

The determination of total phenolic and flavonoid contents in *Lentinus edodes* and their Glutathione S-Transferases effects

Hyun-Ik Hwang¹, In-Son Lee¹, Hae-Yeon Moon²

Phytochemical co. LTD¹, Department of Biotechnology, Daegu University²

TEL: +82-53-850-6552, FAX: +82-53-850-6559

Abstract

The total phenolic and flavonoid contents of *Lentinus edodes* extracts were determined by spectrophotometrical method, and antihepatotoxic activity was detected on glutathione S-Transferases(GST). The total phenolic contents was highest water extract than solvent(ethanol, methanol) extracts, but flavonoid content was appear on opposite. GST activity was the highest appears in water extract. This fact verified of anticancer effect indirectly of *Lentinus edodes*.

서 론

표고 버섯의 효능에는 독을 없애고 기를 도와 허기를 느끼지 않게 하며 피를 잘 통하게 함으로서 풍의 치료효과가 있다고 한다. 또한 표고에 들어 있는 성분이 콜레스테롤 수치를 낮추어 혈액순환을 원활하게 도와 동맥경화를 예방하며, 여성의 냉증과 변비증, 미용에 유익하며 뼈를 튼튼하게 해주는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 표고의 등급에는 일반적으로 동고, 향고, 향신, 동고소립, 향고소립 등이 있는데, 그 중 동고소립은 포자가 많기 때문에 약효성분이 많다고 판명되었으며, 갓의 색깔이 검은 표고에는 멜라닌 색소가 많기 때문에 호르몬이나 인슐린 등의 분비를 매우 좋게 한다는 연구 결과가 있다. 최근의 연구에 따르면 표고성분 중에 항암 및 항종양 다당체 물질인 lectin 이 함유되어 있어 암치료에 많은 도움을 준다는 보고가 있으며, 색소성분인 멜라닌은 뇌 중심부에 작용하여 자율신경을 안정화 시켜주는 효과가 있다고 한다. 이러한 표고버섯의 효능을 검증하기 위하여 생표고와 건조표고, 분말표고의 추출물을 이용하여 1차적인 항산화 활성과 관련있는 total phenolic compounds 과 flavonoid 의 함량을 측정하였으며 독성물질 제거 효능이 있는 Glutathione S-Transferases 효과를 측정하여 표고버섯의 효능을 알아보았다.

재료 및 방법

1. 재료

표고버섯 재료는 생표고와 건조표고, 분말표고를 경산시 소재 김영표 버섯명가 (053-852-7576)로부터 제공받아 사용하였다. 실험에 사용한 시약은 Sigma사와 국산의 특급시약을 사용하였다.

2. 표고버섯을 이용한 물질 추출

표고버섯 추출물을 얻기 위하여 생표고와 건조 표고는 잘게 세절한 후 용매와 재료의 비율을 1:10(w:v)의 비율로 하여 추출하였다. 표고분말은 김영표 버섯명가에서 가공하여 제공한 그대로 용매와 재료를 1:10(w:v)의 비율로 추출하였다. 추출 용매로는 증류수와 ethanol, methanol 을 사용하였다.

3. Total phenolic compounds 함량분석

표고버섯 추출물을 2차 증류수와 혼합하여 10 ml로 희석한 후 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1ml를 넣고 혼합한 후 5~8분간 방치하였다. 10 ml 의 7% Na₂CO₃ 혼합 후 즉시 4 ml 의 2차 증류수 넣어서 실온에서 90분간 반응시킨 후 spectrophotometer 750 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질인 gallic acid 농도별(20, 40, 60, 80, 100 mg/ml) 희석액을 만든 후 동일한 방법으로 실험을 한 후 표준값으로 하여 total phenolic compound 의 함량을 환산하였다. 본 실험은 3번 반복 실시하여 값을 산출하였다.

4. Flavonoid 함량 분석

표고버섯 추출물을 2차 증류수와 혼합하여 5 ml 로 희석한 후 5% NaNO₂ 0.3ml 넣고 혼합하여 5분간 반응 후 0.3 ml의 10% AlCl₃ 넣어서 다시 6분간 반응한 다음 1 M NaOH 를 2ml 넣어준 다음 2차 증류수 넣어서 total volume 10 ml 희석한 후 spectrophotometer 를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정한다. 표준물질인 catechin 농도별(20, 40, 60, 80, 100 mg/ml) 희석액을 만든 후 동일한 방법으로 실험을 한 후 보정값을 산출하여 flavonoid 의 함량을 환산하였다. 본 실험은 3번 반복 실시하여 값을 산출하였다.

4. Glutathione S-Transferases 활성 측정

10 mM CDNB 25 μ l 과 10 mM GSH(Glutathion) 100 μ l, 100 mM Na-phosphate buffer(pH 6.9) 900 μ l 를 혼합한 다음 표고버섯 추출물을 넣어준 후 37°C에서 5분간 반응을 시킨 다음 반응 중지를 위하여 반응액과 동일량의 20% TCA를 첨가하여 spectrophotometer 340 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

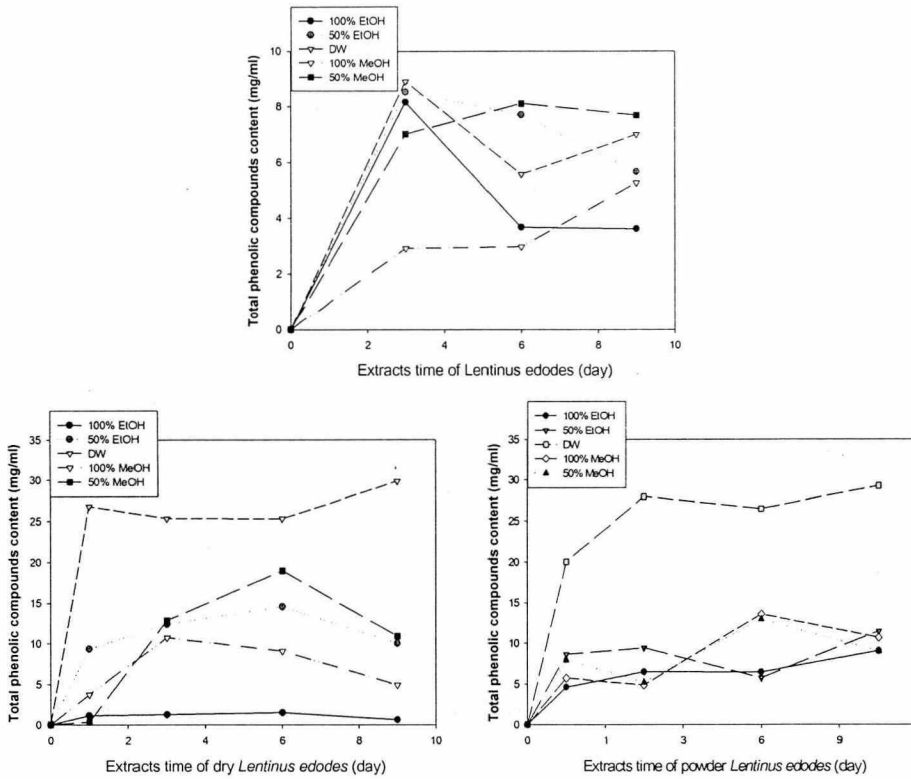


Fig. 1 The determination of total phenolic contents in *Lentinus edodes*.

결과 및 고찰

1. Total phenolic compounds 함량분석

다양한 용매를 이용한 표고버섯 추출물의 total phenolic compounds 함량을 분석한 결과 증류수를 이용한 추출물의 phenolic compounds의 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, 추출시간은 3일 추출이 가장 높게 나타났다(Fig. 1). 건표고와 표고분말에서 대략 28 mg/g 추출되었으며 생표고에서는 8.9 mg/g 로 관찰되었다. 이는 건조표고와 분말의 경우 생표고 수분함량을 고려하였을 때 건조과정 중에 phenolic compounds의 손실이 거의 없는 것으로 판단된다.

2. Flavonoid 함량 분석

표고버섯 추출물의 flavonoid 함량 분석 결과 total phenolic 함량과는 다르게 증류수 추출물보다는 100% ethanol 와 100% methanol 추출물에서 flavonoid 함량이 높게 나타났다(Fig. 2).

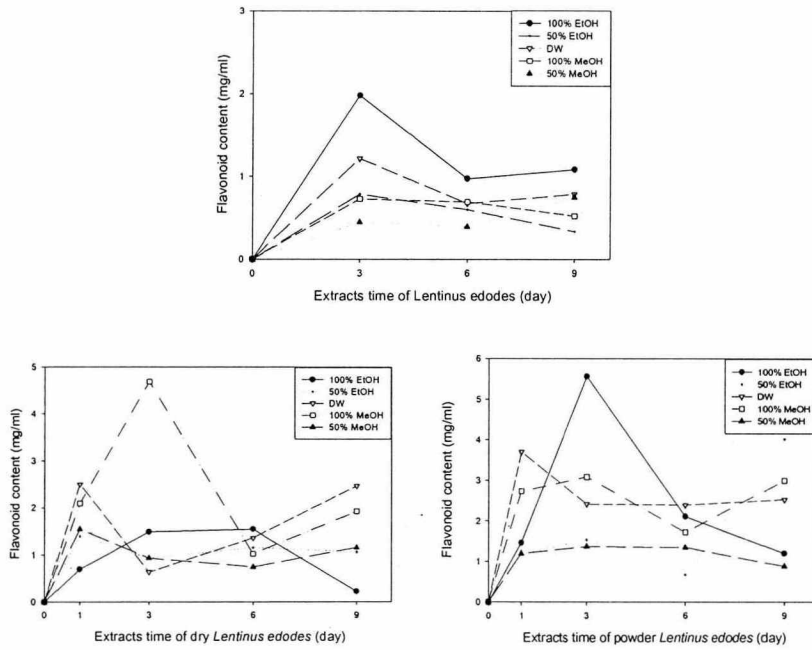


Fig. 2. The determination of Flavonoid contents in *Lentinus edodes*.

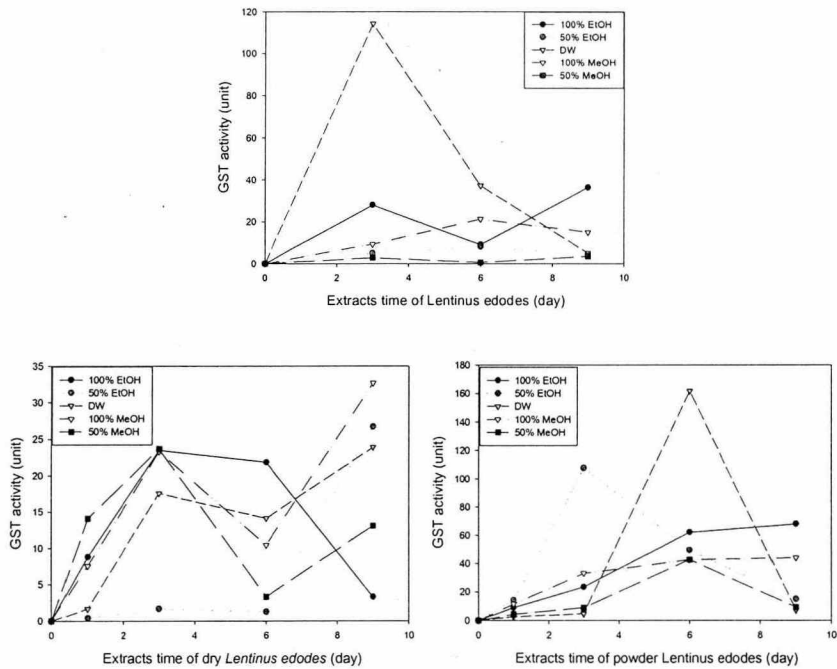


Fig. 3. Glutathione S-Transferases activity of *Lentinus edodes*.

3. Glutathione S-Transferases 활성 측정

표고버섯 추출물 중 독성물질 제거에 효능이 있는 것으로 알려진 GST 활성을 측정한 결과 증류수 추출물의 활성이 가장 높은 것으로 확인 되었다.(Fig. 3). 증류수 추출물 중 GST 활성을 가지는 물질은 total phenolic compounds이며 flavonoid는 GST 활성에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 추정된다.

요 약

표고버섯 추출물을 이용한 total phenolic compounds 와 flavonoid 함량 분석 후 표고버섯의 GST activity 를 측정한 결과 높은 GST 활성을 가지는 추출물은 total phenolic compounds의 함량이 높게 나타난 증류수 추출물로 나타났으며, flavonoid의 함량이 높게 나타난 ethanol, methanol 추출물에서는 비교적 낮게 나타났다. 이는 표고버섯 추출물 중 GST 활성을 나타내는 물질은 flavonoid 외의 다른 total phenolic compounds 로 추정된다.

References

1. Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965), Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am. J. Enol. Vitic.* **16**, 144-158.
2. Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. (1999), The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* **164**, 555-559.
3. H. Franciosa., J. B. Berge. (1995), Glutathione S-transferases in Housefly(*Musca domestica*): Location of GST-1 and GST-2 Families, *Insect. Biochem. Molec.* **25**(3), 311-317.