

추출용매에 따른 이슬송이버섯(*Lentinula edodes* GNA01) 추출물의 항산화 활성

장혜림* · 박서연* · †남진식*,**

*수원여자대학교 식품분석연구센터, **수원여자대학교 식품영양과

Effect of Extraction Solvent on the Antioxidant Activity of *Lentinula edodes* GNA01 Extract

Hye-Lim Jang*, Seo-Yeon Park* and †Jin-Sik Nam*,**

*Food Analysis Research Center, Suwon Women's University, Gyeonggi 18333, Korea

**Dept. of Food and Nutrition, Suwon Women's University, Gyeonggi 18333, Korea

Abstract

Antioxidant activities of 80% methanol, water, and 70% ethanol extracts of *Lentinula edodes* GNA01 were compared and estimated. The yield of *Lentinula edodes* GNA01 was identified to be in the following order: water>70% ethanol>80% methanol, but there was no significant difference between 80% methanol and 70% ethanol extracts. The highest total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) were found in water extract, and TPC of 80% methanol extract was higher than that of 70% ethanol extract and TFC of 70% ethanol extract was higher than that of 80% methanol extract. Water extract exhibited the strongest DPPH, ABTS radicals, and nitrite scavenging activities, Fe²⁺ chelating ability, and FRAP among the three extracts. In addition, antioxidant activity of 80% methanol extract was higher than that of 70% ethanol extract in most of the experiments. As a result, antioxidant activity of *Lentinula edodes* GNA01 showed a difference according to extraction solvent and concentration; nevertheless, water extract exhibiting high polarity had the strongest antioxidant effect. Consequently, water extract from *Lentinula edodes* GNA01 is anticipated to be useful for the development of a high value-added functional product.

Key words: *Lentinula edodes* GNA01, antioxidant activity, DPPH, ABTS, Fe²⁺ chelating

서 론

이슬송이버섯(*Lentinula edodes* GNA01)은 수분 함량이 높고 조직이 연하여 수확 후 판매하기까지 유통기간이 짧은 표고버섯(*Lentinula edodes*)의 단점을 보완하기 위해 개량된 신품종 표고버섯이다. 중국 복건성 삼명진연구소의 표고버섯 L26과 경원9015를 모균주로 하여 교배되었으며(Jang 등 2015), 표고버섯과는 달리 갓과 자루의 구별이 없는 구형을 띠고 있어 물방울버섯이라고도 불린다. 육질이 단단하고 수분함량이 적어 저장기간이 길며, 표고버섯 고유의 향뿐만 아니라, 달콤

한 맛을 가지고 있다. 또한 재배가 쉽고 연중 생산이 가능하여 생산량이 높다. 이에 따라 이슬송이버섯은 2013년 국제특허등록(제10-1035898) 당시부터 수출 유망작물로 주목을 받아왔으며(Kim Y 2011), 일본에서는 이미 연간 1만 톤의 수요가 있는 것으로 조사되어 새로운 식재료로써 관심이 점차 증가하고 있는 추세이다. 그러나 우리나라에서는 대부분 영남권에서만 생산되고 있고, 소비가 한정되어 있어 인지도가 낮다. 또한 관련 연구가 미흡하여 이슬송이버섯에 대한 정보가 매우 부족한 실정이다.

최근 현대인들은 불규칙한 식습관 때문에 영양불균형이

† Corresponding author: Jin-Sik Nam, Dept. of Food and Nutrition, Suwon Women's University, Gyeonggi 18333, Korea. Tel: +82-31-290-8216, Fax: +82-31-290-8267, E-mail: jsnam@swc.ac.kr

초래되어 여러 가지 대사질환을 겪고 있다. 이에 따라 질병과 밀접한 관계가 있는 식습관에 대한 관심이 증가하였으며, 비타민, 미네랄, 폴리페놀 등 식물에 포함되어 있는 다양한 물질이 질병의 예방과 치료에 효과가 있는 것이 증명됨에 따라 관련 연구가 널리 진행되어왔다. 특히 버섯은 풍미가 우수하고, 단백질, 비타민, 미네랄 등 영양성분이 풍부하여 조미료는 물론 항산화 및 항고혈압, 항암, 항당뇨와 같이 다양한 생리활성을 가지고 있어 건강기능식품으로의 이용이 활발하다 (Kang 등 2004; Jung 등 2008; Um 등 2010).

생리활성 물질의 생리활성 효과는 시료의 종류, 전처리 방법뿐만 아니라, 추출용매에 따라서도 영향을 받는다. 따라서 효율적인 추출용매의 선별은 생리활성 물질의 추출에서 매우 중요한 요소가 될 수 있다(Yang & Park 2011). 건강기능식품 분야에서 생산성 증대에 중요한 요인인 추출수율과 생리활성은 생리활성 물질을 추출해 내는 용매에 따라 달라진다. 다른 화학적 특성을 가진 생리활성 물질은 특정 용매에 용해될 수도 있고, 그렇지 않을 수도 있기 때문이다(Sato 등 1996; Turkmen 등 2006).

따라서 본 연구에서는 알려진 연구가 미미한 이슬송이버섯을 다양한 용매로 추출한 후, 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 측정하고, 다양한 방법을 통해 항산화 효과를 비교·평가하였으며, 이들의 상관관계를 분석하였다. 이로써 천연 항산화 소재로서의 이용가치를 규명하고, 이슬송이버섯의 고부가가치 향상을 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

본 연구에서는 2015년 6월 경남 창원에서 재배된 이슬송이버섯을 사용하였으며, 적당한 크기로 잘라 동결건조(FD-5512, Ilshin Lab. Co. Ltd, Gyeonggi, Korea)하였다. 동결건조된 버섯은 분쇄하여 40 mesh의 체에 통과시켰으며, -70°C 에 보관하였다. 실험에 사용된 gallic acid, Folin-Ciocalteu's reagent, quercetin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt(ABTS), Griess reagent, 3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-p'-disulfonic acid monosodium salt(Ferrozine) 및 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine(TPTZ)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, 그 외 시약과 용매는 분석용 특급시약(Samchun Co., Pyeongtaek, Korea)을 사용하였다.

2. 추출물 제조

분쇄한 시료 40 g에 10배(w/v)의 80% 메탄올과 증류수, 70% 에탄올을 각각 가한 후 shaking water bath(BS-21, Jeio

Tech Co., Kyeonggi, Korea)를 사용하여 24시간 동안 교반 추출하였다. 이를 4°C , 8,000 rpm에서 30분간 원심분리(Avanti J-26 XPI, Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)하였으며, 상등액을 filter paper(Whatman No. 1, Maidstone, England)로 여과하여 감압농축(R-210, Buchi, Flawil, Switzerland)하였다. 남은 용매를 모두 제거하기 위해 동결건조(Ilshin Lab Co. Ltd)하였으며, 일정량의 농도로 만들어 실험에 사용하였다.

3. 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's 방법(Sato 등 1996)에 따라 측정하였다. 즉, 2 N Folin-Ciocalteu's 시약 25 μL 와 20% Na_2CO_3 150 μL 를 일정한 농도로 제조한 추출물 50 μL 에 가하여 상온에서 15분간 반응시킨 다음, ELISA plate reader (VersaMax Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품 gallic acid를 0-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 검량선을 작성하였으며, 이슬송이버섯의 총 페놀 함량은 작성된 검량선으로부터 추출물 1 g에 대한 mg gallic acid equivalents(GAE)로 나타내었다.

4. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Lee 등(2014)의 방법에 따라 측정하였다. 농도별로 제조한 추출물 20 μL 에 diethylene glycol 200 μL 와 1 N NaOH 20 μL 를 순서대로 첨가하여 40°C 에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액을 ELISA plate reader(VersaMax Molecular Devices)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준품 quercetin을 0-1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 작성한 검량곡선으로부터 이슬송이버섯의 총 플라보노이드 함량을 계산하여 추출물 1 g에 대한 mg quercetin equivalents(QE)로 나타내었다.

5. DPPH 라디칼 소거 활성 측정

DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois MS(1958)의 방법에 준하여 안정한 유리 라디칼인 DPPH에 대해 농도를 달리한 추출물의 전자공여 효과로 라디칼이 감소하는 정도를 측정하였다. 농도별로 제조한 추출물 100 μL 에 100 μM DPPH 용액 900 μL 를 넣어 5초간 혼합한 후 암실에서 30분간 반응시켰으며, ELISA plate reader(VersaMax Molecular Devices)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출용매에 따른 이슬송이버섯의 DPPH 라디칼 소거 활성(%)은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

6. ABTS 라디칼 소거 활성 측정

ABTS 라디칼 소거 활성은 Fellegrin 등(1999)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS 5 mL와 140 mM pota-

ssium persulfate 88 μL 를 혼합하여 실온의 암소에서 15시간 동안 방치하여 라디칼을 형성시켰으며, 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 0.7 ± 0.02 가 되도록 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 1 mL에 추출물 50 μL 를 가하여 암실에서 10분간 방치한 다음 734 nm에서 흡광도를 측정(VersaMax Molecular Devices)하였다. 추출용매에 따른 이슬송이버섯의 ABTS 라디칼 소거 활성(%)은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이로 나타내었다.

7. 아질산염 소거 활성 측정

아질산염 소거 활성은 Shukla 등(2016)의 방법을 참조하여 측정하였다. 농도별로 제조한 추출물 40 μL 에 1 mM의 NaNO_2 용액 20 μL 와 0.1 N HCl 140 μL 를 첨가하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정하였으며, 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 얻어진 반응물에 5%(v/v) 초산용액을 1 mL 가하였으며, Griess 시약 80 μL 를 첨가하고, 실온에서 15분간 반응시킨 다음 520 nm에서 흡광도를 측정(VersaMax Molecular Devices)하였다. 이때 아질산염 소거 활성(%)은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

8. 철 킬레이팅 활성 측정

철 킬레이팅 활성은 Dinis 등(1994)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 농도별로 제조한 추출물을 1 mL 취한 뒤 2 mM FeCl_2 와 5 mM ferrozine을 각각 25 μL 첨가하고, 실온에서 10분간 방치한 다음 562 nm에서 흡광도를 측정(VersaMax Molecular Devices)하였다. 이슬송이버섯 추출물의 철 킬레이팅 활성은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

9. FRAP(ferric reducing antioxidant power) 측정

FRAP은 Benzie & Strain(1996)의 방법을 약간 변형하여 항산화 물질을 포함한 추출물의 존재 하에 ferric-ferricyanide(Fe^{3+}) 혼합물이 ferrous(Fe^{2+})로 전환되는 정도를 측정하였다. 농도

별로 제조한 추출물 100 μL 에 acetate buffer(pH 3.6, 30 mM)와 10 mM TPTZ 및 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 10:1:1의 비율로 혼합한 반응용액 700 μL 를 가하여 암실에서 30분간 반응시켰으며, ELISA plate reader(VersaMax Molecular Devices)를 사용하여 590 nm에서 흡광도를 측정하였다.

10. 통계처리

본 연구의 결과는 3회 이상의 반복으로 수행된 평균과 표준편차로 나타내었으며, 추출용매별 각 실험결과에 대한 유의적 차이는 SPSS 프로그램(Ver.10.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하여 one-way ANOVA(analysis of variation)로 분석한 뒤 Duncan's multiple range test로 사후분석을 실시하였다. 각 조사항목별 상관분석은 Pearson's correlation test를 통해 총 페놀 및 플라보노이드 함량, DPPH, ABTS 라디칼 및 아질산염 소거 활성, 철 킬레이팅 활성, FRAP간의 상관관계수(r^2)를 도출하여 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 수율, 총 페놀 및 플라보노이드 함량

이슬송이버섯 80% 메탄올, 물, 70% 에탄올 추출물의 추출 수율은 각각 24.37%, 53.52%, 26.79%로 확인되었다(Table 1). 물 추출물의 수율이 80% 메탄올 및 70% 에탄올 추출물에 비해 유의적으로 높았으며, 2배 이상의 값을 나타내었다. Jung 등(1996)은 느타리버섯 자실체 및 균사체 추출물의 항산화 효과를 조사한 결과, 핵산 및 에탄올 추출물에 비해 물 추출물의 수율이 가장 높았다고 보고하여 본 연구결과와 일치하였다. Jung 등(2008) 또한 해송이버섯 추출물의 수율을 측정 한 결과, 에탄올 추출물보다 물 추출물에서 더 많은 물질이 용출되었다고 보고하여 본 연구와 상응하였다. 그러나 새송이버섯의 수율이 물 추출물보다 에탄올 추출물에서 더 높았다고 보고한 Kim 등(2006)의 연구결과와는 차이를 보였다. 이상의 결과, 추출 수율은 버섯의 종류와 용매에 따라 달라

Table 1. Effect of extraction solvent on the yield, total phenolic content(TPC), and total flavonoid content(TFC) of *Lentinula edodes* GNA01

| | Extraction solvent | | |
|-----------------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 80% methanol | Distilled water | 70% ethanol |
| Extraction yield(%) ¹⁾ | 24.37±2.49 ^{2)bc3)} | 53.52±3.96 ^a | 26.79±3.86 ^b |
| TPC(mg GAE/g extract powder) | 6.00±0.31 ^b | 12.52±0.37 ^a | 4.93±0.10 ^c |
| TFC(mg QE/g extract powder) | - ^c | 1.25±0.06 ^a | 0.29±0.11 ^b |

¹⁾ Extraction yield was calculated as % yield = (Weight of sample extract/Initial weight of sample) × 100

²⁾ Each value represents mean±S.D. of triplicate measurements.

³⁾ Values in the same row with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

질 수 있을 것으로 생각되며, 일부 버섯을 제외한 대부분의 버섯은 용매의 극성이 높을수록 더 많은 물질이 용출될 것으로 예상된다.

대부분의 식물들은 자체적으로 폴리페놀, 알칼로이드, 테르페노이드와 같은 2차 대사산물을 생성한다. 특히 페놀화합물과 플라보노이드는 폴리페놀 중 하나로 강한 항산화 활성을 나타낸다고 보고되어 있다(Yazaki K 2006; Lee 등 2013). 이에 따라 이슬송이버섯 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 측정하였으며, 결과는 Table 1에 나타내었다. 총 페놀 함량은 추출용매에 따라 유의적인 차이를 보였으며, 물 추출물이 12.52 mg GAE/g으로 가장 높았다. 80% 메탄올 및 70% 에탄올 추출물의 총 페놀 함량은 각각 6.00 mg GAE/g, 4.93 mg GAE/g으로 80% 메탄올 추출물의 총 페놀 함량이 70% 에탄올 추출물보다 높은 것으로 확인되었다. 이상의 결과, 이슬송이버섯의 페놀함량은 표고버섯 물 추출물의 총 페놀 함량(15.53 mg GAE/g)보다 낮았으며(Jang 등 2015), 약용버섯으로 잘 알려진 상황버섯 물 추출물의 총 페놀 함량(149.92 mg/g)보다 적은 값을 보였으나(Kim 등 2008), 여러 가지 느타리버섯을 에탄올로 추출한 추출물의 총 페놀 함량(20-40 mg%)보다 높았으며(Um 등 2010), 새송이버섯 물 추출물의 총 폴리페놀 함량(404 mg%)보다 높은 것으로 확인되었다(Kim 등 2006). 이슬송이버섯의 총 플라보노이드 함량은 물 추출물에서 가장 높았으나, 80% 메탄올 추출물의 경우 검출되지 않았고, 70% 에탄올 추출물에서 0.29 mg QE/g의 값을 나타내었다. Lee 등(2001)은 식물성 식품의 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과, 표고, 느타리, 양송이, 팽이버섯의 함량이 각각 1.23, 0.66, 0.60, 1.39 mg/g으로 측정되었다고 보고하여 이슬송이버섯 물 추출물은 표고, 느타리, 양송이버섯보다 더 많은 플라보노이드를 함유하고 있는 것으로 확인되었다. 이에 따라 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 버섯의 종류 및 추출용매에 따라 차이가 있는 것으로 보이며, 수율과 마찬가지로 극성이 강한 물 추출물에서 가장 많은 폴리페놀이 용출되었음을 알 수 있었다.

2. DPPH 라디칼 소거 활성

DPPH 라디칼 소거 활성은 항산화 활성을 평가하는 가장 쉽고 간편한 방법 중 하나로 다양한 시료의 항산화 활성을 측정하는데 매우 효과적이다. 안정한 유리 라디칼인 보라색의 DPPH는 항산화제 또는 항산화 활성을 가지는 물질에 의해 DPPH-H를 형성함으로써 탈색되어 노란색을 나타낸다(Gülçın 등 2003). 따라서 버섯 추출물과 DPPH 용액을 반응시켰을 때 탈색의 정도가 클수록 라디칼을 소거하는 능력이 크다고 할 수 있으며, 활성 산소의 소거 작용을 기대할 수 있다(Hong 등 2010).

추출용매별 이슬송이버섯의 DPPH 라디칼 소거 활성은 Fig. 1에 나타내었다. 이슬송이버섯의 DPPH 라디칼 소거 활성은 농도에 따라 증가하였으며, 2 mg/mL의 농도를 제외한 나머지 모든 농도에서 물 추출물이 80% 메탄올 및 70% 에탄올 추출물보다 높은 활성을 보였다. 또한 80% 메탄올 추출물은 모든 농도에서 70% 에탄올 추출물보다 DPPH 라디칼을 소거하는 활성이 우수한 것으로 측정되었다. Park 등(2015)은 추출용매에 따른 큰느타리 버섯의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과, 열수 추출물과 95% 발효주정 추출물이 70% 메탄올 추출물보다 높은 활성을 보였다고 보고하여 본 연구결과와 차이를 보였으며, Lee 등(2014)은 노랑느타리버섯의 물 추출물이 에탄올 추출물에 비해 라디칼 소거 활성이 우수한 것으로 확인되었다고 보고하여 본 연구결과와 유사하였다. 이에 따라 버섯의 종류와 추출용매의 종류에 따라 라디칼을 소거하는 활성은 다르지만, 이슬송이버섯에 의한 DPPH 라디칼 소거 활성은 80% 메탄올 및 70% 에탄올보다 물을 이용해 추출했을 때 더 큰 효과를 볼 수 있을 것으로 생각된다.

3. ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS는 유기용매에만 녹아 친수성 항산화 물질의 항산화 효과를 평가하는데 한계가 있는 DPPH와는 달리 유기용매는 물론 수용액에도 용해될 수 있어 친수성 및 소수성 화합물의 항산화 활성을 모두 평가할 수 있는 장점을 가지고 있다(Arao MB 2000). 이는 과황산칼륨(potassium persulfate)과의 반응에 의해 생성된 ABTS 라디칼이 추출물에 함유된 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 측정법이다(Jun 등 2009). 따라서 시료 추출물과 ABTS 용액을 반응시켰을 때 탈색의 정도가 클수록 라디칼을 소거하는 능력이 크다고 할 수 있다.

추출용매별 이슬송이버섯의 ABTS 라디칼 소거 활성은

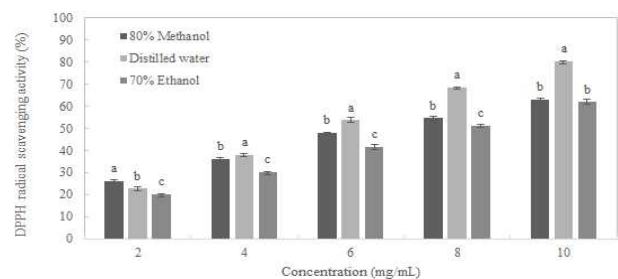


Fig. 1. Effect of extraction solvent on the DPPH radical scavenging activities of *Lentinula edodes* GNA01. Each value represents mean±S.D. of triplicate measurements. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

Fig. 2와 같다. 물 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성이 80% 메탄올 및 70% 에탄올 추출물에 비해 유의적으로 높았으나, 40 mg/mL 농도에서는 가장 낮은 활성을 보였다. 뿐만 아니라 모든 추출물의 소거 활성이 농도 의존적이었으나, 물 추출물의 경우 고농도(40 mg/mL)에서 오히려 감소한 것을 볼 수 있었다. 이는 추출물과 용액이 반응하면서 생성된 chelate 화합물이 라디칼 소거를 저해하기 때문인 것으로 생각되며, 물 추출물이 80% 메탄올 및 70% 에탄올 추출물보다 chelate 화합물을 생성하는 정도가 더 크기 때문에 나타난 결과로 사료된다. 즉, ABTS 라디칼 또한 DPPH 라디칼과 마찬가지로 이슬송이버섯의 물 추출물에 의해 더 많은 라디칼이 소거되는 것을 확인하였으며, 고농도에서는 활성에 저해를 받는 것으로 조사되었다.

4. 아질산염 소거 활성

니트로사민(nitrosamine)은 알킬화제로써 유기원자의 수소 원자를 알킬기로 치환시켜 DNA의 복제를 막고, 세포를 죽게 만들어 암을 일으킨다. 이것은 외부로부터 체내에 유입된 아질산염이 높은 온도 또는 산성조건에서 아민과 결합하는 니트로화 반응에 의해 생성되며(Jeong E 1998; Jang & Yoon 2012), 이와 관련하여 니트로사민의 생성을 억제하기 위한 많은 연구가 진행되어 왔다. Ascorbic acid는 N_2O_3 , $H_2NO_2^+$ 및 NOX와 결합함으로써 아질산염과 아민이 결합하는 것을 방해하며(Tannenbaum 등 1991), 페놀화합물은 아질산염을 효과적으로 분해함으로써 니트로사민의 생성을 억제한다(Yamada 등 1978; Cooney & Ross 1987). Ascorbic acid와 페놀화합물은 천연 항산화제로 잘 알려져 있으며, 이러한 천연 항산화제에 의한 아질산염의 소거 효과는 여러 연구에서 증명되어 왔다(Yamada 등 1978; Cooney & Ross 1987; Kang 등 1996; Choi 등 2007). 이에 따라 다양한 농도와 여러 가지 추출용매로 제조된 이슬송이버섯의 아질산염 소거 활성을 측정하였으며, 결과는 Fig. 3에 나타내었다.

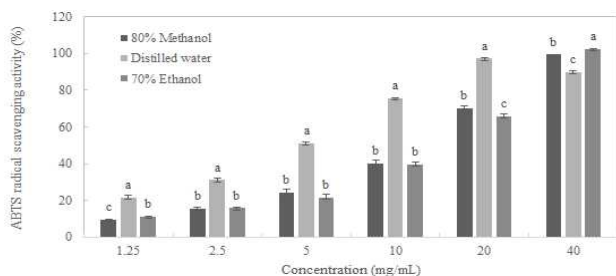


Fig. 2. Effect of extraction solvent on the ABTS radical scavenging activities of *Lentinula edodes* GNA01. Each value represents mean±S.D. of triplicate measurements. Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

물 추출물은 모든 농도에서 가장 높은 소거 활성을 보였으며, 2.5 mg/mL의 농도를 제외한 모든 농도에서 70% 에탄올 추출물이 80% 메탄올 추출물보다 높은 활성을 보였다. 10 mg/mL 농도에서 물 추출물의 아질산염 소거 활성은 78.71%로 80% 메탄올 및 70% 에탄올 추출물의 아질산염 소거 활성(38.74%, 43.79%)과 30% 이상의 차이를 나타내었다. 이는 이슬송이버섯 물 추출물에 다량 함유된 페놀화합물이 아질산염을 효과적으로 분해하여 나타난 결과로 생각된다. Kim 등(2008)은 상항버섯 열수 및 에탄올 추출물의 아질산염 소거 활성을 측정한 결과, 대부분의 농도에서 에탄올 추출물의 활성이 열수 추출물보다 더 높다고 보고하여 본 연구결과와 차이를 보였다. 그러나 큰느타리버섯의 아질산염 소거능을 측정한 결과, 95% 발효주정과 열수 추출물이 70% 메탄올 추출물보다 높은 것으로 확인되었다고 보고한 Park 등(2015)의 연구결과와는 유사한 경향을 보인 것으로 확인되었다.

5. 철 킬레이팅 활성

철(Fe^{2+}) 및 구리(Cu^{2+})와 같은 2가 금속이온은 세포내 산화물 형성에 관여하는 물질로써 지질 과산화를 촉진시킨다. Ferrozine은 Fe^{2+} 와 복합체를 형성하여 붉은색을 띠게 되는데, 이 때 Fe^{2+} 에 대해 킬레이팅 효과를 가진 물질이 존재하면 Fe^{2+} - ferrozine 복합체의 형성을 방해함으로써 붉은색이 탈색된다(Haung 등 2002). 따라서 시료 추출물과의 반응 시 탈색의 정도가 클수록 킬레이팅 활성이 크다고 할 수 있으며, 2가 금속이온으로 인한 지질 과산화를 예방할 수 있다.

이슬송이버섯 추출물의 철 킬레이팅 활성을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 추출물의 농도가 높을수록 활성이 증가하였으며, 물 추출물이 30.12~81.20%의 범위로 가장 높은 값을 나타내었다. 또한 농도에 따른 변화가 적은 80% 메탄올 추출물에 비해 물과 70% 에탄올 추출물은 5 mg/mL 농도의 철 킬레이팅 활성이 1 mg/mL 농도의 철 킬레이팅 활성보다 각각

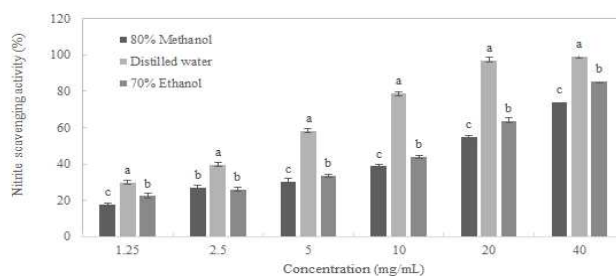


Fig. 3. Effect of extraction solvent on the nitrite scavenging activities of *Lentinula edodes* GNA01. Each value represents mean±S.D. of triplicate measurements. Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

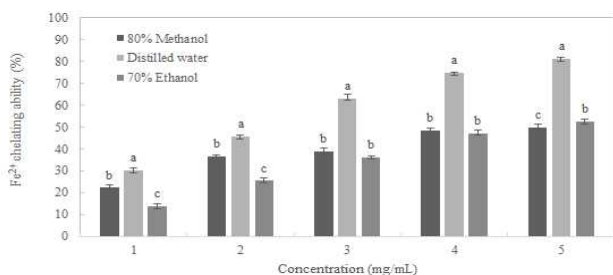


Fig. 4. Effect of extraction solvent on the Fe²⁺ chelating abilities of *Lentinula edodes* GNA01. Each value represents mean±S.D. of triplicate measurements. Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

2.5배, 3.5배 이상 높은 것으로 측정되었다. 5 mg/mL 농도의 물 추출물은 80% 메탄올 및 70% 에탄올 추출물의 철 킬레이팅 활성보다 1.5배 이상 높은 것으로 측정되어 물 추출물에 의한 지질 과산화 예방 효과가 가장 클 것으로 예상된다. Kang 등(2004)은 표고버섯 추출물의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성을 측정된 결과, 모든 시료에서 음의 수치를 나타내고 있어 금속 양이온에 대한 킬레이팅 효과가 없었다고 보고하여 본 연구결과와 차이를 보였다. 반면, 이슬송이버섯의 철 킬레이팅 활성은 0.5 mg/mL 농도의 차가버섯 메탄올 추출물에서 65.39%의 활성을 보였다고 보고한 Guk 등(2013)의 연구보다 낮은 것으로 확인되었다. 느릅나무버섯 자실체 메탄올 및 열수 추출물의 철 이온 제거능은 2 mg/mL 농도에서 각각 37.90%, 75.44%로 보고되어(Kwon 등 2014) 열수 추출물은 본 연구결과와 차이를, 80% 메탄올 추출물은 본 연구결과와 유사하였음을 확인하였다. 이상의 결과, 철 킬레이팅 효과는 버섯의 종류와 농도에 따라 차이가 있을 것으로 생각된다.

6. FRAP(ferric reducing antioxidant power)

FRAP은 낮은 pH에서 환원제의 존재 하에 ferric tripyridyltriazine(Fe³⁺ - TPTZ) 복합체가 ferrous tripyridyltriazine(Fe²⁺ - TPTZ) 복합체로 환원되는 정도를 측정하여 항산화 활성을 평가하는 방법이다(Aggarwal 등 2015; Nam 등 2015). 진한 파란색을 나타내는 Fe²⁺ - TPTZ의 생성 정도를 흡광도로 나타내고, 그 값이 클수록 환원력이 크다는 것을 의미한다.

추출용매 및 농도에 따른 이슬송이버섯 추출물의 FRAP을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. 모든 추출물에서 농도가 증가할수록 FRAP이 증가하는 농도 의존적인 특성과 함께 추출용매에 따른 유의적인 차이를 보였다. 이슬송이버섯 추출물은 낮은 농도보다 높은 농도에서 추출용매별 차이가 두드러졌으며, 6 mg/mL의 농도에서 가장 큰 차이를 보였다. 즉, 물 추출물의 FRAP이 0.777의 흡광도가 측정된 반면, 80% 메탄올 및 70% 에탄올 추출물은 각각 0.452, 0.451의 값이 측정

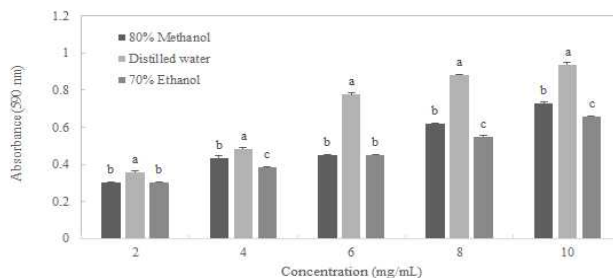


Fig. 5. Effect of extraction solvent on the FRAP values of *Lentinula edodes* GNA01. Each value represents mean±S.D. of triplicate measurements. Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

되어 약 1.7배의 차이를 보인 것으로 확인되었다. 이상의 결과, 물 추출물은 80% 메탄올 및 70% 에탄올 추출물보다 환원력이 강하며, 물에 의한 추출이 메탄올 및 에탄올을 이용한 추출에 비해 더 큰 항산화 효과를 얻을 수 있을 것으로 예상된다.

7. 총 페놀, 총 플라보노이드 함량 및 항산화 활성의 상관관계

이슬송이버섯 추출물의 총 페놀, 총 플라보노이드 함량 및 항산화 활성의 상관관계를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 총 페놀 함량은 철 킬레이팅 활성을 제외한 모든 항산화 활성과 유의적인 상관관계가 나타났으며($p<0.01$), 총 플라보노이드 함량은 모든 항산화 활성과 유의적인 상관관계를 보였다($p<0.01$). DPPH 라디칼 소거 활성과 ABTS 라디칼 소거 활성은 r^2 값이 0.982($p<0.01$)로 가장 높은 상관관계가 존재하

Table 2. Correlation coefficients(r^2) among total phenolic content(TPC), total flavonoid content(TFC), and antioxidant activities of *Lentinula edodes* GNA01

| | TPC ¹⁾ | TFC | DPPH | ABTS | Nitrite | Fe | FRAP |
|---------|-------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| TPC | 1 | 0.857 ^{**2)} | 0.978 ^{**} | 0.978 ^{**} | 0.935 ^{**} | 0.327 | 0.978 ^{**} |
| TFC | | 1 | 0.920 ^{**} | 0.922 ^{**} | 0.970 ^{**} | 0.663 ^{**} | 0.785 ^{**} |
| DPPH | | | 1 | 0.982 ^{**} | 0.966 ^{**} | 0.401 | 0.949 ^{**} |
| ABTS | | | | 1 | 0.976 ^{**} | 0.437 | 0.943 ^{**} |
| Nitrite | | | | | 1 | 0.569 ^{*3)} | 0.225 |
| Fe | | | | | | 1 | 0.869 ^{**} |
| FRAP | | | | | | | 1 |

¹⁾ TPC, total phenolic content; TFC, total flavonoid content; DPPH, DPPH radical scavenging activity; ABTS, ABTS radical scavenging activity; Nitrite, nitrite scavenging activity; Fe, Fe²⁺ chelating ability; FRAP, ferric reducing antioxidant power.

²⁾ ** $p<0.01$.

³⁾ * $p<0.05$.

였으며, 철 킬레이팅을 제외한 대부분의 항목에서 각 항목들 사이의 상관성은 높은 것으로 확인되었다. 이는 이슬송이버섯의 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 추출물 중 물 추출물에서 가장 높았고, 각 항산화 활성에서도 물 추출물이 80% 메탄올과 70% 에탄올 추출물보다 높은 활성을 나타내었기 때문인 것으로 생각된다. 폴리페놀 중 하나인 페놀화합물과 플라보노이드는 강한 항산화 활성을 나타내며, 여러 연구들에서 폴리페놀과 항산화 활성의 양의 상관관계를 언급한 것으로 보아(Yazaki K 2006; Jang & Yoon 2012; Lee 등 2013), 이슬송이버섯 추출물의 항산화 활성은 폴리페놀 함량과 관련이 깊을 것으로 생각된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 이슬송이버섯을 다양한 용매로 추출하여 항산화 활성을 비교·평가함으로써 천연 항산화 소재로서의 이용가치를 규명하고, 이슬송이버섯의 고부가가치 향상을 위한 기초자료를 제공하고자 하였다. 이슬송이버섯 80% 메탄올, 물, 70% 에탄올 추출물의 수율은 물>70% 에탄올>80% 메탄올의 순서로 확인되었으나 80% 메탄올과 70% 에탄올 추출물 사이에 유의적인 차이는 없었다. 총 페놀 및 플라보노이드 함량 또한 물 추출물에서 가장 높게 측정되었으며, 총 페놀 함량은 70% 에탄올보다 80% 메탄올 추출물에서, 총 플라보노이드 함량은 80% 메탄올보다 70% 에탄올 추출물에서 높았다. 추출용매와 농도에 따른 이슬송이버섯의 항산화 활성을 측정한 결과, DPPH, ABTS 라디칼 및 아질산염 소거 활성, 철 킬레이팅 활성, FRAP 모두 물 추출물이 가장 높은 활성을 보였다. 또한 아질산염 소거 활성을 제외한 대부분의 항산화 실험에서 80% 메탄올 추출물이 70% 에탄올 추출물보다 더 효과적인 것으로 확인되었다. 이상의 결과 이슬송이버섯은 농도와 추출용매에 따라 항산화 효과에 차이는 있으나, 용매의 극성이 큰 물 추출물의 활성이 가장 높은 것으로 조사되었으며, 이에 따라 이슬송이버섯의 고부가가치 향상을 위한 천연 항산화 소재로서의 이용이 높을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 수원여자대학교 순수연구과제 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

Aggarwal A, Nautiyal U, Negi D. 2015. Characterization and

- evaluation of antioxidant activity of *Cajanus cajan* and *Pisum sativum*. *Int J Rec Adv Sci Tech* 2:21-26
- Arao MB. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends Food Sci Technol* 11:419-421
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem* 239:70-76
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Choi SY, Chung MJ, Lee SJ, Shin JH, Sung NJ. 2007. N-nitrosamine inhibition by strawberry, garlic, kale, and the effects of nitrite-scavenging and N-nitrosamine formation by functional compounds in strawberry and garlic. *Food Control* 18:485-491
- Cooney RV, Ross PD. 1987. N-nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution: effects of vanillin and related phenols. *J Agric Food Chem* 35:789-793
- Dinis TCP, Madeira VMC, Almeida LM. 1994. Action of phenolic derivatives(acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Arch Biochem Biophys* 315:161-169
- Fellegrin N, Ke R, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol* 299:379-389
- Guk MH, Kim DH, Lee C, Jeong ES, Choi EJ, Lee JS, Lee TS. 2013. Antioxidant and skin whitening effects of *Inonotus obliquus* methanol extract. *J Mushroom Sci Prod* 11:99-106
- Gülçın İ, Oktay M, Kıręcı E, Küfreviođlu Öİ. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise(*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food chem* 83:371-382
- Haug X, Dai J, Fournier J, Ali AM, Zhang Q, Frenkel K. 2002. Ferrous ion autoxidation and its chelation in iron-loaded human liver HepG2 cells. *Free Radic Biol Med* 32:84-92
- Hong JY, Nam HS, Shin SR. 2010. Changes on the antioxidant activities of extracts from the *Ziziphus jujube* Miller fruits during maturation. *Korean J Food Preserv* 17:712-719
- Jang HL, Lee JH, Hwang MJ, Choi Y, Kim H, Hwang J, Nam JS. 2015. Comparison of physicochemical properties and antioxidant activities between *Lentinula edodes* and new cultivar *Lentinula edodes* GNA01. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44:1484-1491

- Jang HL, Yoon KY. 2012. Cultivar differences in phenolic contents/biological activities of color-fleshed potatoes and their relationships. *Hort Environ Biotechnol* 53:175-181
- Jeong E. 1998. Antioxidative and nitrite-scavenging effects of solvent extracts from *Gyrophora esculenta*. *Korean J Food Nutr* 4:426-430
- Jun DH, Lee JT, Cheon SJ, Lee CE, Kim TH, Lee DH, Han J, Kim SH. 2009. Polyphenol and anti-oxidant effects of *Kalopanax septemlobus* Koidz. leaf extracts. *Korean J Plant Res* 22:343-348
- Jung EB, Jo JH, Cho SM. 2008. Nutritional component and anticancer properties of various extracts from Haesongi mushroom(*Hypsizigus marmoreus*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:1395-1400
- Jung IC, Park S, Park KS, Ha HC, Kim SH, Kwon YI, Lee JS. 1996. Antioxidative effect of fruit body and mycelial extracts of *Pleurotus ostreatus*. *Korean J Food Sci Technol* 28:464-469
- Kang MY, Kim SY, Yun HJ, Nam SH. 2004. Antioxidative activity of the extracts from browned oak mushroom(*Lentinus edodes*) with unmarketable quality. *Korean J Food Sci Technol* 36: 648-654
- 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
- Kim HJ, Ahn MS, Kim GH, Kang MH. 2006. Antioxidative and antimicrobial activities of *Pleurotus eryngii* extracts prepared from different aerial part. *Korean J Food Sci Technol* 38: 799-804
- Kim JO, Jung MJ, Choi HJ, Lee JT, Lim AK, Hong JH, Kim DI. 2008. Antioxidative and biological activity of hot water and ethanol extracts from *Phellinus linteus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:684-690
- Kim Y. 2011. Novel strain of *Lentinula edodes* GNA01. US patent 13,994,696
- Kwon YJ, Kim MH, Choi JS, Lee TS. 2014. Free radical scavenging, anti-inflammatory and melannin synthesis inhibitory activities of *Gloeostereum incarnatum*. *J Mushrooms* 12:107-116
- Lee HJ, Do JR, Chung MY, Kim HK. 2014. Antioxidant activities of *Pleurotus cornucopiae* extracts by extraction conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:836-841
- Lee HR, Lee JH, Park CS, Ra KR, Ha JS, Cha MH, Kim SN, Choi Y, Hwang J, Nam JS. 2014. Physicochemical properties and antioxidant capacities of different parts of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1369-1379
- Lee J, Oh S, Kim D, Yoon M, Chun A, Choi I, Lee J, Kim Y. 2013. Comparison of antioxidant activities by different extraction temperatures of some commercially available cultivars of rice bran in Korea. *Korean J Food Nutr* 26:1-7
- 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
- Nam J, Han Y, Yeo S. 2015. Antioxidant and antimicrobial activities of various berry juices. *Korean J Food Nutr* 28: 328-334
- Park HS, Kim SY, Kim HS, Han JG, Lee KH, Cho JH. 2015. Nutritional contents and physiological activity of *Pleurotus eryngii* by extraction solvents. *J Mushrooms* 13:282-287
- Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H. 1996. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J Agric Food Chem* 44:37-41
- Shukla S, Park J, Kim DH, Hong SY, Lee JS, Kim M. 2016. Total phenolic content, antioxidant, tyrosinase and α -glucosidase inhibitory activities of water soluble extracts of noble starter culture *Doenjang*, a Korean fermented soybean sauce variety. *Food Control* 59:854-861
- Tannenbaum SR, Wishnok JS, Leaf CD. 1991. Inhibition of nitrosamine formation by ascorbic acid. *Am J Clin Nutr* 53:247S-250S
- Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food chem* 99:835-841
- Um SN, Jin GE, Park KW, Yu YB, Park KM. 2010. Physiological activity and nutritional composition of *Pleurotus* species. *Korean J Food Sci Technol* 42:90-96
- Yamada T, Yamamoto M, Tanimura A. 1978. Studies on the formation of nitrosamines, 7: The effects of some polyphenols on nitrosation of diethylamine. *J Food Hyg Soc* 19:224-227
- Yang YR, Park YK. 2011. Comparison of antioxidant activities of black onion extracts. *Korean J Food Preserv* 18:954-960
- Yazaki K. 2006. ABC transporters involved in the transport of plant secondary metabolites. *FEBS Lett* 580:1183-1191

Received 28 November, 2016

Revised 21 December, 2016

Accepted 21 December, 2016