

산 · 학 · 연 논문

버섯균사체 및 청국균 발효대두의 항산화능과 암세포 증식억제능

최재훈¹ · 양희선² · 손미예¹ · 김진순³ · 박석규^{1,2*}

¹한국전통발효식품연구소

²순천대학교 식품영양학과

³부산대학교 식품영양학과

Antioxidant and Anticarcinogenic Activities of Methanol Extracts from Soybean Products Fermented by Some Mycelia of Mushroom and *Bacillus megaterium* SMY-212

Jehun Choi¹, Hee-Sun Yang², Mi-Yae Shon¹,
Jin-Soon Kim³ and Seok-Kyu Park^{1,2*}

¹Korea Fermented Food Research Institute, Jinju 660-840, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

³Dept. of Food and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

서 론

최근에 서구화된 식생활과 노년층 인구가 증가함에 따라 각종 암의 발생이 증가되고 있으며, 이는 유전적인 요인, 인종 및 나이 등에 따라 차이가 있지만, 특히 그 발생은 동양인들이 서양인들보다 낮으며, 흑인은 백인보다 훨씬 높게 나타난다고 한다(1,2). 여러 연구자들에 의하면 식생활과 같은 생활환경요인도 크게 작용하는데, 동물성 지방의 과다섭취는 그 발생을 증가시키고, 섬유질이 풍부한 식품, 셀레늄, 비타민 D와 E, 콩, 차 및 토마토 섭취가 예방 효과가 있다고 알려져 있다(3,4). 그리고 대두를 풍부하게 섭취하는 동양인들(20~80 mg/day)은 서양인들(1~3 mg/day)에 비해 유방암과 전립선암에 의한 사망률이 현저히 낮음이 보고되었는데(5,6), 이는 서양인에 비해 월등히 많은 콩 섭취량과 연관이 있다고 한다. 여러 동물시험과 조직배양 연구에서 대두 isoflavone은 암세포 증식에 관여하는 효소의 작용을 저해하고 항산화작용으로 여성호르몬 대사와 관련된 항암효과를 나타내며(7), 특히 유방암을 인위적으로 유발시킨 동물시험에서 isoflavone 투여군이 다른 군에 비해 유방암 세포의 증식이 현저히 낮음이 보고되었으며, 세포배양실험에서도 유방암에 대한 isoflavone의 항암효과가 증명되었다(8).

한편 원료 콩에서의 isoflavone은 포도당 잔기가 β -1,4-glycoside 결합을 한 배당체 형태로 대부분 존재하지만

(9), 발효식품에서는 발효균이 생성하는 β -glucosidase에 의한 포도당이 분해된 aglycone의 형태가 많이 존재하며(10,11), 그 함량에 비례하여 생리활성 효과가 증가하였다(12,13). 배당체 형태의 isoflavone은 섭취 후 포도당이 제거되어 aglycone의 형태로 체내에 흡수되거나 장내 미생물에 의해 파괴된다. 또한 aglycone인 genistein을 섭취한 경우와 배당체인 genistin을 섭취한 경우 전자가 더 빨리 흡수되는 현상을 나타내었다(14).

또한 버섯균사체는 자실체(15,16)와 유사한 항암, 체지방감소, 혈중 콜레스테롤 저하 및 면역증강 효과 등의 활성을 갖으며, 특히 성장 중에 콩 속에 있는 isoflavone의 포도당을 분해시켜 aglycone의 형태로 전환시켜 주는 β -glucosidase를 포함한 섬유소 분해효소, 단백질 분해효소, 지방질 분해효소 등의 다양한 가수분해효소를 생성한다(17-19).

본 연구에서는 콩의 배당체 isoflavone류를 생리 활성형 aglycone으로 효소적 전환율을 증진시켜 콩 발효식품의 기능성을 증진시키고자, 삶은 콩에서 균사체의 성장속도가 빠르면서 기호성이 좋고, β -glucosidase 활성이 높은 균주를 이용하여 식용 버섯 균사체의 단독배양 혹은 청국장 발효균인 *Bacillus megaterium* SMY-212와 2단계로 배양한 발효대두 메탄을 추출물의 항산화능과 전립선암 및 자궁암 세포주의 성장억제 효과를 조사하였다.

*Corresponding author. E-mail: bestmeju@sunchon.ac.kr
Phone: 061-750-3652, Fax: 061-750-3652

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 대두는 경남 산청에 소재한 한국전통발효식품연구소에서 2003년도 재배한 국산 토종콩 대광 품종을 분양받아서 사용하였다.

균주 및 배양

B. megaterium SMY-212를 NB(nutrient broth, Difco.) 배지에서 배양하여 사용하였고, 식용버섯은 *Agaricus blazei* (아가리쿠스, 신령버섯), *Paecilomyces japonica* (동충하초), *Flammulina velutipes* (팽이버섯), *Pleurotus eryngii* (새송이버섯)을 PDA(Potato Dextrose Agar)배지에서 배양하여 사용하였다. 발효대두는 국산 토종콩(태광)을 12시간 동안 실온에서 수침시켜 물 빼기를 한 다음 2시간 동안 상압증자한 후, 무균적으로 150 g을 500 mL 삼각플라스크에 담았다. 그 증자대두에 PDA 배지상에서 배양된 버섯균사를 원형으로 잘라서 접종(1 cm, 15개씩)하여 25°C 배양기에서 버섯의 성장속도가 차이가 있으므로 약 7~12일 정도로 각각 배양기간을 달리하여 실시하였다.

추출물의 조제

항산화와 항암실험을 위한 시료액의 추출은 증자한 대두에 식용버섯(동충하초, 새송이, 아가리쿠스, 팽이버섯)균사를 접종하여 25°C에서 버섯의 최고 증식시기를 기준으로 하여 배양하였다. 이들 버섯의 균사가 증식한 플라스크에 무균적으로 적절하게 으개기와 파쇄를 한 후에 *B. megaterium* SMY-212를 접종하여 미리 전 배양시켜둔 스타트 발효대두를 2%(w/w)정도로 첨가하여 다시 40°C에서 3일간 2차 배양하였다. 최종적인 반고체의 발효대두를 동결건조시킨 다음에 메탄올 용매로 추출하여 시료로 사용하였다.

수소 공여능 측정

시료에 대한 수소공여능(20)은 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazine(DPPH)의 환원성을 이용하여 516 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer로 측정하였다. 각 추출물 0.1 mL와 대조구로 사용한 0.1% BHT 1 mL에 4×10^{-4} M DPPH 용액 3 mL를 각각 첨가한 후 5초 동안 vortex mixer로 혼합하여 증류수에 대한 흡광도를 측정하고, 대조구는 시료 대신에 ethanol 1 mL를 첨가하여 대조구에 대한 흡광도의 감소비율로 나타내었다.

Linoleic acid에 대한 항산화력 측정

시료 추출물의 항산화 효과를 linoleic acid의 과산화물 값(peroxide value, POV)을 측정하여 *in vitro*로 관찰하였다. 즉, 삼각플라스크에 linoleic acid 1 mL, carbonyl을 제

거한 ethanol 20 mL 및 시료 추출물 0.1 mL를 첨가한 후 0.2 M phosphate buffer 25 mL를 가하여 37°C에서 일정기간 저장한 다음 반응용액을 분액깔대기에 옮겨 chloroform 25 mL를 가하여 2~3회 반복 추출하였다. 다음에 chloroform 추출액에 acetic acid 25 mL와 포화 KI용액 1 mL를 가하여 암소에서 5분간 방치한 다음 증류수 50 mL를 가하여 soluble starch를 지시약으로 하여 1/100 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액으로 적정하여 과산화물가를 환산하여 대조구에 대한 항산화력을 백분율로 나타내었다(12,21).

암세포 배양

실험에 사용한 인체 전립선암 세포(DU145)와 인체 자궁암 세포(HeLa)는 한국세포주은행에서 분양받았다. 세포는 37°C, 5% CO_2 incubator에서 RPMI 1640 배지를 사용하여 배양하였으며 세포 유지를 위해 10%의 송아지 혈청(fetal bovine serum)과 오염방지를 위해 penicillin(10,000 units/mg)과 streptomycin(10 mg/mL)의 혼합액(Sigma, P-0781)을 첨가하였다. 세포는 플라스크에 80~90%정도 자랐을 때 완충식염수(phosphate buffered saline)로 세척하고 0.25% trypsin-EDTA 용액을 사용하여 계대 배양하였다.

암세포 성장 억제효과

세포증식 정도를 SRB assay법(22)에 따라 측정하였다. Monolayer로 배양중인 암세포주를 0.25% trypsin-EDTA 용액으로 처리하여 single cell로 만든 후 배양액으로 최종 농도가 5×10^4 cells/mL개가 되도록 희석하여 48 well plate에 각 well 당 450 μL 씩 접종한 다음 37°C, 5% CO_2 incubator에서 24시간 배양하였다. 24시간 후 각 well의 배지를 흡입하여 제거한 다음 서로 다른 농도로 준비한 시료를 50 μL 씩 각 well에 가하여 48시간 더 반응시켰다. 배양이 종료된 후, 500 μL 의 차가운 12% trichloroacetic acid(TCA)를 천천히 가해주고 TCA가 바닥에 가라앉도록 잠시 기다린 후 조심스럽게 냉장고로 옮겨 1시간 동안 충분히 고정시키고 고정이 끝난 후에는 증류수로 5회 이상 세척하여 잘 건조시키고 나서 각 well에 1% 빙초산에 녹인 0.4% SRB용액 100 mL를 가하여 상온에 30분 이상 염색하였다. 염색이 끝난 후, 1% 빙초산으로 5회 이상 세척하여 잘 건조시키고, 150 μL 의 10 mM 비완충성 Tris 용액으로 SRB 염색액을 잘 녹여내어 96-well plate용 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

수소 공여능

식용버섯 균사체를 이용하여 단독 배양한 발효대두의 메탄올 추출물 농도별에 대한 DPPH에 대한 수소 공여능의 효과를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 식용 버섯 균사체

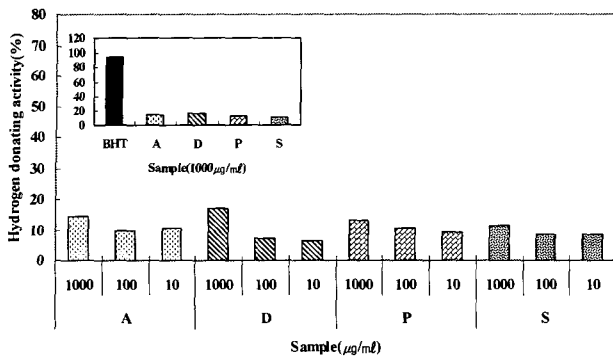


Fig. 1. Hydrogendonating activity of methanol extracts of soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms.

Soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms (A, *Agaricus blazei*; D, *Cordyceps militaris*; P, *Flammulina velutipes*; S, *Pleurotus eryngii*).

만으로 발효시킨 대두는 추출물 1,000 µg/mL에서 동충하초(*Paecilomyces japonica*; 이하 D로 표시) 균사체의 배양물이 16.96%로 가장 높았고, 다음으로 팽이버섯(*Flammulina velutipes*; P) 13.28%, 아가리쿠스(*Agaricus blazei*; A) 14.51%, 새송이(*Pleurotus eryngii*; S) 균사체의 배양물 11.54% 순이었으며, 합성 항산화제의 BHT보다는 상당히 낮은 값을 나타내었지만, 버섯 균사체의 각 배양 추출물의 농도가 증가될 때 수소 공여능은 점진적으로 증가되었다.

식용버섯 균사체 및 *B. megaterium* SMY-212를 이용하여 2단계로 배양한 발효대두의 메탄올 추출물 농도별에 대한 DPPH에 대한 수소 공여능의 효과를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 버섯 균사체의 각 배양 추출물 1,000 µg/mL의 농도에서 17.83~26.92%로 식용버섯 균사체만을 발효시킨 대두보다 30~40% 높았으며, 그 중 동충하초 균사체를 배양한 다음에 *B. megaterium* SMY-212를 2단 배양한 발효대두(*C. militaris*+SMY-212, 이하 DB로 표시)가 26.92%로 가장 높은 값을 나타내었다. 다음으로는 새송이 균사체와 SMY-212를 2단 배양한 배양물(SB)이 19.93%, 아가리쿠스(AB)와 팽이버섯(PB) 2단 배양한 발효대두가 각각 18.70%와 17.83%를 나타내었다. 특히 아가리쿠스, 동충하초, 팽이버섯과 새송이 균사체의 단독 배양한 발효대두보다는 이들 식용버섯과 SMY-212를 2단으로 연속 배양한 것의 수소공여능이 대체로 각각 1.29, 1.59, 1.34, 1.73배가 증가되었다.

Linoleic acid에 대한 항산화 효과

식용버섯 균사체를 이용하여 단독 배양한 발효대두의 메탄올 추출물 농도별로 linoleic acid에 대한 항산화 효과를 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. BHT를 제외하고 10 µg/mL 농도에서 시료들 간의 항산화 효과는 21.08~29.54%의 범위로 나타났고, 그 효과가 비교적 높은 발효대두는

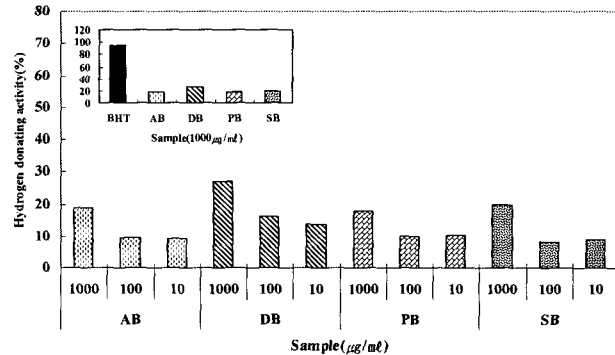


Fig. 2. Hydrogendonating activity of methanol extracts of soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms and *B. megaterium* SMY-212.

BHT, butylated hydroxyanisole; Soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms and *B. megaterium* SMY-212 (AB, *Agaricus blazei*; DB, *Cordyceps militaris*; PB, *Flammulina velutipes*; SB, *Pleurotus eryngii*).

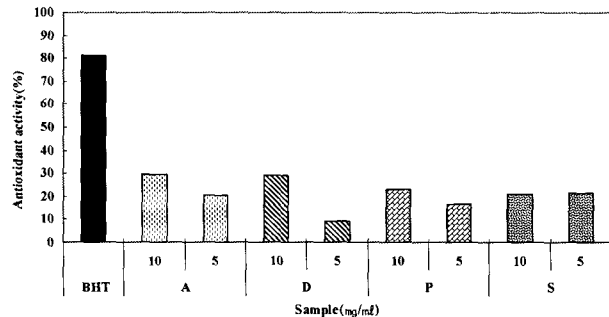


Fig. 3. Antioxidant activity of linoleic acid emulsion added with methanol extracts of soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms.

Soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms (A, *Agaricus blazei*; D, *Cordyceps militaris*; P, *Flammulina velutipes*; S, *Pleurotus eryngii*).

동충하초와 아가리쿠스 균사체 배양물이었으며, 다음으로 팽이버섯과 새송이 균사체 배양물의 순이었으며, 이는 BHT 80.96%에 비하여 매우 낮은 값을 나타내었다.

식용버섯 균사체 및 *B. megaterium* SMY-212를 이용하여 2단계 배양한 발효대두의 메탄올 추출물 농도별로 linoleic acid에 항산화 효과를 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 버섯 균사체 추출물 10 µg/mL 농도에서 각 시료들의 항산화 효과는 29.51~37.56%의 범위로 나타났고, 추출물 농도에 비례적인 증가를 나타내었으며, 가장 높은 시료는 팽이버섯(*F. velutipes*) 균사체를 배양한 후 SMY-212를 배양한 발효대두(PB)였고, 다음으로 아가리쿠스(*A. blazei*) 균사체를 배양한 다음 SMY-212를 배양한 발효대두(AB) 순이었다. 또한 단독 배양한 아가리쿠스, 동충하초, 팽이버섯과 새송이 균사체의 발효대두보다는 SMY-212와 2단으로 연속 배양한 것의 항산화 효과는 대체로 각각 1.12, 1.01, 1.63, 1.42배가 증가되었으며, 2단 배양에서 항산화 효과는 수소공여능의 경우에 비하여 약간 낮은 경향으

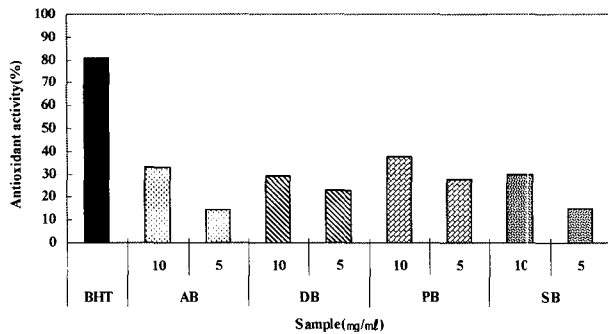


Fig. 4. Antioxidant activity of linoleic acid emulsion added with methanol extracts of soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms and *B. megaterium* SMY-212. BHT, butylated hydroxyanisole; Soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms and *B. megaterium* SMY-212 (AB, *Agaricus blazei*; DB, *Cordyceps militaris*; PB, *Flammulina velutipes*; SB, *Pleurotus eryngii*).

로 나타났다.

인체 전립선암 세포주의 성장억제 효과

식용버섯 균사체로 이용하여 단독 배양한 발효대두의 메탄올 추출물 농도별로 다른 인체 전립선암 세포주(DU145)에 대한 성장억제 효과를 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. 식용버섯 균사체 배양물 1,000 µg/mL 농도에서 팽이버섯 (*F. velutipes*; P) 균사체를 배양한 발효대두가 35.07%로 가장 높았으며, 다음으로 아가리쿠스(*A. blazei*; D) 32.32%, 새송이(*P. eryngii*; S) 29.86%였으며, 동충하초(*P. japonica*; D) 20.98%로 가장 낮은 값을 나타내었다.

식용버섯 균사체와 *B. megaterium* SMY-212를 이용하여 2단계 배양한 발효대두의 메탄올 추출물 농도별로 인체 전립선암 세포주에 대한 성장억제 효과를 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. 2단계 발효 추출물 1,000 µg/mL 농도에서 각

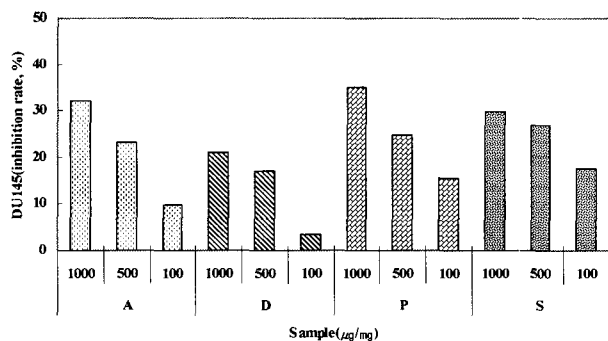


Fig. 5. Growth inhibitory effect of methanol extracts of soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms in sulforhodamine B (SRB) assay using DU145 human prostate cancer cell.

Inhibition rate (%) = $\{1 - (\text{OD}_{540} \text{ of treated cells} / \text{OD}_{540} \text{ of control cells})\} \times 100$. Soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms (A, *Agaricus blazei*; D, *Cordyceps militaris*; P, *Flammulina velutipes*; S, *Pleurotus eryngii*).

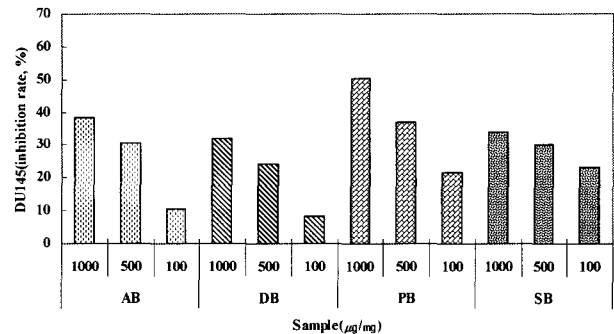


Fig. 6. Growth inhibitory effect of methanol extracts of soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms and *B. megaterium* SMY-212 in sulforhodamine B (SRB) assay using DU145 human prostate cancer cell.

Inhibition rate (%) = $\{1 - (\text{OD}_{540} \text{ of treated cells} / \text{OD}_{540} \text{ of control cells})\} \times 100$. Soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms and *B. megaterium* SMY-212 (AB, *Agaricus blazei*; DB, *Cordyceps militaris*; PB, *Flammulina velutipes*; SB, *Pleurotus eryngii*).

추출물의 암세포증식 억제효과는 32.01~50.23%의 범위로 나타났으며, 그 추출물 농도에 비례적인 증가를 나타내었다. 암세포 증식억제 효과가 가장 높은 시료는 팽이버섯 (*F. velutipes*) 균사체와 SMY-212를 배양한 발효대두(PB)였고, 다음으로 아가리쿠스(*A. blazei*) 균사체와 SMY-212를 배양한 발효대두(AB) 순이었다. 또한 단독 배양한 아가리쿠스, 동충하초, 팽이버섯과 새송이 균사체의 발효대두보다는 이들 식용버섯 균사체와 SMY-212를 2단계로 연속 배양한 것의 암세포 증식억제 효과는 대체로 각각 1.19, 1.53, 1.43, 1.14배가 증가되었다.

Cho(23)는 아가리쿠스, 잎새, 영지, 표고, 동충하초, 상황 및 느타리의 7가지 버섯균사체 메주에서 *Salmonella typhimurium* TA98에서 IQ 및 AFB₁처리에 대한 항돌연변이성은 각각 돌연변이물질에 대하여 영지버섯 균사체 추출물 65.9%와 상황버섯 균사체 추출물 61.9%로 가장 높다고 하였으나, *S. typhimurium* TA100에서 IQ 및 AFB₁처리에 대한 항돌연변이성은 모두 아가리쿠스 균사체 메주 추출물이 각각 52.0%와 53.5%로서 가장 높았다고 보고하였다.

인체 자궁암 세포주의 성장억제 효과

식용버섯 균사체로 이용하여 단독 배양한 발효대두의 메탄올 추출물 농도별로 인체 자궁암 세포주(HeLa)에 대한 성장억제 효과를 조사한 결과는 Fig. 7과 같다. 식용버섯 균사체 배양물 1,000 µg/mL 농도에서 팽이버섯(*F. velutipes*; P)과 새송이(*P. eryngii*; S) 균사체를 배양한 발효대두가 각각 45.23%, 43.29%로 높은 억제효과를 나타내었으며, 다음으로 동충하초(*P. japonica*; D) 29.86%와 아가리쿠스(*A. blazei*; D) 19.96%로 비교적 낮은 값을 나

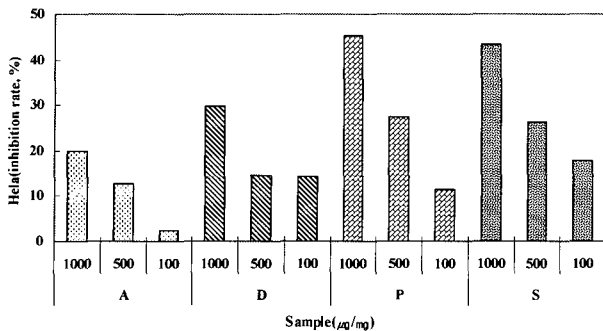


Fig. 7. Growth inhibitory effect of methanol extracts of soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms in sulforhodamine B (SRB) assay using human HeLa cancer cell.

Inhibition rate (%) = $\{1 - (\text{OD}_{540} \text{ of treated cells} / \text{OD}_{540} \text{ of control cells})\} \times 100$. Soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms (A, *Agaricus blazei*; D, *Cordyceps militaris*; S, *Pleurotus eryngii*; P, *Flammulina velutipes*).

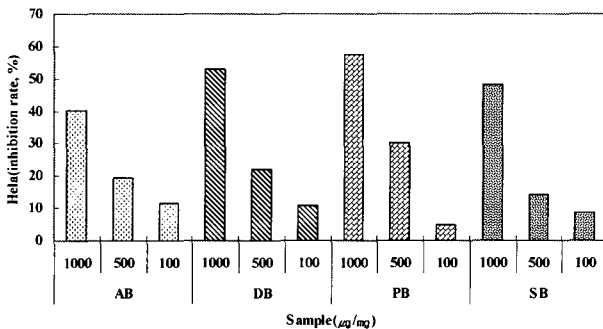


Fig. 8. Growth inhibitory effect of methanol extracts of soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms and *B. megaterium* SMY-212 in sulforhodamine B (SRB) assay using human HeLa cancer cell.

Inhibition rate (%) = $\{1 - (\text{OD}_{540} \text{ of treated cells} / \text{OD}_{540} \text{ of control cells})\} \times 100$. Soybean products fermented by mycelia of edible mushrooms and *B. megaterium* SMY-212 (AB, *Agaricus blazei*; DB, *Cordyceps militaris*; PB, *Flammulina velutipes*; SB, *Pleurotus eryngii*).

타내었다.

식용버섯 균사체 및 *B. megaterium* SMY-212를 이용하여 2단계 배양한 발효대두의 메탄올 추출물 농도별로 인체 자궁암 세포주(HeLa)에 대한 성장억제 효과를 조사한 결과는 Fig. 8과 같다. 2단계 발효대두의 추출물 1,000 μg/mL 농도에서 각 추출물의 암세포증식 억제효과는 57.24~40.11%의 범위로 나타났으며, 그 추출물 농도에 비례적인 증가를 나타내었다. 암세포 증식억제 효과가 가장 높은 시료는 팽이버섯(*F. velutipes*) 균사체와 SMY-212를 2단계로 배양한 발효대두(PB)였으며, 다음으로 단독배양에서 다소 낮은 암세포 증식억제 효과 나타낸 동충하초 균사체 배양물이 SMY-212로 2단 배양하므로 그 효과가 크게 증가되었다. 또한 단독 배양한 아가리쿠스, 동충하초, 팽이와 새송이 버섯균사체의 발효대두보다는 이들 식용버섯 균

사체와 SMY-212를 2단계로 연속 배양한 것의 암세포 증식 억제 효과가 각각 2.01, 1.78, 1.27, 1.11배가 증가되었다.

결론적으로 삶은 대두에 이들 식용버섯 균사체의 단독 발효보다는 이들 균사체 발효와 청국장 발효균인 *B. megaterium* SMY-212에 의한 2 단계 발효가 암세포 증식억제에 효과적인 이유는 이들 발효과정을 통한 비활성형 배당체 isoflavone의 활성형 aglycone으로 전환율의 증진과 콩 단백질의 가수분해에 따른 기능성 펩티드 생성 및 버섯 자실체 생성의 다당체를 포함한 각종 발효생성물 등이 그 원인으로 추정된다(16-19,24,25).

요 약

콩의 배당체 isoflavone류를 생리 활성형 aglycone으로 전환율을 증진시켜 콩 발효식품의 기능성을 증진시키고자, 식용버섯 균사체와 청국장 발효균 *B. megaterium* SMY-212를 이용하여 단독과 2단계 배양한 발효대두의 메탄올 추출물에 대한 항산화능과 인체 전립선암과 자궁암 세포주의 성장억제 효과를 조사하였다. 2단 발효대두 추출물의 수소공여능 효과는 1,000 μg/mL 농도에서 17.8~26.9%로서 단독 발효대두보다 30~40% 높았으며, 그 중에 동충하초와 SMY-212를 배양한 것이 가장 높았다. Linoleic acid에 대한 항산화 효과는 단독 발효대두는 동충하초가 가장 높았으며, 2단계 배양한 발효대두는 팽이균사체와 SMY-212가 오히려 높게 나타났다. 인체 전립선암 세포주(DU145)와 자궁암 세포주(HeLa)에 대한 성장억제 효과는 단독배양에서 모두 팽이버섯 균사체를 이용한 발효대두가 가장 높았으며, 2단계 배양에서 DU145에서는 팽이버섯과 아가리쿠스 균사체 배양물에 SMY-212를 이용한 발효대두가 높았고, HeLa에서는 팽이버섯, 동충하초, 새송이버섯 균사체의 추출물 순으로 높았다. 결론적으로 삶은 콩에 버섯 균사체의 단독배양보다는 버섯균사체와 SMY-212를 2단 배양한 발효대두 추출물이 암세포주 성장억제 효과가 높게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Kalish LA, McDougal WS, McKinlay JB. 1995. Family history and the risk of prostate cancer. *Urology* 56: 803-806.
- Burks D, Littleton R. 1992. The epidemiology of prostate cancer in black men. *Henry Ford Hosp Med J* 40: 89-92.
- Hwang ES, Bowen PE. 2004. Effects of tomatoes and

- lycopene on prostate cancer prevention and treatment. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 455-462.
4. Giovannucci E, Rimm EB, Liu Y, Stampfer MJ, Willett WC. 2002. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 94: 391-398.
 5. Aldercreutz C, Goldin B, Gorbach S, Hockerstedt K, Watanabe S, Hamalainen E, Markkanen M, Makela T, Wahala K. 1995. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *J Nutr* 125: 757S-770S.
 6. Coward L, Barnes N, Setchell K, Barnes S. 1993. Genistein, daidzein and their β -glucoside conjugates: Anti-tumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets.
 7. Song TT, Hendrich S, Murphy PA. 1999. Estrogenic activity of glycitein, a soy isoflavone. *J Agric Food Chem* 47: 1607-1610.
 8. Barns S, Grubbs C, Setchell K, Carlson J. 1990. Soybean inhibit mammary tumors in models of breast cancer. In *Mutagens and carcinogens in the diet*. Pariza M, Aeschbacher H, Felton J, Sato S, eds. Wiley-Liss, New York. p 239-253.
 9. Wang HJ, Murphy PA. 1994. Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa: Effects of variety, crop year, and location. *J Agric Food Chem* 42: 1674-1677.
 10. Matsuura M, Obata A. 1993. β -Glucosidase from soybeans hydrolyze daidzin and genistin. *J Food Sci* 58: 144-147.
 11. Kim JS, Yoon S. 1999. Isoflavone contents and β -glucosidase activities of soybeans, meju and doenjang. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1405-1409.
 12. Shon MY, Seo KI, Lee SW, Choi SH, Sung NJ. 2000. Biological activities of *chungkugjang* prepared with black bean and changes in phytoestrogen content during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 32: 936-941.
 13. Shon MY, Seo KI, Park SK, Cho YS, Sung NJ. 2001. Some biological activities and isoflavone content of chungkugjang prepared with black beans and *Bacillus* strains. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 662-667.
 14. Hutchins AM, Slavin JL, Lampe JW. 1995. Urinary isoflavonoid phytoestrogen and lignan excretion after consumption of fermented and unfermented soy products. *J Am Diet Assoc* 95: 545-551.
 15. Park MH, Oh KY, Lee BW. 1998. Anti-cancer activity of *Letinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*. *Kor J Food Sci Tech* 30: 702-708.
 16. Kim SW. 1998. Studies of anti-microbial and anti-cancer functions of polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1183-1188.
 17. Song CH, Kim JH, Yang BK, Kim KW. 1996. Anti-complementary polysaccharides produced from submerged mycelial culture of *Pleurotus sajocaju*. *Korea J Mycology* 24: 104-110.
 18. Jung IC, Park S, Park KS, Ha CH. 1996. Antioxidative effect of fruit body and mycelia extracts of *Pleurotus ostreatus*. *Korean J Food Sci Technol* 28: 464-469.
 19. Lee BW, Park MH. 1998. Anti-tumor activity of protein-bound polysaccharides extracted from mycelia of *Lentinus edodes*. *Korean J Food Sci Technol* 30: 665-671.
 20. Bois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
 21. AOAC. 1980. *Official Method of Analysis*. 14th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC. p 223.
 22. Skehan P, Storeng R, Monks SA, McMahan J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenny S, Boyd MR. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for cancer-drug screening. *J Natl Cancer Inst* 82: 1107-1112.
 23. Cho HJ. 2002. Enhancement of cancer preventive effect and sensory value of traditional doenjang and kanjang cultured with mushroom mycelia. *PhD Dissertation*. Gyeongsang National University.
 24. Lee KL, Lee CO, Kim HW, Kim SW, Choi EC, Kim BK. 1985. Studies on constituents of the higher of Korea (XXXVIII)-Antitumor componets extracted from cultured mecelia of *Pleurotus pulmonarius*. *Kor J Mycol* 13: 11-21.
 25. Choi JH. 2004. Physiological activity and isoflavone composition of soybean products prepared with some different strains. *MS Thesis*. Suncheon National University.