

## 노루궁뎅이균사발효 울무 열수추출물의 유용성분 및 생리활성

윤경원<sup>1</sup> · 김경제<sup>2</sup> · 진성우<sup>2</sup> · 고영우<sup>2</sup> · 임승빈<sup>2</sup> · 하늘이<sup>2</sup> · 정희경<sup>2</sup> · 정상욱<sup>2</sup> · 서경순<sup>2\*</sup><sup>1</sup>순천대학교 한약자원개발학과<sup>2</sup>(재)장흥군버섯산업연구원Biological activity in hot water extract from fermented *Coix lacryma-jobi* L. var. *mayuen* Stapf. by *Hericium erinaceum* (Bull. : Fr.)Kyeong-Won Yun<sup>1</sup>, Seong-Woo Jin<sup>2</sup>, Kyung-Je Kim<sup>2</sup>, Young-Woo Koh<sup>2</sup>, Seung-Bin Im<sup>2</sup>, Neul-I Ha<sup>2</sup>, Hee-Gyeong Jeong<sup>2</sup>, Sang-Wook Jeong<sup>2</sup>, and Kyoung-Sun Seo<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon Nat'l University, Suncheon 57922, Korea<sup>2</sup>Jangheung Research Institute for Mushroom Industry, Jangheung 59338, Korea

**ABSTRACT:** This study was conducted to determine the antioxidant, nitrite scavenging, melanin tyrosinase inhibitory, and melanogenesis inhibitory activities of fermented *Coix lacryma-jobi* L. var. *mayuen* Stapf. by *Hericium erinaceum* (Bull.: Fr.) mycelial hot water extract (FCLHE). Additionally, we analyzed  $\beta$ -glucan and ergosterol contents in FCLHE and *C. lacryma-jobi* hot water extract (CLHE). The ergosterol and  $\beta$ -glucan contents in FCLHE were 740.2 mg% and 245.3 mg%, respectively, whereas these components were not detected in CLHE. FCLHE showed higher cell viability than CLHE. When B16F10 cells were treated with 500  $\mu$ g/mL each of CLHE and FCLHE, the FCLHE treated cells produced 8.9  $\mu$ M nitric oxide (NO), which was lower than that produced by CLHE treated cells (10.6  $\mu$ M). The FCLHE treated cells showed significantly greater tyrosinase inhibition and melanin production at all tested concentrations than when compared to the CLHE treated group. Antioxidant parameters such as DPPH and ABTS radical scavenging activities were higher in FCLHE than in CLHE. These results suggest that FCLHE can be used as a raw material for functional foods, for food additives, and in the cosmetic industry.

**KEYWORDS:** Antioxidant activity,  $\beta$ -Glucan content, Biological activity, *Coix lacryma-jobi* L. var. *mayuen*, *Hericium erinaceum* mycelial

## 서론

최근 평균수명 연장과 사회활동 여성인구 비율 증가로 미에 대한 관심이 증가하여 피부개선효과와 친환경을 강조한 원료로 만들어진 화장품에 대한 수요가 증가하고 있다(Seo *et al.*, 2018).化妆품을 포함한 뷰티산업의 호황 속에 새로운 기술개발을 통한 화학 소재의 화장품 출시는 활성화 되고 있다. 하지만 기존 출시된 화학물질 소재의 화장품에 대한 부작용으로 안구 건조증, 피부트러블, 소화장애, 호흡기장애 심지어 호르몬의 교란 등 수 많은 문제점들이 노출되고 있는 실정이다(Park, 2019). 이에 따라 천연원료를 통한 향산화, 미백, 항염증 등의 효능을 갖는 기능성 제품을 개발하고, 합성원료에 대한 심각한 독성과 부작용에 경쟁력을 갖는 천연물 소재를 개발하려는 노력이 활발하게 이루어지고 있다(Chen *et al.*, 2015).

J. Mushrooms 2020 March, 18(1):20-28  
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2020.18.1.20>  
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853  
 © The Korean Society of Mushroom Science

Kyeong-Won Yun(Professor), Seong-Woo Jin(Researcher), Kyung-Je Kim (Senior Researcher), Young-Woo Koh(Researcher), Seung-Bin Im (Researcher), Neul-I Ha(Researcher), Hee-Gyeong Jeong(Researcher), Sang-Wook Jeong(Researcher), and Kyoung-Sun Seo(Senior Researcher)

\*Corresponding author  
 E-mail : astragali@daum.net  
 Tel : +82-61-862-8877

Received November 29, 2019  
 Revised December 13, 2019  
 Accepted March 23, 2020

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.

천연물을 재료로 한 화장품에 대한 연구로는 flavonoid, 유산균유래 보습성분, hyaluronic acid 대량생산 같은 미백원료합성 등이 진행되었으며(Elsner and Mailbach, 2005), 특히 미백제에 대해서는 arbutin, kojic acid, ascorbic acid 및 aloe 추출물을 활용한 제형개발이 진행되었다(Nohynek *et al.*, 2010).

버섯을 단순히 영양소를 공급해주는 급원이라든지, 맛과 향을 즐기는 기호식품의 일부로 보던 시대는 지나고, 버섯의 기능성에 더 초점이 맞추어지고 있다(Kim, 2012). 노루궁뎅이(*Hericium erinaceus*)은 분류학상 민주름버섯목(Aphyllophorales), 턱수염버섯(Hydnaeae)과 산호침버섯속(*Hericium*)에 속하며(Kawagishi *et al.*, 1996), 노루궁뎅이는 한국, 중국, 일본 등 동아시아 지역에서 전통적으로 식용 및 민간요법에 사용되어 왔다(Jia *et al.*, 2004). Polysaccharides, proteins, lectins, hericenone, erinacol, erinacine 및 terpenoids 등 다양한 생리활성 물질들이 함유되어 있으며, 항암, 살충, 항균 작용 등이 연구되었으며(Lee *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2011), 노루궁뎅이의 수집종에 대한 항산화 활성, 노루궁뎅이에 함유된 다당류의 항산화 효과도(Han *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2018) 보고된 바 있다.

본 연구에서 노루궁뎅이 균사 발효 소재인 율무(*Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf.)는 벼과(Gramineae)에 속한 한해살이 초본으로 종자를 식용 및 약용으로 활용하고 있다(Kuo *et al.*, 2012). 율무는 한의약에서 의이인이라 하여 부종감소, 이뇨효과가 있다고 알려져 있으며, 뿌리는 황달과 신경통의 치료에 사용한다(Kim, 2012; Song *et al.*, 2016). 약리적으로 항비만, 항산화, 항암, 면역력 증강 등의 효과가 보고되어 있으며, tyrosinase 저해 활성에 의한 미백효과가 보고된 바 있다(Kim and Lee, 2000). 율무종자에는 지방산, phenol 화합물, 다당류, benzoxazinoid, lignan 등이 함유되어 있다고 알려져 있다(Han *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2016).

버섯의 향장품 이용에 관한 연구로는 국내 시판 식용버섯 열수추출물의 피부미백연구(Kim, 2016), 표고버섯 추출물의 화장품약리활성 검증과 천연화장품 소재로서의 활용 가능성이 검토된 바 있다(Seo *et al.*, 2018). 자극성 완화 및 생리활성 향상을 목적으로 버섯균사를 활용한 천연물 발효에 관한 연구가 지속적으로 수행되고 있다(Kwon, 2011; Kim *et al.*, 2014).

멜라닌은 산화적 스트레스나 NO (Nitric oxide) 등에 의한 자극에 의해서도 생성이 되는데, 천연소재의 항산화나 항염증 효과는 피부의 멜라닌과도 관련이 있다는 Joung 등(2007)의 연구를 바탕으로, 미백효과가 있는 것으로 알려진 율무를 노루궁뎅이균사로 발효하여 향장품 및 항산화 소재로 활용하고자 수행하였다. 이러한 목적 달성을 위하여 노루궁뎅이균사발효 율무 제조 및 추출 최적 조건을 탐색하였으며, 노루궁뎅이균사발효 율무의

ergosterol 함량,  $\beta$ -glucan 함량, 세포독성, 항염증효과, tyrosinase 저해활성, melanin 합성 저해활성 및 항산화효과를 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 균주

율무 버섯 균사발효 조건 탐색을 위하여 표고(*Lentinula edodes*), 눈꽃동충하초(*Paecilomyces japonica*), 치마버섯(*Schizophyllum commune*), 노루궁뎅이(*Hericium erinaceus*) 및 목질진흙버섯(*Phellinus linteus*) 총 5종을 KCCM(한국미생물보존센터)에서 분양 받아 사용하였다. 본 연구에 사용한 배지 및 시약은 시판 1급 및 특급을 구입하여 사용하였다.

### 버섯균사발효

율무 추출물이 첨가된 버섯 균사 배양 추출물의 제조를 위한 율무 추출물의 제조는 다음의 방법으로 제조하였다. 우선 율무를 곱게 분쇄한 후 500 mL 삼각플라스크에 200 mL의 멸균 증류수와 5, 10 및 20%의 농도로 첨가하고 glucose와 sucrose를 1%씩 첨가하여 고압증기멸균기(autoclave)를 이용하여 121°C에서 15분간 멸균하였다. 멸균된 율무 추출물에 PDB (Potato dextrose broth, Difco™, USA)배지에서 생육된 5종의 버섯 균사체를 10 mL씩 무균적으로 취하여 접종하였다. 접종된 추출물은 저온배양기를 이용해 각각의 최적온도 조건을 맞추어 6주간 배양하였다.

### 율무 추출물 버섯균사 발효조건 확립

율무의 첨가량에 따른 노루궁뎅이, 치마버섯, 눈꽃동충하초, 목질진흙버섯, 표고버섯의 균사 생장을 측정하기 위하여, 각각의 버섯 균사체를 15일간 배양하여 균사 밀도를 측정하였다(Olsson, 1995). 그 결과는 Table 1과 같이 노루궁뎅이균사의 생육이 가장 우수하게 나타났고, 균사 밀도가 가장 우수하였던 노루궁뎅이 균사배양 최적 온도를 조사하기 위하여, 배양온도를 최저 16°C에서 최고 32°C까지 2°C 간격으로 달리하여 25일간 배양한 균사 밀도를 측정하였다. 그 결과, 22-28°C의 조건에서 균사 밀도가 높게 나타났으며, 그 중 24-26°C의 조건에서 각각 287.8 mg 및 275.4 mg으로 나타나 노루궁뎅이의 최적 균사배양 온도는 24-26°C가 적합한 것을 확인하였다(Table 2). 상기 최적 조건에서 발효된 노루궁뎅이균사발효율무 추출물들은 여과지(Whatman No.5, GE Health care, UK)를 이용하여 감압 여과 후 동결건조하여 최적 추출조건 탐색을 위하여 ethanol, 열수로 추출한 후 여과하여 고형분 함량을 계산하여 수율을 측정하였다.

### 용매별 추출 수율 분석

**Table 1.** Mycelial density of fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed by different mushroom mycelials

Sample	Ingredient (g/L)	Mushroom strains				
		Mycelial density (mg/15days)				
		<i>Lentinula edodes</i>	<i>Paecilomyces japonica</i>	<i>Schizophyllum commune</i>	<i>Hericium erinaceus</i>	<i>Phellinus linteus</i>
<i>C. lacryma -jobi</i> var.	50	++ <sup>a</sup>	+	++	+++	+
ma-yuen seed	100	++	+	++	+++	+

<sup>a</sup>Mycelial density (+: weak, ++: moderate, +++: good).

**Table 2.** The optimal temperature for *Hericium erinaceus* mycelial growth on *Coix lacryma-jobi* var *ma-yuen* seed

Temperature (°C)	Mycelial density (mg/25days)
16	+ <sup>a</sup>
18	+
20	++
22	++
24	+++
26	+++
28	++
30	++
32	+

<sup>a</sup>Mycelial density (+: weak, ++: moderate, +++: good).

원료를 20배의 물을 첨가하여 추출온도(60, 80 및 100°C)를, 추출시간(1, 3, 6, 9, 12 및 15 h)등을 각기 달리하여 열수추출 하였다. 건조, 분말화 된 소재를 중량대비 일정한 비율로 물을 첨가하여 시간별로 진탕시키면서 추출한 뒤 상층액을 각각의 추출액으로 하였다.

각각의 분말화된 시료 200 g을 80% ethanol (2 L)에 7일간 방치한 후 용액을 취하여 3,000 rpm으로 원심침전시키고 상층액만 취하여 추출액으로 하였다. 추출액은 0.45 µm 필터를 사용하여 여과한 후 회전진공농축기 (Eyela A-1000S, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축하여 시료를 회수한 후 동결건조하여 -20°C에서 보관하면서 추출물의 생리활성 및 성분분석 시료로 활용하였다.

**Ergosterol 함량 분석**

Ergosterol 함량 분석을 위하여 시료 5 g에 ethanol 100 mL을 넣어 80°C에서 1시간 환류추출 시킨 후, 상층액을 취하고 잔사에 ethanol 100 mL을 넣고 80°C에서 1시간 환류추출 하였다. 추출물을 필터하여 20 mL ethanol 과 수산화칼륨 10 g을 넣고, 80°C에서 1시간 환류 추출시킨 후 검화된 용액에 증류수 50 mL을 첨가하였다. 그 후, 헥산으로 50 mL씩 3번 분획하여 헥산 층을 취해서 완전 농축시킨 후 메탄올 10 mL로 녹인 다음 0.45 µm

**Table 3.** HPLC conditions for Ergosterol contents

Content	Analysis condition
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series
Column	Agilent XDB-C18 (Method Development Kit) (4.6 × 150 mm, 5 µm )
Solvent	98 % Methanol
Column temp.	28.8 °C
Wavelength	UV 280 nm
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	20 µL

membrane filter (Millipore Co., USA)로 여과한 여액을 HPLC (High Performance Liquid Chromatography, Agilent, USA)를 이용하여 분석하였으며, 함량은 외부표준법으로 계산하고, HPLC조건은 Table 3과 같다.

**β-glucan 함량 분석**

버섯 시료의 β-glucan 함량은 mushroom and yeast beta-glucan assay procedure kit (Megazyme, Ireland)를 이용하여 측정하였다. 먼저 total glucan은 100 mesh 체로 거른 분쇄 시료 100 mg 을 tube에 넣어 37% HCl 1.5 mL을 넣고 45분간 30°C water bath에 넣어 분해하였다. 그 후 증류수 10 mL을 넣어 vortex하고, 100°C에서 2시간 incubation 시켰다. 그 후 실온에서 식히면서 2 N KOH를 10 mL씩 넣고 200 mM sodium acetate buffer (pH 5.0)로 100 mL 정용 후 충분히 mixing 하였다. 그 후 상층액 0.1 mL 에 200 mM sodium acetate buffer에 녹인 exo-1,3-β-glucanase (20 U/mL) plus β-glucosidase (4 U/mL) 0.1 mL을 넣고. reagent blank는 acetate buffer 0.2 mL을 넣고, D-glucose standard는 D-glucose standard 0.1 mL과 acetate buffer 0.1 mL을 넣고 mixing 후 40°C에서 60분 동안 incubation 하였다. GOPOD (Glucose oxidase/peroxidase mixture, Megazyme) 3 mL을 넣고 40°C에서 20분 동안 incubation 한 후, 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. α-Glucan은 100 mesh 체로 거른 분쇄 시료 100 mg 을 tube에 넣고 2 M KOH 2 mL씩 넣고 20분간 mixing 하였다. 1.2 M sodium acetate buffer (pH

3.8) 8 mL를 넣고 섞은 후 amyloglucosidase (1630 U/mL) plus invertase (500 U/mL) 0.2 mL을 넣고, 잘 섞어서 40°C water bath에서 30분간 incubation 하였다. 상등액 0.1 mL에 200 mM sodium acetate buffer (pH 5.0) 0.1 mL, GOPOD 3 mL을 넣고 40°C에서 20분간 incubation 한 후, 510 nm 흡광도에서 측정하여  $\alpha$ -glucan 함량의 계산에 사용하였다. 측정된 total glucan과  $\alpha$ -glucan의 흡광도는 표준 물질인 glucose 용액(1 mg/mL)을 GOPOD 시약과 반응시킨 반응액의 흡광도를 이용하여 각각 함량 (g/100 g) 값으로 계산하였다.  $\beta$ -glucan 함량은 total glucan 함량에서  $\alpha$ -glucan 함량을 빼준 값으로 계산하였다.

### 세포생존율

B16F10 세포는 한국세포주은행으로부터 분양받아 사용하였다. 이 세포는 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco, Ireland)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Ireland)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco, Ireland)을 사용하여 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C에서 배양하였다. 흑색종 B16F10 세포에 대한 울무 추출물 및 울무 추추물 첨가 노루궁뎅이균사 배양물을 10, 30, 50, 100, 200, 300 및 500 µg/mL의 농도로 희석하여 세포에 첨가하여 MTT assay를 통하여 세포생존율을 확인하였다.

세포를 10% FBS가 함유된 DMEM으로 96-well plate에  $1 \times 10^5$  cells/well로 100 µL씩 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건하에서 24 h 동안 배양하였다. 배양 후 새로운 배지로 교환하고 다양한 농도의 추출물을 각각 3회 반복 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 24 h 배양하였다. 배양 후 시험액이 포함된 배지에 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Promega, USA) 시약을 well당 10 µL씩 분주한 후 96-well plate의 빛을 차단하여 4 h 동안 반응시킨다. 반응 4시간 후 Microplate absorbance reader EPOCH (BioTek, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하며 세포의 증식 정도는 대조구의 흡광도에 대한 백분율로 나타낸다.

### 울무노루궁뎅이균사발효울무 추출물의 항염증 효과

B16F10 세포를 96 well plate에 well당  $1 \times 10^5$  cell/mL 이 되도록 분주하고 24시간 배양한 후, 울무추출물과 노루궁뎅이균사발효울무 추출물에 Lipopolysaccharide (LPS)를 처리하였다. LPS는 각각 1 µg/mL의 농도로 처리하였으며, 각 시료는 10, 30, 50, 100, 200, 300, 500 µg/mL의 농도로 희석하여 세포에 첨가하였다. 시료 및 LPS 무첨가구를 대조구로 사용하였다. 24시간 후에 세포 배양액을 회수하여 Griess reagent system을 이용한 NO assay를 이용하여 NO 생성 억제능을 측정하였다.

### Tyrosinase 활성저해 시험

Mushroom tyrosinase의 저해활성 측정은 0.175 M의 sodium phosphate buffer (pH 6.8) 0.5 mL에 10 mM의 L-DOPA 기질액 0.2 mL와 시료용액 0.1 mL의 혼합액에 0.2 mL의 mushroom tyrosinase (200 U/mL)를 첨가하고 10초간 혼합한 다음, 25°C incubator에서 2분간 반응시킨 후 생성된 도파 크롬(DOPA Chrome)을 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. Positive control으로 L-ascorbic acid (Sigma, USA)를 사용하였으며, mushroom tyrosinase 저해율(%)은 3회 반복 측정하였으며 다음과 같은 식으로 산출하였다.

$$\text{Tyrosinase 저해율 (\%)} = \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \times 100$$

### Melanin 생성저해 시험

Melanin 생성량 측정은 Hosei 등(1985)의 방법을 변형하여 사용하였다. B16F10 melanoma세포를 배양하여 24 well plate에 각 well당 세포를  $1 \times 10^5$  cell/well에 울무 발효 추출물을 처리한 후 48시간 배양한다. 48시간 배양한 후 각 well를 PBS로 세척 한 후 0.2 N NaOH 용액 400 µL를 첨가 하고 60°C에서 1시간 동안 용해하였으며, ELISA reader (Molecular Devices, USA)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정한다. Positive control으로 arbutin을 사용하였으며, 3회 반복 측정하였다.

### DPPH 소거능 (DPPH Scavenging activity)

DPPH radical 소거능 측정은 Abe 등(2000) 및 Yamachuchi 등(1998), Blois(1958)의 방법을 준용하여, 각 추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 99.9% methyl alcohol에 녹인 0.05 mM DPPH solution 3.9 mL에 각 sample (10 mg/mL) 0.1 mL을 넣어 10초간 혼합하고 빛을 차단한 상태에서 30분간 상온에서 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정한다. Negative control은 sample과 동일한 양의 증류수로 positive control은 항산화물질로 널리 알려진 ascorbic acid (1 mg/mL)로 한다. DPPH 소거능은 대조군에 대한 50% 흡광도 감소를 나타내는 시료의 농도(IC<sub>50</sub>)로 나타내었다.

### ABTS radical 소거 활성

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS<sup>+</sup> cation decolorization assay 방법에 의하여 측정하였다 (Roberta *et al.*, 1999). 2.4 mM potassium persulfate (Sigma, USA)와 7 mM ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid, Sigma, USA) 용액을 혼합하여 16시간 동안 광량상태에서 ABTS<sup>+</sup>를 형성시킨 후 ELISA reader (DYNEX, USA)로 630 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값이  $0.7 \pm 0.02$ 가 되도록 희석하였다. 각각의 시료를 농도별(0~5 mg/mL)로 희석하여 96 well plate에 100 µL씩

**Table 4.** Yield of fermented *Coix lacryma-jobi* var *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial extracts by different extraction solvents

Solvents	Ethanol	Hot water			Distilled water
		60°C	80°C	100°C	
Yield (% dry basis)	2.4±0.2 <sup>a</sup>	5.7±0.3	7.4±0.3	6.2±0.2	3.2±0.2

<sup>a</sup>Mean±SD (n=3).

분주하고 희석된 ABTS<sup>+</sup> 용액을 동량으로 가하여 630 nm 에서 흡광도를 측정하였다. Positive control은 50 µM L-ascorbic acid (Sigma, USA)를 사용하였으며, 각 시료에 대한 ABTS radical 소거 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도와 비교하였다.

**통계분석**

모든 실험은 3회 반복하여 수행하였고, 실험결과를 SPSS 통계프로그램(ver. 12.0, SPSS Inc., USA) 을 이용하여 평균값과 표준편차를 산출하였으며 Duncan's multiple test를 통해 그 유의성(p < 0.05)을 확인하였다.

**결과 및 고찰**

**노루궁뎅이균사발효율무 용매별 추출 수율**

노루궁뎅이균사발효율무를 여과 후 동결건조하여 최적 추출조건 탐색을 위하여 ethanol, 열수, 정제수로 추출한 후 여과 한 후 고형분 함량을 계산하여 수율을 나타내었다. 고형분 함량을 측정한 결과, 율무 추출물 노루궁뎅이균사 발효물을 80°C 열수 추출물이 7.4%로 가장 높게 나타났고, ethanol 추출물의 고형분 함량이 가장 낮은 함량을 나타내었다(Table 4). 노루궁뎅이균사로 빵잎을 발효한 기존연구에서도 열수추출물의 수율이 ethanol 추출물의 수율보다 높았다는 결과가 있었다(Kim *et al.*, 2011). 따라서 80°C에서 열수 추출한 노루궁뎅이균사발효율무를 최종 시료로 선정하였다.

**Ergosterol 함량 분석**

노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물의 ergosterol 함량을 분석한 결과는 Table 5와 같다. Ergosterol은 대부분

**Table 5.** The ergosterol content of fermented *Coix lacryma-jobi* var *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract

Component	Content (mg%)	
	CLHE <sup>a</sup>	FCLHE <sup>b</sup>
Ergosterol	-	740.2±27.5 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>CLHE: *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed hot water extract, <sup>b</sup>FCLHE: Fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract. <sup>c</sup>Mean±SD (n=3).

균류의 세포막에만 존재하고, 식물이나 다른 미생물에는 없는 대표적인 스테롤로 알려져있다(Weet and Gandhi, 1996; Ekblod *et al.*, 1998). 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물의 ergosterol 함량은 740.2 mg%으로 나타났으며, 원료로 사용한 율무에서는 검출되지 않았다. 에르고스테롤은 비타민 D<sub>2</sub>의 전구물질로 자외선을 조사하면 비타민 D<sub>2</sub>로 변환되고(Weet and Gandhi, 1996), 에르고스테롤의 양은 균의 종류에 따라 다르다고 하였다(Schnurer, 1993). 비타민 D<sub>2</sub> 전환 등 생리활성에 효과가 있는 것으로 알려진 ergosterol이 함유된 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물은 피부노화방지 효과가 기대된다.

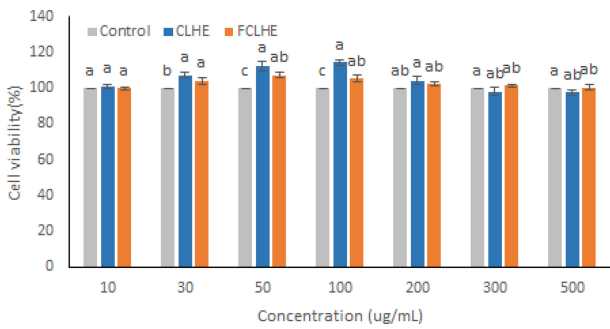
**β-glucan 함량 분석**

버섯에 함유되어 있는 주요한 생리활성 물질 중 하나인 β-glucan은 다당류의 일종으로 인체의 면역시스템에 작용하고 항당뇨, 혈압조절 작용 등을 한다고 보고되고 있다. 또한 암세포가 있는 체내로 들어가 사이토카인을 생산시킴으로서 면역세포의 활동을 도와 세포조직의 면역기능을 활성화시켜주는 역할을 한다(Chandrasekaran *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2015). 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물의 β-glucan을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물의 β-glucan 함량은 245.3 ± 5.1 mg%으로 나타났으며 β-glucan은 다당류의 일종으로 면역증강작용을 가지며 버섯류에 많이 존재하고 있다. 인체 정상 세포의 면역기능을 활성화시켜 암세포의 증식과 재발을 억제하고 혈당과 혈중 콜레스테롤을 감소시키며 지질대사를 개선하여 체지방 형성과 축적을 억제하는 기능을 하는 것으로 알려져 있다. 기존 연구에서 곡물에 버섯균사를 배양시 버섯류에 존재하는 1,3:1,6-β-glucan 함량이 높아진다는 보고가 있었다(Lee and Lee, 2009). 본 연

**Table 6.** The β-glucan content of fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract

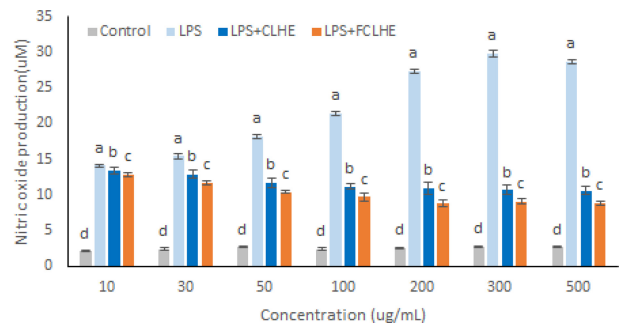
Component	Content (mg%)	
	CLHE <sup>a</sup>	FCLHE <sup>b</sup>
β-glucan	-	245.3±5.1 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>CLHE: *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed hot water extract, <sup>b</sup>FCLHE: Fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract. <sup>c</sup>Mean±SD (n=3).



**Fig. 1.** Effect of fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract on the cell viability of B16F10 cells.

CLHE: *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed hot water extract, FCLHE: Fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract. Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with differences (a – c) letters are significantly different at  $p < 0.05$  in same concentrations by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).



**Fig. 2.** Effect of fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract on the nitric oxide production of B16F10 cell.

CLHE: *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed hot water extract, FCLHE: Fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract. Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with differences (a – c) letters are significantly different at  $p < 0.05$  in same concentrations by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

구결과에서도 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물에도  $\beta$ -glucan 성분이 검출되어 노루궁뎅이균사발효에 따른 상승작용이 기대된다.

### 세포생존율

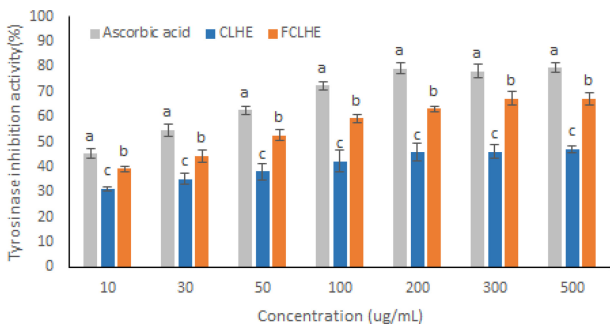
B16F10 마우스 멜라노마(mouse melanoma) 세포에 각각의 시료를 10, 30, 50, 100, 200, 300 및 500 µg/mL의 농도로 24시간 처리하여 세포 독성을 확인한 결과는 Fig. 1과 같다. 살아있는 세포는 미토콘드리아 내의 탈수소효소에 의해 담황색물질인 MTT 분자를 암청색의 formazan product로 환원시킨다. 환원량은 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정함으로써 정량화 할 수 있다. 죽은 세포는 MTT 분자를 formazan으로 환원시키지 못하기 때문에 formazan 생성량이 살아있는 세포수와 유의하게 상관한다는 점에서 MTT assay가 세포 생존률 측정에 이용된다 (Mosmann, 1983). 율무 열수추출물은 100.1%, 107.2%, 112.3%, 114.3%, 104.1%, 98.1% 및 97.6%의 세포생존율이 측정되어 100 µg/mL 이상의 고농도에서는 세포생존율이 다소 감소하였으나 독성은 나타내지 않는 것으로 확인되었다. 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물은 100%, 104.1%, 107.2%, 105.3%, 102.1%, 101.3% 및 100.4%의 세포생존율이 측정되어, 율무 열수추출물보다 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물의 세포생존율이 더 높게 나타났다. 화장품 소재로 사용하기 위해서는 안전성이 가장 중요하게 판단되는데 (Shin *et al.*, 2014), 본 연구결과 율무 열수추출물과 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물 모두 세포독성이 나타나지 않아, 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물은 화장품 개발 원료로 안전성이 확보된 것으로 보인다.

### 항염증 활성

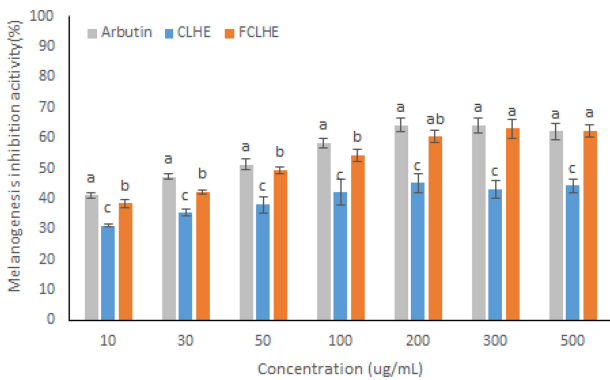
B16F10 cell에 율무 열수추출물과 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물의 NO 생성율을 확인한 결과는 Fig. 2와 같다. 500 µg/mL 농도에서 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물은 8.9 µM의 NO 생성율을 보여, 율무 추출물 (10.6 µM)의 NO생성율 보다 낮은 NO 생성율을 나타내었다. 이상의 결과를 통하여 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물의 항염증 활성이 발효 전에 비하여 높아짐을 확인하였다. 노루궁뎅이 균사체로 발효한 민들레 에탄올 추출물이 다른 처리군들에 비하여 약 7배정도 강력한 NO억제 효과를 나타내었다는 기존의 보고도 있어 (Kim *et al.*, 2016), 본 연구결과 노루궁뎅이균사열수추출물은 높은 수준의 면역력 증강효과가 있는 것으로 생각된다.

### Tyrosinase 활성저해 효과

멜라닌은 인체 내 색소 성분으로 표피층의 melanocyte 내의 melanosome에서 합성된다. 멜라닌은 tyrosine을 전구체로 tyrosinase가 L-DOPA 또는 L-DOPA를 L-DOPA quinone으로 전환하는 산화 및 중합 반응에 의해 합성이 유도된다 (Kim *et al.*, 2016). 율무 열수추출물과 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물의 tyrosinase 활성 저해효과를 확인은 Yagi 등(1986)의 방법에 의해 분석되었고 결과는 Fig. 3과 같다. 10, 30, 50, 100, 200, 300 및 500 µg/mL의 모든 농도에서 율무 열수추출물보다 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물이 유의적으로 tyrosinase 활성을 억제함을 확인 할 수 있었다. 율무 열수추출물은 500 µg/mL의 농도에서 47.2%로 가장 저해효과가 높은 것으로 나타났다. 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물에서는 300 µg/mL



**Fig. 3.** Effect of fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract on the tyrosinase inhibition activity. CLHE: *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed hot water extract, FCLHE: Fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract. Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with differences (a – c) letters are significantly different at  $p < 0.05$  in same concentrations by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).



**Fig. 4.** Effect of fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract on the melanogenesis inhibition activity of B16F10 cells. CLHE: *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed hot water extract, FCLHE: Fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract. Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with differences (a – c) letters are significantly different at  $p < 0.05$  in same concentrations by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

의 농도에서 67.3%의 저해율을 나타내 율무 열수추출물 보다 tyrosinase 활성저해 효과가 높은 것으로 나타났다. 이는 노루궁뎅이열수추출물의 tyrosinase 활성저해효과가 ethanol 추출물 보다 높게 나타났다는 기존의 보고와 일치 하였다(Kim *et al.*, 2019).

**Melanin 생성저해 효과**

율무 열수추출물과 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출 물의 B16F10 세포 내의 멜라닌 생합성을 억제하는지를 확인하였다(Fig. 4). B16F10 세포 내의 멜라닌 생합성분

석결과 결과 Fig. 4와 같이 율무 열수추출물과 노루궁뎅 이균사발효율무 열수추출물 두 개의 처리군 모두 농도가 증가함에 따라 점차적으로 증가함을 확인 할 수 있었다. 또한 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물은 모든 처리농 도(10, 30, 50, 100, 200, 300 및 500 µg/mL)에서 율무 열 수추출물 보다 유의적으로 멜라닌 생합성 억제활성이 증 가됨을 확인하였다. 노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물 의 멜라닌 생성 저해효과는 300 µg/mL의 이상의 농도로 처 리하였을 때는 positive control인 arbutin과 유의적인 차 이가 없음을 확인하였다. 기존 연구에서 율무추출물의 멜라닌 생성저해효과는 20% 내외로 보고되었는데(Lee *et al.*, 2003), 본 연구에노루궁뎅이균사발효율무 열수추출물 은 향후 melanin 생성을 저해하는 기능성 소재로서의 활 용가능성이 크다고 생각된다.

**DPPH radical 소거능**

DPPH radical 소거능은 DPPH가 짙은 자색의 안정한 자유 radical로 항산화 물질에 의해 환원되면서 짙은 자색 이 탈색되는 원리를 이용하여 측정하며 그 측정 방법이 비교적 간단하여 항산화 활성을 탐색할 때 유용하다(Lee *et al.*, 2011). 율무 열수추출물 및 노루궁뎅이균사발효 율무 열수추출물의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과, 노 루궁뎅이균사발효율무 열수추출물에서 낮은 IC<sub>50</sub> 값을 나 타내었다(Table 7). Kim 등(2019)은 노루궁뎅이 ethanol 추출물의 항산화 효과가 물 추출물보다 높게 나타났다고 보고한 바 있는데, 이는 물 추출시 온도조건 차이에서 비 롯된 것으로 생각된다. 따라서, 열수추출노루궁뎅이균사 발효율무 열수추출물의 DPPH radical 소거능 율무 열수 추출물 보다 높게 나타난 점은 노루궁뎅이균사발효에 따 라 소재의 항산화 효과가 일부 상승하였음과 연관된다.

**ABTS radical 소거 활성**

ABTS radical 소거활성은 산화 유도제인 potassium persulfate와 반응에 의해 형성된 ABTS 양이온이 시료 중 의 항산화 물질에 의해 제거될 때 일어나는 탈색반응을

**Table 7.** DPPH radical scavenging activity and ABTS radical scavenging activity of fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Hericium erinaceus* mycelial hot water extract

Content	IC <sub>50</sub> , mg/mL	
	DPPH radical scavenging activity	ABTS radical scavenging activity
L-Ascorbic acid	0.8±0.1 <sup>c</sup>	1.2±0.2
CLHE <sup>a</sup>	6.4±0.4	5.2±0.2
FCLHE <sup>b</sup>	4.7±0.3	3.5±0.3

<sup>a</sup>CLHE: *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed hot water extract, <sup>b</sup>FCLHE: Fermented *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* seed with *Heri- cium erinaceus* mycelial hot water extract. <sup>c</sup>Mean±SD (n=3).

이용하여 물질의 항산화 능력을 측정하는 방법이다 (Myung and Hwang, 2008). 본 연구에 사용된 울무 및 노루궁뎅이균사발효 울무의 ABTS radical 소거능을 측정된 결과 울무 소재에서는 5.2의 IC<sub>50</sub> 값을 나타내었다(Table 7). 노루궁뎅이균사발효에 따른 ABTS radical 소거능 측정결과 노루궁뎅이균사발효 울무열수추출물이 울무 열수추출물보다 항산화 효과가 높음을 확인하였다. 인진쑥을 노루궁뎅이 균사로 발효한 노루궁뎅이 균사발효물의 ABTS radical 소거활성 보고(Kim *et al.*, 2014)와 유사한 결과가 나타나, 울무는 노루궁뎅이균사발효에 따라 항산화 효과가 일부 상승하였음을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 중소벤처기업부 산학연협력기술개발사업 (C0453291)으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 적 요

노루궁뎅이균사로 발효한 울무 열수추출물의 항산화, NO 생성저해, tyrosinase 합성 억제, melanin 생성 저해 및 유용성분 분석을 수행하였다. 노루궁뎅이균사발효울무 열수추출물의 ergosterol 함량은 740.2 mg%으로 나타났으며, 원료로 사용한 울무 열수추출물에서는 검출되지 않았다. 노루궁뎅이균사발효울무 열수추출물의 β-glucan 함량은 245.3 ± 5.1 mg%으로 나타났다. 노루궁뎅이균사발효울무 열수추출물은 100%, 104.1%, 107.2%, 105.3%, 102.1%, 101.3%, 100.4%의 세포생존율이 측정되어, 울무 열수추출물보다 노루궁뎅이균사발효울무 열수추출물의 세포생존율이 더 높게 나타났다. B16F10 cell 500 ug/mL 농도로 처리했을 때, 노루궁뎅이균사발효울무 열수추출물은 8.9 μM의 NO 생성율을 보여, 울무 추출물(10.6 uM)의 NO생성율 보다 낮은 NO 생성율을 나타내었다. 10, 30, 50, 100, 200, 300 및 500 mg/mL 모든 농도에서 울무 열수추출물보다 노루궁뎅이균사발효울무 열수추출물이 유의적으로 tyrosinase 및 melanin 생성을 억제함을 확인할 수 있었다. 노루궁뎅이균사발효에 따른 DPPH radical 및 ABTS radical 소거활성 측정결과 노루궁뎅이균사발효 울무열수추출물이 울무 열수추출물보다 항산화 효과가 높음을 확인하였다. 따라서 추가적인 연구를 통해 노루궁뎅이균사발효 울무열수추출물은 기능성식품 원료와 식품 첨가물, 화장품 산업에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

## REFERENCES

Abe N, Nemoto A, Tsuchiya Y, Hojo H, Hirota A. 2000. Study of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging mechanism

for a 2-pyrone compound. *Biosci Biotech Biochem* 64: 306-333.

Chandrasekaran G, Oh DS, Shin HJ. 2011. Properties and potential applications of the culinary-medicinal cauliflower mushrooms, *Sparassis crispa* Wulf:Fr. (Aphylllophoromycetidae): A review. *Int J Med Mushrooms* 13: 177-183.

Chen WC, Tseng TS, Hsiao NW, Lin YL, Wen ZH, Tsai CC, Lee YC, Lin HH, Tsai KC. 2015. Discovery of highly potent tyrosinase inhibitor, T1, with significant anti-melanogenesis ability by zebrafish in vivo assay and computational molecular modeling. *Sci Rep* 5: 7995.

Ekblod A, Wallander H, Nasholm T. 1998. Chitin and ergosterol combined to measure total and living fungal biomass in ectomycorrhizas. *New Phytol* 138: 143-149.

Elsner P, Mailbach HI. 2005. Cosmeceuticals and Active Cosmetics. 2nd Ed, *Taylor & Francis*, New York, USA.

Han AR, Kang U, Kil YS, Lee J, Seo EK. 2015. Identification of two new lactams from the hulled seeds of *Coix lachryma-jobi* var. *ma-yuen*. *Bull Korean Chem Soc* 36: 2401-2403.

Han ZH, Ye JM, Wang GF. 2013. Evaluation of in vivo antioxidant activity of *Hericium erinaceus* polysaccharides. *Int J Biol Macromol* 52: 66-71.

Hosoi J, Abe E, Suda T, Kuroki T. 1985. Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 α, 25-dehydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Res* 45: 1474-1478.

Jia LM, Liu L, Dong Q, Fang JN. 2004. Structural investigation of a novel rhamnoglucogalactan isolated from the fruiting bodies of the fungus *Hericium erinaceus*. *Carbohydr Res* 339: 2667-2671.

Joung HS, Song KH, Kim AK. 2007. Antimelanogenic effect of taurine in murine melanoma B16F10 Cells. *J Pharm Soc Korea* 51: 350-354.

Kawagishi H, Shimada A, Hosokawa S, Mori H, Okamoto K, Sakamoto H, Ishiguro Y, Sakemi S, Bordner J, Kojima N, Furukawa S. 1996. Erinacines E, F and G, stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mycelia of *Hericium erinaceus*. *Tetrahedron Lett* 37: 7399-7402.

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

Kim HJ, Jang BH, Park KH, Jang GB, Park KM. 2016. Skin-whitening effects of hot water extract from domestic edible mushrooms. *J Mushrooms* 14: 225-231.

Kim JD. 2012. Literature on the quality and effect of Job's tears. *Korean J Agric His* 11: 89-122

Kim JH. 2012. Biological activities of water extract and solvent fractions of an edible mushroom, *Hericium erinaceus*. *Kor J Mycol* 40: 159-163.

Kim JK, Lee HS. 2000. Tyrosinase-inhibitory and radical scavenging activities from the Seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1409-1413.

Kim JW, Kim HI, Kim JH, Kwon O, Son ES, Lee CS, Park YJ. 2016. Effects of ganodermanondiol, a new melanogenesis inhibitor from the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Int J Mol Sci* 17: 1798.

Kim MU, Lee EH, Jung HY, Lee SY, Cho YJ. 2019. Inhibitory activity against biological activities and antimicrobial activity



- against pathogenic bacteria of extracts from *Hericium erinaceus*. *J Appl Biol Chem* 62: 173-179.
- Kim SC, Kim HS, Cho YU, Ryu JS, Cho SJ. 2015. Development of strain-specific SCAR marker for selection of *Pleurotus eryngii* strains with higher  $\beta$ -glucan. *J Mushroom Sci Prod* 13: 79-83.
- Kim SR, Kim MR. 2012. Physicochemical characteristics and antioxidant activity, antimutagenicity, and cytotoxicity of hot-water extract of *Hericium erinaceus*. *Korean J Food Cook Sci* 28: 569-577.
- Kim SS, Kyeong IG, Lee ML, Kim DG, Shin JY, Yang JY, Lee GH, Eum WS, Kang JH. 2014. Antioxidative activities of *Artemisia capillaris*-fermented *Hericium erinaceum* mycelium. *J Korean Oil Chem Soc* 31: 719-730.
- Kim SY, Choi CW, Hong SS, Shin H, Oh JS. 2016. A new neolignan from *Coix lachryma-jobi* var. *mayuen*. *Nat Prod Commun* 11: 229-231.
- Kim YS, Joung MY, Ryu BS, Park PJ, Jeong JH. 2016. Anti-inflammatory activities of extracts from fermented *Taraxacum platycarpum* D. leaves using *Hericium erinaceum* mycelia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45: 20-26.
- Kuo CC, Chen HH, Chiang W. 2012. Adlay ("soft-shelled job's tears"; the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) is a potential cancer chemopreventive agent toward multistage carcinogenesis processes. *J Tradit Complement Med* 2: 267-275.
- Kwon SC. 2011. Biological activities of ethanol extracts from *Hericium erinaceus* mycelium on *Angelica keiskei* and *Angelica keiskei* Pomace. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1648-1653.
- Lee EW, Shizuki K, Hosokawa S, Suzuki M, Suganuma H, Inakuma T, Li J, Ohnishi-Kameyama M, Nagata T, Furukawa S, Kawagishi H. 2000. Two novel diterpenoids, erinacines H and I from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Biosci Biotechnol Biochem* 64: 2402-2405.
- Lee HD, Lee KS. 2009.  $\beta$ -glucan and glucosamine contents in various cereals cultured with mushroom mycelia. *Kor J Mycol* 37: 167-172.
- Lee TH, Kim HJ, Kim YB. 2003. Depigmentation activity of barley, unpolished rice, Job's- tear. *J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol* 16: 57-78.
- Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. 2011. Antioxidant activity in water and methanol extracts from Korean edible wild plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 29-36.
- Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63.
- Myung JE, Hwang IK. 2008. Functional components and antioxidative activities of soybean extracts. *Korea Soybean Digest* 25: 23-29.
- Nohynek GJ, Antignac E, Re T, Tortain H. 2010. Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. *Toxicol Appl Pharmacol* 243: 239-259.
- Olsson S. 1995. Mycelial density profiles of fungi on heterogeneous media and their interpretation in terms of nutrient reallocation patterns. *Mycol Res* 99: 143-153.
- Park JS. 2019. Application of pine needle extract as cosmetic material. *J Digit Converg* 17: 395-400.
- Park SA, Kim SJ, Kim HL, Kang HW. 2018. Cultural characteristics and antioxidant activity of wild-type collections of *Hericium erinaceus*. *J Mushrooms* 16: 9-15.
- Roberta R, Nicoletta P, Anna P, Ananth P, Min Y, Catherine RE. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Bio Med* 26:1231-1237.
- Schnurer J. 1993. Comparison of methods for estimating the biomass of three food-borne fungi with different growth patterns. *Appl Environ Microbiol* 59: 552-555.
- Seo MS, Jang YA, Lee JT. 2018. The study of cosmeceutical activities from *Lentinula edodes* extracts and application a natural cosmetic material. *JKAST* 35: 1003-1012.
- Shin HJ, Jeong HG, Hwang DB, Kim DG. 2014. *Cudrania tricuspidata* root extract as whitening and antiwrinkle cosmetic agent. *Korean Chem Eng Res* 52: 701-705.
- Song MY, Jung HW, Park YK. 2016. Antiobesity effect of water extract of *Coix lachryma-jobi* var. *mayuen* in high fat fed C5BL/6 Mice. *J Korean Med Obes Res* 16: 27-35.
- Weet JD, Gandhi SR. 1996. Biochemistry and molecular biology of fungal sterols. In E. K. Esser & P. A. Lemke. (eds.), *The mycota. A comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research: Vol. III. Biochemistry and molecular biology*. Springer. Berlin. 421-438.
- Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Medica* 3981: 517-519.
- Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci Biotech Biochem* 62: 1201-1204.