

백색 느티만가닥버섯 자실체의 생리기능성 탐색

Zanabaatar Bolormaa¹ · 김민경² · 서건식² · 이영욱³ · 이종수^{1*}

¹배재대학교 생명유전공학과
²한국농수산대학 특용작물학과
³참맛 버섯 영농조합

Screening and Physiological Functionality of *Hypsizygus marmoreus* (White Cultivar) Fruiting Body

Zanabaatar Bolormaa¹, Min-Kyung Kim², Geon-Sik Seo², Young-Wook Lee³ and Jong-Soo Lee^{1*}

¹Department of Life Science and Genetic Engineering, Paichai University, Daejeon 302-735 Korea

²Korea National College of Agricultural and Fishery, Hwasung, Kyonggi-do 445-893, Korea

³Chammat Mushroom Farm Corp., Yeosu, Kyonggi-do 469-842, Korea

(Received 27, October 2011., 1st Revised 10, November 2011., Accepted 14, November 2011)

ABSTRACT : To develop health food and alternative medicine, water and ethanol extracts from *Hypsizygus marmoreus* (white cultivar) fruiting body were prepared, and its physiological functionalities were investigated. Antihypertensive angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitor activity from water extract was showed higher of 60.5% than ethanol extract and SOD-like activity and xanthine oxidase inhibitory activity were also showed 24.1% and 23.0%, respectively. The other functionalities were very low or not detected. The maximal ACE inhibitory activity (80.5%) was obtained when the fruiting body of *Hypsizygus marmoreus* was extracted with distilled water (dilution 1 : 30) at 50°C for 12 h.

KEYWORDS : Fruiting body, *Hypsizygus marmoreus*(white cultivar), Physiological functionality

서 론

버섯은 그 자체가 가지고 있는 기능을 중심으로 식용버섯, 약용버섯, 독버섯 등으로 불리고 있으며 전통적으로 약용버섯에서 각종 생리활성물질 탐색에 관한 연구가 많이 수행되었으나 최근 식용버섯에서도 다양한 생리활성이 밝혀짐에 따라 기능성 식품소재나 대체의약 소재로서 버섯의 이용이 기대되고 있다.

지금까지 밝혀진 버섯의 주요 생리활성으로는 콜레스테롤저하효과, 혈당강하작용, 역전사효소 활성억제작용, 항균작용, 항암작용등과 항고혈압활성, 혈소판응집억제활성과 혈전용해활성, 항염증작용, 간보호작용, 항산화작용, 정력증강작용등이 알려져있다(Erikel and Anke, 1992; 이 등, 2003).

최근 국내에서도 식용 버섯에서의 생리기능성 물질 탐색 연구가 수행되어 비늘버섯(Koo *et al.*, 2006)과 능이버섯의 항고혈압활성(강 등, 2011), 버섯류의 항산화 활성과 Tyrosinase 저해활성(박 등, 2003), 차가버섯의 혈소판응집 저해활성(Hyun *et al.*, 2006) 등이 보고 되었다. 또 노랑느타리버섯중의

항고혈압성 물질이 두 종류의 올리고펩타이드 임이 보고(Jang *et al.*, 2011) 되었고, 버섯중의 항치매 활성(Seo *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2009), 항통풍효과(Bolormaa *et al.*, 2010), 혈관신생억제활성(정 등, 2003), 고지혈증 예방효과(Yu *et al.*, 2007), 상황버섯의 항비만활성(Lee *et al.*, 2010)도 보고된 바 있다.

한편, 느티만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus*)은 담자균류, 주름버섯목, 송이과에 속하는 식용 버섯으로서 주로 가을에 너도밤나무, 단풍나무 등 각종 활엽수의 고사목이나 생목에 군생하며 북반구 온대 이북지역에 분포되어있고, 다발성이 매우강한 특징을 가지고 있다(유 등, 2010). 느티만가닥버섯은 저지방 고단백질 함유버섯으로 특히 단백질을 구성하는 아미노산 중에서 정미성 특성을 갖는 글루탐산을 많이 함유하고 있는 것이 특징이다. 느티만가닥버섯의 생리활성으로는 버섯의 Hypsin의 항진균활성(Kim *et al.*, 2003)과 항종양효과(Lam *et al.*, 2001), HM23(collagen-binding protein)(Tsuchida *et al.*, 1995)과 hypsiziprenol A9(Chang *et al.*, 2004) 등의 항암활성등이 보고 되어있다. 또한 항종양성β-(1-3)-D-glucan(Ikekawa, 1995)과 지용성 추출물의peroxyl과 alkoxyl radical에 대한 붕쇄효과와 항산화활성 등(Matsuzawa *et al.*, 1998)이 알려져있다. 이와 같이

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

느티만가닥버섯은 우수한 생리기능성 물질을 갖고 있어 기능성 식품이나 대체 의약품의 소재로서 가치가 높지만 아직까지 이들 생리기능성들을 체계적으로 탐색, 개발하여 산업적으로 응용하지 못하고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 느티만가닥버섯의 백색 품종을 재배하여 이들의 생리기능성을 조사하였으며 우수기능성으로 항고혈압성 ACE 저해활성 물질을 선발하였고 이들의 최적추출조건을 검토하였다.

재료 및 방법

공시 자실체 및 시약

본 실험에서 사용한 느티만가닥버섯 재료는 한국농수산대학에서 인공 재배한 백색품종(HYM-055) 자실체를 수확 후 즉시 동결건조하여 분쇄 후 분말로 사용하였다.

안지오텐신 전환효소(ACE)저해활성 측정을 위한 ACE는 rabbit lung acetone powder(Sigma Co., USA)를 0.3 M NaCl이 포함된 sodium borate 완충용액 (pH 8.3)으로 4°C에서 12시간 추출하여 사용 하였고 기질로는 hippuryl-L-histidyl-L-leucine(Hip-His-Leu, Sigma Co., USA)을 사용 하였다. 또한 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), azocasein, DOPA, pyrogallol 등은 Sigma사(St. Louis, Mo, USA)제품을 사용 하였고 그 밖에 각종 시약은 분석용 특급을 사용 하였다.

추출물 제조

버섯 분말시료 1그램에 30배의 증류수와 100% ethanol을 각각 첨가한 후 진탕항온수조에서 30°C, 200 rpm으로 12시간 동안 진탕시켜 추출하였다. 이 추출액을 16,000 ×g로 10분간 원심분리하여 상등액을 취하고 이를 Whatman NO. 2 여과지로 여과한 후 동결건조하여 추출물로 사용하였다.

생리기능성 측정

항고혈압성 ACE 저해활성은 Cushman과 Cheung(1971)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 추출물 1 mg을 함유한 시료 50 µl에 ACE 용액 150 µl(2.8 unit)와 100 mM sodium borate 완충용액 (pH 8.3) 100 µl를 가한 후 37°C에서 10분간 preincubation 시켰다. 여기에 기질인 Hip-His-Leu 용액 50 µl를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 µl를 가하여 반응을 정지 시켰다. 다시 ethyl acetate 1 ml를 가하여 30초간 vortexing한 다음 3,000 ×g로 15분 동안 원심분리한 후 상층액 0.8 ml를 취하였다. 이 상층액을 speed vac concentrator(EYELA Co., Japan)을 이용하여 완전히 건조시킨 뒤 sodium borate 완충용액 1 ml를 가하여 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해활성을 계산 하였다.

$$\text{ACE 저해활성}(\%) = \{1 - (T - T.B/C B)\} \times 100$$

(C, 시료 대신증류수첨가시 228 nm에서의 흡광도; T,

시료첨가시의 흡광도; B, 반응정지 후 시료 첨가시의 흡광도)

Xanthine oxidase 저해활성은 Noro 등 (1983)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 0.1 M 인산 완충용액 (pH 7.5) 600 µl에 10 mg/ml로 녹인 시료 100 µl를 가하고 1 mM xanthine을 녹인 기질용액 200 µl를 첨가 하였다. 여기에 xanthine oxidase(0.1 U/ml) 100 µl를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 200 µl를 가하여 반응을 정지시켰다. 다시 12,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 단백질을 제거한 후 생성된 uric acid 함량을 292 nm에서 흡광도를 측정하여 정량한 다음, 아래와 같이 저해 활성을 계산 하였다.

$$\text{Xanthine oxidase 저해활성}(\%) = [1 - \{A(\text{시료구}) - B(\text{시료구의 Blank})/C(\text{대조구})\}] \times 100$$

항산화활성은 DPPH에대한 환원력(전자공여능)을 이용하는 방법으로 측정하였다(유 등, 2006). 즉, 농축 시료액 0.2 ml에 DPPH 용액(DPPH 12.5 mg을 에탄올 100 ml에 용해) 0.8 ml를 가한 후 10분간 반응시키고 525 nm에서 흡광도를 측정하여 시료무첨가 대조구의 값과 비교하여 활성을 계산하였다.

SOD-유사활성은 먼저 농축시료액 20 ml에 55 mM Tris-cacodylic acid 완충용액(TCB, pH 8.2)을 가하여 균질화하고 원심분리하여 얻은 상등액을 pH 8.2로 조정후 TCB를 사용하여 50 ml로 조정하여 시료액으로 사용하였다. 시료액 950 µl에 24 mM pyrogallol 50 µl를 첨가하여 420 nm에서 초기 2분간의 흡광도 증가율을 측정하여 시료액 무첨가 대조구와 비교하여 활성을 계산하였다(유 등, 2006).

아질산염 소거작용은 1 mM 아질산 나트륨 용액 1 ml에 각각의 추출물 2 ml를 가하고 여기에 0.1 N 염산 (pH 1.2)과 0.2 N 구연산 완충용액(pH 3.0, 4.2 및 6.0) 7 ml를 가하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 달리하여 반응용액의 부피를 10 ml로하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 반응액 1 ml씩 취하고 여기에 2% 초산 5 ml, Griess 시약(acetic acid에 1% sulfanylic acid와 1% naphthylamine을 1:1로 혼합) 0.4 ml를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 실온에서 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다(현 등, 2003).

$$\text{아질산염}(\%) = (1 - ((T-B)/C)) \times 100$$

(C, 시료대신 증류수첨가시의 흡광도; T, 시료첨가시의 흡광도; B, 반응정지후 시료첨가시의 흡광도)

Tyrosinase 저해활성은 시료 500 µl에 5 mM L-DOPA 200 µl, 0.1 M 인산완충용액(pH 6.0) 800 µl를 혼합한 후 tyrosinase 11U를 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시킨 다음 475 nm에서 흡광도를 측정하여 시료액 무첨가 대조구의 값과 비교하여 활성을 계산 하였다(현 등, 2003).

Table 1. Physiological functionalities of various extracts from *Hypsizygus marmoreus*(white cultivar) fruiting body

Treatment	ACE ¹⁾ inhibitory activity (%)	Antioxidant activity (%)	SOD ¹⁾ likely activity (%)	XOD ¹⁾ inhibitory activity (%)	Tyrosinase inhibitory activity (%)	Nitrite scavenging activity (%)
Water extract	60.5 ± 0.9	2.3 ± 1.1	24.1 ± 3.6	23.0 ± 4.1	n.d	n.d
EtOH extract	37.8 ± 4.8	5.8 ± 0.2	n.d ²⁾	5.2 ± 1.6	26.3 ± 2.5	n.d

¹⁾ACE: Angiotensin I-converting enzyme; SOD: Superoxide dismutase; XOD: Xanthine oxidase²⁾n.d: not detected**Table 2.** Effect of extraction temperature and time on the angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of water extracts from *Hypsizygus marmoreus*(white cultivar) fruiting body

Extraction temp. (°C)	ACE ¹⁾ inhibitoryactivity(%)		
	Extraction time (h)		
	12	24	48
30	60.8 ± 0.7	65.5 ± 0.3	38.7 ± 0.2
50	80.5 ± 0.2	78.5 ± 1.8	81.1 ± 0.5
70	82.8 ± 1.2	76.6 ± 1.1	79.6 ± 1.1

¹⁾ACE: Angiotensin I-converting enzyme

결과 및 고찰

백색 느티만가닥버섯 자실체의 생리기능성

백색 느티만가닥버섯 자실체의 물과 에탄올 추출물들에 대한 생리기능성을 조사한 결과 항고혈압활성을 나타내는 안지오텐신 전환효소 (ACE) 저해활성이 물 추출물에서 60.5%로 에탄올 추출물의 37.8%보다 높았고 여타의 생리 기능성들 보다 더 우수하였다(Table 1). 이는 필자 등이 보고한 노랑느타리버섯의 ACE 저해활성(78.0 %, Jang *et al.*, 2011)과 왕송이버섯 (61.3%, Lee *et al.*, 2004), 비늘버섯 ASI 24012(66%, Koo *et al.*, 2006; 유 등, 2006)보다 낮은 활성이었다. 에탄올추출물 보다 물추출물에 활성이 높은 것은 지금까지 보고된 대부분의 ACE 저해물질들이 펩타이드 혹은 일부 단백질분해물(Lee *et al.*, 2004)이고 따라서 이들이 물 추출시 더 많이 용출 되었기 때문인 것으로 추정된다.

그 밖에도 SOD 유사활성과 Xanthine oxidase 저해활성은 물 추출물에서 각각 24.1%와 23.0%, Tyrosinase 저해활성은 에탄올추출물에서 26.3%을 보였다. 그러나 항산화활성과 아질산염 소거활성은 없었다.

항고혈압성 ACE 저해 물질의 추출최적조건

백색 느티만가닥버섯의 자실체에 함유되어있는 ACE 저해물질을 대량 추출하기 위한 최적조건을 검토한 결과 추출온도는 50°C가 가장 좋았고 12시간 추출시 가장 높은 ACE 저해활성을 보였다(Fig. 1). 따라서, ACE 저해 추출

최적조건은 백색 느티만가닥버섯 자실체의 동결건조 분말을 물에 1 : 40으로 현탁 시킨 후 50°C에서 12시간 추출하는 것이며 이때 ACE 저해활성은 80.5%이었다.

이러한 결과는 Lee 등(2004)이 보고한 왕송이버섯을 물로 30°C에서 3시간 추출하였을때 ACE 저해물질의 추출효율이 가장 높았다는 결과와 Jang 등(2011)이 노랑느타리버섯 자실체로부터 ACE 저해물질 최적추출 온도는 30°C, 추출시간은 24시간이었다는 보고와 상이한 결과로서 이는 버섯의 종류에 따라 다양한 종류의 ACE 저해물질이 함유되어 있기 때문인 것으로 추정된다. 앞으로 백색 느티만가닥버섯의 항고혈압성ACE 저해물질의 정제와 특성 구명을 위한 추가의 연구가 요구된다.

적요

버섯으로부터 생리 기능성이 우수한 건강 소재나 대체 의약을 개발하기 위하여 백색 느티만가닥버섯의 자실체의 물 추출물과 에탄올추출물을 제조한 후 이들의 생리기능성을 측정하였다. 시료 버섯 자실체의 물 추출물의 ACE 저해활성이 60.5%로 에탄올 추출물의 저해활성 보다 높았다. 또한 SOD 유사활성과 Xanthine oxidase 저해 활성도 물추출물에서 각각 24.1%와 23.0%을 보였다. 백색 느티만가닥버섯 자실체에 함유되어있는 ACE 저해 물질은 자실체 분말을 물에 1 : 40으로 현탁 시킨 후 50°C에서 12시간 추출했을 때 가장 많이 추출되었고 이때 ACE 저해활성은 80.5% 이었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(과제번호: 108100-03-3-CG000, 2008년)의 지원에 의해 수행된 결과의 일부이며, 이에 감사합니다.

참고문헌

- 강민구, Bolormaa, 이종석, 서건식, 이종수. 2011. 능이버섯의 항고혈압 활성과 항통풍 활성. 한국균학회지 39:53-56.
박정식, 현광옥, 서승보, 조수목, 유창현, 이종수. 2003. 버섯류로부터 혈소판응집 억제물질과혈전용해 물질의 탐색. 한국균학회지. 31:144-116.

- Bolormaa, 송정화, 서건식, 노형준, 유영복, 이종수. 2010. 버섯류로부터 항통풍성 Xanthine oxidase 저해물질의 탐색. 한국균학회지. 38:85-87.
- 유영복, 구창덕, 김성환, 서건식, 신현동, 이준우, 이창수, 장현유. 2011. 버섯학. 자연과 사람 (서울). pp. 385-420.
- 유형은, 조수목, 서건식, 이병석, 이대형, 이종수. 2006. 비늘버섯으로부터 생리기능성 물질의 탐색. 한국균학회지. 34:15-21.
- 이대형, 김재호, 정종천, 공원식, 유영복, 박정식, 유창현, 이종수. 2003. 각종 버섯류로부터 안지오텐신 전환효소 저해제의 탐색. 한국균학회지. 31:148-154.
- 정승찬, 김재호, 박정식, 이종수. 2003. 버섯으로부터 새로운 압전이 억제물질 개발을 위한 혈관신생 억제물질의 탐색. 한국버섯학회지. 1:44-47.
- 현광욱, 김재호, 송기진, 이종복, 장정호, 김영선, 이종수. 2003. 온실재배와 노지재배한 금산갯잎의 생리기능성. 한국식품과학회지. 35:975-979.
- Chang, J. S., Son, J. K., Li, G., Oh, E. J., Kim, J. Y., Park, S. H., Bae, J. T., Kim, H. J., Lee, I. S., Kim, O. M., Kozukue, N., Han, J. S., Hirose, M. and Lee, K. R., 2004. Inhibition of cell cycle progression on HepG2 cells by hypsiziprenol A9 isolated from *Hypsizigus marmoreus*. *Cancer Lett.* 212:7-14.
- Cushman, D. W. and Cheung, H. S. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20:1637-1648.
- Erkel, G. and Anke, T. 1992. Antibiotics from Basidiomycetes XLI, clavicornic acid, and novel inhibitor of reverse transcriptase from *Clavicornia pyxidate*. *J. Antibiotics* 45:29-37.
- Hyun, K. W., Jeong, S. C., Lee, D. H., Park, J. S. and Lee, J. S. 2006. Isolation and characterization of a novel platelet aggregation inhibitory peptide from the medicinal mushroom, *Inonotus obliquus*. *Peptides* 27:1173-1178.
- Ikekawa, T. 1995. Bunashimeji, *Hypsizigus marmoreus* antitumor activity of extracts and polysaccharides. *Food Rev. Int.* 11:207-209.
- Jang, J. H., Jeong, S. C., Kim, J. H. and Lee, J. S. 2011. Characterisation of a new antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from *Pleurotus cornucopiae*. *Food Chem.* 127:412-418.
- Kim, H. S., Ha, H. C. and Kim, T. S. 2003. Research and prospects in new functional mushroom - *Tremella fuciformis*, *Grifora frondosa* and *Hypsizigus marmoreus*. *Korean J. Food Sci. Ind.* 36:42-46.
- Koo, K. C., Lee, D. H., Kim, J. H., Yu, H. E., Park, J. S. and Lee, J. S. 2006. Production and characterization of antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Pholiota adiposa*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 16:757-763.
- Lam, S. K. and Ng, T. B. 2001. Hypsin, a novel thermostable ribosome-inactivating protein with antifungal and antiproliferative activities from fruiting bodies of the edible mushroom *Hypsizigus marmoreus*. *Biochem Biophys Res. comm.* 285:1071-1075.
- Lee, D. H., Kim, J. H., Park, J. S., Choi, Y. J. and Lee, J. S. 2004. Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum*. *Peptides* 25:621-627.
- Lee, J. K., Jang, J. H., Lee, J. T. and Lee, J. S. 2010. Extraction and characteristics of anti-obesity lipase inhibitor from *Phellinus linteus*. *Mycobiol* 38:52-57.
- Lee, J. S., Min, G. H. and Lee, J. S. 2009. Nutritional and physico-chemical characteristics of the antidementia acetylcholinesterase inhibiting methanol extracts from *Umbilicaria esculenta*. *Mycobiol.* 37:203-206.
- Matsuzawa, T., Sano, M., Tomita, I., Saitoh, H., Ohkawa, M. and Ikekawa, T. 1998. Studies on antioxidants of *Hypsizigus marmoreus*. II. Effects of *Hypsizigus marmoreus* for antioxidants activities of tumor-bearing mice. *Yakugaku Zasshi.* 118:476-481.
- Noro, T., Oda, Y., Miyase, T., Ueno, A. and Fukushima, S. 1983. Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 31:3984-3987.
- Seo, D. S., Lee, E. N., Seo, G. S. and Lee, J. S. 2008. Screening and optimal extraction condition of a new antidementia β -secretase inhibitor containing mushroom. *Mycobiol.* 36:195-197.
- Tsuchida, K., Aoyagi, Y., Odani, S., Mita, T. and Isemura, M. 1995. Isolation of a novel collagen-binding protein from the mushroom, *Hypsizigus marmoreus*, which inhibits the Lewis lung carcinoma cell adhesion to type collagen. *J. Biol. Chem.* 270:7-14.
- Yu, H. E., Lee, D. H., Seo, G. S., Cho, S. M. and Lee, J. S. 2007. Characterization of a novel β -hydroxy- β -methyl glutaryl coenzyme A reductase -inhibitor from the mushroom, *Pholiota adiposa*. *Biotechnol. Bioproc. Engine.* 12:618-624.