후, 20% trichloroacetic acid (TCA) 1 ml를 첨가

하여 반응을 종료시켰다. 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하고 상층액을 취하여 생성된 uric acid의 흡광도를 292 nm에서 측정하였다.

9) 통계처리

본 결과의 통계처리는 IBM SPSS Statistics 22 (Statistical package for the social sciences, SPSS Inc., Chicago)를 사용하여 산출하였고 Student's t-test로써 복령 추출물의 군간 차이를 분석하였다. 각 군당 평균의 통계적 유의성은 Duncan's multiple range test를 사용하여 검증하였고 유의수준은 0.05 이하로 정하였다.

III. 결 과

1. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물과 자연산 복령 추출물을 10 mg/ml 농도로 하여 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과, 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 총 폴리페놀 함량은 52.07 ± 0.6 mg/TAEg, 총 플라보노이드 함량은 17.29 ± 0.30 mg/RUEg으로 나타났다. 자연산 복령 추출물의 총 폴리페놀 함량은 28.44 ± 0.26 mg/TAEg, 총 플라보노이드 함량은 21.36 ± 0.40 mg/RUEg으로 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 총 폴리페놀 함량이 자연산 복령에 비해 유의하게 높았으나 총 플라보노이드 함량은 자연산 복령 추출물보다 낮은 값을 나타내었다(Table 1).

Table 1. The total polyphenol and total flavonoid contents of ethanol extract from wild *Poria cocos* (WP) and plastic bag-cultivated *Poria cocos* (PBP)

	Total polyphenols	Total flavonoids
	(mg/TAEg) ¹⁾	(mg/RUEg) ²⁾
WP	$28.44 \pm 0.26^{***}$	$21.36 \pm 0.40^*$
PBP	52.07 ± 0.6	17.29 ± 0.30

The data were expressed as the mean \pm SD. (n=3). Significant differences between WP vs PBP are indicated; *p<0.05, ***p<0.001. 1) Tannic acid equivalents. 2) Rutin equivalents.

2. DPPH Free Radical 소거활성

비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물과 자연산 복령 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. 추출물의 농도를 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml로 측정된 결과, 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물과 자연산 복령 추출물이 모두 농도 의존적으로 증가하였으며, 농도별 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물에서는 각각 $88.83 \pm 0.56\%$, $82.20 \pm 1.53\%$, $79.04 \pm 0.13\%$ 이었고, 자연산 복령 추출물에서는 처리 농도 별로 각각 $85.86 \pm 1.28\%$, $76.27 \pm 0.13\%$, $57.83 \pm 0.45\%$ 로 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물이 모든 처리 농도에서 자연산 복령 추출물보다 소거 활성이 높게 나타났다. 또한 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물은 1 mg/ml, 0.5 mg/ml의 농도에서 자연산 복령 추출물에 비해 유의하게 소거활성이 높았으며, 5mg/ml에서는 양성대조군인 BHA와

유사한 소거활성을 보였다(Figure 1).

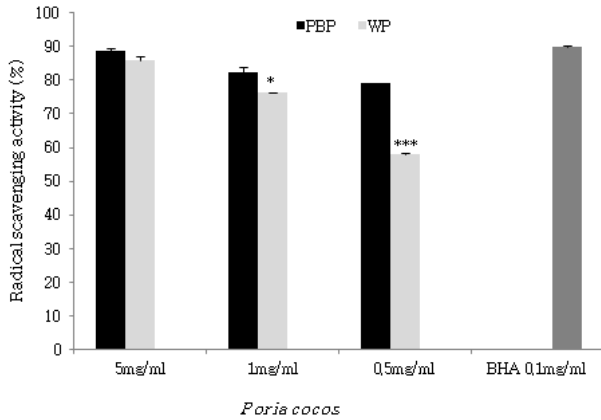


Figure 1. DPPH free radical scavenging activities of ethanol extract from wild *Poria cocos* (WP) and plastic bag-cultivated *Poria cocos* (PBP).

The data were expressed as the mean \pm SD (n=3). Significant differences between WP vs PBP are indicated ; *p<0.05, ***p<0.001.

3. ABTS radical 소거능 측정

자연산 복령 추출물과 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물을 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml 처리한 결과, ABTS 소거활성은 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물과 자연산 복령 추출물이 모두 농도 의존적으로 증가하였고, 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물을 처리한 군에서의 소거활성이 76.61 \pm 0.25%, 25.95 \pm 1.28%, 16.45 \pm 0.10%였다. 자연산 복령 추출물의 처리농도 별 소거활성은 92.37 \pm 0.27%, 37.20 \pm 0.40%, 22.57 \pm 0.50%로 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml의 처리농도에서 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물보다 유의적으로 낮게 측정되었다(Figure 2).

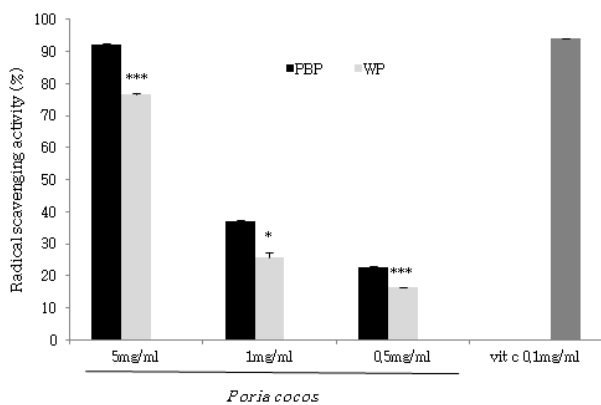


Figure 2. ABTS radical scavenging activities of ethanol extract from wild *Poria cocos* (WP) and plastic bag-cultivated *Poria cocos* (PBP).

The data were expressed as the mean \pm SD (n=3). Significant differences between WP vs PBP are indicated ; *p<0.05, ***p<0.001.

4. Hydroxyl radical (·OH) 소거활성 측정

비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물과 자연산 복령 추출물을 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml로 처리하고 hydroxyl

radical (·OH) 소거활성을 측정한 결과, 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물은 각 처리 농도에서 50.40 \pm 0.86%, 43.69 \pm 0.95%, 19.72 \pm 0.48%로 농도 의존적으로 증가하였고, 자연산 복령 추출물은 23.87 \pm 1.78%, 13.83 \pm 0.43%, 12.83 \pm 0.50%로 증가함으로써, 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물이 자연산 복령 추출물에 비해 모든 처리 농도에서 유의하게 소거활성이 높았다(Figure 3).

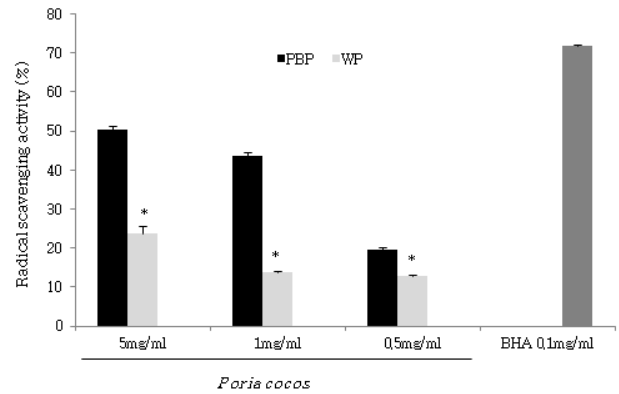


Figure 3. Hydroxyl radical scavenging activities of ethanol extract from wild *Poria cocos* (WP) and plastic bag-cultivated *Poria cocos* (PBP).

The data were expressed as the mean \pm SD (n=3). Significant differences between WP vs PBP are indicated ; *p<0.05.

5. Reducing power (환원력) 측정

비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물과 자연산 복령 추출물의 환원력을 각각 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml의 처리 농도에서 측정한 결과, 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 환원력이 각각의 처리농도에서 84.20 \pm 0.17%, 60.34 \pm 0.58%, 44.49 \pm 0.23%로 자연산 복령 추출물의 처리 농도 별 환원력인 58.26 \pm 1.02%, 48.87 \pm 0.38%, 30.24 \pm 1.07%보다 유의하게 높았다. 한편 양성대조군인 BHA 처리 후에는 94.00 \pm 0.07%였으며, 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물 5 mg/ml 처리 후의 값과 가장 유사하였다(Figure 4).

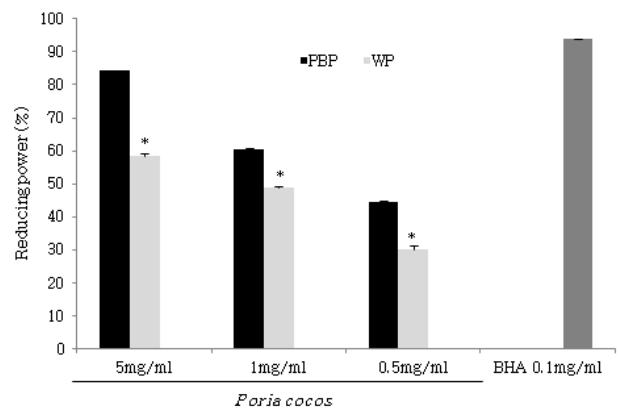


Figure 4. Reducing power of ethanol extract from wild *Poria cocos* (WP) and plastic bag-cultivated *Poria cocos* (PBP).

The data were expressed as the mean \pm SD (n=3). Significant differences between WP vs PBP are indicated ; *p<0.05.

6. Xanthine oxidase (XO) 저해 활성 측정

비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물과 자연산 복령 추출물을 각각 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml의 농도로 처리하고 xanthine oxidase (XO)의 저해활성을 측정한 결과, 5 mg/ml의 고농도에서 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 저해율이 $69.17 \pm 0.19\%$ 로 가장 높았으며, 양성대조군인 BHA와 유사한 수치를 보였다. 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 처리 농도 1 mg/ml, 0.5 mg/ml에서는 $24.25 \pm 0.57\%$, $11.09 \pm 0.56\%$ 의 저해율을 보였고, 자연산 복령 추출물은 농도 별 값이 $35.34 \pm 0.19\%$, $20.02 \pm 0.28\%$ 로 나타났다. 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물은 5 mg/ml 처리농도에서만 자연산 복령 추출물($64.48 \pm 0.38\%$)에 비해 유의한 저해율이 측정되었다(Figure 5).

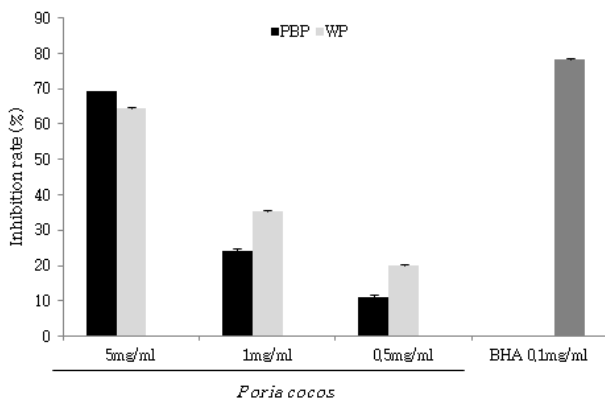


Figure 5. Xanthine oxidase inhibition rate of ethanol extract from wild *Poria cocos* (WP) and plastic bag-cultivated *Poria cocos* (PBP). The data were expressed as the mean \pm SD (n=3). Significant differences between WP vs PBP are indicated ; *p<0.05.

IV. 고찰

생체 내에서 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 생성되어 몸 속에 축적되면 세포 손상이 발생한다²⁸⁾. 여러 연구에서 활성산소종의 생성으로 발생한 산화적 스트레스는 체내에서 지질과산화, 단백질, 세포막, DNA 등 손상으로 암, 뇌혈관질환, 심장질환 등을 일으킨다고 보고하였다²⁹⁻³¹⁾. 또한 ROS로 인해 MMPs (matrix metalloproteinases) 발현이 유도되는데³²⁻³⁴⁾, 피부 내에 MMPs의 활성이 증가되면 진피의 콜라겐 분괴로 인한 노화를 촉진시킨다³⁵⁾. 따라서 활성산소종의 생성을 억제하고 MMPs 활성을 감소시키는 효능을 가진 항산화제 연구가 약용식물 유래 광합성대사산물인 다양한 polyphenol류 및 flavonoid류를 이용하여 활발히 진행되고 있다^{36,37)}.

복령(*Poria cocos*)은 利水滲濕, 健脾寧心, 治水腫尿少, 痰飲眩暈, 脾虛食少 등에 대한 효능¹⁾을 갖고 있어 한약재로 많이 사용되고 있으나, 국내에서 생산되는 양이 수요량보다 적어 대부분 중국 수입에 의존하고 있다. 우리나라에서는 1980년대 초부터 인공재배가 시작되어 1990년대에 재배법이 완성 되었지만, 인공재배된 복령의 상품성이 떨어져 고품질, 다수확을 위한 인공재배방법의 개선이 절실하였다¹²⁾. 따라서

본 연구에서는 양 등¹³⁾에 의하여 개발된 비닐봉지를 이용한 인공 재배법으로 재배된 복령을 소재로 이용하여 자연산 복령과의 항산화 효능을 비교하였다.

식물체에 분포되어 있는 페놀성 화합물은 phenolic hydroxyl (\cdot OH)기를 가지고 있기 때문에 여러 분자들과 잘 결합하며, 항산화, 항암, 항에이즈 등 다양한 생리활성이 높다. 따라서 폴리페놀의 주된 물질인 플라보노이드와 탄닌 등 함량의 증가는 항산화력에 영향을 미치는 주된 인자라 할 수 있다^{21,38)}. 본 연구에서 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정한 결과, 폴리페놀의 함량은 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물이 자연산 복령 추출물에 비해 높았으나, 플라보노이드 함량은 자연산 복령 추출물보다 낮은 값을 나타내었다(Table 1).

DPPH 라디칼 소거능은 짙은 자색을 띠는 방향족 화합물, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 탈색되는 원리로 측정하며, 항산화 활성을 평가할 수 있는 방법이다. 활성 라디칼에 대한 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)으로 지방질의 산화를 억제시키고 활성 라디칼에 의한 인체 내 노화를 억제시키는 작용을 한다^{39,40)}.

ABTS 소거활성 측정법은 DPPH 소거활성 측정과 비슷한 방법으로 이미 생성된 자유 라디칼의 제거 정도를 흡광도 값으로 산출하여 ABTS 소거활성을 측정한다. 본 연구에서 DPPH 및 ABTS 소거활성 측정시 모든 농도에서 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물이 자연산 복령 추출물에 비해 활성이 높게 분석되었다. Hydroxyl radical은 활성산소 라디칼 중 화학적으로 반응성이 매우 강하여 생체 내 고분자 산화를 통해 노화나 암 발생 등 만성질환의 원인이 된다⁴¹⁾. 따라서 hydroxyl radical 소거활성을 통해 지질과산화 진행과정을 억제시키고 산화활성을 소거하여 항산화 역할을 한다⁴²⁾.

일반적으로 항산화제는 자체 산화되어 체내의 물질 산화를 방지하는데, reducing power는 Fe^{3+} 에서 Fe^{2+} 로 환원되는 정도를 흡광도로 측정한 것으로, 환원력이 높을수록 항산화 활성이 높다^{43,44)}. 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물에서 hydroxyl radical과 reducing power가 농도 의존적으로 증가하였으며, 자연산 복령 추출물에 비해 모든 농도 처리군에서 높은 활성이 나타났으므로 비닐봉지법으로 재배된 복령의 항산화 효능이 더 높은 것으로 생각된다. 본 실험에서 나타난 바와 같이, 비닐봉지법으로 재배된 복령의 우수한 항산화활성은 자연산 복령에 비해 유의한 페놀성 물질의 함유량에서 기인한 것으로 사료된다. Masahiro 등⁴⁵⁾도 Magnolia cortex의 높은 항산화 활성은 페놀화합물과 관련된 magnolol, honokiol의 우수한 hydroxyl radical 소거작용 등에 의한 것이라고 보고한 바 있다. 또한, 비닐봉지법으로 재배한 복령 추출물에서 전자공여능과 총 페놀 함량이 높게 나타났는데, 전자공여능이 페놀 물질의 항산화 지표이며, 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 한 Kang 등⁴⁶⁾의 연구 결과와 일치하였다.

Xanthine oxidase (XO)는 생체 내에서 purin, pyrimidine, heterocyclic compound의 대사에 관여하는 효소로 대사산물인 xanthine, hypoxanthine에서 uric acid, O_2^- 를 형성한다. 이때 형성된 O_2^- 는 체내 주요 물질의 산화적 손상을 유발하며 노화, 암, 심혈관 질환 등의 원인이 된다. 이 효소는 산

소분자를 수소 수용체로 이용하므로 이를 저해하면 자유 라디칼의 생성이 억제되어 항산화, 항노화 등의 효과를 기대할 수 있다^{47,48)}. 본 연구에서 XO 저해 활성은 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물과 자연산 복령 추출물 모두 농도 의존적으로 증가하였으나, 고농도에서만 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물이 자연산 복령 추출물보다 저해활성이 높았다. 이는 식물계에 존재하는 페놀성 물질의 hydroxyl기 위치에 따른 효소 저해능의 생리활성 차이인 것으로 사료된다⁴⁹⁾.

위의 결과에서, 자연에서 생장한 복령(안동산) 추출물에 비해 인공적인 비닐봉지법으로 재배한 복령 추출물이 전반적으로 항산화 활성이 뛰어난 것으로 나타났으므로, 비닐봉지 재배 복령은 항산화와 관련된 화장품 또는 기능성 식품의 소재로서 여러 방법에서의 활용 가능성이 예측된다. 또한 본 실험에 이용된 비닐봉지법은 고품질을 가진 복령의 대량 생산을 가능하게 할 것으로 예측되며, 이를 위해서는 다양한 영역에서의 활성 연구가 뒷받침되어야 할 것이다.

V. 결 론

본 연구에서는 복령 (*Poria cocos*)의 재배법에 따른 항산화 활성을 확인하기 위하여 실험을 진행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 총 폴리페놀 함량이 함량이 자연산 복령 추출물보다 유의적으로 높게 측정되었다.
2. DPPH 및 ABTS radical 소거능은 자연산 복령 추출물과 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 두 군 모두 농도 의존적으로 증가하였고 특히 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 라디칼 소거능이 유의하게 높은 것으로 나타났다.
3. ·OH 소거능은 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물만 농도 의존적으로 증가하였으며, 자연산 복령 추출물에 비해 유의하게 높은 활성을 나타냈다.
4. 환원력은 자연산 복령 추출물과 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 두 군 모두에서 농도 의존적으로 증가하였으나, 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 항산화 활성이 우수하였다.
5. Xanthine oxidase 저해 활성은 자연산 복령 추출물과 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 두 군 모두에서 농도 의존적으로 증가하였으나, 고농도군에서 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물이 유의적으로 높게 측정되었다.

따라서, 위의 결과로 보아 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물의 항산화 활성이 자연산 복령 추출물보다 우수하였으므로, 산화와 관련된 질환의 예방 및 치료를 위한 식·약 및

화장품 소재로서의 활용가능성이 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 기술사업화지원사업(113042-3)의 지원과 2015년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행되었습니다 (No.2012R1A5A2A42671316).

참고문헌

1. Professors of garbology in colleges of oriental medicine. Herbology. Seoul : Yeonglimsa, 2011 : 345-347.
2. Saito H, Misaki A, Harada T. A comparison of the structure of curdlan and pachyman. Agr Biol Chem. 1968 ; 32 : 1261-1269.
3. Chihara G, Hamuro J, Yamashita Y, Ohsaka Y, Maeda Y. Carboxymethylpachymaran, a new water soluble polysaccharide with marked antitumour activity. Nature. 1971 ; 233 : 486-488.
4. Takao N, Takahashi N, Kobayashi M, Shoji S. A polysaccharide by laboratory cultivation of *Poria cocos* Wolf. Carbohydrate Research, 1980 ; 87 : 161.
5. Kanayama H, Adachi N, Tohami N. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf. Chem Pharm Bull. 1983 ; 31 : 1115.
6. Tai T, Akita Y, Kinoshita K, Koyama K, Takahashi K, Watanabe K. Anti-emetic principles of *Poria cocos*. Plant Medica. 1995 ; 61 : 527.
7. Nakajima A, Ishida T, Koga M, Takeuchi T, Mazda O, Takeuchi M. Effect of hot water extract from *Agaricus blazei* Murill on antibody-producing cells in mice. Int Immunopharmacol. 2002 ; 2 : 1205-1211.
8. Chang HL, Chao GR, Chen CC, Mau JL. Non-volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Antrodia camphorata* and *Cordyceps militaris* mycelia. Food Chem. 2001 ; 74 : 203-207.
9. Mizuno M, Morimoto M, Minato K, Tsuchida H. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. Biosci Biotechnol Biochem. 1998 ; 62 : 434-437.
10. Chihara G, Hamura J, Maeda Y, Arai Y, Kukumato F. Antitumor polysaccharide derived chemically from natural glucan (pachyman). Nature. 1970 ; 225 : 943-944.
11. Feng YL, Zhao YY, Ding F, Xi ZH, Tian T, Zhou F, Du X, Chen DQ, Wei F, Cheng XL, Lin RC. Chemical constituents of surface layer of *Poria cocos* and their pharmacological properties (I). Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2013 ; 38 : 1098-1102.

12. Jo WS, Yoo YB, Hong IP, Kim DG. Changes of the cultivation methods of *Poria cocos* and its commercialization. *J Mushroom Sci Prod*. 2013 ; 11(4) : 303–307.
13. Yang SB, Lee HJ, Sohn HR, Jeon SM, Jang HW, Yeum JH. Cultivation of *poria cocos* using plastic bag method I—effect of temperature and number of plastic bag layers. *Curr Res Agric Life Sci*. 2015 ; 33(2) : 37–40.
14. Cho SH, Choi YJ, Rho CW, Choi CY, Kim DS, Cho SH. Reactive oxygen species and cytotoxicity of Bamboo (*Phyllostachys pubescens*) sap. *Korean J Food Preserv*. 2008 ; 105–110.
15. Park JA. Antioxidant effects of *Rumex crispus* L. leaf extracts and protective effects on human HaCaT keratinocyte. *J Korea Soc Beauty & Art*. 2011 ; 189–198.
16. Cho YJ, Chun SS, Kwon HJ, Kim JH, Lee KH, An BJ, Choo JW. Inhibitory effects of water and 80% ethanol extracts from mulberry leaves (*Morus alba* L.) on angiotensin converting enzyme and xanthine oxidase. *J Korean Soc Appl Biol Chem*. 2006 ; 49(2) : 114–124.
17. Park DJ, Lee JC. A study on the antioxidative and depigmentation activities of the ethanol extract of *Saururus Herba*. *Korea J Herology*. 2008 ; 23(2) : 193–202.
18. Kim HW, Kim BJ, Lim SH, Kim HY, Lee SY, Cho SI, Kim YK. Anti-oxidative effects of *Taraxaci Herba* and protective effects on human HaCaT keratinocyte. *Korea J Herbology*. 2009 ; 24(3) : 103–108.
19. Lee KM, Jeong GT, Park DH. Study of antimicrobial and DPPH radical scavenger activity of Wood vinegar. *Korean J Biotechnol Bioeng*. 2004 ; 19(5) : 381–384.
20. Ku KM, Kim HS, Kim BS, Kang YH. Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant constituents. *J Appl Biol Chem*. 2009 ; 52(2) : 70–76.
21. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J Food Sci Technol*. 2005 ; 233–240.
22. Y. S. Velioglu, G. Mazza, L. Gao, and B. D. Oomah. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem*. 1998 ; 46 (10) : 4113–4117.
23. Jia Z, Tang M, Wu J. The determination of flavonoid contents in mulberry and they scavenging effects on super-oxide radicals. *Food Chem*. 1999 ; 64: 555–559
24. Blois MS. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature*. 1958 ; 191 : 2299–2200.
25. Van den Berg R, Haenen GR, Van den Berg H, Bast A. Applicability of an improved trolox equivalent anti-oxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem*. 1999 ; 66 : 511–517.
26. Halliwell B, John MCG, Okezie IA. The deoxyribose method : A simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Anal Biochem*. 1974 ; 47 : 469–474.
27. Rajagopalan, K.V, Fridovich, I. and Handler, R. Hepatic aldehyde oxidase. I. purification and properties. *Biol Chem*. 1962 ; 237 : 922.
28. Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol*. 2012 ; 337–342.
29. Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. Antioxidant activity in water and methanol extracts from Korean edible wild plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2011 ; 40(1) : 29–36.
30. Jang JR, Hwang SY, Lim SY. Inhibitory effect of extracts of *Platycodon grandiflorum* (*the Ballon Flower*) on oxidation and nitric oxide production. *Korean J Food Preserv*. 2011 ; 18(1) : 65–71.
31. Choi WH, Oh YS, Ahn JY, Kim SR, Ha TY. Antioxidative and protective effects of *Ulmus davidiana* var. *japonica* extracts on glutamate-induced. *Korean J Food Sci Technol*. 2005 ; 479–483.
32. Jeong MH, Kim SS, Kim JS, Lee HJ, Chio GP, Lee HY. Skin whitening and skin immune activities of different parts of *Acer mono* and *Acer okamotoanum*. *Jour Korean For Soc*. 2010 ; 470–478.
33. Kim SH, Jun H, Shin YC, Ko SG. Research of traditional herbal medicines for anti-aging, inhibition effect of wrinkle and whitening effect in the skin. *Korean J Oriental Physiology & Pathology*. 2008 ; 22(3) : 691–698.
34. Pyo YH, Yoon MY, Son JH, Choe TB. The effect of *Celosia cristata* L. ethanol extract on anti-oxidant & anti-aging activity. *Korean J Biotechnol Bioeng*. 2008 ; 431–438.
35. Lee SY, An JH, Chun H, Cho HY. Isolation and characterization of MMP-1 inhibitor peptide from

- Crataegus pinnatifida* Bunge in fibroblast cell line HS68 cells. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol. 2003 ; 46(1) : 60-65.
36. Hwang JG, Yun JK, Han KH, Do EJ, Lee JS, Lee EJ, Kim JB, Kim MR. Anti-oxidation and anti-aging effect of mixed extract from Korean medicinal herbs. Korea J Herbology. 2011 ; 111-117.
37. Lee KS, Kim MG, Lee KY. Antioxidative activity of ethanol extract from Lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2006 ; 35(2) : 182-186.
38. Lee BB, Park SR, Han CS, Han DY, Park EJ, Park HR, Lee SC. Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2008 ; 37(4) : 405-409.
39. Cha JY, Yang HJ, Jeong JJ, Seo WS, Park JS, Ok M, Cho YS. Tyrosinase inhibition activity and antioxidant capacity by fermented products of some medicinal plants. JLS / ISSN. 2010 ; 940-947.
40. Hyon JS, Kang SM, Han SW, Kang MC, Oh MC, Oh CK, Kim DW, Jeon YJ, Kim SH. Flavonoid component changes and antioxidant activities of fermented *Citrus grandis* Osbeck peel. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2009 ; 38(10) : 1310-1316.
41. Kang MY, Lee YR, Koh HJ, Nam SH. Antioxidative and antimutagenic activity of ethanolic extracts from giant embryonic rices. J Korean Soc Appl Biol Chem. 2004 ; 47(1) : 61-66.
42. Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Sung NJ. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). J Korean Soc Food Sci Nutr. 2008 ; 37(8) : 965-971.
43. Song HS, Kim DP, Jung YH, Lee MK. Antioxidant activities of red hamcho(*Salicornia herbacea* L.) against lipid peroxidation and the formation of radicals. Korean J Food & Nutr. 2007 ; 150-157.
44. Kim SI, Ko SH, Lee YJ, Choi HY, Han YS. Antioxidant activity of yogurt supplemented with Red ginseng extract. Korean J Food Cookery Sci. 2008 ; 358-366.
45. Masahiro O, Midori H, Kumiko S, Shro U, Toyoshige E. Antioxidant activity of magnolol, honokiol and related phenolic compounds. JAOCs. 1970 ; 74 : 557-562.
46. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J Food Sci Technol. 28 : 232-239.
47. Seo SJ, Choi YM, Lee SM, Kong SH, Lee JS. Antioxidant activities and antioxidant compounds of some specialty rices. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2008 ; 37(2) : 129-135.
48. Kim MH, Kang WW, Lee NH, Kwoen DJ, Choi UK. Antioxidant activities of extract with water and ethanol of *Perilla frutescens* var. *acuta* kudo Leaf. J Korean Soc Appl Biol Chem. 2007 ; 50(4) : 327-333.
49. Kwak CS, Kim SA, Lee MS. The correlation of antioxidative effects of 5 Korean common edible seaweeds and total polyphenol content. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2005 ; 1143-1150.