

최 종  
연구보고서

**버섯의 소비 촉진을 위한  
버섯 가공제품의 개발**

Mushroom products development to promote  
mushroom consumption

연구기관  
영남대학교

농림부

## 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “버섯의 소비 촉진을 위한 버섯 가공제품의 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007년 5 월 일

주관연구기관명 : 영남대학교

총괄연구책임자 : 이 재 성

세부연구책임자 : 이 재 성

연 구 원 : 이 종 숙

연 구 원 : 김 한 섭

연 구 원 : 이 윤 주

위탁연구기관명 : 그린합명회사

위탁연구책임자 : 이 창 윤

# 요 약 문

## I. 제 목

버섯의 소비 촉진을 위한 버섯 가공제품의 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

버섯은 독특한 향기와 맛을 갖고 있으며, 특히, 버섯의 독특한 감칠맛 성분인 구아닐산은 혈액 내 콜레스테롤을 줄여주는 작용이 있어, 고혈압과 심장병 환자에게 좋은 식품인 동시에 항암효과, 병원성 억제효과, 혈청 지질농도 저하 효과, 면역증강 효과 등의 여러 생체 기능 조절작용이 알려져 성인병의 예방 및 개선에 효과가 기대되어 그 이용성이 날로 증대하고 있다. 이와 같이 버섯류는 건강식품으로 인식되어 고부가가치 식품으로써 생산, 재배하는 기술에 대한 연구는 활발히 이루어짐에 따라 버섯의 생산량은 크게 증가하였다. 그러나 국내에서는 출하조절기반이 미약하여 홍수출하에 따른 가격하락의 위험이 상존하고 있으며 특히 버섯은 85-95%의 수분을 함유한 식품으로 생버섯으로는 장기간 저장이 불가능하다는 한계성을 내포하고 있다. 이같은 현실적 문제점을 해결하는 하나의 방법은 버섯을 이용한 가공제품의 개발은 대단히 중요한 과제라 하겠다. 현재 버섯류의 가공제품은 일본의 경우 조미된 편의식품형태의 제품과 차 및 분말조미료 형태의 제품 등이 개발되어 유통되고 있으며 국내의 경우에는 버섯의 가공품 개발과 조리 방법에 관한 연구도 미흡하나마 이루어졌는데 가공품의 경우 연구보다는 직접 제품 개발을 통한 시장 진입이 가시화되고 있는 현상이 특이하다. 가공제품의 종류는 영지, 동충하초, 양송이, 표고 버섯등에 대한 부가가치 향상을 목적으로 유동식(죽), 상용음료, 침출주, 전통장류의 기능성 가미, 차류(액상차, 과립차, 분말차)가 개발되어 이용되고 있다. 또한, 자실체 및 균사체를 이용한 음료, 버섯쌀이 개발되어 시판되고 있으며 즉석식품화, 액상추출물 형태의 건강식품개발, 스넥 제품등이 있다. 그 외 버섯으로 제조한 김치, 장아찌, 국수, 오일등의 제품이 개발되어 생산되고 있으나 활성화된 제품은 극히 제한되어 있다.

한국의 버섯 생산 산업을 감안하면 시장성이 기대되는 버섯 가공품의 개발이 절실히 필요하며 이런 버섯 가공 제품의 개발로 자연스럽게 버섯에 함유된 기능적인 효과들을 흡수하여 국민들의 건강에도 기여할 것으로 판단된다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### < 제 1 차년도 >

##### 1. 버섯 가공 제품 개발

###### 1) 자실체의 이용

- 5종류 버섯을 대상으로(새송이, 표고, 양송이, 느타리, 팽이버섯)
- 전처리 기술을 통한 향미 증진
- 추출물 제조 기술
- 버섯 추출물의 최적 농도 조사
- 조미재료와의 배합조건에 따른 조사

###### 2) 영지 균사체의 이용

- 버섯 균사체별 조미료 가능성 검토
- 버섯 균사체의 전처리 조건 조사
- 버섯 균사체 추출물의 최적 농도 조사
- 조미재료와의 배합조건에 따른 조사

##### 2. 균사체의 생산성 연구

- 영지버섯을 이용한 산업용 배지에 따른 균체 생산성 조사
- 영지버섯을 이용한 대규모 배양 조건에 따른 생산성 조사

#### < 제 2 차년도 >

##### 1. 버섯 가공 제품 개발

- 각 버섯별 최종 조미료, 간장 recipe 확립  
(추출조건, 추출농도, 배합조건)
- 최종 recipe에 의한 천연 조미료의 관능검사
  - 전문가 집단 (호텔, 요식업에 종사하는 요리사 또는 종업원)

- 일반인 집단 (대학(원)생, 주부)
  - 버섯 발효 제품의 가능성 검토(첨가재료 및 발효조건탐색)
  - 버섯 발효 제품의 각 버섯별 최종 recipe 확립 (첨가재료, 발효기간, 저장기간)
  - 제품별 맛, 향기 성분 분석 (HPLC, GC에 의한 분석)
- 2. 균사체의 생산성 연구
  - 싹버섯을 이용한 산업용 배지에 따른 생산성 조사
  - 싹버섯을 이용한 대규모 배양 조건에 따른 생산성 조사

### <제 3 차년도>

#### 1. 버섯 가공 제품 개발

##### - 천연조미료

- 상업적 생산 기술 및 저장 유통 기술 확립
- 관능검사에 의한 최종 제품 선정
- 제품 형태별 조사

##### - 버섯 발효 제품

- 버섯별 최종 recipe 재검토 (첨가재료, 발효기간, 저장기간)
- 관능검사에 의한 최종 제품 선정

##### - 최종 제품의 저장방법 확립 (포장방법 및 저장처리)

##### - 싹버섯을 이용한 제품 : 싹버섯 음료, 싹버섯 스펀지 케이크

#### 2. 균사체의 생산성 연구

- 싹버섯을 이용한 산업용 배지에 따른 생산성 조사
- 싹버섯을 이용한 대규모 배양 조건에 따른 생산성 조사

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 1. 버섯 가공제품 개발

버섯을 이용하여 가공제품을 개발하기에 앞서 선행된 연구 결과를 토대로 하여 조미료, 발효 및 가공제품을 위주로 하여 연구, 개발하고자 하였다.

### (1) 버섯 조미료

버섯을 이용하여 버섯조미료(버섯소금과 버섯간장)를 개발하기 위하여 버섯의 종류별, 전처리 조건별, 타 조미재료와의 배합조건, 혼합비율을 달리하여 행한 결과, 버섯소금에는 느타리버섯이, 버섯간장에는 표고버섯이 가장 적합하였다. 버섯소금은 버섯과 소금의 혼합비가 1:4이었고 24시간 혼합후 40℃에서 48시간 건조하여 믹서로 곱게 갈아서 병이나 팩에 담아 제품으로 하였다. 버섯간장은 버섯과 간장의 혼합비가 1:10이었고 24시간 정치시킨 후 여과하여 여과액을 병에 담아 제품으로 하였다. 제품의 저장기간별 특성은 모든 분석방법에서 큰 변화를 나타내지 않았으므로 천연 버섯 조미료의 저장성은 양호한 것으로 판단되었다.

### (2) 버섯 발효제품

버섯을 이용하여 발효식품중 식해를 개발하였다. 식해 재료로서는 팽이버섯이 가장 적합하였고 최종배합비는 팽이버섯 500g, 무우 500g, 밥 500g, 마늘 50g, 생강 25g, 고운 고춧가루 50g, 엿기름 50g, 소금 10g이었다. 버섯식해의 최적 저장기간은 4℃, 15일이었다.

### (3) 잎새버섯 제품

잎새버섯을 식품 소재로 이용하기 위하여 음료와 제과에 응용한 결과는 아래와 같다. 잎새버섯 음료의 최적 배합비는 잎새버섯 물 추출물 0.5%, oligosaccharide 8.0%, green tea extract 2%, jujube extract 2%, solomon's seal extract 1.0%, vitamin C 0.01%, apple extract 2% 이었으며, 당도는 9.8 Brix, 색도는 L; 35.05±1.08, a;3.24±0.19, b;13.64±0.33으로 나타났다.

잎새버섯 가루의 첨가량을 달리하여 스펀지 케이크를 제조한 결과, 첨가량이 증가할수록 반죽의 비중, 점도과 케이크의 무게는 증가하였다. 스펀지 케이크의 부피 및 비용적, 높이는 버섯 가루의 첨가량이 증가함에 따라 감소하였으며, crust와 crumb의 색도는 버섯 가루의 첨가량이 증가함에 따라 점차적으로 감소하였다. 경도, 점성, 부서짐성은 버섯 가루 첨가량이 증가함에 따라 상승한 반면에 응집성과 탄력성은 감소하였다. 관능검사결과, 버섯 가루 첨가량이 증

가할수록 외관, 색에서의 선호도는 낮았으나 향, 맛과 종합적인 기호도에서 5%를 첨가한 케이크가 높은 기호도를 나타내었다.

## 2. 균사체의 생산성 연구

예로부터 다양한 생리활성으로 인하여 약재료로 인식되어온 상황버섯 (*Phellinus linteus*), 신령버섯(*Agaricus blazei*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 균사체의 산업적 생산에 필요한 산업용 배지 배합 조건을 확립하고 생산된 균사체의 생리 활성 검증을 실시하였다.

영지버섯(*Ganoderma lucidum*)의 경우 최적온도는 28℃, 탄소원으로는 wheat bran, 질소원으로는 yeast extract가 가장 좋은 것으로 나타났다. 탄소원, 질소원의 교호작용에 따른 균사 성장속도와 밀도를 조사해 본 결과 wheat bran 3%, yeast extract 0.6%인 경우에 균사생장이 가장 좋았다. 무기염류 첨가유무에 있어서는 무기염류를 첨가하였을 때 우수한 성장을 보였고, 최적pH는 pH 5.5~6.0에서 가장 높은 성장을 보였다. 산업용 배지를 이용한 균사체 대량 생산조건 실험에서는 접종원의 농도는 3%가 가장 양호하였고, 배양과정 확립 실험에서는 plate배양→진탕배양→균질화→본배양으로 이어지는 방식으로 배양했을 때 균사체 생산량이 가장 높았다. 천연배지에서 화학배지보다 생산성이 높았으며, 200L 폭기배양기를 이용한 실험에서는 7일간 배양하여 건조균사체량 1168g/150L을 수확할 수 있었다.

상황버섯(*Phellinus linteus*)의 경우 최적온도는 28℃, 탄소원으로는 wheat bran, 질소원으로는 bacto soytone이 가장 좋은 것으로 나타났으며, 탄소원, 질소원의 교호작용에 따른 균사 성장속도와 밀도를 조사해 본 결과 wheat bran 2%, bacto soytone 0.5%인 경우에 균사생장이 가장 좋았다. 무기염류 첨가유무에 있어서는 무기염류를 첨가하였을 때 우수한 성장을 보였고, pH 7.0~8.0에서 가장 높은 성장을 보였다. 균사체 대량 생산조건 실험에서는 접종원의 농도를 조사한 결과 5%가 가장 양호하였고, 배양과정 확립 실험에서는 plate배양→진탕배양→균질화→본배양으로 이어지는 방식으로 배양했을 때 균사체 생산량이 가장 높았다. 천연배지에서 화학배지보다 생산성이 높았으며, 200L 폭기배양기를 이용한 실험에서는 10일간 배양하여 건조균사체량이 1523g/150L을

수확할 수 있었다.

신령버섯(*Agaricus blazei*)의 경우 최적온도는 30℃, 탄소원으로는 wheat bran, 질소원으로는 tryptone이 가장 좋은 것으로 나타났다.

탄소원, 질소원의 교호작용에 따른 균사 성장속도와 밀도를 조사해 본 결과 wheat bran 3%, tryptone 0.6%인 경우에 균사생장이 가장 좋았다. 최적pH는 pH 7.0에서 가장 높은 성장을 보였다. 균사체 대량 생산조건 실험에서는 접종 원의 농도는 결과 5%가 가장 양호하였고, 배양과정 확립 실험에서는 plate배양→진탕배양→균질화→진탕배양→본배양으로 이어지는 방식으로 배양했을 때 균사체 생산량이 가장 높았다. 천연배지에서 화학배지보다 생산성이 높았으며, 200L 폭기배양기를 이용한 실험에서는 12일간 배양하여 건조균사체량이 1017g/150L을 수확하였다.

균사체의 생리활성 검정은 메탄올 추출물을 이용하여 실시하였는데 암세포에 대한 세포독성을 조사한 결과 영지버섯 추출물이 위암(SNU-638)세포에 대한 세포저해율이 100ppm에서 47.3%로 3균주 중 가장 높았다. 전자공여능은 영지버섯의 경우 1000ppm농도에서 양성대조구인 BHT의 94.2%보다 약간 낮은 88.6%, 상황버섯과 신령버섯은 각각 70.2%, 78.5%로 나타났다. SOD활성능은 상황버섯의 경우는 1000ppm에서 38.5%로 나타났고, 다른 균주에 있어서는 대체적으로 낮은 활성을 나타내었다. 아질산염 소거능은 1000ppm 농도에서 영지버섯, 상황버섯, 신령버섯은 각각 41.5%, 29.1%, 14.3%로 나타났다. 혈압 상승에 관여하는 angiotensin converting enzyme 저해효과는 1000ppm의 농도로 시료를 처리했을 때 영지버섯, 상황버섯, 신령버섯은 각각 51.6%, 33.2%, 64.5%로 나타났다. Tyrosinase 저해활성은 신령버섯의 경우에는 1000ppm 농도에서 39.4%로 가장 높게 나타났으며, xanthine oxidase 저해활성은 시료농도 500ppm에서 영지버섯은 34.2%, 상황버섯은 27.2%, 신령버섯은 42.3%의 저해율을 보였다.



# SUMMARY

## I. Title

Mushroom products development to promote mushroom consumption

## II. Major Results and Conclusion

### 1. Mushroom products development

#### 1) Mushroom seasoning

Mushroom salt and mushroom soy sauce were prepared with various mushrooms. Oyster mushroom(*Pleurotus ostreaus*) appeared to be most suitable for mushroom salt while oak mushroom(*Lentinus edodes*) was best for mushroom soy sauce preparation. The optimal ratio of mushroom vs salt for mushroom salt was 1:4. The appropriate ration for mushroom soy sauce, however, was one part of mushroom for 10 parts of soy sauce. The shelf-life of the natural seasonings, salt and soy sauce, were proved to be long enough for commercial purpose.

#### 2) Mushroom fermented food

Fermented food Sikhae was prepared by use of mushrooms. Winter mushroom(*Flammulina velutipes*) appeared to be the best for mushroom Sikhae. The optimum combination of the materials was found to be 500g each of mushroom, radish and cooked rice. As the subsidiary ingredients garlic(50g), ginger(25g), chili powder(50g), malt(50g), and salt(10g) were incorporated.

#### 3) *Grifola frondosa* product(beverages, sponge cake)

At the food application trials like beverages and sponge cake using *G.frondosa* powder, the following results were obtained.

Most suitable recipe for *G.frondosa* beverages was 0.5% *G.frondosa* water extract, 8.0% oligosaccharide, 2.0% green tea extract, 2.0% jujube extract, 1.0% solomon's seal extract, 0.01% vitamin C and 2.0% apple

extract. The final product had 9.8 Brix and color value of L;35.1±1.1, a;3.2±0.2, b;13.6±0.3.

The quality of sponge cakes with addition of *G.frondosa* powder were characterized. The specific gravity, viscosity and weight of dough tended to increase as the ratio of mushroom powder increased. The volume, specific volume, baking loss rate and height tended to decrease according to the addition of mushroom powder. The color of cake crust and crumb became darker as the amount of mushroom powder increased. With the addition of mushroom powder, hardness, gumminess and brittleness also increased. However, the overall acceptability of sponge cake was the best when the cake contained 5% mushroom powder.

## 2. Productivity of mycelium

This study is to establish the optimal production conditions of the three basidiomycetal mycelia, *Ganoderma lucidum*, *Phellinus linteus* and *Agaricus blazei*, using commercial media. The investigation on the physiological activity of solvent fractions from these liquid culture media was also achieved in the study.

The optimal temperature of *Ganoderma lucidum* was 28°C. The optimal carbon source and nitrogen source are Wheat bran and Yeast extract respectively. The optimal pH for the mycelial growth of *Ganoderma lucidum* were pH 5.5~6.0 and the media containing mineral supported the growth better than the same media without mineral.

For the mass culture of *Ganoderma lucidum* using natural substrates the optimal culture procedure appeared to be : plate culture → shaking culture → homogenization of mycelia for inoculum → main culture. The commercial production trial by use of 200L mushroom spawn fermenter resulted in 1168g/150L of dried mycelium in 7days.

The optimal temperature of *Phellinus linteus* was 28°C. The optimal

carbon source and nitrogen source are Wheat bran and Bacto soytone respectively. The optimal pH for the mycelial growth of *Phellinus linteus* were pH 7.0~8.0 and the media containing mineral supported the growth better than the same media without mineral.

The optimal culture procedure for mass production of *Phellinus linteus* mycelia was same to that of *Ganoderma lucidum*. The commercial production trial by use of 200L mushroom spawn fermenter resulted in 1523g/150L of dried mycelium in 10days.

The optimal temperature of *Agaricus blazei* was 30°C. The optimal carbon source and nitrogen source are Wheat bran and Tryptone respectively. The optimal conditions of pH for the mycelial growth of *Agaricus blazei* was pH 7.0~8.0.

The optimal culture procedure for the mass production of *Agaricus blazei* mycelia using natural media appeared to be : pre-culturing method was plate culture → shaking culture → homogenization of mycelia → shaking culture → main culture. Introducing shaking culture of the homogenized mycelia prior to inoculating the main culture tank improved the growth rate. The commercial production test by use of 200L mushroom spawn fermenter resulted in 1017g/150L of dried mycelium in 12days.

When mycelial productivities of chemical media and commercial media were compared higher productivity was achieved with commercial media.

Cytotoxicities of methanol extracts from *Ganoderma lucidum*, *Phellinus linteus*, *Agaricus blazei* mycelia against tumor cells(SNU-638) were investigated. Inhibition rate of methanol extract of *Ganoderma lucidum* against SNU-638 cell was 47.3% at 100ppm. *Ganoderma lucidum* mycelia had the highest inhibition rate among three basidiomycetal mycelial studied here.

In the inhibition effect on DPPH, *Ganoderma lucidum* showed 88.6% of inhibition at 1000ppm, comparable to BHT(94.2%). *Phellinus linteus* and

*Agaricus blazei* showed relatively low antioxidative activity of 70.2% and 78.5% respectively. *Phellinus linteus* showed 38.5% at 1000ppm in superoxide dismutase activity while the other basidiomycetal mycelia had little effect. Nitrogen scavenging activities of *Ganoderma lucidum*, *Phellinus linteus* and *Agaricus blazei* were 41.5%, 29.1%, 14.3% at 1000ppm respectively.

Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition activity of *Ganoderma lucidum*, *Phellinus linteus* and *Agaricus blazei* were 51.6%, 33.2%, 64.5% at 1000ppm. In the inhibition effect on tyrosinase, *Agaricus blazei* was found to have 39.4% tyrosinase inhibition effect at 1000ppm. Xanthine oxidase inhibition activity of *Ganoderma lucidum*, *Phellinus linteus* and *Agaricus blazei* were 34.2%, 27.2%, 42.3% at 500ppm respectively.

# CONTENTS

Chapter 1. Introduction .....	22
Chapter 2. Current Status on Domestic and Foreign Technology .....	26
Chapter 3. Experience and Results .....	28
<b>I . Materials and Methods .....</b>	<b>28</b>
1. Survey on consumer recognition for natural seasonings .....	28
2. Analysis of mushroom .....	28
가. Materials .....	28
나. Proximate composition .....	28
다. Color value, pH, browning value, sugar contents .....	28
라. Free sugars .....	29
마. Non-volatile organic acids .....	29
바. Free amino acids .....	29
사. Total amino acids .....	29
아. Nucleotides .....	30
자. Volatile flavor compounds .....	30
3. Production of mushroom salts .....	31
가. Pre-treatment of mushrooms .....	31
나. Mixing with other ingredients .....	31
4. Production of mushroom soy sauce .....	31
5. Production of mushroom Sikhae .....	32
6. Production of <i>Grifola frondosa</i> .....	32
가. <i>Grifola frondosa</i> beverages .....	32
1) Materials .....	32
2) Color value and sugar content .....	33

3) Sensory evaluation .....	33
나. <i>Grifola frondosa</i> sponge cakes .....	33
1) Production of sponge cakes .....	33
가) Materials .....	33
나) Formula for sponge cakes .....	33
2) Specific gravity of cake batter .....	34
3) Viscosity of cake batter .....	35
4) Weight, volume, specific volume and height .....	35
5) Color value .....	36
6) Texture .....	36
7) Sensory evaluation .....	36
7. Production of natural seasonings use of mycelium .....	36
가. Pre-treatment of mycelium .....	36
나. Optimal conditions of extraction .....	37
다. Mixing conditions with others ingredients .....	37
8. Storage experiments .....	37
가. pH .....	37
나. Color value .....	37
다. Salt content .....	37
라. Total viable cells .....	37
마. Sensory evaluation .....	38
9. Analysis of data .....	38
<b>II . Results .....</b>	<b>39</b>
1. Questionnaire survey .....	39
가. Recognition for natural seasoning .....	39
나. Popular use of natural seasoning .....	40
다. Preference and preferred characteristics of natural seasoning .....	40
라. Prospect for natural seasoning .....	41
마. Questionarie survey by american consumer .....	42
2. Analysis .....	44

가. Proximate composition .....	44
나. Color value, pH, browning value, sugar contents .....	44
다. Analysis of particular compounds .....	45
1) Free sugars .....	45
2) Nonvolatile organic acids .....	46
3) Nucleotides .....	48
4) Free amino acids and total amino acids .....	48
5) Volatile flavor compounds .....	50
3. Production of natural seasoning .....	53
가. Sensory evaluation according to pre-treatment .....	53
나. Mixing with other ingredients .....	54
1) Acceptability of <i>Lentinus edoeds</i> and <i>Pleurotus ostreatus</i> broth .....	54
2) Acceptability of <i>Lentinus edoeds</i> and <i>Pleurotus ostreatus</i> broth added with sea tangle .....	55
3) Acceptability of seasonings incorporated into foods .....	56
다. Production of mushroom salt with different mixing ratio .....	57
라. Protocols of mushroom salt preparation .....	59
1) Materials .....	59
2) Protocol .....	59
3) Sensory evaluation of final product .....	61
가) General consumers .....	61
나) Professional chefs .....	61
다) American consumers .....	63
4) Storage experiments with mushroom salt .....	63
가) Color value .....	63
나) Microbiological examination .....	64
다) Sensory evaluation .....	65
4. Production of mushroom soy sauce .....	66
가. Sensory evaluation of products .....	66
나. Sensory evaluation of mushroom and soy sauce ratio .....	66
다. Protocol of mushroom soy sauce preparation .....	67
1) Materials .....	67

2) Protocol .....	67
3) Sensory evaluation .....	69
가) General consumers .....	69
나) Professional chefs .....	71
다) American consumers .....	72
4) Analysis of storage days of mushroom soy sauce .....	73
가) Color value .....	73
나) Microbiological examination .....	74
다) Sensory evaluation .....	75
5. Production of mushroom Sikhae .....	76
가. Mushroom species .....	76
1) Pre-treatment of mushrooms .....	76
2) Pre-treatment of others materials .....	76
3) Production of mushroom Sikhae .....	76
4) Quality of mushroom Sikhae .....	78
가) pH and acidity .....	78
나) Total viable cells and lactic acid bacteria .....	79
다) Sensory evaluation .....	80
나. Protocol of mushroom Sikhae preparation .....	84
1) Protocol .....	84
2) Storage experiments .....	85
가) pH .....	85
나) Total viable cells .....	86
다) Lactic acid bacteria .....	86
라) Sensory evaluation .....	87
6. Processing of <i>Grifola frondosa</i> .....	87
가. <i>Grifola frondosa</i> beverages .....	87
1) Sensory evaluation of mushroom beverages .....	87
2) Sensory evaluation of mushroom beverages added with of oligosaccharides .....	88
3) Sensory evaluation of mushroom beverages added with other ingredients	90
4) Sensory evaluation of mushroom beverages added with different	



levels of ascorbic acid and fruit puree(Pear, Apple) .....	92
5) Test of final product .....	94
가) Sensory evaluation of final beverage products .....	94
나) Formula and protocol .....	95
나. <i>Grifola frondosa</i> sponge cakes .....	96
1) Specific gravity of cake batter .....	96
2) Viscosity of cake batter .....	97
3) Weight, volume and specific volume .....	98
4) Height and appearance .....	98
5) Color value .....	101
6) Texture .....	101
7) Sensory evaluation .....	102
7. Production of natural seasonings using of mycelium .....	104
가. Pre-treatment of mycelium .....	104
나. Mixing with others ingredients .....	104
<b>제 4 장 Achievements of objects and contribution .....</b>	<b>105</b>
<b>제 5 장 Future plan .....</b>	<b>106</b>
<b>제 6 장 References .....</b>	<b>107</b>

# 목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	22
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	26
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	28
제 1 절 연구수행내용 .....	28
1. 천연조미료에 대한 인식도 조사 .....	28
2. 버섯의 분석 .....	28
가. 사용버섯 .....	28
나. 일반분석 .....	28
다. 색도, pH, 갈변도, 당도 .....	28
라. 유리당 .....	29
마. 비휘발성 유기산 .....	29
바. 유리 아미노산 .....	29
사. 전아미노산 .....	29
아. 핵산 .....	30
자. 향기성분 .....	30
3. 버섯소금의 제조 .....	31
가. 버섯을 이용한 전처리 .....	31
나. 타 조미재료와의 배합조건에 따른 조사 .....	31
4. 버섯간장의 제조 .....	31
5. 버섯식혜의 제조 .....	32
6. 잎새버섯을 이용한 가공제품 제조 .....	32
가. 잎새버섯 음료 .....	32
1) 재료 .....	32
2) 색도 및 당도검사 .....	33
3) 관능검사 .....	33
나. 잎새버섯 스펀지 케이크 .....	33

1) 스폰지 케이크의 제조 .....	33
가) 재료 .....	33
나) 재료 배합비 .....	33
2) 반죽의 비중 .....	34
3) 반죽의 점도 .....	35
4) 무게, 부피, 비용적 및 높이 .....	35
5) 색도 .....	36
6) 조직감 .....	36
7) 관능검사 .....	36
7. 균사체의 이용 .....	36
가. 균사체의 전처리 .....	36
나. 추출 최적 농도 조사 .....	37
다. 타 조미재료와의 배합조건에 따른 조사 .....	37
8. 저장기간별 분석 .....	37
가. pH .....	37
나. 색도 .....	37
다. 염도 .....	37
라. 총균수 검사 .....	37
마. 관능검사 .....	38
9. 관능검사 및 통계처리 .....	38
<b>제 2 절 연구수행결과 .....</b>	<b>39</b>
1. 설문지 조사 .....	39
가. 천연조미료에 대한 인식 .....	39
나. 천연조미료의 사용용도 .....	40
다. 천연조미료 재료의 선호도와 선호특성 .....	40
라. 천연조미료의 수요전망 .....	41
마. 미국인을 대상으로 한 인식도 조사 .....	42
2. 버섯의 분석 .....	44
가. 일반성분 .....	44
나. pH, 당도, 갈변도, 색도 .....	44

다. 특수 성분 분석 .....	45
1) 유리당 .....	45
2) 비휘발성 유기산 함량 .....	46
3) 핵산 함량 .....	48
4) 유리아미노산 함량 .....	48
5) 향기성분 .....	50
3. 천연조미료 제조 .....	53
가. 전처리에 따른 관능검사 .....	53
나. 타 조미재료와의 배합조건에 따른 조사 .....	54
1) 표고 및 느타리 분말의 관능검사 .....	54
2) 다시마를 첨가하였을 경우 버섯분말(표고, 느타리)의 기호도 .....	55
3) 조리식품에 첨가한 버섯조미료의 기호도 .....	56
다. 혼합비율을 달리한 버섯 소금의 제조 .....	57
라. 버섯소금의 제조공정 .....	59
1) 시료 .....	59
2) 제조공정 .....	59
3) 최종 제품의 관능검사 .....	61
가) 일반소비자 집단 .....	61
나) 전문가 집단 .....	61
다) 외국인 대상 .....	63
4) 버섯소금의 저장기간별 분석 .....	63
가) 색도 .....	63
나) 미생물 검사 .....	64
다) 관능검사 .....	65
4. 버섯 간장의 제조 .....	66
가. 버섯의 종류에 따른 관능검사 .....	66
나. 버섯과 간장 비율에 따른 관능검사 .....	66
다. 버섯간장 제조공정 .....	67
1) 시료 .....	67
2) 제조공정 .....	67
3) 관능검사 .....	69
가) 일반소비자 집단 .....	69

나) 전문가 집단 .....	71
다) 미국인 대상 .....	72
4) 버섯간장의 저장기간별 분석 .....	73
가) 색도 .....	73
나) 미생물검사 .....	74
다) 관능검사 .....	75
5. 버섯식해의 제조 .....	76
가. 버섯 종류별 버섯 식해 제조 .....	76
1) 버섯의 전처리 .....	76
2) 부재료의 전처리 .....	76
3) 버섯식해의 제조 .....	76
4) 버섯식해의 특성 조사 .....	78
가) pH 및 산도 .....	78
나) 총균수와 젖산균수 .....	79
다) 관능검사 .....	80
나. 버섯식해의 제조공정 .....	84
1) 제조공정도 .....	84
2) 버섯식해의 저장기간별 특성 .....	85
가) pH .....	85
나) 총균수 .....	86
다) 젖산균수 .....	86
라) 관능검사 .....	87
6. 잎새버섯을 이용한 가공 제품 .....	87
가. 잎새버섯 음료 .....	87
1) 버섯첨가량을 달리한 음료의 관능검사 .....	87
2) 당 함량을 달리한 음료의 관능검사 .....	88
3) 각종 부재료 첨가에 따른 음료의 관능검사 .....	90
4) 비타민 C와 과일 농축액의 첨가에 따른 관능검사 .....	92
5) 최종 제품 검사 .....	94
가) 최종 음료의 관능검사 .....	94
나) 배합비와 제조공정 .....	95
나. 잎새버섯 스펀지 케이크 .....	96

1) 반죽의 비중 .....	96
2) 반죽의 점도 .....	97
3) 부피, 무게 및 비용적 .....	98
4) 높이와 외관 .....	98
5) 색도 .....	101
6) 조직감 .....	101
7) 관능검사 .....	102
7. 균사체를 이용한 버섯조미료 제조 .....	104
가. 균사체의 전처리 .....	104
나. 타 조미재료와의 배합조건에 따른 조사 .....	104
<b>제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....</b>	<b>105</b>
<b>제 5 장 연구개발결과의 활용계획 .....</b>	<b>106</b>
<b>제 6 장 참고문헌 .....</b>	<b>107</b>

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

버섯의 생산과 소비량은 최근 수년간 급속히 성장해 왔으며 앞으로도 상당한 성장 잠재력을 보유하고 있는 유망 농산물이라고 할 수 있다. 또한, 이러한 현상은 버섯의 건강 관련 효과에 관한 연구 결과가 속속 알려지면서 한국뿐만 아니라 거의 세계적인 경향이 되고 있다. 버섯은 균류(곰팡이)중 포자가 형성되는 자실체가 손으로 채집을 할 수 정도의 크기를 가진 것으로 대부분이 담자균류이고 일부는 자낭균류에 속하고 있다. 담자균류로는 느타리, 표고, 양송이 등이 있고, 자낭균류에는 곰보버섯, 동충하초 등이 있다. 이들 버섯의 형태나 색깔은 매우 다양하며, 일반적으로 균사와 자실체(버섯) 부분으로 구분하고 자실체는 크게 갓과 대부분으로 나누어진다. 이러한 버섯은 자연 생태계 내에서 식물체의 섬유질이나 리그닌 등을 분해하여 생활하기 때문에 물질의 순환에 대단히 중요하고 청소부와 같은 역할을 담당하고 있다. 버섯의 식품적 기능은 크게 제 1, 2, 3차 기능으로 분류하고 있으며 제 1차 기능은 단백질, 당, 지질, 무기물, 비타민 등의 영양원 공급원, 제 2 차는 색, 향기, 맛, 씹는 느낌 등의 식욕 및 기호로서의 기능성이며, 제 3차 기능은 면역증강이나 항암, 생체항상성, 성인병예방 등의 섭취후 나타나는 생리 활성 등을 얘기할 수 있다. 식용 버섯의 일반성분은 채소와 비슷하고 에너지가 적어 비만 등을 초래하지 않는 다이어트용 식품이라고도 할 수 있다. 버섯은 일반채소보다 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, 나이아신 등은 많으나 칼슘이나 비타민A 등은 오히려 적다. 버섯은 무공해 식품으로 독특한 향기와 맛을 갖고 있으며, 특히, 버섯의 독특한 감칠맛 성분인 구아닐산은 혈액 내 콜레스테롤을 줄여주는 작용이 있어, 고혈압과 심장병 환자에게 좋은 식품이고, 항암효과, 병원성 억제효과, 혈청 지질농도 저하 효과, 면역증강 효과 등의 여러 생체 기능 조절작용이 알려져 성인병의 예방 및 개선에 효과가 기대되는 좋은 소재로 인식되어 그 이용성이 날로 증대하고 있다.

자실체나 균사체내에는 여러 가지 기능성물질이 많이 함유되어 있는 버섯이 많으며(중국은 약 260종), 이중 일부는 의약품이나 건강식품으로 개발되어 이용하고 있으며 앞으로 연구가 진행되면 훨씬 더 많이 이용될 것으로 본다.

대표적인 의약품으로는 메시마 이엑스(상황버섯), LEM(표고), 레폴스(구름버섯), 시판되는 건강음료로는 영지, 구름버섯, 신령버섯, 동충하초, 노루궁뎅이버섯 등을 들 수 있다.

이와 같이 버섯류는 건강식품으로 인식되어 감에 따라 그 수요가 계속 증가할 것으로 예측되나 국내에서는 출하조절기반이 미약하여 홍수출하에 따른 가격하락 및 품질저하가 문제되고 있으며 버섯류의 가공제품은 일본의 경우 조미된 편의식품형태의 제품과 차 및 분말조미료 형태의 제품 등이 개발되어 유통되고 있으며 국내의 경우에는 가공식품의 부원료로서 건제품과 극히 소량의 송이 통조림 및 병조림 등의 단순가공, 영지, 동충하초, 양송이, 표고버섯등에 대한 부가가치 향상을 목적으로 유동식(죽), 상용음료, 침출주, 전통장류의 기능성 가미, 차류(액상차, 과립차, 분말차)가 개발되어 이용되고 있다. 또한, 자실체 및 균사체를 이용한 음료, 버섯쌀이 개발되어 시판되고 있으며 즉석식품화, 액상추출물 형태의 건강식품개발, 감압스넥 제품등이 있다. 그 외 버섯으로 제조한 김치, 장아찌, 식혜, 국수, 오일, 조미료 등의 제품이 개발되어 생산되고 있으나 활성화된 제품은 극히 제한되어 있다. 따라서, 소비가 한정된 가공 제품이 아닌 항상 쉽게 접할수 있는 새로운 가공제품의 개발이 무엇보다도 시급하다고 할 수 있다.

느타리버섯은 송이과에 속하는 식용버섯으로 세계 각국에서 인공 재배법이 연구되어 대량 재배되고 있다. 느타리버섯은 그 향기와 맛이 우리나라 사람의 기호에 적합한 버섯으로 단백질, 비타민, 무기질 등이 보통의 채소보다 풍부하여 예전부터 귀중한 식품으로 널리 이용되어 왔으며, 새송이버섯은 느타리버섯과에 속하는 담자균버섯으로서 일반명은 King Oyster Mushroom 또는 Boletus of the steppes 로서 우리말로는 왕굴버섯 또는 초원버섯으로 해석되고, 우리나라에서는 큰느타리버섯 또는 왕느타리버섯으로 알려져 왔으며, 자실체의 균사조직이 치밀하여 육질감이 뛰어나 맛이 탁월하고 생산성이 높아 개발의 가치가 매우 높은 식용 버섯이다.

표고버섯은 효능에 대해서는 달리 말이 필요 없을 정도로 잘 알려져 있다. 고대 그리스에서는 신의 식품이라고 했고 중국에서는 불로장수 식품이라 했을 만큼 그 영양학적 가치에 대해 의심할 여지가 없는 것이 바로 표고버섯이다.



표고버섯은 식욕을 돋우며 구토와 설사를 멎게 하는 작용, 암예방, 성인병을 예방하고 암세포 증식을 억제할 뿐만 아니라 식이섬유를 많이 포함하고 있다. 또한, 단백질과 지방질, 당질이 풍부하며 비타민 B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>도 일반 야채의 두 배나 되고 나이아신을 다량으로 함유하고 있다. 칼슘, 칼륨, 인, 셀레늄 등의 미네랄이 많이 들어있고 혈액에서 산소운반을 하는 헤모글로빈을 생성하는 철분도 표고버섯에는 많이 들어있다. 표고버섯의 비타민 D는 뼈를 튼튼하게 해주고 비타민 B<sub>2</sub>는 조혈작용에 필수적이다. 혈액의 대사를 돕는 엘리티데닌 등의 성분도 풍부하다. 독특한 감칠맛을 내는 구아닐산이 다른 어느 버섯보다 많이 들어있는 것도 표고버섯의 특징이다.

팽이버섯은 각종 아미노산과 비타민이 많이 함유되어 있어 혈압을 조절하고 면역력을 높이며 암과 성인병 예방에 효과가 탁월한 것으로 알려져 있다. 특히, 팽이버섯을 자주 먹는 사람의 경우 식도암, 위암, 췌장암 발병율이 그렇지 않은 사람에 비해 반 이하로 낮은 것으로 밝혀졌다. 항종양 및 항 바이러스, 콜레스테롤 저하작용, 피부미용, 항암작용, 노화방지, 동맥경화에 효과가 있다고 보고되었다.

잎새버섯은 식용 담자균류의 일종으로 향과 맛이 좋아서 일본에서는 송이버섯과 더불어 고급버섯으로 취급되고 있으며 한방에서는 항암작용, 혈압강하, 당뇨병, 비만치료(다이어트), 혈중 콜레스테롤 감소, 항균작용, 이뇨작용, 강장작용, 항빈혈작용 등에 효능이 탁월하다고 하여 한약재로도 이용되고 있다. 잎새버섯에 대한 최근 연구를 조사해보면, 잎새버섯 자실체와 균사체로부터 추출한 다당류가 항암활성이 뛰어난 것으로 보고하였으며 또한, 잎새버섯은 lectin 효과, 암예방, 체중감소, 하체와 혈관질환과 같은 노인성 질병등에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그리고 Adachi등은 잎새버섯 분말을 경구 투여한 rat의 혈압강하 효과를 확인하였으며, Horio등은 인위적으로 당뇨병을 유발한 당뇨 쥐에 잎새버섯 추출물을 투여한 결과, 혈당, 수분 소비, 요산 함량과 당뇨가 유의적으로 감소한다고 보고하였다. 잎새버섯이 고지방 식이로 인해 증가된 간지질과 혈청 지질을 감소시킨다는 보고와 잎새버섯 추출물을 CIA(collagen-induced arthritis)에서의 효과를 확인한 연구도 있다.

그러나, 위와 같이 버섯의 기능성이 밝혀짐에도 불구하고 버섯의 이용은 생

산량에 미치지 못하고 있다. 버섯을 섭취하는 대상이 주로 30대 이후의 중장년층으로 한정되어 있다는 것 또한, 버섯의 수요에 있어서의 단점이라고 할 수 있으므로 섭취 대상이 20대, 10대까지도 누구나 손쉽게 접할수 있는 형태의 버섯 제품이 개발되어야 한다고 본다.

따라서 최근 국민들의 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 건강 지향적인 식품 개발로써 버섯 가공제품을 개발하고자 하였으며, 또한, 과잉생산에 따른 가격하락이 우려되는 식용버섯을 이용하여 버섯소금, 버섯간장과 같은 천연 조미료와 함께 버섯 발효제품을 개발하고자 한다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

세계의 버섯 생산량은 600만 톤/년 정도로 추정되며, 양송이가 가장 많고 다음이 느타리, 표고버섯의 순이다. 양송이는 미국, 프랑스, 화란 등의 구미지역에서 많이 재배하고 있으나 생산량의 증가속도가 매우 미미하다. 그러나 느타리버섯은 동남아시아 지역을 중심으로 재배가 급격히 늘어나고 있으며, 현재는 생산량이 표고보다 많을 것으로 추정되고 있다. 국가별로 보면, 중국이 약 400만 톤으로 가장 많고 미국과 일본이 35만 톤 정도로 비슷한 수준이다. 우리나라의 인공재배 버섯 농가는 약 2만 호, 생산량은 건표고를 생버섯으로 환산하였을 때 약 17만 톤으로 느타리버섯이 40%, 팽이와 표고버섯이 21%이나 2003년부터는 팽이버섯의 생산량이 더 많을 것으로 보며, 다음이 양송이 순으로 많다. 버섯의 농업총생산액은 약 7,000억 원으로 우리나라 경종작물의 3%나 차지할 정도로 비중이 크다. 재배하는 버섯의 종류는 중국이 가장 다양하고 다음이 일본, 한국 순으로 많으며, 개발도상국을 중심으로 버섯의 재배가 많이 늘어나고 있다.

버섯에 대한 연구는 1960년대부터 시작되었는데 이때는 인공재배법에 대하여 연구되어 1970년대부터 느타리버섯을 비롯하여 현재까지 농가 소득원으로 주종을 이루고 있다. 그 이후에는 약용버섯이 주종을 이루어 인공재배법이 개발되면서 생산이 급격하게 증가되었고 1990년대 초에는 복령, 천마등이 개발되어 버섯 농가의 소득원이 다양해졌으며 이를 뒷받침하기 위하여 버섯에 대한 연구가 활발하게 진행되기 시작되었다.

양송이, 표고버섯을 비롯한 다양한 버섯이 식품으로서 주목받는 이유는 단백질, 당질, 지질, 무기질 및 비타민을 비롯한 영양성분이 고르게 함유되어 있는 양질의 식품으로 독특한 향과 맛을 가지고 있을 뿐만 아니라 버섯중에 함유되어 있는 식이섬유와 각종 기능성 물질의 항암, 항종양, 면역증진, 항지혈작용, 혈압강하등의 효과들이 규명되었기 때문이다. 한편, 버섯의 식품학적 연구로는 버섯의 저장, 품질변화, 조리 및 가공과 관련된 다수의 연구가 있다. 특히, 장기간 복용하여도 거의 부작용이 나타나지 않는 이점 때문에 버섯은 건강식품 및 일반 가공식품의 개발 소재로서 주목받고 있다.

버섯의 조리에 관한 연구는 주로 건조표고버섯을 중심으로 한 연구가 많다. 조 등은 생육기간별 표고버섯(*Lentinus edoeds*)의 성분 및 항균성 물질에 관하여 연구하였으며 박 등은 표고버섯과 느타리버섯의 항암효과에 대하여 연구한 바도 있다. 마 등은 표고버섯의 화학성분 및 음료의 제조 공정에 대하여 연구하여 기술하였다. 또한, 박은 천연조미료의 이용실태와 버섯을 이용하여 천연 조미료 제조를 시도하였다. 김등은 버섯분말을 첨가한 생면의 품질 특성을 조사하였다.

이외에도 여러 연구자들이 버섯의 기능성에 대하여 많은 연구를 하고 있으며, 이 기능성을 바탕으로 버섯 가공품에 대한 개발도 끊임없이 이루어지고 있으나 시장성이 있는 성공적인 제품이 극히 제한된 실정이다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 연구수행내용

#### 1. 천연조미료에 대한 인식도 조사

- 조사대상 및 기간 - 2004년 9월부터 2005년 1월까지 대구와 경상에 거주하는 주부들을 대상으로 설문지를 배부하였다.

- 조사내용 및 방법 - 조사대상자의 일반적 특성, 천연조미료에 대한 인식, 이용도, 선호 특성등을 설문지를 통한 응답자 기재식으로 조사하였다.

#### 2. 버섯의 분석

##### 가. 사용버섯

느타리, 팽이, 새송이, 느타리, 표고버섯은 경상시 소재의 시장과 대형마트에서 구입하여 40℃ 열풍건조기에서 3일간 건조시켜 -20℃에서 보관하면서 이용하였다. 또한, 잎새버섯은 일본에서 건조한 것을 수입한 것으로 잘게 파쇄한 후 -20℃ 냉동고에 보관하면서 이용하였다.

##### 나. 일반분석

잎새버섯의 일반 성분 분석은 AOAC에 준하여 실시하였다. 수분은 105℃ 건조법, 조단백질은 micro-Kjeldahl 법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 550℃ 직접 회분법을 사용하여 측정하였으며, 조섬유는 0.13M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.23M KOH로 분해한 후 건조 및 회화시켜 정량하였다.

##### 다. 색도, pH, 갈변도, 당도

색도는 건조한 후 파쇄한 시료 일정량을 petri-dish에 넣어서 Digital Color Measuring/Difference Calculating Meter(Moder CR-200 Minolta, Japan)로 측정하고 Hunter의 L,a,b값으로 나타내었으며, 이때 사용한 표준 백색판의 색도는 HL=96.43, a=+0.03, b=+1.79이었다. pH는 pH meter(Orion, Japan)를 사용하

였고 당도는 굴절당도계(Atage, Japan)로 측정하였다. 버섯 분말의 갈변도는 건조 버섯 분말 1g에 증류수 40ml를 가하고 10% trichloroacetic acid용액 10ml를 가하여 상온에서 2시간 방치한 후 여과하여 spectrophotometer로 420nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 라. 유리당

버섯 추출액 5ml에 양이온과 음이온 물질을 제거하기 위해 Mixed bed resin TMD-8(1:1 mixture of strong cation and anion exchange resin, Sigma, U.S.A)을 약 10g을 가하고 5°C에서 1일간 방치하고 이온 교환수지를 제거하기 위해 여지 위에서 여과, 세척하였다. 이 액을 진공 건조 시키고 5ml 초순수로 정용한 후 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과하고 HPLC에 주입하여 유리당을 분석하였다.

#### 마. 비휘발성 유기산

시료 4ml를 감압건고시키고 여기에  $\text{BF}_3$ /methanol 2ml를 가하여 80°C에서 30분간 반응시켜 methylation 시켰다. 여기에 4ml의 포화 ammonium sulfate와 chloroform을 가하여 methyl ester층을 chloroform 층으로 이행시키고, 소량의 무수 sodium sulfate를 가하여 탈수시킨 다음 2 $\mu$ l를 GC에 주입하였다.

#### 바. 유리 아미노산

추출시료 5ml를 감압건고시켜 0.2M Citrate buffer(pH 2.2)로 5ml로 정용한 후 0.45 $\mu$ m membrane filter로 여과하고 아미노산 자동 분석기로 측정하였으며, Table 1과 같은 조건으로 분석하여 면적 분석법에 의해 산출하였다.

#### 사. 전아미노산

전아미노산 산가수분해법에 의하여, 건조 분말 시료 0.2g을 둥근바닥 플라스크에 넣고 6N HCl을 10ml가하여 12시간동안 100°C로 가열하여 가수분해시켰다. 여과하여 감압농축 한 다음 HCl을 완전히 휘발하기 위해 0.2M Citrate buffer(pH 2.2)로 여러 번 반복하여 감압농축 한 다음, 최종적으로 0.2M

Citrate buffer(pH 2.2) 5ml로 정용한 후, 0.45 $\mu$ m micro filter로 여과하여 전 아미노산 분석시료로 하였다.

#### 아. 핵산

핵산물질 분석은 열수 버섯 추출액 5ml를 20ml의 차가운 10% perchloric acid에 혼합하여 2분 동안 homogenizer로 20,000rpm에서 교반 후 이 현탁액을 10분 동안 6,000rpm으로 원심분리하였다. 5ml의 상정액은 5N KOH로 pH6.5로 고정하여 12시간 방치후 그 용액을 10분간 10,000rpm으로 원심분리하고 이 상정액을 HPLC로 분석하였다.

#### 자. 향기성분

버섯을 이용한 천연조미료 및 천연맛소금은 SPME(solid phase microextraction: 고상미량 추출법)으로 향기성분을 분석하였다. 즉, 시료 약 30g을 SPME 추출용 vial에 넣은 다음 GC/MS용 injector를 최대한 조심스럽게 vial에 밀어 넣은 후 80 $^{\circ}$ C Hot-block에 setting시켰다. 그리고 향기성분을 흡착하는 fiber를 내려 30분간 향기를 흡착시켜 열을 가하여 5분간 탈착하여 분석하였다. 향기성분은 GC/MS을 이용하여 Table 1과 같은 조건으로 시행하였다.

Table 1. Condition of G.C mass for volatile compounds

Items	Conditions
G.C mass	Agilent Technologies 6890N
Column	HP-FFAP(0.25mm x 30m x 0.25 $\mu$ m)
Oven temp	50 $^{\circ}$ C $\rightarrow$ 220 $^{\circ}$ C (5 $^{\circ}$ C/min)
Interface temp	250 $^{\circ}$ C
Running time	44min

### 3. 버섯소금의 제조

버섯소금은 아래와 같이 여러 단계를 거쳐서 버섯소금으로서 적합한 버섯을 선택하였다. 여기서 선택된 혼합비율로 버섯 소금을 제조한 다음 20일 간격으로 3개월간 성분분석 및 관능검사를 실시하여 버섯 소금의 품질 변화를 조사하였다.

#### 가. 버섯을 이용한 전처리

시료	조건	추출(건조) 조건
버섯만 이용	버섯 그대로 건조	40℃ 송풍건조
	가염한후 건조	40℃ 송풍건조
		60℃ 송풍건조
	버섯을 물로 추출	열수, 2시간
버섯과 야채를 혼합	버섯과 야채를 혼합하여 추출하여 여과하여 액만을 동결건조	열수, 2시간
	버섯과 야채를 혼합하여 추출하여 믹서기로 갈아 건조	열수, 2시간 건조 (동결건조)

#### 나. 타 조미재료와의 배합조건에 따른 조사

버섯을 추출조건에 따라 추출한 후 동결건조한 시료를 버섯추출물 그대로, 타 조미재료(다시마가루)와 혼합한 경우, 버섯을 가염(간장, 소금 등)하여 만든 것을 관능검사를 실시하였다.

### 4. 버섯간장의 제조

버섯간장은 각종 버섯과 시판중인 간장을 주재료로 하여 제조하였다. 먼저, 버섯과 간장의 혼합비율별로 제조하여 48시간 침지하여 여과한 다음 여과된 간장을 실온에서 보관하면서 관능검사를 실시하였다. 여기서 선택된 혼합비율



로 버섯 간장을 제조한 다음 20일 간격으로 3개월간 성분분석 및 관능검사를 실시하여 버섯 간장의 품질 변화를 조사하였다.

## 5. 버섯식해의 제조

버섯식해는 소비의 다양화를 위한 색다른 제품으로 개발을 시도하였다. 식해의 근간이 되는 것은 가자미 식해로 이것은 영양가가 높으나 특유한 향과 생선을 재료로 한 것이기 때문에 식해가 잘 발달된 지역이나 일부 사람들만이 선호하고 있다. 버섯식해는 가자미 대신 버섯을 주재료로 하여 고춧가루 양념으로 제조, 발효시킨 조미가공상태로 유통과정동안 보존이 가능하게 한 제품이라고 할 수 있다. 버섯 발효 제품은 원료 버섯의 보존성을 향상시킴과 동시에 버섯을 또 다른 가공 형태로 일반 가정이나 식당에서 즉석 반찬으로 사용할 수 있게 하므로 경제성, 편리성, 보존성 및 조리성을 좋게 한 것이다.

버섯식해에 사용한 버섯은 인근 대형 마트에서 구입한 새송이, 표고, 느타리, 팽이버섯이며 부재료는 시장에서 구입하여 이용하였다.

1차적으로 여러 종류의 버섯을 주재료로 버섯식해를 제조한 다음 4℃에 보관하면서 분석 및 관능검사를 실시하여 가장 적합한 버섯을 선별하고자 한다. 그 다음 부재료의 함량을 조절해 가면서 관능검사를 통하여 최종제품으로써 버섯식해의 recipe를 결정하였다. 또한, 최종 제품을 저장기간별로 분석 및 관능검사를 함으로써 버섯식해의 유통기간을 점검해 보았다.

## 6. 잎새버섯을 이용한 가공제품 제조

### 가. 잎새버섯 음료

#### 1) 재료

음료를 제조하기 위하여 잎새버섯을 물로 40℃ water bath에서 2시간, 3회 반복, 추출하였다. 이것을 여과한 다음 여과액을 동결건조하여 음료 제조용 시료로 사용하였다. 사용한 첨가제로는 올리고당, 대추농축액, 녹차농축액, 둥굴레농축액, 비타민 C, 사과농축액, 배농축액으로 MSC(주)로부터 공급받아 사용하였다.

## 2) 색도 및 당도검사

각 첨가제를 농도별로 첨가하여 색도와 당도검사를 실시하였다. 색도는 제조한 단계별 음료 40ml씩을 1회용 petridish에 부어서 Digital Color Measuring/Difference Calculating Meter(Model CR-200, Minolta, Japan)로 측정하여 Hunter의 “L”, “a”, “b”값으로 표현하였다. 이때 사용한 표준백색판의 색도는 L= 96.43, a= +0.03, b= +1.79이었다.

당도 검사는 굴절당도계(Hand refractometer; ATAGO S-28, Japan)로 측정하였다.

## 3) 관능검사

관능검사는 영남대학교 식품가공학과 학부생과 대학원생 20명을 대상으로 실시하였으며, 각 첨가제 별로 농도를 달리하여 첨가한 후에 음료의 맛(Taste), 향(Flavor), 색(Color), 종합적인 기호도(Overall acceptability)를 평가하였다. 평가 방법은 7점 채점법으로 아주 나쁘다(1점), 나쁘다(2점), 조금 나쁘다(3점), 보통이다(4점), 조금 좋다(5점), 좋다(6점), 아주 좋다(7점)로 실시하였다.

### 나. 잎새버섯 스펀지 케이크

#### 1) 스펀지 케이크의 제조

##### 가) 재료

건조한 잎새버섯을 mixer(SPM-2010, Living hitech, Korea)로 곱게 분말화하여 100 mesh의 체를 통과시킨 분말을 재료로 사용하였으며, 밀가루는 제일제당(주)에서 생산된 박력분을 구입하여 사용하였다.

##### 나) 재료 배합비

스펀지 케이크의 재료 배합은 배당의 방법을 변형하여 제조하였으며 제조 시 배합비율은 Table 2와 같다. 스펀지 케이크의 제조는 달걀의 기포성을 향상시키고 설탕의 용해성을 증가시키며 제품의 부피를 크게 하기 위하여 53℃의 물로 중탕하여 mixing bowl을 40℃로 유지시키는 hot mixing method를 사용하였다. 즉, 스펀지 케이크 batter는 저속에서 20초, 고속에서 8분간

mixer(Dae-Young Machinery Co., Korea)의 whipper를 이용하여 휘핑하였다. 여기에 체질한 밀가루와 잎새버섯 가루를 넣고 손으로 골고루 혼합하여 스폰지 케이크의 반죽을 완성하였다. 완료된 케이크 반죽을 21cm팬에 360g씩 팬닝하여 윗불 180℃, 아랫불 160℃로 미리 예열된 오븐(Dae-Young Machinery Co., Korea)에서 25분간 구워 실온에서 40분 정도 식힌 후 각종 물리적·화학적 및 관능검사를 실시하였다.

본 실험에 사용한 대조구 스폰지 케이크의 배합은 박력분 350g, 신선란 581g, 설탕 581g 및 소금 2g이며, 잎새버섯은 건조분말을 밀가루 중량 100%를 기준으로 하여(Baker's ratio) 1,3,5,7,9 및 11%수준으로 첨가하였다.

Table 2. Formula for sponge cakes containing fruit body powder of *G.fruondosa*

(unit : g)

	Ratio(%)	Control	<i>G.fruondosa</i> powders					
			1%	3%	5%	7%	9%	11%
Flour	100	350	346.5	339.5	332.5	325.5	318.5	311.5
Egg	166	581	581	581	581	581	581	581
Sugar	166	581	581	581	581	581	581	581
Salt	2	7	7	7	7	7	7	7
Mushroom powder	Variable	-	3.5	10.5	17.5	24.5	31.5	38.5

## 2) 반죽의 비중

케이크 반죽의 비중(specific gravity)은 AACC method에 따라 케이크 제조 과정 중 밀가루 투입 후의 반죽 무게를 측정하여 아래 식으로 각각 계산하였다.

$$\text{비 중} = \frac{\text{케이크 반죽을 담은 컵의 무게} - \text{빈 컵 무게}}{\text{물을 담은 컵의 무게} - \text{빈 컵 무게}}$$

### 3) 반죽의 점도

점도 측정은 믹싱을 완료한 반죽을 65g씩 100ml 비이커에 평평하게 담아 항온수조(TC-500, Brookfield Eng. Labs., USA)에서 25℃로 유지하면서 Brookfield digital viscometer(Model DV-1+, Brookfield Eng. Labs., USA)를 사용하여 spindle number 3으로 회전속도 0.6rpm에서 3회 측정하였다.

### 4) 무게, 부피, 비용적 및 높이

케이크의 무게는 구운 후 실온에서 20분 방치 후 측정하였고, 부피는 종자 치환법으로 측정하였으며, 비용적(specific volume ;  $\text{cm}^3/\text{g}$ )값은 반죽 1g이 차지하는 부피로 계산하였는데 그 식은 다음과 같다.

$$\text{Specific volume} = \text{bread volume/dough weight}$$

또한, 케이크의 높이 측정은 AACC method에 따라 스폰지 케이크의 단면을 잘라서 template를 이용하여 5곳의 높이를 측정하였다(Fig.1).

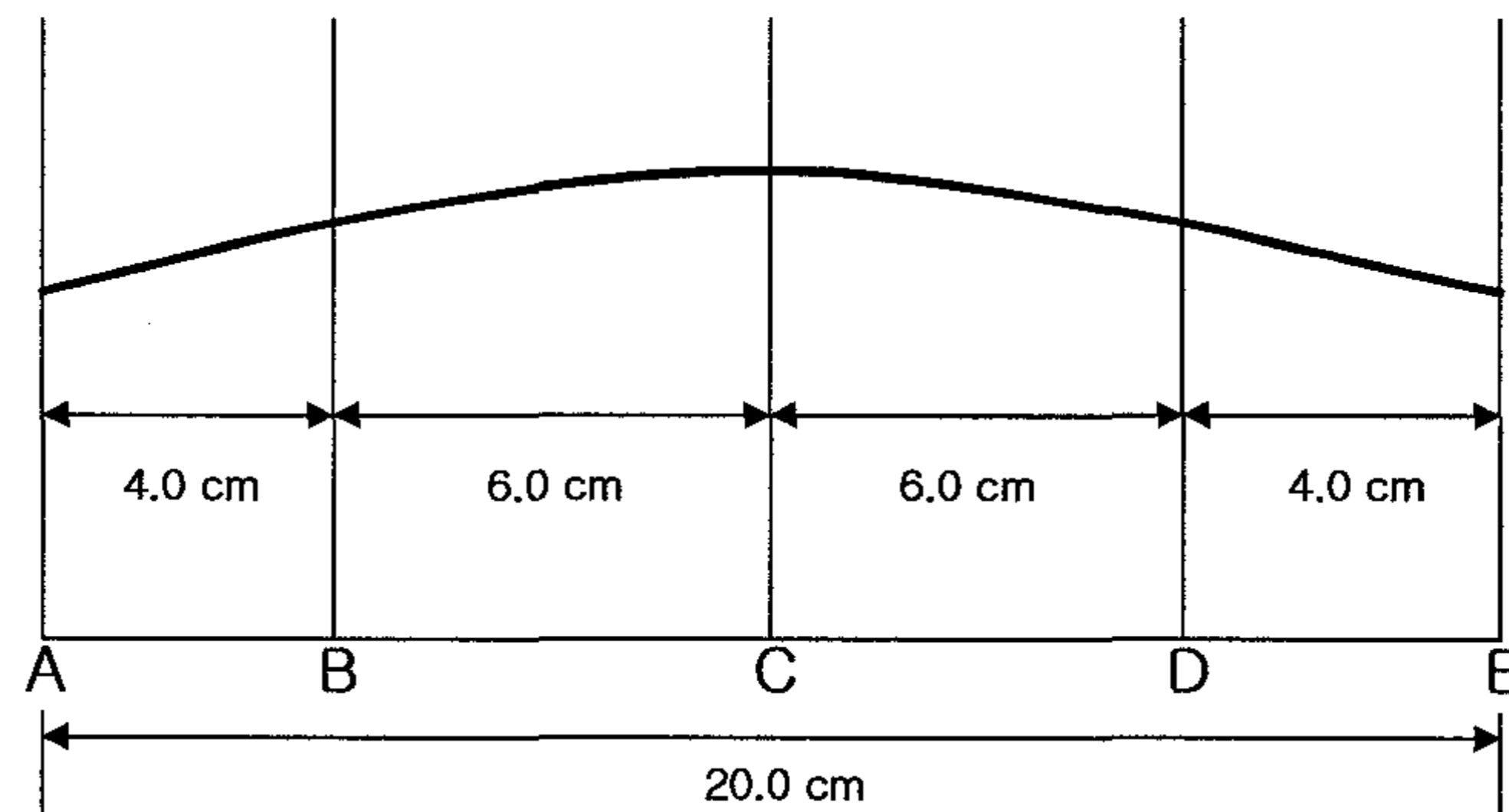


Fig. 1. Measurement of volume, symmetry and uniformity index of sponge cake.

\* Volume index = B + C + D, Symmetry index = 2C - B - D

\* Uniformity index = B - C

## 5) 색도

스폰지 케이크의 crust와 crumb 부분을 색차계(Model CR-200, Minolta Co., Japan)를 사용하여 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness)를 측정하였다. 이때 사용한 표준 백색판의 색도는 L=97.71, a=-0.07, b=-0.18이었다.

## 6) 조직감

잎새버섯 분말을 첨가한 스폰지 케이크의 조직감 측정은 rheometer (Compac-100 II, Sun scientific Co., Japan)로 mastication test를 이용하여 경도(hardness), 응집성(cohesiveness), 탄력성(springness), 점성(gumminess), 부서짐성(brittleness)을 측정하였다.

시료는 20×30×20mm로 3회 반복 측정하여 평균을 구하였으며 측정조건은 sample moves 25mm, table speed 60mm/min, 사용한 probe는 직경이 20mm 인 stainless 원형을 장착하여 측정하였다.

## 7) 관능검사

관능검사 요원은 영남대학교 식품외식학부 학부생과 대학원생 20명을 선발하여 이들에게 실험 목적 및 평가 항목에 대해 설명하고 충분한 훈련을 실시하여 케이크의 품질 차이를 식별할 수 있는 능력을 갖추어 7점법으로 실시하였다. 평가 종류는 색(color), 버섯냄새(mushroom flavor), 촉촉함(moistness), 단맛(sweetness), 씹힘성(chewiness) 및 종합적인 기호도(overall acceptability)를 평가하였다.

## 7. 균사체의 이용

### 가. 균사체의 전처리

액체 배양액으로부터 여과한 균사체를 증류수로 수회 세척한 후 여러가지 조건하에서(균사체 그대로 건조, 균사체를 소금물에 가열후 건조, 건조균사체와 소금을 일정량 혼합) 균사체를 처리하여 40℃ 송풍건조기에서 건조하였다. 건조한 시료를 관능검사를 실시하여 가장 선호도가 좋은 조건을 조사하였다.

#### 나. 추출 최적 농도 조사

건조 균사체에 대하여 5배, 10배, 20배, 30배, 50배로 물을 첨가하여 70℃, 열수의 조건에서 추출하여 가장 선호도가 높은 농도 조건을 확립하였다.

#### 다. 타 조미재료와의 배합조건에 따른 조사

균사체를 전처리하여 건조한 후 믹서기로 갈아서 타 조미재료(다시마가루, 야채가루, 새우가루, 멸치가루)들과 혼합하여 관능검사를 실시하였다.

### 8. 저장기간별 분석

#### 가. pH

버섯 식해 1g을 달아 증류수 9ml과 혼합하여 homogenizer로 균질화하여 여과한 후 여과액을 pH meter(Model 420A, Orion Research Inc., USA)로 측정하였다.

#### 나. 색도

저장기간중 색도의 변화는 각각의 방법으로 제조한 제품을 Petri dish에 담아 표준색판(L=97.71, a=-0.07, b=-0.18)으로 보정된 색차계(Model CR-200, Minolta Co., Japan)를 사용하여 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness)를 3회 반복, 측정하여 얻어지는 값들의 평균값을 구하였다.

#### 다. 염도

저장중 제품의 염도 변화는 염도계(Model TM-30D, Takemura electronic works LTD., Japan)을 이용하여 소금은 10배 희석하여, 간장은 원액을 그대로 사용하여 측정하였다.

#### 라. 총균수 검사

총균수 측정은 저장기간별로 시료 1g을 무균적으로 채취하여 증류수 9ml를 넣어 균질화 한 후 10분간 실온에서 방치한 다음 여과하였다. 이 여액을 0.1% peptone수로 단계희석하였으며, 각 단계별로 희석한 액 1ml를 PCA(Plate

Count Agar) 배지에 접종하였다. 접종한 후 37℃에서 48시간 배양하고 생성된 colony수를 계수하였다.

#### 마. 관능검사

저장기간중 제품의 관능검사는 영남대학교 식품가공학 전공 대학원생 및 외식계열(조리분야, 외식분야) 전문가 15명을 대상으로 20일 간격으로 3달간 맛, 색, 향, 버섯향, 기호도를 7점(1=매우 싫음, 4=보통, 7=매우 좋음) 기호도 척도법을 이용하였다.

### 9. 관능검사 및 통계처리

관능검사는 영남대학교 식품가공학과 학부생, 대학원생 및 외식전문가들을 대상으로 실시하였으며, 각 제품으로 제조한 후에 맛(Taste), 향(Flavor), 색(Color), 버섯의 향(Mushroom flavor), 종합적인 기호도(Overall acceptability)를 평가하였다. 평가 방법은 7점 채점법으로 아주 나쁘다(1점), 나쁘다(2점), 조금 나쁘다(3점), 보통이다(4점), 조금 좋다(5점), 좋다(6점), 아주 좋다(7점)로 실시하였다. 통계 처리는 SPSS 12.0 for windows program을 이용하여 실험군당 평균(mean)±표준편차(S.D.)로 나타내었으며, 각 군의 평균차에 대한 통계적 유의성 검정은 Duncan의 다중검증법(DMRT : Duncan's multiple range test)으로 실시하였다.

## 제 2 절 연구수행결과

### 1. 설문지 조사

#### 가. 천연조미료에 대한 인식

천연조미료에 대한 인식으로는 천연 조미료가 “자연식품”이라고 대답한 응답자가 76.3%, “건강식품”이라고 느끼는 응답자가 13.3%로 나타나 응답자의 89.6%가 천연조미료가 자연식품 또는 건강식품으로 인식하고 있는 것으로 나타났다. 또한 천연조미료의 주요 맛 성분에 대한 인지도를 조사한 결과 글루타민산이 35.8%로 가장 높았으며, 이노신산이 15.6%, 호박산이 10.6%, 구아닌산 5.0%순으로 나타났다. 반면에 천연조미료의 주요 맛성분에 대해 “들어본적 없다”를 응답한 조사대상자도 33.0%로 매우 높았다. 조사대상자의 학력이 낮은 경우보다 학력이 높은 경우의 대상자들이 특히 맛 성분에 대한 인지도가 높았다. 또한, 나이가 많을수록 천연조미료의 주요 맛 성분에 대한 인지도가 낮은 것으로 나타났다.

Table 3. Recognition of natural seasoning

Variable		N(%)
Recognition	Natural food	206( 76.3)
	Healthy	36( 13.3)
	Harmful	28( 10.4)
	Total	270(100.0)
Taste component	Succinic acid	33( 10.6)
	Glutamic acid	110( 35.8)
	Inosinic acid	48( 15.6)
	Guanosinic acid	16( 5.0)
	Never heard	103( 33.0)
	Total	310(100.0)



나. 천연조미료의 사용용도

천연조미료의 사용용도는 된장국 31.37%, 국물내기용 29.4%, 찌개 23.4%, 전골 15.9% 순으로 나타나고 있다. 이와 같이 천연조미료는 주로 국물에 많이 사용되는 것을 알 수 있으며 간편하게 맛을 내면서 간을 맞출수 있는 조미료를 개발하면 용도가 다양하고 시장성이 있을 것으로 판단된다.

Table 4. Desirable use of natural seasoning

Variable		N(%)
Use	Casserole	97( 15.9)
	Stew	143( 23.4)
	Bean-paste soup	191( 31.3)
	Stock	180( 29.4)
	Total	611(100.0)

다. 천연조미료 재료의 선호도와 선호특성

천연조미료로 가장 많이 이용하는 재료로는 다시마 41.7%, 멸치 31.8%, 새우 12.3%, 표고 10.9%순으로 나타났다. 이는 앞에서 살펴본 바와 같이 천연조미료를 된장국과 국물내기용으로 가장 많이 이용하고 있다는 것과 연결된다는 것을 알 수 있다. 천연조미료로 이용하는 재료의 선호요인으로는 “원재료의 감칠맛”과 “구수한맛”으로 나타났다.

Table 5. Preference and preference characteristic of natural seasoning

Variable		N(%)
Material	Anchovy	196( 31.8)
	Shrimps	76( 12.3)
	Sea tangle	257( 41.7)
	<i>Lentinus edodes</i>	67( 10.9)
	Shellfish	12( 1.9)
	Bonito	9( 1.4)
	Total	617(100.0)
Characteristic	Relish	160( 46.4)
	Savory	98( 28.4)
	Plain taste	70( 20.3)
	No fragrance	17( 4.9)
	Total	345(100.0)

라. 천연조미료의 수요전망

조사대상자들의 천연조미료의 수요전망정도를 조사한 결과 약 81.9%가 앞으로 수요가 증가할 것이다 라고 응답하였다. 이는 좀더 간편하고 간단하게 먹을수 있는 새로운 천연조미료 제품을 개발한다면 제품의 수요는 기대할 만큼 증가할 것이라 판단된다.

Table 6. Prospect for natural seasoning

Variable	N(%)
Increase	221( 81.9)
No change	41( 15.2)
Decrease	8( 3.0)
Total	270(100.0)

#### 마. 미국인을 대상으로 한 인식도 조사

미국 고등학생을 대상으로 버섯 조미료에 대한 인식도를 조사한 결과, 버섯을 조사 대상자의 남자 71%, 여자 78%가 건강 식품 또는 맛있는 음식으로 인식하고 있는 반면에 21-27%는 맛없는 음식으로 생각하고 있었다. 또한, 버섯 조미료가 있다면 사용할 의향이 있는가에 대한 항목에서는 50%이상이 사용할 의향이 있다고 응답하였으며 이중 매우 사용하고 싶다고 응답한 사람도 15-20%에 달하였다. 특히, 재미있는 현상은 지금까지 미국인들은 양송이를 대부분 사용하였으며 최근에는 비로소 다른 버섯(표고, 팽이, 느타리버섯 등)이 시장에 출하되고 있음에도 불구하고 이들 새로운 버섯으로 만든 조미료에 대한 선호도가 양송이에 비하여 떨어지지 않는다는 점이다. 비록 짧은 문항이었지만 대부분의 사람이 버섯에 대해서 높은 인식도를 갖고 있으므로 버섯을 쉽게 접할 수 있는 제품의 개발이 무엇보다 필요하며 국내뿐만 아니라 국외 수출도 가능할 것으로 판단된다.

Table 7. Degree of recognition of mushroom

	Variable	Male	Female
1. What do you think of commercially cultivated mushrooms other than button mushrooms? (e.g. Oak mushrooms, Oyster mushrooms)	a. Diet food	0(0.0)	1(3.6)
	b. Healthy food	18(41.9)	12(42.9)
	c. Tasty food	13(30.2)	10(35.7)
	d. Not desirable	12(27.9)	6(21.4)
	e. Dangerous food	0(0.0)	0(0.0)
	Total	43(100.0)	28(100.0)
2. How would you like a seasoning prepared from mushrooms other than button mushroom?	a. Would like it very much	6(14.0)	7(25.0)
	b. Like it	16(37.2)	8(28.6)
	c. No special opinion	17(39.5)	8(28.6)
	d. Would take it, if necessary	0(0.0)	2(7.1)
	e. Stay away from it	4(9.3)	3(10.7)
	Total	43(100.0)	28(100.0)
3. How would you like a seasoning prepared from button mushroom?	a. Would like it very much	7(16.3)	4(14.3)
	b. Like it	12(27.9)	10(35.7)
	c. No special opinion	17(39.5)	9(32.1)
	d. Would take it, if necessary	2(4.7)	2(7.1)
	e. Stay away from it	5(11.6)	3(10.7)
	Total	43(100.0)	28(100.0)

## 2. 버섯의 분석

### 가. 일반성분

Table 8은 건조 후 버섯의 일반 성분을 분석한 결과이다. 표고버섯과 새송이버섯은 조단백질 함량이 다른 버섯에 비해 월등히 높았다. 조지방 함량은 전체적으로 낮았으며 조섬유 함량은 팽이버섯을 제외한 나머지 버섯에서는 비슷한 것으로 나타났다.

Table 8. Proximate composition of dried mushroom

	Moisture	Ash	Protein	Fat	Fiber
<i>Flammulina velutipes</i>	86.0	1.6	1.5	0.6	2.9
<i>Pleurotus ostreatus</i>	85.0	1.4	2.4	0.5	3.8
<i>Lentinus edodes</i>	81.2	2.0	3.0	0.6	3.3
<i>King Oyster Mushroom</i>	82.0	1.6	3.2	0.7	3.0
<i>Agaricus bisporus</i>	79.0	2.3	2.4	0.6	3.4
<i>Grifola frondosa</i>	8.6	7.0	32.6	1.1	13.8

### 나. pH, 당도, 갈변도, 색도

건조버섯의 pH는 표고버섯이 pH 5.8로 낮았으나 다른 버섯은 pH 6이상으로 높게 나타났다. 당도는 2.6-3.2 Brix로 비슷하였으며 갈변도는 양송이버섯이 0.584로 가장 높았으며 그 다음으로 표고버섯과 팽이버섯이었다. 건조버섯의 색도는 양송이버섯이 51.92로 어두웠으나 나머지 버섯은 75이상으로 밝았다. 황색도는 팽이버섯과 양송이버섯이 높았으며 적색도에서도 팽이버섯이 가장 높았으며 느타리버섯이 가장 낮았다.

Table 9. pH, sugar content, color value and optical density of dried mushroom

	pH	Sugar content (Brix)	Optical density	Color value		
				L	a	b
<i>Flammulina velutipes</i>	6.87	3.0	0.254	74.59	+3.01	+18.35
<i>Pleurotus ostreatus</i>	6.34	2.6	0.088	78.85	-0.27	+9.99
<i>Lentinus edodes</i>	5.82	2.6	0.207	75.02	+1.21	+11.85
<i>King Oyster Mushroom</i>	6.28	3.0	0.078	85.57	-0.04	+10.27
<i>Agaricus bisporus</i>	6.24	3.2	0.584	51.92	+2.40	+10.35

버섯 인식도 검사와 예비 관능검사를 실시한 결과 느타리버섯과 표고버섯을 이용하여 제품을 개발하는 것이 가능성이 높은 것으로 평가되어 두 종류만을 특수 성분 분석에 이용하였다.

#### 다. 특수 성분 분석

##### 1) 유리당

건조버섯의 유리당 분석 결과는 Table 10과 같으며, trehalose, glucose, mannitol의 3종이 검출되었다. 두 분자의 glucose가  $\alpha$ -1,1 결합을 하고 있는 trehalose 함량이 가장 높았으며, 느타리버섯이 1.54%로 표고버섯의 0.96보다 높았으나, mannitol의 함량은 표고버섯 0.82%로 느타리버섯의 0.21%보다 높았다. 버섯의 높은 trehalose 함량은 흥미로운 사실인데 버섯의 물질 대사와 관련하여 trehalose의 생리적 의미를 탐구해 볼 필요가 있을 것으로 생각된다.

Table 10. Major composition contents of free sugars in mushroom extracts  
unit : g%

	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Lentinus edodes</i>
Trehalose	1.54	0.96
Glucose	0.09	0.05
Mannitol	0.21	0.82
Total	1.84	1.83

2) 비휘발성 유기산 함량

Table 11은 건조버섯의 유기산을 분석한 결과로서 느타리버섯은 succinic acid가 107.28mg%로 가장 많이 함유되어 있었으며 그 다음으로 pyroglutamin acid, citric acid가 함유되어 있었다. 하지만 표고버섯은 malic acid 함량이 450.36mg%로 가장 높았으며 다음으로 fumaric acid, pyroglutamin acid, citric acid가 많이 함유되어 있었다. 총 유리산 함량에서도 표고버섯이 느타리버섯보다 월등히 높은 것으로 조사되었다.

Table 11. Compositions of organic acids in dried mushroom

unit : mg%

	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Lentinus edodes</i>
Lactic acid	9.12	4.32
Oxalic acid	2.10	2.21
Fumaric acid	0.55	39.92
Levulinic acid	11.49	9.97
Succinic acid	107.28	8.53
Malic acid	0.74	450.36
Citric acid	20.50	37.21
Pyroglutamic acid	70.48	38.85
Total	222.26	591.37



### 3) 핵산 함량

느타리버섯과 표고버섯의 핵산 물질은 5'-AMP, 5'-GMP, 5'-XMP가 검출되었으며, 5'-IMP는 검출되지 않았다. 핵산 물질은 대체적으로 느타리버섯에 많이 함유되어 있었고, 느타리버섯과 표고버섯 모두 5'-AMP가 각각 15.76mg%와 6.38mg%로 가장 높게 나타났다.

Table 12. Composition and contents of nucleotides of mushroom extracts  
unit : mg%

	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Lentinus edodes</i>
5'-AMP	15.76	6.38
5'-GMP	4.53	3.76
5'-XMP	2.48	1.92
5'-IMP	ND*	ND*
Total	22.77	12.06

ND\* : Not detected.

### 4) 유리아미노산 함량

느타리버섯과 표고버섯의 유리아미노산 함량은 각각 68.2mg%와 37.6mg%로 느타리버섯에서 높았으며, glutamic acid, lysine을 공통적으로 많이 함유하고 있었다. 총 아미노산 함량은 glutamic acid, lysine, aspartic acid, valine, leucine, alanine 순으로 많이 함유되어 있었으며, 전체적인 함량은 느타리버섯이 16.4%로 표고버섯의 12.5%보다 높았다.

Table 13. Composition and contents of free amino acids in mushroom extracts and total amino acids in dried mushroom

unit : mg%

Amino acid	Free amino acids		Total amino acids	
	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Lentinus edodes</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Lentinus edodes</i>
Aspartic acid	0.99	1.74	1842.65	1381.49
Threonine	3.57	3.70	602.37	490.56
Serine	1.28	2.34	337.59	266.53
Glutamic acid	20.21	9.13	2779.75	2247.36
Proline	3.24	2.14	208.78	118.92
Glycine	0.44	0.15	443.02	469.20
Alanine	5.17	3.38	1331.46	1020.12
Valine	4.39	1.92	1552.28	1180.77
Cystine	0.65	0.81	246.48	186.09
Methionine	1.87	0.65	41.44	50.11
Isoleucine	6.19	2.64	832.61	655.69
Leucine	5.43	0.64	1334.80	1030.69
Tyrosine	0.67	0.56	361.21	240.08
Phenylalanine	0.38	0.30	1264.12	871.05
Lysine	10.65	5.45	2279.78	1461.26
Histidine	1.76	1.00	548.73	391.08
Arginine	1.31	1.09	366.10	475.56
Total	68.20	37.64	16373.17	12536.56

## 5) 향기성분

GC/MS를 이용하여 정성한 결과는 Table 14, 15와 같다. 느타리버섯의 경우 생버섯(raw)에서 5개, 생버섯을 소금으로 처리한 시료(raw-salt)에서 22개, 먼저 열처리한 후 소금으로 처리한 시료(cook-salt)에서 9개의 향기성분이 검출되었다. 표고버섯에서는 생버섯(raw) 9개, 생버섯을 소금으로 처리한 시료(raw-salt)에서 10개, 먼저 열처리한 후 소금으로 처리한 시료(cook-salt)에서 13개의 향기성분이 나타났다. 검출된 성분 중 data base와 비교 확인한 값(Quality)이 50이 넘는 것만 선택하여 정리하였다.

생느타리버섯(raw)에서는 3-Octanone이 68.00%로 가장 많이 함유되어 있었으며 ethyl amyl carbinol 와 3-octanol이 각각 21.51%, 2,3-dicyano-7,7-dimethyl-5,6-benzo 4.33%, 6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene 2.50%순으로 나타났다. 반면에 소금처리한 느타리버섯(raw-salt)에서는 3-Octanol이 35.12%로 가장 많았으며, 그 다음으로 1-Octen-3-ol 21.19%, Ethanol 14.59%, 3-Octanone 11.62% 순이었고, 가열후 소금처리한 느타리버섯(cook-salt)에서는 Ethanol만이 71.47%로 조사되었다.

생표고버섯(raw)에서는 Ethanol 33.46%, 3-Octanone 20.33%, 3-Octanone 13.40%의 순으로 나타났으며 그 외에도 3-Octanol포함한 8종이 분리되었다. 소금처리한 표고버섯(raw-salt)에서는 3-Octanone (27.34%), 1-Octen-3-ol (25.36%), 3-Octanol (24.17%)이 비슷한 양으로 함유되어 있었으며, 그 다음으로 Ethanol 4.70%, 1-Octen-3-one 2.46%, Carbon disulfide 1.99%순으로 나타났다. 가열후 소금처리한 표고버섯(cook-salt)에서는 느타리버섯의 경우와 마찬가지로 Ethanol만이 나타났으나 함량은 훨씬 낮은 것으로 나타났다. 생느타리버섯을 소금으로 처리한다는 것은 염분의 삼투압에 의하여 세포질의 이동을 유도하고 따라서 버섯 생체내에 존재하는 효소와 기질이 서로 접촉하여 향기성분의 생성을 유도하는 과정이다. 향기성분의 분석결과를 보면 생느타리에 존재하는 3-Octanone과 ethyl amyl carbinol이 효소적 반응을 통하여 1-Octen-3-ol로 전환되는 것으로 해석된다. 이와 같은 현상은 표고버섯의 경우에도 유사하게 나타났으며 향기가 상한 성분이 1-Octen-3-ol이라고 판단된다. 그러나 먼저 가열조리한 후 소금으로 처리하더라도 효소가 불활성화 된 경우에는 생버섯에서와 같은 향기성분 생성이 일어나지 않음을 관찰할 수 있었다.

실제 조리과정에서 생버섯을 소금으로 처리할때 이러한 변화를 경험적으로 명확히 감지할 수 있는데 이같은 변화를 좀 더 깊게 탐색하면 유의한 자료를 얻을수 있을 것으로 생각된다.

Table 14. Volatile flavor compounds of natural seasoning prepared from *Pleurotus ostreatus*

Components	Area(%)		
	Raw	Salting	Cooking & Salting
3-Octanone	68	-	-
ethyl amyl carbinol	21.51	-	-
3-Octanol	21.51	35.12	-
2,3-dicyano-7,7-dimethyl-5,6-benzo	4.33	-	-
6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene	2.50	-	-
1-Octen-3-ol	-	21.19	-
Ethanol	-	14.59	71.47
3-Octanone	-	11.62	-

Table 15. Volatile flavor compounds of natural seasoning prepared from *Lentinus edodes*

Components	Area(%)		
	Raw	Salting	Cooking & Salting
Ethanol	33.46	4.70	8.40
3-Octanone	20.33	27.34	-
3-Octanone	13.40	-	-
3-Octanol	3.18	24.17	-
3-Octanol	8.04	-	-
Acetic acid	2.35	-	-
Disulfide, dimethyl	1.86	-	-
Trisulfide, dimethyl	1.17	-	-
1,2,4-Trithiolane	0.66	-	-
1,2,4-Trithiolane	0.54	-	-
1,2,4,5,7,8-Hexathiocyclononane	0.54	-	-
4H-Pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl	0.51	-	-
1-Octen-3-ol	-	25.36	-
1-Octen-3-one	-	2.46	-
Carbon disulfide	-	1.99	-

### 3. 천연조미료 제조

#### 가. 전처리에 따른 관능검사

전처리 조건을 달리하여 추출한 추출물의 관능검사를 한 결과는 Table 16과 같다. 버섯을 가염하여 건조한 처리구가 모든 항목에서 가장 높은 점수를 나타냈으며 그다음으로 버섯을 그대로 건조한 경우와 버섯을 물로 추출한 경우의 순으로 나타났다. 버섯과 야채를 혼합한 경우보다 버섯만을 사용한 경우의 시료구가 전체적으로 높은 것으로 보아 조미료를 제조할 경우에는 버섯만을 사용하는 것이 나은 것으로 판단되었다.

그리고, 전처리에 대하여 좀 더 자세히 설명해 보면 버섯을 그대로 건조한 경우(A)는 가장 간단한 방법이나 조미료로 사용할 경우 다른 조미료도 같이 사용해야만 하며 버섯 그대로보다는 버섯의 조미가 요구되었으며 버섯을 먼저 가염한 후 건조한 경우(B)에서는 간단하면서도 조미가 되어 쉽게 이용될수 있는 것으로 나타났으며 건조시간과 가염정도를 조절하면 조미료로 사용가능한 것으로 판단되었다. 건조온도를 40℃와 60℃로 달리하였을 경우 60℃에서는 탄내가 발생하는 것으로 보아 적합하지 않았으므로 가염후 버섯 건조는 40℃가 가장 적합한 것으로 확인하였다.

버섯만을 물에 넣어 추출한 경우에는(C) 추출 수율이 아주 낮아 제품으로서의 가치가 떨어지는 것으로 나타났다. 버섯과 야채를 혼합하여 추출, 여과하여 액만을 동결건조한 경우(D)에는 값이 싼 야채들과 혼합되어 실용적이며 추출물이기 때문에 물에 쉽게 용해된다는 장점이 있긴 하나 야채의 향이 많이 낮으며 긴 추출시간으로 인해 너무 짠(삶은 야채) 맛이 진하여 버섯 조미료로서 사용하기에는 부적당한 것으로 나타났다. 또한, 야채의 혼합량과 추출시간을 다시 점검하면 조미료 제조가 가능할 듯하나 추출과 동결건조와 같은 긴 제조공정을 거쳐야 하는 단점이 있다. 버섯과 야채를 혼합하여 추출하여 믹서기로 갈아 건조한 경우(E)에서는 제품 수율을 높이기 위해 여과액과 잔사를 같이 사용하여 동결건조하였으나 제품에서는 매우 좋지 않은 맛과 향이 낮으며 물에 녹였을때 국물이 탁하고 맛이 좋지 않아 적합하지 않은 것으로 판단하였다.

Table 16. Pre-treatment conditions of mushroom

	A	B	C	D	E
Taste	5.27±0.47 <sup>a</sup>	5.63±1.03 <sup>a</sup>	4.45±0.69 <sup>bc</sup>	5.00±0.89 <sup>ab</sup>	4.18±0.87 <sup>c</sup>
Color	4.72±1.01 <sup>a</sup>	5.27±0.78 <sup>a</sup>	5.00±1.00 <sup>a</sup>	3.73±1.48 <sup>b</sup>	5.00±0.77 <sup>a</sup>
flavor	5.55±1.37 <sup>ab</sup>	5.91±0.70 <sup>a</sup>	4.73±0.90 <sup>bc</sup>	4.36±1.12 <sup>c</sup>	4.27±1.10 <sup>c</sup>
Overall acceptability	5.36±1.02 <sup>ab</sup>	5.54±1.04 <sup>a</sup>	5.09±0.53 <sup>ab</sup>	4.63±1.21 <sup>bc</sup>	4.00±0.89 <sup>c</sup>

A : 버섯 그대로 건조, B : 가열한후 건조 C : 버섯을 물로 추출  
D : 버섯과 야채를 혼합하여 추출하여 여과하여 액만을 동결건조  
E : 버섯과 야채를 혼합하여 추출하여 믹서기로 갈아 건조

#### 나. 타 조미재료와의 배합조건에 따른 조사

전처리 조건을 통하여 간단하면서도 쉽게 조미료를 이용할 수 있는 것이 버섯을 그대로 이용하여 다른 조미와 병행을 하든지 아니면 가열(간장, 소금 등)한 버섯을 이용하는 것이었다. 따라서 천연조미료로 많이 사용하는 다시마와 시판중인 화학조미료와 비교하여 관능검사를 실시하였다.

##### 1) 표고 및 느타리 분말의 관능검사

느타리와 표고버섯분말을 0.5%로 하여 1분간 끓인 후 구수한 맛, 향, 색, 전체적인 기호도를 실시한 결과는 Table 17과 같다. 표고보다 느타리버섯의 분말이 구수한 맛, 향기, 종합적인 기호도에서 우수하였다. 색에서는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.

Table 17. Sensory evaluation of *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus* broth

	<i>Lentinus edodes</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	t value
Savory	4.00±0.47	5.00±0.47	4.743*
Fragrance	3.60±0.52	4.80±0.42	5.692*
Color	4.60±0.52	5.60±0.62	1.205**
Overall acceptability	4.20±0.42	5.20±0.42	5.303*

The values are mean±SD, \* p<0.05, \*\* p<0.01

2) 다시마를 첨가하였을 경우 버섯분말(표고, 느타리)의 기호도

표고와 느타리분말 0.5%에 다시마를 0, 0.5, 1, 1.5, 2%첨가하여 3분간 끓인 후 관능검사를 한 결과는 Table 18과 Table 19로 나타내었다. 표고버섯에서는 다시마를 1.5% 첨가하였을 때 느타리버섯에서는 1%첨가시 기호도가 높았다. 각 군간에는 5%의 수준에서 유의성이 있는 것으로 나타났다.

Table 18. Sensory evaluation of *Lentinus edodes* broth added with sea tangle

	A	B	C	D	E
Taste	4.11±0.33 <sup>d</sup>	4.78±0.44 <sup>c</sup>	5.56±0.53 <sup>b</sup>	6.78±0.44 <sup>a</sup>	3.33±0.50 <sup>e</sup>
Fragrance	4.22±0.44 <sup>b</sup>	4.89±0.33 <sup>a</sup>	4.89±0.33 <sup>a</sup>	3.44±0.53 <sup>c</sup>	2.56±0.53 <sup>d</sup>
Color	5.44±0.73 <sup>ab</sup>	5.11±0.33 <sup>b</sup>	5.78±0.44 <sup>a</sup>	5.22±0.67 <sup>ab</sup>	4.44±0.53 <sup>c</sup>
Overall acceptability	4.11±0.33 <sup>d</sup>	4.67±0.50 <sup>c</sup>	5.78±0.44 <sup>b</sup>	6.67±0.50 <sup>a</sup>	3.33±0.50 <sup>e</sup>

In a row, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level

A: L. E + sea tangle 0.0%      B: L. E + sea tangle 0.5%  
 C: L. E + sea tangle 1.0%      D: L. E + sea tangle 1.5%  
 E: L. E + sea tangle 2.0%



Table 19. Sensory evaluation of *Pleurotus ostreatus* broth added with sea tangle

	A	B	C	D	E
Taste	4.1±0.32 <sup>d</sup>	5.1±0.32 <sup>c</sup>	6.5±0.53 <sup>a</sup>	5.9±0.74 <sup>b</sup>	3.3±0.48 <sup>e</sup>
Fragranc	4.2±0.63 <sup>b</sup>	5.2±0.63 <sup>a</sup>	5.7±0.67 <sup>a</sup>	3.9±0.74 <sup>b</sup>	2.9±0.57 <sup>c</sup>
Color	5.1±0.57 <sup>a</sup>	5.1±0.57 <sup>a</sup>	5.0±0.47 <sup>a</sup>	3.8±0.63 <sup>b</sup>	3.7±0.67 <sup>b</sup>
Overall acceptability	4.3±0.48 <sup>c</sup>	5.7±0.48 <sup>b</sup>	6.5±0.53 <sup>a</sup>	5.2±1.14 <sup>b</sup>	3.4±0.52 <sup>d</sup>

In a row, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level

A: L. E + sea tangle 0.0%      B: L. E + sea tangle 0.5%  
 C: L. E + sea tangle 1.0%      D: L. E + sea tangle 1.5%  
 E: L. E + sea tangle 2.0%

### 3) 조리식품에 첨가한 버섯조미료의 기호도

버섯조미료(느타리버섯분말+다시마에서 기호도가 높은 배합비를 선정)를 제조하여, 화학조미료와 같이 식품에 첨가하였을 때의 기호도를 검사하였다. Table 20에서 보는 바와 같이 20대 대상자에서는 조리식품에 화학조미료로 간을 한 것을 선호하는 것으로 나타났으나 반면에 30대 대상자에서는 천연조미료로 제조한 버섯 조미료를 더욱 선호하는 것을 확인하였다. 단순하게 20대와 30대로 나누어 검사한 결과이지만 젊은 세대일수록 화학조미료 맛에 길들여져 있음을 알 수 있다.

Table 20. Acceptability of food addition of *mushroom seasoning* and *MSG*

	Age	A	B	t value
Brown-seaweed soup	20	4.30±0.48	5.38±0.52	4.510*
	30	5.30±0.48	4.30±0.48	4.629*
Cucumber naengkuk	20	4.40±0.52	5.40±0.52	4.330*
	30	5.10±0.57	4.30±0.48	3.394*
Bean-paste soup	20	4.20±0.42	5.20±0.42	5.303*
	30	5.20±0.42	4.20±0.42	5.303*

The values are mean±SD, \*p<0.01

A : *Pleurotus ostreatus* 0.5%+ dried sea tangle 5g

B : Monosodium glutamate 0.5%

#### 다. 혼합비율을 달리한 버섯 소금의 제조

버섯과 소금의 양을 달리하여 첨가, 제조한 다음 상온에서 일주일 보관한 후 관능검사를 실시한 결과는 Table 21과 같다. 색과 향에서는 혼합 비율이 증가함에 따라 높은 점수가 나타났으나 맛과 종합적인 기호도에서는 평균적인 점수는 차이가 있었으나 시료간의 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 버섯향의 선호도를 묻는 문항에서는 버섯의 첨가가 적을수록 선호하는 것으로 나타났다. 향과 버섯향의 점수가 반비례하는 것으로 보아 버섯 소금은 버섯과 소금이 1:3 또는 1:4가 가장 적합한 것으로 확인되었다.

위와 같이 만든 버섯 소금을 숙주와 미역국에 첨가하여 관능검사를 동시에 실시하였다. 그 결과, 숙주 무침과 미역국에서 모두 1:3으로 첨가한 버섯소금의 맛과 종합적인 기호도에서 가장 높은 것으로 나타났다. 혼합비율이 낮은 1:0.5와 1:1은 버섯의 첨가량이 많아 선호도가 높을 것으로 생각되었으나 오히려 낮

은 점수가 나타나 버섯 소금으로서는 이 혼합 비율은 부적당한 것을 확인하였다. 색에서는 항목간에 차이가 없는 것으로 나타났으며 향에서는 1:3의 버섯 소금이 가장 점수가 높아 선호함을 알 수 있었다(Table 22).

Table 21. Sensory evaluation of mushroom salts

Ratio	Taste	Color	Flavor	Mushroom flower	Overall acceptability
1:4	4.29±1.4 <sup>a</sup>	5.00±1.2 <sup>a</sup>	4.21±1.3 <sup>a</sup>	3.07±2.0 <sup>a</sup>	4.57±1.2 <sup>a</sup>
1:3	4.50±1.1 <sup>a</sup>	5.21±1.1 <sup>a</sup>	4.29±1.1 <sup>a</sup>	4.21±1.9 <sup>a</sup>	4.21±1.1 <sup>a</sup>
1:2	4.36±1.4 <sup>a</sup>	4.64±1.2 <sup>a</sup>	4.14±1.2 <sup>a</sup>	4.57±1.8 <sup>a</sup>	4.14±1.0 <sup>a</sup>
1:1	4.57±1.2 <sup>a</sup>	4.93±1.3 <sup>a</sup>	3.43±1.2 <sup>a</sup>	4.64±1.8 <sup>a</sup>	3.93±1.2 <sup>a</sup>
1:0.5	4.29±1.5 <sup>a</sup>	4.21±1.8 <sup>a</sup>	3.57±1.4 <sup>a</sup>	4.64±2.1 <sup>a</sup>	3.57±1.6 <sup>a</sup>

Table 22. Sensory evaluation of seasoned mung-bean sprout and seaweed soup prepared with mushroom salts.

	Ratio	Taste	Color	Flavor	Mushroom flavor	Overall acceptability
seasoned mung-be an sprout	1:4	4.60±1.1 <sup>ab</sup>	4.93±1.1 <sup>a</sup>	3.47±1.1 <sup>a</sup>	3.00±1.3 <sup>b</sup>	4.42±1.0 <sup>a</sup>
	1:3	4.27±1.3 <sup>b</sup>	4.67±1.0 <sup>ab</sup>	3.60±1.1 <sup>a</sup>	3.40±1.6 <sup>b</sup>	3.93±0.8 <sup>b</sup>
Seaweed soup	1:4	4.83±1.1 <sup>a</sup>	4.20±1.1 <sup>ab</sup>	3.27±1.2 <sup>a</sup>	4.67±1.3 <sup>a</sup>	4.50±0.8 <sup>a</sup>
	1:3	4.40±1.5 <sup>b</sup>	4.33±1.2 <sup>ab</sup>	3.60±1.4 <sup>a</sup>	4.67±1.5 <sup>a</sup>	4.40±1.4 <sup>a</sup>

라. 버섯소금의 제조과정

1) 시료

버섯 : 그린피스에서 제공받은 버섯과 대형마트에서 버섯을 구입하여 사용하였다.

꽃소금 : 해표, 꽃소금(재제소금, NaCl 88%이상)을 이용하였다.

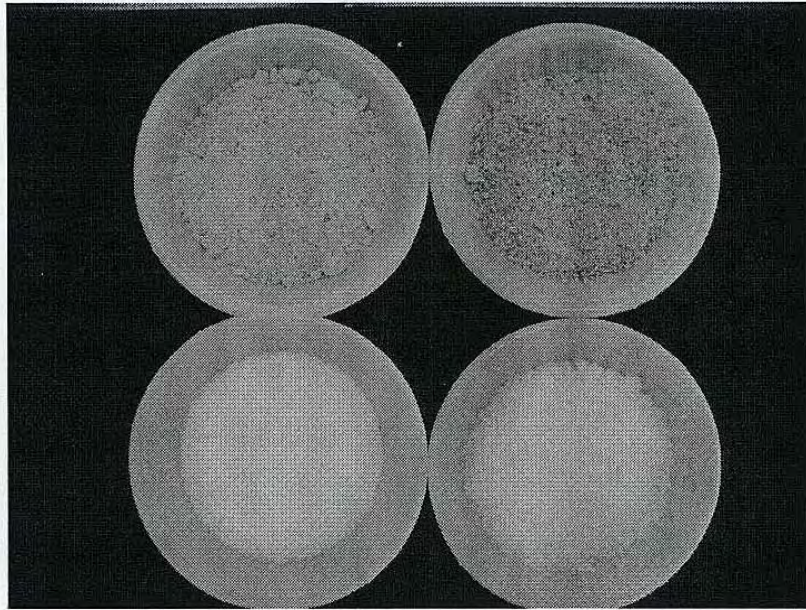
2) 제조과정

천연맛소금 : 제조과정은 아래와 같으나 맛소금을 대체할 용도로 개발됨으로 소금량이 많아서 소금이 중심이 됨.

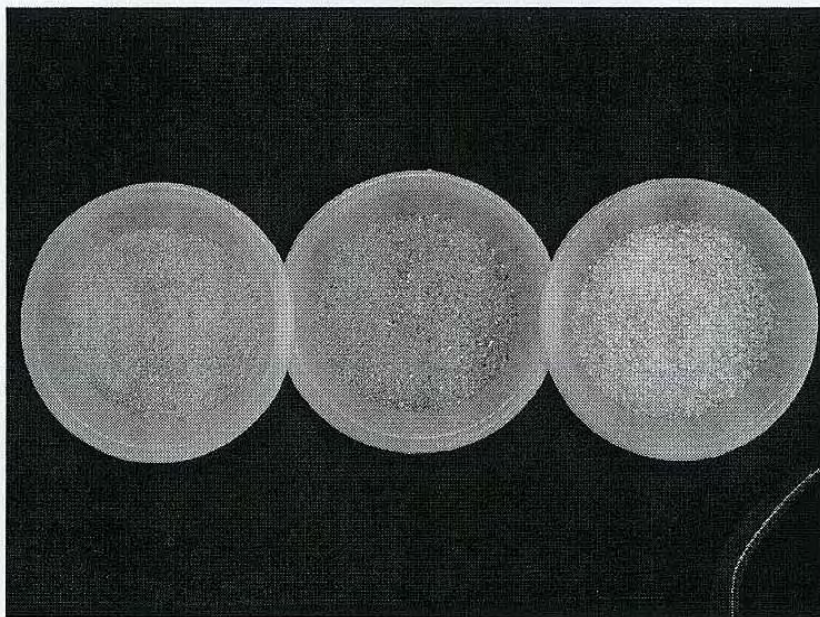
천연조미료 : 제조과정은 천연맛소금과 같으나 일반 조미료를 대체해서 조리에 활용할 것이므로 버섯이 중심이 되고 소금의 처리는 버섯고유의 향기를 유발시키는데 필요한 만큼만 이용함

제조과정	내용
재료준비 ↓ 세척 및 정리 ↓ 세절 ↓ 재우기 ↓ 건조 ↓ 밀봉, 보관	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 버섯(느타리, 표고, 새송이)와 꽃소금 준비</li> <li>○ 목질화된 부분이나 찌꺼기가 묻은 부분은 제거</li> <li>○ 버섯을 얇게 슬라이스한다.</li> <li>○ 버섯과 꽃소금을 1:4의 비율로 혼합하여 밀봉, 실온에서 재운다.</li> <li>○ 50℃, 송풍건조기에서 48시간 건조시킨다.</li> <li>○ 분쇄기로 마쇄하여 밀봉한 후 제품으로 이용한다.</li> </ul>

Fig. 2. Protocol for the preparation of mushroom salts.



◆ 맛소금 (느타리버섯, 표고버섯, 정제맛소금, 꽃소금)



◆ 조미료(느타리버섯, 표고버섯, 새송이버섯)

Picture 1. Mushroom salts and mushroom seasonings

### 3) 최종 제품의 관능검사

천연조미료와 천연맛소금의 관능검사는 일반소비자를 대상으로 차이검정(3점 시험법)을 실시하여 통계적 유의성을 확인하고, 외식계열(조리분야, 외식분야) 전문가 15명을 대상으로 맛, 향, 색, 기호도를 7점법으로 조사한 다음 제품별로 선호하는 순서를 정하도록 하였다. 집단별로 조사한 결과는 아래와 같다.

#### 가) 일반소비자 집단

일반소비자는 영남대학교 식품가공과 외식학 전공 대학원생 및 학부생을 대상으로 하여 천연조미료 자체와 나물(호박, 시금치)무침으로 예비 관능검사를 3회 실시하였다. 그러나 세밀한 맛의 차이를 많은 대상자가 느끼지 못하는 것으로 나타나 관능검사의 방법을 전문가와는 다르게 하여 실시하였다.

사용한 관능검사법은 3점시험법(triangle test)<sup>1)</sup>으로 2개의 시료는 동일한 것, 1개의 시료는 다른 것을 놓아두고 다른 시료 하나를 1차적으로 찾도록 하였다. 찾은 다음 다른 하나의 시료가 좋은지 나머지 시료가 좋은지를 2차적으로 판단하도록 하였다.

실험 결과, 전체 응답자수 22명을 대상으로 각각 천연맛소금과 천연조미료를 위와 같은 방법으로 비교하도록 하였으나 차이를 확인할 수는 없었다.

#### 나) 전문가 집단

전문가를 대상으로 버섯을 첨가한 천연맛소금과 천연조미료를 검사한 결과는 Table 23, 24와 같다. 느타리소금은 맛과 기호도에서는 다른 것보다 좋았으나 색과 향에 있어서는 낮게 나타났다. 그 다음으로 표고소금, 꽃소금, 맛소금 순으로 나타났다. 색에서는 천연맛소금보다 시판소금의 점수가 높았는데 이것은 소금은 흰색이어야 한다는 선입관으로 생긴 것으로 판단되었으나 그 외 맛과 전체적인 기호도에서는 시중에 판매하는 소금(맛소금, 꽃소금)보다는 버섯

---

1) 3점시험법: 두 개는(짝수시료)는 동일하고 하나는 다른 품질의 시료(홀수시료) 세개를 동시에 제시하고 그 중에서 홀수시료를 지적케하는 방법이다. 이 방법에서는 미지의 시료가 3개이므로 기회 의존에 의한 정답확률은 1/3이다. 이 방법은 차이 식별 능력이 비교적 예민하다.

소금을 더 선호하였다.

천연조미료에서는 느타리조미료는 향에서는 점수가 낮았으나 맛, 색, 기호도 측면에서는 다른 조미료보다는 높은 점수대가 나타났다. 표고조미료는 버섯이 가진 고유의 색으로 인해 거부감이 나타나 기호도 점수가 낮은 반면에 느타리조미료와 새송이조미료는 기호도 점수가 높았다.

이 결과는 맛소금결과에서도 나타났듯이 조미료의 색이 영향을 미친다는 것을 알 수 있으며 표고버섯이 소금이나 조미료로 제조되기 위해서는 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Table 23. Sensory evaluation of natural salt

	<i>Pleurotus ostreatus</i> (PO salt)	<i>Lentinus edodes</i> (LE salt)	Matsogum salt	Ggotsogum salt
Taste	5.00±1.48	4.45±1.44	3.92±1.85	4.27±1.19
Color	3.91±0.94	3.63±1.35	4.73±1.34	4.64±1.43
Flavor	3.73±1.49	4.36±1.57	4.00±1.00	3.81±0.98
Overall acceptability	4.55±1.13	4.45±1.51	3.36±1.36	3.82±0.98
Preference	<b>PO salt&gt;LE salt&gt;Ggotsogum salt&gt;Matsogum salt</b>			

Table 24. Sensory evaluation of natural seasonings

	PO seasoning	LE seasoning	PE seasoning
Taste	5.17±1.26	4.42±0.99	3.67±1.15
Color	4.67±1.23	3.50±1.24	5.17±1.19
Flavor	3.50±1.08	4.83±1.19	3.75±1.14
Overall acceptability	5.00±1.47	4.50±1.00	4.08±0.90
Preference	<b>PO seasoning&gt;LE seasoning&gt;PE seasoning</b>		

다) 외국인 대상

국내에서 가장 선호도가 좋은 느타리소금을 외국인을 대상으로 관능검사를 실시하였다. 대조구로 시판 꽃소금을 이용하여 느타리버섯 소금의 관능검사를 실시한 결과, 거의 모든 항목에서 느타리 소금의 점수대가 높은 것으로 나타났다. 색과 향에서 알 수 있듯이 버섯향을 선호하는 것을 알 수 있었으며 버섯 소금이라는 것에 거부감을 거의 나타내지 않았다.

Table 25. Sensory evaluation of *Pleurotus ostreatus* salt by American consumers

Item	Ggotsogum salt	PO salt
Taste	5.31±0.94	5.62±0.77
Color	5.08±0.86	5.46±0.78
Flavor	4.77±1.01	5.23±0.83
Mushroom flavor	2.85±0.85	5.23±1.09
Overall acceptability	5.08±1.11	5.77±1.12

4) 버섯소금의 저장기간별 분석

최종적으로 버섯 소금에 사용할 버섯을 느타리로 결정하여 앞(Fig. 2)과 같이 제조하여 상온에서 100일간 보관하면서 20일 간격으로 성분 변화를 조사하였다.

가) 색도

색도에서는 밝기는 저장기간이 길어짐에 따라 수치가 상승하였으나 큰 변화는 없었다. 적색도는 혼합비율에 관계없이 전반적으로 감소하였으나 황색도는 점차적으로 증가하는 현상이 나타났다(Table 26).



Table 26. Change of color values according to storage days

Item day	1:3			1:4		
	L	a	b	L	a	b
0	79.25±0.74	0.56±0.04	9.57±0.11	82.55±1.44	0.56±0.14	8.86±0.68
20	80.25±0.30	0.70±0.19	9.98±0.37	86.38±1.63	0.48±0.10	8.92±0.58
40	81.05±0.27	0.14±0.10	10.01±0.41	85.82±1.12	0.32±0.11	9.33±0.35
60	80.08±0.32	0.45±0.12	9.88±0.32	85.24±1.21	0.30±0.10	9.52±0.23
80	82.12±0.28	0.35±0.11	8.24±0.25	84.22±1.07	0.28±0.11	9.64±0.22
100	81.84±0.25	0.47±0.09	8.22±0.17	85.36±1.28	0.22±0.07	9.47±0.32

나) 미생물 검사

저장기간별 느타리버섯 소금의 총균수를 측정된 결과, 희석비율 1:4의 제품이 총균수가 많이 나타나는 것을 알 수 있었으며, 저장 40일째까지 급격히 상승하였다가 그 이후에는 완만한 감소를 보였다. 희석비율 1:3의 제품에서는 균수의 급격한 상승은 없었으나 저장기간이 길어짐에 따라 서서히 증가하다가 감소하였다.

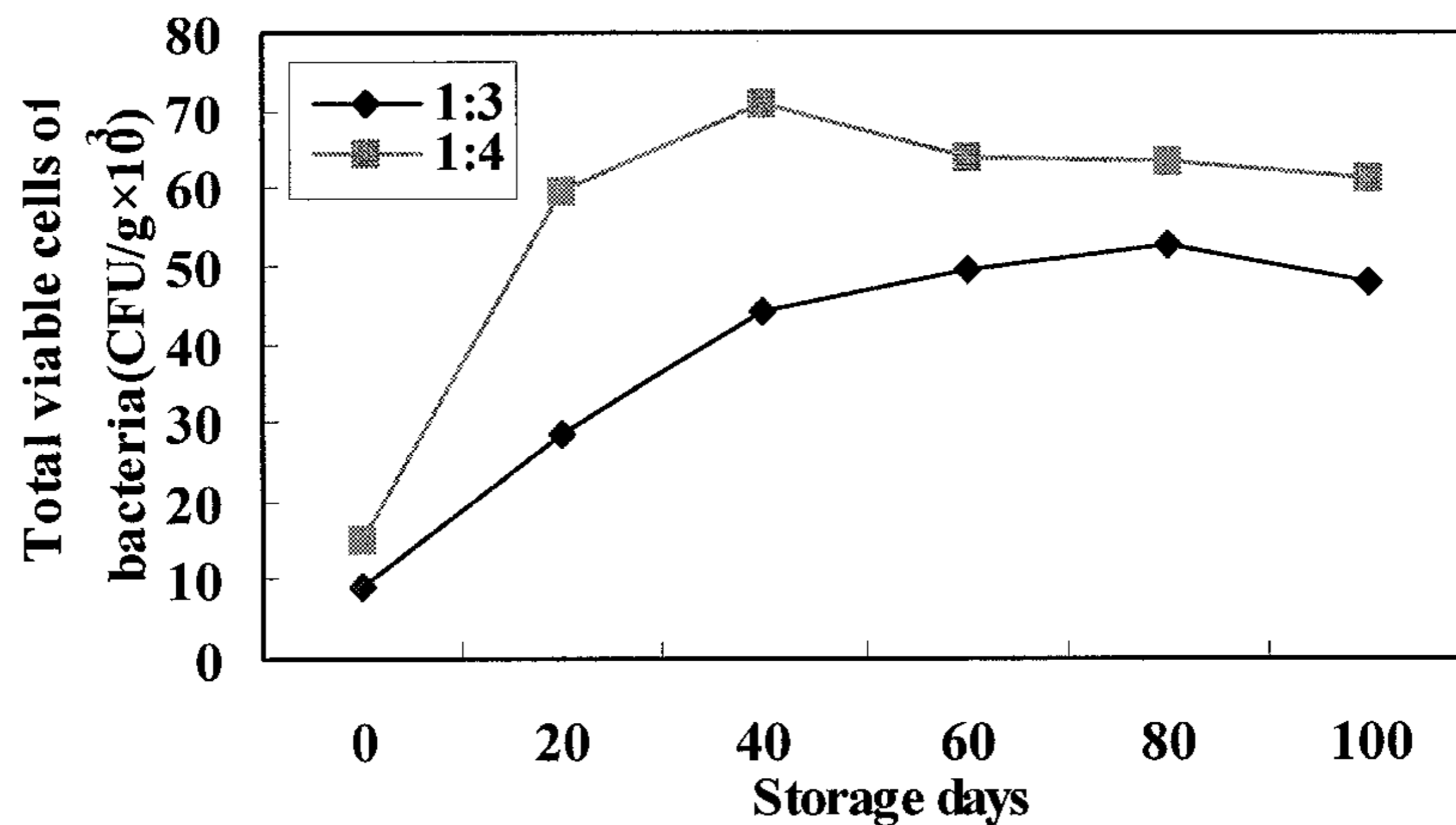


Fig. 3. Total viable cells of bacteria according to storage days.

다) 관능검사

느타리버섯으로 제조한 버섯소금의 최종 제품으로서 느타리버섯과 꽃소금을 1:3과 1:4의 비율로 제조하여 상온에서 보관하면서 20일 간격으로 관능검사를 실시하였다. 저장 기간이 경과함에 따라 맛과 종합적인 기호도의 점수가 점차적으로 상승하는 것으로 나타났다. 이것은 초기에는 버섯 소금에 대한 거부감이 낮은 점수를 나타내었지만 점차 익숙해져 버섯 소금에 대한 선호도가 높아진 것으로 판단된다. 특히, 혼합비율 1:3보다 1:4로 혼합하여 제조한 버섯소금의 선호도가 높아졌으며 버섯 소금은 1:4로 제조하는 것이 적합함을 한번 더 확인하였으며 버섯 소금은 상온에서 개봉후 보관할 경우에는 3개월까지는 품질에는 이상이 없는 것으로 판단된다.

Table 27. Sensory evaluation of mushroom salts prepared with *Pleurotus ostreatus*(PO salt) on storage days

day	Ratio	Taste	Color	Flavor	Mushroom flavor	Overall acceptability
0	1:3	4.69±1.03	4.62±0.96	3.23±0.01	3.92±1.85	4.54±0.88
	1:4	4.38±1.12	5.23±1.01	3.85±0.80	3.31±1.38	4.15±0.90
20	1:3	4.87±1.06	4.40±0.91	3.07±1.16	4.13±1.55	4.40±0.99
	1:4	5.07±0.80	4.87±0.92	3.73±1.39	3.67±1.35	4.73±0.88
40	1:3	4.25±0.75	4.25±1.48	3.08±1.38	4.00±1.28	4.68±0.90
	1:4	5.25±0.75	4.83±1.03	3.58±1.62	3.33±1.37	5.10±0.80
60	1:3	4.52±1.01	4.20±1.21	3.02±1.22	3.98±1.11	4.78±0.87
	1:4	5.87±1.05	4.88±1.01	3.62±1.21	3.21±1.12	5.26±0.92
80	1:3	4.62±1.21	4.27±1.11	3.14±1.33	3.47±1.13	4.65±0.89
	1:4	5.51±1.24	5.12±0.87	3.28±1.21	3.04±1.02	5.36±0.78
100	1:3	4.68±1.11	4.35±1.21	3.04±1.21	3.21±1.87	4.70±0.76
	1:4	5.21±1.34	5.24±0.97	3.51±1.41	3.07±1.24	4.88±0.75

#### 4. 버섯 간장의 제조

##### 가. 버섯의 종류에 따른 관능검사

버섯 간장 제조에 적합한 버섯을 선택하기 위하여 버섯과 간장의 비율을 임의적으로 잡아서 관능검사를 실시하였다. 그 결과, 느타리버섯과 표고버섯 간장이 다른 버섯에 비하여 모든 항목에서 높은 점수를 얻었으며 특히, 표고버섯이 맛과 종합적인 기호도에서 5.10과 5.04로 가장 높았다.

Table 28. Sensory evaluation of mushroom soy sauces

	Taste	Color	Flavor	Mushroom flavor	Overall acceptability
<i>Flammulina velutipes</i>	4.33±1.29 <sup>a</sup>	3.60±1.12 <sup>b</sup>	4.40±1.06 <sup>b</sup>	3.40±1.40 <sup>b</sup>	4.73±1.33 <sup>a</sup>
<i>Pleurotus eryngil</i>	4.27±1.28 <sup>a</sup>	4.73±1.03 <sup>a</sup>	4.00±0.85 <sup>b</sup>	3.60±1.72 <sup>b</sup>	4.13±0.99 <sup>b</sup>
<i>Agaricus bisporus</i>	4.67±0.82 <sup>a</sup>	5.33±1.23 <sup>a</sup>	4.60±1.18 <sup>ab</sup>	4.00±1.46 <sup>ab</sup>	4.00±1.20 <sup>b</sup>
<i>Pleurotostreatus</i>	4.53±1.25 <sup>a</sup>	4.60±0.99 <sup>a</sup>	4.80±1.01 <sup>a</sup>	4.93±1.28 <sup>a</sup>	4.80±0.86 <sup>a</sup>
<i>Lentinus edodes</i>	5.10±0.72 <sup>a</sup>	4.33±1.03 <sup>b</sup>	4.90±0.51 <sup>a</sup>	5.12±0.98 <sup>a</sup>	5.04±0.66 <sup>a</sup>

##### 나. 버섯과 간장 비율에 따른 관능검사

버섯간장에 적합한 혼합비율을 조사한 결과, 표고버섯과 간장의 혼합비율이 증가함에 따라 버섯향을 제외한 나머지 항목에서 낮은 점수대가 나타났다. 1:5로 혼합한 간장이 버섯향은 약하다고 하였으나 맛, 색, 향, 종합적인 기호도에서는 가장 높은 점수로 나타나 버섯간장의 혼합비율은 버섯과 간장 1:5가 가장 적합함을 알 수 있었다.

Table 29. Sensory evaluation of LE soy sauce.

	Taste	Color	Flavor	Mushroom flavor	Overall acceptability
1:10	5.20±1.01 <sup>a</sup>	4.93±1.16 <sup>a</sup>	5.00±1.07 <sup>a</sup>	3.20±1.82 <sup>a</sup>	5.07±1.03 <sup>a</sup>
1:5	5.47±1.30 <sup>a</sup>	5.20±1.08 <sup>a</sup>	5.27±0.96 <sup>a</sup>	3.53±1.77 <sup>a</sup>	5.13±0.99 <sup>a</sup>
1:3	4.27±0.88 <sup>b</sup>	4.80±1.21 <sup>a</sup>	4.60±1.06 <sup>a</sup>	3.47±1.51 <sup>a</sup>	4.73±0.88 <sup>a</sup>
1:1	3.93±1.71 <sup>b</sup>	3.87±1.06 <sup>b</sup>	3.40±1.18 <sup>b</sup>	4.20±2.01 <sup>a</sup>	3.87±1.36 <sup>b</sup>

다. 버섯간장 제조공정

1) 시료

버섯 : 본 실험에 사용한 표고버섯은 대구, 경북지역의 마트에서 구입하여 사용하였다.

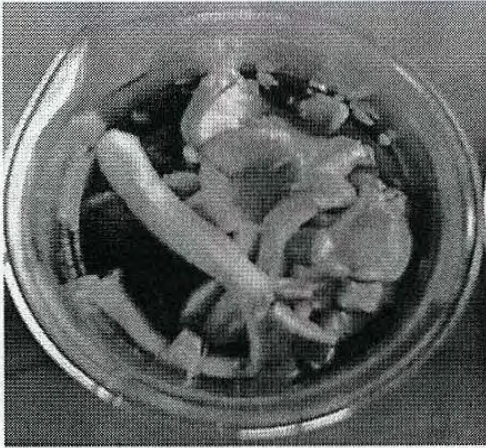
진간장 및 국간장 : 시판 진간장과 국간장을 이용하였다.

2) 제조공정

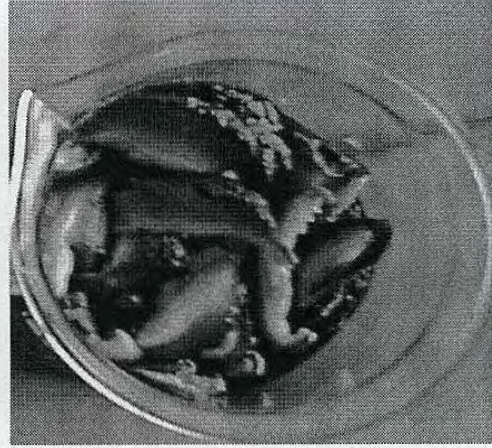
	내용
재료준비	○ 버섯(느타리, 표고, 새송이)과 간장을 준비한다.
↓	
↓	
세척 및 정리	○ 목질화된 부분이나 찌꺼기가 붙은 부분은 제거한다.
↓	
세절	○ 버섯을 얇게 슬라이스한다.
↓	
재우기	○ 버섯100g에 간장 500cc씩 부어 밀봉하여 실온에서 재운다.
↓	
여과	○ 48시간 재운 후 여과한다.
↓	
밀봉,보관	○ 밀봉한 후 제품으로 이용한다.

Fig. 4. Protocol for the preparation of mushroom soy sauce.

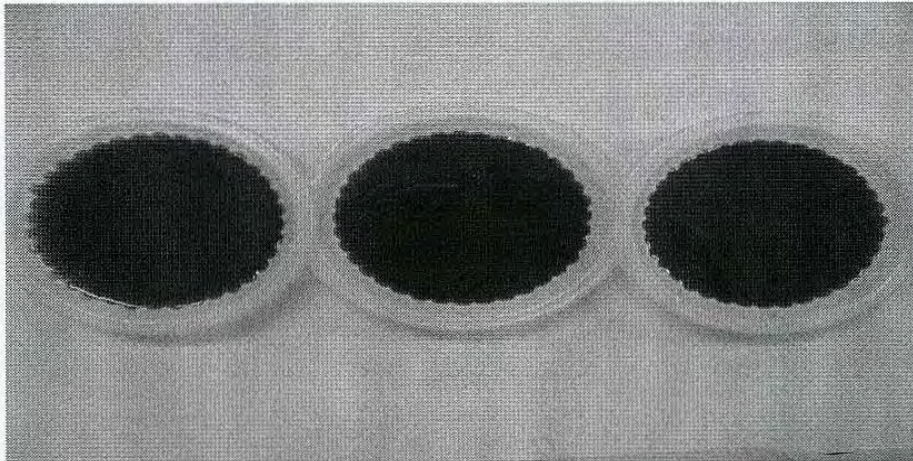
◆ 느타리버섯



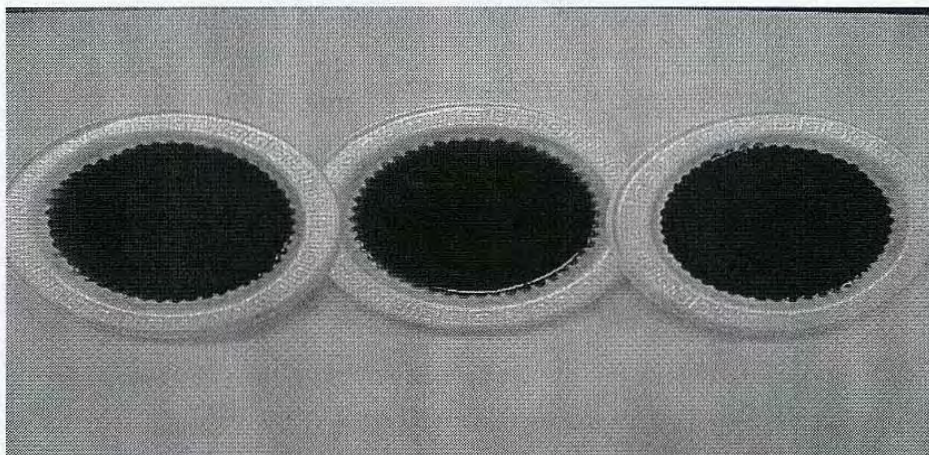
◆ 표고버섯



◆ 진간장 (느타리간장, 표고간장, 시판진간장)



◆ 국간장 (느타리간장, 표고간장, 시판국간장)



Picture 2. Mushroom soy sauce

### 3) 관능검사

#### 가) 일반소비자 집단

일반소비자는 영남대학교 식품가공과 외식학 전공 대학원생 및 학부생을 대상으로 제조한 천연간장과 시판간장을 관능검사를 하였다. 그러나 세밀한 맛의 차이를 많은 대상자가 느끼지 못하는 것으로 나타나 앞의 소금과 마찬가지로 관능검사의 방법을 전문가와는 다르게 하여 차이검정을 실시하였다.

사용한 관능검사법은 3점시험법(triangle test)으로 2개의 시료는 동일한 것(짜수시료), 1개의 시료는 다른 것을 놓아두고(홀수시료) 홀수시료를 1차적으로 찾도록 하였다. 그리고 홀수시료가 좋은지 짜수시료가 좋은지의 선호도를 2차적으로 판단하도록 하였다.

진간장 실험 결과, 전체 응답수 45명중 60%가 홀수시료를 찾았으며 그중 66.6%가 짜수시료인 진간장(C-1)보다 버섯진간장을 선호하였다. 그리고 느타리와 표고로 제조한 버섯진간장을 상호 비교한 결과, 54%가 다른 하나의 시료를 찾았으며 선호도에서는 느타리진간장 : 표고진간장 = 36% : 64%로 표고진간장을 훨씬 선호하는 것으로 조사되었다.

국간장 실험 결과, 전체 응답수 25명중 64%가 홀수시료를 찾았으며 그중 80%가 짜수시료인 국간장(C-2)보다 버섯간장을 선호하였다. 그리고 느타리와 표고로 제조한 버섯국간장을 상호 비교한 결과 50%가 다른 하나의 시료를 찾았으나 선호도에서는 느타리국간장 : 표고국간장 = 45% : 55%로 차이는 없었다. 이 결과로 보아 일반소비자들도 시판되는 국간장과 버섯간장의 차이를 느꼈으며 국간장보다 버섯간장을 더 선호한다고 할 수 있을 것이다. 진간장과 국간장의 차이 검정은 95% 유의수준에서 통계적으로 차이가 없는 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ).

Table 30. 일반소비자를 대상으로 한 3점시험법(진간장)

					합계
A group			전체응답수		45
정답 : A-1	A-1	느타리진간장	1번정답수		27
	C-1	진간장	2번선호도표시	홀수시료	18
	C-1	진간장		짝수시료	9

B group			전체응답수		45
정답 : B-1	C-1	진간장	1번정답수		29
	B-1	표고진간장	2번선호도표시	홀수시료	21
	C-1	진간장		짝수시료	8

C group			전체응답수		46
정답 : A-1	B-1	표고진간장	1번정답수		25
	B-1	표고진간장	2번선호도표시	홀수시료	9
	A-1	느타리진간장		짝수시료	16

Table 31. 일반소비자를 대상으로 한 3점시험법(국간장)

					합계
A group			전체응답수		25
정답 : A-2	A-2	느타리국간장	1번정답수		12
	C-2	국간장	2번선호도표시	홀수시료	8
	C-2	국간장		짝수시료	4

B group			전체응답수		25
정답 : B-2	C-2	국간장	1번정답수		16
	B-2	표고국간장	2번선호도표시	홀수시료	6
	C-2	국간장		짝수시료	10

C group			전체응답수		25
정답 : A-2	B-2	표고국간장	1번정답수		16
	B-2	표고국간장	2번선호도표시	홀수시료	5
	A-2	느타리국간장		짝수시료	11

▶ 간장의 전문가 집단과 일반소비자 두 집단 모두에서 비슷한 경향으로 나타난 결과로 보아 버섯간장으로는 느타리버섯보다는 표고버섯을 첨가하여 제조한 간장이 더욱더 제품성이 좋은 것으로 나타났다.

나) 전문가 집단

버섯진간장은 맛에 있어서 시판 진간장보다 진하게 느껴지는 맛으로 인해 높은 점수를 받았으며 향에서는 버섯향을 느껴 버섯진간장을 선호하는 대상자도 있었으나 시료간의 차이는 없는 것으로 나타났다. 맛과 기호도의 점수가 높아짐에 따라 간장의 선호도가 높은 것으로 조사되었다.

버섯국간장은 맛소금에서의 결과와 마찬가지로 색에서 표고국간장이 가장 낮은 점수이었고 시판 국간장이 색의 점수가 가장 높았다. 이 결과는 대상자들이 국간장으로 사용할 경우 색이 진한것보다는 맑고 투명한 것이 낫다고 판단한 것으로 보여진다. 그러나, 표고국간장은 색의 평가가 낮음에도 불구하고 맛과 기호도 측면에서 높게 나타나 가장 선호도가 높은 것으로 나타났다.

Table 32. Sensory evaluation of mushroom Jin ganjang

	PO Jin ganjang	LE Jin ganjang	Jin ganjang
Taste	4.50±1.69	4.64±1.55	3.50±0.94
Color	4.21±1.31	4.64±1.45	4.50±1.22
Flavor	4.07±1.44	4.14±1.56	4.28±0.82
Overall acceptability	4.36±1.15	4.50±1.56	4.14±0.86
Preference	LE Jin ganjang>PO Jin ganjang>Jin ganjang		



Table 33. Sensory evaluation of mushroom Guk ganjang

	PO Guk ganjang	LE Guk ganjang	Guk ganjang
Taste	4.69±1.03	4.77±1.64	4.15±1.57
Color	4.46±1.39	3.69±1.65	5.00±1.29
Flavor	4.08±1.44	4.38±1.04	4.46±1.51
Overall acceptability	4.08±1.12	4.85±1.46	4.23±1.54
Preference	LE Guk ganjang>PO Guk ganjang>Guk ganjang		

다) 미국인 대상

미국인들을 대상으로 시판진간장과 표고진간장을 관능검사를 실시한 결과, 표고진간장의 모든 항목에서 시판진간장에 비하여 점수가 높은 것으로 나타났으며 표고의 향이 간장의 향과 조화를 이루어 새로운 맛을 느낄수 있다는 의견도 있었다. 표고진간장은 반찬에 이용할 수 있을 뿐만 아니라 미국인들이 즐겨먹는 간장 소스에도 쉽게 적용할 수 있어 제품의 가치가 높은 것으로 판단된다.

Table 34. Sensory evaluation of Jin ganjang by American consumers

	Jin ganjang	LE Jin ganjang
Taste	4.82±0.87	5.81±0.75
Color	5.00±0.89	5.45±1.04
Flavor	4.64±0.81	5.09±0.70
Mushroom flavor	3.18±0.87	5.27±1.10
Overall acceptability	4.35±0.82	5.73±1.00

4) 버섯간장의 저장기간별 분석

가) 색도

혼합비율 1:5가 1:10보다 밝은 것으로 측정되었으나 수치적으로 큰 차이를 확인할 수는 없었다. 적색도는 1:5의 혼합비율이 전체적으로 높았다. 그러나 저장기간이 길어짐에 따라 버섯간장의 전체적인 색의 차이는 없는 것으로 나타났다.

Table 35. Changes of color values according to storage days

< *Lentinus edodes* Jin ganjang >

Days	1:5			1:10		
	L	a	b	L	a	b
0	20.23±1.55	5.84±2.44	1.37±0.87	18.35±1.01	1.93±0.14	1.18±0.29
20	19.02±0.83	2.34±1.31	1.05±1.07	18.39±0.23	1.33±0.53	1.16±0.21
40	20.35±2.06	8.07±4.01	2.84±2.49	18.69±1.10	1.29±0.55	1.76±0.25
60	18.11±0.27	2.00±1.39	1.22±0.89	19.39±1.14	1.31±0.75	1.63±1.45
80	18.02±0.21	3.21±1.14	1.20±0.87	18.57±1.02	1.30±0.58	1.54±1.24
100	18.81±0.14	3.54±1.25	1.15±0.88	18.77±1.04	1.28±0.75	1.54±0.87

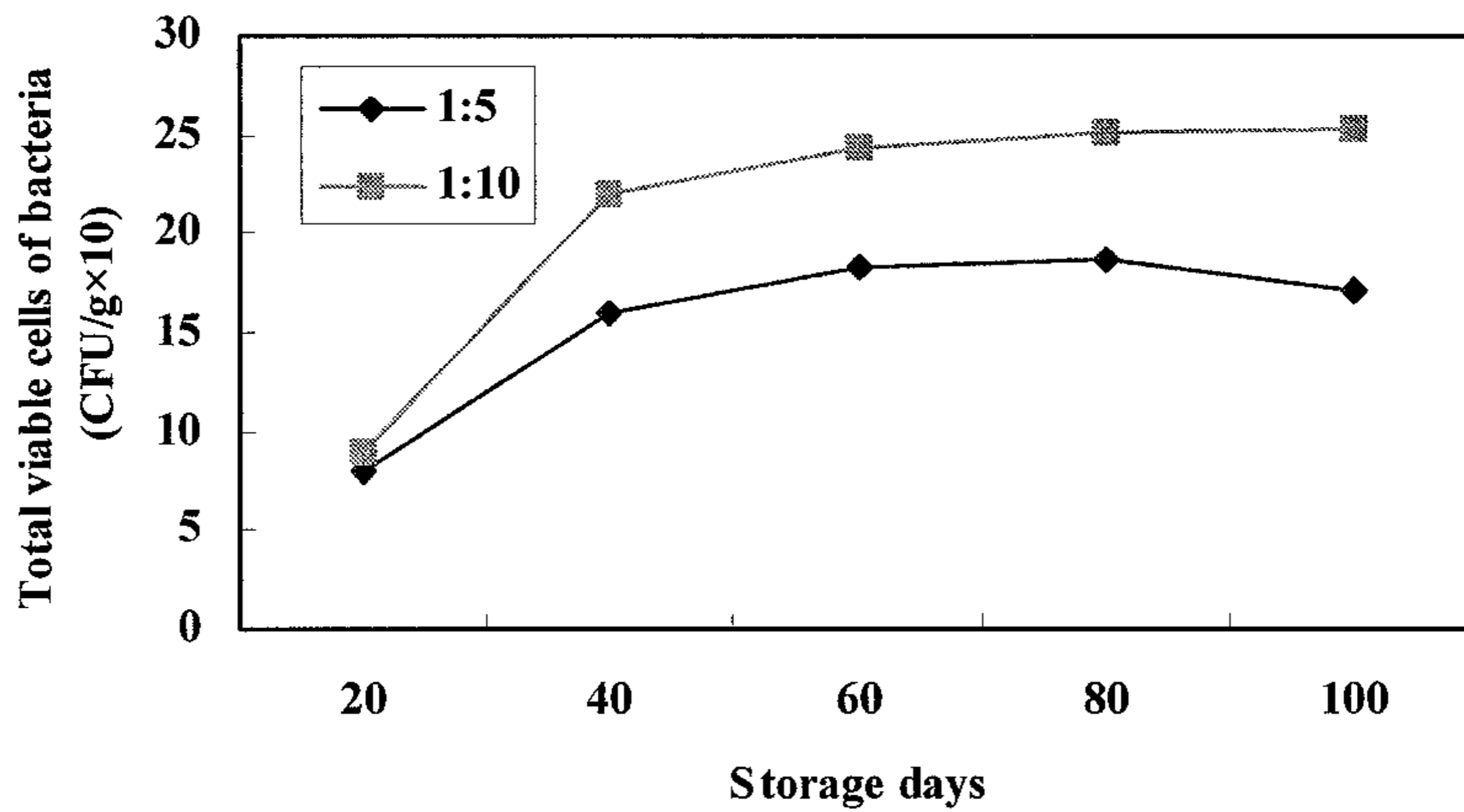
< *Lentinus edodes* Guk ganjang >

Days	1:10		
	L	a	b
0	21.11±1.10	2.21±0.24	3.24±1.21
20	21.33±1.11	2.98±0.17	3.60±1.10
40	21.38±0.82	3.09±0.38	3.82±1.56
60	24.51±3.71	4.72±0.52	4.30±1.21
80	22.35±2.14	3.47±0.87	3.87±1.14
100	21.24±1.57	3.25±0.49	3.64±1.18

나) 미생물검사

저장기간별로 총균수를 측정한 결과, 표고진간장에서는 저장 40일째부터 총균수가 증가하기 시작하여 그 이후로는 완만한 곡선으로 나타났다. 표고국간장에서는 20일째부터 총균수가 증가하였으며 그대로 유지되는 것으로 확인하였다.

< *Lentinus edodes* Jin ganjang >



< *Lentinus edodes* Guk ganjang >

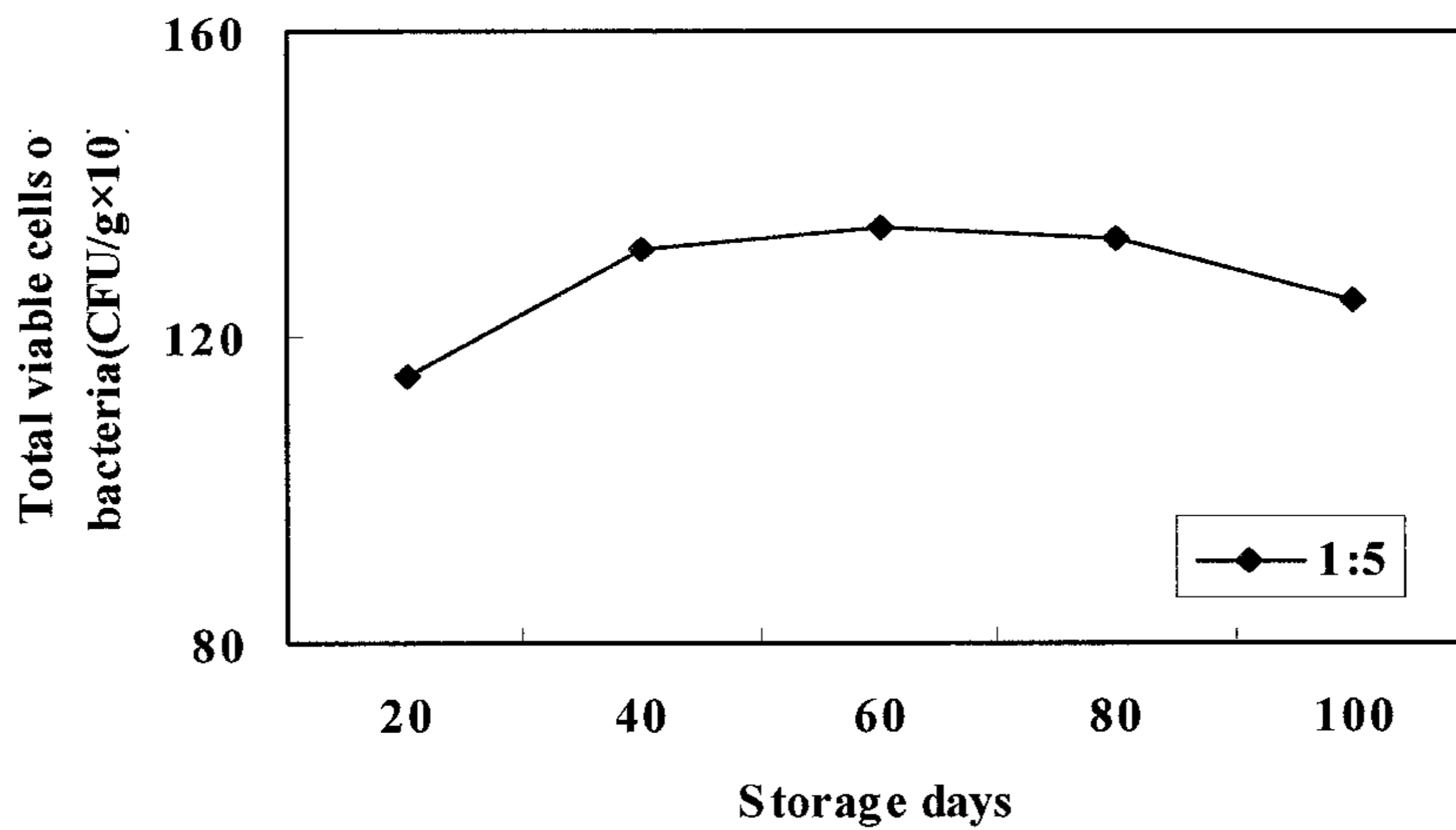


Fig. 5. Total viable cells of bacteria according to storage days

다) 관능검사

저장기간별로 관능검사를 한 결과, 향과 버섯향의 점수대는 점점 낮아졌으나 맛, 색, 종합적인 기호도에서는 큰 변화가 나타나지 않았다. 이것은 상온에서 개봉하여 제품을 보관하더라도 버섯의 첨가가 간장의 맛 변화에는 영향이 없음을 의미하는 것으로 판단된다.

Table 36. Sensory evaluation of mushroom Jin ganjang prepared with *Lentinus edodes*(LE Jin ganjang) on storage days

Days	Ratio	Taste	Color	Flavor	Mushroom flavor	Overall acceptability
0	1:5	5.27±0.70	4.87±0.92	4.73±1.03	3.20±1.32	4.93±0.70
	1:10	5.20±0.86	4.67±1.11	4.40±1.12	4.00±1.73	5.13±0.83
20	1:5	4.73±1.03	4.67±1.23	4.27±1.33	3.87±1.41	4.93±1.03
	1:10	4.87±1.06	5.40±0.74	4.87±1.06	4.13±1.68	5.20±0.94
40	1:5	4.67±0.98	4.42±1.08	4.42±1.24	2.83±0.94	4.75±1.14
	1:10	4.42±0.67	5.00±0.85	4.17±0.83	3.75±1.82	4.75±0.87
60	1:5	4.21±0.32	4.01±1.21	4.34±1.01	2.44±0.87	4.31±1.58
	1:10	4.35±0.52	4.87±0.84	4.25±0.74	3.21±1.21	4.87±0.88
80	1:5	4.54±0.24	4.24±0.97	4.21±1.11	2.87±0.89	4.21±1.24
	1:10	4.87±1.06	5.14±0.88	4.20±0.88	3.54±1.31	4.97±0.87
100	1:5	4.58±0.35	4.64±1.01	4.12±1.12	2.88±0.79	4.54±1.32
	1:10	4.97±0.87	5.31±0.87	4.21±1.01	3.24±1.49	5.02±0.77

Table 37. Sensory evaluation mushroom of Guk ganjang prepared with *Lentinus edodes*(LE Guk ganjang) on storage days

Days	Taste	Color	Flavor	Mushroom flavor	Overall acceptability
0	5.20±0.94	4.93±1.03	4.60±0.99	3.60±1.50	5.00±0.93
20	4.80±1.42	4.73±1.44	4.73±1.03	3.27±1.28	4.73±1.03
40	5.08±0.90	4.67±1.07	4.75±1.14	3.58±1.78	4.83±0.83
60	4.89±1.21	4.52±1.02	4.66±1.11	3.45±1.54	4.78±0.88
80	5.01±1.12	4.58±1.02	4.51±1.01	3.27±1.24	4.97±0.89
100	5.12±0.89	4.61±1.11	4.31±1.02	3.01±1.34	5.12±1.14

## 5. 버섯식해의 제조

### 가. 버섯 종류별 버섯 식해 제조

#### 1) 버섯의 전처리

앞에서 사용하는 5종의 버섯을 구입하여 마른 행주로 불순물을 제거하고 잘게 손으로 찢어 미리 소금에 살짝 절여서 준비하였다.

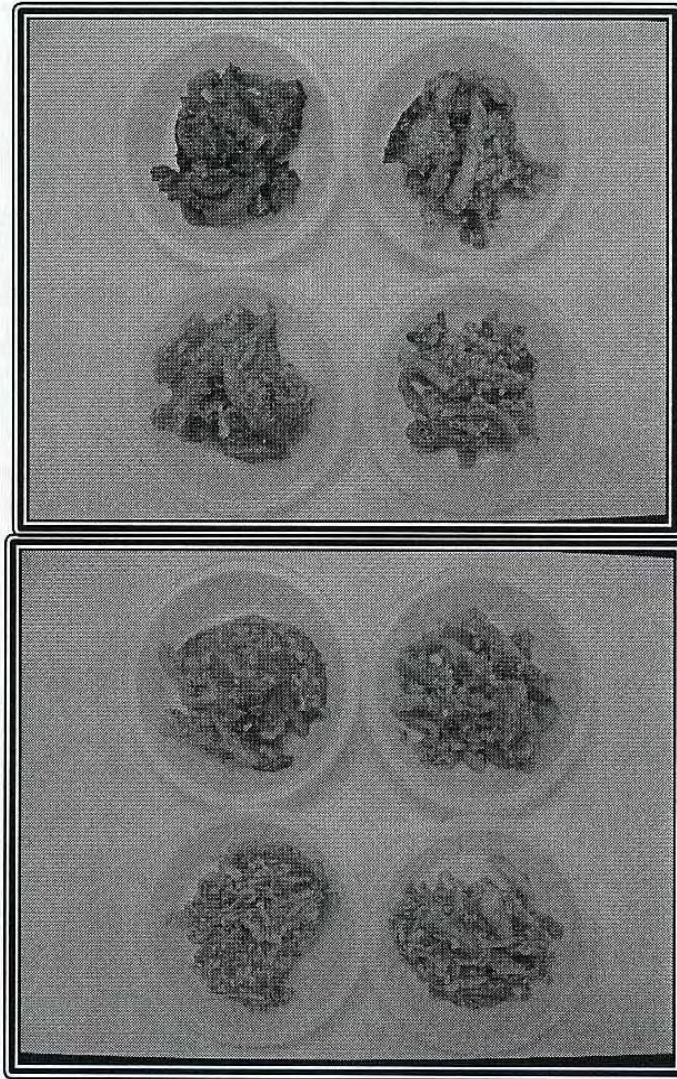
#### 2) 부재료의 전처리

보통 식해에 사용되는 부재료들을 사용하였으며 무는 굵은 채를 썰어 소금을 일정량 뿌려 재워둔다. 마늘과 생강은 곱게 다지고 고운 고춧가루를 준비하였다. 엿기름을 체에 받쳐 고운 가루만 받아 준비하였다.

#### 3) 버섯식해의 제조

미리 살짝 익힌 버섯과 위에서 전처리한 부재료를 혼합하여 고춧가루를 넣

어 색이 곱게 물들도록 버무렸다. 여기에 옛기름을 넣어 재차 버무린 다음 마른 그릇에 버섯식해를 꼭꼭 눌러 담아 버섯식해를 밀봉한 다음 실온에서 하루 밤 방치한 후 맛이 들기 시작하면 냉장고에 보관하였다.



上	A	B	E	F
下	C	D	G	H

NO	처리방법	NO	처리방법
A	생 표고버섯으로 제조한 식해	B	익힌 표고버섯으로 제조한 식해
C	생 느타리버섯으로 제조한 식해	D	익힌 표고버섯으로 제조한 식해
E	생 새송이버섯으로 제조한 식해	F	익힌 새송이버섯으로 제조한 식해
G	생 팽이버섯으로 제조한 식해	H	익힌 팽이버섯으로 제조한 식해

Picture 3. Mushroom Sikhae

#### 4) 버섯식해의 특성 조사

버섯 식해를 버섯종류별로 위와 같은 제조공정으로 제조하였다. 실온에서 1일 방치후 냉장보관하면서 발효기간중(저장기간중) 특성을 조사하였다.

##### 가) pH 및 산도

버섯 식해 저장기간에 따른 pH와 산도를 조사한 결과는 Fig 9와 같다. 배양 2일째에 pH가 급격히 떨어졌으나 그 이후부터는 서서히 감소하였다. 표고버섯으로 처리한 식해는 다른 버섯에 비해 pH의 변화가 낮았으나 배양 5일째부터 급격하게 떨어지는 것으로 나타났다. 산도의 변화는 모든 버섯 식해에서 배양 4일째까지 지속적으로 상승하였으나 그 이후부터는 현저하게 감소하였다.

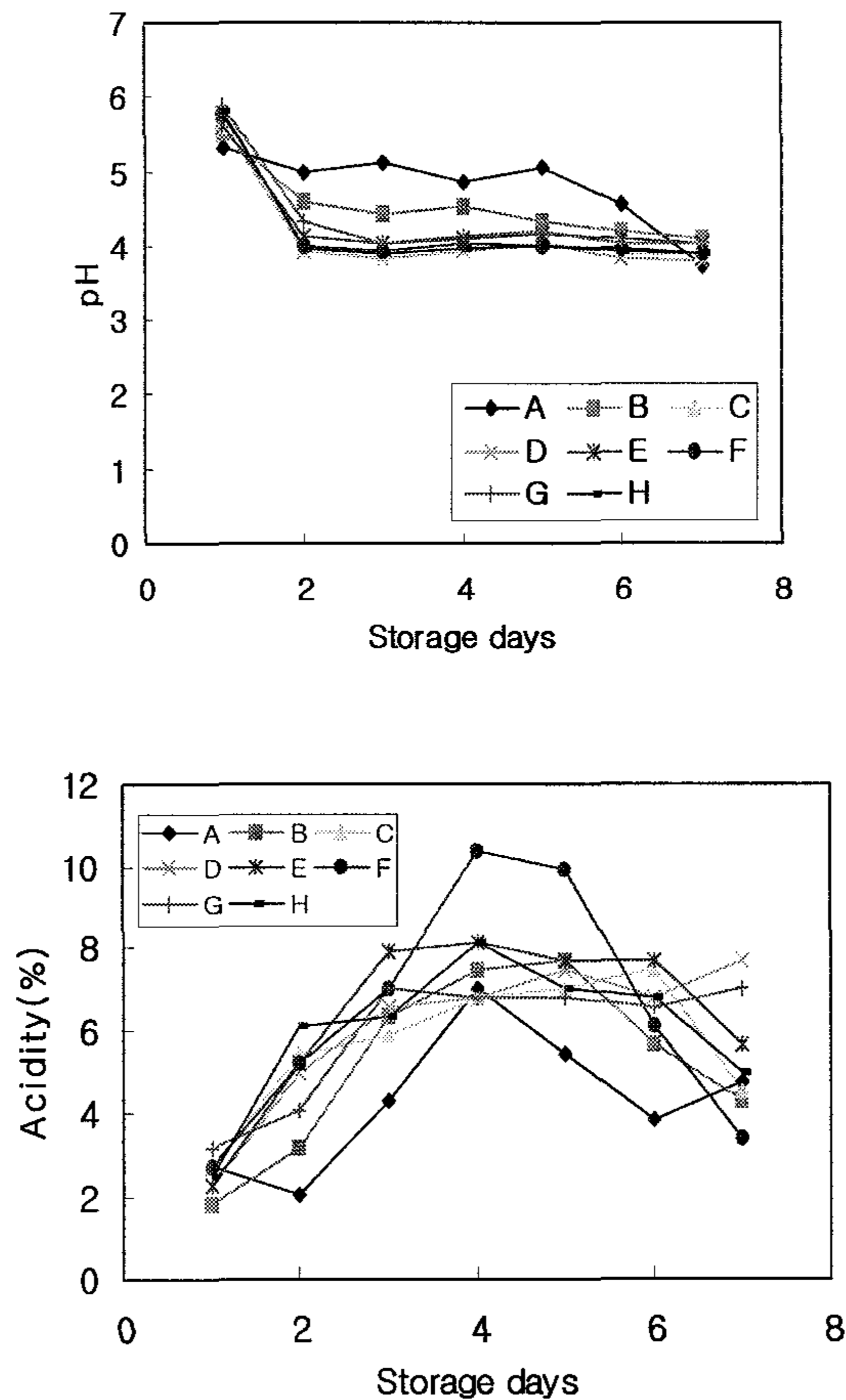


Fig. 6. Changes of pH and acidity according to storage days

나) 총균수와 젖산균수

총균수와 젖산균수 측정은 저장기간별로 시료 1g을 무균적으로 채취하여 증류수 9ml 넣어 균질화한 후 10분간 실온에서 방치한 다음 여과하였다. 이 여액을 0.1% peptone수로 단계 희석하였으며, 각 단계별로 희석한 액 1ml를 총균수는 PCA(Plate Count Agar), 젖산균수는 BCP(Brocresol Purple) 배지에 각각 접종하였다. 접종한 후 37°C에서 48시간 배양하고 생성된 colony수를 계수하였다.

미생물 검사를 실시한 결과, 저장 2일째에 버섯 식해의 총균수가 증가하기 시작하였다. 그리고 저장기간이 길어짐에 따라 표고버섯을 이용하여 제조한 버섯 식해(A, B)는 큰 변화없이 완만하게 유지되거나 서서히 감소되는 것으로 조사되었으나 다른 식해들은 저장 5일째에 급격하게 총균수가 감소하였다.

버섯 식해의 저장기간별 젖산균수는 저장기간이 길어질수록 계속 증가하였다. 특히, 팽이버섯을 이용한 버섯 식해는 저장 4일째에서 5일째사이에서 매우 급격하게 젖산균수가 증가하였다. 다른 식해 제품들도 저장 5일째까지 서서히 증가하였으며 그 이후부터는 완만하게 유지되거나 감소하는 것으로 조사되었다.

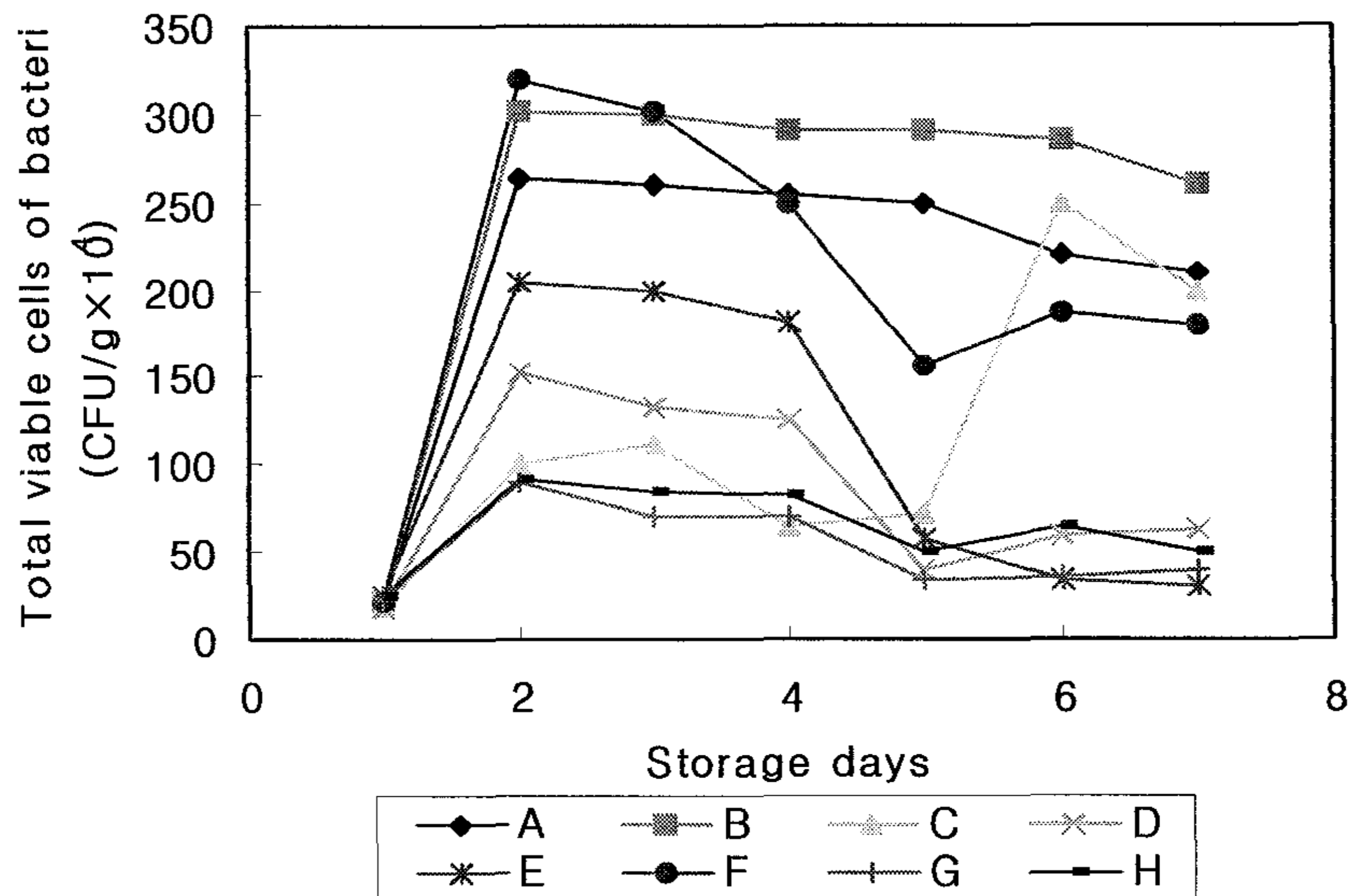


Fig. 7. Total viable cells of bacteria according to storage days.



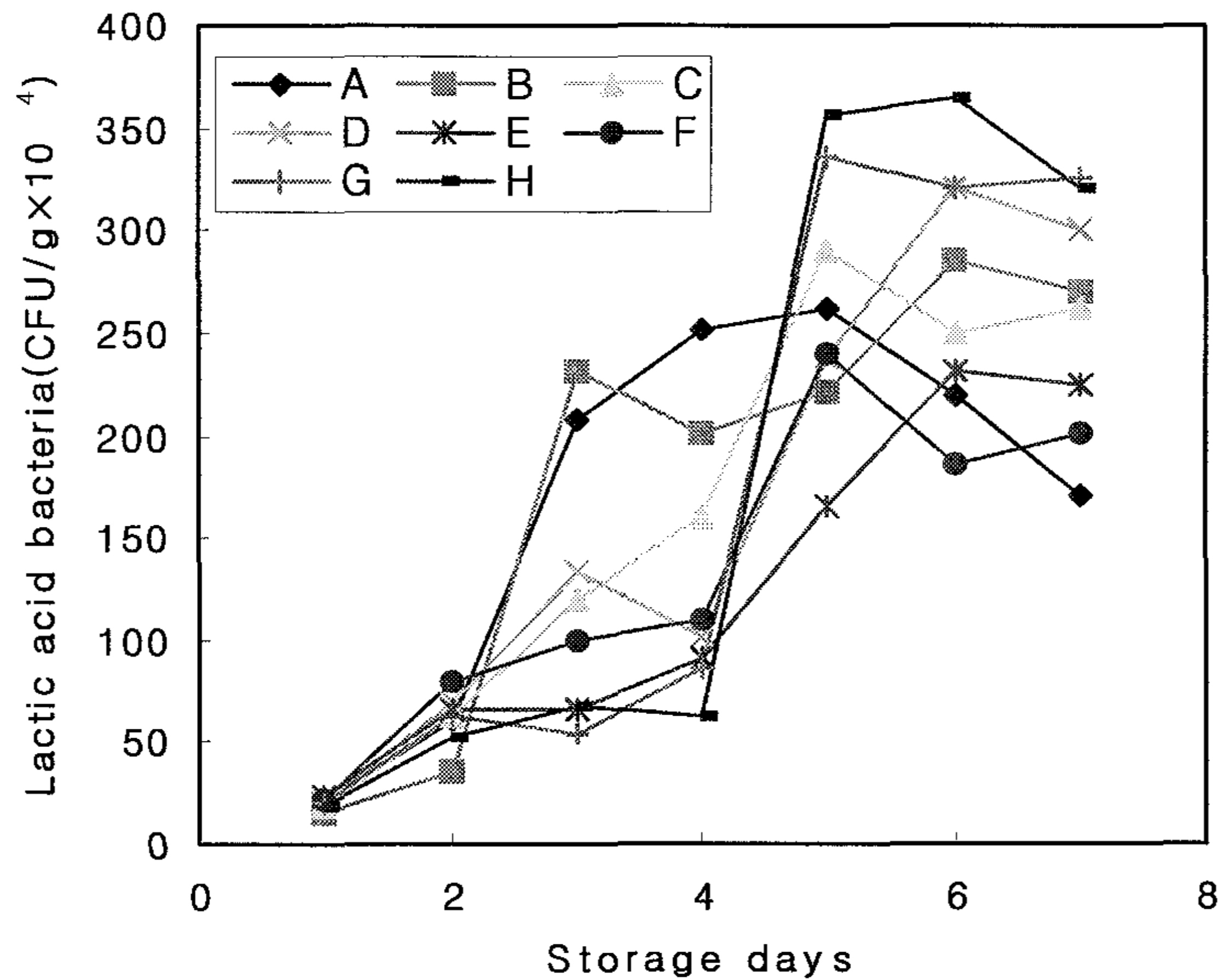


Fig. 8. Lactic acid bacteria according to storage days.

#### 다) 관능검사

생표고버섯식해(A)는 저장과정 중에 심하게 부패되어 관능검사가 불가능하여 제외하고 나머지 7가지 제품에 대하여 관능검사를 실시하였다.

표고버섯, 느타리버섯, 새송이버섯, 팽이버섯을 주재료로 하여 제조한 버섯식해의 관능검사에서, 일반 소비자들은 생팽이버섯식해를  $4.65 \pm 1.46$ 으로 가장 선호하였고 그 다음으로 느타리버섯식해(C, D), 데친팽이버섯식해(H) 순이었다. 그리고, 데친표고버섯식해(B)는 식해가 표고버섯으로 인해 다른 식해에 비하여 색이 어두웠고, 섭취후 끝맛이 짧은 맛이 나타나 버섯 식해중에서 가장 낮은 점수를 얻었다.

전문가들을 대상으로 하여 버섯식해를 관능검사한 결과, 일반 소비자들의 관능검사와 비슷한 경향으로 나타났다. 즉, 생팽이버섯식해(G)와 느타리버섯식해(C,D)가 가장 뛰어난 기호성을 나타내었다. 데친표고버섯식해(B)는 색과 향에서 낮은 평가가 이루어져 전체적인 기호도 점수가 가장 낮았다. 이 결과는 일반소비자들에게서도 비슷하게 나타난 것으로 표고버섯으로 버섯식해를 제조

하기 위해서는 더 많은 노력이 필요할 것으로 판단된다.

그리고, 버섯 발효제품중 버섯식해의 가능성을 확인할 수 있었다. 더불어 일반소비자와 전문가의 모든 집단에서 팽이버섯식해와 느타리버섯식해가 다른 버섯식해보다 가장 선호하는 것으로 나타나 팽이버섯과 느타리버섯이 식해재료로 적합한 것으로 조사되었다. 특히, 팽이버섯과 느타리버섯은 대량 생산으로 인해 가격하락폭이 가장 큰 품종이다. 버섯식해의 개발은 이 버섯들을 효율적으로 활용함으로써 가격하락으로 인해 고민하는 농민들과 다양한 식품을 요구하는 소비자들에게 만족을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

Table 38. Sensory evaluation of mushroom Sikhae by general consumers

	B	C	D	E	F	G	H
Taste	3.80±1.25	4.20±1.27	4.00±1.27	3.55±1.50	3.90±1.49	4.45±1.23	4.05±1.09
Color	4.00±1.07	4.05±0.99	4.25±1.12	4.20±1.00	4.10±0.96	4.65±1.18	4.05±1.19
Flavor	4.05±1.35	4.00±1.52	4.25±1.52	3.95±1.23	4.05±1.08	4.30±1.62	4.25±1.21
Overall acceptability	3.85±0.97	4.35±0.99	4.20±1.14	3.90±1.29	3.85±0.99	4.65±1.46	4.25±1.02

Table 39. Sensory evaluation of mushroom Sikhae by chefs

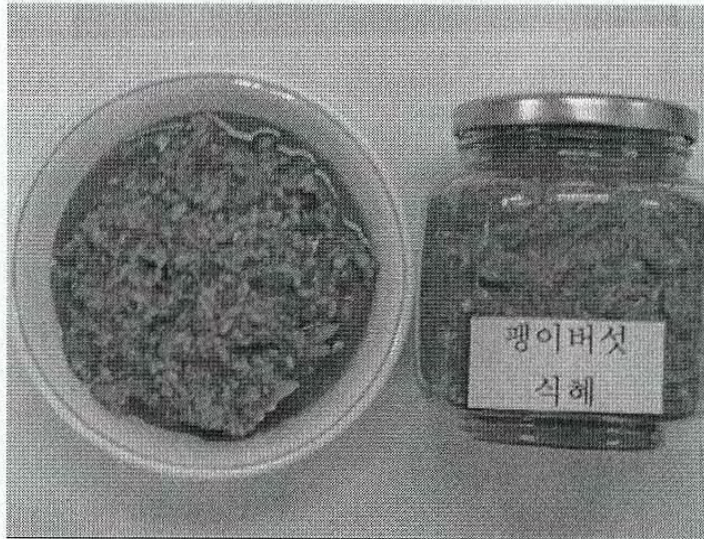
	B	C	D	E	F	G	H
Taste	4.11±0.92	4.67±1.58	4.78±0.97	4.56±1.13	4.33±0.70	4.78±1.09	4.56±1.23
Color	4.00±1.00	5.22±1.09	4.44±1.13	4.11±1.17	4.22±1.30	4.33±1.58	4.33±1.22
Flavor	3.78±1.48	4.00±1.87	4.33±1.12	5.00±1.41	4.33±1.11	4.78±1.09	4.88±1.17
Overall acceptability	3.78±1.30	4.78±1.48	4.89±1.05	4.22±1.20	4.44±1.01	4.78±1.48	4.22±1.30

나. 버섯식해의 제조공정

1) 제조공정도

버섯식해의 제조공정도는 아래와 같다.

제조공정	주요내용
재료준비             ↓	○ 버섯, 무, 밥은 같은 양으로 준비한다. 1) 버섯은 마른 행주로 깨끗이 닦아 먹기 좋은 크기로 썰어 둔다. 2) 무는 굵은 채로 썬다. 3) 쌀은 씻어 밥을 한다 4) 마늘과 생강은 곱게 다진다 5) 고춧가루로 곱게 빵아 준비한다 6) 엿기름을 체에 받쳐 고운 가루만 받아 준비한다.
↓ 절임 ↓	○ 손질한 버섯과 무는 소금을 일정량 뿌려 재워둔다.
↓ 물기제거 ↓	○ 절인 버섯과 무를 건져 물기를 완전히 제거한다 ○ 버섯은 전자렌지에 넣고 1분 30초간 익힌다.
↓ 무 전처리   ↓	○ 무에 먼저 고운 고춧가루를 넣어 색이 곱게 물들게 버무리린다.
↓ 양념제조 ↓	○ 다진 마늘, 생강, 설탕, 고운 고춧가루, 소금을 물들인 무에 넣고 버무리린다.
↓ 버무리기 ↓	○ 양념장에 버섯과 엿기름을 넣고 잘 버무리린다.
↓ 담기 ↓	○ 마른 그릇에 버섯식해를 푹푹 눌러 담는다.
↓ 밀봉 및 저장	○ 버섯식해를 밀봉한 다음 실온에서 하룻밤 방치한 후 맛이 들기 시작하면 냉장고에 보관한다.



< 저장중인 팽이버섯 식혜 >

2) 버섯식혜의 저장기간별 특성

가) pH

버섯식혜의 pH는 저장기간이 경과함에 따라 떨어졌으나 큰 변화는 나타나지 않았다. 버섯식혜를 제조후 냉장 보관하면서 저장기간에 따른 특성을 조사하였기에 큰 변화를 나타내지 않은 것으로 판단된다.

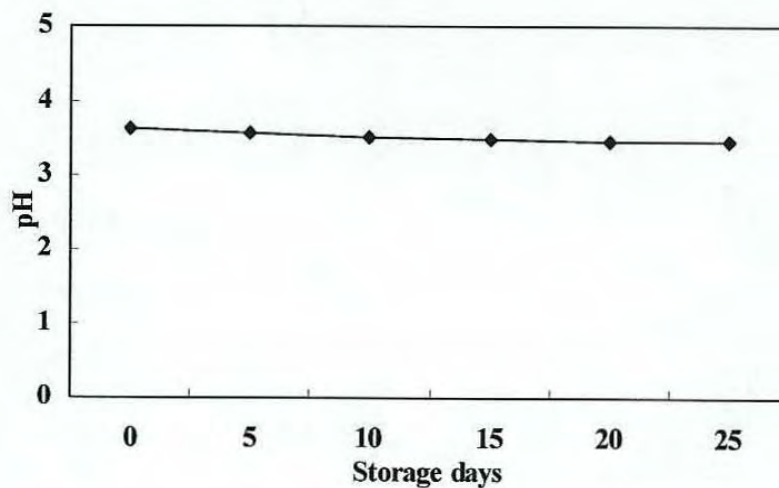


Fig. 9. Changes of pH according to storage days

나) 총균수

저장 5일째부터 버섯식해의 총균수는 급속도로 증가하였으나 그 이후부터는 완만한 증가를 나타내었다.

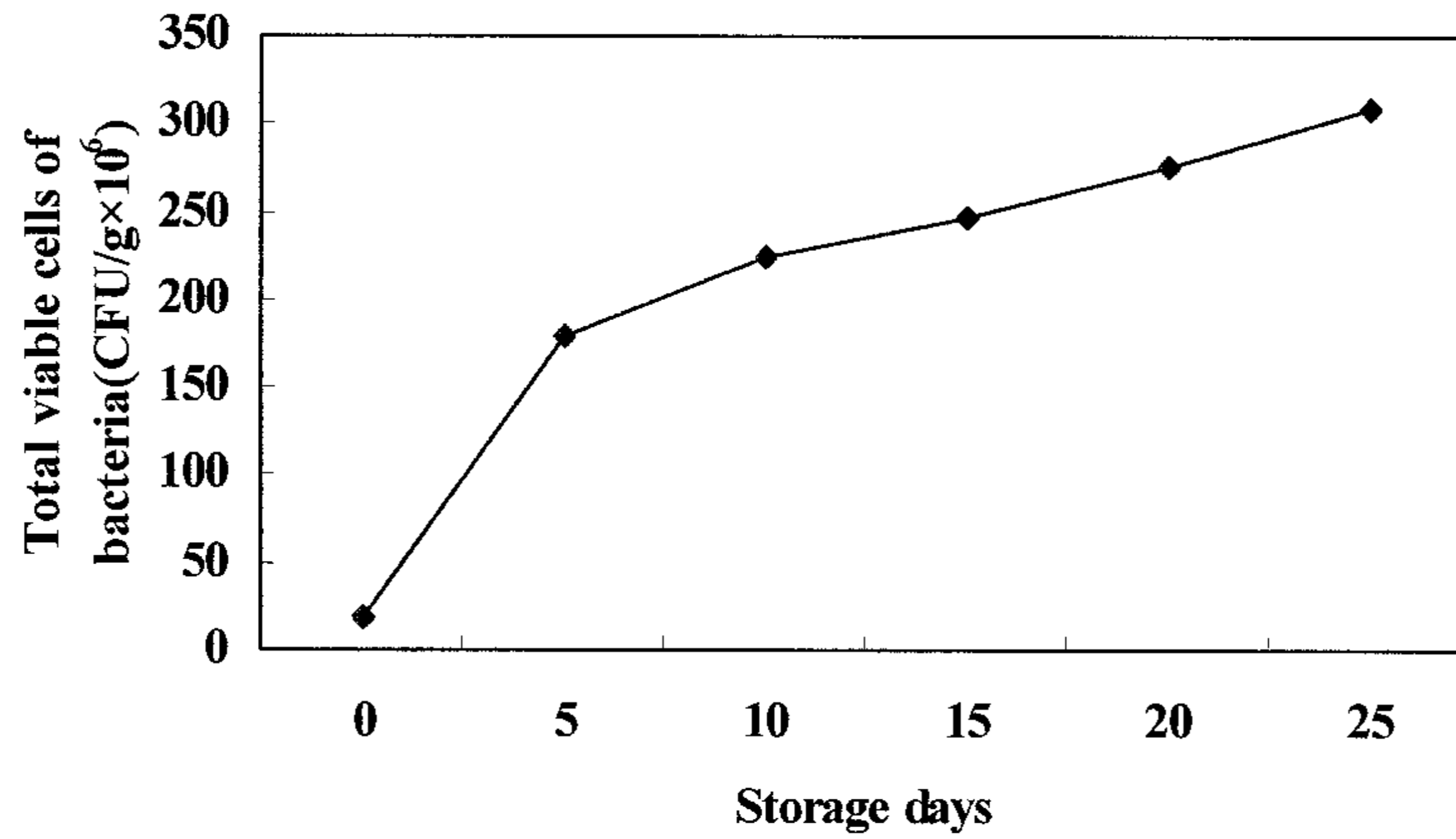


Fig. 10. Total viable cells of bacteria according to storage days

다) 젖산균수

저장 5일째부터 버섯식해의 젖산균수는 급속도로 증가하였으나 그 이후부터는 큰 변화를 나타내지는 않았다.

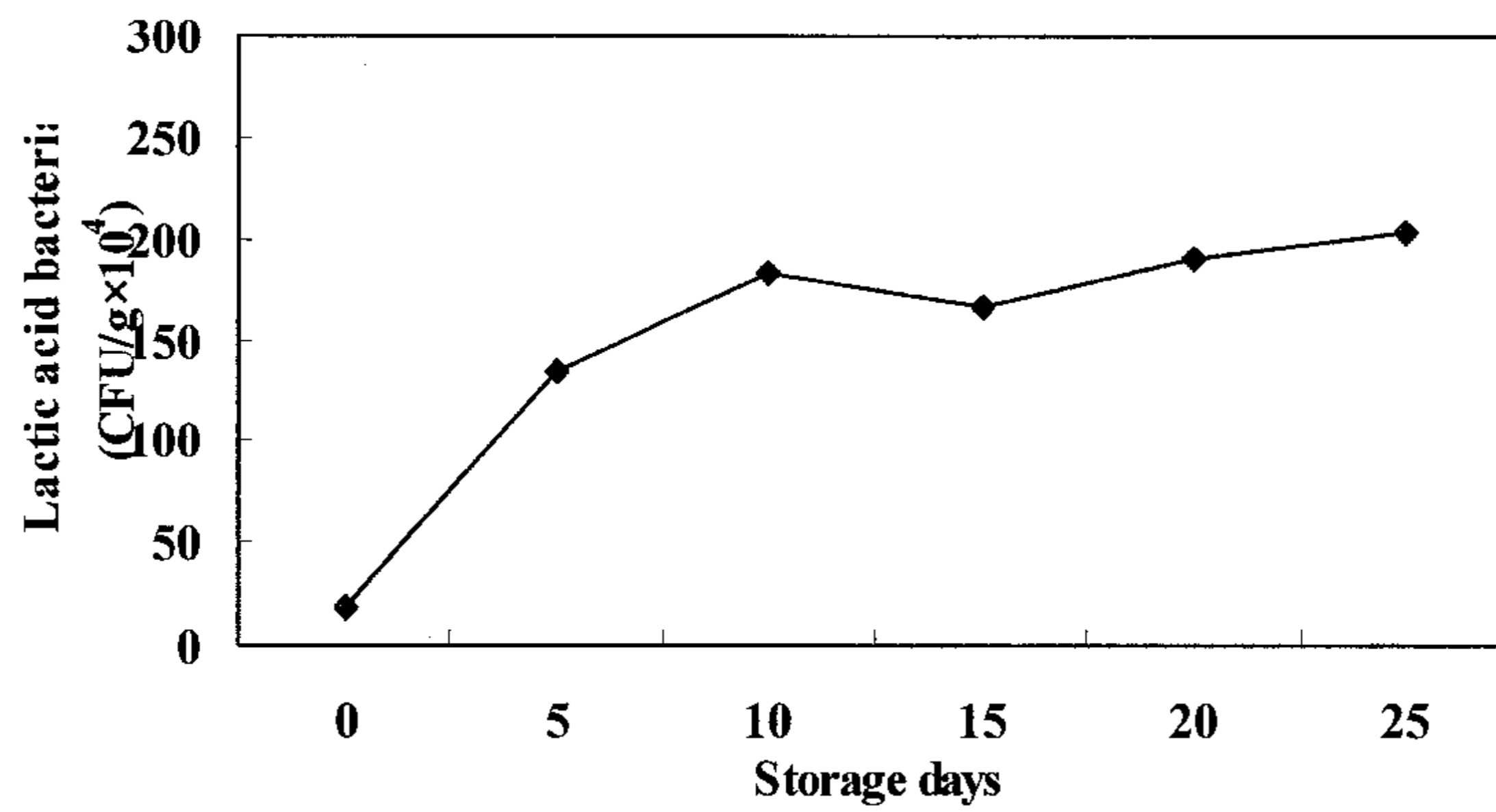


Fig. 11. Lactic acid bacteria according to storage days

## 라) 관능검사

저장기간별로 버섯식해의 관능검사를 실시한 결과, 색, 향, 버섯향에 있어서는 저장기간이 길어짐에 따라 낮은 점수대를 나타내었으나 이에 반하여 맛과 종합적인 기호도에서는 저장 15일까지는 점수가 높게 나타났다. 그 이후부터는 버섯식해에 대한 모든 항목의 점수가 낮아지는 것으로 보아 버섯식해는 4℃ 냉장에서 보관할 경우 15일까지가 가장 적합한 것으로 판단되었다.

Table 40. Sensory evaluation of mushroom sikhae according to storage days

Days	Taste	Color	Flavor	Mushroom flavor	Overall acceptability
0	5.12±0.87	4.88±1.01	5.00±1.02	4.45±1.88	5.24±0.78
5	5.27±1.16	5.07±1.22	5.13±1.06	4.80±1.78	5.13±0.83
10	5.47±0.87	4.28±0.85	4.58±1.07	4.07±1.52	5.21±0.87
15	5.69±0.24	4.12±0.67	4.27±1.21	4.27±1.28	5.37±0.94
20	5.00±0.74	3.92±0.90	4.25±0.87	3.41±1.73	4.50±0.67
25	5.25±0.62	4.67±0.98	4.92±1.05	2.42±1.08	4.83±0.71

## 6. 잎새버섯을 이용한 가공 제품

### 가. 잎새버섯 음료

#### 1) 버섯첨가량을 달리한 음료의 관능검사

잎새버섯 음료를 제조하기 위하여 먼저, 잎새버섯을 물로 추출한 다음 동결 건조하였다. 이것을 음료에 이용하였으며 가장 적합한 첨가 농도를 결정하기 위해 추출물 가루를 0.1-4.0%까지 농도별로 첨가, 제조하여 관능검사를 실시하였다(Table 41). 그 결과, 향의 경우 추출물 가루의 첨가 농도가 높을수록 특유의 버섯향으로 인해 점수가 낮았다. 색에 있어서 진한 색보다는 1.0%이하로 첨가된 것을 선호하였으며, 맛과 종합적인 기호도에서도 1.0%이하로 추출물 가루를 첨가한 음료가 2.0%이상 첨가한 음료보다 높은 점수가 나타났다. 따라서, 잎새버섯 추출물 가루의 최적 농도는 1.0%가 가장 적합하였다.



Table 41. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of *G. frondosa* water extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0.1%	3.80±1.48 <sup>ab</sup>	3.90±1.10 <sup>a</sup>	4.10±0.74 <sup>a</sup>	3.70±0.95 <sup>ab</sup>
0.5%	4.00±1.41 <sup>a</sup>	4.30±0.95 <sup>a</sup>	3.80±1.14 <sup>a</sup>	4.20±0.79 <sup>a</sup>
1.0%	4.70±1.49 <sup>a</sup>	4.20±1.14 <sup>a</sup>	4.30±0.95 <sup>a</sup>	4.50±0.71 <sup>a</sup>
2.0%	3.50±0.85 <sup>abc</sup>	3.70±1.49 <sup>a</sup>	2.70±1.06 <sup>b</sup>	3.00±1.33 <sup>bc</sup>
3.0%	2.60±0.97 <sup>bc</sup>	3.70±1.49 <sup>a</sup>	2.40±1.51 <sup>b</sup>	2.30±0.95 <sup>cd</sup>
4.0%	2.30±1.64 <sup>c</sup>	3.40±1.58 <sup>a</sup>	1.80±0.79 <sup>b</sup>	1.80±0.92 <sup>d</sup>
F value	4.499 <sup>**</sup>	0.664	9.302 <sup>***</sup>	8.951 <sup>***</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

## 2) 당 함량을 달리한 음료의 관능검사

잎새버섯 첨가량을 달리하여 관능검사를 한 결과 추출물 가루 0.5%와 1.0%의 상호간에 유의성이 없었으므로 두가지 농도의 음료로 최적 당 함량을 조사하였다.

추출물 가루 0.5%에 대하여 올리고당을 0%-20%로 첨가한 결과(Table 42), 색을 제외한 다른 항목에서는 전체적으로 당을 첨가하지 않은 음료보다 첨가한 음료의 기호도가 매우 좋은 것으로 나타났다. 그리고 당 함량 10%-20%의 경우 모든 검사 항목에서 점수가 높아지는 것으로 나타났으나 유의적 차이는 없었다. 따라서, 추출물 가루 0.5% 음료에서는 올리고당을 10% 첨가하는 것이 가장 적합하였다.

추출물 가루 1.0%에 대하여 올리고당을 0%-20%로 첨가한 결과(Table 43), 색과 향에서는 당을 15%와 20%를 첨가한 음료의 점수가 가장 높았으나 유의적 차이는 없었다. 그러나 맛에서는 당 함량 15%가 4.7±1.5로 가장 높았으며 종합적인 기호도에서는 당 함량 10%에서 4.6±0.9로 가장 높았다. 이 결과, 추출물 가루 1.0% 음료에서도 0.5% 음료와 마찬가지로 올리고당을 10% 첨가하

는 것이 가장 적합하였다.

추출물 가루 0.5%와 1.0%에 적합한 당의 농도를 선별하여 관능검사를 한 결과는 Table 44와 같다. 그 결과, 추출물 가루 1.0%를 첨가한 것보다 0.5%를 첨가한 음료를 선호하는 것으로 나타났다. 색과 향은 추출물 가루 0.5%에 올리고당을 20% 첨가한 음료가 점수가 높았으나 당 10%와 유의적 차이는 없었다. 맛에서는 추출물 0.5%에 올리고당 10%를 넣은 음료가 가장 좋았으며 종합적인 기호도에서도 역시 같은 경향으로 나타났다.

올리고당 첨가량을 달리하여 관능검사를 한 결과 추출물 가루 0.5%, 올리고당 10%를 첨가하는 것이 음료로써 가장 적합한 것으로 판단하였다.

Table 42. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of oligosaccharides (0.5% mushroom powder)

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0%	4.27±1.16 <sup>a</sup>	3.13±1.13 <sup>b</sup>	3.07±1.39 <sup>c</sup>	3.27±1.22 <sup>b</sup>
5%	4.27±1.22 <sup>a</sup>	3.73±0.96 <sup>ab</sup>	3.60±1.06 <sup>bc</sup>	3.87±0.99 <sup>ab</sup>
10%	4.80±1.15 <sup>a</sup>	4.33±1.11 <sup>a</sup>	4.40±0.91 <sup>ab</sup>	4.60±1.06 <sup>a</sup>
15%	4.20±1.26 <sup>a</sup>	4.33±0.82 <sup>a</sup>	4.60±1.30 <sup>a</sup>	4.13±0.99 <sup>a</sup>
20%	4.13±0.92 <sup>a</sup>	4.33±0.98 <sup>a</sup>	4.60±1.35 <sup>a</sup>	4.47±1.19 <sup>a</sup>
F value	0.808 <sup>**</sup>	4.279	4.819 <sup>**</sup>	3.539 <sup>*</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

Table 43. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of oligosaccharides (1.0% mushroom powder)

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0%	3.93±1.33 <sup>a</sup>	3.73±1.49 <sup>a</sup>	2.73±1.33 <sup>b</sup>	2.93±1.44 <sup>b</sup>
5%	3.87±1.25 <sup>a</sup>	4.00±1.13 <sup>a</sup>	3.40±1.40 <sup>b</sup>	3.47±1.19 <sup>b</sup>
10%	4.47±1.36 <sup>a</sup>	4.27±1.33 <sup>a</sup>	4.53±1.06 <sup>a</sup>	4.60±0.92 <sup>a</sup>
15%	4.20±1.33 <sup>a</sup>	4.40±.91 <sup>a</sup>	4.73±1.49 <sup>a</sup>	4.54±1.31 <sup>a</sup>
20%	4.00±1.00 <sup>a</sup>	4.40±0.83 <sup>a</sup>	4.60±1.50 <sup>a</sup>	4.47±1.46 <sup>a</sup>
F value	0.560	0.923	6.315 <sup>***</sup>	5.273 <sup>***</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

Table 44. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of oligosaccharides and mushroom extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0.5-10%	4.82±1.08 <sup>ab</sup>	4.45±0.69 <sup>a</sup>	5.00±1.10 <sup>a</sup>	5.18±0.87 <sup>a</sup>
0.5-15%	4.64±0.92 <sup>abc</sup>	4.54±0.93 <sup>a</sup>	4.45±1.21 <sup>ab</sup>	4.73±0.90 <sup>ab</sup>
0.5-20%	5.00±1.18 <sup>a</sup>	4.64±0.81 <sup>a</sup>	4.27±0.65 <sup>ab</sup>	4.27±0.65 <sup>bc</sup>
1.0-10%	3.64±1.21 <sup>c</sup>	3.45±1.04 <sup>b</sup>	3.00±0.89 <sup>c</sup>	3.00±1.00 <sup>d</sup>
1.0-15%	3.82±1.25 <sup>bc</sup>	3.55±1.13 <sup>b</sup>	3.63±1.03 <sup>bc</sup>	3.55±1.44 <sup>cd</sup>
F value	4.215 <sup>**</sup>	3.227 <sup>*</sup>	6.636 <sup>***</sup>	8.405 <sup>***</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±SD.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

### 3) 각종 부재료 첨가에 따른 음료의 관능검사

버섯음료의 맛을 향상시키기 위하여 부재료로써 녹차, 대추, 둥굴레 농축액을 농도별로 첨가하여 사용하였다. 이 재료들은 많은 연구자들에 의해 항암 항균, 항산화, 항알레르기, 심장질환 및 당뇨병등과 같은 다양한 생리 기능이

있는 것으로 밝혀져 한방에서도 기를 보충하기 위한 재료로 오래전부터 사용되었으며, 오늘날에는 여러 식품의 주재료 또는 부재료로서 사용되고 있다.

먼저, 녹차 농축액 0%-4%까지 첨가하여 관능검사를 한 결과(Table 45), 색의 경우 녹차를 첨가하지 않는 것보다 녹차를 첨가한 것을 선호하였다. 맛과 종합적인 기호도에서는 녹차 첨가량이 많아질수록 점수가 낮아지는 것으로 나타났다는데 이것은 녹차 첨가량이 증가하면 녹차 특유의 쓴맛이 증가하여 오히려 거부감을 일으킨 것으로 판단된다. 전반적으로 녹차 2%가 선호도가 가장 좋은 것으로 조사되었다.

녹차를 첨가한 음료에 대추 농축액을 0%-5%까지 첨가하여 관능검사를 한 결과(Table 46), 색과 향에서는 유의적 차이가 없었으나 맛에서는 첨가량이 증가할수록 점수가 낮아졌다. 종합적인 기호도도 맛과 비슷한 경향이 나타났으나 2% 첨가량이 가장 좋았으며 95%에서 유의성이 있었다.

녹차와 대추를 첨가한 상태에서 둥굴레 농축액을 0%-3%까지 첨가하여 관능검사를 실시한 결과(Table 47), 모든 항목에서 1% 첨가량이 가장 좋았다. 그리고 둥굴레 농축액의 첨가량이 많을수록 진한 둥굴레 향과 맛이 버섯 특유의 향과 섞여 오히려 낮은 점수대가 나타났다. 둥굴레 농축액은 1%를 첨가하는 것이 가장 적합한 것으로 판단되었다.

Table 45. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of green tea extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0%	4.06±1.65 <sup>ab</sup>	3.25±1.24 <sup>b</sup>	3.88±1.31 <sup>ab</sup>	3.56±1.55 <sup>bc</sup>
1%	4.81±1.22 <sup>a</sup>	4.44±0.81 <sup>a</sup>	4.56±0.89 <sup>a</sup>	4.38±1.09 <sup>ab</sup>
2%	4.50±1.09 <sup>a</sup>	4.44±0.89 <sup>a</sup>	4.69±1.30 <sup>a</sup>	4.75±1.18 <sup>a</sup>
3%	4.19±1.05 <sup>ab</sup>	4.50±1.32 <sup>a</sup>	3.88±1.36 <sup>ab</sup>	3.88±1.02 <sup>abc</sup>
4%	3.50±0.97 <sup>b</sup>	4.38±1.45 <sup>a</sup>	3.00±1.50 <sup>b</sup>	3.13±1.09 <sup>c</sup>
F value	3.321 <sup>*</sup>	2.612 <sup>*</sup>	4.373 <sup>**</sup>	4.593 <sup>**</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.  
<sup>\*\*\*</sup>p<0.001, <sup>\*\*</sup>p<0.01, <sup>\*</sup>p<0.05.

Table 46. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of jujube extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0%	4.27±1.28 <sup>a</sup>	3.73±0.96 <sup>a</sup>	4.27±0.88 <sup>ab</sup>	4.27±0.88 <sup>ab</sup>
1%	4.53±1.13 <sup>a</sup>	4.40±0.83 <sup>a</sup>	4.27±0.96 <sup>ab</sup>	4.73±0.80 <sup>ab</sup>
2%	5.00±0.93 <sup>a</sup>	4.60±0.83 <sup>a</sup>	4.87±0.83 <sup>a</sup>	4.93±0.88 <sup>a</sup>
3%	5.07±0.88 <sup>a</sup>	4.67±0.82 <sup>a</sup>	4.13±0.99 <sup>ab</sup>	4.67±1.11 <sup>ab</sup>
4%	4.73±0.88 <sup>a</sup>	4.00±1.13 <sup>a</sup>	3.73±1.49 <sup>b</sup>	3.93±1.49 <sup>bc</sup>
5%	5.00±0.93 <sup>a</sup>	4.07±1.10 <sup>a</sup>	3.53±1.46 <sup>b</sup>	3.73±1.58 <sup>c</sup>
F value	1.469	2.248	2.551 <sup>*</sup>	2.528 <sup>*</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

Table 47. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of solomon's seal extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0%	4.33±0.90 <sup>ab</sup>	4.33±1.45 <sup>ab</sup>	3.13±1.19 <sup>b</sup>	3.40±1.06 <sup>b</sup>
1%	4.87±1.25 <sup>a</sup>	4.73±0.96 <sup>a</sup>	4.67±1.11 <sup>a</sup>	5.00±0.93 <sup>a</sup>
2%	4.47±1.19 <sup>a</sup>	4.60±1.24 <sup>ab</sup>	4.13±1.24 <sup>a</sup>	4.33±1.23 <sup>a</sup>
3%	3.53±1.13 <sup>b</sup>	3.80±0.94 <sup>b</sup>	2.93±0.80 <sup>b</sup>	2.93±0.80 <sup>b</sup>
F value	3.723 <sup>***</sup>	1.876 <sup>*</sup>	8.392	12.489 <sup>***</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

#### 4) 비타민 C와 과일 농축액의 첨가에 따른 관능검사

비타민 C를 0%-0.2%까지 첨가하여 음료를 제조한 결과(Table 48), 0.01% 첨가한 음료가 다른 것에 비해 가장 좋았으며 비타민 C의 첨가량이 증가할수록 색을 제외한 모든 항목에서 낮은 점수가 나타났다.

과일 농축액으로 사과 농축액과 배 농축액을 1%-3%까지 농도로 첨가하여 관능검사를 실시하였다(Table 49). 색에 있어서 농축액을 첨가하지 않은 음료 가 농축액을 첨가한 음료보다 점수가 높았으나 95% 유의수준에서 차이는 없었다. 향은 사과 농축액이 배 농축액보다 높은 점수를 나타내었으며 첨가량이 증가할수록 점수가 높았다. 맛과 종합적인 기호도에 있어서 배 농축액보다 사과 농축액을 선호하였으며 특히, 사과 농축액 2.0%를 첨가한 음료가 가장 점수가 높았다. 사과 농축액 3.0%를 첨가한 음료는 향은 좋은 것으로 나타났으나 사과의 신맛이 너무 강하여 오히려 맛과 종합적인 기호도에서는 점수가 낮았다. 관능검사 결과, 사과 농축액을 2% 첨가하여 음료를 제조하는 것이 가장 좋은 것으로 판단하였다.

Table 48. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of ascorbic acid

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
Vt.C 0%	4.14±1.17 <sup>a</sup>	4.43±1.16 <sup>ab</sup>	4.57±1.16 <sup>ab</sup>	4.57±1.02 <sup>ab</sup>
Vt.C 0.01%	4.79±1.05 <sup>a</sup>	4.64±1.01 <sup>a</sup>	5.00±1.04 <sup>a</sup>	4.79±0.80 <sup>a</sup>
Vt.C 0.05%	4.79±0.97 <sup>a</sup>	4.14±0.66 <sup>abc</sup>	3.79±1.37 <sup>bc</sup>	4.07±1.07 <sup>b</sup>
Vt.C 0.1%	4.43±1.02 <sup>a</sup>	3.64±0.84 <sup>c</sup>	3.14±0.95 <sup>cd</sup>	3.14±0.77 <sup>c</sup>
Vt.C 0.2%	4.50±1.02 <sup>a</sup>	3.86±1.03 <sup>bc</sup>	2.50±0.94 <sup>d</sup>	2.86±0.66 <sup>c</sup>
F value	0.930	2.545 <sup>*</sup>	11.972 <sup>***</sup>	13.269 <sup>***</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

Table 49. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of fruit extract(Pear, Apple)

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
Control 0%	5.08±0.86 <sup>a</sup>	4.38±1.19 <sup>c</sup>	4.31±0.48 <sup>b</sup>	4.38±1.12 <sup>c</sup>
Pear ext 1.0%	4.08±1.39 <sup>b</sup>	4.31±1.32 <sup>c</sup>	4.62±0.77 <sup>ab</sup>	3.77±1.09 <sup>bc</sup>
Pear ext 2.0%	4.24±1.17 <sup>ab</sup>	4.77±1.24 <sup>bc</sup>	4.77±0.93 <sup>ab</sup>	4.38±1.19 <sup>bc</sup>
Pear ext 3.0%	4.31±1.03 <sup>ab</sup>	4.69±1.18 <sup>bc</sup>	4.23±0.44 <sup>b</sup>	4.38±0.87 <sup>bc</sup>
Apple ext 1.0%	4.38±0.96 <sup>ab</sup>	4.69±0.85 <sup>bc</sup>	4.77±0.60 <sup>ab</sup>	4.69±0.85 <sup>ab</sup>
Apple ext 2.0%	4.69±1.03 <sup>ab</sup>	5.46±0.52 <sup>ab</sup>	5.15±0.55 <sup>a</sup>	5.38±0.65 <sup>a</sup>
Apple ext 3.0%	4.69±1.11 <sup>ab</sup>	5.69±0.48 <sup>a</sup>	4.61±0.50 <sup>ab</sup>	4.46±1.05 <sup>bc</sup>
F value	1.295	3.425 <sup>**</sup>	3.128 <sup>**</sup>	3.073 <sup>**</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\* p<0.001, \*\* p<0.01, \* p<0.05.

#### 5) 최종 제품 검사

##### 가) 최종 음료의 관능검사

여러 종류의 농축액을 첨가하여 음료를 제조할수록 전반적으로 단맛이 증가하였다. 그래서 올리고당의 함량을 6%에서 12%로 재조정 한 후 관능검사를 실시하였다(Table 50). 그 결과, 올리고당을 8%, 10% 첨가한 음료가 모든 항목에서 선호도가 높았으며 이 중 8%가 가장 적합한 것으로 조사되었다. 반면에 올리고당 6%를 첨가한 음료는 색과 향에서 차이가 없었으나 맛과 기호도 측면에서는 낮은 점수대가 나타났다. 또한, 올리고당 12%를 첨가한 음료는 색을 제외한 모든 항목에서 낮은 점수대가 나타났는데 음료로서는 당도가 높은 것을 선호하지 않는다는 것을 알 수 있었다.

이로써 음료 제조시 각종 첨가제의 첨가에 따라 당도가 변함에 따라 최종적으로 당의 첨가농도를 재조정하는 것이 바람직한 것이며 잎새버섯을 첨가한 음료로는 당의 함량을 8%로 조정하는 것이 좋은 것으로 판단된다.

Table 50. Sensory evaluation of mushroom beverages with refined level of oligosaccharides contents

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
6%	4.40±1.07 <sup>a</sup>	5.00±0.94 <sup>a</sup>	4.10±0.88 <sup>bc</sup>	4.00±0.94 <sup>bc</sup>
8%	4.00±1.15 <sup>a</sup>	5.30±0.67 <sup>a</sup>	5.30±0.95 <sup>a</sup>	5.40±0.52 <sup>a</sup>
10%	4.10±1.10 <sup>a</sup>	4.60±0.97 <sup>ab</sup>	4.70±0.95 <sup>ab</sup>	4.60±0.84 <sup>b</sup>
12%	4.20±1.23 <sup>a</sup>	3.90±0.74 <sup>b</sup>	3.40±1.07 <sup>c</sup>	3.50±0.85 <sup>c</sup>
F value	0.224	5.197 <sup>**</sup>	7.119 <sup>**</sup>	10.339 <sup>**</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

#### 나) 배합비와 제조공정

버섯 추출물에 올리고당을 10% 첨가한 액의 초기 당도는 9.4Brix이었으나 각종 첨가제의 첨가에 따라 버섯 음료의 당도가 점차로 상승하였다. 따라서, 단맛이 너무 강하면 음료로서 적합하지 않다고 판단하여 다른 재료의 첨가로 상승된 당도를 올리고당의 첨가량을 낮추어 최종적으로 잎새버섯 음료를 제조하였다.

잎새버섯을 이용한 기능성 음료를 만들기 위한 각종 추출물과 첨가제의 최종 배합비와 제조공정은 아래와 같이 확립하였다(Table 51).



Table 51. Materials and procedure for mushroom beverages

Materials	Contents (%)	Procedure
<i>G.frondosa</i> water extract	0.5	<i>G.frondosa</i> fruit body
Oligosaccharide	8	↓
Green tea extract	2	40°C, water extraction
Jujube extract	2	↓
Solomon's seal extract	1	Freezer Dryer
Vitamin C	0.01	↓
Apple extract	2	Dried mushroom powder
		↓
		Mixing
		↓
		Sterilization
		↓
		Storage

Brix : 9.8 Brix

Color value : L; 35.05±1.08, a; 3.24±0.19, b; 13.64±0.33

#### 나. 잎새버섯 스펀지 케이크

##### 1) 반죽의 비중

잎새버섯 가루를 각 농도별로 첨가하여 케이크 반죽의 비중을 측정한 결과는 Fig. 12와 같다. 버섯 가루를 첨가하지 않은 대조구의 비중이 0.46이었고, 잎새버섯 가루 첨가구는 버섯 가루의 첨가량이 증가함에 따라 0.47에서 0.51으로 증가하는 경향이 나타났으나 시료간의 유의적 차이는 나타나지 않았다.

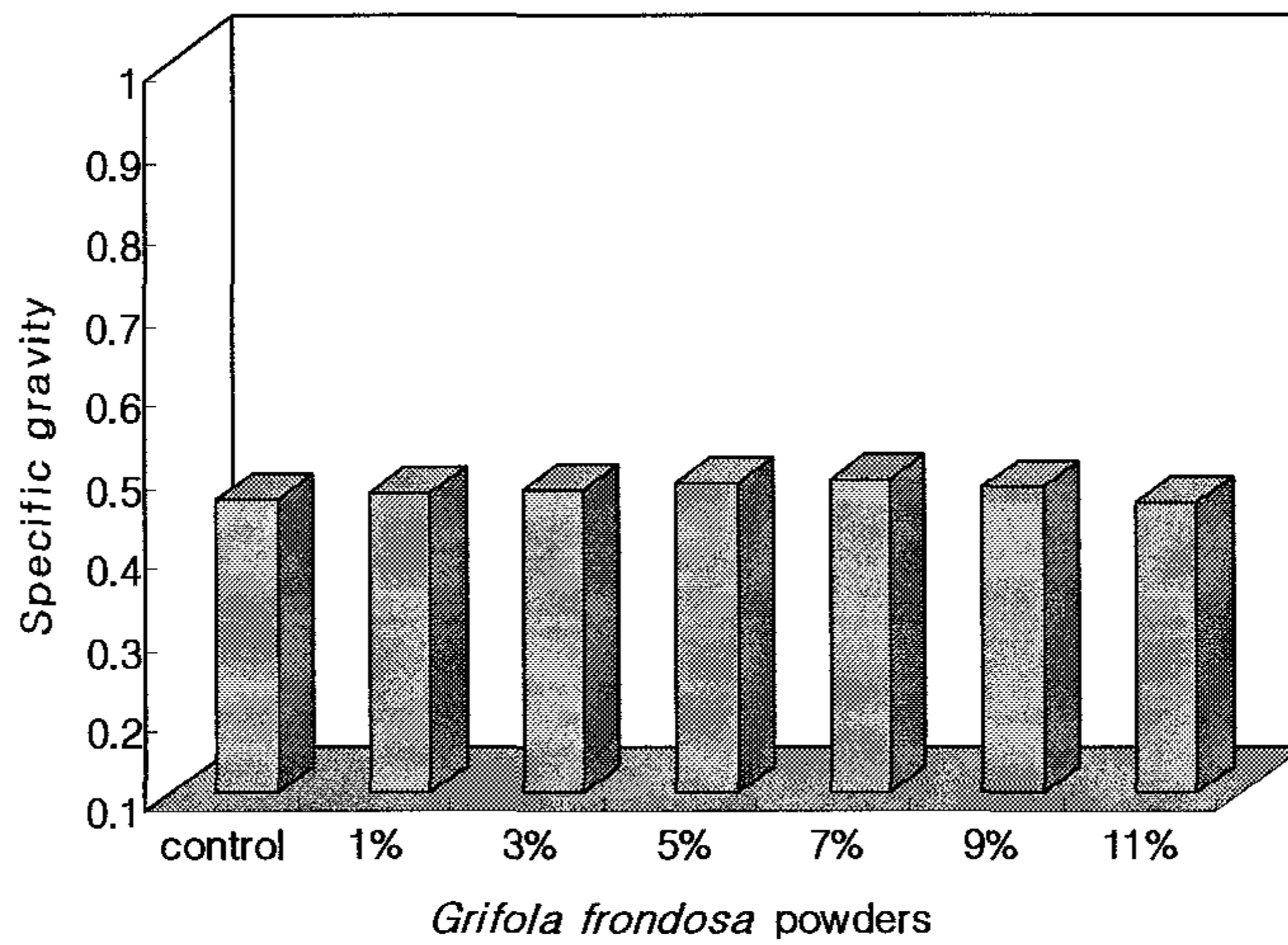


Fig. 12. Specific gravity of cake batter with different levels of mushroom powder.

## 2) 반죽의 점도

앞새버섯 가루를 첨가한 반죽의 점도를 측정한 결과(Fig. 13) 대조구의 120,000cps에 비하여 버섯 가루의 비율이 상대적으로 증가함에 따라 점도가 점차적으로 증가하는 경향을 나타내었다.

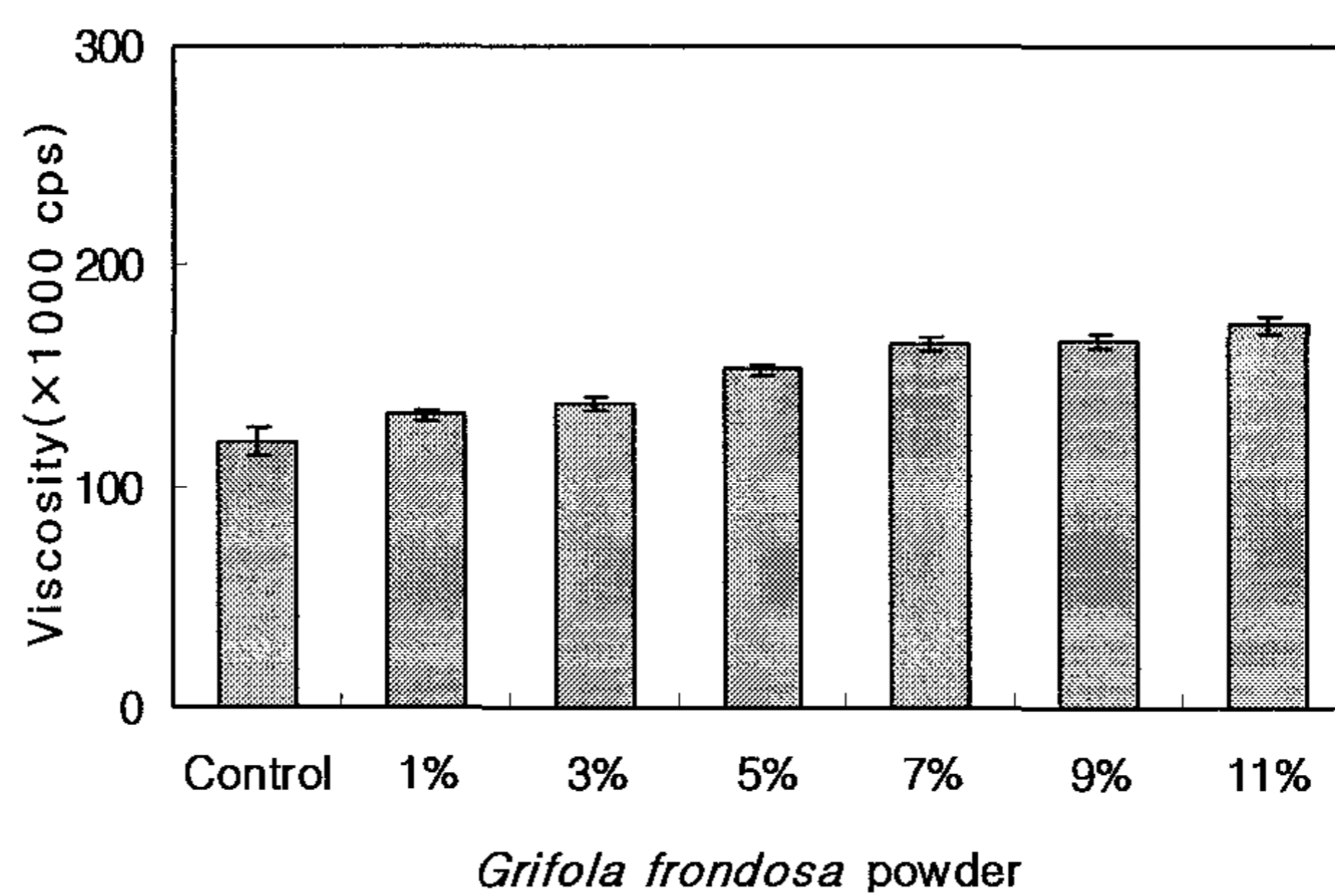


Fig. 13. Viscosity of cake batter with different levels of mushroom powder.

### 3) 부피, 무게 및 비용적

앞새버섯 가루를 첨가한 스펀지 케이크의 부피, 무게 및 비용적을 측정한 결과는 Table 52와 같다. 스펀지 케이크의 제조시 버섯 가루의 첨가량이 증가함에 따라 부피와 비용적이 감소하였으며 cake weight가 증가함에 따라서 cake의 비용적이 감소하므로 버섯 분말의 첨가량이 많아질수록 무거운 cake이 되는 것을 확인하였다.

Table 52. Quality improvement of the sponge cake added with different levels of mushroom powder

Ratio	Bread volume (ml)	Bread weight (g)	Specific volume (ml/g)
Control	1636.67±11.54 <sup>a</sup>	335.67±1.15 <sup>b</sup>	4.87±0.02 <sup>a</sup>
1%	1610.00±43.59 <sup>a</sup>	336.67±0.58 <sup>ab</sup>	4.78±0.12 <sup>a</sup>
3%	1550.00±10.00 <sup>b</sup>	336.67±1.15 <sup>ab</sup>	4.60±0.04 <sup>b</sup>
5%	1566.67±11.54 <sup>b</sup>	337.33±0.58 <sup>a</sup>	4.64±0.04 <sup>b</sup>
7%	1350.00±20.00 <sup>c</sup>	336.33±0.58 <sup>b</sup>	4.01±0.07 <sup>c</sup>
9%	1320.00±10.00 <sup>cd</sup>	336.67±0.58 <sup>ab</sup>	3.92±0.04 <sup>cd</sup>
11%	1290.00±10.00 <sup>d</sup>	336.33±0.58 <sup>b</sup>	3.84±0.03 <sup>d</sup>
F value	161.484 <sup>***</sup>	1.231	157.794 <sup>***</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

### 4) 높이와 외관

스펀지 케이크의 volume, symmetry 및 uniformity index를 보면 Table 53과 같다. Volume index는 control이 17.57로서 가장 높은 값을 보였으며, 버섯 가루의 첨가량이 증가함에 따라 cake의 부피가 작아짐을 볼 수 있었다. Symmetry index는 cake의 균형을 보는 것으로 버섯 가루 1% 첨가구는 control보다 높았으나 3%, 5%는 비교적 가운데 부분이 평평하였다. 그러나 7%이상을 첨가한 구에서는 스펀지 케이크의 가운데 부분이 주저앉는 현상을 보였다. Uniformity index는 스펀지 케이크의 좌우로 어느정도 치우침이 있는지를 보는 것으로 버섯 가루의 첨가량이 증가할수록 치우침의 정도가 증가하

였다.

잎새버섯 가루를 첨가한 스폰지 케이크의 외관은 사진 4에 나타내었다. 버섯 분말의 첨가량이 증가할수록, air cell의 형성이 억제되어 케이크의 높이도 감소하는 것을 알 수 있으며, 색은 짙어지는 것으로 나타났다. 또한, 버섯 가루를 7%이상 첨가한 구에서는 crust와 crumb의 분리 현상이 일어나 정상적인 제품으로는 적당하지 않았다. 버섯 가루의 첨가량이 증가할수록 점착성이 강해져 팬과 분리할 때 cake의 가장자리가 잘 떨어지지 않았으며 cake의 높이가 점점 감소하여 9%와 11%에서는 cake의 중앙이 사진 4에서 보는 바와 같이 내려앉는 것으로 나타났다.

Cake의 높이와 외관을 살펴본 결과, 잎새버섯 가루의 첨가는 부피와 무게 감소와 색의 변화를 나타내며 제과에 이용시 5%까지 첨가하는 것이 가장 바람직할 것으로 판단된다.

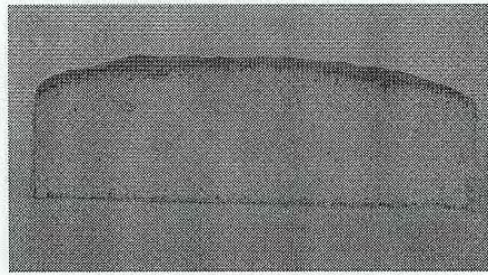
Table 53. Volume, symmetry and uniformity index of sponge cake added with different levels of mushroom powder

Ratio	Volume index	Symmetry index	Uniformity index
control	17.57±0.50 <sup>a</sup>	0.33±1.33 <sup>ab</sup>	-0.13±0.76 <sup>ab</sup>
1%	16.83±0.30 <sup>a</sup>	0.97±0.12 <sup>a</sup>	-0.47±0.06 <sup>b</sup>
3%	16.57±0.95 <sup>ab</sup>	0.13±0.12 <sup>abc</sup>	-0.03±0.06 <sup>ab</sup>
5%	15.47±0.25 <sup>bc</sup>	0.13±0.31 <sup>abc</sup>	-0.03±0.32 <sup>ab</sup>
7%	14.47±1.25 <sup>c</sup>	-0.67±0.65 <sup>bcd</sup>	0.30±0.30 <sup>a</sup>
9%	13.13±0.06 <sup>d</sup>	-1.03±0.12 <sup>d</sup>	0.47±0.12 <sup>a</sup>
11%	11.10±0.44 <sup>e</sup>	-0.90±0.10 <sup>cd</sup>	0.43±0.06 <sup>a</sup>
F value	36.023 <sup>***</sup>	4.883 <sup>**</sup>	3.031 <sup>*</sup>

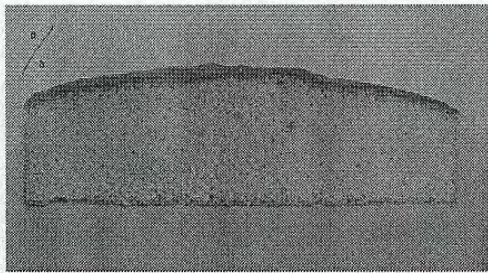
In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

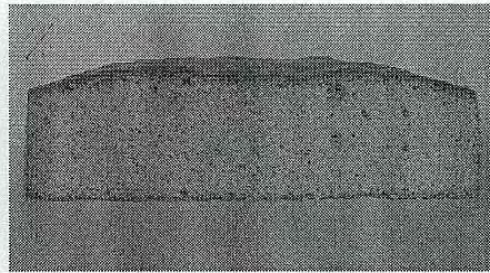
\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.



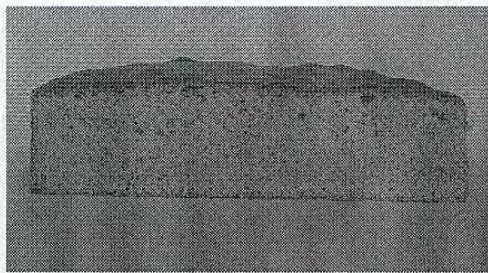
CONTROL



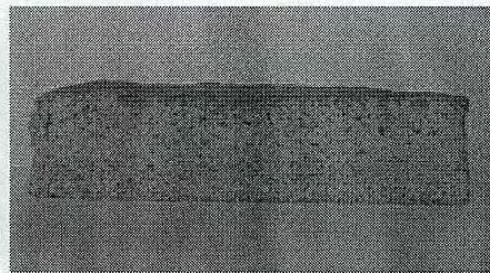
1%



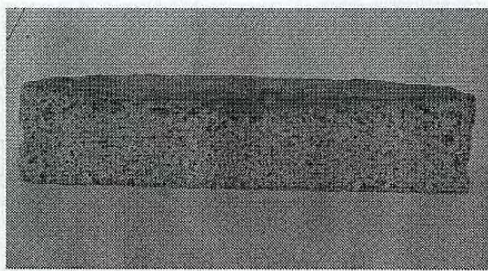
3%



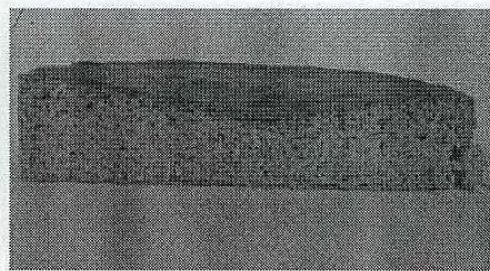
5%



7%



9%



11%

Picture. 4. Photograph of sponge cake added with different levels of mushroom powder.

5) 색도

앞새버섯 가루를 첨가하여 제조한 스펀지 케이크의 crust와 crumb의 색도를 측정된 결과는 Table 54와 같다. Crust의 색도는 L, a, b 값 모두 버섯가루의 첨가량이 증가함에 따라 점차적으로 감소하는 경향을 나타내었으며, 이것은 버섯 가루가 가진 색소에 의한 것으로 판단된다. Crumb에서도 crust와 비슷한 경향을 보였다.

Table 54. Crust and crumb color of sponge cake added with different levels of mushroom powder

Ratio	Crust			Crumb		
	L	a	b	L	a	b
control	51.52±1.16 <sup>ab</sup>	13.42±0.30 <sup>a</sup>	28.26±0.73 <sup>a</sup>	74.88±1.05 <sup>a</sup>	-3.18±0.13 <sup>g</sup>	35.50±0.99 <sup>a</sup>
1%	50.18±0.52 <sup>ab</sup>	13.60±0.09 <sup>a</sup>	26.58±0.19 <sup>ab</sup>	76.78±0.59 <sup>a</sup>	-2.49±0.07 <sup>f</sup>	33.71±0.55 <sup>b</sup>
3%	52.08±2.48 <sup>a</sup>	13.07±0.18 <sup>b</sup>	26.81±0.46 <sup>b</sup>	69.21±1.06 <sup>b</sup>	-2.04±0.18 <sup>e</sup>	31.07±0.94 <sup>c</sup>
5%	50.99±1.83 <sup>ab</sup>	13.03±0.17 <sup>b</sup>	27.36±0.79 <sup>b</sup>	66.10±1.36 <sup>c</sup>	-1.33±0.21 <sup>d</sup>	30.72±0.51 <sup>c</sup>
7%	49.75±0.46 <sup>ab</sup>	12.90±0.04 <sup>b</sup>	25.81±0.32 <sup>bc</sup>	62.70±0.86 <sup>d</sup>	-0.61±0.03 <sup>c</sup>	28.14±1.00 <sup>d</sup>
9%	48.95±0.07 <sup>b</sup>	12.78±0.09 <sup>bc</sup>	25.06±0.06 <sup>d</sup>	59.78±0.40 <sup>e</sup>	0.20±0.07 <sup>b</sup>	27.44±0.28 <sup>de</sup>
11%	45.78±2.48 <sup>c</sup>	12.48±0.22 <sup>c</sup>	24.13±0.04 <sup>e</sup>	54.49±2.94 <sup>f</sup>	0.50±0.17 <sup>a</sup>	26.34±0.49 <sup>e</sup>
F value	5.304 <sup>**</sup>	14.229 <sup>***</sup>	27.132 <sup>***</sup>	96.996 <sup>***</sup>	306.062 <sup>***</sup>	63.300 <sup>***</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

6) 조직감

앞새버섯 가루를 첨가한 스펀지 케이크의 조직감을 측정된 결과, 경도에서는 control이 57.91g/cm<sup>2</sup>으로 나타났으며, 버섯 가루 1%에서 5%까지는 비슷한 수치를 보였으나 7%이상에서는 높은 수치가 나타났다. 이것은 다른 실험 결과에서도 보여졌듯이 9%, 11%를 첨가한 구의 경우 반죽이 오븐에서 구워지는 동안에는 다른 것과 마찬가지로 부풀어 오르다가 완료된 후에는 급격히 케이크가 가라앉음으로 인해 경도가 단단해진 것으로 판단된다. 그리고 응집성과

탄력성은 버섯 가루 첨가량이 증가할수록 감소하였는데 탄력성은 1% 첨가구만이 control과 비슷한 반면에 그 이상 첨가한 처리구간의 유의성은 없었다. 점성과 부서짐성에서는 경도와 비슷한 경향을 보였으나 유의적인 의미는 없었다.

Table 55. Texture characteristics of sponge cake added with different levels of mushroom powder

Ratio	Hardness (g/cm <sup>2</sup> )	Cohesiveness (%)	Springness (%)	Gumminess (g/cm <sup>2</sup> )	Brittleness (g/cm <sup>2</sup> )
control	57.91±0.44 <sup>e</sup>	79.68±1.39 <sup>a</sup>	83.17±3.21 <sup>a</sup>	96.25±1.84 <sup>c</sup>	82.37±3.71 <sup>a</sup>
1%	61.94±1.07 <sup>d</sup>	75.31±1.93 <sup>b</sup>	86.98±2.32 <sup>a</sup>	100.69±0.72 <sup>bc</sup>	84.70±4.78 <sup>a</sup>
3%	65.06±0.70 <sup>cd</sup>	70.88±1.97 <sup>cde</sup>	76.24±5.09 <sup>b</sup>	102.75±3.52 <sup>b</sup>	82.56±8.65 <sup>a</sup>
5%	66.20±0.99 <sup>c</sup>	73.46±2.51 <sup>bc</sup>	76.70±4.69 <sup>b</sup>	108.68±2.53 <sup>a</sup>	86.66±4.09 <sup>a</sup>
7%	73.40±3.93 <sup>b</sup>	68.56±1.04 <sup>e</sup>	76.34±1.07 <sup>b</sup>	110.83±5.27 <sup>a</sup>	84.61±4.25 <sup>a</sup>
9%	81.40±1.64 <sup>a</sup>	70.02±0.69 <sup>de</sup>	75.40±1.01 <sup>b</sup>	109.17±0.95 <sup>a</sup>	87.31±1.15 <sup>a</sup>
11%	84.50±2.16 <sup>a</sup>	71.97±0.14 <sup>cd</sup>	73.36±0.67 <sup>b</sup>	110.75±5.11 <sup>a</sup>	83.19±2.26 <sup>a</sup>
F value	82.242 <sup>***</sup>	16.927 <sup>***</sup>	7.533 <sup>**</sup>	8.839 <sup>***</sup>	0.519

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.

#### 7) 관능검사

버섯 가루의 첨가량을 달리하여 제조한 스펀지 케이크로 관능검사를 실시한 결과, 외관과 색에서는 대조구가 버섯 가루 첨가구보다 점수가 높았으며 향에서는 7% 첨가구까지는 차이가 없었으나 9%와 11% 첨가구에서는 급격하게 점수가 낮아졌다.

향에서는 버섯 가루 3%, 5%를 첨가한 것을 선호하는 것으로 나타났는데 이것은 버섯 가루로 인해 스펀지 케이크의 특유의 향인 계란 비린내가 거의 사라졌기 때문인 것으로 판단된다. 하지만, 버섯 가루가 9%와 11% 첨가된 구에서는 오히려 점수가 낮은 것으로 나타나 시료첨가량이 증가할수록 버섯 특

유의 향이 강해져 선호도가 낮은 것으로 판단되며, 이 결과로 향의 측면에서는 버섯 가루를 3%-5% 정도로 첨가하는 것이 가장 적당한 것으로 판단된다.

촉촉함(Moistness)은 버섯가루의 첨가비율이 상대적으로 증가할수록 낮은 점수가 나타났으나 시료간 유의적 차이는 없었다. 씹힘성(Chewiness)에서는 control과 버섯 가루 7%까지 첨가한 구에서 유의적인 차이가 없었으며, 잎새버섯 분말의 첨가비율이 증가할수록 점수가 낮았다.

종합적인 기호도는 버섯 가루 3%와 5%가 가장 좋은 것으로 나타났으며, 버섯 가루가 7%이상에서는 다른 항목에서와 마찬가지로 낮은 점수대가 나타났다.

따라서, 잎새버섯 가루를 첨가하여 스펀지 케이크를 제조하고자 할 경우에는 잎새버섯 가루를 5% 첨가하는 것이 가장 적당한 것으로 판단된다.

Table 56. Sensory evaluation of sponge cake added with different levels of mushroom powder

Ratio	Appearance	Color	Flavor	Taste	Moistness	Chewiness	Overall acceptability
Control	6.42±0.84 <sup>a</sup>	6.34±0.95 <sup>a</sup>	4.37±1.61 <sup>a</sup>	5.16±1.30 <sup>ab</sup>	4.37±1.34 <sup>a</sup>	4.79±1.23 <sup>ab</sup>	4.79±1.47 <sup>abc</sup>
1%	5.74±0.65 <sup>b</sup>	5.68±0.48 <sup>b</sup>	4.63±1.30 <sup>a</sup>	4.74±1.10 <sup>ab</sup>	4.21±1.18 <sup>a</sup>	4.74±1.24 <sup>ab</sup>	4.32±1.25 <sup>bc</sup>
3%	5.05±0.97 <sup>c</sup>	4.84±0.96 <sup>c</sup>	4.79±0.92 <sup>a</sup>	5.11±0.94 <sup>ab</sup>	4.47±0.70 <sup>a</sup>	5.05±0.85 <sup>a</sup>	5.00±0.94 <sup>ab</sup>
5%	4.32±0.75 <sup>d</sup>	4.16±0.90 <sup>d</sup>	4.74±0.93 <sup>a</sup>	5.32±0.95 <sup>a</sup>	4.79±1.18 <sup>a</sup>	4.79±1.08 <sup>ab</sup>	5.47±0.61 <sup>a</sup>
7%	3.68±0.95 <sup>e</sup>	3.63±1.12 <sup>d</sup>	4.37±1.50 <sup>a</sup>	4.95±1.13 <sup>ab</sup>	4.42±1.26 <sup>a</sup>	4.53±1.02 <sup>ab</sup>	4.16±0.96 <sup>c</sup>
9%	2.58±1.07 <sup>f</sup>	2.84±1.17 <sup>e</sup>	3.42±0.96 <sup>b</sup>	4.42±1.22 <sup>b</sup>	4.00±1.15 <sup>a</sup>	4.05±1.22 <sup>b</sup>	3.16±1.30 <sup>d</sup>
11%	2.21±0.71 <sup>f</sup>	2.58±0.84 <sup>e</sup>	3.05±0.71 <sup>b</sup>	3.47±1.02 <sup>c</sup>	4.53±1.50 <sup>a</sup>	4.05±1.22 <sup>b</sup>	2.84±1.01 <sup>d</sup>
F value	63.471 <sup>***</sup>	42.575 <sup>***</sup>	6.436 <sup>***</sup>	6.251 <sup>***</sup>	0.800	2.208 <sup>*</sup>	14.204 <sup>***</sup>

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Each values are Mean±S.D.

\*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05.



## 7. 균사체를 이용한 버섯조미료 제조

### 가. 균사체의 전처리

제 2 세부과제에서 생산된 영지버섯 균사체를 세척한뒤 각각의 조건으로 전처리한 후 관능검사를 실시한 결과, 균사체를 그대로 건조시킨 것보다 소금물로 처리한 균사체를 선호하는 것으로 나타났다. 그러나 맛과 전체적인 기호도에서는 전체적으로 낮은 점수대를 나타내었는데 이것은 버섯 균사체 첨가되어있다는 선입견이 작용한 것으로 보여지며 다른 맛의 첨가가 더 필요한 것으로 판단되었다.

Table 57. Sensory evaluation of pre-treated mycelium

	Taste	Color	Flavor	Overall acceptability
건조균사체	2.51±1.22	4.10±0.88	3.87±1.02	2.98±0.87
소금물+균사체	3.61±1.12	4.08±1.04	3.62±1.04	3.35±0.99
소금+균사체	3.60±1.24	4.20±1.15	3.27±1.22	3.47±0.99

### 나. 타 조미재료와의 배합조건에 따른 조사

전처리된 균사체에 다시마 가루와 멸치 가루를 혼합하여 관능검사를 실시하였다. 균사체는 단독 처리가 아닌 다시마 가루와 혼합하여 제조한 균사체의 점수가 높게 나타났다. 색에 있어서는 전체적으로 점수가 높았다.

Table 58. Sensory evaluation of mixture condition with mycelium and different material

	Taste	Color	Flavor	Overall acceptability
균사체	3.69±1.32	4.46±1.20	3.92±1.04	3.77±1.01
균사체+다시마가루	4.48±1.14	5.02±0.87	4.71±1.01	4.77±0.85
균사체+멸치가루	3.87±1.31	4.04±0.95	4.07±1.04	4.22±1.21

버섯 균사체를 이용한 조미료의 연구에서는 1차년도 연차평가결과 소비촉진에 버섯 균사체를 연구하는 것은 맞지 않는다 하여 조미료 가능성만 연구하였다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

년도	연구개발 수행내용	달성도 (%)	대외기여도
1차년도	- 자실체를 이용한 천연조미료 제조조건 1) 자실체 추출조건 2) 자실체 전처리 조건 3) 최적 재료 배합 조건	100	차기 연구 자료로 활용함
	- 군사체를 이용한 천연조미료 제조조건 1) 자실체 추출조건 2) 자실체 전처리 조건 3) 최적 재료 배합 조건	100	
	- 영지 버섯 군사체의 대량 배양 조건 1) 산업용 배지에 따른 생산성 조사 2) 대규모 배양 조건에 따른 생산성 조사	100	
2차년도	- 천연조미료 1) 각 버섯별 최종 recipe 확립 (추출조건, 추출농도, 배합조건) 2) 최종 recipe에 의한 천연 조미료의 관능검사	100	가공 제품의 최종 recipe 확립 - 기초자료로 활용  산업체에서 액체 배양 기술에 적용 가능
	- 버섯 발효 제품 ◦ 버섯 발효 제품의 가능성 검토 ◦ 각 버섯별 최종 recipe 확립 ◦ recipe에 의한 버섯식해의 관능검사	100	
	- 신령 버섯 군사체의 대량 배양 조건 ◦ 산업용 배지에 따른 생산성 조사 ◦ 대규모 배양 조건에 따른 생산성 조사	100	
3차년도	- 천연조미료 ◦ 상업적 생산 기술 확립 ◦ 저장 유통 기술 확립 ◦ 관능검사에 의한 최종 제품 선정 ◦ 제품 형태별 조사	100	산업화(기술 이전 또는 연구실 벤처)를 뒷받침할 수 있을 것  산업체에서 액체 배양 기술에 적용 가능
	- 버섯 발효 제품 ◦ 버섯별 최종 recipe 재검토 (첨가재료, 발효기간, 저장기간) ◦ 관능검사에 의한 최종 제품 선정	100	
	- 잎새버섯을 이용한 가공제품	100	
	- 신령 버섯 군사체의 대량 배양 조건 ◦ 산업용 배지에 따른 생산성 조사 ◦ 대규모 배양 조건에 따른 생산성 조사	100	
		100	

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구과제의 수행 결과로 얻어진 성과는 다음과 같이 활용할 계획이다.

### 1. 특허출원

‘잎새버섯 추출물을 함유하는 건강 음료{health beverage containing extract of *Grifola frondosa*} 출원번호 : 10-2006-0138238

‘잎새버섯을 함유하는 제과 및 제조방법{Confectionery containing *Grifola frondosa* and producing method} 출원번호 : 10-2006-0138240

‘표고 버섯을 이용한 버섯간장의 제조 출원예정

‘팽이 버섯을 이용한 버섯식혜의 제조 출원예정

‘느타리 버섯을 이용한 버섯소금의 제조 출원예정

‘천연배지를 이용한 약용버섯의 균사체 생산성 증가 출원예정

### 2. 국내외 관련 학회 논문 게재

‘잎새버섯(*Grifola frondosa*) 분말 첨가가 sponge cake의 품질 특성.’  
한국식품과학회지 게재확정

‘버섯을 이용한 버섯식혜의 제조 및 특성 투고예정

‘버섯을 이용한 버섯소금의 제조 및 특성 투고예정

‘천연배지를 이용한 신령버섯 균사체의 생산성 조사 투고예정

‘천연배지를 이용한 영지버섯 균사체의 생산성 조사 투고예정

‘천연배지를 이용한 상황버섯 균사체의 생산성 조사 투고예정

‘천연배지를 이용한 버섯 균사체의 생리활성능 조사 투고예정

### 3. 추가연구의 필요성, 타연구에의 응용, 기업화 추진방안

개발된 가공 제품은 산업화(기술 이전 또는 연구실 벤처)을 추진할 수 있을 것으로 기대함.

## 제 6 장 참고문헌

1. 홍태희외 5명 : 식품재료학, 지구문화사, p199.(2000)
2. 김정숙: 버섯의 이용실태와 조리방법에 따른 조직감 및 기호특성, 영남대학교 대학원 박사학위논문, pp3~4. (1995)
3. 김병각 : 버섯건강요법, 가림출판사, p50. (1996)
4. 정영도 : 식품조리재료학, 지구문화사, p350. (1999)
5. 천연 조미료의 이용실태와 버섯 천연 조미료 제조, 영남대학교 석사학위논문, 박미자, 2000
6. 영지버섯 추출액을 첨가한 기능성 식빵 제조에 관한 연구, 영남대학교 박사학위논문, 류형대, 2001
7. Pickle에 대한 소비자 의식조사 및 버섯 Pickle의 제조, 영남대학교 박사학위논문, 김상철, 2002,
8. 버섯분말을 첨가한 생면의 품질특성, 한국식품과학회지, 30(6), 김영수, 1373-1380, 1998
9. 표고버섯과 느타리버섯의 향암효과, 한국식품과학회지, 30(3), 박무현외2명, 702-708, 1998
10. 표고버섯의 화학성분 및 음료의 제조, 한국산업식품제조학회지, 2(1), 마상조외2명, 46-54, 1998
11. 식용버섯을 이용한 버섯요리개발에 관한 연구, 한국버섯연구회 발표, 2000, 최수근
12. 표고버섯추출물을 이용한 표고버섯 음료의 제조, 특허 024836, 정순택, 조덕봉, 1999
13. 식품공업품질관리론, 이철교외 3명, 송림문화사, 1982
14. 김광옥, 이영춘. 식품의 관능검사. 학연사 (1998)
15. 배종호외. 제과제빵학. 형설출판사 (2003)
16. 이철호, 채수규, 이진근, 박봉상. 관능검사법. 식품공업품질관리론. 유림문화사. 서울 97 (1982)

17. 이덕상. 조미료 제품의 개발. *Food Science* 19(2): 32-39 (1986)
18. 채영일, 패자옥, 서학주, 이영만. 기초생물통계학. 향문사. 158 (1990)
19. 박성현, 조신섭, 김성수. Ver. SPSS 12K 한글 SPSS. 자유아카데미. 183-257 (2004)
20. 吉出傳, 管原龍辛, 林停三. 食用キノコ類の遊離糖ろルコールおよび有機酸. *日本食品工業學會誌*. 29: 451-455 (1982)
21. 數野千恵子. 三浦洋 : 食用キノコの化學成分. *日本食品工業學會誌*. 31: 208 (1984)
22. Hong JS and Kim TY. Contents of free-sugars & Free-sugaralcohols in *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes* & *Agaricus bisporus*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 20: 459-462 (1988)
23. Lee, G. D., Kwon, J. H., Kim, J. G. and Kim, H. K. : Optimization of sensory properties in preparation of canned Oyster mushroom, *Korean J. Food Sci. Nutr.*, 26(3):443-449. (1997)
24. Lee, B. W., Kim, T. J., Chio, S. H., Im, G. H. and Yoo, M. Y. : Physical properties of the dietary fiber prepared from *Lentinus edodes* mycelia., *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(2):147-150. (1995)
25. Mah, S. C. :Effects of the substances extracted from dried mushroom (*Lentinus edodes*) by several organic solvents on the stability of fat. *Korean J. Food Sci. Thechnol.*, 15(2):150-154. (1983)
26. Khanna, P. and Garcha, H. S. : Nutritive value of mushroom, *Pleurotus florida*, *Mushroom Science.*, 11(2), p561. (1981)
27. Farber E. Possible etiologic mechanism in chemical carcinogenesis. *Environ. Health Persp.* 75: 65-70 (1987)
28. Sharma S, Stutzman JD, Kelloff GJ and Steele VE. Screening of potential chemopreventive agents using biochemical markers of carcinogenesis. *Cancer Res.* 54(22): 5848-5855 (1994)
29. Sporn MB. Chemoprevention of cancer. *Lancet* 342(8881): 1211-1213

(1993)

30. Wattenberg LW. Inhibition of carcinogenesis by minor dietary constituents. *Cancer Res.* 52(Suppl.): S2085-2091 (1992)
31. Wattenberg LW. Chemoprevention of cancer. *Cancer Res.* 45: 1-8 (1985)
32. Prochaska HJ and Talalay P. Regulatory mechanisms of monofunctional and bifunctional anticarcinogenic enzyme inducers in murine liver. *Cancer Res.* 48(17): 4776-4782 (1988)
33. Mitchell JR, Hinson JA and Nelson SD. Glutathione and drug induced tissue lesions: metabolism and function, *In* Arias, I. M. and W. B. Jakoby(eds.) *Glutathione*. Raven Press. New York. U.S.A. 357-367 (1976)
34. Seifter E, Jozef M, Holtzman S, Kanofsky JD, Freidenthal E, Davis L and Weinzweig J. Role of vitamin A and in radiation protection; relation to antioxidant properties. *Pharmacol. Therapeut.* 39(1-3): 357-365 (1988)
35. Aktay G, Deliorman D, Ergun E, Ergun F, Yesilada E, Cevik C. Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. *J. Ethnopharmacol.* 73(1-2): 121-129 (2000)
36. Janbaz KH, Gilani AH. Potentiation of paracetamol and carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rodents by the food additive vanillin. *Food Chem. Toxicol.* 37(6): 603-607 (1999)
37. Luster MI, Simeonova PP, Gallucci RM, Joanna M and Yucesoy B. Immunotoxicology : role of inflammation in chemical-induced hepatotoxicity. *Int. J. Immunopharmacol.* 22(12): 1143-1147 (2000)
38. Hongo T. *Fungi of Japan*. Yama Kei. co. 75 (1988)
39. Lee HW, Lee DW, Ha HC, Jung IC, Lee JS. Antioxidant activities of the mycelium and culture broth of *Phellinus igniarius* and *Agrocybe cylindracea*. *Kor. J. Mycology* 30: 37-43 (2002)
40. Wasser SP, Weis AL. Therapeutic effects of substance occurring in higher basidiomycetes mushrooms : a modern perspective. *Crit. Rev. Immunol.* 19:

65-96 (1999)

41. Chang R. Functional properties of edible mushroom. *Nutr. Rev.* 54(11): S91-S93 (1996)
42. Park MH, Oh KY, Lee BW. Anticancer activity of *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 702-708 (1998)
43. Ji JH, Kim MN. Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Phellinus linteus* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 322 (2000)
44. Kim BK, Park EK, Shim MJ. Studies on constituents of higher fungi of Korea, antineoplastic activities of *Coriolus versicolor*(Fr.) Qel, *Pleurotus ostreatus*(Fr.) Kummer and *Lentinus edodes*(Berk) Sing. *Arch. Pharm. Res.* 2: 145-149 (1979)
45. Lee JW, Baek SJ, Bang KW, Kang SW, Kang SM, Kim BY, Ha IS. Biological activities of polysaccharide extracted from the fruit body and cultured mycelia of *Phellinus linteus* IY001. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 726-735 (2000)
46. Chung KS, Lee WC, Sung JM. The antioxidant effect of the basidiocarps of *Phellinus spp.* *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 40: 51-56 (1998)
47. Han J, Lee IS. Antioxidant and anticancer effects of *Polyzellus multiplex*. *Kor. J. Mycology* 28: 55-59 (2000)
48. Park SS, Yu KH, Min TJ. Antioxidant activities of extracts from fruiting bodies of mushrooms. *Kor. J. Mycology* 26: 69-77 (1998)
49. Yiu TC and Ushio S. Screening of antiallergic effect in traditional medicinal drugs and active constituents of *Aurantii fructus*. *Shoyakugaku Zasshi* 43: 314 (1989)
50. Morigiwa A, Kitabatake K, Fujimoto Y and Ikekawa N. Angiotensin converting enzyme inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* 34: 3025 (1986)

51. Yoon JO, Min TJ, Yoon HS. An antibacterial lectin from *Lamptermyces japonicus*. Kor. J. Mycolology 23: 46-52 (1995)
52. Yamamura Y, Cochran KW. A selective inhibitor of myxoviruses from shii-take(*Lentinus edodes*). Mushroom Sci. 9 (part 1): 495 (1976)
53. Shimizu A, Yano T, Saito Y and Inada Y. Isolation of an inhibitors platelet aggregation from a fungus, *Ganoderma lucidium*. Chem. Pharm. Bull. 33: 301 (1985)
54. Choi MS, Lee JH, So JN and Kim JM. Effect of lentinan on the immune function. Kor. J. Immunol. 12: 16 (1990)
55. Wang HX, Liu WK, Ng TB, Ooi VEC and Chang ST. Immunomodulatory and antitumor activities of a polysaccharide-peptide complex from mycelial culture of *Tricholoma* sp., a local edible mushroom. Life Sci. 57(3): 269-281 (1995)
56. Lee DW. A study on the antioxidative activities of the functional products fermented with basidiomycetes. M.D.Thesis. Yeungnam University (2000)
57. Kang DH. Anticomplementary activity and prevention of hepatotoxicity for functional foods. M.D.Thesis. Yeungnam University (2001)
58. Morris CF, Jeffers HF, Engle DA, Badlridge ML, Patterson BS, Bettge, AD, King GE, Davis B. Fifty-first annual report of the western wheat quality lab. USDA Agricultural Research Service (1999)
59. Approved Method of the AACC. 10th ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul. Minn. USA (2000)
60. Pyler EJ. Physical and chemical test methods. vol II, In; Baking Science and Technology. Sosland Pub. Co. Kansas. USA, 891-895 (1979)
61. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC and Lee BY. Antioxidative activity and physiological activity of some korean medicinal plants. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 80-85 (1995)



62. Hong JS and Kim TY. Contents of free-sugars & Free-sugaralcohols in *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes* & *Agaricus bisporus*. Korean J. Food Sci. Technol. 20: 459-462 (1988)
63. Hong JS, Kim YH, Kim MK, Kim YS and Sohn HS. Contents of free amino acids and total amino acids in *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*. Korean J. Food Sci. Technol. 21: 58-62 (1989)
64. Song JH, Lee HS, Hwang JG, Jeong TY, Hong SL and Park GM. Physiological activities of *Phellinus ribis* extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 690-695 (2003)
65. Lee GD, Chang HG and Kim HK. Antioxidative and Nitrite-scavenging Activities of Edible Mushrooms. Korean J. Food Sci. Technol. 29(3): 432-436 (1997)

위탁연구과제

버섯 균사체의 생산성 연구

연구기관 : 그린합명회사

연구책임자 : 이창윤

# CONTENTS

Chapter 1. Introduction .....	120
Chapter 2. Experiments and Results .....	123
<b>I . Materials and Methods .....</b>	<b>123</b>
1. Strains .....	123
2. Media .....	123
3. Myceliua culture .....	123
가. Optimal conditions for mycelial productivity .....	123
1) Carbon source .....	123
2) Nirogen source .....	124
3) Carbon and Nitrogen source ratio .....	124
4) Mineral salts .....	124
5) Vitamin .....	125
6) pH .....	125
나. The conditions for mycelial production in large .....	125
1) Optimal inculum ratio .....	125
2) Mycelial productivity by various fermentor .....	126
다. Mycelial production in industrial scale .....	126
1) Procedure of pre-culture .....	126
2) Comparison between chemical medium and commercial medium .....	127
3) Commercial production by use of ordinary spawn culture vessel .....	127
4. Preparation of samples .....	127
5. Physiological activity of mycelium .....	127
가. cytotoxicity .....	127
나. Antioxidative activity .....	128
1) Electron donating activity .....	128
2) Superoxide dismutase activity .....	128
3) Nitrite scavenging activity .....	128
4) Angiotensin converting enzyme Inhibitory activity .....	129

5) Tyrosinase Inhibitory activity .....	129
6) Xanthine oxidase Inhibitory activity .....	130
<b>II . Results .....</b>	<b>131</b>
1. <i>Ganoderma lucidum</i> mycelial productivity using of commercial medium .....	131
가. Optimal conditions for mycelial productivity .....	131
1) Carbon source .....	131
2) Nitrogen source .....	132
3) Carbon and Nitrogen source ratio .....	133
4) Mineral salts .....	133
5) Vitamin .....	134
6) pH .....	135
나. The conditions for mycelial production in large .....	135
1) Optimal inoculum ratio .....	135
2) Mycelial productivity by various fermentor .....	136
2. <i>Agaricus blazei</i> mycelial productivity using of commercial medium .....	137
가. Optimal conditions for mycelial productivity .....	137
1) Carbon source .....	137
2) Nitrogen source .....	138
3) Carbon and Nitrogen source ratio .....	139
4) Mineral salts .....	139
5) Vitamin .....	140
6) pH .....	141
나. The conditions for mycelial production in large .....	141
1) Optimal inoculum ratio .....	141
2) Mycelial productivity by various fermentor .....	142
3. <i>Phellinus litenus</i> mycelial productivity using of commercial medium .....	142
가. Optimal conditions for mycelial productivity .....	142
1) Carbon source .....	142
2) Nitrogen source .....	144
3) Carbon and Nitrogen source ratio .....	145

4) Mineral salts .....	145
5) Vitamin .....	146
6) pH .....	147
나. The conditions for mycelial production in large .....	147
1) Optimal inoculum ratio .....	147
2) Mycelial productivity by various fermentor .....	148
4. Mycelial production in industrial scale .....	149
가. Procedure of pre-culture .....	149
나. Comparison between chemical medium and commercial medium .....	149
다. Commercial production by use of ordinary spawn culture vessel .....	150
5. Physiological activity of mycelium .....	151
가. Cytotoxicity .....	151
나. Antioxidative activity .....	153
1) Electron donating activity .....	153
2) Superoxide dismutase activity .....	154
3) Nitrite scavenging activity .....	155
4) Angiotensin converting enzyme Inhibitory activity .....	156
5) Tyrosinase Inhibitory activity .....	157
6) Xanthine oxidase Inhibitory activity .....	158
<b>제 4 장 References .....</b>	<b>159</b>

# 목 차

제 1 장 서 론 .....	120
제 2 장 연구수행 내용 및 결과 .....	123
제 1 절 연구수행 내용 .....	123
1. 균주 .....	123
2. 배지 .....	123
3. 균사체 배양 .....	123
가. 최적 배양 조건 확립 .....	123
1) 탄소원 .....	123
2) 질소원 .....	124
3) 탄소원과 질소원의 교호작용 .....	124
4) 무기염류 .....	124
5) 비타민 .....	125
6) pH .....	125
나. 균사체의 대량생산 조건 탐색 .....	125
1) 접종원의 접종량 .....	125
2) 배양장치별 생산성 검토 .....	126
다. 천연배지를 이용한 산업적 배양의 생산성 .....	126
1) 전배양 방법의 확립 .....	126
2) 천연배지와 화학배지의 생산성비교 .....	127
3) 균사체 상업적 생산시험 .....	127
4. 기능성 검정 시료 제조 .....	127
5. 균사체의 생리활성 검증 .....	127
가. 암세포에 대한 cytotoxicity .....	127
나. 항산화활성 .....	128

1) Electron donating activity .....	128
2) Superoxide dismutase activity .....	128
3) Nitrite scavenging activity .....	128
4) Angiotensin converting enzyme 활성 저해 효과 .....	129
5) Tyrosinase 저해 활성 .....	129
6) Xanthine oxidase 저해 활성 .....	130
<b>제 2 절 연구 결과 .....</b>	<b>131</b>
1. 천연배지를 이용한 영지버섯 균사체의 생산성 .....	131
가. 최적 배양 조건 확립 .....	131
1) 탄소원 .....	131
2) 질소원 .....	132
3) 탄소원과 질소원의 교호작용 .....	133
4) 무기염류 .....	133
5) 비타민 .....	134
6) pH .....	135
나. 균사체의 대량생산 조건 탐색 .....	135
1) 접종원의 접종량 .....	135
2) 배양장치별 생산성 검토 .....	136
2. 천연배지를 이용한 신령버섯 균사체의 생산성 .....	137
가. 최적 배양 조건 .....	137
1) 탄소원 .....	137
2) 질소원 .....	138
3) 탄소원과 질소원의 교호작용 .....	139
4) 무기염류 .....	139
5) 비타민 .....	140
6) pH .....	141
나. 균사체의 대량생산 조건 탐색 .....	141

1) 접종원의 접종량 .....	141
2) 배양장치별 생산성 검토 .....	142
3. 천연배지를 이용한 상황버섯 균사체의 생산성 .....	142
가. 최적 배양 조건 확립 .....	142
1) 탄소원 .....	142
2) 질소원 .....	144
3) 탄소원과 질소원의 교호작용 .....	145
4) 무기염류 .....	145
5) 비타민 .....	146
6) pH .....	147
나. 균사체의 대량생산 조건 탐색 .....	147
1) 접종원의 접종량 .....	147
2) 배양장치별 생산성 검토 .....	148
4. 천연배지를 이용한 산업적 배양의 생산성 .....	149
가. 전배양 방법의 확립 .....	149
나. 천연배지와 화학배지의 생산성비교 .....	149
다. 균사체의 상업적 생산시험 .....	150
5. 천연배지를 이용하여 배양한 균사체의 생리활성 검증 .....	151
가. 암세포에 대한 cytotoxicity .....	151
나. 항산화활성 .....	153
1) Electron donating activity .....	153
2) Superoxide dismutase activity .....	154
3) Nitrite scavenging activity .....	155
4) Angiotensin converting enzyme 저해 활성 효과 .....	156
5) Tyrosinase 저해 활성 .....	157
6) Xanthine oxidase 저해 활성 .....	158
<b>제 4 장 참고문헌 .....</b>	<b>159</b>



## 제 1 장 서 론

버섯은 분류학상 균류(*Fungi*)중 진균류(*Eumycetes*)에 속하며 대부분은 담자균류(*Basidiomycetes*)의 일종으로 일반적으로 무기질과 비타민 등의 영양소를 다량 함유하고 있을 뿐만 아니라 독특한 맛과 향기를 가지는 동시에 식용 및 약용으로 널리 이용되고 있는 기능성 식품중의 하나이다. 지금까지 밝혀진 종류로는 22,000여종이 있으며 그 중 현재 식용으로 가능한 것은 300여종 인 것으로 알려져 있다. 또한, 버섯은 궁중요리, 중국 북경지방의 전통고급요리 등에 널리 사용되었고, 예로부터 민간요법으로 육류를 먹고 체하였을 때 단방약으로 널리 사용되어 왔다<sup>(1-4)</sup>.

식생활 수준의 향상 및 다양화로 인한 자연식품, 저칼로리 식품, 무공해 식품의 선호추세로 기능성을 가진 자연 식품들에 대한 관심도는 급격하게 상승하고 있다. 특히 버섯의 생체조절기능 및 암, 뇌졸중, 심장병 등 소위 성인병에 대한 예방 효과와 각종 생리활성에 대한 연구 결과가 보고됨에 따라 버섯에 대한 관심은 더욱 높아지고 있다<sup>(5,6)</sup>. 버섯의 영양성분으로는 당질, 단백질, 비타민 및 무기질이 풍부하며 효능으로는 면역증강, 항산화효과<sup>(7-9)</sup>, 항종양활성<sup>(10,11)</sup>, 혈당강하작용, 강심작용, 혈압강하작용 및 심장병이나 뇌졸중 등의 각종 성인 질환의 예방에 탁월한 효과가 있는 것으로 보고되었다<sup>(12)</sup>.

버섯류는 단순한 식품으로서가 아니라 생체에 영향을 미치는 효과와 기능으로서의 생체방어, 생체리듬 조절 및 질병의 회복과 노화억제 등 생명활동에 대한 식품의 생리조절능력이 있으며 오래 전부터 맛과 영양이 풍부한 식품으로 그리고 약용 등의 목적으로 사용해 왔다<sup>(13,14)</sup>.

버섯의 약리효과에 대해서는 *Lentinus edodes*, *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Lepiota procera*, *Grifola frondosa*, *Lyophyllum nlmarium*, *Pleurotus citrinopileatus* 등의 단백다당체가 항암효과가 있다고 보고되었고<sup>(15,16)</sup>, *Lentinus edodes*는 혈중 cholesterol 함량 저하효과를 나타내는 eritadenine과 항바이러스 효과를 나타내는 생리활성에 관한 연구가 이루어졌으며<sup>(17)</sup>, Kimoto 등<sup>(18)</sup>은 표고버섯을 투여한 흰쥐의 혈장 및 간장 지질성분에 대한 영향에서 고지혈증을 일으킨 흰쥐에 표고버섯을 투여 시켰을 때 인지질

농도를 저하시켰고 간장에 축적된 지질도 점차 정상화되었다고 보고하였다. *Ganoderma lucidum*은 혈압강화작용을 나타내는 성분이 밝혀졌고<sup>(19)</sup>, *Agrocybe dura*, *Polyporus bififormis*, *Clytocybe diatreta*, *Clavaria zollingeri* 등은 항균활성 효과도 밝혀졌다<sup>(20)</sup>.

영지버섯(*Ganoderma lucidum*)은 우리나라를 비롯한 온대지역에 널리 분포하고 있는 목재부후성 담자균류의 일종으로 주로 참나무, 밤나무, 복숭아나무 등의 활엽수 고사목에 자생하고 있으며 이들 식물체에서 유래된 유기 탄소화합물이나 질소화합물을 주 영양원으로 이용하여 성장한다<sup>(21)</sup>. 영지버섯은 분류학적으로는 민주름버섯목(*Aphyllporales*) 불노초과(*Ganodermaceae*) 불노초속(*Ganoderma*)에 속하여<sup>(22-24)</sup> 옛부터 진귀한 한약재로 사용되어온 약용균류이다. 또한, 영지버섯은 중국 고 문헌인 본초강목 등<sup>(25)</sup>에 한약재로 기록되어져 있어, 근래에는 많은 연구자들에 의하여 암, 고혈압, 당뇨, 간질환, 신경질환, 알러지 등의 각종 질병에 높은 치료 및 예방효과가 있음이 확인되고 있다<sup>(26)</sup>.

상황버섯은 분류학적으로 소나무 비늘버섯과(*Hymenochaetaceae*), 진흙버섯속(*Phellinus*)에 속하는 백색부후균이다. 약리작용으로는 소화기 계통의 암인 위암, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암을 비롯한 간암수술 후 화학요법을 병행할 때 면역기능을 향진시키며, 자궁출혈 및 대하, 월경불순에 효과가 있으며, 또한, 오장기능을 활성화 시키고 해독작용을 한다<sup>(27,28)</sup>. 상황버섯은 주로 항암활성에 관한 연구가 알려져 있는데, Chang 등<sup>(29)</sup>에 의해 정리된 자료에 의하면 17종의 담자균 가운데 월등히 높은 항암력을 지닌 버섯은 상황버섯을 위시하여 송이버섯, 맛버섯, 팽이버섯, 표고버섯 등 5종이 있으며, 이 중 상황버섯은 종양저지율이 96.7%로서 가장 강력한 항암력을 나타낸다고 발표하였다.

아가리쿠스버섯(*Agaricus blazei*)은 들버섯속 송이과에 속하는 버섯으로 식용은 물론, 면역증강 활성물질이 함유되어 있다. 분포 지역은 미국의 플로리다와 중남미의 중원 지대에 자생되는 버섯으로 알려져 있으며, 국내에는 자생되지 않는다. 다른 들버섯속보다 형태상으로 대가 굵고 길며, 포자의 흑변이 늦고 향이 강하고 대의 육질이 맛이 좋은 것이 특징이다<sup>(30)</sup>. 아가리쿠스버섯의

약리작용은 항종양효과, 제암효과, 암의 예방효과, 혈당강화작용, 혈압강하, 콜레스테롤 저하 등이 나타나고 있다<sup>(31)</sup>.

이처럼 담자균류의 자실체와 액체배양한 균사체 추출물들의 항균, 항암활성에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 담자균의 단백다당체들은 항암활성을 가지고 있으며 현재 가장 높은 사망 원인인 암 뿐만 아니라 순환기계질환에도 치료효과가 있는 것으로 보고되고 있는 등 생리활성물질에 관한 연구가 진행되고 있다<sup>(32-34)</sup>.

본 연구에서는 예로부터 다양한 생리활성으로 귀한 약재료로 인식되어온 상황버섯(*Phellinus linteus*), 신령버섯(*Agaricus blazei*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 균사체의 액체배양에 있어서 배지의 전처리가 용이하고 경제적으로 유리한 천연재료 및 식품부산물들을 이용하여 각 균사체 액체배양에 적당한 배지재료를 선정하고 균사체 대량배양최적조건을 확립하고자 하였다. 또한, 천연배지를 이용하여 생산된 균사체를 추출하여 그 생리적 기능성을 확인하였다.

## 제 2 장 연구수행 내용 및 결과

### 제 1 절 연구수행 내용

#### 1. 균주

본 연구에 사용된 균주는 한국 유전자은행에서 분양 받은 *Ganoderma lucidum* 6729(영지버섯), 농업과학기술원에서 분양 받은 *Phellinus linteus* 26004(상황버섯), *Agaricus blazei*(신령버섯)으로써 28℃에서 영지버섯은 potato dextrose agar(PDA; Difco Co.), 상황버섯과 신령버섯은 malt yeast glucose medium(MYG)을 사용하여 본 연구실에서 계대배양하면서 사용하였다.

#### 2. 배지

균사의 성장속도를 비교하기 위하여 사료 생산재료 및 가공부산물인 천연물 등을 10가지 선정하여 수용성인 것은 그대로 녹여 사용하였으며, 나머지 5종(cane molasses, beet molasses, wheat bran, rice bran, soybean meal)은 90℃에서 1시간 동안 진탕으로 추출한 다음 그 상정액을 배지로 사용하였다.

평판배지는 121℃에서 15분간 고압 살균하여 직경 9cm의 평판 배양접시에 25ml씩 분주하였다.

#### 3. 균사체 배양

##### 가. 최적 배양 조건 확립

##### 1) 탄소원

영지버섯, 상황버섯, 신령버섯 균사의 성장 속도에 미치는 탄소원의 영향을 조사하기 위하여 glucose, sucrose, lactose, corn starch, potato starch, cane molasses, beet molasses, wheat bran, rice bran, soybean meal의 10종류를 사용하였다. 각 탄소원의 농도는 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0%로 하여 2원 배치 실험을 3회 반복하였다. 평판배지에 탄소원과 agar만을 첨가하여 영지버섯은 6일, 상황버섯은 12일, 신령버섯은 15일간 배양한 후 colony의 직경을 측정하였으며

균사체의 밀도는 육안으로 판정하였다.

## 2) 질소원

각 균주별 성장 속도에 미치는 질소원의 영향을 조사하기 위하여 질소원 peptone, tryptone, bacto soytone, yeast extract, urea, mineral salts군에서  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , Ammonium군에서 tartrate,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_2)_2$ ,  $\text{KNO}_3$ 의 11 종류를 사용하였다. 각 질소원의 농도는 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7%로 하여 2원 배치 실험을 3회 반복하였다. 평판배지에 질소원과 agar만을 첨가하여 영지버섯은 7일, 상황버섯은 12일, 신령버섯은 15일간 배양한 후 탄소원에 관한 실험과 동일한 방법으로 질소원의 종류에 따라 균사성장 속도를 비교하였다.

## 3) 탄소원과 질소원의 교호작용

균사체 성장을 위한 탄소원과 질소원의 교호작용을 검증하기 위해 탄소원과 질소원 각 3종류를 선발하여 2원 배치 실험을 3회 반복하였다.

영지버섯은 탄소원으로 균사성장 속도와 밀도를 고려하여 wheat bran 3%, rice bran 4%, soybean meal 3%를 선발하였고, 질소원으로 yeast extract 0.6%, soytone 0.4%, peptone 0.4%를 선발하였다.

상황버섯은 탄소원으로 wheat bran 2%, rice bran 3%, soybean meal 3%를, 질소원으로 yeast extract 0.6%, soytone 0.5%, tryptone 0.6%를 선발하였고, 신령버섯은 탄소원으로 wheat bran 3%, glucose 1%, sucrose 3%를, 질소원으로 soytone 0.4%, tryptone 0.6%, peptone 0.4%를 선발하였다.

균사의 성장속도는 영지버섯은 6일, 상황버섯은 12일, 신령버섯은 15일간으로 영지버섯과 상황버섯은 28℃, 신령버섯은 30℃ 항온기에서 배양한 후 상기 방법에 준하여 측정하였다.

## 4) 무기염류

대부분의 버섯 영양배지에 공통으로 첨가되는 무기염류인  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,

$K_2HPO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 를 첨가한 배지와 첨가하지 않은 배지에서 균사의 생장을 상호 비교하였다. 균사의 성장속도는 28°C에서 영지버섯은 6일, 상황버섯은 12일, 30°C에서 신령버섯은 14일간 항온기에서 배양한 후 상기 방법에 준하여 측정하였다. 또한 균사체량을 측정하기 위한 액체배양은 영지버섯 28°C에서 7일, 상황버섯(28°C)과 신령버섯(30°C)은 10일간 진탕 배양(130rpm)한 후 균사체를 회수하여 건조균사체량을 측정하였다.

#### 5) 비타민

배지 조성 실험에서 선정된 각 배지에 비타민류 inositol 등의 6종을 100ppm으로 각각 배지에 첨가하여 filter sterilization 후 배지에 첨가하였으며 28°C에서 영지버섯은 6일, 상황버섯은 12일, 30°C에서 신령버섯은 14일간 항온기에서 배양한 후 균사체 성장정도를 조사하였다.

#### 6) pH

배지 조성 실험에서 확인된 배지에서 균사성장최적 pH를 확인하기 위하여 액체배지를 제조한 다음 0.1N NaOH와 0.1N HCl로 pH 4.0~8.0까지 조절하였다. 각 pH별로 조절된 배지 100ml를 300ml 삼각플라스크에 분주하고 여기에 접종원 10ml씩 접종, 최적 배양온도에서 영지버섯은 6일, 상황버섯과 신령버섯은 10일간 진탕 배양(130rpm)한 후 건조균사체량을 측정하였다.

#### 나. 균사체의 대량생산 조건 탐색

##### 1) 접종원의 접종량

각 버섯의 균사체를 flask에 진탕배양으로 전배양한 접종원을 homogenizer로 균질화한 후 배지에 대한 접종원의 농도를 3, 5, 7, 9%씩 접종 후 125rpm,  $29 \pm 1^\circ C$ 에서 배양하였다. 배양 2일째부터 2일 간격으로 수거하여 pH와 건조균사체량을 측정하였다.

2) 배양장치별 생산성 검토

배양장치별 균사체 생산성을 조사하기 위하여 jar fermenter(10L), air-sparging fermenter(13L), balloon type fermenter(10L)를 이용하였다. Jar fermenter는 10L 배양기에 배지 5L를 넣어 121℃, 30분간 멸균, 냉각한 후 담자균을 접종하여 29±1℃, 130rpm에서 8일간 배양하였다.

Air-sparging fermenter와 balloon type fermenter는 각각 5L를 넣어 동일한 방법으로 멸균한 후 담자균을 접종하여 29±1℃에서 멸균필터를 통한 air만을 공급하여 배양하였다. 매일 샘플링을 통해 균사체 생산량이 가장 많을 때에 수거하여 건조균사체량을 측정하였다.

다. 천연배지를 이용한 산업적 배양의 생산성

1) 전배양 방법의 확립

균사체의 생산 효율이 높은 배양과정을 확립하기 위하여 전배양 방식(Table 1)으로 나누어 전배양한 후 10L jar fermenter를 이용하여 본배양하였다. 본배양이 된 배양액을 수거하여 균사체를 여과한 후 건조균사체량을 측정하였다.

Table 1. Procedures for pre-culturing

		Process		
Procedure	1	Plate culture →	Shaking culture →	Homogenizing →
		Main culture		
Procedure	2	Plate culture →	Shaking culture →	Homogenizing →
		Shaking culture(2~3days) →		Main culture
Procedure	3	Plate culture →	Shaking culture →	Homogenizing →
		Stationary culture(4~5days) →		Main culture

## 2) 천연배지와 화학배지의 생산성비교

최적 배양조건에서 화학배지와 천연배지를 사용하여 10L jar fermenter에 배양, 수거 후 건조균사체량을 측정하였다. 화학배지로는 버섯 배양에 많이 사용되는 MYG(malt yeast glucose)를 사용하였다.

## 3) 균사체 상업적 생산시험

천연배지를 이용한 균사체의 대량생산성을 검증하기 위하여 버섯농장에서 종균배양에 사용하는 200L 폭기형 탱크를 이용하여 본 배양을 실시하였다 (29±1℃, 폭기압력1.2kgf/cm<sup>2</sup>). 7~10일간 배양 후 수거하여 건조균사체량을 측정하였다.

## 4. 기능성 검정 시료 제조

각 버섯의 균사체를 메탄올(95%)로 50℃에서 48시간씩 3회 반복, 추출한 후 whatman No. 2 여과지로 여과하였다. 이 여과액을 rotary vacuum evaporator로 감압농축한 후 증류수 30ml를 넣어 freeze dryer(DC 1316, Il-sin, Korea)로 동결건조하여 시료로 사용하였다.

## 5. 균사체의 생리활성 검증

### 가. 암세포에 대한 cytotoxicity

*Ganoderma lucidum* 6729(영지버섯), *Phellinus linteus* 26004(상황버섯), *Agaricus blazei*(신령버섯)의 각 메탄올 추출물을 MTT방법<sup>(35)</sup>으로 위암 (SNU-638)세포에 대한 세포독성을 검증하였다. 즉, 1×10<sup>4</sup>개의 세포를 180μl의 RPMI배지에 부유시켜 96-well plate에 접종시키고 37℃, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 4시간 배양 후 각각의 시료를 10, 50, 100ppm의 농도로 96-well plate에 20 μl/well 첨가하여 72시간 배양하였다. 배양한 96-well plate에 MTT시약 20μl/well을 첨가하여 4시간 반응시킨 후 배지를 제거한 후 PBS buffer로 세척하였다. 여기에 dimethyl sulfoxide(DMSO) 200μl를 각 well에 투여한 후 120초간 shaking하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다.



## 나. 항산화활성

### 1) Electron donating activity

DPPH( $\alpha,\alpha$ -diphenyl-2-picryl-hydrazyl, Sigma, USA) radical에 대한 소거능은 Blois<sup>(36)</sup>의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료용액 1ml에  $2 \times 10^{-4}$ M DPPH 0.5ml를 넣고 vortex한 후 30분 동안 방치한 다음 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Electron donating activity(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

### 2) Superoxide dismutase activity

SOD활성능 측정은 Marklund등<sup>(37)</sup>의 방법에 의하여 측정하였다. 각 시료 0.2ml에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris+10 mM EDTA) 3ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2ml를 가하고 실온에서 10분간 방치한 다음, 1N HCl 1ml를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 420nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$100 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{시료 무첨가구의 흡광도}) \times 100$$

### 3) Nitrite scavenging activity

아질산염 소거능은 Gray와 Dugan<sup>(38)</sup>의 방법에 준해 측정하였다. 1 mM NaNO<sub>2</sub>용액 1ml에 각각의 시료를 가하고 0.1N HCl (pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정 한 다음 총량을 10ml로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간동안 반응시킨 후 각 반응액을 1ml씩 취하여 2% acetic acid 용액 5ml, Griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1 : 1 비율로 혼합하여 사용직전 제조한 것) 0.4ml을 가하여

잘 혼합하였다. 이를 실온에서 15분간 방치한 후 520nm에서 흡광도를 측정하고 잔존하는 아질산량을 측정하였다. 아질산염 소거능은 다음과 같이 측정하였다.

$$100 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{시료 무첨가구의 흡광도}) \times 100$$

#### 4) Angiotensin converting enzyme 활성 저해 효과

Angiotensin converting enzyme 저해효과 측정은 Cushman과 Ondetti<sup>(39)</sup>의 방법을 변형하여 행하였다. 즉, 반응구는 0.3M NaCl을 함유하는 0.1M potassium phosphate buffer (pH 8.3)에 기질인 Hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma, USA) 2.5 mM을 녹인 액 0.15ml, lung acetone powder 1g당 buffer 10ml를 넣어 하루 동안 냉장보관한 후 원심 분리한 액 0.1ml를 ACE 대신 사용하였고, 여기에 각각의 시료 용액 0.1 ml를 혼합하였다. 대조구는 시료 대신 증류수 0.1ml를 첨가하였다. 37°C에서 30분간 반응시키고, 1N HCl 0.25ml 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 1.5ml의 ethylacetate를 첨가하였다. Ethylacetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 1ml 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 spectrophotometer(UV mini 1240, Shimadzu, Japan)를 사용하여 흡광도 228nm에서 측정한 후 다음 식에 따라 저해율(%)을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left( 1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid 생성량}}{\text{대조구의 hippuric acid 생성량}} \right) \times 100$$

#### 5) Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase의 저해 활성 측정은 Yagi등<sup>(40)</sup>의 방법에 준하여 측정하였다. 0.5ml의 1/15 M sodium phosphate buffer (pH 6.8)에 0.2ml의 mushroom tyrosinase (110 units/ml Sigma, USA), 0.2ml의 L-3,4-dihydroxyphenol alanine(10mM L-DOPA, Sigma, USA) 기질용액 및 각 시료 용액 0.1ml를 혼

합하여 37℃에서 2분간 반응시킨 후 475nm에서 측정된 값과 시료대신 증류수 0.1ml를 첨가하여 흡광도를 측정된 값으로 DOPA chrome의 변화를 저해율로 계산하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 6) Xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase 저해 활성 측정은 Stirpe와 Corte의 방법<sup>(41)</sup>에 따라 측정하였다. 즉, 반응구는 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6ml에 xanthine(Sigma, USA) 2mM을 녹인 기질액 0.2ml와 xanthine oxidase (0.2 unit/ml, Sigma, USA) 0.1ml 및 각 시료용액 0.1ml를 가하고 대조구에는 시료대신 증류수 0.1ml 첨가하여 37℃에서 15분간 반응시키고 1N HCl 1ml를 첨가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292nm에서 측정하여, 다음 식으로 저해율(%)을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 uric acid 생성량}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}}\right) \times 100$$

## 제 2 절 연구 결과

### 1. 천연배지를 이용한 영지버섯 균사체의 생산성

#### 가. 최적 배양 조건 확립

##### 1) 탄소원

각 탄소원에 대한 영지버섯의 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 영지버섯의 경우 wheat bran을 첨가한 배지에서 균사의 성장 속도와 밀도가 가장 우수하였다. 그리고 rice bran, soybean meal은 균사의 밀도는 비교적 양호하였으나 성장속도는 wheat bran을 첨가한 배지에 비해 떨어졌다. 반면에, glucose, sucrose, corn starch를 첨가한 각 배지에서는 균사의 생장에 있어 다른 탄소원에 비하여 크게 떨어졌다.

Table 2. Effect of carbon sources and concentrations on the mycelial growth of *Ganoderma luciduim*

	Colony diameter(mm) <sup>1)</sup> at indicated carbon conc.(%)					Mycelial density <sup>3)</sup>
	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	
Glucose	6.3±0.6 <sup>2)</sup>	6.7±0.6	8.3±0.6	8.0±1.0	10.7±0.6	†
Sucrose	6.0±0.0	6.3±1.0	6.3±1.0	8.0±1.0	7.0±1.0	†
Lactose	23±0.5	25±0.1	30±0.0	34±0.4	32±0.2	†
Corn starch	6.7±0.6	7.0±0.1	9.3±0.6	8.7±0.1	8.8±0.2	†
Potato starch	20±0.6	15±0.2	15±0.4	15±0.8	15±0.5	† †
Cane molasses	41±1.1	45±1.0	47±1.5	40±0.5	37±0.0	† †
Beet molasses	42±0.4	42±0.5	41±0.3	40±1.0	35±0.5	† †
Wheat bran	67±0.6	71±0.6	79±0.1	78±0.2	78±0.1	† † †
Rice bran	73±0.2	73±0.2	76±0.1	76±0.2	75±0.2	† † †
Soybean meal	40±0.1	51±0.6	53±0.2	52±0.4	53±0.3	† † †

<sup>1)</sup>Colony diameter was measured after 6 days of incubation at 28°C in the solid medium containing each carbon source without nitrogen source.

<sup>2)</sup>Values are mean ±SD.

<sup>3)</sup>The increased number of † indicates increased degree of mycelial density

## 2) 질소원

질소원에서는 yeast extract를 첨가한 배지에서 균사의 성장속도와 밀도가 가장 우수 하였으며, peptone과 bacto soytone을 질소원으로 첨가하였을 경우 밀도는 우수하였으나 성장속도는 yeast extract를 첨가한 배지에 비해 떨어졌다. 한편, 무기질소원인 NH<sub>4</sub>Cl, tartrate, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, Ca(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, KNO<sub>3</sub>을 첨가한 배지에서는 균사의 성장속도와 밀도면에서 유기질소원을 첨가한 배지에 비하여 크게 떨어지는 것으로 나타났다.

Table 3. Effect of nitrogen sources and concentrations on the mycelial growth of *Ganoderma lucidum*

	Colony diameter(mm) <sup>1)</sup> at indicated nitrogen conc.(%)							Mycelial density <sup>3)</sup>
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	
Peptone	49±0.2 <sup>2)</sup>	48±0.6	49±0.3	51±0.1	48±0.1	48±0.2	48±0.2	† † †
Tryptone	48±0.1	47±0.8	42±0.5	39±0.7	37±0.7	43±0.3	39±0.1	† †
Bacto soytone	49±0.3	54±0.2	55±0.2	56±0.3	55±0.6	54±0.2	52±0.1	† † †
Yeast extract	60±0.3	58±0.3	61±0.2	53±0.1	59±0.7	60±0.6	58±0.1	† † †
Urea	37±0.2	36±0.1	39±0.3	41±0.3	40±0.1	38±0.2	40±0.3	† †
<b>Mineral salts</b>								
NH <sub>4</sub> Cl	30±0.2	22±0.2	32±0.5	23±0.3	33±0.1	29±0.2	28±0.3	† †
<b>Ammonium</b>								
tartrate	38±0.2	26±0.3	22±0.1	29±0.5	23±0.4	36±0.6	27±0.1	†
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	35±0.2	28±0.2	32±0.1	35±0.2	29±0.2	30±0.2	31±0.1	†
NaNO <sub>3</sub>	26±0.3	27±0.1	25±0.2	26±0.1	29±0.5	28±0.2	28±0.1	†
Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	31±0.2	29±0.1	28±0.1	35±0.2	39±0.2	34±0.2	35±0.4	† †
KNO <sub>3</sub>	26±0.5	21±0.3	30±0.2	32±0.1	31±0.5	32±0.2	33±0.3	†

<sup>1)</sup>Colony diameter was measured after 7 days of incubation at 28°C in the solid medium containing each nitrogen source without carbon source.

<sup>2)</sup>Values are mean ±SD.

<sup>3)</sup>The increased number of † indicates increased degree of mycelial density.

### 3) 탄소원과 질소원의 교호작용

균사체 성장을 위한 탄소원과 질소원의 교호작용을 검증하기 위해, 각 균주의 탄소원 및 질소원의 최적화 실험에서 균사생장이 양호한 것으로 나타난 영양원 각 3종류를 선발하여 2원 배치 실험을 실시하였다.

탄소원으로 wheat bran 3%와 질소원으로 yeast extract 0.6%를 조합한 것이 균사의 성장속도와 밀도가 가장 우수하였으며, soybean meal 3%와 peptone 0.4%를 조합한 것이 가장 부진한 균사생장을 보였다(Table 4).

Table 4. Effect of carbon and nitrogen sources on the mycelial growth of *Ganoderma lucidum*

carbon source and conc.	Colony diameter(mm) <sup>1)</sup> at indicated nitrogen source and conc.		
	Yeast extract 0.6%	Bacto soytone 0.4%	Peptone 0.4%
Wheat bran 3%	77±1.0 <sup>2)</sup> (†††) <sup>3)</sup>	73±0.6(†††)	74±1.2(†††)
Rice bran 4%	74±0.6(†††)	68±1.9(††)	59±1.5(†††)
Soybean meal 3%	50±1.2(††)	42±1.7(†††)	40±1.0(††)

<sup>1)</sup>Colony diameter was measured after 6 days of incubation at 28°C.

<sup>2)</sup>Values are mean ±SD.

<sup>3)</sup>The increased number of † indicates increased degree of mycelial density.

### 4) 무기염류

균사 성장에 미치는 무기염류의 영향은 Table 5와 같다. 즉 버섯 영양배지에 일반적으로 사용되는 무기염류(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.046%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1%, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05%)를 첨가한 배지와 무기염류를 첨가하지 않은 배지에서의 균사 성장과 상호 비교하였다. 또한, 액체 배양에 의한 건조 균사체량을 측정하여 상호 비교하였다. 영지버섯과 신령버섯의 경우는 무기염류를 첨가한 배지에서의 균사 성장속도가 무기염류를 첨가하지 않은 배지에서보다 양호하였으며, 상황버섯은 무기염류의 첨가여부가 균사 성장에 큰 영향을 끼치지 못하는 것으로 나타났다.

Table 5. Effect of mineral salts on the mycelial growth of *Ganoderma lucidum*

	With mineral salts	Without mineral salts
Colony diameter(mm)	82±1.0	75±1.2
Dry weight of mycelia(mg/10ml)	51±1.6	39±1.7

Mineral salts :  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.046%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%.

Values are mean ±SD.

#### 5) 비타민

균사생육에 요구되는 비타민류를 조사하여 균사체 대량 배양시와 인공재배용 배지 제조시 효과적인 영양원을 공급하기 위하여 비타민류가 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과 Table 6과 같다.

각종 비타민류를 질소원과 탄소원 실험에서 선정된 최적배지에 각 농도별로 첨가하여 균사생장을 조사한 결과 비타민의 첨가여부가 균사 생장에 큰 영향을 끼치지 못하는 것으로 나타났다.

Table 6. Effect of vitamins on the mycelial growth of *Ganoderma lucidum* in liquid media

Vitamins	Vitamins conc.(ppm)	
Inositol	100	49±0.8
Thiamine	100	48±1.2
Biotine	100	50±2.0
Nicotinic acid	100	51±1.1
Folic acid	100	48±1.6
Pharmamedia	100	51±1.7
Control		50±1.2

## 6) pH

Table 7에서는 pH별로 조절된 액체배지 100ml에 접종원을 5ml씩 접종한 후 최적 배양온도에서 진탕배양한 후 건조균사체량을 측정한 결과, 영지버섯은 pH 5.5~6.0사이로 알칼리성보다는 약산성에서 균사 생장이 좋은 것으로 나타났다.

Table 7. Effect of pH on the mycelial dry weight of the *Ganoderma lucidum* in liquid media

pH	Dry weight of mycelia(mg/10ml)
4.0	37±1.2 <sup>1)</sup>
4.5	35±1.0
5.0	47±2.0
5.5	55±1.3
6.0	57±0.6
6.5	51±0.9
7.0	45±1.2
7.5	37±1.0
8.0	28±1.4

<sup>1)</sup>Values are mean ±SD.

### 나. 균사체의 대량생산 조건 탐색

#### 1) 접종원의 접종량

각 균주를 진탕 배양한 후 접종량을 3, 5, 7, 9%의 비율로 접종한 뒤 125rpm, 29±1°C의 조건에서 배양하면서 배양기간별 pH와 균사체 함량을 측정한 결과(Fig. 1), 영지버섯은 접종량 농도 3%가 가장 우수한 생산성을 보였다. 배양기간별 pH는 배양 4일째 각 농도에 있어 급격한 감소가 나타났으며 특히 접종량 9%에서 가장 큰 감소를 보였고, 배양 8일째부터 pH가 증가하였다.



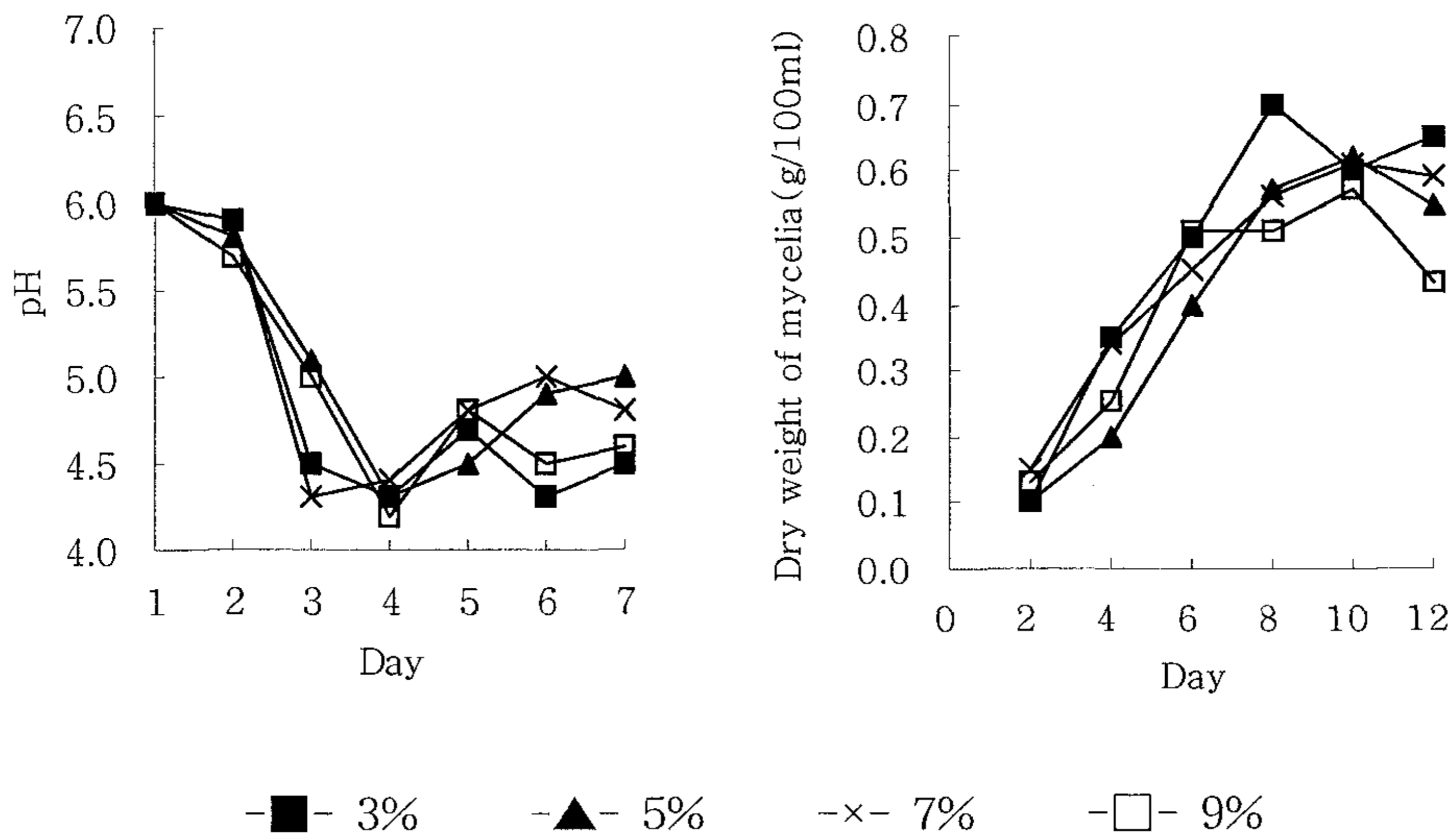


Fig. 1. Mycelial productivity and change in liquid culture of *Ganoderma lucidum*.

2) 배양장치별 생산성 검토

Jar fermenter(10L), air-sparging fermenter(13L), ballon type bioreactor(10L)를 이용하여 영지버섯의 균사체 생산성을 조사한 결과, jar fermenter에서 균사체 생산성이 가장 우수하였으며, air-sparging fermenter와 ballon type fermenter에서는 생산량이 비슷하였다(Table 8).

Table 8. Mycelial productivity by various fermenters

Jar fermenter	Air-sparging fermenter	Ballon type fermenter
10.2	9.7	8.8

## 2. 천연배지를 이용한 신령버섯 균사체의 생산성

### 가. 최적 배양 조건

#### 1) 탄소원

배양 배지 내의 탄소원은 미생물의 세포 구성성분이나 미생물 대사에 필요한 주요 에너지원으로 이용되고 있다. 각 탄소원에 대한 신령버섯은 corn starch배지를 사용하였을 때 균사생장이 가장 부진하였을 뿐, 그 외 대부분의 탄소원에서 양호한 성장을 보였으며, wheat bran 3%를 첨가한 배지에서 균사의 생장이 가장 우수하였다(Table 9).

Table 9. Effect of carbon sources and concentrations on the mycelial growth of *Agaricus blazei*

	Colony diameter(mm) <sup>1)</sup> at indicated carbon conc.(%)					Mycelial density <sup>3)</sup>
	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	
Glucose	33±0.3 <sup>2)</sup>	23±0.2	23±0.3	22±0.3	16±0.2	† †
Sucrose	36±0.6	40±0.3	49±0.3	43±1.2	41±0.5	† †
Lactose	21±0.2	23±0.4	27±0.3	19±0.2	18±0.6	†
Corn starch	27±0.4	13±0.1	20±0.1	25±0.2	25±0.1	†
Potato starch	30±0.2	31±0.2	31±0.2	36±0.3	34±0.1	†
Cane Molasses	39±0.3	38±0.2	35±0.3	41±0.4	37±0.5	†
Beet molasses	37±0.6	38±0.2	37±0.4	33±0.7	31±0.8	†
Wheat bran	38±0.6	46±0.5	53±0.2	42±0.3	48±0.1	† † †
Rice bran	22±0.2	27±0.8	23±0.2	27±0.4	29±0.2	†
Soybean meal	22±0.3	26±0.3	23±0.1	22±0.6	21±0.4	†

<sup>1)</sup>Colony diameter was measured after 15 days of incubation at 28°C in the solid medium containing each carbon source without nitrogen source.

<sup>2)</sup>Values are mean ±SD.

<sup>3)</sup>The increased number of † indicates increased degree of mycelial density.

## 2) 질소원

질소원은 미생물 균체의 단백질, 핵산 등의 합성에 필요로 하는 주요한 배지 성분이다. tryptone 0.6%를 첨가한 배지에서 균사의 성장속도와 밀도가 가장 우수하였고, 다음으로 bacto soytone, yeast extract 순으로 균사생장이 양호하였다. 그리고 tryptone의 농도가 증가함에 따라 균사의 성장속도가 증가하는 경향을 보였으며, 다른 버섯균과 마찬가지로 무기질소원을 첨가한 배지에서는 균사 밀도가 매우 낮은 것으로 나타났다. 한편, tryptone의 농도가 0.6%에서 생장이 가장 우수하였으나 0.7%에서는 오히려 감소하는 것으로 보였다.

Table 10. Effect of nitrogen sources and concentrations on the mycelial growth of *Agaricus blazei*

	Colony diameter(mm) <sup>1)</sup> at indicated nitrogen conc.(%)							Mycelial density <sup>3)</sup>
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	
Peptone	22±0.6 <sup>2)</sup>	15±0.1	23±0.2	43±0.8	23±0.4	23±0.4	24±0.2	† †
Tryptone	15±0.6	17±0.7	23±0.5	39±0.8	32±0.7	47±0.1	35±0.4	† † †
Bacto soytone	22±0.2	37±1.2	24±0.3	44±0.8	19±0.2	36±0.1	27±0.5	† †
Yeast extract	19±0.2	21±0.5	18±0.2	26±0.1	22±0.6	19±0.1	22±0.2	† †
Urea	21±0.3	24±0.1	24±0.4	29±0.1	19±0.6	18±0.2	20±0.1	†
<b>Mineral salts</b>								
NH <sub>4</sub> Cl	27±0.3	25±0.6	24±0.4	25±0.4	21±0.7	31±1.1	26±0.2	†
<b>Ammonium</b>								
tartrate	17±0.1	18±0.1	17±0.2	16±0.1	20±0.2	22±0.5	22±0.3	†
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	30±0.2	33±0.3	30±0.1	32±0.4	35±0.2	27±0.5	29±0.2	†
NaNO <sub>3</sub>	28±0.2	27±0.3	26±0.4	26±0.5	25±0.2	29±0.3	22±0.4	†
Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	18±0.2	19±0.4	22±0.2	29±0.3	25±0.3	26±0.5	21±0.1	†
KNO <sub>3</sub>	20±0.3	30±0.2	27±0.4	28±0.2	26±0.3	22±0.1	25±0.4	†

<sup>1)</sup>Colony diameter was measured after 15 days of incubation at 28°C in the solid medium containing each nitrogen source without carbon source.

<sup>2)</sup>Values are mean ±SD.

<sup>3)</sup>The increased number of † indicates increased degree of mycelial density.

### 3) 탄소원과 질소원의 교호작용

균사체 생장을 위한 탄소원과 질소원의 교호작용을 검증하기 위해, 영지버섯과 마찬가지로 2원 배지 실험을 실시하여 관찰한 결과, 탄소원으로 wheat bran 3%와 질소원으로 tryptone 0.6%를 조합한 것이 균사의 성장속도와 밀도가 가장 우수하였으며, sucrose 3%와 peptone 0.4%를 조합한 것이 가장 부진한 균사생장을 보였다.

Table 11. Effect of carbon and nitrogen sources on the mycelial growth of *Agaricus blazei*

carbon source and conc.	Colony diameter(mm) <sup>1)</sup> at indicated nitrogen source and conc.		
	Soytone 0.4%	Tryptone 0.6%	Peptone 0.4%
Wheat bran 3%	37±0.3 <sup>2)</sup> (††) <sup>3)</sup>	46±1.0(†††)	43±0.3(††)
Glucose 1%	38±0.5(†)	29±0.3(††)	33±0.6(†)
Sucrose 3%	44±0.4(††)	33±1.3(†)	23±1.0(†)

<sup>1)</sup>Colony diameter was measured after 15 days of incubation at 30°C.

<sup>2)</sup>Values are mean ±SD.

<sup>3)</sup>The increased number of † indicates increased degree of mycelial density.

### 4) 무기염류

균사 생장에 미치는 무기염류의 영향은 Table 12와 같다. 즉 버섯 영양배지에 일반적으로 사용되는 무기염류(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.046%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1%, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05%)를 첨가한 배지와 무기염류를 첨가하지 않은 배지에서의 균사 생장과 상호 비교하였다. 또한, 액체 배양에 의한 건조 균사체량을 측정하여 상호 비교하였다. 신령버섯 균사체는 무기염류를 첨가한 배지에서의 균사 성장속도가 무기염류를 첨가하지 않은 배지에서보다 양호하였다.

Table 12. Effect of mineral salts on the mycelial growth of *Agaricus blazei*

	With mineral salts	Without mineral salts
Colony diameter(mm)	46±0.5	42±1.0
Dry weight of mycelia(mg/10ml)	47±2.0	40±1.0

Mineral salts :  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.046%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%.

Values are mean ±SD.

### 5) 비타민

균사생육에 요구되는 비타민류를 조사하여 균사체 대량 배양시와 인공재배용 배지 제조시 효과적인 영양원을 공급하기 위하여 비타민류가 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과 Table 13과 같다. 각종 비타민류를 질소원과 탄소원 실험에서 선정된 최적배지에 각 농도별로 첨가하여 균사생장을 조사한 결과 비타민의 첨가여부가 균사 생장에 큰 영향을 끼치지 못하는 것으로 나타났다.

Table 13. Effect of vitamins on the mycelial growth of *Agaricus blazei* in liquid media

Vitamins	Vitamins conc.(ppm)	
Inositol	100	38±1.4
Thiamine	100	39±1.5
Biotine	100	38±1.8
Nicotinic acid	100	39±1.0
Folic acid	100	40±2.0
Pharmamedia	100	41±2.0
Control		40±1.5

Values are mean ±SD.

## 6) pH

Table 14는 pH별로 조절된 액체배지 100ml에 접종원을 5ml씩 접종한 후 최적 배양온도에서 진탕배양한 후 건조균사체량을 측정한 결과이다. 실험버섯은 pH 5.0에서 균사생장이 가장 저조하였고, pH 6.5에서 균사생장이 가장 우수하였다.

Table 14. Effect of pH on the mycelial dry weight of *Agaricus blazei* in liquid media

pH	Dry weight of mycelia(mg/10ml/10day)
4.0	27±1.7
4.5	29±1.3
5.0	26±1.0
5.5	33±1.4
6.0	40±1.5
6.5	46±2.0
7.0	41±1.0
7.5	43±1.8
8.0	42±1.1

Values are mean ±SD.

### 나. 균사체의 대량생산 조건 탐색

#### 1) 접종원의 접종량

접종량을 3, 5, 7, 9%의 비율로 접종한 뒤 125rpm, 29±1℃의 조건에서 배양하면서 배양기간별 pH와 균사체 함량을 측정한 결과(Fig. 2), 접종원 농도가 9%에서는 배양 2일째 다른 농도보다 2배정도 높았다가 그 후에는 완만한 상승을 보였다. 이런 결과는 접종량이 상대적으로 많으면 생육속도는 단축시킬 수 있지만 균사체 생산량의 증가로 연결되는 것은 아니라는 것을 알 수 있었다. 접종은량을 높인다고 해서 생산량을 높이는 것은 아니라는 것을 알 수 있었다. 접종원 농도가 5%에서 배양 10일째에 가장 우수한 생산성을 보였으며 그 다음으로 3%가 생산성이 높았다. 배양기간별 pH는 배양 8일째에 모든 농도에서 급격히 감소하였으며 9%농도에서 가장 낮았다.

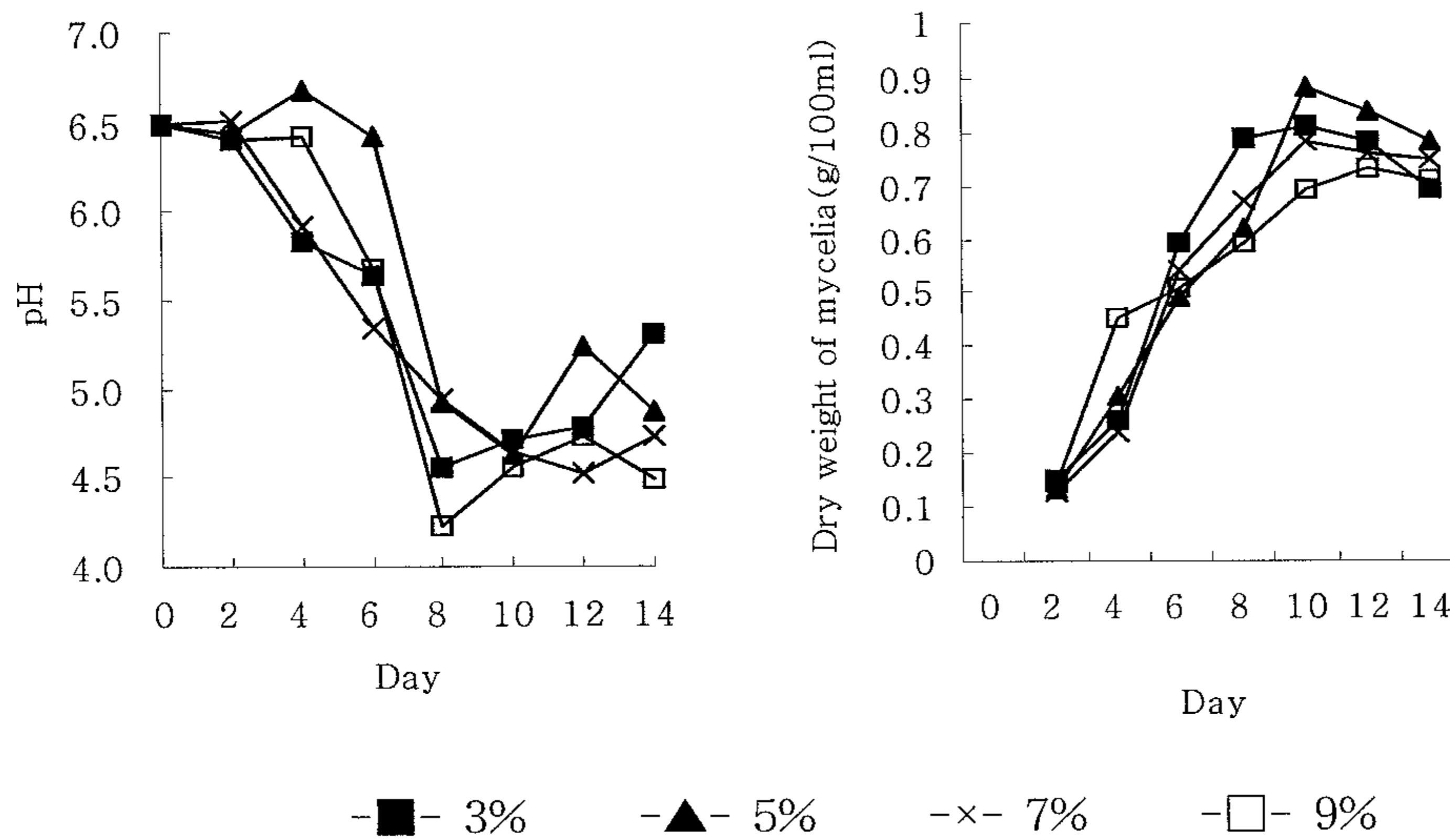


Fig. 2. Mycelial productivity and change in liquid culture of *Agaricus blazei*.

## 2) 배양장치별 생산성 검토

배양장치별 균사체 생산성을 조사하기 위하여 jar fermenter(10L), air-sparging fermenter(13L), ballon type bioreactor(10L)를 이용하여 신흥버섯의 균사체 생산성을 조사한 결과 air-sparging fermenter이 가장 건조 균사체량이 좋은 것으로 나타났다.

Table 15. Mycelial productivity by various fermenters

Jar fermenter	Air-sparging fermenter	Ballon type fermenter
9.1	10.6	8.5

## 3. 천연배지를 이용한 상황버섯 균사체의 생산성

### 가. 최적 배양 조건 확립

#### 1) 탄소원

상황버섯의 경우 Table 16의 결과에 보이는 바와 같이 wheat bran을 첨가한 배지에서 균사의 성장속도와 밀도가 가장 우수하였으며, glucose, beet molasses, rice bran, soybean meal배지에서는 균사의 생장이 비교적 양호하였으나, wheat bran에

비하여 균사 밀도가 다소 떨어졌다. 상황버섯은 lactose와 corn starch를 제외한 다른 배지에서 광범위한 적응성을 보였으며 대체적으로 탄소원을 효과적으로 이용함을 알 수 있었다.

Table 16. Effect of carbon sources and concentrations on the mycelial growth of *Phellinus linteus*

	Colony diameter(mm) <sup>1)</sup> at indicated carbon conc.(%)					Mycelial density <sup>3)</sup>
	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	
Glucose	46±0.6 <sup>2)</sup>	44±0.2	40±0.2	36±0.5	37±0.6	††
Sucrose	38±0.6	34±0.6	47±0.4	48±0.1	51±0.6	†
Lactose	22±0.2	19±0.2	25±0.3	27±0.3	28±0.1	†
Corn starch	23±0.4	19±0.5	18±0.2	27±0.1	26±0.1	†††
Potato starch	31±0.2	28±0.1	29±0.2	30±0.5	33±0.3	†††
Cane molasses	32±0.1	39±0.6	34±0.1	33±0.2	34±0.2	††
Beet molasses	40±0.3	42±0.2	46±0.1	39±0.4	39±0.1	††
Wheat bran	55±0.3	60±0.6	58±0.4	53±0.6	46±0.1	†††
Rice bran	61±0.2	60±0.1	59±0.1	58±0.6	55±0.2	††
Soybean meal	39±0.5	49±0.3	47±0.3	45±0.2	46±0.2	††

<sup>1)</sup>Colony diameter was measured after 12 days of incubation at 28°C in the solid medium containing each carbon source without nitrogen source.

<sup>2)</sup>Values are mean ±SD.

<sup>3)</sup>The increased number of † indicates increased degree of mycelial density.



2) 질소원

상황버섯은 bacto soytone을 첨가한 배지에서 균사의 성장속도와 밀도가 가장 우수하였고, 다음으로 yeast extract, tryptone 순으로 나타났다. 그러나 영지와 마찬가지로 무기질소원을 첨가한 배지에서는 균사의 밀도가 매우 낮은 것으로 나타났다.

Table 17. Effect of nitrogen sources and concentrations on the mycelial growth of *Phellinus linteus*

	Colony diameter(mm) <sup>1)</sup> at indicated nitrogen conc.(%)							Mycelial density <sup>3)</sup>
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	
Peptone	51±0.3 <sup>2)</sup>	47±0.3	37±0.4	34±0.4	40±0.4	30±0.1	40±0.2	††
Tryptone	46±0.2	49±0.2	46±0.6	51±0.3	47±0.4	52±0.2	47±0.3	†††
Bacto soytone	60±0.2	61±0.3	60±0.3	60±0.3	62±0.3	60±1.1	56±1.2	†††
Yeast extract	49±0.3	48±0.2	51±0.2	47±0.2	48±0.6	52±0.3	48±0.5	†††
Urea	31±0.6	35±1.0	29±0.2	28±0.5	34±0.5	37±0.2	31±0.7	†
<b>Mineral salts</b>								
NH <sub>4</sub> Cl	15±0.6	18±0.6	13±0.3	21±0.1	19±0.3	17±0.1	17±0.1	†
<b>Ammonium</b>								
tartrate	20±0.3	21±0.1	20±0.6	27±0.6	30±1.0	19±0.2	23±0.6	†
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	18±0.6	18±0.1	12±1.0	18±0.2	14±0.1	16±0.3	16±0.1	†
NaNO <sub>3</sub>	26±0.5	27±0.1	29±0.5	31±0.4	33±0.3	37±0.1	34±0.6	†
Ca(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	27±0.3	28±0.2	26±0.2	21±0.1	24±0.3	25±1.1	26±1.2	†
KNO <sub>3</sub>	25±0.3	36±0.6	32±0.4	34±0.4	32±0.2	31±0.1	32±0.7	††

<sup>1)</sup>Colony diameter was measured after 12 days of incubation at 28°C in the solid medium containing each nitrogen source without carbon source.

<sup>2)</sup>Values are mean ±SD.

<sup>3)</sup>The increased number of † indicates increased degree of mycelial density.

### 3) 탄소원과 질소원의 교호작용

탄소원으로 wheat bran 2%와 질소원으로 bacto soytone 0.5%를 조합한 것이 균사의 성장속도와 밀도가 가장 우수하였고, 다음으로는 rice bran 3%와 bacto soytone 0.5%를 혼합한 것과 soybean meal 3%와 bacto soytone 0.5%를 혼합한 배지에서 균사생장이 양호하였다(Table 18). 따라서 상황버섯의 균사생장에 있어 유기질소원인 bacto soytone을 이용하여 배지를 조제하는 것이 균사생장에 절대적으로 유리하게 작용하는 것으로 나타났다.

Table 18. Effect of carbon and nitrogen sources on the mycelial growth of *Phellinus linteus*

carbon source and conc.	Colony diameter(mm) <sup>1)</sup> at indicated nitrogen source and conc.		
	Yeast extract 0.6%	Bacto soytone 0.5%	Tryptone 0.6%
Wheat bran 2%	61±0.6 <sup>2)</sup> (††) <sup>3)</sup>	66±0.4(†††)	60±0.5(†††)
Rice bran 3%	58±1.0(†††)	64±0.6(††)	56±0.6(††)
Soybean meal 3%	54±2.1(†††)	61±0.5(†††)	48±1.2(†††)

<sup>1)</sup>Colony diameter was measured after 12 days of incubation at 28°C.

<sup>2)</sup>Values are mean ±SD.

<sup>3)</sup>The increased number of † indicates increased degree of mycelial density.

### 4) 무기염류

균사 생장에 미치는 무기염류의 영향은 Table 19와 같다. 즉 버섯 영양배지에 일반적으로 사용되는 무기염류(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.046%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1%, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.05%)를 첨가한 배지와 무기염류를 첨가하지 않은 배지에서의 균사생장과 상호 비교하였다. 또한, 액체 배양에 의한 건조 균사체량을 측정하여 상호 비교하였다. 상황버섯은 무기염류의 첨가여부가 균사 생장에 큰 영향을 끼치지 못하는 것으로 나타났다.

Table 19. Effect of mineral salts on the mycelial growth of *Phellinus linteus*

	With mineral salts	Without mineral salts
Colony diameter(mm)	65±1.1	66±1.5
Dry weight of mycelia(mg/10ml)	52±1.0	51±1.0

Mycelia were cultured for 10days.

Mineral salts :  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.046%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%.

Values are mean ±SD.

#### 5) 비타민

각종 비타민류를 질소원과 탄소원 실험에서 선정된 최적배지에 각 농도별로 첨가하여 균사생장을 조사한 결과 앞의 영지버섯, 신령버섯과 마찬가지로 상황버섯에서도 비타민의 첨가여부가 균사 생장에 큰 영향을 끼치지 못하는 것으로 나타났다.

Table 20. Effect of vitamins on the mycelial growth of *Phellinus linteus* in liquid media

Vitamins	Vitamins conc.(ppm)	
Inositol	100	48±1.6
Thiamine	100	47±1.2
Biotine	100	45±1.9
Nicotinic acid	100	48±2.0
Folic acid	100	49±2.0
Pharmamedia	100	46±1.0
Control		47±0.8

#### 6) pH

Table 21은 pH별로 조절된 액체배지 100ml에 접종원을 5ml씩 접종한 후 최적 배양온도에서 진탕배양한 후 건조균사체량을 측정한 결과이다.

상황버섯은 pH 7.0이상에서 균사생장이 가장 양호하였고, pH 4.0에서 가장 저조하였다. pH 7.0~8.0의 범위에서는 대체적으로 균사 생장이 거의 비슷하였으며 산성보다는 약알칼리성에서 잘 자랐다.

Table 21. Effect of pH on the mycelial dry weight *Phellinus linteus* in liquid media

pH	
4.0	29±1.7
4.5	31±1.0
5.0	30±1.0
5.5	34±1.0
6.0	47±0.8
6.5	45±1.5
7.0	51±1.0
7.5	50±0.6
8.0	49±0.5

Mycelia were cultured for 10 days.

Values are mean ±SD.

#### 나. 균사체의 대량생산 조건 탐색

##### 1) 접종원의 접종량

접종량을 3, 5, 7, 9%의 비율로 접종한 뒤 125rpm, 29±1℃의 조건에서 배양하면서 배양기간별 pH와 균사체 함량을 측정한 결과(Fig. 3), 접종원 농도 5%에서 가장 우수한 생산성을 보이는 것으로 나타났으며 배양 8일째 이후에는 생산성이 감소하는 현상을 보였다. 이것은 배양중에 균사체가 성장함에 따라 배지성분이 점차 고갈되어가기 때문에 균사체의 성장에 한계가 있으며, 배

양 환경이 산성화됨에 따라 나타나는 현상으로 생각되어진다. 배양기간별 pH는 배양 6일째 급격히 감소하였고, 접종량 7%의 경우에는 배양 8일 이후부터 pH값이 약간 올라갔다.

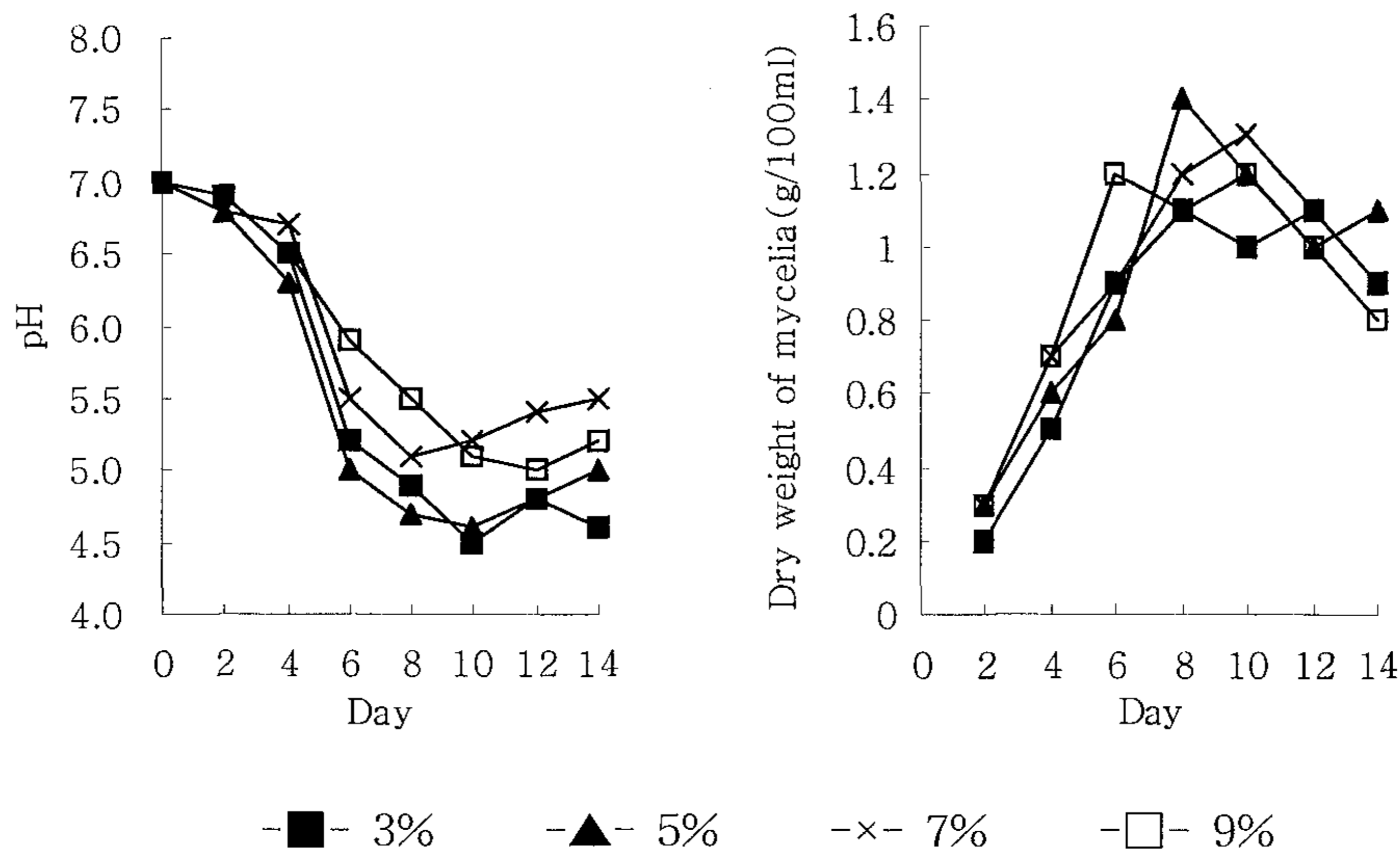


Fig. 3. Mycelial productivity and change in liquid culture of *Phellinus linteus*.

2) 배양장치별 생산성 검토

Jar fermenter(10L), air-sparging fermenter(13L), ballon type bioreactor(10L)를 이용하여 상황버섯의 균사체 생산성을 조사한 결과 air-sparging fermenter에서 생산성이 좋았다(Table 22).

Table 22. Mycelial productivity by various fermenters

	Jar fermenter	Air-sparging fermenter	Ballon type fermenter
Dry weight of mycelia(g/L)	13.1	14.3	12.4

#### 4. 천연배지를 이용한 산업적 배양의 생산성

##### 가. 전배양 방법의 확립

전배양 과정을 달리하여 각 세 균주의 균사체 생산량을 조사한 결과, 영지버섯과 상황버섯의 경우에는 plate배양→진탕배양→균질화→본배양의 배양방법으로 배양하였을 때, 신령버섯의 경우는 plate배양→진탕배양→균질화→2차 진탕배양→본배양으로 이어지는 배양방법 사용하였을 때가 균사체 생산량이 가장 높은 것으로 나타났다(Table 23).

Table 23. Mycelial productivity according to the procedure of pre-culture

	Dry weight of mycelia(g/L)		
	Procedure 1	Procedure 2	Procedure 3
<i>Ganoderma lucidum</i>	10.6	8.9	8.7
<i>Phellinus linteus</i>	13.8	12.1	11.4
<i>Agaricus blazei</i>	9.7	10.2	8.4

##### 나. 천연배지와 화학배지의 생산성비교

본 실험을 통하여 규명된 각 균주에 대한 산업용 천연배지의 적합도를 검증하기 위하여 최적배양실험에서 확립된 화학배지의 균사체 생산 조건과 천연배지의 최적 조건하에서 균사체 생산량을 조사한 결과는 Table 24와 같다. 화학배지로 제조한 배지보다 산업용 천연배지로 제조한 배지에서 균사체의 생산량이 좋은 것으로 확인할 수 있었다. 이것은 천연배지에 함유되어 있을 것으로 추정되는 각종 미량성분의 효과일수도 있고 또 화학배지의 최적조성이 정밀하지 못한 결과일수도 있다고 생각된다. 결과적으로는 산업용으로 균사체를 대량 배양하고자 할 경우 값비싼 화학배지보다 저렴한 천연배지를 사용하는 것이 생산성과 경제성의 측면에서 더 실용적일 것으로 판단된다.

Table 24. Mycelial productivity comparison between chemical medium and commercial medium

	Dry weight of mycelia(g/L)	
	Chemical medium	Commercial medium
<i>Ganoderma lucidum</i>	8.8	10.9
<i>Phellinus linteus</i>	10.5	14.9
<i>Agaricus blazei</i>	7.6	11.2

다. 균사체의 상업적 생산시험

200L 폭기배양기(버섯 종균배양용, Fig. 4)를 이용하여 상업적 생산시험을 실시한 결과는 Table 25와 같다. 그 결과 균사체의 생산성은 실험실 규모의 배양기보다는 낮은 것으로 나타났다. 그러나 200L 폭기배양기는 제약회사, 버섯재배농장 등에서 사용되는 대형액체배양기보다 다루기 쉽고 오염에 의한 위험도 적다는 장점이 있으므로 소규모 상업적 균사체 생산에 유리하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.



Fig. 4. Mushroom spawn culture vessel(200Liter).

Table 25. Commercial production trial of three basidiomycetes by use of mushroom spawn culture vessel

(working volume 150L)

	Culture day	Temperature	Air pressure	Dry weight of mycelia
<i>Ganoderma lucidum</i>	7days	28°C	1.2kgf/cm <sup>2</sup>	1168g
<i>Phellinus linteus</i>	10days	28°C	1.2kgf/cm <sup>2</sup>	1523g
<i>Agaricus blazei</i>	12days	30°C	1.2kgf/cm <sup>2</sup>	1017g

#### 5. 천연배지를 이용하여 배양한 균사체의 생리활성 검증

##### 가. 암세포에 대한 cytotoxicity

Fig. 5는 각 균사체의 메탄추출물을 MTT방법으로 위암(SNU-638)세포에 대한 세포독성을 검증한 결과이다. 신령버섯의 경우 위암(SNU-638)세포에 대해 100ppm농도에서 세포독성이 조금 있을 뿐 다른 농도에서는 세포 저해가 거의 없었다. 상황버섯의 경우 위암(SNU-638)세포에 대해 신령버섯과 마찬가지로 세포 저해는 거의 없었다. 영지버섯의 경우 3가지 추출물중 가장 강한 세포독성을 가지고 있었다. 위암(SNU-638)세포에 있어 100ppm 농도에서 47.3%, 50ppm에서는 37.9%, 10ppm에서는 37.2%에 달하는 저해율을 나타냈다.

3가지 균사체 추출물 중 영지버섯 균사체의 추출물이 다른 추출물에 비해 상대적으로 높은 활성을 가진 것으로 나타났다.



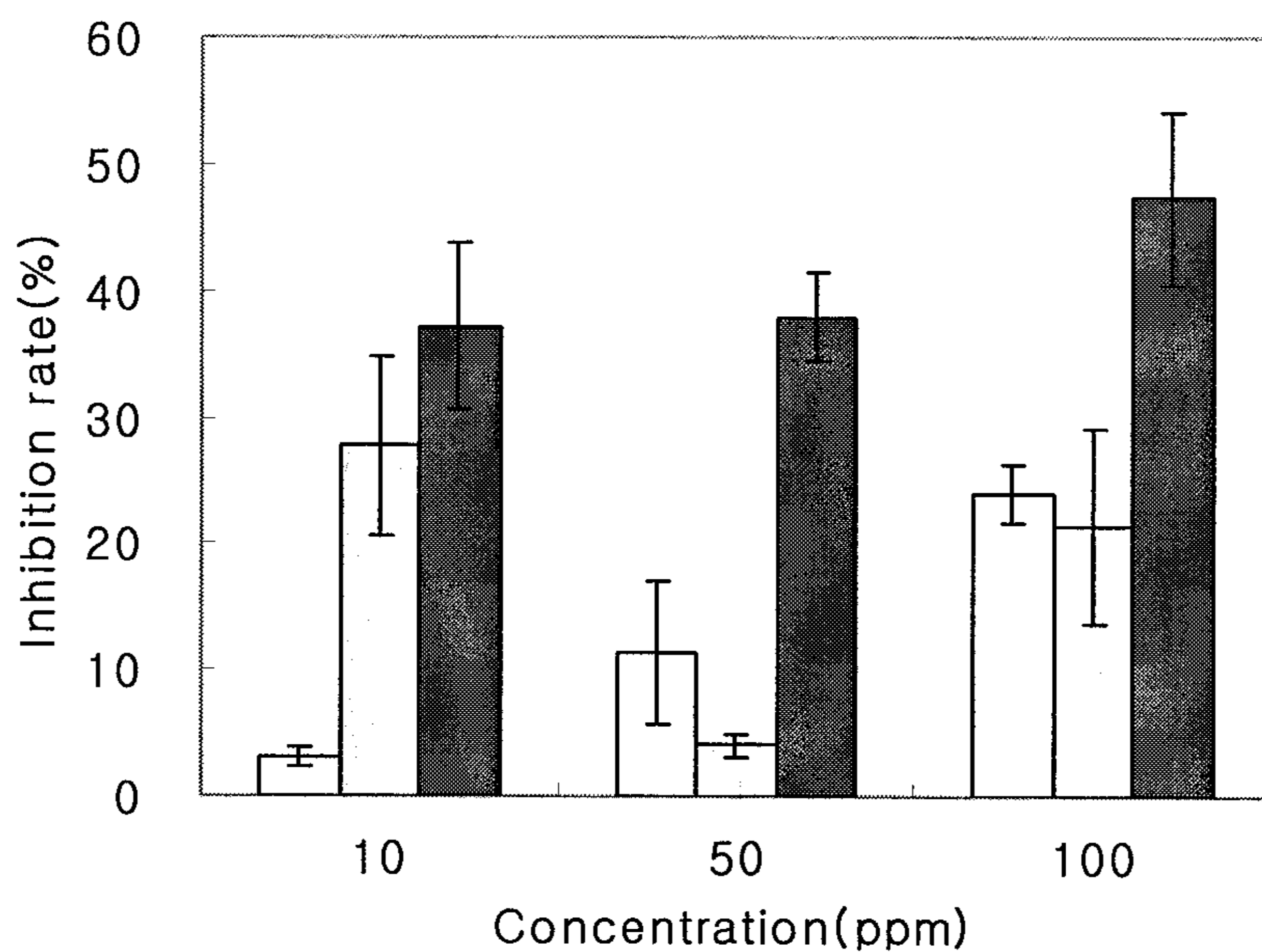


Fig. 5. Cytotoxicities of MeOH extracts from three basidiomycetal mycelia against SNU-638 cell.

□ : Methanol extract of *Agaricus blazei* mycelium

▤ : Methanol extract of *Phellinus linteus* mycelium

■ : Methanol extract of *Ganoderma lucidum* mycelium

나. 항산화활성

1) Electron donating activity

환원성 물질의 분석시약으로 안전한 free radical 인  $\alpha, \alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl(DPPH)를 이용하여 균사체의 메탄올 추출물의 전자공여능을 조사한 결과(Fig. 6), 영지버섯의 경우에는 1000ppm농도에서 양성대조구인 BHT의 94.2% 보다 약간 낮은 88.6%의 전자공여능을 보였고 500ppm에서는 다소 낮은 27.4%의 저해율을 보였다. 상황버섯과 신령버섯의 경우에는 1000ppm에서 각 70.2%, 78.5%의 저해율을 보여주었고 500ppm에서는 영지버섯과 비슷한 수준의 항산화활성을 보였다.

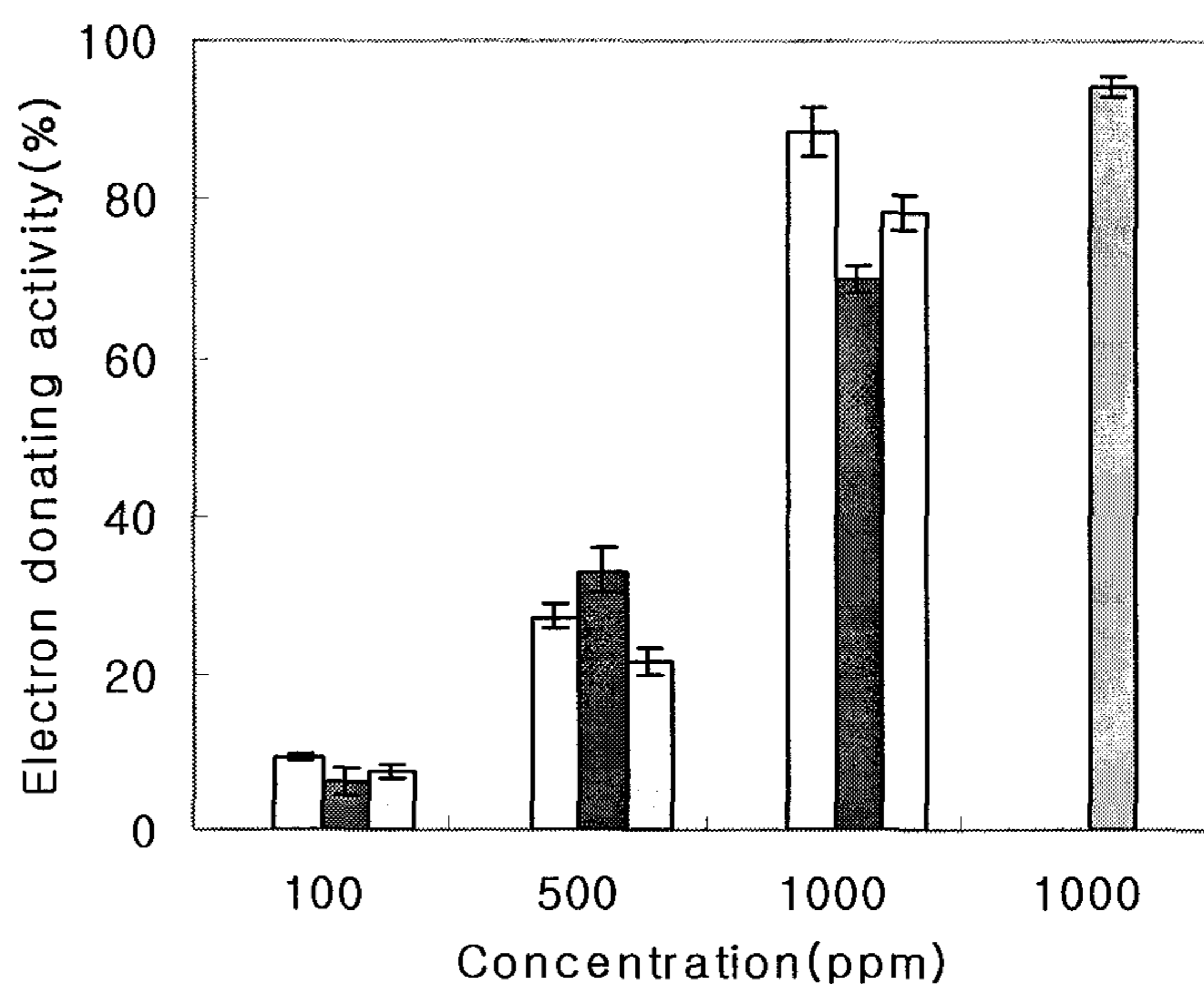


Fig. 6. DPPH radical inhibition by methanol extract from three basidiomycetal mycelia.

- : Methanol extract of *Ganoderma lucidum* mycelium
- : Methanol extract of *Phellinus linteus* mycelium
- ▨ : Methanol extract of *Agaricus blazei* mycelium
- ▩ : BHT

## 2) Superoxide dismutase activity

각 균사체 추출물의 superoxide radical을 제거능에 대한 결과는 Fig. 7과 같다. 1000ppm 농도에서 양성대조구인 ascorbic acid는 82.8%로 나타났으며, 3종의 버섯 중에서는 양성대조구보다는 낮지만 상황버섯의 1000ppm농도에서 38.5%로 가장 높은 SOD 활성을 나타내었다. 그리고 영지버섯의 500ppm과 신령버섯의 1000ppm 농도에서 각각 25.2%, 24.3%로 유사한 활성을 보였다. 버섯 균사체 추출물의 superoxide radicals의 제거능은 대체적으로 낮은 것으로 나타났는데 이것은 결국 순수한 정제화합물이 아니고 여러 가지 성분이 혼합된 메탄올 추출물이 보여주는 한계라고 생각된다.

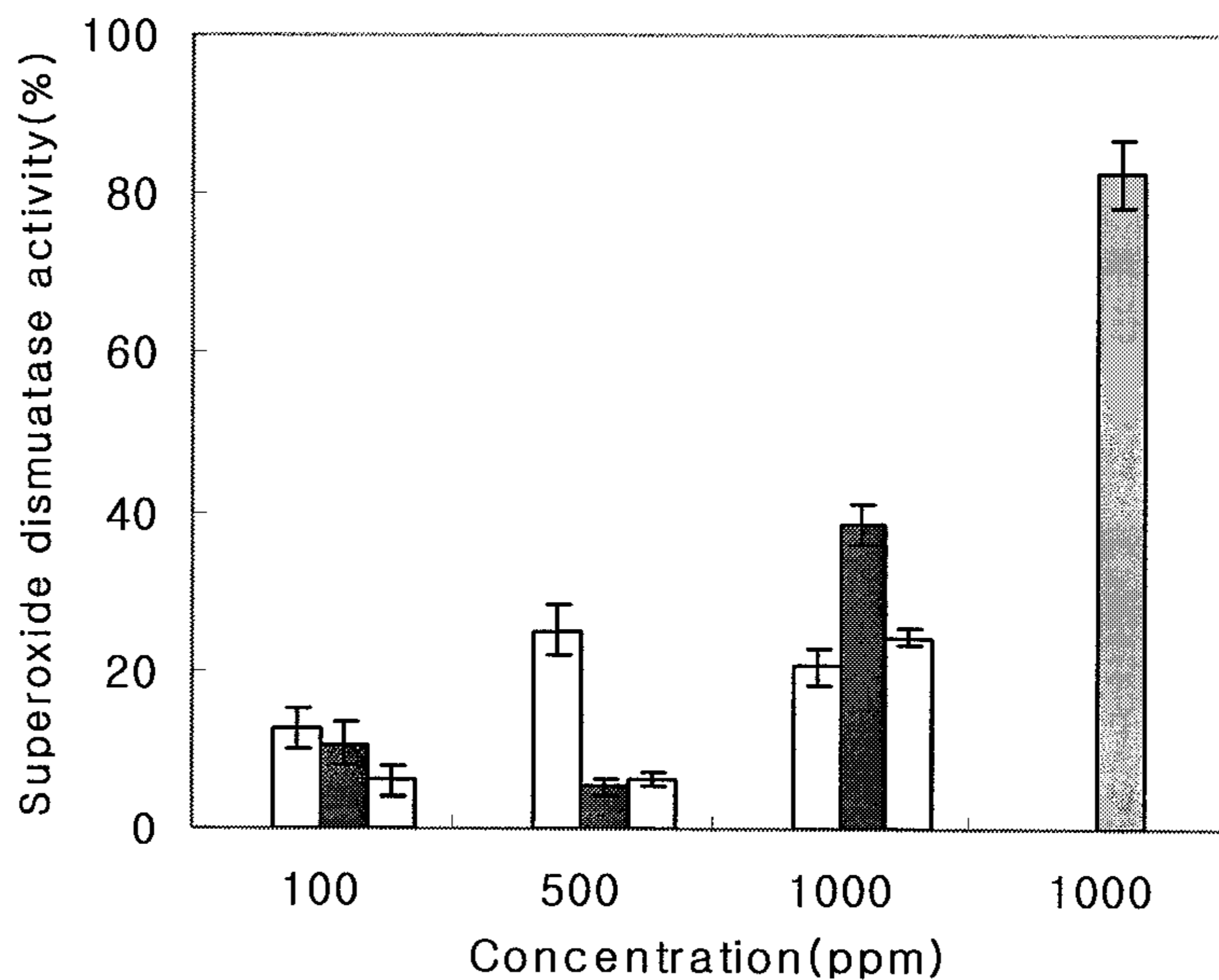


Fig. 7. SOD activity of methanol extract from three basidiomycetal mycelia.

- : Methanol extract of *Ganoderma lucidum* mycelium
- : Methanol extract of *Phellinus linteus* mycelium
- ▨ : Methanol extract of *Agaricus blazei* mycelium
- ▩ : Ascorbic acid

### 3) Nitrite scavenging activity

아질산염은 그 자체가 지니는 독성 때문에 일정 농도 이상 섭취하게 되면 혈중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin증 등과 같은 각종 중독증상을 일으키는 것으로 보고된 아질산염 소거능에 대한 결과는 Fig. 8과 같다. 1000ppm 농도에서 영지버섯, 상황버섯, 신령버섯의 아질산염 소거능은 41.5%, 29.1%, 14.3%로 나타났다. 상황버섯의 경우에는 1000ppm과 500ppm에서 비슷한 소거능을 보였다. 비교물질인 BHT의 91.3%에 비하여 아질산 소거능이 낮은 것으로 나타났는데 앞서의 SOD활성과 마찬가지로 단순 메탄올 추출물이 갖는 제한성이라고 판단된다.

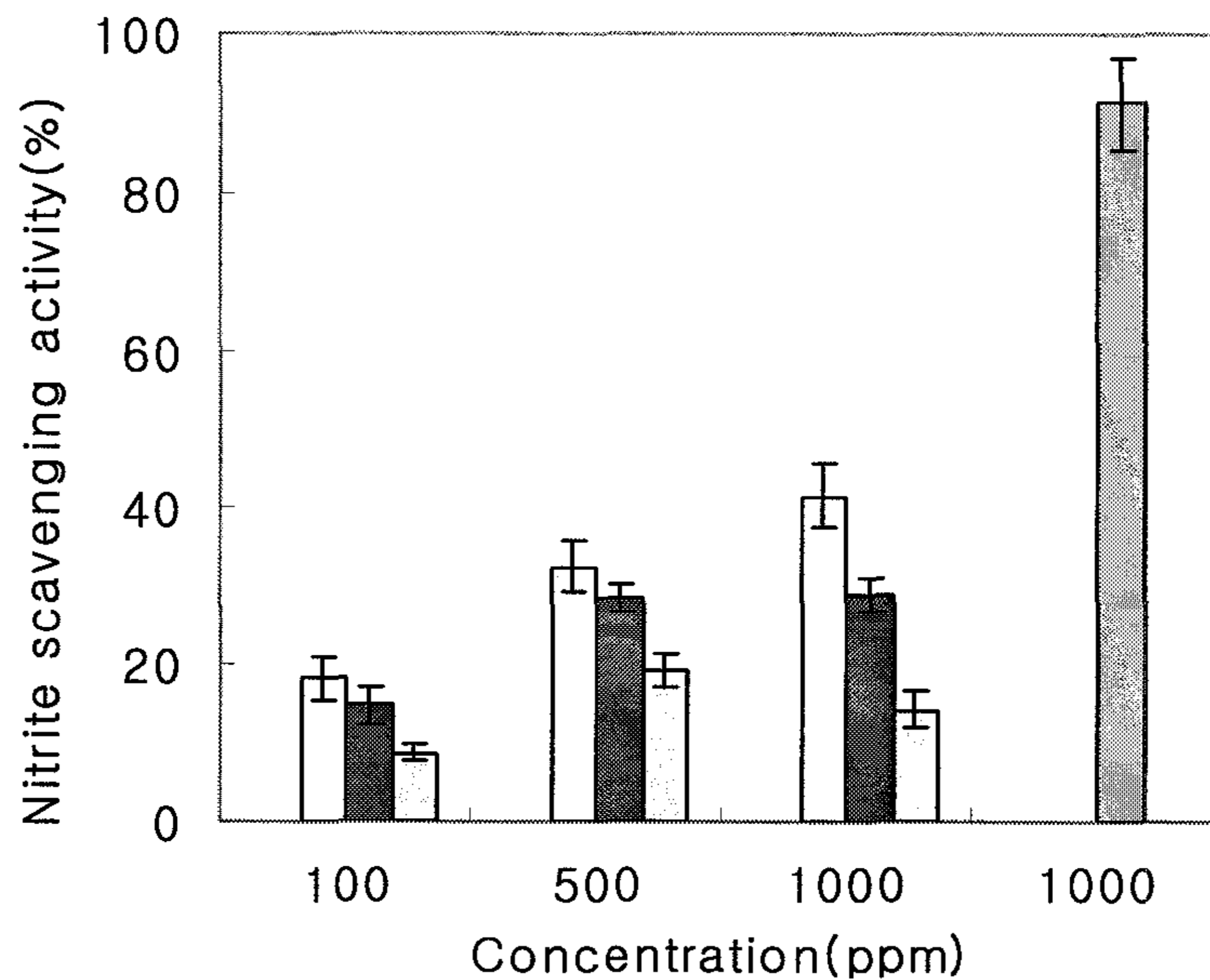


Fig. 8. Nitrite scavenging activities of methanol extract from three basidiomycetal mycelia.

- : Methanol extract of *Ganoderma lucidum* mycelium
- : Methanol extract of *Phellinus linteus* mycelium
- ▨ : Methanol extract of *Agaricus blazei* mycelium
- ▨ : BHT

4) Angiotensin converting enzyme 저해 활성 효과

ACE는 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I로부터 C-말단의 dipeptide를 가수분해시켜 혈관수축 작용을 octapeptide인 angiotensin II를 합성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다. 이러한 ACE에 대한 저해효과를 측정한 결과는 Fig. 9에서 보는 바와 같이 1000ppm의 농도로 시료를 처리했을 때 영지버섯, 상황버섯, 신령버섯은 각각 51.6%, 33.2%, 64.5%로 나타났다. 또한 500ppm 농도에서는 영지버섯 50.9% 과 신령버섯 51.2%로 비슷한 저해효과를 나타냈으며, 상황버섯의 경우에는 다른 균주에 비하여 낮은 저해효과를 보였다. 3종의 균주 모두 시료처리 농도가 낮아질수록 저해율도 낮게 나타났다.

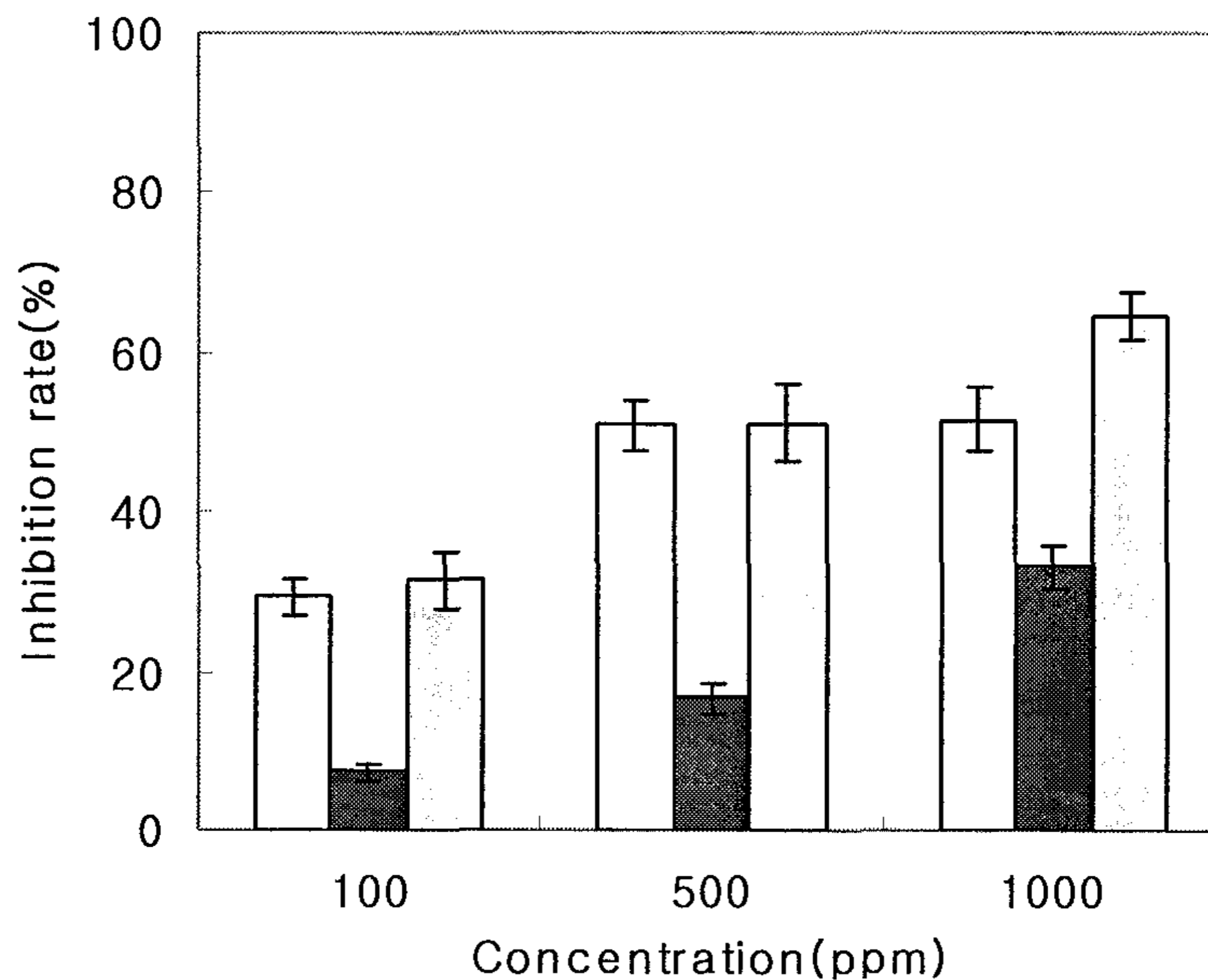


Fig. 9. Inhibition effect of methanol extract from three basidiomycetal mycelial on angiotensin converting enzyme.

- : Methanol extract of *Ganoderma lucidum* mycelium
- : Methanol extract of *Phellinus linteus* mycelium
- ▨ : Methanol extract of *Agaricus blazei* mycelium

5) Tyrosinase 저해 활성

3종 버섯의 각 추출물들의 tyrosinase 활성억제 효과를 측정한 결과 (Fig. 10), 영지버섯의 경우는 1000ppm 농도에서 저해율이 26.2%, 상황버섯에서는 500ppm 농도에서 31.2%로 나타났다. 그리고 신령버섯의 경우에는 1000ppm 농도에서 39.4%로 가장 높게 나타났다. 전체적으로 양성대조구 Arbutin에 비하여 tyrosinase 억제 효과는 떨어지는 것으로 나타났다.

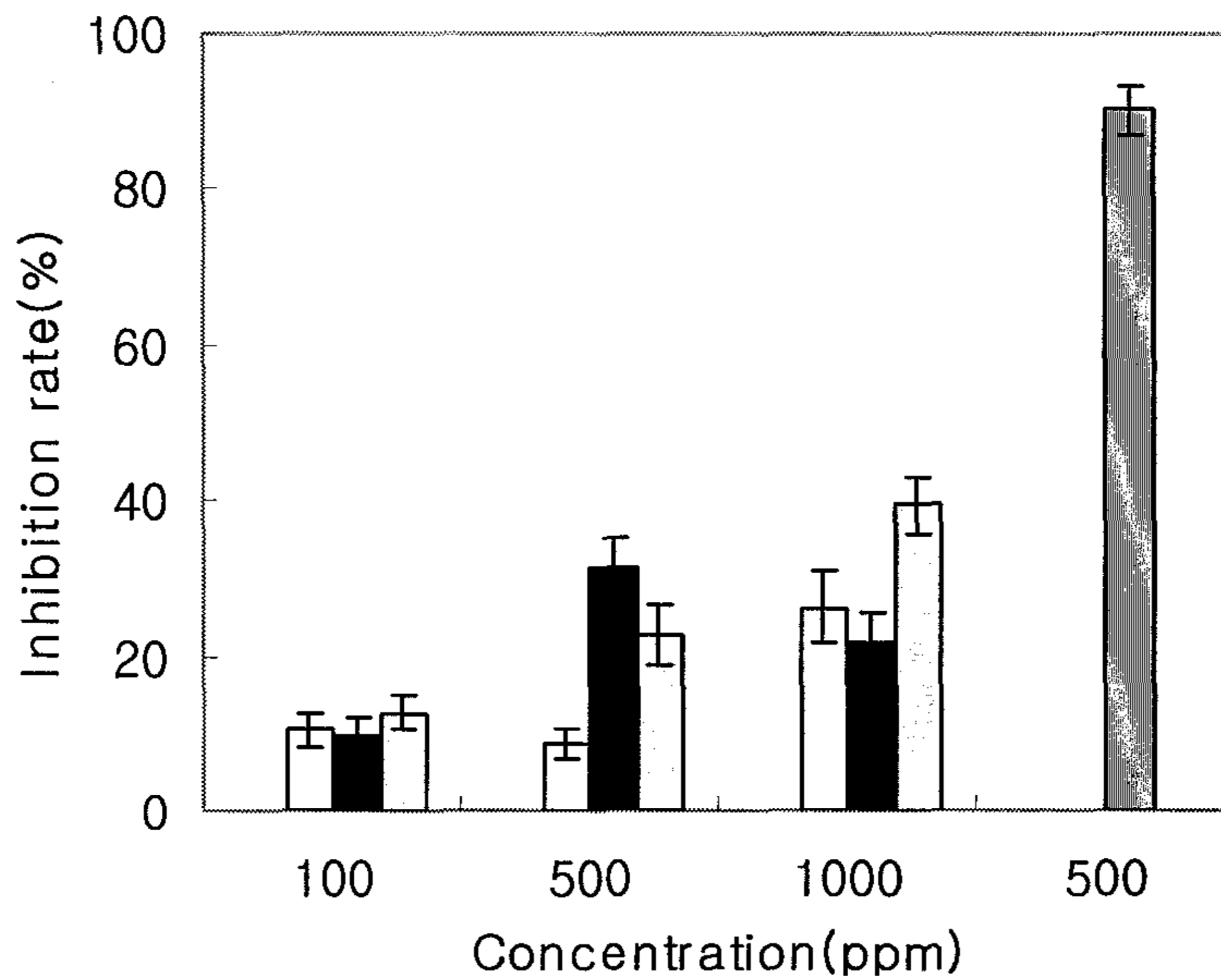


Fig. 10. Inhibition effect of methanol extract from three basidiomycetal mycelial on tyrosinase.

- : Methanol extract of *Ganoderma lucidum* mycelium
- : Methanol extract of *Phellinus linteus* mycelium
- ▨ : Methanol extract of *Agaricus blazei* mycelium
- ▨ : Arbutin

6) Xanthine oxidase 저해 활성

xanthine oxidase에 대한 활성저해능을 측정한 결과는 Fig. 11과 같다. 시료농도 500ppm에서 영지버섯은 34.2%, 상황버섯은 27.2%, 신령버섯은 42.3%의 저해율을 보였고, 시료농도 100ppm의 경우에는 영지버섯은 17.6%, 상황버섯은 32.4%, 신령버섯은 13.8%로 나타났다. 낮은 농도인 50ppm에서도 100ppm 만큼 비슷한 저해율을 나타내었다.

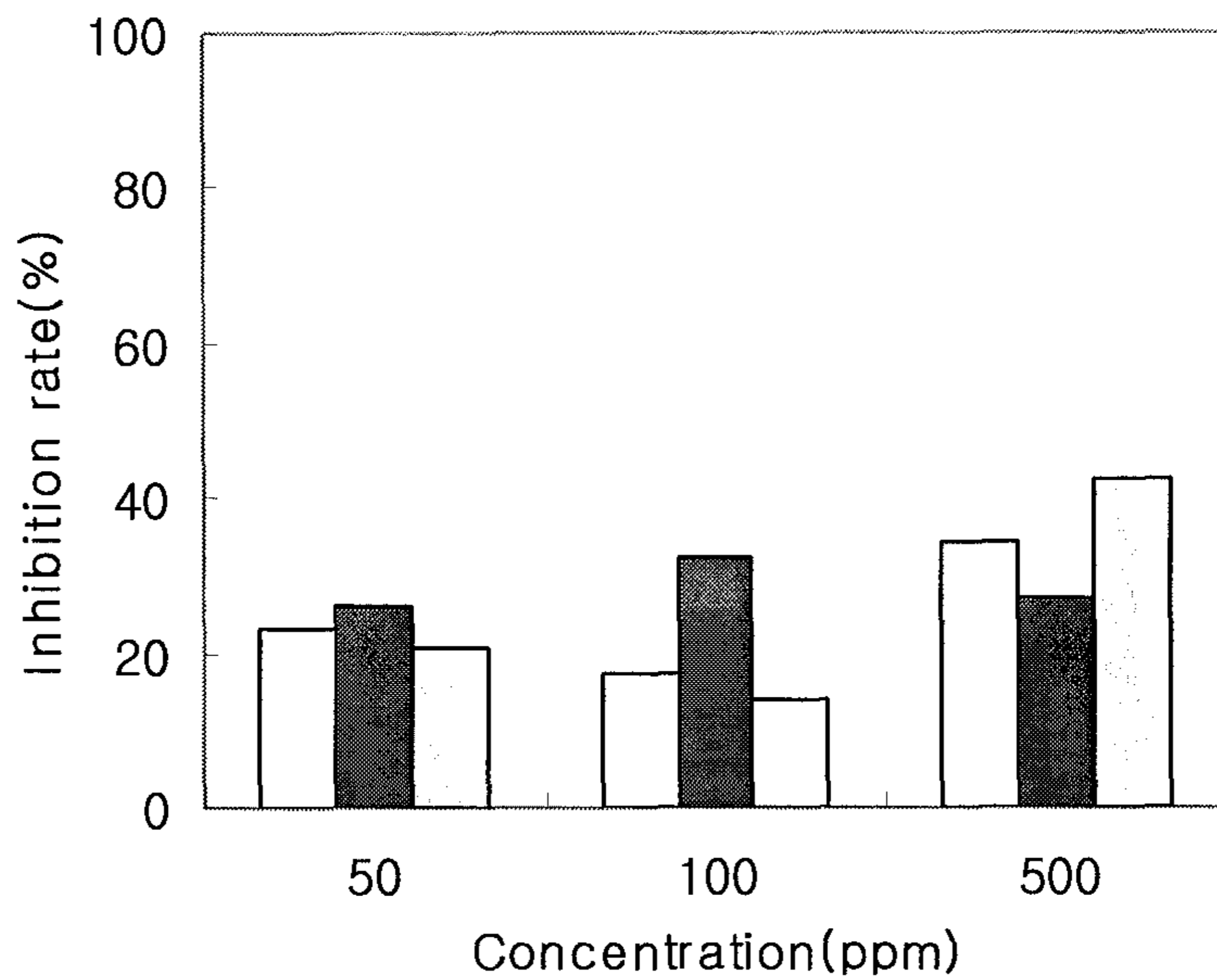


Fig 11. Inhibition effect of methanol extract from three basidiomycetal mycelial on xanthine oxidase.

- : Methanol extract of *Ganoderma lucidum* mycelium
- : Methanol extract of *Phellinus linteus* mycelium
- ▨ : Methanol extract of *Agaricus blazei* mycelium

## 제 4 장 참고문헌

1. 박용환. (1997) 최신버섯학. 한국버섯원균영농조합
2. Chung, S. Y., Kim, S. H., Kang, J.S., Cheong, H. S., Kim, G. J. and Kim, H. J. (1990) Effects of Water Soluble Extract of *Ganoderma lucidum*, Kale Juice and Sodium Dextrothyroxine on Hormone and Lipid Metabolism in Hypercholesterolemic Rats-1. Concentrations of Triiodothyronine, Thyroxine, Blood Sugar and Lipid Composition in Serum. J. Korean Soc. Food sci. Nutr., 19, 381-386
3. 이지열. (1991) 균학·버섯재배. 대광문화사
4. Ma, S. J. (1983) Effects of the Substances Extracted from Dried Mushroom (*Lentinus edodes*) by Several Organic Solvents on the stability of Fat. J. Food Sci., 15, 150-154
5. 박완희, 이호득. (1999) 한국약용버섯도감. 교학사
6. 성재모, 유영복, 차동렬. (1998) 버섯학, 교학사
7. Chung, K. S., Lee, W. and Sung, J. M. (1998) The antioxidant effect of the Basidiocarps of *Phellinus spp.* RDA J. Agri Sci(Post doc.). 40, 51-56
8. Han Jung and Lee I. S. (2000) Antioxidant and anticancer effects of *Polyzellus multiplex*. The Korean J. Mycol. 28(1), 55-59
9. Park, S. S., Yu, K. H. and Min, T. J. (1998) Antioxidant activities of extracts from fruiting bodies of mushrooms. The Korean J. Mycol. 26(1), 69-77
10. Ji, J. H. and Kim, M. N. (2000) Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Phellinus linteus* extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29(2), 322
11. Lee, J. W., Baek, S. J. and Bang, K. W. (2000) Biological activities polysaccharide extracted from the fruit body and cultures mycelia of *Phellinus linteus* IY001. Korean J. Food Sci. Technol. 32(3), 726



12. Lee, J. S. (1996) Characterization and production of antitumor polysaccharide from basidiomycetes. *Biotechnology News*. 3, 95
13. Lee, S. Y. and Rhee, H. M. (1990) Cardiovascular effects of mycelium extract of *Ganoderma lucidum* : inhibition of sympathetic outflow as a mechanism of its hypotensive action. *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 1359-1363
14. Murasugi, A., Tanaka, S., Komiyama, N., Iwata, N., Kino, K., Tsuno, H. and Sakuma, S. (1982) Molecular cloning of a cDNA and a gene encoding an immunomodulatory protein, Ling Zhi-8, from a gungus, *Ganoderma lucidum*. *J. Biol. Chem.*, 266, 2486-2489
15. Zhang, J., Wang, G., Li, H., Zhuang, C., Mizuno, T., Ito, H., Suzuki, C., Okamoto, H. and Li, J. (1994) Antitumor polysaccharides from a chinese mushroom "Yuhuangmo", the fruiting body of *pleurotus citrinopileatus*. *Bioci. Biotech. Biochem.*, 58, 1195-1201
16. Lee, J. W., Chung, C.H., Jeoung, H.J. and Lee, K.H. (1990) Anticomplementary and antitumor activities of the ikal. extract from the mycelia of *Lentinus edodes* IY-105. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 18, 571-577
17. Yamamura, Y. and Cochrane , K.W. (1986) A selective inhibitor of myxoviruses from shiitake. *Mushroom Science*, 9, 495-507
18. Kimoto, M., Yoshizwa, S. and Ochi, H. (1976) *Eiyoto Shoruryo.*, 29, 275-279
19. Kabir, Y. and Kimura, S. (1989) Dietary mushroom reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 35, 91-94
20. Park, S.S., Lee, K.D. and Min, T.J. (1995) Study on the screening and development of antibiotics in the mushrooms (in korean). *Korean J. Mycol.*, 23, 28-36
21. 신관철, 박용환, 서건식, 차동렬. (1986) 한국산 자생 *Ganoderma lucidum*의

- 형태적 특성. Res. Rep. Agri. Sci. Chungnam Univ. 13, 44-51
22. 이태수. (1990) 한국 기록종 버섯 총목록. 한국균학회지 18, 233-259
  23. 임응규. (1984) 한국산 불노초 자생지에 관한 연구. Kor. J. Ecology., 7, 177-183
  24. 森口繁弘, 石上有造, (1967) しょうゆ 成分一覽 そのろ 有機酸. 日本醸造協會雜誌. 62(9) : p. 995
  25. 久保道德. (1986) 靈芝 - 김병각, 조필형 역 - . 명옥출판사. p. 9-28
  26. Kang. C. Y., M. J. Shim, E. C. Choi, Y. N. Lee. and B. K. Kim. (1981) Studies on antineoplastic components of Korean basidiomycetes, mycelial culture and antineoplastic components of *Ganoderma lucidum* Korean Biochem. 14, 101-112
  27. Choi, J.H., Ha, T.M., Kim, Y.H. and Rho, Y.D. (1996) Studies on the main factors affecting the mycelial growth of *Phellinus linteus*. Kor. J. Mycol. 24, 214-222
  28. Lee, H.D. (1999) Korean medicinal mushroom pictorial book. Kyohaksa, Seoul, p. 576-580
  29. Chang, S.T., Buswell, J.A. and Chiu, S.W. (1993) Mushroom biology and mushroom products. World Scientific, Washington, D.C. p. 1-20
  30. Sung, J.M., Yoo, Y.B. and Cha, D.Y. (1998) Mushroom. Kyohaksa, Seoul, p. 3-10
  31. Fujimiya, Y., Kobori, H., Oshiman, K., Soda, R. and Ebina, T. (1998) Tumoricidal activity of high molecular weight polysaccharides derived from *Agaricus blazei* via oral administration in the mouse tumor model. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi. 45, 246-252
  32. Kubo K, Nanba H. (1996) The effect of Maitake mushroom on liver and serum lipids. Altern Ther Health Med. 2, 62-69
  33. Liu, F., Ooi, V.E, Chang, S.T. (1997) Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extract. Life Sci. 60, 763-766

34. Sung, J.M., Yoo, Y.B., Cha, D.Y. (1998) Mushroom. Kyohaksa. Seoul, p. 3-10
35. Papazisis, K. T., Geromichalos, G. D., Dimitriadis, K. A. and Kortasris, A. H. "Optimization of the sulfodamine B colorimetric assay." *J. Immunol. Methods* 208 (1997) : 151-158.
36. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 4617: 1198
37. Marklund, S. and Marklund, G. (1974) Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47: 468
38. Gray, J. I. and Dugan, J. L. R. (1995) Inhibition of N-nitrosoamine formation in model food system. *J. Food. Sci.* 40, 981
39. Cushman, D. W. and Ondetti, M. A. (1980) Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacology.* 29, 1871-1877
40. Yagi, A., Kanbara, T. and Morinobu. N. (1986) The effect of tyrosinase inhibition for aloea. *Planta Medica.* 3981, 517-519
41. Stirpe, F. and Corte, E. D. (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* 244, 3855-3863