

## 송이버섯과 동충하초 균사체를 혼합 배양한 한방추출물의 발효에 의한 생리활성

이형범<sup>#</sup>, 김혜자<sup>1</sup>, 정명수<sup>1</sup>, 조화은, 최윤희, 임규상<sup>2</sup>, 이기남<sup>2\*</sup>

원광대학교 한의학전문대학원, 1: 원광대학교 한의과대학,  
2: 원광대학교 한의학전문대학원 · 한국전통의학연구소

### Physiological Activity of Extracts from Mixed Culture of Medical Herbs and Mycelia of *Tricholoma matsutake* and *Cordyceps militaris* by Fermentation

Hyoungbeom Lee<sup>#</sup>, Haeja Kim<sup>1</sup>, Myongsoo Chong<sup>1</sup>, Hwaeun Cho, Yunhee Choi,  
Kyusang Lim<sup>2</sup>, Kinam Lee<sup>2\*</sup>

Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University 1: College of Oriental Medicine, Wonkwang University 2: Professional Graduate School of Oriental Medicine · Research Center of Traditional Korean Medicine, Wonkwang University

#### ABSTRACT

**Objectives :** The purpose of this study was to investigate extracts from mixed culture of Oriental medicines and cereal medium and mycelia of *Tricholoma matsutake* and *Cordyceps militaris* by fermentation to develop new material for pharmaceutical products and medicinal food.

**Methods :** To evaluate physiological activities of OCM extracts, we examined antioxidant activity(total polyphenol contents, electronic donating ability, SOD-like activity),  $\beta$ -glucan contents, nitric oxide production and cytotoxicity by MTT assay.

**Results :** Total polyphenol contents of fermented OCM(UF) and non-fermented OCM(UM) extracts were more than 40% UM and UF of DPPH radical scavenging activity was 25.67%, 23.43% respectively. Total polyphenol content of non-fermented extract (UME) was 12.57%, while that of fermented extract(UFE) was 7.05%. SOD like activity showed UM 85.35%, UF 76.18%, UME 58.42%, UFE 72.21%. UME, and UFE 31.43%.  $\beta$ -glucan contents of UME and UFE were more than 40%. NO productions of UME, and UFE showed a LPS dose dependent tendency. Cytotoxicity on Raw 264.7 cell showed more than 90% viability. Inhibitory effect of UFE on HT1080 cell growth was higher than UME.

**Conclusions :** These results showed that extracts from mixed culture of mushroom mycelium and OCM have physiological activities which can be used in pharmaceutical products and medicinal food.

**Key words :** *Tricholoma matsutake*, *Cordyceps militaris*, fermentation, antioxidant activity, NO, cytotoxicity

\*교신저자 : 이기남, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의학전문대학원 제3의학과  
· Tel: 063-850-6836 · E-mail: kinam1@wku.ac.kr  
#제1저자 : 이형범, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의학전문대학원 제3의학과  
· Tel: 063-850-6836 · E-mail: hbl70@wku.ac.kr  
· 접수 : 2008년 1월 21일 · 수정 : 2008년 3월 12일 · 채택 : 2008년 3월 17일

## 서론

최근 자연식품 중에서 기능성 물질을 섭취하려는 요구의 증가와 함께 노화와 암, 당뇨 등의 성인병에 대한 대처방안으로 천연 항산화물질과 같은 생리활성 물질의 개발에 노력하고 있으며, 특히 질병의 치료 및 예방에 효과가 있는 천연물로서 버섯이 주목받고 있다. 그 중에서도 송이버섯(*Tricholoma matsutake*)은 한국, 일본, 중국 등지의 소나무 숲에서 발생하는 식용, 약용 버섯으로 맛과 향이 뛰어나 최고의 식용버섯으로 취급되어 왔으며 동충하초(*Cordyceps militaris*)는 주로 곤충에 침입하여 이를 기주로 자실체를 형성하거나 충체상의 포자과를 형성하는 버섯의 일종으로 중국에서 인체에 활력을 주는 불로장생의 묘약이라고 인식되어 왔다. 또한 이들의 항암활성 및 면역강화, 콜레스테롤 억제, 혈당강하효과, 혈액순환 증진 등의 다양한 생리활성이 보고되어 기능성 식품 및 의약품 소재로 크게 주목받고 있다<sup>1-3)</sup>. 그럼에도 불구하고 송이버섯은 인공재배가 어렵고 동충하초 역시 천연에서 얻어지는 진품의 경우 매우 희귀하여 그 원료의 확보가 어렵다는 문제를 안고 있으나 이들 균사체의 경우 대량배양이 가능하며 자실체보다 효능이 더 우수한 것으로 알려져 있다. 또한 최근 발효식품에 대한 관심이 높아짐에 따라 식품에서 뿐만 아니라 한약재와 같은 한방제제를 발효하여 그 유용성분의 약효 및 흡수를 증진과 기호성 개선에 활용하고자 하는 연구가 시도되고 있다.

이에 본 연구에서는 천연물을 이용한 혈당강하 신소재 개발을 위한 연구의 일환으로 당뇨치료에 유용한 성분이 있다고 알려진 10여 종의 한약재로 구성된 한방배지에 송이버섯 균사체의 유용성분인  $\beta$ -glucan과 동충하초의 유용성분인 cordycepin 핵산 물질을 동시에 함유시켜 약효의 상호보완작용을 통해 전체적인 효능을 상승시키기 위하여 혼합배양을 시도하였으며, 유산균과 효모를 이용하여 발효를 하였고 그 발효추출물의 특성을 파악하여 향후 발효를 이용한 기능성 신소재를 개발하기 위한 다각적 연구의 선행 연구 자료로 이용하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

송이버섯 균사체(*Tricholoma matsutake* mycelium)는 국립산림과학원에서 보관 중인 경북 울진산 균주를, 번데기 동충하초 균사체(*Cordyceps militaris* mycelium)는 전북농업기술센터의 균주를 분양받아 각각 계대 배양 후 사용하였고, 연구에 사용한 한약재와 곡물은 금강제약에서 구입하여 원광대학교 한방병원에서 검증 후 사용하였으며 발효에 사용한 유산균(*Lactobacillus plantarum* 3108)과 효모(*Saccharomyces cerevisiae* 7268)는 한국생명공학연구원에서 분양받아 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 한방복합배지의 구성은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of oriental medicine and cereal medium(OCM)

Material	Composition(%)
Hordeum vulgare var. hexastichon	15
Fagopyrum esculentum	15
Morus alba	14.5
Eucoemmaria ulmoides	13.3
Glycyrrhiza uralensis	7.5
Liriope platyphylla	8.8
Dioscorea batatas	8.8
Panax ginseng	6.3
Trichosanthes kirilowii	5.7
Beauveria bassiana	5.1

### 2. 배지제조 및 추출

한방배지(Oriental medicine and Cereal Medium ; OCM)는 재료를 정선하여 혼합한 후 1.2배의 증류수를 넣고 121°C에서 20분간 멸균, 냉각시킨 후 송이버섯균사체와 동충하초 균사체 현탁액을 각각 5%(v/v)씩 접종하여 24°C에서 7일간 통기성 암배양 하였다. 배양된 배지는 95°C에서 30분간 살균하여 유산균과 효모를 각각 0.5%씩 접종하여 24°C에서 36~48시간 발효(최종 pH 4.0)하여 추출에 사용하였다. 생리활성 측정을 위해 발효 배지와 비발효 배지에 각각 15배의 물을 가한 후 ultra sonic waves, micro waves, micro bubble 등 UMPM추출법을 이용하여 저온으로 추출한 시료를 감압농축, 동결 건조한 것과 이 추출물에 4배의 에탄올을 넣고 침전시켜 얻은 조다당체를 동결 건조한 것을 사용하였다. 각각의 추출방법은 Fig. 1에 정리하였다.

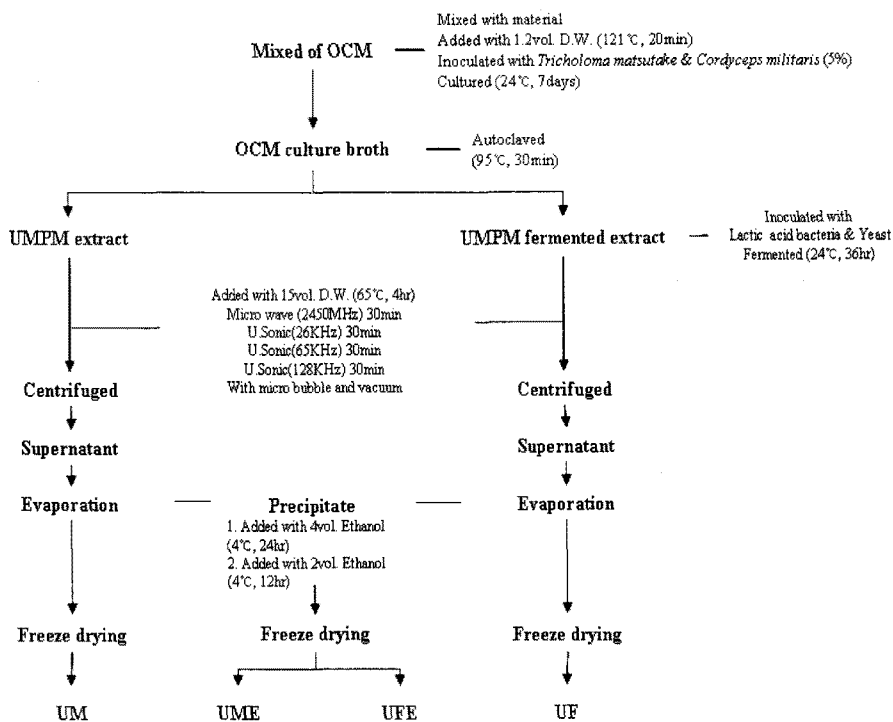


Fig. 1. Extraction method of UM, UME, UF, and UFE from OCM

### 3. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법<sup>4)</sup>을 응용하여 측정하였다. 즉 각 추출물 시료를 증류수를 이용해 1 ug/mL 농도로 희석하여 2N Folin 시약 200 uL를 첨가하고 잘 혼합하여 3분간 방치하였다. 여기에 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 mL을 첨가하여 실온에서 1시간 동안 방치한 후 ELISA를 이용하여 725nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. Tannic acid를 이용한 표준곡선은 tannic acid의 최종농도가 0, 37.5, 75, 150, 300 ug/mL이 되도록 하여 위와 같은 방법으로 725nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

### 4. 전자공여능 측정

Blois의 방법<sup>5)</sup>에 따라 각 추출물의 DPPH( $\alpha$ -Diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl radicals)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 즉 1 mg/mL 희석한 추출물 시료 500 uL에 99% 에탄올로 희석한  $4.0 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액 500 uL를 넣고 혼합하여 70분간 방치한 후 525

nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은  $100 - [(시료첨가군의 흡광도 / 무첨가군의 흡광도) \times 100]$ 으로 나타내었다.

### 5. Superoxide dismutase(SOD)

#### 유사활성 측정

SOD 유사활성의 측정은 SOD assay kit-WST (Dojindo, Japan)<sup>6)</sup>를 사용하였다. 96 well plate를 이용하여 각각의 시료 20  $\mu$ L를 WST-1용액 200  $\mu$ L, Enzyme용액 20  $\mu$ L와 반응시키고, blank는 시료 대신 증류수를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시키고 난 후, microplate reader로 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 6. $\beta$ -Glucan함량 측정

시료의  $\beta$ -glucan 분석은  $\beta$ -glucan kit(Megazyme, Wicklow, Ireland)를 이용해 Mushroom and Yeast Beta-Glucan Assay 방법<sup>7)</sup>에 따라 그 함량을 측정하였다.

## 7. Nitric Oxide(NO) 저해활성 측정

단핵세포 대식세포주인 RAW264.7 세포로부터 일산화질소 생산의 지표로서 배양 상층액 내에 안정된 NO 산화물인 NO<sub>2</sub>를 Griess 반응으로 측정하였다. 즉, 100 uL의 그리스 시약(0.5%의 설파닐아미드, 2.5%의 인산 및 0.5%의 나프틸에틸렌아민을 각 추출물의 희석액 각각 100 uL에 첨가하고, 그 혼합물을 37 °C에서 10분간 반응시킨 후 microplate reader로 540 nm에서 측정하였다. 일산화질소의 농도는 아질산염의 표준커브로부터 계산하였다.

## 8. MTT assay에 의한 세포독성 및 암세포 생육억제 활성 측정

조다당체 시료의 인체 섬유성 육종암세포인 HT1080 세포에 대한 억제효과 및 랫트 유래 대식세포주인 Raw264.7 cell에 대한 세포독성을 보기 위해 밀집세포의 미토콘드리아 탈수소 효소에 의해 자주빛 formazan 생성물로 변하는 MTT 환원을 바탕으로 MTT 분석법으로 측정했다. HT1080 세포는 RPMI-1640 배지를 이용 1x10<sup>7</sup>cell/mL의 밀도로 현탁하여 24 well plate에 500 uL씩 분주한 후 3시간 incubation 하였으며 여기에 각각의 농도로 희석한 추출시료 5 uL 넣어 처리한 후 24시간 배양하였다. 배양 후 MTT 용액을 각 plate에 20 uL첨가하고 다시 2시간 동안 배양하여 MTT가 환원되도록 하였다. 배양 종료 후 MTT-formazan 생성물은 DMSO를 이용하여 용해하여 570nm에 흡광도를 측정하였다.

## 9. 통계처리

모든 실험 결과는 SPSS program을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하고 시료간의 차이 검증은 일원 배치 분산 분석(one-way ANOVA)를 사용하였으며 Duncan's multiple range test에 따라 p<0.05 수준에서 유의성을 검증하였으며 모든 값은 mean ±standard deviation(S.D.) 값으로 표기하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 총 폴리페놀 함량

폴리페놀 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가

지며 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과 등의 생리활성 기능을 가지고 있다고 알려져 있다. 버섯 균사체를 배양한 한방추출물의 총 Polyphenol함량은 Table 2와 같다. 비발효추출물(UM)은 44.01%, 발효추출물(UF)은 40.44%으로 유사하게 나타났으며, 비발효추출물 조다당체(UME)는 12.57%, 발효추출물 조다당체(UFE)는 7.05%로 UME에서 약 1.7배 정도 높게 나타났다. 한편 민자주방망이버섯의 열수추출물에서 폴리페놀 함량이 9.20%라고 보고한 Lee 등<sup>8)</sup>의 결과와 Lee 등<sup>9)</sup>의 감귤 주스 착즙박을 이용하여 재배된 버섯균사체의 폴리페놀 함량을 보면 간 버섯 10.91%, 표고버섯 15.27%, 새송이버섯 20.28%, 산호침버섯 8.01%, 참부채버섯 8.23%, 영지버섯 9.55%라고 보고한 결과에 비교하면 본 실험의 한방배지추출물 모두에서 폴리페놀 함량이 높게 나타났다.

Table 2. Total polyphenol compound content and DPPH activity of extracts from OCM by extraction conditions(%)

	Total polyphenols	DPPH activity
UM	44.01 ± 1.90 <sup>d</sup>	25.67 ± 2.42 <sup>d</sup>
UME	12.57 ± 0.06 <sup>b</sup>	13.14 ± 0.52 <sup>a</sup>
UF	40.44 ± 2.24 <sup>c</sup>	23.43 ± 1.94 <sup>c</sup>
UFE	7.05 ± 0.08 <sup>a</sup>	16.23 ± 3.66 <sup>b</sup>

All values are mean±S.D. Different superscripts indicate significant differences by Duncan's multiple range test(p<0.05). UM: non-fermented OCM extracts, UME: crude polysaccharide of non-fermented OCM extracts, UF: fermented OCM extracts, UFE: crude polysaccharide of fermented OCM extracts.

### 2. 전자공여능

DPPH는 분자내 radical을 함유하여 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만들고 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때 고유의 청남색이 없어지는 특성을 가지고 있어 이 색차를 비색 정량하여 전자공여능력을 측정한다. Kang 등<sup>10)</sup>은 전자공여능이 phenolic acids와 flavonoids 및 기타 phenol성 물질에 대한 항산화작용의 지표라고 하였으며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 보고한 바 있다. 각 추출물에 대한 전자공여능을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 비발효추출물(UM)은 25.67%의 전자공여능을 나타내었으며, 발효추출물(UF)의 경우에는 23.43%의 전자공여능을 나타내 비발효추출물과 유사한 값을 나타내었다. 조다당체 추출물의 전자공여능에 있어서도

UME 13.14%, UFE 16.23%로 두 시료 간에 유사한 값을 나타냈다. Kang 등<sup>10)</sup>은 페놀화합물들의 환원력이 클수록 전자공여능이 높다고 하였는데 본 실험에서도 총 폴리페놀 함량이 다소 높게 나타난 발효추출물의 항산화 활성이 높은 결과로 미루어 이들이 서로 깊은 연관이 있음을 알 수 있었다.

### 3. SOD 유사활성

SOD는 ROS(Reactive oxygen species, 활성산소종)에 대한 항산화 효소의 일종으로 세포와 조직에 강한 독성을 갖는 Superoxide radical anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)을 hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)와 O<sub>2</sub>로 전환시켜 주어 세포를 보호하는 물질로서 퇴행성 뇌질환, 심혈관계 질환 등 각종 질병과 관련이 있는 것으로 보고되어 있다<sup>11,12)</sup>. 송이버섯과 동충하초 균사체를 혼합 배양한 한방추출물의 SOD 유사활성 측정결과 Fig. 2와 같다. 비발효추출물(UM) 85.35%, 발효추출물(UF) 76.18%로 비발효추출물의 SOD 활성능이 유사하게 나타났으나, 비발효추출물 조다당체(UME) 58.42%, 발효추출물 조다당체(UFE) 72.21%로 발효추출물 조다당체에서 SOD 활성능이 다소 높게 나타났다. SOD 유사활성물질은 효소는 아니지만 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 phytochemical에 속하는 것으로 보고되어 있다<sup>13,14)</sup>. 따라서 향후 항산화 효과가 높은 기능성 소재의 이용이 가능할 것으로 판단된다.

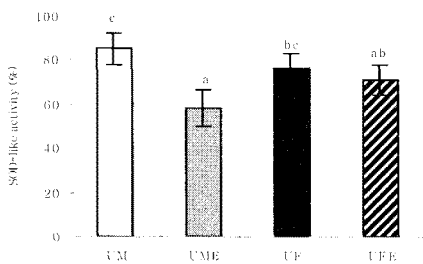


Fig. 2. SOD-like activity of extracts from OCM by extraction conditions

All values are mean±S.D. Different superscripts indicate significant differences by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ). UM: non-fermented OCM extracts, UME: crude polysaccharide of non-fermented OCM extracts, UF: fermented OCM extracts, UFE: crude polysaccharide of fermented OCM extracts.

### 4. $\beta$ -glucan 함량

$\beta$ -glucan은 정상적인 세포조직의 면역기능을 활

성화시켜 암세포의 증식과 전이를 막는 것으로 알려져 있으며 혈당 및 혈청 콜레스테롤 강하작용으로 당뇨병과 고지혈증 개선효과가 있는 것으로 보고되고 있다<sup>15-17)</sup>. 각 추출물에서 조다당체 내의  $\beta$ -glucan 함량을 측정하였다. 그 결과 UME는 45.38%, UFE는 43.73% w/w로 발효 또는 비발효 시료 모두 40%이상의  $\beta$ -glucan을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 이는 아가리쿠스 버섯에서 추출한  $\beta$ -glucan의 함량이 35.97%로 나타났다는 홍 등<sup>15)</sup>의 결과와 서 등<sup>18)</sup>의 연구에서는 해송이 버섯에서 추출한  $\beta$ -glucan 함량이 0.11%로 나타나 본 실험에 사용한 송이버섯과 동충하초 균사체를 배양한 한방추출물 조다당체에서의  $\beta$ -glucan 함량이 높은 것으로 나타났다.

### 5. NO 생성저해효과

NO는 무기 저분자 라디칼로서 신경 전달기능, 혈액응고 및 혈압조절기능, 암세포에 대항하는 면역기능 등의 역할이 알려져 있으며, NOS(Nitric Oxide Synthase)에 의해 L-arginine으로부터 합성된다. 특히 macrophage는 생체 내에서 염증 등의 자극에 의해 NO를 생성하여 항염, 항종양 등의 면역활성에 중요한 역할을 하게 된다<sup>19,20)</sup>. 본 실험에서는 비발효추출물 조다당체(UME)와 발효추출물 조다당체(UFE)가 LPS로 자극된 대식세포 Raw 264.7의 NO 생성능에 미치는 영향을 측정하여 Fig. 3, 4에 나타내었다. LPS 1  $\mu$ g/mL 농도에서 UFE의 NO 생성능은 10  $\mu$ g/mL일 때 40.78  $\mu$ M, 100  $\mu$ g/mL일 때 46.16  $\mu$ M로 UME의 39.85  $\mu$ M, 42.96  $\mu$ M보다 높게 나타났고, LPS 10  $\mu$ g/mL 농도에서는 UFE의 NO 생성능이 1  $\mu$ g/mL, 10  $\mu$ g/mL, 100  $\mu$ g/mL 각각

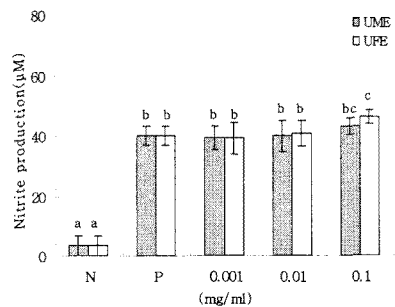


Fig. 3. Response relationship of UME and UFE on the NO production of 1  $\mu$ g/mL of LPS

UME(crude polysaccharide of non-fermented OCM extracts), UFE(crude polysaccharide of fermented OCM extracts). All values are mean±S.D. Different superscripts indicate significant differences by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

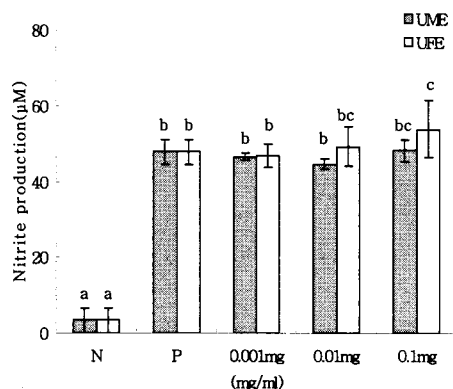


Fig. 4. Response relationship of UME and UFE on the NO production of 10µg/mL of LPS

UME(crude polysaccharide of non-fermented OCM extracts), UFE(crude polysaccharide of fermented OCM extracts). All values are mean±S.D. Different superscripts indicate significant differences by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

46.86 uM, 49.27 uM, 53.89 uM로 UME의 46.50uM, 44.55uM, 48.24uM보다 높게 나타났다. 또한 저농도 (1 ug/mL, 10 ug/mL)시료에서는 NO 생성능이 LPS 의존성을 나타낸 반면, 100 ug/mL 농도의 시료에서는 LPS 농도에 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

## 6. 세포독성 및 암세포 생육억제 활성측정

인체 섬유성 육종암세포인 HT1080 cell에 대한 암세포의 성장억제 효과와 랫트 유래 대식세포주인 Raw264.7 cell에 대한 세포독성을 알아보기 위하여 OCM 발효추출물의 다당체인 UME와 UFE에 대한 MTT assay를 실시하고 그 결과를 Fig. 5, 6에 나타내었다. 정상세포에 대한 세포독성을 측정한 결과 (Fig. 5), UFE의 경우 모든 농도에서 정상세포 생존율이 약 90%이상으로서 정상세포에 대한 안전성이 유지되는 것을 확인할 수 있었으며 특히 UFE의 경우 0.01 mg/mL 농도에서 116.38%의 생존율을 나타내었다. 또한 동일한 농도에서 암세포에 대한 세포독성 실험결과(Fig. 6), UME에 비해 UFE의 모든 농도에서 암세포 증식 억제효과가 더 큰것으로 나타났으며 0.1mg/mL농도 UFE의 경우 약 26% 정도의 세포수 감소를 나타낸 것으로 보아 OCM 발효 추출물은 암세포 증식은 억제하면서도 정상 세포수는 크게 손상시키지 않을 것으로 확인되어 향후 면역 증진 및 항암 기능 신소재로의 활용이 가능할 것으로 판단된다.

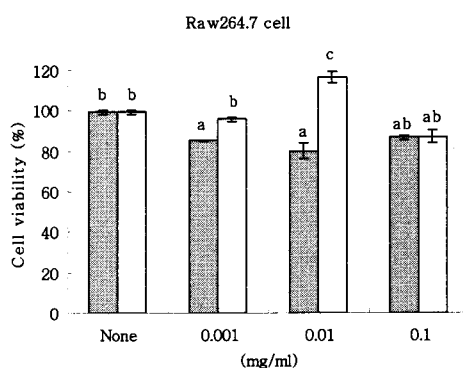


Fig. 5. Cell Viability of the OCM extract for UME, UFE on the Raw264.7 cell

UME(crude polysaccharide of non-fermented OCM extracts), UFE(crude polysaccharide of fermented OCM extracts). All values are mean±S.D. Different superscripts indicate significant differences by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

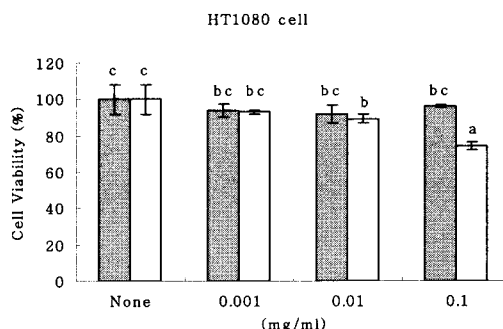


Fig. 6. Cell Viability of the OCM extract for UME, UFE on the HT1080 cell

UME(crude polysaccharide of non-fermented OCM extracts), UFE(crude polysaccharide of fermented OCM extracts). All values are mean±S.D. Different superscripts indicate significant differences by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

## 결론

송이버섯균사체와 동충하초 균사체를 혼합 배양한 한방배지추출물의 총 폴리페놀함량은 UM, UF에서 40% 이상 나타났으며, UME 12.57%, UFE는 7.05%로 나타났다. 전자공여능 실험에서 UM 25.67%, UF 23.43%, UME 13.14%, UFE 16.23%의 활성능을 보였으며, SOD 유사활성능의 경우 UM 85.35%, UF 76.18%로 유사하게 나타났으나, UME 58.42%, UFE 72.21%로 발효추출물 조다당체에서

SOD 활성능이 다소 높게 나타났다.  $\beta$ -glucan 함량은 UME는 45.38%, UFE는 43.73% w/w로 발효 또는 비발효 시료 모두 40%이상의  $\beta$ -glucan을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 한편 LPS로 자극된 대식세포 Raw 264.7의 NO 생성능에 미치는 영향을 측정 한 결과 UME, UFE는 저농도(1 ug/mL, 10 ug/mL)에서 NO 생성능이 LPS 의존성을 나타낸 반면, 100 ug/mL 농도의 시료에서는 LPS 농도에 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 또한 정상세포(Raw264.7 cell)에 대한 세포독성을 측정한 결과 UFE의 경우 모든 농도에서 정상세포 생존율이 약 90%이상으로 정상세포에 대한 안전성이 유지되는 것을 확인할 수 있었으며 특히 UFE의 경우 0.01 mg/mL 농도에서 116.38%의 생존율을 나타내었다. 또한 동일한 농도에서 암세포(HT1080 cell)에 대한 세포독성 실험 결과 UME에 비해 UFE의 모든 농도에서 암세포 증식 억제효과가 더 큰 것으로 나타났으며 0.1mg/mL 농도 UFE의 경우 약 26% 정도의 세포수 감소를 나타내었다. 이상과 같은 결과를 통해 버섯 균사체를 한방배지에 발효 추출함으로써 향후 항산화 활성과 면역 증진 및 항암 효과를 확인 할 수 있었으며 이를 이용한 기능성 신소재로의 활용이 가능할 것으로 판단된다.

## 참고문헌

1. Bano Z, Fajarathnam S. *Pleurotus muchroom*. Part II. Chemical composition, nutritional value, postharvest physiology, preservation, and role as human food. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr*. 1988 ; 27 : 87-158.
2. Chihara G, Hamuro T, Maeda Y, Ara Y, Fukuoka F. Fractionation and purification of the polysaccharide with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing(an edible mushroom). *Cancer Res*. 1970 ; 30 : 2776-2781.
3. Mori K, Toyomasu T, Nanba H, Kuroda H. Antitumor activities of edible mushrooms by oral administration. *Proc Int'l Sym Scientific and Technical aspects of Cultivating Edible Fungi*. 1986 : 1-6.
4. Swain T, Hillis WE, Otega M. Phenolic constituents of *Pturus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 1959 ; 10 : 83-88.
5. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958 ; 181 : 1199-1200.
6. Dojindo Laboratories. SOD assay kit-WST technical manual. 2005 : 26-28.
7. Muchroom and yeast  $\beta$ -glucan assay : Muchroom and yeast  $\beta$ -glucan assay producedure. Megazyme internation Ireland Ltd. 2002.
8. Lee YS, Joo EY and Kim NW. Polyphenol contents and Antioxidant activity of *Lepista nuda*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2006 ; 35(10) : 1309-1314.
9. Lee CH, Yang MH, Park SR and Kang YJ. Major components of Mushroom Mycelia cultivated with Citrus Juice processing wastes. *Korean J Food Sci Technol*. 2007 ; 39(2) : 128-132.
10. Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenol compounds. *Korean J Food Sci Technol*. 1996 ; 28 : 232-239.
11. Balin AK. Testing the free radical theory of aging. In : RR Adelman and GS Roth, eds, *Testing the theories of aging*. CRC Press Boca Raton Fla. 1982 : 37.
12. Harman D. A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*. 1956 ; 11 : 298-307.
13. Pevy C, Gautier R. New prespectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. *Biochem Pharmacol*. 1990 ; 39 : 399-405.
14. Kuramoto T. Development and application of food materials from plant extract such as SOD up to date. *Food Process*. 1992 ; 27 : 22-23.
15. Hong JH, Youn KS and Choi YH. Characteristics crude protein-bound polysaccharide from *Agaricus blazei* Murill by extraction and precipitation conditions and its antitumor effect. *Korean J Food Sci Technol*. 2004 ; 36(4) : 586-593.
16. Park JH, Kang MS, Kim HI, Cung BH. Study on immuno-stimulating acticity of  $\beta$ -glucan isolated from the cell wall of yeast mutant *Saccharomyces cerevisiae* IS2. *Korean J Food Sci*

Technol. 2003 ; 35(3) : 488-492.

17. Kang TS, Lee MY, Baek SH, Jeong HS, Park HJ, Kong YH and Jang IS. Effects of Oat soluble  $\beta$ -glucan on glucose dialysis retardation and blood glucose in diabetic rats. Food Engineering Progress. 2005 ; 9(2) : 88-96.

18. Xu XM, Jan JY and Jeong IH. A study on the antioxidant activity of Hae-songi Mushroom (*Hypsizigus marmoreus*) hot water extracts. J

Korean Soc Food Sci Nutr. 2007 ; 36(11) : 1351-1357.

19. Abramson SB, Attur M, Amin AR and Clancy R. Nitric oxide and inflammatory mediators in the perpetuation of osteoarthritis. Curr Rheumatol Resp. 2001 ; 3 : 535-564.

20. Brown GC. Nitric oxide regulates mitochondrial respiration and functions by inhibiting cytochrome oxidase. FEBS Lett. 1995 ; 693 : 136-139.