

# 복령 균핵, 균사체 및 자실체의 추출용매별 생리활성 성분 비교

안기홍 · 조재한 · 김옥태 · 이찬중 · 한재구\*

농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 버섯과

## Comparison of the biological activity of extracts from the mycelium, sclerotium, and fruiting body of *Wolfiporia cocos* (F.A. Wolf) Ryvarden & Gilb using different extraction solvents

Gi-Hong An, Jae-Han Cho, Ok-Tae Kim, Chan-Jung Lee, and Jae-Gu Han\*

Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Eumseong 27709, Chungbuk, Korea

**ABSTRACT:** The aim of this study was to investigate the biological activity of extracts obtained from the mycelium, sclerotium, and fruiting body of *Wolfiporia cocos* using different extraction solvents (hot water, 70% ethanol, and 70% methanol). Among the three developmental stages, the mycelium extracts showed the highest DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity, ferric reducing antioxidant power (FRAP), nitrite scavenging activity, and total polyphenolic content. Among the extraction solvents in the context of the *W. cocos* mycelium, the DPPH radical scavenging activity, FRAP, and total polyphenol content in the hot-water extracts were significantly higher than those in the other extracts. In the case of the sclerotium, the reducing power, nitrite scavenging activity, and total polyphenol content were significantly higher in 70% ethanolic extracts. The fruiting body showed the highest DPPH radical scavenging activity, reducing power, nitrite scavenging activity, and total polyphenol content in the context of hot-water extraction. Moreover, the  $\beta$ -glucan content was significantly higher in the sclerotium versus the mycelium or fruiting body. The total amino acid and total essential amino acid contents were remarkably higher in the mycelium and fruiting body than in the sclerotium; of note, and arginine (Arg) and phenylalanine (Phe) were highly detected among the amino acid components.

**KEYWORDS:** Biological activity,  $\beta$ -glucan contents, Developmental stages, Extraction solvent, *Wolfiporia cocos*

### 서 론

복령(*Wolfiporia cocos*)은 복령속(*Wolfiporia*) 구멍장이

버섯과(Polyporaceae) 주름버섯강(Agaricomycetes)으로 분류되며 소나무뿌리에 기생하는 갈색부후균류이다. 복령의 학명 중 ‘poria’는 그리스어로 ‘구멍’을 의미하며 ‘cocos’는 코코넛의 속명에서 따온 것으로 둥근 균핵의 모양을 의미한다. 복령은 자연계에서 일반 버섯류와 동일한 생활사를 거치며 균사가 증식하여 균핵을 형성하거나 자실체를 형성하게 되는데(Kim *et al.*, 2002), 균사의 형태적 특성은 격막이 없는 많은 섬유상 세포로 구성되며 세포 증식, 분지생장, 핵상 교환방식 등의 생식과정은 일반 담자균과 동일한 형식으로 이루어진다(Jo *et al.*, 2013). 그 이후 지속적인 영양변식을 통해 다량의 균사체가 밀집되어 어린 복령 형태를 형성한 후 더욱 팽대하게 되며 다량의 영양물질을 저장하여 휴면기관으로서의 역할을 한다. 자실체는 별집형태의 육각형 모양으로 형성되며 처음에는 흰색이다가 점차 연한 갈색을 변하며 궁극은 다각형이다. 자실체는 일반적으로 식용 등의 실용가치가 없는 것으로 알려져 있다(Jo *et al.*, 2013).

복령은 자실체를 이용하는 대부분의 버섯류와 다르게

J. Mushrooms 2020 September, 18(3):244-253  
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2020.18.3.244>  
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853  
 © The Korean Society of Mushroom Science

Gi-Hong An(Researcher), Jae-Han Cho(Researcher), Ok-Tae Kim(Senior researcher), Chan-Jung Lee(Senior researcher), and Jae-Gu Han(Postdoctoral researcher)

\*Corresponding author

E-mail : hanjaegu@korea.kr

Tel : +82-43-871-5732, Fax : +82-43-871-5702

Received August 27, 2020

Revised September 14, 2020

Accepted September 22, 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.

땅속에서 형성되는 부정형의 균사 덩어리인 균핵을 한방에서 중요한 필수약재로 이용해 왔다. 균핵은 내부의 색택에 따라서 백복령, 적복령으로 구분하고 소나무뿌리를 감싸고 형성된 것을 복신이라 하며 한방에서는 주로 백복령과 복신을 선호한다(Kim *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2016). 복령의 균핵을 얻기 위해 주로 야생에서 획득하였으나 최근까지 인공재배에 대한 연구가 활발하게 이루어져 왔다. 종래의 복령 인공재배 방법은 톱밥균주를 접종한 소나무 원목을 1년간 양생하여 땅에 묻어 재배하는 방법을 시작으로 1994년 농업과학기술원에서 복령 1호에 대한 균주의 분리, 동정 및 인공재배법을 확립하였고, 그 이후 Yang *et al.* (2015)에 의하며 비닐봉지재배법이 개발되었으며, 2017년 농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과에서 원목을 토양에 매립하지 않고 톱밥을 이용하여 병 또는 비닐봉지에 재배하는 방법을 확립하였다. 이와 같은 재배방법으로 생산된 복령은 야생복령과 종래의 매립 재배방법으로 생산된 복령들에서 발생된 모래, 흙, 톱밥 등 이물질 혼입 문제, 낮은 경도로 인한 약재로서의 이용가치 저하 등의 문제점들을 해결하여 원료의 안정적인 공급 및 복령 소비확대에 기여하고 있다.

복령의 주성분으로는 탄수화물, 수분, 조섬유질, 무기질 및 미량의 단백질 등이 함유되어 있으며(Chihara *et al.*, 1971; Kang *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 1982; Saito *et al.*, 1968), 예로부터 진정작용, 이노작용, 강장작용 등의 목적으로 많은 처방에 사용된 한약재로서 항암활성, 항염증, 항산화 활성이 있는 것으로 알려져 있다. 또한 복령 균사체의 U-pachymaran, pachymaran, carboxymethyl pachymaran 등은 항암효과가 있고(Chihara *et al.*, 1971), (1,3)-(1,6)- $\beta$ -D-glucan은 강한 항종양성이 있다고 알려져 있으며(Jung *et al.*, 1998), 사포닌 전구체인 triterpene류에는 항염증, 항피부암, 항구토 등의 효능이 있는 것으로 보고되고 있다(Tai *et al.*, 1995; Yamashiro *et al.*, 1996). 이처럼 최근까지 복령의 균핵과 균사체의 유용성분, 효능 등에 대한 연구는 활발하게 이루어져 왔으나, 복령 자실체의 이용가치 및 균핵과 균사체와의 비교 연구는 미비한 실정이다.

본 연구에서는 복령의 산업적 용도 다양화를 위하여 톱밥을 이용한 봉지재배 방법으로 복령 1호를 재배하여 수확한 균핵(sclerotium)과 봉지재배 과정에서 일부 생산된 복령의 자실체(fructing body) 및 접종원으로 PDA 배지에서 배양한 복령 균사체(mycelium)에 대한 추출용매별(열수, 70% 주정, 70% 메탄올) 추출물의 생리활성 성분 중 항산화 활성, 베타글루칸 성분함량 및 영양성분 등의 차이를 비교하여 복령 균핵 이외의 균사체 및 자실체의 활용가치에 대한 기초자료를 제시하고자 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 공시균주 및 접종원 제조

본 연구에서는 농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과에서 보유 중인 복령 1호(KMCC03342) 균주를 potato dextrose agar (PDA) 배지에 계대하여 접종원 제조에 이용하였다. 복령접종원은 소나무톱밥과 미강을 4:1(v/v)로 혼합하고 수분은 60~70%로 조절한 후 250 ml 삼각플라스크에 약 150 g을 충전하여 톱밥 상층부분을 평탄화 작업을 건친 뒤 121°C에서 40분간 멸균을 실시하였다. 멸균 후 실온에서 냉각된 삼각플라스크의 톱밥배지에 복령 1호 균사체로 가득 찬 PDA 평판배지의 약 1/2양을 절취하여 넣은 뒤 25°C에서 35~40일간 배양하여 접종원을 준비하였다.

### 복령 재배

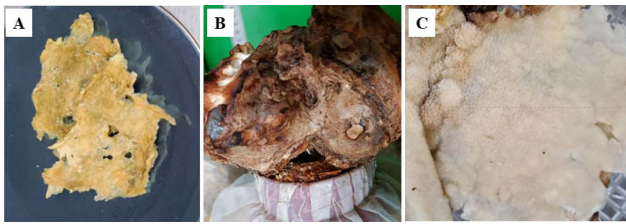
복령 재배는 톱밥봉지재배법을 이용하여 농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과 소속의 버섯종합재배동에서 재배하였다. 배지는 접종원 제조 시와 동일하게 소나무톱밥과 미강을 4:1(v/v)로 혼합하고 수분은 60~70%로 조절한 뒤 비닐봉지에 약 2,500 g을 충전 시킨 후 121°C에서 40분간 멸균을 실시하였다. 멸균된 배지는 냉각실에서 냉각을 거친 후 무균조건에서 각 배지에 접종원을 접종하였다. 배양조건은 20~28°C 온도범위에서 60~70%의 상대습도를 유지하며 약 45~60일 동안 균사체 배양을 수행하였다. 그 이후, 균핵의 형성을 위하여 20~25°C 온도조건과 60~80%의 상대습도 조건에서 800~1,200 ppm의 이산화탄소 농도를 유지하며 20~25일 간 재배를 수행하였다.

### 추출용매별 분석용 시료 제조

복령의 자실체와 균핵, 그리고 PDA 배지에서 배양한 균사체를 각각 수확하여 60°C 열풍건조기에서 24시간동안 건조하였다(Fig. 1). 각 열풍건조 시료 5 g의 20배(V/W)의 D.W. 100 ml (hot-water)을 가하여 60°C 반응조에서 24시간 추출하였으며, 유기용매 추출의 경우 70% 주정(70% EtOH)과 70% 메탄올(70% MeOH)을 시료 5 g에 각각 100 ml씩을 가하여 실온에서 24시간 추출하였다. 모든 버섯추출은 3반복으로 행하였다. 추출액은 원심분리하여 흡입 여과하였으며, 여과액을 회전감압농축기(EYELA, Japan)를 이용하여 농축하였다. 농축된 버섯시료는 용매를 완전히 제거하여 DMSO로 최종 1 mg/ml로 희석하여 각 분석에 이용하였다.

### DPPH 라디칼 소거능 측정(DPPH radical-scavenging activity)

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거활성은 Blois (1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 항산화 효능에 주로 이용되는 DPPH는 분자 내 라디칼을 함유하



**Fig. 1.** Mycelium (A, air dried), sclerotium (B), and fruiting body (C) of *Wolfiporia cocos* used in this study.

고 있어 polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류 등에 의해 환원되며 이때 라디칼이 소거되어 짙은 자색이 탈색되는 정도를 흡광도를 이용하여 측정하였다. 99.9% methanol에 녹인 0.2 mM DPPH solution 0.1 ml에 각 추출물 0.1 ml을 넣고 10초간 혼합하였다. 그리고 빛을 차단한 상태에서 30분간 상온에서 반응시킨 뒤 Multimode microplate reader (Varioskan LUX, ThermoFisher Scientific, Inc. Co. MA, USA)를 이용하여 517 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며, 첨가구와 비첨가구의 흡광도를 백분율(%)로 나타내었다.

#### 철 환원 항산화능 측정(FRAP, Ferric-reducing antioxidant power)

철 환원 항산화능(FRAP, Ferric-reducing antioxidant power) 측정은 Benzie and Stain (1999)의 방법에 준하여 측정하였다. 환원력을 측정하기 위해서 300 mM acetate buffer (pH 3.6), 40 mM HCl에 용해한 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ) 용액, 20 mM  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합한 뒤 37°C 항온수조에서 가온한 것을 FRAP reagent로서 사용하였다. 버섯추출물 200  $\mu$ l (1 mg/ml)에 위의 준비된 FRAP reagent 3.0 ml를 혼합한 뒤에 37°C에서 30분간 반응시킨 후 Multimode microplate reader (Varioskan LUX, ThermoFisher Scientific, Inc. Co. MA, USA)를 이용하여 흡광도 593 nm로 측정하였다. 분석한 결과는 absorbance of 593 nm로 표시하였다.

#### 환원력 측정(Reducing power)

환원력 측정은 potassium ferricyanide법을 이용한 Oyaizu (1986)의 방법을 이용하여 측정하였다. 각 버섯 추출물 1.0 ml (1 mg/ml)에 200 mM phosphate buffer (pH 6.6)와 1% potassium ferricyanide 용액을 각각 2.5 ml씩 차례로 첨가하여 교반한 후 50°C에서 20분간 반응시켰다. 반응액은 10% trichloroacetic acid 2.5 ml을 가하여 3,500 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액 2.5 ml에 증류수 2.5 ml과 ferric chloride 용액 0.5 ml을 첨가하여 혼합한 후 Multimode microplate reader (Varioskan LUX, ThermoFisher Scientific, Inc. Co. MA, USA)를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정

하였다. 분석한 결과는 absorbance of 700 nm로 표시하였다.

#### 아질산염 소거능 측정(Nitrite-scavenging activity)

아질산염 소거능은 Gray and Dugan (1975)의 방법으로 측정하였다. 1 mM  $NaNO_2$  0.1 ml에 각 버섯 추출물 0.2 ml를 가하고 여기에 pH 1.2로 조정된 0.1 N HCl 1 ml을 넣고 37°C에서 1시간 작용시켰다. 그 이후 2% acetic acid 5 ml과 30% acetic acid에 1% sulfanilic acid를 녹인 용액인 Griess A와 30% acetic acid에 1% 1-naphthylamine을 녹인 용액 Griess B를 1:1비율로 혼합한 용액을 0.4 ml 가하여 혼합하였다. 이를 상온에서 15분 간 암반응 시킨 후 Multimode microplate reader (Varioskan LUX, ThermoFisher Scientific, Inc. Co. MA, USA)를 이용하여 흡광도 520 nm로 측정하고 추출액의 첨가 전후에 잔존하는 아질산염량을 구하여 백분율(%)로 표기하였다.

#### 총 폴리페놀 함량 측정(Total polyphenol contents)

총 폴리페놀함량은 Folin and Denis (1912) 방법에 의하여 측정하였다. 각 버섯 추출물 0.1 ml에 folin-denis reagent 0.02 ml를 가하고 3분간 정치시켰다. 그 후 1%  $Na_2CO_3$  0.16 ml을 첨가하고 잘 혼합한 뒤에 45분 간 암반응 시킨 후 Multimode microplate reader (Varioskan LUX, ThermoFisher Scientific, Inc. Co. MA, USA)를 이용하여 750 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 시료에 포함된 총 폴리페놀 함량은 gallic acid (Sigma-Aldrich)의 표준곡선에 시료의 흡광도 측정값을 대입하여 농도를 결정하였으며 mg GAE/g으로 나타내었다.

#### 베타글루칸 함량분석( $\beta$ -glucan contents)

복령 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body) 건조시료에 대한 베타글루칸 함량은  $\beta$ -Glucan Assay Kit for Yeast & Mushroom (Megazyme Ltd., Wicklow, Ireland)을 이용하여 분석하였다. 각 버섯 건조시료 100 mg에 37% HCl 1.5 mL을 넣고 30°C water bath에서 45분 간 중탕시킨 후 3차 증류수 10 ml을 추가적으로 가한 뒤 100°C에서 2시간 동안 중탕시켰다. 그 이후 반응액에 2 N KOH 10 ml을 가하고 0.2 M sodium acetate buffer (Buffer 1)를 가하여 100 ml로 정량한 후 1,500 $\times$ g에서 10분 간 원심분리를 행한 뒤 상등액을 분리하였다. 상등액 0.1 ml에 exo-1,3- $\beta$ -glucanase (100 U/mL)와  $\beta$ -glucosidase (4 U/mL)용액 0.1 ml를 가하고 40°C water bath에서 60분 간 반응시켰다. 이 반응액에 GOPOD reagent Enzyme (Glucose oxidase plus peroxidase)를 3 ml 넣고 40°C water bath에서 20분 간 반응시킨 후 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 total glucan 함량을 계산하였다.

또한 각 건조시료 100 mg에 2 N KOH 2 ml을 가하고 ice water bath에서 20분간 교반시키고, 1.2 M sodium acetate buffer (pH 3.8) 8 ml과 kit 내의 Bottle 2

(amyloglucosidase 1630 U/mL) 용액 0.2 ml을 가한 뒤 40°C water bath에서 30분 간 반응시킨 후 원심분리하였다. 원심분리 후 얻은 상등액 100 ml에 0.2 M sodium acetate buffer 0.1 ml과 GOPOD Reagent Enzyme (Glucose oxidase plus peroxidase) 3 ml을 넣고 40°C water bath에서 20분간 반응시킨 후 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하여  $\alpha$ -glucan 함량의 계산에 사용하였다. 측정된 total glucan과  $\alpha$ -glucan 흡광도는 glucose용액(1 mg/mL)을 GOPOD 시약과 반응시킨 반응액의 흡광도를 이용하여 생산회사의 홈페이지(www.megazyme.com)에 공개된 Mega-Calc 함량 계산식을 참고하여 함량(% , w/w) 값으로 계산하였다.  $\beta$ -glucan은 total glucan 함량에서  $\alpha$ -glucan 함량을 제한 값으로 계산하였다.

**아미노산 분석 시료조제**

복령 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body) 건조시료에 대한 아미노산 분석은 AccQ tag법을 사용하였다. 전처리에는 염산가수분해법(Daniel and Steven, 1993)을 적용하였다. 건조된 분말시료 0.1 g을 6 N HCl 1 ml와 혼합하여 Fluorescence Waters Pico-Tag Workstation으로 N<sub>2</sub> gas 충전 후 105°C에서 24시간 동안 가수분해하였다. 가수분해 후 원심분리하여 상등액 200  $\mu$ l을 취해서 speed-vacuum (Hanil, KR/AUTOSPIN 4080C)으로 농축한 다음 25 mM HCl 500  $\mu$ l에 녹였다. 이 용액을 1 ml 주사기에 취하여 syringe filter (Pall Syringe Filters with PVDF Membrane, 13 mm, 0.45  $\mu$ m)로 여과한 후 AccQ-Fluor Reagent Kit로 형광유도체화 반응시켰다. 형광유도체 반응은 AccQ fluor reagent : borate buffer : sample (standard) = 2 : 7 : 1로 total volume이 100  $\mu$ l가 되게 혼합한 후 55°C에서 9분간 반응시켜서 HPLC 분석 시료로 사용하였다.

**Table 1.** HPLC condition for the analysis of amino acids

Time (min)	Flow rate (ml/min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0.0	1.0	100.0	0.0
0.5	1.0	98.0	2.0
15.0	1.0	93.0	7.0
19.0	1.0	90.0	10.0
27.0	0.9	67.0	33.0
32.0	0.9	67.0	33.0
33.0	0.9	67.0	33.0
34.0	1.0	0.0	100.0
37.0	1.0	0.0	100.0
38.0	1.0	100.0	0.0
45.0	1.0	100.0	0.0

**HPLC에 의한 아미노산 성분 분석**

아미노산 성분 분석은 Waters 2795 Separations module, Waters 2475 Fluorescence detector, Empower pro software를 이용하였으며, 분석용 컬럼은 AccQ-Tag For Hydrolysate Amino Acid Analysis column (3.9  $\times$  150 mm)을 사용하였다. 이동상은 A용매로 10% AccQ-Tag Eluent A, B용매로 60% Acetonitrile를 gradient mode로 적용하였다 (Table 1). Injection volume은 5  $\mu$ l를 주입하고 UV detector ( $\lambda$ =248 nm, 36°C)를 사용하여 검출하였다.

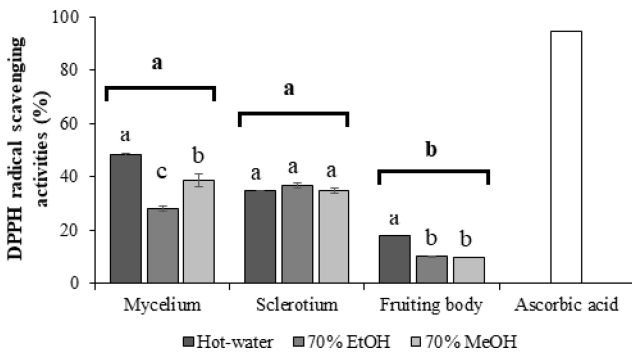
**통계처리**

모든 실험은 3회 이상 반복 수행하였으며, 얻어진 결과는 SPSS statistics 19 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA) 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차의 값을 산출하였고, Duncan의 다중검증법(DMRT, Duncan's multiple range test)(Duncan, 1955)을 통하여 각 생리활성 성분의 추출용매별 평균차에 대한 통계적 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 수행하였다. 또한 복령 1호의 발달단계별인 균핵, 균사, 자실체 생리활성 성분 데이터간의 분포가 같은지를 보기 위해 기술통계 및 Levene 동질성 검정(Lavene's test for homogeneity of variance)을 수행하였다. 동질성 검정에서 등분상성을 만족하는 경우 일원분산분석(ANOVA: Analysis of Variance) 및 Duncan 사후분석을 실시하였다.

**결과 및 고찰**

**추출용매별 복령 균사체, 균핵 및 자실체의 DPPH 라디칼 소거능**

복령 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body)의 추출용매별 추출물 1 mg/ml 농도에서의 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다(Fig. 2). 균사체 중에서 열수추출물(hot-water)에서 48.2%로 가장 높은 DPPH 라디칼소거능을 보였으며 다음으로는 38.6%의 70% 메탄올추출물(70% MeOH), 28.1%의 70% 주정추출물(70% EtOH)의 순이었다. 균핵의 DPPH 라디칼소거능은 34.6%~36.5%의 범위이었으며 추출용매별 유의적인 차이는 보이지 않았다. 자실체의 경우, 열수추출물(hot-water)에서 유의적인 차이를 보이며 다른 추출용매에 비하여 높은 소거활성을 보였다. 복령의 발달단계인 균핵, 균사체 및 자실체의 라디칼 소거능 간의 차이를 보기위하여 일원분산 분석을 수행한 결과, Pr>F 확률이 <0.000으로 유의수준 0.05보다 작아 복령 발달단계 시료간의 차이가 있는 것으로 확인되었다(Table 2). Duncan 사후검정 결과, 균핵과 자실체 사이의 평균차는 22.70%로 유의적으로 차이가 있었으며, 균사체와 자실체 사이의 평균차는 25.63%로 유의적인 차이가 있는 것으로 확인되었다. DPPH는 비교적 안정한 자유라디칼로써 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 환원되거나 소거되어 짙은 자색이 감소된다. DPPH는



**Fig. 2.** DPPH radical scavenging activities of hot-water, 70% ethanol (70% EtOH), and 70% methanol (70% MeOH) extracts at 1 mg/ml concentrations from mycelium, sclerotium, and fruiting body of *Wolfiporia cocos*. White bar indicates a positive control. The results are obtained from three replications. Different letters that showed between groups (development of stages) and within groups (extraction solvents), are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

이러한 특성을 이용하여 비교적 간단하게 항산화 능력을 측정하는 방법으로 버섯 역시 항산화 능력이 우수한 것으로 알려져 있다(Gardner and Fridovich, 1991; Sohn *et al.*, 2010). Shon (2007)에 의하면 복령 추출물 농도에 따라 비례적으로 증가하였으며 약 20~30%의 소거활성을 보인다고 보고하였다. 또한 추출용매에 따른 복령의 라디칼 소거능은 열수추출에서 12.0%, 70% 에탄올추출에서

13.1%인 것으로 보고하고 있으며(Oh, 2019), 본 연구결과의 균핵과 균사체의 열수추출 및 70% 주정추출물의 DPPH 라디칼 소거활성과 비교하여 높은 소거활성을 보이고 있는 것으로 나타났다. 하지만, Kim *et al.*, (2016)이 자연산 복령과 비닐봉지법으로 재배된 복령 추출물 1 mg/ml 농도의 DPPH 라디칼 소거능을 각각 76.2%, 82.2%로 보고하고 있는 결과에 비하면 낮은 것으로 나타났다.

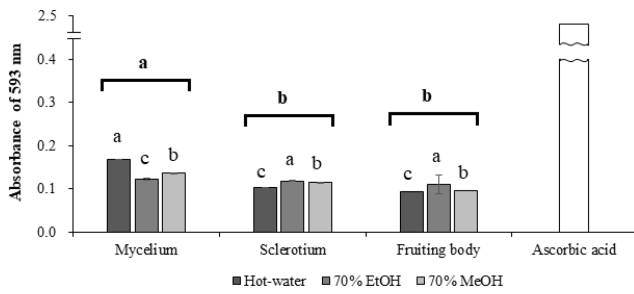
**추출용매별 복령 균사체, 균핵 및 자실체의 철 환원 항산화능**

복령 발달단계별 시료인 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body)의 추출용매에 따른 추출물 1 mg/ml 농도에서의 철 환원 항산화능(FRAP, ferric-reducing antioxidant power)을 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. 복령의 발달단계인 균핵, 균사체 및 자실체의 철 환원 항산화능 간의 차이에 대한 일원분산분석을 수행한 결과, 복령 발달단계 시료별로 유의적인 차이가 있는 것으로 확인되었다(Table 2). Duncan 사후검정 결과, 균사체와 균핵 또는 자실체 철 환원 항산화능 사이에 유의적인 차이가 있는 것으로 확인되었다. 추출용매별로 살펴본 결과, 균사체의 열수추출물(hot-water)에서 0.17로 가장 높은 항산화능을 보였으며, 70% 주정추출물(70% EtOH)이 가장 낮았다. 균핵에서는 70% 주정추출물(70% EtOH)에서 0.12로 가장 높았고, 자실체에서도 70% 주정추출물(70% EtOH)에서 0.11로 다른 추출용매에 비하여 유의적으로 높게 나타났다. 철 환원 항산화능(FRAP)는

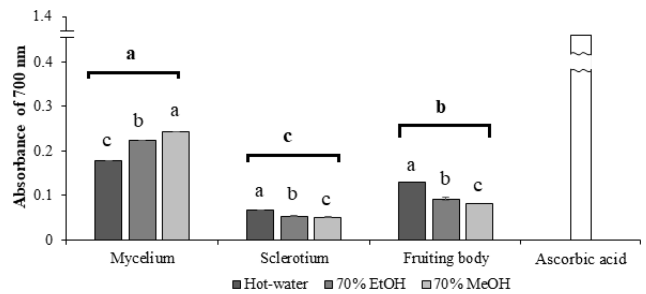
**Table 2.** ANOVA results for biological activity by developmental stages (mycelium, sclerotium, and fruiting body) of *Wolfiporia cocos*

	Source	Sum of squares	DF	Mean square	F	Pr>F
DPPH radical scavenging activity	between groups <sup>a</sup>	3542.887	2	1771.443	53.628	0.000
	within groups	792.773	24	33.032		
	Total	4335.660	26			
FRAP	between groups	0.009	2	0.004	25.358	0.000
	within groups	0.004	24	0.000		
	Total	0.013	26			
Reducing power	between groups	0.120	2	0.060	125.405	0.000
	within groups	0.011	24	0.000		
	Total	0.131	26			
Nitrite scavenging activity	between groups	285.614	2	142.807	9.445	0.001
	within groups	362.858	24	15.119		
	Total	648.472	26			
Total polyphenol content	between groups	254.588	2	127.294	126.199	0.000
	within groups	24.208	24	1.009		
	Total	278.796	26			

<sup>a</sup> between groups indicated the development stages (mycelium, sclerotium, and fruiting body) of *Wolfiporia cocos*



**Fig. 3.** Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of hot-water, 70% ethanol (70% EtOH), and 70% methanol (70% MeOH) extracts at 1 mg/ml concentrations from mycelium, sclerotium, and fruiting body of *Wolfiporia cocos*. White bar indicates a positive control. The results are obtained from three replications. Different letters that showed between groups (development of stages) and within groups (extraction solvents), are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 4.** Reducing power of hot-water, 70% ethanol (70% EtOH), and 70% methanol (70% MeOH) extracts at 1 mg/ml concentrations from mycelium, sclerotium, and fruiting body of *Wolfiporia cocos*. White bar indicates a positive control. The results are obtained from three replications. Different letters that showed between groups (development of stages) and within groups (extraction solvents), are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

산성 pH에서 환원제에 의해 ferric tripyridyl-triazine ( $Fe^{3+}$ -TPTZ) 복합체가 ferrous tripyridyl-triazine ( $Fe^{2+}$ -TPTZ)으로 환원되는 원리를 이용한 것으로 시료 중 항산화 물질의 함량에 의존도가 높은 것으로 알려져 있다(Lee *et al.*, 2016). 항산화능의 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 항산화능을 나타내며, 높은 항산화 활성을 가질수록 흡광도의 수치가 높게 나타난다(Choi *et al.*, 2016).

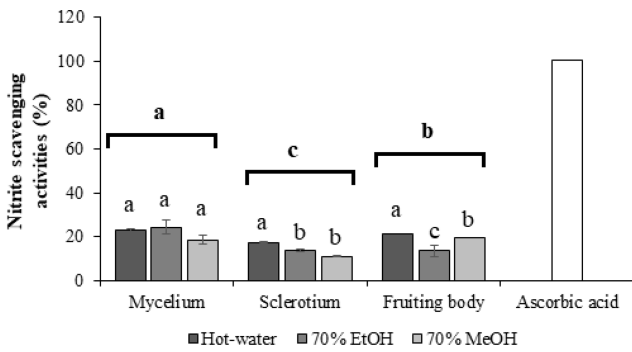
**추출용매별 복령 균사체, 균핵 및 자실체의 환원력**

복령 발달단계별 시료인 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body)의 추출용매에 따른 추출물 1 mg/ml 농도에서의 환원력(reducing power)을 분석한 결과는 Fig. 4와 Table 2과 같다. 복령의 발달단계별 시료 중에서 균사체의 환원력은 0.17~0.24의 범위를 보이며  $Pr > F$  확률이  $< 0.000$ 으로 균핵 및 자실체에 비하여 유의적인 차이를 나타냈다. 추출용매별로 살펴본 결과, 균사체 70% 메탄올추출물(70% MeOH)에서 높았으며, 열수추출물(hot-water)에서 가장 낮은 활성을 나타냈다. 자실체의 환원력은 0.08~0.12의 범위를 보이며 열수추출물(hot-water)에서 가장 높았으며, 균핵의 환원력은 0.05~0.07의 범위를 보이며 열수추출물(hot-water)에서 가장 높았다. 환원력은 여러 가지 항산화 작용 중 활성산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력을 말한다(Song *et al.*, 2012). 추출물의 페놀성 화합물들 중에서 이온함량과 관련이 있으며 이는 플라보노이드 계열의 화합물인 히드록시 및 카보닐 그룹들과 Fe 이온들이 수소결합을 형성하려는 성질이 강하며 이러한 수소결합을 통한 전자제공으로 강력한 환원력을 가진다(Saha *et al.*, 2013). 또한 Shimada *et al.* (1992)에 의하면 환원력은 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량에 크게 영향을 받으며 자유라디칼과 반응하여 연쇄반응을 안정화시키고 종결시키기 위해 전자를 보냄으

로서 자유 라디칼 사슬을 파괴할 수 있다고 보고하고 있다. 식용버섯인 잎새버섯 메탄올추출물 5 mg/ml 농도에서의 환원력은 0.37이었으며, 신령버섯 메탄올 추출물 5 mg/ml 농도에서의 환원력은 0.95로 나타났다(Huang and Mau, 2006; Mau *et al.*, 2004; Nguyen *et al.*, 2013).

**추출용매별 복령 균사체, 균핵 및 자실체의 아질산염 소거능**

복령 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body)의 추출용매별 추출물 1 mg/ml 농도에서의 아질산염 소거능을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. 추출용매별로 살펴본 결과, 균사체 중 70% 주정추출물(70% EtOH)에서 24.5%의 소거활성을 보이며 다른 추출용매에 비하여 높았으나 통계적으로 유의적 차이는 보이지 않았다. 균핵은 열수추출물(hot-water)에서 17.5%의 소거활성을 보이며 다른 추출용매에 비하여 유의적으로 높은 소거활성을 보였다. 자실체의 경우, 열수추출물(hot-water)에서 21.2%의 소거활성을 보이며 가장 높았으며, 다음으로 19.6%를 보인 70% 메탄올추출물(70% MeOH)이었으며 70% 주정추출물(70% EtOH)은 13.5%로 가장 낮은 소거활성을 보였다. 복령 1호의 발달단계인 균핵, 균사체 및 자실체의 아질산염 소거능 간의 차이에 대한 일원분산 분석을 수행한 결과,  $Pr > F$  확률이  $< 0.001$ 으로 복령 발달 단계 시료별로 차이가 있었으며, 균사체의 아질산염 소거능이 가장 높은 것으로 나타났다(Table 2). 아질산염을 일정 농도 이상 섭취하게 되면 헤모글로빈을 산화시켜 메트로헤모글로빈 혈증(methemoglobinemia)과 같은 중독 증상을 유발시킨다(Jung *et al.*, 2000). 또한 아질산염과 2급 및 3급 amine류와 반응하여 생성된 발암물질인 nitrosamine는 체내에서 diazoalkane ( $C_nH_{2n}N_2$ )으로 변화하여 핵산이나 단백질 또는 세포내의 성분을 알칼리화시킴으로서 암을 유발시킨다고 알려져 있다(Choi *et al.*, 1989; Choi *et al.*



**Fig. 5.** Nitrite scavenging activities of hot-water, 70% ethanol (70% EtOH), and 70% methanol (70% MeOH) extracts at 1 mg/ml concentrations from mycelium, sclerotium, and fruiting body of *Wolfiporia cocos*. White bar indicates a positive control. The results are obtained from three replications. Different letters that showed between groups (development of stages) and within groups (extraction solvents), are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

al., 2008; Chung et al., 1999). 아질산염 소거능은 이러한 아질산염을 소거하여 질병을 억제할 수 있는 능력을 측정하기 위하여 주로 이용되는 방법 중에 하나이다. Kim et al. (2001)이 보고한 식물체 추출물의 아질산염 소거능은 에탄올추출물에 비하여 열수추출물의 아질산염 소거능이 우수하다는 결과와 비슷하게 본 연구에서도 균핵과 자실체에서는 열수추출물의 소거활성이 높았다. 또한 Kim et al. (2002)은 복령 균사체와 복령쌀의 아질산염 소거능을 비교한 결과 복령 균사체 에탄올추출물에서 높은 아질산염 소거능을 보인다고 보고하고 있다. 식용버섯인 노랑느타리 추출용매별 아질산염 소거능을 살펴본 결과, 60% 에탄올추출물에서 가장 높은 소거활성을 나타냈으며, 1 mg/ml 농도처리에서 36.5%의 소거활성을 보였다(Lee et al., 2014).

**추출용매별 복령 균사체, 균핵 및 자실체의 총 폴리페놀 함량**

복령 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body)의 추출용매별 추출물 1 mg/ml 농도에서의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 3와 같다. 균핵의 추출용매별 총 폴리페놀 함량범위는 6.25~6.67 mg GAE/g으로 70% 주정추출물(70% EtOH)에서의 함량치가 다른 용매와 비교하여 유의적인 차이를 보이며 가장 높았다. 균사체의 경우, 총 폴리페놀 함량범위는 11.75~14.33 mg GAE/g의 값을 보이며 열수추출물(hot-water)에서 유의적으로 높은 함량치를 보였다. 자실체의 총 폴리페놀 함량은 5.00~8.00 mg GAE/g으로 열수추출물(hot-water)에서 높은 함량치를 보였다. 복령의 발달단계인 균핵, 균사체 및 자실체의 총 폴리페놀 함량 간의 차이에 대한 일

**Table 3.** Total polyphenol contents of hot-water, 70% ethanol (70% EtOH), and 70% methanol (70% MeOH) extracts at 1 mg/ml concentrations from mycelium, sclerotium, and fruiting body of *Wolfiporia cocos*

Development stages	Extraction solvents	Total polyphenol contents (mg GAE/g) <sup>1</sup>
Mycelium	Hot-water	14.33 ± 0.14 a
	70% EtOH	11.75 ± 0.00 c a
	70% MeOH	12.83 ± 0.13 b
Sclerotium	Hot-water	6.50 ± 0.00 ab
	70% EtOH	6.67 ± 0.14 a b
	70% MeOH	6.25 ± 0.25 b
Fruiting body	Hot-water	8.00 ± 0.00 a
	70% EtOH	6.33 ± 0.14 b b
	70% MeOH	5.00 ± 0.00 c

The results are represented by the mean ± S.D. of values obtained from three replications (n=3).

Different letters that showed between groups (development of stages) and within groups (extraction solvents), are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

<sup>1</sup> GAE, Gallic acid equivalent

원분산분석을 수행한 결과, Pr>F 확률이 <0.000으로 복령 발달단계 시료별로 차이가 확인되었으며(Table 2), 균사체의 총 폴리페놀 함량이 균핵 또는 자실체에 비하여 유의적 차이를 보이며 높은 것으로 나타났다. 폴리페놀은 라디칼 소거능과 항산화능을 포함한 여러 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 하나 이상의 수산기로 치환된 방향족 환을 가지고 있는 식물성분을 페놀성 물질이라고 하는데, 이 페놀성 물질은 hydroxyl기에 ether 결합에 의하여 당이나 단백질이 결합하여 배당체로 존재하는 경우가 많으며 극성용매에 잘 녹는다고 알려져 있다(Cha et al., 1999; Kim et al., 2008). 또한 Rice-Evans et al. (1996)와 Seo et al. (2017)에 의하면 총 페놀 화합물의 함량이 높을수록 항산화 활성이 증가되는 것으로 보고되고 있으며, Moreno et al. (2006)의 보고에 따르면 폴리페놀 함량이 많을수록 항산화 반응에 더 관여하여 활성이 높다고 하였다. 본 연구결과, 복령 균사체의 열수추출물(hot-water)에서 DPPH 라디칼 소거능과 환원력 및 총 폴리페놀 함량은 다른 추출용매에 비하여 높은 항산화능을 보였으며, 복령 1호 균사체의 총 폴리페놀 함량은 DPPH라디칼 소거능, 철 환원 항산화능, 환원력과 더불어 균핵 및 자실체에 비하여 높은 항산화능을 보인 것으로 확인되었다. 이와 같은 결과는 라디칼 소거능에 따른 항산화 활성은 자체 내 함유된 총 폴리페놀 함량과 밀접한 상관관계가 있다고 보고한 Qi et al. (2013)과 Wang

**Table 4.**  $\beta$ -Glucan contents of mycelium, sclerotium, and fruiting body of *Wolfiporia cocos*

Development of stages	$\beta$ -glucan contents (% w/w)	
Mycelium	11.23 $\pm$ 0.52	c
Sclerotium	51.67 $\pm$ 0.77	a
Fruiting body	25.16 $\pm$ 0.18	b

The results are represented by the mean  $\pm$  S.D. of values obtained from three replications (n=3). Different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

*et al.* (2003)의 보고와 일치한다.

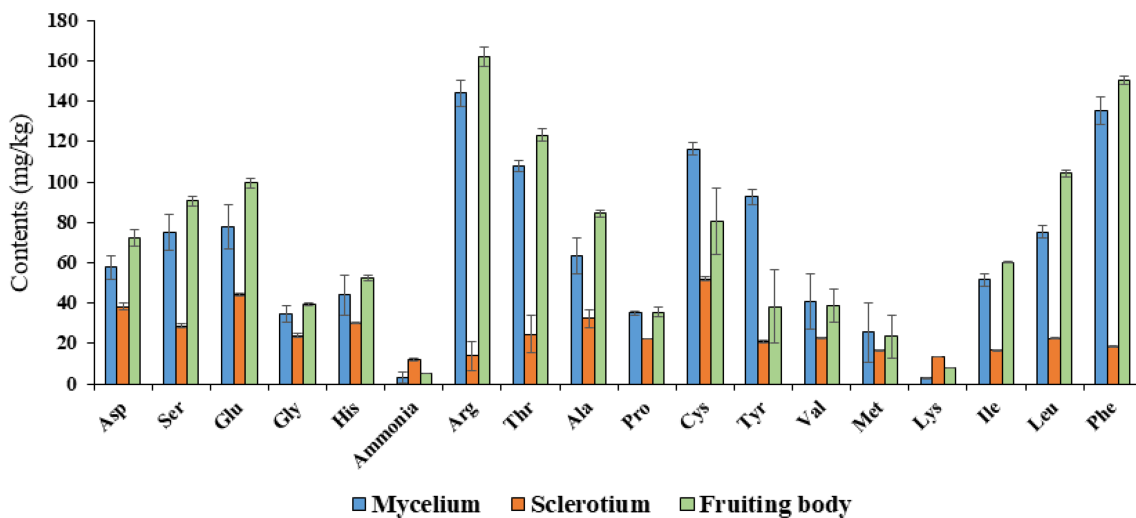
**복령 균사체, 균핵 및 자실체의 베타글루칸 함량**

복령 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body)의 건조시료에 대한 베타글루칸 함량을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 복령 균핵의 베타글루칸 함량은 51.67%로 가장 높은 함량치를 보였으며, 균사체에서 가장 낮은 수치를 나타냈으며, 자실체에도 균사체에 비하여 높은  $\beta$ -glucan 함량치를 나타내고 있었다. 대부분의 식용 및 약용버섯들은 항종양과 면역조절 물질을 함께 가지고 있으며 이들은 다당류로 Glucan, Glycan으로 크게 구분된다(Wsser and Didukh, 2005). 그 중 베타글루칸은 인체의 면역시스템에 작용하여 사이토카인(Cytokine)을 생산시킴으로서 면역세포인 T세포와 B세포의 활동을 도와 세포조직의 면역기능을 활성화 시켜주는 역할을 한다(Chandrasekaran *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2015; Seo *et al.*, 2016). 특히 버섯류 중에서 높은 베타글루칸을 함유하

고 있는 꽃송이버섯의 베타글루칸 함량은 40% 이상인 것으로 알려져 있으며, 약용버섯인 동충하초 및 영지는 각각 45.1%, 31.6%의 함량이 보고되고 있다(An *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2015). Kanayama *et al.* (1983)는 복령의 균사체로부터 마우스 종양 sarcoma 180에 대하여 강한 항종양활성을 나타내는 물질 (1,3)-(1,6)- $\beta$ -D-glucan에 대하여 보고하였으며, Zhang *et al.* (2016)은 복령에서 분리된 수용성  $\beta$ -glucan은 사람 유방암 세포주의 세포주기 정지와 에포토시스를 유도하여 종양생장을 억제시키는 결과를 보고하였다.

**복령 균사체, 균핵 및 자실체의 아미노산 성분 함량**

복령 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body)의 건조시료에 대한 아미노산 성분 함량을 분석한 결과, 균사체, 균핵 및 자실체의 총 아미노산 함량은 각각 1182.4 mg/kg, 453.2 mg/kg, 1268.1 mg/kg 이었으며, 총 필수아미노산 함량 범위는 375.1 mg/kg, 140.1 mg/kg, 437.6 mg/kg 이었다. 총 아미노산 함량과 총 필수 아미노산 함량은 자실체가 가장 높게 검출 되었다. Fig. 6에서 보여지듯이 자실체는 대부분의 아미노산 성분이 가장 높게 검출되었으며, 균사체에서는 시스테인(Cys), 티로신(Tyr), 발린(Val), 메티오닌(Met)이 높게 검출된 성분이었다. 특히 균사체와 자실체에서 쓴맛을 담당하는 알기닌(Arg)와 페닐알라닌(Phe)이 가장 높은 함량을 나타냈으며, 필수 아미노산인 이소류신(Ile), 류신(Leu), 페닐알라닌(Phe)이 균핵에 비하여 월등히 높게 검출되었다. 균핵의 경우, 대부분의 아미노산 성분이 균사체 및 자실체에 비하여 낮게 검출되었으나, 감칠맛과 단맛을 담당하는 아스파르트산(Asp), 글루탐산(Glu), 세린(Ser), 글리신(Gly)이



**Fig. 6.** Amino acid contents of mycelium, sclerotium, and fruiting body of *Wolfiporia cocos* (Asp, Aspartic acid; Ser, Serine; Glu, Glutamic acid; Gly, Glycine; His, Histidine; Arg, Arginine; Thr, Threonine; Ala, Alanine; Pro, Proline; Cys, Cystine; Tyr, Tryptophan; Val, Valine; Met, Methionine; Lys, Lysine; Ile, Isoleucine; Leu, Leucine; Phe, Phenylalanine). The results are obtained from three replications (n=3).



다른 성분들에 비하여 다소 높게 검출된 경향을 보였다.

## 적 요

북령 발달단계인 균사체(mycelium), 균핵(sclerotium) 및 자실체(fruiting body)에 대한 열수(hot-water), 70% 주정(70% EtOH) 및 70% 메탄올(70% MeOH) 용매별 생리활성 성분과 발달단계별 건조시료의 베타글루칸 및 아미노산 성분함량을 분석하였다. 그 결과, 발달단계별 시료 중에서 균사체의 DPPH 라디칼 소거능, 철 환원 항산화능, 환원력, 아질산염 소거능 및 총 폴리페놀 함량이 균핵과 자실체와 비교하여 유의적 차이를 보이며 높은 것으로 나타났다. 추출용매별 결과, 균사체의 경우 열수추출물(hot-water)에서 DPPH 라디칼 소거능, 철 환원 항산화능 및 총 폴리페놀 함량이 높았으며, 균핵은 70% 주정추출물(70% EtOH)에서 철 환원 항산화능 및 총 폴리페놀 함량이, 열수추출물(hot-water)에서 DPPH 라디칼 소거능, 환원력 및 아질산염 소거능이 높았으며, 자실체는 열수추출물(hot-water)에서 DPPH 라디칼 소거능, 환원력, 아질산염 소거능 및 총 폴리페놀 함량이 다른 용매추출물에 비하여 높게 나타났다. 균사체, 균핵 및 자실체 건조시료 중의 베타글루칸 함량은 균핵에서 균사체와 자실체에 비하여 월등히 높은 함량치를 나타냈다. 총 아미노산 및 총 필수아미노산 함량은 자실체와 균사체에서 균핵과 비교하여 월등히 높았으며, 그 중 알기닌(Arg)과 페닐알라닌(Phe)이 높게 검출되었다.

## 감사의 글

본 연구는 2020년 농촌진흥청 포스트게놈다부처유전체사업(과제번호 PJ01337601)에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

An GH *et.al.* 2019. Comparison of physiology activity of medicinal mushroom produced in Korea and China using different extraction solvents. *J Mushrooms* 17: 34-39.  
 Benzie IF, Strain JJ. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol* 299: 15-27.  
 Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.  
 Cha JY *et.al.* 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compounds of *Cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1310-1315.  
 Chandrasekaran G, Oh DS, Shin HJ. 2011. Properties and

potential applications of the culinary-medicinal cauliflower mushrooms, *Sparassis crispa* Wulf.:Fr. (Aphyllphoromycetidae): a review. *Int J Med Mushrooms* 13: 177-183.  
 Choi SH *et.al.* 2016. Comparison of ingredients and antioxidant activity of the domestic regional *Wolfiporia extensa*. *Kor J Mycol* 44: 23-30.  
 Choi DB *et.al.* 2008. Effect of bamboo oil on antioxidative activity and nitrite scavenging activity. *J Ind Eng Chem* 14: 765-770.  
 Choi JS, Park SH, Choi JH. 1989. Nitrite scavenging effect by flavonoids and its structure-effect relationship. *Arch Pharm Res* 12: 26-33.  
 Chung SY, Kim NK, Yoon S. 1999. Nitrite scavenging effect of methanol fraction obtained from green yellow vegetable juices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 342-347.  
 Daniel JS, Steven AC. 1993. Sensitive analysis of cystine/cysteine using 6-aminoquinolino-N-hydroxysuccinimidy carbamate (AQC) derivatives. *Tech Protein Chem* 4: 299-306.  
 Duncan DB. 1955. Multiple range and multiple F-test. *Biometrics* 11: 1-42.  
 Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.  
 Gardner PR, Fridovich I. 1991. Superoxide sensitivity of *Escherichiacoli* 6-phosphogluconate dehydratase. *J Biol Chem* 266: 1478-1483.  
 Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J Food Sci* 40: 981-984.  
 Hamuro J *et.al.* 1971. Carboxymethylpachymaran, a new water soluble polysaccharide with marked antitumor activity. *Nature* 233: 486-488.  
 Huang SJ, Mau JL. 2006. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agricus blazei* with various doses of  $\gamma$ -irradiation. *Lebensm Wiss Technol* 39: 707-716.  
 Jo W *et.al.* 2013. Changes of the cultivation methods of *Poria cocos* and its commercialization. *J Mushroom* 11: 303-307.  
 Jung GT *et.al.* 2000. The antioxidative antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* RUPRECHT (Omija) seed. *Korean J Food Sci Tech* 32: 928-935.  
 Kwon MS *et.al.* 1998. Quality and functional characteristics of cultivated hoelen (*Poria cocos* Wolf) under the picking date. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1034-1040.  
 Kanayama H, Adachi N, Togami M. 1983. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf. *Chem Pharm Bull* 31: 1115-1118.  
 Kang A *et.al.* 1999. Studies on improvement of artificial cultivation and antioxidative activity of *Poria cocos*. *Kor J Mycol* 27: 378-382.  
 Kim JY *et.al.* 2018. Comparison of composition and antioxidant activity of *Poria cocos* Wolf cultivated in a mortuary and cemetery. *J Mushrooms* 16: 111-117.  
 Kim YJ *et.al.* 2016. Antioxidant effect of ethanol extract from *Poria cocos* depending on cultivation methods. *Kor J Herbol* 31: 107-114.  
 Kim SC *et.al.* 2015. Development of strain-specific SCAR marker for selection of *Pleurotus eryngii* strains with higher  $\beta$ -glucan. *J Mushroom* 13: 79-83.  
 Kim HY *et.al.* 2008. Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. *Korean J Food Sci Technol* 40: 166-170.  
 Kim DG *et.al.* 2002. The antioxidant ability and nitrite

- scavenging ability of *Poria cocos*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 1097-1101.
- Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
- Lee DS, Kim KH, Yook HS. 2016. Antioxidant activities of different parts of *Sparassis crispa* depending on extraction temperature. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45: 1617-1622.
- Lee KS, Lee MW, Lee JY. 1982. Studies on the antibacterial activity of *Poria cocos*. *Kor J Mycol* 10: 27-31.
- Mau JL *et.al.* 2004. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chem* 87: 111-118.
- Moreno S *et.al.* 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic Res* 40: 223-231.
- Nguyen TK *et.al.* 2013. Antioxidant and anti-inflammatory activities of fruiting bodies of *Dyctiophora indusiata*. *J Mushroom* 11: 269-277.
- Nukaya H *et.al.* 1996. Isolation of inhibitors of TPA-induced mouse ear edema from Hoelen, *Poria cocos*. *Chem Pharm Bull* 44: 847-849.
- Oh HK. 2019. Biological activities of *Poria cocos* Wolf and *Corni fructus* extracts based on their extraction solvent. *J Korean Appl Sci Technol* 36: 1303-1311.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr Diet* 44: 307-315.
- Park NH, Jo WS, Park SC. 2016. Comparison of mineral contents and antioxidant activities of domestic and Chinese *Wolfiporia extensa* for origin identification. *J Mushrooms* 14: 232-236.
- Qi Y *et.al.* 2013. Antioxidant and anticancer effects of edible and medicinal mushrooms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 655-662.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20: 933-956.
- Saha AK *et.al.* 2013. Screening of six ayurvedic medicinal plant extracts for antioxidant and cytotoxic activity. *J Phar Phytochem* 2: 181-188.
- Saito H, Misaki A, Harada T. 1968. A comparison the structure of curdan and pachyman. *Agr Biol Chem* 32: 1261-1269.
- Seo S *et.al.* 2017. Antioxidant properties of *Lentinula edodes* after sawdust bag cultivation with different oak substrates. *Kor J Mycol* 45: 121-131.
- Shimada K *et.al.* 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J Agric Food Chem* 40: 945-948.
- Shon MY. 2007. Antioxidant and anticancer activities of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* fermented with mycelial mushrooms. *Food Ind Nutr* 12: 51-57.
- Sohn HY, Shin YK, Kim JS. 2010. Anti-proliferative activities of solid-state fermented medicinal herbs using *Phelimus baumii* against human colorectal HCT116 cell. *J Life Sci* 20: 1268-1275.
- Song CH *et.al.* 2012. Enhancement of antioxidant activity of *Codonopsis lanceolata* by stepwise steaming process. *Kor J Med Crop Sci* 20: 238-244.
- Tai T *et.al.* 1995. Anti-emetic principles of *Poria cocos*. *Planta Med* 61: 527- 530.
- Wang SY *et.al.* 2003. Antioxidant properties and phytochemical characteristics of extracts from *Lactuca indica*. *J Agric Food Chem* 26: 1506-1512.
- Wasser SP, Didukh M. 2005. Culinary-medicinal higher basidiomycete mushrooms as a prominent source of dietary supplements and drugs for the 21st century. In *Mushroom Biology and Mushroom Products. Acta Edulis Fungi*, 20-34.
- Yang SB *et.al.* 2015. Cultivation of *Poria cocos* using plastic bag method I-effect of temperature and number of plastic bag layers. *Curr Res Agric Life Sci* 33: 37-40.
- Zhang M *et.al.* 2006. Growth-inhibitory effects of a beta-glucan from the mycelium of *Poria cocos* on human breast carcinoma MCF-7 cells: cell-cycle arrest and apoptosis induction. *Oncol Rep* 15: 637-643.