

장수버섯 균사체가 배양된 옷피의 이화학적 특성 및 생리활성

최한석^{1*} · 김보현² · 여수환¹ · 정석태¹ · 최지호¹ · 박효숙³ · 김명곤⁴

¹농촌진흥청 국립농업과학원 발효이용과, ²전북대학교 식품공학과, ³원광대학교 농화학과, ⁴전북대학교 바이오식품공학과

Physicochemical Properties and Physiological Activities of *Rhus verniciflua* Stem Bark Cultured with *Fomitella fraxinea*

Han-Seok Choi^{1*}, Bo-Hyun Kim², Soo-Hwan Yeo¹, Seok-Tae Jeong¹, Ji-Ho Choi¹, Hyo-Suk Park³ and Myung-Kon Kim⁴

¹Fermentation and Food Processing Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-853

²Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju 561-756

³Department of Agricultural Chemistry, Wonkwang University, Iksan 570-749

⁴Department of Bio Food Technology, Chonbuk National University, Iksan 570-752

(Received November 12, 2010. Accepted December 10, 2010)

ABSTRACT: The contents of proximate composition, free amino acids and phenolic acids in the *Fomitella fraxinea* cultivated-*Rhus verniciflua* stem bark(FRVSB), and its adipogenesis effect were investigated. The proximate composition(%) of FRVSB was as follows: moisture(7.64), ash(6.30), crude fat(3.86), crude protein(3.59) and sugar(not detected); while *Rhus verniciflua* stem bark(RVSB) contained 1.64, 8.09, 7.28, 6.48 and 5.39, respectively. The total free amino acids concentration was 97.41 mg% in FRVSB and 71.91 mg% in RVSB. Phosphoserine(55.06 mg%), ammonia(17.84 mg%) and aspartic acid(6.05 mg%) were predominant amino acids. The content of total phenolic acids was 422.89 ppm in ethanol extract and 283.86 ppm in water extract, with syringic and gallic acid as the main component. The FRVSB extracts showed a potent free radical scavenging activity for DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate) with IC₅₀ of 28.54 µg(EtOH) and 54.70 µg(water), respectively, whereas IC₅₀ value of gallic acid was 1.84 µg. The protective effect of both ethanol and water extract the extracts against UV-induced oxidative stress in NIH3T3 was observed. The water extracts of FRVSB may promote adipogenesis in 3T3-L1 cells.

KEYWORDS : Adipogenesis, Anti-oxidant activity, *Fomitella fraxinea*, Proximate composition, *Rhus verniciflua*

서 론

옷나무과(Anacardiaceae)에 속하는 옷나무는 세계적으로 약 600여종이 존재한다. 우리나라에 자생하고 있는 참옷나무(*Rhus verniciflua* Stokes)는 동북아시아에 주로 분포하고 있으며 수 천년 전부터 칠기공업에 사용되어 왔다. 옷나무 피(껍질)는 당뇨병(Kim *et al.*, 2004) 및 위 관련 질병(Jung, 1998)을 치료하기 위한 한약재로 이용되어 왔으며 민간에서는 옷담이나 옷오리 등의 형태로 섭취하여 왔다. 최근에 들어 항산화(Lee *et al.*, 2001; Lim *et al.*, 2001), 항염증(Kim *et al.*, 2004), 항돌연변이성(Park *et al.*, 2004), 항종양(Yang *et al.*, 2005; Kitts and Lim, 2001), 항혈전(Jeon *et al.*, 2006) 활성 등의 다양한 생리활성이 있는 것으로 밝혀지면서 건강기능성 식품 및 의·약품 소재로서 많은 주목을 받고 있다. 충북 옥천군과 강원도 원주시는 각각 2005년과

2006년에 지식경제부로부터 옷 산업 특구로 지정받았으며, 옷을 고부가가치 산업으로 인식하고 연관 산업을 활성화시키기 위해 노력을 기울이고 있다.

그러나 옷나무는 피부발진을 동반한 가려움증과 수포발생 등의 allergy를 유발시키기 때문에 식품 및 의·약품소재로 활용하는데 걸림돌이 되고 있다. 우리는 버섯균의 lignolytic enzyme system에 의해 옷의 allergy유발성분인 urushiol이 저장될 수 있음을 제시하였으며, 장수버섯균주를 이용할 경우 93%까지 제거 가능한 것으로 확인하였다(Choi *et al.*, 2007). 또한, 장수버섯 배양 옷 추출물은 뇌의 신호전달 물질인 dopamine을 생성하는데 중요한 역할을 하는 tyrosine hydroxylase의 발현양을 증가시키며(Sapkota *et al.*, 2009) 항산화, 항균 및 당뇨와 관련되어 있는 α-glucosidase의 활성을 억제(Kim *et al.*, 2010)시키는 것으로 나타났다.

버섯균주의 이용은 화학물질 사용에 비하여 안전성 및 환경오염에 대한 우려가 적으며, 원료의 기능성 이외에 버섯이 가지고 있는 생리활성 및 향미성분을 부가시킬 수 있는

*Corresponding author <E-mail : coldstone@korea.kr>

장점이 있다. 본 연구는 장수버섯 배양 옷나무의 식·의약품 소재화를 위하여 일반성분을 조사하고 기능성을 검토하였다.

재료 및 방법

배양물의 제조

강원도 원주산 건조 옷나무 껍질을 2×2 cm로 잘라 하룻밤 동안 수침 시키고 850 µm체에서 30분 동안 잉여수분을 제거한 후 800 cc 종균병에 450 g씩 담은 다음 121°C에서 40분간 살균하였다. 그리고 Choi *et al.*(2007)의 방법에 따라 제조한 액체종균을 접종하고 25°C에서 20일간 배양한 다음 회수하여 동결건조 하였다. 균주는 전북대학교 바이오식품공학과에서 분리 보관중인 *Fomitella fraxinea* IK1을 사용하였다.

추출물의 조제

열수 추출물은 시료 무게의 10배 증류수를 첨가하고 환류 냉각장치를 부착한 다음 100°C에서 10시간 동안 추출한 것을 여과(No. 2)후 동결건조 하였다. 알코올 추출물은 시료무게의 5배 ethanol(70%)을 첨가하고 상온에서 10일동안 추출한 뒤 물 추출물과 동일하게 처리하여 사용하였다.

성분분석

일반성분

일반성분은 식품공전(2010)에 준하여 실시하였다.

Phenolic acid

동결건조된 시료 0.5 g에 10배(w/v)의 70% MeOH과 0.13 g/100 mL로 제조된 ISTD(2,3-dihydroxy butyric acid) 1 mL을 첨가한 후 상온에서 3시간 동안 추출하였다. 추출물을 원심분리(4°C, 5,000 rpm, 10 min)하여 상정액을 회수하고 여과(0.45 µm)한 다음 1 mL을 취하였다. 여기에 ethyl acetate 2 mL를 첨가하고 잘 혼합하여 원심분리(4°C, 5,000 rpm, 10 min)한 후 ethyl acetate층을 회수하였다. 회수된 ethyl acetate층은 vacuum상태에서 건조되었으며 100 µL의 MSTFA (N-methyl-N-(trimethylsilyl), TMS)-trifluoroacetamide, Sigma Co.)를 첨가한 다음 60°C에서 30분간 반응시켜 유도체를 만들었다. Phenolic acid는 GC/MS로 분석하였다. GC/MS(2010/QP-2010, Shimadzu Co, Japan)는 DB-5HT column(30 m×0.32 mm×0.1 µm, Agilent Co., USA)을 장착하였다. 컬럼오븐의 온도는 50°C(7분), 5°C/min, 70°C(10분), 10°C/min, 150°C(5분), 10°C/min, 300°C(20분)의 program을 사용하였다. Carrier gas는 nitrogen(column flow: 1.40 mL/min)을 사용하였고 mass selective detector의 ionization voltage는 70 eV, ion source temperature는 200°C, injection port의 온도는 250°C로 하였다.

유리아미노산

동결건조된 시료 1 g에 70% ethanol 10배를 넣고 homogenizer로 균질화한 후 80°C에서 15분간 진탕 가열하였다. Filter

paper(No.2)를 사용하여 여과한 후 남은 잔사에 다시 2회에 걸쳐 70% ethanol을 넣어 재추출한 다음 가열 및 여과하였다. 상등액을 모두 합하여 45°C 이하의 온도에서 감압농축하여 ethanol을 제거하였다. 여기에 ethyl acetate 2 mL을 가한 다음 원심분리(4°C, 3,000 rpm, 15 min)하여 물층을 회수하고 45°C 이하의 온도에서 감압농축하였다. 농축액은 pH 2.2 sodium citrate buffer에 용해하여 0.2 µm membrane filter(Millipore Co., Ireland)로 여과한 후 amino acid analysis system(S-4300, Sykam Co., Germany)을 이용하여 분석하였다.

장수버섯 배양액 중 유리아미노산 측정을 위해서는 시료 대신 배양액 10 mL을 사용하였다.

항산화 활성

DPPH

항산화 활성은 Murakami *et al.*(2002)의 방법에 따라 측정하였다. 추출물 200 µL와 100 mM Tris-HCl(pH 7.4) 800 µL를 잘 혼합한 다음 500 µM DPPH 용액 1 mL를 넣고 교반하였다. 반응물을 실온에서 20분간 방치하고 여과(0.45 µm)한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, blank는 시료용액 대신 순수한 각 용매를 사용하였다.

항산화 활성은 blank에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(50% inhibition concentration, IC₅₀)로 표시하였다.

동물세포(NIH3T3)

NIH3T3세포는 한국세포주은행으로부터 구입하여 사용하였다. 배지는 RPMI 1640(Gibco BRL)에 10% fetal bovine serum(FBS), P/S(50 units/mL penicillin, 25 mg/mL streptomycin)를 첨가한 것을 이용하였다. 세포는 5% CO₂ incubator(37°C)에서 2일에 한번씩 배지를 교환하면서 배양하였다.

Culture flask(75 cm²)에서 70% 증식된 세포에 trypsin/EDTA를 처리하여 세포를 회수하고 5×10⁴ cell/mL이 되도록 조절한 다음 96 well plate에 200 µL/well씩 plating하였다. 5% CO₂ incubator에서 1일 동안 증식시킨 다음 배지를 교환하였으며 일정농도가 되도록 조절된 시료 10 µL를 첨가 후 30분 동안 적응시켰다.

시료가 첨가된 세포에 365 nm의 UV(VL-6LC, France)를 10 cm 높이에서 30초 동안 조사한 다음 5% CO₂ incubator에서 1일 동안 배양한 후 세포생존율을 조사하였다. 생존율은 cell counting kit-8(CCK-8, Dojindo Co., Japan)을 사용하였으며, 측정법은 제조사의 방법에 따랐다.

물 추출물은 10배(w/v)의 phosphate buffered saline(PBS)에 용해하였으며 에탄올 추출물은 1% DMSO가 함유된 PBS 용액에 용해하여 실험에 사용하였다.

전구지방세포(3T3-L1)의 분화

배양

전구지방세포 3T3-L1은 한국세포주은행에서 구입하여 10%

FBS와 1% P/S가 첨가된 Dulbecco's modified medium (DMEM, Gibco BRL) 배지를 사용하여 증식시켰다.

분화(adipogenesis)

집락을 이룬 세포에 trypsin/EDTA를 처리하여 세포를 회수하고 6×10^4 cell/mL이 되도록 조절하여 24 well plate에 500 μ L씩 plating하였다. 분화를 위하여 배양 2일째 insulin (5 μ g/mL)이 첨가된 배지로 바꾸었으며 배양 6일째까지 insulin 첨가배지에서 분화를 유도시켰다. 이때 추출물이 지방 세포의 분화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 insulin 단독, insulin + 시료, insulin + 분화촉진제 처리구로 구분하여 실험을 수행하였다. Insulin 단독 처리구는 시료대신 PBS 20 μ L를, 시료 처리구는 시료를 PBS에 녹인 후 10-100 μ g/well 이 되도록 조절하여 첨가하였고 분화촉진제는 0.2 μ M dexamethasone, 0.5 mM isobutylmethylxanthin(IBMx)/well이 되도록 조절하여 첨가하였다.

분화된 지방세포는 insulin을 포함하지 않는 10% FBS와 1% P/S가 첨가된 DMEM 배지로 2일 단위로 교환하면서 6일 동안 배양시켰다.

Oil red 염색

지방세포를 PBS로 2번 세척한 후 10% formalin 용액에서 1시간 동안 고정시켰다. 고정된 세포를 물로 3번 세척하고 Oil red O용액을 가하여 1시간 염색한 후 다시 물로 세척하였다. Oil red O용액은 0.5 g의 Oil red O를 100 mL의 isopropanol에 용해한 다음 물과 6 : 4의 비율로 희석한 후 여과하여 사용하였다.

결과 및 고찰

일반성분

장수버섯 균사체가 증식된 옻피의 일반성분을 Table 1에 나타내었다. 생옻피(대조구)는 수분 1.64%, 지방 8.09%, 단백질 7.28%, 회분 6.48%, 당류 5.39%로 구성되어 있었던 반면, 배양물은 각각 7.64%, 3.86%, 3.59%, 6.30%, 불검출로 나타났다. 장수버섯 배양에 의해서 지방, 단백질 그리고 당 함량의 두드러진 감소를 보였는데, 건물량을 기준으로 지방은 2.0배, 단백질은 1.9배 감소하였으며 당류는 모두 소진되었다.

Table 1. Proximate composition and sugar content in *Fomitella fraxinea* mycelia cultured-*Rhus verniciflua* stem bark (FRVSB, g/100 g)

	Moisture	Crude			Sugar
		Fat	Protein	Ash	
Control (non-cultured)	1.64±0.03	8.09±0.06	7.28±0.04	6.48±0.03	5.39
FRVSB	7.64±0.02	3.86±0.02	3.59±0.13	6.30±0.02	nd

Values are presented as mean ± SD.
nd : not detected.

유리아미노산

장수버섯 배양 옻나무의 총 유리아미노산 함량(Table 2)은 97.41 mg%으로 대조구(71.91 mg%)에 비하여 35% 증가하였으며 phosphoserine(55.06 mg%), ammonia(17.84 mg%),

Table 2. Contents of free amino acids in the FRVSB and submerged culture broth of *Fomitella fraxinea*(mg/100 g dry matter¹ or 100 mL²)

Component	Non-cultured ¹	FRVSB ¹	Submerged culture broth ²
Alanine	5.39	1.73	0.13
Ammonia	2.21	17.84	1.38
Arginine	2.75	0.48	2.14
Aspartic Acid	1.31	6.05	0.18
Asparagine	1.41	0.38	nd
α -Amino adipic Acid	nd	nd	nd
α -Aminobutyric Acid	nd	nd	nd
β -Alanine	0.27	0.28	0.02
β -Aminoisobutyric Acid	0.93	nd	nd
γ -Aminobutyric Acid	0.66	0.29	0.22
Carnosine	nd	nd	nd
Citrulline	nd	nd	nd
Cystine	0.58	nd	nd
Glutamic Acid	2.58	2.73	0.04
Glycine	3.10	1.59	0.04
Histidine	1.21	nd	0.04
Hydroxyproline	13.15	nd	nd
Isoleucine	1.30	0.38	0.01
Leucine	2.04	1.21	0.01
Lysine	3.02	0.28	0.05
Methionine	nd	nd	0.01
1-Methylhistidine	nd	nd	nd
3-Methylhistidine	nd	nd	nd
Ornithine	0.51	0.19	0.02
Phenylalanine	1.23	0.63	0.01
Phosphoethanolamine	nd	nd	nd
Phosphoserine	7.17	55.06	0.90
Proline	1.81	0.61	0.03
Serine	1.70	1.65	0.03
Taurine	0.29	3.99	0.17
Threonine	2.14	0.45	0.01
Tyrosine	nd	0.23	0.02
Urea	13.64	0.74	nd
Valine	1.51	0.62	0.01
Total	71.91	97.41	5.45

nd : not detected.

aspartic acid(6.05 mg%)가 주요 유리아미노산 이었다. 장수 버섯의 증식에 의해서 taurine, ammonia, phosphoserine, aspartic acid는 각각 13.8, 8.1, 7.7, 4.6배 증가한 반면 urea, lysine, arginine 및 threonine은 18.4, 10.8, 5.7, 4.8배 감소하였으며, 쓴맛과 관련된(Harada *et al.*, 2003; Sasaki *et al.*, 1989) ornithine과 소수성 아미노산(valine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, arginine, proline)도 감소되는 것으로 나타났다. 균체 외 유리아미노산은 arginine과 ammonia가 주요 유리아미노산으로 나타났다. 유리아미노산은 맛과 향에 많은 영향을 주며 버섯의 종류와 성장단계에 따라 조성은 다른 것으로 확인되었다(Kim *et al.*, 2009; Harada *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2000). 버섯의 종류별로 유리아미노산의 조성차이가 심하여 일반화 할 수는 없지만 느타리, 양송이, 팽이, 표고, 왕송이 버섯 등의 식용버섯에는 glutamic acid, ornithine, alanine 이 많이 함유되어 있으며 영지, 차가, 상황버섯 등의 약용 버섯에는 phosphoserine, taurine, phosphoethanolamine 및 ammonia가 많이 함유되어 있다는 보고가 있어(Kim *et al.*, 2009) 본 연구와 일부 유사하였다.

Phenolic acid

장수버섯 배양 옷나무의 phenolic acid함량을 Table 3에 나타내었다. 배양물의 총 phenolic acid함량은 422.89 ppm/283.86 ppm(알코올/물 추출물)으로 생오피(1,857.09 ppm/1,369.44 ppm)에 비하여 4.4배/4.8배 감소하였다. 생오피 추출물은 syringic acid와 gallic acid가 총 함량의 99% 이상을 차지하는 주요성분이었으며 mandelic, vanillic, protocatechuic, caffeic acid가 소량 함유되어 있었고 salicylic, 4-hydroxybenzoic, gentisic acid는 검출되지 않았다. 이러한 경향은 배양시료의 추출물에서도 매우 유사하게 나타났는데, syringic acid와 gallic acid가 총 함량의 94% 이상 차지하였으며 장수버섯 배양에 의해서 caffeic acid가 제거되었다. 한편, 물 추출의 phenolic acid함량은 알코올 추출물의 73.8%(생오피) 및 67.1%

Table 3. Contents of phenolic acids in the FRVSB extracts (ppm)

Component	Non-cultured		FRVSB	
	EtOH(70%)	Water	EtOH(70%)	Water
Caffeic	3.23	nd	nd	nd
Gallic	729.81	498.79	161.79	106.09
Gentisic	nd	nd	nd	nd
4-Hydroxybenzoic	nd	nd	nd	nd
Protocatechuic	7.31	5.11	14.03	10.50
Salicylic	nd	nd	trace	nd
Syringic	1,103.00	861.51	239.53	161.30
Mandelic	7.14	nd	3.41	nd
Vanillic	6.59	4.04	4.13	2.97
Total	1,857.09	1,369.44	422.89	283.86

nd : not detected.

(배양물)에 해당하는 양으로 일부 감소가 확인되었다.

오피에서 분리한 다양한 화합물들이(i.e. phenolic acid: protocatechuic acid, p-coumaric acid; flavonoid: butein, fustin, quercetin, sulfuretin, fisetin, garbanzol, mollisacasin) 서론에서 언급한 다양한 생리활성을 가진 것으로 조사되었으나 phenolic acid의 분포 및 정량에 관한 연구 자료는 확인되지 않고 있다. Kosar *et al.*(2007)은 동일 genus인 *Rhus coriaria*(붉나무)의 열매 중에는 gallic, protocatechuic, 4-hydroxybenzoic, vanillic acid등이 존재하고 있으며 이 중 gallic acid가 약 95% 이상 차지한다고 보고하였다. Gallic acid는 일반적으로 목본식물에 많이 분포하며, syringic acid는 피자식물에 존재하는 것으로 알려져 있다(우, 2001). Phenolic acid는 균체의 성장에 있어서 toxic compound로 작용하지만 버섯균은 일정농도의 phenolic acid에 대한 저항성을 가지고 있으며 균체보호를 위해 배양시 phenolic acid를 감소시키는 것으로 알려져 있다(Buswell *et al.*, 1993).

항산화 활성

항산화 활성을 측정된 결과(Fig. 1, DPPH) 배양물의 IC₅₀값은 28.54 µg/54.70 µg(알코올/물 추출물)로 대조구(11.30 µg/21.02 µg)에 비하여 약 2.5배 낮은 것으로 나타났다. 배양물의 주요 phenolic acid 성분인 gallic acid의 IC₅₀값은 1.84 µg으로 상용 항산화제로 사용되는 BHA (butylated hydroxy anisole, 4.34 µg) 및 BHT(butylated hydroxy toluene, 6.29 µg)보다도 낮게 나타나 gallic acid는 항산화 활성에 주요 영향 요소를 확인하였다. 배양물의 항산화활성이 생오피의 활성보다 감소한 것은 phenolic acid의 감소가 주된 이유인 것으로 판단되나 장수버섯 배양 옷 역시 일정수준 이상의 항산화 활성을 가지고 있는 것으로 나타났다.

시험관 내에서의 높은 항산화 활성이 생체 내에서의 동일

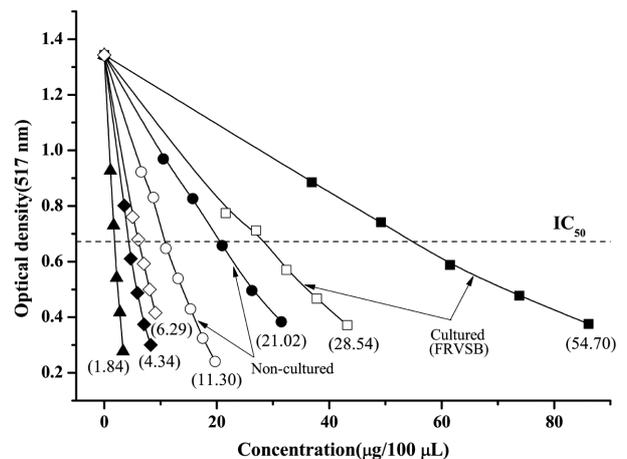


Fig. 1. Antioxidant activity of FRVSB extracts on DPPH radical. ■, FRVSB water extract; □, FRVSB ethanol extract; ○, non-cultured water extract; ▲, non-cultured ethanol extract; ▲, gallic acid; ◆, BHA; ◇, BHT. IC₅₀ values are given in brackets.

한 효과로 이어지지 않는다. 배양물의 항산화 효과를 더욱 자세히 살펴보고자 animal cell line(NIH3T3)을 대상으로 검토하였다. 장수버섯 증식에 의해서 NIH3T3세포에 대한 세포독성이 낮아졌다(Fig. 2). 세포가 50%사멸되는 농도(IC₅₀)는 배양물의 경우 알코올 추출물이 50 µg/200 µL, 물 추출물이 90 µg/200 µL으로 대조구 20 µg/200 µL에 비하여 2.5-4.5 배 낮아졌다. Hong *et al.*(1999)은 옷나무로부터 urushiol 화합물을 정제하여 29종 동물세포에 대한 세포독성을 확인한 결과 IC₅₀값이 4 µg/mL으로 본 연구의 대조구와 비슷하게 높은 세포독성을 나타내었다. 그러나 배양물의 경우 장수버섯의 증식에 의해서 urushiol(93%, Choi *et al.*, 2007) 및 phenolic acid의 감소로 인하여 세포독성이 낮아 졌을 것으로 판단된다.

세포에 UV를 조사할 경우 산화적 stress에 의해서 세포 내의 H₂O₂양이 증가하게 되고 이는 hydroxy radical을 형성하여 세포를 사멸에 이르게 한다(Mantena and Katiyar, 2006). Fig. 3과 같이 30초 동안의 UV조사에 의해서 25%의 세포가 사멸하는 것으로 나타났다. 세포는 추출물 첨가에 의해 농도 의존적으로 생존율이 증가하였으며 20-25 µg/200 µL 농도에

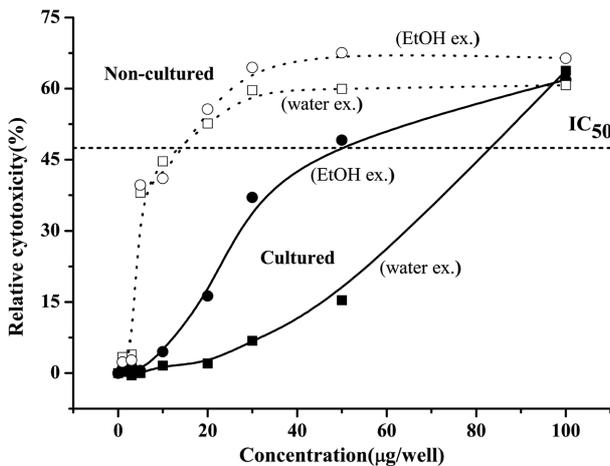


Fig. 2. Cytotoxicity of FRVSB extracts on NIH3T3 Cell line.

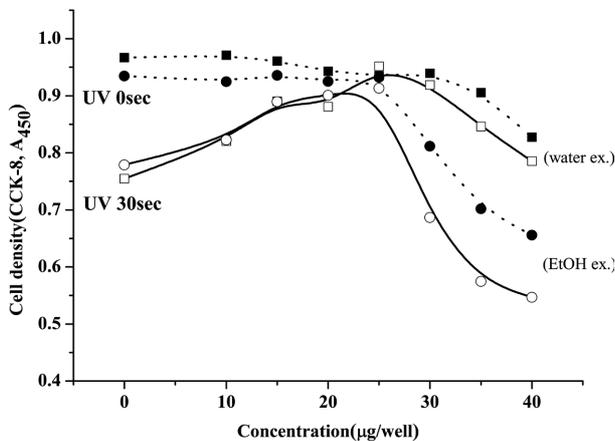


Fig. 3. Antioxidative activity of FRVSB extracts against UV-irradiation induced oxidative stress for 30 sec.

서는 UV비조사구와 거의 유사한 생존율을 나타내었다. 그러나 그 이상의 농도(물 추출물 35 µg/200 µL, 에탄올 추출물 25 µg/200 µL)에서는 보호효과 없이 세포가 사멸하였다. 이는 동일 농도에서 비조사구 역시 유사한 결과를 나타내어 세포 독성에 기인하는 것으로 여겨진다. 옷피에 함유된 flavonoid 화합물은 cell line에서도 세포독성이 없는 수준에서 높은 항산화 효과를 나타내었다(Son *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2002). Mantena and Katiyar(2006)는 포도씨에서 추출한 proanthocyanidin화합물이 UV에 의해서 유도된 산화물을 효과적으로 제거시켜 줌으로서 세포내 항산화 효소(glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase, glutathione)의 고갈을 막아 세포 생존율이 증가된다고 보고하였다. 배양물의 항산화 효과는 에탄올 추출물보다는 물 추출물에서 더욱 좋은 것으로 나타나 기능성 음료 등 건강보조식품의 재료로서 충분히 이용이 가능할 것으로 생각된다.

전구지방세포(3T3-L1)의 분화에 미치는 영향

배양물의 물 추출물이 전구지방세포 분화에 미치는 영향을 살펴본 결과(Fig. 4) insulin만 첨가하였을 경우에는 전구 지방세포의 분화가 거의 일어나지 않는 반면 insulin과 배양물을 혼합하여 처리하면 전구지방세포의 분화가 현격하게 증가되었다. 분화는 10 µg/200 µL의 농도에서 가장 높았으며 이는 전구지방세포의 분화 촉진제인 IBMX + dexamethasone 보다 높았다. 그러나 그 이상의 추출물 농도에서는 분화가 다소 감소하였으나 40 µg/200 µL까지는 촉진제와 유사한 활성을 가지고 있었다. 이전의 연구에서(박, 2004) 버섯균이 증

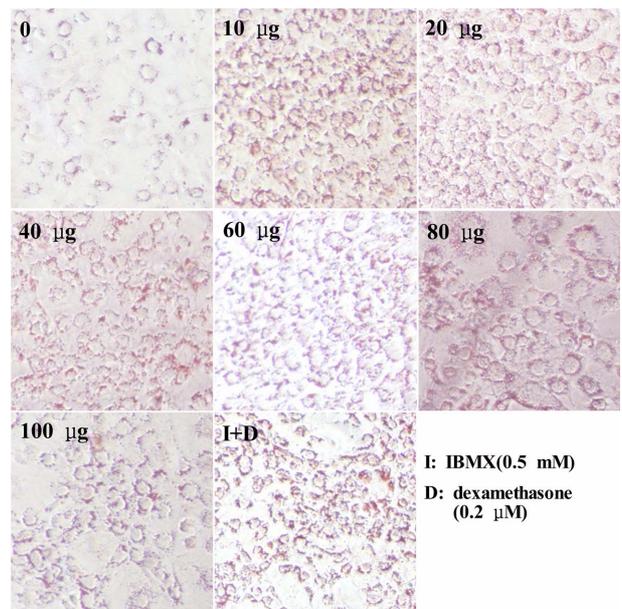


Fig. 4. Effect of FRVSB extracts on adipogenesis of 3T3-L1 cells. Cells were treated with 5 µg/mL insulin with various does of extracts or IBMX+dexamethasone for 4 days. And then cells were fed with DMEM and stained with Oil-red O at day-6.

식된 옷 추출물은 지방세포(7F2)의 lipoprotein lipase(LPL)활성을 증가시키는 것으로 나타났다. 옷나무 심재로부터 추출한 flavonoid 화합물은 전구지방세포의 분화는 촉진시키나 분화된 지방세포에 과도한 지방축적은 억제하는 것으로 나타났으며(김 등, 2010), 전구지방세포의 분화는 phenolic acid와는 관련성이 적은 것으로 보고되었다(Spoor *et al.*, 2006). 배양물(장수버섯이 증식된 옷나무 껍질)에도 김 등 (2010)이 보고한 것과 동일한 flavonoid 화합물이 존재하는 것으로 나타나(Kim *et al.*, 2010) 장수버섯이 배양된 옷나무는 insulin 민감성을 증가시킬 뿐 아니라 세포에 과도하게 지방이 축적될 경우 지방분해를 촉진시키는 2가지 기능을 가지고 있는 것으로 판단되며 phenolic acid이외의 flavonoid성분이 영향을 미쳤을 것으로 추측된다.

전구지방세포는 insulin의 존재 하에서 소형의 지방세포로 분화된다. 분화된 지방세포는 insulin에 민감하여 혈당을 잘 받아들임으로써 당 및 지질대사에 중요한 역할을 하며 (Yamauchi *et al.*, 2001), adiponectin, leptin, LPL, tumor necrosis factor- α , interferon-6, resistin 등을 분비한다(Guerre-Millo, 2004; 關谷, 2002). 이 중 adiponectin, leptin은 세포의 insulin 민감성을 증가시켜 혈중 당 농도를 조절하는 역할을 하며 특히, adiponectin은 제2형 당뇨병(type 2 diabetes mellitus) 및 비만감소에 효과가 큰 것으로 알려져 있다(Clarke *et al.*, 2006). 또한, LPL은 혈중에 존재하는 중성지방을 분해시켜 지방산의 형태로 세포에 다시 흡수하기 때문에 혈중 중성지방의 농도를 낮추어 줌으로써 고중성지방혈증인 고지혈증 예방 효과를 기대할 수 있다. 장수버섯을 이용하여 옷의 allergy성분을 제거하고 이를 식품소재화 하는 연구는 산업적으로 많은 잠재력을 지닌 것으로 생각된다. 그러나 안전성 및 기능성 구명에 대한 지속적인 연구와 버섯균의 작용으로 생성된 기능성물질에 대한 탐색이 필요하다.

적요

옷피의 일반성분은 수분 1.64%, 지방 8.09%, 단백질 7.28%, 회분 6.48%, 당류 5.39%로 구성되어 있었던 반면, 장수버섯을 증식시킨 옷나무 껍질은 각각 7.64%, 3.86%, 3.59%, 6.30%, 불검출이었다. 배양물의 총 유리아미노산 함량은 97.41 mg%으로 대조구(71.91 mg%)에 비하여 35% 증가하였으며 phosphoserine(55.06 mg%), ammonia(17.84 mg%), aspartic acid (6.05 mg%)가 주요 유리아미노산이었다. 배양물의 총 phenolic acid함량은 422.89 ppm/283.86 ppm(알코올/물 추출물)이었으며 syringic acid와 gallic acid가 주요 성분이었고 vanillic, protocatechuic acid가 소량 함유되어 있었다. 항산화 활성(DPPH, IC₅₀)은 28.54 μ g/54.70 μ g (알코올/물 추출물)으로 gallic acid가(IC₅₀ 1.84 μ g) 주요 영향 요소이었다. 배양물의 NIH3T3세포에 세포독성(IC₅₀)은 알코올 추출물 50 μ g/200 μ L, 물 추출물 90 μ g/200 μ L이었으며 UV조사에 의해 유도된 산화적 stress에 대하여 20-25 μ g/200 μ L 농도에서 항

산화 활성을 보였다. 배양물의 물 추출은 전구지방세포(3T3-L1)의 분화를 촉진시켰으며 10 μ g/200 μ L의 농도에서 가장 높았다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호: PJ007090) 및 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ007663)지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 김세건, 류동영, 김도국, 고다형, 김윤경, 이영미, 정현주. 2010. 3T3-L1 세포에 대한 옷나무 추출물의 지방축적 억제효과. 한국생약학회지. 41:21-25.
- 박효숙. 2004. 버섯균을 이용한 옷피의 무독화 및 이의 생리활성. 원광대학교 석사학위논문.
- 식품공전. 2010. 식품의약품안전청
- 우원식. 2001. 천연물화학 연구법. 서울대학교 출판부.
- 關谷敬三. 2002. 전구지방세포(3T3-L1)를 이용한 대사기능평가 In: 食品機能研究法, pp. 201-206. Eds. 篠原和毅, 鈴木建夫 上野川修, 역자: 황재관, 김명화, 박광균, 박건영, 백남인, 정원윤, 임병우, 하태열. 도서출판 효일.
- Buswell, J. A., Cai, Y. J. and Chang, S. T. 1993. Fungal and substrate associated factors affecting the ability of individual mushroom species to utilize different lignocellulosic growth substrates. In: Mushroom biology and mushroom products, pp. 141-150. Eds. S. T. Chang, A. B. John and S. W. Chiu. The Chinese University Press, Hong Kong.
- Choi, H. S., Kim, M. K., Park, H. S., Yun, S. E., Mun, S. P., Kim, J. S., Sapkota, K., Kim, S., Kim, T. Y. and Kim, S. J. 2007. Biological detoxification of lacquer tree(*Rhus verniciflua* Stokes) stem bark by mushroom species. *Food Sci. Biotech.* 16:935-942.
- Clarke, M., Ewart, M. A., Santy, L. C., Prekeris, R. and Gould, G. W. 2006. ACRP30 is secreted from 3T3-L1 adipocytes via a Rab11-dependent pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 342:1361-1367.
- Guerre-Millo, M. 2004. Adipose tissue and adipokines: for better or worse. *Diabetes Metab.* 30:13-19.
- Harada, A., Yoneyama, S., Doi, S. and Aoyama, M. 2003. Changes in contents of free amino acids and soluble carbohydrates during fruit-body development of *Hypsizygus marmoreus*. *Food Chem.* 83:343-347.
- Hong, D. H., Han, S. B., Lee, C. W., Park, S. H., Jeon, Y. J., Kim, M. J., Kwak, S. S. and Kim, H. M. 1999. Cytotoxicity of urushiols isolated from sap of Korean lacquer tree(*Rhus verniciflua* Stokes). *Arch. Pharm. Res.* 22:638-641.
- Jeon, W. K., Lee, J. H., Kim, H. K., Lee, A. Y., Lee, S. O., Kim, Y. S., Ryu, S. Y., Kim, S. Y., Lee, Y. J. and Ko, B. S. 2006. Anti-platelet effects of bioactive compounds isolated from the bark of *Rhus verniciflua* Stokes. *J. Ethnopharm.* 94:165-173.
- Jung, N. C. 1998. Biological activity of urushiol and flavonoids from Lac tree(*Rhus verniciflua* Stokes). Ph.D. Thesis, Chonnam National University, Kwang-ju, South Korea.
- Kim, I. T., Park, Y. M., Shin, K. M., Ha, J., Choi, J., Jung, H. J., Park, H. J. and Lee, K. T. 2004. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of the extract from *Kalopanax pictum*, *Pueraria thenbergiana* and *Rhus verniciflua*. *J. Ethnopharm.*

- 94:65-173.
- Kim, J. S., Kwon, Y. S., Chun, W. J., Kim, T. Y., Sun, J., Yu, C. Y. and Kim, M. J. 2010. *Rhus verniciflua* Stokes flavonoid extracts have anti-oxidant, anti-microbial and α -glucosidase inhibitory effect. *Food Chem.* 120: 539-543.
- Kim, M. Y., Chung, I. M., Lee, S. J., Ahn, J. K., Kim, E. H., Kim, M. J., Kim, S. L., Moon, H. I., Ro, H. M., Kang, E. Y. Seo, S. H. and Song, H. K. 2009. Comparison of free amino acid, carbohydrates concentrations in Korean edible and medicinal mushrooms. *Food Chem.* 113:386-393.
- Kitts, D. D. and Lim, K. T. 2001. Antitumorigenic and cytotoxic properties of an ethanol extract derived from *Rhus verniciflua* Stokes(RVS). *J. Toxicol. Environ. Health* 64:357-371.
- Kosar, M., Bozan, B., Temelli, F. and Baser, K. H. C. 2007. Antioxidant activity and phenolic composition of sumac(*Rhus coriaria* L.) extracts. *Food Chem.* 103:952-959.
- Lee J. C., Kim, J., Lim, K. T. and Jang, Y. S. 2002. Identification of *Rhus verniciflua* Stokes compounds that exhibit free radical scavenging and anti-apoptotic properties. *Biochim. Biophys. Acta* 1570: 181-191.
- Lee, J. C., Kim, J., Lim, K. T., Yang, M. S. and Jang, Y. S. 2001. Ethanol eluted extract of *Rhus verniciflua* Stokes showed both antioxidant and cytotoxic effects on mouse thymocytes depending on the dose and time of the treatment. *Biochem. Mol. Biol.* 34:250-258.
- Lim, K. T., Chun, H. and Kitts, D. D. 2001. Antioxidant activity of a *Rhus verniciflua* Stokes ethanol extract. *Food Chem. Toxicol.* 39:229-237.
- Mantena, S. K. and Katiyar, S. K. 2006. Grape seed proanthocyanidins inhibit UV-radiation-induced oxidative stress and activation of MAPK and NF- κ B signaling in human epidermal keratinocytes. *Free Radical Biol. Med.* 40:1603-1614.
- Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H. and Matoba, T. 2002. A comparative study on the various in vitro assays of active oxygen scavenging activity in foods. *J. Food Sci.* 67:539-541.
- Park, K. Y., Jung, G. O., Lee, K. T., Choi, J. W., Choi, M. Y., Kim, G. T., Jung, J. J. and Park, H. J. 2004. Antimutagenic activity of flavonoids from the heartwood of *Rhus verniciflua*. *J. Ethnopharm.* 90:73-79.
- Park, T. S., Park, J. E., Shim, M. J. and Kim, B. K. 2000. Detection of taurine in basidiomycetes. *J. Appl. Pharm.* 8: 281-284.
- Sapkota, K., Kim, S., Kim, J. S., Kim, M. K., Chun, H. S. and Kim, S. J. 2009. Effects of the detoxified extract of *Rhus verniciflua* on regulation of catecholamine biosynthesis. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 52:590-599.
- Sasaki, H., Nakamura, N., Kouda, M., Matsumoto, N., Aoyagi, Y. and Sugahara, T. 1989. Rehydration conditions of dried Shiitake mushrooms. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 36:293-301.
- Son, Y. O., Lee, K. Y., Lee, J. C., Jang, H. S., Kim, J. G., Jeon, Y. M. and Jang, Y. S. 2005. Selective antiproliferative and apoptotic effects of flavonoids purified from *Rhus verniciflua* Stokes on normal versus transformed hepatic cell lines. *Toxicol. Lett.* 135: 115-125.
- Spoor, D. C. A., Martineau, L. C., Leduc, C., Benhaddou-Andaloussi, A., Meddah, B., Harris, C., Burt, A., Fraser, M. H., Coonishish, J., Joly, E., Cuerrier, A., Bennett, S. A. L., Johns, T., Prentki, M., Arnason, J. T. and Haddad, P. S. 2006. Selected plant species from the Cree pharmacopoeia of northern Quebec possess anti-diabetic potential. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 84:847-858.
- Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Murakami, K., Motojima, K., Komeda, K., Ide, T., Kubota, N., Terauchi, Y., Tobe, K., Miki, H., Tsuchida, A., Akanuma, Y., Nagai, R., Kimura, S. and Kadowaki, T. 2001. The mechanisms by which both heterozygous peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) deficiency and PPAR γ agonist improve insulin resistance. *J. Biol. Chem.* 276:41245-41254.
- Yang, J., Du, Y., Huang, R., Sun, L., Liu, H., Gao, X. and Kennedy, J. F. 2005. Chemical modification and antitumor activity of Chinese lacquer polysaccharide from lac tree *Rhus vernicifera*. *Carbohydr. Polym.* 59:101-107.