

흰색 느티만가닥버섯 추출물의 항산화 활성 및 tyrosinase 저해 효과

김수철** · 김혜수 · 조수정*

경남과학기술대학교 제약공학과

Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*) extracts

Su Cheol Kim**, Hye Soo Kim, and Soo Jeong Cho*

Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongsang National University of Science and Technology, 33 Dongjin-ro Jinju 52725, Korea

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate antioxidant effect and tyrosinase inhibitory activity of white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*) extracts. The white beech mushroom was extracted into hot water and methanol. Total polyphenol content was highest in the hot water extract (8.4 ± 3.27 mg GAE/g) compared to the methanol extract (7.3 ± 2.85 mg GAE/g). The flavonoids contents in hot water and methanol extracts were 3.8 ± 3.81 ug/mg and 2.5 ± 1.95 ug/mg, respectively. The tyrosinase inhibitory activity of extract was increased in a dose dependent manner and tyrosinase inhibitory activity of extract (hot water extract, 69.72%; methanol extract, 52.67% at 40 mg/ml) was lower than those of positive control 2% arbutin (96%). The DPPH radical scavenging activity of the hot water and methanol extract was 80% and 74%, respectively. Hot water extract (63.34 ± 1.00 uM TE/g) were more effective in ORAC (oxygen radical absorbance capacity) value than methanol extract (46.33 ± 0.48 uM TE/g). The toxicity of hot water and methanol extracts was investigated using WST-1 (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulphonate) assay on the B16BL6 melanoma cells.

KEYWORDS: Antioxidant, DPPH radical scavenging activity, tyrosinase inhibition, White beech mushroom

서론

최근 들어 우리나라에서는 생활수준이 향상되고 평균수명이 높아짐에 따라 건강한 삶과 삶의 질에 대한 관심이 증가되고 있으며 건강 유지와 노화 억제 등에 효과적인

의약품, 기능성 식품, 기능성 화장품 등에 대한 선호도가 증가하고 있다(Kim *et al.*, 2013). 산소는 인체 내 에너지를 만드는 과정에서 필수불가결한 분자이지만 인체의 대사 과정에서 발생하는 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 불안정한 산소 화합물로서 반응성이 큰 특징이 있으며, 조직세포에서 산화적 스트레스를 유발하게 된다(Droge, 2001; Kim *et al.*). 인체 내에는 super oxide dismutase (SOD), catalase, glutathion reductase 와 같은 항산화 효소가 있어서 활성산소에 대한 방어기전을 가지고 있지만 방어체계와 산화적 스트레스 간의 균형이 깨지면 과도하게 생성된 활성산소는 세포들의 산화적 손상을 유발할 뿐만 아니라 염증반응의 신호전달계와 연결되어 암, 치매, 당뇨병, 류마티스 관절염과 같은 퇴행성 질환이나 노화를 촉진한다고 알려져 있다(Halliewell and Gutteridge, 1990; Verckei *et al.*, 1992; Aitken *et al.*, 1993; Baublis *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2013). 최근들어 이러한 유해 활성산소나 자유 라디칼을 제거함으로써 질병을 예방하거나 치료하려는 시도가 활발해지고 있으며

J. Mushrooms 2018 December, 16(4):324-330
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2018.16.4.324>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author

E-mail : sjcho@gntech.ac.kr

Tel : +82-55-751-3397

**Present address: Pohangbiopark, 185 Seoman-ro, Pohang 37832, Korea

Received November 30, 2018

Revised December 21, 2018

Accepted December 31, 2018

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.

이와 관련하여 일상적으로 섭취하고 있는 식품 소재를 중심으로 산화방지 효과가 있는 다양한 소재들의 탐색이 주목을 받고 있다(Aburjai and Natsheh, 2003; Kim *et al.*, 2013). 또한 활성산소는 자외선과 더불어 피부 조직과 세포조직 손상을 유발하는 중요한 인자로 간주되고 있으며 지속적인 산화적 스트레스는 멜라닌(melanin) 세포를 자극하여 과도한 멜라닌 색소를 생산함으로써 기미, 주근깨, 점, 검버섯 등의 색소침착(pigmentation)을 유발한다. 멜라닌 색소는 표피 기저층에 존재하는 melanocytes의 melanosome에서 tyrosine이 tyrosinase에 의해 산화되어 DOPA (dioxypyhenyllalanin), dopaquinone이 되고 이것이 5, 6-dihydroxy indole, indol 5, 6-quinone으로 자동 산화되어 최종적인 중합반응에 의해 멜라닌 중합체를 형성함으로써 생성된다(Hearing and Ekel, 1976; Nita and Young, 2005; Kim *et al.*, 2013). 세포내 melanoin이 과잉 생산되면 기미, 주근깨, 점, 검버섯 등의 색소 침착이 일어나 피부노화 및 손상을 초래한다(Aburjai and Natshen, 2003; Kim *et al.*, 2013).

천연 식품의 일종인 버섯은 담자균강(Basidiomycota)과 자낭균강(Ascomycota)에 속하는 자실체를 가진 고등균류로서 당질, 단백질, 비타민, 무기질과 같은 영양소가 풍부하여 오래전부터 식용 및 약용으로 널리 사용되어 왔으며 저칼로리 식품, 무공해 식품, 유기농 식품으로서 영양학적인 측면뿐만 아니라 약리적인 효과가 있는 “wholesome food”로 인식되어 소비량이 날로 증가하고 있는 추세이다. 또한 최근에는 버섯의 생리활성에 관한 다양한 연구가 보고되면서 천연물 유래 식의약품 소재로서 버섯의 기능성에 관한 관심이 증가하고 있다. 버섯의 효능으로는 콜레스테롤 저하효과, 혈당강하 작용, 항균작용, 항염증작용, 간보호 작용, 항산화 작용, 강장작용, 항암작용 등이 보고되었으며 버섯의 유용성분으로는 alkaloides, flavonoides 및 terpenoides와 같은 저분자 물질뿐만아니라 다당류, 단백질, tannin 등과 같은 고분자 물질 등이 보고되었다(Hirase *et al.*, 1976; Chang and Miles, 1989; Lee and Oh, 2007; Kim *et al.*, 2013).

느티만가닥버섯(*Hypsizigus marmoreus*)은 담자균류, 주름버섯목, 송이과에 속하는 버섯으로 갓의 크기에 비하여 대의 길이가 길어 엽가락처럼 보이며 여러 개체가 무리지어 발생한다. 느티만가닥버섯은 육질은 두껍고 치밀하지만 표고 또는 느타리버섯에 비하여 잘 부스러지고 발생 초기에는 둥근 단추 모양이거나 반구형이며 짙은 크림색을 나타내다가 자라면서 점차 갓이 편평해지고 크림색이 점차 열어지면서 표면이 갈라져 거북이등 모양의 무늬를 이루는 것이 특징이다. 느티만가닥 버섯은 일반적으로 한국, 동남아시아, 유럽, 북미 등지에서참나무, 느릅나무, 너도밤나무 등의 활엽수 고사목이나 그루터기에 다발로 발생되고 전 세계적으로 약 20여종 알려져 있으며 야생버섯을 조직분리하여 재배에 적용한 갈색곰팡이와 교배에 의해 육

성된 백색곰팡이 재배되고 있다(Ohashi, 2010; Lee *et al.*, 2011; Zanabaatar *et al.*, 2012). 느티만가닥 버섯은 저지방 고단백질 함유버섯으로 단백질을 구성하고 있는 아미노산 중에서 정미성분인 글루탐산을 많이 함유하고 있으며 느티만가닥 버섯의 생리활성으로는 항종양성 β -(1-3)-Dglucan, 지용성 추출물의 peroxyyl과 alkoxyyl radical에 대한 효과, 항산화 활성 등이 보고되어 있다(Ikekawa, 1995; Matsuzawa *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2013).

본 연구에서는 시판 중인 흰색 느티만가닥버섯 물 추출물과 메탄올 추출물의 항산화 활성 및 tyrosinase 저해 활성을 조사함으로써 기능성 식의약품 및 화장품 소재로서 흰색 느티만가닥버섯 추출물의 이용 가능성을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

흰색 느티만가닥버섯 추출물의 제조

본 실험에 사용한 흰색 느티만가닥버섯은 이마트에서 판매하는 백만송이(상품명)를 구입한 후 수세하여 사용하였다. 수세한 흰색 느티만가닥버섯은 표면의 물기를 제거한 다음 세절하였으며 세절한 버섯은 각각 4배의 열수와 메탄올에 침지한 후 2일 동안 3회 반복 추출하였다. 추출물은 Watman filter paper (No. 2)로 여과한 다음 회전감압농축기(Eyela, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 감압농축하여 조추출물로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Singleton (1981)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu reagent가 흰색 느티만가닥 추출물에 의해 환원되면 몰리브덴이 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 측정하였다. 흰색 느티만가닥버섯 추출물 100 μ l에 2% sodium carbonate (Na_2CO_3) 용액 2 ml를 첨가한 후 3분 동안 방치한 다음 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 μ l를 첨가하였다. 혼합액은 상온에서 30분 동안 반응시킨 후 720 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흰색 느티만가닥버섯 추출물의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid (Sigma aldrich, USA)을 표준물질로 작성한 검량선을 이용하여 측정하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Zhishen *et al.*(1998)의 방법에 따라 colorimetric assay법으로 측정하였다. 흰색 느티만가닥버섯 추출물 1 ml에 증류수 4 ml를 첨가한 다음 5분 동안 반응시킨 후 5% sodium nitrate (NaNO_2) 용액 0.3 ml과 10% aluminium nitrate ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) 용액 3 ml를 첨가하였다. 혼합액을 6분 동안 반응시킨 다음 1 M sodium hydroxide (NaOH) 용액 2 ml를 첨가한 후 증류수로 반응액의 양을 10 ml로 정량하였다. 안정화된 혼합

액은 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흰색 느티만가닥버섯 추출물의 총 플라보노이드 함량은 quercetin (Sigma aldrich, USA)을 표준물질로 작성한 검량선을 이용하여 측정하였다.

Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 저해 활성은 Tomita *et al.* (1990)의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.1 M Sodium phosphate 완충용액 (pH6.5) 220 ul에 흰색 느티만가닥버섯 추출물 20 ul (0, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40 mg/ml)과 Mushroom tyrosinase (1800 U/ml) (Sigma aldrich, USA) 20 ul를 첨가하여 혼합한 후 1.5 mM L-Tyrosine (Sigma aldrich, USA) 40 ul를 첨가하였다. 혼합액은 37°C에서 15분 동안 반응시킨 다음 분광광도계 (Softmax M5, Molecular devices, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 흰색 느티만가닥버섯 추출물 대신 0.1 M sodium phosphate 완충용액 (pH6.5)을 사용하였고 양성 대조구는 2% 알부틴 (arbutin)을 사용하였다. Tyrosinase 활성 저해율(%)은 다음 공식에 의하여 구하였다(a, 대조구 흡광도; b, 시료첨가구 흡광도; a', b', Mushroom tyrosinase 무처리구 흡광도).

$$\text{Tyrosinase 활성 저해율(\%)} = 100 - (b - b') / (a - a') \times 100$$

DPPH 라디칼소거 활성

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼소거 활성은 Blois (1958)의 방법에 따라 짙은 보라색을 띠는 안정한 라디칼인 DPPH가 항산화 물질의 전자공여능에 의해 수소 혹은 전자를 받아 탈색되는 원리를 이용하여 측정하였다. 흰색 느티만가닥버섯 추출물 50 ul (0, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40 mg/ml)에 0.15 mM DPPH (Sigma aldrich, USA)를 200 ul 첨가한 후 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 분광광도계 (Softmax M5, Molecular devices, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조구는 butylated hydroxyl toluene (BHT, Sigma aldrich, USA)를 사용하였으며 DPPH 라디칼소거 활성(%)은 시료첨가구와 대조구 사이의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼소거 활성(\%)} = (\text{대조구 흡광도} - \text{시료첨가구 흡광도}) / \text{대조구 흡광도} \times 100$$

Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) 측정

Peroxyl 라디칼소거능을 나타내는 oxygen radical absorbance capacity (ORAC)는 peroxy 라디칼의 생성과 소멸에 의한 fluorescent의 감소율을 측정하는 Cao *et al.* (1993)의 방법에 따라 측정하였다. 흰색 느티만가닥 추출물 10 ul에 300 mM 2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH, Sigma-aldrichChemical Co., St. Louis, MO, USA) 용액 20 ul와 250 nM fluorescein (Sigma-aldrich

Chemical Co., St. Louis, MO, USA)용액 2.7 ml를 첨가한 다음 multi-mode microplate reader를 이용하여 485 nm (excitationwavelength)와 535 nm (emission wavelength)에서 1시간 동안 2분마다 형광을 측정하였다. 흰색 느티만가닥버섯 추출물의 ORAC 지수는 trolox (Sigma-aldrichChemical Co., St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 작성한 검량선을 이용하여 구하였다.

세포 생존율 측정

흰색 느티만가닥버섯 추출물이 B16BL6 melanoma cell의 생육에 미치는 영향은 수용성인 tetrazolium salt WST-1 (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulphonate, Biovision, USA)이 세포내 mitochondria의 dehydrogenase와 반응하여 오렌지색의 formazan으로 변하는 반응을 이용하여 확인하였다 (Francoeur와 Assalian, 1996). B16BL6 mouse melanoma cell은 한국세포주은행 (Korean Cell Line Bank, KCLB 10092)으로부터 분양받아 사용하였고 10% fetal bovine serum (FBS, GIBCO, Rockville, MD, USA)과 1%의 penicillin-streptomycin (Lonza Walkersville, Inc., Walkersville, MD, USA)이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM, GIBCO) 배지에서 37°C, 5% CO₂ 조건으로 3일 동안 배양하였다. 흰색 느티만가닥버섯 추출물은 DMSO (dimethyl sulfoxide)에 녹인 후 0, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40 mg/ml 농도로 각각 희석한 다음 0.2 um membrane filter (Sartorius, USA)로 여과하여 사용하였다. 12-well plate에서 3일 동안 배양된 B16BL6 mouse melanoma cell에 흰색 느티만가닥버섯 추출물을 0, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40 mg/ml의 농도로 첨가한 후 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양하였으며 양성 대조구는 0.04% adenosine을 사용하였다. 배양액에 tetrazolium salt WST-1 용액을 첨가한 다음 37°C에서 4시간 동안 배양한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

모든 실험은 5회 이상 반복실험을수행하여 얻어진 결과이며 실험결과의 평균값과 표준오차는 SAS (Statistical analysisssystem, USA) program을 사용하여 구하였고 Duncan's 다중검정법으로 p<0.05 수준에서 통계적 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

흰색 느티만가닥버섯 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

식물이 광합성 과정에서 스트레스, 활성산소종, 상처, 초식 동물로부터 자신을 보호하는 과정에서 형성되는 대사산물인 폴리페놀은 hydroxyl (-OH)기를 가지고 있기

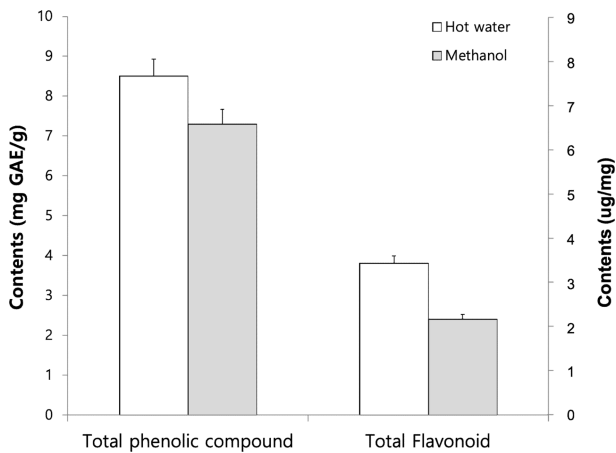


Fig. 1. Total polyphenolic and flavonoids contents of hot water and methanol extract of white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*). Values are expressed as mean±SD (n=3), Values with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

때문에 단백질과 결합하여 항균활성, 항산화, 항암 등 다양한 생리활성을 나타내는 물질이다(Yang *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2013). 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물과 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 각각 8.4±3.27 mg GAE/g과 7.3±2.85 mg GAE/g으로 메탄올 추출물에 비해 열수 추출물의 폴리페놀 함량이 더 높게 나타났다(Fig. 1). 부위별 흰색 느티만가닥 버섯 추출물의 항산화 활성에 관한 Kim *et al.* (2016)의 보고에서도 흰색 느티만가닥버섯 에탄올 추출물 (갓 11.37±0.38 mg GAE/g; 대, 7.00±0.06 mg GAE/g)에 비해 열수추출물 (갓, 9.23±0.18 mg GAE/g; 대, 3.24±0.03 mg GAE/g)의 폴리페놀 함량이 더 높게 나타났으며 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물의 폴리페놀 함량은 Ferreira *et al.*(2009) 이 보고한 야생버섯의 총 폴리페놀 함량(0.391-1.725 mg/mg)보다 높게 나타났다. 버섯의 일반성분 및 생리활성물질은 버섯의 품종, 생육배지, 수확시기, 재배방법 등 생육환경에 따라 달라질 뿐만 아니라 생육 중 환경적인 스트레스가 높을수록 2차 대사산물인 생리활성물질의 생성이 자극되어 버섯의 총 폴리페놀 함량도 증가된다(Chang *et al.*, 1993; Barros *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2013).

식물의 꽃, 잎, 줄기, 열매 등에 함유되어 있는 flavone 구조의 노란색 식물 색소를 총칭하는 플라보노이드는 항산화, 에스트로젠, 항암 효과 등 다양한 생리활성을 나타낸다(Kim *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2013). 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물과 메탄올 추출물의 플라보노이드 함량은 각각 3.8±3.81 ug/mg과 2.5±1.95 ug/mg으로 메탄올 추출물에 비해 열수 추출물의 플라보노이드 함량이 높게 나타났다(Fig. 1). 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물과 메탄올 추출물의 플라보노이드 함량은 Kim *et al.* (2013)이

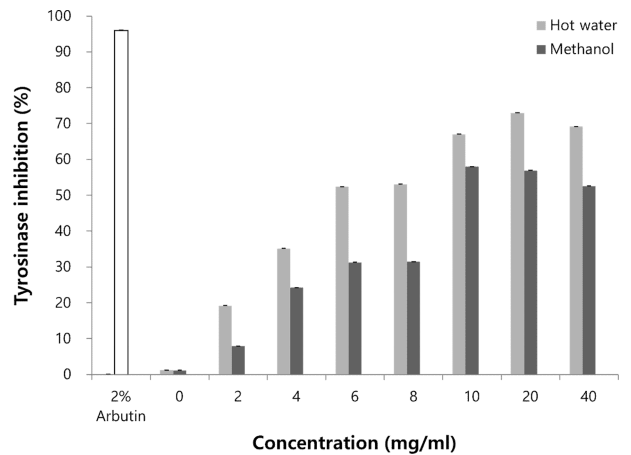


Fig. 2. Tyrosinase inhibitory activity of hot water and methanol extract of white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*). Values are expressed as mean±SD (n=3), Values with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

보고한 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 플라보이드 함량 (갓, 8.7±3.27 ug/mg; 대, 5.6±2.85 ug/mg) 보다 낮게 나타났으며 총 폴리페놀 함량보다 낮게 나타났다. 버섯류의 플라보노이드 함량이 총 폴리페놀 함량에 비해 낮게 나타나는 것은 버섯의 주요 페놀화합물이 페놀산(phenolic acid)이기 때문으로 생각된다(Ferreira *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2016).

흰색 느티만가닥버섯 추출물의 tyrosinase 저해 활성

흰색 느티만가닥버섯 추출물의 미백효과를 확인하기 위하여 tyrosinase 저해 활성을 측정하였으며 흰색 느티만가닥버섯 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 L-tyrosine을 기질로 사용하였을 경우 추출물의 농도에 따라 증가하였으나 양성 대조군으로 사용한 2% 알부틴에 비해 40 mg/ml의 높은 농도에서도 열수 추출물은 69.72%, 메탄올 추출물은 52.67%의 낮은 저해 활성을 나타내었다(Fig. 2). Kim *et al.*(2013)의 보고에 의하면 갈색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물도 1.200 mg/ml의 고농도에서도 낮은 tyrosinase 저해 활성 (갓, 66.9%; 대 57.97%)을 나타내었고 Guk *et al.*(2013)의 보고에 의하면 차가버섯 메탄올 추출물은 1,500 ug/ml의 농도에서 40.35%의 tyrosinase 저해 활성을 나타내었다.

흰색 느티만가닥버섯 추출물의 DPPH 라디칼소거 활성

흰색 느티만가닥버섯 추출물의 항산화 활성은 DPPH에 의한 라디칼소거 활성을 측정하여 확인하였다. 항산화 물질은 자유라디칼에 전자를 공여하여 라디칼의 공유결합을 증가시키는 전자공여능이 높을수록 인체 내에서 활성산소에 의한 노화를 효과적으로 억제할 수 있다(Cha, 2009). 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물과 메탄올 추출물의

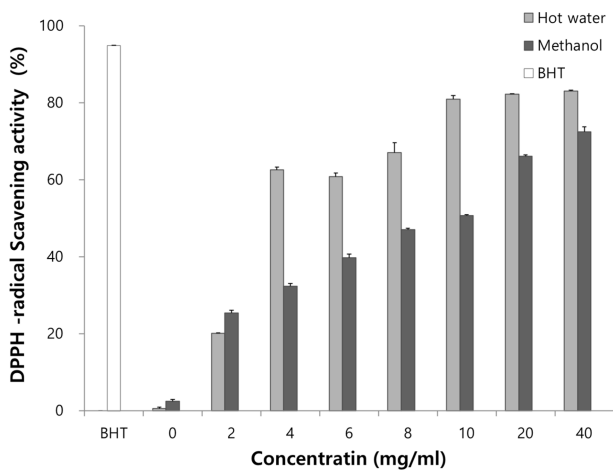


Fig. 3. DPPH-radical scavenging activity of hot water and methanol extract of white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*). Values are expressed as mean±SD (n=3), Values with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

DPPH 라디칼 소거능은 40 mg/ml의 농도에서도 각각 80%와 74%로 나타났다(Fig. 3). Zanabaatar *et al.*(2012)의 보고에 의하면 갈색 느티만가닥버섯도 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 미약하였으며 에탄올 추출물 보다는 물 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 우수하였다. 그러나 부위별 흰색 느티만가닥버섯 추출물의 항산화 활성에 관한 Kim *et al.* (2016)의 보고에서는 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 열수 추출물보다 높게 나타났다. 흰색 느티만가닥버섯 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 메탄올 추출물을 보다 열수추출물에서 높은 이유는 흰색 느티만가닥버섯에는 소수성보다는 친수성의 생리활성물질이 더 많이 함유되어 있기 때문으로 생각된다(Kim *et al.*, 2013).

흰색 느티만가닥버섯 추출물의 Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

수소전자의 전달이론을 바탕으로 radical chain breaking antioxidant capacity를 측정하는 ORAC 지수는 친수성 및소수성 성분 모두에 반응하기 때문에 응용범위가 넓은 장점을 가지고 있다(Makato, 1986; Matsuzawa *et al.*, 1988; Kim *et al.*, 2016).흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물과 메탄올 추출물의 ORAC 지수는 Trolox equivalents (TE)로 구했으며 Fig. 4와 같다. 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물과 메탄올 추출물의 ORAC 지수는 각각 63.34±1.00 uM TE/g과 46.33±0.48 uM TE/g로 메탄올 추출물에 비해 열수 추출의 ORAC 지수가 높게 나타났다. 부위별 흰색 느티만가닥버섯 추출물의 항산화 활성에 관한 Kim *et al.* (2016)의 보고에 의하면 흰색 느티만가닥버섯의 ORAC 지수는 메탄올 추출물 (값 64.76±0.98 um TE/g; 대, 46.22±1.12 uM TE/g)에 비해

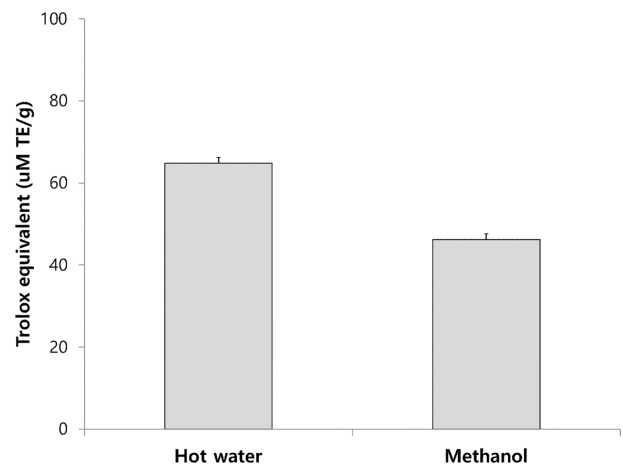


Fig. 4. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of hot water and methanol extract of white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*). Values are expressed as mean±SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

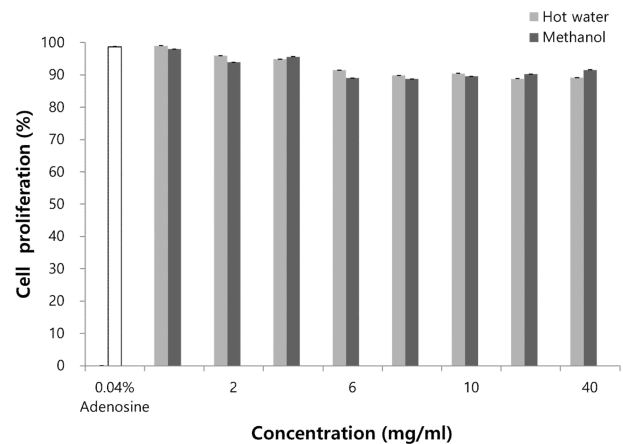


Fig. 5. Effects of white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*) extracts on cell proliferation in B16BL6 mouse melanoma cell. The B16BL6 mouse melanoma cell was incubated for 24 hr in DMEM media with different concentration of hot water and methanol extract of white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*). The cell proliferation was determined using WST-1 assay. Values are expressed as mean±SD (n=3), Values with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

열수 추출물 (값, 93.34±1.00 uM TE/g; 대, 58.33±0.48 uM TE/g)의 ORAC 지수가 높게 나타났다. Jo *et al.* (2012)의 보고에 의하면 털목이의 ORAC 지수는 101.16 uM/g, 갈색목이는 91.57 uM/g, 흑목이는 83.87 uM/g이었으며 Dubost *et al.* (2007)의 보고에 의하면 양송이의 ORAC 지수는 86.33 uM/g, 잎새버섯은 39.33 uM/g, 표고버섯은 62.67 uM/g이었다.

흰색 느티만가닥버섯 추출물이 B16BL6 melanoma cell에 미치는 영향

B16BL6 melanoma cell에 대한 흰색 느티만가닥버섯 추출물의 세포 독성은 B16BL6 melanoma cell에 0-40 mg/ml의 농도로 추출물을 처리한 다음 WST-1 assay를 이용하여 조사하였다. 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물과 메탄올 추출물을 각각 0-40 mg/ml의 농도로 처리하였을 때 B16BL6 melanoma cell은 90% 이상의 생존율을 나타내었으므로 열수 추출물과 메탄올 추출물 모두 40 mg/ml의 높은 농도에서도 B16BL6 melanoma cell에 독성을 나타내지 않는 것으로 판단된다(Fig. 5). Kim *et al.* (2016)의 보고에 의하면 부위별 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물과 메탄올 추출물은 대식세포 RAW 264.7에 대해 세포독성을 나타내지 않았다. 그러나 차가버섯 메탄올 추출물은 추출물의 처리 농도가 증가할수록 B16/F10 melanoma cell의 세포생존율이 감소하였다(Guk *et al.*, 2013).

적 요

본 연구에서는 기능성 식의약품 및 화장품 소재로써 흰색 느티만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus*)의 이용 가능성을 조사하기 위해서 흰색 느티만가닥버섯 열수 추출물과 메탄올 추출물의 항산화 활성 및 tyrosinase 저해 효과를 비교하였다. 열수 추출물과 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 각각 8.4±3.27 mg GAE/g과 7.3±2.85 mg GAE/g이었고 플라보노이드 함량은 각각 4.8±3.81 µg/mg과 2.5±1.95 µg/mg이었으며 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량 모두 메탄올 추출물보다 열수 추출물에서 높게 나타났다. Tyrosinase 저해 활성은 추출물의 농도에 따라 증가하는 경향을 나타내었으나 양성 대조구로 사용한 2% 알부틴(arbutin)비해 40 mg/ml의 높은 농도에서도 열수 추출물은 69.72%, 메탄올 추출물은 52.67%의 낮은 저해 활성을 나타내었다. 항산화 활성은 DPPH에 의한 라디칼 소거 활성을 측정하여 확인하였으며 열수 추출물과 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 40 mg/ml의 농도에서도 각각 80%와 74%로 낮게 나타났다. 추출물의 세포독성은 WST-1 assay (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulphonate)를 이용하여 추출물의 처리농도에 따른 B16BL6 melanoma cell의 세포생존율로 확인하였으며 열수 추출물과 메탄올 추출물을 각각 0-40 mg/ml의 농도로 처리하였을 때 B16BL6 melanoma cell은 90% 이상의 생존율을 나타내었으므로 열수 추출물과 메탄올 추출을 모두 B16BL6 melanoma cell에 독성을 나타내지 않는 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2017년도 경남과학기술대학교 대학회계 연

구년 지원에 의하여 연구된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Aburjai T, Natshen FM. 2003. Plants used in cosmetics. *Phytother Res* 17: 987-1000.
- Aitken RJ, Bukingham D, Harkiss D. 1993. Use of xanthine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effect of reactive oxygen species on human spermatozoa. *J Reprod Fertil* 97: 441-450.
- Barros L, Ferreira MJ, Ferreira ICFR, Baptista P. 2007. Total phenols, ascorbic acid, β-carotene and lycopene in portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem* 103: 413-419.
- Baublis AJ, Lu C, Clydesdale FM, Decker EA. 2000. Potential of wheat-based breakfast grains as a source of dietary antioxidants. *J Am Coll Nutr* 19: 308S-311S.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Cao G, Alessio HM, Cutler RG. 1993. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med* 14: 303-311.
- Cha JY. 2009. Functional components and biological activities of marketing black garlic. MS Thesis. Gyengsang National University.
- Chang ST, Buswell JA, Chiu SW. 1993. Mushroom biology and mushroom product. The Chinese University Press. Hong Kong pp. 3-17.
- Chang T, Miles PG. 1989. Edible mushrooms and their cultivation. CRC press. pp. 27-40.
- Chen HY, Lin YC, Yen GC. 2007. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. *Food Chem* 101: 686-694.
- Droge W. 2001. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-951.
- Dubost NJ, Ou B, Beelman RB. 2007. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chem* 105: 727-735.
- Ferreira I, Barros L, Abreu R. 2009. Antioxidants in wild mushrooms. *Current med Chem* 16: 1543-1560.
- Francoeur AM, Assalian A. 1996. Microcat: A novel cell proliferation and cytotoxicity assay based on WST-1. *Biochemica* 3: 19-25.
- Guk MH, Kim DH, Lee C, Jeong ES, Choi EJ, Lee JS, Lee TS. 2013. Antioxidant and skin whitening effects of inonotus obliquus methanol extract. *J Mushroom Sci Prod* 11: 99-106.
- Halliewell B, Gutteridge JM. 1990. Roles of free radicals and catalytic metal ions in human disease. An overview, Methods Enzymol. Fleischer, S. and packer, L. (eds.). Academic Press, New York, USA. 186: 1-12.
- Hearing VJ, Ekel TM. 1976. Mammalian tyrosinase. *Biochem J* 157: 549-557.
- Hirase S, Nakai S, Akstus T. 1976. Structure studies on the antitumor active polysaccharides from *Coriolus versicolor* (Basidiomycetes). I. Fractionation with barium hydroxide. *Yakugaku Zasshi*. 96: 413-418.

- Ikekawa T. 1995. Bunashimeji, *Hypsizygus marmoreus* antitumor activity of extracts and polysaccharides. *Food Rev Int* 11: 207-209.
- Jo SH, Kim TH, Yu YB, Oh JN, Jang MJ, Park KM. 2012. A comparative study on the physiological activities of *Auricularia* spp. *Kor J Food Sci Technol* 44: 350-355.
- Kim DJ, Oh S K, Yoon MR, Chun AR, Hong HC, Lee JS, Kim YK. 2010. Antioxidant compounds and antioxidant activities of the 70% ethanol extracts from brown and milled rice by cultivar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 467-473.
- Kim SC, Ryu HM, Jung SM, Lee YH, Kim HS, Kim JO, Cho YU, Cho SJ. 2013. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of *Hypsizygus marmoreus* (brown cultivar) methanol extracts. *J Mushroom Sci Prod* 11: 254-260.
- Kim SC, Kwon HS, Kim CH, Kim HS, Lee CY, Cho SJ. 2016. Comparison of Antioxidant Activities of Pileus and Stipe from White Beech Mushrooms (*Hypsizygus marmoreus*). *J Life Sci* 26: 928-935.
- Lee M, Oh SI. 2007. Antioxidative stress and antimutagenic effects of *Lentinus edodes* ethanol extracts. *Korean J Food & Nutr* 20: 341-348.
- Lee JS, Bolormaa Z, Kim MK, Seo GS, Lee YW. 2011. Screening and physiological functionality of *Hypsizygus marmoreus* (White Cultivar) fruiting body. *Kor J Mycol* 39: 185-188.
- Makato O. 1986. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap J Nutr* 44: 307-315.
- Matsuzawa T, Sano M, Tomita I, Saitoh H, Ohkawa M, Ikekawa T. 1998. Studies on antioxidants of *Hypsizygus marmoreus*. II. Effects of *Hypsizygus marmoreus* for antioxidant activities of tumor-bearing mice. *Yakugaku Zasshi* 118: 476-481.
- Nita A, Young AR. 2005. Melanogenesis: A photoprotective response to DNA damage? *Mutation Research* 571: 121-132.
- Ohashi H. 2010. Trends of mushroom production and marketing. In L "Annual report of mushroom 2010" (ed. by Ohashi, H.). p. 18. Plant's world Co. Ltd. Tokyo, Japan.
- Singleton VL. 1981. Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. *Adv Food Res* 27: 149-242.
- Tomita K, Oda N, Ohbayashi M, Kamei H, Miyaki T, Oki T. 1990. A new screening method for melanin biological synthesis inhibitor using *Streptomyces bikiniensis*. *J Antibiotics* 43: 1601-1605.
- Verckei A, Toncsev H, Feher J, Hajdu E. 1992. Relationship between the extent of coronary artery disease and indicators of free radical activity. *Clin Cardiol* 15: 706-707.
- Yang CS, Landau JM, Hung MT, Newmak HL. 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu Rev Nutr* 21: 381-406.
- Zanabaatar B, Kang MG, Seo GS, Lee YW, Lee JS. 2012. Analysis of nutritional characteristics and physiological functionality of *Hypsizygus marmoreus* (Brown cultivar). *Kor J Mycol* 40: 104-108.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1998. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.