

## 비늘버섯으로부터 생리기능성 물질의 탐색

유형은<sup>1</sup> · 조수목<sup>2</sup> · 서건식<sup>3</sup> · 이병석<sup>3</sup> · 이대형<sup>1</sup> · 이종수<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>배재대학교 생명유전공학과, <sup>2</sup>농촌자원개발연구소, <sup>3</sup>한국농업전문학교

### Screening of Bioactive Compounds from Mushroom *Pholiota* sp.

Hyung-Eun Yu<sup>1</sup>, Soo-Muk Cho<sup>2</sup>, Geon-Sik Seo<sup>3</sup>, Byeong-Seok Lee<sup>3</sup>, Dae-Hyoung Lee<sup>1</sup> and Jong-Soo Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Life Science and Genetic Engineering, Pachai University, Daejeon 302-735, Korea

<sup>2</sup>Rural Resources Development Institute, National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-853, Korea

<sup>3</sup>Korea National Agricultural College, Hwasung, Kyonggi-do 445-893, Korea

(Received December 12, 2005)

**ABSTRACT:** Extracts from 63 kinds of *Pholiota* sp. fruiting bodies were prepared using water and methanol, and then their physiological functionalities were investigated. The methanol extracts from *Pholiota adiposa* PAD-030 showed high fibrinolytic activity and those of *P. adiposa* ASI PAD-022 showed potential inhibitory activity of 76.8% against  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl(HMG)-CoA reductase. The highest antioxidant and tyrosinase inhibitory activities were found in the water extracts of *Pholiota* sp. PSP-015 (72.7%) and methanol extracts of *P. nameko* PNA-024 (69.5%), respectively. However, superoxide dismutase(SOD)-like activity and elastase inhibitory activity were low in almost of the extracts. The HMG-CoA reductase inhibitor from the fruiting body of *P. adiposa* PAD-022 which showed the highest functionality was extracted maximally when powder of the fruiting body was shaken at 30°C for 12 h by methanol and its HMG-CoA reductase inhibitory activity was 80.2%.

**KEYWORDS:** Bioactive compound, HMG-CoA reductase inhibitor, *Pholiota* sp.

최근 국민들의 건강에 대한 관심이 고조되고 있고 우리나라 사람의 평균 수명이 80세에 근접함에 따라 건강기능성 식품에 관한 연구가 심도 있게 진행되어 다양한 제품들이 속속 개발되어 상품화 되고 있다. 특히 종래 식용으로만 주로 이용되어온 버섯에서 우수한 약리효능이 계속해서 밝혀짐에 따라 건강 기능성 식품소재로서 버섯의 소비 역시 꾸준히 증가 하고 있다(Yang *et al.*, 1996).

버섯은 일반적으로 지질이 적고 당과 단백질 및 핵산이 풍부하며 특히 Vitamin D의 전구체인 ergosterol을 함유하고 있어 식용 외에도 일부가 민간요법이나 한방의약에 쓰이고 있고 어린이와 임산부, 노화가 시작되는 중년이후의 사람들에게 유용하다고 알려져 있다(성 등, 2000). 버섯이 가지는 약리작용으로는 *Ganoderma lucidum*의 콜레스테롤 저하효과(Kabir *et al.*, 1998)와 *Tremella fuciformis* 자실체에서 분리한 Glucuronoxylomannan의 혈당강하 작용(Kiho *et al.*, 1994), *Cordyceps sinensis*의 균사체로부터 분리한 다당류들의 혈당 강하 작용(Kino *et al.*, 1993; Kiho *et al.*, 1996), *Cordyceps militaris*로부터 분리한 nucleoside 유도체 물질인 cordycepin의 HIV-1의 역전사 효소활성 억제 작용(Muller *et al.*, 1990), *Clavicornia pyxidate*에서 분리한 clavicornic acid의 항균작용(Erkel

and Anke, 1992) 등이 보고되어 있다. 또한 *Tricholoma giganteum*에서 추출한 polysaccharides의 항암작용이 보고되어 있고(Mizuno *et al.*, 1995) 버섯류의 혈소판 응집 억제 물질과 혈전용해 물질의 탐색(박 등, 2003; Choi *et al.*, 1999)과 항염증 작용, 간 보호 작용, 항산화 작용, 정력증강작용(성 등, 2000) 등이 알려져 있다. 이와 같이 다양한 약리 효능을 갖고 있는 버섯은 효율적인 균사체나 자실체 배양 방법이 개발되어 있지 않고 이들을 이용한 다양한 생리활성 탐색과 개발 연구가 체계적으로 진행되지 않아 아직까지도 건강식품이나 의약대체 제품이 다양하게 개발되어 있지 않은 실정이다.

한편, 검은비늘버섯(*Pholiota adiposa*)은 *Strophariaceae* 과에 속하는 버섯의 일종으로, 중간에 형태적으로 아주 유사하여 분류가 어렵고 특히 유용한 기능성 물질을 다량 함유하고 있는 것으로 알려지고 있으나 실사, 구토 등의 증상을 일으키는 독버섯인 땅비늘버섯(*Pholita terrestris*)과 형태적으로 아주 유사하여 비전문가가 야생균주를 채취하여 이용하는 것은 대단히 위험하므로 이러한 비늘버섯의 정확한 분류와 재배기술의 개발 및 보급은 새로운 버섯의 다양한 종의 개발과 이용 측면에서 매우 중요한 과제라고 할 수 있다.

필자 등은 버섯을 이용하여 비교적 가격이 저렴하고 부

\*Corresponding author <E-mail: biotech8@mail.pcu.ac.kr>

작용이 없으면서 경구 투여시 소화관내에서 소화효소에 대하여 보다 안정하게 약리효능을 발휘할 수 있는 우수한 기능성 건강식품을 개발하고자 우선 심혈관 질환과 노화 관련 생리기능성 중 전보에서는 다양한 버섯으로부터 항고혈압성 안지오펜신전환효소(ACE) 저해물질의 탐색(이 등, 2003)과 이들의 특성을 규명(Lee *et al.*, 2004) 하였고 배지와 배양조건이 검은비늘버섯의 균사 생장에 미치는 영향을 검토 하였다(이 등, 2005). 본 연구에서는 농업과 학기술훈과 인천대학 버섯종균은행 및 전국 각지에서 수집된 116균주의 비늘버섯 속균 중 인공배양을 통하여 얻어진 63균주 자실체를 물과 메탄올로 추출하여  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl(HMG)-CoA reductase 저해활성과 혈전용해 활성 등의 심혈관 질환 관련 생리기능성과 노화 관련 생리기능성으로 항산화 활성, superoxide dismutase (SOD) 유사활성, tyrosinase 저해 활성 등을 측정하여 우수 버섯을 선정 한 다음, 우수 기능성물질의 추출 최적 조건을 검토 하였다.

## 재료 및 방법

### 버섯, 효소 및 시약

농업과학기술원으로부터 31균주, 인천대학 버섯 종균은행에서 8균주, 일본 후쿠오카 임업 시험장에서 1균주의 비늘버섯 자실체를 분양 받고 국내에서 23균주의 비늘버섯 자실체들을 수집하여 이들의 인공재배를 통하여 생산된 63주의 자실체들을 시료로 사용하였다.

HMG-CoA reductase는 Purdue대학으로부터 분양받은 pKFT7-21 plasmid를 *E. coli* BL21(DE3)에 형질전환시킨 후 배양하여 사용하였으며, elastase는 돼지로부터 생산된 Sigma사(St. Louis, Mo, USA)제품을 사용하였다. 또한 fibrin, folin 시약, 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), azocasein, DOPA, pyrogallol 등은 Sigma사(St. Louis, Mo, USA)제품을 사용하였고 그 밖에 각종 시약은 분석용 특급을 사용하였다.

### 추출물의 제조

63종의 비늘버섯 자실체 분말들의 추출은 다음과 같이 실시하였다. 즉, 각각의 비늘버섯 자실체 분말에 증류수 (1 : 40)를 가한 후 30°C에서 200 rpm으로 12시간 동안 진탕한 후 이 추출액을 15,000×g로 10분간 원심 분리하여 상등액을 얻고 Whatman No. 2로 여과한 다음 동결 건조하여 물 추출 시료로 하였다. 또한 분말시료에 70%의 메탄올을 1 : 20의 비율로 첨가하여 30°C에서 200 rpm으로 12시간 동안 진탕한 후 15,000×g로 10분간 원심 분리하여 상등액을 얻고 이를 Whatman No. 2로 여과 한 후 rotary evaporator로 유기용매를 제거한 다음 동결 건조하여 메탄올 추출 시료로 하였다. 이와 같이 추출한 시료를 HMG-CoA reductase 저해활성 측정에는 100  $\mu$ g을 사용

하였고 여타의 생리 기능성 측정에는 1 mg을 사용하였다.

### 생리기능성 측정

혈전용해 활성은 Fayek and El-Sayed(1980)의 방법을 일부 변형시켜 먼저 0.6% fibrin 용액 3 ml에 시료 농축액 500  $\mu$ l를 첨가하여 40°C에서 10분간 반응시킨 후 0.4 M TCA 용액 3 ml를 첨가하여 반응을 정지시키고 여과하였다. 이 여과액 중의 tyrosine량을 1 N folin 시약으로 발색시켜서 정량하였으며 이때 효소 1 unit는 농축 시료액 1  $\mu$ l가 1분 동안 tyrosine 1  $\mu$ g을 생산하는 활성으로 하였다.

HMG-CoA reductase 저해활성은 50 mM potassium phosphate 완충용액(pH 7.0) 100  $\mu$ l, 2 mM DTT 100  $\mu$ l, 0.4 mM  $\beta$ -NADPH 100  $\mu$ l, HMG-CoA reductase 조효소액 100  $\mu$ l에 0.3 mM HMG-CoA 100  $\mu$ l와 각 추출물 100  $\mu$ l를 넣은 후 3분간 340 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다(Ha *et al.*, 1998). 이와 동시에 HMG-CoA 대신 증류수를 가한 것을 대조구로 반응시킨 후 흡광도의 변화를 비교하여 활성을 계산하였다.

항산화 활성은 DPPH에 대한 환원력(전자공여능)을 이용하는 방법으로 측정하였다(Blois, 1998). 즉, 농축 시료액 0.2 ml에 DPPH 용액(DPPH 12.5 mg을 EtOH 100 ml에 용해) 0.8 ml를 가한 후 10분간 반응시키고 525 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 무첨가 대조구의 값과 비교하여 활성을 계산하였다.

SOD-유사활성은 Marklund and Marklund(1974)의 방법을 이용하여 먼저 농축 시료액 20 ml에 55 mM Tris-cacodylic acid 완충용액(TCB, pH 8.2)를 가하여 균질화하고 원심분리하여 얻은 상등액을 pH 8.2로 조정 한 후 TCB를 사용하여 50 ml로 조정하여 시료액으로 사용하였다. 시료액 950  $\mu$ l에 50  $\mu$ l 24 mM pyrogallol을 첨가하여 420 nm에서 초기 2분간의 흡광도 증가율을 측정하여 시료액 무첨가 대조구와 비교하여 활성을 계산하였다.

Elastase 저해활성은 50 mM Tris-Cl 완충용액(pH 8.0) 215  $\mu$ l에 농축 시료액 100  $\mu$ l, elastase 10  $\mu$ l(1 U)와 기질인 azocasein 75  $\mu$ l를 첨가하여 37°C에서 60분간 반응시켰다. 여기에 15% TCA 용액 600  $\mu$ l를 첨가하여 반응을 정지시킨 다음 여과하여 440 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 무첨가 대조구의 값과 비교하여 활성을 계산하였다(Cho, 1999).

Tyrosinase 저해활성은 농축 시료액 500  $\mu$ l에 5 mM L-DOPA 0.2 ml, 0.1 M sodium phosphate 완충용액(pH 6.0)를 혼합한 후 tyrosinase 11 U을 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시킨 다음 475 nm에서 흡광도를 측정하여 시료액 무첨가 대조구의 값과 비교하여 활성을 계산하였다(Sun and Cho, 1992).

### 버섯의 영양 성분 분석

시료버섯의 단백질 함량은 AOAC법(Anonymous, 1990)

에 따라 Kjeldahl법으로 정량하였고 무기질은 회화 후 원 자흡광 분광분석기와 ICP로 분석하였으며 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> 및 Niacin 함량은 Thiochrome 법, AOAC 방법 및 Koning reaction 법으로 각각 정량하였다. 또한  $\beta$ -glucan의 함량은 AOAC 분석 방법에 따라 실시하였고, 아미노산 조성은 상법에 따라 전처리 하고 Water Acc Q · Fluor™ 시약을 사용하여 유도체화 한 후 역상 HPLC로 분리한 다음 형광 검출기로 정량하였다.

## 결과 및 고찰

### 비늘버섯의 혈전용해 활성과 HMG-CoA Reductase 저해활성

수집 및 분양 받아 본 연구에 공시한 비늘버섯 중 인공 재배를 통하여 생산된 63 균주의 자실체에 대한 물과 메탄올 추출물들의 생리 기능성을 조사 한 결과 혈전용해 활성은 *P. adiposa* PAD-030 균주의 메탄올 추출물이

**Table 1.** Physiological functionality of various extract from *Pholiota* sp.

| Species/<br>Origin      | No.                   | HMG                          |   |                          |                             |  |  |
|-------------------------|-----------------------|------------------------------|---|--------------------------|-----------------------------|--|--|
|                         |                       | Fibrinolytic<br>activity (U) | CoA-reductase<br>inhibitory<br>activity (%) | SOD-like<br>activity (%) | Antioxidant<br>activity (%) | Elastase<br>inhibitory<br>activity (%) | Tyrosinase<br>inhibitory<br>activity (%) |
|                         |                       | D.W. <sup>a</sup> /MeOH      | D.W./MeOH                                   | D.W./MeOH                | D.W./MeOH                   | D.W./MeOH                              | D.W./MeOH                                |
| <i>Pholiota adiposa</i> |                       |                              |   |                          |                             |  |  |
| PAD-001                 | 04-0531 (Odaesan)     | n.d <sup>b</sup> /n.d        | n.d/5.6                                     | 5.4/n.d                  | 63.6/17.3                   | 6.1/n.d <sup>2</sup>                   | 12.5/6.4                                 |
| PAD-002                 | IUM 00132             | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | n.d/n.d                  | 23.9/1.3                    | 3.9/n.d                                | 13.8/n.d                                 |
| PAD-003                 | IUM 00260             | n.d/n.d                      | 4.6/n.d                                     | n.d/0.12                 | 9.1/13.6                    | 6.4/n.d                                | 9.1/n.d                                  |
| PAD-004                 | IUM 00437             | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 6.4/n.d                  | 24.9/4.7                    | 5.9/n.d                                | 7.6/57.7                                 |
| PAD-005                 | IUM 00613             | n.d/n.d                      | 7.4/n.d                                     | 22.1/n.d                 | 64.6/18.9                   | 2.3/n.d                                | n.d/22.4                                 |
| PAD-006                 | IUM 00815             | n.d/n.d                      | 37.8/43.5                                   | n.d/n.d                  | 61.6/44                     | 10.3/n.d                               | 0.2/16.4                                 |
| PAD-007                 | IUM 00819             | n.d/n.d                      | 42.5/n.d                                    | 4.1/n.d                  | 68.1/7.7                    | 6.2/n.d                                | 4.5/14.3                                 |
| PAD-008                 | IUM 00820             | n.d/n.d                      | n.d/18.2                                    | 23.4/17.6                | 35.5/8.5                    | n.d/n.d                                | 18.2/21.3                                |
| PAD-009                 | IUM 00909             | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | n.d/2.4                  | 16.1/7.4                    | 9.0/n.d                                | 5.0/14.8                                 |
| PAD-011                 | 04-0614 (Chiaksan)    | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 9.0/n.d                  | 20.4/24.1                   | 9.5/n.d                                | 1.8/3.1                                  |
| PAD-013                 | G1674                 | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 6.6/8.4                  | 62.5/5.2                    | 6.8/n.d                                | 54.0/n.d                                 |
| PAD-014                 | G1861                 | n.d/n.d                      | n.d/35.8                                    | n.d/n.d                  | 24.2/7.4                    | 15.8/n.d                               | 44.4/38.6                                |
| PAD-015                 | G2362                 | n.d/n.d                      | 25.9/n.d                                    | 18.0/n.d                 | 54.7/66.7                   | 34.2/n.d                               | 42.7/33.1                                |
| PAD-016                 | G3101                 | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 37.2/n.d                 | 71.1/20                     | 46.7/n.d                               | 42.8/20.1                                |
| PAD-017                 | A6734                 | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 0.4/n.d                  | 20.2/31.6                   | 4.5/n.d                                | 46.0/11.0                                |
| PAD-018                 | ASI24004              | 1.3/n.d                      | n.d/10.5                                    | n.d/n.d                  | 7.0/7.5                     | n.d/5.2                                | n.d/7.8                                  |
| PAD-019                 | ASI24010              | 1.8/n.d                      | 9.0/n.d                                     | n.d/n.d                  | 66.1/10.2                   | n.d/n.d                                | 8.0/7.1                                  |
| PAD-020                 | ASI24012              | 1.1/n.d                      | n.d/n.d                                     | n.d/10.2                 | 4.7/21.4                    | n.d/8.4                                | 4.2/6.5                                  |
| PAD-021                 | ASI24013              | n.d/6.5                      | 42.8/n.d                                    | 0.9/2.5                  | 42.7/10                     | n.d/n.d                                | 11.5/14.5                                |
| PAD-022                 | ASI24018              | 1.2/n.d                      | n.d/76.8                                    | n.d/n.d                  | 20.1/n.d                    | n.d/16.2                               | 5.3/26.5                                 |
| PAD-023                 | ASI24022              | 1.0/n.d                      | n.d/15.5                                    | n.d/5.1                  | 7.0/3.1                     | n.d/5.6                                | 12.7/11.3                                |
| PAD-024                 | ASI24024              | 0.9/n.d                      | 3.1/18.1                                    | n.d/n.d                  | 23.3/9.6                    | n.d/7.8                                | 8.5/20.2                                 |
| PAD-025                 | A7365                 | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 3.2/1.6                  | 24.5/65                     | 44.1/n.d                               | 45.3/24.4                                |
| PAD-026                 | A7380                 | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | n.d/n.d                  | 23.6/6.4                    | 8.6/n.d                                | 9.1/28.9                                 |
| PAD-027                 | A7439                 | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 2.1/n.d                  | 55.2/12                     | 8.2/n.d                                | 1.3/7.4                                  |
| PAD-028                 | A7969                 | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | n.d/3.7                  | 16.1/8.4                    | 2.8/n.d                                | 19.4/9.2                                 |
| PAD-029                 | A9520                 | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | n.d/3.9                  | 36.3/13.2                   | 3.6/n.d                                | 69.4/18.7                                |
| PAD-030                 | Yen-2                 | n.d/11.5                     | n.d/n.d                                     | 28.8/4.9                 | 36.9/33                     | 9.8/n.d                                | 42.4/11.2                                |
| PAD-031                 | ASI24001              | 0.6/n.d                      | n.d/25.5                                    | n.d/n.d                  | 28.1/30                     | n.d/20.1                               | n.d/8.2                                  |
| PAD-032                 | ASI24029              | n.d/n.d                      | 19.2/n.d                                    | n.d/0.9                  | 28.6/68                     | 17.4/n.d                               | 25.2/24.6                                |
| PAD-033                 | ASI24030              | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | n.d/n.d                  | 31.9/7.4                    | 3.2/n.d                                | 15.4/14.8                                |
| PAD-034                 | ASI24003              | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 15.9/14.5                | 14.3/10.3                   | n.d/n.d                                | 15.7/10.1                                |
| PAD-035                 | ASI24027              | 0.8/n.d                      | 24.1/51.5                                   | n.d/n.d                  | 42.3/16.1                   | n.d/7.5                                | 9.3/5.3                                  |
| PAD-036                 | 04-1010 (Shitake log) | n.d/n.d                      | 25.7/n.d                                    | 35.7/n.d                 | 69.4/38                     | n.d/n.d                                | 18.2/22.3                                |
| PAD-037                 | 04-1029 (Shitake log) | n.d/n.d                      | n.d/25.4                                    | 6.3/n.d                  | 18.7/6.8                    | n.d/n.d                                | 17.4/20.6                                |
| <i>Pholiota nameko</i>  |                       |                              |   |                          |                             |  |  |
| PNA-002                 | G2041&A5008           | n.d/1.1                      | 5.8/18.8                                    | 42.6/12.4                | 12.3/n.d                    | n.d/n.d                                | 17.3/19.8                                |
| PNA-008                 | A7529                 | n.d/n.d                      | 26.5/n.d                                    | n.d/4.0                  | 31.4/6.2                    | n.d/n.d                                | 13.3/11.0                                |
| PNA-009                 | A7539                 | n.d/n.d                      | n.d/26.4                                    | n.d/0.7                  | 15.1/8.4                    | n.d/n.d                                | 14.2/37.9                                |
| PNA-010                 | ASI24037              | n.d/n.d                      | 17.7/51.3                                   | 21.4/10.7                | 14.7/27.9                   | 0.5/n.d                                | 5.1/9.1                                  |
| PNA-014                 | ASI5007               | n.d/n.d                      | n.d/22.5                                    | n.d/n.d                  | 18.3/5.6                    | n.d/n.d                                | 14.1/11.9                                |
| PNA-015                 | ASI5012               | n.d/2.5                      | n.d/21.1                                    | 20.9/14.6                | 27.6/18                     | n.d/n.d                                | 8.4/18.1                                 |
| PNA-019                 | ASI5020               | n.d/1.8                      | n.d/46.2                                    | 29.5/13.3                | 45.5/20.8                   | n.d/0.5                                | 35.5/5.2                                 |
| PNA-024                 | ASI5011               | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | n.d/n.d                  | 17.1/23                     | n.d/n.d                                | 11.0/69.5                                |
| PNA-025                 | ASI5017               | 0.9/n.d                      | n.d/n.d                                     | 9.4/4.0                  | 6.1/1.6                     | n.d/1.7                                | n.d/n.d                                  |

Table 1. Continued

| Species/<br>Origin            | No.       | HMG                          |   |                          |                             |  |  |
|-------------------------------|-----------|------------------------------|---|--------------------------|-----------------------------|--|--|
|                               |           | Fibrinolytic<br>activity (U) | CoA-reductase<br>inhibitory<br>activity (%) | SOD-like<br>activity (%) | Antioxidant<br>activity (%) | Elastase<br>inhibitory<br>activity (%) | Tyrosinase<br>inhibitory<br>activity (%) |
|                               |           | D.W. <sup>a</sup> /MeOH      | D.W./MeOH                                   | D.W./MeOH                | D.W./MeOH                   | D.W./MeOH                              | D.W./MeOH                                |
| <i>Pholiota</i> sp.           |           |                              |   |                          |                             |  |  |
| PSP-001                       | A6874     | n.d/n.d                      | 26.2/28.8                                   | 1.6/6.1                  | 11.5/4.6                    | n.d/0.2                                | 63.9/42.8                                |
| PSP-004                       | A6874     | n.d/n.d                      | 24.1/n.d                                    | n.d/3.6                  | 9.8/6.3                     | n.d/n.d                                | n.d/9.8                                  |
| PSP-010                       | A9818     | n.d/n.d                      | 18.7/n.d                                    | n.d/n.d                  | 14.6/30                     | 21.8/n.d                               | 60.9/1.8                                 |
| PSP-014                       | Joyang-19 | n.d/1.9                      | n.d/26.3                                    | 22.2/7.3                 | 4.1/6.9                     | n.d/n.d                                | 16.4/15.9                                |
| PSP-015                       | Joyang-20 | n.d/3.2                      | 19.9/n.d                                    | 9.3/n.d                  | 72.7/4.4                    | 91.0/n.d                               | 43.1/n.d                                 |
| PSP-019                       | ASI24008  | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 32.4/2.3                 | 61.5/15.1                   | 2.4/n.d                                | 10.1/19.3                                |
| <i>Pholiota squarrosa</i>     |           |                              |   |                          |                             |  |  |
| PSQ-001                       | ASI24006  | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 0.9/n.d                  | 48.4/15.8                   | n.d/n.d                                | 50.8/n.d                                 |
| PSQ-002                       | ASI24002  | 2.4/n.d                      | 11.2/n.d                                    | 3.6/n.d                  | 24.2/n.d                    | n.d/9.8                                | n.d/19.3                                 |
| PSQ-003                       | ASI24005  | n.d/n.d                      | 10.5/n.d                                    | n.d/n.d                  | 13.1/n.d                    | n.d/10.2                               | 3.0/16.3                                 |
| PSQ-004                       | ASI24007  | n.d/1.6                      | 14.5/n.d                                    | n.d/n.d                  | 22/6.8                      | n.d/16.1                               | 12.2/13.2                                |
| PSQ-005                       | ASI24009  | n.d/n.d                      | n.d/41.1                                    | 32.2/13.4                | 71.1/44.4                   | 1.1/8.7                                | 7.5/n.d                                  |
| PSQ-006                       | ASI24025  | n.d/n.d                      | n.d/n.d                                     | 0.9/n.d                  | 41.1/11.6                   | n.d/n.d                                | 18.7/3.3                                 |
| PSQ-008                       | A11855    | n.d/n.d                      | 15.2/19.9                                   | 19.1/10.6                | 42/7.2                      | n.d/n.d                                | 8.1/12.0                                 |
| <i>Pholiota flammans</i>      |           |                              |   |                          |                             |  |  |
| PFL-001                       | A5993     | n.d/n.d                      | 23.5/n.d                                    | 9.3/10.3                 | 44.2/70.8                   | 0.8/0.3                                | 11.1/23.9                                |
| <i>Pholiota highlandensis</i> |           |                              |   |                          |                             |  |  |
| PHI-001                       | ASI24011  | n.d/n.d                      | 29.5/n.d                                    | 3.7/7.9                  | 38.9/10.6                   | 7.3/n.d                                | 7.7/n.d                                  |
| PHI-002                       | ASI24020  | n.d/n.d                      | 18.8/n.d                                    | 9.3/7.1                  | 71.8/20.1                   | n.d/n.d                                | 9.2/n.d                                  |
| <i>Pholiota malicola</i>      |           |                              |   |                          |                             |  |  |
| PMA-001                       | ASI24015  | n.d/4.8                      | n.d/24.5                                    | 15.2/2.9                 | 41.4/10.6                   | n.d/n.d                                | 2.2/18.0                                 |
| <i>Pholiota squarrosoides</i> |           |                              |   |                          |                             |  |  |
| PSP-001                       | G0723     | n.d/n.d                      | n.d/11.3                                    | 23.5/9.4                 | 71.8/61.7                   | 2.5/n.d                                | 4.9/13.6                                 |
| <i>Pholiota terrestris</i>    |           |                              |   |                          |                             |  |  |
| PTE-002                       | ASI24017  | n.d/n.d                      | 37.5/n.d                                    | n.d/n.d                  | 12.2/14.5                   | n.d/3.8                                | 12.5/8.6                                 |

<sup>a</sup>D.W. : extract, MeOH extract.

<sup>b</sup>n.d : not detected.

11.5 U로 제일 높은 활성을 보였고 *P. adiposa* PAD-021 균주와 *P. malicola* PMA-001 균주의 메탄올 추출물 등에서 활성을 나타내었으나 종간 또는 종내 균주간에 큰 차이 없이 대체로 미약하거나 활성을 보이지 않았다(Table 1). 이 결과들은 잎새버섯이나 차가버섯 등의 혈전용해 활성(박 등, 2003)보다 높은 결과 이었고 버섯의 혈전용해 활성에 관한 연구로 김 등(2005)은 종이꽃낙엽버섯이 plasmin 0.75 units의 112%에 해당하는 피부린 분해 활성을 보였고 긴대안장버섯은 60%, 장수버섯은 40%, 돌여우버섯은 39%, 자주방망이버섯(아재비, *Oudemansiella* sp.와 *Psathyrella* sp. 등이 각각 41%, 26%, 49%의 피부린 분해 활성을 보였다고 보고 하였다. 또한 최 등(2005)도 뽕나무버섯 균사체 배양시 윗피, 가시오가피 가지, 홍삼박 등을 첨가 하였을 때 혈전 분해 활성이 59~65% 증가 되었다고 보고 한바 있다. 그 밖에도 할미송이 버섯(김, 2000)과 뽕나무 버섯(김·김, 1998) 중의 혈전용해 효소의 정제 및 특성 연구, 최 등(1999)의 혈전용해능을 갖는 버섯류의 탐색, 김 등(1998)의 치악산버섯 추출물로부터 피부린 분해 활성의 검색 등이 있다. 이상의 연구보고들을

종합하여 볼 때 비늘버섯을 포함하는 많은 버섯들이 혈전 용해물질을 갖고 있으며 따라서 새로운 기능성 식품의 중요한 재료로 버섯이 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

한편, 본 연구 결과를 버섯 이외의 천연물과 비교 하였을 때 김치 발효 중에 생성된 젖산(Hwang, 1991; Jeong *et al.*, 1995)과 미늘과 양파 생체대사 중에 생성하는 ajoene (Srivastava *et al.*, 1995) 및 고춧가루, 무, 미나리, 부추, 파(Kim *et al.*, 1998) 등이 나타내는 혈전용해 활성보다 낮은 활성 이었다.

각종 비늘버섯 추출물들의 콜레스테롤 합성 경로에서 제일 중요한 반응 조절 효소인 HMG-CoA reductase에 대한 저해활성을 조사한 결과 *P. adiposa* PAD-022 균주의 메탄올 추출물이 76.8%로 가장 높은 활성을 보였고 *P. adiposa* PAD-035 균주와 *P. nameko* PNA-010 균주의 메탄올 추출물도 50% 이상의 비교적 높은 활성을 보였다. 또한, *P. adiposa*에서는 PAD-006, 007과 014와 021 균주들이 30% 이상의 활성을 보였고 *P. nameko*에서는 PNA-019의 메탄올 추출물에서 46.2%의 비교적 높은 활성을 보였으나 여타의 종에서는 없거나 20% 미만의 낮은 활성을

보여 본 생리 기능성 물질의 생성에 종간의 뚜렷한 특이성을 보였다. 이들 중, HMG-CoA reductase 저해활성이 우수한 *P. adiposa* PAD-022와 *P. nameko* PNA-010 등의 추출물들은 고지혈증 예방을 위한 대체 의약이나 건강식품의 신소재로 충분히 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

**SOD 유사활성과 항산화 활성**

노화 억제에 관련된 생리기능성으로는 항산화활성과 SOD 유사활성을 들 수 있다(김 등, 2003). 지금까지 알려진 항산화물로는 SOD, catalase, peroxidase 등의 항산화 효소와 vitamin E, vitamin C, glutathione, ubiquinone, 요산 등이 있는데 현재 사용되고 있는 항산화제로는 단지 tert-butylhydroxytoluene(BHT), tertbutylhydro-xyanisol (BHA) 등과 같은 합성 항산화효소들뿐이다(Kim et al., 1999; Lee et al., 2001). 따라서 보다 안전하면서 강한 항산화력을 갖고 있는 비늘버섯을 선별하고자 이들 비늘버섯에 대한 각 추출물들의 SOD 유사활성과 항산화 활성을 조사하였다(Table 1).

먼저 SOD 유사활성은 *P. adiposa*에서는 PAD-016 균주의 물 추출물에서 37.2%를 보여 비교적 높았고 *P. nameko*에서는 PNA-002의 물 추출물이 42.6%로 시료버섯 추출물 중 제일 높았으며 *Pholiota* sp.에서는 PSP-019, *P. squarrosa*에서는 PSQ-005의 물 추출물에서 각각 32.4%, 32.2%로 높았다. 그러나 여타의 시료버섯에서는 대체로 활성이 미약하여 종간에 차이가 뚜렷하였고 다른 노화관련 생리기능성인 항산화 활성에 비하여 매우 낮은 활성 이었다. 또한, 대체로 메탄올 추출물 보다는 물 추출물에서 비교적 높은 활성을 보여 비늘버섯에 함유되어 있는 SOD 유사 활성물질은 대부분 수용성인 것으로 추정된다.

항산화 활성은 *Pholita* sp. PSP-015 균주와 *P. squarrosa* PSQ-005, *P. squarrosoides* PSP-001의 물 추출물에서 각각 72.7%, 71.1%, 71.8%의 비교적 높은 활성을 보였고 *P. flammans* PFL-001 균주의 메탄올 추출물에서도 70.8%의 높은 활성을 보였으며 종간에 큰 차이 없이 대부분의 비늘버섯 추출물에서 활성을 보였다. 따라서 대부분의 식물에 함유 되어 있으면서 항산화 활성을 나타내는

것으로 알려진 알칼로이드나 사포닌 계통의 물질(현 등, 2003)들이 비늘버섯에도 함유되어 있는 것으로 추정되어 현재 이들을 분리, 정제 중에 있다.

**Elastase 저해활성과 tyrosinase 저해활성**

피부 노화 방지 특히 주름살 생성 억제에 관련된 elastase 저해활성을 조사한 결과 *P. adiposa* PAD-016과 PAD-025 균주의 물 추출물에서 각각 46.7%와 44.1%를 보였고 *Pholiota* sp. PSP-010의 물 추출물에서 21.8%의 활성을 보였을 뿐 대체로 모든 비늘버섯의 추출물에서 elastase 저해활성이 없거나 10% 미만으로 낮았다.

또한, 피부 미백 즉 melanin 합성 억제에 관련된 tyrosinase 저해활성은 *P. nameko* PNA-024균주의 메탄올 추출물과 *P. adiposa* PAD-029균주의 물 추출물에서 각각 69.5%와 69.4%로 비교적 높은 활성을 보였고, *Pholiota* sp. PSP-001와 PSP-010 균주의 물 추출물에서도 63.9%와 60.9%의 비교적 높은 활성을 보였다. 대체로 *P. adiposa* 균주들의 추출물들이 나머지 균주들의 추출물 보다 높은 활성을 보였고 메탄올 추출물 보다는 물 추출물에서 활성이 대부분 높았다.

**우수버섯의 선정 및 HMG-CoA reductase 저해물질 추출조건**

이상의 실험결과들을 종합하여 볼 때 비늘버섯 추출물 전체 시료 중 *P. adiposa* PAD-022 균주의 메탄올 추출물의 HMG-CoA reductase 저해 활성이 76.8%로 가장 높아서 최종적으로 우수 비늘버섯 시료로 선발 하였다.

시료버섯의 영양성분을 분석한 결과 Table 2, 3과 같이 조단백질 함량은 23.0%이었고 무기질에서는 K를 가장 많이(3197 mg/100 g) 함유하고 있었으며, 비타민 B<sub>2</sub>는 2.64 mg/100 g, β-glucan은 0.37±0.04%를 함유 하고 있었다. 또한 아미노산에서는 아르기닌(420.3 mg/100 g)과 글루타민산(311.1 mg/100 g)을 비교적 많이 함유하고 있었다.

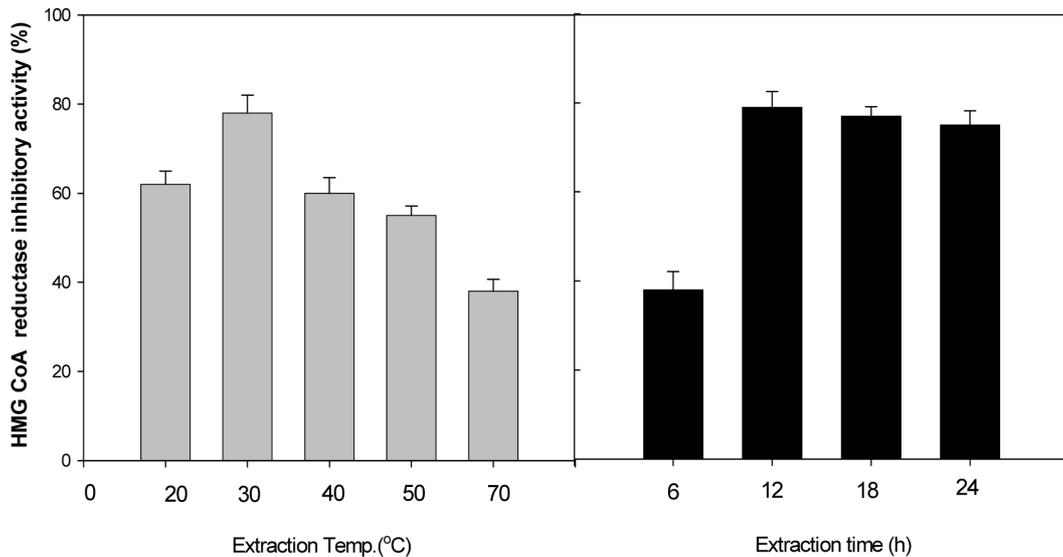
한편 최종 선발된 *P. adiposa* PAD-022 균주로부터 HMG-CoA reductase 저해물질의 최적 추출조건을 조사한 결과 Fig. 1과 같이 메탄올을 용매로 하여 30°C에서 12시간 추

**Table 2.** Nutritional components of the selected mushroom, *P. adiposa* PAD-022

| Crude protein (%) | Minerals (mg/100 g) |      |     |     |     |     |       | Vitamins (mg/100 g) |                |        | β-Glucan (% w/w) |
|-------------------|---------------------|------|-----|-----|-----|-----|-------|---------------------|----------------|--------|------------------|
|                   | Ca                  | K    | Na  | Zn  | Mg  | Fe  | P     | B <sub>1</sub>      | B <sub>2</sub> | Niacin |                  |
| 23.0              | 13.0                | 3197 | 321 | 5.4 | 127 | 5.1 | 817.6 | 1.24                | 2.64           | 1.65   | 0.37±0.04        |

**Table 3.** Amino acid contents of the selected mushroom, *P. adiposa* PAD-022 (mg/100 g)

| Asp   | Ser   | Glu   | Gly  | His  | Arg   | Thr   | Ala  | Pro   | Tyr   | Val  | Met  | Lys  | Ile  | Leu  | Phe   |
|-------|-------|-------|------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|------|------|------|------|-------|
| 171.8 | 192.5 | 311.1 | 97.9 | 203  | 420.3 | 189.2 | 7.8  | 137.9 | 234.6 | 13.5 | 11.4 | 47.9 | 50.3 | 41.9 | 246.9 |
| ±7.1  | ±4.6  | ±3.2  | ±5.1 | ±6.6 | ±5.4  | ±10.3 | ±0.5 | ±12.1 | ±4.7  | ±0.3 | ±0.2 | ±8.4 | ±1.1 | ±4.9 | ±11.2 |



**Fig. 1.** Effect of extraction temperature and time on the HMG-CoA reductase inhibitory activity of methanol extracts from *P. adiposa* PAD-022.

출하였을 때 가장 높은 HMG-CoA reductase 저해활성을 보였다.

## 적 요

비늘버섯에 함유되어 있는 몇 가지 심혈관 질환과 노화 예방 관련 생리 기능성 물질을 탐색하여 고부가가치의 건강 제품을 개발하고자 먼저 전국 각지에서 수집하고, 농업과학기술원, 인천대학 버섯 중균 은행 등으로부터 분양 받은 비늘버섯 균주들을 인공 재배하여 63 균주의 자실체를 생산하였다. 이들 자실체들의 물과 메탄올 추출물을 각각 제조한 후 각종 생리 기능성을 조사 한 결과, 혈전용해 활성은 *P. adiposa* PAD-030 균주의 메탄올 추출물이 11.5 U, HMG-CoA reductase 저해활성은 *P. adiposa* PAD-022 균주의 메탄올 추출물이 76.8%로 가장 높았다. 항산화 활성과 tyrosinase 저해활성은 각각 *Pholiota* sp. PSP-015 균주의 물 추출물과 *P. nameko* PNA-024의 메탄올 추출물이 각각 72.7%, 69.5%로 우수하였다. 그러나 SOD 유사활성과 elastase 저해활성은 대부분의 비늘버섯 추출물에서 미약하거나 없었다. 위와 같이 조사된 몇 가지 생리 기능성 중 가장 우수한 활성을 보인 것은 *P. adiposa* PAD-022 균주 자실체의 메탄올 추출물의 HMG-CoA reductase 저해활성이었으며 이 저해 물질은 자실체 분말을 메탄올로 30°C에서 12시간 진탕 시켰을 때 가장 많이 추출 되었다.

## 감사의 글

본 연구는 농림기술센터(ARPC)에서 지원한 “비늘버섯류의 안정적 생산 기술 및 실용화 연구(경종작물 204037-

3, 2004-2007)”의 일부 결과이며 연구비 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 김동희, 이국영, 김나미, 이종수. 2003. 단메밀과 콩 추출물들의 생리 기능성. 한국식품영양학회지 **16**: 329-334.
- 김준호. 2000. 할미송이버섯으로부터 혈전용해효소의 정제 및 특성 연구. 한국균학회지 **28**: 60-65.
- \_\_\_\_\_, 김양선. 1998. 뽕나무버섯으로부터 fibrinolytic enzyme의 정제 및 특성 연구. 한국균학회지 **26**: 583-588.
- \_\_\_\_\_, 이호용, 유관희, 김양선, 석순자, 김양섭. 1998. 치약산버섯 추출물로부터 fibrin 분해활성의 검색. 한국균학회지 **26**: 589-593.
- \_\_\_\_\_, 유관희, 석순자, 김양섭. 2005. 칠갑산야생버섯 추출물로부터 혈전용해 효소의 활성 검색. 한국균학회지 **33**: 18-21.
- 박정식, 현광욱, 서승보, 조수목, 유창현, 이종수. 2003. 버섯류로부터 혈소판 응집억제물질 과 혈전용해물질의 탐색. 한국균학회지 **31**: 114-116.
- 성재모, 유영복, 차동열. 2000. 버섯학. 교학사(서울, Korea)
- 이대형, 김재호, 정종천, 공원식, 유영복, 박정식, 유창현, 이종수. 2003. 각종 버섯류로부터 안지오텐신 전환효소 저해제의 탐색. 한국균학회지 **31**: 148-154.
- 이병석, 서건식, 이종수. 2005. 배지와 배양 조건이 검은비늘버섯의 균사 성장에 미치는 영향. 현장농업연구지 **7**(1): 74-80.
- 최한식, 서승엽, 김승호. 1996. 혈전용해능을 갖는 버섯류의 탐색. 한국식품과학회지 **31**: 553-557.
- 최한식, 김명곤, 박효숙, 김재성, 김성준. 2005. 식물 유래물질이 뽕나무버섯(*Armillaria mellea*) 균사체 생장 및 혈전 분해 활성에 미치는 영향. 한국균학회지 **33**: 11-17.
- 현광욱, 김재호, 송기진, 이종복, 장정호, 김영선, 이종수. 2003. 온실재배와 노지재배한 금 산 갯잎의 생리기능성. 2003. 한국식품과학회지 **35**: 975-979.
- Anonymous. 1990. Official methods analysis of the association of official analytical chemists, 15th ed., Assoc. of official analytical chemist, Washington D.C. U.S.A.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by use of stable free

- radical. *Nature* **191**: 1199-1201.
- Cho, J. J. 1999. Isolation and characterization of elastase inhibitor from *Areca catechu*. M. S. thesis, Chungbuk National Univ., Chungbuk, Korea.
- Choi, N. S., Seo, S. Y. and Kim, S. H. 1999. Screening of mushrooms having fibrinolytic activity. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**: 553-557.
- Erkel, G. and Anke, T. 1992. Antibiotics from bASI diomycetes XLI, Clavicornic acid, a novel inhibitor of reverse transcriptase from *Clavicornia pyxidate*. *J. Antibiotics* **45**: 29-37.
- Fayek, K. I. and El-Sayed, S. T. 1980. Purification and properties of fibrinolytic enzyme from *Bacillus subtilis*. *Zeit. für Allgem. Mikrobiol.* **20**: 375-382.
- Ha, T. Y., Cho, I. J. and Lee, S. H. 1998. Screening of HMG-CoA reductase inhibitory activity of ethanol and methanol extracts from cereals and legumes. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **30**: 224-229.
- Hwang, I. J. 1991. Ernährungswissenschaftliche Wirkungen laktofermentierter Kohlgemüse: Einfluss regelmäßiger Aufnahme von Sauerkraut und Kimchi auf verschiedene Blutparameter. Ph.D. dissertation, Diss. Univ., Giessen Germany.
- Jeong, Y. K., Yang, E. S., Kang, J. W., Gong, I. S. and Kim, J. O. 1995. Fibrinolysis of fermented Kimchi. *Kor. J. Life Sci.* **5**: 203-210.
- Kabir, Y., Kimura, S. and Tamura, T. 1998. Dietary effect of *Ganoderma lucidum*: Mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats (SHR). *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **34**: 433-438.
- Kiho, T., Hui, J., Yamane, A. and Ukai, S. 1993. Polysaccharides in fungi. X X XII. Hypoglycemic activity and chemical properties of a polysaccharide from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Biol. Pharm. Bull.* **16**: 1291-1293.
- \_\_\_\_\_, Yamane, A., Hui, J., Usui, S. and Ukai, S. 1996. Polysaccharides in fungi, XXXVI. Hypoglycemic activity of a polysaccharide (CS-F30) from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis* and its effect on glucose metabolism in mouse liver. *Biol. Pharm. Bull.* **19**: 294-296.
- \_\_\_\_\_, Tsujimura, Y., Sakushima, M., Usui, S. and Ukai, S. 1994. Polysaccharides in fungi, XXXIII. Hypoglycemic activity of an acidic polysaccharide (AC) from *Tremella fuciformis*. *Yakugaku Zasshi.* **114**: 308-315.
- Kim, M. J., Song, Y. S. and Song, Y. O. 1998. The fibrinolytic activity of Kimchi and its ingredients *in vivo* and *in vitro*. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**: 633-638.
- Kim, S. M., Kim, E. J., Jo, Y. S. and Sung, S. K. 1999. Antioxidant activities of pine leaves extracts from different extraction methods. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**: 527-532.
- Lee, D. H., Kim, J. H., Park, J. S., Yoo, C. H. and Lee, J. S. 2004. Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum*. *J. Peptides* **4**: 621-627.
- Lee, G. Y., Kim, J. H., Sohn, J. R. and Lee, J. S. 2001. Detection and extraction condition of physiological functional compounds from bran of Heugjinju-byeo rice. 2001. *Kor. J. Post-harvest Sci. Technol.* **8**: 296-301.
- Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *J. Eur. Biochem.* **47**: 469-474.
- Mizuno, T., Kinoshita, T., Zhung, C., Ito, H. and Mayuzumi, Y. 1995. Antitumor activity of heteroglycans from niushimeji, *Tricholoma giganteum*. *Food Rev. International* **59**: 563-567.
- Muller, W. E. G., Weiler, B. E., Charubala, R. W. and Schroder, H. C. 1990. Cordycepin analogue of 2'5'-oligoadenylate inhibitor of human immunodeficiency virus infection via inhibition of reverse transcriptase. *Biochemistry* **30**: 2027-2033.
- Srivastava, K. C., Brodia, A. and Verma, S. K. 1995. Garlic (*Allium sativum*) for disease prevention. *South Afr. J. Sci.* **91**: 68-72.
- Sun, C. K. and Cho, S. H. 1992. Studies on the purification and characteristics of tyrosinase from *Diospyros kaki* Thunb. *Kor. J. Biochem.* **25**: 79-87.
- Yang, H. C., Song, C. H. and Kweon, M. H. 1996. Food New Material. Hanlimwon, Seoul. Pp 187-189.