

꽃송이버섯 발효물의 항산화 활성 및 폴리페놀 함량 변화

양승화¹ · 이용조² · 김다송¹ · 신현재^{1,*}¹조선대학교 대학원 화학공학과²광주여자대학교 산학협력단Antioxidant activity and polyphenol content of fermented *Sparassis latifolia* extractsSeung-Hwa Yang¹, Yong-Jo Lee², Da-Song Kim¹, and Hyun-Jae Shin^{1,*}¹Department of Chemical Engineering, Graduate School of Chosun University, Gwangju 61452, Republic of Korea²Industrial-Academic Cooperation Group, Kwangju Women's University, 45, Gwangjueodaegil, Gwangsan-gu, Gwangju, 62396, Republic of Korea

ABSTRACT: *Sparassis latifolia* is a useful medicinal mushroom that has recently gained popularity in Asia. It has a rich flavor and is a good source of nutrients contains a large number of polyphenols for a functional food or dietary supplement. In addition, *S. latifolia* is rich in beta-glucan and gamma-aminobutyric acid (GABA). These two compounds have been reported to show immune-stimulating and anticancer effects by numerous studies. In this study, four species of lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) were used to ferment the fruiting body of *S. latifolia*. Fermented *S. latifolia* extracts were found to have a higher polyphenol content and antioxidant activity following fermentation as well as increased protease activity.

KEYWORDS: Antioxidant, Total polyphenol contents, Fermentation, *Sparassis latifolia*

서론

최근 현대인들이 건강에 대한 관심이 커지면서, 이와 관련된 항암, 항산화, 노화방지 등에 효능이 있는 기능성 천연물 소재에 대한 연구가 증가하고 있다(Cho *et al.* 2013; Choi *et al.* 2010). 여러 천연물 중 버섯은 독특한 향과 맛을 가지며 다양한 영양소를 가지고 있을 뿐만 아니라 항산화, 항염, 항암, 면역증강 등 다양한 효능이 있는 것으로

알려져 있다(An *et al.* 2019).

이러한 버섯들 중 꽃송이버섯은 탄수화물이 전체 영양 성분의 70%를 이루고 있고, 이 중 탄수화물의 절반 이상이 베타글루칸(β -glucan) 성분이며, 그 외에 글리코겐(glycogen), 키토산(chitosan) 등 다양한 성분이 포함되어 있다(Oh *et al.* 2013). 꽃송이버섯의 베타글루칸 함량은 다른 버섯들에 비해 상당히 높은 편으로(약 43.6%) 면역활성 촉진 및 항암활성에 대한 연구들이 보고되어 있다(Harada *et al.* 2002; Ohno *et al.* 2000; Choi *et al.* 2014). 꽃송이버섯에는 β -glucan과 더불어 다양한 phenolic compound가 많이 함유되어 있는데, 그중 veratric acid와 같은 benzoic acid 계열의 성분을 다른 약용 버섯에 비해 많이 함유하고 있는 것으로 보고되었다(Kim *et al.* 2008). 폴리페놀(polyphenol)은 식물 내에 존재하는 페놀화합물의 총칭으로써, 식물이 자라면서 여러 가지 유해환경으로부터 자신을 보호하는 물질이다. 폴리페놀은 화학적으로 벤젠 고리에 하이드록실기(hydroxyl group)를 한개 또는 그 이상을 가진 화합물으로써, 자외선 또는 특정 병원균에 대해 방어하는 메커니즘에 관여한다. 식용 폴리페놀은 식물에서 천연물까지 다양하게 분포 되어있다(Jeon *et al.* 2014). 플라보노이드

J. Mushrooms 2019 December, 17(4):268-274
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2019.17.4.268>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author
 E-mail : shinhj@chosun.ac.kr
 Tel : +82-62-230-7518, Fax : +82-62-232-2474

Received December 17, 2019
 Revised December 20, 2019
 Accepted December 20, 2019

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.

와 같은 페놀화합물을 다량 포함하고 있으며, 이러한 성분들은 산화적 스트레스에 의해서 발생하는 위궤양과 경련의 예방, 암, 심장질환 및 각종 퇴행성 질병들의 예방과 감소함이 보고 되었다(Choi *et al.* 2015).

한편 국내에서 유산균 발효 공정을 활용하여 각종 천연물 추출물에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있고, 기존 원물 대비 발효물의 생리활성이 높은 것으로 알려져 있다(Park 2012). 발효공정에 사용되는 유산균은 항산화 활성, 면역력 및 항암 활성 증대 등의 예방 효과를 가지고 있고, 다양한 발효식품 또는 생균제의 형태로 섭취하는 건강기능성식품의 역할을 하고 있다(Lee *et al.* 2016). 따라서 본 연구에서는 발효를 통해 꽃송이버섯 폴리페놀 함량 및 다양한 생리 활성 물질의 함량을 증대시키고자 하였으며, 4가지 종류의 유산균(*Lactobacillus plantarum subsp. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*)을 사용하여 꽃송이버섯을 발효를 진행하였다. 또한 발효된 꽃송이버섯 추출물과 발효 전 꽃송이버섯 추출물의 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량 변화를 비교 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

발효에 사용한 유산균

Lactobacillus plantarum subsp. plantarum (KCTC 3105), *L. acidophilus* (KCTC 3140), *L. helveticus* (KCTC 3545), *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* (KCTC 3635) 총 4종의 lactobacillus를 한국생명공학연구원 미생물자원센터에서 분양 받았고, 위의 균주명 순서대로 ①LP3105, ②LA3140, ③LH3545, ④LB3635 로 표시하였다.

꽃송이버섯 발효

발효 조건은 100 mL MRS broth 에 꽃송이버섯 powder 가 5% (w/v)가 되도록 첨가하여 MRS broth 에서 5시간 배양시킨 4종의 *Lactobacillus*를 5 mL 각각 접종하고 37°C, anaerobic 상태의 Incubator (HANBAEK CO., HB-201SL)에서 3일간 발효를 진행하였고 2일의 숙성기간을 가졌다. 발효가 끝난 발효물은 12,000 rpm, 4°C에서 1시간 동안 원심분리하여 상등액과 침전물을 분리하였다. 상등액과 침전물 모두 동결건조하여 powder 상태로 만들었고, 동결건조된 상등액을 시료로 사용하였다. 균주명 순서대로 발효물을 S1, S2, S3, S4로 명명하였고, 발효하지 않은 꽃송이버섯 5% 추출물은 S0로 명명하였다.

항산화 활성 측정

DPPH free radical 소거효과

95% ethanol 에 용해시킨 0.1 mM DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma, USA) 800 µL와 각 실험군 200 µL을 E.P tube 에 넣고 3분간 vortexing 하여 암실에서 30분간

반응 시켰다. 남아 있는 radical의 농도를 UV-Visible spectrophotometer (SCINCO, Seoul, Korea)를 사용하여 517 nm에서 측정하였다(Park *et al.* 2010). 양성 대조군으로는 gallic acid (Sigma, USA)를 사용하였고, 농도범위는 0.1-0.4 mg/mL 로 측정 하였다.

ABTS radical 소거효과

본 실험에서는 Jeong 등의 방법 (Jeong *et al.*, 2009)을 변형하여 측정하였다. 증류수에 용해한 7 mM의 ABTS potassium persulfate 2.45 mM을 1:1로 넣어 흡광도 값이 0.70±0.02이 되도록 PBS (pH 7.4)로 희석하였다. 12-16 시간 동안 암소에 방치하고 radical stock solution은 희석된 용액 800 µL에 농도별로 제조된 sample 200 µL씩을 가하여 15분 동안 방치 후 흡광도를 측정하였다(Lee *et al.* 2005). 양성대조군으로는 gallic acid (Sigma, USA)를 사용하였고, 농도범위는 0.025-0.1 mg/mL 로 측정 하였다.

Hydroxyl radical 소거효과

시료 0.5 mL를 1 mL의 9 mM FeSO₄, 1 mL의 9 mM 살리실산 및 0.5 mL의 0.3% H₂O₂ 와 혼합하였다. 혼합물을 실온에서 30분 동안 반응시킨 후 흡광도를 SCINCO UV-Vis spectrophotometer (Seoul, Korea)을 이용하여 510 nm에서 측정하였다(Sanchez-Moreno 2002).

SOD 활성

SOD 활성은 xanthine -xanthine oxidase system을 nitroblue tetrazolium (NBT)로 발색시킨 19160 SOD determination kit (Sigma, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 반응조건은 완충액 19 mL 에 기질 1 mL (WST solution)을 섞은 다음 희석용 완충액 25 mL에 효소용액 15 µL를 섞어 반응시켰다(Choi *et al.* 2014).

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량을 측정하기 위해 꽃송이버섯 발효물과 2M Folin-ciocalteu phenol 시약(Sigma-Aldrich, USA)을 10배 희석한 용액과 2% Na₂CO₃ 수용액(2:98, w/v)을 각각 1:1:1 비율로 섞어서 암실에서 30분 동안 반응을 시켰다. UV-spectrometer를 이용하여 750 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다(Choi *et al.* 2011). 기준 물질로 gallic acid 와 quercetin을 사용하였으며, 각각 GAE µg/mL, QUE µg/mL 로 함량을 나타내었다.

High performance liquid chromatography(HPLC) analysis

HPLC는 Simadzu(Japan)사의 LC20A를 사용하였으며, 분석 컬럼은 PRONTOSIL 120-5-C18 SH (250×4.6 mm, 5.0 µm particle size) 컬럼을 사용하였다. 이동상으로 6% acetic acid in 2 mM sodium acetate solution(A),

Table 1. Actioxidnat activity results and total polyphnol contents of *Sparassis latifolia* extract (S0) and fermentated *S. latifolia* extracts 1-4 (S1, S2, S3, S4)

Sample	IC ₅₀ (µg/mL)			TPC (µg/mL)		
	DPPH	ABTS	Hydroxy radical	SOD	GAE	QUE
S0	186.24	269.57	186.24	183.58	58.62	54.01
S1	59.38	51.26	64.46	25.04	87.67	85.25
S2	62.26	58.22	58.82	39.42	57.66	93.37
S3	49.96	28.09	28.19	15.75	100.43	110.68
S4	51.64	62.21	31.21	18.84	93.35	101.07
Gallic acid	5.58	4.54	2.46	-	-	-

acetonitrile(B)를 사용하였고, 유량은 1 mL/min, 컬럼 온 분 온도는 40°C, 검출기 파장은 280 nm이다. 이동상 B를 기준으로 gradient를 주면서 분석을 진행하였으며, 0-15% (B) in 0-45 min; 15-30% (B) in 45-60 min; 30-50% (B) in 60-65 min; 50-100% (B) in 65-70 min; 100-0% (B) in 70-80 min 조건으로 분석하였다. 총 분석시간은 80 min 이고, 주입량은 20 µL이었다(Taso *et al.* 2003).

Protease 활성 측정

Protease 효소 활성은 식약처에 고시된 3가지 방법인 HUT, SAP, Plant 방법을 사용하여 꽃송이버섯 발효물의 protease 효소 활성을 확인하였다.

SAP법은 가수분해 되지 않은 기질은 trichloroacetic acid 로 침전시켜 여과에 의해 제거하고 여액에 남아 있는 casein 양을 흡광도 값으로 측정하였다. 기질용액 10 mL 을 항온조에서 15분간 항온 시킨 후 시험용액 2mL을 가하여 흔들어 혼합하고 30분간 반응 시켰다. Trichloroacetic acid 10 mL을 넣어 반응을 정지 시킨 후 항온조에서 30 분간 단백질을 응고 시킨 후 얼음으로 반응을 완전히 정지 시킨 다음 반응이 정지된 각 sample을 12,000 rpm에서 7분간 원심분리하고 상등액을 취하여 285 nm 에서 흡광도 값을 측정 하였다.

HUT법은 각 시험관에 기질 용액 5 mL을 항온조에 넣고 15분간 항온 시킨 다음 시험관에 각 시험용액 sample 2 mL를 가하고 다시 항온조에서 30분간 반응 시킨 후 trichloroacetic acid 3 mL 가하여 반응을 정지 시켰다. 반응이 정지된 각 sample을 12,000 rpm에서 7분간 원심분리하고 상등액을 취하여 285 nm 에서 흡광도 값을 측정 하였다.

Plant 법은 기질 5 mL 을 15분간 항온 시킨 후 시험용액 2 mL, 표준용액 2 mL을 각각 가하여 흔들어 섞고 다시 항온조에서 60분간 항온 시킨 후 각각의 시험관에 trichloroacetic acid 3 mL을 넣어 반응을 정지 시켰다. 반응이 정지된 시험관 모두를 30분간 항온조에서 배양하여 단백질을 완전히 응고시킨 다음 반응이 정지된 각 sample 을 12,000 rpm에서 7분간 원심분리하고 상등액을 취하여

285 nm 에서 흡광도 값을 측정 하였다.

통계처리

항산화활성, 효소활성 등 모든 결과는 3회 이상 반복 실험을 통하여 평균값과 표준편차를 계산하였다. 실험결과는 IBM SPSS Statistics version 23을 이용하여 통계분석을 실시하였으며, 일원분산분석법(one-way ANOVA)과 사후검정(Duncan’s multiple range test)을 통하여 group 간의 유의적 차이를 검정하였다. ANOVA 검정에서 유의성이 확인되지 않은 결과는 사후검정을 실시하지 않았다. 모든 결과의 분석은 신뢰도 95% 구간에서 실시하였다.

결과 및 고찰

항산화 활성 확인 결과

꽃송이버섯 추출물과 꽃송이버섯 발효물의 DPPH radical 소거능을 확인한 결과 *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*종의 균주로 접종하여 발효시킨 꽃송이버섯 발효물의 항산화 활성이 꽃송이버섯 추출물의 항산화 활성보다 높게 확인되었다(Table 1 and Fig. 1). 꽃송이버섯 추출물 보다 꽃송이버섯 발효물의 DPPH free radical 소거능이 3배 이상 높은 것으로 확인되었다. 특히 전체 실험군 중 꽃송이버섯을 *L. helveticus* 균주로 접종하여 발효시킨 S3의 항산화 활성이 가장 높은 것으로 확인 되었으며, IC₅₀값은 49.96 µg/mL 이었다. 꽃송이버섯 추출물과 꽃송이버섯 발효물의 ABTS radical 소거능을 확인한 결과 꽃송이버섯 발효물의 항산화 활성이 꽃송이버섯 추출물의 항산화 활성보다 4배 이상 높은 것으로 확인되었다(Table 1 and Fig. 2). 4가지 균주로 발효시킨 꽃송이버섯 발효물의 IC₅₀는 각각 51.26, 58.22, 28.09, 62.21 µg/mL로 확인 되었으며, 4가지 균주로 접종하여 발효시킨 꽃송이버섯 실험군인 S3의 활성이 높게 확인되었다. Hydroxyl radical 소거능 실험결과 역시 꽃송이버섯 추출물 보다 꽃송이버섯 발효물의 활성이 3배 이상 높은 것으로 확인되었다(Table 1 and Fig. 3). 특히 전체 실험

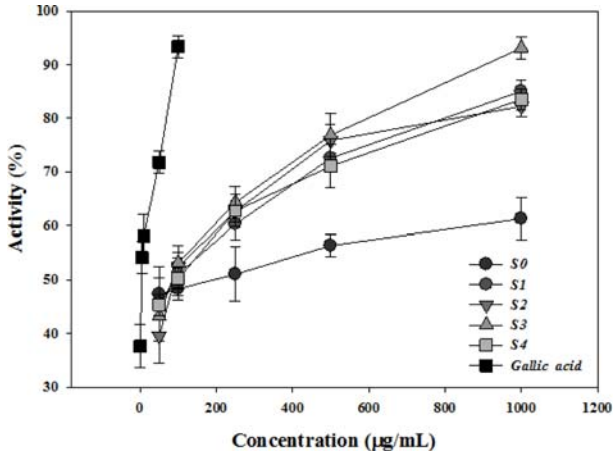


Fig. 1. DPPH free radical scavenging activity result of *S. latifolia* extract (S0) and fermented *S. latifolia* extracts 1-4 (S1, S2, S3, S4).

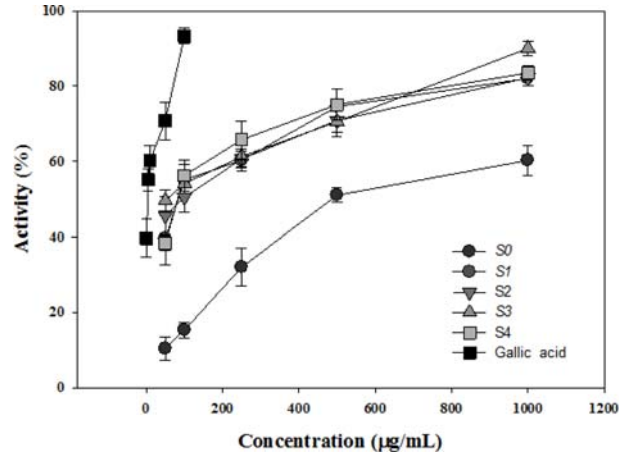


Fig. 3. Hydroxyl radical activity results of *S. latifolia* extract (S0) and fermented *S. latifolia* extracts 1-4 (S1, S2, S3, S4).

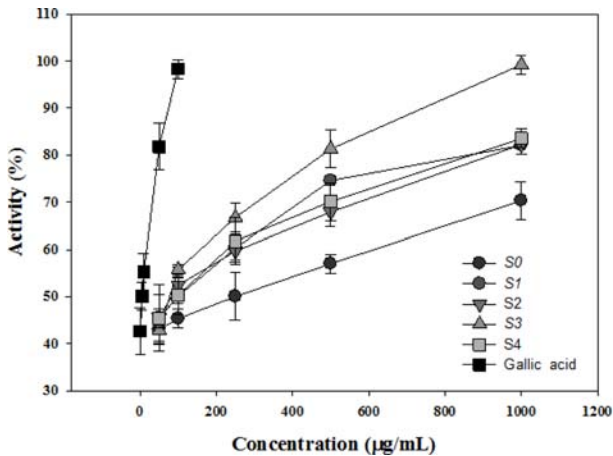


Fig. 2. ABTS scavenging activity results of *S. latifolia* extract (S0) and fermented *S. latifolia* extracts 1-4 (S1, S2, S3, S4).

군 중 꽃송이버섯을 *L. helveticus* 균주로 접종하여 발효시킨 S3의 항산화 활성이 가장 높은 것으로 확인 되었으며, IC₅₀ 값은 28.19 µg/mL 이었다. 이와 같은 결과는 DPPH, ABTS 방법에서 S3의 항산화 활성이 가장 높았던 결과와 일치하며, 4종의 균주 중에서 *L. helveticus* 균주를 접종하여 꽃송이버섯을 발효시켰을 때 항산화 활성이 높아지는 것을 확인 할 수 있다. 기존의 연구에서 꽃송이버섯에 함유되어 있는 폴리페놀류의 물질들은 산화성 자유라디칼과 반응하여 산화력을 억제시키는 역할을 한다고 보고되어 있다(Moradali *et al.* 2007). 기존의 연구에서 꽃송이버섯을 *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium spp.*, *Streptococcus thermophilus* 로 구성된 복합 유산균을 사용하여 발효시켰을 때 발효되지 않은 꽃송이버섯 추출물보다 발효된 꽃송이버섯 발효물의 항산화활성이 증가된 것으로 확인되었다(Lee *et al.* 2016). 이와 같은 결과는 본 연구에서 진행하였던 결과와 유사하며, 유산균 발

효 후 총 polyphenol과 flavonoid 함량 증가로 항산화 활성이 증가했을 것으로 판단된다.

SOD 활성 측정 결과

꽃송이버섯 원물과 꽃송이버섯 발효물의 SOD radical 소거능을 확인한 결과 *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 4종의 균주로 접종하여 발효시킨 꽃송이버섯 발효물의 항산화 활성이 꽃송이버섯 추출물의 항산화 활성보다 높게 확인되었다. 전체 실험군 중에서 4가지 균주로 꽃송이버섯을 발효시킨 실험군의 SOD 활성이 높은 것으로 나타났으며, *L. helveticus* 균주로 발효시킨 꽃송이버섯 발효물의 IC₅₀은 15.75 µg/mL로 확인되었다. 이와 같은 결과는 다른 항산화 실험결과와 일치하며, 꽃송이버섯 발효 균주의 조건을 확립하는데 매우 중요한 결과이다.

총 폴리페놀 함량 측정 결과

꽃송이버섯 추출물과 꽃송이버섯 발효물의 총 폴리페놀 함량을 확인한 결과 꽃송이버섯 발효물의 총 폴리페놀 함량이 추출물보다 최대 2배 이상 함유 된 것으로 확인되었다. 이 중 4종의 꽃송이버섯 발효물 중에서 *L. helveticus* 균주로 접종하여 발효시킨 꽃송이버섯 발효물의 폴리페놀 함량이 가장 높게 측정 되었으며, gallic acid 100.43 µg/mL, quercetin 110.68 µg/mL 로 확인되었다. 이와 같은 결과는 천연물 기준으로 보았을 때 매우 높은 폴리페놀 함량에 해당하며, 추후 발효 균주나 추출 방법을 달리하여 폴리페놀 함량증대를 위한 추가 연구가 필요하다고 사료된다.

꽃송이버섯 발효물 HPLC 분석 결과

꽃송이버섯 추출물과 꽃송이버섯 발효물에 함유되어 있

Table 2. Quantitative analysis result of *S. latifolia* extract (S0) and fermented *S. latifolia* extracts 1-4 (S1, S2, S3, S4)

Sample	Ascorbic acid	Gallic acid	Catechin	Chlorogenic acid	Quercetin
S0	-	4.35±0.05	-	0.16±0.03	0.31±0.07
S1	5.97±0.09	171.69±0.01	-	12.76±0.08	-
S2	5.26±0.03	27.93±0.05	-	12.00±0.02	-
S3	9.58±0.04	209.32±0.01	-	17.48±0.03	-
S4	8.04±0.01	180.83±0.02	-	15.36±0.01	-

는 polyphenol을 HPLC 분석을 통하여 확인하였다(Table 2 and Fig. 4). HPLC 분석결과 꽃송이버섯 추출물에 함유되어 있는 polyphenol과 꽃송이버섯 발효물에 함유되어 있는 polyphenol이 다르다는 것이 확인되었다. 꽃송이버섯 추출물 HPLC 분석결과에서는 gallic acid, chlorogenic acid, quercetin 이 확인되었으나, 꽃송이버섯 발효물에서는 ascorbic acid, gallic acid, chlorogenic acid가 확인되었다. 이는 총 폴리페놀 함량과는 다른 결과로 꽃송이버섯을 발효시키면서 *Lactobacillus*균의 작용에 의하여

chlorogenic acid와 ascorbic acid가 생성 되는 것으로 판단된다. 총 폴리페놀 함량은 추출물 속에 함유되어 있는 polyphenol 류를 정성적으로 확인하는 실험이고, HPLC 분석은 한가지 화합물을 정량적으로 확인 가능한 실험으로 두 실험사이에 상이한 결과를 나타낸 것으로 판단된다. 기존의 연구 결과를 보면 꽃송이버섯 추출물에서 benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, gallic acid, gentisic acid, kaempferol, naringenin 등의 화합물이 함유되어 있다고 알려져 있다(Ferreira *et al.* 2009; Puttaraju *et al.* 2006). 이와 같은 결과는 본 연구에서 진행한 꽃송이버섯 발효물의 HPLC 분석결과와 유사하며, 발효시 폴리페놀의 종류 및 함유량의 변화가 있음을 확인할 수 있었다. 추후 다양한 발효 균주에 따른 생리활성을 측정하여 폴리페놀의 종류 및 함량 변화를 검증할 필요가 있다고 생각되며, 생물전환공정을 통해 항산화 활성과 같은 기능성을 증가시켜 그 효능을 극대화 시킬 수 있는 생리활성 연구도 진행되어야 한다.

Protease 효소활성 측정 결과

젖산균은 고분자 탄수화물 가수분해 효소인 α -amylase, β -amyloglucosidase 뿐만 아니라 cellulose에 대한 가수분해능을 나타내는 β -glucosidase, 복합 올리고당류를 분해할 수 있는 α -galactosidase 등을 생성한다고 알려져 있으며, 단백질 분해효소인 protease 를 생성하여 가수분해물을 만들어 낸다. 본 실험에서 꽃송이버섯 발효물의 protease 의 활성을 측정 하였는데 HUT, SAP, Plant 방법 모두에서 높은 효소활성 결과를 나타내었다(Table 3 and Fig. 5).

기존의 연구에서 동물성 단백질 및 식물성 단백질을 효소분해하여 얻어진 펩타이드에서 항산화 활성이 나타나는 것으로 보고되어 있다. 이는 pesin에 의한 카제인 가수분해물로부터 합성된 펩타이드가 radical 에 대하여 소거 활성을 나타내기 때문이다. 최근 단백질 유래 펩타이드의 생리활성 기능에 대해서 많은 연구가 이루어지고 있으나 연구자의 실험조건, 사용된 효소, 생성된 펩타이드의 분자량 및 분석 방법이 상이한 결과를 나타내므로 향후 꽃송이버섯 발효물을 한외여과막을 이용해 유단백질 분리와 SDS-전기영동을 통하여 유단백질 가수분해물의 특성에 대해 확인할 필요가 있다.

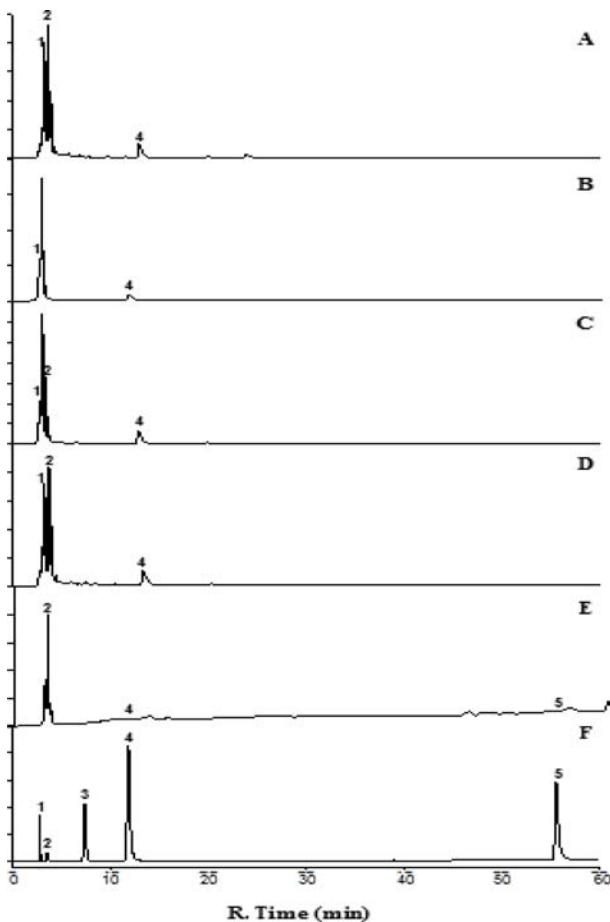


Fig. 4. High-performance liquid chromatography (HPLC) chromatograms of (A) S4, (B) S3, (C) S2, (D) S1, (E) S0 and (F) standard (1: ascorbic acid, 2: gallic acid, 3: catechin, 4: chlorogenic acid, 5: quercetin).

Table 3. L-tyrosine content(HUT, SAP, Plant) results of *S. latifolia* extract (S0) and fermented *S. latifolia* extracts 1-4 (S1, S2, S3, S4). Samples conc.: 50 mg/mL

Sample	O.D.			L-tyrosine content		
	HUT	SAP	Plant	HUT	SAP	Plant
S0	1.2890	1.8658	1.3121	66.00	95.73	67.19
S1	3.3333	3.3267	3.4335	171.38	171.04	176.54
S2	3.4486	3.5006	3.6898	177.32	180.00	189.75
S3	3.1196	3.8013	3.7403	160.36	195.50	192.36
S4	3.5529	3.0959	3.6882	182.70	159.14	189.67

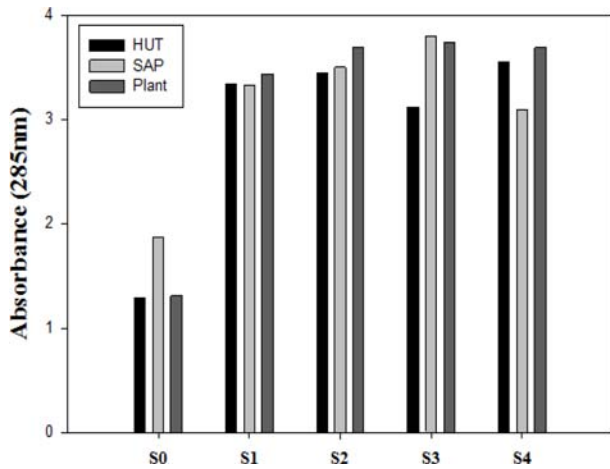


Fig. 5. Comparison of protease activity of *S. latifolia* extract (S0) and fermented *S. latifolia* extracts 1-4 (S1, S2, S3, S4).

적 요

본 논문에서는 꽃송이버섯을 4종의 유산균(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)을 사용해 발효를 하였다. 발효된 꽃송이버섯 발효물을 항산화 활성(DPPH free radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, Hydroxy radical scavenging activity), SOD activity, 총 폴리페놀 함량(TPC), HPLC 분석, protease 활성을 통해 발효 전 후 생리활성 변화를 확인하였다. 꽃송이버섯 발효물의 항산화 활성은 IC50 28.09-64.46 µg/mL, SOD 활성은 IC50 15.75-39.42 µg/mL, TPC는 57.66-100.43 GAE µg/mL 와 85.25-110.68 µg/mL 로 확인되었다. 꽃송이버섯 추출물의 항산화 활성보다 약 8배 이상 증가된 결과로 확인되었다. 또한 꽃송이버섯 발효물의 HPLC 분석 결과는 ascorbic acid, gallic acid, chlorogenic acid의 함량이 높게 확인되었으며, protease 활성 또한 발효물의 활성이 높은 것으로 확인되었다. *Lactobacillus* 균주들의 작용에 의하여 꽃송이버섯이 발효되면서 폴리페놀류가 증가하여 생리활성이 꽃송이버섯 추

출물에 비해 증가한 것으로 추측된다. *Lactobacillus* 균 중에서 *L. helveticus* 균주로 발효된 꽃송이버섯 발효물은 가장 높은 활성을 나타냈으며, 꽃송이버섯을 발효하는데 있어 *L. helveticus* 균주가 가장 적합한 균주로 확인되었다.

감사의 글

이 논문은 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2017R1A2B4006204).

REFERENCES

- An GH, Han JG, Cho JH. 2019. Antioxidant activities and β-glucan contents of wild mushrooms in Korea. *J Mushrooms* 17: 144-151.
- Cho JH, Lee JY, Lee MJ, Oh HN, Kang DH, Jhune CS. 2013. Comparative analysis of useful β-glucan and polyphenol in the fruiting bodies of *Ganoderma spp.* *J Mushroom Sci Prod* 11: 164-170.
- Choi MH, Han HK, Lee YJ, Jo HG, Shin HJ. 2014. *In vitro* anticancer activity of hydrophobic fractions of *Sparassis latifolia* extract using AGS, A529, and HepG2 cell lines. *J Mushrooms* 12: 304-310.
- Choi MH, Kim MJ, Jeon YJ, Shin HJ. 2014. Quality changes of fresh vegetable and fruit juice by various juicers. *KSBB J* 29: 145-154.
- Choi MH, Shin HJ. 2015. Anti-oxidative and anti-melanogenesis effects of blueberry extract. *Kor J Aesthet Cosmetol* 13: 261-266.
- Choi SJ, Lee YS, Kim JK, Kim JK, Lim SS. 2010. Physiological activities of extract from edible mushrooms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1087-1096.
- Choi SY, Kim YC, Chang BS. 2011. Inhibitory efficacy of black tea water extract on melanogenesis in melan-a cells and its action mechanisms. *Korean J Microscopy* 41: 169-177.
- Ferreira ICFR, Barros L, Abreu RMV. 2009. Antioxidants in wild mushrooms. *Curr Med Chem* 16: 1543-1560.
- Harada T, Miura NN, Adachi Y, Nakajima M, Yadomae T, Ohno N. 2002. IFN-γ induction by SCG, 1,3-β-D-glucan from *Sparassis crispa*, DBA/2 mice *in vitro*. *J Interferon Cytokine Res* 22: 1227-1239.

- Jeon, HJ, Kwon HJ. 2014. Antioxidant effects and functional evaluation of *Gynura procumbens* extract as a collaboration material for cosmetics and functional food. *Kor J Aesthet Cosmetol* 12: 499-507.
- Kim MY, Seguin P, Ahn JK, Kim JJ, Chun SC, Kim EH, Seo SH, Kang EY, Kim SL, Park YJ. 2008. Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *J Agr Food Chem* 56: 7265-7270.
- Lee JJ, Son HY, Choi YM, Cho JH, Min JK, Oh HK. 2016. Physiochemical components and antioxidant activity of *Sparassis crispa* mixture fermented by lactic acid bacteria. *Korean J Food Preserv* 23: 361-368.
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J Food Sci Technol* 37: 233-240.
- Moradali MF, Mostafavi H, Ghods S, Hedjaroude GA. 2007. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int Immunopharmacol* 7: 701-724.
- Oh DS, Kim HS, Shim BS, Wui AJ, Yoon BS, Kim KW, Wang SJ. 2013. Effect of mycelial culture of cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) using LED lighting operation. *J Mushrooms* 11: 24-31.
- Ohno N, Miura NN, Nakajima M, Yadomae T. 2000. Antitumor 1,3- β -glucan from cultured fruit body of *Sparassis crispa*. *Biol Pharm Bull* 23: 866-872.
- Park EJ, Jhon DY. 2010. The antioxidant, angiotensin converting enzyme inhibition activity, and phenolic compounds of bamboo shoot extracts. *LWT - Food Sci Technol*. 43: 655-659.
- Park KY. 2012. Increased health functionality of fermented foods. *Food Indus Nutr* 17: 1-8.
- Puttaraju NG, Venkateshaiah SU, Dharmesh SM, Urs SM, Somasundaram R. 2006. Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. *J Agric Food Chem* 54: 9764-9772.
- Sanchez-Moreno C. 2002. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int* 8: 121-137.
- Taso R, Raymond Y. 2003. Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 1018: 29-40.