

安 明 秀 教 授 指 導
博 士 學 位 請 求 論 文

새송이버섯 추출물의 기능성 검색 및
분리 동정에 관한 연구

2005

誠 信 女 子 大 學 校 大 學 院
食 品 營 養 學 科
金 炫 廷

새송이버섯 추출물의 기능성 검색 및
분리 동정에 관한 연구

安 明 秀 教授指導

이 論文을 博士學位 論文으로 提出함

2005年 4月

誠信女子大學校 大學院

食 品 營 養 學 科

金 炫 廷

認 准 書

金炫廷의 博士學位 論文을 認准함

審査委員 _____

審査委員 _____

審査委員 _____

審査委員 _____

審査委員 _____

誠信女子大學校 大學院

감사의 글

대학원에 처음 들어선 순간부터 학문적 가르침과 더불어 더욱 성숙한 인간으로 갈수 있는 길을 인도해주시고, 논문이 완성될 수 있도록 많은 지도를 해주신 안명수 교수님께 진심으로 감사드립니다. 아울러 대학원 생활동안 많은 관심과 사랑으로 지도해주신 조은자 교수님, 김혜영 교수님, 안홍석 교수님, 한영숙 교수님, 이명숙 교수님과 논문 심사 과정 중 많은 지도와 격려를 주신 김덕숙 교수님, 심민자 교수님께 깊이 감사드립니다.

부족한 제자에게 항상 많은 관심과 격려를 주신 원향례 교수님, 오혜숙 교수님, 장형수 교수님, 최무영 교수님께 깊이 감사드립니다. 또 본 실험을 무사히 마칠 수 있도록 많은 도움과 지도를 주신 강명화 교수님과 (주)머쉬하트의 김금희 사장님께 감사드립니다.

바쁜 중에도 부족한 후배를 위해서 많은 조언과 기도를 해준 우리나라 선배님과 항상 곁에서 함께 실험을 해준 서미숙 후배에게 감사드립니다. 또한 바쁜 조교 생활 중 많은 도움을 준 제자이자 후배인 김미년과 많은 격려를 해준 식품화학실 선후배님께 고마움을 전합니다.

긴 대학원 과정을 지켜봐 주신 시부모님과 항상 곁에서 많은 관심과 도움을 주신 작은 어머니, 작은 아버지께 감사의 마음을 전합니다. 또한 저희 가족에게 헌신적인 사랑과 도움을 베풀어주신 김문순님과 항상 격려를 아끼지 않던 이모, 외삼촌에게 감사드리며 동생 상윤에게도 고마움을 전합니다.

힘들고 지칠 때마다 곁에서 위로와 조언을 해주는 남편과 엄마의 빈자리를 잘 참아주었던 소은이에게 감사의 마음을 전하며 이 기쁨을 나누고 싶습니다. 마지막으로 먼 하늘나라에서 딸의 시작과 끝을 항상 함께 하시는 부모님과 하나님께 감사드리며, 논문의 완성을 며칠 남기고 돌아가신 외할머니께 이 작은 결실을 바칩니다.

2005년 7월

김 현 정

논문개요

최근 식물체 내에 존재하며 약리 효과가 뛰어난 기능성 물질에 대한 관심이 높아지면서 약용식물 뿐만 아니라 과일과 채소에 함유된 천연 물질 등에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 또한 가공식품과 인스턴트식품의 이용이 높아지면서 이들 식품의 장기보존을 위해 항산화제, 보존제 같은 첨가물의 사용이 증가함으로써 그 중요성과 함께 개발의 필요성이 더욱 대두되고 있다.

본 연구에서는 큰느타리과의 새송이버섯의 이화학적 특징과 새송이버섯 80%에탄올 추출물을 다시 클로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물을 이용하여 순차적으로 분획 추출하여 그 수율과 각 추출물들의 항산화효과 및 항균효과를 확인하였다. 또 에탄올 추출물을 Sepabeads SP-850, Sephadex LH-20 column chromatography를 이용하여 활성성분을 분리하였고, 분리된 활성성분을 이용해 총 폴리페놀함량, DPPH소거능, 전자공여능, 아질산염 소거능 및 SOD활성저해 등을 통해 항산화효과를 확인하였으며 paper disc법으로 항균효과도 확인하였다. 또한 그 활성 성분을 HPLC, Mass spectrometer를 이용하여 분리 동정하였으며 그 물질들의 분자량을 조사하였다.

이상의 연구에서 얻은 결과는 다음과 같았다.

1. 새송이버섯의 이화학적 특성

1) 새송이버섯의 전체, 기둥, 갓 부위별 일반성분 중 수분은 부위별 모두 75%-80%였고 당질은 전체, 갓 부위는 16%정도였지만 기둥은 그보다 조금 높은 19.42%였다. 또한 조지방은 모두 1% 미만으로 낮았으며 조단백질 함량은 갓이 4.92%로 기둥 2.74%에 비해 거의 2배 정도 높게 나타났다. 조회분은 기둥 부위가 0.86%로 다른 부위에 비해 높았다. 동결건조한 새송이버섯 분말의 수분함량은 9.0%였고 당질이 63.06%로 가장 높았으며 조단백질 20.70%, 조회분 5.20% 및 조지방 2.0%의 순이었다. 새송이버섯은 높은 당질 중 식이섬유질이 많은 부분을 차지하고 있어 저열량, 고식이섬유질 식품이다.

2) 새송이버섯 분말의 무기질은 Ca, Cu, Fe, Mn, Mg, Na, K, Zn 등 8종의 무기질이 확인되었다. 모든 부위에서 K의 함량이 가장 높았으며 그다음으로는 모든 부위에서 Mg(700.00mg/kg)의 함량이 높았다. 반면 기둥 부위에서는 Mn이 무기질 중 가장 낮은 함량을 보였다.

3) 새송이버섯 분말에서 총당 함량은 30410.0mg%로 매우 높았으며 이를 %함량으로 환산하면 30.41%로 이는 단백질, 조지방 등의 일반성분과 비교하여 매우 높은 함량이었다. 또 환원당은 873.5mg%를 나타냈으며 유리당 중 fructose의 함량이 1671mg%으로 가장 높았으며 maltose 함량이 가장 낮았다.

2. 새송이버섯 추출물의 기능성

1) 새송이버섯 분말을 에탄올로 추출하였고 이를 다시 용매의 극성도에 따라 순차적으로 분획 추출하였는데 에탄올 추출물(EtEx)의 수율은 전체 30.8%, 갓 23.3%, 기둥 15.6%이었다. 에탄올 추출물을 순차적으로 물로 추출한 것(WaEx)의 수율이 다른 용매 재추출물들 중에서 가장 높았고 WaEx의 수율은 전체 18.2%, 기둥 19.4%, 갓 16.3%로 기둥에서 가장 높았다. 이로 인해 새송이버섯 용매 추출물의 수율은 EtEx와 WaEx가 가장 높은 것을 알 수 있었다.

2) 새송이버섯 추출물들의 총 폴리페놀함량은 EtEx의 경우 전체 387mg%, 기둥158mg%, 갓 593mg%로 갓 추출물에 가장 많았다. 새송이버섯 전체의 부탄올 추출물(BuEx)과 WaEx의 폴리페놀 함량이 594mg%와 404mg%로 클로로포름 추출물(ChEx)과 에틸아세테이트 추출물(EAEx) 보다 월등히 높았다. 갓 부위에서도 BuEx에서 폴리페놀 함량이 가장 많았으며 기둥 부위는 EAEx, BuEx 순으로 폴리페놀 함량이 높아 부위별로 폴리페놀함량에 차이를 보였다.

3) 새송이버섯 추출물의 전자공여능은 EtEx에서 갓, 전체, 기둥 추출물이 91.12%, 79.68%, 62.90%의 순이었으며 이는 총 폴리페놀 함량과 같은 경향을 보여주었다. Tocopherol과 BHT의 경우 각각 93.92%, 96.72%인데 비하여 갓의 EtEx와 WaEx에서도 91.12%와 90.39%로 나타나 항산화효과를 확인할 수 있었다.

4) 새송이버섯 추출물별 항균력을 측정한 결과 갖의 WaEx와 BuEx를 제외한 모든 추출물들이 그램 양성균에서 대부분 항균활성을 나타내지 못하였으며 그램 음성 균에서는 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 전체의 BuEx와 갖의 EAEx, WaEx, 기둥의 EAEx에서 항균활성을 보여주었다. 특히 *Escherichia coli*에 대하여는 전체, 갖, 기둥 부위의 EAEx, WaEx 모두 항균활성이 있었다. 새송이버섯의 추출물들은 그램 양성균보다 그램 음성균에서 높은 항균활성을 보여주었으며 여러 분획 추출물들 중 EAEx와 WaEx에서 높은 항균효과가 확인되었다.

3. 분리 정제된 새송이버섯 추출물(Sf)의 기능성

1) 새송이버섯 분말의 에탄올 추출물을 HPLC로 분석한 결과 210nm에서는 retention time 6.25, 9.11, 13.95, 31.65 및 48.58에서, 220nm에서는 5.54, 9.25, 24.43, 46.51 및 59.32에서 peak가 나타났다. 이상의 5개 retention time 대별로 Sf-1, Sf-2, Sf-3, Sf-4, Sf-5로 분획하여 mass spectrometer로 분자량을 측정한 결과 Sf-에서는 분자량 314.1인 물질이, Sf-2에서는 144.3, 161.1, 295.0 및 550.9인 물질이 나타났다. 또한 Sf-3에서는 분자량 298.1, Sf-4에서는 1022.2, Sf-5에서는 844.6, 1014.1 및 1015.0으로 비교적 큰 분자량의 물질들인 것으로 나타났다.

2) Sepabeads로 분리 정제된 Sf를 분자량별로 분리한 결과 No 23, 44 및 59에서 흡광도가 높은 3개의 peak가 나왔다. 이를 각각 Sf-A, Sf-B, Sf-C로 명명하였고 mass spectrometer로 분자량을 측정한 결과 Sf-A에서는 분자량 520.2인 물질이 주를 이루었고 Sf-B에서는 160.9 및 Sf-C에서

는 268.0과 325.1인 물질들이 주를 이루었다. 이상의 결과는 SP-850 column chromatography 로 분리 정제한 Sf-1 ~ Sf-5 물질의 분자량이 Sf-1은 314.1, Sf-2는 161.1, Sf-3는 298.1인 것과 유사했다.

3) Sf의 총 폴리페놀 함량은 507mg%로 전체의 EtEx의 총 폴리페놀 함량 387mg%인 것에 비하여 높았으며 전체 BuEx의 594mg%보다 적었으나 다른 추출물의 것 보다는 높았다. 이와 같이 Sf의 총 폴리페놀 함량이 EtEx보다 높은 것은 Sf가 EtEx에서 분리정제 되었기 때문인 것으로 판단된다.

4) Sf를 토코페롤과 BHT와 같은 농도인 0.02%, 그리고 0.05%, 0.1%로 농도를 달리하여 전자공여능을 측정한 결과 0.02%에서는 57.78%, 0.05%에서는 64.20% 및 0.1%에서는 77.33%의 활성을 보였다. 이것은 같은 0.02%에서는 α -tocopherol과 BHT가 각각 93.92%, 96.72%로 Sf 의 EDA가 크게 떨어지나 0.1%인 경우에는 16-20% 정도 떨어졌다. 또한 SOD-liked를 측정한 결과 0.02%에서는 α -tocopherol, BHT가 각각 91.30%와 87.26%로 높은 반면 Sf는 0.02%, 0.05%에서는 40.00% 이하였으며 Sf 0.1%에서는 40.5%였다. 그러나 활나물, 들깨박 추출물들의 SOD-liked를 측정한 결과가 30% 내외인 것과 비교하면 Sf의 SOD-liked가 우수한 것이라고 할 수 있었다.

5) Sf의 아질산염 소거능은 0.02%에서 56.25%, 0.05%에서는 70.00%이었으며 0.1%에서는 72.5%를 보여주어 Sf의 농도가 0.05%까지는 농도가 높아질수록 아질산염 소거능도 상승하나 0.05%에서 0.1% 사이에서는 큰 차이를 보이지 않았다.

6) Sf의 linoleic acid 에 대한 항산화 효과는 0.02%와 0.05%인 때의 TBA가 모두 control 보다 낮아 linoleic acid의 자동산화를 억제시키는 것으로 나타났으며 특히 저장 24시간에서는 control의 TBA가 0.823인데 반하여 Sf 0.02%는 0.475, 0.05%는 0.465로 1/2정도로 낮게 나타나 산화 억제 효과가 큰 것으로 나타났다. 그러나 Sf 0.02%와 0.05% 첨가 농도 차이에 따른 항산화효과의 크기에는 큰 차이가 없었다.

이와 같은 Sf의 항산화효과는 저장 24시간에서 α -tocopherol의 0.502 보다는 낮았고 BHT의 0.423과는 유사한 TBA가를 보여 α -tocopherol보다는 크고 BHT와는 거의 유사한 항산화효과를 보였다.

7) Sf를 대두유에 0.02%, 0.05% 첨가하여 $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 24일간 항온저장하면서 과산화물가(POV)와 공액이중산가(CDV)를 측정하였다. POV에 의한 항산화효과는 TBHQ > BHT > Sf 0.05% > Sf 0.02% > α -tocopherol의 순이었다. 이때 control의 유도기간은 10.3일이었으며 α -tocopherol이 8.5일, Sf 0.02%와 0.05%는 각각 11.5일과 12.6일, BHT 14.8일 이었다. 또한 상대적 항산화효과(RAE)는 Sf 0.02%와 0.05%에서 각각 122.3, 111.6 이었다.

CDV는 Sf 0.02%와 0.05%인 경우 초기 0.32%였던 것이 저장 9일에는 0.86%, 0.74%였고 저장 24일에는 3.33%, 2.99%으로 이는 control, α -tocopherol보다 낮고 BHT와는 유사한 것으로 나타났다. 따라서 새송이버섯 EtEx에서 정제 분리된 Sf는 대두유에 대한 항산화 효과 정도는 BHT 보다 약간 떨어지나 거의 유사한 항산화 효과를 보여주어 새송이버섯의 Sf를 천연 항산화 물질로 사용하는 것이 가능하다고 생각된다.

8) Sf를 0.1%로 희석하여 항균력을 측정한 결과 그램 양성균인 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* 중 *Bacillus cereus*에 대해 높은 항균 효과를 보여주었으며 *Staphylococcus aureus*와 *Listeria monocytogenes*에 대해서도 중간 정도의 항균 효과를 확인하였다. 또한 그램 음성균인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* 및 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해서 모두 중간 정도의 항균 효과를 보였고 그 중 *Escherichia coli*와 *Pseudomonas aeruginosa*에서는 13mm의 clear zone을 형성하여 강한 항균력을 보여주었다. 이상의 결과로 Sf는 그램 양성, 음성균 모두에서 강한 항균효과가 있는 것을 알 수 있었다.

본 연구결과 새송이버섯의 전체, 갓, 기둥 중 갓추출물의 항산화 및 항균효과가 다른 부위보다 우수하였으며, 용매추출물의 경우 에탄올 추출물이 가장 높은 수율과 항산화효과를 나타내었다. 또한 새송이버섯 EtEx에서 분리 정제된 Sf는 유지에 대한 항산화효과는 α -tocopherol 보다 높고 BHT와 거의 유사하며 아질산염 소거능 및 항균효과가 뛰어나며 그러한 효과를 나타내는 물질들의 분자량은 520.2, 160.9, 325.1 인 것임을 알 수 있었다.

목 차

논문개요

I. 서론	1
II. 문헌적 배경	7
1. 향산화제	7
2. 니트로사민	10
3. 항균성물질	12
4. 버섯	14
5. 새송이버섯	16
III. 실험재료 및 방법	19
1. 실험재료	19
1) 새송이버섯	19
2) 기질유지	19
3) 새송이버섯의 각종 용매 추출물의 조제	21
4) 시약 및 향산화제	23
5) 균주	23
2. 실험방법	24
1) 일반성분	24
2) 새송이버섯분말의 열량, 총당 및 환원당	24
3) 새송이버섯분말의 유리당 정량	24
4) 새송이버섯 분말의 향산화 물질의 분리 정제	25
① Sepabead SP-850 column Chromatography	25
② Sephadex LH-20 column Chromatography	35

③ High Performance Liquid Chromatography(HPLC)	
분석	27
④ Mass Spectrometry(MS)	28
5) 총 폴리페놀 함량측정	29
6) 전자공여능 측정(Electron donating ability : EDA) ..	29
7) Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정	30
8) 아질산염 소거작용 측정	31
9) 리놀산에 대한 항산화력 측정	32
10) 자동산화에 대한 항산화효과	32
11) 상대적 항산화 효과(relative antioxidant effectiveness, RAE)	33
12) 새송이버섯의 항균성 검색	33
IV. 결과 및 고찰	36
1. 새송이버섯의 이화학적 특성	36
1) 새송이버섯의 부위별 일반성분	36
2) 동결건조한 새송이버섯 분말의 일반성분	37
3) 새송이버섯 부위별 분말의 섬유질 함량과 열량	38
4) 새송이버섯의 무기질 함량	40
5) 새송이버섯의 총당, 환원당, 유리당 함량	41
2. 새송이버섯 추출물의 수율	43
3. 새송이버섯 추출물의 총 폴리페놀 함량	45
4. 새송이버섯 추출물의 전자공여능 (Electron donating ability : EDA)	47
5. 새송이버섯 추출물의 항균 효과	49
6. 새송이버섯 추출물의 기능성 물질 분리 동정	51
1) Sepabeads SP-850 에 의한 분리 물질	51

2) Sepadex LH-20에 의한 분리 물질	56
7. 새송이버섯 중 분리 정제된 물질의 기능성 확인	60
1) Sf의 총 폴리페놀 함량	60
2) Sf의 전자공여능 (Electron donating ability:EDA)	61
3) Sf의 SOD유사활성 측정	63
4) Sf의 아질산염 소거능	65
5) Sf의 linoleic acid 에 대한 항산화 효과	67
6) Sf의 대두유에 대한 항산화 효과	70
① 과산화물가	70
② 공액이중산가	75
7) Sf의 항균 효과	78
 V. 결 론	 82

Reference

ABSTRACT

List of Figures

Fig.1. The mechanism of nitrosamine formation in vivo system ...	11
Fig.2. <i>Pleurotus eryngii</i>	18
Fig.3. Scheme of fractional procedure of subfraction from ethanol extract of <i>Pleurotus eryngii</i>	22
Fig.4. Scheme of extraction and solvents fractionation of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i>	26
Fig.5. Total polyphenol amounts in each extract of <i>Pleurotus eryngii</i>	46
Fig.6. Electron donating ability (%) in each extract of <i>Pleurotus eryngii</i>	48
Fig. 7. HPLC chromatograms of Subfraction of from <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract(210nm)	52
Fig. 8. HPLC chromatograms of Subfraction of <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract(220nm)	52
Fig. 9. Mass spectra of Sf-1 of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i>	53
Fig. 10. Mass spectra of Sf-2 of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i>	54
Fig. 11. Mass spectra of Sf-3 of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i>	54
Fig. 12. Mass spectra of Sf-4 of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i>	55
Fig. 13. Mass spectra of Sf-5 of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i>	55
Fig.14. Absorption DPPH of LH-20 column fraction of subfraction(Sf) in <i>Pleurotus eryngii</i>	56

Fig. 15. Mass spectra of Sf-A of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i>	58
Fig. 16. Mass spectra of Sf-B of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i>	58
Fig. 17. Mass spectra of Sf-A of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i>	59
Fig.18. Electron donating ability(%) of Sf from <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract	62
Fig.19. SOD-like activities of Sf from <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract	64
Fig.20. Nitrite scavenging effects of Sf from <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract	66
Fig.21. Antioxidative effects of various antioxidants on the linoleic acid stored at 70°C for 24 hours	69
Fig.22. Changes of peroxide value of the soybean oils containing of various antioxidants stored at 60±2°C for 24 days	74
Fig.23. Conjugated diene values of the soybean oil containing of various antioxidants stored at 60±2°C for 24 days	77
Fig.24. Antimicrobial activities of Sf from <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract on Gram positive microorganisms	80
Fig.25. Antimicrobial activities of Sf from <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract on Gram negative microorganisms	81

List of Table

Table 1. Factors effecting peroxidation	8
Table 2. Physicochemical characteristics of soybean oil used as a substrate	20
Table 3. Operating conditions for GC analysis of fatty acid composition	20
Table 4. Fatty acid composition of soybean oil determined by GC	22
Table 5. HPLC operating condition for subfraction(Sf) of <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract	27
Table 6. Mass spectrometer operating condition for subfraction (Sf) of <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract	28
Table 7. Proximate composition of fresh <i>Pleurotus eryngii</i>	37
Table 8. Proximate composition of <i>Pleurotus eryngii</i> powder	38
Table 9. Calorie and the amount of total dietary fiber of <i>Pleurotus eryngii</i> powder	39
Table 10. Amounts of minerals in <i>Pleurotus eryngii</i> powder	41
Table 11. Amounts of total sugar, reducing sugar and free sugar in <i>Pleurotus eryngii</i> powder	42
Table 12. Yield ratio of each re-extract from the ethanol extracts of <i>Pleurotus eryngii</i>	44
Table 13. Antimicrobial activities of each extract <i>Pleurotus eryngii</i> on several microorganisms	50
Table 14. The molecular weight of each subfraction of ethanol extract of <i>Pleurotus eryngii</i> by HPLC at 210, 220nm	53
Table 15. The molecular weight of Sf-1, 2, 3 fraction of ethanol extract from <i>Pleurotus eryngii</i> by mass spectrometer	57

Table 16. Total polyphenol amounts in Sf of <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extracts	60
Table 17. Antioxidative effects of various antioxidants on the linoleic acid stored at 70°C for 24 hours	68
Table 18. Peroxide values of the soybean oil containing of various antioxidants stored at 60±2°C for 24 days	72
Table 19. Induction period(IP) and relative antioxidant effectiveness (RAE) of the soybean oil containing of various antioxidants stored at 60±2°C for 24 days	73
Table 20. Conjugated diene values of the soybean oil containing of various antioxidants stored at 60±2°C for 24 days	76
Table 21. Antimicrobial activities of Sf from <i>Pleurotus eryngii</i> ethanol extract on several microorganisms	79

I. 서론

20세기 이후의 산업과 의학의 눈부신 발전은 인류의 삶을 풍요롭게 하는 동시에 급격한 고령화 사회로의 변화를 수반하고 있다. 그러나 의학의 발전에도 불구하고 최근 심장질환, 암 질환과 같은 각종 성인병 발생률 및 이로 인한 사망률은 오히려 증가하는 경향을 나타내고 있다.^(1,2) 또한 최근의 서구화된 식생활 문화와 외식의 증가에 따라 국민들의 영양 불균형이 초래되고 있으며, 특히 포화지방산의 과도한 섭취로 인한 LDL콜레스테롤의 증가와 이에 따라 동맥경화, 관상 심장병 등 여러 가지 성인병이 유발되고 있다. 이와 더불어 최근에는 건강의 증진을 위해서 천연의 기능성 식품과 기능성 물질들에 관한 연구 개발이 활발히 이루어지고 있다.⁽³⁻⁶⁾

더구나 식물체 내에 존재하며 약리 효과가 있는 다양한 기능성 물질에 대한 관심이 높아지면서 약용식물 뿐만 아니라 과일과 채소에 함유된 천연 물질 등에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 또한 가공식품과 인스턴트식품의 이용이 높아지면서 이들 식품의 장기보존을 위해 천연의 항산화제, 보존제 등의 중요성과 함께 개발의 필요성이 더욱 대두되고 있다.

이⁽⁷⁾ 등은 녹차, 오롱차 및 홍차의 용매별 추출물이 유지에 대한 항산화 효과가 있음을 확인하였고 이러한 효과를 나타내는 주요 물질인 카테킨을 분리하였으며 원⁽⁸⁾ 등은 솔잎추출물의 기능성 연구에서 솔잎추출물이 옥수수유에 대해 합성항산화제인 BHT(butylate hydroxytoluene) 보다 우수한 항산화효과를 가진 것을 확인하였다. 또한 김⁽⁹⁾ 등은 herb류의 용매별 추출물의 항산화 및 항균 효과연구에서 rosemary, apple mint, lavender 추출물의 옥수수유에 대하여 자동산화 및 가열산화시 높은 항산화효과와 *Salmonella* 균에서의 뛰어난 항균력을 확인하였다. 이와 같이 식용 가능한 식물의 기능성 연구에서 항산화효과 측정이 상당 부분을 차지하고 있다.

또한 여러 식물 종자들에 널리 분포되어 있는 폴리 페놀화합물은 식물체 내에 유리페놀산, 페놀산 에스터, 불용성 결합형 페놀산 형태로 존재하며 이들의 유지에 대한 항산화성이 계속 밝혀지고 있다. 이⁽¹⁰⁾는 탈지깨 종자 박에서 추출된 각 형태의 페놀산 추출물들이 각각의 페놀함량 차이가 크에도 불구하고 대두유에서 0.02%(W/W) 첨가된 BHT와 유사한 항산화효과를 나타냈음을 보고하였다. 그 이외에도 페놀성 화합물의 항산화 효과와 산화생성물에 관한 연구 및 전자공여 작용 등에 대하여 활발히 연구된 바 있다.⁽¹¹⁻¹⁴⁾

한편 Maillard 반응으로 형성된 중간반응 생성물의 항산화성도 여러 연구에 의해 밝혀졌으며, 가열처리된 식품 중의 지방질 성분의 산화안정성이 더 좋아진 이유는 비효소 갈색화 반응의 결과 항산화 작용을 가진 물질들이 형성된 결과로 설명되고 있다.⁽¹⁵⁾ 그 예로 볶은 원두커피의 갈색추출물을 돈지에 첨가하였을 때 항산화력이 있었으며⁽¹⁶⁾, 신⁽¹⁷⁾ 등은 들깨의 볶음시간에 따라 착유한 들기름의 이화학적 특성과 산화안정성을 살펴본 결과 볶음시간이 길어질수록 들기름의 산화안정성은 증가하였다고 보고하였다.

또한 Maillard 생성물들이 금속을 chelating하는 hydroperoxides 감소 효과가 있는 것도 밝혀졌다.⁽¹⁸⁾ 금속이온은 유지의 자동산화 과정에서 산화촉진제로 작용하여 특히 원자가가 2가 또는 그 이상인 Co, Cu, Fe, Mn, Ni 등과 같은 전이 금속원소들은 중요한 산화촉진인자 역할을 하며, 그 중 특히 Cu는 다른 금속이온에 비하여 산화촉진효과가 월등히 큰 것으로 알려졌다.⁽¹⁹⁾

모든 생물체는 산소를 이용하여 생명 유지에 필요한 에너지를 발생하는 과정에서 유해산소로 불리는 활성산소들의 상해에 대한 근본적인 자기방어를 가지고 있다. 조직의 방어기구에서 해리되지 못한 활성산소는 노화, 암, 관절염 등에 직, 간접으로 생체 장애를 일으키는 원인으로 알려져 있다.⁽²⁰⁻²¹⁾ 유해산소로 알려진 활성 산소는 가장 안정한 형태의 산소인 3중항

산소($^3\text{O}_2$)가 환원되면서 superoxide, hydroxy radical과 같은 자유라디칼과 과산화수소수를 생성하여 이들은 단백질, DNA, 효소 및 T세포와 같은 면역계통의 인자를 손상시켜 각종 질환을 일으키고 있다. 특히 활성산소는 세포생체막의 구성성분인 불포화 지방산을 공격하는 과산화반응으로 체내과산화지질을 축적하고 이로 인해 생체 기능을 저하시키는 동시에 노화 및 성인병 등의 질환을 일으키는 것으로 알려져 있다.⁽²²⁻²³⁾ 최근 이러한 활성산소를 조절할 수 있는 물질로 알려진 항산화제들로서 BHA(butylated hydroxyanisole), BHT(butylate hydroxytoluene), TBHQ(tertiary butylhydroquinone) 등과 효소계인 superoxide dismutase, catalase, glutathion, peroxidase 및 천연항산화제인 tocopherol, 비타민C, carotenoid, flavonoid, catechin 등이 보고 되었다.⁽²⁰⁻²³⁾

한편 육가공품의 제조 시 염지제로 첨가되는 아질산염은 육색을 고정하는 효과⁽²⁴⁾뿐만 아니라 육제품의 독특한 풍미⁽²⁵⁾를 증가시키며 육제품의 지방산패를 억제하고 저장 중 산패취 발생을 지연시키는 효과가 있는 것으로 알려져 동물성 식품의 가공 및 저장에 널리 이용되고 있다. 그러나 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정 농도 이상 섭취되면 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다.⁽²⁶⁾ 또한 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급 및 3급 아민 등의 아민류와 반응하여 니트로사민을 생성하는 것으로 보고 되고 있는데⁽²⁷⁾ 이들 니트로사민은 동물 실험 결과 대부분이 발암성을 나타내는 물질로 밝혀져 이의 생성량을 억제하는 방법에 관심이 집중되고 있다.

또한 식품에 유해 미생물을 정균 및 살균하는 방법으로는 살균제인 chlorinated water, acidified sodium chlorite, electrolyzed oxidizing water, hydrogen peroxide, chlorite dioxide, diacetyl과 보존제인 sorbic acid, benzoic acid 등 합성항균제 처리와 함께 감마선 처리에 의한 식중독

미생물의 증식저해방법이 보고 되어 왔다.⁽²⁸⁻³⁶⁾ 그러나 화학적 합성 항균제는 그 작용 범위가 좁고 지속적으로 사용하여 체내에 축적되는 경우 만성독성, 발암성, 돌연변이 유발성의 우려가 있어서 최근 소비자들의 건강 지향적 욕구 증대와 안정성에 대한 의식 고조로 합성 항균제의 기피현상이 강하게 일고 있으며, 천연 항균제에 대한 선호가 높아지고 있다.⁽³⁷⁻³⁹⁾

천연 항균제에 관한 연구들로는 성⁽⁴⁰⁾이 은행잎 추출물을 이용하여 확인한 결과 *S. typhimurium*, *E.coli*, *L. monocytogens*, *S.aureus*에 대하여 butanol추출물이 가장 높은 항균력을 나타내었으며 김⁽⁹⁾등은 herb류의 용매별 추출물의 항산화 및 항균 효과연구에서 rosemary, apple mint, lavender의 *Salmonella*균에서의 뛰어난 항균력을 확인하였다. 이처럼 천연 항균효과 확인 연구들이 많이 이루어지고 있으며 그 기작이 서서히 밝혀지고 있다. 단백질 성분으로 달걀에 함유되어 있는 conalbumin, avidin, lysozyme⁽⁴¹⁻⁴³⁾과 우유에 존재하는 lactoferrin은 항균성을 가지고 있는 것으로 알려져 있으며⁽⁴²⁻⁴³⁾, succinic, malic, tartaric, benzoic acid는 천연물에 함유된 산으로 미생물이 특정 아미노산의 이용을 저지함으로써 증식억제 효과를 가진다고 보고 되었다.⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾

또한 소량으로 동식물의 조직에 함유된 탄소수 12-18개의 중쇄지방산은 가장 효과적인 항균성 물질로 보고 되었으며⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾, Conner⁽⁵¹⁾등은 항균작용이 대부분 정유에 함유된 성분에 존재한다고 하였으며 정⁽⁵²⁾등은 썩씨의 정유 성분이 식품 부패미생물에 항균효과가 있는 것으로 보고 하였다.

버섯은 예로부터 특별한 식품으로 취급되어 왔는데 그 이유는 특유의 맛과 향이 있기 때문이다. 버섯은 당질, 단백질, 비타민, 무기질과 같은 영양소를 골고루 함유하고 있으며, 또한 항암활성, 면역증강효과 및 항산화 효과 등의 약리 효과 때문에 최근에는 건강식품 및 의약품 소재로 많이 이용되고 있다.⁽⁵³⁾ 담자균류의 약리활성에 대한 최초의 연구는 1957년 Lucas등이 그물버섯의 열수추출물을 이용하여 sarcoma 180, 고혈압에 대한 저해활성능

에 대하여 조사하여 종양을 완화하는 작용이 있는 물질인 것으로 밝히면서 부터 비롯되었다.

국내에서는 이⁽⁵⁴⁾ 등이 양송이, 표고버섯, 영지버섯의 페놀성 물질을 추출하여 전자공여능, 과산화물가, 아질산염 소거능을 확인한 결과 이들 버섯추출물들은 90%이상의 전자공여능을 나타내었고 과산화물가에서는 BHA보다 우수한 항산화력을 보여주었으며 아질산염 소거능은 부탄올 추출물에서 50%내외이었음을 보고 하였다. 또 정⁽⁵⁵⁾등은 영지의 n-hexane추출물과 methanol추출물이 BHT 및 sesamol보다는 항산화활성이 낮지만 대조구에 비교해서는 강한 활성을 나타내었다고 보고하였으며 마⁽⁵⁶⁾등은 표고버섯의 추출물을 첨가한 시료는 저장 중 대조구보다 과산화물가가 상대적으로 낮게 나타나 산패억제 효과가 있다고 보고하였다.

한편 송⁽⁵⁷⁾등은 능이버섯 추출물의 생리활성 연구에서 능이버섯을 이용하여 아질산염소거능, 전자공여능, 항산화력 활성, 혈전 용해활성, superoxide dismutase (SOD)유사활성, angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성, 세포독성 측정 등을 확인한 결과 아질산염 소거활성은 pH 1.2에서 가장 강한 활성이 있음을 보고하였다. 즉 전자 공여능은 0.1mg.ml 농도에서 BHT는 49.55%를 나타낸데 비하여 능이버섯 추출물은 90.42%로 거의 2배에 달하는 높은 활성을 나타내었으며 두 가지 활성 모두 첨가 농도에 비례하여 증가하였다. 또 SOD유사활성과 ACE저해활성도 표준시료와 유사하거나 약간 높은 경향을 나타내었다.

Pamela 등⁽⁵⁸⁻⁵⁹⁾이 여러 버섯의 조리 전·후의 영양학적 성분, 즉 일반성분, 식이섬유, 베타글루칸, 키틴 및 총 페놀성분을 분석하였다. 왕 등⁽⁶⁰⁾은 새송이버섯 자실체로부터 새로운 항균활성 펩타이드, 강 등⁽⁶¹⁾이 당뇨쥐의 혈당 및 혈중콜레스테롤에 미치는 영향, 황 등⁽⁶²⁾은 대장암 세포 증식 및 세포사멸에 미치는 영향, 강 등⁽⁶³⁾이 angiotensin converting enzyme 저해활성 확인 및 Hui 등⁽⁶⁴⁾은 항산화활성 탐색 등을 보고 하였다. 또한 김 등⁽⁶⁵⁾

이 큰느타리버섯의 이화학적 특성을 보고하였으며 정 등⁽⁶⁶⁾은 새송이버섯 분말을 첨가한 스펀지 케이크의 품질 특성을 확인하여 새송이버섯의 건강기능식품으로서의 가능성을 확인하였다. 이처럼 새송이버섯의 영양적 가치와 저지방, 저칼로리 식품이면서 단백질, 비타민 및 각종 무기성분이 풍부하게 함유되어 있어 건강식품으로 각광을 받고 있으며 해마다 그 소비가 증가함에 따라 재배농가와 재배면적이 점차적으로 늘어나고 그 이용법이 다양화되고 있다. 그러나 선행된 연구들은 새송이버섯의 다당체에 관한 것들이 대부분으로 그 이용범위가 매우 적으며 국내산 새송이버섯의 생리활성 및 그 가능성을 확립하고 기능성 식품 및 산업소재로서의 이용성에 대한 개발 연구가 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 국내산 새송이버섯을 80% 에탄올로 추출하고 이것을 여러 가지 용매로 각각 재추출한 후 각 추출물에 대하여 총 폴리페놀함량, DPPH 소거능, 전자공여능 및 SOD 유사활성 등을 측정하여 항산화효과를 확인하고 paper disc법을 이용하여 항균효과를 확인하고자 하였다. 또한 Sepabeads P-850와 Sephadex LH-20 column chromatography를 이용하여 활성성분을 분리하고 UV-spectrometer, Mass spectrometer를 이용하여 그 물질을 동정하여 분자량을 규명하고자 하였다.

II. 문헌적 배경

1. 항산화제

항산화제는 원래부터 자연식품이나 유지 중에 존재하고 있으며 이들은 자체적으로 산화나 산패를 억제시키는 천연항산화제와 식품이나 유지의 저장성을 개선하기 위해 첨가할 목적으로 합성된 합성항산화제로 구분할 수 있다. 항산화제는 주로 식용유지, 지방질 식품, 상온에서 장기간 저장이 요구되는 각종 비스킷류, 과자류, 스낵 식품류, 튀김 가공식품류 등의 산화 안정성을 높여 장기간 고품질을 유지시키기 위하여 사용되어 왔다.⁽⁶⁷⁾ 식품은 저장, 가공기간 중 환경적 요인에 크게 영향을 받는데 산화를 억제하거나 촉진하는 요인은 Table 1과 같다.

광선, 열, 중금속 등에 의한 유지의 산화는 항산화제에 의하여 일정시간 억제되어 산화반응의 개시가 지연되며 토크페롤, BHA, BHT, TBHQ 및 PG(propyl gallate) 등이 이와 같은 과정으로 산화를 억제하는 것으로 알려졌다.⁽⁶⁹⁾

합성항산화제인 BHA, BHT, TBHQ 및 PG 등은 항산화효과가 매우 크나 Takahashi⁽⁷⁰⁾ 등이 쥐에게 BHT를 식이 처방한 경우 늑막, 복강, 부고환, 췌장 등의 기관에서 치명적인 출혈이 발생하는 것과 쥐의 갑상선, DNA 합성 자극, 효소의 감응이 변화되었다고 보고 하였으며 Gilbert⁽⁷¹⁾ 등은 500mg/kg/day의 BHT, BHA, TBHQ 투여 시 간비대증이 유발되고 발암효과가 있음을 확인하였고 Omeya⁽⁷²⁾ 등은 BHT가 특히 간의 microsomal enzyme activity를 증가시킨다고 보고하였다.

Table 1. Factors effecting peroxidation ⁽⁶⁸⁾

Effect	Factor
Promotion	unsaturated fatty acid, oxygen-active oxygen, heavy metal ions, light and dyes, radiation, peroxide-free radical, heating, moisture content, lipoxygenase
Supression	reduction to saturated fatty acid, gas exchange, oxygen removal, vaccum packaging, metal chelation, removal of dyes, radical scavenger, antioxidant, refrigeration, intermediate moisture, enzyme inactivation
Function of antioxidants	radical scavenger, hydrogen doner, electron doner, peroxide decomposer, singlet oxygen quencher, enzyme inhibitor, synergist-metal chelating agent

이와 같이 합성항산화제의 독성과 발암성에 관한 연구들이 보고 되면서 이들의 사용에 대한 재검토가 이루어지고 이들의 사용기준이 더욱 엄격하게 규정되고 있는 실정이다. 이에 반해 천연항산화제는 자연식품 또는 식용식물체 내의 하나의 성분이거나 체내 2차 대사산물로 존재하기 때문에 인체에 대한 위험성이 적어 합성 첨가물을 대신할 대체물질로 소비자들에게 주목을 받고 있다. 더욱이 이런 천연 항산화제들은 대다수가 항균효과와 아질산염 소거효과 등을 함께 보유하고 있어 천연 기능성 물질 개발로 많은 연구가 수행되고 있다.

조⁽⁷³⁾ 등이 자소자 추출물의 유지에 대한 항산화효과와 항균효과를 보고 하였으며 이⁽⁷⁴⁾ 등은 방아잎 추출물을 이용하여 항산화, 항균효과 및 아질산염 소거능을 측정한 결과 방아의 메탄올 추출물이 팜유에 대하여 합성항산화제인 BHT보다 우수한 항산화력을 나타내었고 방아잎 추출물 10mg/100ml의 농도에서 90%이상의 아질산염 소거능이 있음을 보고하였다. 또한 장내 유해균인 *lactobacillus* 등에 대한 항균효과를 확인하였으며 그 물질들을 분리하여 acacetic acid와 rosmarinic acid임을 확인하였다. 또 김⁽⁷⁵⁾ 등은 뽕잎 추출물을 이용하여 유지에 대한 항산화효과와 추출물의 DPPH radical 소거효과를 측정하였는데 그 결과 에틸아세테이트층과 부탄올층에서 뛰어난 효과를 확인하였고 그 물질을 분리 동정한 결과 wogonin, linarin, pectolinarin임을 확인되었다. 이결과를 근거로 하여 뽕잎 추출물을 첨가한 닭고기 패티를 제조하고 이것에 대한 관능검사와 색도, 경도, 지방산 분석 등을 시행하였다. 관능검사에서는 0.25% 첨가한 것이 가장 높은 기호성을 보였으며 첨가량이 증가할수록 황색도가 증가되었고 포화지방산량은 감소하는 반면 불포화 지방산량은 증가하였으며 특히 필수지방산의 함량이 크게 증가하는 경향이었다고 지적하였다. 이처럼 식용식물들에 대하여 항산화효과를 비롯하여 항균효과, 아질산염 소거능, 항돌연변이효과, 항암효과 등 많은 생리활성 물질 검색을 포함한 기능성에 관한 연구들이 진행되고 있다.

2. 니트로사민

Magee⁽⁷⁶⁾ 등의 N-nitrodimethylamine(NDMA)이 흰쥐의 간에 손상을 준다는 보고 후 대부분의 니트로사민이 체내에서 diazoalkane($C_nH_{2n}N_2$)으로 전환되어 핵산이나 단백질 또는 세포내 성분을 알킬화하여 암을 유발한다고 보고 되었다. 이에 따라 염지제로서 첨가된 아질산염의 섭취 및 육제품 내에서 생성될 수 있는 니트로사민에 대한 관심이 높아졌다. 니트로사민은 아질산염과 아민과의 상호 반응에 의해 생성되며 식품뿐만 아니라 생체의 장내에서도 생성되므로 더 큰 문제가 되며 이것의 형성과정은 Fig.1에서 보는 것과 같다.

니트로사민의 생성을 억제하는데 관하여 Katto⁽⁷⁷⁾ 등이 식품성분간의 반응 생성물인 멜라노이딘이 니트로사민 생성 억제효과가 있는 것으로 보고하였으며 Cooney⁽⁷⁸⁾ 등은 phenolic, guaiacol 등의 페놀성 물질이 니트로화 반응을 강력하게 억제한다고 보고하였다. 또한 이⁽⁷⁹⁾ 등은 국내에서 차 음료로 널리 이용되는 감잎, 뽕잎, 두충잎, 둥글레, 치커리, 오배자, 산수유의 추출물을 이용하여 아질산염 소거능을 확인하였는데 그 결과 첨가농도와 비례하여 아질산염 소거능이 증가하는 것을 확인하였고 pH조건을 pH 1.0-pH 6.0 까지 달리하여 실험한 결과 pH 1.2에서 효과가 가장 우수하다고 하며 아질산염 소거능이 pH 의존성이 높은 것을 밝힌바 있다.

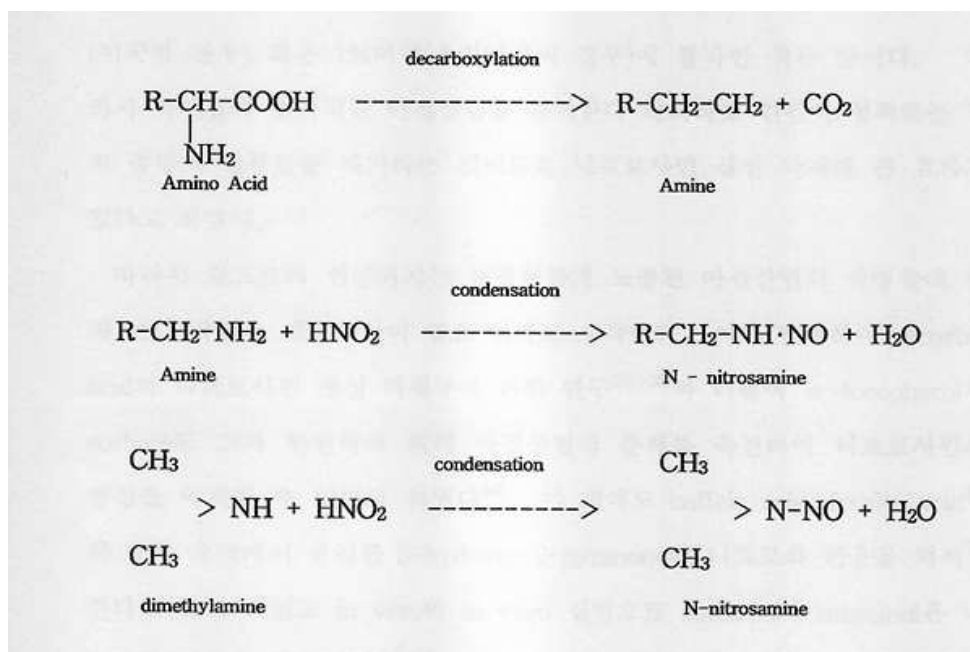


Fig.1 The mechanism of nitrosamine formation in vivo system

3. 항균성물질

식품의 유해 미생물을 정균 및 살균하는 방법으로는 살균제인 chlorinated water, acidified sodium chlorite, electrolyzed oxidizing water, hydrogen peroxide, chlorite dioxide, diacetyl과 보존제인 sorbic acid, benzoic acid 등 합성항균제 처리와 함께 감마선 처리에 의한 식중독 미생물의 증식저해방법이 보고 된 바 있다.⁽²⁸⁻³⁶⁾ 그러나 화학적 합성 항균제는 그 작용 범위가 좁고 지속적으로 사용하면 체내에 축적되는 경우 만성 독성, 발암성, 돌연변이 유발성의 우려가 있어 최근 소비자들의 건강 지향적 욕구 증대와 안정성에 대한 의식 고조로 합성 항균제의 기피현상이 강하게 일고 있으며, 천연 항균제에 대한 선호도가 높아지고 있다.⁽³⁷⁻³⁹⁾ 대부분의 천연 항균 물질은 동·식물내의 한 성분으로 함유된 경우가 많으며 단백질, 특정효소, 유기산, 식물정유, 식물의 특정 성분 등이 항균효과를 나타내는 것으로 알려졌다⁽⁸⁰⁾, 특히 식물에 존재하는 항균 물질은 그 대부분이 alkaloid류, flavonoid류, terpenoid류, phenolic compound류, quinone류 및 volatile oil 등의 2차 대사산물 또는 그 유도체들로 알려져 있다.⁽⁸¹⁻⁸³⁾

천연 항균제에 관한 연구들로는 성⁽⁴⁰⁾이 은행잎 추출물을 이용하여 확인한 결과 *S. typhimurium*, *E.coli*, *L. monocytogens*, *S.aureus*에 대하여 butanol추출물이 가장 높은 항균력을 나타내었으며 김⁽⁹⁾등은 Herb류의 용매별 추출물의 항산화 및 항균 효과연구에서 rosemary, apple mint, lavender 추출물이 *Salmonella*균에 대하여 뛰어난 항균력이 있음이 확인되었다. 이처럼 천연추출물의 항균효과 확인 연구들이 많이 이루어지고 있으며 그 기작이 서서히 밝혀지고 있다. 한편 단백질 성분으로 달걀에 함유되어 있는 conalbumin, avidin, lysozyme⁽⁴¹⁻⁴³⁾과 우유에 존재하는 lactoferrin⁽⁴²⁻⁴³⁾도 항균성이 있음이 확인되었고 천연물에 함유된 유기산들인 succinic, malic, tartaric, benzoic acid 등은 미생물의 특정 아미노산 이용

을 저지함으로써 증식억제 효과를 가진다고 보고 된 바있다.⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾

또한 소량으로 동식물의 조직에 함유된 탄소수 12-18개의 중쇄지방산이 항균성이 우수한 것으로 보고 되었으며⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾, Conner⁽⁵¹⁾등은 항균작용이 대부분 정유에 함유된 성분에 존재한다고 하였고 정⁽⁵²⁾등은 쑥씨의 정유 성분이 식품 부패미생물에 항균효과가 있는 것으로 보고 하였다.

4. 버섯

버섯은 분류학상 고등균류 중 진균류(Eumycetes)에 속하며 대부분 담자균류(Basidiomycetes)에 속한다.⁽⁸⁴⁾ 포자는 발아하여 먼저 1핵 균사(monokaryon)가 되고 다시 유전자형이 서로 다른 두 균사가 융합하여 2핵 균사(dikaryon)로 되어 생육하는데 필요한 영양, 빛, 온도 및 습도 등 외부 환경 조건이 적당하면 자실체(fruiting body)인 버섯을 형성한다.⁽⁸⁵⁻⁸⁶⁾ 또한 버섯은 일반적으로 활물기생을 하며, 균근을 형성하는 소수의 버섯을 제외하고는 대부분 종속 영양 생장으로 자연 환경에서 목재, 낙엽, 볏짚 등 탄수화물이나 질소 화합물을 주요 영양원으로 하여 생활하고 있다.⁽⁸⁷⁾

이러한 버섯은 독특한 맛과 향이 뛰어나 기호성이 높은 식품으로 이용되어져 왔고 탄수화물, 단백질, 비타민, 아미노산, 무기질 등과 같이 인체에 중요한 각종 영양소를 골고루 함유하고 있으며, 광범위한 약리작용도 나타내 예로부터 전통식품 및 민간약의 제재로서 널리 이용되어져 왔을 뿐만 아니라 항암활성, 면역증강 등의 효능작용 때문에 최근에는 기능성 식품 및 의약품 소재로 많이 이용되고 있다.⁽⁸⁸⁻⁸⁹⁾ 근래에는 식생활의 향상 및 다양화로 인한 자연식품, 저칼로리식품, 무공해식품의 선호 추세로 버섯의 소비량이 날로 증가하는 경향이다. 특히 버섯의 생체기능조절 및 암, 뇌졸중, 심장병 등의 성인병에 대한 예방과 개선효과가 보고 됨에 따라 버섯에 대한 관심은 더욱 높아지게 되었다.⁽¹⁻²⁾

버섯류는 단순한 식품으로서가 아니라 생체에 영향을 미치는 효과와 기능으로서의 생체방어, 생체리듬 조절 및 질병의 회복과 노화억제 등 생명활동에 대한 식품의 생리조절 능력인 기능성식품에 관심이 집중되고 있으며 식품의 안정성도 중요시되고 있다. 이러한 기능성 식품 중에서도 질병의 치료 및 예방에 효과가 있는 천연물 중 가장 주목받고 있는 버섯은 오래전부터 맛과 영양이 풍부한 식품과 약용 등의 목적으로 사용해 왔다.⁽⁹⁰⁻⁹¹⁾

선행된 버섯의 기능성 연구들은 송⁽⁹²⁾ 등의 찔레 영지버섯 추출물의 생리활성 연구에서 40% 에탄올 추출물의 1mg/mL 첨가 시 아질산염소거능은 64% 정도의 활성, DPPH radical 소거능은 91.3% 정도의 활성을 보여주었다. 또 2.5% linoleic acid 의 자동산화에서 1mg/mL 첨가시 $p < 0.001$ 수준에서 유의성 있게 산화를 억제함을 보고하였다. 박⁽⁹³⁾ 등은 표고버섯과 느타리버섯의 조단백다당체 분말을 생리식염수에 용해시켜 백혈병, 간암, mouser sarcoma 180 쥐에게 주사한 결과 백혈병에서는 모든 단백질다당체가 항암효과를 보였으며 간암에서는 느타리버섯자실체에서 87.6%의 가장 높은 저지율을 나타내었다. 또 박⁽⁹⁴⁾ 등은 한국산 버섯 53종의 추출물을 이용하여 항균효과를 확인하였으며, 또한 항균활성물질들을 분리 정제하였고 대부분 버섯의 에탄올 추출물은 항균활성이 있음을 보고하였다.

또한 우리나라 산야에 존재하는 야생버섯류에 대하여도 턱수염버섯 (*Hydnum repandum*), 깔대기피꼬리버섯(*Cantharellus infundibuliformis*), 진갈색주름버섯(*Agaricus subrutilescens*) 등의 항돌연변이 효능이 보고되었으며⁽⁹⁵⁾ 32종의 야생버섯류에 대한 topoisomerase 저해 활성 검색⁽⁹⁶⁾과 46종의 야생버섯류로부터 용혈작용을 검색하여 그 중 색시줄각버섯, 조개껍질버섯, 밀버섯 등의 용혈작용이 보고되었다.⁽⁹⁷⁾ 이처럼 야생버섯류에서도 다양한 생리활성물질이 존재하고 있음이 밝혀지고 있어 버섯류가 훌륭한 약재뿐만 아니라 기능성 식품으로도 그 이용성이 높다고 할 수 있다.

5. 새송이버섯

새송이버섯(큰느타리버섯, *Pleurotus eryngii*)은 분류학적으로 담자균아문(*Basidiomycotina*), 주름버섯목(*Agaricales*), 느타리버섯과(*Pleurotaceae*), 느타리버섯속(*Pleurotus*)에 속하는 식용버섯이다.⁽⁹⁸⁻⁹⁹⁾ 프랑스, 이탈리아, 체코, 헝가리 및 러시아 등의 유럽남부지역, 중앙아시아, 아프리카 북부와 아메리카 등의 주로 아열대 건조 목초지 토양에 단생 또는 군생되고 있다.⁽¹⁰⁰⁻¹⁰²⁾

갓의 직경이 3-10cm이고 갓의 형태는 중심부가 움푹 패이고 가장자리가 아래로 처진 나팔모양이며 주름살이 내린형으로 대의 중앙부분까지 내려오기도 하고, 줄기의 길이는 30-100×10mm이며, 직경이 2-3cm로 굵은 편이다. 또한 포자의 크기는 10-14×4-5 μ m정도이다.⁽¹⁰³⁾ 새송이버섯은 육질이 치밀하여 씹는 맛이 자연송이와 비슷하고 일반 느타리버섯에 비해 대가 굵고 길며 저장성이 좋아 예부터 유럽에서도 “초원의 꿀맛버섯”이라⁽¹⁰⁴⁾ 하여 대중적 인기가 높았다. 우리나라에서는 1975년 송이과로 분류되었다가 1986년 느타리버섯과로 재분류되어 큰느타리버섯으로 명명되었으며 1997년경부터 인공재배된 것이 “새송이버섯”이라는 상품명으로 시판되고 있다. 느타리버섯은 약 13종이 등록되어 있는데 품종 간에 맛이나 형태, 색깔 등에서 큰 차이가 없는데 반해 새송이버섯은 육질이 치밀하고 맛이 좋고, 향과 품질이 우수하여 소비가 늘어나고 있다.

일반적으로 버섯에는 유용성분들이 다양하게 함유되어 있으며 그 중에서도 대표적인 생리활성 성분이 β -glucan과 같은 다당류(polysaccharide)와 단백질 또는 펩타이드가 다당류에 결합된 peptide-bound polysaccharide 또는 protein-bound polysaccharide이다.⁽¹⁰⁵⁾ 또 버섯의 성분 중에서 근래에 관심을 끌고 있는 것은 제6의 영양소라 불리는 식이섬유(dietary fiber)이다. 식이섬유는 사람의 소화효소에 의해 소화되지 않는 고분자물질의 총

칭으로 수용성(SDF) 및 불용성 식이섬유(IDF)로 구분되며 버섯에는 특히 불용성 식이섬유가 많이 함유되어 있다. 식이섬유는 수용성과 불용성에 따라 생리기능이 차이가 있으며 칼로리가 낮아 다이어트에 효과가 있고 담즙산 흡착능, 양이온교환능, 수분결합능 및 콜레스테롤 감소효능 및 당뇨병과 깊은 관련이 있는 혈당강하효능 등이 있는 것으로 알려져 있다.⁽¹⁰⁶⁾

새송이버섯에 관한 연구로는 Pamela 등⁽¹⁰⁷⁻¹⁰⁸⁾이 여러 가지 버섯의 조리 전·후의 영양학적 성분, 즉 일반성분, 식이섬유, 베타글루칸, 키틴 및 총 페놀성분을 분석하였으며 이⁽¹⁰⁹⁾등과 강⁽¹¹⁰⁾등은 새송이버섯의 항암효과 연구에서 새송이버섯 자실체의 에탄올 추출물이 암세포 성장을 억제하였으며 그 원인은 새송이 버섯의 단백다당류에 의한 것으로 보고하였다. 또 김⁽¹¹¹⁾등은 새송이버섯의 조다당체 분획을 10, 100, 1000 μ g/mL농도로 첨가 시 linoleic acid에 대하여 1000 μ g/mL농도에서 과산화물의 생성이 억제됨을 보고하였으며 강⁽¹¹²⁾등은 새송이버섯 건조 분말을 5% 첨가 식이로 준 동물 실험에서 당뇨쥐의 혈당이 감소하고 총 당화혈색소의 함량도 대조군에 비하여 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다.

또한 강 등⁽⁶¹⁾이 당뇨쥐의 혈당 및 혈중콜레스테롤에 미치는 영향, 황 등⁽⁶²⁾이 대장암 세포 증식 및 세포사멸에 미치는 영향, 강 등⁽⁶³⁾이 angiotensin converting enzyme 저해활성 확인 및 Hui 등⁽⁶⁴⁾이 항산화활성 탐색 등을 보고 하였으며, 김 등⁽⁶⁵⁾이 새송이버섯의 이화학적 특성을 보고하였는데 새송이 버섯의 자실체 부분의 일반성분 중 조단백질과 총당이 높게 나타났으며 무기성분은 Mg, Na, Zn, Fe, Ca 및 Cu 순으로 높게 나타났다. 유리아미노산은 hypoproline이, 구성아미노산은 arginine과 lysine이 주요 아미노산으로 나타났으며 유리당은 glucose가 가장 많고 다음으로 fructose, ribose, galactose, lactose, arabinose 및 maltose순으로 나타났다.

새송이버섯을 식품가공제조에 이용한 연구로는 정⁽¹¹³⁾등이 새송이버섯 분말을 스펀지 케익에 첨가하여 케익의 품질 특성을 확인하였는데 새송이버섯

분말의 첨가 비율이 증가함에 따라 반죽의 비중과 점도는 증가하였고 케익의 부피와 높이는 감소하는 경향을 나타내었으며 경도는 증가하였다.



Fig.2. *Pleurotus eryngii*

III. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 새송이버섯(큰느타리버섯, *Pleurotus eryngii*)

본 실험에서 사용한 새송이버섯은 경기도 안성 (주)머쉬하트 농장에서 재배된 것을 채취하여 길이 5~10cm 내외의 길이와 굵기가 비슷한 것을 사용하였다.

일반성분 실험용 새송이버섯은 채취 후 세절하여 냉장용 polyback에 담아 4℃내외의 냉장고(Wideluxe, GR41-2AT, Gold Star)에서 보관하면서 시료로 사용하였다. 한편 추출용 새송이버섯은 채취 후 동결건조하여 분쇄기(Food mixer, Hanil, FM-700W)로 분쇄하고 100mesh채로 내려 사용하였다. 새송이버섯 동결건조분말은 냉동용 폴리비닐주머니에 넣어 4℃내외의 냉장고(Wideluxe, GR41 -2AT, Gold Star)에서 보관하면서 공시하였다.

2) 기질유지

새송이버섯 추출물의 유지에 대한 항산화 효과를 측정하기 위해 기질로 사용한 식용유는 영미산업(주)에서 생산된 대두유로 항산화제가 첨가되지 않은 제품을 사용하였으며 linoleic acid는 Sigma사 제품을 구입하여 사용하였다. 사용된 대두유의 일부 이화학적 특성 및 지방산조성은 각각 Table2 및 Table4와 같다.

Table 2. Physicochemical characteristics of soybean oil used as a substrate in this study

Acid value	0.03
Peroxide value(meq/kg.oil)	0.2
Iodine value	119.2
Conjugated diene value	0.47
Refractive index(25°C)	0.917
Lovibond color(133.4mm cell)	Y 4.5 R 0.5

Table 3. Operating conditions for GC analysis of fatty acid composition

Instrument	Gas chromatography 5890 Series II plus, Hewlett-Packard
Column	6ft/2mm I.d., glass
Packing	Acid-washed and silanixed diat. 10% DEGS on 100-120 mesh chromosorb WHP
Carrier gas	Helium
Initial temp.	170°C
Initial time	0.5min
Initial rate	2.5°C/min
Final temp.	225°C
Final time	3.0min
Split ratio	25:1

Table 4. Fatty acid composition of soybean oil determined by GC

Fatty acid	Content(%)
14:0	0.10
16:0	10.73
18:0	4.38
18:1	22.58
18:2	55.51
18:3	6.70

3) 새송이버섯의 각종 용매 추출물의 조제

동결건조한 새송이버섯 분말은 김⁽¹¹⁴⁻¹¹⁵⁾의 방법을 응용하여 80% 에탄올 (EtOH)를 가하여 sonicator (Bransonic 5510R-DTH, U.S.A)로 30분씩 3회 추출시킨 후 여과하고 이 여과액을 Rotary vacuum evaporater(Buchi rotovapor R114 water bath B-480)에서 감압농축하여 에탄올 조추출물을 얻었다. 이 에탄올 조추출물(EtEx)은 Fig.3에서 보는 바와 같이 20배의 증류수와 동량의 클로로포름을 넣어 잘 혼합시켜서 물과 클로로포름 층으로 분리하였으며, 분리된 클로로포름 층은 클로로포름 추출물(ChEx)로 이용하였다. 또 남은 물층(aqueous layer)에 다시 동량의 에틸아세테이트를 넣어 혼합한 후 물층과 에틸아세테이트층으로 분리하였으며 여기에서 분리된 에틸아세테이트 층은 에틸아세테이트 추출물(EAEx)로 이용하고 남은 물층은 동량의 부탄올을 혼합한 후 물 층과 부탄올 층을 분리하였으며 모든 과정은 3회 반복 실시하였다. 여기서 분리된 부탄올 층과 물층은 각각 부탄올 추출물(BuEx)과 물 추출물(WaEx)로 이용하였다. 이 추출물들을 Rotary evaporator에서 감압 농축하여 농축물을 얻었으며 중량법으로 추출 수율을 계산하였다.

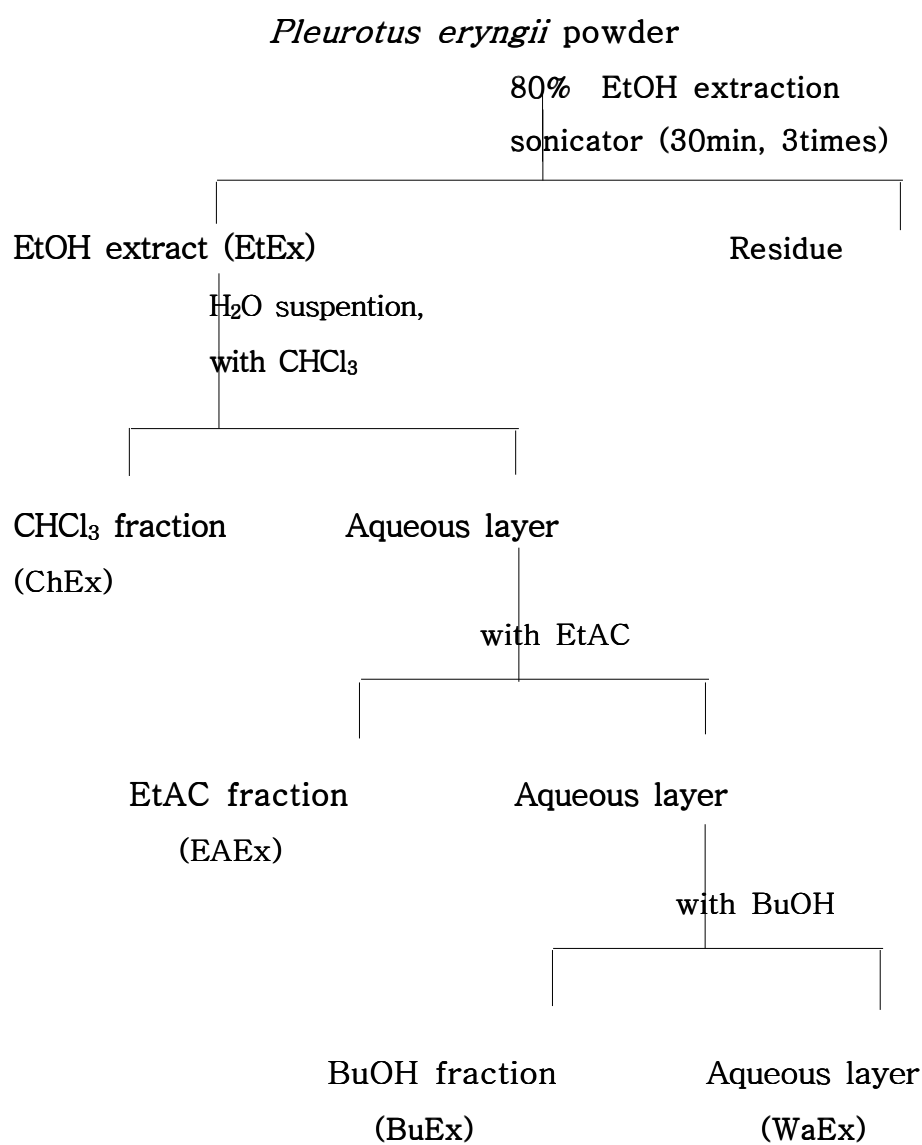


Fig.3. Scheme of extraction and solvent fractionation of EtOH extract from *Pleurotus eryngii*

(EtOH : ethanol CHCl₃ : chloroform EtAC : ethyl acetate BuOH : butanol)

4) 시약 및 항산화제

새송이버섯 추출물의 유지에 대한 항산화효과를 비교하기 위하여, 기존의 항산화제 중 TBHQ, BHT, 와 α -Tocopherol (Kanto Chemical Co., Japan)을 사용하였다. 추출에 사용한 용매인 ethanol, ethylacetate, chloroform, hexan, buthanol과 항산화력 측정에 사용된 모든 시약은 각각 특급 시약을 사용하였다.

Column chromatography용 packing material은 Sepabeads SP-850을 사용하였으며 molecular sieve column chromatography용 packing material 은 Sephadex LH-20(Pharmacia)을 사용하였다.

5) 균주

항균력 측정을 위하여 그램 양성균 *Staphylococcus aureus* 25923(ATCC), *Bacillus cereus* 9372, *Listeria monocytogenes* 19115와 그램 음성균 *Escherichia coli* 1682, *Salmonella typhimurium* 2054, *Pseudomonas aeruginosa* 1750을 한국 해양연구소에서 분양 받아 사용하였다. Paper disc는 ADVANTEC 8mm(Toyo Roshi Kaisha, Japan)를, 배지는 tryptic soy bean broth와 tryptic soy beanagar(Difuco)를 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 일반성분 분석

생 새송이버섯과 동결건조 새송이버섯 분말의 일반성분 즉, 수분, 조지방, 조단백질, 조회분 및 조섬유 함량은 A.O.A.C.(Association of Official Analytical Chemists)법.003, 7.056, 22.054, 32.026에 설명된 상압가열 건조법, Soxhlet 추출법, Kjeldahl법, 건식회화법⁽¹¹⁶⁾으로 측정하였다.

2) 새송이버섯분말의 열량, 총당 및 환원당

새송이버섯 분말의 열량은 시료 100g중의 조단백질, 조지방 및 탄수화물 또는 당질의 함량에 4, 9, 4의 계수를 곱하여 각각의 열량을 산출하여 그 총계로 나타냈다. 총당과 환원당은 DNS법⁽¹¹⁷⁾에 의해 glucose 량으로 환산하였다.

3) 새송이버섯분말의 유리당 정량

유리당의 분석은 n-Hexane 탈지 시료 5 g에 75% 에탄올로 가온 추출하여 냉각한 후 여과한 여액을 50℃ 이하에서 감압농축 시키고 증류수로 50 mL가 되게 정용한 다음 이온교환수지로 처리하여 이온성 물질을 제거하고 0.2µ membrane filter로 여과시킨 시료액을 HPLC(JASCO, Japan)에 주입하여 유리당의 조성과 함량을 분석하였다.⁽¹¹⁸⁾

4) 새송이버섯 분말의 항산화 물질의 분리 정제

동결건조된 새송이버섯 분말의 80% 에탄올 추출물을 분획한 각 용매층의 수율, DPPH, 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과 에탄올층에서 가장 높은 활성을 보였다. 이 에탄올층의 항산화 성분을 분리 정제 하였다.

① Sepabeads SP-850 column chromatography

새송이버섯분말을 20배(V/W)의 n-hexane으로 탈지시킨 후 탈지시료 100g을 2000ml 80% 에탄올을 가하여 sonicator (Bransonic 5510R-DTH, U.S.A)로 30분씩 3회 추출시킨 후 여과하고 이 여과액을 rotary vacuum evaporater로 감압 농축하여 에탄올을 제거하였다. 에탄올이 제거된 추출물을 고속원심분리기를 이용하여 4000rpm, 15min 원심분리하여 위의 상등액만을 취하였다.

25×700mm 크기의 open glass column에 Sepabeads SP-850 수지를 탈이온수로 평형화시킨 후 유량 10 mL/15min의 속도로 흡착시켰다. 흡착된 칼럼은 당류, 아미노산을 Molisch 반응 및 Ninhydrin 반응이 음성이 될 때까지 탈이온수로 유량 10 mL/15min의 속도로 세정하였다. 이어서 흡착물을 80% 에탄올로 용출시켜 30℃ 이하에서 감압농축 후 동결건조하여 분말 상태로 된 추출물을 냉동보관하면서 공시하였다.

② Sephadex LH-20 column chromatography

25×700mm 크기의 open glass column에 Sephadex LH-20(Sephadex LH-20, Pharmacia Biotech. Uppsala, Sweden)을 충전시켜 1-2일 100% 메탄올로 용출시켰다. 그리고 위의 분리 정제된 추출물을 HPLC 메탄올에

녹여서 컬럼에 충전시켜 분리하였다. 용리 속도를 약 0.5ml/min로 하여 분취 하였으며, 각 분취액을 UV-spectrophotometer(UV S-2030, SCINCO)로 Scanning하여 같은 물질끼리 합하여 감압농축 하였다. Fig.4와 같은 순서로 용출시켜 분자량 크기의 순으로 3개의 subfraction으로 분획하였다.

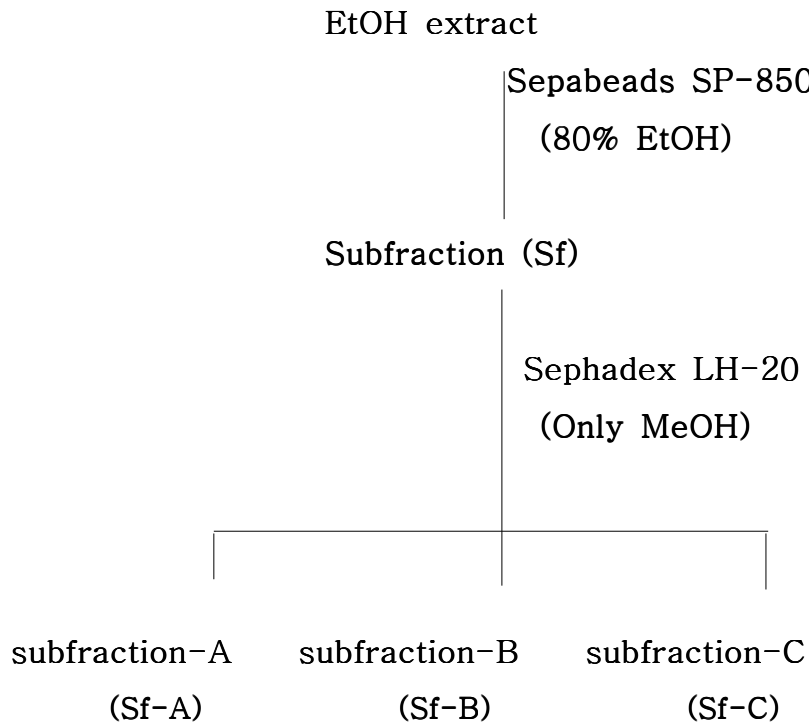


Fig.4. Scheme of fractional procedure of subfraction from ethanol extract of *Pleurotus eryngii*

③ High Performance Liquid Chromatography(HPLC) 분석

정제된 시료를 적당한 농도로 희석한 후 원심분리(10,000 rpm, 15분)하고 0.2 μm membrane filter를 통과시킨 액을 HPLC(JASCO, Japan)에 주입하여 분리양상을 조사하였다.⁽¹¹⁹⁾

Table 5. HPLC operating condition for subfraction(Sf) of *Pleurotus eryngii* ethanol extract

Item	Condition
HPLC	NANOSPACE SI-2 (Shiseido, Japan)
Mobile phase A	5% MeOH (0.1% formic acid)
Mobile phase B	95% MeOH(0.1% formic acid)
Gradient condition	0% B(5') 42% B(50') 50% B(60') 50% B(90')
Injection volume	1 μL
Ionization	ESI (electrospray ionization), positive-ion mode
Flow rate	50 $\mu\text{L}/\text{min}$
UV	220 nm

④ Mass Spectrometry(MS)

Sepabeads SP-850, Sephadex LH-20 column Chromatography에서 분취된 Sf-A, Sf-B, Sf-C의 분자량을 측정하기 위하여 LC-MS(HP Model 1050 HPLC, VG Quattro LC triple quadrupole mass spectrometer)를 이용하였으며 MS의 측정 조건은 Table 6과 같았다.

Table 6. Mass spectrometer operationg condition for subfraction(Sf) of *Pleurotus eryngii* ethanol extract

Item	Condition
HPLC	NANOSPACE SI-2 (Shiseido, Japan)
Mass spectrometer	LCQ DECA XP (Thermo Finnigan, USA)
Mobile phase A	5% ACN(0.1% formic acid)
Mobile phase B	95% ACN(0.1% formic acid)
Gradient condition	5% B(5') 42% B(50') 50% B(60') 50% B(90')
Column	Luna 5u C18(2), 1x150mm(Phenomenex, USA)
Injection volume	1uL
Ionization	ESI (electrospray ionization), positive-ion mode
Flow rate	50 uL/min
UV	260 nm
Mass range	m/z 100 1500

5) 총 폴리페놀 함량측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis방법⁽¹²⁰⁾을 변형하여 측정하였다. 시료 5 mL에 Folin시약 5 mL를 가하고 3분 후 10% sodium carbonate 5 mL를 넣어 30°C에서 1시간 발색시킨 다음 700 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 검액 대신 물을 사용하였고 미리 (+)-catechin을 사용하여 구한 검량곡선으로부터 시료 중의 폴리페놀 함량을 측정하였다.

6) 전자공여능 측정(Electron donating ability : EDA)

Williams의 방법⁽¹²¹⁾을 변형하여 측정하였다. 각 추출물 1 mL에 1×10^{-4} M DPPH(α, α -diphenyl- β -picryl hydrazyl)용액 2 mL를 넣고 10초간 진탕 후 30분 동안 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{EDA}(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A : 시료 첨가군의 흡광도

B : 시료 무첨가군의 흡광도

7) Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 Boaucham의 방법⁽¹²²⁾에 따라 시료 2 g에 tris-cacodylic acid buffer(TCB, pH 8.2) 30 mL를 가하여 2분간 혼합한 다음 4℃에서 12,000×g로 30분간 원심분리한 후 상등액을 0.1N NaOH와 HCl로 pH를 8.2로 조절하였다. 이 용액 0.9 mL에 기질로서 3 mM의 pyrogallol 0.1 mL를 혼합한 후 25℃를 유지시키면서 420 nm에서 2분간 흡광도 변화를 측정하여 pyrogallol의 산화속도를 계산하였다.

$$\text{Inhibition effect(\%)} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A : autoxidation rate of pyrogallol in absence of extract

B : autoxidation rate of pyrogallol in presence of extract

8) 아질산염 소거작용 측정

아질산염 소거작용은 Kato 등의 방법⁽¹²³⁾으로 측정하였다. 1 mM NaNO₂ 용액 2 mL에 시료 용액 1 mL를 가하고 1N HCl로 pH를 1.2로 조정하여 다음 증류수를 사용하여 반응액을 10 mL로 하였다. 이 액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 2% 초산용액 5 mL, Griss시약 0.4 mL를 가한 후 진탕하여 실온에서 15분간 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 산출하였다. 대조구는 Griss시약 대신 증류수를 가하여 측정하였다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

N : 아질산염 소거율

A : 1 mM NaNO₂용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치시킨 후 흡광도

B : 1 mM NaNO₂용액의 흡광도

C : 시료자체의 흡광도

9) 리놀산에 대한 항산화력 측정

Linoleic acid에 대한 항산화력을 Mitsuda등의 방법⁽¹²⁴⁾으로 측정한 TBA (thiobarbituric acid)가에 의하였다. 즉 Linoleic acid를 0.03 M이 되도록 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 ethanol 혼합용매(4:1, v/v)에 첨가하여 기질 용액을 조제하고, 기질용액 20 mL에 0.1 M phosphate buffer 19.3 mL와 시료용액을 0.02% 수준으로 첨가하여 40±1℃ 항온기에서 96시간까지 진탕반응 시키면서 시료를 채취하여 경시적으로 TBA가를 측정하였다. TBA가 측정은 시료 2 mL에 35% TCA(trichloroacetic acid)용액 1 mL와 0.75% TBA 시약 2.0 mL를 가하여 혼합한 후 끓는 수욕조에서 40분간 반응시킨 후 실온으로 냉각하고 acetic acid 1.0 mL와 chloroform 2.0 mL를 가해 3000×g에서 5분간 원심분리한 다음 상등액의 흡광도를 532 nm에서 측정하여 TBA 값을 구하였다.

10) 자동산화에 대한 항산화효과

각 추출물을 일정량의 ethanol에 녹인 후 0.02%, 0.05%의 농도로 기질 대두유에 첨가하여 magnetic stirrer로 혼합 제조하였으며 control로는 일정량의 ethanol만을 첨가한 대두유를 사용했다. 또한 기존 항산화제와 항산화력을 비교하기 위하여 TBHQ, BHT과 δ-Tocopherol을 법정허용량인 0.02%씩 첨가하여 사용하였다.

이와 같이 제조된 각 시료들은 60±2℃에서 30일간 저장하면서 과산화물가(peroxide value, POV)와 공액이중산가(conjugated diene value, CDV)의 변화를 측정하였다. POV는 A.O.C.S.⁽¹²⁵⁾ Cd8-53법을 이용하여 meq/kg.oil로 나타내었으며 CDV는 A.O.C.S.⁽¹²⁵⁾ Ti La-64법에 따라 UV-VIS

Spectrophotometer(Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech)를 사용하여 233nm에서 흡광도를 측정한 후 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{Peroxide value (meq /kg.oil)} = \frac{(S - B) \times N \times 1000}{W}$$

S : 실험에서 소비된 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

B : 대조 실험에서 소비된 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

N : $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 의 농도계수

W : 시료 유지의 무게, g

$$CDV(\%) = 0.84 \left(\frac{As}{bc} - K \right)$$

K : absorptivity by acid or ester groups

ester: $K = 0.07$

acid : $K = 0.03$

As : absorbance of oil at 233nm

b : cell length (cm)

c : oil concentration(g/L) of the final

11) 상대적 항산화 효과(relative antioxidant effectiveness, RAE)

새송이버섯분말 추출물의 유지에 대한 항산화 효과를 비교하기 위하여 Ahn⁽¹²⁶⁾이 사용한 방법에 따라 상대적 항산화 효과(Relative antioxidant effectiveness, RAE)를 산출하였다. 이때 기질 대두유의 과산화물가가 100meq/kg oil에 도달하는 시간(day)을 유도기간(induction period, IP)으로 임의적으로 설정한 다음, control의 유도기간에 대한 각 용매별 추출물이 첨가된 대두유의 유도기간으로부터 다음 식에 의해서 RAE를 산출하였다.

$$RAE = \frac{IS}{IC} \times 100$$

IC : Induction period of control

IS : Induction period of sample incubated with antioxidant

12) 새송이버섯의 항균성 검색

새송이버섯 추출물의 항균성 검색은 paper disc agar diffusion법⁽¹²⁷⁻¹²⁸⁾에 의하여 다음과 같이 하였으며 용매별 추출물들과 column chromatography로 분리된 추출물 모두 용매로 희석하여 0.1%농도로 사용하였다.

분양 받은 균들은 멸균된 tryptic soybean broth에 1백금이 씌 취하여 37℃에서 24시간 진탕 배양하였으며 멸균된 petri dish에 한천배지를 10ml 정도 부어서 평평한 위치에서 굳혔다. 그리고 멸균시킨 tryptic soybean agar에 tryptic soybean broth에서 배양한 균과 약간의 tryptic soybean broth를 첨가하였다.

위의 균이 섞인 tryptic soybean agar를 미리 배지를 굳혀둔 petri dish

에 10ml 정도 분주시킨 후 clean bench에서 굳힌 후 각각의 회석된 추출물들을 마이크로실린저로 50 μ l씩 paper disc에 주입시키고 위의 균이 포함된 배지 위에 올려놓았다. 배양기에서 37 $^{\circ}$ C로 24시간 배양한 뒤 paper disc 주위의 생육 저해환 생성유무를 확인하였다.

IV. 결과 및 고찰

1. 새송이버섯의 이화학적 특성

1) 새송이버섯의 부위별 일반성분

새송이버섯의 부위별 일반성분 중 수분, 조지방, 조단백, 조회분 및 당질의 함량을 A.O.A.C법에 의하여 측정된 결과는 Table 7과 같았다. 새송이버섯의 전체(whole), 기둥(stipe), 갓(pileus) 부위별 수분함량은 각각 79.15, 76.75, 77.67%로 서로 비슷하였다. 조지방 함량은 0.39, 0.23, 0.32%로 일반성분 중 낮은 함량이었으며 이는 홍⁽¹²⁹⁾등이 아위버섯, 느타리버섯 및 새송이버섯의 일반성분을 분석한 결과와 비교하면 수분 함량은 홍⁽¹³¹⁾ 등이 보고한 수분 87.8%는 보다는 낮고 조지방 0.1% 보다는 높았다. 새송이버섯의 수분함량은 아위버섯이나 느타리버섯의 수분함량 83.2, 91.3%보다 낮았고 특히 같은 느타리과의 느타리버섯 보다는 수분함량이 10%이상 낮은 것으로 측정되었다. 또한 조지방 함량도 아위버섯(0.4%)과 느타리버섯(0.2%)의 중간으로 홍⁽¹²⁹⁾ 등이 새송이버섯의 조지방 함량이 가장 낮다고 보고한 것과는 다르게 나타났다.

조단백질 함량은 전체, 기둥, 갓 부위별로 각각 3.48, 2.74 및 4.92%로 갓 부위의 조단백질 함량이 높은 것을 알 수 있었다. 이는 갓 부위의 자실체 때문에 조단백질 함량이 월등히 높게 나타난 것이다. 또한 부위별 회분과 당질은 전체 0.76, 16.22%, 기둥 0.86, 19.42% 및 갓 0.66, 16.43%였다. 이는 홍⁽¹²⁹⁾ 등의 보고와 비교하면 회분의 양은 비슷하지만 당질의 양은 홍⁽¹²⁹⁾ 등은 9.0%라고 보고 하였으나 본 연구에서는 부위별로 16% 이상으로 거의 2배에 가까운 양을 나타내었다. 이러한 결과는 본 연구에 사용된

새송이버섯이 육질의 쫄득함을 부여하기 위해 일반적인 재배조건 보다 약간 낮은 온도에서 장시간 재배한 것에 기인한다고 생각된다.

Table 7. Proximate composition of fresh *Pleurotus eryngii*

component	content(%)		
	whole	stipe	pileus
moisture	79.15	76.75	77.67
crude fat	0.39	0.23	0.32
crude protein	3.48	2.74	4.92
crude ash	0.76	0.86	0.66
carbohydrate	16.22	19.42	16.43

2) 동결건조한 새송이버섯 분말의 일반성분

동결건조하여 분쇄한 새송이버섯 분말의 일반성분은 Table 8과 같았다. 수분의 함량은 9.04%였으며 조지방과 조단백질은 각각 2.0, 20.70%였다. 이는 김⁽¹³⁰⁾등이 보고한 동결 건조된 새송이버섯의 자실체 부분의 조단백질 30.20%, 조지방 1.80%인 것과 비교하여 조지방 함량은 비슷하나 조단백질량이 약 10%정도 낮았다. 이것은 김⁽¹³⁰⁾등이 단백다당체가 많은 자실체 부분만을 분석하였기 때문으로 보인다. 또한 새송이버섯 분말의 조회분과 당질이 5.20%와 63.06%로 나타났으며 이는 김⁽¹³⁰⁾등의 결과와 비교하여 회분은 5.16%인 것과 유사하나 당질(43.50%)은 더 높은 양이었다.

Table 8. Proximate composition of *Pleurotus eryngii* powder

component	content(%)
moisture	9.04
crude fat	2.00
crude protein	20.70
crude ash	5.20
carbohydrate	63.06

3) 새송이버섯 부위별 분말의 섬유질 함량과 열량

동결건조된 새송이버섯 분말의 부위별 섬유질은 Table 9와 같았다. 부위별로 비교하면 전체는 54.51%, 기둥과 갓 부위는 35.45, 25.69%로 갓보다는 기둥 부위에 섬유질 함량이 높았다. 새송이버섯 전체부위의 섬유질 함량이 높은 것은 갓보다 섬유질함량이 높은 기둥 부위가 많은 부분을 차지하고 있기 때문인 것으로 사료된다. 임⁽¹³¹⁾ 등이 표고버섯 37.96%, 목이버섯 38.84%, 양송이버섯 21.92%, 느타리버섯 29.21% 및 팽이버섯 20.61%로 보고한 것과 비교하면 새송이버섯 분말의 섬유질 함량은 상당히 높은 것임을 알 수 있었다.

최근에 서구와 일본에서 사망요인의 상위를 차지하고 있는 암, 심장병, 뇌졸중, 당뇨병 등의 비 감염성질환과 변비, 담석, 충치 등의 증가도 식이섬유질 부족과 관련된다고 보고⁽¹³²⁾ 되고 있듯이 식이섬유(dietary fiber)의 건강

적 필요성이 강조되는 현대에 새송이버섯은 식이섬유질 함량이 매우 높은 건강 기능 식품으로 유용할 것으로 생각된다.

새송이버섯의 열량은 Table 9에 새송이버섯과 동결건조된 분말의 일반성분에서 측정된 당질, 단백질 및 지방의 함량에 각각 4, 4, 9kcal를 곱하여 열량을 산출하였다. 새송이버섯의 열량은 100g당 부위별로 보면 전체가 82.31kcal, 기둥 90.71kcal 및 갓 88.28kcal이었으며 동결건조된 새송이버섯 분말은 224.36kcal이었다.

이와 같이 새송이버섯은 높은 당질 중 대부분이 열량을 내지 않는 식이섬유질이 많은 부분을 차지하고 있으므로 저열량, 고식이섬유질 식품으로 건강에 유익한 기능성 식품으로 각광을 받을 수 있을 것으로 사료된다.

Table 9. Calorie and the amount of total dietary fiber of *Pleurotus eryngii*

	whole	stipe	pileus	powder
total dietary fiber(%)	54.1	35.45	25.69	
kcal/100g	83.31	90.71	88.28	224.36

4) 새송이버섯의 무기질 함량

새송이버섯의 부위별 분말의 무기질 함량은 Table 10과 같았다. 여기에서 Ca, Cu, Fe, Mn, Mg, Na, K, Zn 등 8종의 무기질이 확인되었으며 새송이버섯 전체, 기둥, 갓 부위에서 K이 20,000mg/kg이상으로 가장 높은 함량을 나타냈으며 Mg도 부위별로 700.00-1181.96mg/kg으로 높은 함량을 보여주었다. 이는 김⁽¹³³⁾등이 새송이버섯의 K을 제외한 7가지 무기성분 함량 측정에서 Mg의 함량이 가장 높다고 보고한 것과 일치하는 경향을 보였다.

Ca, Fe, Na 및 Zn은 20-170mg/kg 사이의 함량을 보였으며 갓 부위에 더 많은 양이 함유되어 있었다. Cu를 제외한 모든 무기질이 갓 부위에 높은 양으로 함유된 것을 볼 수 있었으며 Cu와 Mn은 측정된 무기질 중 아주 낮은 값으로 나타났다. 즉 Cu는 전체 8.30, 기둥 6.40, 갓 6.67mg/kg으로 갓과 기둥보다는 전체 부위에서 함량이 높았으며 Mn은 전체 4.63, 기둥 2.30, 갓 9.06mg/kg으로 갓 부위가 많은 것으로 나타났다. 이는 김⁽¹³³⁾등의 새송이버섯의 무기질 함량 측정 결과에서 Mn의 함량이 가장 낮다고 한 것과 같은 경향을 보여주었다.

Table 10. Amounts of minerals in *Pleurotus eryngii* powder

(mg/kg)

Minerals	Whole	Stipe	pileus
Ca	55.44	40.11	77.45
Cu	8.30	6.40	6.67
Fe	40.28	22.82	51.42
Mn	4.63	2.30	9.06
Mg	839.92	703.00	1181.96
Na	88.41	49.32	167.96
K	27527.25	20538.15	30939.00
Zn	39.53	26.44	89.65

5) 새송이버섯의 총당, 환원당, 유리당 함량

새송이버섯 분말의 총당, 환원당 및 유리당의 결과는 Table 11과 같았다. 새송이버섯 분말의 총당은 30410.0mg%로 매우 높았으며 이를 %함량으로 환산하면 30.41%로 다른 일반성분 함량에 비하여 매우 높은 것이었다. 한편 환원당은 873.5mg%이었으며 이는 김⁽¹³⁰⁾ 등이 측정한 새송이버섯의 총당 43.50%와 환원당 2.56%(2560mg%) 보다는 낮은 함량이었다.

또 유리당 중 fructose가 1671mg%으로 가장 높은 양을 보여주었으며 가장 낮은 함량인 glucose의 양은 1104.0mg%였다. 이는 김⁽¹³⁰⁾ 등의 새송이버섯의 유리당 함량측정 결과 glucose는 2040mg%와 fructose 함량 1846mg%으로 본 실험결과가 낮은 수치를 보였지만 lactose, maltose 및 galactose에서는 본 실험결과가 약간 높은 함량이었다. 본 연구에서 유리당

함량은 fructose, galactose, lactose, glucose 및 maltose의 순의 함량을 보여주었지만 김⁽¹³⁰⁾ 등의 연구에서는 glucose의 함량이 가장 높은 것으로 나타나 서로 다른 경향이었지만 이를 제외한 나머지 유리당의 함량 순서에서는 유사한 경향을 보여주었다.

**Table 11. Amounts of total sugar, reducing sugar and free sugar
in *Pleurotus eryngii* powder**

Sugars	Amounts (mg%)
Total sugar	30410.0
Reducing sugar	873.5
Glucose *	1104.0
Galactose *	1557.0
Fructose *	1671.0
Lactose *	1476.0
Maltose *	683.0

* : measured by HPLC

2. 새송이버섯 추출물의 수율

새송이버섯을 전체, 기둥, 갓 부위별로 동결건조한 3군의 시료를 80% 에탄올로 추출한 에탄올 추출물(EtEx)을 다시 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물을 용매로 순차적으로 분획 추출하였으며 이때 용매별 추출물의 수율은 Table 12와 같았다. 에탄올 추출물(EtEx)의 수율은 부위별로 전체 30.8%, 갓 23.3%, 기둥 15.6%의 순으로 전체와 기둥의 추출 수율은 거의 2배 정도의 차이를 보였다. EtEx를 이용한 순차 추출물들 중에서 물 추출물(WaEx)의 수율이 전체 18.2%, 기둥 19.4%, 갓 16.3%로 에탄올 다음으로 높았으며 에탄올 추출물과 달리 기둥 부위의 수율이 다른 부위보다 높았다. 그 다음으로는 부탄올 추출물(BuEx)의 수율이 3.7-6.2% 정도이었고 에틸아세테이트 추출물(EAEx)의 수율은 0.4-9.5%로 가장 낮았다.

부위별로 보면 전체부위에서 수율이 높은 용매는 에탄올 추출물 이었고, 기둥에서 높은 것은 에틸아세테이트, 부탄올, 물 추출물 이었으며 갓에서 높은 수율을 보여준 용매는 클로로포름 이었다.

Table 12. Yield ratio of each re-extract from the ethanol extracts of *Pleurotus eryngii*

solvents	(%)				
	EtOH	CHCl ₃	EtAc	BuOH	Water
Whole	30.8	2.1	0.8	6.2	18.2
Stipe	15.6	4.5	9.5	9.2	19.4
Pileus	23.3	5.8	0.4	3.7	16.3

EtOH : 80% ethanol

CHCl₃ : chloroform

EtAc : ethyl acetate

BuOH : butanol

3. 새송이버섯 추출물의 총 폴리페놀 함량

새송이버섯 부위별 분말의 각 용매별 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Fig.5와 같았다. 총 폴리페놀함량은 에탄올 추출물(EtEx)의 경우 전체 387mg%, 기둥158mg%, 갓 593mg%로 갓 추출물에서 높은 함량을 보였다.

새송이버섯 전체 부위의 추출물을 비교하면 부탄올 추출물(BuEx)과 물추출물(WaEx)의 함량이 594mg%와 404mg%로 클로로포름(ChEx)과 에틸아세테이트 추출물(EaEx) 보다 월등히 높았으며 BuEx의 경우 594mg%로 EAEx 보다 2배 이상의 높은 함량을 보여주었다. 갓 부위 추출물에서도 BuEx이 621mg%로 가장 높았고 EAEx가 134mg%로 가장 낮은 함량을 나타내어 전체 부위와 같은 경향이였다. 갓 부위의 BuEx과 EAEx의 함량은 거의 5배 정도의 차이를 보였으며 ChEx와 WaEx는 372mg%와 549mg%를 나타내어 EAEx를 제외한 모든 추출물은 갓 부위에서 폴리페놀 함량이 높았다. 반면 기둥 부위의 추출물들은 EAEx의 폴리페놀 함량이 251mg%, BuEx가 249mg% 순으로 다른 용매 추출물들 보다 상당히 높은 것을 보여주었으며 이는 갓 부위의 EAEx에서 폴리페놀 함량이 현저하게 낮았던 것과는 다른 경향이였다.

선행되었던 김⁽⁷⁰⁻⁷¹⁾ 등의 연구에서 팽이 버섯과 만가닥 버섯의 물추출물의 총 폴리페놀 함량을 3.17-3.50mg%와 1.52-2.92mg%으로 보고한 것과 비교하면 새송이버섯의 총 폴리페놀 함량이 월등히 높은 것을 알 수 있었다.

이⁽⁶⁷⁾등의 방아잎의 용매 추출물 중 총 페놀함량과 DPPH 소거능을 이용한 추출물의 항산화작용과의 상관관계는 $R^2=0.85$ 로 상당히 높은 편이었다고 하였다. 이에 비추어보면 새송이버섯 추출물들에서 총 폴리페놀 함량이 높게 나타남으로서 새송이버섯이 항산화효과가 높은 기능성 식품으로 이용될 수 있음을 알 수 있었다.

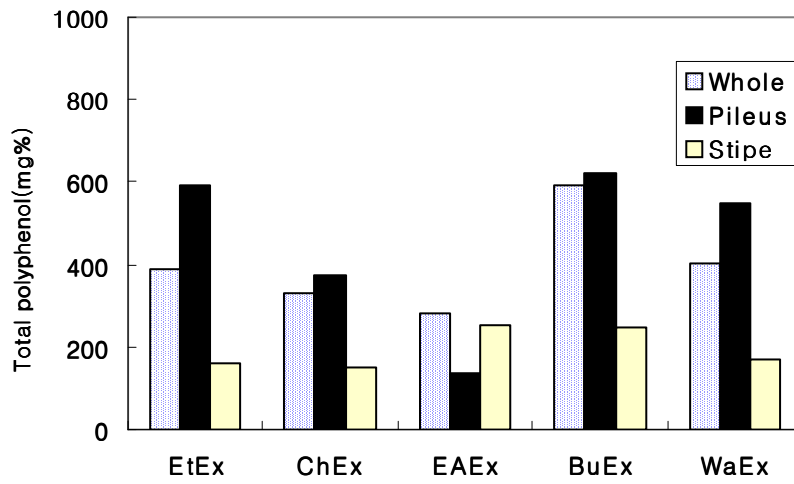


Fig. 5. Total polyphenol amounts in each extract of *Pleurotus eryngii*

4. 새송이버섯 추출물의 전자공여능 (Electron donating ability:EDA)

새송이버섯 부위별 분말 추출물의 전자공여능을 측정한 결과는 Fig.6과 같았다. 에탄올 추출물(EtEx)에서 갓, 전체, 기둥 추출물의 EDA는 각각 91.12%, 79.68%, 62.90%의 순이었으며 이는 총 폴리페놀 함량과 같은 경향을 보여주었다. 전체 부위의 추출물에서 WaEx이 81.63%로 EtEx보다 높은 EDA를 보였으며 BuEx는 77.98%로 EtEx와 비슷하였다. 반면 ChEx와 EAEx는 49.76%, 43.80%로 EDA값이 낮았으며 이는 총 폴리페놀 함량과 같은 경향이였다.

갓과 기둥 부위는 WaEx과 BuEx이 73.24%-90.39%로 EDA값이 높았으며 ChEx와 EAEx에서는 40.63-50.36% 사이의 낮은 EDA값을 보여주었다. 대조군으로 사용된 0.02% tocopherol과 BHT의 경우 EDA 값이 93.92%, 96.72%로 높았는데 갓 부위 EtEx와 WaEx의 EDA 값이 91.12%와 90.39%로 대조군과 비슷한 EDA 값을 보여 새송이버섯의 높은 항산화력이 확인되었다.

송 등⁽¹³⁴⁾이 보고한 찹레 영지버섯추출물의 EDA 값이 91.3%로 새송이버섯의 갓 부위 WaEx와 유사한 활성을 보였으며, 김 등⁽¹³³⁾이 보고한 팽이버섯 추출물의 경우 EDA 값이 30.6%인 것에 비하여 새송이버섯 추출물 중 EDA 값이 가장 낮은 기둥 EAEx의 EDA 값은 40.63%로 팽이버섯 추출물보다 높은 EDA값을 보였다.

앞의 총 폴리페놀 함량과 전자공여능의 활성을 종합하여 볼때 새송이버섯의 뛰어난 항산화활성은 유지식품에 대하여 항산화제와 보존제로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

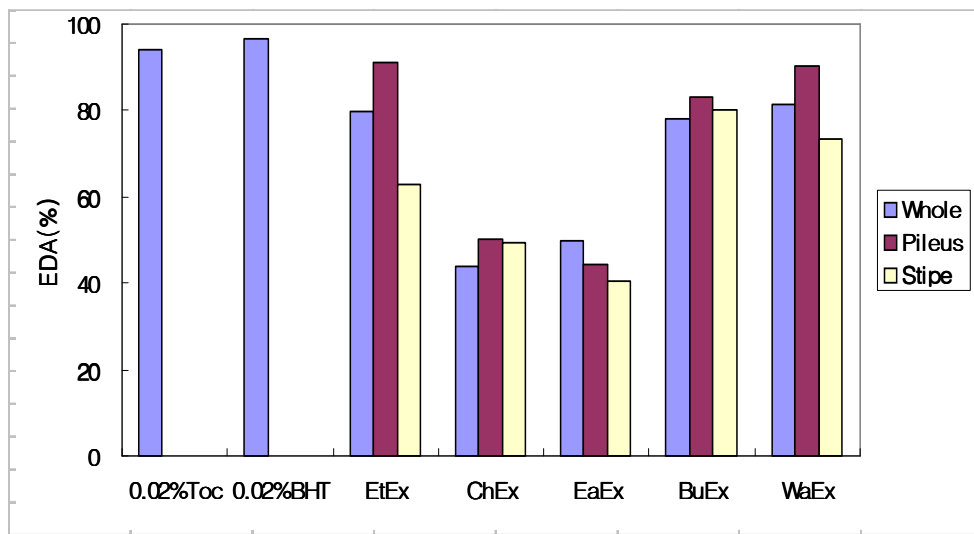


Fig. 6. Electron donating ability (%) from each extracts of *Pleurotus eryngii*

5. 새송이버섯 추출물의 항균 효과

새송이버섯 부위별 분말 추출물의 항균력을 측정한 결과는 Table 13과 같았다. 갓 BuEx, WaEx를 추출물을 제외한 모든 추출물들이 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*에서 대부분 항균활성을 나타내지 못하였으나 그람 음성균 *Pseudomonas aeruginosa*는 모든 부위의 BuEx과 갓 EAEx, WaEx 그리고 기둥 EAEx에서 항균활성이 있었다. 또한 *Escherichia coli*에서는 모든 부위의 EAEx, WaEx에서 항균활성이 확인되었다. 그러나 *Salmonella typhimurium*에서 항균활성이 전혀 확인되지 않았다. 이에 나타나듯이 새송이버섯의 추출물들은 그람 양성균 보다는 그람 음성균에서 높은 항균활성을 가졌으며 여러 추출물들 중에 티아세테이트와 물 추출물에서 높은 항균활성을 보여주었다.

Table 13. Antimicrobial activity of each extract *Pleurotus eryngii* on several microorganisms

	<i>Bacillus</i>	<i>Listeria</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>E.coli</i>
Whole-EtOH	-	-	-	-	-	-
CHCl ₃	-	-	-	-	-	-
EtAc	-	-	-	-	-	+
BuOH	-	-	-	-	++	-
Water	-	-	-	-	-	+
Stipe-EtOH	-	-	-	-	-	-
CHCl ₃	-	-	-	-	-	-
EtAc	-	-	-	-	+	+
BuOH	-	-	-	-	++	-
Water	-	-	-	-	-	+
Pileus-EtOH	-	-	-	-	-	-
CHCl ₃	-	-	-	-	-	-
EtAc	-	-	-	-	+	++
BuOH	-	-	+	-	++	-
Water	-	-	++	-	+	+

- : no inhibition (- 8mm) + : slight inhibition (8-9mm)
 ++ : moderate inhibition (10-11mm) +++ : heavy inhibition (12mm -)

6. 새송이버섯 추출물의 기능성 물질 분리 동정

1) Sepabeads SP-850 에 의한 분리 물질

새송이버섯 분말의 에탄올 추출물(EtEx)을 Sepabeads SP-850 column chromatography로 분리한 후 HPLC로 분석한 결과는 Table 14, Fig.7, 8 과 같았다. Sepabeads SP-850 column chromatography로 분리한 subfraction(Sf)을 210nm에서 HPLC로 분석한 결과 retention time 6.25, 9.11, 13.95, 31.65 및 48.58분에서 peak가 나타났으며 220nm로 분석하였을 때는 5.54, 9.25, 24.43, 46.51 및 59.32분의 retention time을 나타내었다.

220nm에서 5개 retention time 대별로 Sf-1, Sf-2, Sf-3, Sf-4, Sf-5 fraction으로 나누어서 Mass spectrometer로 분자량을 측정한 결과는 Fig.9-13에서 나타나듯이 Sf-1은 314.1, Sf-3는 298.1 그리고 Sf-4는 1022.2인 물질이 주를 이루었으며 Sf-2는 161.1, SA-5는 1014.1 의 분자량을 가진 물질이 다른 물질들보다 높은 비율을 차지하고 있었다.

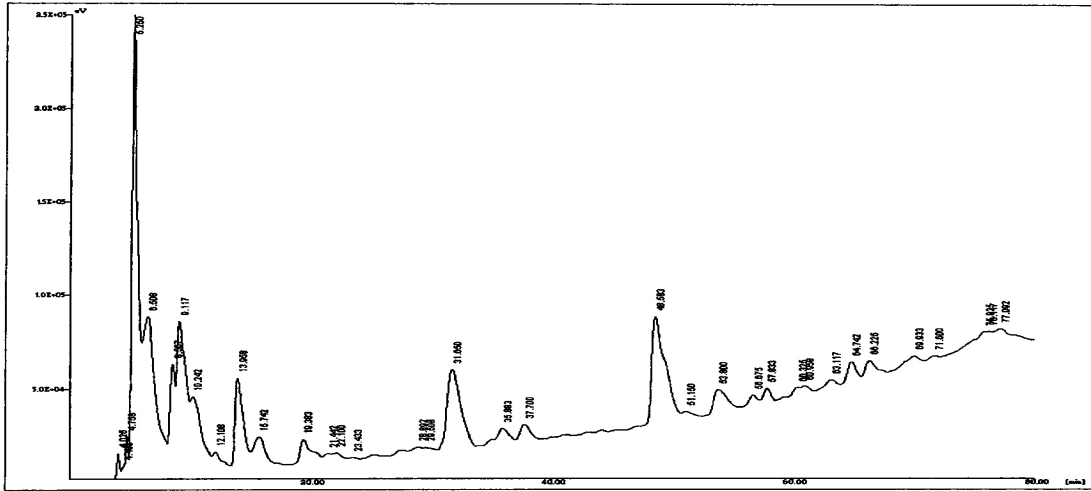


Fig. 7. HPLC chromatograms of Subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extract(210nm)

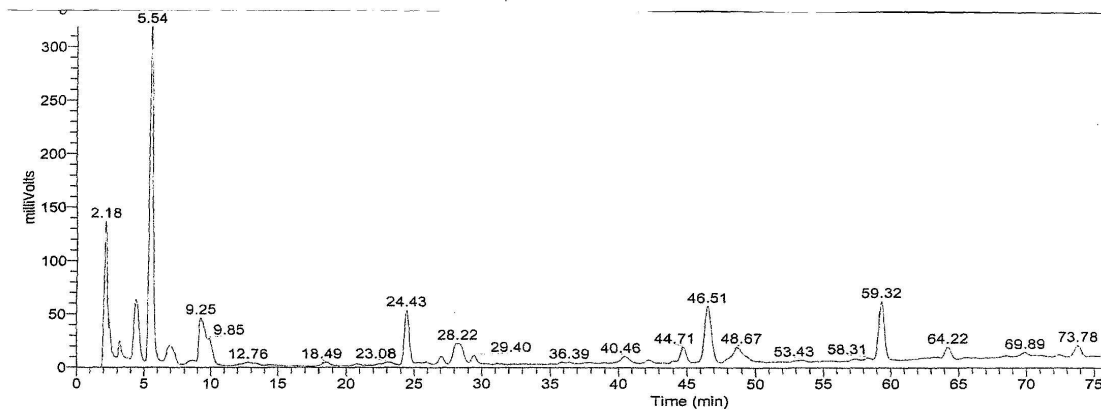


Fig. 8. HPLC chromatograms of Subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extract(220nm)

Table 14. The molecular weight of each subfraction of ethanol extract from *Pleurotus eryngii* by HPLC at 210, 220nm

	retention time at 210nm	retention time at 220nm	molecular weight*
Sf-1	6.25	5.54	314.1
Sf-2	9.11	9.25	144.3, 161.1, 295.0, 550.9
Sf-3	13.95	24.43	298.1
Sf-4	31.65	46.51	1022.2
Sf-5	48.58	59.32	844.6, 1014.1, 1015.0

* molecular weight : determined by mass spectrometer

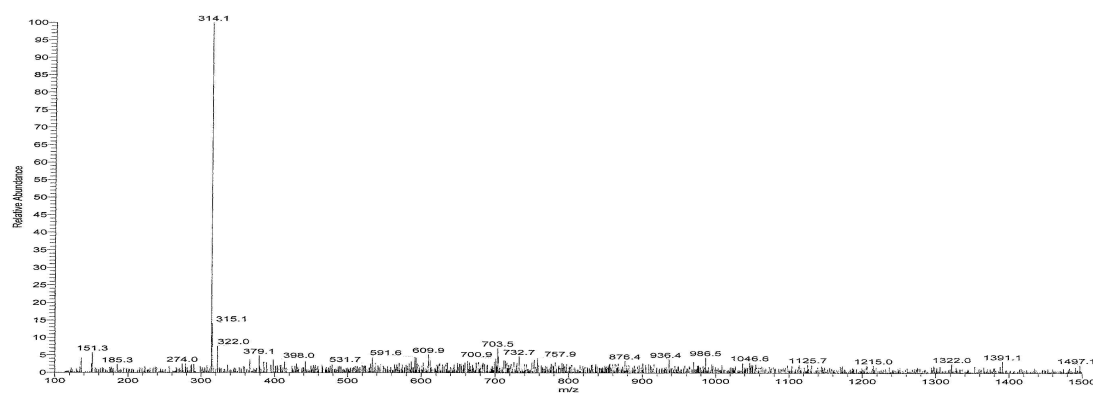


Fig. 9. Mass spectra of Sf-1 of ethanol extract from *Pleurotus eryngii*

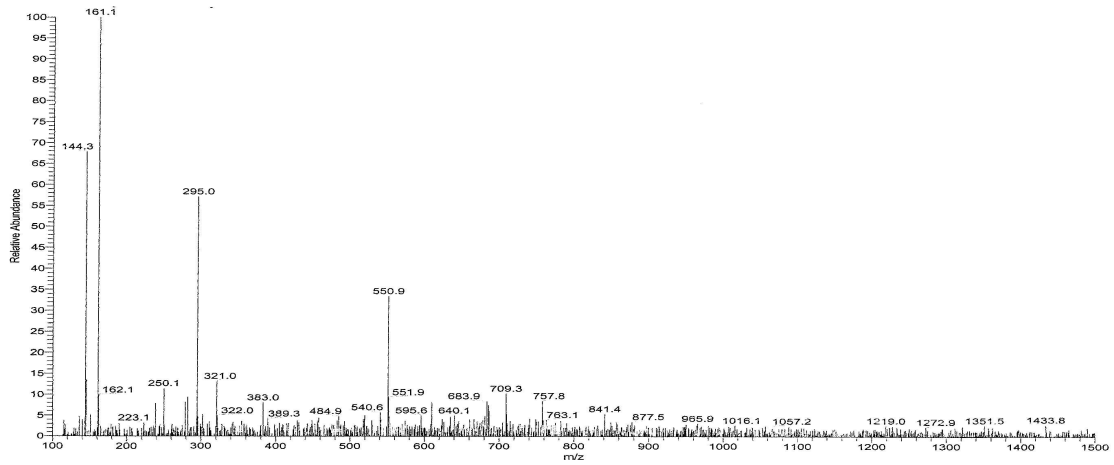


Fig. 10. Mass spectra of Sf-2 of ethanol extract from *Pleurotus eryngii*

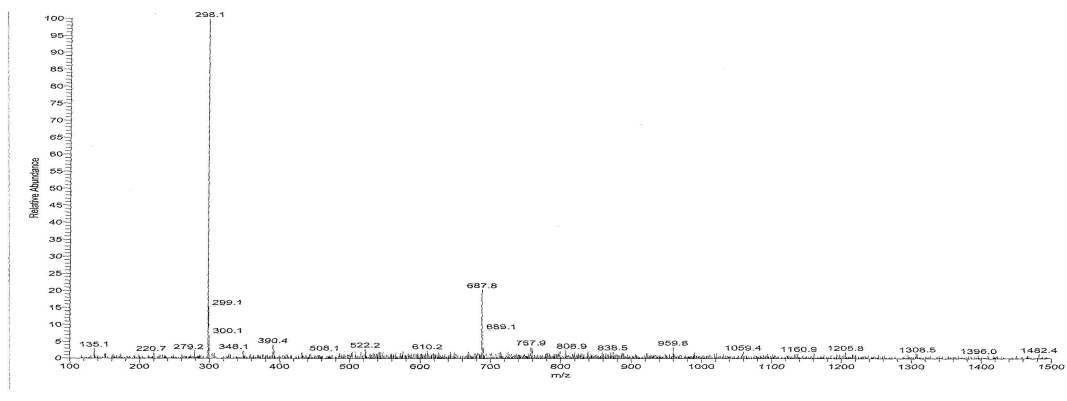


Fig. 11. Mass spectra of Sf-3 of ethanol extract from *Pleurotus eryngii*

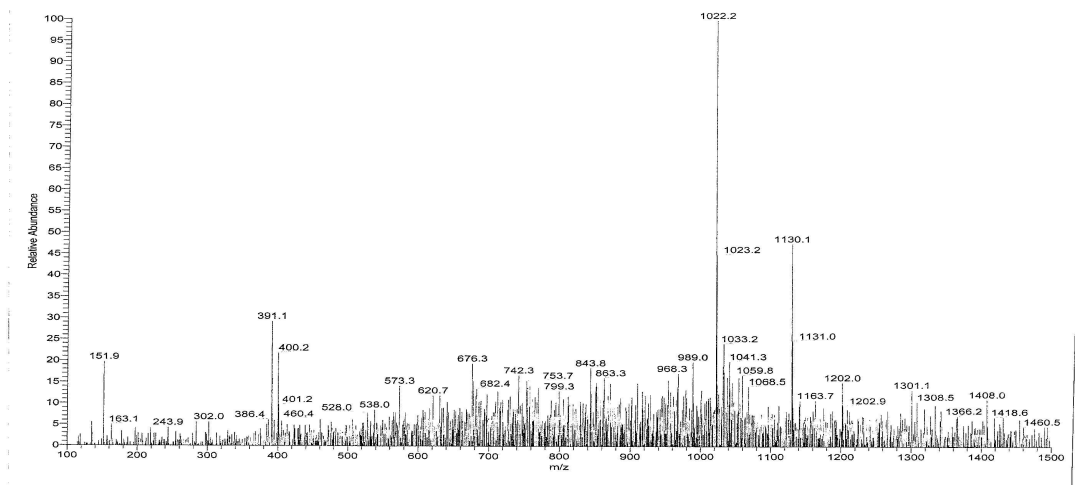


Fig. 12. Mass spectra of Sf-4 of ethanol extract from *Pleurotus eryngii*

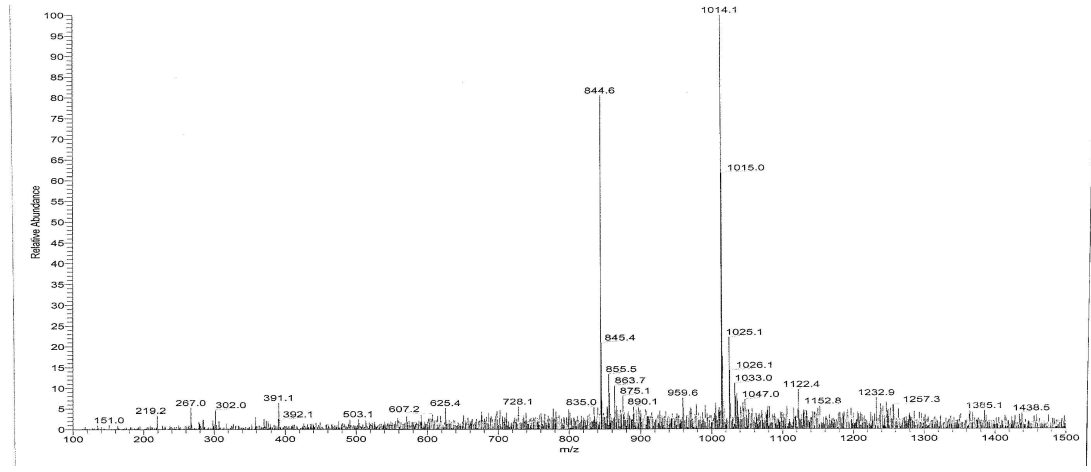


Fig. 13. Mass spectra of Sf-5 of ethanol extract from *Pleurotus eryngii*

2) Sepadex LH-20에 의한 분리 물질

새송이버섯 분말의 에탄올 추출물에서 분리 정제한 subfraction(Sf)의 물질을 분자량 크기별로 분리하기 위하여 Sepadex LH-20 column chromatography로 분리하여 4ml/10min의 속도로 분취한 후 각 분획에 DPPH용액을 첨가하여 흡광도를 측정하여 EDA(%) 함량을 계산한 결과는 Fig.14와 같았다.

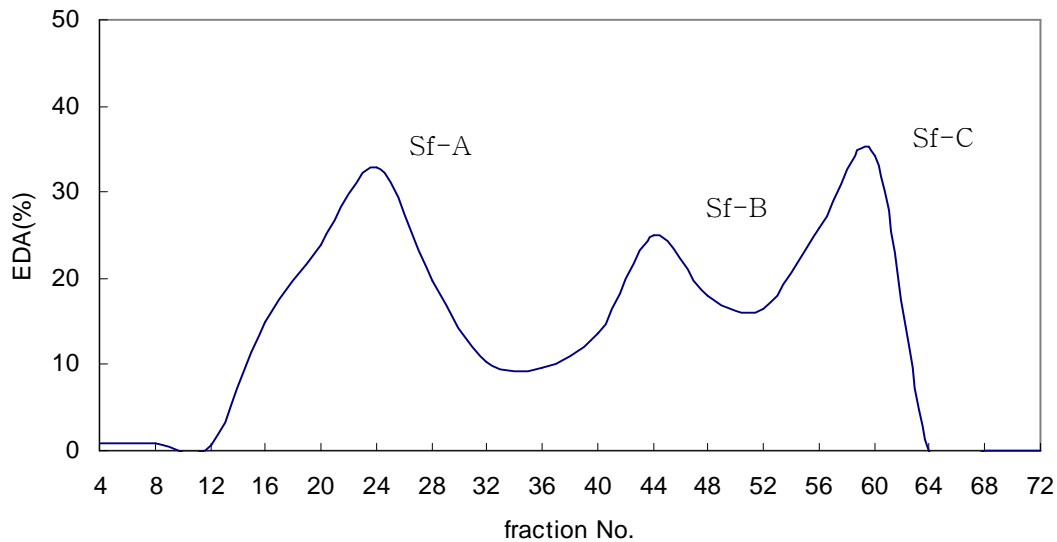


Fig. 14. Absorption of DPPH of LH-20 column fraction of subfraction(Sf) from *Pleurotus eryngii*

Fraction No 23, 44 및 59 부분에서 흡광도가 높은 3개의 peak가 나왔으며 이를 Sf-A, Sf-B, Sf-C로 명명하였으며 이들의 분자량 측정을 위하여 Sf-A는 fr No 22-24, Sf-B는 fr No 43-45 및 Sf-C는 No 58-60 fraction을 분취하여 Mass spectrometer로 분자량을 측정하였다. 이들 물질들의 분자량 측정 결과는 Table 15와 Fig. 15-17과 같았다.

Sf-A에서는 분자량 325.1, 520.2, 524.2, 542.2 및 649.2의 여러 물질들이 검출되었는데 그 중 분자량 520.2인 물질이 주를 이루었고 Sf-B fr에서는 분자량 144.2, 160.9, 325.2, 987.1의 물질들 중 분자량 160.9가 주를 이루었다. 한편 Sf-C fr에서는 분자량 268.0, 298.0, 325.1, 987.0의 물질들 중 분자량 268.0과 325.1의 물질들이 주를 이루었다.

이상의 결과에서 Sf-A의 주요 물질의 분자량은 520.2, Sf-B는 160.9, Sf-C는 325.1 임이 밝혀졌다. 이는 SP-850 column chromatography로 분리 정제한 Sf-1부터 Sf-5까지 분자량 측정에서 Sf-1이 314.1, Sf-2가 161.1, Sf-3가 298.1로 측정된 것과 유사한 분자량이었다.

Table 15. The molecular weight of Sf-1, 2, 3 fraction of ethanol extract from *Pleurotus eryngii* by mass spectrometer

	fraction No.	detected No.*	molecular weight
Sf-A	22-24	5	325.1, 520.2, 524.2, 542.2, 649.2
Sf-B	43-45	4	144.2, 160.9, 325.2, 987.1
Sf-C	58-60	4	268.0, 298.0, 325.1, 987.0

* : Number of detected compounds

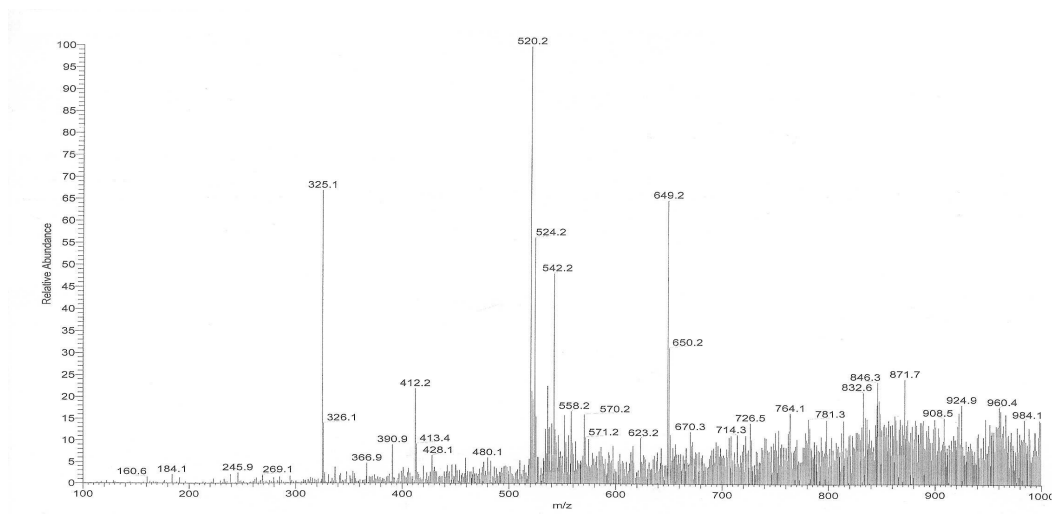


Fig. 15. Mass spectra of Sf-A of ethanol extract from *Pleurotus eryngii*

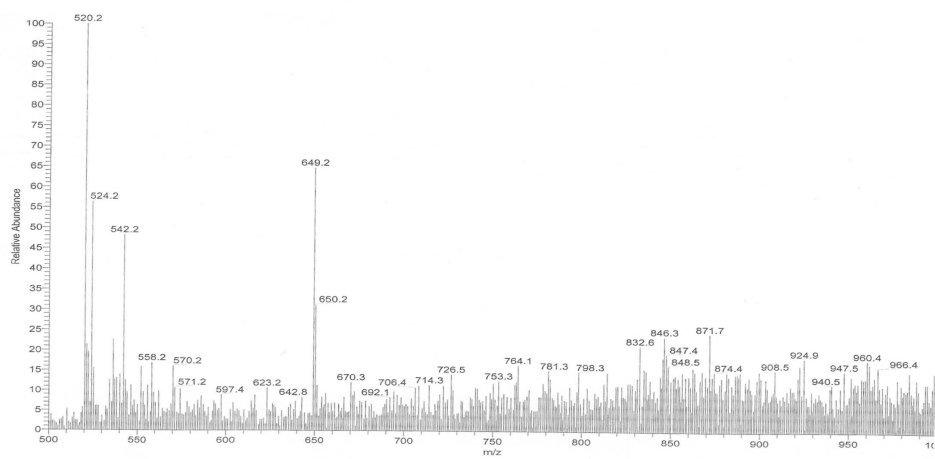


Fig. 16. Mass spectra of Sf-B of ethanol extract from *Pleurotus eryngii*

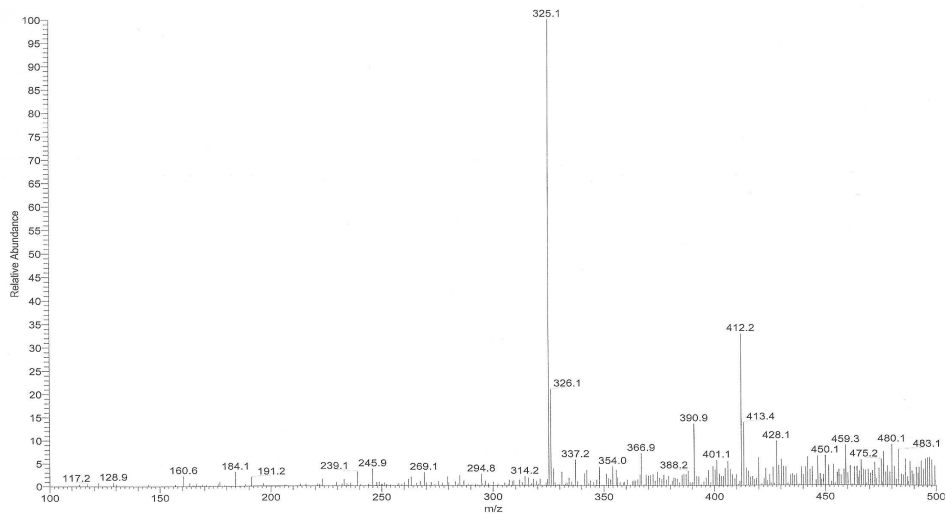


Fig. 17. Mass spectra of Sf-C of ethanol extract from *Pleurotus eryngii*

7. 새송이버섯 중 분리 정제된 물질의 기능성 확인

1) Sf의 총 폴리페놀 함량

새송이버섯 분말의 에탄올 추출물을 Sepabeads SP-850 column으로 분리 정제한 물질 Subfraction(Sf)의 총 폴리페놀 함량은 Table 16과 같았다. Sf의 총 폴리페놀 함량은 507mg%로 새송이버섯 전체부위 EtEx의 총 폴리페놀 함량 387mg%에 비하여 높았으며 이는 전체부위 BuEx를 제외한 모든 추출물에서 가장 높은 함량이었다. Sf의 총 폴리페놀 함량이 EtEx 추출물보다 높게 나타난 것으로 인해 새송이버섯 추출물 보다는 분리 정제된 Sf의 항산화 효과가 더 클것으로 생각된다.

Table 16. Total polyphenol amounts in Sf of *Pleurotus eryngii* ethanol extract

Sample	Total polyphenol (mg%)
Sf	507

Sf : subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extract
by SP-850 column chromatography

2) Sf의 전자공여능 (Electron donating ability:EDA)

Sf의 전자공여능 EDA는 Fig. 18과 같았다. Sf를 대조군 토코페롤과 BHT와 같은 농도인 0.02%와 0.05, 0.1% 농도로 전자공여능을 측정하였는데 Sf 0.02%에서 Sf 0.1%로 농도가 높아질수록 EDA값도 57.78%에서 77.33% 까지 증가하였다. 그러나 추출물 농도의 증가비율이 2.5-5배인 반면 EDA 값의 증가는 1.4배에 불과하여 Sf를 굳이 높은 농도로 이용할 필요가 없을 것으로 생각된다.

대조군인 토코페롤, BHT와 비교하면 Sf 0.02%는 EDA 값이 57.78%로 대조군보다 현저히 낮았지만 Sf 0.1%는 EDA값이 77.33%로 대조군과의 차이가 크지 않았다. 새송이버섯의 경우 천연 식품으로 저열량, 저지방 식품이면서 비교적 많은 양을 섭취하여도 큰 문제가 생기지 않으므로 합성 항산화제 및 보존제 보다는 그 사용과 섭취가 훨씬 용이할 것으로 생각되기에 전자공여능 활성의 수치보다는 활성 유무가 더욱 중요하다고 생각된다.

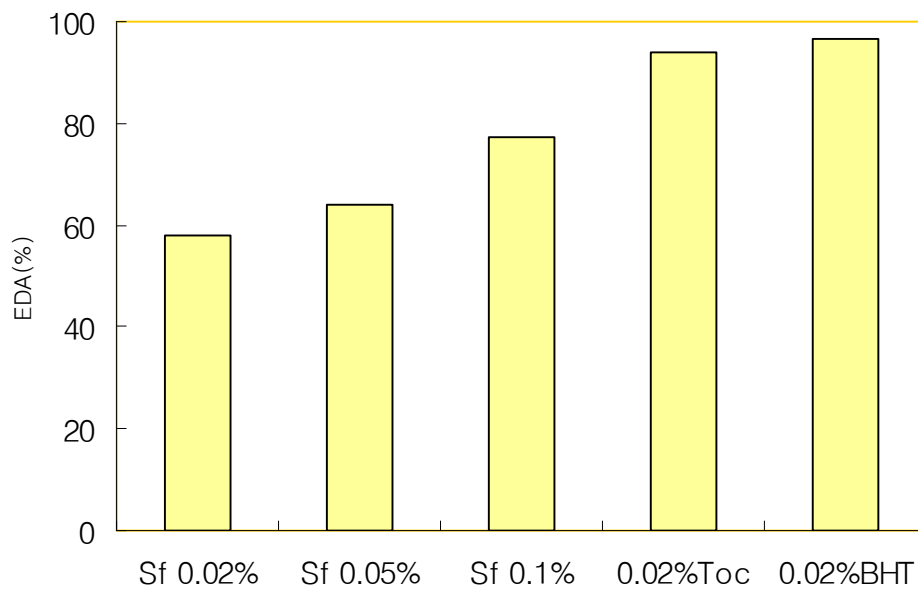


Fig. 18. Electron donating ability (%) of Sf from *Pleurotus eryngii* ethanol extract

* TOC : α -tocopherol

3) Sf의 SOD 유사활성 측정

SOD(Superoxide dismutase)는 산패로 인하여 형성된 세포에 유해한 환원산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하고, catalase는 SOD에 의해 생성된 H_2O_2 를 무해한 물분자와 산소분자로 전환시키는 역할을 하는 효소이다. 이러한 SOD와 유사한 역할을 하여 superoxide anion의 활성을 억제시킬 수 있는 유사물질의 활성능을 새송이버섯 추출물의 Sf를 이용하여 측정한 결과는 Fig.19와 같았다.

Sf 0.02, 0.05 및 0.1% 농도와 대조군으로 0.02% 토코페롤, BHT를 사용하여 SOD 함량을 측정하였는데 토코페롤과 BHT는 91.30%와 87.26%로 높게 나타난 반면 Sf 0.1%에서 40.5%를 나타냈으며 이는 Sf 첨가군 중 가장 높은 값이었다. 이는 대조군과 비교하면 1/2정도로 낮은 저해율을 보였으며 이⁽¹³⁵⁾ 등이 탈지박 추출물의 항산화효과 연구에서 물추출물의 SOD 함량이 37%정도로 보고된 것과 유사하였다.

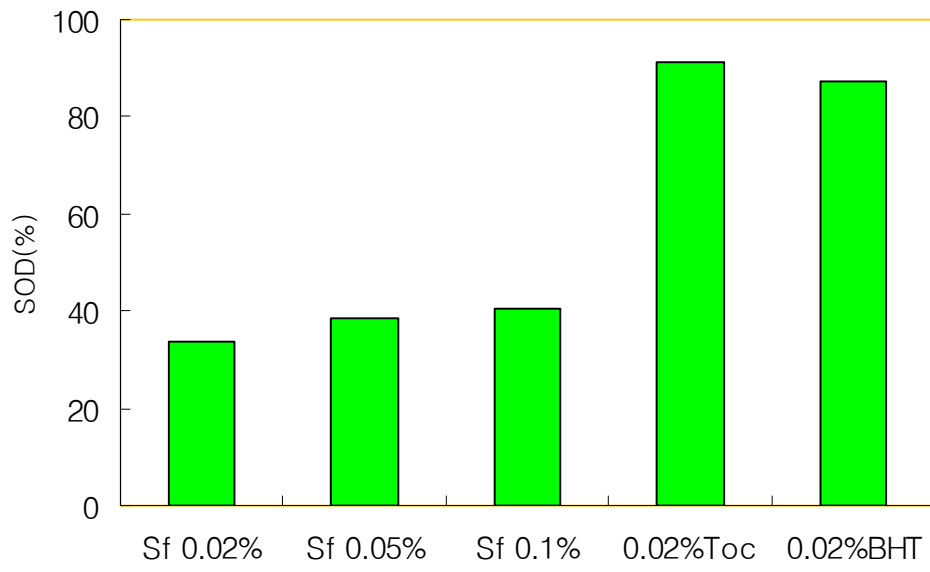


Fig. 19. SOD-liked activities of Sf from *Pleurotus eryngii* ethanol extract

4) Sf의 아질산염 소거능

새송이버섯 Sf의 아질산염 소거능은 Fig.20과 같았다. Sf 0.02%에서 Sf 0.1% 까지 소거능은 56.25%에서 72.5%였으나 Sf 0.05%와 Sf 0.1%의 소거능이 70.0%와 72.5%로 Sf 농도 상승에 따른 소거능의 차이가 거의 없었다. 정⁽¹³⁶⁾등이 석이버섯 추출물의 아질산염 소거능 측정에서 부탄올 추출물은 72.39%로 높은 소거능을 나타내었지만 헥산 추출물은 10%이하로 소거능이 거의 없음을 보고한 것과 비교하면 새송이버섯 Sf의 아질산염 소거능이 매우 높은 것임을 알 수 있었다. 또한 이⁽¹³⁷⁾등이 영지, 양송이 및 표고버섯의 에틸에테르와 부탄올 추출물의 아질산염 소거능이 70% 이하임을 보고하여 새송이버섯의 아질산염 소거능이 다른 버섯들과 비교하여 우수하였다.

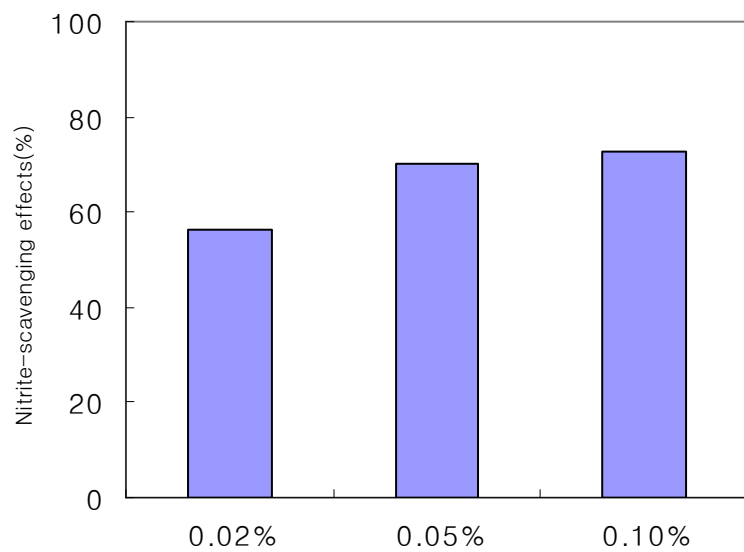


Fig. 20. Nitrite scavenging effects of Sf from *Pleurotus eryngii* ethanol extract

5) Sf의 linoleic acid 에 대한 항산화 효과

새송이버섯 Sf의 linoleic acid 에 대한 항산화 효과는 Table 17, Fig.21 과 같았다. Linoleic acid에 Sf를 0.02%와 0.05%로 달리 첨가하고 70℃에서 24시간 자동산화를 일으키면서 3시간 간격으로 532nm에서 TBA가를 측정하였다. 항산화 정도를 비교하기 위하여 기존의 항산화제 0.02%의 α -tocopherol, BHT 및 TBHQ를 첨가하였고 무첨가군을 control로 하였다.

Sf 0.02%와 0.05% 첨가한 것이 control 보다 TBA가가 낮아 linoleic acid의 자동산화를 억제시키는 것으로 나타났다. 특히 저장 24시간에 control의 TBA가가 0.823인데 반하여 Sf 0.02%를 첨가한 것은 0.475, 0.05%는 0.465로 control의 1/2정도로 낮아 산화 억제효과가 높음을 알 수 있었다. Sf 0.02%와 0.05%첨가시의 항산화력에는 차이가 거의 없어 굳이 높은 농도를 사용할 필요가 없는 것으로 생각되었다.

Sf의 항산화효과를 저장 24시간의 TBHQ 첨가군 과 비교하면 TBA가 0.278 보다 높은 TBA가를 나타내어 TBHQ보다 항산화 효과가 낮았으나 α -tocopherol의 0.502 보다는 낮은 그리고 BHT의 0.423과는 비슷한 흡광도를 나타내어 α -tocopherol, BHT와 유사한 항산화력을 보여주었다. 이로써 새송이버섯추출물의 Sf가 합성항산화제의 대용으로 사용할 수 있는 천연 항산화제로서의 효용성이 있음을 확인할 수 있었다.

Table 17. Antioxidative effects of various antioxidants on the linoleic acid stored at 70°C for 24 hours.

Samples(%)	Storage period(hours)								
	0	3	6	9	12	15	18	21	24
Control	0.211	0.271	0.296	0.300	0.310	0.322	0.398	0.651	0.823
TOC (0.02)	0.211	0.229	0.235	0.264	0.272	0.277	0.314	0.410	0.502
BHT (0.02)	0.211	0.209	0.224	0.212	0.253	0.258	0.259	0.355	0.423
TBHQ (0.02)	0.211	0.215	0.216	0.227	0.259	0.263	0.264	0.267	0.278
Sf (0.02)	0.211	0.223	0.285	0.289	0.294	0.299	0.356	0.414	0.475
Sf (0.05)	0.211	0.217	0.262	0.281	0.286	0.289	0.338	0.376	0.465

Control : linoleic acid without any antioxidants

TOC : α -tocopherol

Sf : subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extracts by SP-850 column chromatography

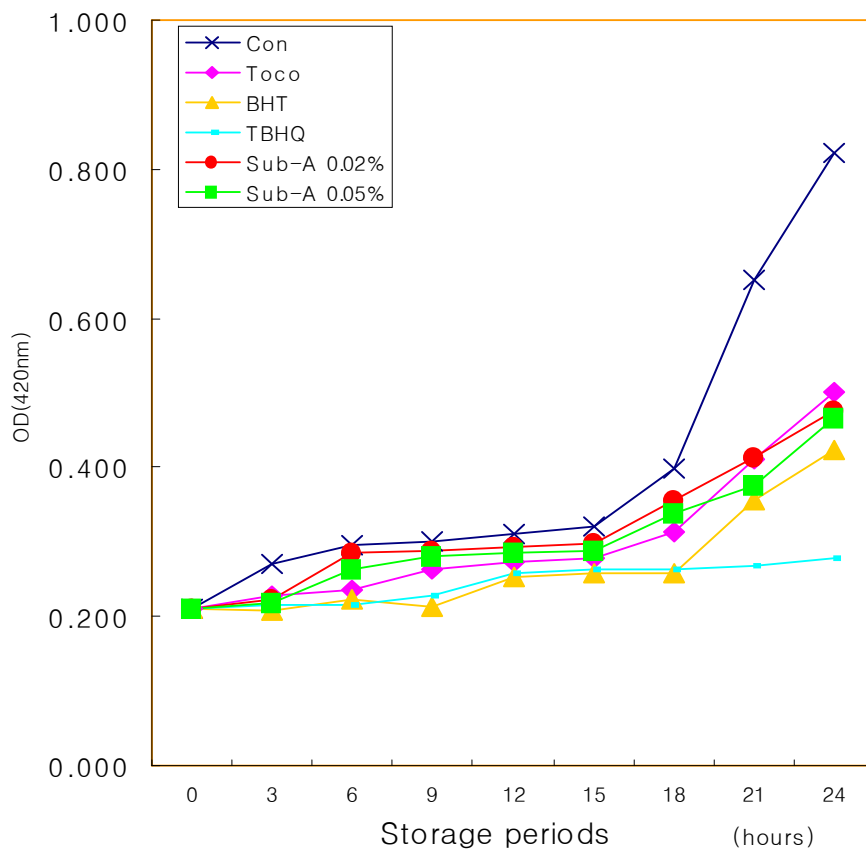


Fig. 21. Antioxidative effects of various antioxidants on the linoleic acid stored at 70°C for 24 hours.

CON : control TOC : α -tocopherol 0.02%

BHT : BHT 0.02% TBHQ : TBHQ 0.02%

Sf : subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extracts
by SP-850 column chromatography

6) Sf의 대두유에 대한 항산화 효과

① 과산화물가의 변화

새송이버섯 Sf의 유지에 대한 항산화효과를 측정하기 위하여 Sf를 0.02%, 0.05%로 기질 유지인 대두유에 첨가하여 $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 24일간 항온 저장하면서 과산화물가로 측정한 산패도에 의한 항산화효과는 Table 18과 Fig.22와 같았으며 임의로 POV 100 meq/kg.oil에 도달하는 기간을 유도기간으로 정하여 control의 유도기간에 대한 각 시료 대두유의 유도기간으로 계산한 상대적 항산화효과(Relative antioxidant effectiveness, RAE)는 Table 19 에서 보는 바와 같았다.

Control은 초기 과산화물이 1.0 meq/kg.oil 이던 것이 저장 12일에 116.5 meq/kg.oil로 과산화물가 100 meq/kg.oil 이상이 되었으며 저장 24 일에는 418.4 meq/kg.oil에 도달하였다.

Sf 0.02% 및 0.05% 첨가군은 저장 12일에 각각 94.9, 104.8 meq/kg.oil였으며 α -tocopherol은 저장 12일 149.1 meq/kg.oil로 Sf 첨가군 보다 과산화물가가 높았다. BHT와 TBHQ는 저장 12일 58.2, 10.6 meq/kg.oil로 과산화물가가 매우 낮았으며 Sf 첨가군 보다 낮은 것으로 나타났다. POV 100 meq/kg.oil에 도달하는 기간을 유도기간으로 하면 control의 유도기간은 10.3일이었으며, α -tocopherol의 유도기간 8.5일을 제외하고는 모든 군의 유도기간은 control보다 길었으며 Sf 0.02% 및 0.05%는 각각 11.5일, 12.6일로 BHT와 유사한 유도기간을 나타내었다.

또한 control의 유도기간에 대한 각 시료의 유도기간으로 계산한 상대적 항산화효과 RAE는 control을 기준 100으로 나타낼 때 α -tocopherol은 82.5로 오히려 산화가 촉진된 것으로 나타났으며 BHT는 143.7, TBHQ는 801.9, Sf .02%는 122.3 및 Sf .05%는 111.6으로 BHT보다 약간 떨어지

나 상당한 상대적 항산화효과를 보였다.

이와 같이 POV와 IP 및 RAE에 의해 Sf 0.02%와 Sf 0.05% 첨가군의 과산화물가는 control과 α -tocopherol 첨가군 보다 낮았고 BHT와는 비슷하고 TBHQ 보다는 높아 새송이버섯의 Sf의 대두유에 대한 항산화 효과는 α -tocopherol 보다 우수하며 BHT보다는 약간 떨어지나 거의 유사하였으며 Sf의 첨가량의 경우는 0.02%와 0.05%사이에는 항산화효과가 거의 유사하여 오히려 0.02% 첨가 시 효과가 더 좋을 것으로 나타났다.

Table 18. Peroxide values of the soybean oil containing of various antioxidants stored at 60±2°C for 24 days

antioxidant (%)	Storage period(days)								
	0	3	6	9	12	15	18	21	24
Control	1.0	14.2	54.9	76.6	116.5	146.5	190.1	257.8	418.4
TOC(0.02)	1.0	13.6	50.2	105.7	149.1	194.5	243.6	346.8	657.7
BHT(0.02)	1.0	10.9	22.1	37.1	58.2	88.6	121.6	178.7	209.0
TBHQ(0.02)	1.0	7.5	8.8	10.9	10.6	11.1	12.9	16.0	17.0
Sf (0.02)	1.0	11.9	27.2	65.1	94.9	127.9	167.0	226.7	363.5
Sf (0.05)	1.0	12.6	33.3	72.9	104.8	132.1	178.7	231.6	322.4

TOC : α -tocopherol

Sf : subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extracts
by SP-850 column chromatography

Table 19. Induction period(IP) and relative antioxidant effectiveness (RAE) of the soybean oil containing of various antioxidants stored at 60±2°C for 24 days

Antioxidant	%	IP(days)	RAE
CON		10.3	100.0
α-TOC	0.02	8.5	82.5
BHT	0.02	14.8	143.7
TBHQ	0.02	82.6	801.9
Sf	0.02	12.6	122.3
Sf	0.05	11.5	111.6

CON : soybean oil without any antioxidants

TOC : α-tocopherol 0.02%

BHT : BHT 0.02%

TBHQ : TBHQ 0.02%

Sf : subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extracts
by SP-850 column chromatography

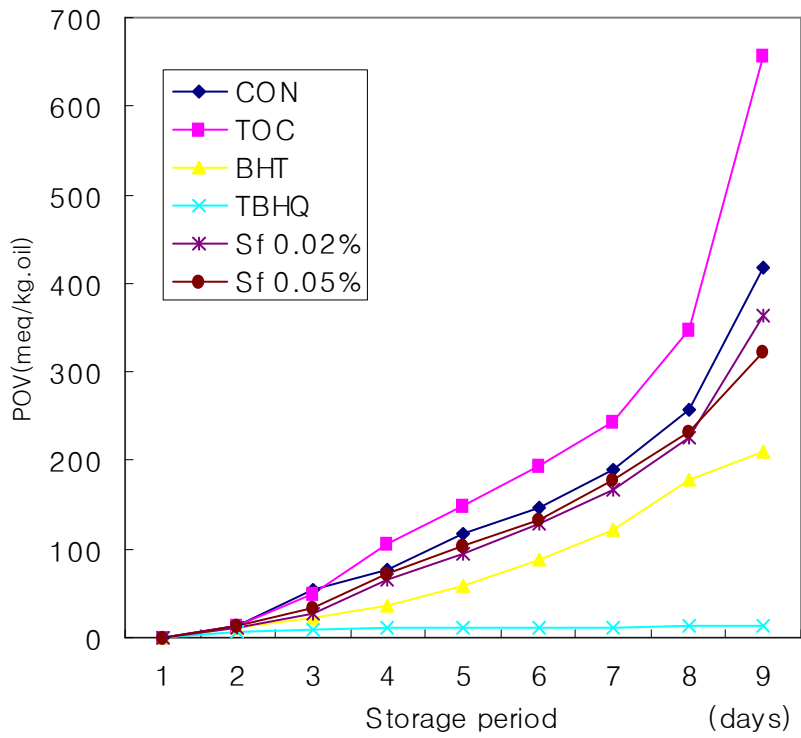


Fig.22. Changes of peroxide value of the soybean oils containing of various antioxidants stored at $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ for 24 days

TOC : α -tocopherol

Sf : subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extracts by SP-850 column chromatography

② 공액이중산가의 변화

새송이버섯 Sf의 유지에 대한 항산화효과를 측정하기 위하여 Sf 0.02%, 0.05%를 기질 유지인 대두유에 첨가하여 $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 24일간 항온저장하면서 측정한 공액이중산가에 의한 항산화효과는 Table 20과 Fig.23과 같았다.

Control은 초기 CDV가 0.32%였던 것이 저장 12일에는 1.67%, 저장 24일에는 3.60이였으며 α -tocopherol은 저장 12일에는 1.59%로 control 보다는 산화가 덜 진행되었으나 저장 24일에는 4.38%까지 상승하여 저장 말기에 산화가 더 빨리 진행되었음을 알 수 있었다. 반면 TBHQ는 저장 24일까지 0.37%로 매우 낮은 CDV를 보여 매우 우수한 항산화효과를 보여주었으며 BHT 또한 저장 24일에 2.63%로 control 보다 현저히 낮은 CDV를 보여주었다.

Sf 0.02% 및 0.05%를 첨가한 경우 CDV는 저장 9일에는 각각 0.86%, 0.74%였고 저장 24일에는 3.33%, 2.99%로 control, α -tocopherol보다 낮고 BHT보다는 다소 높으나 큰 차이는 아니었다. 여기에서도 새송이버섯 중 분리 정제된 Sf의 유지에 대한 항산화 효과는 우수한 것으로 확인되었다.

Table 20. Conjugated diene values of the soybean oil containing of various antioxidants stored at $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ for 24 days

antioxidants (%)	Storage period(days)								
	0	3	6	9	12	15	18	21	24
Control	0.32	0.34	0.50	0.94	1.67	1.80	2.23	2.72	3.60
TOC (0.02)	0.32	0.34	0.70	1.09	1.59	2.25	2.48	2.87	4.38
BHT (0.02)	0.32	0.33	0.40	0.58	0.78	1.53	1.46	1.91	2.63
TBHQ(0.02)	0.32	0.33	0.30	0.37	0.35	0.36	0.39	0.336	0.37
SA (0.02)	0.32	0.33	0.50	0.86	1.43	1.71	2.11	2.66	3.33
SA (0.05)	0.32	0.34	0.40	0.74	1.25	1.71	2.01	2.37	2.99

CON : soybean oil without any antioxidants

TOC : α -tocopherol

Sf : subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extract
by SP-850 column chromatography

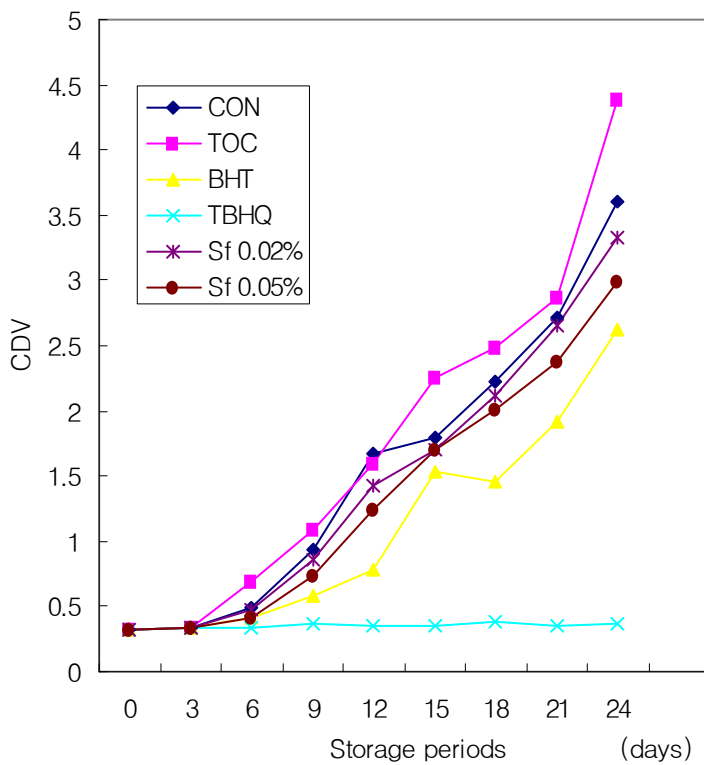


Fig. 23. Conjugated diene values of the soybean oil containing of various antioxidants stored at $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ for 24 days

TOC : α -tocopherol

Sf : subfraction of *Pleurotus eryngii* ethanol extract
by SP-850 column chromatography

7) Sf의 항균 효과

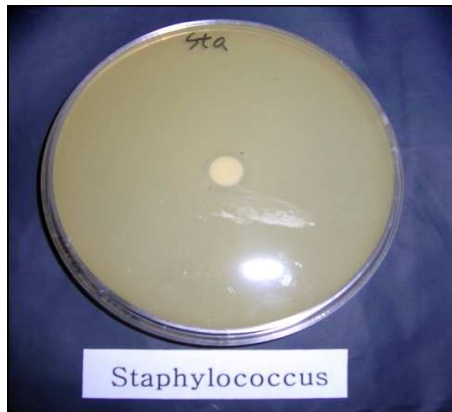
새송이버섯 Sf의 항균력을 측정한 결과는 Table 21, Fig. 24-25와 같았다. Sf를 0.1%로 희석하여 paper disc agar diffusion법으로 항균성을 측정하였는데 그램 양성균인 *Bacillus cereus*에서 Sf가 13mm이상의 clear zone을 형성하여 가장 높은 항균력을 보여주었고 *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*에서는 11-12mm의 clear zone을 형성하여 그램 양성 균들에 대해 Sf의 높은 항균력이 확인되었다. 또한 그램 음성균에서는 *Salmonella typhimurium*에서 12mm, *Escherichia coli*와 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해서는 13mm의 clear zone을 형성하여 강한 항균력을 보여주었다.

Sepabeads SP-850 column으로 정제되기 전의 새송이버섯 EtEx의 항균력 측정에서는 6종의 균 모두에서 항균효과가 미비하였으나 분리 정제된 Sf는 6종 균 모두에서 강한 항균활성을 보여주었는데 이는 새송이버섯 EtEx 내에는 함유되어 있던 새송이버섯의 자실체등이 항균효과 보다는 균의 생육을 도와주는 영양성분으로 이용되었을 것으로 생각된다. 따라서 Sepabeads SP-850 column을 통해 분리 정제한 후의 Sf는 이런 영양성분들이 모두 제거된 후의 정제 물질로서 뛰어난 항균효과를 나타내었다. 이로써 Sf는 항균효과를 지닌 보존제로서의 효용성이 있을 것으로 사료된다.

Table 21. Antimicrobial activities of Sf from *Pleurotus eryngii* ethanol extract on several microorganisms

microorganisms	Sf inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	++
<i>Bacillus cereus</i>	+++
<i>Listeria monocytogenes</i>	++
<i>Salmonella typhimurium</i>	++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+++
<i>Escherichia coli</i>	+++

- : no inhibition (- 8mm) + : slight inhibition (8-9mm)
 ++ : moderate inhibition (10-11mm) +++ : heavy inhibition (12mm -)



Staphylococcus aureus



Bacillus cereus



Listeria monocytogenes

Fig.24. Antimicrobial activities of Sf from *Pleurotus eryngii* ethanol extract on Gram positive microorganisms



Salmonella typhimurium



Pseudomonas aeruginosa



Escherichia coli

Fig.25. Antimicrobial activities of Sf from *Pleurotus eryngii* ethanol extract on Gram negative microorganisms

V. 결 론

큰느타리과의 새송이버섯의 이화학적 특징과 새송이버섯 80%에탄올 추출물을 다시 클로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물을 이용하여 순차적으로 분획 추출하여 그 수율과 각 추출물 들의 항산화효과 및 항균효과를 확인하였다. 또 에탄올 추출물을 Sepabeads SP-850, Sephadex LH-20 column chromatography를 이용하여 활성성분을 분리하였고, 분리된 활성성분을 이용해 총 폴리페놀함량, DPPH소거능, 전자공여능, 아질산염 소거능 및 SOD활성저해 등을 통해 항산화효과를 확인하였으며 paper disc법으로 항균효과도 확인하였다. 또한 그 활성 성분을 HPLC, Mass spectrometer를 이용하여 분리 동정하였으며 그 물질들의 분자량을 조사하였다.

이상의 연구에서 얻은 결과는 다음과 같았다.

1. 새송이버섯의 이화학적 특성

1) 새송이버섯의 전체, 기둥, 갓 부위별 일반성분 중 수분은 부위별 모두 75%-80%였고 당질은 전체, 갓 부위는 16%정도였지만 기둥은 그보다 조금 높은 19.42%였다. 또한 조지방은 모두 1% 미만으로 낮았으며 조단백질 함량은 갓이 4.92%로 기둥 2.74%에 비해 거의 2배 정도 높게 나타났다. 조회분은 기둥 부위가 0.86%로 다른 부위에 비해 높았다. 동결건조한 새송이버섯 분말의 수분함량은 9.0%였고 당질이 63.06%로 가장 높았으며 조단백질 20.70%, 조회분 5.20% 및 조지방 2.0%의 순이었다. 새송이버섯은 높은 당질 중 식이섬유질이 많은 부분을 차지하고 있어 저열량, 고식이섬유질 식품이다.

2) 새송이버섯 분말의 무기질은 Ca, Cu, Fe, Mn, Mg, Na, K, Zn 등 8종의 무기질이 확인되었다. 모든 부위에서 K의 함량이 가장 높았으며 그다음으로는 모든 부위에서 Mg(700.00mg/kg)의 함량이 높았다. 반면 기둥 부위에서는 Mn이 무기질 중 가장 낮은 함량을 보였다.

3) 새송이버섯 분말에서 총당 함량은 30410.0mg%로 매우 높았으며 이를 %함량으로 환산하면 30.41%로 이는 단백질, 조지방 등의 일반성분과 비교하여 매우 높은 함량이었다. 또 환원당은 873.5mg%를 나타냈으며 유리당 중 fructose의 함량이 1671mg%으로 가장 높았으며 maltose 함량이 가장 낮았다.

2. 새송이버섯 추출물의 기능성

1) 새송이버섯 분말을 에탄올로 추출하였고 이를 다시 용매의 극성도에 따라 순차적으로 분획 추출하였는데 에탄올 추출물(EtEx)의 수율은 전체 30.8%, 갓 23.3%, 기둥 15.6%이었다. 에탄올 추출물을 순차적으로 물로 추출한 것(WaEx)의 수율이 다른 용매 재추출물들 중에서 가장 높았고 WaEx의 수율은 전체 18.2%, 기둥 19.4%, 갓 16.3%로 기둥에서 가장 높았다. 이로 인해 새송이버섯 용매 추출물의 수율은 EtEx와 WaEx가 가장 높은 것을 알 수 있었다.

2) 새송이버섯 추출물들의 총 폴리페놀함량은 EtEx의 경우 전체 387mg%, 기둥158mg%, 갓 593mg%로 갓 추출물에 가장 많았다. 새송이버섯 전체의 부탄올 추출물(BuEx)과 WaEx의 폴리페놀 함량이 594mg%와 404mg%로 클로로포름 추출물(ChEx)과 에틸아세테이트 추출물(EAEx) 보다 월등히 높았다. 갓 부위에서도 BuEx에서 폴리페놀 함량이 가장 많았으며 기둥 부위는 EAEx, BuEx 순으로 폴리페놀 함량이 높아 부위별로 폴리페놀함량에 차이를 보였다.

3) 새송이버섯 추출물의 전자공여능은 EtEx에서 갓, 전체, 기둥 추출물이 91.12%, 79.68%, 62.90%의 순이었으며 이는 총 폴리페놀 함량과 같은 경향을 보여주었다. Tocopherol과 BHT의 경우 각각 93.92%, 96.72%인데 비하여 갓의 EtEx와 WaEx에서도 91.12%와 90.39%로 나타나 항산화효과를 확인할 수 있었다.

4) 새송이버섯 추출물별 항균력을 측정한 결과 갓의 WaEx와 BuEx를 제외한 모든 추출물들이 그램 양성균에서 대부분 항균활성을 나타내지 못하였

으며 그램 음성 균에서는 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 전체의 BuEx와 갖의 EAEx, WaEx, 기둥의 EAEx에서 항균활성을 보여주었다. 특히 *Escherichia coli*에 대하여는 전체, 갖, 기둥 부위의 EAEx, WaEx 모두 항균활성이 있었다. 새송이버섯의 추출물들은 그램 양성균보다 그램 음성균에서 높은 항균활성을 보여주었으며 여러 분획 추출물들 중 EAEx와 WaEx에서 높은 항균효과가 확인되었다.

3. 분리 정제된 새송이버섯 추출물(Sf)의 기능성

1) 새송이버섯 분말의 에탄올 추출물을 HPLC로 분석한 결과 210nm에서는 retention time 6.25, 9.11, 13.95, 31.65 및 48.58에서, 220nm에서는 5.54, 9.25, 24.43, 46.51 및 59.32에서 peak가 나타났다. 이상의 5개 retention time 대별로 Sf-1, Sf-2, Sf-3, Sf-4, Sf-5로 분획하여 mass spectrometer로 분자량을 측정한 결과 Sf-1에서는 분자량 314.1인 물질이, Sf-2에서는 144.3, 161.1, 295.0 및 550.9인 물질이 나타났다. 또한 Sf-3에서는 분자량 298.1, Sf-4에서는 1022.2, Sf-5에서는 844.6, 1014.1 및 1015.0으로 비교적 큰 분자량의 물질들이므로 나타났다.

2) Sepabeads로 분리 정제된 Sf를 분자량별로 분리한 결과 No 23, 44 및 59에서 흡광도가 높은 3개의 peak가 나왔다. 이를 각각 Sf-A, Sf-B, Sf-C로 명명하였고 mass spectrometer로 분자량을 측정한 결과 Sf-A에서는 분자량 520.2인 물질이 주를 이루었고 Sf-B에서는 160.9 및 Sf-C에서는 268.0과 325.1인 물질들이 주를 이루었다. 이상의 결과는 SP-850 column chromatography 로 분리 정제한 Sf-1 ~ Sf-5 물질의 분자량이 Sf-1은 314.1, Sf-2는 161.1, Sf-3는 298.1인 것과 유사했다.

3) Sf의 총 폴리페놀 함량은 507mg%로 전체의 EtEx의 총 폴리페놀 함량 387mg%인 것에 비하여 높았으며 전체 BuEx의 594mg%보다 적었으나 다른 추출물의 것 보다는 높았다. 이와 같이 Sf의 총 폴리페놀 함량이 EtEx보다 높은 것은 Sf가 EtEx에서 분리정제 되었기 때문인 것으로 판단된다.

4) Sf를 토코페롤과 BHT와 같은 농도인 0.02%, 그리고 0.05%, 0.1%로 농도를 달리하여 전자공여능을 측정한 결과 0.02%에서는 57.78%, 0.05%

에서는 64.20% 및 0.1%에서는 77.33%의 활성을 보였다. 이것은 같은 0.02%에서는 α -tocopherol과 BHT가 각각 93.92%, 96.72%로 Sf의 EDA가 크게 떨어지나 0.1%인 경우에는 16-20% 정도 떨어졌다. 또한 SOD-liked를 측정된 결과 0.02%에서는 α -tocopherol, BHT가 각각 91.30%와 87.26%로 높은 반면 Sf는 0.02%, 0.05%에서는 40.00% 이하였으며 Sf 0.1%에서는 40.5%였다. 그러나 활나물, 들깨박 추출물들의 SOD-liked를 측정된 결과가 30% 내외인 것과 비교하면 Sf의 SOD-liked가 우수한 것이라고 할 수 있었다.

5) Sf의 아질산염 소거능은 0.02%에서 56.25%, 0.05%에서는 70.00%이었으며 0.1%에서는 72.5%를 보여주어 Sf의 농도가 0.05%까지는 농도가 높아질수록 아질산염 소거능도 상승하나 0.05%에서 0.1% 사이에서는 큰 차이를 보이지 않았다.

6) Sf의 linoleic acid에 대한 항산화 효과는 0.02%와 0.05%인 때의 TBA가 모두 control보다 낮아 linoleic acid의 자동산화를 억제시키는 것으로 나타났으며 특히 저장 24시간에서는 control의 TBA가 0.823인데 반하여 Sf 0.02%는 0.475, 0.05%는 0.465로 1/2정도로 낮게 나타나 산화 억제 효과가 큰 것으로 나타났다. 그러나 Sf 0.02%와 0.05% 첨가 농도 차이에 따른 항산화효과의 크기에는 큰 차이가 없었다.

이와 같은 Sf의 항산화효과는 저장 24시간에서 α -tocopherol의 0.502보다는 낮았고 BHT의 0.423과는 유사한 TBA를 보여 α -tocopherol보다는 크고 BHT와는 거의 유사한 항산화효과를 보였다.

7) Sf를 대두유에 0.02%, 0.05% 첨가하여 $60\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 24일간 항온저장하면서 과산화물가(POV)와 공액이중산가(CDV)를 측정하였다. POV에 의한

항산화효과는 TBHQ > BHT > Sf 0.05% > Sf 0.02% > α -tocopherol의 순이었다. 이때 control의 유도기간은 10.3일이었으며 α -tocopherol이 8.5일, Sf 0.02%와 0.05%는 각각 11.5일과 12.6일, BHT 14.8일 이었다. 또한 상대적 항산화효과(RAE)는 Sf 0.02%와 0.05%에서 각각 122.3, 111.6 이었다.

CDV는 Sf 0.02%와 0.05%인 경우 초기 0.32%였던 것이 저장 9일에는 0.86%, 0.74%였고 저장 24일에는 3.33%, 2.99%으로 이는 control, α -tocopherol보다 낮고 BHT와는 유사한 것으로 나타났다.

따라서 새송이버섯 EtEx에서 정제 분리된 Sf는 대두유에 대한 항산화 효과 정도는 BHT 보다 약간 떨어지나 거의 유사한 항산화 효과를 보여주어 새송이버섯의 Sf를 천연 항산화 물질로 사용하는 것이 가능하다고 생각 된다.

8) Sf를 0.1%로 희석하여 항균력을 측정한 결과 그램 양성균인 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* 중 *Bacillus cereus*에 대해 높은 항균 효과를 보여주었으며 *Staphylococcus aureus*와 *Listeria monocytogenes*에 대해서도 중간 정도의 항균 효과를 확인하였다. 또한 그램 음성균인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* 및 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해서 모두 중간 정도의 항균 효과를 보였고 그 중 *Escherichia coli*와 *Pseudomonas aeruginosa*에서는 13mm의 clear zone을 형성하여 강한 항균력을 보여주었다. 이상의 결과로 Sf는 그램 양성, 음성균 모두에서 강한 항균효과가 있는 것을 알 수 있었다.

본 연구결과 새송이버섯의 전체, 갓, 기둥 중 갓추출물의 항산화 및 항균효과가 다른 부위보다 우수하였으며, 용매추출물의 경우 에탄올 추출물이 가장 높은

수율과 항산화효과를 나타내었다. 또한 새송이버섯 EtEx에서 분리 정제된 Sf는 유지에 대한 항산화효과는 α -tocopherol 보다 높고 BHT와 거의 유사하며 아질산염 소거능 및 항균효과가 뛰어나며 그러한 효과를 나타내는 물질들의 분자량은 520.2, 160.9, 325.1 인 것임을 알 수 있었다.

References

1. Ma, SJ. : Effects of the substances from Dried Mushroom by Several Organic Solvents on the Stability of Fat. J. Food Sci., 15, 150-154, 1983
2. Chung SY, Kim SH, Kim HS, Kang JS, Cheong HS, Kim GJ and KIM HJ : Effects Water Soluble Extract of Ganoderma lucidum, Kale Juice and Sodium Dextrothyroxine on Hormone and Lipid metabolism in Hypercholesterolemic Rats 1. Concentrations of Triiodothyronine, Thyroxine, Blood sugar and Lipid Composition in Serum. J. Korean soc. Food Sci. Nutr., 19, 381-386, 1990
3. Lee KA : effect of isolated soy protein on sponge cake quality. Korean J Soc Food sci 13: 299-303, 1997
4. Kim MH, Kim JO, Shin MS. : Effects of resistant starches on the characteristics of sponge cakes. J Korean Soc Food sci Nutr 30: 623-629, 2001
5. Kwhak SH, Moon SW, Jang MS. : Effect of pine needle powder on the sensory and mechanical characteristics of steam cake. Korean J Soc Food Cookery Sci. 18:399-406,2002
6. Chun SS. : Development of Funtional sponge cskes with onion powder. J Korean Soc Food sci Nutr 32: 62-66. 2003
7. 이영자 : 녹차, 오롱차 및 홍차의 용매별 추출물의 항산화와 항돌연변이 효과에 관한 연구, 성신여자대학교, 박사학위논문, 1998

8. 원종숙 : 솔잎 추출물의 기능성과 솔잎 향미유 제조에 관한 연구, 성신여자대학교, 박사학위논문, 1999
9. 김현정 : Herb류의 용매별 추출물의 항산화 및 항균효과에 관한 연구. 성신여자대학교 석사학위논문. 1999
10. 이기영 : 탈지들깨박에서 분리한 페놀화합물의 항산화효과, 한국식품과학회지, 25(1), 9-14, 1993
11. 김정숙, 이기동, 권중호, 윤형식 : Methyl Linoleate에 대한 Phenol성 물질의 항산화성과 산화생성물, 한국식품과학회지, 25(4), 379-385, 1993
12. MS. Al Saikhan, LR. Howard, JC. Miller, JR : Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato, J. of Food Science, 60(2), 341-343, 1995
13. 강윤한, 박용곤, 이기동 : 페놀성 화합물의 아질산염 소거 및 전자공여 작용, 한국식품과학회지 28(2), 232-239, 1996
14. Riemenschneider, RW, Chapt. 8 : Oxidative rancidity and antioxidants in " handbook of food and agricultur", edited by Blank C.F., Reinhold publishing Corp., New York., 1955
15. Ahn MS. Effects of reaction temperature, time and persence of orgarnic acids or their salts on the antioxidants activity of caramelization mixture, Ph. D. thesis, Korea University, 1984
16. 이주원, 신호선 : 볶은 원두커피 갈색추출물의 항산화효과, 한국식품과학회지, 25(3), 220-224, 1993
17. 신경아, 고영수, 이영철 : 볶음 시간에 따른 들기름 메탄올 추출물의 항산화효과와 특성, 한국식품과학회지, 30(5), 1045-1050

18. B.J.F. Hudson : Food Antioxidants, Elsevier science publishers LTD, 1-15, 1990
19. 조미자, 함태식, 권태봉, 오성기 : 허브의 기능성과 화학성분, 충청대학 자연과학 17, 127-137, 2000
20. Block, G. and langseth, L. : Antioxidant vitamins and disease prevention. Food technol. 48: 80-91, 1994
21. Fukuzawa, K. and takaishi, Y. : Antioxidants. J. Act. Oxy. Free Rad. 1: 55-70, 1990
22. Hatano, T. : Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species-Tannins and related polyphenols-natural Med. 49 : 357-363, 1995
23. Masaki, H., sasaki, S., Atsumi, T. and Sakurai, H. active oxygen scavenging activity of plants extracts. bull. pharm. 18 : 162-166, 1995
24. Fox, J.B. and J.S. Thomson : Formation of bovine nitrosylmyoglobine. I. pH 4.5~6.5. biochem., 2, 465, 1963
25. Macdougall, D.B., D.S. Mottran and D.N. Rhodes : Cotribution of nitrite to the colour and flavor of cured meats. J. Sci. Fd. Agric., 26, 1743, 1975
26. Peter, F.S. : The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. J. Sci. Food Agric., 26, 1761, 1975
27. Crosby, N.T. and sawyer, R. : N-nitrosamines : Areview of chemical and biological properites and their estimation in foodstuffs. Adv. Food Res., 21, 1, 1976

28. Clark AM, FS. EI-Feraly, and WS. Li. : Antimicrobial activity of phenolic constituents of *Magnolia grandiflora* L., J. Pharmaceutical Sciences 70, 951-952, 1981
29. 신금 : 목본식물로부터 추출된 향균물질의 구조 및 특성, 박사학위논문, 산림자원학과, 고려대학교, 1998
30. 서화중 : 마늘, 양파, 고추즙의 향균작용, 한국식품영양과학회지, 28(1), 94-99, 1999
31. 이신호, 임용숙 : 오미자의 병원성 미생물에 대한 향균효과, 한국식품영양과학회지, 27(2), 239-243, 1998
32. 전영옥, 김건희, 김순임, 한영실, 질경이 추출물의 향균성 검색, 한국조리과학회지, 14(5), 498-502, 1998
33. 강성구, 성낙계, 김용두, 신수철, 서재신, 최갑성, 박석규 : 갓 추출물의 향균활성 검색, 한국영양식량학회지, 23(6), 1008-1013, 1994
34. 서기림, 김도엽, 양성일 : 고추냉이 추출물의 향균효과에 관한 연구, 한국영양학회지, 28(11), 1073-1077, 1995
35. 신동화, 김문숙, 한지숙 : 국내산 약용식물 추출물에 대한 향균성 검색과 농도별 및 분획별 향균특성, Korean J. Food sci. technol., 29(4)808-816, 1997
36. 남상해, 양민석 : 한국 추출물의 향균력, 한국농화학회지, 38(3), 269-272, 1995
37. Thayer DW, Boyd G, Kim A, Fox JB and Farrell HM : fate of gamma-irradiated *Listeria monocytogenes* during refrigerated storage on raw or cooked turkey breast meat, J. Food prot., 61, 979-987, 1998

38. 芝崎勳 : 抗菌性天然添加物開發의 現狀 및 使用上의 問題點, 新食産業, 25, 25-28, 1983
39. 장대식, 박기훈, 이종록, 하태정, 박윤배, 남상해, 양민석 : 지칭개, 구절초 및 산국에서 분리한 Sesquiterpene lactone의 항균활성, 한국농화학회, 42(2), 176-179, 1999
40. 성기욱 : 은행 나뭇잎 추출물의 일부 시중독균에 대한 항균효과, 성신여자대학교, 석사학위논문, 2005
41. Board, RG. : The microbiology of Hen's egg. In Advances in Applied Microbiology, Vol.II, Perlman, D. (ed.), AP, Neww York 1969
42. Orman, JD and Reiter, B. : Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. Biochem. Biophys. Acta, 170, 351, 1968
43. Ashton, DH and Busta, FF : Milk components inhibitory to Bacillus stearothermophilus by iron, calcium, and magnesium. Appl. Microbiol., 16, 628, 1968
44. Freese, E, Sheu, CW and Gallier, SE : Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. Nature, 241-321, 1973
45. Fabian, FW and Graham, HT : Viability of thermophilic bacteria in the presence of varying concentrations of acias, sodium chloride and sugars. Food Techola., 7, 212, 1953
46. Yamamoto, Y, Hiashi, K and Yoshi, H : Inhibitory activity of acetic acid on yeast. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 31, 772 1984

47. Cox, NA, Mercuri, AJ, Juven, BJ, Thomson, JE and Chew, V.
: Evaluation of succinic and heat to improve the microbiological
quality of poultry meat, J. Food Sci., 39, 985, 1974
48. Neiman, C. : Influence of trace amounts of fatty acids on the
growth of microorganism. Bacteriol. Rev., 18, 147, 1954
49. Kabara, JJ, Swieczkowski, DM, Conley, AJ and Trauant, JP :
Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. Antimicrob.
Agents Chemother. 2, 23, 1972
50. Kabara, JJ : Medium chain fatty acids and esters.A.L. Baranen
and Davison, P.M.(ed.), Marcel Dekker Inc., New York, 109,
1983
51. Conner, DE. and Beuchat, LR. : Effect of essential oils from
plants on growth of food spoilage yeast. J. Food Sci., 49, 429,
1984
52. 정변선, 이병구, 심선택, 이정근 : 썩씨 중의 정유성분이 미생물의 생육
에 미치는 영향. 한국식문화회지, 4, 417, 1989
53. 이준우 : 상항버섯의 생리활성, 식품산업과 영양, 2001
54. 이기동, 장학길, 김현구 : 버섯류의 항산화성 및 아질산염 소거작용, J.
Food Sci. Technol, 29(3), 432-436, 1997
55. 정동옥 : 영지의 항산화성 물질에 관한 연구, 한국식품과학회지, 24,
497,1992
56. 마상조 : 건조표고버섯의 각종 용매 추출물의 항산화작용의 효과, 한국
식품과학회지, 15, 150, 1983

57. 송재환, 이현숙, 황진국, 한정환, 노정근, 금동혁, 박기문 : 능이버섯 추출물의 생리활성, J. Food Sci. 23(2), 172-179, 2003
58. Pamela M, Loreta G, Stefania M, Vittorio V, Laura P. Nutrients in edible mushroom: an inter-species comparative study. Food chemistry 65: 477-482. 1999
59. Pamela M, Stefania M, Altero A, Laura P. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. Food Chemistry 84: 201-206. 2004
60. Wang H, Ng TB. Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*. Peptides 25: 1-5. 2004
61. Kang TS, Kang MS, Sung JM, Kang AS, Shon HR, Lee SY. Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rats. Kor. J. mycol. 29: 86-90. 2001
62. Hwang YJ, Nam HK, Chang MJ, NOH GW, Kim SH. Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. Food Sci. Nutr. 32: 217-222. 2003
63. Kang TS, Jeong HS, Lee MY, Park HJ, Jho TS, Ji ST, Shin MK. Mycelial growth using the natural product and angiotensin converting enzyme inhibition activity of *Pleurotus eryngii*. Kor J. Mycol. 31: 175-180. 2003
64. Hui YF, Den ES, Chi TH. antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. J. Food Lipids. 9: 35-46. 2002

65. Kim JY, Moon KD, Lee SD, Cho SH, Kang HI, Yee ST, Seo KI. Physicochemical properties of *Pleurotus eryngii*. *Food Preservation*. 11(3): 347-351. 2004
66. Jeong CH, Shim KW. Quality characteristics of sponge cakes with addition of *Pleurotus eryngii* mushroom powders. *Food Sci Nutr*. 33(4): 716-722. 2004
67. 김동훈 : 식용유지의 산패, 고려대학교 출판부, 312-398, 1994
68. Namiki, M. : Antioxidants in Food, *Food Science and Nutrition*, 29, 273-300, 1990
69. 안승요, 조영 : 식품학, 한국방송대학교 출판부, 44-45, 1997
70. Takahashi, O. and Hiraga, K. : Dose-response study of hemorrhagic death by dietary butylated hydroxytoluene in rats, *Toxicol. App. pharmacol.*, 43, 399-406, 1978
71. Gilbert, D. and Golberg, L. : Liver response tests III. liver enlargement and stimulation of microsomal processing enzyme activity, *Food Cosmet. Toxicol.*, 3, 417-432, 1965
72. Omaye, ST, Reddy, KA. and Cross, CE. : Effect of butylated hydroxytoluene and other antioxidants on mouse lung metabolism, *J. Toxicol. Environ. Health*, 3, 829-836, 1977
73. 조희숙 : 자소자잎 추출물의 항산화효과 및 항균효과에 관한 연구, 성신여자대학교, 박사학위논문, 2001
74. 이양순, 방아잎 추출물의 항산화효과와 Flavonoid Acacetin의 분리 및 동정에 관한 연구, 성신여자대학교, 박사학위논문, 2000

75. 김미원 : 뽕잎 추출물의 유지에 대한 항산화효과와 항산화 성분의 분리 동정에 관한 연구, 성신여자대학교, 박사학위논문, 2002
76. Magee, PN. and IM. Rarnes. : The production of malignant primary hepatic tumorus in the rat by feeding dimethylnitrosamine. Br.J.cancer, 10, 114, 1956
77. Kato, H, Lee, IE, chuyen, NV, kim, SB. and Hayase, F. : Inhibitory of nitrosaminesof formation by nondialyzable melanoidins. Agric. biol. Chem., 51, 1333, 1987
78. 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
79. 이정민 : 차성분의 아질산염 소거능에 대한 연구, 성신여자대학교, 석사 학위논문, 1997
80. Ismaiel, A and Pierson, MD. : ingibition of growth & Germination of C.botulinium 33A, 40B and 1623E by essential oil of Spices, J.Food Sci, 55, 6, 1990
81. Beuchat, LR. and Golden, DA. : Antimicrobials occurring naturally in foods., Rood Technol., 43, 143, 1989
82. Lee, KH., T.Ibuka, RY. Wu, and TA. Geissman.: Structure antimicrobial activity relationships among the sesquiterpene lactons and related compounds, phytochemistry, 16, 1177-1181, 1977

83. Mitscher, LA, YH. Park, and D. Clark : Antimicrobial agents from higher plants, antimicrobial isoflavonoids and related substances from *Glycyrrhiza glabra* L. var *Typica*, *J. Nat. Prod.* 43, 259-269, 1980
84. Lee BW, Lee MS, Park KM, Kim CH, Ahn PU, Choi CU. Anticancer activities of extract from the mycelia of *coriolus versicolor*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 20: 311-315. 1992
85. 민경희, 김치결, 조민기 : 대학미생물학, 탐구당, 40, 1990
86. Wiliam, CG. : *Understanding Microbes*, W.H.Freeman Co, 354, 1989
87. Hong KH, Kim BY, Kim HK. Analysis of nutritional components in *pleurtus ferulea*. *Food Sci.* 36: 563-567. 2004
88. 최석현. 아가리쿠스 버섯에서 생리활성 물질의 추출 및 정제. 석사학위 논문. 서강대학교. 2000
89. Lee JW, Bang KW. Biological activity of *Phellinus* spp. *Food Industry and Nutrition.* 6: 25-33. 2001
90. Lee, SY and Rhee, HM : Cardiovascular effects of mycelium extract of *Ganoderma lucidum* : inhibition of sympathetic outflow as a mechanism of its hypotensive action. *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 1359-1363, 1990
91. Murasugi A, Tanaka S, Komiyama N, Iwata N, Kino K, Tsunoo H and Sakuma S : Molecular cloning of a cDNA and a gene encoding an immunomodulatory protein, ling Zhi-8, from a fungus, *Ganoderma lucidum*, *J.Biol. Chem.*, 266, 2486-2489,

1982

92. 송재환, 이현숙, 황진국, 정태영, 홍성렬, 박기문 : 찹레 영지버섯 추출물의 생리활성, J. Food Sci. Technol, 35(4), 690-695, 2003
93. 박무현, 오국용, 이병우 : 표고버섯과 느타리 버섯의 항암효과, J. Food Sci. Technol, 30(3), 702-708, 1998
94. 박상신, 이갑득, 민태진 : 버섯중 항균물질의 검색 및 개발에 관한 연구, Korea J. Mycol, 23(1), 28-36, 1995.
95. Kim HJ, lee BH, Kim OM, Lee KD and Lee KR : Screening for antimutagenic effects of the wild mushrooms in Korea, J. Food Sci. Technol, 30, 688-692, 1998
96. Park Mj, Cho KJ, Kim JB, Kim YS, Seok SJ, Kim SY and Hwang YS. : Inhibition of topoisomerase-mediated DNA cleavage by *Lycoperdon perlatum*. J. Food Sci. Technol, 29, 1057-1062, 1997
97. Yang HJ, Lee JS and Chung KS. : Studies on the hemolytic activities of Korean wild mushroom, J. Mycol, 30, 119-123, 2002
98. Hilber O. Valid, invalid and confusing taxa of the enus *Pleurotus*. Mushroom SCI. 12:241-248. 1989
99. Boekhout, T. *Pleurotus*. Flora Agaricina Neelandica. 2: 20-24. 1990
100. Dermar A. *Pleurotus eryngii*(DC. ex Fr) Quel. in Slovakia. Ceske Mykologie. 28: 57-59. 1974
101. Zadrazil, F. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae*, and *Pleurotus erngii*. Mushroom science IX, 621-655

102. Rajarathnam, S. and Z. Bano. Pleurotus mushroom. part 1 A. morphology, Lifecycle, Taxonomy, Breeding and Cultivation. CRC critical in Food science & Nutrition. 26: 157-222
103. 강미선 : 큰느타리버섯의 인공재배 및 생리활성에 관한 연구, 강원대학교, 석사학위논문, 1999
104. Eger G. Biology and breeding of Pleurotus, in The Biology and Cultivation of edible Mushroom. Academic Press, New York, 78-92. 1978
105. Chang ST, Buswell JA and Chiu SW : Mushroom biology and mushroom product, 3-17, The Chinese University Press, Hong Kong, 1993
106. Schneeman BO. : Soluble Vs insoluble fiber-different physiological responses, Food Technol, 41, 81-82, 1987
107. Pamela M, Loreta G, Stefania M, Vittorio V, Laura P. Nutrients in edible mushroom: an inter-species comparative study. Food chemistry 65, 477-482. 1999
108. Pamela M, Stefania M, Altero A, Laura P. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. Food Chemistry 84: 201-206. 2004
109. Lee DJ : Studies on characteristics of isolates, bioactivity and artificial cultivation of Pleurotus eryngii Quel. Phd dissertation, Dankook University, 2002
110. Kang MS : Studies on the artificial cultivation and physiological activity of Pleurotus eryngii. MS Thesis. Kangwon Natl

University, 1999

111. 김재용, 강혜인, 박경옥, 문광덕, 이상대, 조숙현, 위재준, 경중수, 송용범, 서권일 : 큰느타리버섯 조당체 분획의 항산화 및 항종양활성, J Korean Soc Food Sci Nutr, 33(10), 1589-1593, 2004
112. 강태수, 강미선, 성재모, 강안석, 손형락, 이신영 : 큰느타리버섯이 당뇨쥐의 혈당 및 혈중콜레스테롤레 미치는 영향, J mycol, 29(2), 86-90, 2001
113. 정창호, 심기환 : 새송이버섯 분말을 첨가한 스펀지 케이크의 품질 특성, J Korean Soc Food Sci Nutr, 33(4), 716-711, 2004
114. Charles R. Caldwell, Oxygen Radical Absorbance Capacity of the Phenolic Compounds in Plant Extracts Fractionated by High-Performance Liquid Chromatograph, Analytical Biochemistry, 293: 232-238, 2001
115. Ahn MS, Won JS, Kim HJ, Han MN. A study on the antioxidative and antimicrobial activities of the Chopi solvents extracts. Korean J. Food Culture, 19(2), 170-176, 2004
116. A.O.A.C. : Official methods of analysis, 15th ed., Assosiation of official analytical chemists Society, Washington, D.C., 994, 1990
117. Henry, R.J. and Saini, H.S. Characterization of cereal sugars and oligosaccharides. Cereal Chem. 66: 362 (1989)
118. Henry, R.J. and Saini, H.S. : Characterization of cereal sugars and oligosaccharides. Cereal Chem. 66: 362 (1989)
119. B. SV, J. SV, J.J. MA and D. BG : High Performance liquid Chromatography of the Neutral Penolic Compounds of Low

- Molecular Weight in Apple Juice, *J. agric. Food Chem*, 42, 2732-2736, 1994
120. Choi YH, Kim MJ, Lee HS, Yun BS, Hu C, Kwak SS. antioxidative compounds in aerial parts of *potentilla fragarioides*. *Korean J. pharmacogn.* 29, 79-85, 1998
 121. Williams BW. Cuvelier ME and Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant. *Lebensm-Wiss-u-Technol.* 28:25-30. 1995
 122. Beaucham, C and Fridovich, I. : Superoxide dismutase : Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, *Anal. Biochem*, 44, 276-287, 1971
 123. Kato H. Lee IE. Chuyen NV. Kim SB and Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.* 51:1333-1338. 1987
 124. Mitsuda H, Yasumoto K and Iwami K. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi* 49: 210-217 (1996)
 125. A.O.C.S. : Official and tentative methods, 3th ed. American oil chemists Society Illinois, 1978
 126. Ahn MS, Kim HJ. A study on the antioxidative and antimicrobial activities of the Applemint solvents extracts. *Sungshin women's university J. Living Culture Research*, 15, 33-51, 2001
 127. A. W. Bauer, M.D., W.M.M.Kirby, M.D., J.C. Sherris, M.D., and M.Turck, M.D. : Antibiotic susceptibility testing by a

- standardized single disk method, *The American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496, 1965
128. PM. Davidson and ME. Parish : Methods for Testing the Efficacy of Food Antimicrobials, *Food Technology*, 1, 148-155 1989
129. 홍기형, 김병용, 김혜경 : 아위버섯 영양성분 분석, *J. Food Sci. technol*, 36(4), 563-567, 2004
130. 김재용, 문광덕, 이상대, 조숙현, 강혜인, 이성태, 서권일 : 큰느타리버섯의 이화학적 특성, *J. food Preservation*, 11(3), 347-351, 2004
131. 임수빈, 김미옥, 구성자 : 식용버섯중 식이 섬유소의 함량 측정, *J. Soc. Food Sci*, 7(3), 69-76, 1991
132. 辻啓介 : 食物 纖維의 健康, *日本 家政學會誌*, 38(4), 339-342, 1987
133. Kim HK, Choi YJ, Kim KH. Functional activities of microwave - assisted extracts from *Flammulina velutipes*. *Food Sci. Technol.* 34:1013 - 1017 , 2002
134. Song JH, Lee HS, Hwang JK, Chung TY, Hong SR, park KM. Physiological activities of *Phellinus ribis* extracts. *Food Sci. technol.* 35:690-695. 2003
135. 이주철 : 탈지들깨박 추출물의 항산화효과, 호서대학교, 석사학위논문, 2004
136. 정은재 : 석이버섯 용매 추출물의 항산화 및 아질산염 소거작용, *Korean J. Food & Nutr*, 11(4), 426-430, 1998

137. Lee, GD., Chang, HG., and Kim, HM. : Antioxidative and nitrite
-scavenging activities of edible mushrooms, Korean J. Food Sci.
Technol, 29, 432, 1997

ABSTRACT

A study on the detection of functionality, clasification and identification of the extracts from *Pleurotus eryngii*

Kim, Hyun Jung

Department of Food & Nutrition

Graduate School of

Sungshin women's university

In this study, the proximate properties, detection of functionality and classification and identification were researched on the extract of *Pleurotus eryngii*. Some major functions of the *Pleurotus eryngii* extracts such as their antioxidative effects, nitrite scavenging ability, and antimicrobial activity of the *Pleurotus eryngii* extracts were researched. Also the amounts of proximate components, minerals, free sugar, total sugar, reducing sugar, total dietary fiber and calorie of *Pleurotus eryngii* were investigated.

The *Pleurotus eryngii* extracts were prepared from ethanol extraction of freeze dried *Pleurotus eryngii* powder. The solvents used redistilled were as follows ; water(Wa), ethanol(EtOH),

chloroform(CHCl₃), ethyl acetate(EtAc), and butanol(BuOH). Their antioxidant effects on the soybean oil were measured by EDA(electron donating ability) and total polyphenol amounts of each solvent extract. And also the antimicrobial activity of each extract was evaluated by testing the paper disc agar diffusion method.

In order to find out the functional component, ethanol extract (EtEx) was fractionated upon flowtime and purified by Sepabeads SP-850, Sephadex LH-20 column chromatography and high performance liquid chromatography(HPLC). The molecular weight of functional component among three fractionations were determined by use of high performance liquid chromatography(HPLC) and mass spectrometer (MS).

The antioxidant effects of the functionality substance fraction(Sf) were measured by total polyphenol amounts, EDA(electron donating ability), SOD-like activities, and Nitrite scavenging effects. And then the antioxidative effects of various concentrations(0.02, 0.05%) of the Sf(subfraction of *Pleurotus eryngii*) on soybean oil used as substrate were determined by measuring the peroxide value (POV) and conjugated dienic value (CDV) of the substrates stored at 60±2°C for 24 days.

And in order to compare antioxidative of *Pleurotus eryngii* extract induction period (IP) based on 100 mg/kg.oil of POV and relative antioxidant effectiveness (RAE) were determined for soybean oil with or without extracts and other antioxidants. RAE was calculated as

the percent ratio of IP of a sample oils to the IP of the control.

And then the antimicrobial activity of the Sf fraction were evaluated by testing the paper disc agar diffusion method. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Pseudomonas aeruginosa* were used as microorganism.

The results were obtained as follows ;

1. The proximate composition of *Pleurotus eryngii*.

1) The amount of water in 3 parts(whole body, stipe, and pileus) of the fresh *P. eryngii* was 75~80%. But in the *P. eryngii* powder moisture was contained 9.0% and carbohydrate, crude protein, crude ash and crude fat were contained 63.06%, 20.70%, 5.20%, and 2.0% respectively.

2) Potassium(K) was the highest amount, while manganese(Mn) was the lowest amount among minerals detected. And also the amounts of free sugar were high in order as follows.

: fructose > galactose > glucose > lactose > maltose

2. The functionality of *Pleurotus eryngii* extracts by various solvents

1) The *Pleurotus eryngii* freeze dried powder (*P. eryngii* powder) was extracted firstly, the name of that extract was used as EtEx. The amounts of EtEx in whole body, pileus, and stipe) were obtained as same as 30.8, 23.3, and 15.6% respectively. And then the second extraction was carried on the EtEx using by various solvents like as chloroform, ethyl acetate, butanol, and water. Each re-extract name were ChEx, EAEx, BuEx, and WaEx respectively. The yield ratio of WaEx was the highest among re-extracts and WaEx was shown higher level in stipe(19.4%) than whole body(18.2%), pileus(16.3%).

2) The amounts of polyphenol in EtEx were measure as 387mg% in whole body, 158mg% in stipe, and 593mg% in pileus. Comparing the amounts polyphenol upon the part of *P. eryngii* powder, BuEx (594mg%) and WaEx(404mg%) were high level in whole body, BuEx was the highest in pileus, and EAEx, BuEx were higher than other extracts in stipe. It could be found that some differences of polyphenol amounts were existed upon parts of *P. eryngii* and kind of solvents.

3) The electron donating ability(EDA) of EtEx were the highest as 91.12% in whole body but the lowest as 62.90% in stipe of *P.*

eryngii powder. Also EDA of WaEx was shown to 90.39% in whole body, these EDA values are similar to those of tocopherol(93.93%) and BHT(96.72%), so it could be expected that these extracts would be acted as a antioxidants.

4) Some of extracts were certified to have antimicrobial activities for a few micro organisms , specially for gram negative micro organism. In other words, BuEx, EAEx in pileus and WaEx in stipe had inhibited the growth of *Pseudomonas aeruginosa*(gram negative). Also EAEx and WaEx in all parts were shown to be acted as a antimicrobial agents for *Escherichia coli*(gram negative).

3. The functionalities of isolated and identified fractions from EtEx of *P. eryngii* powder.

1) In order to find out the functional substances(Sf) existed in EtEx, EtEx were purified by Sepabeads SP-850 column chromatography, and then fractionated into Sf-1, 2, 3, 4, 5 upon retention time by HPLC. And their molecular weight were measured by mass spectrometer. The molecular weight were certified one or two substances in each Sf. There were detected Mw 314.1 in Sf-1, 144.3, 161.1, 295.0, 550.9 in Sf-2, 298.1 in Sf-3, 1022.2 in Sf-4, and 844.6, 1014.1, 1015.1 in Sf-5.

2) Also three peaks were presented in Sf which were classified and purified with Sepabeads, the name of each peak was called Sf-A, B, C respectively. The molecular weight of main substances in Sf-A were determined as 520.2, 160.9 in Sf-B, and 268.0, 325.1 in Sf-C by mass spectrometer. These results were similar to results determined by Sepabeads column chromatography.

3) The amounts of polyphenol was measured as 507mg% in Sf, which was higher than that in EtEx and was lower than that in re-extract, BuEx, but was higher than that in other re-extracts.

4) The EDA of soybean oil added with 0.02-0.1% Sf was measured as level of 57.7-77.3%, so its EDA was lower than those of α -tocopherol(93.93%) and BHT(96.72%). Also the SOD-like Sf was almost under half value of those of α -tocopherol and BHT. And the nitrite scavenging effects of Sf were determined as the level of 56.25-72.5%. At that time the fact was known that the effects were more increased, the adding concentrations were higher until 0.1%. So generally like these properties were known to be lowered after classifying and purifying process.

5) The TBA values of linoleic acid with 0.02-0.05% of Sf were lower(0.475-0.465) than those of control(0.823), α -tocopherol (0.502), so Sf could be certified to have antioxidative effects were

sustained until 24 hours, also degree of the antioxidative effects were almost same to that of BHT, and were higher than that of α -tocopherol for linoleic acid.

6) When the antioxidative effects of Sf added as level of 0.02-0.05% and other artificial antioxidants 0.02% in soybean oil were determined by POV, the antioxidative effects were obtained as follows ; TBHQ > BHT > Sf 0.05% > Sf 0.02% > α -tocopherol. At that time, the induction periods were shown to 10.3 days in control, 8.5 days in α -tocopherol, 11.5 days in Sf 0.02%, 12.6 days in Sf 0.05%, and 14.8 days in BHT. In case of CDV, it was shown that had similar tendencies to POV. Therefore it was thought that Sf could be expected to use as a natural antioxidants in future.

7) And also it was found out that moderate antimicrobial activities of Sf were identified in gram positive micro organisms such as *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* that was different result from various solvents extracts before classifying and purifying. While strong antimicrobial activities were certified in gram negative micro organisms such as *E. coli* and *P. aeruginosa*.

Following above results, it will be summarized that the pileus of *P. eryngii* had have the highest antioxidative effect and antimicrobial activity comparing with whole body and stipe. And ethanol extract

and re-extracts from ethanol extracts of *P. eryngii* were shown to have antioxidative and antimicrobial activity. Also isolated and purified extract from ethanol extract had high antioxidative and antimicrobial activity, these effects were almost same to or a little lower than that of BHT and higher than that of α -tocopherol. In addition to those effects, they had excellent nitrite scavenging ability. Like these effective main compounds existed in *P. eryngii* were certified that as molecular weights were detected as 520.2, 160.9, and 325.1.

It would be proposed that *P. eryngii* is main food material of various dishes and can become a new natural source for antioxidative and antimicrobial agents in future food industry. Also it has merit to cultivate mass production in narrow space and in short time, so it could be used large amounts anytime when it was needed. Therefore it will be expected that *P. eryngii* will be contributed more widely in life science.