

pH 조건에 따른 영지버섯(*Ganoderma lucidum*)의 물 및 에탄올 추출물의 β -Glucan 함량과 항산화능

김주영¹ · 이상한¹ · 정신교^{1,2}

¹경북대학교 식품공학부

²경북대학교 식품생물산업연구소

β -Glucan Contents and Antioxidant Capacities of Water and Ethanol Extracts from *Ganoderma lucidum* Depending on pH Value

Joo-Young Kim¹, Sang-Han Lee¹, and Shin-Kyo Chung^{1,2}

¹School of Food Science and Biotechnology and ²Food and Bio-industry Research Institute, Kyungpook National University

ABSTRACT Fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* cultivated in Korea were reflux extracted at 90°C using water and ethanol under different pH conditions. β -Glucan contents, extraction yield, and antioxidant capacities of extracts were investigated. Antioxidant activities of water and ethanol extracts were measured by DPPH radical scavenging test and the FRAP method, along with their total phenolic contents and total flavonoid contents. Extraction time for the experiment was determined to be 6 h, and β -glucan contents were the highest. Overall, β -glucan contents of extracts increased with higher pH values, except those of 90% ethanol extracts ($P<0.05$). The yields and β -glucan contents of ethanol extracts were lower than those of water extracts, and highest in water extract at pH 10 (8.53±0.17%, 6.20±0.12 g/100 g, respectively). Ethanol extracts of fruiting bodies of *G. lucidum* showed stronger antioxidant capacities than water extracts ($P<0.05$). Especially, total phenolic contents of 30% ethanol extract at pH 10 was highest (35.06 GAE mg/g). Total phenolic contents of water and ethanol extracts showed good correlations with DPPH radical scavenging activities ($r=0.969$).

Key words: *Ganoderma lucidum*, water extraction, β -glucan, polyphenol, antioxidant capacities

서 론

우리나라에는 약 1,150종의 버섯이 자생하고 있으며, 300여 종만이 식용 및 약용으로 사용되고 있다. 그중에서도 영지버섯(*Ganoderma lucidum*)은 담자균강과 자낭균강에 일부 속하는 고등균류이며, 풍미가 뛰어나고 다당류와 비타민 및 무기질을 다량 함유하고 있으며(1,2), 우리나라와 일본에서는 15속 80종, 중국에서는 53종이 보고되어 있다(3). 또한, 영지버섯에는 polysaccharide, triterpene, polyphenol, nucleoside, steroid 등 다양한 생리활성 물질이 존재하고 있다(4). 고분자 물질인 polysaccharide, 즉 β -glucan은 혈압 강하, 정혈, 고지혈증 개선, 혈당 강하, 면역 등의 활성을 지니고 있으며, triterpene, polyphenol과 같은 저분자 물질의 경우 항염증, 항알레르기, 항산화, 항고혈압 등의 효과가 보고되어 있다(5).

특히 β -glucan은 비특이적 면역 반응으로 암세포를 직접 공격하지 않고 정상 세포의 면역 기능을 활성화시켜 암세포의 증식을 저해하는 효과를 지니고 있으며, interleukin(IL)-12, IL-1, tumor necrosis factor- α (TNF- α) 및 nitric oxide 생성 증가로 Th1 면역반응을 유도한다는 효과 또한 보고된 바 있다(6-10). 또한, 2형 당뇨병 환자의 혈당 감소 효과도 확인된 바 있으며, 이러한 활성은 $\beta(1\rightarrow3)$ 주 결합에 $\beta(1\rightarrow6)$ 결합의 결가지를 갖는 β -glucan에 의한 것으로 구조적 특성에 따라 효능이 다양하다(11,12). 버섯 이외에 곡류의 세포벽 내에 β -glucan이 존재하며, 이 중 보리의 β -glucan의 경우 추출 온도가 높을수록(13), 추출 용매가 산성이나 알칼리성일수록 추출량이 증가(14,15)하며 이외에도 에탄올 침전, 투석, 원심분리 등에 의해 용해성의 차이가 나타난다(16,17). 또한, 꽃송이버섯 내의 수용성 β -glucan을 추출용매의 pH에 따라 추출하였을 때, pH 10에서 30시간 동안 추출 후 정제하였을 때 β -glucan 함량이 70.22%에 달하였다(18). Hwang 등(19)은 효모 접종을 이용한 영지버섯 추출액의 다당체 함량과 항염증 및 항암 활성 측정, Kim 등(20)은 원적외선 처리에 따른 영지버섯의 항산화 활성 측

Received 21 September 2016; Accepted 4 January 2017

Corresponding author: Shin-Kyo Chung, School of Food Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

E-mail: kchung@knu.ac.kr, Phone: +82-53-950-5778

정, Chung과 Youn(21)은 가압 및 추출 시간에 따른 추출액 품질특성 변화를 보고한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 국내산 영지버섯으로부터 β -glucan 소재 개발을 위하여 pH 조건을 다르게 하여 열수 및 에탄올 추출을 실시하고, β -glucan 함량과 항산화능을 조사하였으므로 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

실험 재료는 재배산 영지버섯(유학영지버섯농장, 경북 칠곡군)을 구매하여 시료로 사용하였다. Gallic acid, Trolox, rutin, α, α -diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), ferric chloride, sodium acetate, ferric chloride, potassium ferricyanide, 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine(TPTZ), citric acid, sodium hydroxide는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였고, ethanol 등의 추출용 용매는 분석용 1급 시약(Duksan Co., Seoul, Korea)을 사용하였다.

추출방법 및 조건

영지버섯 분말(>25 mesh)에 1 g당 증류수 20 mL를 가하여 3, 6, 12, 24시간 동안 90°C에서 환류 추출을 실시하였으며, 추출시간을 설정 후 물 및 에탄올 30, 60, 90%를 pH 4, 7, 10으로 조정하여 90°C에서 환류 추출을 실시하였다. pH는 0.1 M citric acid와 0.1 N sodium hydroxide를 이용하여 조절하였다.

추출수율 측정

추출물의 수율은 항량을 구한 수기에서 추출액 5 mL를 105°C로 증발 건조시켜 그 무게를 측정하여 백분율로 나타내었다(22).

β -Glucan 함량 측정

β -Glucan 함량은 Mushroom and Yeast β -glucan assay kit(Megazyme, Wicklow, Ireland)을 사용하여 측정하였다(6). 20 mg의 crude β -glucan에 37% hydrogen chloride 1.5 mL를 첨가한 후 45분간 30°C water bath에서 교반한다. 이후 증류수 10 mL를 가하고 100°C에서 2시간 동안 반응시킨다. 반응액을 식힌 후 2 N potassium hydroxide 10 mL를 가하고 200 mM sodium acetate buffer(pH 5.0)로 100 mL로 정량 후 여과지(Whatman GF/A glass fibre filter paper, Whatman, Maidstone, UK)로 여과한다. 여과액 0.1 mL에 $\text{exo-1,3-}\beta$ -glucanase(20 U/mL) + β -glucosidase(4 U/mL) 0.1 mL를 가한 후 40°C에서 1시간 동안 반응시키고, GOPOD(glucose oxidase/peroxidase) 3 mL를 가해 40°C에서 20분간 반응시킨 후 510 nm에서 흡광도를 측정하여 total glucan 함량을 계산하였

다. 20 mg의 crude β -glucan에 KOH 2 mL를 가하고 ice bath에서 20분 동안 교반한다. 반응액에 1.2 M sodium acetate buffer(pH 3.8) 8 mL, amyloglucosidase(1,630 U/mL) + invertase(500 U/mL) 0.2 mL를 가한 후 40°C에서 30분간 반응시킨다. 이 반응액을 1,500×g로 10분간 원심분리 후 상등액 0.1 mL와 200 mM sodium acetate buffer(pH 5.0) 0.1 mL, GOPOD 3 mL를 40°C에서 20분간 반응시킨 다음 510 nm에서 흡광도를 측정하여 α -glucan 함량을 계산하였다. β -Glucan 함량은 total glucan에서 α -glucan을 빼주어 계산하였다.

항산화 활성 및 항산화 성분 측정

항산화 활성은 α, α -diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거 활성과 ferric ion reducing antioxidant power(FRAP)법으로 측정하였다. DPPH 라디칼 소거 활성 측정은 단일 화합물이나 식물 또는 식품 추출물 시료의 항산화 활성을 측정하기 위하여 자주 사용된다(23). DPPH 라디칼 소거 활성(24)은 96 well plate에 시료 20 μ L와 200 μ M DPPH 용액 180 μ L를 혼합한 후 30분간 암실에서 방치하고 microplate reader(Emax precision, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 490 nm에서 측정하였으며, gallic acid 검량선의 회귀식에서 gallic acid equivalent mM(GAE mM)로 환산하여 나타내었다. FRAP법은 Fe(III)-TPTZ(2,4,6-tripyridyls-triazine)가 항산화 물질에 의해 Fe(II)-TPTZ로 환원되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법이며(25), Khanizadeh 등(26)의 방법을 변용하여 실험에 이용하였다. 시료 25 μ L에 cocktail solution(acetate buffer : TPTZ : ferric chloride solution = 10:1:1) 175 μ L를 가하여 암실에서 30분간 방치한 후 650 nm에서 흡광도를 측정했으며, Trolox의 검량선의 회귀식에서 Trolox equivalent μ M(TE mM)로 환산하여 나타내었다.

항산화 성분은 총폴리페놀 화합물 함량(total phenolic contents, TPC)과 총플라보노이드 화합물 함량(total flavonoid contents, TFC)을 측정하였다. 총폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Ciocalteu 방법(27)을 이용하여 측정하였다. 시료 100 μ L에 2 N Folin-Ciocalteu reagent 50 μ L와 20% sodium carbonate 300 μ L를 가하고 15분간 방치한 후 증류수 1 mL를 넣는다. 반응액을 원심분리 하여 상등액을 725 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질 gallic acid 검량선의 회귀식에서 gallic acid equivalent(GAE mg/g)로 환산하여 나타내었다. 총플라보노이드 함량의 경우 Zhishen 등(28)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉 시료 70 μ L에 50% ethanol 430 μ L와 5% sodium nitrite 50 μ L를 가하여 20분간 방치하고, 이후 10% aluminum nitrate nonahydrate 50 μ L를 가해 6분간 방치 후 1 N sodium hydroxide 500 μ L를 넣고 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질 rutin 검량선의 회귀식에서 rutin equivalent(RE mg/g)

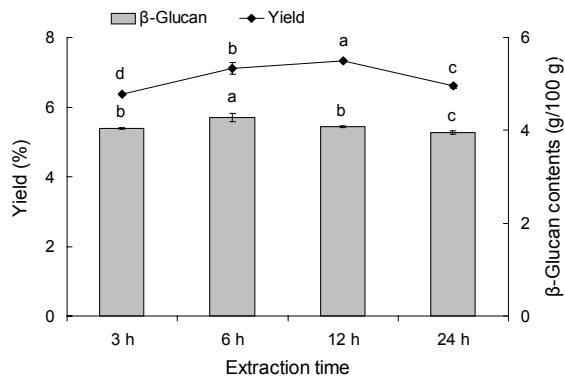


Fig. 1. Extraction yields and β -glucan contents of *Ganoderma lucidum* depending on the extraction time. Line, extraction yield; Bar, β -glucan contents. Values represent the mean \pm SD (n=3). Means with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

로 환산하여 나타내었다.

통계 처리

모든 실험은 3회 반복하였으며 SAS(statistical analysis system, version 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)에 의하여 유의차를 검정하였다(Duncan's multiple range test, $P < 0.05$).

결과 및 고찰

추출수율 및 β -glucan 함량

추출시간에 따른 영지버섯의 수율과 β -glucan의 함량은 Fig. 1과 같다. 추출시간이 증가함에 따라 수율이 점차 증가하여 3시간에서 6.37%, 6시간에서 7.11%, 12시간에서 7.33%로 가장 높은 추출수율을 보였으며, 이후 24시간에서는 수율이 6.60%로 다시 감소하는 경향을 보였다. β -Glucan 함량은 3시간에서 4.04 g/100 g, 6시간에서 4.27 g/100 g으로 최대를 보였으며, 이후 12시간과 24시간에서는 4.08 g/100 g, 3.05 g/100 g으로 다소 함량이 감소하였다 ($P < 0.05$). 추출시간에 따른 수율과 β -glucan 함량을 통해 추출시간이 6시간이 적합하다고 판단하여 추출시간을 6시간으로 설정 후 추출용매를 달리하여 실험을 진행하였다.

영지버섯의 추출용매에 따른 수율은 Table 1과 같다. 추출수율은 5.52~8.53%의 범위를 보였으며, pH 10에서 물 추출물은 8.53%로 가장 높은 수율을 보였다. pH에 따른 추출수율의 경우 90% 에탄올 추출물을 제외하고는 pH 10에서 가장 높은 것을 알 수 있었다. 한편, Sood 등(29)의 연구에서 영지버섯 균사체에서 온도 및 시간을 달리하여 다당체를 추출하였을 때 추출수율이 2.54~6.24%로 본 연구 결과와 유사하였다. 영지버섯의 추출용매에 따른 β -glucan 함량은 Table 2에 나타냈다. 물 추출물의 경우 pH가 증가할수록 β -glucan의 함량이 유의적으로 증가하였으며 ($P < 0.05$), pH 10에서 가장 높았다(6.20 ± 0.12 g/100 g). 물 추출물과 비교하여 에탄올 추출물들은 β -glucan 함량이 낮았으며,

Table 1. Extraction yields of *Ganoderma lucidum* depending on the extraction solvents (%)

Extraction solvents	pH		
	4	7	10
Water	7.45 \pm 0.08 ^{BB}	7.11 \pm 0.17 ^{CB}	8.53 \pm 0.17 ^{AA}
Ethanol (%)	30	7.53 \pm 0.32 ^{AB}	6.84 \pm 0.04 ^{BB}
	60	8.38 \pm 0.23 ^{AA}	8.04 \pm 0.23 ^{AA}
	90	6.47 \pm 0.15 ^{AC}	5.52 \pm 0.11 ^{BC}
			8.43 \pm 0.30 ^{AA}
			5.29 \pm 0.14 ^{BC}

Means followed by the different letters within the row (a-c) and the column (A-C) are significantly different ($P < 0.05$).

Table 2. β -Glucan contents of *Ganoderma lucidum* depending on the extraction solvents (g/100 g)

Extraction solvents	pH		
	4	7	10
Water	3.39 \pm 0.04 ^{CA}	4.26 \pm 0.10 ^{BA}	6.20 \pm 0.12 ^{AA}
Ethanol (%)	30	1.56 \pm 0.07 ^{BC}	2.18 \pm 0.01 ^{AB}
	60	1.87 \pm 0.05 ^{AB}	1.57 \pm 0.05 ^{BC}
	90	1.31 \pm 0.03 ^{AD}	1.17 \pm 0.02 ^{BD}
			1.63 \pm 0.00 ^{BC}
			1.91 \pm 0.07 ^{AB}
			1.08 \pm 0.03 ^{CD}

Means followed by the different letters within the row (a-c) and the column (A-D) are significantly different ($P < 0.05$).

에탄올 농도 및 pH에 따라 함량 차이가 그다지 크지 않았다 ($P < 0.05$).

항산화 활성 및 항산화 성분

영지버섯의 추출조건별 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거 활성법 및 방법으로 측정하였으며, 결과는 Table 3, 4에 나타냈다. 전반적으로 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성이 물 추출물보다 높았으며, pH 조건은 활성에 별로 영향을 주지 않았다. 에탄올 농도가 60%일 때 0.52~0.53 GAE mM로 가장 높은 활성을 보였으며, 90%일 때는 오히려 활성이 낮아졌다($P < 0.05$).

FRAP 활성도 DPPH 라디칼 소거 활성과 유사한 경향이 있었다. 물 추출물이 에탄올 추출물보다 낮았으며, pH 조건은 활성에 큰 영향을 미치지 않았다. 에탄올 농도 60%, pH 4 추출물의 활성이 1.60 \pm 0.01 TE mM로 가장 높았다($P < 0.05$). 이는 영지버섯의 저분자 폴리페놀 화합물이 물 추출보다 에탄올 용매 조건에서 더 많이 추출되어 항산화 작용을 한 것으로 생각한다. 영지버섯 자실체의 추출 용매별 전자공

Table 3. DPPH radical scavenging activities of *Ganoderma lucidum* depending on the extraction solvents (GAE mM)

Extraction solvents	pH		
	4	7	10
Water	0.09 \pm 0.01 ^{BC}	0.11 \pm 0.01 ^{AD}	0.10 \pm 0.00 ^{ABD}
Ethanol (%)	30	0.53 \pm 0.00 ^{BA}	0.24 \pm 0.00 ^{CC}
	60	0.53 \pm 0.01 ^{AA}	0.53 \pm 0.01 ^{AA}
	90	0.43 \pm 0.00 ^{AB}	0.41 \pm 0.02 ^{BB}
			0.54 \pm 0.01 ^{AA}
			0.52 \pm 0.00 ^{BB}
			0.37 \pm 0.00 ^{CC}

Means followed by the different letters within the row (a-c) and the column (A-D) are significantly different ($P < 0.05$).

Table 4. Ferric ion reducing antioxidant power of *Ganoderma lucidum* depending on the extraction solvents (TE mM)

Extraction solvents	pH		
	4	7	10
Water	0.80±0.05 ^{AD}	0.46±0.01 ^{BD}	0.84±0.02 ^{AC}
Ethanol (%)	30	1.39±0.02 ^{BB}	1.20±0.02 ^{CB}
	60	1.60±0.01 ^{AA}	1.46±0.02 ^{BA}
	90	1.06±0.03 ^{AC}	0.99±0.00 ^{BC}

Means followed by the different letters within the row (a-c) and the column (A-D) are significantly different ($P<0.05$).

여능을 측정된 Jin(30)의 연구 결과 또한 마찬가지로 물 추출보다 에탄올 추출이 높은 전자공여능을 나타내어 항산화 활성이 더 우수한 것으로 판단된다(30). 또한, 상황버섯의 물 추출물과 에탄올 추출물의 항산화 활성을 비교하였을 때 에탄올 추출물의 활성이 높다고 한 보고도 있다(31,32).

영지버섯의 항산화 성분 함량은 총폴리페놀 화합물 함량과 총플라보노이드 화합물 함량을 측정하였으며, 결과는 Table 5, 6에 나타냈다. 총폴리페놀 화합물의 함량은 에탄올 추출물이 물 추출물보다 거의 2배 이상 높았으며, 이러한 결과는 pH 조건에 상관없이 같았다. 다만 에탄올 농도 30%, pH 7 추출물의 총폴리페놀 화합물의 함량이 다른 에탄올 추출물보다 낮았다($P<0.05$).

총플라보노이드 화합물 함량도 에탄올 추출물이 물 추출물보다 월등히 높은 값을 나타내었다. 90% 에탄올 추출물의 총플라보노이드 함량이 가장 높았으며(98.23~114.18 RE mg/g), 물 추출물과 90% 에탄올 추출물은 pH가 높아질수록 함량이 높아졌다($P<0.05$).

영지버섯 추출물의 항산화 활성과 항산화 성분 간의 상관 계수를 나타낸 결과는 Table 7과 같다. DPPH 라디칼 소거

Table 5. Total phenolic contents of *Ganoderma lucidum* depending on the extraction solvents (GAE mg/g)

Extraction solvents	pH		
	4	7	10
Water	14.87±1.03 ^{BC}	18.06±1.62 ^{AC}	12.46±0.58 ^{CD}
Ethanol (%)	30	34.82±0.69 ^{AA}	20.59±0.09 ^{BB}
	60	32.66±0.15 ^{AB}	32.08±0.63 ^{BA}
	90	31.55±0.24 ^{AB}	30.70±0.24 ^{BA}

Means followed by the different letters within the row (a-c) and the column (A-D) are significantly different ($P<0.05$).

Table 6. Total flavonoid contents of *Ganoderma lucidum* depending on the extraction solvents (RE mg/g)

Extraction solvents	pH		
	4	7	10
Water	3.95±0.39 ^{BD}	6.33±0.20 ^{AD}	6.57±0.78 ^{AD}
Ethanol (%)	30	76.36±0.84 ^{AB}	30.23±0.46 ^{BC}
	60	68.17±2.03 ^{BC}	73.58±0.54 ^{AB}
	90	98.23±1.95 ^{CA}	108.44±2.14 ^{BA}

Means followed by the different letters within the row (a-c) and the column (A-D) are significantly different ($P<0.05$).

Table 7. The correlation coefficients (r) between the antioxidant activities and the antioxidant contents of the *Ganoderma lucidum* extracts

Variables	TPC	TFC
DPPH	0.969*	0.780*
FRAP	0.718*	0.427

DPPH: DPPH radical scavenging activity, FRAP: ferric ion reducing antioxidant power, TPC: total phenolic contents, TFC: total flavonoid contents.

Significant at $P<0.0001$

활성은 총폴리페놀 화합물 함량, 총플라보노이드 화합물 함량과 높은 상관성을 보였으며($r=0.969$, $r=0.780$), FRAP 활성은 총폴리페놀 화합물 함량과 비교적 높은 상관성을 보였다($r=0.718$). 총폴리페놀 화합물과 총플라보노이드 화합물의 함량은 항산화 활성과 상관성이 크며(33-35) 본 연구 결과에서도 비교적 유사한 것으로 나타났다. 한편 약용버섯의 총폴리페놀 화합물과 총플라보노이드 화합물의 함량이 식용버섯보다 높다고 보고(35)된 바 있다. 또한, 선행 연구에서 보고(35,36)된 이들 화합물 함량도 본 연구 결과와 유사하였다.

요 약

국내산 영지버섯으로부터 β -glucan 소재 개발을 위하여 pH를 달리하여 물 및 에탄올로 90°C에서 환류 추출하여, β -glucan 함량과 항산화 활성 및 항산화 성분을 조사하였다. 물 추출물(pH 10)이 추출수율(8.53±0.17%)과 β -glucan 함량(6.20±0.12 g/100 g)이 가장 높았다($P<0.05$). 전반적으로 pH가 증가할수록 β -glucan 함량이 증가하였으며 에탄올 추출물은 물 추출물보다 추출수율과 β -glucan 함량이 낮았다. DPPH 라디칼 소거 활성과 FRAP 활성은 에탄올 추출물이 물 추출물보다 비교적 높았으며 pH 조건은 활성에 영향을 미치지 않았다($P<0.05$). 총폴리페놀 화합물 및 총플라보노이드 화합물의 함량도 pH 조건에 상관없이 물 추출물보다 에탄올 추출물이 높았다. 물 추출물 및 에탄올 추출물들의 항산화 활성과 항산화 성분 값들은 비교적 높은 상관성을 보였으며, DPPH 라디칼 소거 활성과 총폴리페놀 화합물 함량 간의 상관성이 가장 높았다($r=0.969$).

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 고부가가치 식품기술개발사업에 의해 이루어진 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Moradali MF, Mostafavi H, Ghods S, Hedjaroude GA. 2007. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int Immunopharmacol* 7:

- 701-724.
2. Choi SJ, Lee YS, Kim JK, Kim JK, Lim SS. 2010. Physiological activities of extract from edible mushrooms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1087-1096.
 3. Han MD. 1994. Antitumor activity of ganoderan extracted from the mycelium of *Ganoderma lucidum*. *PhD Dissertation*. Soonchunhyang University, Asan, Korea.
 4. Bae WC, Kim YS, Lee JW. 2005. Bioactive substances from *Ganoderma lucidum*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 33: 75-83.
 5. Shiao MS, Lee KR, Lin LJ, Wang CT. 1994. Natural products and biological activities of the Chinese medicinal fungus *Ganoderma lucidum*. In *Food Phytochemicals for Cancer Prevention II: Teas, Spices, and Herbs*. American Chemical Society, Washington, DC, USA. p 342-354.
 6. Cho JH, Lee JY, Lee MJ, Oh HN, Kang DH, Jhune CS. 2013. Comparative analysis of useful β -glucan and polyphenol in the fruiting bodies of *Ganoderma* spp.. *J Mushroom Sci Prod* 11: 164-170.
 7. Kohguchi M, Kunikata T, Watanabe H, Kudo N, Shibuya T, Ishihara T, Iwaki K, Ikeda M, Fukuda S, Kurimoto M. 2004. Immuno-potentiating effects of the antler-shaped fruiting body of *Ganoderma lucidum* (Rokkaku-Reishi). *Biosci Biotechnol Biochem* 68: 881-887.
 8. Kwon SH, Kim CN, Kim CY, Kwon ST, Park KM, Hwangbo S. 2003. Antitumor activities of protein-bound polysaccharide extracted from mycelia of mushroom. *Korean J Food Nutr* 16: 15-21.
 9. Zhang QH, Lin ZB. 1999. Effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides B on TNF- α and INF- γ production and their mRNA expression. *J Beijing Med Univ* 31: 179-183.
 10. Tang QJ, Zhang JS, Pan YJ, Reutter W, Fan H. 2004. Activation of mouse macrophages by the alkali-extracted polysaccharide from spore of *Ganoderma lucidum*. *Chin J Cell Mol Immunol* 20: 142-144.
 11. Zhang M, Cui SW, Cheung PCK, Wang Q. 2007. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends Food Sci Technol* 18: 4-19.
 12. Tada R, Harada T, Nagi-Miura N, Adachi Y, Nakajima M, Yadomae T, Ohno N. 2007. NMR characterization of the structure of a β -(1 \rightarrow 3)-D-glucan isolate from cultured fruit bodies of *Sparassis crispa*. *Carbohydr Res* 342: 2611-2618.
 13. Lee SH, Jang GY, Kim KJ, Lee MJ, Kim TJ, Lee J, Jeong HS. 2012. Effect of temperature, solvent concentration, and pH on the β -glucan extraction. *Korean J Food Nutr* 4: 871-877.
 14. Bhatti RS, MacGregor AW, Rosnagel BG. 1991. Total and acid-soluble β -glucan content on hullless barley and its relationship to acid-extract viscosity. *Cereal Chem* 68: 221-227.
 15. Bhatti RS. 1993. Extraction and enrichment of (1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4)- β -D-glucans from barley and oat brans. *Cereal Chem* 70: 73-77.
 16. Dawkins NL, Nnanna IA. 1993. Oat gum and β -glucan extraction from oat bran and rolled oats: Temperature and pH effects. *J Food Sci* 58: 562-566.
 17. Beer MU, Arrigoni E, Amado R. 1996. Extraction of oat gum from oat bran: Effects of process on yield, molecular weight distribution, viscosity and (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan content of the gum. *Cereal Chem* 73: 58-62.
 18. Kim SW, Kim ES, Kim YS. 1995. Studies on the polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum*. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 147-153.
 19. Hwang YY, Chong MS, Kim HJ, Lee KN. 2007. Studies on the polysaccharide of *Ganoderma lucidum* extract by microorganism fermentation. *Korean J Orient Physiol Pathol* 21: 1506-1512.
 20. Kim JH, Lee SC, Ju YC. 2007. Effect of far-infrared irradiation on the antioxidant activity of extracts from *Phellinus igniarius* and *Ganoderma lucidum*. *Korean J Food Sci Technol* 39: 386-389.
 21. Chung HS, Youn KS. 2005. Comparison of pretreatment methods for extraction of selected components from *Ganoderma lucidum*. *Korean J Food Preserv* 12: 130-134.
 22. MHW. 1997. *Korean food standard code*. Ministry of Health and Welfare, Seoul, Korea. p 507.
 23. Kim MJ, Park EJ. 2011. Feature analysis of different *in vitro* antioxidant capacity assays and their application to fruit and vegetable samples. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1053-1062.
 24. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 25. Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.
 26. Khanizadeh S, Tsao R, Rekika D, Yang R, Charles MT, Rupasinghe HPV. 2008. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *J Food Compos Anal* 21: 396-401.
 27. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* 49: 4619-4626.
 28. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
 29. Sood G, Sharma S, Kapoor S, Khanna PK. 2013. Optimization of extraction and characterization of polysaccharides from medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* using response surface methodology. *J Med Plants Res* 31: 2323-2329.
 30. Jin SW. 2015. Chemical compositions, biological activity and antiinflammatory effect of *Phellinus linteus* ethanol extracts. *PhD Dissertation*. Suncheon National University, Suncheon, Korea.
 31. Kwoen DJ, Youn SJ, Cho JG, Choi UK, Kang SC. 2006. Antioxidant activities and biological properties of *Phellinus linteus* extracts according to different extraction methods. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 91-96.
 32. Lee KH, Kwon HJ, Chun SS, Kim JH, Cho YJ, Cha WS. 2006. Biological activities of extracts from *Phellinus linteus*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 298-303.
 33. Proteggente AR, Pannala AS, Paganga G, Van Buren L, Wagner E, Wiseman S, Van De Put F, Dacombe C, Rice-Evans CA. 2002. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radic Res* 36: 217-233.
 34. Kim JY, Seung GU, Chung SK. 2014. Antioxidant and antimicrobial effects of solvent fractions from *Smilax china* L. leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 1614-1618.
 35. Qi Y, Zhao X, Lim YI, Park KY. 2013. Antioxidant and anticancer effects of edible and medicinal mushrooms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 655-662.
 36. Cilerdžić J, Vukojević J, Stajić M, Stanojković T, Glamočlija J. 2014. Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative and commercial substrate. *J Ethnopharmacol* 155: 312-319.