

저가 수삼을 이용한 상황과 노루궁뎅이 균사체 배양물의 면역 활성 비교

하지혜* · 정향숙* · 오성호* · 김승섭* · 정명훈* · 정현상***
정재현**** · 유광원**** · 이현용****†

*강원대학교 BT특성화학부대학, **강원대학교 생명공학연구소,
충북대학교 식품공학과, *충주대학교 식품생명공학과

Comparision of Immuno Activities of Fresh Ginseng Cultured *Phelinus Linteus* and *Hericium erinaceum* Mycelium Associated with Ultrasonification Extraction.

Ji Hye Ha*, Hyang Suk Jeong*, Sung Ho Oh*, Seung Seop Jeong*, Myoung Hoon Jeong*,
Heon Sang Jeong***, Jae Hyun Jung***, Kwang Wan Yu****, and Hyeon Yong Lee****†

*College of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

**Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

***College of Agriculture, Life & Environment Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea.

****Department of Food and Biotechnology, Chungju National University, Chungju 380-702, Korea.

ABSTRACT : The low quality fresh ginseng was fermented by *Phelinus linteus* or *Hericium erinaceum* mycelium. This fermented ginseng was extracted by water at 100 °C or water with ultrasonification at 60 °C. Total phenolic compounds was improved by ultrasonification extraction process, compare to conventional water extraction. All extracts enhanced the growth of human B and T cells, showing 2.68 times and 3.43 times higher, respectively, than the control. The secretion of TNF- α and IL-6 from human immune cells was enhanced as 3.53×10^{-4} pg/cell, 3.40×10^{-4} pg/cell by adding *H. erinaceum* mycelium fermented ginseng. *H. erinaceum* mycelium fermented ginseng yielded higher nitric oxide production from macrophage than Lipopolysaccharides (LPS). The cytotoxicity on human normal kidney cell (HEK293) was as low as 20.5% in adding the maximum concentration of 1.0 mg/ml of fermented ginseng. Generally, the extracts from ultrasonification extraction process showed 10% lower toxicity than that by conventional process. *H. erinaceum* mycelium fermented ginseng had the highest anticancer activity on human lung cancer and stomach cancer cells as 69.33% and 75.32%, respectively at 1.0 mg/ml. It can be concluded that, in general, *H. erinaceum* mycelium fermented ginseng has relatively better immune and anticancer activities than *P. linteus* fermented ginseng. Expecially, the extracts treated with ultrasonification had higher activities than that from conventional extraction process.

Key Words : Low Quality Fresh Ginseng, Immune Activity, Anticancer Activity, *Phelinus linteus*, *Hericium erinaceum*, Mycelium.

서 언

인삼 (*Panax ginseng* C.A. Mayer)은 오갈피나무과 (Araliaceae)에 속하는 다년생 초본류 (Park, 1996)로서 주된 약리효능으로는 ginsenoside를 중심으로 많은 연구가 이루어지기 시작하여 증추억제 및 정신안정, 항염증, 암세포 증식 및 전이 억제 작용, 항스트레스, 항피로, 발육촉진, 각종 체내대사 물질 조절, 조절작용, 통증억제 작용 등의 여러 가지 약리작용이 보고되어 왔다 (Park et al., 2003; Hwang and Choi, 2006).

또한 최근 들어 버섯이 식용뿐만이 아닌 약용으로 이용되면서 자실체 및 균사체 추출물을 비롯하여 균사체 배양물이 기

능성 식품 또는 약품의 소재로써 각종 질환의 예방이나 치료에 이용되고 있다 (Sohn et al., 2008). 현재 생리활성이 탁월하다고 널리 알려진 상황버섯 (*Plellinus linteus*)은 항암 (Lee et al., 2000; Rhee et al., 2000), 항산화, 피로회복 (Lee et al., 2006), 혈당 강하 (Kang et al., 2005), 면역조절 작용 (Seo, 2007) 등의 약리활성들이 보고되고 있다. 또한 최근에 치매억제 기능의 성분인 nerve growth factor (NGF)라는 물질이 분리되어 치매치료제로 사용되어지는 노루궁뎅이버섯(*Hericium Erinaceus*)은 치매억제 기능 (Kawagishi et al., 1996) 뿐만 아니라 노화억제, 항암 (Park et al., 2003), 항산화, 면역 증강 (Choi et al., 2003) 기능이 보고되고 있으며 균사체의 항암 및

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr

Received 2009 April 8 / 1st Revised 2009 June 10 / 2nd Revised 2009 July 21 / Accepted 2009 July 31

면역 활성이 보고된 바 있다 (Jung *et al.*, 2007).

인삼은 크게 수삼 및 1차 가공제품인 홍삼과 백삼으로 공급이 이루어진다. 하지만 채굴, 운반 및 관리 과정에서 부러지거나 상처를 입어 그 형태가 불완전하여 상품으로서 품질 요건에 부합하지 못하는 파삼은 홍삼 및 백삼으로 가공이 어렵기 때문에 그 약리적 효과에 비하여 공급이 적은 상태이다. 본 연구에서는 약리효과가 뛰어나지만 상품성이 떨어지는 파삼을 기질로 하여 상기와 같은 생리활성 작용이 탁월한 버섯 균사체를 접종시켜 배양하였다. 이러한 발효로 인해 고분자 구성 성분과 연결되어 있어 인체 내 흡수 시 수용 정도가 비효율적이며, 체내 흡수가 용이하지 못하여 물리·화학적 작용이나 미생물에 의한 분해가 필요하였던 (Jee *et al.*, 2006; Ryu *et al.*, 2008) 인삼의 주요 활성성분인 ginsenoside의 생물학적 변환을 유도하여 인삼 본래의 유용 성분의 약리적 효과가 증가되거나 또는 버섯과 인삼의 생리활성 성분 간의 시너지효과로 인해 새로운 생리활성 성분의 창출로 인한 생리활성 증진 효과를 기대하였다.

생리활성이 뛰어난 천연물을 기능성 소재로서 적용하기 위해서는 활성 물질 용출의 높은 효율성을 갖는 추출 공정이 필수적이다. 종래의 추출방법으로는 낮은 에너지 효율성과 열에 의한 활성성분의 파괴 및 변성, 가용성분 위주로만 추출이 되는 등의 단점이 있었다. 이러한 문제점들로 인해 아임계/초임계 (Choi *et al.*, 2003), 감마선조사추출, 초고압추출 (Kwon *et al.*, 2007) 등 새로운 기술들이 이용되고 있지만 이러한 추출 기술 또한 투자비용으로 인해 경제성이 고려되어왔다. 하지만 초음파 추출은 초음파 에너지의 변화에 따라 제거, 반응, 추출의 효율성을 조절 할 수 있으며 파장의 침투력이 미세부분의 조직까지 쉽게 침투하여 추출효과를 향상 시킬 수 있다 (Lee and Um, 2008; Park *et al.*, 2004).

따라서, 본 연구에서는 약리효과가 뛰어나다고 널리 알려진 인삼에 생리활성 작용이 탁월한 상황버섯 (*Phellinus linteus*)과 노루궁뎅이버섯 (*Hericium erinaceum*) 균사체, 즉 담자균을 접종하여 발효시킴으로써 인삼을 영양원으로 하여 생육하여, 인삼이 가지고 있는 약리활성 물질과 고등균류가 가지는 생리활성 물질간의 상승효과로 인한 생리활성 성분과 발효과정에서 생성된 새로운 성분에 의한 생리활성을 비교하고자 하였고, 그 생물학적으로 변환된 생리학적 유용성분, 또는 발효에 의해 생성된 새로운 성분의 추출의 효율을 높이고자 초음파 추출 공정을 적용하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출방법

음성 인삼 연구소에서 4년 근 수삼을 지원받아 음지의 서늘한 곳에서 자연 건조시켜 수분함량을 70%로 조절한 후 균사

의 생육 영양원 5~15%를 첨가하여 고압멸균 하였다. 상황버섯과 노루궁뎅이 버섯 액체 종균을 상기 제조된 인삼 기질 표면에 5~10% 고르게 분무하여 접종시킨 다음 22~23℃, 습도 70%에서 30일 동안 발효시켰다. 상기와 같은 방법으로 발효된 고체 발효인삼을 적당한 크기로 자른 후 추출에 사용하였다. 열수 추출은 수직 환류 냉각기가 부착된 추출 플라스크에 시료 중량의 10배수 증류수를 용매로 100℃에서 60분 추출을 3회 반복하여 추출하였으며 초음파 추출은 60℃에서 60분간 열수 추출을 진행한 후 추가로 초음파 추출기 (Asia industry Korea)를 통하여 60 kHz로 60분 동안 초음파 추출을 진행하였다. 상기와 추출공정으로부터 얻어진 추출물은 감압여과장치 (rotary vacuum evaporator N-N series, Eyela, Tokyo, Japan)로 여과 후 추출 온도와 동일한 온도에서 감압농축과 동결건조를 거쳐 분말 형태로 만들어 실험에 사용하였다.

2. 시약

본 연구의 세포배양 시 사용되는 RPMI 1640 배지와 FBS (fetal bovine serum), horse serum은 Gibco (USA)로부터 구입하였으며, hepes buffer, gentamycin sulfate, Trypsin-EDTA는 Sigma (USA)에서 구입하여 사용하였다. Cytokine 측정을 위한 IL-6와 TNF- α Kit는 Chemicon (USA)사의 것을 구입하여 실험에 사용하였다.

3. 총 페놀 함량 측정

총 페놀성 화합물의 함량 측정은 Folin-Denis 방법 (Lee *et al.*, 2000)을 이용하여 비색 정량하였다. 분말 형태의 고체 발효인삼 추출물을 메탄올에 10 mg/ml로 용해한 용액에 1 ml을 Folin 시약 1 ml과 혼합하여 실온에서 3분간 정치한 후 10% Na₂CO₃ 용액을 1 ml 가하여 혼합한 후 25℃에서 1시간 정치하였다. 700 nm에서 흡광도를 측정한 후 gallic acid에 대한 당량으로 환산하여 총 페놀 화합물 함량을 구하였다.

4. DPPH radical 소거능 측정

DPPH (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) radical에 대한 소거활성은 Blois (Blois, 1958) 등의 방법을 약간 변형하여 실험하였다. 용매를 ethanol로 하여 제조한 0.1 mM DPPH 용액 1 ml과 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml의 농도로 조절된 시료를 0.5 ml 혼합하여 25℃에서 20분 동안 암실에 방치 한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 대조구에 대한 시료 첨가구의 흡광도를 비교하여 다음과 같이 계산하였다.

$$DPPH \text{ radical scavenging activity (\%)} =$$

$$\frac{Control \ O.D - Sample \ O.D}{Control \ O.D} \times 100$$

5. 세포주 및 세포 생육 배지

항암실험에 사용한 암 세포주는 인간 폐암세포 (human lung carcinoma)인 A549 (ATTC, USA)와 인간 위암세포 (human stomach adenocarcinoma)인 AGS (ATTC, USA)이며 세포 독성은 인간 정상 신장 세포주 (human embryonic kidney)인 HEK293 (ATTC, USA)을 이용하여 측정하였다. 면역세포 생육 및 Cytokine 측정 실험을 위해 T cell (Jurkat, ATTC, USA)와 B cell (Raji, ATTC, USA)를 사용하였으며, 대식세포의 nitric oxide 생성능은 마우스 유래 macrophage (J774.1, ATTC, USA)를 사용하여 측정하였다. 본 실험에 사용한 인간 전과립 세포와 대식세포는 RPMI 1640 배지와 10% heating inactivated FBS를 첨가시켜 배양하였다.

6. 정상세포 독성 및 항암활성 측정

인간 정상 신장 세포 HEK293을 이용하여 SRB (sulfurhodamine B) assay (Doll and Peto, 1983)를 통해 상황버섯과 노루궁뎅이 버섯 균사체에 의해 발효시킨 수삼의 정상세포에 대한 독성을 측정하였다. SRB assay는 세포 단백질의 염색을 통하여 세포의 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 실험에 사용되는 세포의 농도를 $4 \sim 5 \times 10^4$ cells/ml로 조절하여 96 well plate의 각 well에 $100 \mu\text{l}$ 씩 분주한 후 24시간 동안 배양 (37°C , 5% CO_2 incubator)하였다. 그 다음 각각의 시료를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml의 농도로 조절하여 각각 $100 \mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 48시간 배양 후에 상등액을 제거하고 4°C , 10% (w/v) TCA (trichloroacetic acid) $100 \mu\text{l}$ 을 가하여 4°C 에서 1시간 동안 정치하였다. 그 후 증류수로 5회 세척하여 TCA를 제거하고 실온에서 plate를 완전히 건조하였다. 건조된 plate 각 well에 1% (v/v) acetic acid로 녹인 0.4% (w/v) SRB 용액을 $100 \mu\text{l}$ 씩 첨가하여 상온에서 30분 동안 염색시킨 후 결합되지 않은 SRB 염색액을 제거하기 위해 1% acetic acid로 4~5회 세척하였다. 실온에서 완전히 건조한 후 10 mM Tris buffer $100 \mu\text{l}$ 를 첨가하여 염색액을 녹여낸 후 540 nm에서 microplate reader (Molecular Devices, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

7. 면역세포 생육 증진 효과

면역기능의 증강 효과는 인간의 면역 세포인 T cell와 B cell를 이용하여 검증하였다. 면역세포는 10%의 FBS를 함유하는 RPMI 1640배지에서 배양 (37°C , 5% CO_2 incubator)하였으며, 면역기능 증강효과는 6 well plate에 세포를 1.0×10^4 cells/ml의 농도로 조절한 후 시료를 투여하여 8일 동안 배양하면서 1일 간격으로 각 well의 cell을 hemocytometer로 세포 수를 측정하였다 (Kwon *et al.*, 2008).

8. Cytokine 분비량 측정

Cytokine은 IL-6와 TNF- α 정량 kit를 사용하여 IL-6와

TNF- α 을 측정하였다. 세포의 농도를 $1 \sim 2 \times 10^4$ cells/ml의 농도로 조절한 후 24 well plate에 $900 \mu\text{l}$ 씩 첨가하여 24시간 동안 배양 (37°C , 5% CO_2 incubator)시킨 후 시료의 최종농도를 0.5 mg/ml로 $100 \mu\text{l}$ 씩 첨가하여 다시 5일 동안 배양 (37°C , 5% CO_2 incubator)하였다. 원심분리기를 이용하여 배양 배지의 상층액을 취한 다음 450 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하여 얻어진 O.D값을 표준물질을 이용해 작성한 표준곡선과 비교하여 cytokine의 양을 측정하였다 (Han *et al.*, 1998).

9. Nitric oxide 측정

사용된 세포주는 J774.1 macrophage (mouse)이며, 세포는 10% heat-inactivated bovin serum과 RPMI 1640 medium을 이용하여 24 well plate에 $4 \sim 5 \times 10^4$ cells/ml의 농도로 조절한 후, 시료를 첨가하거나 첨가하지 않고 humidified 5% CO_2 incubator 안에서 37°C 에서 48시간동안 배양하여 실험에 사용하였다. macrophage에서 발생하는 nitric oxide의 양은 활성화된 대식세포 배양액에 축적되어 있는 nitric oxide의 양을 microplate assay를 이용하여 정량하여 측정하였다. 먼저 시료를 처리하고 48시간 동안 세포를 배양하고 상등액 $50 \mu\text{l}$ 를 취하여 동일 부피의 Griess 시약 (1% sulfanilamide/0.1% N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride/2.5% H_3PO_4)을 첨가하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 ELISA reader (Molecular Devices, USA)를 이용하여 540 nm의 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 표준물질로는 sodium nitrite를 사용하였으며 농도는 $32 \mu\text{M}$ 에서부터 $0.25 \mu\text{M}$ 까지 RPMI 1640 medium으로 2배씩 희석하여 얻은 표준곡선과 비교하여 계산하였다. NO 생성능의 양성 대조물질로는 lipopolysaccharide (LPS)를 사용하였다 (Ding *et al.*, 1998).

10. Ginsenoside 분석

열수 추출 공정을 통하여 얻어진 상황 발효 인삼, 노루궁뎅이 발효 인삼 및 노추궁뎅이 균사체의 ginsenoside 성분을 HPLC (high performance liquid chromatography)를 이용하여 분석하였다. HPLC 분석을 위해 시료를 충분히 용해시켜 $0.45 \mu\text{m}$ filter로 여과한 다음 시료 주입량을 $10 \mu\text{l}$ 로 하여 ginsenoside를 분석하였다. ginsenoside 분석에 사용된 HPLC는 Water 2695 separation module (Millenium system)이며, column은 μ -Bondapak C18 ($3.9 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), detector는 Waters Photodiode Array (203 nm)을 사용하였다. 이동상으로는 acetonitrile과 water를 20/80의 비율로 0.6 ml/min 의 유속으로 흘려주었다 (Kim *et al.*, 2008)

11. 통계처리

본 연구에서 실험값의 통계는 SPSS package program의

Table 1. Comparison of total phenolic compounds in *Phelinus linteus* or *Hericium ernaceum* mycelium fermented ginseng by two different extraction processes.

Process	(mg/g)	
	Sample Fermented ginseng from <i>Phelinus linteus</i>	Fermented ginseng from <i>Hericium ernaceum</i>
Water [†]	5.60±0.33	5.75±0.39
US [‡]	5.80±0.42	6.21±0.49

[†]Extracted at 100°C for 60 min, 3 times.

[‡]Extracted ultrasonification at 60°C for 60 min.

[‡]Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each value were compared with control at $P < 0.05$.

paired *t*-test로 검정하였으며 모든 실험값은 평균 ± 표준오차 (Mean ± standard error)로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 총 페놀 함량

지금까지 인삼에서 확인된 페놀성 성분들에는 salicylic acid, vanilic acid, cinnamic acid, ρ -hydroxybenzoic acid, vallic acid, gentisic acid, maltol, caffeic acid 등이 보고되고 있으며 이들 페놀성 성분들은 인체 대사에 있어 생체 중 지질, 단백질 및 핵산 등의 성분의 산화를 방지하는 항산화 활성 즉 지질 과산화 억제에 관련이 높은 것으로 알려져 있으며 그밖에 인삼의 약리 효능을 이해하는데 도움을 준다 (Han *et al.*, 1981; Wee *et al.*, 1989; Yoo *et al.*, 2000). 따라서 균사체로 발효된 수삼의 페놀 함량 변화가 생리활성에 기초적인 요인이 될 수 있으므로 각각의 버섯 균사체로 발효된 인삼의 총 페놀 함량을 측정하여 Table 1에 비교하였다. 상황 발효 인삼과 노루궁뎅이 발효 인삼의 총 페놀 함량을 공정별로 비교했을 때 열수 추출물의 경우 두 발효 인삼에서 특정할 수 있는 함량의 차이를 확인하기 어려웠다. 하지만 초음파 추출을 통해 두 발효 인삼 추출물의 페놀 함량이 증가되는 경향을 보였으며, 특히 노루궁뎅이 발효 인삼의 페놀함량이 눈에 띄게 증가하여 6.21 mg/g의 가장 높은 총 페놀 함량을 나타냈다. 상기 결과는 기존의 항산화 활성을 나타내는 약용식물의 소재 탐색 (Kim *et al.*, 2004)에서 인삼이 보여주었던 페놀함량인 3.97 mg/g 보다 약 56% 증가한 수치로 균사체를 이용한 발효를 통한 인삼의 유용 생리활성 물질의 증진 및 초음파 추출에 의한 용출 증진이 동시에 이루어졌음을 확인할 수 있다. 이러한 초음파 공정에 의한 생리활성 성분의 용출 증진은 초음파 처리에 의해 조직의 미세한 부분까지 파장이 침투하여 페놀성분의 용출이 용이해지거나 파장에 의해 고분자 페놀화합물이 저분자 페놀화합물로 분해에 기인된 것으로 결과적으로 발효 공정과 추출 공정에 의한 복합적인 요인에 기인하여 수득

할 수 있는 페놀성분이 증대 되는 것으로 사료된다. 전반적으로 상황 발효 인삼보다는 노루궁뎅이 발효 인삼이 약 0.15~0.41 mg/g 정도 높은 페놀 함량을 보여주었지만, 열수 추출물에서 그 차이가 미미하고, 초음파 추출을 통해서 특정 발효 인삼의 페놀 용출량만 증가하는 것을 미루어 보아 발효에 사용한 균사체의 종류에 따라 수삼의 활성 성분 함량의 증감 및 조직의 변화가 상이하게 이루어진다고 생각되며 특히 본 연구에서의 노루궁뎅이 발효 인삼이 발효를 통하여 페놀 함량의 증진뿐만 아니라 초음파 처리에 있어 활성 성분 용출에 탄력적으로 반응할 수 있는 조직 및 기타 요인을 갖추었다고 사료된다.

2. DPPH 측정

전자공여능 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)는 비교적 안정한 free radical로서 cystein과 glutathion과 같은 함유아미노산과 L-ascorbic acid 및 BHC에 의해 환원되어 탈색되므로 항산화물질을 검색하는 데 많이 이용되고 있다. 각 추출물에서 이러한 free radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대해 소거활성을 기대할 수 있으며 인체 내에서 free radical에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용할 수 있다 (Hong *et al.*, 2007).

상황 및 노루궁뎅이 버섯 균사체로 발효시킨 인삼의 각 추출공정별 추출물의 DPPH 소거활성을 농도별로 측정하여 Fig. 1에 비교하였다.

모든 추출물이 비교적 높은 DPPH 소거활성을 나타내며 높은 전자공여능을 보여주며 전체적으로 노루궁뎅이 버섯 균사체에 의해 발효된 인삼이 상황버섯 균사체 발효삼보다 전체적으로 높은 소거능을 보였다. 특히 노루궁뎅이 균사체 발효삼을 초음파 공정을 통해 추출하였을 때 최고농도 1.0 mg/ml에서 32.41%의 가장 높은 소거능을 나타내었다. 초음파 추출을 통해 얻은 추출물은 일반 열수 추출물에 비해 최고 농도인 1.0 mg/ml에서 상황버섯 발효삼, 노루궁뎅이버섯 발효삼에서 각각 약 3.50%, 2.63%가 증가된 소거활성을 나타내며 모든 시료에서 공통적으로 초음파 공정을 통하여 추출한 추출물이 높은 소거능을 나타내었다. 이러한 결과는 앞선 페놀 함량 측정 결과에서 확인한 바와 같이 초음파 추출 공정에 의한 활성 성분 용출의 증가와 노루궁뎅이 버섯 발효삼이 갖는 높은 페놀함량이 이러한 항산화 작용에 기여한 것으로 사료된다.

3. 면역세포 생육 증진 및 cytokine 분비량 측정

인간 면역체계에서 중요한 역할을 하는 면역세포 B cell과 T cell에 대해 면역 증진 효과를 측정하기 위하여 시료첨가에 따른 생육 증진도를 측정하고 이와 같은 인간 면역세포의 생육 증진 효과를 뒷받침 할 수 있는 자료로서 B cell과 T cell

저가 수삼을 이용한 상황과 누루궁뎅이 균사체 배양물의 면역활성 비교

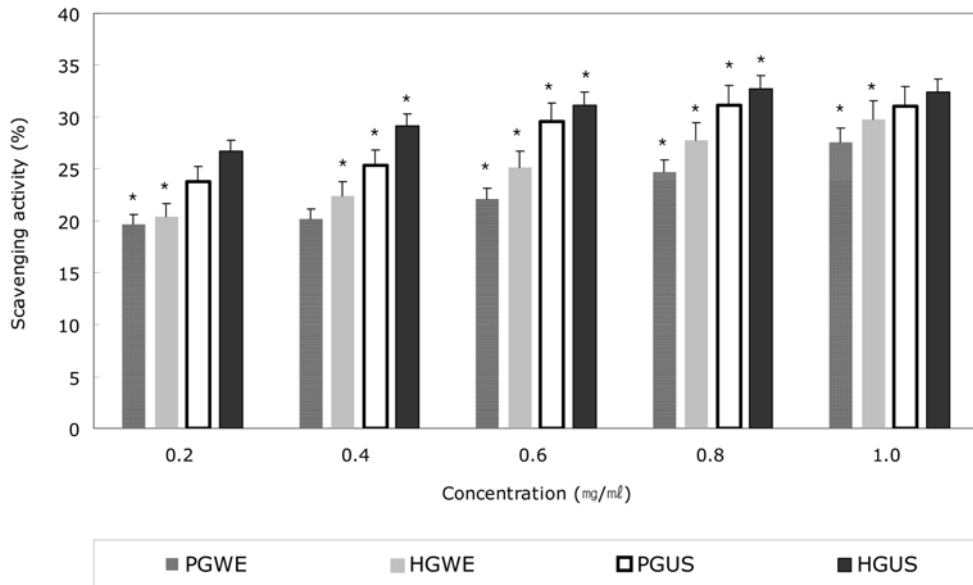


Fig. 1. DPPH electron donating ability in adding the ginseng extracts fermented by *Phelinus linteus* and *Hericum ernaceum* mycelium. [†]PGWE : *P. linteus* fermented ginseng (water extraction), HGWE : *H. ernaceum* fermented ginseng (water extraction), PGUE : *P. linteus* fermented ginseng (ultrasonification extraction), HGUE : *H. ernaceum* fermented ginseng (ultrasonification extraction). ^{*}Results are expressed as mean \pm S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at $P < 0.05$.

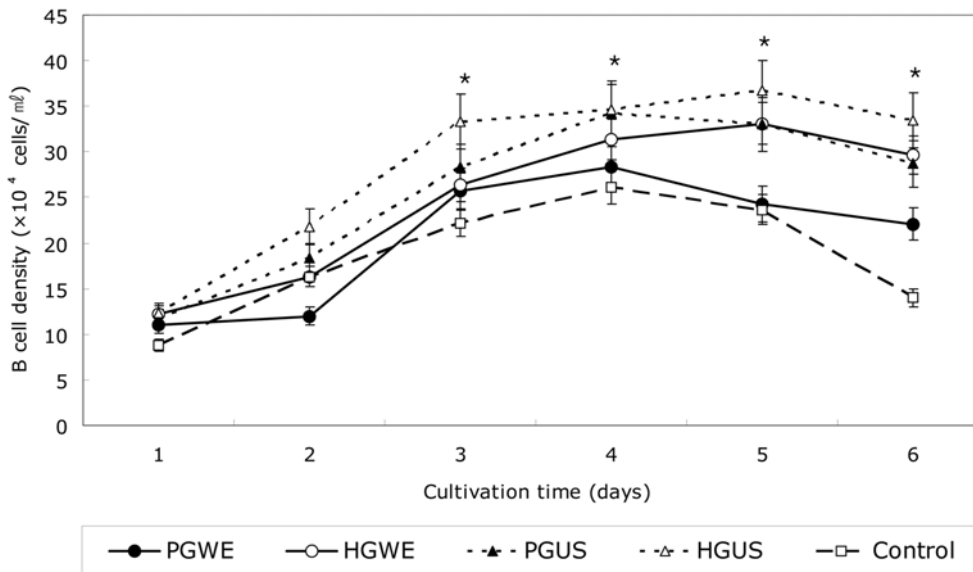


Fig. 2. The growth of human B cells in adding the fermented ginseng extracts. [†]PGWE : *P. linteus* fermented ginseng (water extraction), HGWE : *H. ernaceum* fermented ginseng (water extraction), PGUE : *P. linteus* fermented ginseng (ultrasonification extraction), HGUE : *H. ernaceum* fermented ginseng (ultrasonification extraction). ^{*}Results are expressed as mean \pm S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at $P < 0.05$.

이 분비하는 cytokine 분비량을 측정하여 Fig. 2와 Table 2에 나타내었다. B cell의 생육도의 경우 시료 투여 후 전체적으로 4~5일 까지 생육도가 증가하는 경향을 보였다. 추출 공정과 관계없이 누루궁뎅이 발효삼이 상황 발효삼 보다 높은 생육 증진 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었으며, 가장 높은 편

역세포 증진 효과를 나타낸 추출물은 초음파 공정을 통해 추출한 누루궁뎅이 발효삼으로서 최고 생육도를 나타낸 5일째 36.67×10^4 cells/ml로 가장 높은 세포 생육 농도를 나타내었다. 이는 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하였을 때 무려 68.25% 정도 증가된 B cell의 생육 증진 효과를 나타내는 것

Table 2. Human immune cell growth and secretion of IL-6 and TNF- α in adding the extracts fermented by *Phelinus linteus* or *Hericium ernaceum* mycelium according to different extraction processes.

Extraction Process	Sample	Cultivation time (days)	T cell growth [§] ($\times 10^4$ cells/ml)	Specific secretion rate from B cell [¶] (10^{-4} pg/cell)		Specific secretion rate from T cell [¶] (10^{-4} pg/cell)	
				IL-6	TNF- α	IL-6	TNF- α
WE [†]	<i>P. linteus</i> fermented ginseng	1	9.89 \pm 0.3	1.03 \pm 0.01**	0.94 \pm 0.01**	0.93 \pm 0.03***	0.64 \pm 0.02**
		2	16.33 \pm 0.6	1.53 \pm 0.08	1.13 \pm 0.03	1.47 \pm 0.06	1.48 \pm 0.06*
		3	19.68 \pm 0.9	1.70 \pm 0.10**	1.19 \pm 0.05	2.20 \pm 0.09**	1.55 \pm 0.07***
		4	21.26 \pm 0.9	2.07 \pm 0.13*	1.44 \pm 0.08**	1.52 \pm 0.06**	1.58 \pm 0.07*
		5	25.99 \pm 0.9	2.81 \pm 0.17*	2.77 \pm 0.16*	1.68 \pm 0.06	2.79 \pm 0.16***
	<i>H. erimaceum</i> fermented ginseng	1	10.28 \pm 0.4	0.33 \pm 0.01***	0.90 \pm 0.01	0.76 \pm 0.02**	0.97 \pm 0.02**
		2	19.27 \pm 0.7	1.65 \pm 0.06	1.16 \pm 0.04	1.50 \pm 0.05	1.30 \pm 0.06
		3	25.48 \pm 0.9	1.84 \pm 0.11**	1.84 \pm 0.12**	1.63 \pm 0.07*	2.29 \pm 0.09*
		4	33.33 \pm 1.7	2.81 \pm 0.18**	2.36 \pm 0.17*	2.01 \pm 0.09**	2.65 \pm 0.14**
		5	34.26 \pm 1.9	2.96 \pm 0.20*	3.05 \pm 0.21*	2.18 \pm 0.09*	3.25 \pm 0.28*
US [‡]	<i>P. linteus</i> fermented ginseng	1	15.8 \pm 0.5	0.97 \pm 0.04	0.89 \pm 0.01***	0.58 \pm 0.02***	0.40 \pm 0.01
		2	21.99 \pm 1.2	1.60 \pm 0.08	1.16 \pm 0.05	1.09 \pm 0.04	1.10 \pm 0.03**
		3	26.51 \pm 1.6	2.30 \pm 0.17***	1.67 \pm 0.14	2.36 \pm 0.14**	1.52 \pm 0.06**
		4	37 \pm 2.1	2.90 \pm 0.22**	2.16 \pm 0.18**	2.53 \pm 0.16**	2.52 \pm 0.19***
		5	39.01 \pm 2.0	3.31 \pm 0.28*	3.31 \pm 0.24**	2.62 \pm 0.28**	2.96 \pm 0.25***
	<i>H. erimaceum</i> fermented ginseng	1	17.4 \pm 1.6	0.69 \pm 0.02	1.12 \pm 0.10***	1.40 \pm 0.04***	0.57 \pm 0.02
		2	22.7 \pm 1.4	1.12 \pm 0.09**	1.36 \pm 0.13	1.27 \pm 0.06	1.16 \pm 0.06***
		3	37.33 \pm 2.0	2.62 \pm 0.18**	2.50 \pm 0.20**	2.24 \pm 0.12**	2.30 \pm 0.09*
		4	42 \pm 2.6	2.75 \pm 0.19***	2.86 \pm 0.25*	2.22 \pm 0.11**	2.43 \pm 0.11*
		5	57 \pm 3.1	3.53 \pm 0.27*	3.40 \pm 0.26*	2.93 \pm 0.20*	3.34 \pm 0.27*

[†]Extracted at with water 100°C for 60 min, 3 times.

[‡]Extracted with Ultrasonification at 60°C for 60 min.

[§]Each value were compared with control at $P < 0.05$ by Student t -test.

[¶]Results are expressed as mean \pm S.D. of triplicate determinations. Each value were significant compared with control * $P < 0.001$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.01$.

을 확인할 수 있었다. 이는 초음파 공정을 통한 추출물에서 나타낸 결과로 모든 추출물에서 공통적으로 일반 열수 추출과 비교하여 초음파 공정을 통한 추출물이 높은 생육도를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이는 상향 발효삼 보다 노루궁뎅이 발효삼이 면역계에 긍정적 영향을 미치는 활성 성분을 더 많이 함유하고 있으며, 동시에 초음파 추출공정이 유효성분 용출에 기여함에 따라 활성의 증진에 영향을 주었다고 사료된다. T cell의 경우 모든 추출물에서 생육 5일째 까지 생육도가 증가하였으며, B cell과 마찬가지로 초음파 추출을 통한 노루궁뎅이 발효삼에서 57×10^4 cells/ml로 가장 높은 생육 증진도를 나타내었다. 이는 면역 증강 효과를 가지고 있다고 보고된 제주도 손바닥 선인장의 초음파 추출을 통한 추출물에 관한 연구 (Kwon *et al.*, 2008)에서 나타낸 41%의 생육증진과 비교하였을 때 높은 활성으로, 발효삼이 면역 작용에 있어 매우 탁월한 효과를 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

이와 같이 발효삼 추출물이 B cell과 T cell의 생육 증진에 미치는 영향을 측정하여 비교함과 동시에 cytokine 분비량을 측정한 결과, 면역세포 생육도와 유의적인 값을 나타내는 것

을 확인할 수 있었다. 각 발효삼 추출물에 대한 세포 당 IL-6와 TNF- α 의 분비량을 비교하여 보면, 초음파 추출을 통한 노루궁뎅이 발효삼에서 B cell의 경우 각각 3.53×10^{-4} pg/cell, 3.40×10^{-4} pg/cell로 가장 많은 분비량을 나타내었으며, T cell의 경우도 마찬가지로 초음파 추출을 통한 노루궁뎅이 발효삼에서 가장 높은 분비량을 확인할 수 있었다. 이러한 발효삼 추출물의 첨가를 통한 cytokine 분비량은 고려인삼에 의한 신경면역 및 염증면역 조절에 관한 연구에서 나타낸 백삼 사포닌에 의한 cytokine 분비량 (Sung *et al.*, 2004)과 비교하였을 때 세포독성을 나타내지 않는 농도의 백삼 사포닌 농도에서 TNF- α 가 6.2% 증가된 것에 비해 매우 높은 수치로 버섯 균사체를 통한 발효와 동시에 초음파 추출을 통해 높은 면역 활성 증진이 가능해 졌음을 확인할 수 있다. 이러한 cytokine이 조직손상, 암세포 괴사, 세포분열, 세포분화, 세포사멸 (apoptosis)등의 생리기능을 유도한다고 보고된 바 (Kim *et al.*, 1998)와 같이 위와 같은 발효삼에 대한 높은 cytokine 분비량이 항암 활성에 직접적인 영향을 줄 수 있을 것으로 사료되며 이와 같은 발효삼 추출물의 배양일에 따른 면역세포의

저가 수삼을 이용한 상황과 누루궁뎅이 균사체 배양물의 면역활성 비교

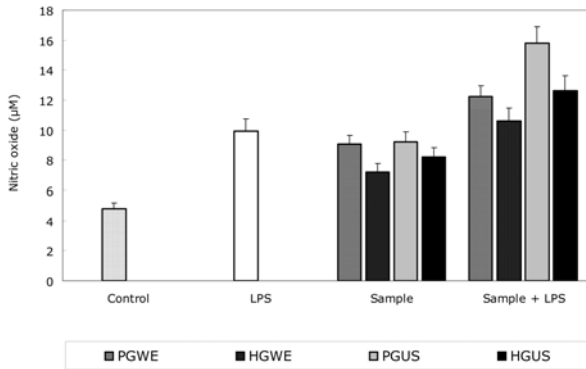


Fig. 3. Stimulation of nitric oxide production in adding ginseng extracts fermented by *Phelinus linteus* and *Hericium ermaecum* mycelium according to different extraction process.

[†]LPS: Positive control, lipopolysaccharide.

[‡]PGWE : *P. Linteus* fermented ginseng (water extraction), HGWE : *H. ermaecum* fermented ginseng (water extraction), PGUE : *P. Linteus* fermented ginseng (ultrasonification extraction), HGUE : *H. ermaecum* fermented ginseng (ultrasonification extraction).

*Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at $P < 0.05$.

농도 증가와 cytokine 분비량의 증가를 통하여 누루궁뎅이 발효삼 추출물의 면역활성과 관련하여 기능성 소재로서 활용 가능성이 있음을 확인할 수 있었으며, 초음파 추출공정을 통해 그 효과를 극대화 할 수 있을 것이라 사료된다.

4. Nitric oxide 측정

각 공정별로 추출한 상황버섯과 누루궁뎅이버섯 균사체로 발효시킨 발효삼 추출물을 이용하여 대식세포의 NO⁻ 생성능을 확인한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 대식세포의 NOS (nitric oxide synthetase)는 항상 존재하는 것이 아니라 interferon- γ , TNF- γ 또는 TNF- α 와 같은 여러 가지 cytokine 과 LPS (E. coli derived lipo-polysaccharide)와 같은 세균 내 독소에 노출되는 경우에만 NOS 유전자의 발현이 유도된다. 따라서 시료와 LPS를 같이 투여하여 대식세포로부터 NO⁻의 생성능을 확인할 수 있었다.

결과에서도 보여지듯이 LPS와 J774.1 세포주에 시료를 동시에 처리하여 이틀간 배양한 후 배양액 중에 NO⁻ 농도를 측정된 결과 NO⁻ 생성량이 증가하였다. 이러한 결과는 발효삼 추출물의 첨가를 통해 LPS 등 세균 내 독소와 함께 상승작용을 이루어 NO⁻ 생성능을 증진시킴으로써 면역체계에 활성 증진 효과를 나타낸 것으로 볼 수 있다. 이를 통해 모든 발효삼 추출물이 이러한 면역 증진 효과를 나타내며 특히 초음파 추출을 통한 상황버섯 발효삼이 샘플과 LPS를 함께 투여한 NO⁻ 생성능 측정에서 15.81 μ M로 가장 높은 수치를 보여주며 초음파 추출 공정을 통한 활성의 증대를 확인할 수 있었

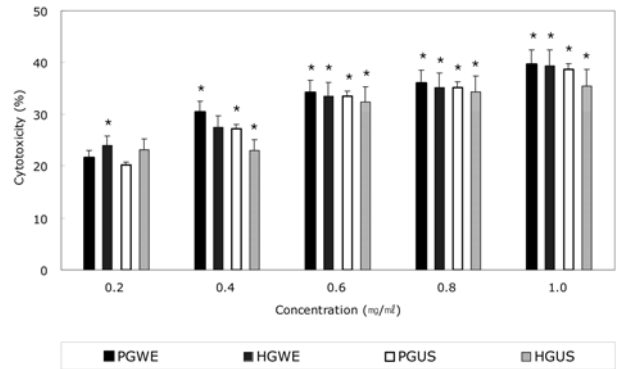


Fig. 4. Cytotoxicity of the fermented ginseng extracts on human normal cell line, HEK 293.

[†]PGWE : *P. Linteus* fermented ginseng (water extraction), HGWE : *H. ermaecum* fermented ginseng (water extraction), PGUE : *P. Linteus* fermented ginseng (ultrasonification extraction), HGUE : *H. ermaecum* fermented ginseng (ultrasonification extraction).

*Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at $P < 0.05$.

며, 이러한 맥락과 같이 누루궁뎅이버섯 발효삼 또한 초음파 공정을 통해 추출했을 때 49.08% 증가 됨을 보여주었다.

5. 세포독성 및 항암활성 측정

인간 정상 신장 세포 HEK293을 이용한 발효인삼의 추출공정별 세포독성을 비교한 측정된 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 초음파 추출을 통한 추출물에서 일반 열수 추출을 통한 추출물보다 2~11% 낮은 세포독성을 확인 할 수 있었다. 위와 같은 결과를 통해 초음파 추출공정이 세포독성을 저감 시키는 데에 기여한다고 사료되며 이는 초음파 추출 공정을 통한 공동현상으로 추출물 내 독성성분의 변성 및 파괴가 일어나기 때문인 것으로 사료된다. 세포독성을 측정된 결과 누루궁뎅이버섯 균사체를 이용한 발효삼에서 최고농도 1.0 mg/ml에서 35.48%의 가장 낮은 세포독성을 확인할 수 있었다. 또한 최대농도인 1.0 mg/ml에서 모든 조건의 추출물이 정상세포 생존율을 60% 이상으로 유지시키는 것으로 확인된 바 이는 인간 신장 정상 세포에 대한 안정성을 유지한다고 할 수 있다.

발효삼의 인간 폐암세포와 위암세포를 이용한 항암 활성을 측정된 결과는 Table 3에 비교하였다. 초음파 추출 공정을 통한 모든 추출물이 일반 열수 추출물과 비교하였을 때 높은 활성을 나타내었으며 누루궁뎅이 발효삼이 대체적으로 높은 항암활성을 갖는 것으로 확인되었다. 인간 위암세포인 AGS에 대한 가장 높은 항암활성을 나타낸 추출물은 초음파 공정을 통해 추출한 누루궁뎅이 균사체를 이용한 발효삼이었으며, 가장 높은 농도에서 75.32%의 활성을 나타내었으며, 선택적 사멸도는 3.50으로 마찬가지로 가장 높은 값을 나타내었다. A549를 통한 항암활성 측정 결과에서도 초음파 추출공정을 통

Table 3. Inhibitory effects of the ginseng extracts fermented by *Phelinus linteus* or *Hericium ernaceum* mycelium on the human lung carcinoma (A549) cell and the human stomach adenocarcinoma (AGS) cell lines and its selectivity.

Extraction process	Sample	Concentration (mg/ml)	Inhibition ratio (%)		Selectivity	
			A549	AGS	A549	AGS
Water extraction [†]	<i>P. linteus</i> fermented ginseng	0.2	19.69±0.7***	18.52±0.7***	0.92±0.02***	0.86±0.01***
		0.4	34.19±1.4	30.36±1.1*	1.12±0.02	1.41±0.03*
		0.6	45.90±1.7**	39.58±1.3	1.34±0.03**	1.84±0.05
		0.8	55.94±1.9***	53.39±1.7**	1.55±0.03***	2.48±0.10**
		1.0	63.75±2.1***	58.92±1.9***	1.61±0.04***	2.74±0.11***
	<i>H. erimaceum</i> fermented ginseng	0.2	21.36±0.8**	23.01±0.9**	0.89±0.01**	1.07±0.02**
		0.4	39.21±1.2*	44.42±1.5***	1.43±0.03*	2.06±0.08***
		0.6	55.38±1.7***	49.42±1.8	1.66±0.04***	2.30±0.09
		0.8	61.52±2.2	59.43±2.1*	1.65±0.04	2.76±0.12*
		1.0	65.42±2.6***	65.99±2.8***	1.66±0.04***	3.07±0.15***
US extraction [‡]	<i>P. linteus</i> fermented ginseng	0.2	16.90±0.4**	33.89±1.2**	0.84±0.01**	1.57±0.04**
		0.4	44.79±1.7**	41.48±1.4**	1.64±0.03**	1.93±0.06**
		0.6	59.84±2.2***	50.81±1.5	1.79±0.05***	2.83±0.13
		0.8	56.50±2.0***	65.82±2.9	1.60±0.04***	3.06±0.15
		1.0	67.09±3.0*	67.37±3.1**	1.73±0.05*	3.13±0.17**
	<i>H. erimaceum</i> fermented ginseng	0.2	26.38±1.1	32.85±1.7*	1.14±0.03	1.53±0.03*
		0.4	48.13±1.6***	43.73±1.7	1.62±0.03***	2.03±0.07
		0.6	57.61±2.1***	63.58±2.5***	1.78±0.06***	2.95±0.12***
		0.8	63.19±2.6*	67.03±2.9***	1.84±0.06*	3.12±0.19***
		1.0	69.33±3.3***	75.32±3.7***	1.95±0.07***	3.50±0.22***

[†]Extracted at with water 100°C for 60 min, 3 times.

[‡]Extracted with ultrasonification at 60°C for 60 min.

[§]Results are expressed as mean ± S.D. of triplicate determinations. Each value were significant compared with control **P* < 0.001, ***P* < 0.005, ****P* < 0.01.

한 노루궁뎅이 발효삼이 최고농도 1.0 mg/ml에서 69.33%의 항암활성과 1.95의 선택적 사멸도를 나타내어 가장 높은 활성을 확인할 수 있었다. 암환자에 대해 Bcl-2의 면역원성을 보고한 연구에서 면역반응의 특이성과 면역정찰 능력 및 전이방지 능력을 이용한 면역요법으로 종양을 치료한 바 (Andersen *et al.*, 2005)와 같이 이와 같이 버섯 균사체를 이용한 인삼의 발효를 통해 유용 성분의 증가 및 생성이 이루어짐에 따라 면역 활성이 증가됨과 함께 이러한 활성성분이 단순히 면역 활성 뿐 만 아니라 항암 활성에도 영향을 미치는 것이라 사료되며 가시적으로 면역 활성의 증가가 항암 활성과 무관하지 않다는 것을 확인 할 수 있다.

6. 발효 인삼 및 균사체의 ginsenoside 분석

상기의 연구 결과 노루궁뎅이 발효 인삼의 생리활성이 전반적으로 높게 나타난 것을 미루어보아 버섯 균사체를 통한 발효 인삼은 균사체의 종류에 따라 활성 성분에 차이가 있다고

사료되어 상황 발효 인삼과 노루궁뎅이 발효 인삼의 활성 성분을 HPLC를 통해 비교하여 Fig. 5에 나타내었다. 동시에 노루궁뎅이 균사체 성분과의 비교를 통해 수삼의 균사체 배양을 통한 성분의 변화를 알아보았다. 그 결과 상황 발효 인삼(a)과 비교하여 노루궁뎅이 발효 인삼 (b)에서 ginsenoside의 함량이 높게 나타났으며 또한 일반 노루궁뎅이 버섯 균사체와 비교하여 노루궁뎅이 발효 인삼에서 Rb₁, Rb₂ 및 Rb₃의 높은 함량을 확인할 수 있었다. 상기 결과를 종합하여 볼 때 균사체 발효 인삼의 유용 생리활성은 수삼을 이용한 균사체의 배양을 통해 활성 성분의 증가에 기인한 것으로 사료되며, 상황버섯 균사체보다 노루궁뎅이 버섯 균사체를 이용한 발효 인삼이 면역활성을 갖는 식품 소재로서의 가능성이 높다고 사료된다. 하지만 본 연구의 분석결과 이러한 활성 성분의 차이가 미미한 것으로 나타나, 향후 발효 인삼의 활성 성분의 규명과 이를 통한 생리활성 및 그 기작에 관한 연구가 필수적일 것이라 사료된다.

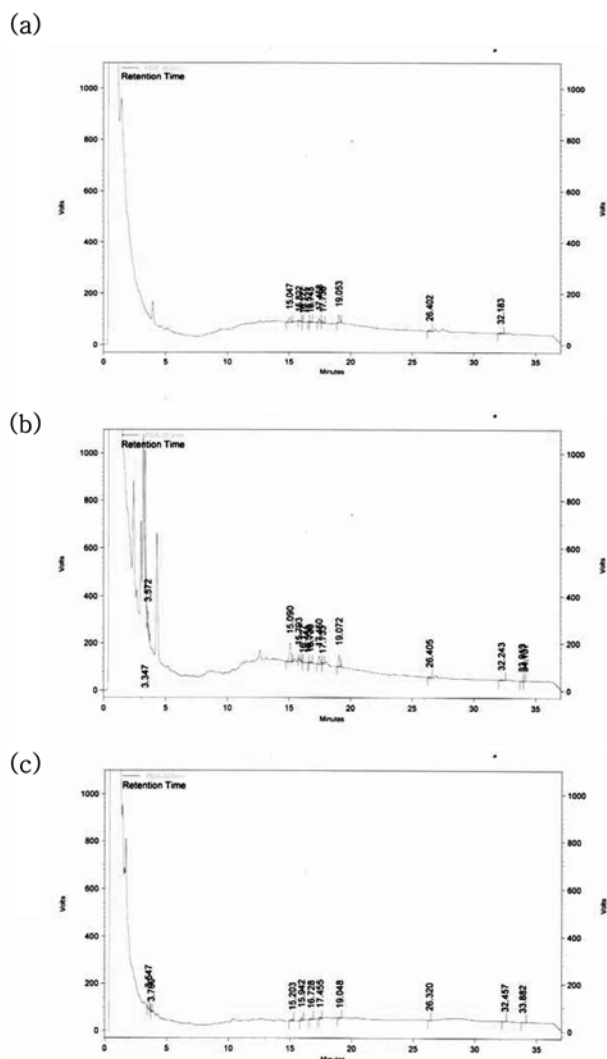


Fig. 5. HPLC Chromatograms of ginsenosides from the ginseng fermented by *Phelinus linteus* or *Hericium ernaceum* mycelium.

†(a) Fermented ginseng by *Phelinus linteus* mycelium, (b) Fermented ginseng by *Hericium ernaceum* mycelium, (c) *Hericium ernaceum* mycelium.

감사의 글

본 연구논문은 2009년도 농촌진흥청에서 시행한 바이오그린21 (과제번호 : 20080401034)사업의 지원에 의해 얻은 결과이므로 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

Andersen MII, Svane IM, Kvistborg P, Nielsen OJ, Balsley E, Reger S, Becker JC and Straten PT. (2005). Immunogenicity

of Bcl-2 in patients with cancer. *Immunobiology*. 105:728-734.

Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200.

Choi MA, Park NY, Woo SM, Jeong YJ and Shin SR. (2003). Characteristics of *Hericium erinaceus* and its extracts. *Korean Journal of Food Preservation*. 10:560-564.

Ding AH, Nathan CF and Stuhr DJ. (1998). Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. *Journal of Immunology*. 141:2407-2412.

Doll R and Peto R. (1983). The cause of cancer : quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *Journal of the National Cancer Institute*. 66:191-308.

Kim KH, Lee IR, Jung IS, Chung HY and Yun YS. (1998). The pattern of cytokine mRNA expression induced by polysaccharide from *panax ginseng* C.A. Meyer. *Journal of Ginseng Research*. 22:324-330.

Han BH, Park MH and Han YN. (1981). Studies on the antioxidant compounds of Korean ginseng (III). Identification of phenilic acid. *Archives of Pharmacal Research*. 4:53-58.

Han BH, Park MH, Cho JY, Park JS, Yoo ES and Baik KU. (1998). Effect of ginsenoside from *panax ginseng* on TNF- α production and T cell proliferation. *Yakhak Hoeji*. 42:296-301.

Hong BK, Eom SH, Lee CO, Jeong JH, Kim JK, Cho DH, Yu CY, Kwon YS and Kim MJ. (2007). Biological activities and bioactive compound in the extract of *Acer tegmentosum* Maxim. *Stem*. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 15:296-303.

Hwang EY and Choi SY. (2006). Quantitative analysis of phenolic compounds in different parts of *Panax ginseng* C.A. Meyer and its inhibitory effect on melanin biosynthesis. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 14:148-152.

Jee HK, Cho YJ, Kim CT, Jang YS and Kim CJ. (2006). Increase of solubility of *Ginseng Radix* by extrusion cooking. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 38:361-368.

Jung JH, Lee KW and Lee SY. (2007). Some *in-vitro* and *in-vivo* biology activities of hot water extracts from fruit body and cultured mycelium of *Hericium ernaceum*. *Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering*. 22:22-29.

Kang TS, Lee MY, Baik SH, Jeong HS, Park HJ, Kong YJ and Jung IS. (2005). Effect of oat soluble β -glucan on glucose dialysis retardation and blood glucose in diabetic rats. *Food Engineering Progress*. 9:88-96.

Kawagishi H, Shimada A, Hosokawa S, Mori H, Sakamoto H, Lshiguro, Sakemi S, Bordner J, Kojima and Furukawa S. (1996). Erinacines E, F and G stimulators of nerve growth factor(NGF)-synthesis from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Tetrahedron Letters*. 37:7299-7402.

Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR and Rhyu MR. (2004). Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 36:333-338.

Kim GS, Hyun DY, Kim YO, Lee SW, Kim YC, Lee SE, Son YD, Lee MJ, Park CB, Park HK, Cha SW and Song KS. (2008). Extraction and preprocessing methods for ginsenosides analysis of *Panax ginseng* C.A. Mayer. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 16:446-454.

Kwon MC, Kim CH, Na CS, Kwak HG, Kim JC and Lee HY.

- (2007). Comparison of immuno-modulatory regulatory activities of *Rubus coreanus* Miquel by ultra high pressure extracts process. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 15:398-404.
- Kwon MC, Han JG, Jeong HS, Qadir SA and Choi UB.** (2008). Enhancement of immune activities of *Opuntia ficus-indica* L. var. Miller by ultrasonification extraction process. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 16:1-8.
- Lee JW, Do JH, Lee Sk and Yang JW.** (2000). Determination of total phenolic compounds from korean red ginseng, and their extraction conditions. Journal of Ginseng Research. 24:64-67.
- Lee KJ and Um BH.** (2008). Extraxtion of useful component from natural plants using ultrasound system. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering. 23:101-108.
- Lee SM, Lee SB and Lee MC.** (2006). The effect of *Phellinus Igniarius* extract Administration on exercise-performing ability, the lever of muscle fatigue and antioxidant system. The Korean Journal of Exercise Nutrition. 10:173-179.
- Park CK, Jeon BS and Yang JW.** (2003). The chemical components of korean ginseng. Food Industry and Nutrition. 9:10-23.
- Park JD.** (1996). Recent studies on the chemical constituents of korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). Journal of Ginseng Research. 20:389-415.
- Park JH, Lee HS, Mun HC, Kim DH, Seong NS, Jung HG, Bang JK and Lee HY.** (2004). Improvement of anticancer activation of ultrasonificaited extraxts from *Acanthopanax senticosus* Harms, *Ephedra sinica* Stapf, *Rubus coreanus* Miq, and *Artemisia capillaris* Thunb. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 12:273-278.
- Park SH, Chang JS and Lee KR.** (2003). Effect of *Hericium erinaceus* extract on cancer cell growth and expression of cell cycle associated proteins. Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition. 32:931-936.
- Rhee YK, Han MJ, Park SY and Kim DH.** (2000). *In vitro* and *in vivo* antitumor activity of the fruit body of *Phellinus linteus*. Korean Journal of Food Science and Technology. 32:477-480.
- Ryu JH, Li CY, Ahn MS, Kim JW, Kang WS and Rhee HI.** (2008). The conversion of ginsenosides by extrusion molding. Korean Society for Applied Biological Chemistry. 51:114-118.
- Seo JH.** (2007). The effects of *Phellinus Linteus* administration on lymphocyte sobset and cytokines of blood by athletic player. The Korean Journal of Exercise Nutrition. 11:109-116.
- Sohn EH, Roh HS, Park YS, Sohn ES, Kang SC, Kang NS and Pyo SK.** (2008). *Phellinus linteus*; Market and technology trends analysis. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering. 23:109-117.
- Sung JH, Choi DH, Kim DH, Chun BG and Choi SH.** (2004). White ginseng saponin upregulated the production of TNF- α , IL-1 β , and NO in primary cultures of mixed glial cells. Journal of Ginseng Research. 29:120-126.
- Wee JJ, Park JD and Kim MW.** (1989). Isolation of phenolic actioxidant components from *Panax ginseng*. Korean Society for Applied Biological Chemistry. 32:44-49.
- Yoo BS, Lee HJ and Byun SY.** (2000). Differences in phenolic compounds between Korean ginseng and mountain ginseng. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering. 15:120-124.