pISSN 1225-4339 eISSN 2287-4992
Korean J. Food Nutr. Vol. 30. No. 6, 1348~1358 (2017)
https://doi.org/10.9799/ksfan.2017.30.6.1348

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물의 생리활성

김 훈 · 신지영* · 이아름** · 황종현** · †유광원**
고려대학교 생물신소재연구소, *(주)코시스바이오 기업부설연구소, **한국교통대학교 식품영양학과

Physiological Activity of the Fermented Small Black Soybean (*Rhynchosia volubilis*) with a Solid State Culture of the Bearded Tooth Mushroom (*Hericium erinaceum*) Mycelia

Hoon Kim, Ji-Young Shin*, Ah-Rum Lee**, Jong-Hyun Hwang** and †Kwang-Won Yu**
Institute for Biomaterials, Korea University, Seoul 02841, Korea.
**R&D Center, Cosis-Bio Corporation Limited, Chungbuk 27867, Korea*
***Dept. of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Chungbuk 27909, Korea*

Abstract

To enhance the physiological activity of the *Rhynchosia volubilis* (RV), *R. volubilis* (RVHE-A) and *R. volubilis*-added herbal powder (RVHE-B) were fermented with a solid state culture of *Hericium erinaceum* mycelia (HE). The total isoflavone contents of the non-fermented RV-A (489.9 μg/g) and RV-B (571.1 μg/g) were remarkably increased in fermented RVHE-A (1,836.4 μg/g) and RVHE-B (1,276.7 μg/g). In particular, aglycone isoflavones such as daidzein and genistein were significantly higher in the RVHE-A than any other sample. When hot-water (HW) and EtOH extracts (E) were fractionated from the RV and RVHE, both extracts from the RVHE-A were higher than those from the RV-A in total polyphenol and flavonoid contents. However, the RVHE-B-HW showed a lower polyphenol and flavonoid content level than did RV-B-HW. RVHE-A-HW and -E also had more potent ABTS radical scavenging activity than any extract from the non-fermented RV and other ferments (RVHE-B). In the meanwhile, RVHE-A-HW potently stimulated the production of macrophage activation-related cytokines such as TNF-α, IL-6 and IL-12 (841.7±71.3 pg/mL, 3.9±0.1 ng/mL, 179.3±30.2 pg/mL) from peritoneal macrophage more than RV-A-HW (92.5±1.5 pg/mL, 0.1±0.0 ng/mL, 37.4±5.4 pg/mL) as well as RVHE-B-HW (557.0±21.3 pg/mL, 1.8±0.0 ng/mL, 90.0±10.0 pg/mL). However, all the EtOH extracts did not show significant activity. In addition, the RVHE-A-HW showed a significantly higher intestinal immune system modulating activity through Peyer's patch and GM-CSF production than did any other extract from RV and RVHE-B. In conclusion, these results suggest that the fermented *R. volubilis* with *H. erinaceum* mycelia possesses a possible use as an industrial application as functional food or material.

Key words: *Rhynchosia volubilis*, *Hericium erinaceum* mycelia, solid state culture, hot-water extract, physiological activity

서 론

콩은 우리 땅에서 나고 자라는 토종 식량 작물 중 하나로 색깔에 따라서는 검은콩과 흰콩으로 분류한다. 검은콩은 지역에 따라 서리가 내린 뒤에 수확한다고 해서 서리태라 부르기도 하고, 껍질은 검지만 속은 푸른빛을 띤다고 해서 속청이라고도 한다. 특히, 검은콩의 일종인 쥐눈이콩(*Rhynchosia volubilis*)은 껍질은 까맣고 크기는 일반 검은콩보다 훨씬 작아 마치 쥐눈처럼 생겼다고 해서 붙여진 이름이다. 서목태라고도 하며, 산과 들에서 난다고 해서 토종야콩이라고도 한다. 예로부터 약용으로 사용해서 검은 약콩으로 알려진 쥐눈이콩은 기침이나 열병, 홍역, 중독 증상에 해열제나 해독제로

† Corresponding author: Kwang-Won Yu, Dept. of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Chungbuk 27909, Korea. Tel: +82-43-820-5333, Fax: +82-43-820-5850, E-mail: kwyu@ut.ac.kr

사용되어 왔으며, 최근에는 블랙푸드에 대한 관심 및 쥐눈이콩의 효능이 알려지면서 식품 및 외식업체에서의 활용도가 높아지고 있다. 검은콩은 흰콩보다 인체 내의 활성산소를 제거하는 항산화 효과가 높으며, 색이 짙을수록 항산화 효과가 높은데, 활성성분으로는 genistein과 daidzein을 포함하는 isoflavones, phenolic acids, tocopherols, phytic acid, trypsin inhibitor와 아미노산 및 peptide들이 거론되고 있으며(Hayes 등 1977; Wei 등 1996; Kim 등 2005), 안토시아닌 색소가 흰콩보다 4배나 많아서(Kim 등 1997) 검은콩의 대명사로 꼽힌다. 또한, 콩 성분 중 이소플라본은 유방암 예방과 재발 방지에 효과를 나타내는 것으로 알려져 있는데, 이는 이소플라본이 여성 호르몬인 에스트로겐 활성화를 돕는 phytoestrogen으로 작용하는 것에 기인하는 것으로 보고되고 있다(Kennedy AR 1995; Kwon HJ 1999; Sirtori CR 2001; Lee 등 2005). 이러한 이소플라본은 모든 종류의 콩에 함유되어 있으나, 검은콩에 특히 많이 함유되어 있으며, 체내 흡수율도 높기 때문에 검은콩은 여성의 노화 방지효과와 함께 폐경기 여성의 갱년기 장애감소 및 갱년기 증상 예방효과도 알려져 있고(Bae 등 1997; Kang 등 2003), 특히 phytoestrogen으로 알려져 갱년기 완화 관련 다양한 생리활성을 나타내는 비배당체인 daidzein과 genistein 함량이 높은 것으로 보고되고 있다(Kang 등 2003; Kim 등 2005; Lee 등 2005).

한편, 검은콩 일종인 쥐눈이콩의 유용성분 증진 및 생리활성 강화의 기능성 쥐눈이콩을 조제하기 위하여 본 연구에서는 미생물 고체발효를 접목하였는데, 오래전부터 한국, 중국 및 일본 등의 동아시아에서 식품 및 전통 약재로 사용하여 온 식용버섯인 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceum*, bearded tooth mushroom, Lion's mane mushroom) 균사체를 이용하였다. 노루궁뎅이버섯은 주로 활엽수에서 성장하며, 다당류, 단백질, 렉틴, hericenone, erinacol, erinacine과 terpenoid 등의 생리활성 성분이 포함되어져 있다(Kenmoku 등 2002; Nakatsugawa 등 2003). 또한, 노루궁뎅이버섯 균사체와 자실체로부터 배양된 astrocyte에서 nerve growth factor(NGF) 합성을 촉진시키는 화합물인 erinacine과 hericenone이 분리되어(Lee 등 2000; Mori 등 2008) 치매 치료와 예방에 대한 노루궁뎅이버섯의 유용성이 큰 관심을 끌게 되었다.

따라서 본 연구에서는 발효조건에 따른 2종류 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 고체발효물의 이소플라본 함량, 특히 생리활성이 높은 비배당체 화합물을 분석하고, 쥐눈이콩 발효물의 열수추출물과 주정추출물을 조제하여 항산화 및 면역활성을 측정해 기능성 소재로서의 활용 가능성을 타진하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 쥐눈이콩 발효물 조제를 위한 노루궁뎅이버섯 균사체 종균배양

쥐눈이콩의 생리활성을 증진시킨 쥐눈이콩-버섯 균사체 고체발효물을 조제하기 위하여 KFDA에서 식품으로 사용이 허가된 상황버섯(*Phellinus linteus*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 및 노루궁뎅이버섯(*H. erinaceum*) 균사체를 농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터(Gyeonggi-do, Korea)에서 분양받았다. Potato dextrose agar(PDA, Difco, Detroit, MI, USA) 평판배지에서 배양 후 액체배양으로 확보한 3종의 종균을 쥐눈이콩에 고체발효시켜 조제한 발효물에 대한 비발효 쥐눈이콩과의 이소플라본 함량을 비교한 결과, 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물이 가장 높은 이소플라본 함량을 나타내었다(data now shown). 따라서 쥐눈이콩의 기능성 식품 원료로서의 활용 가능성을 높이기 위하여 쥐눈이콩 원료만의 버섯 균사체 발효물과 함께 기존 연구(Kim 등 2011; Lee 등 2016)를 통해 균사체 성장 및 생리활성 증진에 영향을 준 뽕잎과 감잎분말을 첨가한 쥐눈이콩 발효물을 조제하여 가장 활성이 증진된 쥐눈이콩 버섯 균사체 발효물을 조제하고자 하였다. 평판배지에서 배양한 노루궁뎅이버섯 균사체를 potato dextrose broth(PDB, Difco)가 담긴 Erlenmeyer flask에 접종하고, shaking incubator(Jeio Tech., Daejeon, Korea)에서 7일간 배양 후 계대배양을 3회 반복하여 배양한 종균을 쥐눈이콩(RV-A) 및 뽕잎과 감잎분말-첨가(쥐눈이콩 10% w/w) 쥐눈이콩(RV-B)에 접종(10% v/w)하여 30℃에서 10일간 고체배양한 후 동결건조를 거쳐 쥐눈이콩 고체발효물(RVHE-A와 - B)로 조제하였다.

2. 고체발효에 의한 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물 제조

쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 고체발효물 제조를 위해 국내산 쥐눈이콩을 청주 이마트(Korea)에서 구입한 후 100 g을 동량의 물로 2시간 동안 30℃에서 침지하여 내부까지 균사체가 증식하도록 조직을 연화시켰다. 침지된 쥐눈이콩을 121℃에서 120분간 고압멸균한 후 노루궁뎅이버섯 균사체 종균 10 mL를 접종하고, 30℃에서 10일간 고체배양하여 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물(RVHE-A, Fig. 1)을 조제하였다. 또한, 침지된 쥐눈이콩에 균사체 성장 및 생리활성 증진을 목적으로 뽕잎과 감잎분말을 첨가하여 멸균하고, 노루궁뎅이버섯 균사체 종균을 접종하여 생약이 첨가된 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물(RVHE-B)도 조제하였다. 한편, 이와 같은 발효물은 60℃ drying oven(Jeio Tech)에서 48시간 동안 건조(수분함량 10% 내외)하여 발효조건에 따른 2종의 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물로 조제하였다.

(1 Day) (5 Day) (10 Day)

Fig. 1. Pictures of fermented *Rhynchosia volubilis* (RVHE) with *Hericium erinaceum* mycelia on culture day.

3. 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물의 열수 및 주정추출물 조제

노루궁뎅이버섯 균사체 고체발효로 조제된 2종의 쥐눈이콩 발효물은 grinder(Bazzatra, Gyeonggi-do, Korea)에 의해 일정크기로 분쇄한 후 열수추출물은 분쇄된 2종 쥐눈이콩 발효물에 20배 물을 가한 후 decoction(90~95℃)으로 추출(3회)하였으며, 원심분리로 불용성 침전물을 제거하고, 상등액은 농축 및 동결건조하여 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 발효물의 열수추출물(RVHE-A-HW와 RVHE-B-HW)로 조제하였다. 또한, 주정추출물은 5배 주정을 가하여 환류방법(3회, 50~60℃)으로 추출하고, 원심분리(9,000×g, 4℃, 30분)로 상등액을 회수한 후 농축 및 동결건조하여 조제하였다(RVHE-A-E와 RVHE-B-E). 한편, 쥐눈이콩의 노루궁뎅이버섯 균사체 발효에 의한 생리활성 증진을 확인하기 위하여 대조군인 비발효 쥐눈이콩 원료(RV-A와 RV-B)를 동일 방법으로 추출하여 열수추출물(RV-A-HW와 RV-B-HW)과 주정추출물(RV-A-E와 RV-B-E)로 조제하였다.

4. 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물의 이소플라본 화합물 분석

쥐눈이콩에 대한 노루궁뎅이버섯 균사체의 고체발효 효과를 검토하기 위해 이소플라본 5종 화합물에 대한 발효 전·후의 함량분석을 통해 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물의 여성 갱년기 증상 소재로서의 활용가능성을 타진하고자 하였다. 발효물의 이소플라본 주요 화합물의 정성 및 정량분석을 위해 Wang & Murphy(1994)와 Lee 등(2003)의 방법을 수정하여 진행하였는데, 두류에 일반적으로 함유되어 있는 배당체인 daidzin과 genistin 및 비배당체인 daidzein, genistein, formononetin 등의 5종 표준물질을 통해 C_{18} column이 장착된 HPLC의 UV를 이용하여 분석조건을 확립하였다. 시료의 경우에는 분쇄한 2종 쥐눈이콩 발효물과 대조군인 비발효 쥐눈이콩 200 mg에 1 N HCl 1 mL와 4 mL acetonitrile을 첨가하여 2시간 동안 교반하고, 원심분리(5,000×g, 20분, 10℃)로 상등액을 회수하였다. 다음으로 PVDF membrane filter (0.45 μm, Jaema Trade Inc., Gangwon-do, Korea)로 여과한 후 여과액은 Luna 5u C18(2) A100 column(250×4.6 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA)이 장착된 HPLC(YL 9100, Young Lin Instrument Co. Ltd., Gyeonggi-do, Seoul)에서 UV(254 nm)로 이소플라본 화합물을 분석하였다. 용매는 water와 acetonitrile을 92:8%(v/v)의 비율로 시작하여 30분간 55:45%까지 linear gradient로 진행하였고, 35분까지 이 비율을 유지한 후 40분까지 92:8%로 복귀한 후, 50분까지 분당 1.5 mL로 흘려주었으며, injection volume은 20 μL이었다. 한편, 이소플라본 표준물질은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입한 배당체(daidzin과 genistin)와 비배당체(daidzein, genistein와 formononetin)의 5종 화합물을 동일 방법으로 처리하여 사용하였다.

5. 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물 용매추출물의 항산화 활성

2종 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 고체발효물 용매추출물의 항산화 성분인 총 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Ciocalteu법(Marinova 등 2005)을 이용하여 측정하였다. 즉, 용매추출물 100 μL에 2% Na_2CO_3 2 mL를 가해 알칼리 조건에서 3분간 반응시키고, 50% Folin-Ciocalteu's reagent(Sigma-Aldrich) 100 μL를 첨가해 30분간 반응시킨 후 반응액을 750 nm에서 측정하여 총 폴리페놀 함량을 확인하였다. 표준물질로는 gallic acid를 사용하여 검량선을 작성한 후, 총 폴리페놀 함량은 mg gallic acid equivalents(GAE)/g(발효물 용매추출물)으로 나타냈다. 또한, 총 플라보노이드 함량은 시료를 알칼리와 반응시켜 황색을 띠는 것을 415 nm에서 측정하여 mg quercetin equivalent(QE)/g(발효물 용매추출물)으로 나타냈다(Stanković MS 2011). 한편, 화학적으로 안정한 자유 라디칼인 DPPH 및 ABTS를 이용하여 쥐눈이콩 발효물 용매추출물의 라디칼 소거능에 따른 항산화 활성을 측정하였다. ABTS 라디칼 소거능은 7.4 mM 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-

6-sulfonic acid)(ABTS, Sigma-Aldrich)와 2.6 mM potassium persulphate를 암소에서 12시간 이상 반응시켜 청록색 ABTS 양이온을 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 1.5가 되도록 몰 흡광계수(ε=3.6×10^4 M^{-1} cm^{-1})를 이용하여 증류수로 희석하여 사용하였다(Choi 등 2006). 이 용액에 시료 50 μL를 가한 후, 상온에서 60분간 반응시켜 흡광도 변화를 측정하였으며, 표준물질로는 L-ascorbic acid를 사용하여 mg ascorbic acid equivalent antioxidant capacity(AEAC)/g(발효물 용매추출물)으로 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능은 0.2 mM DPPH 라디칼 용액에 발효물 용매추출물 시료 50 μL를 가한 후, 상온에서 60분간 반응시켜 흡광도 변화를 517 nm에서 측정하고, mg AEAC/g(발효물 용매추출물)으로 나타내었다(Goupy 등 2003).

6. 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물 용매추출물의 면역활성

생후 6주령 C3H/He과 ICR 마우스(웅성)를 (주)대한실험동물(Chungbuk, Korea)로부터 구입하여 사육조에 5마리씩 넣고, 정수된 물과 실험동물용 펠렛사료((주)삼양사, Incheon, Korea)를 자유공급하고, 스트레스를 받지 않도록 주의하여 배양하였으며, 모든 실험은 고려대학교 실험동물윤리위원회(KUIACUC-2016-159) 규정에 입각하여 진행하였다.

1) 마크로파지 활성

ICR 마우스 복강에 1 mL thioglycollate medium(Sigma-Aldrich)을 주입한 뒤 96시간 후에 RPMI-1640 배지(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)로 세척하여 복강 내 마크로파지를 회수한 후 1×10^6 cells/mL(RPMI-1640 배지)가 되도록 분산시켰다. 세포 분산액은 96-well plate 각 well에 200 μL씩 분주한 후 37℃, 5% CO_2 배양기에서 2시간 동안 배양하고, 각 well plate 기벽에 부착시켜 마크로파지 monolayer를 형성시켰다(Conrad RE 1981). 2시간 후 미부착 세포는 제거하고, 10% FBS(Thermo Fisher Scientific)-함유 RPMI-1640 배지를 각 well에 180 μL씩 분주한 후, 일정 농도의 시료 20 μL를 가하여 37℃, 5% CO_2 배양기에서 24시간 배양해 마크로파지를 자극하였다. 시료의 마크로파지 활성화 정도는 시료의 자극에 따라 활성화된 마크로파지로부터 배양액에 생산되는 사이토카인(TNF-α, IL-6와 IL-12) 생산능으로 확인하였는데, 세포배양 상등액 50 μL를 취하여 BD Biosciences(East Rutherford, NJ, USA)사 메뉴얼에 따라 ELISA법으로 측정하고 표준물질을 이용하여 그 양을 산출하였다. 한편, 시료의 복강 내 마크로파지에 대한 독성 여부는 시료와의 배양 후 CCK-8 kit(Dojindo, Kumamoto, Japan)를 이용(Ishiyama 등 1996)하여 세포 생존율을 측정하고, saline 대조군과 비교하여 확인하였다.

2) Peyer's patch를 경유한 장관면역 활성

Yu 등(1998)의 방법을 변형하여 측정하였는데, C3H/He 마우스 소장벽에 존재하는 Peyer's patch를 적출 및 파쇄하고, 여과하여 2×10^6 cells/mL(5% FBS-RPMI-1640)의 Peyer's patch 세포현탁액으로 조제하고, 96 well plate의 각 well에 180 μL씩 분주한 후 일정 농도 시료를 20 μL씩 첨가한 후, 37℃, 5% CO_2 배양기에서 5일간 배양하였다. 한편, 골수세포는 동일 마우스의 대퇴부 뼈로부터 회수하여 여과 및 세척하고, 2.5×10^5 cells/mL RPMI-1640(5% FBS 함유)의 세포농도로 96 well plate의 각 well에 100 μL씩 분주하고, 위에서 얻은 시료와 Peyer's patch 세포 배양액 50 μL와 RPMI-1640 배지 50 μL를 첨가하고, 37℃, 5% CO_2 배양기에서 6일간 배양하였다. 시료의 Peyer's patch를 경유한 장관면역 활성은 CCK-8 kit를 이용하여 배양된 골수세포 생존율 및 증식정도를 측정하여 saline 대조군에 대한 골수세포 증식과의 비교를 통한 상대활성(%)으로 나타내었다. 또한, Peyer's patch 세포로부터 골수세포 증식을 돕는 대표적 사이토카인인 granulocyte-monocyte-colony stimulating factor(GM-CSF)의 생산정도를 확인하기 위하여 시료와 Peyer's patch 세포의 배양액으로부터 50 μL를 취하여 ELISA(BD Bioscience) 방법으로 측정한 후, 표준물질로부터 그 양을 산출하였다.

7. 통계처리

생리활성 실험결과는 4개 군으로부터 얻은 평균치±S.D.(standard deviation)로 나타내었고, 통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시한 후, 각 측정값 간의 유의성을 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물의 이소플라본 화합물 분석

비발효 쥐눈이콩(RV-A)과 생약분말(뽕잎과 감잎)-첨가 쥐눈이콩(RV-B)의 경우에는 주요 이소플라본 화합물로서 배당체인 genistin과 비배당체인 daidzein 및 genistein만이 검출되었는데, RV-A는 daidzein(262.7 μg/g)이 가장 많았으며, 총 이소플라본량은 489.9 μg/g이었다. RV-B도 daidzein(281.7 μg/g)이 가장 높은 함량을 보이면서 총 이소플라본은 571.7 μg/g으로 RV-A보다 많았는데, 이는 쥐눈이콩에 첨가된 뽕잎과 감잎분말 생약으로부터 기인하는 것으로 보인다(Table 1). 한편,

Table 1. Isoflavone compound content of fermented *Rhynchosia volubilis* with *Hericium erinaceum* mycelia

(content: μg/g)

Isoflavone \ Sample[1)]	RV-A	RVHE-A	RV-B	RVHE-B
Genistin	65.7	70.3	97.1	120.7
Daidzein	262.7	667.0	281.7	444.5
Genistein	161.5	1,099.1	192.9	711.5
Total	489.9	1,836.4	571.7	1,276.7

[1)] Sample: RV-A; non-fermented *R. volubilis*, RVHE-A; fermented *R. volubilis* with *H. erinaceum* mycelia, RV-B; non-fermented *R. volubilis*-added herbs, RVHE-B; fermented *R. volubilis*-added herbs with *H. erinaceum* mycelia.

비발효 쥐눈이콩 원료를 노루궁뎅이버섯 균사체로 고체발효하여 얻은 쥐눈이콩 발효물의 경우, RVHE-A에서는 총 이소플라본 함량이 1,836.4 μg/g으로 비발효군보다 3.7배 증가하는 결과를 보였으며, 특히, RV-A에서 161.5 μg/g과 262.7 μg/g을 보인 genistein과 daidzein이 RVHE-A에서는 1,099.1 μg/g(6.1배)와 667.0 μg/g(2.5배)으로 크게 증가하여 발효를 통한 이소플라본 비배당체 증진이 뚜렷하게 관찰되었다(Table 1). 또한, RVHE-B에서도 총 이소플라본 함량이 1,276.6 μg/g(2.2배)으로, 비배당체인 genistein(192.9 → 711.5 μg/g, 3.7배)과 daidzein (281.7 → 444.5 μg/g, 1.6배)이 비발효 원료보다 증가하였으나, RVHE-A와 비교하여 증진효과가 낮아 생약-첨가 쥐눈이콩의 발효가 이소플라본 화합물 증진에 시너지 효과를 나타내지는 않는 것으로 보인다(Table 1).

Silva 등(2011)은 가압처리된 콩가루의 *Aspergillus oryzae* 발효물에 대한 배당체와 비배당체 구성비율을 검토한 결과, daidzin과 genistin의 배당체는 발효시간에 따라 지속적인 감소를 보여 48시간에 원료의 65%가 감소하였으나, daidzein과 genistein의 비배당체는 12배와 35배 증가를 나타내었고, 비배당체로의 전환은 *A. oryzae*로부터 생산되는 β-glycosidase 활성에 의한 것으로 보고하였다. 또한, Aguiar와 Park(2004)도 콩가루의 *A. oryzae* 발효물에서 β-glycosidase의 활성증가와 함께 daidzein과 genistein의 비배당체 이소플라본의 증가를 보고하였다. 본 실험에서도 쥐눈이콩의 노루궁뎅이버섯 균사체 고체발효는 이소플라본 비배당체 증진에 유효하게 작용하고 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 비배당체는 임상실험에서 배당체보다 더 빠르고 더 많이 흡수되어져 여성의 심장질환과 갱년기 만성질환 예방에 훨씬 효과적임이 알려져 있다(Munro 등 2003; Zubik & Meydani 2003). 따라서 추후 쥐눈이콩 발효물의 비배당체 전환에 관련된 β-glycosidase 등의 효소활성을 검토하고자 한다.

2. 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물 용매추출물의 항산화 활성

쥐눈이콩 원료만을 노루궁뎅이버섯 균사체로 발효시킨 RVHE-A와 뽕잎과 감잎분말-첨가 쥐눈이콩 발효물(RVHE-B) 및 비발효 쥐눈이콩 원료(RV-A와 -B)에 대한 물과 주정 추출물에 대한 항산화 성분인 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하였다. 열수추출물에서는 RVHE-A-HW에서 폴리페놀 함량이 67.7±2.9 mg gallic acid equivalent(GAE)/g으로 RV-A-HW(54.7±1.8 mg GAE/g)보다 증가되고 있음을 보였다(Table 2). 그러나 생약-첨가 쥐눈이콩 발효물 열수추출물(RVHE-B- HW)은 65.9±2.4 mg GAE/g의 총 폴리페놀 함량으로 RVHE- A-HW보다 다소 낮았을 뿐만 아니라, 비발효 생약-첨가 쥐눈이콩(72.3±1.9 mg GAE/g)보다도 낮아 균사체 성장 촉진이 폴리페놀 화합물 대사에 영향을 주고 있는 것으로 추정되었다. 모든 열수추출물 중 비발효 원료인 RV-B-HW가 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 보였는데, 이는 첨가된 뽕잎과 감잎 등의 생약으로부터 기인하는 것으로 생각된다. 또한, 이러한 양상은 플라보노이드 함량에서도 유사하게 나타나, RVHE-A-HW(14.9±1.6 mg quercetin equivalent(QE)/g)는 비발효 쥐눈이콩 열수추출물(14.1±1.3 mg QE/g)보다 다소 증가된 함량을 보였으나, 생약-첨가 쥐눈이콩 발효물인 RVHE-B-HW(14.9±1.1 mg QE/g)는 RV-B-HW(16.4±0.4 mg QE/g)보다 낮은 함량을 나타내었다(Table 2).

그러나 주정추출물은 열수추출물과 다른 결과를 보였는데, RVHE-A-E(75.2±1.9 mg GAE/g)와 RVHE-B-E(77.9±2.3 mg GAE/g) 모두 비발효 원료(RV-A-E; 39.9±0.0 mg GAE/g, RV-B-E; 58.4±1.8 mg GAE/g)보다 총 폴리페놀 함량이 현저히 높아 추출용매 극성에 따라 항산화 성분 함량에 차이가 있음을 알 수 있었다(Table 2). 총 플라보노이드에서도 유사한 양상을 나타내어 발효물인 RVHE-A-E(32.7±0.6 mg QE/g)와 RVHE-B-E(23.9±0.6 mg QE/g) 모두 비발효 대조군(RV-A-E; 10.2±0.8 mg QE/g, RV-B-E; 20.1± 0.9 mg QE/g)보다 높은 함량을 나타내었다(Table 2). 특히, RVHE-A-E의 총 플라보노이드 함량은 비발효 원료와 큰 차이를 나타내어 쥐눈이콩만의 노루궁뎅이버섯 균사체 발효물에서 전반적으로 항산화 성분

Table 2. Antioxidant component analysis of solvent extract from fermented *Rhynchosia volubilis* with *Hericium erinaceum* mycelia

Solvent	Extract[1)]	Flavonoids (mg QE/g)[2)]	Polyphenol (mg GAE/g)
Water	RV-A	14.1±1.3$^{b3)}$	54.7±1.8^{B}
	RVHE-A	14.9±1.6^{bc}	67.7±2.9^{D}
	RV-B	16.4±0.4^{c}	72.3±1.9^{E}
	RVHE-B	14.9±1.1^{bc}	65.9±2.4^{D}
EtOH	RV-A	10.2±0.8^{a}	39.9±0.0^{A}
	RVHE-A	32.7±0.6^{f}	75.2±1.9^{EF}
	RV-B	20.1±0.9^{d}	58.4±1.8^{C}
	RVHE-B	23.9±0.6^{e}	77.9±2.3^{F}

1) Solvent extract: RV-A-HW & -E; hot-water and EtOH extract from non-fermented *R. volubilis*, RVHE-A-HW & -E; hot-water and EtOH extract from fermented *R. volubilis* with *H. erinaceum* mycelia, RV-B-HW & -E; hot-water and EtOH extract from non-fermented *R. volubilis*-added herbs, RVHE-B-HW & -E; hot-water and EtOH extract from fermented *R. volubilis*-added herbs with *H. erinaceum* mycelia.
2) Content: mg QE/g; mg quercetin equivalent/extract g, mg GAE/g; mg gallic acid equivalent/extract g.
3) The difference in the superscript letter (small letter; flavonoid, capital letter; polyphenol) of the content value means a significant difference at $p<0.05$.

이 우수하게 함유되어 있음을 확인하였다.

항산화 성분결과를 토대로 ABTS와 DPPH 라디칼 소거능에 대한 항산화 활성을 검토하여 항산화 성분과 항산화 활성과의 상관성을 확인하였다. 열수추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 총 폴리페놀 함량이 높았던 쥐눈이콩만의 발효물인 RVHE-A-HW가 78.6±5.1 mg ascorbic acid equivalent antioxidant capacity(AEAC)/g으로 RV-A-HW(33.1±2.3 mg AEAC/g)보다 높은 항산화 활성을 나타내었다(Table 3). 한편, 총 폴리페놀 함량이 비발효 원료보다 낮았던 RVHE-B-HW(41.9±0.6 mg AEAC/g)는 ABTS 라디칼 소거능에서도 비발효 원료(RV-B-HW; 44.1±7.6 mg AEAC/g)보다 감소하는 결과를 나타내어 총 폴리페놀 함량과 ABTS 라디칼 소거능의 항산화 활성간에 유의적인 상관성을 확인할 수 있었다(Table 3). 또한, 이러한 총 폴리페놀 함량과 ABTS 라디칼에서의 항산화 활성간 유의적인 상관성은 주정추출물에서 더욱 뚜렷하게 나타나, 비발효군보다 현저히 높은 총 폴리페놀 함량을 나타내었던 발효물인 RVHE-B-E(36.7±2.0 mg AEAC/g)와 RVHE-A-E(30.3±2.1 mg AEAC/g)는 RV-B-E(24.1±3.1 mg AEAC/g) 및 RV-A-E (18.0±1.2 mg AEAC/g)보다 높은 ABTS 라디칼 소거능을 보여주었다(Table 3).

한편, DPPH 라디칼 소거능의 항산화 활성에서 열수추출물의 경우에는 전반적으로 ABTS 라디칼 소거능보다 낮은 활

Table 3. Radical scavenging activity of solvent extract from fermented *Rhynchosia volubilis* with *Hericium erinaceum* mycelia

Solvent	Extract[1)]	ABTS (mg AEAC/g)[2)]	DPPH (mg AEAC/g)
Water	RV-A	33.1±2.3$^{c3)}$	7.2±0.8^{B}
	RVHE-A	78.6±5.1^{e}	5.2±0.9^{A}
	RV-B	44.1±7.6^{d}	12.1±0.3^{D}
	RVHE-B	41.9±0.6^{d}	9.1±0.8^{C}
EtOH	RV-A	18.0±1.2^{a}	5.8±0.6^{AB}
	RVHE-A	30.3±2.1^{bc}	11.6±0.7^{D}
	RV-B	24.1±3.1^{ab}	12.9±0.6^{D}
	RVHE-B	36.7±2.0^{cd}	14.7±0.7^{E}

1) Solvent extract: refer to Table 2.
2) Radical scavenging activity: mg AEAC/g; mg ascorbic acid equivalent antioxidant capacity/extract g.
3) The difference in the superscript letter (small letter; ABTS, capital letter; DPPH) of the content value means a significant difference at $p<0.05$.

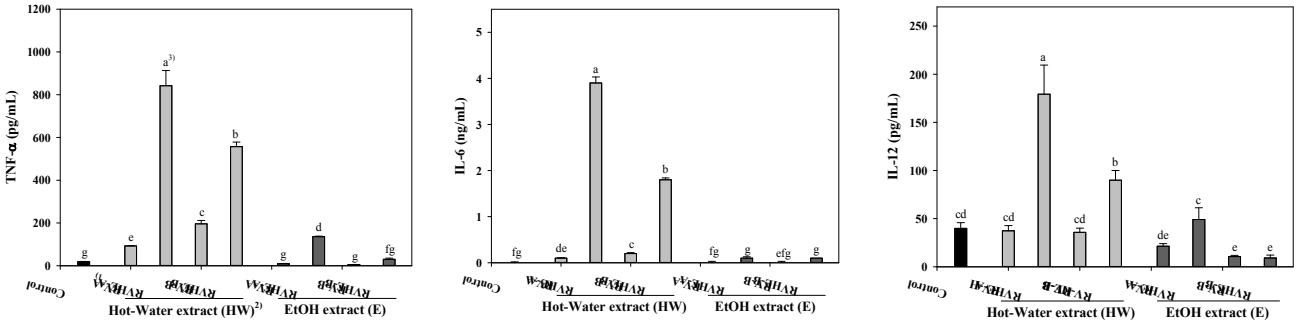
성을 보일 뿐만 아니라, RVHE-A-HW(5.2±0.9 mg AEAC/g)는 비발효물(RV-A-HW; 7.2±0.8 mg AEAC/g)보다 낮은 활성을 보여 항산화 성분과의 유의적인 상관성을 보이지는 않았다(Table 3). Kim & Park(2011)은 항산화능 측정법에 대한 분석에서 DPPH 측정방법이 간단하지만 시료 색에 대해 방해를 받을 수 있다는 점과 단백질 함량이 높은 경우에는 결과에 영향이 크다는 보고(Sanchez M 2002)에 비추어 쥐눈이콩 열수추출물의 높은 단백질 함량이 상관성을 영향을 미치는 것으로 생각된다. 그러나 주정추출물에서는 발효물(RVHE-A-E; 11.6±0.7 mg AEAC/g, RVHE-B-E; 14.7±0.7 mg AEAC/g)이 비발효 원료(RV-A-E; 5.8±0.6 mg AEAC/g, RV-B-E; 12.9±0.6 mg AEAC/g)보다 높은 항산화 활성을 나타내어 항산화 성분과 DPPH 라디칼 소거능에서 유의적인 상관성을 확인할 수 있었다(Table 3). 이와 같은 결과로부터 ABTS와 DPPH 라디칼 소거능에 의한 항산화 활성은 추출용매에 따라 다소 차이를 보이고는 있지만, 전반적으로 항산화 성분 함량 결과와 마찬가지로 열수추출물에서는 쥐눈이콩만을 노루궁뎅이버섯 균사체로 고체발효한 RVHE-A-HW가 비발효군보다 우수하였고, 주정추출물 경우에는 뽕잎과 감잎의 생약-첨가 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물(RVHE-B-E)이 비발효 원료뿐만 아니고, 발효물인 RVHE-A-E보다도 높은 활성을 나타내었다(Table 3).

3. 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물 용매추출물의 마크로파지 활성

마크로파지는 선천면역계를 대표하는 면역세포로서 항원물질 포식, 항원-항체복합체 제거와 염증반응 촉진 및 획득면역세포에 항원제시 등 면역반응에 중요한 역할을 담당하므로, 이들의 활성화는 신체의 면역강화에 중요한 수단이 될 수 있다(Jackman 등 2017). 따라서 쥐눈이콩에 생약분말 첨가 여부에 따라 노루궁뎅이버섯 균사체를 고체발효시켜 조제한 쥐눈이콩 발효물(RVHE-A와 -B) 용매추출물의 ICR 마우스 복강 마크로파지 활성에 미치는 영향을 검토하였다. 활성측정을 위한 적절한 시료량 검토를 위하여 시료의 마크로파지 세포독성을 검토한 결과, 비발효 및 쥐눈이콩 발효물 모두 열수추출물은 1,000 μg/mL 농도까지 거의 독성을 나타내지 않았으나, 주정추출물에서는 1,000 μg/mL에서 독성이 관찰되어(data not shown) 독성이 없는 100 μg/mL 농도에서 마크로파지 활성에 관여하는 사이토카인(tumor necrosis factor(TNF)-α, IL-12와 IL-6)을 측정하여 마크로파지 활성으로 나타냈다.

TNF-α는 활성화된 마크로파지에 의해 분비되어 면역세포를 조절하는 중요한 사이토카인으로서 변형된 세포의 자살을 유도하거나, 종양생성 및 바이러스 복제를 억제하는 능력을 갖는다(Manna 등 2014). 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물 용매 추출물의 TNF-α 생산에서는 쥐눈이콩만의 노루궁뎅이버섯 균사체 발효물 열수추출물(RVHE-A-HW, 841.7±71.3 pg/mL)에서 비발효군(92.5±1.5 pg/mL)보다 9.1배의 유의적인 증가로 가장 우수한 활성을 나타내었고, 생약-첨가 RVHE-B-HW도 557.0±21.3 pg/mL로 RV-B-HW(195.8±16.2 pg/mL)보다 2.8배 증가하였으나, RVHE-A-HW보다는 유의적으로 낮은 결과를 보였다(Fig. 2A). 한편, 주정추출물 경우에는 비발효물(5.6±0.4~9.3±1.4 pg/mL)보다 높은 30.1±5.3~135.1±2.3 pg/mL의 TNF-α 생산을 보였으나, 열수추출물보다는 유의적으로 현저히 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 2A).

한편, IL-6는 활성화된 마크로파지로부터 분비되어 B 세포 계열의 증식과 항체 분비 등의 획득면역에 조절작용을 나타내는 대표적인 사이토카인이다(Li 등 2009). IL-6에서도 TNF-α와 마찬가지로 쥐눈이콩 발효물 열수추출물만이 유의적으



(A) TNF-α production (B) IL-6 production (C) IL-12 production

Fig. 2. Cytokine production from peritoneal macrophage stimulated with solvent extract (100 μg/mL) from fermented *Rhynchosia volubilis* with *Hericium erinaceum* mycelia. [1] Control: only saline without any extract. [2] Hot-water (HW) and EtOH extract (E) from RV-A (non-fermented *R. volubilis*), RVHE-A (fermented *R. volubilis*), RV-B (non-fermented *R. volubilis*-added herbs), and RVHE-B (fermented *R. volubilis*-added herbs). [3] The difference in lower case letter on the bar means a significant difference at $p<0.05$.

로 높은 생산능을 나타내었는데, RVHE-A-HW는 3.9±0.1 ng/mL로 비발효 쥐눈이콩(0.1±0.0 ng/mL)보다 현저히 높은 생산능을 보였고, RVHE-B-HW도 1.8±0.0 ng/mL로 RVHE-A-HW보다는 유의적으로 낮았으나, RV-B-HW(0.2±0.0 ng/mL)보다는 9.0배나 높은 IL-6 생산능을 나타내었다(Fig. 2B). 그러나 주정추출물에서는 비발효군과 발효군 모두 거의 미비한 생산을 나타내어 주정에서 주로 추출되는 폴리페놀이나 플라보노이드 등의 저분자 물질은 마크로파지로부터 IL-6 생산에 관여하지 않는 것을 확인할 수 있었다.

IL-12는 활성화된 마크로파지로부터 분비되어 natural killer (NK) 세포 및 보조 T 세포 등의 성숙 및 분화를 촉진시키는 사이토카인이다(Ruhland & Kima 2009). 마크로파지로부터 IL-12 생산에서도 TNF-α 및 IL-6 생산과 유사하게 쥐눈이콩만의 발효물 열수추출물이 179.3±30.2 pg/mL 생산되어 비발효 쥐눈이콩 열수추출물(37.4±5.4 pg/mL)보다 4.8배의 유의적 증가를 보일 뿐만 아니라, 생약-첨가 발효물 열수추출물(RVHE-B-HW, 90.0±10.0 pg/mL)보다도 유의적으로 높은 생산능을 나타내었다(Fig. 2C). 그러나 주정추출물의 경우에는 RVHE-A-E가 49.1±12.2 pg/mL로 RV-A-E(21.4±2.6 pg/mL)보다 약간 높은 활성을 보였으나, RVHE-A-HW보다는 유의적으로 매우 낮은 수준임이 확인되었다(Fig. 2C). 결론적으로 쥐눈이콩만을 노루궁뎅이버섯 균사체로 고체배양한 발효물은 생약이 첨가된 쥐눈이콩 발효물 및 비발효 원료보다 선천면역 세포인 마크로파지를 자극하여 TNF-α, IL-6 및 IL-12의 사이토카인 생산을 촉진하고, 이들이 다양한 면역세포의 분화와 증식을 활발하게 유도함으로써 면역반응과 면역조절에 기여할 수 있어, 쥐눈이콩 발효물의 면역증진 기능성 식품소재로서의 활용 가능성이 높음을 확인할 수 있었다.

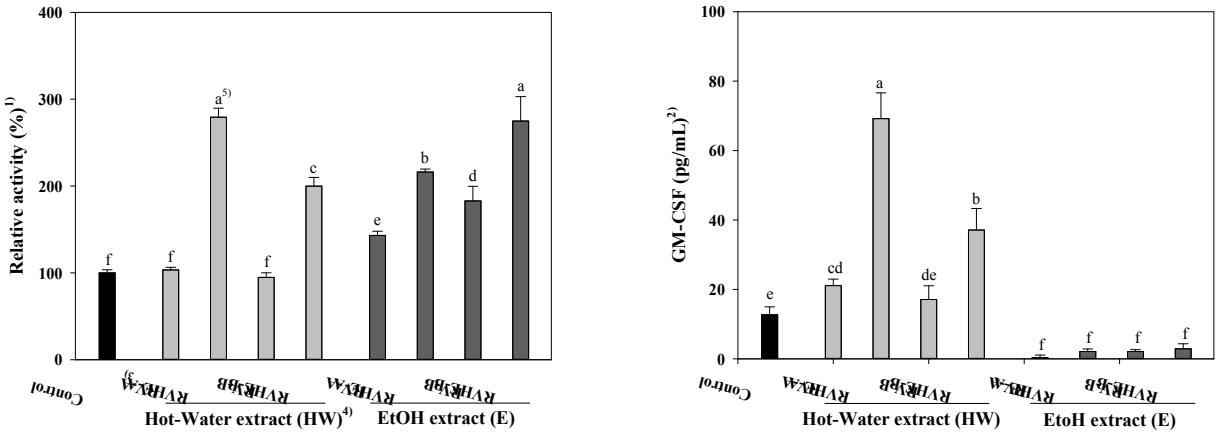
4. 쥐눈이콩 발효물 용매추출물의 Peyer's patch를 경유한 장관면역 활성

구강으로 섭취되는 식품은 소화관을 따라 이동하면서 가수분해 후 소장에서 흡수되어 영양소를 제공해주는 영양학적 측면에서 대단히 중요한 의의를 갖는다. 그러나 식품섭취 과정에서 다양한 외부물질이 소화관에 침투할 수 있고, 특히, 세균 및 독소 등 침투는 질병을 유발할 수 있으므로 소장에서 장관면역계(intestinal immune system)는 대표적인 점막면역계(mucosal-associated lymphoid tissue)로서 숙주를 보호하는 최초 방어기관의 중요한 역할을 담당하고 있다(Pierre 등 2016). 특히, 소장에는 영양소를 흡수하는 융모 이외 Peyer's patch 조직이 발달되어 있고, M 세포를 통해 질병 유발에 원인이 되는 외부물질을 포식하여 파괴함으로써 질병을 억제하는 대표적인 소장 면역조직으로 알려져 있다(Mabbott 등 2013). 또한, Peyer's patch 조직은 mesenteric 림프절을 통해 전신을 순환하였다가 복귀할 수 있는 특성을 가진 다양한 면역세포를 포함하고 있어, Peyer's patch의 활성화는 단지 국소조직 활성에만 그치지 않고, 전신 순환면역계 활성에도 기여하는 중요한 역할을 담당하고 있다(Yu 등 2013).

따라서 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 고체발효물의 용매추출물이 장관면역 조직인 Peyer's patch를 자극할 수 있다면 이들이 인체의 전신 면역활성에도 기여할 수 있으므로, 쥐눈이콩 발효물 용매추출물에 대한 장관면역 활성화 여부를 검토하였다. 비발효 쥐눈이콩 열수추출물은 saline 대조군과 유사한 수준으로 거의 활성을 보이지 않았으나, 주정추출물(RV-A-E와 RV-B-E)은 1.4배와 1.8배의 활성을 보여 비발효 쥐눈이콩의 저분자 물질에서 Peyer's patch를 자극하여 골수세포를 증식시키는 활성성분 존재를 보여주었다(Fig. 3A). 그러나 노루궁뎅이버섯 균사체 고체발효를 통해 얻은 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 고체발효물(RVHE-A와 -B)의 용매추출물은 비발효 주정추출물보다 유의적으로 훨씬 높은 장관면역 활성을 나타내었는데, 열수추출물에서는 쥐눈이콩만의 발효물이 saline 대조군의 2.8배로 유의적으로 가장 높은 장관면역활성을 나타냈고, RVHE-B-HW도 쥐눈이콩만의 발효물인 RVHE-A-HW보다는 낮지만, 2.0배의 유의적인 활성을 보여주었다(Fig. 3A). 주정추출물에서도 비발효군보다 높은 활성을 나타내어 RVHE-B-E가 2.8배로 RVHE-A-HW와 유의적 차이 없이 높은 활성을 보였고, RVHE-A-E도 2.2배의 유의적인 활성을 나타내어 쥐눈이콩 발효물이 장관면역 활성화에 기여함을 확인하였다(Fig. 3A).

또한, Peyer's patch와 시료의 배양을 통해 골수세포 증식에 관여하는 granulocyte-macrophage colony stimulating factor(GM-CSF) 생산이 촉진되는지를 확인한 결과에서도 장관면역 활성결과와 마찬가지로 RVHE-A-HW(69.2±7.4 pg/mL)는 유의적으로 가장 높은 생산능으로 비발효군(21.1±1.9 pg/mL)의 3.3배 증가를 보였고, RVHE-B-HW(37.1±6.2 pg/mL)도 RV-B-HW(17.1±4.0 pg/mL)보다 증가된 GM-CSF 생산능을 보였다(Fig. 3B). 그러나 장관면역 활성이 우수하였던 주정추출물은 DIW 대조군(12.7±2.3 pg/mL)보다도 낮은 2.1±0.5~2.9±1.4 pg/mL의 생산능을 나타내(Fig. 3B) 골수세포 증식이 GM-CSF 이외의 다른 사이토카인에 기인하는 것으로 추정되어 향후 다양한 사이토카인의 조사를 진행하고자 한다. 결론적으로 쥐눈이콩만의 노루궁뎅이버섯 균사체 발효물은 비발효 쥐눈이콩 및 생약-첨가 쥐눈이콩 발효물보다도 장관면역기관인 Peyer's patch를 자극하여 GM-CSF 사이토카인 생산을 촉진하고, 이들이 골수세포 증식과 분화를 더 활발하게 유도하여 장관면역 활성화에 기여함을 확인하였다.

요약 및 결론



(A) Bone marrow cell proliferation (B) GM-CSF production

Fig. 3. Intestinal immune system modulating activity through Peyer's patch (PP) of solvent extract from fermented *Rhynchosia volubilis* with *Hericium erinaceum* mycelia. 1) Relative activity: bone marrow cell proliferation through Peyer's patch (PP) stimulated with each extract (100 μg/mL) against those of control. 2) GM-CSF production: granulocyte macrophage-colony stimulating factor production from PP cell stimulated with each extract (100 μg/mL). 3) Control: only saline without any extract. 4) Extracts name: refer to Fig. 2. 5) The difference in lower case letter on the bar means a significant difference at $p<0.05$.

쥐눈이콩(*Rhynchosia volubilis*, RV)의 생리활성을 증진시키기 위하여 쥐눈이콩과 생약분말-첨가 쥐눈이콩을 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceum*, HE) 균사체의 고체배양을 이용하여 발효(RVHE-A와 –B)시켰을 때 비발효물(RV-A; 489.9 μg/ g, RV-B; 571.1 μg/g)의 총 이소플라본 화합물은 발효물인 RVHE-A(1,836.4 μg/g)와 RVHE-B(1,276.7 μg/g)에서 크게 증가되었다. 특히, daidzein과 genistein의 비배당체 이소플라본이 RVHE-A에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 비발효물과 발효물로부터 열수추출물과 주정추출물을 분획하였을 때 쥐눈이콩 원료만의 발효물(RVHE-A)로부터 얻은 2가지 추출물은 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량에서 비발효물로부터 조제된 용매추출물보다 더 높았다. 그러나 생약분말-첨가 쥐눈이콩 발효물의 열수추출물(RVHE-B-HW)의 경우에는 비발효물보다 더 낮은 함량을 나타내었다. 또한, RVHE-A-HW와 –E는 ABTS 라디칼 소거능에서 비발효 쥐눈이콩과 RVHE-B로부터 조제된 추출물보다도 유의적으로 높은 결과를 나타내었다. 한편, RVHE-A-HW는 복강 대식세포로부터 TNF-α, IL-6와 IL-12(841.7±71.3 pg/mL, 3.9±0.1 ng/mL, 179.3±30.2 pg/mL) 등의 마크로파지 활성화 관련 사이토카인의 생산을 RV-A-HW(92.5±1.5 pg/mL, 0.1±0.0 ng/mL, 37.4±5.4 pg/mL) 뿐만 아니라, RVHE-B-HW(557.0±21.3 pg/mL, 1.8±0.0 ng/mL, 90.0±10.0 pg/mL)보다도 더 촉진시켰다. 그러나 모든 주정추출물은 유의적인 활성을 나타내지 않았다. 또한, 쥐눈이콩만의 발효물 열수추출물은 Peyer's patch를 경유한 장관면역 활성과 GM-CSF 생산에 있어서도 비발효 쥐눈이콩과 생약분말-첨가 쥐눈이콩 발효물로부터 조제된 어떤 추출물보다도 유의적으로 더 높은 활성을 나타내었다. 결론적으로 쥐눈이콩-노루궁뎅이버섯 균사체 발효물은 기능성 식품 또는 소재로서의 산업적인 적용에서 쥐눈이콩보다 더 우수함을 제시하였다.

감사의 글

본 논문은 2017 한국교통대학교 지원을 받아 수행한 연구로 이에 감사드립니다.

References

Aguiar LC, Park YK. 2004. Conversão de daidzina e genistein de soja por β-glicosidase de *Aspergillus oryzae*. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos* 22: 185-195

Bae EA, Kwon TW, Moon GS. 1997. Isoflavone contents and antioxidative effects of soybeans, soybean curd and their by-products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26:371-375

Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem* 99:381-387

Conrad RE. 1981. Induction and collection of peritoneal exu-

dates macrophages. *In Manual of Macrophage Methodology,* Herscowitz BH, Holden HT, Ballanti JA, Ghaffar A, eds. pp. 5-11. Marcel Dekker Incorporation, New York

Goupy P, Dufour C, Loonis M, Dangles O. 2003. Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *J Agric Food Chem* 51: 615-622

Hayes RE, Bookwalter GN, Bagley EB. 1977. Antioxidant activity of soybean flour and derivatives-A review. *J Food Sci* 42: 1527-1532

Ishiyama M, Tominaga H, Shiga M, Sasamoto K, Ohkura Y, Ueno K. 1996. A combined assay of cell viability and *in vitro* cytotoxicity with a highly water-soluble tetrazolium salt, neutral red and crystal violet. *Biol Pharm Bull* 19: 1518-1520

Jackman C, Tomay F, Duong L, Razak NBA, Pixley FJ, Metharom P, Nelson DJ. 2017. Aging and cancer: The role of macrophages and neutrophilis. *Ageing Res Rev* 36:105-116

Kang SA, Jang KH, Cho Y, Hong K, Suh JH, Choue R. 2003. Effects of artificial stomach fluid and digestive enzymes on the aglycon isoflavone contents of soybean and black bean (*Rhynchosia molubilis*: Yak-Kong). *Korean J Nutr* 36:32-39

Kenmoku H, Shimai T, Toyomasu T, Kato N, Sassa T. 2002. Erinacine Q, a new erinacine from *Hericium erinaceum*, and its biosynthetic route to erinacine C in the basidiomycete. *Biosci Biotechnol Biochem* 66:571-575

Kennedy AR. 1995. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. *J Nutr* 125:733S-743S

Kim H, Jeong JH, Shin JY, Kim DG, Yu KW. 2011. Immunomodulatory and anti-inflammatory activity of mulberry (*Morus alba*) leaves fermented with *Hericium erinaceum* mycelium by solid-state culture. *J. Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1333-1339

Kim MJ, Park E. 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

Kim SH, Kwon TW, Lee YS, Choung MS, Moon GS. 2005. A major antioxidative components and comparison of antioxidative activities in black soybean. *Korean J Food Sci Technol* 37:73-77

Kim YH, Yun HT, Park KY, Kim SD. 1997. Extraction and separation of anthocyanins in black soybean. *RDA J Crop Sci* 39:35-38

Kwon HJ. 1999. Bioactive compounds of soybean and their activity in angiogenesis regulation. *Korean Soybean Digest* 16:63-68

Lee EW, Shizuki K, Hosokawa S, Suzuki M, Suganuma H, Inakuma T, Li J, Ohnishi-Kameyama M, Nagata T, Furukawa S, Kawagish H. 2000. Two novel diterpenoids, erinacines H and I from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Biosci Biotech Biochem* 64:2402-2405

Lee SJ, Yan WK, Ahn JK, Chung IM. 2003. Effect of year, site, genotype and their interactions on various soybean isoflavones. *Field Crops Res* 81:181-192

Lee SJ, Hong HD, Shin KS. 2016. Convenient method for selective isolation of immuno-stimulating polysaccharides from persimmon leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45:52-60

Lee YB, Lee HJ, Kim CH, Lee SB, Sohn HS. 2005. Soy isoflavones and soyasaponins: characteristics and physiological functions. *Agric Chem Biotechnol* 48:49-57

Li YY, Hsieh LL, Tang RP, Liao SK, Yeh KY. 2009. Interleukin-6 (IL-6) released by macrophages induces IL-6 secretion in the human colon cancer HT-29 cell line. *Hum Immunol* 70: 151-158

Mabbott NA, Donaldson DS, Ohno H, Williams LR, Mahajan A. 2013. Microfold (M) cells: Important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunol* 6:666-677

Manna PP, Hira SK, Basu A, Bandyopadhyay S. 2014. Cellular therapy by allogeneic macrophages against visceral leishmaniasis: Role of TNF-α. *Cell Immunol* 290:152-163

Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *J Univ Chem Technol Metall* 40:255-260

Mori K, Obara Y, Hirota M, Azumi Y, Kinugasa S, Inatomi S, Nakahata N. 2008. Nerve growth factor-inducing activity of *Hericium erinaceus* in 1321N1 human astrocytoma cells. *Biol Pharm Bull* 31:1727-1732

Murano IC, Harwood M, Hlywka JJ, Stephen AM, Doull J, Flamm WG. 2003. Soy isoflavones: A safety review. *Nutr Rev* 61:1-33

Nakatsugawa M, Takahashi H, Takezawa C, Nakajima K, Harada K, Sugawara Y, Kobayashi S, Kondo T, Abe S. 2003. *Hericium erinaceum* (yamabushitake) extract-induced acute respiratory distress syndrome monitored by serum surfactant proteins. *Intern Med* 42:1219-1222

Pierre JF, Busch RA, Kudsk KA. 2016. The gastrointestinal im-

mune system: Implications for the surgical patient. *Curr Probl Surg* 53:11-47

Ruhland A, Kima PE. 2009. Activation of PI3K/Akt signaling has a dominant negative effect on IL-12 production by macrophages infected with *Leishmania amazonesis* promastigotes. *Exp Parasitol* 122:28-36

Sanchez M. 2002. Review: Method used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Sci Tech Int* 8:121-137

Silva LH, Celeghini RMS, Chang YK. 2011. Effect of fermentation of whole soybean flour on the conversion of isoflavones from glycosides to aglycones. *Food Chem* 128:640-644

Sirtori CR. 2001. Risks and benefits of soy phytoestrogens in cardiovascular diseases, cancer, climacteric symptoms and osteoporosis. *Drug Saf* 24:665-682

Stanković MS. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J Sci* 33:63-72

Suh HJ, Yang HS, Ra KS, Noh DO, Kwon KH, Hwang JH, Yu KW. 2013. Peyer's patch-mediated intestinal immune system modulating activity of pectic-type polysaccharide from peel of *Citrus unshiu*. *Food Chem* 138:1079-1086

Wang HJ, Murphy PA. 1994. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 42:1666-1673

Wei H, Cai Q, Rahn R. 1996. Inhibition of UV light and Fenton reaction-induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein. *Carcinogenesis* 17:73-77

Yu KW, Kiyohara H, Matsumoto T, Yang HC, Yamada H. 1998. Intestinal immune system modulating polysaccharides from rhizomes of *Atractylodes lancea* DC. *Planta Med* 64:714-719

Zubik L, Meydani M. 2003. Bioavailability of soybean isoflavones from aglycone and glycoside forms in American women. *Am J Clin Nutr* 77:1459-1465

Received 11 September, 2017
Revised 25 October, 2017
Accepted 28 November, 2017