

석이버섯 용매 추출물의 항산화 및 아질산염 소거작용

정 은 재

경북과학대학 약용식품과

Antioxidative and Nitrite-scavenging Effects of Solvent Extracts from *Gyrophora esculenta*

Eun-Jae Jeong

Dept. of Herbs & Food Science, Kyongbuk College of Science, Chulkok, Kyongbuk 718-850, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate electron donating ability, antioxidative activity and nitrite-scavenging effect of solvent extracts from *Gyrophora esculenta*. The phenolic compounds of diethylether, butanol, petroleum ether and hexane extracts were 194.20 μ g /ml, 98.80 μ g /ml, 1.60 μ g /ml and 0.20 μ g /ml, respectively. Electron donating abilities of diethylether and butanol extracts from *Gyrophora esculenta* were 80.79% and 72.81%, respectively. Absorption of DPPH by diethylether and butanol extracts sharply increased at initial stage. Antioxidative activities of diethylether and butanol extracts by peroxide values are rather high as compared to those of control, but low as compared to those of BHA. Nitrite-scavenging abilities of diethylether, butanol and petroleum ether extracts from *Gyrophora esculenta* were 96.07%, 77.39% and 15.07%, respectively.

Key words : *Gyrophora esculenta*, electron donating ability, antioxidative activity, nitrite-scavenging effect.

서 론

전자 공여 작용 및 항산화성을 나타내는 천연물은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방질 산화를 억제할 목적으로 사용되고 있을 뿐만 아니라, 인체내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하기 위하여 이용되고 있다.

지금까지 알려진 천연 항산화 물질로는 ascorbic acid, tocopherol류, flavonoids, 페놀성 화합물 등이 알려져 있으며, 그 중에서도 생약 중의 페놀성 화합물은 항산화 작용을 가진 대표적인 물질로 보고되어 있다^{1,2,3)}.

정⁴⁾은 영지의 n-hexane 추출물과 methanol 추출물이 BHT 및 sesamol보다는 항산화 활성이 낮았으나 대조구에 비교해서는 강한 활성을 나타낸다고 하였다. 마⁵⁾는 표고버섯의 용매추출물을 혼입한 시료

는 저장중 대조구보다 과산화물기가 상대적으로 낮게 나타나 산폐억제 효과가 있다고 보고하였다.

한편, 식육제품, 수산물 등에 첨가되고 있는 아질산염은 미생물의 생육을 억제할 뿐만 아니라 육색소의 발색을 양호하게 하며, 지방의 산폐를 억제함으로써 식품의 가공 및 저장에 널리 이용되고 있다^{6,7)}. 그러나 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정농도 이상 섭취하게 되면 각종 증상을 일으키는 것으로 알려져 있으며⁸⁾, 또한 식품에 존재하는 아민류와 반응하여 발암성이 있는 나트로사민을 생성하는 것으로 보고되고 있다⁹⁾. 한편, 식품성분간의 반응 생성물에 의한 억제효과도 밝혀져, Cooney와 Ross¹⁰⁾는 페놀성 화합물의 니트로화 반응에 미치는 영향에 대하여 발표하였는데 phenolic, guaiacol, resorcinol 등을 니트로화 반응을 강력하게 억제한다고 보고하였다. 그러나 석이버섯에 관한 연구로는 김 등^{11~13)}이 발표

Corresponding author : Eun-Jae Jeong

한 간장 및 혈장 cholesterol 저하 효과에 관한 논문이 있으나 항산화성 및 아질산염 소거작용에 대한 연구보문은 없는 실정이다.

따라서 본 실험에서는 석이버섯을 각종 용매로 추출하여 이들 추출물의 전자공여 작용, 항산화 효과 및 아질산염 소거작용을 측정하였기에 그 결과를 보고하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험에 사용한 석이버섯(*Gyrophora esculenta*)은 대구 약재시장에서 건조된 상태로 구입하여 사용하였다. Folin-Ciocalteau Reagent, α,α -diphenyl- β -picryl hydrazyl(DPPH) 및 60% linoleic acid는 Sigma사 제품을 이용하였다.

2. 석이버섯의 용매별 분획

석이버섯의 용매별 분획은 폐놀성 화합물의 추출방법인 Krygier의 방법¹⁴⁾을 개량하여 실시하였다. 즉, 건조 석이버섯을 건물량으로 환산하여 건물량 40g을 n-hexane으로 6회 반복 탈지하고, 남은 잔사를 4 N-NaOH 200ml로 20°C, 암실에서 4시간 분해하고 HCl로 중화한 다음 건조하여 마쇄한 후 hexane으로 6회 추출하였으며, 잔사를 다시 petroleum ether로 6회 반복추출하였다. Petroleum ether로 추출 후 남은 잔사는 diethylether로 6회 추출한 후 butanol로 6회 반복 추출하였다. 이렇게 하여 얻은 각각의 용매추출물은 sodium sulfide anhydrous로 잔여수분을 제거하고 용매를 증발시켜 methanol 30ml에 녹여 측정용 시료로 사용하였다.

3. Phenolic 화합물의 측정

각종 용매 추출물의 phenol성 화합물의 농도는 Folin-Ciocalteau시약으로 측정하였다¹⁵⁾. 10ml의 시험관에 시료 200 μ l와 물 5ml을 첨가하고 여기에 0.5ml Folin-Ciocalteau 시약을 넣어 혼합한 후 3분간 정치시켰다. 다시 Na₂CO₃용액 1ml을 가하여 혼합한 후 적정배율로 회석하여 1시간 방치하여 725nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 표준곡성을 그리기 위한 물질로서 caffeic acid를 이용하였으며, caffeic acid의 농도는 0~100 μ g / 10ml였다.

4. 전자공여 작용 측정

전자 공여 작용(electron donating ability ;

EDA)은 각종 화합물이 α,α -diphenyl- β -picryl hydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여능으로서 화합물의 환원력을 측정하였다¹⁶⁾. DPPH 16mg을 100ml absolute ethanol에 용해한 후 중류수 100ml를 가지고 filter paper(No. 1, Whatman)로 여과하였다. 이 여액 5ml에 각종 용매추출물 100 μ l를 가한 후 vortex mixer로 5초간 진탕하고 2분 동안 분광광도계(DU-7 UV/VIS Spectrophotometer)를 사용하여 528 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. 과산화물기의 측정

석이버섯으로부터 추출된 각종 용매추출물의 항산화 효과는 AOAC방법 Cd 8-53¹⁷⁾에 따라 POV를 측정하였다. 기질은 60% linoleic acid(Sigma, USA)를 사용하였고 유기용매 추출물은 기질 20ml에 0.5ml씩 첨가하였으며, 비교구는 기질에 0.02%의 BHA(Sigma, USA)를 사용하였다. 비교구와 유기용매 추출물 첨가구를 40°C 수육조에서 용매를 제거한 후 직경 2ml인 vial에 옮겨 50°C 항온기에서 21일간 산화시키면서 경시적으로 시험액의 POV가를 측정하여 석이버섯으로부터 추출된 시료의 항산화 효과를 검토하였다.

6. 아질산염 소거작용의 측정

석이버섯으로부터 추출된 각종 용매추출물의 아질산염 소거작용은 Kato 등¹⁸⁾의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 1mM NaNO₂용액 1ml에 각종 용매추출물을 200 μ l 가하였고, 반응용액의 pH는 0.2M 구연산 완충액을 사용하여 pH 3.0으로 조절하였다. 아질산염 소거작용은 화합물을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 백분율(%)로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 폐놀성 화합물의 함량

석이버섯의 폐놀성 화합물의 함량은 Fig. 1과 같으며, 석이버섯의 diethylether 추출물이 194.20 μ g / ml으로 높게 나타났다. 그리고 butanol 추출물은 98.80 μ g / ml로 diethylether 추출물보다는 낮았으나 극성이 높은 폐놀성 화합물이 많이 존재하는 것으로 나타났다. 그러나 petroleum ether와 hexane 추출물에서는 폐놀성 화합물이 거의 존재하지 않았다.

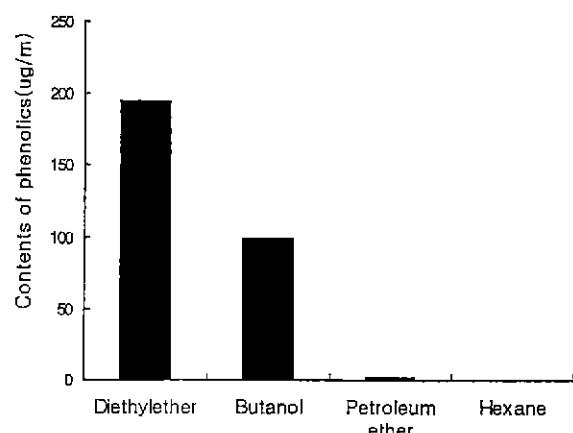


Fig. 1. Contents of phenolic compounds of various solvent extracts from *Gyrophora esculenta*.

2. 항산화 효과

전자 공여 작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되고 있을 뿐만 아니라, 인체내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 목적으로 이용되고 있다. 석이버섯을 폐놀성 화합물을 추출하기 위해 용매별로 분획하여 전자공여 작용을 살펴본 결과 Fig. 2에 나타난 바와 같다. 폐놀성 화합물의 함량이 높은 석이버섯 diethylether 및 butanol 추출물의 전자공여 작용은 흡광도 감소율이 각각 80.79%, 72.81%로서 높게 나타났으며, DPPH의 반응에서 반응초기단계에 DPPH를 많이 흡수하여 급격히 감소하였다가 30초 이후부터는 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 그러나 폐놀성 화합물의 함량이 낮은 petroleum ether와 hexane 추출물의 전자공여 작용은 각각 7.

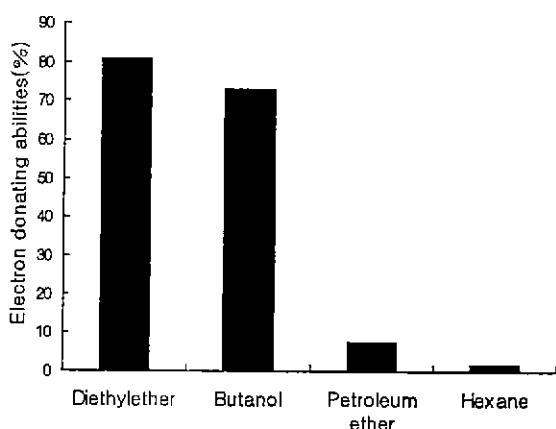


Fig. 2. Electron donating abilities of various solvent extracts from *Gyrophora esculenta*.

72%, 1.5%의 흡광도 감소율을 나타내어 전자공여 작용이 거의 없었다.

석이버섯 용매추출물의 항산화 효과는 60% linoleic acid 가질에 버섯추출물을 첨가하여 21일간 저장하면서 과산화물가를 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 8에 나타내었다. 대조군과 petroleum ether 및 hexane 추출물의 경우, 저장 직후부터 과산화물가가 급격히 상승하면서 산패가 진행되었으며, 항산화 효과는 거의 없었다. 석이버섯 diethylether 및 butanol 추출물의 항산화 효과는 대조군보다 우수하였으며, 항산화 효과의 우수성은 diethylether, butanol, petroleum ether 및 hexane 추출물의 순이었다. 그러나 비교군으로서의 BHA보다는 석이버섯의 용매 추출물 모두 낮은 항산화 효과를 나타내었다.

3. 아질산염 소거작용

석이버섯 추출물의 아질산염 소거작용은 Fig. 3과

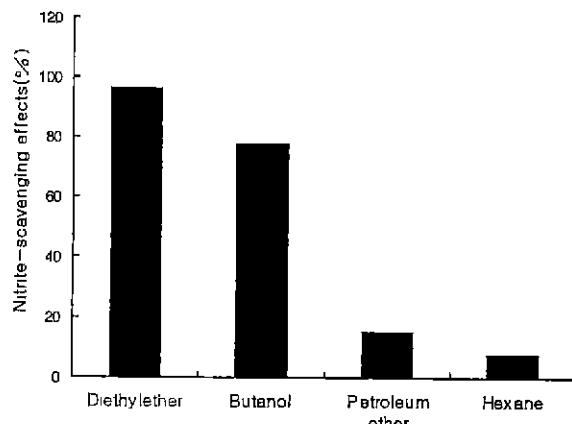


Fig. 3. Nitrite scavenging effects of various solvent extracts from *Gyrophora esculenta*.

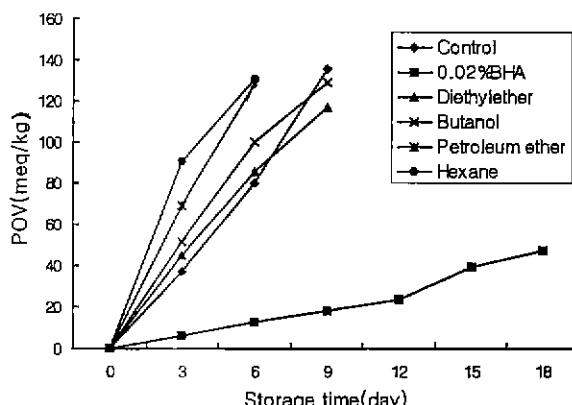


Fig. 4. Peroxide values in linoleic acid substrates containing BHA and various solvent extracts of *Gyrophora esculenta*.

같으며, 석이버섯의 diethylether 추출물은 96.07%의 아질산염 소거작용을 나타내어 석이버섯 중에 존재하는 페놀성 화합물이 아질산염을 소거하여 제거하는 작용이 우수하였음을 볼 수 있었다. 그리고 butanol 추출물 또한 72.39%의 아질산염 소거작용을 나타내었는데, 이것은 극성이 높은 페놀성 화합물 또한 아질산염 소거작용이 우수하였으며 그 함량에 비해 상대적으로 높은 작용을 나타내었다. 이 등¹⁹⁾은 영지, 양송이 및 표고버섯의 diethylether 및 butanol 추출물의 아질산염 소거작용이 70% 이하였다고 보고하였으므로, 석이버섯의 아질산염 소거작용은 상대적으로 우수함을 알 수 있었다. 그러나 페놀성 화합물이 거의 없는 petroleum ether와 hexane 추출물에서는 아질산염 소거작용이 각각 15.07%, 7.3%로서 소거작용이 거의 없었다.

요 약

본 연구는 석이버섯의 기능성을 검토하기 위하여 석이버섯을 각종 용매로 추출하여 이들 추출물의 전자공여 작용, 항산화 효과 및 아질산염 소거작용을 측정하였다. 석이버섯 diethylether 및 butanol 추출물의 페놀성 화합물의 함량은 각각 194.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 98.80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 높게 나타났다. 그러나 petroleum ether와 hexane 추출물에서는 페놀성 화합물이 거의 존재하지 않았다. 석이버섯 diethylether 및 butanol 추출물의 전자공여 작용은 각각 80.79%, 72.81%로서 높게 나타났으며, DPPH와의 반응초기에 흡광도가 급격히 감소하였다. 석이버섯 diethylether 및 butanol 추출물의 항산화 효과는 대조군보다 우수하였으나, BHA보다는 모두 낮은 항산화 효과를 나타내었다. 석이버섯의 아질산염 소거작용은 diethylether 및 butanol 추출물에서 각각 96.07%, 72.39%으로 나타내었다. 그러나 페놀성 화합물이 거의 없는 petroleum ether와 hexane 추출물에서는 아질산염 소거작용이 각각 15.07%, 7.3%로서 약하게 나타났다.

참고문헌

- Nachiko, Y. : Antioxidant preparations from Non-salted Soybean Miso, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 31, 278(1984).
- Avena, S. L. and Hinoat, L. V. : Ferulic acid and other phenolics in oat seeds, *J. Food Sci.*, 42, 551 (1977).
- Kozlowska, H. and Zadernowski, R. : Phenolic acids in rapeseed and mustard, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60, 1119(1983).
- 정동욱 : 영지의 항산화성 물질에 관한 연구, *한국식품과학회지*, 24, 497(1992).
- 마상조 : 건조포고버섯의 각종 용매추출물의 항산화작용의 효과, *한국식품과학회지*, 15, 150(1983).
- Pivnick, H., Rubin, L. J., Barnett, H. W., Nordin, H. R., Ferguson, P. A. and Perrin, H. : Effect of sodium nitrite and temperature on toxinogenesis by *Clostridium botulinum* in perishable cooked meats vacuum-packed in air-impermeable plastic pouches, *Food Technology*, 21, 100(1967).
- Fox, J. B. : The chemistry of meat pigments, *J. Agric. Food Chem.*, 14, 207(1966).
- Peter, F. S. : The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds, *J. Sci. Food Agric.*, 26, 1761(1975).
- Crosby, N. T. and Sawyer, R. : N-nitrosamines : A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs, "Advances in food research" (C.O. Chichstered.), Academic Press, 21, 1(1976).
- Cooney, R. V. and Ross, P. D. : N-nitrosation and nonitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution : Effects of vanillin and related phenols, *J. Agric. Food Chem.*, 35, 789(1978).
- 김천호, 福場博保 : 석이버섯(*Gyrophora esculanta*) 중에 함유되어 있는 간장 및 혈장 콜레스테롤의 저하 생리 활성물질에 관한 연구, *한국영양학회지*, 16, 27(1983).
- 김천호 : 석이버섯(*Gyrophora esculanta*) 중에 함유되어 있는 간장 및 혈장 콜레스테롤의 저하 생리 활성물질에 관한 연구, *한국영양학회지*, 19, 155(1986).
- 김천호, 福場博保 : 석이버섯(*Gyrophora esculanta*) 중에 함유되어 있는 간장 및 혈장 콜레스테롤의 저하 생리 활성물질에 관한 연구(제4보), *한국영양학회지*, 20, 10(1987).
- Krygier, K., Sosulski, F. and Hogge, L. : Free, esterified, and insoluble bound phenolic acids. 1. Extraction and purification procedure, *J. Agric. Food Chem.*, 30, 330(1982).
- Gutfinger, T. : Polyphenols in olive oils, *JAOCS.*, 58, 966(1981).
- Blois, M. S. : Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, 1199 (1958).
- A.O.A.C. : *Official Methods of Analysis*, 15th ed., Association official Analytical Chemists, Washington D.C., p.956(1990).
- Kato, H., Lee, I. E., Chuyen, N. V., Kim, S. B. and Hayase, F. : Inhibitory of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins, *Agric. Biol. Chem.*, 51, 1333(1987).
- Lee, G.D., Chang, H.G. and Kim, H.K. : Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible

mushrooms, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29, 432
(1997).

(1998년 8월 12일 접수)