국내 지역별 매립 복령의 성분 및 항산화 활성 비교

최수희¹ · 이승진¹ · 조우식² · 최종운³ · 박승춘¹*

'경북대학교 수의과대학, '경상북도농업기술원, '강원도산림개발연구원

Comparison of Ingredients and Antioxidant Activity of the Domestic Regional Wolfiporia extensa

Su-Hee Choi¹, Seung-Jin Lee¹, Woo-Sik Jo², Jong-Woon Choi³ and Seung-Chun Park¹*

¹College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea ²Gyeongsangbuk-do Agricultural Research & Extension Services, Daegu 41404, Korea ³Gangwon-do Forest Development Institute, Chuncheon 24207, Korea

ABSTRACT: This study was conducted for comparison of ingredients, phytochemical compounds and antioxidant activity of *Wofiporia extensa* cultured in Gangwon-do, Gyeongsang-do, and Jeolla-do. Three contents of *Wofiporia extensa* were analyzed as oxygen (46~48%), carbon (38~39%), hydrogen (6.05~6.1%) and nitrogen (0.17~0.21%). The mineral contents of 50% ethanol *Wofiporia extensa* extracts were measured as sulfur (S) 145~149 ppm, Magnesium (Mg) 69~72 ppm, phosphorus (P) 122~154 ppm and calcium (Ca) 210.61~509.98 ppm. *Wofiporia extensa* from Gyeongsang-do (509.98 ppm) contained a significantly higher quantity of Ca than that from Gangwon-do (210.62 ppm) and Jeolla-do (223.88 ppm). In the gas chromatograph-mass spectrometry (GC-MS) analysis, oleic acid was identified in three 50% ethanol *Wofiporia extensa* extracts. In the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) assay for antioxidant activity, the IC $_{50}$ values of *Wofiporia extensa* cultured in Gangwon-do, Gyeongsang-do and Jeolla-do were calculated as 2.966 mg/mL, 23.03 mg/mL, and 4.16 mg/mL and 3.521 mg/mL, 12.17 mg/mL, and 7.40 mg/mL. In the ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay, the IC $_{50}$ values of *Wofiporia extensa* cultured in Gangwon-do, Gyeongsang-do, Jeolla-do were 6.585 mg/mL, 19.06 mg/mL, and 18.97 mg/mL, respectively. In summary, *Wofiporia extensa* cultured in Gangwon-do had stronger antioxidant activity and higher concentration of oleic acid than that of Geyongsang-do and Jeolla-do. However, *Wofiporia extensa* cultured in Geyongsang-do contained a much higher concentration of Ca than that of Gangwon-do and Jeolla-do.

KEYWORDS: Antioxidant activity, Elementary analysis, Phytochemical compound, Wolfiporia extensa

서 론

버섯류에 속하는 진균류의 일종인 복령(Wofiporia extensa)은 담자균 아강 다공균목 구멍버섯과 복령속으로, 소

Kor. J. Mycol. 2016 March, **44**(1): 23-30 http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2016.44.1.23 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author E-mail: parksch@knu.ac.kr

Received March 8, 2016 Revised March 22, 2016 Accepted March 22, 2016

[™]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.

나무류(Pinus spp.)를 절제한 후 3~5년이 경과한 뿌리 주변에 부정형의 균핵을 형성하는 기생균의 일종으로 알려져 있다. 복령은 균핵의 내부 색깔에 따라 육질이 견고한 백복령과 연하고 부드러운 적복령으로 구분하는데 맛은 달콤하고 향과 독이 없다[1].

복령의 주성분으로는 탄수화물, 수분, 조섬유질, 무기질 및 미량의 단백질 등이 함유되어[2] 있으며, 효능으로는 위 궤양 예방, 이뇨작용, 심신의 보양, 면역 증강, 식욕 증진, 뇌세포의 활성 등이 알려져 있다[3]. 복령 균사체에서 분리한 U-pachyman, pachymaran, carboxymethyl pachymarna 등은 항암 효과가 있으며, (1,3)-(1,6)-achymaran은 강한항종양성이 있다고 하였다[4, 5]. 또한 복령(Wofiporia extensa) 중의 triterpene 성분은 항구토, 항염증, 항피부암에효과가 알려져 있다[6]. 최근에는 복령의 껍질, 내피 추출물이 elastase, collagenase 활성을 저해하여 주름개선에 효능이 있고, 항염증 효능이 우수함을 나타내 주면서 복령

추출물은 항주름, 항염증에 안전한 화장품 천연 소재로의 활용이 가능하며[7] 식품으로도 복령 빵, 복령 국수 등 국 민건강 기능식품으로의 용도 다양화가 이루어지고 있다.

산업적 복령의 용도 다양화가 이루어지고 여러 가지 효능이 꾸준히 연구되면서 수요량이 꾸준히 증가하고 있는 추세이지만 국내산의 수요량이 절대적으로 부족하므로 95% 정도를 외국에서 수입하고 있다. 토지의 특성과 온도는 지역별로 차이가 있는 것으로 알려져 있고 이는 복령의 재배에 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 매립 재배되고 있는 지역별 매립 복령에 대한 성분 비교 분석 및 황산화 활성을 지역별로 비교하여 지역별로 복령의 소재로서 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

복령 시료의 수집

지역별(강원도, 경상도, 전라도)로 매립 재배되는 복령의 성분을 분석 비교하기 위하여 지역별로 상품화되고 있는 복령을 구입하여 사용하였다. 구입한 백복령은 분쇄기를 이용해 50 mesh 이하로 균질화한 후 건조 후에 시험에 이용하였다.

원소분석

복령을 구성하는 화합물의 원소 C (탄소), H (수소), N (질소), O (산소)을 분석하기 위하여 경북대학교 공동실험실습관에서 일반 원소분석기 Elemental Analyzer (EA 1110; CE Instruments, Wigan, England)를 이용하여 정성및 정량분석 하는데 사용하였다. 매립 복령의 생장에 가장많이 미치는 요소는 토양이며 토양에 따라 시료를 판별하고자 금속성분의 차이를 확인하였다. Elemental Analyzer의 분석 조건은 아래 Table 1과 같다.

성분 분석

복령이 가지고 있는 극미량의 무기질 성분과 중금속 함유량을 측정하기 위해 경북대학교 공동실험실습관에서 유도 결합 플라즈마 질량분석기(inductively coupled plasmamass spectrometry; ICP, optima 7300 DV; PerkinElmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여 각 원소별 농도 분석을 실시하였다. ICP 분석 조건은 아래 Table 2와 같다.

Gas chromatograph-Mass spectrometry 분석

생리활성에 많은 영향을 줄 수 있는 복령추출액의 휘발 성분의 비교를 위하여 용매추출물을 gas chromatographymass spectrometry (GC-MS)를 이용하여 분석을 실시하였 다. 복령추출액의 GC-MS 분석을 위해 경북대학교 공동실 험실습관에서 Agilent 7890A gas chromatography (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 5975 GC-MS selective detector (Agilent Technologies)을 이용하여 측정하였다.

Table 1. Operating condition and data acquisition parameters for elemental analyzer

Parameter	Operating condition		
Detector	TCD^{a}		
Column	CHNS-porapack PQS		
Windows	Eager for windows		
Determinent element	C,H,N,S		
Sample size	C,H,N,S: 0.5~0.6 mg O: 0.2~0.3 mg		
Measuring range	100 ppm - 100%		
Temperaure of column	$900^{\circ}\mathrm{C}$		
Analysis time	C,H,N,S: 800s / O: 320s		
Temperaure of oven	65°C		

^aTCD, thermal conductivity detector.

Table 2. Operating conditions and data acquisition parameters for ICP-MS^a

Parameter	Operating conditions
Rf power	1,300 W
Argon gas flow rate	
Plasma	15.0 L/min
Auxiliary	0.2 L/min
Carrier	0.8 L/min
He gas flow rate	1.5 mL/min
sampling and skimmer cones	Pt
Acquisition parameters	Quantitative
Points/mass	3
Interation time/mass	0.1
Total acquisition time/replicates	10
Replicate	3
Total acquisition time/sample	30

^aICP-MS, inductively coupled plasma-mass spectrometry.

복령추출액의 분석을 위한 칼럼은 30 m length × 0.25 mm the identifier (i.d.) and 0.25 ×m film thickness fused silica capillary column Agilent J&B DB-5MS을 사용하였다. 칼럼 온도는 70℃에서 1분간 유지, 300℃까지 분당 5℃ 식 승온하면서 300℃에서 20분 유지하였고 총 분석시간은 67분이었다. 주입구 및 검출기의 온도는 250℃로 하였고, 헬륨을 carrier gas로 사용하여 분당 1 mL의 유속을 유지하였다. 주입방법은 splitless 모드로 하여 주입하여 분석하였다. Mass selective detector의 이온화 에너지는 70 eV, scanning mass range는 10~800 m/z으로 하였다.

Radical 소거능 측정

지역별 복령추출물의 항산화 활성을 비교하기 위하여 건 조 분말 복령 시료에 10배량 (w/v)의 50% 에탄올을 첨가

한 후 3시간동안 환류냉각추출기를 사용하여 추출하였다. 위의 과정을 통해 획득한 추출액은 지름 11 μm의 여과지 (NO.1; Whatman, Piscataway, NJ, USA)로 여과한 후 진공 농축기(Ilshin Lab Co., Yangju, Korea)로 감압농축하고, 농 축된 추출물은 20°C 냉동고에 보관하였고 시험 전 필터 (pore size 0.45 μm filter)에 여과한 후 시험에 사용하였다.

전자공여능을 측정하기 위하여 복령 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) radical activity (electron donating abilities, EDA)는 다음과 같이 측정하였다. 즉, 메탄올에 용해된 각각의 추출 액 10 μL에 0.2 mM의 DPPH 100 μL을 가하여 37°C 인큐 베이터 암실에서 30분 동안 반응한 후 517 nm 흡광도(VersaMax microplate reader; Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 측정하였다. DPPH radical 소거 활성은 다음 식에 의해 계산하였고, IC₅₀ (DPPH radical 형성을 50% 억 제하는데 필요한 농도)으로 나타내었다(Table 3).

DPPH radical 소거능 (%) = [(Ab - Aa) / Ab] × 100

Aa: 시료첨가구의 흡광도, Ab: 무처리구의 흡광도

복령추출물의 ABTS+ radical cation 소거작용 측정은 7.4 mM 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS)와 2.4 mM potassiom persulfate를 3차 증류수에 용해하여 1:1로 혼합한 후 암실에서 실온으로 15시간 이상 동안 반응시켜 ABTS+를 형성시켰다. 734 nm에서 추출액 과 반응하기 전에 ABTS+ 용액의 흡광도는 0.700±0.005로 에탄올로 희석하여 하였다. 메탄올 용해 추출물 10 µL를 위의 반응 용액 200 µL을 가하여 실온에서 6분간 반응시켜 734 nm (VersaMax microplate reader; Molecular Devices) 에서 흡광도를 측정하였다. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)는 아래의 식으로 계산하였으며, ICso으로 계산하였다(Table 3).

ABTS+ radical 소거능 (%) = [(Ab - Aa) / Ab] × 100

Aa: 시료첨가구의 흡광도, Ab: 무처리구의 흡광도

FRAP assay 환원력

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 활성 측정은 0.2 M acetate buffer (pH 3.6)와 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazin (TPTZ)와 20 mM FeCl₃· H,O를 10:1:1 (v:v:v) 비율로 사용하였다. 메탄올에 용해한 각각의 복령추출물 20 μL에 FRAP용액 100 μL를 혼합한 후 37°C에서 30분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도 (VersaMax microplate reader; Molecular Devices) 측정하였고, IC₅₀ (DPPH radical 형성을 50% 억제하는데 필요한 농도) 으로 나타내었다(Table 3). 양성대조군으로 trolox를 사용 하였고 흡광도의 높은 값은 높은 환원력을 나타낸다.

통계처리

항산화 실험은 3회 반복으로 실시하여 얻은 결과로 통계 분석은 SAS ver. 9.3 (SAS Inc., Cary, NC, USA)를 이용하 여 각 측정 군의 평균과 표준 편차를 산출하고 처리간의 차 이 유무를 ANOVA로 분석한 뒤 Duncan's multiple range test (DMRT)을 실시(p < 0.05)하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 통상적인 버섯 재배와는 다른 소나무의 뿌리 부분 즉 지하부에서 성장하는 매립 복령은 토양과 환 경에 영향을 받을 수 있는지에 지역(강원도, 경상도, 전라 도)별 매립 복령의 균핵을 중심으로 복령의 구성 성분과 항산화 활성을 중심으로 비교하여 다음과 같은 결과를 얻 었다.

원소분석

매립 재배법에 따른 지역별 성분 분석 비교를 위해 지역 별(강원도, 경상도, 전라도) 복령의 일반 성분 분석(elemental analyzer) 결과를 아래 Table 4로 나타냈다. 3개도 복령 의 일반 성분은 거의 유사하게 나타났다. 본 연구에서 얻은

Table 3. IC₅₀ of various cultured region parts of Wofiporia extensa on DPPH and ABTS radical scavenging activities

Region -	DPPH radical scavenging activity		ABTS radical scavenging activity		FRAP assay		
	IC ₅₀ (mg/mL)	TE^b	IC ₅₀ (mg/mL)	TE^{b}	IC ₅₀ (mg/mL)	TE^{b}	
Gangwon-do	2.966 ± 1.81	-	3.521 ± 1.11	530.7	6.585 ± 1.5	294.15	
Gyeongsang-do	23.03 ± 1.06	-	12.170 ± 1.20	128.9	19.060 ± 1.9	321.47	
Jeolla-do	4.16 ± 1.51	-	7.400 ± 1.04	356.8	18.970 ± 8.8	321.40	
Positive control ^a	0.021 ± 1.13	-	1.783 ± 1.10	-	5.121 ± 1.3	-	

^aPositive control: ascorbic acid (1 mg/mL) for DPPH and trolox (20 mM) for ABTS and FRAP.

DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; ABTS, 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid; FRAP, ferric reducing antioxidant power.

 $^{^{}b}$ TE (µmol TE/g) = trolox (mmol/L)/sample (g/L).

Data were expressed as the means \pm SD from three independent experiments.

Table 4. Element contents of the Wofiporia extensa

Region (%)	Nitrogen	Carbon	Hydrogen	Sulphur	Oxygen
Gangwon-do	0.21	38.90	6.05	0	46.23
Gyeongsang-do	0.21	39.68	6.08	0	47.93
Jeolla-do	0.17	39.34	6.10	0	48.07

성분 함량은 Oxygen 46~48%로 가장 많이 포함하고 있었고 다음으로 38~39%의 carbon, 6.05~6.1% hydrogen, 0.17~0.21% nitrogen으로 나타났다. 그리고 3가지 복령 모두에서 sulphur 성분은 발견되지 않았다. 일반 원소분석에서 경상도, 전라도, 강원도에서 매립 재배된 복령의 차이점은 발견되지 않았다. 이미 보고된 바에 의하면 토양은 버섯 생장에 많은 영향을 미치고[8] 지역별 토양의 조성(광물의 특성, pH, 온도, 수분 등)에 따라 인삼의 무기원소의 성분 차이를 나타냈다[9].

이러한 것으로 보아 토양의 차이는 토양에서 자라는 식물 성분 변화의 차이를 주지만 지역별 복령에서는 성장의 특이성으로 인해 성분 변화의 차이를 주지 않은 것으로 보 인다.

Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP) 분석

강원도, 경상도, 전라도 지역의 매립 재배 복령의 성분 분석 비교를 위해 ICP spectrophotometer (optima 7300 DV; PerkinElmer)를 이용하여 11종 금속 함량 분석한 결과는 아래 Table 5와 Fig. 1로 나타냈다.

모든 복령에서 11종의 중금속의 분석결과 S, Ca, Mg, P을 공통적으로 함유하고 있으며 그 외 As, Se, Cu, Fe, Pb, Zn, Cd 등 7종은 0.1 ppm 이하의 미세한 수준으로 검출되었다. 특히 모든 복령에서 Ca을 제외하고 S는 145~149 ppm, Mg은 69~72 ppm, P는 122~154 ppm으로 큰 차이가 없었다. Ca은 경상도(509.98 ppm)가 강원도(210.61 ppm)와 전라도(223.88 ppm)보다 약 2~2.35배보다 많이 함유하였다. 이러한 이유는 명확하지 않으나 토양은 식물의 영양분 공급에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으므로 추후에 토양 분석을 동시에 실시하여 비교하는 것이 필요하다. 이러한 근거로 Kwon 등[5]과 Choi 등[10]은 자연산과 재배산 복령의 무기질 성분에 대하여 비교 분석한 결과 복령은 K, Na, Ca의 함량이 높았으며, Ghazali 등[11]은 Na와 Ca은 재배산에 비해 자연산의 함량이 높게 나타났고 재

배 일수가 길어 집에 따라 Fe, Zn, Cu, Na의 함량이 증가하 였으며 K, Mg, Ca의 함량은 감소하는 것으로 보고하였지 만 역시 재배한 토양 분석을 제시하지 않았다.

Gas chromatograph-Mass spectrometry (GC-MS) 분석

강원도, 경상도, 전라도 지역에서 채취한 복령에 대한 생리활성 성분을 비교하기 위하여 50% 에탄올 추출을 실시하였다. GC-MS로 분석한 결과(Table 6, 7), 모든 시료에서 oleic acid 계열의 9-octadecenoic acid 성분이 확인되었다. Oleic acid는 항염작용, 항균작용 및 암세포 성장억제 효과가 있는 것으로 알려져 있다[11,12]. 특히 강원도 복령추출액에서 50%로 가장 높은 함량을 나타내었고, 경상도 복령에서 16.4%, 전라도 복령에서 15.22% 함량을 보였다. 경상도를 제외한 강원도, 전라도 복령추출액에서 linoleic acid 계열의 9,12-octadecenoic acid [13,14]와 palmitic acid 계열의 지방산 5-Hydroxymethylfurfural 성분이 확인되었다. 5-hydroxymethylfurfural는 당뇨병질환 예방 효능이 알려져 있고[15], 화장품에 이미 산화방지제와 살진균제로 사용되고 있어 화장품계에서도 좋은 효능을 기대할 수 있다. 강원도 복령에서 나타난 hexadecanoic acid는 혈중 low-

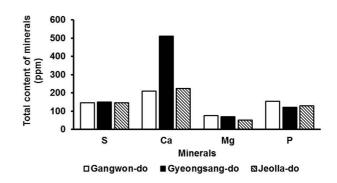


Fig. 1. Comparison of minerals (S, Ca, Mg, P) in each Wofiporia extensa by different regional cultured origins (Gangwondo, Gyeongsang-do, Jeolla-do).

Table 5. Heavy metal and minerals in Wofiporia extensa

Region (ppm)	As	S	Se	Ca	Cu	Fe	Mg	Pb	Zn	Cd	P
Gangwon-do	-	146.03	-	210.61	-	-	75.58	-	-	-	154.10
Gyeongsang-do	-	149.47	-	509.98	-	-	69.20	-	-	-	122.05
Jeolla-do	-	145.63	-	223.88	-	-	51.64	-	-	-	129.04

Table 6. Phyto-components identified in the extract of Wofiporia extensa

Region	No.	RT ^a (min)	Name of compound	Molecular Formula	Peak area (%)
	1	47.64	9-Octadecenoic acid	$C_{19}H_{34}O_2$	50.87
Canavian da	2	38.01	5-Hydroxymethylfurfural	$C_6H_6O_3$	13.51
Gangwon-do	3	44.30	hexadecanoic acid	$C_{_{16}}H_{_{32}}O_{_2}$	6.44
	4	48.46	9,12-Octadecadienoic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	4.73
	1	38.01	2-Furaldehyde	$C_5H_4O_2$	25.84
Cusamasana da	2	47.63	9-Octadecenoic acid	$C_{19}H_{34}O_2$	16.4
Gyeongsang-do	3	49.28	butan-1-ol	$C_4H_{10}O$	8.94
	4	16.67	Acetic acid	CH₃COOH	5.85
	1	47.64	9-Octadecenoic acid	$C_{19}H_{34}O_2$	15.22
Jeolla-do	2	48.45	9,12-Octadecadienoic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	13.44
jeona-do	3	69.97	13-Docosenamide	$C_{22}H_{43}NO$	13.42
	4	38.00	5-Hydroxymethylfurfural	$C_6H_6O_3$	8.23

^aRT, Retention time.

Table 7. Activity of phyto-components identified in the extract of Wofiporia extensa

No.	Name of compound	Activities	Reference
1	9-Octadecenoic acid	Anti-inflammatory Hypocholesterolemic Cancer preventive, Hepatoprotective, Nematicide, Insectifuge Antihistaminic, Antieczemic, Antiacne, 5-Alpha Reductase inhibitor, Antiandrogenic Antiarthritic Anticoronary, Insectifuge	[11, 12]
2	5-Hydroxymethylfurfural	cardiovascular, diabetes mellitus diseases preventive	[15]
3	hexadecanoic acid	low-density lipoprotein-cholesterol increased, decrease in high-density lipoprotein-cholesterol	[6]
4	9,12-Octadecadienoic acid	Antiinflammatory, hypocholesterolemic cancer preventive, hepatoprotective, nematicide insectifuge, antihistaminic antieczemic, antiacne, 5-alpha reductase inhibitor antiandrogenic, antiarthritic, anticoronary, insectifuge antibacterial, antifungal	[13, 14]
5	13-Docosenamide	antimicrobial	[11]

density lipoprotein (LDL) cholesterol을 높여주고, highdensity lipoprotein (HDL) cholesterol은 낮춰주는 등 심혈 관 질환의 예방 효능이 알려져 있다[16].

Radical 소거활성

항산화 활성 측정을 위해 DPPH와 ABTS 두 가지의 측정 법을 시행하여 복령 추출물의 radical 소거활성을 나타내었 다. DPPH는 비교적 안정한 free radical로서, 항산화 활성 을 가지는 물질이 DPPH free radical에게 전자를 공여해줌 으로써 짙은 자색이 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활 성을 간단히 측정할 수 있다.

복령 추출물을 이용하여 DPPH radical 소거활성을 측정 한 결과는 Fig. 2A와 같다. 추출물의 농도가 증가함에 따라 DPPH radical 소거활성이 증가하는 경향을 보였으며, 10 mg/mL의 농도에서 17.87~115%로 큰 차이를 보였다. 강원 도, 전라도 복령의 활성이 115%, 108%로 가장 낮은 활성을 나타낸 경상도 17.67% 활성보다 약 6~7배 높은 DPPH radical 소거활성을 보였다. 양성대조군인 1 mg/mL ascorbic acid (vitamin C)의 DPPH radical 소거활성과 비교 시 약 10배 가량 활성이 낮은 것으로 나타났다. IC., 값은 강원도 (2.97 mg/mL), 경상도(23.03 mg/mL), 전라도(4.16 mg/L) 로 ascorbic acid (21 µg/mL)보다 DPPH free radical 활성 이 현저히 낮은 것으로 나타났다. ABTS+ decolorization assay는 potassium persulfate와 ABTS (2,2'-azino-bis-3ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)의 산화에 의해 free radical을 형성시킨 후 각각의 시료에 대한 free radical 소 거능을 측정함으로서 항산화 활성을 확인할 수 있다. TEAC 방법을 이용하여 측정한 복령 추출물의 ABTS+ radical을 측정한 결과는 Fig. 2B와 같다. 복령 추출물 농도 10 mg/ mL의 농도에서 각각 강원도(83.7%), 경상도(25.5%), 전라 도(62.15%)의 활성을 나타내어 강원도, 전라도, 경상도 순 으로 ABTS+ radical 소거활성이 높게 나타났다. 이는 DPPH

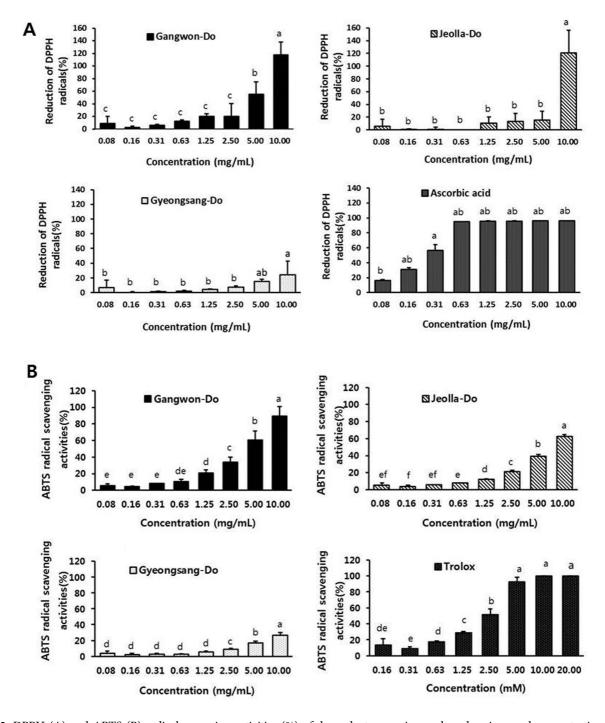


Fig. 2. DPPH (A) and ABTS (B) radical scavening activities (%) of dependent on various cultured regions and concentration from extracts of *Wofiporia extensa*. Data were expressed as the means \pm SD from three independent experiments. Different superscripts indicate significant different among group at p < 0.05. DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; ABTS, 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid.

로 측정한 결과와 비슷한 경향을 나타냈다. IC_{50} 값은 강원 $\Sigma(3.54 \text{ mg/mL})$, 경상 $\Sigma(12.17 \text{ mg/mL})$, 전라 $\Sigma(7.40 \text{ mg/mL})$ 로 양성대조구인 $\Sigma(1.78 \text{ mg/mL})$ 와 유사한 활성을 나타내었으나 농도대비 radical 소거활성은 상대적으로 Σ^{-7} 비 정도 낮았다. 이를 trolox equivalent capacity로 변

환시 각각 530.7 μmol TE/g (강원도), 128.9 μmol TE/g (경상도), 356.8 μmol TE/g (전라도)로 나타났다. 두 가지 측정법의 결과를 비추어 보아 강원도, 전라도 추출물의 free radical 소거활성이 경상도에 비해 좋은 것으로 확인되었다. 복령의 triterpene류는 항염증, 항피부암, 항구토 등의 항 암활성이 보고되고 있으며[6,17], 복령의 triterpene 함량 은 복령의 색도와 상관성이 있는 것으로 보고된 바 있다 [18]. 시료 무처리구의 색도를 살펴보면 강원도, 전라도 복 령의 추출물은 갈색을 띄고 있고 경상도 복령 추출물은 투 명색을 나타낸다. Radical 소거활성 결과를 종합해 보면, 복 령의 triterpene과 색도가 radical 소거활성의 주요 물질로 작용하여 항산화력에 영향을 미친다는 것을 예측해 볼 수 있다.

FRAP assay

FRAP assay colored ferrous tripyridyl triazine complex에 의해 ferric ion이 ferrous로 전환되는 과정을 분석함 으로써 항산화력을 측정하는 방법으로 낮은 pH에서 환원 제에 의해 ferric tripyridyltriazine (Fe³⁺-TPTZ) 복합체가 ferrous tripyridyltriazine (Fe²⁺-TPTZ)으로 환원되는 원리 를 이용한 것이다[19]. 복령 추출물을 이용하여 FRAP assay에 의한 항산화 활성을 측정한 결과는 Fig. 3와 같다. 환 원력에서의 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나 타내며, 높은 항산화 활성을 가질수록 흡광도의 수치가 높 게 나타난다. 앞의 DPPH와 ABTS 실험결과와 동일하게 농 도 증가에 따른 항산화 활성의 비례적인 증가를 나타내었 고, IC50값은 강원도(6.585mg/mL), 경상도(19.06mm/mL), 전라도(18.97mg/mL)로 양성대조구 강원도 복령은 trolox (5.121 mg/mL)와 유사한 항산화력을 나타내었고, 경상도

전라도는 약 3~4배 낮은 것으로 확인되었다. 이를 trolox equivalent capacity로 변환시 각각 294.15 μmol TE/g (강 원도), 321.47 μmol TE/g (경상도), 321.4 μmol TE/g (전라 도)로 나타났다.

적 요

본 연구에서는 복령의 성장 환경조건이 다른 지역(강원 도, 경상도, 전라도)별 복령의 성분 분석 및 생리활성 비교 를 위해 연구하였다. 일반성분 분석 결과, oxygen 46~48% 로 가장 많이 포함하고 있었고 다음으로 38~39%의 Carbon, 6.05~6.1% Hydrogen, 0.17~0.21% Nitrogen으로 나타났다. 그리고 3개도 복령 모두에서 sulphur 성분은 발견되지 않 았다. 지역별 복령을 inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP) 분석으로 11종의 무기질을 분석한 결과 S 는 145~149 ppm, Mg은 69~72 ppm, P는 122~154 ppm로 비슷한 함유량을 나타냈고, Ca은 경상도(509.98 ppm)가 강 원도(210.61 ppm)와 전라도 (223.88 ppm)보다 약 2~2.35 배보다 많이 함유하였다. GC-MS 분석 결과 모든 복령에서 oleic aid 계열의 지방산이 확인되었다. 50% 에탄올 복령 추 출물의 DPPH와 ABTS radical 소거활성과 FRAP 방법을 실행하여 항산화 효과를 알아보았다. 복령 추출물 10mg/ ml의 농도에서 강원도, 전라도 복령의 DPPH와 ABTS의 IC50 값은 강원도(3 mg/mL), 경상도(23.03 mg/mL), 전라도

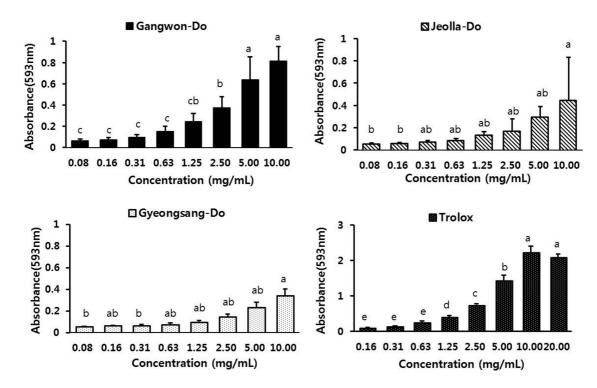


Fig. 3. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay of dependent on various cultured regions and concentration from extracts of Wofiporia extensa. Data were expressed as the means ± SD from three independent experiments. Different superscripts indicate significant different among group at p < 0.05.

(4.16 mg/mL)와 강원도(3.52 mg/mL), 경상도(12.17 mg/ mL), 전라도(7.40 mg/mL)로 계산되었다. FRAP에서 ICso 값은 강원도(6.59 mg/mL), 경상도(19.06 mg/mL), 전라도 (18.97 mg/mL)로 계산되었다. 연구에 사용한 복령의 항산 화 활성은 농도 의존적인 증가를 보였으며 강원도, 전라도, 경상도 복령의 순으로 항산화 활성이 나타났다.

Acknowledgements

This study was supported in part by a grant the Technology Development Program for Forestry (S111515L05 0130), Korea Forest Service, and in part by Bio-industry Technology Development Program, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Republic of Korea.

REFERENCES

- 1. Kang AS, Kang TS, Shon HR, Seo SM, Kang MS, Kim KP, Lee JS. Studies on improvement of artificial cultivation and antioxidative activity of Poria cocos. Kor J Mycol 1999;27:378-
- 2 Saito H, Misaki A, Harada T. A comparison the structure of curdlan and pachyman. Agric Biol Chem 1968;32:1261-9.
- 3. Lee KS, Lee MW, Lee JY. Studies on the antibacterial activity of Poria cocos. Kor J Mycol 1982;10:27-31.
- 4. Hamuro J, Yamashita Y, Ohsaka Y, Maeda YY, Chihara G. Carboxymethylpachymaran, a new water soluble polysaccharide with marked antitumour activity. Nature 1971;233:486-8.
- 5. Kwon MS, Chung SK, Choi JU, Song KS, Kang WW. Quality and functional characteristics of cultivated hoelen (Poria cocos Wolf) under the picking date. J Korean Soc Food Sci Nutr 1998;27:1034-40.
- 6. Nukaya H, Yamashiro H, Fukazawa H, Ishida H, Tsuji K. Isolation of inhibitors of TPA-induced mouse ear edema form Hoelen, Poria cocos. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1996;44:847-
- 7. Jang YA, Lee JT. The evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and anti-aging of extract solvent and Poria cocos by

- parts. Korean J Aesthet Cosmetol 2015;13:377-83.
- 8. Park YW, Koo CD, Lee HY, Ryu SR, Kin TH, Cho YG. Relationship between macrofungi fruiting and environmental factors in Songnisan National Park. Korean J Environ Ecol 2010;
- 9. Song S, Min ES. Characteristics of the inorganic element contents for the Korean ginsengs from various soils of Keumsan. I Ginseng Res 2009;33:13-25.
- 10. Choi OB, Cho DB, Kim DP. The components of cultivated Poria cocos. Korean I Food Nutr 1996;9:438-40.
- 11. Ghazali N, Abdullah NA, Bakar AA, Mohamad NK. GC-MS analysis of some bioactive components in the root extract of Ixora coccinea linn. Int J Pharma Bio Sci 2014;5:197-203.
- 12. Win DT. Oleic acid: the anti-breast cancer component in olive oil. AU J Technol 2005;9:75-8.
- 13. Jegadeeswari P, Nishanthini A, Muthukumarasamy S, Mohan VR. GC-MS analysis of bioactive components of Aristolochia krysagathra (Aristolochiaceae). J Curr Chem Pharm Sci 2012; 2:226-32.
- 14. Kapoor A, Mishra DN, Narasimhan B. Antibacterial and antifungal evaluation of synthesized 9, 12-octadecadienoic acid derivatives. Pharm Lett 2014;6:246-51.
- 15. Cao G, Cai H, Cai B, Tu S. Effect of 5-hydroxymethylfurfural derived from processed Cornus officinalis on the prevention of high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells and its mechanism. Food Chem 2013;140: 273-9.
- 16. French MA, Sundram K, Clandinin MT. Cholesterolaemic effect of palmitic acid in relation to other dietary fatty acids. Asia Pac J Clin Nutr 2002;11 Suppl 7:S401-7.
- 17. Tai T, Akita Y, Kinoshita K, Koyama K, Takahashi K, Watanabe K. Anti-emetic principles of Poria cocos. Planta Med 1995;
- 18. Tai T, Mikage M, Tsuda Y, Akahori A. Analytical studies on Poria cocos, II. The relationship between the triterpene contents and the color of the Sclerotium. Nat Med 1994;48:219-
- 19. Kim JH, Jeong CH, Choi GN, Kwak JH, Choi SG, Heo HJ. Antioxidant and neuronal cell protective effects of methanol extract from Schizandra chinensis using an in vitro system. Korean J Food Sci Technol 2006;41:712-6.