

Anti-oxidant and Anti-proliferative Effects of Water Extract Mixture of *Cordyceps Militaris* and *Allium Tuberosum*

Seong-Min Hong¹, Hyun-Dong Cho², Jeong-Ho Kim³, Jae-Yoon Lee⁴, Jeong-Mee Park⁵ and Kwon-II Seo^{6*}

¹Institute of Agricultural Life Sciences, Dong-A University, Busan 49315, Korea

²Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

³Department of Food Nutrition, Suncheon National University, Suncheon, Jeonnam 57922, Korea

⁴Chungwon Products, Gimhae, Gyeongnam 50879, Korea

⁵Department of Subdivision of Cosmetology, Kyungnam College of Information and Technology, Busan 47011, Korea

⁶Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 49315, Korea

Received May 12, 2016 / Revised June 2, 2016 / Accepted June 14, 2016

The present study was performed to evaluate the anti-oxidant and anti-proliferating activity of the water extract mixture of *Cordyceps militaris* (CM) and *Allium tuberosum* (AT). The water extract mixture rate of CM and AT was optimized by means of a sensory evaluation test. The optimized mixture rate were decided at 70% of CM, 30% of AT, and 10% of apple concentrate as an additive. The values of total acidity, pH, sugar contents, and turbidity of the water extract mixture were 0.1%, 4.28, 9.10 °Brix, and 1.48 respectively. The water extract mixture had effective DPPH radical scavenging activity, reducing power effect, and ABTS radical activity. DPPH radical activities of the water extract and the water extract mixture were 43.2% and 51.7% respectively; their reducing power (OD₇₀₀) was 1.14 and 1.43 respectively; and ABTS⁺ radical activities were 47.1% and 62.2% respectively. Also, the water extract mixture showed a higher anti-proliferating effect than the AT extract on human prostate cancer cells. These results provided experimental evidence that the water extract mixture of CM and AT is a better source of anti-oxidant and anti-cancer ingredients than a single extract of CM. In conclusion, the water extract mixture of CM and AT will be beneficial in development of a functional drink.

Key words : *Allium Tuberosum*, antioxidant, antiproliferating, *Cordyceps Militaris*, water extract mixture

서 론

동충하초(*Cordyceps militaris*, CM)는 겨울에 곤충의 체내에 서식하면서 영양분을 흡수하고 여름에 숙주를 파괴시켜 곤충의 밖으로 자실체가 자라나는 버섯의 하나이다[4]. 동충하초는 자낭균강(Ascomycota), 맥각균목(Clavicipitales), 맥각균과(Clavicipitaceae)에 속하고 세계 각지에서 채집이 가능하며, 현재까지 수 백 여종이 알려져 있다[23]. 동충하초 속에는 Cordycepin (3'-deoxyadenosine)이라는 생리활성 성분이 다량 존재하고 있어 면역력 증강, 노화억제, 피로회복 등과 같은 효능이 있는 것으로 보고되어 있다[8, 15, 19]. 국내에서도 이러한 생리활성 효능들이 널리 알려지면서 동충하초의 재배지역

이 확산되고 있는 추세이다[14]. 최근 곤충류에 나타나는 유충기와 성충기 사이의 정지적 발육단계인 번데기상태를 활용하여 동충하초를 재배하는 기술법이 개발됨에 따라 재배 농가가 증가되고 있는 추세이다[11]. 또한, 재배면적확장에 따른 생산량의 증대로 이를 유용하게 활용하기 위해 식품가공소재에 접목시키고 있으나 현재까지는 단순한 1차가공품으로만 이용되고 있을 뿐 뚜렷한 기능성 가공식품이 없는 실정이다[21].

부추(*Allium tuberosum*, AT)는 백합과 *Allium* 속에 속하는 다년생 초본으로 우리나라 외에도 일본, 중국 등에도 분포하는 식물이다[1]. 예로부터 부추는 특유의 맛과 향취에 의해 우리나라에서 기호도가 높은 향신채소로 이용되었으며, 맛이 맵고 성질이 따뜻하다고 하여 소염, 해독작용 및 지혈작용 등과 같은 민간요법에 사용되었다[1]. 부추는 또한 비타민 B₁과 결합체를 이루어 체내흡수를 돕는다고 알려져 있으며, 소화력 증진, 살균작용, 항돌연변이 및 항암효과 등이 보고되어 있다[2, 7, 16]. 특히, Kwak 등[16]은 부추가 암 중에서도 전립선암을 예방하는 효능이 뛰어나다고 보고하였으며, 이를 기능성식품의 가공소재로 이용한다면 소재의 고부가가치화를 통해 가공산업의 발전에 기여할 수 있을 것으로 예상된다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7565, Fax : +82-51-200-6536

E-mail : kseo@dau.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

최근까지의 연구동향으로서 동충하초 및 부추에 관한 효능이 알려지면서 식품으로 응용하고 있으나, 각각의 향미와 맛이 강해 실용화 할 수 있는 식품의 개발에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 또한, 다양한 생리활성 효능이 알려짐에 따라 동충하초 및 부추를 혼합하여 응용할 경우 기능성이 더욱 증대될 것으로 예상되지만, 이들의 단일추출물과 비교하여 혼합물의 생리활성효능에 대한 평가에 대한 연구는 아직 이루어지지 않았다. 따라서 본 연구에서는 기능성음료의 소재화를 위하여 관능검사를 통해서 적절한 동충하초 및 부추 추출물의 최적 배합비율을 확립하였고, 이의 항산화 및 암세포 성장억제 효능을 동충하초 단일추출물과 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

동충하초 및 부추 물추출물의 제조

동충하초 분말은 청원농산으로부터 제공받아 -20℃의 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 번데기 동충하초 분말 100 g에 1 l의 증류수를 가하여 120℃로 3시간 열수추출 하였다. 열수추출물은 탈취공정을 위해 다시 100℃로 8시간을 가열하고 필터 및 원심분리하여 고형분을 제거하였다. 최종적으로 열수추출물에 증류수로 총 volume을 1 l로 맞춘 후 추출물 혼합액 제조에 이용하였다.

부추는 생체를 잘게 절단하여 100 g에 1 l의 증류수를 가하고 120℃로 3시간 고압열수추출 하였다. 이는 필터 및 원심분리하여 고형분을 제거하고 증류수로 총 volume을 1 l로 맞춘 후 추출물 혼합액 제조에 이용하였다.

관능검사를 통한 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 기호도 분석

동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 배합비율에 따른 관능적 특성을 평가하고 소비자들이 선호하는 최적의 배합비율을 찾기 위하여 각각의 추출물과 첨가물의 배합비율을 달리하여 제조한 음료를 대상으로 실시하였다. 선정된 관능요인으로는 충분한 훈련을 거쳐 품질차이를 식별할 수 있는 능력이 갖추어진 20대 대학생 30명을 선별하여 실시하였다. 평가방법은 색깔(Color), 향(Flavor), 풀향(Grass smell), 이취(Off flavor), 단맛(Sweetness), 전반적인 기호도 (Overall palatability) 등에 대하여 5점 체점법을 이용하여 실시하였으며, 관능검사 항목에 대하여(매우 좋다: 5점, 좋다: 4점, 보통이다: 3점, 좋지 않다: 2점, 매우 좋지 않다: 1점)평가하였다.

동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 이화학적 특성

pH는 pH meter (Metrohm 691, Swiss)를 사용하여 측정하였으며, 총 산도는 6배로 희석한 시료 5 ml를 pH 8.3이 될 때까지 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 100 ml당 acetic acid의 양으로써 표기하였다. 당도는 300 μ l를 취하여 당도계

(Atago Pocket PAL-3, Atago Co., Japan)를 사용하여 측정하고 °Brix (%)로 표기하였다. 음료원액의 탁도는 650 nm에서 흡광도계(U-1800, Hitachi, Japan)를 사용하여 3회 반복 측정 후 평균값으로 나타내었다.

DPPH radical 소거능

각 시료의 농도별에 대한 DPPH radical 소거활성은 Blois 방법[6]에 대한 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazine (DPPH)의 환원성을 이용하여 517 nm에 UV/Vis-spectrometer (Hitachi, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 동충하초의 단일추출물, 동충하초 및 부추 혼합 물추출물 및 양성 대조군(positive control)으로 사용한 0.1% dibutylated hydroxytoluene (BHT)와 0.1% α -tocopherol 용액 1 ml을 4×10^{-4} M DPPH 용액 3 ml과 함께 5초 동안 vortex mixer로 혼합하여 첨가한 후, 이를 30분간 암소에서 반응시켜 흡광도를 측정하였다. Control은 시료 대신 에탄올 1 ml를 첨가하여 control에 대한 흡광도의 감소비율로 나타내었다.

환원력 측정

시료의 환원력은 Yildirim 등의 방법[25]의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 동충하초의 단일추출물, 동충하초 및 부추 혼합 물추출물 및 양성 대조군 1 ml에 2.5 ml의 인산완충용액 (0.2 M, pH 6.6)과 2.5 ml의 potassium ferricyanide (1%, w/v)를 첨가하여 섞은 후, 50℃로 유지하면서 30분간 반응시켰다. 반응액에 2.5 ml의 trichloroacetic acid (10%, w/v)를 첨가한 후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 하였다. 상층액의 1 ml를 취해 시험관에 담고 1 ml의 증류수와 0.2 ml의 FeCl₃ (0.1%, w/v)을 첨가하여 700 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer (Hitachi)로 흡광도를 측정하였다.

ABTS⁺ radical 소거능

시료에 대한 ABTS⁺ radical 소거능은 Biglari 등의 방법[5]을 변형하여 측정 하였다. 7 mM 2,2-azobis (2-aminopropane) dihydrochloride (AAPH)는 2.45 mM의 ABTS와 혼합한 후 23℃의 암소에서 16시간 동안 반응시켰다. ABTS용액의 농도는 734 nm에서 흡광도가 0.700±0.005 정도가 되도록 조정하였다. 동충하초의 단일추출물, 동충하초 및 부추 혼합 물추출물 및 양성 대조군 0.1 ml과 3.9 ml의 ABTS 용액을 혼합한 후 23℃에서 6분간 반응시키면서 734 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer (Hitachi)로 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군은 0.1% BHT와 0.1% α -tocopherol을 사용하였다. ABTS radical 소거능은 다음의 식에 따라 계산하였다.

$$\text{Scavenging activity (\%)} = (\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}) / \text{Control O.D.} \times 100$$

암세포 배양

본 실험에 사용한 LNCaP 세포는 암세포 한국세포주은행

(KCLB)에서 분양 받았으며, primary 인체 전립선 암세포인 RC-58T/h/SA#4 세포는 Center for Prostate Disease Research (Department of Surgery, Uniformed Services University of Health Sciences, Bethesda, MD, USA)로 부터 분양 받아 100 unit/ml의 Antibiotic Antimycotic (GIBCO®/Invitrogen™, Gran Island, NY, USA)와 10% FBS (Fetal Bovine Serum, GIBCO®/Invitrogen™)가 첨가된 DMEM (GIBCO®/Invitrogen™)을 이용하여 37°C, 5% CO₂ incubator(Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)에서 계대배양하여 사용하였다.

암세포 증식 억제능 측정

암세포 증식 억제능은 sulforhodamine B (SRB, Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)법을 이용하여 측정하였다. SRB법은 생존 세포 내의 단백질 총량을 흡광도로 나타내어 세포 사멸 정도를 확인하는 방법이다. Trichloroacetic acid (TCA, Sigma-Aldrich Co.)에 의해 생존 세포만 well plate에 부착되며 이 세포의 단백질 내 염기성 아미노산 잔기가 SRB와 결합하여 마지막에 처리하는 Tris buffer에 녹아나와 흡광도를 나타낸다[24]. 암세포 증식 억제능은 세포를 2×10⁴ cells/mL가 되도록 희석하여 48 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 시료를 첨가하고 24시간 동안 반응시켰다. 24시간 후 12% TCA를 넣어 4°C에서 세포를 고정시키고 well을 세척한 후 0.4% SRB 용액을 첨가하여 염색하였다. 염색 종료 후 1% acetic acid (Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Japan)로 세척하고 10 mM Tris buffer (Sigma-Aldrich Co.)를 첨가 하여 SRB를 녹였다. 상등액을 96 well plate에 옮겨 microplate reader (Titertek Multiscan Plus, Labsystems, Espoo, Finland)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

암세포 형태의 관찰

암세포 형태의 관찰 암세포를 1×10⁵ cells/mL가 되도록 희석하여 6 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하여 시료를 well plate에 처리하고 24시간 동안 반응시켰다. 이후 세포의 형태학적 변화는 200배율의 광학

현미경(Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)을 이용하여 관찰하고 사진을 촬영하였다.

통계처리

관능검사 결과의 통계분석은 SPSS Statistics 11.0 통계 프로그램을 사용하여 Mean ± SEM로 표시였으며, 각 시료군 간의 유의적인 변화는 one-way ANOVA로 분석하여 Duncan's multiple range test를 실시하여 분석하였다. 그 외 실험결과는 3 반복에 대한 평균 및 표준편차로 표시하였으며, 각 군 간의 통계적 유의성에 대한 검증은 Student's t-test를 실시하여 유의성 여부를 판정하였다(* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001).

결과 및 고찰

동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 관능적 특성

동충하초 및 부추 물추출물은 풀향(grass smell)과 산미(sourness)가 강하기 때문에 음료로 이용하기 쉽지 않다. 따라서 각 추출물을 함유한 용액의 배합비율을 조절하거나 첨가물을 배합한다면 음료소재로서 활용이 가능할 것으로 추측하였다. 동충하초 및 부추 물추출물의 배합비율 조절과 사과농축액의 첨가를 통해 혼합 추출물을 제조한 후 관능검사를 실시하여 전반적인 기호도가 가장 높은 최적 배합비율을 결정할 결과는 Table 1과 Table 2와 같다. 동충하초 물추출물과 부추 물추출물의 비율을 각각 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10으로 배합하여 관능 평가를 실시하였을 때 50:50 및 60:40에서는 풀향에서 높은 점수를 나타내었으며, 전체적인 기호도도 다른 군과 비교하여 낮은 것으로 확인되었다(Table 1). 80:20 및 90:10에서는 풀향은 비교적 낮은 수치를 나타냈지만, 동충하초 추출물의 비율이 높아지면서 이취 점수가 높아지는 것으로 확인되었다(Table 1). 반면, 다른 군들과 비교하여 70:30에서는 맛(flavor)에서 다소 낮은 점수를 보였으나, 풀향 및 이취 또한 낮은 수치를 나타내어 전체적인 기호도가 가장 높은 것으로 확인되었다(Table 1).

가장 선호도가 높았던 배합비율인 70:30에 대하여 사과농축액을 이용하여 단맛 최적 첨가비율을 설정하고자 하였으며

Table 1. Sensory evaluation of the water extract mixture of CM and AT

Mixture ratio % (CM extract: AT extract)	Flavor ¹⁾	Off-flavor ²⁾	Grass smell ³⁾	Overall palatability ⁴⁾
50:50	2.67±0.79	3.22±0.22	4.34±0.46 ^d	2.71±0.29 ^b
60:40	2.72±0.29	3.31±0.32	3.21±0.35 ^c	2.93±0.57 ^{ab}
70:30	2.93±0.32	3.11±0.60	3.14±0.45 ^c	3.43±0.47 ^b
80:20	2.51±0.30	3.44±0.38	2.12±0.47 ^b	2.87±0.43 ^{ab}
90:10	2.75±0.98	3.65±0.41	1.43±0.26 ^a	2.66±0.38 ^a

Data values are expressed as mean ± SD (n=30).

^{a-d}: Values with the different letter are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

¹⁻⁴⁾ Scale: 1 = very bad, 5= very good.

Table 2. Sensory evaluation of the water extract mixture of CM and AT with apple concentrate

Mixture ratio % (Apple concentrate)	Sweetness ¹⁾	Flavor ²⁾	Grass smell ³⁾	Overall palatability ⁴⁾
5%	2.74±0.29 ^a	3.62±0.36	4.07±0.29 ^c	2.67±0.33 ^a
10%	3.60±0.45 ^b	3.88±0.41	3.39±0.46 ^b	3.27± 0.36 ^{bc}
15%	3.54±0.66 ^b	3.84±0.27	3.08±0.31 ^{ab}	3.36±0.22 ^c
20%	3.86±0.49 ^b	3.82±0.36	3.23±0.31 ^{ab}	2.77±0.59 ^{ab}
25%	4.14±0.42 ^b	4.04±0.38	2.77±0.29 ^a	2.63±0.38 ^a

Data values are expressed as mean ± SD (n=3).

^{a-c}: Values with the different letter are significantly different by Duncan's multiple range test (*p*<0.05).

¹⁻⁴⁾ Scale: 1 = very bad, 5= very good.

그 결과는 Table 2와 같다. 사과농축액 첨가비율에 따른 단맛 및 향의 수치는 일정한 경향을 나타내지 않았으며 풀향은 첨가비율이 높아질수록 낮은 점수를 보였다(Table 2). 사과농축액 비율 10%와 15%에서 전체적인 기호도가 각각 3.4점 및 3.3점으로 다른 군들과 비교하여 높은 점수를 기록하였으며, 수치상에서 거의 차이를 보이지 않았으므로 동충하초 및 부추 혼합 물추출물에 첨가한 사과농축액의 최적 배합비를 10%로 결정하였다. 상기 비율로 제조된 최종 혼합 물추출물의 종합적인 관능검사를 통해 색깔(Color), 향(Flavor), 풀냄새(Grass smell), 이취(Off flavor), 단맛(Sweetness), 전반적인 기호도(Overall palatability)를 알아본 결과 모두 보통(3.0) 이상으로 나타났으며, 특히 전체적인 기호도 또한 높은 점수를 기록하였다(Fig. 1). Jeong 등[10]은 Kefir 음료에 사과농축액을 첨가하였을 때 적당한 비율에서 향, 입안촉감, 전반적인 기호도가 증가하는 경향을 나타낸다고 보고하였다. 이를 통해 동충하초 추출물 및 부추 추출물의 이취와 풀향은 배합비율의 조절 및 사과농축액의 첨가를 통해 억제할 수 있는 것으로 판단된다.

동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 이화학적 특성

동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 총 산도, pH, 당도 및

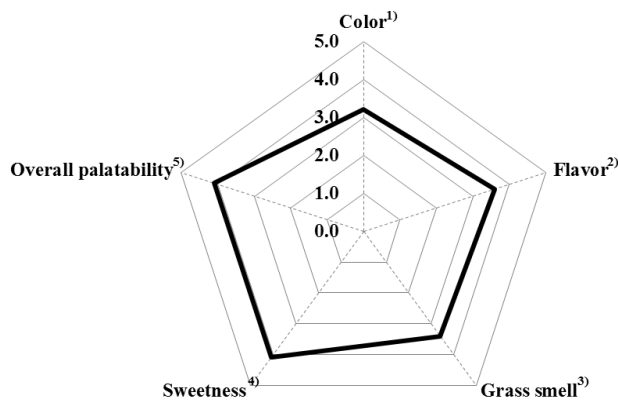


Fig. 1. Sensory evaluation of the water extract mixture of CM and AT with apple concentrate. Data values are expressed as mean (n=30). ¹⁻⁵⁾ Scale: 1 = very bad, 5= very good.

탁도를 측정된 결과는 Table 3과 같다. 최적 혼합 물추출물의 총 산도는 0.19%를 나타내었고 pH는 4.28이었으며, 당도와 탁도는 각각 9.1 °Brix 및 1.48로 확인되었다. Lee 등[17]은 눈꽃 동충하초를 이용한 민속주를 제조하였을 때 산도와 pH가 각각 0.34% 및 4.06이었다고 보고한 바 있으며 이는 본 연구의 결과와도 유사한 결과를 나타내었다. 또한, 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 높은 당도는 사과농축액의 첨가로 인한 결과로 판단된다.

동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 항산화능

지질, 단백질, 탄수화물, DNA와 같은 여러 가지 생물학적 분자들에 손상을 일으키는 활성 라디칼에 전자나 수소 원자를 공여하여 안전한 상태로 전환시키는 것을 항산화능이라 한다[12]. 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 항산화능을 측정하여 동충하초 물추출물과 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. DPPH radical 소거능에 사용되는 짙은 자색을 띠는 DPPH 시약은 비교적 안정한 free radical로써 천연 소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용된다[20]. 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 DPPH radical 소거능은 51.42%로 동충하초 단일추출물과 비교하여 9.23% 높은 항산화능을 나타내었다(Fig. 3A). 환원력은 시료에 존재하는 reductones가 제공하는 수소원자가 활성산소를 분해함으로써 항산화능을 나타내며 이를 측정하여 항산화 활성을 검정하는 수단으로 이용할 수 있다[13]. 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 환원력 수치는 1.42로 이는 동충하초 단일추출물과 비교하여 10.86% 높은 수치를 나타내었으며 DPPH radical과 유사한 경향을 보였다(Fig. 3B). ABTS⁺ radical 소거능은 ABTS⁺ free radical이 항산화 물질로

Table 3. Quality Characteristics of the water extract mixture of CM and AT with apple concentrate

	Beverage
Total acidity (%)	0.19±0.05
pH	4.28±0.12
Brix degree	9.10±0.37
Turbidity	1.48±0.04

Data values are expressed as mean ± SD (n=3).

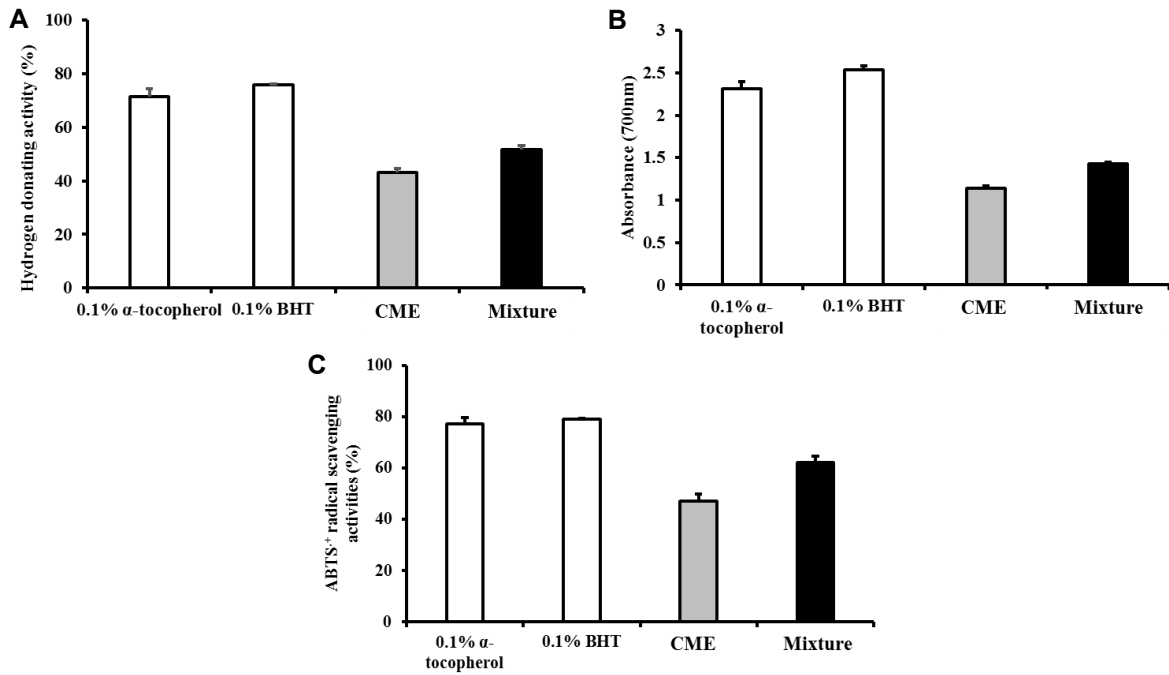


Fig. 2. Antioxidant activities of *Cordyceps militaris* extract (CME) and the water extract mixture of CM and AT. (A) DPPH radical scavenging activity, (B) reducing power effect and (C) ABTS⁺ radical scavenging activity. Data values are expressed as mean ± SD (n=3).

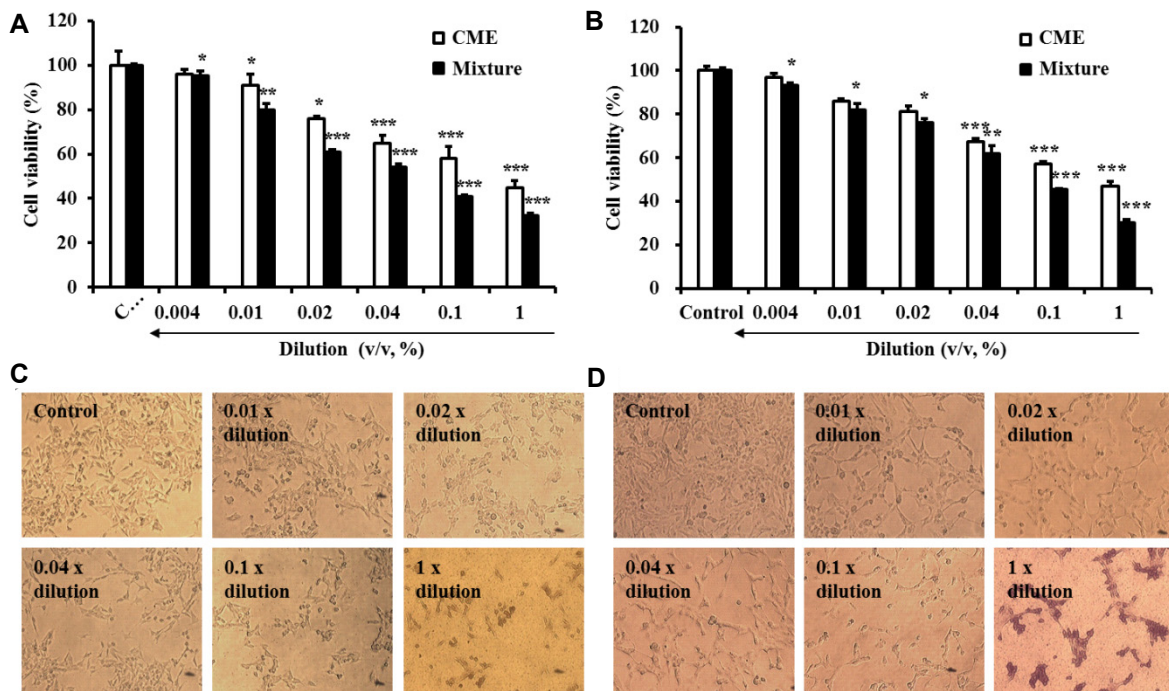


Fig. 3. Antiproliferation effects of CME and the water extract mixture of CM and AT on LNCaP and RC-58T/h/SA#4 human prostate cancer cells. (A) and (C); LNCaP cells, (B) and (D); RC-58T/h/SA#4 cells. Data values are expressed as the means ± SE. (n=3).

부터 수소를 받아 안정한 물질로 변함에 따라 radical 특유의 푸른색을 잃게 되는 원리를 이용한 방법이다[24]. 본 연구에서 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 ABTS radical 소거능은

62.97%로 이는 동충하초 단일추출물보다 15.32% 높게 나타났다(Fig. 3C). 전반적으로 동충하초 및 부추 혼합 추출물의 항산화능은 positive control인 0.1% α-tocopherol 및 BHT와 비교

하여 다소 낮은 수치를 기록하였지만, 동충하초 단일추출물보다 높은 수치를 보였다.

Choi 등[7]은 로스팅 커피 추출물과 홍삼 혼합추출물이 각 시료의 단독 추출물보다 DPPH radical 소거능이 증가된 것으로 보고한 바 있다. 이는 동충하초 단일추출물보다 동충하초 및 부추 혼합 추출물에서 항산화능이 높게 나타난 본 연구의 결과와 유사하였으며 물질의 혼합처리에 의한 시너지효과 때문인 것으로 판단된다. 또한, Ahn 등[3]은 동충하초 분말의 수용성추출물에서 에탄올 및 메탄올 추출물과 비교하여 높은 항산화 활성을 나타낸다고 보고하였다. 선행연구에서도 시료들을 열수추출물이 유기용매 추출물보다 높은 항산화 활성을 보였으며(data not shown), 이를 통해 동충하초 및 부추 혼합물추출물은 수용성 추출물이 최적의 항산화 활성을 가진다고 판단된다.

동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 암세포 성장억제 효능

활성산소는 노화, 암, 당뇨, 비만 등에 직간접적으로 관련이 있는 것으로 알려져 있기 때문에[22], 우수한 항산화 활성을 가진 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 처리가 전립선 암세포 생존율에 미치는 영향에 대하여 알아보았다. 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 전립선 암세포 성장억제효과를 정량적으로 측정하기 위하여 전이된 형태인 LNCaP 세포와 전이되지 않은 형태인 RC-58T/h/SA#4 세포의 성장억제 효과를 SRB assay를 이용하여 확인한 결과는 Fig. 4A와 같다. LNCaP 및 RC-58T/h/SA#4 세포에서 혼합 물추출물을 농도 별로 희석하여 처리하였을 때 control과 비교하여 1% 희석액부터 원액까지 유의적으로 세포의 성장이 억제되는 것을 확인하였으나 동충하초 단일추출물은 2% 희석액부터 원액까지 유의적인 세포 성장억제 효과를 보였다(Fig. 4A). 또한 LNCaP 및 RC-58T/h/SA#4 세포의 성장억제효과를 형태학적으로 확인한 결과 농도의존적으로 세포막의 수축 및 부유세포의 증가와 같은 형태학적 변화로 인해 성장이 억제되는 현상을 보였으며 이는 세포 성장억제 효능과 유사한 경향을 나타내었다(Fig. 4C, Fig. 4D).

Heo 등[9]은 동충하초 균사 추출물의 처리가 B16 악성흑색종 세포에서 약 50%가량의 성장억제율을 나타낸다고 보고하였으며, Lee 등[18]은 동충하초로부터 분리된 cordycepin의 처리가 전립선 암세포의 apoptosis 및 autophagy를 유도한다고 보고하였다. 이상의 연구와 유사하게 본 연구에서도 동충하초 단일추출물의 항암활성을 확인할 수 있었으며, 동충하초 및 부추 혼합 물추출물이 동충하초 단일추출물과 비교하여 높은 전립선 암세포의 성장억제효능을 나타내어 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 처리가 전립선 암세포의 성장억제 및 사멸에 더 효과적임을 확인하였다. 이후 동충하초 및 부추 혼합 물추출물에서 주요한 생리활성 성분을 분리 및 정제하여 효능과 기전에 대한 상세한 검증이 필요하다고 판단되며, 이를 효과

적인 건강기능식품 소재 및 원료로서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 동아대학교 산학협력선도대학육성사업단의 지원으로 수행하였기에 이에 감사드립니다.

References

- Baek, Y. H. and Lee, S. H. 2010. The effect of aerobic exercise and allium tuberosum intake on blood lipids MDA and antioxidant enzyme in rats. *J. Life Sci.* **20**, 245-252.
- Ahn, M. S., Kim, H. J. and Seo, M. S. 2005. The antioxidative and antimicrobial activities of three species of leeks (*Allium tuberosum* R.) ethanol extracts. *Kor. J. Food Clut.* **20**, 186-193.
- Ahn, H. Y., Cha, J. Y., Jeong, Y. K. and Cho, Y. S. 2013. Antioxidative activity and chemical characteristics of cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* JLM0636 Powder. *J. Life Sci.* **23**, 249-258.
- Bea, J. T., Shina, J., Park, J. P., Song, C. H. and Yun, J. W. 2000. Optimization of submerged cultures conditions for exo-biopolymer production of by *Paecilomyces japonica*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **10**, 482-487.
- Biglari, F., Aikarkhi, A. M. F. and Easa, A. M. 2008. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem.* **107**, 1636-1641.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
- Choi, J. S., Kim, J. Y., Lee, J. H., Young, H. S. and Lee, T. W. 1992. Isolation of adenosine and free amino acid composition from the leaves of *Allium tuberosum*. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**, 286-290.
- Furuya, T., Hirotani, M. and Matsuzawa, M. 1983. N⁶-(2-hydroxyethyl) adenosine, a biologically active compound from cultured mycelia of *Cordyceps* and *Isaria* species. *Phytochemistry* **22**, 2509-2512.
- Heo, J. C., Nam, S. H., Kang, S. W. Hong, I. P., Lee, K. I., Park, J. Y., Kim, K. H., Han, S. Y. and Lee, S. H. 2007. Comparison of antioxidant, anticancer and immunomodulating activities of extracts from *DongChongXiaCao*. *Kor. J. Food. Preserv.* **14**, 681-687.
- Jeong, K. H., Choi, J. H., Lee, J. M., Lee, J. H., Jang, S. Y. and Jeong, Y. J. Fermentation characteristic of Kefir beverage added fruit juice. *Food Ind. Nutr.* **7**, 35-38.
- Jo, Y. Y., Kweon, H. Y., Lee, K. G., Kim, H. B. and Kim, K. Y. 2015. Effect of silkworm varieties on *Paecilomyces tenuipes* culture. *J. Seric. Entomol. Sci.* **53**, 87-91.
- Kang, S. R., Shin, M. O., Kim, S. G., Lee, S. H. and Kim, M. 2009. Antioxidative activity of pine (*Pinus densiflora*) needle extracts in rats fed high-cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 423-429.
- Kang, H. I., Kim, J. Y., Kwon, S. J., Park, K. W., Kang, J.

- S. and Seo, K. I. 2010. Antioxidative effects of peanut sprout extracts. *Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **397**, 941-946.
14. Kim, J. Y. 2013. Development and industrialization of functional bioactive material from the medicinal plant. *Food Ind. Nutr.* **12**, 1-6.
15. Kuo, Y. C., Lin, C. Y., Tsa, W. J., Wu, C. L., Chen, C. F. and Shiao, M. S. 1994. Growth inhibitors against tumor cells in *Cordyceps sinensis* other than *Cordycepin* and polysaccharides. *Cancer Invest.* **12**, 611-615.
16. Kwak, Y. J., Jun, H. J., Lee, M. J., Kwon, T. W. and Kim, J. S. 1998. Modulation of anticarcinogenic enzyme and plasma testosterone level in male mouse fed leek-supplemented diet. *J. Kor. Food Soc. Food Nutr.* **27**, 968-972.
17. Lee, D. H., Kim, J. H., Kim, N. M., Pack, J. S. and Lee, J. S. 2002. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquors by using *Paecilomyces japonica*. *Kor. J. Mycol.* **30**, 142-146.
18. Lee, H. H., Kim, S. O., Kim, G. Y., Moon, S. K., Kim, W. J., Jeong, Y. K., Yoo, Y. H. and Choi, Y. H. 2014. Involvement of autophagy in cordycepin-induced apoptosis in human prostate carcinoma LNCaP cells. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **38**, 239-250.
19. Lee, S. H., Yoon, Y. J., Ko, S. S. and Lee, J. I. 2004. Effects of *Cordyceps militaris* on maximal aerobic power and recovery of fatigue. *Kor. J. Health Promot.* **3**, 51-57.
20. Lee, J. M., Chung, H., Chang, P. S. and Lee, J. H. 2007. Development of a methods predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-dephenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *Food Chem.* **103**, 662-669.
21. Lim, T. S., Oh, H. I., Do, J. R. and Kim, H. K. 2006. Physiological activities of leek extracts from *Allium tuberosum* and *Allium senescens*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 301-306.
22. Oh, Y. N., Jin, S. J., Park, H. J., Kwon, H. J. and Kim, B. W. 2014. Anti-oxidative and anti-cancer activities by cell cycle regulation of *Salsola collina* extract. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **42**, 73-81.
23. Shim, J. O., Son, S. G., Yoon, S. O., Lee, Y. S., Lee, T. S., Lee, S. S. Lee, K. D. and Lee, M. D. 1998. The optimal factors for the mycelial growth of *Sparasis crispa*. *Kor. J. Mycol.* **26**, 36-46.
24. Van den Berg, R., Haenenm, G. R., Van den Berg, H. and Bast, A. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem.* **66**, 511-517.
25. Yildirim, A., Mavi, A. and Kara, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex of aerobic life. *Biochem. Symp.* **61**, 1-34.

초록 : 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 항산화 및 암세포 증식억제 효과

홍성민¹ · 조현동² · 김정호³ · 이재윤⁴ · 박정미⁵ · 서권일^{6*}

(¹동아대학교 농업생명과학연구소, ²경북대학교 식품공학부, ³순천대학교 식품영양학과, ⁴청원농산, ⁵경남정보대학교 미용계열, ⁶동아대학교 생명공학과)

본 연구에서는 동충하초 및 부추를 열수추출한 후, 최적배합비율을 선정하여 혼합 물추출물을 제조하고 이에 대한 이화학적 특성 및 생리활성 효능을 검증하고자 하였다. 동충하초 및 부추 혼합 물추출물을 제조하였을 때 소비자들이 가장 선호하는 비율은 70:30이었으며, 이취제거를 위한 첨가물로 10% 사과농축액을 사용하여 최종 혼합 물추출물을 제조하였다. 최적 혼합 물추출물의 이화학적 특성을 확인한 결과로 pH는 4.28±0.12로 약산성이었고, 총 산도는 0.19±0.05%로 나타났다. 당도와 탁도는 9.1°Brix 및 1.48을 나타내었다. 동충하초 및 부추 혼합 물추출물의 항산화능은 DPPH radical 소거능, 환원력 및 ABTS radical 소거능을 통하여 확인하였고, positive control와 유사하거나 다소 낮은 우수한 활성을 나타내었다. 또한, 동충하초 및 부추 혼합 물추출물을 LNCaP 및 RC-58T/h/SA#4 인체 전립선 암세포에 처리한 결과 1% 희석액부터 농도의존적으로 세포성장이 억제되는 경향이 나타났고, 형태학적 관찰에서도 농도의존적으로 세포의 형태학적 변화가 유도되는 것으로 확인되었다. 이상의 결과를 통하여 동충하초 및 부추 혼합 물추출물은 동충하초 단일추출물과 비교하여 항산화 및 암세포 성장 억제효능이 높은 것으로 나타나, 단일 추출물보다는 적합한 비율로 혼합한 추출물이 기능성음료를 제조할 때 높은 활성을 나타낼 것으로 판단된다.