

# *Phellinus linteus* KACC 93057P, ‘한경상황버섯’인공재배 자실체 페놀추출물의 항산화 활성 및 화학적 동정

민경진<sup>1</sup> · 정이은<sup>1</sup> · 윤봉식<sup>4</sup> · 강희완<sup>1,2,3,\*</sup>

<sup>1</sup>한경대학교 미래융합기술대학원

<sup>2</sup>한경대학교 원예생명과학과

<sup>3</sup>한경대학교유전공학연구소

<sup>4</sup>전북대학교 생명공학부

## Chemical identification and antioxidant activity of phenolic compounds extracted from the fruiting body of ‘Hankyong Sanghwang’, *Phellinus linteus* KACC 93057P

Gyong-Jin Min<sup>1</sup>, Ee-un Jeong<sup>1</sup>, Bong-Sik Yun<sup>4</sup>, and Hee-Wan Kang<sup>1,2,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Future Convergence Technology, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea.

<sup>2</sup>Department of Horticultural Life Science, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea.

<sup>3</sup>Institute of Genetic Engineering, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea.

<sup>4</sup>Division of Biotechnology, College of Environmental and Bioresource Sciences, Chonbuk National University, Iksan, Jeonbuk, Korea.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to identify chemical composition and antioxidant activity of phenolic extract of fruiting bodies of an artificially cultivated Hankyong Sanghwang mushroom, *Phellinus linteus* KACC 93057P (PLHS). The total phenolic content of 60% ethanolic extract of fruiting bodies of two-year-old PLHS grown on Oak wood logs was 19.05±0.32 mg gallic acid equivalent (GAE)/g, which was 4-10 times high compared to the other species of mushrooms. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbisthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activities and the ferric reducing antioxidant power (FRAP) value of PLHS were 2-10 and 5 times higher, respectively, than those of the other species of mushrooms. High performance liquid chromatography (HPLC) analysis of ethyl acetate fraction of 70% methanolic extract of the fruiting bodies of PLHS revealed the presence of styrylpyrone-class compounds, davallialactone, hispidin, hypholomine B, and caffeic acid, a compound of the phenylpropanoid pathway.

**KEYWORDS:** *Phellinus linteus* KACC 93057P, Fruiting body, Phenolic compound, Antioxidant activity, Chemical identification

## 서 론

진흙버섯속(*Phellinus* spp.)은 민주름버섯목, 소나무비늘버섯과에 속하는 버섯으로 고목에 홀로 발생하며, 부생 생활을 하는 다년생 버섯으로 약용버섯으로 알려져 있다. 목질진흙버섯(*Phellinus linteus*)은 뽕나무를 기주식물체로 하여 자실체형태가 누런색을 띠다하여 뽕나무 상(桑), 누를 황(黃)을 써서 상황버섯으로 불리며 중국에서는 상이, 일본에서는 메시마코브로 명명되고 있다. 일본에서 자실체 추출물에서 96.7% 고형암세포 저지율을 나타내는 가장 강력한 항암버섯으로 알려지면서(Ikekawa *et al.*, 1968) *P. linteus* (PL)은 주목을 받기 시작하였다. 지금까지, PL은 항암뿐만 아니라, 면역증강제, 항염, 항알러지,

J. Mushrooms 2018 December, 16(4):311-317  
http://dx.doi.org/10.14480/JM.2018.16.4.311  
Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853  
© The Korean Society of Mushroom Science

\*Corresponding author  
E-mail : kanghw2@hknu.ac.kr  
Tel : +82-31-670-5420

Received November 21, 2018  
Revised December 6, 2018  
Accepted December 11, 2018

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

항산화, 혈관형성억제제 등의 다양한 약리효과가 보고되었다(Daniel, 2010).

진흙버섯 종의 유효 약리활성으로 야생버섯을 채집하여 약리효과를 탐색하여 왔으나 실험재료의 제한적으로 실험을 거두지 못하고 균사배양체로 연구를 수행하였다. 그러나 균사체와 자실체는 항산화 물질 등 약리활성물질과 다양한 대사체성분에 차이가 있다(Kang *et al.*, 2013). 따라서 목질진흙버섯의 다양한 약리활성물질의 확보측면에서 인공재배에 의한 지속적이며 안정적 자실체 생산이 요구된다. 목질진흙버섯의 인공재배 연구는 *P. linteus* ASI 26099균주를 이용하여 수행되었으나 (Hong *et al.*, 2002), 균사성장과 자실체 성장이 매우 느리고 생산량이 극히 제한적이라서 재배에 난점이 있다. 따라서 농가에서는 재배가 비교적 용이한 *P. baumii*가 품종명 “장수상황버섯”(PBJS)으로 하여 대체 종으로 널리 재배되고 있다. 국내에서 신규 *P. linteus* KACC93057P균주가 수집 분리된 바 있는데 균사생장이 빠르고 자실체는 담갈색으로 목질형태 (hardy woody) 로 동심원으로 윤층대 (zonate)와 흠을 형성하는 전형적인 *Phellinus linteus*와 유사한 형태적 특징을 보유한다(Min *et al.*, 2016).

인체의 필수 성분 중의 하나인 산소는 전자전달계의 최종 전자 수용체가 되며 체내의 각종대사과정에서 superoxide anion ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ), peroxy radical ( $\text{ROO}\cdot$ ), alkoxy radical ( $\text{RO}\cdot$ ) 등의 활성(reactive oxygen species, ROS) 산소들이 생성된다(Fridovich, 1989). 이들 활성 산소들은 체내에서 끊임없이 생성되지만 항상성 유지 측면에서 체내에서 이들 활성산소들이 소거되지 않으면 일시적 혹은 영구적으로 생체 조직에 손상을 주어 최근에 많은 문제가 되고 있는 동맥경화증이나 암 등의 질환들을 일으킬 수 있는 것으로 보고되었다 (Videla and Fernandez, 1988). 버섯류에서 얻어지는 phenolic compounds는 뛰어난 항산화효과를 나타내며 그 함량에 따라 항산화 활성이 농도 의존적으로 증가한다 (Jung *et al.*, 2008). 항산화 활성은 protocatechuic acid, caffeic acid, coumaric acid, hispidin 과 같은 폴리페놀 화합물 및 triterpene 등의 저분자 물질에 의한 것으로 알려져 있다(Ishikawa *et al.*, 1984). *P. linteus* KACC93057P의 균사체로부터 페놀화합물의 구조적 특징과 항산화 활성 연구에서 styrylpyrones 계열의 신규 페놀 화합물인 Phellinins A1과 A2의 구조가 동정(Lee *et al.*, 2009) 된 바 있었으나 자실체 재료를 이용한 항산화 활성과 페놀화합물에 관한 연구는 없다.

본 연구는 *P. linteus* KACC93057P를 인공재배한 자실체를 활용하여 페놀화합물의 특성과 항산화 활성에 관하여 조사한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 균주배양 및 종균

본 연구에 사용된 목질버섯종은 *P. linteus* KACC 93057P (PLHS, 한경상황버섯)의 균사체 배양은 Yeast Glucose Malt extract(YGM)배지에서 25°C에서 14일간 성장하였다. YGM배지에서 성장한 균사체에 살균수를 첨가 균질기로 무균적으로 마쇄하여 원균 집중원으로 사용하였다. 집중원 50 ml를 고압살균한 800g 톱밥배지(톱밥:미강, 8:2)에 접종하고 30일간 25°C에서 배양하여 종균으로 사용하였다.

### 상황버섯인공재배

참나무 원목(15 × 15 cm)을 20 cm로 절단하고 내열성 봉지로 싸서 100°C에서 24시간 상압살균하고 냉각하였다. 위의 톱밥중균을 약 20cc정도 살균원목에 접종하고 22°C에서 100일 동안 배양 한 후 원목에 형성된 균피를 제거하고 재배사에 입상하여 2년 후 형성된 자실체를 본 연구에 사용하였다.

### 항산화활성 페놀성분 추출

인공재배한 2년산 한경상황버섯의 자실체는 100 mesh 로 마쇄한 분말을 사용하였다. 에탄올 추출물은 버섯 1g 에 60% ethanol 50 ml 첨가 후 50°C에서 100 ppm 진탕 배양기(VISION SCIENTIFIC CO.,LTD)로 24시간 추출하여 Whatman No.2여과지로 여과하여 잔사를 제거하고 회전식감압농축기(EYELA evaporator, Japan)를 사용하여 용매를 제거, 동결 건조(ILSHINBIOBASE CO.,LTD)하여 실험의 시료로 사용하였다.

### 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법(Chan *et al.*, 1993)을 이용하여 측정하였다. Folin-Ciocalteu reagent가 폴리페놀성 화합물에 의해 환원, 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 하였다. 시료 1 mg/ml을 0.2N Folin Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 5.0 ml을 첨가하여 5분 동안 반응시킨 후, 7.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  4 ml을 첨가 후 암소에서 1시간동안 반응시켰다. Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA)를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### DPPH 라디칼 소거능 활성 측정

DPPH 라디칼소거능은 Blois (1958) 의 방법에 의하여 a,a-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)의 환원력을 측정하였다. 시료를 농도별로 혼합, 1.0 mL에 0.2 mM DPPH 용액 1.0 mL를 혼합한 후 암소에서 30분간 반응시킨 후 Epoch Microplate Spectrophotometer를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조구는 ascorbic acid (Sigma-Aldrich)와 butylated hydroxyanisole (BHA)를 사용하였다. DPPH라디칼 소거 활성은 시료 용액의

대조구와 시료 첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 산출하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능 (\%)} = \frac{\text{대조구 흡광도} - \text{시료첨가구 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

**ABTS 라디칼 소거능 활성 측정**

ABTS 라디칼 소거능 활성 측정은 Re R *et al.* (1999)의 방법에 준하여 수행되었다. 7 mM ABTS용액과 2,45 mM potassium persulfate 용액을 혼합하고 25°C 암소에서 16 시간 반응시킨 후 Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA)를 이용, 734 nm에서 흡광도가 0.700이 되도록 5 mM potassium phosphate buffer (pH7.4)를 이용하여 희석하였다. 희석된 ABTS용액 900 µl에 농도별로 희석한 시료 100 µl을 혼합, 5분간 실온 정치 후 734nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조구는 ascorbic acid (Sigma-Aldrich)와 BTH를 사용하였다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거능 (\%)} = \frac{\text{대조구 흡광도} - \text{시료첨가구 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

**FRAP를 이용한 총 항산화력 측정**

FRAP를 이용한 총 항산화력은 Kim 등 (2005)의 방법에 준하여 측정하였다. 300 mM Acetate buffer (pH3.6), 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ(2,4,6-tripyridyl-S-triazine), 20 mM Iron(III) chloride hexahydrate를 10:1:1로 제조한 기질 용액 175 µl과 버섯 추출물 250 µg/mL를 혼합 후 37°C 항온수조에서 30분간 암처리 반응 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**통계처리**

3회 이상 반복 실험을 통하여 얻어낸 각각의 모든 값은 평균치±표준편차로 표시하였고, 집단 간 평균의 차이는 SAS 9.4(statistical analysis system;SAS Institue, USA)를 이용하여 two-tailed unpaired Student's t-test 및 one-way analysis of variance(ANOVA)test를 이용하였다. 각 실험의 평균차에 대한 통계적 유의성 검증은 Ducan의 다중검증법(DMRT : Duncan's multiple range test)을 통해 하였으며, p<0.05 및 p<0.01수준에서 검증하였다.

**페놀화합물 동정**

PLHS 자실체 분말이 잠길 정도의 부피로 70% 메탄올을 넣어 24 시간 동안 실온에서 추출하였다. 추출물은 Whatman No.4의 여과지를 이용하여 여과한 후, 여과된 메탄올을 감압 농축하였다. 메탄올을 제거한 후, 극성이 낮은 용매인 chloroform을 동량 넣어 분배 추출하였다.

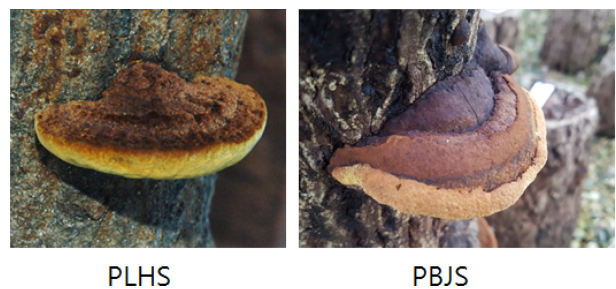
분획 물 층은 다시 ethyl acetate로 분배 추출하여 ethyl acetate 층을 감압 농축하여 용매를 제거한 후 High-performance liquid chromatography (HPLC) 분석용 시료로 제조하였다. HPLC columne은 TSKgel ODS-100Z 5 µm, 직경 4.6 × 150 mm (TOSOH BIOSCIENCE, Japan)을 사용하였으며 Flow rate는 1ml/min으로 10-100%의 methanol gradient의 mobile phase로 하여 용출하였으며 retention time은 3.0으로 하였다. 페놀성분 동정을 위하여 정제된 Davallialactone, Hispidin, Hypholomine B, Caffeic acid를 전북대학교에서 제공받아 표준물질로 하여 같은 retention time에서 동일한 Peak를 동일 페놀성분으로 하여 동정하였다.

**결과 및 고찰**

**목질진흙버섯 KACC93057P의 인공재배 자실체의 형태적 특성**

목질진흙버섯 *Phellinus linteus* KACC93057P(PLHS)를 재료 및 방법에 준하여 참나무 원목에 접종, 배양하고 균피 제거 후 버섯재배사에 입상하여 2년 동안 재배한 자실체를 본 연구에 사용하였다. Fig. 1은 PLHS와 PB의 원목에서 성장한 자실체 형태를 비교한 것으로 PLHS자실체는 대 없이 기주에 부착하는 형태로 자실체표면은 단단한 목질형태(hardy woody)로 동심원으로 윤층대(zonate)와 흡을 형성하고 담갈색이며 자실체 뒷면은 담황갈색이며 진황색의 테두리를 형성하였다. 이러한 형태적 특징은 전형적인 *P. linteus*의 형태이며 기 보고된 *P. linteus*의 이명인 *Inonotus sanghuang* (WU *et al.*, 2012)과 *P. linteus* ASI 26099 (PLK), 품종명 “고려상황버섯”(Hong *et al.*, 2002)과 일치하였다. 반면에 PBJs는 자실체내부가 엷은 담황갈색으로 동심원이 없으며 좁고 테두리는 두터운 엷은 황색으로 앞면에 형성되어 *P. linteus*계통의 PLHS와 PLK와는 많은 차이를 보였다.

재배적인측면에서 고려상황은 재배기간이 3-4년 정도로 늦고 원목당 자실체 형성율이 낮아 자실체 생산성이 떨어져 농가에서 거의 재배되지 않고 있어 생산지에서는 매우



**Fig. 1.** Morphological characteristics of fruiting bodies of *Phellinus linteus* KACC93057P(PLHS) and *Phellinus baumii* (PBJs) formed on oak logs after two years of cultivation.

고가로 판매되고 있다. PLHS (장수상황버섯)는 2000년도 부터 재배되기 시작하여 생산성이 높고 재배가 용이하여 안정적인 생산이 가능하여 현재 대부분의 농가에서 주로 재배되고 있는 상황버섯이다. 본 연구의 PLHS는 원목당 발이율이 95%이상이며 생산량도 장수상황버섯과 필적하는 우수한 품종으로 나타나 *P. linteus*의 안정적 생산이 확립되었다 (논문작성 중). 국내외적으로 상황버섯연구는 *P. linteus* 계통의 균사체를 이용해 왔으나 PLHS의 안정적 생산기반으로 *P. linteus* 자실체를 활용할 수 있게 됨으로서 *P. linteus* 상황버섯의 다양한 기능성물질의 새로운 연구 방향이 추진될 수 있을 것으로 기대된다. 본 연구의 PLHS 자실체의 항산화활성 연구 활용이 중요한 시발점이 될 수 있을 것으로 전망된다.

**총 페놀함량**

페놀 화합물은 2차대사 생리활성물질로서 phenolic acid, anthocyanin, tannin등 분자량이 큰 물질까지 포함, 단백질 및 거대분자들과 쉽게 결합하고 분자 내 많은 하이드록실기(-OH)를 가지고 있어, 활성산소를 제거하여 산화를 억제하는 기능이 있는 것으로 알려져 있다(Kim *et al.*, 2005). 상황버섯의 추출방법에 따른 폴리페놀성분의 수율 면에서 60% 에탄올 추출이 가장 우수한 것으로 보고 (Kim *et al.*, 2008)됨에 따라 60% 에탄올 추출을 수행하여 다른 버섯종과 비교 하여 폴리페놀함량을 평가 하였다. Table 1은 약용버섯으로 알려져 있는 영지버섯, 차가버섯, 노루궁뎅이버섯을 포함 하여 표고, 노랑느타리, 목이, 새송이, 느타리, 팽이, 만가닥의 페놀함량을 비교한 것으로 PLHS는 19.05±0.32mg GAE/g로 차가버섯 3.21±0.07 mg GAE/g에 비하여 5배 이상 높았으며 표고버섯 1.46±0.02 보다는 13배이상의 높은 페놀성분이 검출 되었다. 이 같은 결과는 식용버섯 중 상황버섯이 높은 폴리페놀 함량을

**Table 1.** Total polyphenol content of different mushroom species and *Phellinus linteus* KACC93057P

Mushroom species	Total phenolic content (mg GAE/g)
<i>Phellinus linteus</i> KACC93057P	19.05±0.32
<i>Lentinula edodes</i>	1.46±0.02
<i>Pleurotus comucoliae</i>	2.94±0.03
<i>Auricularia auricula-judae</i>	2.19±0.01
<i>Pleurotus eryngii</i>	1.65±0.06
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1.87±0.05
<i>Flammulina velutipes</i>	1.58±0.04
<i>Lyophyllum ulmarium</i>	1.24±0.04
<i>Hericium erinaceum</i>	2.54±0.03
<i>Ganoderma lucidum</i>	2.65±0.05
<i>Inonotus obliquus</i>	3.21±0.07

나타낸 결과(Choi *et al.*, 2010)와 유사하였다. 이러한 결과는 다양한 페놀성분이 *P. linteus* KACC93057P 자실체에 분포하고 있음을 시사한다.

**항산화활성**

**1) DPPH free radical 소거능**

DPPH는 산화성 free radical에 전자를 공여, free radical의 생성 억제를 간접적으로 측정 가능한 방법으로, 안정한 라디칼로써 항산화를 가진 물질과 만나면 제거되면서 짙은 자색의 DPPH용액을 노란색으로 탈색시키는 원리를 이용한다(Kim *et al.*, 2005) PLHS의 60% 에탄올 추출물을 62, 125, 50 µg/mL 농도별로 처리 하여 DPPH 라디칼 소거능을 분석 하였을 때 농도 의존적으로 54 에서 79%의 라디칼 소거능을 보였다. 다른 버섯종과 비교 하였을 때 62 µg/mL의 농도에서 느티만가닥 10.2%보다 5배이상 높은 54.2%의 래디칼 소거 능을 보였다. 특히 차가버섯은 125 µg/mL 농도에서 43.5%의 DPPH 라디칼 소거능을 보여 PLHS보다 27%이상 낮은 항산화 활성을 나타내었으나, PLHS는 양성대조구로 사용된 BHA보다 높은 활성을 보였으나 양성대조구 Ascorbic acid 보다는 125 µg/mL의 고농도에서 27%이상 낮은 활성을 나타내었다(Table 2).

Ascorbic acid는 비타민 C로서 항산화 기능을 하는 것으로 알려져 있다. 높은 항산화 활성은 Ascorbic acid 단일 물질로서의 DPPH 라디칼 소거능이 높은 것을 시사하며 PLHS 추출물의 경우 다양한 항산화성분이 여러 활성물질

**Table 2.** DPPH radical scavenging activity of different mushroom species and *Phellinus linteus* KACC93057P

Mushroom species	DPH radical scavenging activity (%)		
	62 µg/mL	125 µg/mL	250 µg/mL
<i>Phellinus linteus</i> KACC93057P	54.2±5.02	62.49±9.27	79.34±3.56
<i>Lentinula edodes</i>	17.3±3.23	27.7±2.25	39.37±0.96
<i>Pleurotus comucoliae</i>	43.49±2.02	66.19±0.41	85.32±1.31
<i>Auricularia auricula-judae</i>	21.03±0.77	26.43±1.95	40.63±3.78
<i>Lyophyllum ulmarium</i> (brown)	10.24±1.8	15.24±2.62	32.54±0.9
<i>Pleurotus ostreatus</i>	17.86±1.67	35.63±2.76	69.6±5.93
<i>Flammulina velutipes</i>	19.44±3.42	12.94±2.13	24.68±1.92
<i>Pleurotus eryngii</i>	10.63±3.61	20.24±2.12	38.41±1.31
<i>Hericium erinaceum</i>	30.84±3.61	41.4±3.52	59.2±4.14
<i>Ganoderma lucidum</i>	29.2±2.43	38.5±2.63	51.5±4.36
<i>Inonotus obliquus</i>	30.0±1.43	43.5±3.56	58.5±4.23
BHA	0.1±0.31	3.93±1.16	9.53±2.07
Ascorbic acid	42.22±1.39	96.22±0.22	96.38±0.2

이 공존할 것으로 예상 될 수 있으며 항산화 활성에 복합적인 기능이 예상 된다.

**2) ABTS 라디칼 소거능 측정**

ABTS는 ABTS와 potassium persulfate의 반응으로 생성된 ABTS양이온 라디칼이 항산화 물질에 의해 소거되는 양을 측정하는 항산화 활성 측정법으로 ABTS<sup>+</sup> 라디칼의 청록색이 탈색되는 것을 이용한 실험이다(Re et al., 1999). PLHS의 60% 에탄올 추출물을 62, 125, 250 µg/mL농도별로 처리 하여 ABTS라디칼 소거능을 분석 하였을 때 99 %이상의 높은 라디칼 소거능을 보여 양성대조구와 유사한 활성이 검출 되었다(Table 3). 62 µg/mL 저농도에서 다른 버섯 종과 비교 하였을 때 분홍느타리 버섯 (*Pleurotus comucoliae*) 24%, 노루궁뎅이 22%보다 높은 라디칼 소거능을 보였다. 유사 속의 차가버섯은 19.5±1.62%의 라디칼소거능을 보여 PLHS에 비하여 5배 정도 활성이 낮았으나 250 µg/mL의 고 농도에서 활성이 증가하여 58%의 소거능이 나타났다. 양성대조구로 사용된 BHA와 Ascorbic acid는 PLHS와 유사한 활성으로 99%이상의 라디칼 소거능을 보여 ABTS는 DPPH와 비교하여 민감한 라디칼소거 효과가 있는 것으로 생각 되었다.

**3) FRAP 환원력 (ferric reducing antioxidant power)**

FRAP 환원력은 산성이 강한 환경에서 Fe<sup>3+</sup>이 Fe<sup>2+</sup>로 환원되는 원리로 표준물질은 FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O를 200-1000µM에서 correlation coefficient 값을 확인 한 결과 농도에 따라 직선성을 보여 (Data not shown) 환원력 측정을 위해

**Table 3.** ABTS radical scavenging activity of different mushroom species and *Phellinus linteus* KACC93057P

Mushroom species	ABTS radical scavenging activity (%)		
	62 µg/mL	125 µg/mL	250 µg/mL
<i>Phellinus linteus</i> KACC93057P	99.9±1.01	100±1.52	100±0.13
<i>Lentinula edodes</i>	7.0±0.76	12.39±0.35	23.33±0.44
<i>Pleurotus comucoliae</i>	24.17±0.76	37.89±0.67	59.5±0.6
<i>Auricularia auricula-judae</i>	12.0±0.88	22.78±1.67	37.5±1.53
<i>Lyophyllum ulmarium</i>	9.89±1.18	16.0±2.47	23.44±0.96
<i>Pleurotus ostreatus</i>	14.78±0.19	24.61±2.26	38.06±1.08
<i>Flammulina velutipes</i>	11.94±3.03	20.78±2.06	33.39±2.81
<i>Pleurotus eryngii</i>	12.72±0.54	21.06±0.1	34.78±1.13
<i>Hericium erinaceum</i>	22.16±0.66	38.79±0.69	60.5±0.8
<i>Ganoderma lucidum</i>	16.5±0.18	22.4±1.64	41.5±1.35
<i>Inonotus obliquus</i>	19.5±1.62	28.8±0.91	58.5±0.8
BHA	95.0±0.62	97.61±2.14	100±0.29
Ascorbic acid	99.83±0.29	99.72±0.35	100±0.29

**Table 4.** FRAP value of different mushroom species and *Phellinus linteus* KACC93057P

Mushroom species	FRAP value (µMFeSO <sub>4</sub> /g)
<i>Phellinus linteus</i> KACC93057P	0.69
<i>Lentinula edodes</i>	0.14
<i>Pleurotus comucoliae</i>	0.15
<i>Auricularia auricula-judae</i>	0.14
<i>Pleurotus eryngii</i>	0.13
<i>Pleurotus ostreatus</i>	0.14
<i>Flammulina velutipes</i>	0.13
<i>Lyophyllum ulmarium</i> (brown)	0.14
<i>Hericium erinaceum</i>	0.17
<i>Ganoderma lucidum</i>	0.16
<i>Inonotus obliquus</i>	0.33

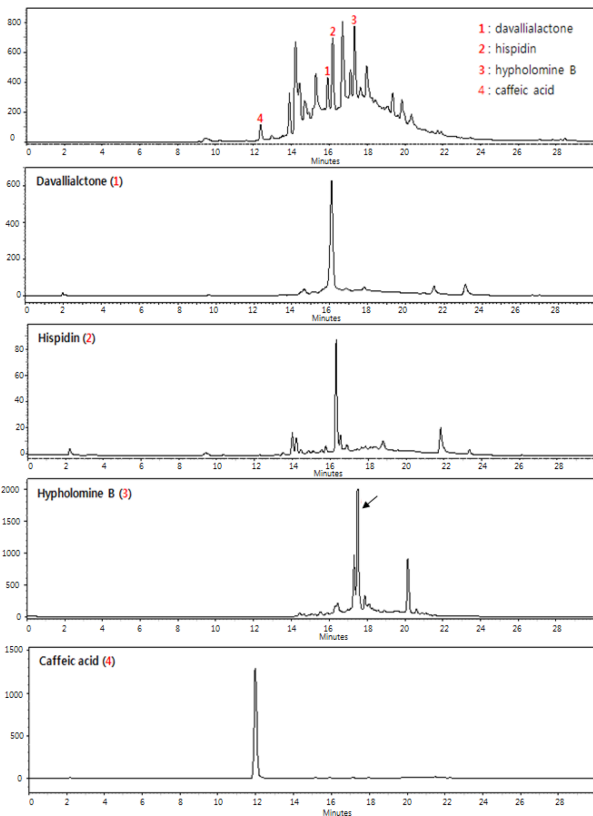
정량곡선을 획득 하였으며 µM eq Fe<sup>2+</sup>/g로 표기하였다. PLHS의 FRAP 가치는 차가버섯 0.33 µMFeSO<sub>4</sub>/g을 제외한 비교구 버섯종에 비하여 5배정도의 높은 활성을 보였으며 이는 DPPH, ABTS 라디칼 소거능과 유사한 경향치를 나타내었다(Table 4).

결론적으로 60% 에탄올로 추출물에는 다른 버섯 종보다 4-10배 높은 폴리페놀 함량이 검출 되었으며 DPPH와 ABTS 라디칼소거능과 FRAP 환원력을 이용한 항산화활성 검정결과 환경상황버섯 (PLHS)은 다른 버섯 종에 비하여 높은 항산화 활성이 있는 것으로 평가 되었다.

**페놀화합물의 동정**

폴리페놀은 항산화활성의 주성분으로 알려져 있다. 따라서 *P. linteus* KACC93057P(PLHS)의 자실체에 어떠한 페놀성분이 존재하는지를 알아보기 위하여 HPLC분석을 수행하였다. PLHS의 자실체 분말의 70% 메탄올 추출물-Ethyl acetate 분배액의 HPLC 분석 결과 retention time 14분에서 20분대까지의 peak가 주를 이루고 있으며, 그들의 UV spectrum은 260, 380 nm에서 최대흡수를 나타내었다. PLHS-ethyl acetate 추출물은 styrylpyrone 계열의 화합물을 다량 함유하고 있는 것으로 추정할 수 있었다. 또한 retention time 12분경에 나타난 peak은 phenylpropanoid 계열의 화합물 Caffeic acid와 retention time이 일치 하였으며 Peak 2, 3, 4, 5는styrylpyrone 계열의 화합물, davallialactone, hispidin, hypholomine B의 retention time 이 서로 일치하였다. 전에 *Phellinus linteus* KACC93057P의 균사체 ethyl acetate 추출 분배물의 HPLC profile로부터 신규 페놀성분인 phellinins A1 and A2와 hispidin 과 1,1-distyrylpyrylethan가 동정 된 바 있다(Lee et al., 2009). 그러나 본 연구의 14분에서 20분대의 retention time에서 균사체 추출물에서는 유사한 peak가 검출되지





**Fig. 2.** HPLC chromatogram of ethyl acetate layer extracted from fruiting body of *Phellinus linteus* KACC93057P. 1. Davallialactone, 2. Hispidin, 3. Hypholomine B, 4. Caffeic acid

않아 본 연구의 자실체에서 분리된 davallialactone과 hypholomine B, hispidin, caffeic acid는 자실체의 유효 페놀성분으로 사료 되었다. davallialactone은 *Phellinus baumii*로부터 분리된 바 있으며 항염증, 항산화, 항 혈액 응고에 기능적 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Lee *et al.*, 2008). PLHN-자실체 ethyl acetate 분배물은 균사체와 달리 여러 종류의 styrylpyrone 계열의 화합물이 존재하나 Phellinins A1 and A2페놀화합물은 균사체. 전 연구에서 상황버섯 PLHS와 PBJS 균사체와 자실체 추출물의 DPPH 라디칼 소거 능에 의한 항산화 활성도를 측정 한 결과 자실체가 균사체보다 항산화 활성이 높은 것으로 있는 것으로 보고되었다 (Kang *et al.*, 2013). 이러한 결과는 자실체에 다양한 종류의 페놀화합물이 항산화 활성에 기능적인 역할을 하는 것으로 추정 할 수 있었다.

## 적 요

참나무 단목원목으로 재배한 *P. linteus* KACC93057P (PLHS)2년산 자실체 60%에탄올 추출물의 총 페놀함량은 19.05±0.32 mg GAE/g로 다른 비교구 버섯 중에 비하여 4배에서 10배이상의 높게 나타났다. 125 µg/mL농도에서

DPPH와 ABTS 라디칼 소거능은 62%와 100%를 나타냈 으며 FRAP 환원력은 0.7µMFeSO<sub>4</sub>/g 으로 비교 구 버섯 종 보다 2에서 10배이상의 유효활성이 검출 되었다. PLHS 자실체 ethyl acetate분배 추출물의 HPLC분석에서 styrylpyrone 계열의 화합물 davallialactone, hispidin, hypholomine B와 phenylpropanoid 계열의 화합물인 caffeic acid가 동정 되었다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산물기술평가원 (IPET) 고부가 가치식품기술개발사업 (과제번호: 116164-2)연구지원에 의해 수행된 결과입니다.

## REFERENCES

Blois MS.1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200.  
 Chan KM, Decker EA, Means WJ. 1993. Extraction and activity of carnosine, a naturally occurring antioxidant in brrf muscle. *J Food Sci*. 58: 1-4.  
 Choi SJ, Lee YS, Kim JK, Kim JK, Lim SS. 2010. Physiological activities of extract from edible mushrooms. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 39: 1087-1096.  
 Daniel S. 2010. Medicinal mushroom *Phellinus linteus* as an alternative cancer therapy (Review). *Exp Ther Med*. 1: 407-411.  
 Fridovich I. 1989. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas. *J Biol Chem*. 264: 7761-7764.  
 Hong IP, Jung IY, Nam SH, Park JS, Cho JH, Lee HW, Guo SX. 2002. Cultural Characteristics of a medicinal mushroom, *Phellinus linteus*. *Mycobiology*. 30: 208-212.  
 Ikekawa T, Nakanishi M, Uehara N, Chihara G.1968. Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann*. 59: 155-157  
 Ishikawa Y, Morimoto K, Hamasaki T. 1984. Flavoglucin, a metabolite of *Eurotium chevalieri*, its antioxidation and synergism with tocopherol. *J Am Oil Chem Soc.*. 61: 1862-1868.  
 Kang HW, Lee MH, Seo GS. 2013. Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of *Phellinus linteus* HN1009K. *Kor J Mycol* 41: 243-247  
 Kim HJ, Bae JT, Lee JW, Hwang Bo MH, Im HG, Lee IS, 2005. Antioxidant activity and inhibitive effects on human leukemia cells of edible mushrooms extracts. *Kor J Food Preserv*. 12: 80-85.  
 Jung JY, Lee IK, Seok SJ, Lee HJ, Lee HJ, Kim YH, Yun BS. 2008. Antioxidant polyphenols from the mycelial culture of the medicinal fungi *Inonotus xeranticus* and *Phellinus linteus*. *J Applied Microbiol*. 104: 1824-1832  
 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 Kor Soc Food Sci Nutr*. 37: 684-690.  
 Lee IK, Jung JY, Kim YH, Yun BS. 2009. Phellinins A1

- and A2, new styrylpyrones from the culture broth of *Phellinus* sp. KACC93057P: II. Physicochemical properties and structure elucidation. *J Antibiotics*. 62: 635-637.
- Lee IK, Seo GS, Jeon NB, Kang HW, Yun BS. 2009. Phellinins A1 and A2, new styrylpyrones from the culture broth of *Phellinus* sp. KACC93057P: I. Fermentation, taxonomy, isolation and biological properties. *J Antibiotics*. 62: 631-634.
- Lee YG, Lee WM, Kim JY, Lee JY, Lee IK, Yun BS, Rhee MH, Cho JY. 2008. SRC kinase-targeted anti-inflammatory activity of davallialactone from *Inonotus xeranticus* in lipopolysaccharide activated RAW264.7 cells. *Br J Pharmacol*. 154:852-63.
- Min GJ, Kwak AM., Seok SJ, Kang HW. 2016. Morphological and cultural characteristics of a novel *Phellinus linteus* KACC93057P. *J Mushrooms*. 14; 75-80.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radicals Biol Med*. 26.
- Videla LA Fermandaz V. 1988. Biochemical aspects of cellular oxidative stress. *Arch Biol Med Exp*. 21: 85-92.
- WU SH, Dai YC, Hattori T, Yu TW, Wang DM Parmasto E, Chan HY, Shih SY .2012. Species clarification for the medicinally valuable ‘sanghuang’ mushroom. *Bot Studies*. 53: 135-149.