

맛버섯 자실체의 메탄올 및 열수추출물의 항산화 및 항염증 활성

Trung Kien Nguyen · 신도빈 · 이수민 · 임경환 · 이태수 · 이우윤*

인천대학교 생명과학기술대학 생명과학부

Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Methanol and Hot Water Extracts of *Pholiota nameko* Fruiting Bodies

Trung Kien Nguyen, Do Bin Shin, Su Min Lee, Kyung Hoan Im, Tae Soo Lee and U Youn Lee*

Division of Life Sciences, College of Life Sciences and Bioengineering, Incheon National University, Incheon 406-772 Korea

ABSTRACT : *Pholiota nameko* is an edible mushroom belonged to Family Strophariaceae of Agaricales, Basidiomycota. The purpose of this study was to investigate the antioxidant and anti-inflammatory activities for the methanol and hot water extracts prepared from fruiting bodies of *Pholiota nameko*. Besides measuring for 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity, a reducing power and a chelating activity on ferrous ions were also measured to evaluate the antioxidant activity for those extracts. To measure the anti-inflammatory activities for the extracts, nitric oxide(NO) production from lipopolysaccharide treated RAW 264.7 macrophage cells and carrageenan-induced acute hind paw edema of rats were investigated. The results showed that those extracts has a excellent chelating activity on the ferrous ions compared with positive controls. And it also turned out that extracts had a good DPPH activity and a reducing power. The NO production in LPS-treated RAW 264.7 macrophage cells were decreasing as we increased concentration of those mushroom extracts. Significant reduction of paw edema were also observed at 2~6 h after we treated methanol and hot-water extracts at the 50 mg/kg concentration to the rats which are induced acute hind paw edema by carrageenan treatment. The experimental results suggested that methanol and hot-water extracts of *Pholiota nameko* fruiting bodies might be used for potential source of antioxidant and anti-inflammatory agents.

KEYWORDS : anti-inflammation, antioxidant, mushroom fruiting body, *Pholiota nameko*

서 론

버섯은 단백질, 아미노산, 효소, 비타민, 무기염류, 지방질 및 당류 등과 같은 인체에 중요한 각종 영양 성분을 함

유하고 있어서 옛 부터 식품과 민간약으로 사용해 왔으며 최근 여러 종류의 버섯에서 인체의 생리활성에 효과가 있는 물질들이 밝혀짐에 따라 건강식품으로서 버섯의 중요성이 점차 커지고 있다(Chang *et al.*, 1989).

인체의 대사과정 중 생성되는 활성산소종은 체내의 세포막, 단백질 및 DNA 등의 손상을 일으켜 노화와 질병의 원인이 되기도 한다. 따라서 항산화 물질을 섭취하여 건강한 삶을 누리하고자 하는 데에 관심이 높아지면서 인체에 무해한 천연 항산화제에 대한 관심과 수요가 증가하고 있어 천연물 유래의 다양한 항산화제의 탐색이 진행되고 있다(Choi *et al.*, 2005). 염증은 인체의 대식세포(macrophage)가 외부의 자극이나 침입한 병원체에 반응하여 염증유발인자인 TNF- α , interleukin1- β (IL-1 β) 및 IL-6와 같은 cytokine을 생성하고 또한 inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2 (COX-2)를 합성하여 nitric oxide (NO) 및 prostaglandin E2(PGE2)를 생성한다. 이러한 과정을 거쳐 생성된 NO는 종양과 세균을 제거하는 등의 역할을 수행하지만, NO가 체내에 과도하게 생성되면 조직

Kor. J. Mycol. 2013 June 41(2): 97-103
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2013.41.2.97>
pISSN 0253-651X
©The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
E-mail : uylee@incheon.ac.kr

Received June 4, 2013
Revised June 10, 2013
Accepted June 15, 2013

Ⓢ 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.

의 손상, 유전자의 변이 및 혈관의 투과성을 증가시켜 부종 등의 염증반응을 일으켜 인체에 피해를 주게 된다(Moncada *et al.*, 1991; Choi *et al.*, 1993). 이에 항염증 물질을 함유한 버섯에 대한 관심이 높아지고 있다.

맛버섯 [*Pholiota nameko* (Fr.) Singer]은 주름버섯목, 독청버섯과에 속하는 버섯으로 주로 가을에 참나무 등 활엽수의 쓰러진 나무나 그루터기 위에 속생 또는 군생하고 자실체에는 항균, 항종양, 면역증강, 콜레스테롤 저하 등에 효과가 있는 물질이 함유되어 있다(Park and Lee, 2003, Ying *et al.*, 1987). 맛버섯이 우리나라에서 재배가 시작된 지 20여년이 지났음에도 불구하고 맛버섯 자실체에 붙어 있는 끈끈한 점액성 물질이 한국인의 기호에 잘 맞지 않아 아직도 대규모의 재배가 이루어지지 않아 우리나라에서의 맛버섯에 대한 연구는 일본이나 중국 등 외국의 경우와는 달리 재배나 생리활성 물질에 관한 몇 건의 연구 외에는 미흡한 실정이다(Jo *et al.*, 2010; Cha *et al.*, 2003).

따라서 본 연구에서는 맛버섯 자실체에서 추출한 물질의 항산화 및 항염증효과를 규명하고자 DPPH 라디칼 소거활성, 환원력 활성, 금속이온 제거능 등의 항산화 실험을 수행하고, 또한 맛버섯 추출물의 항염증 효과를 알아보기로 맛버섯 추출물로 처리한 마우스 대식세포 RAW 264.7에 염증 유발 물질인 lipopolysaccharide를 처리하여 RAW 264.7 세포에서 NO의 생성이 억제되는 효과를 조사하고 또한 *in vivo* 동물실험에서는 맛버섯의 자실체에 함유된 물질이 부종 유발물질인 carrageenan을 주사한 흰쥐에서 소염 효과를 나타내는지에 대한 실험도 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 맛버섯의 자실체는 이마트 인천연수점에서 신선한 상태로 구입하여 인천대학교 “버섯균주 및 DNA 은행”의 동정을 받은 후 실험에 사용하였다. 구입한 자실체는 45°C의 건조기에서 48시간 동안 건조시키고 마쇄 후 -70°C의 저온냉동고에 보관하여 실험에 사용하였다.

성분의 추출 및 분리

Shim 등(2003)의 방법에 따라 건조한 맛버섯 자실체의 분말을 80% 메탄올 및 열수를 이용해 성분을 추출하여 실험에 사용하였다.

실험동물

5주령의 웅성 Sprague-Dawley rat (140~160 g)를 Orient Bio사(Seongnam, Korea)로부터 구입하여 polycarbonate cage 당 5 마리씩 넣은 후 온도 23 ± 2°C, 상대습도 55 ± 5%, 12시간 간격으로 명암이 자동 조절되는 사육실에서 1주일 동안 적응시켰다. 사료와 음수는 제한하지 않았고 사료는 Orient Bio사의 실험동물용 고형사료를 구입하여 사용하였으며 실험은 인천

대학교 동물실험윤리위원회의 지침을 준수하여 수행하였다.

총 폴리페놀 함량의 측정

총 폴리페놀 함량의 측정은 Folin-Denis을 변형한 Swain 등(1959)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 추출물을 메탄올 1 mg/mL의 농도로 용해한 각 용매별 추출액, Folin-Ciocalteu 시약 및 10% NaCO₃용액을 각각 1 mL씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 방치 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid (Sigma Co., Ltd., St. Louis, MO, USA)를 0-100 µg/mL의 농도로 제조한 후 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선을 이용하여 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드는 Moreno 등(2000)의 방법에 따라 1 mg/mL 농도의 시료액에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 방치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 415 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. Quercetin을 표준물질로 하여 얻은 표준 검량선으로부터 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정하였다.

세포배양

생쥐의 대식세포인 RAW 264.7 세포 배양은 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)과 RPMI-1640을 각각 기본배지로 하여 10% FBS, 25 mM HEPES, 100 U/mL penicillin 및 100 µg/mL streptomycin을 첨가하여 사용하였다. 세포는 37°C의 습윤한 5%의 CO₂ 배양기에서 배양하였다.

세포독성 분석

맛버섯 추출물의 RAW 264.7과 NIH3T3 세포에 대한 독성은 Mosmann의 방법(1983)에 따라 수행하였다. 지수기에 도달한 세포주를 RPMI-1640배지가 분주된 24 well plate에 2×10⁵ cell/mL의 농도로 분주하고 24시간 배양한 후, 배지의 상층액을 제거하고 맛버섯 추출물을 0.625, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL 농도로 조절한 후 새 배지에 200 µL 첨가하여 48시간 동안 배양하였다. 배양 완료 후 상층액을 제거하고 각각의 well에 MTT용액(5 mg/mL in PBS) 10 µL씩을 첨가하고, 37°C의 습윤한 5%의 CO₂의 배양기에서 다시 4시간 동안 배양하여 MTT를 환원시켰다. MTT의 환원에 의해 각각의 well에 생성된 보라색의 formazan 결정은 150 µL의 DMSO로 녹여 microplate reader (SpectraMax 340PC, California, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

DPPH 라디칼 소거 활성 측정

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 활성은 Blois (1958)의 방법으로 측정하였다. 시료를 메탄올로 녹여 최종 농도가 15, 30, 60, 125, 250 및 500 µg/mL이 되도록 정량하여 96 well plate에 각 시료를 100 µL를 주입

하고, 동시에 0.3 mM DPPH 100 μ L를 넣어 총량이 200 μ L가 되도록 하였다. 실온에서 10분간 반응시킨 후 microplate reader (SpectraMax 340PC, California, USA)를 이용해 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거 활성은 시료 용액의 첨가군과 무첨가군 사이의 흡광도의 차이를 백분율로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거 활성(%) = $[1 - (\text{첨가군 흡광도} / \text{무첨가군 흡광도})] \times 100$

환원력 활성 측정

맛버섯 추출물의 환원력 활성에 대한 실험은 Gulcin 등 (2003)의 방법에 따라 수행하였다. 시료 2.5 mL에 sodium phosphate buffer (2.5 mL, 200 mM, pH 6.6)와 1% potassium ferricyanide (2.5 mL)를 혼합시킨 후 혼합물을 50°C에서 20분 동안 incubation한 뒤 trichloroacetic acid (2.5 mL, 10%, w/v)를 첨가하여 650 $\times$ g에서 10분간 원심 분리하였다. 원심 분리한 상층액 (5 mL)에 3차 증류수 (5 mL)와 1% ferric chloride 1 mL를 첨가한 후 UV/VIS-spectrophotometer (Optizen pop, Korea)를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

금속이온 제거능 측정

금속이온 제거능 실험은 Yena 등 (2002)의 방법에 준하여 수행하였다. 그 원리는 버섯 추출물의 항산화 성분에 의해 Fe^{2+} 이온이 제거되어 더 이상 ferrozine- Fe^{2+} 복합체를 형성하지 않는 것을 그 기본으로 하여 측정하였다. 각각의 맛버섯 추출물 1 mL에 2 mM의 ferrous chloride ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 5 mM ferrozine을 각각 100 μ L씩 가하고 흡광도의 조정을 위해 증류수를 일정량 첨가하였다. 10분간 상온에 둔 뒤 UV/VIS-spectrophotometer (Optizen POP, Korea)를 이용하여 562 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하여 시료 첨가군과 비첨가군의 흡광도 차를 백분율로 표시하여 금속이온의 제거능으로 나타냈으며 BHT와 tocopherol을 양성 대조군으로 사용하였다.

Nitrite(NO) 생성 저해효과 측정

NO 생성저해 효과의 측정은 Ryu 등 (2003)의 방법을 방법으로 측정하였다. DMEM 배지가 들어있는 96 well plate에 RAW 264.7 세포를 5×10^4 cell/well로 분주하고 12시간 배양 후 맛버섯 추출물을 0, 1, 2.5 및 5 mg/mL의 농도로 1 시간 전 처리 한 다음 LPS를 1 μ g/mL의 농도로 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 상층액 100 μ L를 취한

후 동량의 Griess reagent(Sigma, St. Louis, MO, USA) 100 μ L를 넣어 총량이 200 μ L가 되도록 하고 상온에서 10 분간 반응시킨 후 생성된 NO의 양을 microplate reader (SpectraMax 340PC, California, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO의 농도는 아질산염의 표준 곡선을 이용해 구하였다.

Carrageenan에 의한 부종유발 및 소염효과의 측정

흰쥐의 급성 부종유발은 Winter 등 (1962)의 방법에 따라 수행하였다. 생리식염수에 녹인 0, 5, 15, 50 mg/kg 농도의 맛버섯 추출물을 마리당 0.1 mL씩 오른쪽 뒷발바닥에 주사하고 30분이 지난 후 마리당 1%의 carrageenan 용액을 흰쥐의 뒷발바닥에 주사하였다. 본 실험에서는 각각의 처리 당 5마리의 흰쥐를 사용하였다. 소염효과는 맛버섯 추출물과 carrageenan 주입 후 흰쥐 뒷발바닥에 생긴 부종의 용적을 plethysmometer (MK-101P, Tokyo, Japan)로 측정하여 구하였다. 즉, 흰쥐 뒷발에 기입제 carrageenan을 주입하기 전을 0으로 하고 주입 후 2, 4, 6시간이 지난 후 증가한 뒷발의 용적을 실험군 별로 각각 측정하여 다음의 식에 의하여 부종 증가율을 산출하였다.

부종증가율 (%) = $(V_t - V_0) / V_0 \times 100$

V_t = 주입 후 일정시간 후의 뒷발의 용적

V_0 = 주입 직후 뒷발의 용적

통계 처리

실험은 3회 이상 반복 실험을 통하여 얻은 각각의 결과를 mean $\pm$ S.D로 나타내었다. 각 시료 농도군에 대한 통계적 유의검정은 대조군과 비교하여 Student's t-test 후, $p < 0.05$ 수준에서 통계적으로 유의성 있는 결과로 표시하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

맛버섯 자실체의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 Table 1에 나타내었다. 맛버섯 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량은 각각 1.0, 1.28 μ g/mg으로 나타났으며, 열수추출물은 각각 0.53, 1.32 μ g/mg으로 나타나 메탄올 추출물에서 폴리페놀이 열수추출물보다 약 2배 이상 많이 추출되었으며 플라보노이드는 메탄올과 열수 추출물에서 차이가 없었다. 일반적으로 폴리페놀과

Table 1. Phenol and flavonoid contents of the methanol and hot water extracts obtained from fruiting bodies of *Pholiota nameko*. Values expressed as mean $\pm$ SD (n = 3).

Sapmles	Yeild (%/w/w)	Phenolic content (μ gGAEs ^a /mgextract)	Flavonoids content (μ gQEs ^b /mgextract)
<i>Pholiota nameko</i> Methanol extract	20.8	1.00 $\pm$ 0.002	1.00 $\pm$ 0.002
<i>Pholiota nameko</i> Hot-water extract	22.1	1.32 $\pm$ 0.23	0.53 $\pm$ 0.006

^aGAE, Gallic acid; ^bQE, Quercetin

플라보노이드 화합물은 버섯에 비해 식물에 다량 존재하는 것으로 보고하였다(Leong and Shui, 2002). Choi 등 (2008)은 만가닥버섯 자실체의 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량을 각각 67.40과 6.31 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 보고해 본 실험 결과에 비해 큰 차이를 나타내었으며 이는 사용된 추출용매의 차이로 인해 나타난 결과로 사료되었다.

세포독성 분석

맛버섯 자실체의 추출물이 RAW 264.7과 NIT3T3 세포의 생존율에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위해 맛버섯 추출물을 6.25, 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 등 다양한 농도로 처리하고 배양 후에 MTT 방법으로 세포의 생존율을 조사하였다. 실험결과 RAW 264.7과 NIT3T3 세포의 생존율은 저농도인 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 메탄올과 열수 추출물 모두 90% 이상 생존이 확인되었고, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서도 이들 세포는 모두 50% 이상 생존하는 것으로 나타났다. 따라서 맛버섯의 메탄올과 열수 추출물은 모두 독성이 낮은 것으로 확인되었으며, 처리한 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 RAW 264.7과 NIT3T3 세포의 생존율은 감소하는 경향을 보였다(Fig. 1).

DPPH 라디칼 소거활성

맛버섯 자실체 추출물의 DPPH radical 소거활성 측정된 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 맛버섯 추출물의 DPPH 소거활성은 0.0625 mg/mL의 낮은 농도에서 메탄올과 열수 추출물이 각각 8.67%, 10.56%로 나타나 양성대조군인 BHT

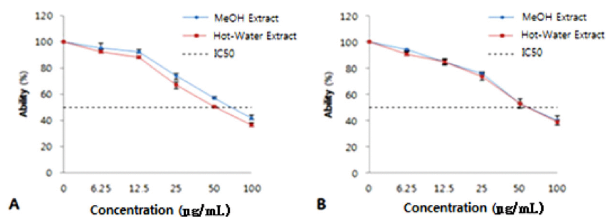


Fig 1. *In vitro* cytotoxicity^a of various extracts from fruiting body of *Pholiota nameko* against NIH-3T3 cell line (A) and Raw 264.7^b cell line (B). ^aCytotoxicity was measured after treatments for 72 hours of several mushroom extracts at different concentrations. ^bCell concentrations were set at 5×10^4 cells/mL for the those extracts treatments. μ

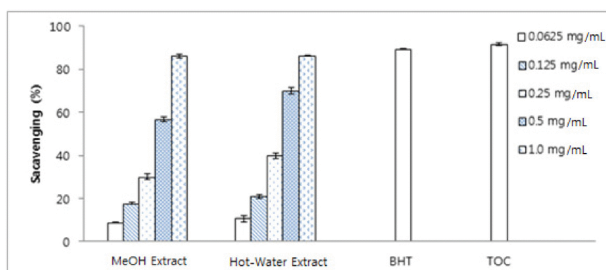


Fig. 2. Scavenging activities of various extracts from fruiting bodies of *Pholiota nameko* against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. Values are expressed as means $\pm$ SD ($n=3$). BHT, butylated hydroxytoluene; TOC, α -tocopherol.

나 tocopherol의 89.24% 및 91.34%에 비해 매우 낮았으나, 1 mg/mL의 고농도에서의 메탄올과 열수추출물은 각각 85.99%와 86.10%의 높은 라디칼 소거능을 나타내 0.625 mg/mL 농도에서의 BHT나 tocopherol의 소거활성과 유사한 효과를 보였다. 본 실험 결과는 Lee 등 (2007a)이 보고한 *Pleurotus citrinopileatus*의 버섯 자실체를 3 종류의 용매를 이용해 추출한 물질의 DPPH 라디칼 소거활성이 5 mg/mL의 농도에서 46.6~68.4%인 것에 비해서 17.7% 이상 높아서 맛버섯 추출물의 DPPH 소거활성은 이미 보고된 다른 식용버섯에 비해 높다는 것을 확인할 수 있었다.

금속이온 제거능

맛버섯 추출물의 금속이온 제거능은 맛버섯 추출물에 함유된 항산화 성분의 작용으로 Fe^{2+} 이온이 제거되어 ferrozine- Fe^{2+} 의 복합체가 형성되지 않는다는 원리에 착안하여 실험을 진행하였다. 실험 결과 맛버섯의 메탄올 추출물은 열수 추출물에 비해 체내 주요 물질의 산화에 촉매로 작용하는 철이온을 보다 효과적으로 제거하는 것으로 나타났다(Fig. 3). 메탄올 추출물은 0.25~1.0 mg/mL 범위의 농도에서 양성대조군인 BHT와 tocopherol에 비해서 철이온의 제거능이 높게 나타났다. 1 mg/mL의 농도에서 양성대조군인 BHT와 tocopherol이 각각 68.05와 55.95%인 것에 비해 맛버섯 메탄올 추출물의 철이온 제거능은 93.54%로 나타나 맛버섯 메탄올추출물의 철이온 제거효과가 양성대조군에 비해 매우 우수한 것으로 나타났다(Fig. 3). 특히 본 실험에서 나타난 맛버섯의 철이온 제거능은 Tsai 등 (2006)과 Mau 등 (2004)이 보고한 *Agrocybe cylindracea*와 *Grif-ola frondosa* 열수추출물 20 mg/mL의 농도에서 나타난 철이온 제거능 45.8%와 87.5% 그리고 Lee 등 (2007b)이 *Hypsizigus marmoreus* 자실체에서 열수로 추출한 물질의 5 mg/mL 농도에서의 철이온 제거능 75.6%에 비해서 높게 나타나서 맛버섯의 항산화효과는 버들송이, 팽이 및 만가닥버섯에 비해 우수한 것으로 사료된다.

환원력

맛버섯의 메탄올과 열수 추출물의 환원력을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 메탄올과 열수추출물간의 환원력에는

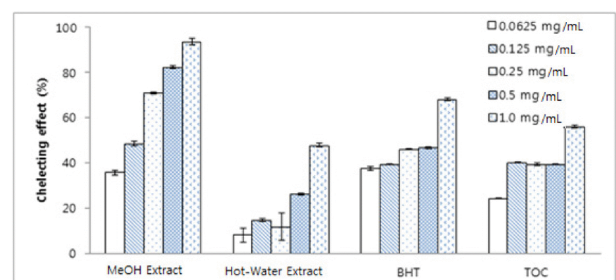


Fig. 3. Chelating effect on ferrous ions of methanol and hot water extracts prepared from fruiting bodies of *Pholiota nameko*. Values are expressed as means $\pm$ SD ($n=3$). BHT, butylated hydroxytoluene; TOC, α -tocopherol.

큰 차이가 없었으나 0.5 mg/mL 농도에서의 환원력은 각각 0.2와 0.19이었으나 양성대조군인 BHT와 TOC는 2.59와 2.93이었다. 따라서 맛버섯 추출물의 환원력은 동일한 농도에서 양성대조군에 비해 낮게 나타났다. 특히, 6.0 mg/mL의 농도에서 메탄올과 열수 추출물의 환원력은 각각 1.21과 1.01로 0.5 mg/mL 농도에서 양성 대조군의 환원력보다 낮은 것으로 나타났다. 또한 맛버섯의 추출물은 처리 농도가 증가함에 따라 환원력도 비례해서 증가하는 것으로 나타났다. Mau 등(2004)의 *G. frondosa* 추출물의 환원력 실험에서 *G. frondosa*의 메탄올 추출물 5 mg/mL 농도의 환원력은 0.37로 본 실험의 메탄올과 열수추출물의 4 mg/mL 농도에서의 환원력 0.85와 0.87 보다 낮게 나타났다. 따라서 맛버섯의 환원력은 양성대조군에 비해서 매우 낮았지만 잎새버섯의 환원력에 비해서는 높은 것으로 나타났다.

NO 생성 저해효과

NO는 활성산소의 일종으로 염증유발에 중요한 역할을 하며 NOS (nitric oxide synthase)에 의해 L-arginine으로부터 생성된다. 본 실험에서 염증 유발물질로 사용되는 LPS를 이용하여 RAW 264.7 세포의 NO 생성에 대한 맛버섯 추출물의 효과를 측정된 결과, RAW 264.7 세포만 배양한 대조군의

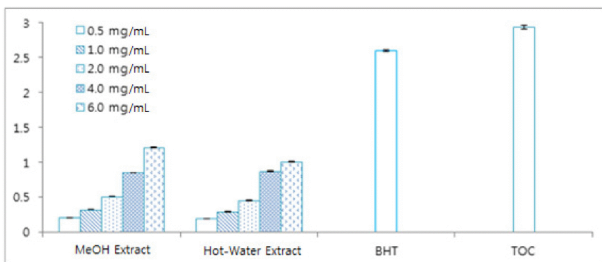


Fig. 4. Reducing power of different concentrations of methanol and hot water extracts obtained from the fruiting bodies of *Pholiota nameko*. Values are expressed as means $\pm$ SD (n=3); BHT, butylated hydroxytoluene; TOC, α -Tocopherol.

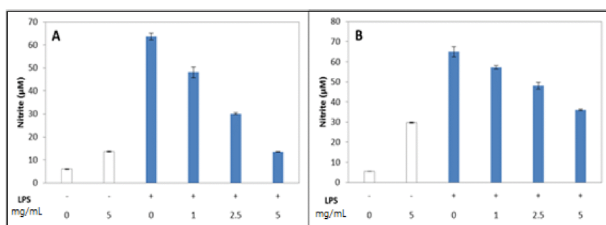


Fig. 5. Inhibitory effects of methanol and hot water extracts obtained from fruiting bodies of *Pholiota nameko* on LPS-induced nitric oxide production in RAW 264.7 cells. Cells were incubated for 24 hours with LPS (1 μ g/mL) in the presence or absence of indicated concentration of mushroom extracts. (A): methanol extract; (B): hot water extract. Accumulated nitrites in the culture media were determined by the Griess method. The values represent means $\pm$ SD of the three independent experiments.

의 NO 농도는 5.93 μ M로 매우 낮게 측정되었으며, LPS를 처리한 군에서 NO의 농도는 63.65 μ M로 크게 증가하였다. 그러나 메탄올 추출물을 5 mg/mL 처리한 실험군의 NO 생성은 15.56 μ M로 낮아져 추출물 NO의 생성을 억제하는 효과가 높은 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 5). 강(2012)의 보고에 의하면 RAW 264.7 세포에 팽이버섯의 열수추출물과 LPS를 처리했을 때 RAW 264.7 세포내에서 염증 유발 물질인 NO의 생성은 농도 의존적으로 감소하였으며 1.0 mg/mL 농도의 열수 추출물에서 NO의 생성이 유의성 있게 억제되는 결과를 얻을 수 있었다. 본 실험에서도 처리한 추출물의 농도가 높아짐에 따라 NO의 생성이 크게 감소하여 위의 보고와 유사한 결과를 얻었다.

Carrageenan에 의한 부종유발 및 소염효과의 측정

Carrageenan으로 흰쥐의 뒷발에 유도된 부종에 대한 맛버섯의 메탄올 및 열수추출물의 소염효과를 Fig. 6-7에 표시하였다. 실험 결과 메탄올과 열수추출물의 소염효과에 차이는 없었다. 기염제인 carrageenan만을 주사한 대조군의 경우 carrageenan에 의해 유도된 뒷발 부종의 용적은 주사 후 2~6시간에 40.6~62.32%로 증가 했으나, carrageenan 주사 후 소염제인 indomethacin을 5 mg/kg으로 투여한 양성대조군은 20.14~33.68% 증가했다. 반면에 carrageenan 주사 후 맛버섯 메탄올 추출물을 5 mg/kg 투여한 실험군의 부종 용적은 42.63~62.68% 증가했고, 메탄올 추출물을 15 mg/kg 투여한 실험군의 부종 용적은 34.09~47.65%로 증가했으며, 메탄올 추출물을 50 mg/kg 투여한 실험군의 부종 용적은 26.57~37.04% 증가했다. 따라서 흰쥐에 투여한 맛버섯 추출물의 소염효

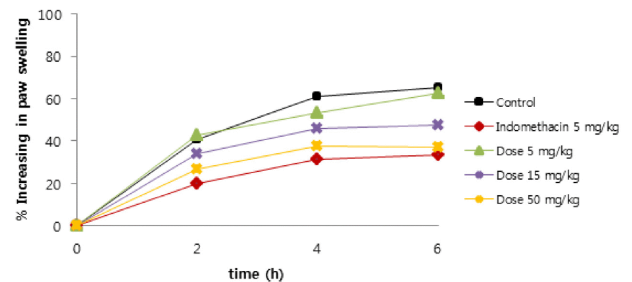


Fig. 6. Relieving effect of *Pholiota nameko* methanol extract on the carrageenan-induced edema of hind paw of rats.

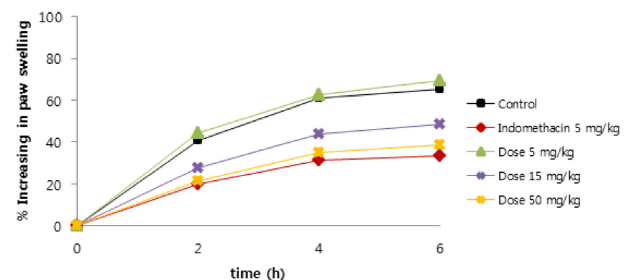


Fig. 7. Relieving effect of *Pholiota nameko* hot water extract on the carrageenan-induced edema of hind paw of rats.

과는 농도의 높고 낮음에 상관없이 소염 효과가 나타났으나 저농도인 5.0 mg/kg 투여 후 소염효과는 indomethacin을 5.0 mg/kg 투여한 양성대조군의 효과에 비해서 낮게 나타났다. 그러나 고농도인 50 mg/kg의 맛버섯 추출물을 투여한 실험군은 양성대조군의 효과와 매우 유사하게 높게 나타났다. 따라서 맛버섯 추출물에 함유된 유효성분이 항염증 효과를 지니고 있는 것으로 사료되었다. Lim 등 (2010)은 carrageenan을 주사하여 부종이 유발된 흰쥐에 *Phellinus linteus*의 열수추출물을 투여한 후 항염증 효과를 조사한 결과 투여한 상황버섯 추출물의 농도가 증가함에 따라 이에 비례해 소염효과도 증가하는 것을 보고하였다. 본 실험에서도 carrageenan만을 처리한 대조군을 제외하고 소염제인 indomethacin을 처리한 양성대조군과 맛버섯 추출물의 농도를 달리해 투여한 모든 실험군에서 추출물의 농도가 증가함에 따라 소염의 효과가 증가되는 것을 관찰할 수 있었다. 따라서 앞으로 본 실험재료를 사용해 알레르기나 류마티스 관절염 등과 같은 염증질환에 대해서도 추가의 실험이 진행되어야 할 것으로 사료되었다.

적 요

본 연구에서는 맛버섯의 자실체로부터 메탄올과 열수를 이용하여 추출한 물질의 항산화와 항염증 효과를 탐색하였다. DPPH 라디칼 소거능과 환원력을 이용해 항산화 효과를 측정한 결과 양성대조군으로 사용한 BHT나 토코페롤에 비해 낮았지만 다른 종류의 버섯에 비해 효과가 우수한 것을 확인하였다. 금속이온 제거 항산화 실험에서는 맛버섯의 메탄올 추출물의 효과가 양성대조군인 BHT나 토코페롤에 비해 월등하게 높아서 맛버섯의 자실체 추출물은 높은 항산화 효과를 지닌 것으로 나타났다. 맛버섯의 항염증 저해 효과 실험에서는 RAW 264.7 대식세포가 배양되고 있는 배지에 맛버섯 자실체의 메탄올 및 열수 추출물로 각각 전 처리 한 후 염증매개 물질인 LPS를 투여하여 맛버섯 추출물의 NO 생성 저해효과를 조사하였다. 실험 결과, 첨가된 맛버섯 추출물의 농도가 증가함에 따라 생성된 NO의 양이 현저하게 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 맛버섯의 추출물이 carrageenan에 의해 흰쥐 뒷발에 유도된 부종 저해 실험에서는 투여한 맛버섯의 추출물 농도가 증가함에 따라 흰쥐의 뒷발에 유도된 부종의 용적이 농도 의존적으로 감소되는 것으로 나타났다. 따라서 맛버섯 자실체에 함유된 항산화 및 항염증 물질은 천연 항산화제나 항염증제로 이용이 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2012년도 인천대학교 자체연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200.
- Cha, W. S., Lee, D. B., Kang, S. H. and Oh, D. G. 2003. A study on the characteristics of *Pholiota nameko* mycelium. *Kor. J. Life Sci.* 13: Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989. Edible mushroom and their cultivation. CRC Press.
- Choi, S. H., Jun, C. D., Lee, B., S., Park, S. D., Oh, J. S. and Chung, H. T. 1993. Effect of various extrinsic and intrinsic factors on the nitric oxide production of murine macrophage. *Kor. J. BRM.* 3:15-22.
- Choi, Y., Ku, J. B., Chang, H. B. and Lee, J. 2005. Antioxidant activities and total phenolics of ethanol extracts from several edible mushrooms produced in Korea. *Food Sci. Biotech.* 14:700-703.
- Choi, Y. M., Chang, W. B., Choi, S. Y., Choi, J. S., Noh, J. G., Song, I. K., Min, K. B. and Lee, J. S. 2008. Biological activities of *Lyophyllum ulmarium* extracts. *J. Agri. Life Sci.* 42:35-41.
- Gulcin, I., Buyukokuroglu, M. E., Oktay, M. and Kufrevioglu, O. I. 2003. Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. Jo, S. H., Jin, G. E., Jung, K. J., Yun, H. S., Yu, Y. B. and Park, K. M. 2010. Physiological activity of *Pholiota nameko* sp. ethanol extract. *J. Mush. Sci. Prod.* 8:142-149.
- Kang, H. W. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory effects of extracts from *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 41:1072-1078.
- Lee Y. L., Huang, G. W., Liang, Z. C. and Mau J. L. 2007a. Antioxidant properties of three extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. *LWT-Food Sci. Technol.* 40:823-833.
- Lee, Y. L., Yen, M. and Mau, J. L. 2007b. Antioxidant properties of various extracts from *Hypsizygus marmoreus*. *Food Chem.* 104:1-9.
- Lim, J. H., Kim, S. H., Park, N. H., Moon, C. G., Kang, S. S., Kim, S. H., Shin, D. H. and Kim, J. C. 2010. Acute and chronic antiinflammatory effects of *Phellinus linteus* water extract in rats *J. Biomed. Res.* 11:27-35.
- Leong, L. P. and Shui, G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.* 76:69-75.
- Mau, J. L., Chang, C. N., Huang, S. J. and Chen, C. C. 2004. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta*, and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chem.* 87:111-118.
- Moreno, M. I. N., Isla, M. I., Sampietro, A. R. and Vattuone, M. A. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J. Ethnopharm.* 71:109-114.
- Moncada S., Palmer, R. M. and Higgs, E. A. 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43:109-142.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Immunol. Meth.* 65:55-63.
- Park, W. H. and Lee, H. D. 2003. Illustrated book of Korean medicinal mushrooms. Kyo-Hak Publishing Co. Ltd. Seoul.
- Ryu J. H., Ahn H, Kim, J. Y. and Kim, Y. K. 2003. Inhibitory activity of plant extracts on nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophage. *Phytother. Res.* 17:485-489.
- Shim, S. M., Im, K. H., Kim, J. W., Shim, M. J., Lee, M. W. and Lee,

- T. S. 2003. Studies on immuno-modulatory and antitumor effects of crude polysaccharides extracted from *Paecilomyces sinclairii*. *Kor. J. Mycol.* 31:155-160.
- Swain, T., Hillis, W. E. and Ortga, M. 1959. Phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 10:83-88.
- Tsai, S. Y., Huang, S. J. and Mau, J. L. 2006. Antioxidant properties of hot water extracts from *Agrocybe cylindracea*. *Food Chem.* 98:670-677.
- Winter, C. A., Risley, E. A. and Nuss, G. W. 1962. Carrageenan induced edema in the hind paw of rat as an assay for anti-inflammatory activity, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111:544-547.
- Yena, G. C., Duhb, P. D. and Tsaia, L. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chem.* 79:307-313.
- Ying, J. Z., Mao, X. L., Ma, Q. M., Zong, Y. C. and Wen, H. A. 1987. *Icones of medicinal fungi from China*. Science Press, Beijing.