

보안과제( ), 일반과제( ○ )

GA0749

신품종 해송이버섯을 이용한 항당뇨 및 항비만 효능이  
있는 편의가공식품 개발

(Development of Processed Foods with anti-Diabetes  
and anti-Obesity Activities from Haesongi Mushroom)

한국식품연구원

농림수산식품부

신품종 해송이버섯을 이용한 항당뇨 및 항비만 효능이  
있는 편의가공식품 개발

(Development of Processed Foods with anti-Diabetes  
and anti-Obesity Activities from Haesongi Mushroom)

한국식품연구원

농림수산식품부

# 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “신품종 해송이버섯을 이용한 항당뇨 및 항비만 효능이 있는 편의가공식품 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2009년 4월 24일

주 관 연구기관 : 한국식품연구원

주관연구책임자 : 조 진 호

세부연구책임자 : 조 진 호

세부연구책임자 : 한 찬 규

세부연구책임자 : 이 영 철

연 구 원 : 김 영 명

연 구 원 : 도 정 룡

연 구 원 : 최 희 돈

연 구 원 : 김 병 기

연 구 원 : 정 은 봉

# 요 약 문

## I. 제 목

신품종 해송이버섯을 이용한 항당뇨 및 항비만 효능이 있는 편의가공식품 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

한국의 식문화가 서구화됨에 따라 각종 질병들뿐만 아니라 비만환자들이 증가하고 있는 실정이다. 이러한 현상으로 인해 사람들의 건강에 인식들이 향상되면서 최근 웰빙에 대한 관심이 지대하게 높아지고 있다. 특히, 다이어트의 경우 식이조절의 가장 중요한 것은 단백질, 비타민, 무기질 등의 영양소는 충분히 섭취하면서 지방의 섭취량은 줄이는 것이라고 할 수 있는데 버섯은 이런 조건을 모두 갖춘 식품 중 하나이다. 버섯류는 세계적으로 약 20,000여 종이 알려져 있으며 그 중 식용으로 개발 가능한 것은 약 2,000여 종이다. 버섯류는 자연생태계의 유기물 순환에 중요한 역할을 하고 있을 뿐만 아니라 예로부터 인류생활과는 밀접한 관계를 맺고 있고 우리나라에서는 신라시대부터 채취, 이용되었다고 한다. 우리나라에 분포하는 버섯류는 현재 약 1000종이 기록되어 있고 이들 중 20여종 이상이 재배되고 있으며 대부분 식품 혹은 기능성 식품으로 사용되고 있다. 이들 중 가을철 느릅나무 등의 활엽수 고목이나 그루터기에서 다발로 발생하는 백색목재부후균인 만가닥버섯(*Lyophyllum ulmarium* 또는 *Hypsizyguus ulmarium*)은 분류학적으로 진정담자균강, 동담자균아강(모균아강), 주름버섯목, 송이과에 속하며, 다발성이 매우 강해 수많은 개체가 발생된다고 하여 우리나라에서는 만가닥 버섯이라고 부르며 일본에서는 혼시메지 또는 부나시메지라고 부른다. 우리나라에서 만가닥버섯 생산현황을 살펴보면 수향버섯에서 연간 100톤 정도 시험생산되고 있으며 일본에서는 연간 2만톤 정도 생산되어 팽이버섯, 표고버섯에 이어 세 번째로 소비량이 많으며 그 외 지역에서는 거의 생산되고 있지 않다. 우리나라의 농촌진흥청 농업과학 기술연구소에서 1987년 과 1993년 시험연구사업 결과에서 만가닥 1호와 만가닥 2호를 분리 선발, 재배법을 확립하여 농가 보급 품종으로 선정 농가 버섯재배 고소득 품목으로 유망한 버섯이다. 만가닥버섯의 영양가를 살펴보면 100g 당 열량은 33 kcal, 단백질은 2.7g, 지방은 0.5g, 탄수화물은 5.4g이며, 기타 무기질과 비타민 C를 함유하고 있다. 또한, 만가닥버섯은 버섯에 함유되어 면역력을 높여주는 다당단백질인 베타글루칸이 다른 버섯에 비해 많이 함유되어 강심작용과 비만억제 등 다양한 효능이 있는 것으로 알려지고 있다. 이러한 만가닥 버섯류의 일종인 해송이는 본 연구에서 개발하고자 하는 대상으로 소나무에 붙어서 자라는 종으로 강원도 영동권에서만 재배되고 있다. 특히 송이, 느타리 및 표고버섯에 비해 칼슘, 칼륨, 마그네슘 그리고 인을

비롯한 무기질 성분이 풍부하고 단백질의 경우에도 1.5~2.5배 이상 많이 함유하고 있음에도 불구하고 재배량이 다른 버섯에 비해 매우 적고 잘 알려져 있지 않아서 대부분의 연구들이 미비한 실정이다. 하지만 최근에 야생 해송이 버섯의 대량재배 기술이 개발되어 산업적 활용이 가능하여 연구개발을 통한 신제품 해송이의 기능성 홍보 및 건강기능식품의 개발 필요성이 매우 높다. 따라서 본 연구에서는 신제품 해송이에 함유되어 있는 생리활성 성분들을 추출 및 동정하고 선별된 소재를 이용한 가공식품을 개발하고자 하였다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 연차별 연구개발의 목표 및 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
1차년도	2006	○ 해송이 유래 생리활성 물질 탐색 및 활성 구명	○ 생리 활성 물질의 탐색	○ 유용 성분의 조사 분석 - 일반성분, 무기질, 아미노산등 ○ 생리활성 물질 구명 - β-glucan, 식이섬유 등
			○ 추출물의 <i>in vitro</i> 생리활성 효과 구명	○ 추출방법에 따른 유효성분의 추출효과 및 생리활성 구명 - 항산화 효과 ·DPPH 라디칼 소거법 - 항암효과 ·MTT assay - 항비만효과 ·콜레스테롤 저하효과 측정 ·지방 대사율 측정 ·CPT I 활성측정 ·Mitochondrial function 측정 - 항당뇨효과 ·2-Deoxyglucose uptake ·인슐린 유사활성능 검증 ·α-glucosidase inhibition

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
2차년도	2007	○ 해송이 유래 생리활성 물질의 추출공정 설정 및 추출물의 식품소재화 기술 개발	○ 생리활성 물질의 최적 추출공정 설정	○ 반응표면분석법을 이용한 최적 추출조건 확립 - 추출용매, 추출온도, 추출시간 등 인자들의 다중반응 최적화 - 추출공정에 미치는 인자들의 영향요인 분석  ○ 추출방법별 추출효율 및 생리기능 효과 분석( <i>in vitro</i> )  ○ 추출물의 이화학적 특성 분석
			○추출물의 동물모델 ( <i>in vivo</i> )에서의 생리활성 검색	○ 항당뇨 효과 측정시험  ○ 항비만효과 측정시험
			○ 추출물의 식품소재화 기술 개발	○ 동결방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리특성 변화 측정  ○ 건조방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리특성 변화 측정  ○ 추출물을 이용한 시제품 제조시험

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
3차년도	2008	○ 해송이 버섯을 이용한 분말소재화 및 가공식품 제조기술 개발	○ 분말소재화 기술 개발	○ 적정 건조방법 설정 및 특성 변화 조사 - 영양성분의 변화 - 생리활성성분의 변화 - 향기성분의 변화  ○ 적정 분쇄방법 설정 및 특성 변화 조사 - 영양성분의 변화 - 생리활성성분의 변화 - 향기성분의 변화  ○ 분말화 소재시제품 제조시험
			○ 편의 가공식품 제조기술 개발	○ 식품에로의 응용기술의 개발 - 버섯두부, 버섯국수, 버섯 요구르트, 버섯식초 제품 등

#### IV. 연구개발결과

##### 1. 해송이 유래 생리활성 물질 탐색 및 활성 구명

###### 가. 생리 활성 물질의 탐색

###### (1) 유용성분의 조사분석

###### (가) 일반성분

신품중 해송이 버섯과 만가닥 버섯을 건조하여 분말화 하여 일반성분을 분석하였다. 해송이 버섯의 지방과 무기질 함량이 각각 4.5%와 8.7%로 만가닥 버섯에 비하여 많았다. 그러나 단백질과 당함량은 만가닥 버섯이 22.3%과 65.3% 로 해송이 버섯에 비하여 많은 함량을 나타냈다.

#### (나) 무기질

해송이 버섯의 K, Cu, Mg, Mn 그리고 Zn의 함량이 만가닥 버섯의 함량보다 높았다. 또한 다른 버섯류와 비슷하게 K의 함량이 다른 무기질의 함량보다 월등히 높은 함량을 나타내었다. 이는 해송이 버섯이 우수한 무기질 공급원의 식품이 될 수 있음을 보여주고 있다.

유해한 활성산소의 생성 저해와 관련이 있는 것으로 알려진 아연, 망간, 구리 그리고 철의 함량은 해송이 버섯의 경우 14.85mg%, 만가닥버섯은 16.32mg%로 만가닥버섯이 높은 함량을 나타내었다. 그러나 이노작용을 촉진시키고 고혈압에 좋은 효과를 나타낸다고 보고된 K와 체내의 저항력강화와 골격유지 등과 관련이 있는 Mg의 함량은 해송이 버섯이 높은 함량을 나타내었다.

#### (다) 아미노산

구성아미노산의 총 함량은 각각 10385.8mg%과 11418.3mg%로 만가닥 버섯이 많은 함량을 나타내었다. 필수 아미노산의 함량 또한 만가닥버섯이 4524.4mg%로 많은 함량을 나타냈다. 그러나 비필수 아미노산 중 arginine, asparic acid 그리고 glutamic acid의 함량은 해송이 버섯이 비교적 높았다. 다른 아미노산의 맛을 변화시키거나 강화시켜 주는 glutamic acid가 다량 함유되어 해송이 버섯의 특유한 맛을 증가시키는 것으로 생각된다

### (2) 생리활성물질 구명

#### (가) $\beta$ -glucan, 식이섬유, 환원당

해송이 버섯의 베타 글루칸 함량은 9.15%로 만가닥 버섯의 6.05%보다 많은 함량을 나타내었다. 그리고 해송이 버섯의 환원당은 4.36%로 만가닥 버섯의 1.46%보다 높은 함량을 나타내었으나 식이섬유의 함량은 해송이 버섯이 28.75%로 만가닥 버섯의 31.34%보다 낮은 함량을 나타내었으며, 해송이 버섯의 식이섬유는 만가닥 버섯보다 낮은 함량을 나타내었다.

#### (3) 추출물의 in vitro 생리활성효과 구명

##### (가) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 수율

해송이 버섯의 기능적 특성을 나타내는 유효성분을 효율적으로 추출하기 위하여 건조된 해송이와 만가닥 버섯 분말시료에 각기 다른 농도의 에탄올과 100℃에서 4시간씩 3회 반복하여 추출한 후 그 추출액을 동결 건조하여 추출물을 제조하였다.

에탄올의 농도가 높아짐에 추출물의 수율이 감소하는 경향을 나타내었으며 물로 추출하였을 경우 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 수율이 각각 60.63%와 55.88%로 나타났고



95%의 에탄올로 추출하였을 경우 23.64%와 27.95%로 추출물의 제조수율이 급격히 감소하였다.

#### (나) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 당과 단백질 함량변화

추출 용매인 에탄올의 농도에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 총당과 단백질의 함량을 분석한 결과, 에탄올의 농도가 증가할수록 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 총당 함량은 각각 39.9%와 37.0%에서 36.8%와 36.3%로 감소하는 경향을 나타내었고 해송이 버섯 추출물이 만가닥 버섯 추출물보다 높은 당 함량을 나타내었다. 해송이와 만가닥 버섯의 추출물의 에탄올 농도에 따른 단백질의 함량 변화는 각각 39.9%와 37.0%에서 36.8%와 36.3%로 총당의 함량과 마찬가지로 에탄올 농도가 증가할수록 단백질의 함량이 감소하였다. 이는 해송이와 만가닥 버섯중의 단백단당체 들이 알코올에 의해 침전을 일으켜 여과 중에 제거 되었을 것으로 사료된다. 해송이 버섯 추출물의 단백질 함량 또한 만가닥 버섯 추출물보다 높은 함량을 나타냈다.

#### (다) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 총 폴리페놀 함량변화

총 폴리페놀의 함량도 총당과 단백질의 함량변화와 마찬가지로 에탄올의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었고 해송이 버섯이 만가닥 버섯보다 전체적인 농도 범위에서 총 폴리페놀의 함량이 높음을 알 수 있었다. 해송이 버섯의 열수 추출물에서의 총 폴리페놀 함량이 1.89%로 새송이버섯, 팽이 버섯과 만가닥 버섯의 총 폴리페놀함량인 1.43%, 0.032~0.035% 그리고 0.15~0.29%보다 훨씬 높은 값을 보여주었다.

### (4) 추출물의 생리활성 구명

#### (가) 항산화 효과

DPPH를 이용하여 전자공여작용을 측정하였다. 해송이 버섯은 추출용매에 상관없이 50mg/mL이상의 농도에서 모두 90%이상의 높은 활성을 나타내었으며 해송이 버섯의 열수추출물을 100mg/mL의 농도에서 96.70%로 가장 높은 활성을 나타냈다. 그러나 만가닥 버섯추출물의 전자공여능은 50mg/mL의 농도에서 47~74%로 해송이 버섯보다 낮은 활성을 나타내었으며 95%에탄올 추출물 100mg/mL의 농도에서 91.30%로 가장 높은 활성을 나타내었다.

또한 해송이 버섯은 5mg/mL의 농도에서 51~57%의 활성을 나타내었으나 만가닥 버섯추출물은 10%미만의 활성을 나타내어 해송이 버섯추출물에 비해 낮은 활성을 나타냈다.

(나) ACE 저해효과

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 ACE 저해활성은 열수추출물이 각각의 다른 농도의 에탄올 추출물보다 높은 활성을 나타냈다. 해송이 버섯의 열수추출물은 40mg/mL 이상의 농도에서 90%이상의 활성을 나타냈다. 만가닥 버섯의 경우 열수추출물을 제외한 나머지 처리구에서 40mg/mL의 농도에서도 50%이하의 낮은 활성을 나타냈다. 반면 해송이 버섯은 모든 처리구에서 30mg/mL의 농도에서 50%이상의 높은 활성을 보였으며 열수추출물의 경우 10mg/mL에서도 50%이상의 높은 활성을 나타내었다.

(다) AGS에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 위암세포인 AGS에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과, 모든 처리구의 해송이 버섯추출물은 1mg/mL의 농도 이상에서 50%이상의 증식 억제효과를 나타냈다. 그러나 만가닥 버섯추출물은 5mg/mL의 농도 이상에서 50%이상의 증식 억제효과를 나타냈다. 또한 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물 모두 추출액 알코올의 농도가 높아질수록 증식 억제효과가 떨어지는 것으로 나타났다. 해송이 버섯의 열수추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 10mg/mL의 농도에서 90%이상의 높은 증식억제효과를 보였다.

(라) HepG2에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 간암세포인 HepG2에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과, 해송이 버섯의 열수 추출물과 25%에탄올추출물의 경우 5mg/mL의 농도에서 50%이상의 증식억제효과를 나타냈으며 에탄올의 농도가 증가함에 따라 증식억제효과가 감소하는 경향을 보였으나 95% 에탄올에서는 증식 억제율이 증가하였다. 그러나 만가닥 버섯추출물의 경우 10mg/mL의 농도에서 에탄올의 농도가 증가함에 따라 증식억제효과가 비례적으로 증가하였으나 95% 에탄올 농도에서는 감소하여 해송이 버섯과 상이한 결과를 나타냈다. 추출물의 0.5mg/mL농도에서는 해송이 버섯의 열수추출물을 제외한 나머지 처리 구에서 모두 10%미만의 낮은 증식억제효과를 나타냈다.

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 1mg/mL의 농도에서의 세포증식억제효과는 각각 27.8~39.0%와 10.15~23.77%로 낮은 세포증식억제효과를 보임을 알 수 있었다.

(마) SW480에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 결장암 세포인 SW480에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과, 해송이 버섯의 열수추출물과 25%에탄올 추출물의 경우

10mg/mL의 농도에서 50%이상의 세포 증식억제효과를 나타냈으며 나머지 처리구는 50%미만의 낮은 세포증식억제효과를 나타냈다. 반면 만가닥 버섯의 열수추출물과 25% 에탄올 추출물의 경우 5mg/mL이상의 농도에서 50%이상의 세포증식억제효과를 나타내어 SW480에 대한 세포증식억제효과는 만가닥 버섯의 추출물이 높은 경향을 나타내었다. 또한 SW480에 대해서도 마찬가지로 에탄올의 농도가 증가할수록 모든 처리구에서 낮은 세포증식억제효과를 나타냄을 알 수 있었다.

#### (바) HeLa에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 자궁암세포인 HeLa에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과, 해송이 버섯의 열수 추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 5mg/mL이상의 농도에서 50%이상의 증식억제효과를 나타냈으며 나머지 처리구에서는 모두 50%이하의 증식억제효과를 나타냈다. 또한 열수 추출물을 제외한 나머지 처리구의 0.5mg/mL의 농도에서 10%미만의 낮은 증식억제효과를 나타냈다. 만가닥 버섯의 경우 모든처리구에서 10%이상의 증식억제효과를 나타내었으며 0%–50%에탄올 추출물의 경우 5mg/mL이상의 농도에서 50%이상의 증식억제효과를 나타냈다.

자궁암 세포인 HeLa에 대해서 SW480과 마찬가지로 만가닥 버섯의 추출물이 더 낮은 효과를 나타냈다.

#### (사) 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 항당뇨 효과

##### ① 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 $\alpha$ -glucosidase inhibitory

해송이 버섯의 열수 추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 0.5mg/mL의 농도에서 50%이상의  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해 효과를 나타냈으며 1mg/mL의 농도 이상에서는 모든 처리구에서 70%이상의 저해 효과를 나타내었다. 그러나 0.05mg/mL의 농도 이하에서는 10%미만의 저해 효과를 나타내었다.

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해효과는 에탄올의 농도가 증가함에 따라 저해효과가 떨어지는 경향을 나타냈으며 해송이 버섯의 추출물이 만가닥 버섯의 추출물보다  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해효과가 높게 나타났다.

##### ② 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 $\alpha$ -amylase inhibitory

해송이 버섯의 열수추출물, 25% 그리고 50%에탄올 추출물의 경우 0.1mg/mL에서 50%이상의  $\alpha$ -amylase 저해효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 75%에탄올 추출물의 경우 1.0mg/mL 농도에서 50%이상의  $\alpha$ -amylase 저해효과가 나타났고 95%에탄올 추출물의 경우는 1.0mg/mL 농도에서 47.5%의  $\alpha$ -amylase 저해효과를 나타냈다. 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의  $\alpha$ -amylase에 대한 저해효과가  $\alpha$

-glucosidase의 저해효과와 마찬가지로 에탄올의 농도가 증가함에 따라 감소함을 알 수 있었고 해송이 버섯추출물이 만가닥 버섯추출물보다 높은  $\alpha$ -amylase 저해효과가 있는 것으로 나타났다.

(아) 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 항비만 효과

해송이 버섯과 만가닥 버섯 모두 추출용매인 에탄올의 농도가 높아질수록 3T3-L1 cell의 지방세포분화 및 억제 능이 떨어지는 것으로 나타났다. 증류수로 추출하였을 경우 해송이와 만가닥 버섯의 항비만 효과는 각각 63.76%와 71.93%로 나타나 가장 높은 효과를 보였다. 또한 만가닥 버섯이 해송이 버섯보다 높은 항비만 효과를 나타내었다. 50%에탄올 농도까지는 항비만 효과가 완만한 감소를 보였으나 50%이상의 농도에서는 항비만 효과가 급격히 떨어지는 것을 알 수 있었다.

2. 해송이 유래 생리활성 물질의추출공정 설정 및 추출물의 식품소재화 기술 개발

가. 생리활성물질의 최적추출공정 설정

(1) 기능성분의 추출최적화

1차년도 연구결과 물로 추출하였을 때 유용성분과 생리기능성이 높았으므로 추출용매는 물을 선정하였다. 반응표면분석법에 의한 최적 추출조건은 추출온도 70℃, 추출시간 9시간, 용매비는 약 52배로 산출되었다. 이때 총폴리페놀과 베타글루칸 및 추출수율은 각각 1.8%, 22.0% 및 56%로 예상되었으나 실제값은 각각 1.72%, 22.4% 및 61%로 나타나 실험설계가 적합하였다.

(2) 추출공정에 미치는 인자들의 영향요인 분석

추출수율에는 추출온도와 추출시간이 주요 영향인자였으며, 총폴리페놀함량과  $\beta$ -glucan 함량은 추출용매비와 추출시간에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다.

(3) 추출물의 분리와 분자량

해송이 버섯의 최적 추출물(SE)을 알코올 침전한 후 저분자물질을 제거하여 COE를 회수하였다. COE를 음이온 교환수지인 DEAE-Sephacell이 충전된 칼럼을 이용하여 증류수 분획의 중성다당체 (NP)와 2M-NaCl 분획의 산성다당체 (AP)로 분리하였다. 산성다당체와 중성다당체 모두 단백질과 결합된 단백다당체인 것으로 사료되어진다. 또한 NP와 AP의 분자량은 모두 20kDa 이상의 고분자 물질인 것으로 나타났다.

#### (4) 추출물의 분획별 단당류 조성

SE와 COE는 glucose, galactose, mannose, ribose, fucose, 그리고 rhamnose로 구성되었으며 AP와 NP는 glucose, galactose, mannose, fucose, rhamnose로 구성되었다. COE의 주구성당은 glucose, galactose, mannose, 그리고 fucose이 있으며 AP의 주구성당은 glucose, galactose이 었다. 그리고 NP의 주요 구성당은 galactose, mannose, 그리고 fucose 이었다. COE의 glucose 함량이 가장 높았으며 galactose의 함량은 NP의 것이 가장 높았다. 또한 fucose의 경우 COE와 NP의 경우 각각 9.61%와 10.58%로 높았으나 SE와 AP의 경우 2%미만으로 낮은 함량을 나타내었다.

#### (5) 추출물의 분획별 기능성분 함량

다른 분획에 비하여 COE의  $\beta$ -글루칸 함량이 22.20%로 가장 높은 것으로 나타났으며 NP의  $\beta$ -글루칸 함량이 가장 낮은 것으로 나타났다. SE의 총폴리페놀함량은 1.94%로 다른 분획에 비하여 가장 높은 함량을 나타내었다. COE와 NP의 당 함량은 57.05%와 57.49%로 높게 나타났으며 COE의 단백질함량은 26.92%로 다른 분획에 비하여 가장 높게 나타났다.

#### (6) 추출물의 분획별 생리활성

##### (가) 항산화 활성

모든 분획이 농도가 증가할수록 전자공여능이 증가하는 경향을 나타내었다. SE가 다른 분획에 비하여 가장 높은 전자공여능 효과를 나타내었다. 30 mg/mL의 농도에서 SE, COE, AP, 그리고 NP의 DPPH 라디칼 소거효과가 각각 66.2%, 39.0%, 16.8% 그리고 21.8%로 나타났다. 40-60 mg/mL의 농도에서 SE, COE, AP와 NP의 전자공여능이 각각 79.1-79.6%, 46.1-56.1%, 그리고 25.3-36.1%로 세 가지 경향의 전자공여능 효과를 나타내었다.

##### (나) ACE 저해활성

모든 분획이 농도가 증가 할수록 저해활성이 커지는 것으로 나타났다. SP의 ACE 저해활성이 94.76%로 가장 높게 나타났으며 NP (77.73%), COE (60.26%) 그리고 SE (47.16%) 순으로 나타났다. AP와 COE의 경우 15 mg/mL의 농도까지 농도의존성 증가를 보인 그 이후 농도에서는 완만한 증가를 나타내었다. SE의 경우 가장 낮은 ACE 저해활성을 나타내었다.

##### (다) $\alpha$ -amylase, glucosidase 저해 활성

30 mg/mL의 농도에서 COE의  $\alpha$ -amylase 저해활성은 68.20%로 다른 분획에 비하여 가장 높게 나타났으며 AP와 NP의  $\alpha$ -amylase 저해활성의 경우 27.98%와 33.09%로 낮은 활성을 나타내었다. SE와 COE의 경우 25mg/mL의 농도까지 완만한 증가를 보인 후 그 이상의 농도에서 급격한 저해활성을 나타내는 것으로 나타났다.

$\alpha$ -glucosidase 저해활성을 나타낸 것으로 모든 분획이 농도가 증가할수록 저해활성이 커지는 것으로 나타났다. COE는 2.5mg/mL의 농도에서  $\alpha$ -amylase 저해활성이 76.13%로 가장 높게 나타났으며 SE와 COE는 67.76%와 76.12%로 AP와 NP의 23.48%와 30.33%보다 높게 나타났다.

#### (라) 암세포에 대한 세포독성

COE는 0.5mg/mL의 농도에서 간암 세포주인 HepG2에 82.45%의 가장 높은 세포독성효과를 나타내었다. 위암세포주인 AGS 에대한 NP, SE, COE 그리고 AP의 세포독성효과는 각각 73.97, 54.23, 52.07, 그리고 31.88%로 나타났다. 대장암세포주인 SW480에 대한 세포독성효과는 모든 분획에서 20%미만으로 효과가 없는 것으로 나타났다.

#### (마) 항비만효과

COE의 경우 negative control과 비슷하게 지방구의 수와 크기가 positive control과 다른 분획물에 비하여 적은 것을 알 수 있었으나 NP의 경우 지방구의 수나 크기가 positive control과 유사한 것으로 나타났다. NP는 지방구생성에 효과가 적은 것으로 나타났으며 COE의 경우 지방구 생성에 효과가 있는 것으로 나타났다. 따라서 해송이버섯 추출물의 분획물 중 COE가 항비만효과가 가장 효과적일 것으로 사료되어진다.

### 나. 동물모델 (*in vivo*)에서의 생리활성 검색

#### (1) 해송이 버섯 추출물의 *in vivo* 생리활성 검색

##### (가) 항당뇨효과

해송이버섯의 항당뇨 효과를 확인하기 위하여 STZ를 주사하여 당뇨를 유도한 후 해송이버섯과 만가닥버섯 추출물을 5주 동안 경구투여 한 결과 실험기간 중 성장률은 대조군이 낮았으나 통계적인 차이는 없었다. 혈당농도는 시작시에는 통계적인 차이는 없었으나, 실험 종료시 혈당은 만가닥버섯 추출물 D군(513 mg/dL)에서 가장 높았고, 만가닥 버섯 추출물 E군(321 mg/dL)에서 통계적으로 낮았다( $p < 0.05$ ). 중성지방과 HDL은 실험군간에 통계적인 차이는 없었으며, Fatty acid는 만가닥버섯 추출물 E군에서 가장 낮았고, 대조군(A)에서 가장 높았다. 총콜레스테롤(TC)은 대조군에서 가장 높았고, 만가닥버섯추출물 D군에서 통계적으로 낮았다. 혈액학치는 실험군간의 통계적인 차이가 없었다. 체중 100g당 무게로 환산한 장기무게는 실험군간에 통계적인 차이가 없었다.

(나) 항비만효과

해송이버섯추출물은 만가닥버섯추출물에 비해 고지방식이를 급여한 흰쥐의 체지방의 억제작용과 함께 혈청 지질중 중성지방과 LDL농도를 낮추고 배변량과 장통과시간에서 양호한 결과를 나타내었다.

(2) 해송이버섯 분말의 *in vivo* 생리활성 검색

(가) 항당뇨효과

성장률, 체장무게, 절식후 공복혈당치, C-peptide함량, 혈중 TC와 TG농도, 간기능치, 혈색소등의 결과를 종합적으로 검토할 때 해송이버섯분말 1%첨가군에서 당뇨유발쥐의 혈당강하 및 체내 혈청 생화학치의 개선작용이 있는 것으로 사료되었다.

(나) 항비만효과

해송이버섯분말첨가군(2%, 4%)에서는 고지방식이를 급여한 흰쥐의 혈청중 중성지방과 LDL-콜레스테롤농도를 낮추고, 체지방축적을 감소시키는 작용이 있는 것으로 사료되었다.

다. 추출물의 식품 소재화 기술 개발

(1) 동결방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리학적 특성 변화

폴리페놀의 함량은 -70℃ 급속냉동을 한 경우에서 -20℃ 저장을 한 경우보다 많은 함량을 나타내었으나, 항산화 활성의 경우에는 -70℃에서 동결을 한 추출물이 -20℃에서 동결을 한 추출물보다 항산화 활성 값이 떨어지는 경향을 나타내었다. 항당뇨효과는 -70℃에서 동결을 한 추출물이 α-amylase의 억제효과가 뛰어난 경향을 나타내었으나, α-glucosidase의 억제효과는 -20℃에서 동결한 추출물에서 더욱 좋은 경향을 나타내었다.

(2) 건조방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리특성 변화

총 폴리페놀의 함량은 동결건조한 추출물이 1.7%로, 분무건조한 추출물의 1.5%보다는 높았으나 큰 차이를 보이지는 않았으며, 항산화 효과는 동결건조가 84.65%, 분무건조가 82.24%로 동결건조가 보다 좋은 항산화 효과를 나타내는 경향이였다. 항당뇨 효과인 α-amylase와 α-glucosidase 억제 효과 역시 동결건조에서 각각 48.04%, 70.37%로 분무건조의 46.13%, 69.23%보다 높게 나타나는 경향을 나타내었다. 건조방법에 따른 생리특성의 변화를 보면 동결건조가 분무건조보다 분석된 모든 생리특성에서 우수한 경향을 나타내었다.

3. 해송이 버섯을 이용한 분말소재화 및 가공식품 제조기술 개발

## 가. 분말소재화 기술개발

### (1) 건조 및 분쇄 방법에 의한 생리활성 물질 및 영양성분의 변화

#### (가) 식이섬유

건조방법에 따른 식이 섬유 함량은 차이가 적었으나, 분쇄방법에 의한 식이 섬유 함량 차이는 크게 나타났다. 볼밀을 사용한 경우에 동결건조는 36.46%, 냉풍건조는 35.81%, 열풍건조는 38.16%으로 다른 분쇄방법보다 높게 나타났으며, 열풍 건조시 식이 섬유 함량이 가장 높은 것으로 나타났다. 그러나 냉풍건조는 핀밀을 사용하여 분쇄하는 것과 볼밀을 사용하여 분쇄하는 것이나 비슷한 식이 섬유 함량을 나타내었으며, 볼밀을 사용하는 경우에는 식이 섬유 함량이 조금 감소하는 경향을 나타내었다. 해송이버섯의 식이 섬유 함량을 높이는 분쇄방법으로 는 볼밀을 사용하는 것이 식이 섬유 함량이 높아지는 것으로 나타났다.

#### (나) 환원당, 폴리페놀, flavonoid, $\beta$ -glucan

환원당은 3.55% 열풍건조를 한 경우에 가장 높게 나타났으며, 분쇄방법에 따른 변화는 핀밀을 사용한 경우가 가장 함량이 높았으며, 볼밀을 사용하여 분쇄한 경우에 환원당의 함량이 가장 떨어지는 것으로 나타났다. 총 폴리페놀의 함량은 동결건조를 사용했을 경우에 831.88mg%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 분쇄방법에 따른 함량은 건조 방법에 관계없이 볼밀을 사용한 경우에 폴리페놀의 함량이 높게 나타나는 경향이였다. 플라보노이드의 함량은 건조 및 분쇄 방법에 따른 차이는 적었으나, 냉풍건조를 사용한 경우에 57.79mg%로 조금 높게 나왔으며, 동결건조를 사용한 경우 평균 54.28mg%로 가장 적은 함량을 보였다. 분쇄방법에 따라서는 동결건조와 열풍건조는 볼밀을 사용한 경우에서 높은 함량을 보였으나, 냉풍건조의 경우는 볼밀을 사용한 경우에 가장 높은 함량을 나타내었다. 베타 글루칸의 함량은 동결건조, 열풍건조, 냉풍건조가 평균 12.50%, 12.52%, 12.77%를 나타내었으며, 동결건조와 열풍건조에서는 볼밀을 사용한 경우에 가장 높은 함량을 나타내었으며, 냉풍건조를 사용한 경우에는 핀밀을 사용한 경우 가장 좋은 결과를 보였다.

#### (다) 구성당 변화

동결건조시 galactose의 함량이 가장 높게 나타났으며, glucose의 함량이 27.57%로 다른 건조군에 비해 적게 나타났으며, 열풍건조는 galactose의 함량이 1.53%로 가장 적게 나타났으며, glucose의 함량이 41.06%로 가장 높게 나타났다. 분쇄방법에 따른 함량의 변화는 동결건조의 경우 핀밀을 사용한 경우 glucose의 함량이 볼밀과 볼밀을 사용하였을 때의 함량인 30.28%와 29.73%보다 낮게 나타났으며 galactose는 13.02%로 함량이 높게 나타났다. fucose, ribose, mannose는 각각 0.36~0.39%, 0.48~0.59%, 6.34~7.30%로 분



쇄방법에 의한 성분의 큰 차이를 보이지 않았다. 냉풍건조는 분쇄방법에 따른 성분간의 차이는 저었으나, glucose에서 물밀을 사용한 경우가 약간 높게 나타나는 경향이였다. 열풍건조 역시 냉풍건조와 비슷한 경향을 나타내었다.

#### (라) 향기성분의 변화

해송이버섯에는 총 38개의 향기 성분이 검출되었으며, 1-Octen-3-ol 이 42.82% 정도로 주요 향기성분이며 함유되어 있으며, 2-pentylfuran이 11.28%, Palmitic acid가 8.62%로 2번째, 3번째로 많이 함유되어 있었다. 특히 1-octen-3-one(6.97%), 1-octen-3-ol (42.82%), 3-octanol(0.80%), 2-octenal(5.60%), octanol(2.41%) 등 C<sub>8</sub> 인 화합물이 해송이버섯의 주요 향기성분을 구성하는 것을 알 수 있었다.

건조 및 분쇄방법에 따라 차이는 있으나 많은 종류의 성분들이 소실되었다. 특히, 열풍건조시 C<sub>8</sub> 화합물은 거의 존재하지 않았다.

### 나. 편의가공식품 제조기술 개발

#### (1) 식품재료의 응용기술 개발

##### (가) 해송이버섯 분말첨가 두부 제조

해송이버섯 분말을 2.5% - 10% 첨가하여 두부를 제조하고 관능검사를 실시한 결과, 2.5% 첨가군에서 색, 조직감, 맛, 향미 등 관능적 품질이 가장 높았다.

##### (나) 해송이버섯 추출물첨가 요구르트 제조

해송이버섯 추출물을 1 - 5% 첨가한 요구르트의 관능적 품질을 비교한 결과 해송이버섯을 첨가 하지 않은 처리군에서 가장 좋은 점수를 얻었으나, 해송이버섯 추출물을 첨가한 요구르트에서는 1%에서 가장 좋은 점수를 얻었다.

##### (다) 해송이버섯 분말 첨가 국수 제조

해송이버섯 분말 5 - 15%를 첨가한 국수를 제조하고 관능검사를 실시한 결과 5 - 10% 첨가시 관능적 품질이 양호하였다. 그러나 종합적 기호도에서는 비첨가군과 첨가군 사이에 유의차는 없었다.

##### (라) 해송이버섯 추출물을 이용한 식초제조

현미추출물과 해송이버섯 추출물을 혼합하여 제조한 양조식초의 총산도는 5.7 - 6.4%였으며, 유리아미노산은 alanine, valine, glutamic acid의 함량이 높았다. 유기산은 oxalic, malic, acetic citric 및 succinic acid가 검출되었으며 acetic acid의 함량이 가장 높았다. 미량성분은 해송이버섯 추출물함량이 높을수록 K의 함량이 높았다.

## V. 연구성과 및 성과활용 계획

본 연구에서는 해송이버섯에 함유되어 있는 단백질, 유리아미노산, 무기질과 같은 영양성분, 베타글루칸, 식이섬유함량 등 생리활성물질을 조사하여 영양적으로 우수함을 구명하였으며, 해송이버섯의 열수추출물은 항산화, 항고혈압, 항암, 항당뇨 및 항암효과가 있다는 것을 확인하였다.

이러한 효능을 지닌 해송이버섯으로 소비가 간편한 편의가공식품을 만들어 소비할 수 있다면 재배농가의 소득증대는 물론 국민들의 질병예방 등 건강증진에도 의의가 있다. 본 연구에서는 해송이버섯의 분말과 추출물을 식품소재화하는 기술을 개발하였고, 이들 소재를 이용한 가공제품으로 두부, 면류, 요구르트, 양조식초를 개발하였으며 일부는 특허출원하여 기술권 확보가 가능하다..

해송이버섯의 식품소재화기술과 편의가공식품제조기술은 산업화가 가능한 것으로, 우선 실용화를 위하여 참여기업인 (주)해송바이오에 기술이전을 추진할 계획이다.

이와는 별도로 본 기술의 활용을 희망하는 유기농식품, 건강식품업체를 발굴하여 기술이전을 추진할 계획이다.

# SUMMARY

## I. Title

Development of Processed Foods with anti-Diabetes and anti-Obesity Activities from Haesongi Mushroom

## II. Scope & Contents

1. Studies on the physiological active materials and its physiological activities of Haesongi(*Hypsizigus marmoreus*) mushroom
  - Analysis of nutritive components
  - Determination of physiological active materials
  - Studies on the physiological activities of extracts from Haesongi mushroom
    - Cytotoxicity
    - Anti-oxidation
    - anti-obesity
    - Anti-diabetes
2. Establishment of extraction process and development of application technology as food component using extracts
  - Extracting optimization of Haesongi mushroom
  - Determination of physico-chemical properties of extracts
  - in vitro Physiological activities of the extracts
  - in vivo Physiological activities of the extracts
    - anti-obesity
    - Anti-diabetes
  - Changes in physico-chemical & Physiological activities due to freezing and drying methods of the extracts
3. Development of powdering technology of Haesongi mushroom and processed foods using the powdered mushroom
  - Investigation of drying and powdering methods
    - nutritional comonents
    - physiological active materials
    - volatile aromatic materials
  - Development of processed foods using extracs and powder of Haesongi

mushroom

- Soybean curd
- Noodles
- Yogurt
- Vinegar

### III. Results

#### 1. Determination of bioactive substances from Haesongi mushroom.

The content of moisture were 6.66%, carbohydrate 60.84%, crude protein 20.21%, crude ash 8.12%, and crude lipid 4.17. The total amino acid was 10385.77mg%. Contents of total essential amino acids was 3868.60mg% and total non-essential amino acid was 6517.19mg%. In the results of mined analysis, the content of K was the highest as 3158mg%, followed by 98.68mg% of Mg. Contents of  $\beta$ -glucan, dietary fiber and reducing sugar in Haesongi mushroom were 9.15%, 30.80%, and 4.36%, respectively. The yield of mushroom extracts was the highest by water(60.63%). Content of protein and sugar were 39.9% and 39.9%. The total phenolic content of ethanol extracts decreased with increase of concentrations.

#### 2. Physiological activities(*in vitro*) of Haesongi mushroom extracts.

DPPH radical scavenging abilities, ACE inhibitory activities, alpha-amylase, glucosidase inhibitory activities, cytotoxicity, and adiogenesis were measured. Water extract contained the highest phenolic compound contents and showed high DPPH radical scavenging abilities. Water extraction was most effective on antioxidant properties. Water extract showed the higher than ethanol extracts in antidiabetes and antiobesity. Moreover water extract from Haesongi mushroom had the highest cytotoxicity on HepG2 cell. water extract from Haesongi mushroom were shown the highest cytotoxicity effect on AGS cell.

#### 3. The Establishment of optimum extraction process of Hasongi mushroom

This work is to optimize extraction processing from Haesongi mushroom (*Hypsizigus marmoreus*) using response surface methodology, and to compare

physiological properties of separated fractions from the whole extracts. Central composite design was adopted in extraction processing optimization. Extraction temperature ( $X_1$ ), extraction time ( $X_2$ ), and Volume ratio of solvent ( $X_3$ ) were chosen for independent variables. Dependant variables were extraction yield ( $Y_1$ ), phenolic compound contents ( $Y_2$ ), and beta glucan contents ( $Y_3$ ). Optimal conditions were  $X_1 = 71.57^\circ\text{C}$ ,  $X_2 = 11.31$  (hrs), and  $X_3 = 51.58$ , and predicted values of multiple response optimal conditions were  $Y_1 = 57.00$  (%),  $Y_2 = 1.80$  (%), and  $Y_3 = 22.00$  (%). The extract (SE) was treated with ethanol and the supernatant were cut off with dialysis tubing. The cut off sample (COE) was separated with anion exchange column to AP and NP.

In order to investigate physiological properties of the each fractions, contents of phenolic compounds, beta-glucan, monosaccharides composition, DPPH radical scavenging abilities, ACE inhibitory activities, alpha-amylase, glucosidase inhibitory activities, cytotoxicity, and adiopogenesis were measured.

Beta glucan contents of COE fraction were the highest and phenolic compound contents of SE were the highest, significantly. SE was most effective on antioxidant properties. High Antidiabetes and antiobesity were shown inf COE fraction. Moreover COE had the highest cytotoxicity on HepG2 cell. NP shown the highest cytotoxicity effect on AGS cell and AP had the highest antihypertension effects. However, all fractions were not effective on SW480 cell.

The major monosaccharides of COE and NP fraction were glucose, galactose, mannose, and fucose and were glucose and galactose in AP fraction.

#### 4. *in vivo* physiological activities of Haesongi mushroom extracts

##### A. Anti-obesity

This study was performed to investigate the effect of anti-obesity in rats for 5 weeks. Experimental animals were randomly assigned to 5 treatments with 12 heads of Spraque Dawley male rats in each group.

The experimental diets were as follows; 7.5% Haesongi mushroom extract group(A), 15% Haesongi mushroom extract group(B), water group(C), 7.5% *Lyophyllum*

*ulmarium* extract group(D), and 15% *Lyophyllum ulmarium* extract group(E). The concentration of total cholesterol in serum was significantly decreased in D and E group. The concentration of HDL-cholesterol was higher B and D groups. The concentration of LDL-cholesterol was higher B group, but there was no significant all groups. ALP activity was significantly decreased E group( $p < 0.05$ ). Organs weight and fecal amount was no significant among groups( $p < 0.05$ ).

#### B. Anti-diabetes

This study was performed to investigate the effect of anti-diabetic in rats for 5 weeks. Experimental animals were randomly assigned to 5 treatments with 10 heads of Spraque Dawley male rats in each group. Diabetes was induced by single injection of streptozocin (50 mg/kg B.W.). The experimental diets were as follows; water group(A) as control, 7.5% Haesongi mushroom extract group(B), 15% Haesongi mushroom extract group(C), 7.5% *Lyophyllum ulmarium* extract group(D), and 15% *Lyophyllum ulmarium* extract group(E). The concentration of initial blood glucose was no significant all groups, but concentration of final blood glucose was significant higher D group( $p < 0.05$ ). The concentration of TG and HDL-cholesterol were no significant all groups( $p < 0.05$ ).

### 5. *in vivo* physiological activities of Haesongi mushroom powder

#### A. Anti-obesity

This study was performed to investigate the effect of anti-obesity in rats for 4 weeks. Experimental animals were randomly assigned to 4 treatments with 13 heads of Spraque Dawley male rats in each group.

The experimental diets were as follows; High fat diet(HFD) group(A) as control, HFD in mushroom powder 1%t group(B), HFD in mushroom powder 2% group(C) and HFD in mushroom powder 4% group(D). The concentration of TC in A and B groups were significantly lower than other groups. Liver weight was significantly low with increase of Haesongi mushroom content. The concentration of TG and

LDL-cholesterol in liver of D group was significantly lower than other groups.

## B. Anti-diabetes

This study was performed to investigate the effect of anti-diabetic in rats for 50 days. Experimental animals were randomly assigned to 4 treatments with 10 heads of Sprague Dawley male rats in each group. Diabetes was induced by single injection of streptozocin (45 mg/kg B.W.). The experimental diets were as follows; commercial rat chow(AIN-93G) group(A) as control, AIN-93G in mushroom powder 1%t group(B), AIN-93G in mushroom powder 2% group(C) and AIN-93G in mushroom powder 4% group(D).

The concentration of initial blood glucose was no difference in all groups, but concentration of final blood glucose was significantly high in D group( $p < 0.05$ ).

The content of LDL-cholesterol was significantly low with increase of Haesongi mushroom content.

## 6. Selection of drying and powdering methods

Contents of phenolic compounds, beta-glucan, reducing sugar, monosaccharides composition, dietary fiber and flavonoid were measured.

Total dietary fiber content of powder by hot-air blast drying and pin mill methods was the highest. Reducing sugar content of powder was the highest hot-air blast drying method, and powder by cold-air blast drying method was the lowest. Total phenolic compound contents of lyophilized powder were the highest and powder by lyophilization and ball mill methods was the highest. The content of beta-glucan was the highest in powder by cold-air blast drying and pin mill methods. The major monosaccharides were mannose, galactose and glucose.

## 7. Changes of Aromatic compounds by drying and powdering methods

Aroma compounds in Haesoni mushroom were extracted by simultaneous distillation and extraction (SDE), and 38 compounds were identified by GC-MS. Major aroma compounds included 1-octen-3-ol(42.82%), 2-pentylfuran(11.28%), palmitic acid(8.62%), 1-octen-3-one(6.97) and stearic acid(6.18%). The aroma compounds of mushroom powder by drying methods were 1-octen-3-ol, Hexanal, 2-cyclohexenone and

2-pentylfuran. Major of aroma compounds of mushroom powder by grinding methods were Hexanol, 2-pentylfuran

## 8. Development of convenience processed foods

### A. Preparation of soybean curd with Haesongi mushroom powder.

Soybean curd with Heasongi mushroom powder prepared general soybean curd method, Soybean curd prepared with 5% Heasongi mushroom powder were superior in the other treatments. Yield of soybean curd was the highest in the treatment of 5% Heasongi mushroom powder. As the result of sensory evaluation, under 5% content of Haesongi mushroom powder was effective in soybean curd preparation

### B. Preparation of yogurt with Haesongi mushroom extract

Starter prepared in mixture *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus Thermophilus*. Yogurt added 10%(w/w) stater in milk. haesongi mushroom extract added before fermentation and additional content was 0–5%. As the result of sensory evaluation, yogurt with 1% haesongi mushroom extract content showed higher than other treatments.

### C. Preparation of noodle with Haesongi mushroom powder

Wet noodles were prepared with wheat flour, gluten and Haesongi mushroom powder. The cooked weight and volume of cooked noodles were on different. Decrease of L value and a and b value was increased with the addition content of mushroom powder. As the result of sensory evaluation, noodle with 10% Haesongi mushroom powder content showed higher than other treatments.

### D. Preparation of vinegar with Haesongi mushroom

Vinegars were prepared with brown rice extracts and Haesongi mushroom extracts. Total acidity of vinegars were shown in the range of 5.6 – 6.4% during fermentation at 30°C for 12 days. Dominent free amino acid were alanine, valine and glutamic acid. Organic acid such as oxalic, malic, acetic citric and succinic acid were detected in brewed vinegars. As a result of determination of mineral, P and K content were very high. Especially K content was increased with increase of extract of Haesongi mushroom.o



# CONTENTS

SUMMARY .....	17
CONTENTS .....	23
<b>Chapter 1. Introduction on the project .....</b>	<b>29</b>
Section 1 Need for research .....	29
Section 2 Scope of research .....	38
<b>Chapter 2. Status of technological development .....</b>	<b>41</b>
Section 1 Status of technological development .....	41
1. Overseas .....	41
2. Domestic .....	43
Section 2 연구결과가 국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치 .....	45
<b>Chapter 3. Results and Discussions .....</b>	<b>46</b>
Section 1 Materials and Methods .....	46
1. Materials .....	46
2. General component, total dietary fiber .....	46
3. Reducing sugar .....	46
4. Amino acid .....	47
5. Mineral .....	47
6. $\beta$ -glucan .....	47
7. Total sugar and protein .....	47
8. Total polyphenol .....	48
9. <i>in vitro</i> Antioxidation effect .....	48
10. ACE inhibitory activity .....	48
11. <i>in vitro</i> Anticancer effect .....	49
12. <i>in vitro</i> antidiabetes .....	49
13. <i>in vitro</i> antiobesity .....	50
14. Extraction of Haesongi mushroom .....	50
15. Monosaccharides composition of extracts .....	54

16. pH value and titratable acidity .....	55
17. Sensory evaluation .....	55
18. Preparation of soybean curd with Haesongi mushroom powder .....	55
19. Preparation of yogurt with Heasongi mushroom extract .....	56
20. Preparation of noodle with Heasongi mushroom powder .....	57
21. Preparation of vinegar with Heasongi mushroom .....	57
22. Analysis of Aroma characteristics .....	59
Section 2 Results and disussions .....	60
1. Studies on the physiological active materials and its physiological activities of Haesongi( <i>Hypsizigus marmoreus</i> ) mushroom .....	60
A. Analysis of nutritive components .....	60
B. Determination of nutritive components .....	63
2. <i>in vitro</i> physiological activities of extracts .....	67
3. Optimization of extraction for functional components .....	67
A. Extracting optimization of Haesongi mushroom .....	67
B. Separation and molecular weigh of the each fraction .....	89
C. monosaccharide composition .....	87
D. Functional compounds content .....	88
E. Physiological characteristics .....	89
F. Development of processed foods using extracts and powder of Haesongi mushroom .....	97
4. <i>in vivo</i> Physiological activities of the extracts .....	98
A. antiobesity .....	98
B. antidiabetes .....	106
5. <i>in vivo</i> Physiological activities of the mushroom powders .....	112
A. antiobesity .....	112
B. antidiabetes .....	120
6. Changes of physiological active materials and nutritive components by drying and powdering methods .....	127
A. Change of total dietary fiber content .....	127
B. Reducing sugar, polyphenol, flavonoid, $\beta$ -glucan .....	128
C. Change of monosaccharides composition .....	128
D. Changes of aroma composition .....	131
7. Development of processed foods .....	137

A. Preparation of soybean curd with Haesongi mushroom powder .....	137
B. Preparation of yogurt with Heasongi mushroom extract .....	141
C. Preparation of noodle with Heasongi mushroom powder .....	144
D. Preparation of vinegar with Heasongi mushroom .....	148
<b>Chapter 4. Achievement rate of study and contribution of</b>	
<b>similar field .....</b>	<b>152</b>
Section 1 Achievement rate of study .....	152
1. Achievement rate of study : 1st phase .....	152
2. Achievement rate of study : 2nd phase .....	158
3. Achievement rate of study : 3rd phase .....	163
Section 2 Contribution rate of similar field in technological development ...	166
<b>Chapter 5. Outcome of study results .....</b>	<b>168</b>
Section 1 Outcome .....	168
Section 2 Application plan of the outcome .....	170
Section 3 Needs for other fields .....	172
<b>Chapter 6. Informations of overseas scientific research trend .....</b>	<b>173</b>
<b>Chapter 7 References .....</b>	<b>176</b>

# 목 차

제 출 문 .....	1
요 약 문 .....	2
SUMMARY .....	17
CONTENTS .....	23
목 차 .....	26
<b>제 1 장 연구개발과제의 개요 .....</b>	<b>29</b>
제 1 절 연구개발의 필요성 .....	29
제 2 절 연구내용 및 범위 .....	38
1. 연차별 연구개발의 목표 및 내용 .....	38
<b>제 2 장 국내의 기술개발 현황 .....</b>	<b>41</b>
제 1 절 국내의 기술개발현황 .....	41
1. 세계적 수준 .....	41
2. 국내수준 .....	43
3. 국내·외의 연구현황 .....	43
제 2 절 연구결과가 국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치 .....	45
<b>제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....</b>	<b>46</b>
제 1 절 재료 및 연구방법 .....	46
1. 재료 .....	46
2. 일반성분, 총식이섬유 .....	46
3. 환원당 정량 .....	46
4. 아미노산 .....	47
5. 무기질 .....	47
6. $\beta$ -글루칸 .....	47
7. 총당 및 단백질 정량 .....	47

8. 총 폴리페놀 함량의 측정 .....	48
9. 항산화효과 측정 .....	48
10. ACE 저해효과 측정 .....	48
11. 항암효과 측정 .....	49
12. 항당뇨효과 측정 .....	49
13. 항비만효과 측정 .....	50
14. 해송이 버섯 추출 .....	50
15. 단당류 조성 .....	54
16. pH 측정 및 적정산도 .....	55
17. 관능검사 .....	55
18. 해송이버섯 첨가 두부제조 .....	55
19. 해송이버섯 첨가 요구르트 제조 .....	56
20. 해송이버섯 첨가 면 제조 .....	57
21. 해송이버섯 식초 제조 .....	57
22. 향기성분분석 .....	59
제 2절 연구결과 .....	60
1. 해송이버섯의 생리활성 물질의 탐색 .....	60
가. 유용성분의 조사 분석 .....	60
나. 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 유용성분 구명 .....	63
2. 추출물의 in vitro 생리활성 효과 .....	67
가. 추출방법에 따른 유효성분의 추출효과 및 생리활성 구명 .....	67
3. 생리활성 물질의 최적 추출공정 설정 .....	67
가. 기능성분의 추출 최적화 .....	67
나. 최적추출물의 분리와 분획별 분자량 .....	89
다. 단당류 조성 .....	87
라. 기능성분 함량 .....	88
마. 생리적 특성 .....	89
바. 추출물의 식품소재화 기술 개발 .....	97
4. 해송이버섯 추출물의 동물모델(in vivo)에서의 생리활성 검색 .....	98
가. 항비만 효과 .....	98
나. 항당뇨효과 .....	106
5. 해송이버섯 분말의 동물모델(in vivo)에서의 생리활성 검색 .....	112
가. 해송이버섯 분말의 항비만효과 .....	112
나. 해송이버섯 분말의 항 당뇨효과 .....	120

6. 건조 및 분쇄 방법에 의한 생리활성 물질 및 영양성분의 변화 .....	127
가. 식이섬유 함량의 변화 .....	127
나. 환원당, 폴리페놀, flavonoid, $\beta$ -glucan .....	128
다. 구성당 변화 .....	128
라. 향기성분의 변화 .....	131
7. 편의 가공식품 제조기술 개발 .....	137
가. 해송이버섯 분말 첨가 두부제조 .....	137
나. 해송이버섯 추출물 첨가 요구르트 제조 .....	141
다. 해송이 분말 첨가 국수 제조 .....	144
라. 해송이버섯 분말을 이용한 발효 식초 제조 .....	148
<b>제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....</b>	<b>152</b>
제 1 절 연구개발 목표의 달성도 .....	152
1. 1차년도 연구개발목표에 대한 달성도 .....	152
2. 2차년도 연구개발목표에 대한 달성도 .....	158
3. 3차년도 연구개발목표에 대한 달성도 .....	163
제 2 절 관련분야의 기술발전에의 기여도 .....	166
<b>제 5 장 연구개발 성과 및 성과 활용계획 .....</b>	<b>168</b>
제 1 절 연구개발성과 .....	168
제 2 절 성과 활용계획 .....	170
제 4 절 타 연구에 활용 필요성 .....	172
<b>제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....</b>	<b>173</b>
<b>제 7 장 참고문헌 .....</b>	<b>176</b>

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 필요성

한국의 식문화가 서구화됨에 따라 각종 질병들뿐만 아니라 비만환자들이 증가하고 있는 실정이다. 이러한 현상으로 인해 사람들의 건강에 인식들이 향상되면서 최근 웰빙에 대한 관심이 지대하게 높아지고 있다. 특히, 다이어트의 경우 식이조절의 가장 중요한 것은 단백질, 비타민, 무기질 등의 영양소는 충분히 섭취하면서 지방의 섭취량은 줄이는 것이라고 할 수 있는데 버섯은 이런 조건을 모두 갖춘 식품 중 하나이다. 버섯류는 세계적으로 약 20,000여 종이 알려져 있으며 그 중 식용으로 개발 가능한 것은 약 2,000여 종이다. 버섯류는 자연생태계의 유기물 순환에 중요한 역할을 하고 있을 뿐만 아니라 예로부터 인류생활과는 밀접한 관계를 맺고 있고 우리나라에서는 신라시대부터 채취, 이용되었다고 한다. 우리나라에 분포하는 버섯류는 현재 약 1000종이 기록되어 있고 이들 중 20여종 이상이 재배되고 있으며 대부분 식품 혹은 기능성 식품으로 사용되고 있다. 이들 중 가을철 느릅나무 등의 활엽수 고목이나 그루터기에서 다발로 발생하는 백색목재부후균인 만가닥버섯(*Lyophyllum ulmarium* 또는 *Hypsizygus ulmarium*)은 분류학적으로 진정담자균강, 동담자균아강(모균아강), 주름버섯목, 송이과에 속하며, 다발성이 매우 강해 수많은 개체가 발생된다고 하여 우리나라에서는 만가닥 버섯이라고 부르며 일본에서는 혼시메지 또는 부나시메지라고 부른다. 우리나라에서 만가닥버섯 생산현황을 살펴보면 수향버섯에서 연간 100톤 정도 시험생산되고 있으며 일본에서는 연간 2만톤 정도 생산되어 팽이버섯, 표고버섯에 이어 세 번째로 소비량이 많으며 그 외 지역에서는 거의 생산되고 있지 않다. 우리나라의 농촌진흥청 농업과학 기술연구소에서 1987년 과 1993년 시험연구사업 결과에서 만가닥 1호와 만가닥 2호를 분리 선발, 재배법을 확립하여 농가 보급 품종으로 선정 농가 버섯재배 고소득 품목으로 유망한 버섯이다. 만가닥버섯의 영양가를 살펴보면 100g 당 열량은 33 kcal, 단백질은 2.7g, 지방은 0.5g, 탄수화물은 5.4g이며, 기타 무기질과 비타민 C를 함유하고 있다. 또한, 만가닥버섯은 버섯에 함유되어 면역력을 높여주는 다당단백질인 베타글루칸이 다른 버섯에 비해 많이 함유되어 강심작용과 비만억제 등 다양한 효능이 있는 것으로 알려지고 있다. 이러한 만가닥 버섯류의 일종인 해송이는 본 연구에서 개발하고자 하는 대상으로 소나무에 붙어서 자라는 종으로 강원도 영동권에서만 재배되고 있다. 특히 송이, 느타리 및 표고버섯에 비해 칼슘, 칼륨, 마그네슘 그리고 인을 비롯한 무기질 성분이 풍부하고 단백질의 경우에도 1.5~2.5배 이상 많이 함유하고 있음에도 불구하고 재배량이 다른 버섯에 비해 매우 적고 잘 알려져 있지 않아서 대부분의 연구들이 미비한 실정이다. 하지만 최근에 야생 해송이 버섯의 대량재배 기술이 개발되어 산업적 활용이 가능하여 연구개발을 통한 신제품 해송이의 기능성 홍보 및 건강기능식품의 개발 필요성이 매우 높다. 따라서

본 연구에서는 신제품 해송이에 함유되어 있는 생리활성 성분들을 추출 및 동정하고 선별된 소재를 이용한 가공식품을 개발하고자 하였다.

## 1. 연구개발대상 기술의 경제적·산업적 중요성 및 연구개발의 필요성

### 가. 경제적·산업적 중요성

#### 1. 소외된 강원 영동권의 농업경제의 활성화

- ▶ 해마다 일어나는 대규모의 산불과 수해를 비롯한 자연재해로 인한 지역 농가의 침체 극복
- ▶ 해안지역이라는 특성으로 인해 그 동안 상대적인 농업분야의 지원이 미비하였음

#### 2. 지역특화작물에 대한 후속 지원의 필요성

- ▶ 본 사업의 참여기업은 새로운 지역특화 품종인 해송이 버섯의 산업적 대량재배기술을 독립적으로 개발하였음
- ▶ 따라서, 이러한 대량재배기술을 활성화하기 위하여 가공 및 저장 기술의 후속적인 개발을 통해 부가가치 창출이 가능하도록 지원이 절실함



### 3. 수입대체 및 역수출의 효과 확보

- ▶ 현재 국내의 대기업에서 일본의 만가닥 중균을 받아 로열티를 지불하면서 재배하여 국내에 시판하고 있음
- ▶ 현재 해송이 버섯(만가닥 버섯의 일종)의 경우 일본 및 국내의 시장규모가 확대되고 있어 대량재배 및 가공기술의 확보가 긴요함
- ▶ 본 연구과제의 원료인 신품종 해송이 버섯의 경우는 단백질 성분과 칼슘을 비롯한 무기질 성분들이 기존의 일본 만가닥 버섯에 비해 월등히 많으며 독특한 풍미를 가지고 있어 경쟁력이 높음
- ▶ 따라서, 국내 시장의 확보 및 수출이 용이하여 수입대체 및 역수출의 효과를 볼 가능성이 매우 높음

## 나. 연구개발의 필요성

### 1. 성인병을 비롯한 각종 질병들의 발병률 증가

- ▶ 산업의 발달로 생활은 풍요로워졌지만
  - 주변환경의 오염, 생활의 스트레스, 운동량 부족
  - 특히, 인구 고령화와 식생활의 패턴이 서구화되어 가면서
  - 영양의 불균형 등의 이유로 각종 성인병을 비롯한 질병들의 발병률이 증가
- ▶ 이에 따라, 각종 질병의 치료에 대한 연구들이 지속적으로 연구 개발
- ▶ 그러나, 질병 치료의 한계성 및 치료약의 부작용 등으로 많은 제약을 받음

## 2. 한국에서 사망원인 1위는 ‘암’

- ▶ 2000년 이전 순환기계가 사망원인 1위였으나, 2000 이후부터 암이 1위로 부상
- ▶ 세계적으로 감염성 질환 미 심혈관계 질환에 이어서 사망원인 3위
- ▶ 2001년 총사망자의 12.6%(약 700만명)가 암으로 사망
- ▶ 향후 25년 내에 암발생인구가 매년 3천만명씩 증가할 것으로 예상

표 1. 한국의 사망원인 질환 순위 변화

년도	1위	2위	3위	4위	5위
1997	순환기계	<b>암</b>	소화기계	호흡기계	대사성
1998	순환기계	<b>암</b>	소화기계	호흡기계	대사성
1999	순환기계	<b>암</b>	소화기계	호흡기계	대사성
2000	<b>암</b>	순환기계	호흡기계	소화기계	대사성
2001	<b>암</b>	순환기계	호흡기계	소화기계	대사성

## 3. 세계에서 항암제가 의약품에 비해 시장 성장률이 높아짐

- ▶ 의약품 시장이 2002년 약 \$4,100억 규모의 시장을 형성했고, 이 중 항암제는 4.4%로 \$180억으로 추정
- ▶ 심순환계 약물(20%), 중추시경계약물(18%) 등에 비해 시장규모는 작으나, 시장 성장률은 15%로서 시장 평균 성장률 10%를 능가
- ▶ 국내 항암제 시장 역시 2000년에 900억원으로 20% 시장 성장률 보임

## 4. ‘비만’ 세계보건기구(WHO)에 의해서 1996년에 이미 질병으로 규정

- ▶ 생활 습관 변화, 산업화 등으로 인하여 환자가 지속적으로 증가하고 있는 추세
- ▶ 전세계적으로 3억 명 이상, 미국 인구의 1/3이상, 국내 900만 명이상이 비만환자로 추정
- ▶ 최근 7년 사이 전세계 비만인구 50%의 가파른 상승세
- ▶ 15년 뒤 비만으로 인한 당뇨병자 급증 예상 (3억 2000만 명, 현재의 3배)

## 5. 비만 치료에 대한 수요가 지속적으로 증가

- ▶ 2000년 이후 국내에서 비만치료의 급격한 수요 증가가 지속
- ▶ 현재 수요를 충족시켜 줄만한 효과적인 제품이 시장에 나와 있지는 못한 상태

Table 2. 국내 비만치료제 수요 동향 (10억원)

제품	생산업체	2001	2002	2003	2004	2005
제니칼 (xenical)	로슈 (스위스)	26.84	27.23	30.77	33.85	36.55
리덕틸 (Reductil)	애보트 (미국)	1.65	3.73	4.29	4.72	5.10
엑소리제 (Exolise)	아코파마 (프랑스)	1.41	2.43	2.67	2.89	3.03
Total (Major)		29.90	33.39	37.73	41.45	44.68
Maarket Total		30.97	34.86	41.59	54.07	70.29

- ▶ 또한, 많은 약물비만치료제가 시중에 유통되고 있으나 부작용에 대한 우려가 큼
- ▶ 따라서, 부작용이 없는 천연 비만억제 소재의 개발이 절실

Table 3. 비만치료제의 오용과 부작용

제품	오용	부작용
제니칼	체중감량	기름변, 방귀, 복부팽만감 등
리덕틸	체중감량	두통, 구갈, 식욕부진, 불면, 변비 등
엑소리제	체중감량	현재까지 알려진 사례 없음

전문가 인터뷰를 바탕으로 KISTI 작성

## 6. 대표적인 성인병 ‘당뇨’

- ▶ 인슐린 분비능의 감소 및 기타 원인 등에 의해 발생하는 대사성질환
- ▶ 심혈관계 합병증과 실명, 조기사망 등을 초래
- ▶ 혈당농도의 상승과 지질대사의 이상으로 free radical 생성에 의한 지질산화로 관상동맥 질환 등과 같은 합병증발생

## 7. 당뇨병환자의 급증 문제로 대두

- ▶ 인구 고령화로 인하여 당뇨병환자 증가 추세
- ▶ 매년 50만 명이상 새롭게 당뇨병환자로 청구되고 있으며, 매년 1만 명이상 당뇨병으로 인해 사망

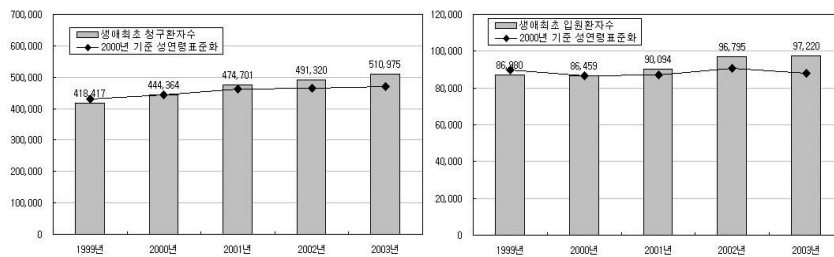


Fig. 1. 최근 5년간 생애최초 당뇨병 청구 및 입원 발생규모

Table 4. 당뇨병으로 인한 사망자 수의 변화 (명)

년도	2000	2001	2002	2003	2004
사망자 수	10,745	11,403	12,089	12,100	11,768

## 8. 질병치료약물의 문제점

- ▶ 각 종 질병의 약물에 대한 경제적인 부담이 매우 큼
- ▶ 지속적인 사용으로 인해 부작용의 위험뿐 아니라 환자의 내성 문제 발생
- ▶ 일반적으로 의약품으로서의 개발에는 너무 많은 시간과 비용이 소요
- ▶ 따라서, 생리활성 효능이 있는 기능성 식품의 섭취와 병행

## 9. 각 종 질병치료에 대한 효과와 경쟁력이 있는 식품소재 필요

- ▶ 비만 치료제 개발시 안전성이 우려되나 천연식품으로의 개발은 안전성이 매우 클 것으로 예상되어짐
- ▶ 생리활성 효능을 가진 식품 소재는 대부분 동·식물에 국한
- ▶ 하지만 버섯은 균 자체가 식품이면서 동·식물에 존재하지 않는 물질군이 존재
- ▶ 따라서, 균 유래 기능성 식품 소재로 적합

## 10. 버섯산업의 발전에 따른 고부가가치 상품화 진행중

- ▶ 과거 식용버섯 위주의 재배, 생산량 중심의 산업에서
- ▶ 현재는 용도별 재배, 품종의 다양화, 상품성이 높은 품종 재배
- ▶ 바이오산업 소재의 하나로 기능성이 강조된 식품 또는 의약품으로 개발 진행 중

Table 5. 버섯유래 기능성 식품의 시장현황 (2000년)

생산현황		출하현황			수입현황		
생산량 (톤)	생산액 (백만원)	출하량 (톤)	출하액 (백만원)	수출액 (천달러)	수입건수 (건)	중량 (톤)	수입액 (백만원)
57	6,626	51	5,254	2,756	50	5	818

## 9. 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있는 ‘버섯’

- ▶ 버섯은 저칼로리 식품으로 다양한 기능성 물질을 함유
- ▶ 버섯 유래 다당체 성분인 베타 글루칸과 레티난은 항암활성이 매우 높음
- ▶ 또한, 영지버섯의 ganoderan은 혈당강하 효과가 있어 당뇨에 효능이 높음
- ▶ 그 외, 생리활성 물질의 효능으로 혈압강하, 항혈전 작용 및 NGF(nerve growth factor) 합성촉진 효과가 있음

Table 6. 버섯의 생리활성 기능

약리적 기능	생리활성 물질
항균활성	grifolin, calvatic acid 등
콜레스테롤 저하	ergosterol
혈당저하기능	peptidoglycan, ganoderan
혈소판응집저해작용	lectin, 5'-AMP, 5'-GMP
항바이러스 작용	protein, $\beta$ -glucan
항종양활성	terpenoide, illudin-S, $\beta$ -glucan, RNA complex
면역조절기능	$\beta$ -glucan, heterogalactan-protein complex

## 10. 영양학적 가치 매우 높은 버섯 ‘해송이(만가닥버섯류)’

- ▶ 버섯은 많은 기능성적 특성을 가진 물질을 다양하게 함유있으며,
- ▶ 특히 만가닥버섯의 주요 유효성분은 다당단백질

Table 7. 버섯 종류에 따른 주요 유효성분

종류	유효성분
느타리버섯	렉틴
목이버섯	식이섬유
만가닥버섯	다당단백질

- ▶ 본 연구진에 의한 기초 실험 결과에 따르면 신품종 해송이는 다른 버섯보다 유용한 무기질 성분이 다량 함유

Table 8. 버섯 일반성분 및 무기질성분의 비교

항목	단위	해송이	자연산송이	느타리버섯	표고버섯
수분		87.8	87.3	91.3	90.8
회분		0.8	0.9	0.6	0.8
조지방	(%)	0.4		0.2	
조단백질		2.7	2.7	2.7	2.0
탄수화물		8.3	8.8	5.2	7.1
Ca		<b>7.3</b>	2.0	3.0	6.0
Fe		1.02	1.2	3.3	0.6
K	(mg/100g)	<b>971.5</b>	404.0	270.0	180.0
Mg		<b>12.6</b>			
P		<b>132.4</b>	34.0	107.0	28.0
Zn		0.8			

## 제 2 절 연구내용 및 범위

### 1. 연차별 연구개발의 목표 및 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
1차년도	2006	○ 해송이 유래 생리활성 물질 탐색 및 활성 구명	○ 생리 활성 물질의 탐색	○ 유용 성분의 조사 분석 - 일반성분, 무기질, 아미노산등 ○ 생리활성 물질 구명 - $\beta$ -glucan, 식이섬유 등
			○ 추출물의 <i>in vitro</i> 생리활성 효과 구명	○ 추출방법에 따른 유효성분의 추출효과 및 생리활성 구명 - 항산화 효과 ·DPPH 라디칼 소거법 - 항암효과 ·MTT assay - 항비만효과 ·콜레스테롤 저하효과 측정 ·지방 대사율 측정 ·CPT I 활성측정 ·Mitochondrial function 측정 - 항당뇨효과 ·2-Deoxyglucose uptake ·인슐린 유사활성능 검증 · $\alpha$ -glucosidase inhibition



구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
2차년도	2007	○ 해송이 유래 생리활성 물질의 추출공정 설정 및 추출물의 식품소재화 기술 개발	○ 생리활성 물질의 최적 추출공정 설정	○ 반응표면분석법을 이용한 최적 추출조건 확립 - 추출용매, 추출온도, 추출시간 등 인자들의 다중반응 최적화 - 추출공정에 미치는 인자들의 영향요인 분석  ○ 추출방법별 추출효율 및 생리기능 효과 분석( <i>in vitro</i> )  ○ 추출물의 이화학적 특성 분석
			○추출물의 동물모델 ( <i>in vivo</i> )에서의 생리활성 검색	○ 항당뇨 효과 측정시험 ○ 항비만효과 측정시험
			○ 추출물의 식품소재화 기술 개발	○ 동결방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리특성 변화 측정  ○ 건조방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리특성 변화 측정 ○ 추출물을 이용한 시제품 제조시험

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
3차년도	2008	○ 해송이 버섯을 이용한 분말소재화 및 가공식품 제조기술 개발	○ 분말소재화 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 적정 건조방법 설정 및 특성 변화 조사 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 영양성분의 변화</li> <li>- 생리활성성분의 변화</li> <li>- 향기성분의 변화</li> </ul> </li> <li>○ 적정 분쇄방법 설정 및 특성 변화 조사 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 영양성분의 변화</li> <li>- 생리활성성분의 변화</li> <li>- 향기성분의 변화</li> </ul> </li> <li>○ 분말화 소재시제품 제조시험</li> </ul>
			○ 편의 가공식품 제조기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 식품에로의 응용기술의 개발 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 버섯두부, 버섯국수, 버섯 요구르트, 버섯식초 제품 등</li> </ul> </li> </ul>

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 국내·외 기술개발현황

#### 1. 세계적 수준

개념정립 단계	●	기업화 단계		기술 안정화 단계	
---------	---	--------	--	-----------	--

#### 유 럽

- ▶ 1960년대 버섯산업에 대한 급격한 진전
  - 양송이 순수분리법·종균제조법 성공
- ▶ 독일, 프랑스, 스위스 등에서 백색종 이외에 갈색종 등을 육성
  - 통조림뿐만 아니라 생버섯으로서의 시장성을 크게 향상
- ▶ 1970년 이후 대규모 기업농장의 확대
  - 전체 생산량이 증가
- ▶ 1990년대 이전 - 양송이 위주 식품적 가치에 중점
- ▶ 1990년대 이후 - 버섯 종류를 다양화하여 식용 및 기능성 역할로 연구영역을 확대
- ▶ 그러나 대부분의 연구대상이 양송이 및 차가버섯에 국한되어 있는 실정

## 미 국

- ▶ 1800년대까지는 유럽과 동일한 생산 및 소비제품생산 형태
- ▶ 1900년대 양송이 산업이 크게 발전
  - 버섯 소비시장이 확대되면서 거대한 석회동굴의 발견으로
  - 버섯육종과 대형 종균 배양소가 운영되어 버섯 산업은 크게 발전
- ▶ 1960년대부터 지금까지 펜실베이니아 대학
  - 양송이 품종육성과 석회암 동굴 재배에 알맞은 환경에 대한 연구가 지속
- ▶ 최근 연구 경향
  - 버섯류의 DNA 분석에 의한 동일 품종에서 Strains간의 관별기술의 개발
  - 변이균주의 분자 생물학적인 해석에 관한 연구
- ▶ 각종버섯에 기생하는 병원세균의 분자생물학적 분류동정에 관한 연구가 추진

## 일 본

- ▶ 국가 연구기관 - 버섯의 기초 및 기반연구만 수행
- ▶ 민간 기업체 연구소 - 버섯 종류별 품종육성 및 기능성 연구 등 수행
- ▶ 최근 연구 경향
  - 분자생물학적인 분류방식을 채택하는 연구가 활발히 진행
  - 버섯의 방향성 향기성분과 버섯의 자실체 분화기작 해명 등에 관한 연구
  - 버섯 돌연변이 검출기술 개발
  - 식용버섯의 유전자 연쇄지도 제작과 그 효율성 구명에 관한 연구
  - 송이버섯을 포함한 각종 버섯에 대한 기능성 성분의 탐색 및 그 이용기술에 대해 중점적인 연구가 추진

## 2. 국내수준

### 한 국

- ▶ 일본과는 달리 국가 주도의 연구사업이 95% 정도 차지
- ▶ 버섯의 육종연구
  - 버섯류의 형질전환체 확인 및 이용기술로서 형질전환에 의한 유용모본 육성
  - 돌연변이체의 유전형질 분석
  - 자실체 형성기작의 유전적 해석 및 활용 연구
- ▶ 버섯류의 기능성 개발 및 물질 탐색 등의 연구 진행중
- ▶ 버섯 유용자원 개발연구 비율은 최근 32~36%의 증가추세
  - 새로운 버섯 개발과 기계화 연구 등의 증가 18%
  - 반면, 버섯의 분류, 생리 생태 등은 3년간 변화 없음
  - 또한, 버섯의 기능성 구명은 매우 중요한 분야인데도 불구하고 비율이 낮고 3년간 증가되지 않고 있음
- ▶ 버섯에 관련해 국내 20여개의 바이오벤처기업이 설립
  - 자금의 압박과 마케팅의 문제점으로 활성화가 되고 있지 못함

## 3. 국내·외의 연구현황

일상적으로 많이 접할 수 있는 특용작물인 버섯은 국내·외에서도 다양한 기능성물질을 함유하고 있는 것으로 많이 보고 되어진다. 하지만 송이, 느타리를 비롯한 대부분의 버섯에 관한 연구는 활용실적이 풍부한 반면 일본과 한국에서만 재배되고 있는 만가닥버섯류인 해송이버섯에 관한 연구는 거의 전무한 실정이다.

■ 국내 연구현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
기도농업기술원 광주버섯시험장	만가닥버섯 병재배법 개선연구	병 재배법 확립
한국생명공학 연구원	잔나비불로초버섯의 당뇨질환 예방	기능성식품으로 활용
(주) TG바이오텍	영지버섯의 항당뇨효과	세포내외 다당체
풀무원 식문화연구원	기능성 버섯의 연구현황 및 전망(흰목어, 잎새, 느티만가닥)	식품소재로 판단
일양약품	영지버섯에서 분리한 펩티도글리칸	베타 이뮤난(면역항암제)
한식연, 아주대	추출공정에 따른 만가닥 버섯의 기능적 특성	기능성 물질 특성 구명
한식연, 아주대	팽이 및 만가닥 버섯의 peroxidase	peroxidase의 열 불활성화 특성
한식연, 아주대	만가닥 버섯의 추출조건 최적화	기능성물질 추출 조건 확립

■ 국외 연구현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
베이징대학교	양지버섯 항암효과	
중국농업대학교	만가닥버섯 균체의 항균물질 연구	항균물질 분리
홍콩중국대학교	만가닥 버섯의 균체로부터 응집소와 당의 분리	hemagglutinin의 불활성화 연구
홍콩중국대학교	리보솜 불활성물질의 분리와 항균효과의 상승작용을 위한 만가닥버섯의 항균물질	<i>P. piricola</i> 에 대해 상승효과가 확인
나가사키대학교	만가닥버섯의 aminopeptidase의 정제와 효소적 기능	aminopeptidase 정제
나가사키대학교	만가닥 버섯의 proline iminopeptidase의 정제와 특징	효소의 항혈청에 대한 면역확산
도쿠시마 대학교 시코쿠 여자대학	만다린버섯의 균체에서의 Ds-erythro- 2-amino-4-ethoxy-3-hydroxybutanoic acid 분리	Ds-erythro-2-amino-4-ethoxy- 3-hydroxybutanoic acid 분리

## 제 2 절 연구결과가 국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치

유럽은 1990년대 이후 버섯종류가 다양화되면서 버섯이 갖고 있는 기능성에 주목하고 있으며, 미국은 최근 버섯류의 DNA 분석에 의한 동일 품종에서의 strain 간의 관별 기술이 개발되었고, 각종 버섯에 기생하는 병원세균의 분자생물학적 분류 동정에 관한 연구가 추진되고 있다. 일본에서는 최근에는 분자생물학적인 분류방식을 채택하는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 버섯의 방향성 향기성분과 버섯의 자실체 분화기작 해명 등에 관한 연구, 버섯 돌연변이 검출기술 개발, 식용버섯의 유전자 연쇄지도 제작과 그 효율성 구명에 관한 연구, 송이버섯을 포함한 각종 버섯에 대한 기능성 성분의 탐색 및 그 이용기술에 대해 중점적인 연구가 추진되고 있다. 국내에서는 국가주도의 연구가 대부분이며, 최근 유용버섯 개발 연구비율이 35% 정도로 새로운 품종개발에 박차를 가하고 있다. 또한 버섯의 기능성 구명은 빈도가 증가하고 있으나 그 비율은 낮다. 특히 만가닥버섯의 일종인 해송이버섯에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다.

이상과 같이 버섯에 대한 연구는 국내외적으로 신품종 개발과 그 기능성 규명에 집중되고 있음을 알 수 있다. 그러나, 버섯의 대량소비를 위한 가공기술개발에 관한 연구는 많지 않다. 본 연구에서는 이러한 연구동향에 따라 신품종인 해송이버섯의 영양성분, 생리활성물질을 구명하였으며, 항산화, 항암, 항고혈압, 항당뇨 및 항비만 효능을 구명하였다. 또한, 본 연구에서는 다른 연구에서는 거의 시도하지 않았던 식품소재화 기술(분말화, 추출물) 및 두부, 면류, 요구르트 및 양조식초 등 편의가공식품에의 응용기술도 개발하였으므로 국내외 다른 연구에 비하여 한걸음 앞선 연구라 사료된다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1절 재료 및 연구방법

#### 1. 재료

본 연구에서 사용된 시료, 즉 해송이 버섯은 양재 하나로마트에서 구입하여 사용하였으며, 해송이버섯 분말은 (주)해송산업으로부터 제공받고 만가닥 버섯 분말은 (백일송이)은 근교시장에서 구입하여 35℃에서 24시간 건조 후 분말로 만든 후 -20℃에서 저장하여 실험에 사용하였다. 연구의 분석에 사용된 시약은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

#### 2. 일반성분, 총식이섬유

일반성분과 총식이섬유는 AOAC의 표준분석법에 따라서 분석하였다. 수분은 105℃상압 가열건조법으로 측정하였으며, 조단백질은 Kjeldahl 법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 그리고 조회분은 550℃에서 직접회화법으로 분석하였으며 식이섬유는 Ceramic fiber 방법을 사용하였다.

#### 3. 환원당 정량

환원당은 Somogyi-Nelson법을 이용하여 측정하였다. 즉, 시료 5g을 250ml로 정용한 후, 200rpm에서 2시간 교반 후 50ml를 취하였다. 용액은 초산납용액 2ml를 가하여 침전시킨 후 여과한 후 무수 수산화나트륨을 소량 가하여 침전되지 않을 때까지 가한 후 여과하여 시료용액으로 사용하였다. 측정은 시료용액 1ml를 시험관에 취한 후 무수인산나트륨 25g, Rochelle염 25g 탄산수소나트륨 20g, 무수황산나트륨 200의 염류들을 800ml에 용해 후 1L로 정용한 시약 25ml와  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  30g을 4방울의 진한 황산을 첨가한 증류수 200ml에 용해한 용액1ml을 혼합한 용액을 1ml를 가한 후 알루미늄호일로 덮은 후 끓는 수욕조중에서 20분간 가열한다. 가열이 끝난 시험관은 유수에서 약 20분간 냉각 후 Ammonium molybdate 254g을 진한황산 21ml를 포함하는 증류수 450ml에 용해 후 sodium bismuthate 3g을 증류수 25ml에 용해시킨 것을 천천히 가하고 500ml로 정용한 후 37~40℃에서 하룻밤 방치시킨 용액 1ml를 가하여 거품이 나지 않을때 까지 교반한 후 20분간 방치한 후 25ml로 정용한다. 정용한 용액은 spectrophotometer에서 520nm의 파장으로 흡광도를 측정하였다.



#### 4. 아미노산

시료 1g을 test tube에 넣고, phenol 1mL가 들어간 6N HCl 5mL을 가하여 N<sub>2</sub>로 purge 시켰다. Tube cap을 닫은 후 110°C heating block에서 24시간 방치하여 가수분해 시켰다. 가수분해가 끝난 후 시료를 100uL 취하여 heating block에서 HCl을 날리고 희석 buffer로 희석하였다. 이 용액을 0.2um filter로 여과한 것을 시험용액으로 하여 분석하였다. 분석장치는 amino acid analyzer(SYKAM Co, Germany), column은 cation separation column(150×4mm, SYKAM Co.)을 이용하여 reactor 온도 120°C에서 20uL를 주입하여 UV 검출기로 570nm에서 분석하였다.

#### 5. 무기질

식품공전(2005)에 따라 습식분해 방법으로 시험용액을 조제하였으며 inductively coupled plasma(SPECTRO CIROS, SPECTR, Germany)분석하였으며 분석조건은 다음과 같다. Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na 그리고 Zn의 측정과장(nm)은 각각 393.37, 324.75, 238.20, 766.49, 279.55, 257.61, 589.00 그리고 213.86이었다.

#### 6. β-글루칸

β-glucan은 McCleary and Codd의 방법에 의하여 Megazyme β-glucan assay kit(Megazyme Pty. Ltd., Australia)를 사용하여 정량하였다. 즉 시험관에 시료 0.1mL와 lichenase, 0.1mL(5U)를 넣고 40°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 냉각하고 여기에 다시 β-glucosidase 0.1mL(0.2U)를 가하여 40°C에서 15분간 반응시켜 냉각한 다음 glucose oxidase/ peroxidase /4-amino-antipyrin(GOPOD) 3mL를 가한 후 40°C에서 20분간 반응시킨 후 냉각하여 510nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 100~500ppm 농도의 β-glucan 용액을 사용하였고, 불용성 β-glucan 함량은 총 β-glucan과 수용성 β-glucan간의 함량 차이로 계산하였다.

#### 7. 총당 및 단백질 정량

총당은 phenol-sulfuric acid법(Dubois등 1956)에 따라 시료용액 1mL를 test tube에 취하고 5% phenol 용액 1mL를 가한 후 혼합하고 진한황산 5mL를 반응액에 직하하여 발열시키면서 잘 혼합한다. 이 반응액을 실온에서 20~30분간 방치한 후 470nm에서 흡광도를 측정하여 glucose의 표준검량선을 이용하여 측정하였고 단백질의 함량분석은 bovine serum albumin(BSA)을 표준물질로 하여 Lowry법(1951)으로 측정하였다. 표준용액과 시료용액을 0.5mL씩 시험관에 넣고 Lowry 시약을 넣고 10분간 방치한 후 Folin-reagent를 0.25mL를 가한후 30분간 방치 후 750nm에서 흡광도를 측정하였으며

BSA검량선을 이용하여 측정하였다.

## 8. 총 폴리페놀 함량의 측정

총 폴리페놀 함량은 Singleton와 Rossi(1965)의 방법으로 측정하였다. 각각의 추출조건에 따라 제조된 추출물 0.1mL에 2N-Foline reagent 0.5mL, 증류수 8.4mL를 가하고 3분간 정치한다음 1mL의 20%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액을 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 정치한 후 분광광도계를 사용하여 725nm에서 흡광도를 측정하였고 (+)catechin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

## 9. 항산화효과 측정

항산화 효과의 측정은 전자공여작용(electron donation abilities, EDA)을 Kang 등(1996)의 방법을 변형하여 각각의 추출물에 대한 DPPH( $\alpha,\alpha$ -diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 시료의 환원력으로 알아보았다. 즉, 추출물 0.2mL에  $4 \times 10^{-4}$ MDPPH용액 0.8mL, 99% ethanol 2mL를 가하여 총액의 부피가 3mL가 되도록 하였다. 이반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 15분 방치한 후 분광광도계를 사용하여 525nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 추출물의 첨가 전후의 차이를 백분율로 나타내었다.

$$EDA(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도      B: 추출물 무 첨가구의 흡광도

## 10. ACE 저해효과 측정

Angiotensin converting enzyme 저해효과 측정은 Cushman 과 Cheung의 방법(1971)을 변형하여 행하였다. 즉, 반응구는 0.3M NaCl을 함유하는 0.1M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질인 hippuryl-L-histidyl-L-leucine 2.5mM(HHL, Sigma)을 녹인 액 0.15mL, ACE(Sigma, 0.2unit/mL) 0.1mL와 각 추출시료 용액 0.1mL을 혼합하였으며, 대조구는 추출시료 대신 증류수 0.1mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 1N HCl 0.25mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 ethyl acetate를 1.5mL 첨가하였다. Ethyl acetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 1mL의 증류수를 가하여 추출된 hippuric acid를 분광광도계를 사용하여 228nm에서 흡광도를 측정한 후 다음 식에 따라 저해율을 구하였다.

$$Inhibitory\ effect(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 반응구의 hippuric acid 생성량  
B: 대조구의 hippuric acid 생성량

## 11. 항암효과 측정

해송이버섯 각 추출물의 암세포의 성장억제효과는 Green 등(1984)의 방법에 따라 MTT assay를 이용하여 검토하였다

인체 암세포 AGS(stomach adenocarcinoma; KCLB 21739), HepG2(liver hepaoblastoma; KCLB 88065), SW480(colon adenocarcinoma; KCLB 10228) 그리고 HeLa(cervix, uterine adenocarcinoma; KCLB 10002)를 한국 세포주은행(KCLB)에서 분양받아 10% fetal bovine serum(FBS)와 1% penicillin 및 streptomycin이 포함된 RPMI-1640에서 배양하였다.

각각의 세포를  $2 \times 10^4$ /mL의 농도로 96well plate의 각 well에 넣고, 시료를 농도별로 첨가하였다. 이를 3일간 배양한 다음 MTT를 첨가하고 4시간 동안 더 배양하였다. plate를 1,000rpm에서 10분간 원심분리 후 배지를 제거한 다음, DMSO 150uL를 가하여 MTT의 환원에 의해 생성된 formazan 침전물을 용해시킨 후 microplate reader를 사용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료군에 대한 평균 흡광도 값을 구하였으며, 대조군의 흡광도 값과 비교하여 성장억제 정도를 조사하였다.

## 12. 항당뇨효과 측정

가.  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity 측정

$\alpha$ -glucosidase inhibitory activity는 Watanbe 등(1997)의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 효소  $\alpha$ -glucosidase(0.7U)를 100mM phosphate buffer(pH7.0)에 녹여 사용하였고 기질은 5mM  $p$ -nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside를 100mM phosphate buffer(pH7.0)에 녹여 사용하였다. 효소 용액 50uL을 96well plate에 넣고 각각 다른 농도의 시료용액을 10uL를 넣어 잘 교반한 후 micro plate reader로 405nm에서 흡광도를 측정하였고 이를 zero time으로 하였다. 5분 방치 후 기질 용액 50uL를 넣고 다시 5분 방치한 후 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Inhibitory activity(\%)} = \left[ 1 - \frac{(A-B)}{(C-D)} \right] \times 100$$

A: 5분 후 시료 흡광도 - zero time 시료 흡광도

B: 5분 후 시료 blank 흡광도 - zero time 시료 blank 흡광도

C: 5분 후 blank 흡광도 - zero time blank 흡광도

D: 5분 후 blank의 blank 흡광도 - zero time blank의 blank 흡광도

나.  $\alpha$ -amylase inhibitory activity 측정

$\alpha$ -Amylase inhibitory activity 측정은 Sidney 등(1995)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 각각 다른 농도의 시료용액 1mL를 시험관에 넣고 blank에는 0.02M phosphate

buffer(pH6.9) 1mL, 시료에는 1unit/mL의 농도의  $\alpha$ -amylase를 1mL 넣고 교반 후 실온에서 5분간 방치하였다. 방치 후 기질 용액인 1% 전분 용액을 1mL씩 넣어 교반하고 다시 실온에서 5분간 방치하였다. 방치 후 3,5-dinitrosalicylic acid(DNS)용액 3mL를 넣고 알루미늄 호일로 덮고 끓는 물에 5분간 가열하였다. 가열 후 흐르는 물에 냉각하여 증류수 5mL를 넣고 교반한 후 550nm에서 측정하였다.  $\alpha$ -amylase inhibitory activity는 아래 식을 이용하여 나타내었다.

$$\text{Inhibitory activity}(\%) = \left(1 - \frac{A-B}{C-D}\right) \times 100$$

A: 시료의 흡광도 값,

B: 시료 blank의 흡광도 값

C: 전분 대조군 흡광도 값,

D: 전분 대조군 blank 흡광도 값

### 13. 항비만효과 측정

3T3-L1세포를 이용한 지방구 억제효과를 측정하였다. Mouse의 배아에서 유래한 세포주인 3T3-L1 세포는 ATCC (ATCC, USA)에서 분양받아 사용하였으며, 100mm dish에 10%FBS를 함유한 DMEM으로 37°C, 5% CO<sub>2</sub>가 유지되는 배양기에서 배양하였다. 세포가 confluent되면 trypsin-EDTA로 처리하여 계대 배양하였으며 배지는 3일마다 교환하였다. 세포가 80% confluent 되면 polymannuronate에 의한 3T3-L1세포의 분화현상을 관찰하기 위해서 0.5mM methylisobutylxanthine(M), 0.25uM dexanethansone(D), 10ug/mL insulin(I)이 함유된 10% FBS-DMEM으로 교환하여 분화를 유도하고 이때부터 2일에 한번씩 10ug/mL insulin이 포함된 배양액으로 교환하였다. 즉, 3T3-L1 세포가 confluent 되면, 0.5mM M, 0.25uM D, 10ug/mL I로 처리하여 10일간 분화를 유도한 것을 control로 보았다. 농도별에 따른 polymannuronate 처리군은 MDI처리하고 10일간 분화시킨 후 무혈청배지로 배양액을 교환하였다. 24시간 후 0.5, 0.25, 0.1%의 농도별로 polymannuronate를 처리하여 48시간 더 배양하였다. 실험 종료 후 배양액, cell lysate 및 triglyceride sample을 취하여 실험에 사용할 때까지 -70°C에서 보관하였다.

세포 내 지방구 생성을 확인하기 위해 Miller et al.(1996)의 방법을 일부 변형하여 Oil red O 염색을 하였다. PBS-EDTA로 세포를 세척하고 10% buffered neutral formalin으로 30분간 고정하고, 다시 70% ethanol로 1회 세척한 다음 Oil red O로 2시간 동안 염색한 후, 마지막으로 PBS로 세척 후 건조하여 광학현미경으로 관찰하였다.

### 14. 해송이버섯 추출

해송이버섯 분말을 20-60배의 증류수에 120 rpm의 water bath를 이용하여 40-100°C의 온도에서 4-14 hr 동안 추출하였다. 추출용액은 원심분리기 (7000 rpm × 30min)를 이용하여 상층액을 취하여 여과지(Advantec 5C, Toyo, Tokyo, Japan)를 이용하여 감압여과를 한 후 동결건조 하였다.

가. 실험 설계 및 설계 결과 분석

해송이버섯에서 기능성성분추출은 중심합성계획법을 이용하였으며 23개의 factorial point와 6개의 axial point( $\alpha=1.68$ )와 3번의 central point로 설계되었으며 추출온도( $X_1$ ), 추출시간( $X_2$ ), 추출용매비율, w/v ( $X_3$ )이 독립변수로 선택되었으며 Table 1에 나타내었다. 추출수율, 총폴리페놀함량,  $\beta$ -글루칸 함량은 종속변수로 선택되었으며 각각의 독립변수에 의해 실험되어진 종속변수의 값을 Table 2에 나타내었다.

통계프로그램(Version 14, Minitab Inc., USA)을 이용하여 다음과 같은 이차방정식이 확립되었다.

$$Y_i = \alpha_{0i} + a_{1i}X_j + \alpha_{2i}X_{jj} + \alpha_{3i}X_{jj}^2 + \alpha_{4i}X_{jj}^2 + \alpha_{5i}X_jX_{jj}$$

$Y$ 는 종속변수이며  $\alpha_{0i}$ 은 상수,  $a_{1i}$ ,  $\alpha_{2i}$ ,  $\alpha_{3i}$ ,  $\alpha_{4i}$ , 그리고  $\alpha_{5i}$ 은 회귀계수이며  $X_j, X_{jj}$ 은 각각의 독립변수이다. 다중반응최적화는 통계프로그램을 이용하여 산출하였으며 반응표면 그래프는 Maple software를 이용하여 두 독립변수에 대한 각각의 종속변수의 상관관계를 나타내었다.

Table 1. Experimental range and values of the independent variables in the central composite design for functional component extraction from *H.marmoreus*

Independent variables	Symbol	Range and levels				
		-1.68	-1	0	1	1.68
Extraction temperature (°C)	$X_1$	40	52.1	70	87.86	100
Extraction time (hr)	$X_2$	4	6.02	9	11.98	14
Extraction solvent ratio	$X_3$	20	31.9	40	51.9	60

Table 2. Central composite design and responses of dependent variables for functional component extraction from *H.marmoreus* to independent variables.

Run no.	Coded levels of variables			Response		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>
1	-1	-1	-1	49.30	1.42	19.16
2	1	-1	-1	47.13	1.19	19.51
3	-1	1	-1	52.25	1.62	19.62
4	1	1	-1	50.43	1.43	20.20
5	-1	-1	1	51.68	1.51	19.80
6	1	-1	1	49.22	1.22	21.92
7	-1	1	1	63.30	1.86	19.25
8	1	1	1	61.61	1.45	22.94
9	-1.68	0	0	56.39	1.71	17.65
10	1.68	0	0	47.60	1.24	19.21
11	0	-1.68	0	41.64	1.31	19.20
12	0	1.68	0	51.78	1.49	19.54
13	0	0	-1.68	44.00	1.42	20.95
14	0	0	1.68	60.60	1.81	22.30
15	0	0	0	58.73	1.79	21.33
16	0	0	0	57.78	1.83	21.12
17	0	0	0	59.40	1.82	22.15

나. 최적추출물의 분리와 분자량 측정

최적조건에서 추출되어진 추출액을 감압농축기를 이용하여 농축시킨 후 추출액의 배의 95%의 에탄올을 첨가한 후 24 hr 동안 4°C에서 침전시킨 후 투석막(MWCO 12000)을 이용하여 저분자 물질을 제거 한 후 동결 건조시켰다. 저분자물질이 제거된 추출물(COE)을 증류수에 녹인 후 DEAE-Sephacell 이 충전 된 column (3×45 cm)에 주입하였다. 증류수를 이용하여 중성다당체(NP)를 분리시킨 후 2M NaCl 용액을 이용하여 산성다당체(AP)를 분리하였다. (Fig. 1)

중성다당체와 산성다당체의 분자량측정은 Sepharose CL-4B가 충전 되어진 column (3×10cm)에 분자량 12000, 150000, 670000의 표준 dextran을 통과시켜 log MW에 대한 Kav 값을 이용하여 계산하였다.

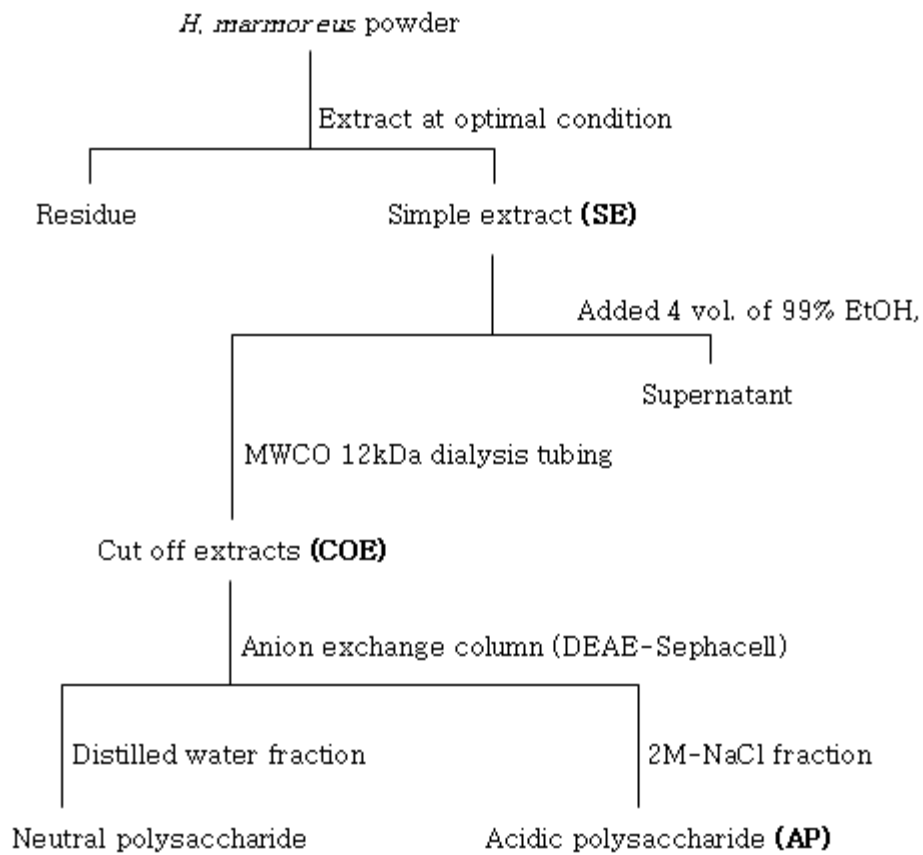


Fig. 1. Preparation of each fraction from Haesongi mushroom

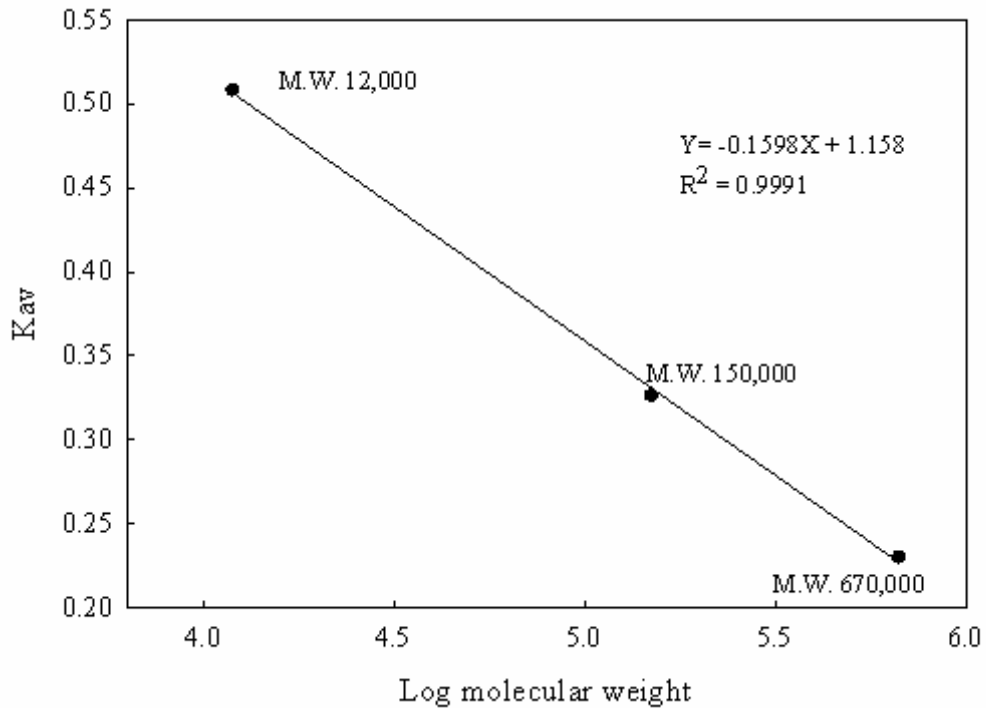


Fig. 2. Calibration curve of Kav versus Log M.W. of standard polysaccharides of known molecular weight

#### 다. 추출물 건조

추출물의 건조는 최적조건에서 추출한 시료를 동결건조 및 분무건조 하였다. 분무건조는 입구온도 140°C, 출구온도 95°C, 유속 5ml/min, 풍속 35m³/min 의 조건으로 분무건조하였다.

### 15. 단당류 조성

단당류 조성은 Furneaux 등의 방법(Furneaux등 1990)에 준하여 시료 3mg을 취하여 0.1M trifluoroacetic acid에 myo-inositol을 녹인 용액 0.3mL를 첨가한 후 80°C에서 3시간 동안 1차분해 시킨 후 50°C에서 N2 gas 로 trifluoroacetic acid를 휘발시킨 후, 잔사에 0.26M sodium borohydride 0.1ml를 가한 후 상온에서 1시간 환원시켰다. 환원물에 남은 과잉의 sodium borohydride를 acetic acid로 분해시킨 후 50°C에서 N2 gas로 건조하였다. 건조물은 methanol 0.3mL를 첨가하여 교반 후 50°C N2 gas로 휘발 시켰고 이 조작을 2회 반복하여 남은 boric acid를 제거하고 2M trifluoroacetic acid 0.3mL를 가하여 120°C에서 1시간동안 2차분해 후 50°C에서 N2 gas로 건조시켰다. 잔사는 1차와 같은 방법으로 환원시킨 후 sodium borohydride를 분해시키고 boric acid를 제거하였다. 잔사에 acetic



anhydride와 pyridine을 각각 0.2mL씩 가하여 120°C에서 20분간 acetylation 시켜 N2 gas 로 휘발시킨 후 1mL dichloromethan에 용해시키고 증류수로 2회 세척 후 원심분리 하여 dichloromethan층만 회수하여 -18°C에 보관하고 분석하였다. 단당류 표준시약을 이용하여 시료와 동일한 방법으로 acetylation 시켜 농도별 상대 면적비를 구하여 환산하였다. 구성당의 분석조건은 Table 3과 같다.

Table 3. Operation condition of GC for alditol acetate analysis

Instrument	Hewlett Packard GC model 6890
Column	SP-2330 (0.25mm ID × 30m, film thickness: 0.2µm)
Oven temp.	Isothermal 230°C
Carrier gas	Helium, (11psi)
Make up gas	Helium (30ml/min)
Detector	Flame ionization detector
Injector temp.	240°C
Detector temp.	240°C

## 16. pH 측정 및 적정산도

pH 측정은 시료 5ml에 증류수 45ml를 가한 후 혼합하여 10ml를 취하여 pH meter(Methrohm 827, Methrohm, Switzerland)를 pH를 측정하였고, 적정산도는 혼합액 10ml를 0.1N NaOH 용액으로 pH가 8.4까지 도달하는데 필요한 NaOH의 ml로 측정하였다.

## 17. 관능검사

관능평가요원은 10명을 대상으로 버섯 첨가 제조식품의 맛과 향에 대한 기본지식과 훈련을 행하여 맛좋은 두부, 요구르트, 면 및 식초의 선별능력을 숙지시킨 후 해송이 버섯의 첨가량에 따른 두부, 요구르트, 면 및 식초의 외관, 맛, 색깔, 향, 종합적기호도를 5점 (5=가장 좋다, 1=가장 나쁘다) 척도법을 사용하여 평가하였으며 평가결과에 대하여 Duncan's multiple range test를 수행하였고 통계분석은 SAS를 사용하여 분석하였다.

## 18. 해송이버섯 첨가 두부제조

두부는 콩 100g을 4°C에서 24시간동안 물에 불려 1000ml의 물을 가하여 2분간 분쇄 후 mash천을 사용하여 여과하였다. 여액에 해송이버섯 분말을 0-15%까지 첨가 후 100°C에서 30분간 가열한 후, 응고제를 첨가하여 30분간 응고시킨 후 16g/cm<sup>2</sup>으로 30분간 압착하

여 두부를 제작하였다. 제조된 두부는 30분간 맑은 물에 침지하여 잔여분의 응고제를 제거하였다(Fig. 3).

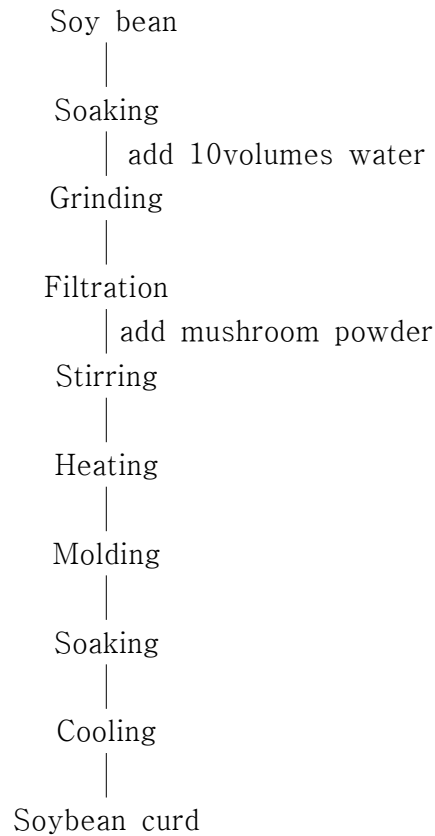


Fig. 3. The process of soybean curd with haesongi mushroom powder.

### 19. 해송이버섯 첨가 요구르트 제조

스타터 제조 - 스타터 균주(CHR. HANSEN's, danmark)로 *Lactobacillus bulgaricus* (Lb-12) 와 *Streptococcus Thermophilus*(TH-4)를 1:1로 혼합한 배양액을 2회 계대배양하여 우유1L에 분유 50g을 섞은 후 혼합배양액을 0.1%첨가하여 발효시켜 스타터로 사용하였다.

요구르트 제조 - 원유에 분유 4.75%를 첨가하여 60℃에서 15분간 가열하여 분유를 녹인 후 90℃에서 30분간 멸균하였다. 멸균한 우유는 냉각 후 스타터 10%와 해송이버섯 분말을 첨가하고 37℃에서 7시간 발효시켜 요구르트를 제조하였으며, 발효가 완료된 요구르트에 부재료를 첨가하고 혼합한 후 5℃에서 냉장보관하였다.

## 20. 해송이버섯 첨가 면 제조

밀가루 300g에 글루텐 3%과 소금 2% 그리고 해송이버섯을 0-10%를 혼합하여 물 130ml를 첨가한 후 20분간 반죽하고, 벨젤자동국수기를 사용하여 롤링하였으며, 최종 롤러간격 1mm에서 3회 롤링 후, 소면용 날로 절단하여 제면하였다.

생면의 조리시험은 생면 100g을 끓는 증류수 1000ml에 넣어 2분간 조리한 후 냉수에서 2분간 냉각 후 체로 건져 5분간 방치하여 탈수한 후 면의 중량을 측정하였고, 중량측정 후 면의 부피를 측정하였다.

## 21. 해송이버섯 식초 제조

해송이버섯을 이용한 양조식초는 Fig. 4의 제조공정에 따라 제조하였다. 즉, 현미추출액과 해송이버섯추출액의 혼합액에 주정을 가하고 여기에 미리 제조한 종초를 혼합액과 동량으로 첨가하여 30℃에서 통기교반하면서 초산발효시켜 제조하였으며 상온에서 2달간 정치시킨 후 살균한다음 여과하여 포장하는 공정에 따랐다.



Fig. 4. Fermenter for manufacturing vinegar

이때 종초의 제조는 현미추출액과 해송이버섯추출액 혼합액에 효모추출물, 주정, glucose 등 Table 4의 성분조성에 따라 혼합하여 멸균한 다음 초산균을 접종하여 30℃에서 통기교반하면서 5일간 초산발효시켜 제조하였다.

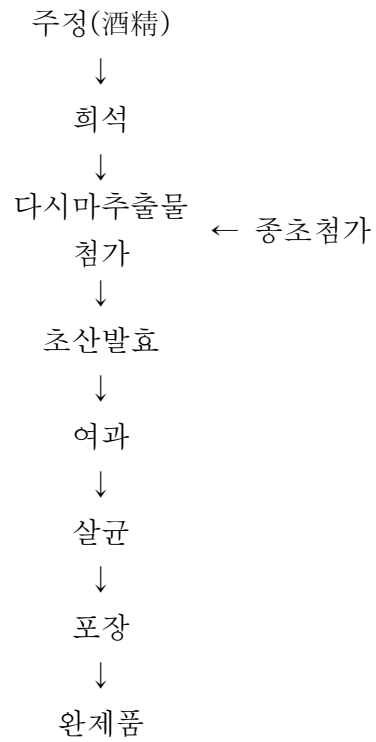


Fig 5. Diagram of manufacturing vinegar

Table 4. Composition of culture media for starter preparation

Components	Content(%)
Glucose	5
Yeast extract	0.5
Peptone	0.3
Mannitol	2.5
Ethanol	6
Acetic acid	2
현미추출액 + 해송이추출액	1000 ml

## 22. 향기성분분석

### 가. 향기성분추출

Likens and Nickerson type simultaneous steam distillation extraction(SDE)(Nilerson 1966, Schltz 1977) 장치를 사용하여 상압하에서 추출하였다. 생시료 및 건조시료를 각 100g, 20g에 1L 증류수를 3L 증류용 플라스크에 넣고, 100ml ethyl ether와 pentane 을 1:1로 섞어 100ml를 포집용 플라스크에 넣은 후 2시간동안 추출하였다. 추출액은 무수황산나트륨을 넣고 냉동실에서 하룻밤 방치한 후 0.5ml까지 질소가스하에서 농축한 후 GC/MS로 분석하였다.

### 나. GC/MS 분석

추출된 성분은 HP사의 GC/MS(HP6890/5973)를 이용하였고, 컬럼은 HP-5(30m x 0.25 mm x 0.25 $\mu$ m)를 사용하였으며, 오븐온도는 50 $^{\circ}$ C에서 5분간 유지한 후 분당 3 $^{\circ}$ C씩 220 $^{\circ}$ C까지 상승시켰으며 220 $^{\circ}$ C에서 20분간 유지하였다. 주입구 온도는 250 $^{\circ}$ C였다. 화합물 동정은 GC/MS로 얻은 mass spectrum을 Wiley 275L data base로 검색하여 동정하였다.

## 제 2절 연구결과

### 1. 해송이버섯의 생리활성 물질 의 탐색

#### 가. 유용성분의 조사 분석

##### (1) 일반성분

신품종 해송이 버섯과 만가닥 버섯을 건조하여 분말화 하여 일반성분을 분석하였고 그 결과를 Table 5에 나타내었다. 해송이 버섯의 지방과 무기질 함량이 각각 4.5%와 8.7%로 만가닥 버섯에 비하여 많았다. 그러나 단백질 과당 함량은 만가닥 버섯이 22.3%과 65.3% 로 해송이 버섯에 비하여 많은 함량을 나타냈다.

Table 5. Proximate composition of dried mushrooms

Constituents	Contents (%)	
	H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
Moisture	6.66±0.04	7.32±0.19
Crude protein	20.21±0.05 (21.65) <sup>2)</sup>	20.67±0.01 (22.30)
Crude lipid	4.17±0.02 (4.47)	3.96±0.47 (4.27)
Ash	8.12±0.10 (8.70)	7.58±0.07 (8.18)
Carbohydrate	60.84 (65.18)	60.47 (65.25)

<sup>1)</sup>H-mushroom : Haesongi mushroom

<sup>2)</sup>( ) : dry-basis contents

##### (2) 아미노산

해송이 버섯과 만가닥 버섯의 아미노산 함량을 측정한 결과를 Table 6에 나타내었다. 구성아미노산의 총 함량은 각각 10385.8mg%과 11418.3mg%로 만가닥 버섯이 많은 함량을 나타내었다. 필수 아미노산의 함량 또한 만가닥버섯이 4524.4mg%로 많은 함량을 나타냈다. 그러나 비필수 아미노산 중 arginine, asparic acid 그리고 glutamic acid의 함량은 해송이 버섯이 비교적 높았다. 다른 아미노산의 맛을 변화시키거나 강화시켜 주는 glutamic acid가 다량 함유되어 해송이 버섯의 특유한 맛을 증가시키는 것으로 생각된다 (Lee 등, 2006).

Table 6. Amino acids contents of H-mushroom and *Lyophyllum ulmarium*.

Amino acids	Contents (mg%)	
	H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
Threonine	613.47	679.28
Valine	500.20	584.81
Methionine	126.86	148.27
Isoleucine	408.41	479.00
Leucine	677.03	844.07
Phenylalanine	480.45	578.88
Lysine	1062.18	1210.04
Total essential amino acid	3868.60	4524.35
Histidine	66.89	70.36
Arginine	764.02	704.39
Aspartic acid	812.05	805.95
Glutamic acid	1899.61	1879.76
Serine	755.95	806.01
Glycine	752.13	828.75
Alanine	725.16	958.00
Proline	613.45	666.69
Tyrosine	127.90	174.06
Total non-essential amino acid	6517.16	6893.97
Total	10385.77	11418.31

<sup>1)</sup>H-mushroom : Haesongi mushroom

### (3) 무기질

해송이 버섯과 만가닥 버섯의 무기질 함량을 Table 7에 나타내었다. 해송이 버섯의 K, Cu, Mg, Mn 그리고 Zn의 함량이 만가닥 버섯의 함량보다 높았다. 또한 다른 버섯류와 비슷하게 K의 함량이 다른 무기질의 함량보다 월등히 높은 함량을 나타내었다. 이는 해송이 버섯이 우수한 무기질 공급원의 식품이 될 수 있음을 보여주고 있다.

유해한 활성산소의 생성 저해와 관련이 있는 것으로 알려진 아연, 망간, 구리 그리고 철의 함량은 해송이 버섯의 경우 14.85mg%, 만가닥버섯은 16.32mg%로 만가닥버섯이 높은 함량을 나타내었다(Lee, 2006). 그러나 이노작용을 촉진시키고 고혈압에 좋은 효과를 나타낸다고 보고된 K와 체내의 저항력강화와 골격유지 등과 관련이 있는 Mg의 함량은 해송이 버섯이 높은 함량을 나타내었다(Hwang, 1997).

Table 7. Mineral contents of H-mushroom and *Lyophyllum ulmarium*

Mineral	Contents(mg%)	
	H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
Ca	8.88	9.10
Cu	0.74	0.27
Fe	7.65	10.51
K	3158.00	2879.00
Mg	98.68	91.35
Mn	1.82	1.14
Na	6.74	10.57
Zn	4.64	4.41

<sup>1)</sup>H-mushroom : Haesongi mushroom

#### (4) 베타글루칸, 식이섬유, 환원당

해송이 버섯과 만가닥 버섯의 베타 글루칸, 식이섬유, 환원당의 함량을 Table 8에 나타내었다. 해송이 버섯의 베타 글루칸 함량은 9.15%로 만가닥 버섯의 6.05%보다 많은 함량을 나타내었다. 그리고 해송이 버섯의 환원당은 4.36%로 만가닥 버섯의 1.46%보다 높은 함량을 나타내었으나 식이섬유의 함량은 해송이 버섯이 28.75%로 만가닥 버섯의 31.34%보다 낮은 함량을 나타내었다. 해송이 버섯의 환원당은 Lee 등(2006)이 보고한 민자주방망이버섯의 0.64%보다 높은 것으로 나타났다. 또한 해송이 버섯의 식이섬유는 만가닥 버섯보다 낮은 함량을 나타내었으나 Hong등(2004)의 아위 버섯, 느타리버섯, 새송이 버섯의 식이섬유함량이 각각 17.9%, 6.7% 그리고 7.4%보다 월등히 높은 함량을 나타내었다.  $\beta$ -Glucan은 버섯류의 세포벽을 구성하면서 단백질 혹은 기타 세포벽성분과 결합한 형태로 존재한다. 이는 면역활성체의 기능, 항산화능, 생체조직 재생과 치유기능, 항생제, 항균, 항바이러스 및 대식세포를 자극하여 돌연변이 세포를 인식하고 공격하는 항종양 효과가 있다고 보고되고 있다(Nakajima 2002, Mizuno 1998 30).

식품 중에 함유된 섬유소는 체내에서 소화, 흡수되지 않아서 영양성분으로 이용되지는 않지만 지방흡수 저해, 콜레스테롤 저하작용, 당뇨, 변비, 비만 등에 좋은 영향을 미치는 것으로 알려진 이후 많은 사람의 관심을 끌고 있다(Kang, 2001).



Table 8. Contents of  $\beta$ -glucan, dietary fiber and reducing sugar in H-mushroom and *Lyophyllum ulmarium*

(dry basis, %)

Contents (% w/w)	H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
$\beta$ -glucan	9.15±0.22	6.05±1.48
Dietary fiber	30.80±6.66	34.15±7.32
Reducing sugar	4.36±0.04	1.46±0.04

#### 나. 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 유용성분 구명

##### (1) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 수율

해송이 버섯의 기능적 특성을 나타내는 유효성분을 효율적으로 추출하기 위하여 Fig. 6과 같이 건조된 해송이와 만가닥 버섯 분말시료에 각기 다른 농도의 에탄올과 10 0℃에서 4시간씩 3회 반복하여 추출한 후 그 추출액을 동결 건조하여 추출물을 제조하였다.

해송이 버섯과 만가닥 버섯의 EtOH의 농도에 따른 추출물의 수율을 Table 9에 나타내었다. 에탄올의 농도가 높아짐에 추출물의 수율이 감소하는 경향을 나타내었으며 물로 추출하였을 경우 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 수율이 각각 60.63%와 55.88%로 나타났고 95%의 에탄올로 추출하였을 경우 23.64%와 27.95%로 추출물의 제조수율이 급격히 감소함을 알 수 있었다. 이는 Kim 등(2003)이 보고한 만가닥 버섯의 추출물의 수율과 유사한 경향을 나타내었다.

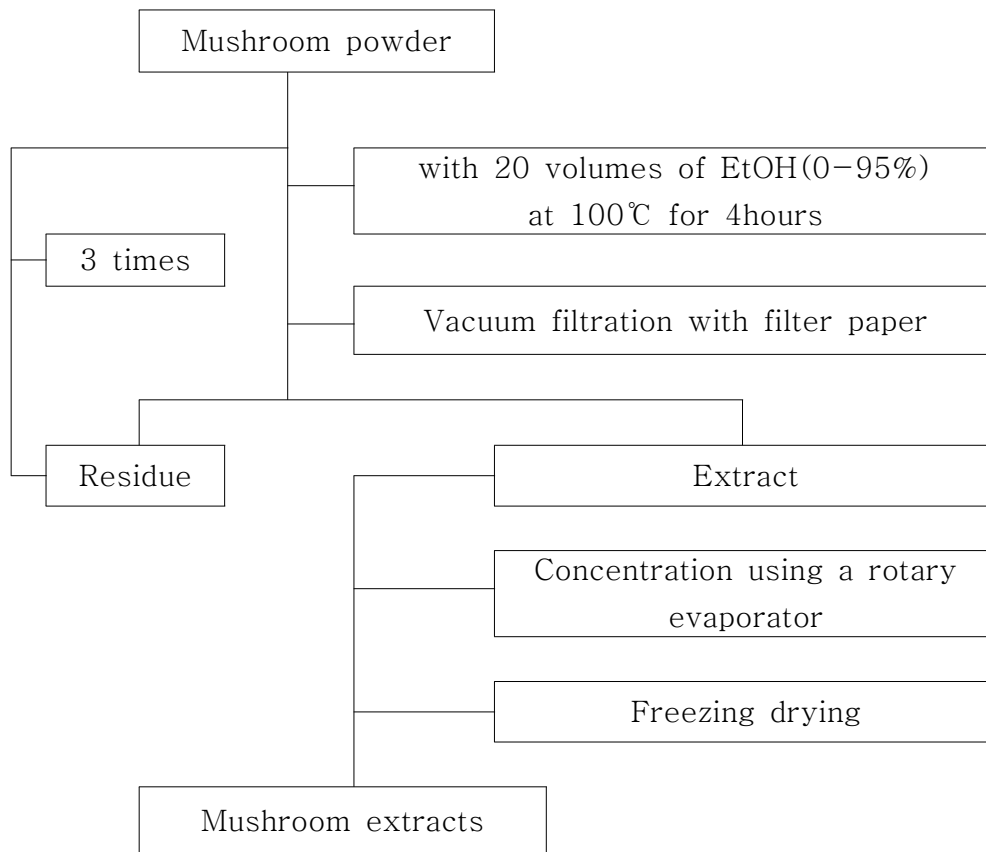


Fig. 6. Preparation of the extracts from mushrooms

Table 9. Yields of mushroom extracts by ethanol concentrations

E-OH(%)	Yield of extracts (%)	
	H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
0	60.63	55.88
25	50.48	49.07
50	48.12	46.92
75	44.37	46.16
95	23.64	27.95

<sup>1)</sup>H-mushroom : Haesongi mushroom

(2) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 당과 단백질 함량변화  
추출 용매인 에탄올의 농도에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 총당과 단백질의 함량을 Fig. 7와 Fig. 8에 나타내었다.

에탄올의 농도가 증가할수록 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 총당 함량은 각각 39.9%와 37.0%에서 36.8%와 36.3%로 감소하는 경향을 나타내었고 해송이 버섯 추출물이 만가닥 버섯 추출물보다 높은 당 함량을 나타내었다. 해송이와 만가닥 버섯의 추출물의 에탄올 농도에 따른 단백질의 함량 변화는 각각 39.9%와 37.0%에서 36.8%와 36.3%로 총당의 함량과 마찬가지로 에탄올 농도가 증가할수록 단백질의 함량이 감소하였다. 이는 해송이와 만가닥 버섯종의 단백다당체 들이 알코올에 의해 침전을 일으켜 여과 중에 제거 되었을 것으로 사료된다. 해송이 버섯 추출물의 단백질 함량 또한 만가닥 버섯 추출물보다 높은 함량을 나타냈다.

이는 에탄올을 이용하여 추출할 때 단백질성분이 효과적으로 추출되지 않았을 것으로 생각되어진다. 이러한 결과는 Bobek 등(1993)의 느타리버섯의 물추출물이 에탄올추출물의 단백질함량보다 높다고 보고한 것과 유사한 경향을 보였다

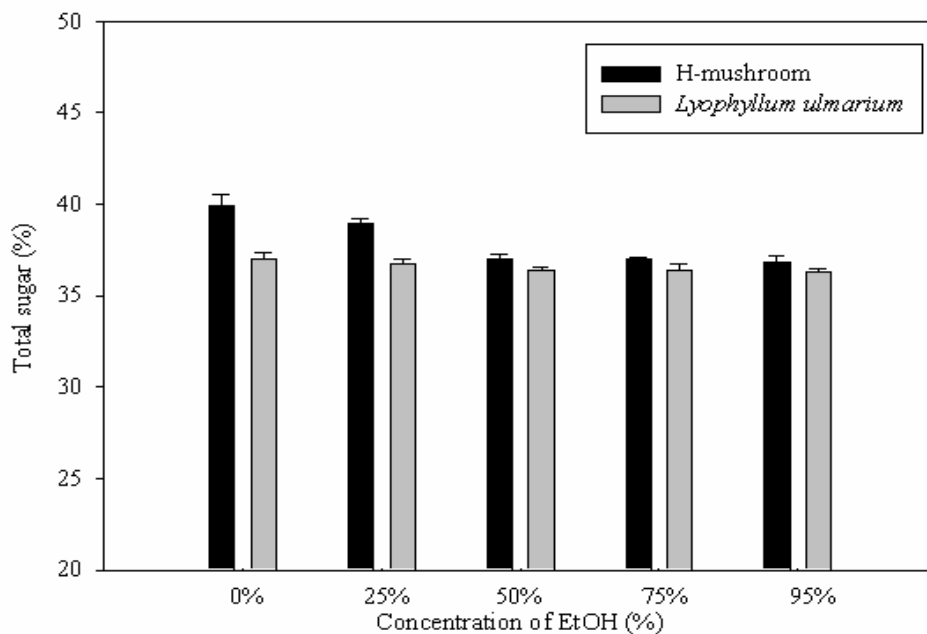


Fig. 7. Comparison of total sugar contents of mushroom extracts

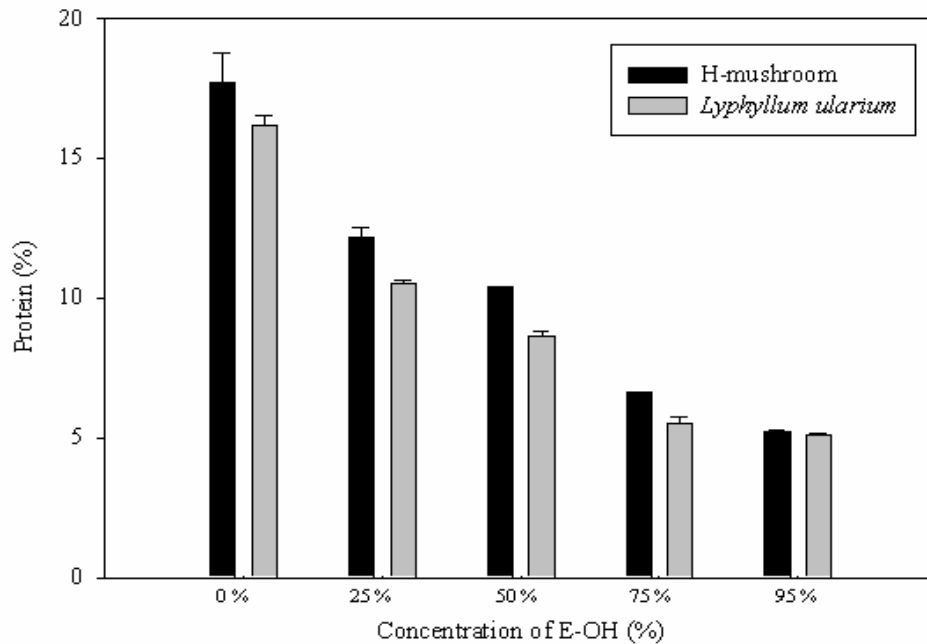


Fig. 8. Comparison of protein contents of mushroom extracts

(2) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 총 폴리페놀 함량변화

추출 용매인 에탄올의 농도에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 총 폴리페놀 함량을 Fig. 9에 나타내었다. 총 폴리페놀의 함량도 총당과 단백질의 함량변화와 마찬가지로 에탄올의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었고 해송이 버섯이 만가닥 버섯보다 전체적인 농도 범위에서 총 폴리페놀의 함량이 높음을 알 수 있었다. 이는 Kim 등(2005)의 연구에서 새송이 버섯, 팽이 버섯 그리고 만가닥 버섯의 열수 추출물이 다른 추출물에 비해 높은 값을 나타냈다는 보고와 유사하였으며, 본 실험에서 해송이 버섯의 열수 추출물에서의 총 폴리페놀 함량이 1.89%로 새송이버섯, 팽이 버섯 과 만가닥 버섯의 총 폴리페놀함량인 1.43%, 0.032~0.035% 그리고 0.15~0.29%보다 훨씬 높은 값을 보여주었다.

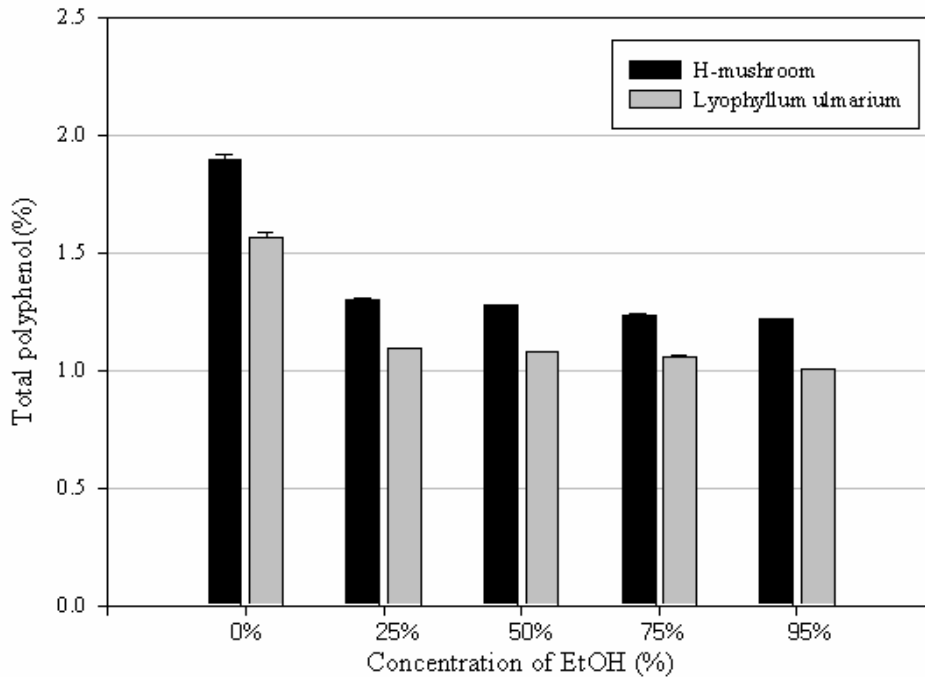


Fig. 9. Total polyphenol contents of mushroom extracts

## 2. 추출물의 *in vitro* 생리활성 효과

### 가. 추출방법에 따른 유효성분의 추출효과 및 생리활성 구명

#### (1) 항산화 효과

DPPH를 이용하여 전자공여작용을 측정하였다. DPPH는 분자 내 radical을 함유하여 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만들고 있어 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때 고유의 청남색이 옅어지는 특성을 가지고 있어 이 색차를 비색 정량하여 전자공여능력을 측정한다(Blios MS, 1958). Kang 등(1995)은 전자공여능이 phenolic acids와 flavonoid 및 기타 phenolic 물질에 대한 항산화작용의 지표라고 하였으며 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 보고한 바 있다.

Table 10은 에탄올 농도에 따른 해송이와 만가닥 버섯추출물의 전자공여능을 나타낸 것이다. 해송이 버섯은 추출용매에 상관없이 50mg/mL이상의 농도에서 모두 90%이상의 높은 활성을 나타내었으며 해송이 버섯의 열수추출물을 100mg/mL의 농도에서 96.70%로

가장 높은 활성을 나타냈다. 그러나 만가닥 버섯추출물의 전자공여능은 50mg/mL의 농도에서 47~74%로 해송이 버섯보다 낮은 활성을 나타내었으며 95%에탄올 추출물 100mg/mL의 농도에서 91.30%로 가장 높은 활성을 나타내었다.

또한 해송이 버섯은 5mg/mL의 농도에서 51~57%의 활성을 나타내었으나 만가닥 버섯추출물은 10%미만의 활성을 나타내어 해송이 버섯추출물에 비해 낮은 활성을 나타냈다.

Table 10. Comparison of electron donating ability between H-mushroom and M-mushroom

Concentration of E-OH	Concentration of sample (mg/mL)	EDA (%)	
		H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
0%	5	53.25±3.92	8.44±1.00
	10	63.10±0.93	16.17±2.30
	50	94.07±2.14	51.97±9.70
	100	96.70±0.11	83.56±1.35
25%	5	51.14±9.39	10.64±2.07
	10	62.38±0.40	13.53±0.45
	50	92.99±1.14	46.91±1.26
	100	96.11±0.05	77.06±5.10
50%	5	57.81±0.78	6.16±0.87
	10	62.72±0.73	10.78±0.83
	50	93.93±0.57	51.31±2.99
	100	96.11±0.10	81.55±1.93
75%	5	55.27±2.43	5.80±1.00
	10	63.44±0.54	11.56±0.94
	50	94.89±0.18	52.17±0.63
	100	96.41±0.04	82.20±3.15
95%	5	56.29±1.33	7.48±0.26
	10	67.64±3.03	14.52±0.42
	50	96.07±0.45	74.10±0.90
	100	94.80±0.19	91.30±0.23

<sup>1)</sup>H-mushroom : Haesongi mushroom

## (2) ACE 저해효과

고혈압 발생기작에서 renin-angiotensin system은 혈압조절에 매우 중요한 역할을 한다. 특히 ACE는 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I로부터 C-말단의 dipeptide를 가수 분해시켜 혈관수축 작용을 하는 octapeptide인 angiotensin II를 합

성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다. 생성된 angiotensin II는 부신피질에서 알도스테론의 분비를 촉진하여 물과 나트륨의 배설을 억제하며, 혈관 이완작용을 가진 nonapeptide인 bradykinin을 억제시킴으로써 결과적으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다. 따라서 ACE 작용억제는 혈관수축을 막고 체내 수분저류를 막아 혈압을 낮추는 효과를 나타낸다(Cushman DW, 1980).

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 ACE 저해활성을 Fig. 10와 Fig. 11에 나타내었다. 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 열수추출물이 각각의 다른 농도의 에탄올 추출물보다 높은 활성을 나타냈다. 만가닥 버섯추출물의 경우 열수추출을 하였을 경우 에탄올을 이용하여 추출하였을 때 보다 높은 활성을 나타내었다. 이는 버섯에서 ACE 저해활성을 나타내는 물질은 대부분 peptide나 단백질 가수분해물이 물로 용출되었기 때문에 다른 용매 추출물보다 ACE 저해활성이 높다고 사료된다(Rhyu MR, 1996).

해송이 버섯의 열수추출물은 40mg/mL이상의 농도에서 90%이상의 활성을 나타냈다. 만가닥 버섯의 경우 열수추출물을 제외한 나머지 처리구에서 40mg/mL의 농도에서도 50%이하의 낮은 활성을 나타냈다. 반면 해송이 버섯은 모든 처리구에서 30mg/mL의 농도에서 50%이상의 높은 활성을 보였으며 열수추출물의 경우 10mg/mL에서도 50%이상의 높은 활성을 나타내었다.

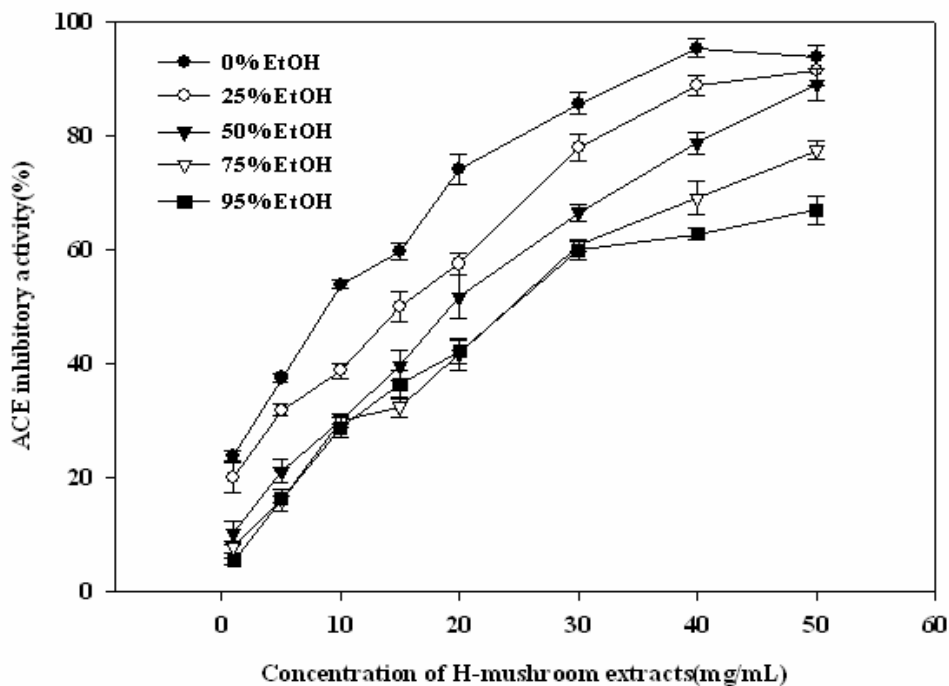


Fig. 10. ACE inhibitory activity of Haesongi mushroom extracts.

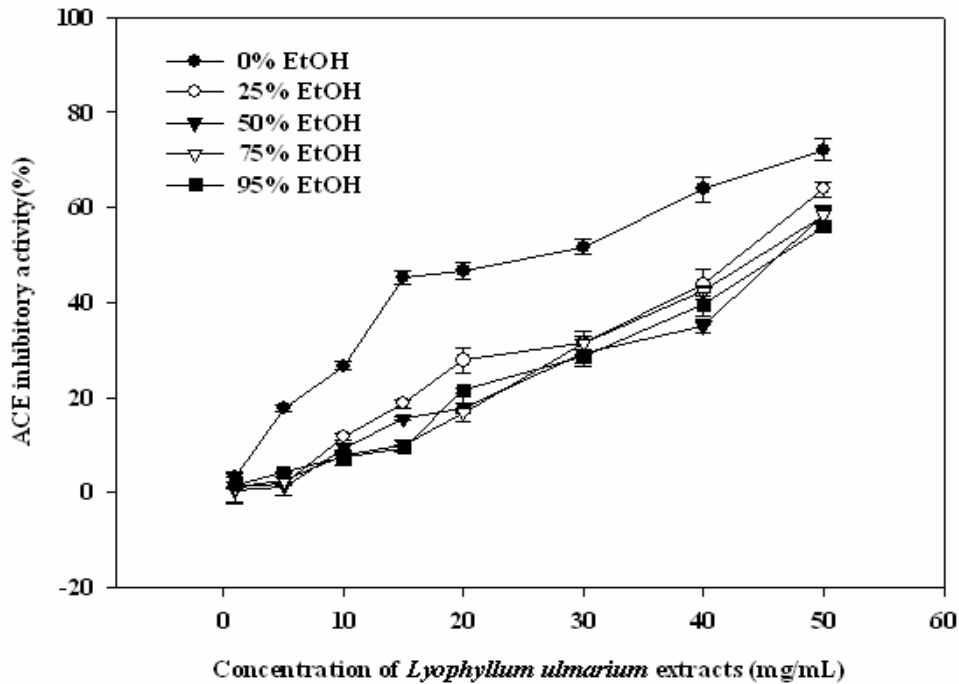


Fig. 11. ACE inhibitory activity of *Lyophyllum ulmarium* extracts

(3) 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 암세포 증식 억제 효과

(가) AGS에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 위암세포인 AGS에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포 독성을 실험한 결과를 Table 11에 나타내었다. 모든 처리구의 해송이 버섯추출물은 1mg/mL의 농도 이상에서 50%이상의 증식 억제효과를 나타냈다. 그러나 만가닥 버섯추출물은 5mg/mL의 농도 이상에서 50%이상의 증식 억제효과를 나타냈다. 또한 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물 모두 추출액 알코올의 농도가 높아질수록 증식 억제효과가 떨어지는 것으로 나타났다. 해송이 버섯의 열수추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 10mg/mL의 농도에서 90%이상의 높은 증식억제효과를 보였다. Song 등(2003a, 2003b))은 능이버섯 추출물과 찔레영지버섯의 경우 위암세포주 AGS에 대한 성장억제효과는 1 mg/mL의 농도에서 68.5%와 50%미만으로 보고하였는데 이는 해송이버섯 물추출물 1 mg/mL의 농도에서 AGS에 대한 성장억제효과가 70.30%로 능이버섯추출물과 찔레영지버섯 추출물보다 높은 효과를 보이는 것으로 나타났다.



Table 11. Inhibitory effects of extracts from mushrooms on the growth of cancer cell, AGS

Concentration of EtOH	Concentration of sample(mg/mL)	Growth inhibition rate(%)	
		H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
0%	10	90.61±0.69	84.68±1.48
	5	82.44±0.69	73.42±1.66
	1	70.30±1.81	45.23±2.48
	0.5	49.67±4.56	14.37±8.01
25%	10	90.71±3.75	81.50±1.41
	5	83.33±2.84	71.40±5.45
	1	65.50±3.90	39.94±3.13
	0.5	45.53±6.11	10.39±3.22
50%	10	85.55±5.86	76.88±1.36
	5	80.20±3.48	66.00±5.14
	1	61.90±3.92	32.87±2.29
	0.5	41.77±11.08	8.96±2.38
75%	10	83.13±5.79	74.10±2.24
	5	77.67±3.79	62.90±1.66
	1	55.54±3.08	30.00±3.66
	0.5	33.26±7.66	6.62±3.09
95%	10	81.97±2.24	72.46±2.96
	5	74.05±3.76	61.02±4.56
	1	54.62±6.23	25.65±3.43
	0.5	29.74±6.69	9.00±4.70

<sup>1)</sup>H-mushroom : Hae-song-i mushroom

(나) HepG2에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 간암세포인 HepG2에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과를 Table 12에 나타내었다. 해송이 버섯의 열수 추출물과 25%에탄올추출물의 경우 5mg/mL의 농도에서 50%이상의 증식억제효과를 나타냈으며 에탄올의 농도가 증가함에 따라 증식억제효과가 감소하는 경향을 보였으나 95% 에탄올에서는 증식 억제율이 증가하였다. 그러나 만가닥 버섯추출물의 경우 10mg/mL의 농도에서 에탄올의 농도가 증가함에 따라 증식억제효과가 비례적으로 증가하였으나 95% 에탄올 농도에서는 감소하여 해송이 버섯과 상이한 결과를 나타냈다. 추출물의 0.5mg/mL농도에서는 해송이 버섯의 열수추출물을 제외한 나머지 처리 구에서 모두 10%미만의 낮은 증식억제효과를 나타냈다.

Table 12. Inhibitory effects of extracts from mushrooms on the growth of cancer cell, HepG2

Concentration of EtOH	Concentration of sample(mg/mL)	Growth inhibition rate(%)	
		H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
0%	10	75.43±7.79	64.01±4.84
	5	66.17±5.21	46.76±5.57
	1	39.00±6.43	23.77±4.77
	0.5	16.08±4.49	5.36±3.00
25%	10	71.11±8.83	64.81±4.03
	5	52.38±5.91	54.93±5.01
	1	33.37±4.48	19.60±6.28
	0.5	6.50±3.90	3.47±1.24
50%	10	68.45±8.28	66.84±8.19
	5	45.54±6.07	46.59±3.37
	1	29.69±7.84	14.72±5.72
	0.5	6.21±3.24	1.76±3.35
75%	10	66.42±6.88	69.96±6.71
	5	41.05±6.09	46.02±7.23
	1	27.83±6.35	11.69±3.50
	0.5	3.06±1.94	2.78±2.52
95%	10	73.07±8.79	67.84±6.32
	5	49.65±5.71	52.19±6.00
	1	28.44±4.93	10.15±4.03
	0.5	4.39±2.65	1.90±2.72

<sup>1)</sup>H-mushroom : Hae-song-i mushroom

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 1mg/mL의 농도에서의 세포증식억제효과는 각각 27.8~39.0%와 10.15~23.77% 였다. Xu 등(2007)은 각기 다른 용매로 추출하여 HepG2에 대한 세포독성효과를 보았을 때 물분획에서 가장 낮은 세포독성효과를 나타내었는데 이는 메탄올로 추출한 후 분리하였기 때문에 본 실험결과와 차이를 나타낸 것으로 생각된다. 한편, 띠미로버섯(*Datronia dickinsii*)의 열수추출물에 대한 HepG2 암세포저해효과가 1 mg/mL의 농도에서 42%인 것으로 보고한 Yang 등(1997)의 결과와 함께 까치버섯(*Polyozellus multiplex*)의 열수추출물은 57.1%, 메탄올추출물은 48.2%, 장수버섯(*Formitella fraxinea*)의 메탄올추출물은 66%의 암세포성장저해를 나타내었다는 결과와 비교할 때(Yoon등 1998, Kim등 2000), 해송이버섯추출물이 낮은 암세포성장저해를 나타내는 것으로 분석되었다.

(다) SW480에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 결장암 세포인 SW480에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과를 Table 13에 나타내었다. 해송이 버섯의 열수추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 10mg/mL의 농도에서 50%이상의 세포 증식억제효과를 나타냈으며 나머지 처리구는 50%미만의 낮은 세포증식억제효과를 나타냈다. 반면 만가닥 버섯의 열수추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 5mg/mL이상의 농도에서 50%이상의 세포증식억제효과를 나타내어 SW480에 대한 세포증식억제효과는 만가닥 버섯의 추출물이 높은 경향을 나타내었다.

Table 13. Inhibitory effects of extracts from mushrooms on the growth of cancer cell, SW480

Concentration of EtOH	Concentration of sample(mg/mL)	Growth inhibition rate(%)	
		H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
0%	10	54.49±4.67	73.36±5.64
	5	49.88±6.52	62.11±6.79
	1	25.77±5.61	47.90±6.03
	0.5	7.41±4.78	34.31±6.32
25%	10	50.32±4.13	67.41±4.00
	5	42.42±4.33	59.11±3.17
	1	20.89±6.03	46.31±7.25
	0.5	4.92±1.79	34.40±6.30
50%	10	34.60±6.36	60.96±2.32
	5	30.03±2.91	67.18±5.57
	1	17.55±5.40	39.63±7.08
	0.5	3.58±3.63	29.05±7.48
75%	10	29.87±3.86	41.34±9.08
	5	23.23±3.86	31.35±4.49
	1	12.72±7.98	32.55±3.10
	0.5	4.39±2.05	23.92±9.13
95%	10	25.71±4.06	30.04±5.86
	5	20.89±7.32	23.84±6.12
	1	8.53±4.41	4.88±7.47
	0.5	4.54±2.03	2.73±9.54

<sup>1)</sup>H-mushroom : Hae-song-i mushroom

또한 SW480에 대해서도 마찬가지로 에탄올의 농도가 증가할수록 모든 처리구에서 낮은 세포증식억제효과를 나타냄을 알 수 있었다. Mizuno 등(1998)은 아가리쿠스버섯 유래 단백다당류에 있어서 단백질은 활성에 필수적이라고 보고하였는데 해송이버섯 물추추출물

의 경우 에탄올추출물에 비하여 높은 단백질을 포함하고 있어 높은 암세포 성장억제효과를 보였을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 세 가지 종류의 암세포주에 대한 성장억제효과를 측정하여 추출용매에 따른 해송이버섯의 항암효과에 접근하였으나 항암효과의 기전과 그 효과에 대한 보다 과학적인 접근이 이루어져야 할 것이다.

#### (나) HeLa에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 자궁암세포인 HeLa에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과를 Table 14에 나타내었다. 해송이 버섯의 열수 추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 5mg/mL이상의 농도에서 50%이상의 증식억제효과를 나타냈으며 나머지 처리구에서는 모두 50%이하의 증식억제효과를 나타냈다. 또한 열수 추출물을 제외한 나머지 처리구의 0.5mg/mL의 농도에서 10%미만의 낮은 증식억제효과를 나타냈다. 만가닥 버섯의 경우 모든처리구에서 10%이상의 증식억제효과를 나타내었으며 0%~50%에탄올 추출물의 경우 5mg/mL이상의 농도에서 50%이상의 증식억제효과를 나타냈다.

자궁암 세포인 HeLa에 대해서 SW480과 마찬가지로 만가닥 버섯의 추출물이 더 낮은 효과를 나타냈다.

Table 14. Inhibitory effects of extracts from mushrooms on the growth of cancer cell, HeLa

Concentration of EtOH	Concentration of sample(mg/mL)	Growth inhibition rate(%)	
		H-mushroom <sup>1)</sup>	<i>Lyophyllum ulmarium</i>
0%	10	61.48±3.33	70.09±4.55
	5	54.40±6.10	63.25±2.36
	1	44.84±4.01	48.70±4.56
	0.5	19.00±6.06	37.06±6.38
25%	10	56.85±4.81	63.22±3.99
	5	50.49±5.13	58.60±4.92
	1	42.58±5.87	39.47±9.97
	0.5	7.11±5.52	33.92±4.36
50%	10	37.58±7.44	60.41±2.59
	5	33.38±7.42	56.66±5.33
	1	26.15±10.69	26.75±5.51
	0.5	5.15±3.18	28.19±6.45
75%	10	30.50±5.72	41.10±8.52
	5	24.94±3.53	30.82±5.09
	1	20.41±4.25	21.94±4.65
	0.5	8.48±3.90	13.56±5.31
95%	10	27.33±5.80	38.47±5.86
	5	24.27±8.19	27.38±6.90
	1	17.42±5.78	17.93±4.84
	0.5	3.95±1.95	10.78±4.57

<sup>1)</sup>H-mushroom : Hae-song-i mushroom

#### (4) 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 항당뇨 효과

##### (가) 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 α-glucosidase inhibitory

에탄올 농도에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물을 각각의 0.7U/mL의 α-glucosidase에 대한 저해 효과를 5mM p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside 를 기질로 하여 측정하였을 때의 결과를 Fig. 12과 Fig. 13에 나타내었다. 해송이 버섯의 열수 추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 0.5mg/mL의 농도에서 50%이상의 α-glucosidase에 대한 저해 효과를 나타냈으며 1mg/mL의 농도 이상에서는 모든 처리구에서 70%이상의 저해 효과를 나타내었다. 그러나 0.05mg/mL의 농도 이하에서는 10%미만의 저해 효과를 나타내었다.

만가닥 버섯추출물의 경우 1.0mg/mL의 농도에서 0-75% 에탄올 추출물의 경우 50%이상의  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해 효과를 나타내었으나 95%에탄올 추출물의 경우 43.9%로 50%보다 낮은 저해 효과를 나타냈다.

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해효과는 에탄올의 농도가 증가함에 따라 저해효과가 떨어지는 경향을 나타냈으며 해송이 버섯의 추출물이 만가닥 버섯의 추출물보다  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해효과가 높게 나타났다. Ganoderan A, B 와 *Ganoderma lucidum* 추출한 글루칸 그리고 *Trametes versicolor*에서 추출한  $\beta$ -glucan-단백질 복합물은 혈당강하 효과가 있다 하였다.(Hikino 2006, Ikuzawa 1985)Maji 등(2007)은 식용작물 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 저해효과와 폴리페놀의 함량 사이에 밀접한 관련이 있다고 보고하였다.

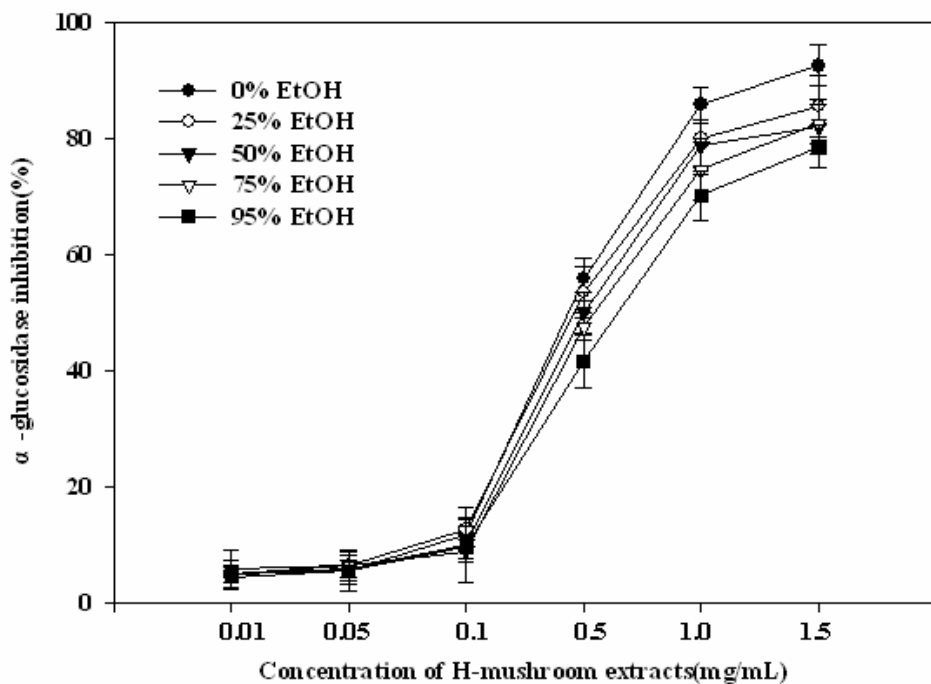


Fig. 12. Effect of graded concentrations of Haesongi mushroom extracts on  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities.

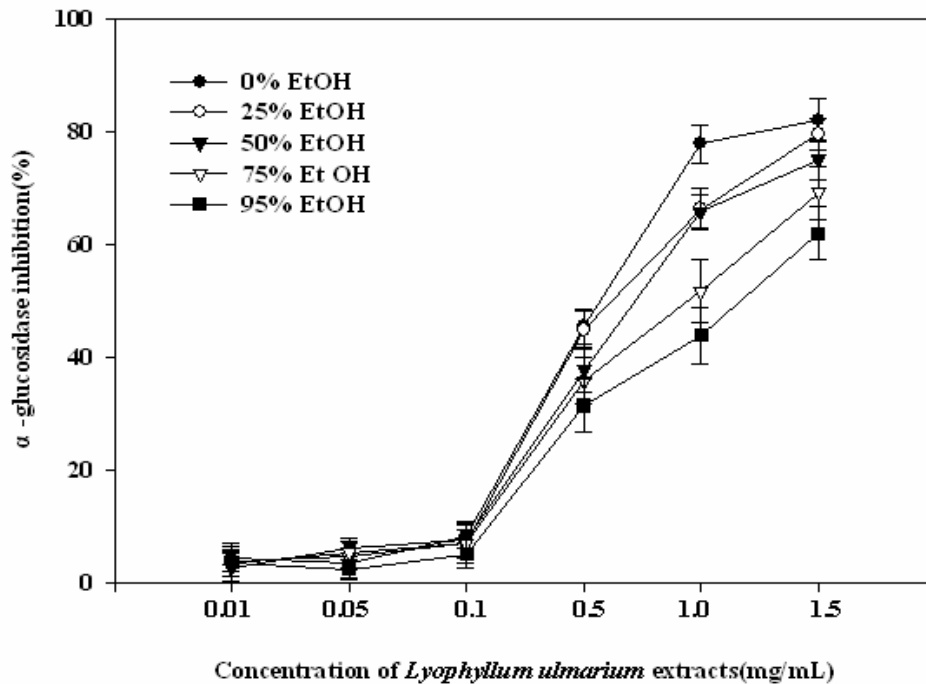


Fig. 13. Effect of graded concentrations of *Lyophyllum ulmarium* extracts on  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities.

(나) 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의  $\alpha$ -amylase inhibitory

에탄올 농도에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물을 각각의 1.0U/mL의  $\alpha$ -amylase에 대한 저해 효과를 1% 전분용액을 기질로 하여 측정하였을 때의 결과를 Fig. 14과 Fig. 15에 나타내었다. 해송이 버섯의 열수추출물, 25% 그리고 50%에탄올 추출물의 경우 0.1mg/mL에서 50%이상의  $\alpha$ -amylase 저해효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 75%에탄올 추출물의 경우 1.0mg/mL 농도에서 50%이상의  $\alpha$ -amylase 저해효과가 나타났고 95%에탄올 추출물의 경우는 1.0mg/mL 농도에서 47.5%의  $\alpha$ -amylase 저해효과를 나타냈다.

또한 75%와 95%에탄올 농도일때  $\alpha$ -amylase 저해효과가 0-50%에탄올 농도에 비하여 낮음을 알 수 있었다.

만가닥 버섯의 열수추출물과 25%에탄올 추출물이 0.5mg/mL의 농도에서 각각 64.30%와 57.76%의  $\alpha$ -amylase 저해효과가 나타났으며 0.1mg/mL의 농도에서는 열수추출물과 25%에탄올 추출물을 제외하고 모두 10%미만의 낮은  $\alpha$ -amylase 저해효과를 나타냈다. 만가닥 버섯추출물의 경우 해송이 버섯추출물과 달리 50%-95%에탄올 농도일때  $\alpha$

$\alpha$ -amylase의 저해효과가 0%와 25%에탄올 농도에 비해 낮은 경향을 보였다.

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의  $\alpha$ -amylase에 대한 저해효과가  $\alpha$ -glucosidase의 저해효과와 마찬가지로 에탄올의 농도가 증가함에 따라 감소함을 알 수 있었고 해송이 버섯추출물이 만가닥 버섯추출물보다 높은  $\alpha$ -amylase 저해효과가 있는 것으로 나타났다. Apostolidis 등(2006) 수용성 페놀물질의 함량이 증가할수록  $\alpha$ -amylase 저해효과가 증가한다고 보고하였다.

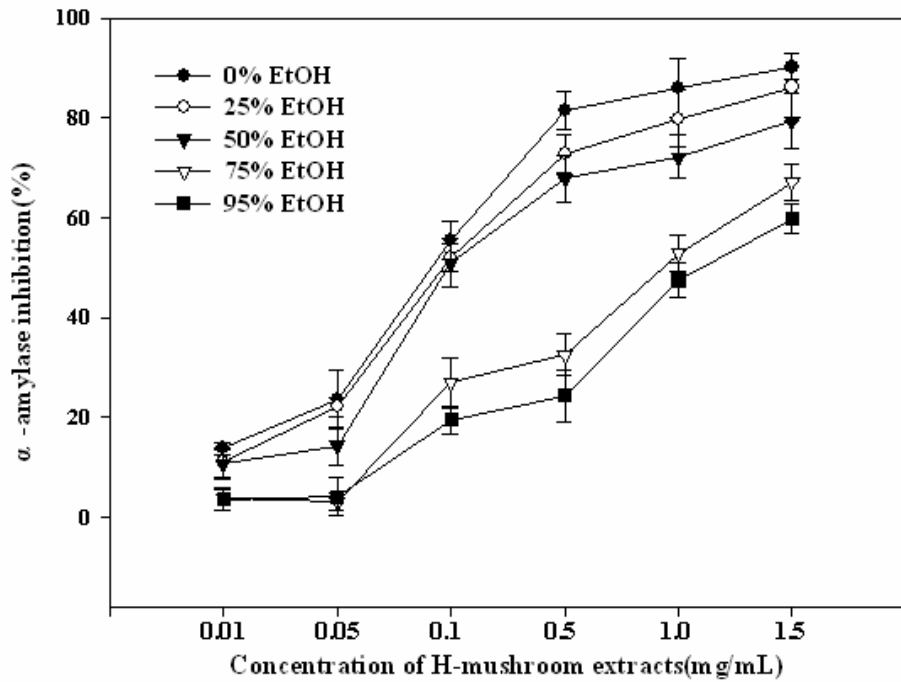


Fig. 14. Effect of graded concentrations of Haesongi mushroom extracts on  $\alpha$ -amylase inhibitory activities.



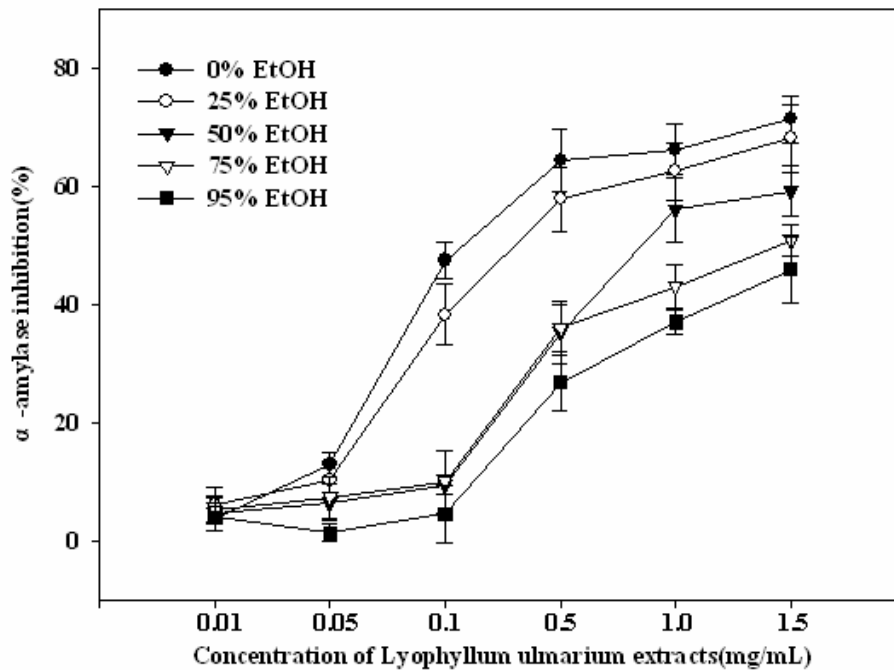


Fig. 15. Effect of graded concentrations of *Lyophyllum ulmarium* extracts on  $\alpha$ -amylase inhibitory activities.

(5) 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 항비만 효과

해송이 버섯과 만가닥 버섯의 에탄올 농도에 따른 추출물을 이용하여 전구지방 세포인 3T3-L1 cell을 이용하여 지방세포의 증식억제효과를 조사하였다. Fig. 16는 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 3T3-L1 세포를 이용하여 항비만 효과를 알아본 것으로 해송이 버섯과 만가닥 버섯 모두 추출용매인 에탄올의 농도가 높아질수록 3T3-L1 cell의 지방세포분화 및 억제 능이 떨어지는 것으로 나타났다. 증류수로 추출하였을 경우 해송이와 만가닥 버섯의 항비만 효과는 각각 63.76%와 71.93%로 나타나 가장 높은 효과를 보였다. 또한 만가닥 버섯이 해송이 버섯보다 높은 항비만 효과를 나타내었다. 50%에탄올 농도까지는 항비만 효과가 완만한 감소를 보였으나 50%이상의 농도에서는 항비만 효과가 급격히 떨어지는 것을 알 수있었다.

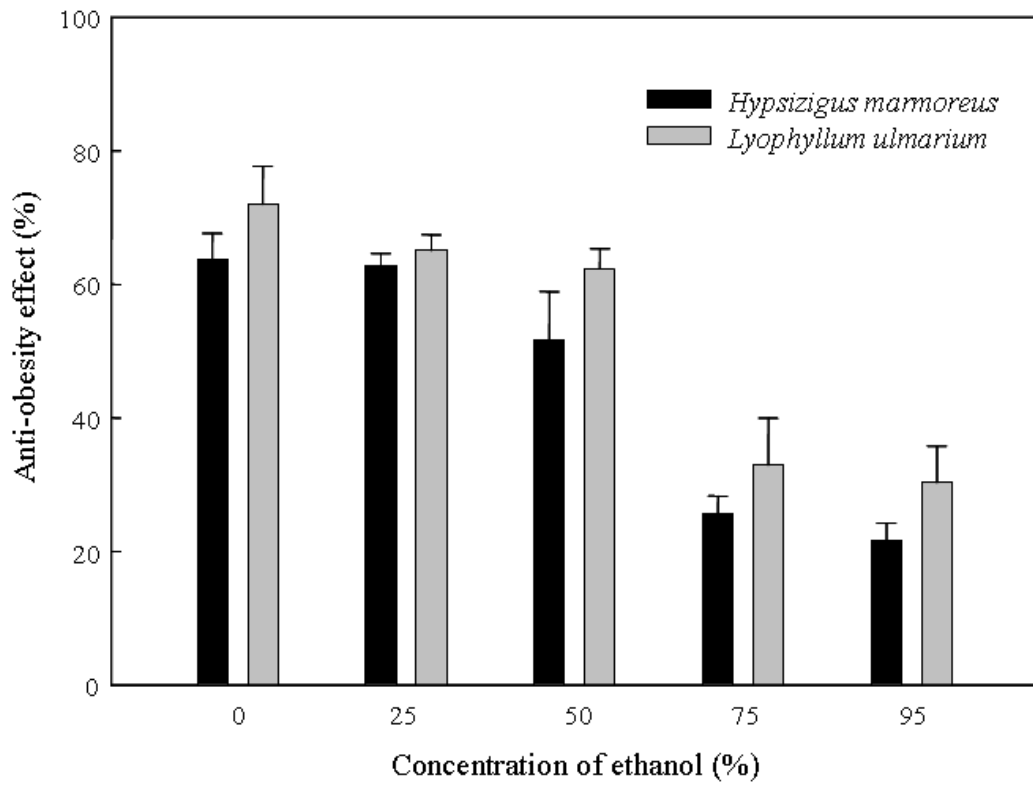


Fig. 16. Comparison of anti-obesity effect of two mushrooms

### 3. 생리활성 물질의 최적 추출공정 설정

#### 가. 기능성분의 추출 최적화

##### (1) 실험적합도 측정

실험결과를 이용하여 통계프로그램인 Minitab으로 1차항과 2차항 그리고 교차항의 t-statistic 과 각각의 coefficients를 구하였다 (Table 15). Y1의 X2, X3와 X2X2가 p value가 0.05이하로 통계적으로 상관관계가 높은 것으로 나타났다. 그러나 Y2의 모든 이차항은 p value가 0.05이하로 높은 상관관계를 갖고 있음을 알 수 있었으며 모든 교차항은 통계적으로 상관관계가 없는 것으로 나타났다. Y3에서 X1X3를 제외한 모든 교차항의 상관관계가 높은 것으로 나타났으며 X2와 X3X3를 제외한 1차항과 2차항의 모든 상관관계가 높은 것으로 나타났다.

실험설계의 적합도는 Table 16에 나타내었으며 모든 종속변수에 대한 R2값이 90%이상과 p value가 0.01보다 낮았으며 이는 선택되어진 독립변수가 실험에 적합한 설계였다고 할 수 있다.

Table 15. Estimated coefficients of the fitted quadratic polynomial equation for different response based on t-statistic

	$Y_1$		$Y_2$		$Y_3$	
	Coefficient	P-value	Coefficient	P-value	Coefficient	P-value
Intercept	58.4250	0.001	1.81430	0.001	21.4949	0.001
$X_1$	- 1.6785	0.062	- 0.13989	0.001	0.6856	0.005
$X_2$	3.4644	0.003	0.09685	0.002	0.1605	0.372
$X_3$	3.9993	0.001	0.07585	0.007	0.5631	0.012
$X_1X_1$	- 1.6162	0.093	- 0.12294	0.001	- 0.9648	0.001
$X_2X_2$	- 3.4877	0.004	- 0.14946	0.001	- 0.6325	0.011
$X_3X_3$	- 1.5114	0.112	- 0.07344	0.013	0.1648	0.404
$X_1X_2$	0.1400	0.891	- 0.01000	0.714	0.2250	0.341
$X_1X_3$	- 0.0200	0.984	- 0.03500	0.223	0.6100	0.028
$X_2X_3$	2.2200	0.059	0.01750	0.526	- 0.0850	0.711

Table 16. Response surface model for extracting condition of functional component from *H.marmoreus*

Responses	Quadratic polynomial model	$R^2$	P-value
$Y_1$	$Y_1 = 58.4250 - 1.6785X_1 + 3.4644X_2 + 3.9993X_3 - 1.6162X_1X_1 - 3.4877X_2X_2$	0.917	0.005
$Y_2$	$Y_2 = 1.81430 - 0.13989X_2 + 0.09685X_2 + 0.07585X_3 - 0.12294X_1X_1 - 0.14946X_2X_2 - 0.07344X_3X_3$	0.955	0.001
$Y_3$	$Y_3 = 21.4949 + 0.6856X_1 + 0.5631X_3 - 0.9648X_1X_1 - 0.6325X_2X_2 + 0.6100X_1X_3$	0.918	0.001

### (2) 실험결과 해석

Table 17은 각각의 종속변수에 대한 실험식과 반응표면분석의 ANOVA 검정을 나타낸 것이다. 1차항과 2차항 그리고 total regression model은 p value가 0.05이하로 통계적으로 높은 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 그러나 모든 종속변수의 lack of fit test에서 p value는 0.060, 0.055, 그리고 0.460으로 나타나 상관도가 떨어지는 것으로 나타났다. 또한 모든 종속변수의 Cross-product term 역시 p value가 높게 나타나 상관도가 없는 것으로 나타났다. 따라서 각각의 독립변수에 대한 1차항과 2차항이 기능성분을 추출하는데 있어 높은 영향을 미치는 것으로 사료되어진다.

### (3) 최적 추출조건

추출온도(70°C), 추출시간(9hr), 추출용매비가 기능성분의 추출최적화를 위한 중심합성계획법의 독립변수로 선택되었으며 각각의 독립변수의 실제값들은 선행실험을 통해 확립되었다. 항산화작용이 있는 것으로 알려진 총폴리페놀함량과 항암효과에 뛰어난 효과가 있는 것으로 알려진  $\beta$ -글루칸 함량과 추출수율은 종속변수로 선택되었다. 각각의 종속변수에 대한 최적 추출조건에서의 예상 값은 추출수율 55.99%, 총폴리페놀함량 1.81%,  $\beta$ -글루칸함량 22.00%로 나왔다. 또한 다중반응최적화에 의하여 산출되어진 각각의 독립변수는  $X_1=71.57^\circ\text{C}$ ,  $X_2=11.31$  hr, 그리고  $X_3=51.58$ 로 산출되었다(Table 18).

Table 17. Analysis of variance (ANOVA) for response of dependent variables (Y1,Y2, and Y3)

Response	Sources	DF <sub>1)</sub>	SS <sup>2)</sup>	MS <sup>3)</sup>	F-value	P-value
$Y_1$	Model	9	603.39	67.04	8.60	0.005
	Linear	3	420.82	140.27	18.00	0.001
	Quadratic	3	142.98	47.66	6.11	0.023
	Cross-product	3	39.59	13.20	1.69	0.255
	Residual	7	54.57	7.80	–	–
	Lack of fit	5	53.24	10.65	16.07	0.060
	Pure error	2	1.33	0.66	–	–
	Total	16	657.96	–	–	–
$Y_2$	Model	9	$817.14 \times 10^{-3}$	$90.79 \times 10^{-3}$	16.53	0.001
	Linear	3	$473.94 \times 10^{-3}$	$157.98 \times 10^{-3}$	28.77	0.001
	Quadratic	3	$330.16 \times 10^{-3}$	$110.05 \times 10^{-3}$	20.04	0.001
	Cross-product	3	$13.05 \times 10^{-3}$	$4.35 \times 10^{-3}$	0.79	0.536
	Residual	7	$38.44 \times 10^{-3}$	$5.49 \times 10^{-3}$	–	–
	Lack of fit	5	$37.58 \times 10^{-3}$	$7.52 \times 10^{-3}$	17.34	0.055
	Pure error	2	$0.87 \times 10^{-3}$	$0.43 \times 10^{-3}$	–	–
	Total	16	$855.59 \times 10^{-3}$	–	–	–
$Y_3$	Model	9	30.17	3.35	8.65	0.005
	Linear	3	11.10	3.70	9.55	0.007
	Quadratic	3	15.63	5.21	13.45	0.003
	Cross-product	3	3.44	1.15	2.96	0.107
	Residual	7	2.71	0.39	–	–
	Lack of fit	5	2.12	0.42	1.43	0.460
	Pure error	2	0.59	0.30	–	–
	Total	16	32.89	–	–	–

Table 18. Optimal conditions of functional component extraction from *H.marmoreus*

Dependent variables	Independent variables	Critical value		Predicted value	Stationary point
		Coded	Uncoded		
Y1 (Extraction yield)	X1	-1.564	42.1	55.99	Maximum
	X2	1.561	13.4		
	X3	1.682	60		
Y2 (Total phenolic content)	X1	0	70	1.81	Maximum
	X2	0	9		
	X3	0	40		
Y3 (Beta-glucan content)	X1	1.641	99.27	22.00	
	X2	1.621	13.82		
	X3	1.640	59.5		
Average of Y1, Y2, and Y3	X1	0.026	70.46		
	X2	1.061	12.15		
	X3	1.107	53.16		
Multiple response optimization	X1	0.088	71.57		
	X2	0.776	11.31		
	X3	0.974	51.58		

(4) 각각독립변수간의 Response surface plots

하나의 독립변수를 최적값으로 고정시킨 후 두 독립변수간의 상관관계를 Maple 을 이용하여 3D surface plot으로 나타내었다. (Fig. 17)

Fig. 15A는 종속변수 Y1에 대한 독립변수의 상관관계를 나타낸 그래프로 X3가 code 값 -1.68에 가까워질수록 낮아지며 code value 1.68에 가까워질수록 Y1의 값이 커지는 것으로 나타났다. 또한 X1과 X2가 center point에 가까워질수록 높은 Y1값을 나타내었다. Y2에 대한 각각의 두 독립변수의 상관관계를 Fig. 3B에 그래프로 나타내었다. 모든 독립변수가 center point에 가까워질수록 높은 Y2의 값을 나타내었다.

Y2에 대한 X1과 X3의 상관관계에서 X3가 center point와 code value 1.68의 사이에서

최대의 Y2 값을 나타내었으나 code value 1.68에 가까워졌을 경우 다시 감소하는 경향을 나타내었다. 그러나 X1의 경우 center point와 code value -1.68의 사이에서 최대의 Y2 값을 나타내었으나 code value -1.68에 가까워졌을 경우 다시 감소하는 경향을 나타내었다(Fig 15B-2).

Fig 15C는 Y3에 대한 각각의 두 독립변수간의 상관관계를 나타낸 것으로 X3의 값이 code value 1.68에 가까워질수록 높은 값을 나타내는 것으로 나타났으며 X1과 X1의 경우 center point에 가까워질수록 높은 Y3 값을 나타내었다.

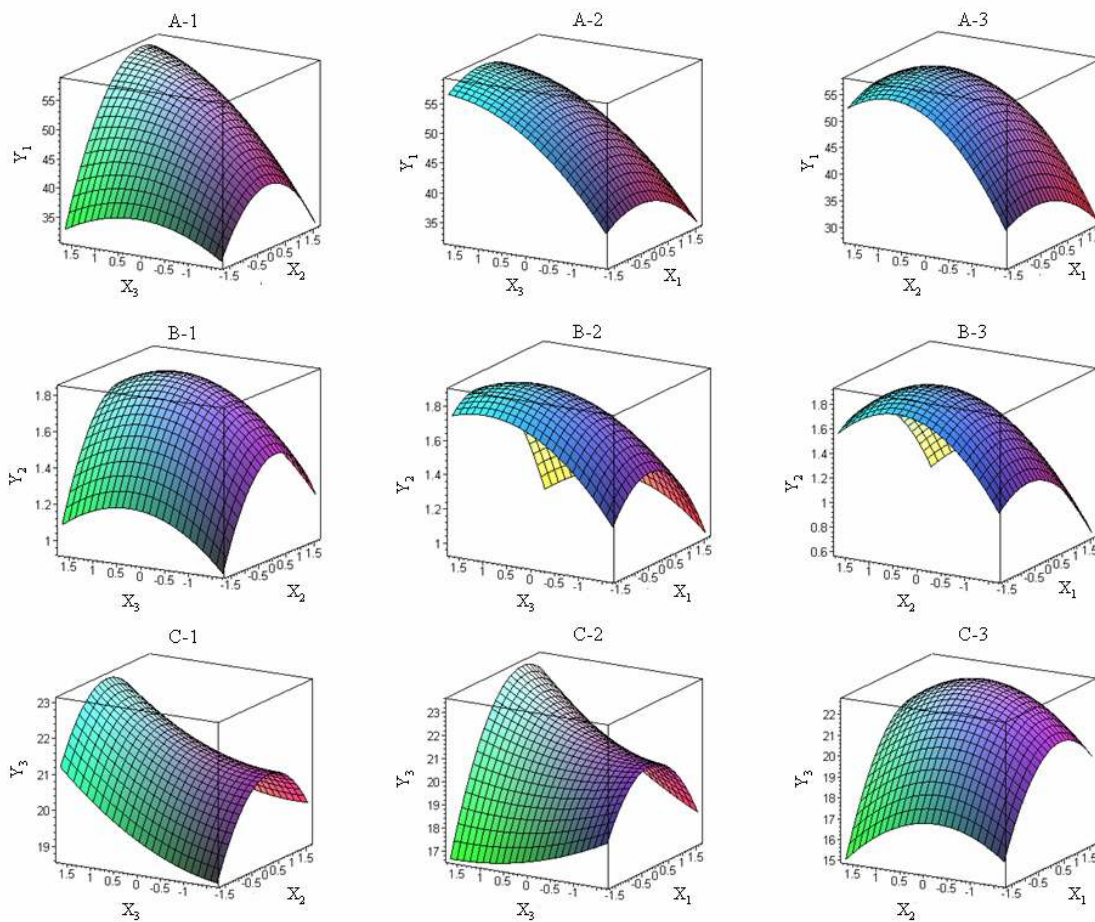


Fig. 17. Response surface plots for optimization of functional component extraction from *H.marmoreus*

X1 (extraction temperature, °C), X2 (extraction time, hr), and X3(extraction solvent ratio), Y1 (extraction yield, %), Y2 (phenolic compounds content, %), and Y3(beta-glucan content).

#### (5) 예상 최적추출조건

다중반응최적화에 의해 확립된 각각의 독립변수에서 추출되어진 각각의 종속변수의 예상값과 실험값을 Table 19에 나타내었다. 예상 종속변수는 추출수율( $Y_1$ )은 57%, 총폴리페놀함량( $Y_2$ )은 1.80%,  $\beta$ -글루칸 함량은 22.00%로 나타났으며 최적화된 독립변수에서 추출되어진 추출물의 실제값은 추출수율 61.21%, 총폴리페놀 함량 1.72%, 그리고  $\beta$ -글루칸 함량 22.40%로 나타났으며 예상값과 실제값이 비슷한 값을 나타내어 적합한 실험설계였다고 할 수 있다. 추출수율과  $\beta$ -글루칸의 함량은 예상값보다 실제값이 더 높은 값을 나타내었으며 총폴리페놀함량은 실제값이 예상값보다 낮은 함량을 나타내었다.

Table 19. Experimental and predicted results of verification under optimized conditions.

Dependent variables	Predicted value	Experimental value
$Y_1$ (extraction yield)	57.00	61.21 $\pm$ 3.86
$Y_2$ (phenolic compounds content)	1.80	1.72 $\pm$ 0.03
$Y_3$ (beta-glucan content)	22.00	22.40 $\pm$ 0.55

#### 나. 최적추출물의 분리와 분획별 분자량

해송이 버섯의 최적 추출물(SE)을 알코올 침전한 후 저분자물질을 제거하여 COE를 회수하였다. 현재 버섯 및 미생물 배양 등에서 단백다당류를 분리하는 방법으로 열수로 추출한 다음 에탄올로 침전시키는 방법이 주로 이용되고 있으며, 얻어진 침전물이 항암효과를 가지는 단백다당류로 일반적으로 인정되고 있다(Cho 1995, Park 1992) Fig. 18은 COE를 음이온 교환수지인 DEAE-Sephacell이 충전된 칼럼을 이용하여 증류수 분획의 중성다당체 (NP)와 2M-NaCl 분획의 산성다당체 (AP)로 분리한 것을 나타낸 것이다. 산성다당체와 중성다당체 모두 단백질과 결합되진 단백다당체인 것으로 사료되어진다. 또한 NP와 AP의 분자량 각각 25 kDa 과 21kDa로 GPC를 이용하여 구하였다. 일반적으로 버섯의 저분자 물질은 에탄올 침전과정에서 제거 되는 것으로 알려져 있어 NP와 AP가 모두 20kDa 이상의 고분자 물질인 것으로 나타났다. Mizuno(1996)는 버섯의 저분자 물질들은 주로 에탄올 처리에 의해 제거된다고 보고하였다.



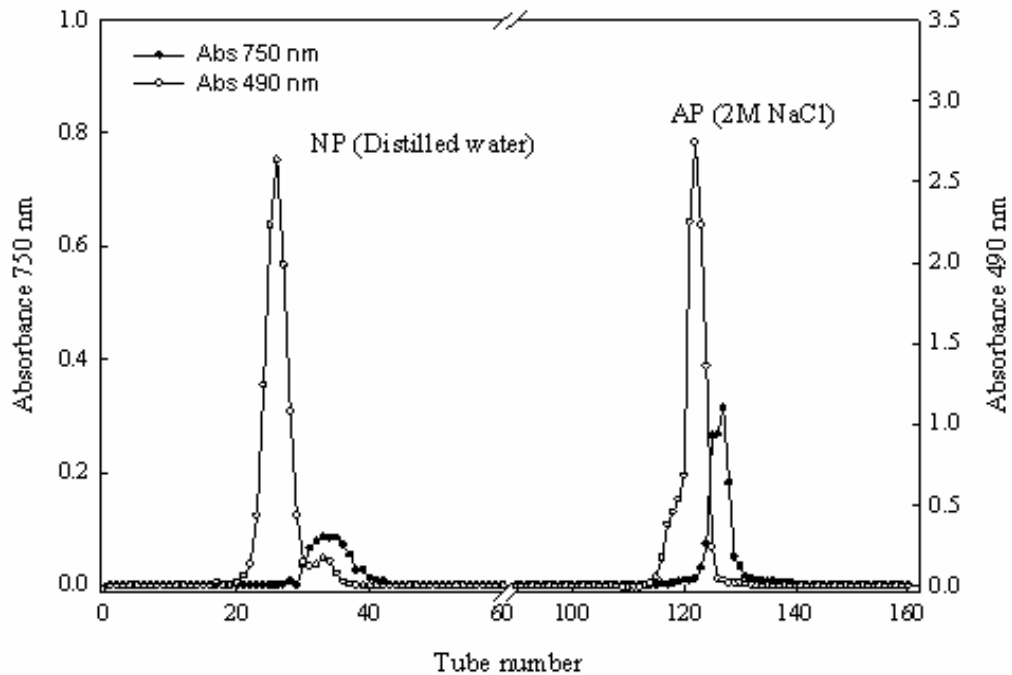


Fig. 18. Ion exchange chromatography of cut off extracts (MWCO 12,000) derived from fruiting body of *H. marmoreus* on DEAE-Sephacell column ( $3 \times 45$  cm). The column was eluted with distilled water and 2M-NaCl solution.

#### 다. 단당류 조성

Table 20은 각각의 분획별 단당류를 분석한 것이다. SE와 COE는 glucose, galactose, mannose, ribose, fucose, 그리고 rhamnose로 구성되었으며 AP와 NP는 glucose, galactose, mannose, fucose, rhamnose로 구성되었다. COE의 주구성당은 glucose, galactose, mannose, 그리고 fucose이 있으며 AP의 주구성당은 glucose, galactose이 었다. 그리고 NP의 주요 구성당은 galactose, mannose, 그리고 fucose 이었다. COE의 glucose 함량이 가장 높았으며 galactose의 함량은 NP의 것이 가장 높았다. 또한 fucose의 경우 COE와 NP의 경우 각각 9.61%와 10.58%로 높았으나 SE와 AP의 경우 2%미만으로 낮은 함량을 나타내었다.

Table 20. Monosaccharides composition of extracts and each fraction of from *H.marmoreus* extracts

Monosaccharides	Contents of monosaccharides (%)			
	SE	COE	AP	NP
Glucose	4.30±1.96 <sup>a</sup>	25.90±3.68 <sup>a</sup>	16.50±1.30 <sup>a</sup>	3.25±0.22 <sup>d</sup>
Galactose	1.43±0.91 <sup>b</sup>	24.31±5.64 <sup>a</sup>	10.19±0.29 <sup>b</sup>	29.46±0.85 <sup>a</sup>
Mannose	3.33±0.79 <sup>a</sup>	10.56±1.76 <sup>b</sup>	4.99±0.27 <sup>c</sup>	13.09±0.47 <sup>b</sup>
Ribose	0.13±0.06 <sup>b</sup>	0.31±0.04 <sup>c</sup>	—	—
Fucose	0.15±0.06 <sup>b</sup>	9.61±1.06 <sup>b</sup>	3.24±0.13 <sup>d</sup>	10.58±0.47 <sup>c</sup>
Rhamnose	0.02±0.03 <sup>b</sup>	1.85±0.62 <sup>c</sup>	1.11±0.06 <sup>e</sup>	1.24±0.03 <sup>e</sup>

#### 라. 기능성분 함량

$\beta$ -글루칸, 총폴리페놀함량, 당, 그리고 단백질 함량을 Table 21에 나타내었다. 다른 분획에 비하여 COE의  $\beta$ -글루칸 함량이 22.20%로 가장 높은 것으로 나타났으며 NP의  $\beta$ -글루칸 함량이 가장 낮은 것으로 나타났다. 버섯에 들어있는  $\beta$ -글루칸은 생리기능성과 연관이 있는 것으로 알려져 있다(Manzi 등 2000, Wasser 2002). SE의 총폴리페놀 함량은 1.94%로 다른 분획에 비하여 가장 높은 함량을 나타내었다. 총폴리페놀 함량은 항산화 효과에 좋은 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다. 따라서 SE는 다른 분획에 비하여 높은 항산화 효과를 나타낼 것으로 사료되어지며 추출물의 분리가 일어날수록 총폴리페놀함량이 감소하는 것으로 나타났다. 이는 페놀화합물들의 분자량이 12Da보다 작아 투석단계에서 제거 되었을 것으로 사료되어 진다.

COE와 NP의 당 함량은 57.05%와 57.49%로 높게 나타났으며 COE의 단백질함량은 26.92%로 다른 분획에 비하여 가장 높게 나타났다. 일반적으로 단백질이 결합된 다당체가 더 효과적으로 생리적 활성을 나타내는 것으로 알려져 있어 COE가 다른 분획에 비하여 높은 생리적 특성을 나타낸 것으로 사료되어진다. Choi 등이 보고한 아가리쿠스 버섯에서 추출 분리한 다당체들의 성분비와 당의 함량은 비슷한 경향을 보였으며, ASP의 단백질 함량이 높은 것은 이온크로마토그래피 충전물인 DEAE Sephacell resin이 추출물의 단백질을 대부분 흡착시키기 때문인 것으로 생각된다(Choi 2000)

Table 21.  $\beta$ -Glucan, phenolic compound, protein, sugar contents of each fraction from *H. marmoreus* extracts.

Each Fraction	Content (%)			
	Beta-glucan	Phenolic compound	Sugar	Protein
SE	20.86 $\pm$ 0.67 <sup>b</sup>	1.94 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	47.73 $\pm$ 1.17 <sup>b</sup>	15.74 $\pm$ 1.09 <sup>c</sup>
COE	22.20 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	1.77 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	57.05 $\pm$ 2.05 <sup>a</sup>	26.92 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>
AP	20.44 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	1.13 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	40.44 $\pm$ 0.82 <sup>c</sup>	12.55 $\pm$ 0.77 <sup>d</sup>
NP	16.60 $\pm$ 0.52 <sup>c</sup>	0.49 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	57.49 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>	18.47 $\pm$ 1.56 <sup>b</sup>

#### 마. 생리적 특성

##### (1) DPPH 라디칼 소거 효과

해송이 버섯 추출물의 분획별 항산화 효과를 알아본 결과를 Fig. 19에 나타내었다.

모든 분획이 농도가 증가할수록 전자공여능이 증가하는 경향을 나타내었다. SE가 다른 분획에 비하여 가장 높은 전자공여능 효과를 나타내었다.

30 mg/mL의 농도에서 SE, COE, AP, 그리고 NP의 DPPH 라디칼 소거효과가 각각 66.2%, 39.0%, 16.8% 그리고 21.8%로 나타났다. 40-60 mg/mL의 농도에서 SE, COE, AP와 NP의 전자공여능이 각각 79.1-79.6%, 46.1-56.1%, 그리고 25.3-36.1%로 세 가지 경향의 전자공여능 효과를 나타내었다. 선행된 연구 결과에 의하면 단백질과 다당체들의 항산화 효과를 보면 높은 단백질함량은 높은 항산화효과를 나타내는 것으로 연구되었으며 Choi등(2005)의 연구결과에 의하면 총 폴리페놀함량이 늘어날수록 DPPH 라디칼 소거효과가 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 SE의 높은 단백질 함량과 총 폴리페놀함량은 DPPH 라디칼 소거효과에 영향을 주었을 것으로 사료된다.

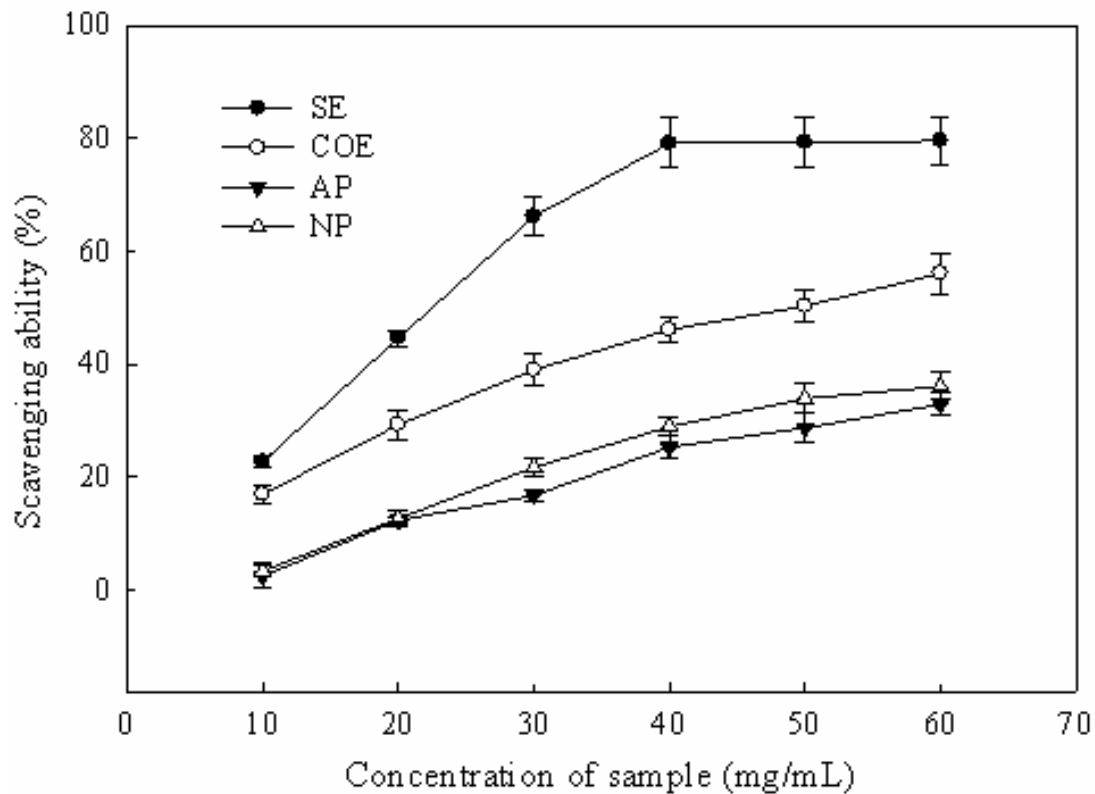


Fig. 19. Scavenging activities (%) on DPPH radicals of each fraction from *H.marmoreus*

## (2) ACE 저해활성

해송이버섯의 분획별 ACE 저해활성을 Fig. 20에 나타내었다. 모든 분획이 농도가 증가 할수록 저해활성이 커지는 것으로 나타났다. SP의 ACE 저해활성이 94.76%로 가장 높게 나타났으며 NP (77.73%), COE (60.26%) 그리고 SE (47.16%) 순으로 나타났다. AP와 COE의 경우 15 mg/mL의 농도까지 농도의존성 증가를 보인 그 이후 농도에서는 완만한 증가를 나타내었다. SE의 경우 가장 낮은 ACE 저해활성을 나타내었다.

Lee 등(2004)은 연구한 결과 저분자물질이 제거된 왕송이 버섯의 열수 추출물이 ACE 저해제로 효과적인 것으로 보고하였다. 따라서 본 연구에서 저분자물질이 제거되지 않은 SE가 가장 낮은 ACE 저해효과를 나타낸 것으로 사료되어진다.

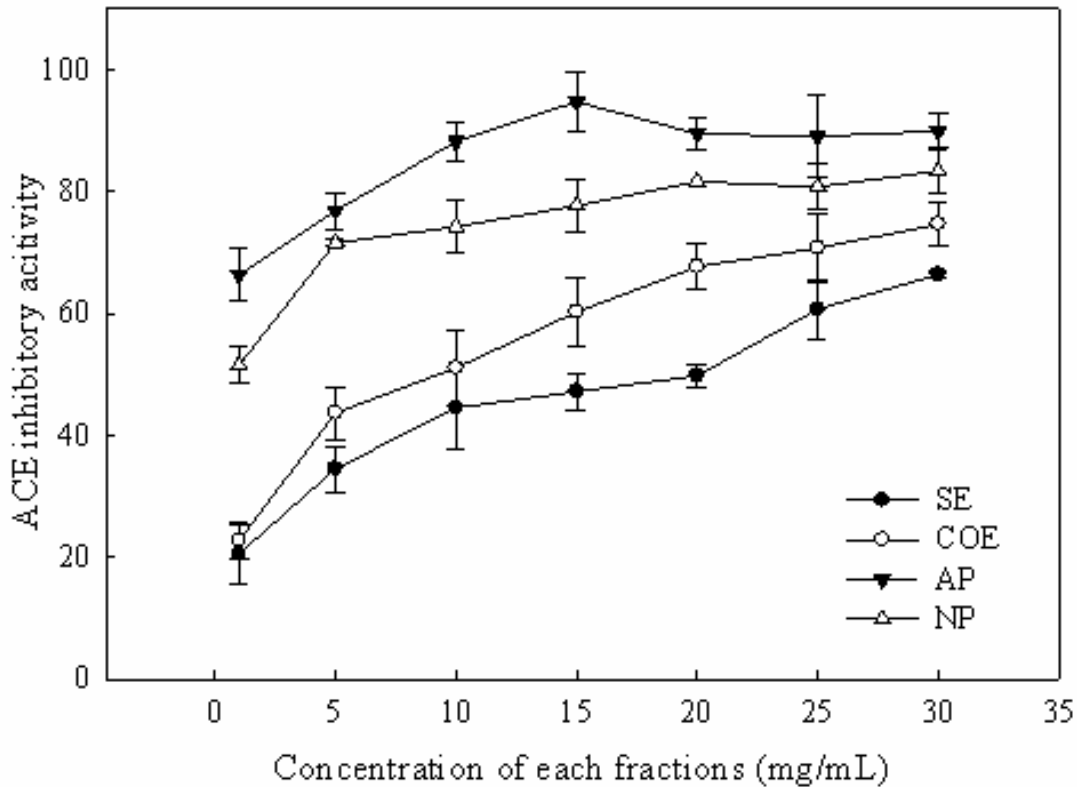


Fig. 20 ACE inhibitory activities of each fraction from *H. marmoreus*

(3)  $\alpha$ -amylase, glucosidase 저해 활성

해송이버섯 추출물의 분획물의 농도에 변화에 의한  $\alpha$ -amylase와 glucosidase 저해활성을 Fig. 21과 22에 나타내었다. 30 mg/mL의 농도에서 COE의  $\alpha$ -amylase 저해활성은 68.20%로 다른 분획에 비하여 가장 높게 나타났으며 AP와 NP의  $\alpha$ -amylase 저해활성의 경우 27.98%와 33.09%로 낮은 활성을 나타내었다. SE와 COE의 경우 25mg/mL의 농도까지 완만한 증가를 보인 후 그 이상의 농도에서 급격한 저해활성을 나타내는 것으로 나타났다.

Fig. 8은  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 나타낸 것으로 모든 분획이 농도가 증가할수록 저해활성이 커지는 것으로 나타났다. COE는 2.5mg/mL의 농도에서  $\alpha$ -amylase 저해활성이 76.13%로 가장 높게 나타났으며 SE와 COE는 67.76%와 76.12%로 AP와 NP의 23.48%와 30.33%보다 높게 나타났다. Kim 등(2005)은 아가리쿠스버섯의  $\beta$ -글루칸과 올리고당은 당뇨병에 항당뇨효과를 나타내는 것으로 보고하였다. 또한 허브의 폴리페놀화합물들은  $\alpha$ -amylase와 glucosidase의 저해활성에 영향을 주는 것으로 보고하였다. 따라서 COE이 높은  $\beta$ -글루칸과 총폴리페놀함량이  $\alpha$ -amylase와 glucosidase 저해활성에 영향을 주었을

것으로 사료되어진다.

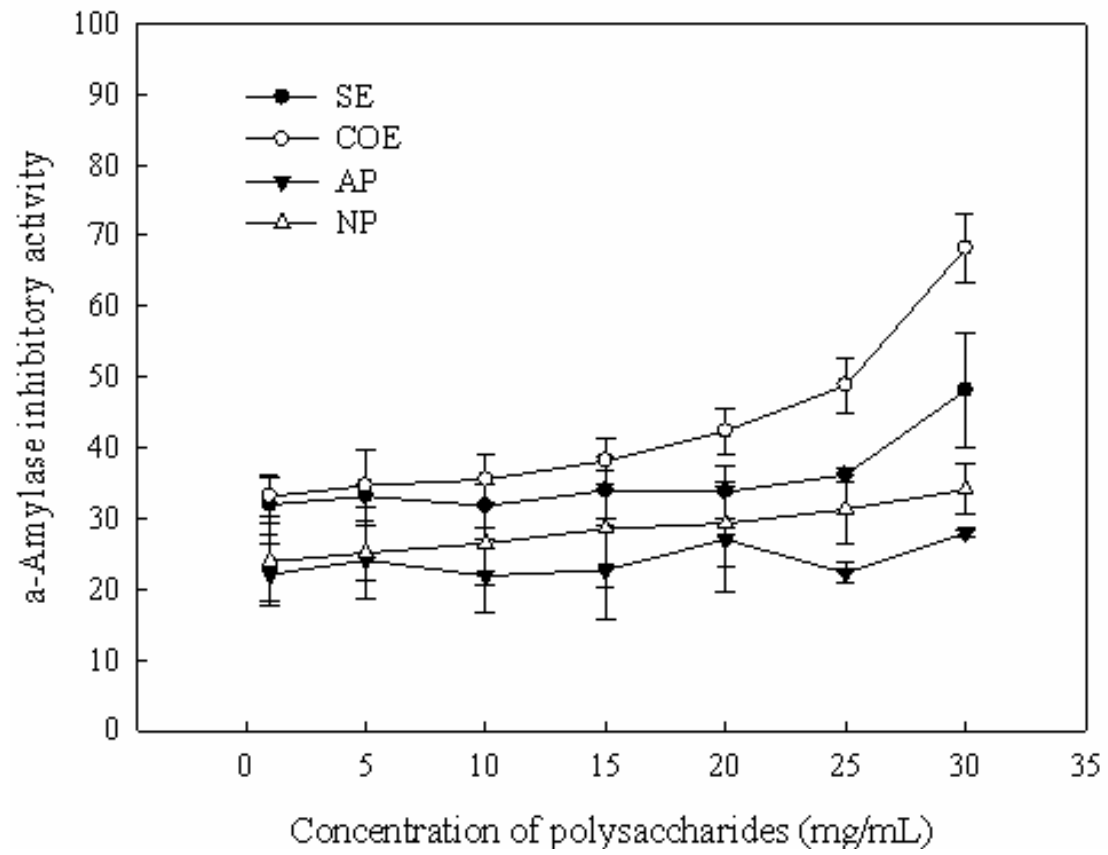


Fig. 21.  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of each fraction from *H.marmoreus*

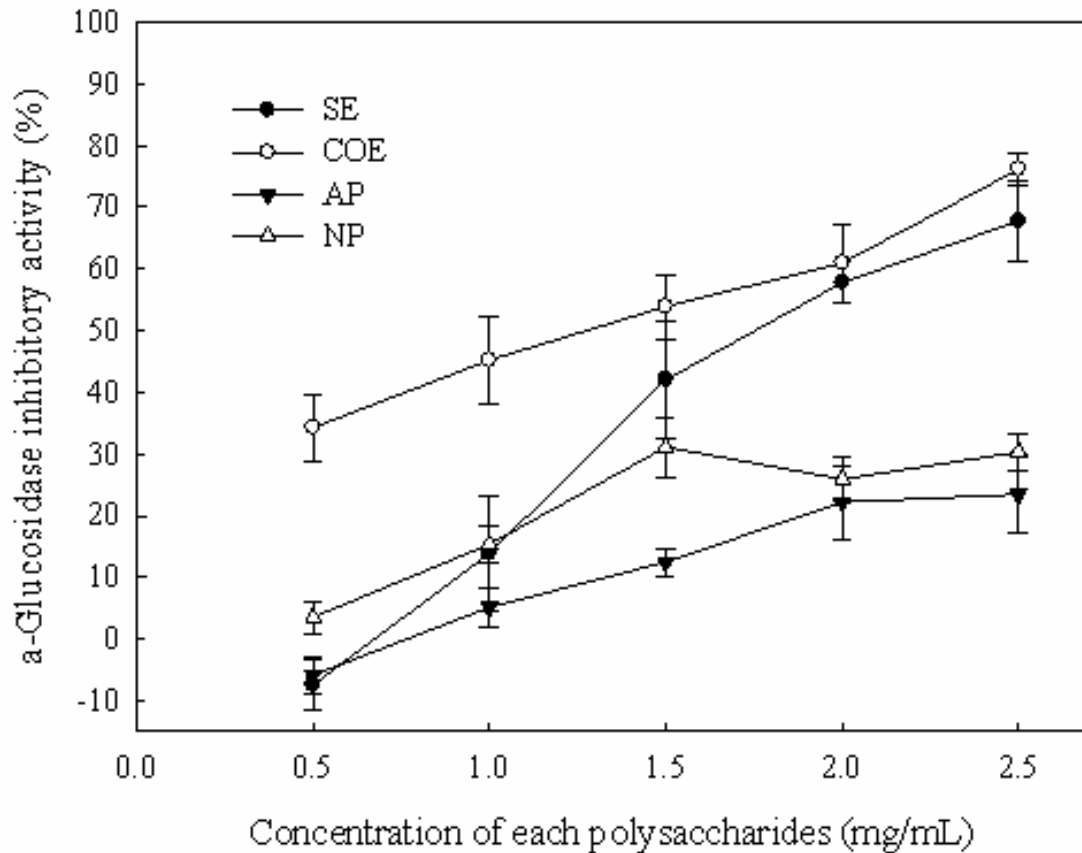


Fig. 22.  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of each fraction from *H.marmoreus*

#### (4) 세포독성

Table 22은 해송이버섯추출물의 분획별 인체유래 암세포주인 AGS, HepG2, 그리고 SW480에 대한 항암효과를 MTT 법으로 실험한 결과를 나타낸 것이다.

COE는 0.5mg/mL의 농도에서 간암 세포주인 HepG2에 82.45%의 가장 높은 세포독성효과를 나타내었다. Wasser(2002)는 버섯중의  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-글루칸들은 다양한 생리적 특성이 있는 것으로 보고하였으며 이러한 다당체들은 분자구조의 끝에 glucose가  $\alpha$ 와  $\beta$  결합을 하고 있어 다양한 기작으로 항암효과를 나타낸다고 보고하였다. 또한 고분자의 다당체들이 저분자의 다당체들보다 높은 항암효과를 나타낸다고 보고하였다. COE는 높은  $\beta$ -글루칸 함량과 단백질 함량을 나타내었으며 또한 저분자물질이 제거되었기 때문에 HepG2에 높은 세포독성효과를 나타낸 것으로 사료되어진다.

위암세포주인 AGS 에대한 NP, SE, COE 그리고 AP의 세포독성효과는 각각 73.97, 54.23, 52.07, 그리고 31.88%로 나타났다. 대장암세포주인 SW480에 대한 세포독성효과는 모든 분획에서 20%미만으로 효과가 없는 것으로 나타났다.

Chun 등(2001)은 아가리쿠스버섯 열수추출물에 대한 간암 세포주 성장저해 활성 측정에서 농도가 증가함에 따라 암세포 손상정도가 증가한다고 보고하였는데 본 연구결과와 유사하였다. 반면, 결장암세포주 SW480에서는 모든 분획의 시료들이 0.5 mg/mL의 농도에서도 모두 20%미만의 세포증식억제효과를 나타내어 해송이버섯 추출물이 SW480 cell에는 세포증식억제효과가 없는 것으로 생각된다.

Table 22. Cytotoxicity of each fraction from *H.marmoreus* extracts for human cancer cells.

C e l l lines	Fractions	Concentration of extracts (mg/mL)		
		0.05	0.1	0.5
AGS	SE	3.89 ± 9.94 <sup>a</sup>	5.51 ± 11.83 <sup>b</sup>	52.07 ± 5.01 <sup>b</sup>
	COE	17.23 ± 11.60 <sup>a</sup>	23.99 ± 8.01 <sup>a</sup>	54.23 ± 4.79 <sup>b</sup>
	AP	4.04 ± 3.94 <sup>a</sup>	11.48 ± 9.99 <sup>b</sup>	31.88 ± 6.17 <sup>c</sup>
	NP	19.54 ± 26.97 <sup>a</sup>	25.92 ± 8.05 <sup>a</sup>	73.97 ± 8.29 <sup>a</sup>
HepG2	SE	0.59 ± 7.39 <sup>b</sup>	14.57 ± 14.78 <sup>c</sup>	21.51 ± 10.77 <sup>c</sup>
	COE	48.19 ± 11.82 <sup>a</sup>	77.42 ± 5.88 <sup>a</sup>	82.45 ± 5.74 <sup>a</sup>
	AP	1.31 ± 8.31 <sup>b</sup>	30.40 ± 10.17 <sup>b</sup>	49.71 ± 6.05 <sup>b</sup>
	NP	5.87 ± 4.44 <sup>b</sup>	26.10 ± 12.48 <sup>bc</sup>	43.73 ± 6.58 <sup>b</sup>
SW480	SE	0.34 ± 4.34 <sup>a</sup>	- 2.76 ± 3.01 <sup>b</sup>	3.10 ± 4.69 <sup>b</sup>
	COE	2.44 ± 5.25 <sup>a</sup>	3.67 ± 6.70 <sup>ab</sup>	18.55 ± 4.47 <sup>a</sup>
	AP	2.74 ± 2.16 <sup>a</sup>	9.41 ± 8.34 <sup>a</sup>	15.16 ± 5.74 <sup>a</sup>
	NP	2.07 ± 2.96 <sup>a</sup>	5.14 ± 4.75 <sup>a</sup>	4.61 ± 5.82 <sup>a</sup>

#### (5) 항비만 효과

Fig. 23A는 3T3-L1 세포에 각각의 분획물이 지방구생성에 미치는 효과를 알아보기 위해 3T3-L1 세포에 MDI 처리를 한 후 광학현미경을 이용하여 측정한 사진이다. Positive control은 MDI 처리 후 MDI cocktail로 배양한 것이며 negative control은 MDI 처리 후 10% calf serum이 포함된 DMEM 배지를 이용하여 배양한 것이며 시료 처리구는 시료 0.05mg/mL 농도의 DMEM 배지를 이용하였다. COE의 경우 negative control과 비슷하게 지방구의 수와 크기가 positive control과 다른 분획물에 비하여 적은 것을 알 수 있었으나 NP의 경우 지방구의 수나 크기가 positive control과 유사한 것으로 나타났



다.

Fig 23B는 3T3-L1 세포를 MDI 처리 후 지방분화를 유도시킨 후 Oil-red-O 염색약을 이용하여 염색시킨 후 isopropanol을 이용하여 탈색시킨 후 510nm에서 흡광도를 측정한 것으로 NP, AP, SE, 그리고 COE가 각각 1.33, 0.76, 0.69, 그리고 0.41로 나타났다. NP는 positive control의 1.41과 비슷하게 가장 높은 흡광도 값을 나타내어 지방구생성에 효과가 적은 것으로 나타났으며 COE의 경우 가장 낮은 흡광도 값을 나타내어 지방구 생성에 효과가 있는 것으로 나타났다. 따라서 헤송이버섯 추출물의 분획물 중 COE가 항비만효과가 가장 효과적일 것으로 사료되어진다.

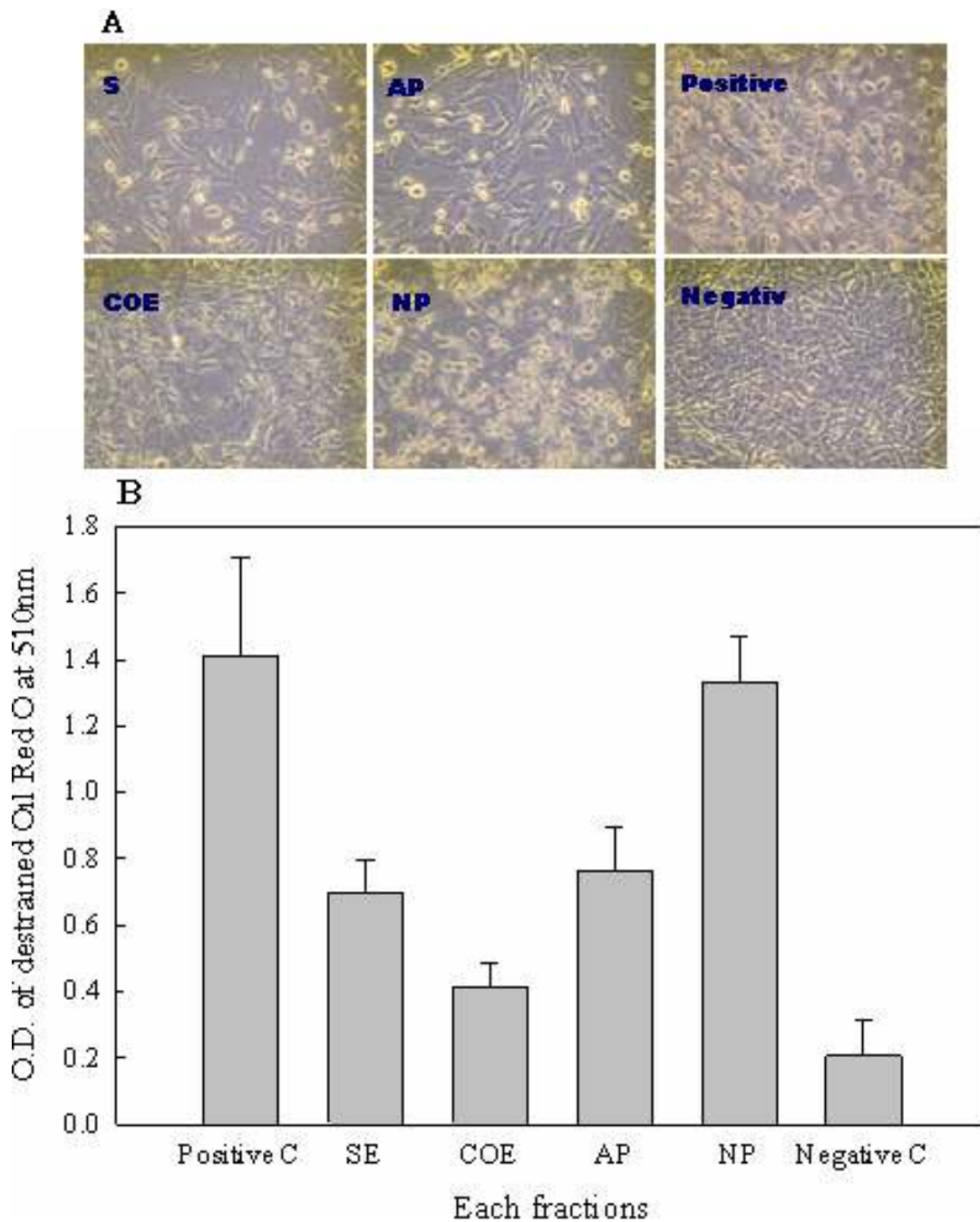


Fig. 23. The cells were continuously cultured for 7 days after inducement with MDI (A). Oil red O in the stained cell was eluted with isopropanol, and the O.D. of the elution was detected by spectrophotometry at 510 nm (B).

## 바. 추출물의 식품소재화 기술 개발

### (1) 동결방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리학적 특성 변화

동결방법에 따른 생리학적 특성의 변화는 Table 23과 같다. 폴리페놀의 함량은  $-70^{\circ}\text{C}$  급속냉동을 한 경우에서  $-20^{\circ}\text{C}$  저장을 한 경우보다 많은 함량을 나타내었으나, 항산화 활성의 경우에는  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 동결을 한 추출물이  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 동결을 한 추출물보다 항산화 활성 값이 떨어지는 경향을 나타내었다. 항당뇨효과는  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 동결을 한 추출물이  $\alpha$ -amylase의 억제효과가 뛰어난 경향을 나타내었으나,  $\alpha$ -glucosidase의 억제효과는  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 동결한 추출물에서 더욱 좋은 경향을 나타내었다.

Table 23. Total phenolic compound contents and *in vitro* physiological activities of different freezing method from *H. marmoreus* extracts.

	Phenolic compound (ug/mL)	Scavenging activities (%)	$\alpha$ -amylase inhibitor (% , 25mg/mL)	$\alpha$ -glucosidase inhibitor (% , 2.5mg/mL)
Froze at $-70^{\circ}\text{C}$	347.6	22.25	42.66	54.96
Froze at $-20^{\circ}\text{C}$	332.2	23.08	39.40	55.59

### (2) 건조방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리특성 변화

건조방법에 따른 추출물의 생리특성은 Table 24와 같다. 총 폴리페놀의 함량은 동결건조한 추출물이 1.7%로, 분무건조한 추출물의 1.5%보다는 높았으나 큰 차이를 보이지는 않았으며, 항산화 효과는 동결건조가 84.65%, 분무건조가 82.24%로 동결건조가 보다 좋은 항산화 효과를 나타내는 경향이였다. 항당뇨 효과인  $\alpha$ -amylase와  $\alpha$ -glucosidase 억제 효과 역시 동결건조에서 각각 48.04%, 70.37%로 분무건조의 46.13%, 69.23%보다 높게 나타나는 경향을 나타내었다. 건조방법에 따른 생리특성의 변화를 보면 동결건조가 분무건조보다 분석된 모든 생리특성에서 우수한 경향을 나타내었다.

Table 24. Total phenolic compound contents and *in vitro* physiological activities of different drying method from *H. marmoreus* extracts.

	Phenolic compound (%)	Scavenging activities (%)	$\alpha$ -amylase inhibitor (% , 25mg/mL)	$\alpha$ -glucosidase inhibitor (% , 2.5mg/mL)
Lyophilization	1.7	84.65	48.04	70.37
Spray dry	1.5	82.24	46.13	69.28

#### 4. 해송이버섯 추출물의 동물모델(*in vivo*)에서의 생리활성 검색

##### 가. 항비만 효과

###### (1) 실험재료 및 방법

(가) 재 료 : 해송이 버섯은 (주)해송산업으로부터 제공받고 만가닥버섯(백일송이)은 근교시장에서 구입하여 35°C에서 24시간 건조 후 분말로 만든 후 -20°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 분석에 사용된 시약은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

(나) 해송이와 백일송이 추출물 : 시료에 51배의 물을 가하여 71.5°C에서 11.5시간동안 추출한 후 동결건조 후 분말화하여 -20°C에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

(다) 실험시료 : 해송이와 백일송이 시료는 각각 체중의 0.05%, 0.1% 농도로 버섯 추출물을 용해시켜서 2mL씩 경구투여하였으며, 실험식은 기본식이(AIN-93)에 콜레스테롤을 첨가하여 제조하였고, 음용수와 함께 자유급이(*ad libitum*)하였다(Table 25).

(라) 실험동물 : 생후 3주령된 Sprague-Dawley계 흰쥐를 공시하여 체중이 100g정도 되었을 때 난괴법으로 처리군당 12마리씩 배치하여 5주동안 사육하였다. 사육실의 조건은 온도 18±2°C, 조명주기(light/dark cycle) 12시간, 습도 60%, 물과 식이는 자유급이 하였다.

(마) 시료수집 및 분석방법 : 실험종료(5주) 후 쥐를 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취한 후 복부대동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액을 3000rpm에서

10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 다음  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동보관 후 분석하였다. 혈액학치 측정용 전혈(whole blood)은 EDTA를 첨가하였다. 장기는 채취하여 생리식염수로 세척후 여과지로 물기를 제거하고 중량을 측정하였다. 배변량은 실험 2기중 3주째에 3일간 측정하였고, 장통과시간은 4주째에 측정하였다.

(바) 혈청생화학치 분석 : 혈청지질(TC, TG, HDL, LDL)농도는 enzyme kit로 비색정량하였고, 간기능치(SGOT, SGPT, r-GT)는 IFCC방법으로, BUN은 Urease with GLDH방법으로(ADVIA 1650), creatinine농도는 Jaffe reaction으로 분석하였다(auto-analyzer).

(사) 장통과시간 : 실험동물을 18시간 절식시킨 후 설탕 50%, carmine red(Sigma Chemical Co., USA) 0.5%를 혼합한 식이를 10g 급여한 다음 이를 다 먹게 한 후 실험식을 같은 시각에 급여하였다. 일정시간이 경과한 다음 변으로 marker가 최초 및 최종 출현하는 시간을 체크하였다.

(아) 통계처리 : 모든 실험결과는 SAS프로그램(Version 8.01, SAS Institute Inc., USA)를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였다. 각 실험군간의 차이는 one way ANOVA를 사용하여 비교하였고, Duncan's multiple range test로 5%수준에서 유의성을 검증하였다.

Table 25. Experimental design

Group (n=12)	Initial wt. (g)	Treatment
A	387.2±19.5	7.5% 해송이버섯 추출물(2mL)
B	388.5±17.4	15.0% 해송이버섯 추출물 (2mL)
C	387.9±16.6	음용수 (2mL)
D	384.1±17.6	7.5% 만가닥버섯 추출물 (2mL)
E	384.6±16.8	15.0% 만가닥버섯 추출물 (2mL)

Table 26. Composition of the basal experimental diet

Ingredient	Contents(%)
Casein(feed grade CP 85%)	20
Corn starch	15
Sucrose	45
Cellulose(fiber)	5
Tallow	5
Safflower oil	5
DL-methionine	0.3
AIN-vitamin mixture <sup>1)</sup>	1.0
AIN-mineral mixture <sup>2)</sup>	3.5
Choline bitartrate	0.2
<b>Total</b>	<b>100</b>

<sup>1)</sup> Contained per kg mixture ; Thiamin •HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxine •HCl 700mg, Nicotinic acid 3g, Vit. A 400,000IU(RetinyI acetate), Vit E(dL-α-Tocopheryl acetate) 5,000 IU, Vit. D3 2.5mg, Vit. K 5.0mg and sucrose.

<sup>2)</sup> Contained per kg mixture ; CaHPO<sub>4</sub> 500g, NaCl 74g, K<sub>3</sub>C<sub>6</sub>O<sub>7</sub> •H<sub>2</sub>O 220g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52g, MgO 24g, 48 Mn 3.5g, 17% Fe 6.0g, 70% Zn 1.6g, 53% Cu 0.3g, KIO<sub>3</sub> 0.01g, CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•12H<sub>2</sub>O 0.55g and sucrose.

## (2) 실험결과

### (가) 성장률

해송이버섯과 만가닥버섯 추출물을 흰쥐에 5주 동안 경구투여 했을 때 성장률과 식이효율등에 미치는 영향은 Table 27와 같이 실험군간에 차이가 없는 것으로 나타났다. 실험1기 동안 고지방식이(high fat diet)를 급여한 후 실험 2기에 배치한 개시 체중은 384.1~388.5g 범위로 차이가 없었다. 실험종료 체중은 485.9~498.1g 범위로 유의차는 없었으나 해송이버섯추출물 A군이 가장 적었고, 대조군(C)이 가장 높았다. 실험기간중 일당 증체량은 3.24~3.57g 범위로 대체로 해송이버섯추출물군(A, B)이 만가닥버섯추출물군(D, E)에 비해 성장률이 다소 낮았으며, 실험기간중 평균 식이섭취량은 23.21~23.87g 범위로, 식이효율은 0.18~0.23로 실험군간에 차이가 없었다.

Table 27. Effect of Hae-song-i mushroom and *Lyophyllum ulmarium* extracts on weight gain and food efficiency ratio in rats

Group*	Initial wt. (g)	Final wt. (g)	Gain wt. (g/day)	Diet intake (g/day)	FER <sup>1)</sup>
A	387.2±19.5 <sup>ns</sup>	485.9±30.1 <sup>ns</sup>	3.24±0.61 <sup>ns</sup>	23.21±1.09 <sup>ns</sup>	0.21±0.07 <sup>ns</sup>
B	388.5±17.4	489.1±29.3	3.29±0.74	22.56±1.53	0.22±0.05
C	387.9±16.6	493.6±28.1	3.37±0.54	23.77±1.14	0.22±0.07
D	384.1±17.6	488.9±31.8	3.44±0.85	23.87±1.11	0.23±0.09
E	384.6±16.8	498.1±29.1	3.57±0.54	23.30±1.38	0.18±0.05

\*A: 7.5% 해송이버섯 추출물 B: 15% 해송이버섯 추출물 C: 음용수(대조군)

D: 7.5% 만가닥버섯 추출물 E: 15% 만가닥버섯 추출물

Values are means±SD(n=12).

ns not significant

1) Food efficiency

#### (나) 혈청 생화학치

해송이버섯과 만가닥버섯추출물을 흰쥐에게 5주간 경구투여했을 때 혈당 및 혈청지질에 미치는 영향은 Table 28-1과 같다. 혈당농도는 해송이버섯추출물군(A, B)이 각각 110.9, 111.7mg/dL로 통계적으로 낮았고, 만가닥버섯추출물 E군이 121.0 mg/dL로 가장 높았다(p<0.05). 총콜레스테롤(TC) 농도는 해송이버섯추출물군(A, B)이 각각 97.71, 107.8mg/dL, 만가닥버섯추출물군(D, E)이 각각 86.14, 90.86mg/dL로 통계적인 차이가 있었다(p<0.05). 중성지방(TG) 농도는 A군(97.50mg/dL), D군(85.67 mg/dL), E군(81.50mg/dL), C군(72.33mg/dL), B군(62.83mg/dL)의 순으로 감소했다(p<0.05). 고밀도지단백콜레스테롤(HDL)농도는 만가닥버섯추출물 E군(15.43mg/dL)이 다른 실험군(18.29-19.71mg/dL)에 비해 통계적으로 유의하게 낮았고, 저밀도지단백콜레스테롤(LDL) 농도는 9.43-12.14mg/dL 범위로 해송이버섯추출물중 B군이 높았고, 만가닥버섯추출물중 D군이 가장 낮았으나 통계적인 차이는 없었다. 해송이버섯과 만가닥버섯추출물이 혈중 creatinine, 혈중요소태질소(BUN) 및 간기능치등에 미치는 영향은 Table 28-2와 같다. Creatinine과 BUN농도는 각각 0.57-0.61, 16.27-17.80mg/dL 범위로 통계적인 차이가 없었다. ALP활성은 A군과 대조군(C)이 각각 302.3, 309.4IU/L로 가장 높았고, 만가닥버섯추출물중 E군이 206.0IU/L로 가장 낮았다(p<0.05). 간기능치중 SGOT활성은 111.1-150.0IU/L로 통계적인 차이는 없었고, 해송이버섯추출물에 비해 만가닥버섯추출물의 활성이 낮았다. SGPT활성은 C군이 51.80IU/L로 가장 높았으며, A군, D군 및 E군이 각각 45.80, 43.60, 45.60IU/L로 통계적으로 낮았다(p<0.05).

Table 28-1. Effect of Haesongi mushroom and *Lyophyllum ulmarium* extracts on blood glucose and lipids levels in rats (unit: mg/dL)

Group*	Glucose	TC <sup>1)</sup>	TG <sup>2)</sup>	HDL <sup>3)</sup>	LDL <sup>4)</sup>
A	110.9±7.2 <sup>b</sup>	97.71±14.61 <sup>a</sup>	97.50±12.39 <sup>a</sup>	18.86±2.47 <sup>a</sup>	10.57±2.13 <sup>ns</sup>
B	111.7±8.5 <sup>b</sup>	107.8±14.28 <sup>a</sup>	62.83±10.70 <sup>d</sup>	19.43±2.50 <sup>a</sup>	12.14±2.29
C	114.4±4.7 <sup>ab</sup>	92.71±8.01 <sup>ab</sup>	72.33±7.76 <sup>cd</sup>	18.29±1.83 <sup>a</sup>	10.71±1.75
D	117.7±4.2 <sup>ab</sup>	86.14±5.89 <sup>b</sup>	85.67±8.28 <sup>ab</sup>	19.71±2.12 <sup>a</sup>	9.43±0.90
E	121.0±3.8 <sup>a</sup>	90.86±16.10 <sup>b</sup>	81.50±7.50 <sup>bc</sup>	15.43±2.50 <sup>b</sup>	10.00±2.88

\*A: 7.5% 해송이버섯 추출물 B: 15% 해송이버섯 추출물 C: 음용수(대조군)

D: 7.5% 만가닥버섯 추출물 E: 15% 만가닥버섯 추출물

Values are means±SD(n=12).

<sup>1)-4)</sup> TC(total cholesterol), TG (triglycealdehyde),

HDL(high-density lipoprotein cholesterol), LDL(low-density lipoprotein cholesterol)

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan`s multiple range test at α=0.05.

ns not significant.

Table 28-2. Effect of Haesongi mushroom and *Lyophyllum ulmarium* extracts on creatinine, BUN, ALP and hepatic function values in rats

Group*	Creatinine (mg/dL)	BUN <sup>1)</sup> (mg/dL)	ALP <sup>2)</sup> (IU/L)	SGOT <sup>3)</sup> (IU/L)	SGPT <sup>4)</sup> (IU/L)
A	0.57±0.07 <sup>ns</sup>	17.44±2.06 <sup>ns</sup>	302.3±94.98 <sup>a</sup>	133.1±26.96 <sup>ns</sup>	45.80±3.49 <sup>b</sup>
B	0.61±0.03	17.80±1.14	271.3±45.69 <sup>ab</sup>	150.0±68.98	47.40±4.22 <sup>ab</sup>
C	0.61±0.03	17.43±1.55	309.4±89.72 <sup>a</sup>	124.4±26.70	51.80±3.12 <sup>a</sup>
D	0.59±0.03	16.56±1.30	277.3±66.83 <sup>ab</sup>	119.0±16.42	43.60±2.06 <sup>b</sup>
E	0.57±0.07	16.27±1.56	206.0±70.45 <sup>b</sup>	111.1±13.15	45.60±3.61 <sup>b</sup>

\*A: 7.5% 해송이버섯 추출물 B: 15% 해송이버섯 추출물 C: 음용수(대조군)

D: 7.5% 만가닥버섯 추출물 E: 15% 만가닥버섯 추출물

Values are means±SD(n=12).

ALP(alkaline phosphate), SGOT(serum glutamic oxaloactic transaminase)

SGPT(serum glutamic pyruvic transaminase)

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan`s multiple range test at α=0.05.

ns not significant.



한편, 혈액학치중 적혈구(RBC)는 8.59-8.92x10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>로 차이가 없었고, 백혈구(WBC)는 해송이버섯추출물중 A군과 B군이 각각 16.29, 10.39 x10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>범위로 통계적으로 가장 높거나 낮았다(p<0.05). 혈소판은 1037.8-1572.2 x10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>범위로 통계적인 차이는 없었고, 해송이버섯추출물중 A군과 B군이 각각 가장 높거나 낮았다. Hematcrit치는 44.03-45.00%범위로, 혈색소(hemoglobin)함량은 16.09-16.74g/dL범위로 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 28-3).

Table 28-3. Effect of Haesongi mushroom and *Lyophyllum ulmarium* extracts on complete blood count(CBC) in rats

Group*	RBC <sup>1)</sup> (×10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	WBC <sup>2)</sup> (×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Platelet (×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Hematcrit (%)	Hemoglobin (g/dL)
A	8.92±0.40 <sup>ns</sup>	16.29±5.14 <sup>a</sup>	1572.2±85.74 <sup>ns</sup>	44.73±1.89 <sup>ns</sup>	16.74±1.03 <sup>ns</sup>
B	8.68±0.42	10.39±2.90 <sup>b</sup>	1037.8±60.74	44.94±1.96	16.26±0.70
C	9.07±0.52	13.61±2.01 <sup>ab</sup>	1165.8±90.51	45.00±1.14	16.40±0.31
D	8.88±0.51	14.16±1.50 <sup>ab</sup>	1140.8±67.07	44.90±1.43	16.73±0.61
E	8.59±0.26	13.99±3.27 <sup>ab</sup>	1125.8±111.27	44.03±1.42	16.09±0.33

\*A: 7.5% 해송이버섯 추출물 B: 15% 해송이버섯 추출물 C: 음용수(대조군)

D: 7.5% 만가닥버섯 추출물 E: 15% 만가닥버섯 추출물

Values are means±SD(n=12).

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan`s multiple range test at α=0.05.

ns not significant.

1),2) RBC(red blood cell), WBC(white blood cell)

#### (다) 장기무게와 체지방량

해송이버섯과 만가닥버섯추출물을 흰쥐에게 5주간 경구투여했을 때 장기무게 및 내장지방량에 미치는 영향은 Table 29와 같다. 체중 100g당 무게로 환산한 장기무게는 간장 4.43-4.55g, 비장 0.18-0.20g, 신장 0.32-0.34g, 정소 0.31-0.33g으로 실험군간에 통계적인 차이는 없었다. 한편, 내장지방중 정소상체지방패드(EFP) 무게는 대조군(C)이 0.88g으로 해송이버섯과 만가닥버섯추출물군 보다 통계적으로 높았고, 특히 B군과 D군은 각각 0.64, 0.65g으로 가장 낮았다(p<0.05). 신장지방(RFP)은 0.98-1.16g 범위로 실험군간 유의적인 차이는 없었고, 해송이버섯추출물 B군과 대조군(C)이 가장 낮거나 높았다. 복부 지방무게는 대조군(0.94g)이 가장 높았고, 해송이버섯추출물 B군(0.72g)이 가장 낮았다(p<0.05). 내장지방량은 버섯추출물투여군에서 대조군에 비해 낮았으며, 해송이버섯추출물의 함량이 증가할수록 내장지방양이 감소하는 경향이였다.

Table 29. Effect of Hae-song-i mushroom and *Lyophyllum ulmarium* extracts on organ weights and visceral fat in rats

(unit: g/100g bw)

Group*	Organ wt.				Visceral fat		
	Liver	Spleen	Kidney	Testis	EFP <sup>1)</sup>	RFP <sup>2)</sup>	Abdo <sup>3)</sup>
A	4.55± 0.18 <sup>ns</sup>	0.19± 0.02 <sup>ns</sup>	0.32± 0.02 <sup>ns</sup>	0.32± 0.02 <sup>ns</sup>	0.79± 0.11 <sup>ab</sup>	1.09± 0.23 <sup>ns</sup>	0.90± 0.15 <sup>a</sup>
B	4.64± 0.34	0.20± 0.02	0.32± 0.02	0.33± 0.03	0.64± 0.11 <sup>b</sup>	0.98± 0.19	0.72± 0.10 <sup>b</sup>
C	4.43± 0.25	0.18± 0.02	0.33± 0.02	0.31± 0.03	0.88± 0.17 <sup>a</sup>	1.16± 0.44	0.94± 0.12 <sup>a</sup>
D	4.51± 0.20	0.19± 0.02	0.34± 0.03	0.32± 0.03	0.65± 0.08 <sup>b</sup>	1.08± 0.19	0.82± 0.12 <sup>ab</sup>
E	4.44± 0.33	0.18± 0.02	0.34± 0.01	0.32± 0.01	0.76± 0.12 <sup>ab</sup>	1.14± 0.20	0.82± 0.15 <sup>ab</sup>

Values are means±SD(n=12).

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan`s multiple range test at α=0.05. ns not significant.

1) ,2) ,3) EFP(epididymal fat pad) RFP(perirenal fat pad) Abdo(abdominal fat pad)

#### (라) 배변량 및 장통과시간

해송이와 만가닥버섯추출물이 배변량 및 장통과시간에 미치는 영향은 Table 30과 같다. 버섯추출물 투여 3주째에 3일동안 배변량 측정결과 실험군간 통계적인 차이는 없었고, A군이 5.79g으로 다른 실험군 보다 다소 많았다. 한편, 실험 4주째 측정한 장통과시간은 해송이버섯추출물군(A, B)이 각각 31.90, 32.30시간으로 만가닥버섯추출물군(D, E)의 34.56, 34.50시간에 비해 다소 빠른 것으로 나타났다.

Table 30. Effect of Hae-song-i mushroom and *Lyophyllum ulmarium* extracts on fecal amount and transit time in rat

Group*	Diet intake (g/day)	Fecal amount (g, fresh)	Transit time (hr)
A	25.40±1.85 <sup>ns</sup>	5.79±0.72 <sup>ns</sup>	31.90±0.47 <sup>ns</sup>
B	23.29±1.73	4.69±0.59	32.30±0.71
C	26.62±1.58	5.24±0.29	34.67±0.47
D	26.16±2.82	4.94±0.66	34.56±0.49
E	25.33±3.50	4.96±0.71	34.50±0.50

\*A: 7.5% 해송이버섯 추출물 B: 15% 해송이버섯 추출물 C: 음용수(대조군)

D: 7.5% 만가닥버섯 추출물 E: 15% 만가닥버섯 추출물

Values are means±SD(n=12).

ns not significant.

### (3) 요약 및 결론

해송이버섯의 항비만 효과를 확인하기 위하여 고지방식을 급여한 다음 해송이버섯과 만가닥버섯 추출물을 5주 동안 경구투여한 결과 실험기간중 성장률은 해송이버섯추출물군(A, B)이 만가닥버섯추출물군(D, E)에 비해 다소 낮았다. 혈당농도는 해송이버섯추출물군(A, B)이 통계적으로 낮았고, 총콜레스테롤(TC) 농도는 만가닥버섯추출물군(D, E)이 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 중성지방(TG) 농도는 B군이 가장 낮았다. 고밀도지단백콜레스테롤(HDL)농도는 B군과 D군이 높았고, 저밀도지단백콜레스테롤(LDL)농도는 B군이 높았으나 차이는 없었다. 혈중 creatinine과 BUN농도는 차이가 없었다. ALP활성은 만가닥버섯추출물중 E군이 낮았다( $p < 0.05$ ). SGOT활성은 차이는 없었다. 혈액학치는 백혈구(WBC)를 제외하고 실험군간 차이는 없었다. 체중 100g당 무게로 환산한 장기무게는 실험군간에 통계적인 차이가 없었다. 내장지방중 정소상체지방패드(EFP) 무게는 B군과 D군이 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 신장지방(RFP)은 실험군간 차이는 없었고, 복부지방무게는 대조군(0.94g)이 가장 높았고, 해송이버섯추출물 B군(0.72g)이 가장 낮았다( $p < 0.05$ ). 배변량 측정결과 실험군간 통계적인 차이는 없었고, A군이 다른 실험군 보다 다소 많았다. 장통과시간은 해송이버섯추출물군(A, B)이 만가닥버섯추출물군(D, E)에 비해 다소 빠른 것으로 나타났다.

따라서 이상의 결과로 볼 때 해송이버섯추출물은 만가닥버섯추출물에 비해 고지방식을 급여한 흰쥐의 체지방의 억제작용과 함께 혈청 지질중 중성지방과 LDL농도를 낮추고 배변량과 장통과시간에서 양호한 결과를 나타내었다.

## 나. 항당뇨효과

### (1) 실험재료

(가) 재 료 : 해송이 버섯은 (주)해송산업으로부터 제공받고 만가닥버섯(백일송이)은 근교시장에서 구입하여 35℃에서 24시간 건조 후 분말로 만든 후 -20℃에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 분석에 사용된 시약은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

(나) 해송이와 백일송이 추출물 : 시료에 51배의 물을 가하여 71.5℃에서 11.5시간동안 추출한 후 동결건조 후 분말화하여 -20℃에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

(다) 실험시료 : 해송이와 백일송이 시료는 각각 초기 체중의 0.05%, 0.1% 농도로 버섯 추출물을 용해시켜서 2mL씩 경구투여하였으며, 실험식은 기본식이(AIN-93)에 콜레스테롤을 첨가하여 제조하였고, 음용수와 함께 자유급이(ad libitum)하였다(Table 31).

(라) 실험식이 : 본 실험은 semi-purified diet(AIN-diet, 1977)를 기본식이(basal diet)로 하여 각 시료에 해송이 버섯 및 만가닥 버섯 추출물을 첨가하여 물 투여군(A), 해송이버섯 추출물 농도가 7.5%군(B), 15%군(C), 만가닥버섯 추출물 7.5%군(D), 15%군(E)를 경구투여 하여 . 기본배지의 조성은 Table 29와 같다.

Table 31. Experimental design

Group (n=14)	Treatment
A	water
B	해송이버섯 7.5%
C	해송이버섯 15%
D	만가닥버섯 7.5%
E	만가닥버섯 15%

Table 32. Composition of the basal experimental diet

Ingredient	Contents(%)
Casein(feed grade CP 85%)	20
Corn starch	15
Sucrose	45
Cellulose(fiber)	5
Tallow	5
Safflower oil	5
DL-methionine	0.3
AIN-vitamin mixture <sup>1)</sup>	1.0
AIN-mineral mixture <sup>2)</sup>	3.5
Choline bitartrate	0.2
<b>Total</b>	<b>100</b>

<sup>1)</sup> Contained per kg mixture; Thiamin•HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxine•HCl 700mg, Nicotinicacid 3g, Vit. A 400,000IU(Retinyol acetate), Vit. E(dL- $\alpha$ -Tocopheryl acetate) 5,000IU, Vit. D<sub>3</sub> 2.5mg, Vit. K 5.0mg and sucrose.

<sup>2)</sup> Contained per kg mixture ; CaHPO<sub>4</sub> 500g, NaCl 74g, K<sub>3</sub>C<sub>6</sub>O<sub>7</sub>•H<sub>2</sub>O 220g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52g, MgO 24g, 48% Mn3.5g, 17% Fe 6.0g, 70% Zn 1.6g, 53% Cu 0.3g, KIO<sub>3</sub> 0.01g, CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•12H<sub>2</sub>O 0.55g and sucrose.

(라) 실험동물 : Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐를 공시하여 체중이 300g정도 되었을 때 난괴법으로 처리군당 10마리씩 6군으로 배치하여 5주 동안 사육하였다. 사육실 조건은 온도 18±2℃, 명암은 12시간 주기로 유지되도록 하였으며 물과 사료는 제한하지 않았다. 실험기간 중 식이섭취량과 체중변화는 주 1회씩 측정하였다.

(마) 당뇨유발 : 공시동물은 평균체중이 300g 되는 흰쥐를 실험군당 16마리씩 배치하여 실험전 STZ를 흰쥐 체중 kg 당 50mg이 되도록 0.1M Citrate buffer(pH 4.0)에 녹여서 0.2ml 정도 복강주사하였다.

(바) 시료수집 및 분석방법 : 실험 중 혈당의 분석은 Accu-check 키트를 사용하여 측정하였다. 실험종료 후 실험동물을 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취하여 복대동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액을 3,000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 얻었으며 분석 전까지 -20℃에서 냉동보관하였다. 혈액학치측정용 전혈(whole blood)은 EDTA를 첨가하였다. 혈액 채취 후 장기를 채취하여 생리식염수로 세척 후 여과지로 물기를 제거하고 중량을 측정하였다. glucose, TC(total cholesterol), TG (triglyceride), HDL(high-density lipoprotein cholesterol), LDL(low-density lipoprotein cholesterol) 의 농도는 enzyme kit로 비색정량하였다. 간기능치(SGOT(serum glutamic oxaloacetic

transaminase), SGPT(serum glutamic pyruvic transaminase))는 IFCC방법으로, BUN(blood urea-nitrogen)은 creatinine농도는 Jaffe reaction으로 분석하였다. 혈액학치(Complete blood count, CBC)는 혈액자동분석기로 측정하였다.

(사) 통계처리 : 모든 실험결과는 SAS프로그램(Version 8.01, SAS Institute Inc., USA)를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였다. 각 실험군간의 차이는 one way ANOVA를 사용하여 비교하였고, Duncan's multiple range test로 5%수준에서 유의성을 검증하였다.

## (2) 실험결과

### (가) 성장률

해송이버섯과 만가닥버섯 추출물을 흰쥐에 5주 동안 경구투여 했을 때 성장률과 식이효율등에 미치는 영향은 Table 33와 같이 나타났다. 실험 종료시의 체중은 326.19~350.32g 범위로 차이가 없었으나 물투여군이 가장 적었고, 7.5% 만가닥 추출물 투여군이 가장 높았다. 실험기간중 일당증체량은 0.44~9.22g 범위로 물투여군이 가장 낮았으며, 해송이버섯추출물군(B, C)이 만가닥버섯추출물군(D, E)에 비해 성장률이 다소 높았고, 실험기간 중 평균 식이섭취량은 44.50~51.64g 범위로, 식이효율은 0.02~0.25로 나타났다.

Table 33. Effects of mushroom extract on weight gain and food efficiency ratio in rats

Group	Initial wt. (g)	Final wt. (g)	Wt. gain (g/day)	Diet intake (g/day)	FER <sup>1)</sup>
A	322.26±17.46 <sup>ns</sup>	326.19±60.02 <sup>ns</sup>	0.44±9.28 <sup>ns</sup>	46.70±4.42 <sup>ab</sup>	0.02±0.21 <sup>b</sup>
B	323.00±15.59	345.77±68.72	7.65±11.23	44.38±5.33 <sup>b</sup>	0.20±0.26 <sup>ab</sup>
C	319.75±12.92	345.59±59.80	9.22±10.51	47.46±4.63 <sup>ab</sup>	0.07±0.25 <sup>ab</sup>
D	322.21±14.29	350.32±39.84	4.93±4.93	51.64±4.14 <sup>a</sup>	0.11±0.10 <sup>ab</sup>
E	322.72±9.86	348.38±42.35	4.30±18.16	44.50±4.68 <sup>b</sup>	0.25±0.13 <sup>a</sup>

•Values are means±SD(n=10).

•Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

<sup>ns</sup> not significant.

<sup>1)</sup> Food efficiency ratio.

(나) 장기무게

해송이버섯과 만가닥버섯추출물을 흰쥐에게 5주간 경구투여했을 때 장기무게에 미치는 영향은 Table 34과 같다. 체중 100g당 무게로 환산한 장기무게는 간장 4.09–4.30g, 비장 0.18–0.19g, 신장 0.56–0.58g, 정소 0.47–0.50g으로 실험군간에 통계적인 차이는 없었다.

Table 34. Effect of Hae-song-i mushroom and *Lyophyllum ulmarium* extracts on organ weights and visceral fat in rats

(unit: g/100g bw)

	Liver	Spleen	Kidney	Testis
A	4.21±1.12 <sup>ns</sup>	0.58±0.16 <sup>ns</sup>	0.18±0.05 <sup>ns</sup>	0.50±0.14 <sup>ns</sup>
B	4.20±1.18	0.58±0.17	0.19±0.06	0.48±0.15
C	4.30±1.19	0.58±0.16	0.18±0.05	0.47±0.14
D	4.09±1.21	0.58±0.17	0.18±0.05	0.47±0.14
E	4.13±1.12	0.56±0.15	0.18±0.05	0.48±0.12

(다) 혈청 생화학치

해송이버섯과 만가닥버섯추출물을 흰쥐에게 5주간 경구투여했을 때 혈당 및 혈청지질에 미치는 영향은 Table 35과 같다. 시작혈당농도는 321~340 mg/dL로 통계적인 차이는 없었고, 최종혈당농도는 만가닥버섯추출물 D군이 552.11 mg/dL로 가장 높았고, 만가닥버섯추출물 E군이 321.78 mg/dL로 가장 낮았다(p<0.05).

총콜레스테롤(TC) 농도는 대조군(A)이 90.70mg/dL로 가장 높았고, 해송이버섯추출물군(B, C)이 각각 76.20, 87.50mg/dL, 만가닥버섯추출물군(D, E)이 각각 68.89, 84.56mg/dL로 통계적인 차이가 있었으며, 만가닥버섯추출물 D군에서 가장 낮았다(p<0.05). 중성지방(TG) 농도는 119.67~203.60 mg/dL로 통계적인 차이는 없었다(p<0.05). Fatty acid는 대조군에서 676mg/dL로 통계적으로 높게 나타났으며, 해송이버섯추출물군(B, C)과 만가닥버섯추출물 D군은 통계적인 차이는 없었고, 만가닥버섯추출물 E군은 466.22mg/dL로 통계적으로 가장 낮았다.

한편, 혈액학치중 적혈구(RBC)는 8.52~8.94x10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>로 차이가 없었고, 백혈구(WBC)역시 8.06,~ 9.63 x10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>범위로 통계적으로 차이가 없었다(p<0.05). 혈소판은 801.0~888.0 x10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>범위로 통계적인 차이는 없었고, 만가닥버섯추출물중 D군과 E군이 각각 가장 높거나 낮았다. Hematcrit치는 44.47~48.69% 범위로, 혈색소(hemoglobin)함량은 15.13~16.63g/dL범위로 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 36).

Table 35. Effect of Hae-song-i mushroom and *Lyophyllum ulmarium* extracts on blood glucose and lipids levels in rats

(unit: mg/dL)

	Initial glucose	Final glucose	Fatty acid	Triglyceride	HDL	TC
A	340.20±51.28 <sup>ns</sup>	419.50±127.29 <sup>ab</sup>	676.10±157.90 <sup>a</sup>	177.70±81.19 <sup>ns</sup>	35.60±8.38 <sup>ns</sup>	90.70±14.10 <sup>a</sup>
B	328.40±52.65	387.80±169.97 <sup>ab</sup>	582.10±230.78 <sup>ab</sup>	201.00±109.10	27.40±9.88	76.20±24.53 <sup>ab</sup>
C	325.80±56.04	407.80±172.18 <sup>ab</sup>	611.40±207.86 <sup>ab</sup>	203.60±135.98	33.90±6.74	87.50±10.69 <sup>ab</sup>
D	332.20±41.39	513.00±78.57 <sup>a</sup>	552.11±123.30 <sup>ab</sup>	140.00±74.52	27.78±6.61	68.89±15.49 <sup>b</sup>
E	321.00±62.38	321.78±130.60 <sup>b</sup>	466.22±124.10 <sup>b</sup>	119.67±54.77	33.11±9.20	84.56±19.80 <sup>ab</sup>



Table 36. Effect of Hae-song-i mushroom and *Lyophyllum ulmarium* extracts on complete blood count(CBC) in rats

	RBC	WBC	HCT	HB	Platelet
A	8.52±0.54 <sup>ns</sup>	9.63±1.62 <sup>ns</sup>	45.59±2.33 <sup>ns</sup>	15.74±0.91 <sup>ns</sup>	888.0±333.5 <sup>ns</sup>
B	8.27±0.86	8.91±2.15	44.47±5.90	15.13±2.04	809.4±217.8
C	8.75±1.02	8.74±2.03	46.86±5.15	16.03±1.85	801.0±213.4
D	8.69±0.85	8.06±2.98	47.09±4.83	16.06±1.62	723.7±109.2
E	8.94±0.52	9.34±1.93	48.69±2.49	16.63±0.82	804.9±187.6

### (3) 요약 및 결론

해송이버섯의 항당뇨 효과를 확인하기 위하여 STZ를 주사하여 당뇨를 유도한 후 해송이버섯과 만가닥버섯 추출물을 5주 동안 경구투여 한 결과 실험기간 중 성장률은 대조군이 낮았으나 통계적인 차이는 없었다. 혈당농도는 시작시에는 통계적인 차이는 없었으나, 실험 종료시 혈당은 만가닥버섯 추출물 D군(513 mg/dL)에서 가장 높았고, 만가닥 버섯 추출물 E군(321 mg/dL)에서 통계적으로 낮았다( $p < 0.05$ ). 중성지질과 HDL은 실험군간에 통계적인 차이는 없었으며, Fatty acid는 만가닥버섯 추출물 E군에서 가장 낮았고, 대조군(A)에서 가장 높았다. 총콜레스테롤(TC)은 대조군에서 가장 높았고, 만가닥버섯추출물 D군에서 통계적으로 낮았다. 혈액학치는 실험군간의 통계적인 차이가 없었다. 체중 100g당 무게로 환산한 장기무게는 실험군간에 통계적인 차이가 없었다.

따라서 이상의 결과로 볼 때 해송이버섯추출물은 만가닥버섯추출물에 비해 고지방식을 급여한 흰쥐의 체지방의 억제작용과 함께 혈청지질 중 중성지방과 LDL농도를 낮추고 배변량과 장통과시간에서 양호한 결과를 나타내었다.

## 5. 해송이버섯 분말의 동물모델(in vivo)에서의 생리활성 검색

### 가. 해송이버섯 분말의 항비만효과

#### (1) 실험재료 및 방법

(가) 재 료 : 해송이버섯은 (주)해송산업으로부터 제공받아 35℃에서 24시간 건조 후 분말로 만든 후 -20℃에서 저장하여 실험에 사용하였다. 연구의 분석에 사용된 시약은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

(나) 해송이버섯 분말 제조 : 시료를 냉풍건조 한 후 분쇄하여 제조하였다.

(다) 실험식이 : 실험식은 기본식이(AIN-93)에 돼지기름(lard) 7% 및 콜레스테롤 1%를 첨가한 고지방식을 만든 후 해송이버섯 분말을 중량비율로 1%, 2%, 4%를 첨가하여 제조하여 자유급이(*ad libitum*)하였다.

(라) 실험동물 : 평균체중이 304g된 Sprague Dawley계 숫컷흰쥐를 공시하여 난괴법으로 처리군당 13마리씩 배치하여 4주동안 사육하였다. 사육실의 조건은 온도 18±2℃, 조명주기(L/D cycle) 12시간, 습도 60%, 물과 식이는 자유급이하였다.

(마) 분석항목 : 체중, 증체량, 식이섭취량, 식이효율(FER), 혈청지질(TC, TG, HDL, LDL), 간지질(TC, TG, HDL, LDL), 포도당, 체지방

(바) 혈청지질 및 간 지질 분석 : 혈청지질은 효소키트(enzyme kit)로 비색정량하였고, 간지질은 Folch법으로 추출한 후 지질을 IVD Lab(Koera)의 혈청지질 측정용 키트를 사용하여 측정하였다.

(라) 통계처리 : 모든 실험결과는 SAS프로그램(Version 8.01, SAS Institute Inc., USA)를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였다. 각 실험군간의 차이는 one way ANOVA를 사용하여 비교하였고, Duncan's multiple range test로 5%수준에서 유의성을 검증하였다.

Table 37. Experimental design

Group (n=13)	Initial wt. (g)	Treatment
A	293±25.6	High fat diet(HFD, control)
B	308±17.3	HFD in mushroom powder 1%
C	306±15.7	HFD in mushroom powder 2%
D	309±16.6	HFD in mushroom powder 4%

Table 38. Composition of the basal experimental diet

Ingredient	Contents(%)
Casein(feed grade CP 85%)	20
Corn starch	15
Sucrose	45
Cellulose(fiber)	5
Tallow	5
Safflower oil	5
DL-methionine	0.3
AIN-vitamin mixture <sup>1)</sup>	1.0
AIN-mineral mixture <sup>2)</sup>	3.5
Choline bitartrate	0.2
<b>Total</b>	<b>100</b>

<sup>1)</sup> Contained per kg mixture ; Thiamin •HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxine •HCl 700mg, Nicotinic acid 3g, Vit. A 400,000IU(Retinyll acetate), Vit E(dL- $\alpha$ -Tocopheryl acetate) 5,000 IU, Vit. D<sub>3</sub> 2.5mg, Vit. K 5.0mg and sucrose.

<sup>2)</sup> Contained per kg mixture ; CaHPO<sub>4</sub> 500g, NaCl 74g, K<sub>3</sub>C<sub>6</sub>O<sub>7</sub> •H<sub>2</sub>O 220g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52g, MgO 24g, 48 Mn 3.5g, 17% Fe 6.0g, 70% Zn 1.6g, 53% Cu 0.3g, KIO<sub>3</sub> 0.01g, CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•12H<sub>2</sub>O 0.55g and sucrose.

## (2) 실험결과

### (가) 성장률

흰쥐에게 고지방식이를 4주동안 급여한 후 해송이버섯분말 첨가식이를 4주 동안 급여했을 때 성장률과 식이효율에 미치는 영향은 Table 39과 같다. 실험1기 동안 고지방식이(high fat diet)를 급여한 후 실험 2기에 배치한 개시체중은 평균 304 g으로 실험

군간 차이가 없었다. 실험종료시 체중은 해송이버섯분말 2%첨가군이 가장 높았고, 고지방대조군(A)이 가장 낮았다. 실험기간중 일당증체량은 해송이버섯분말 1%와 4%첨가군(B, D)이 고지방대조군(A)에 비해 다소 낮았으며, 실험기간중 평균 식이섭취량은 25.11~25.59 g, 식이효율은 0.20~0.22로 차이가 없었다.

Table 39. Effect of Hae-song-i mushroom powder on weight gain and food efficiency ratio in rats fed high fat diet

Group*	Initial wt. (g)	Final wt. (g)	Gain wt. (g/day)	Diet intake (g/day)	FER <sup>1)</sup>
A	293±25.6	497±44.6 <sup>ns</sup>	4.85±0.77 <sup>ns</sup>	25.59±1.66 <sup>ns</sup>	0.21±0.04 <sup>ns</sup>
B	308±17.3	504±35.0	4.66±0.66	25.56±1.46	0.20±0.03
C	306±15.7	517±33.4	5.02±0.65	25.11±1.03	0.22±0.03
D	309±16.6	504±41.5	4.64±0.97	25.33±1.77	0.20±0.04

\*A: 고지방대조군      B: 해송이버섯분말 1%  
C: 해송이버섯분말 2%    D: 해송이버섯분말 4%

Values are means±SD(n=13).

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan`s multiple range test at  $\alpha=0.05$ .

<sup>ns</sup> not significant

<sup>1)</sup> Food efficiency

#### (나) 혈청 생화학치

흰쥐에게 고지방식이를 4주동안 급여한 후 측정된 평균 혈당치와 혈청 지질농도는 **Table 40**와 같다. 혈당치는  $137.0\pm 7.0$  mg/dL, 총콜레스테롤(TC)농도는  $78.25\pm 13.93$ mg/dL, 중성지방(TG)농도는  $139.33\pm 33.96$  mg/dL, 고밀도지단백(HDL)-콜레스테롤농도는  $27.07\pm 3.19$  mg/dL, 고밀도지단백(LDL)-콜레스테롤농도는  $17.94\pm 2.71$  mg/dL으로 나타났다.

Table 40. Effect of high fat diet on blood glucose and serum lipids concentrations in rats fed high fat diet (unit: mg/dL)

Group*	Glucose	TC <sup>1)</sup>	TG <sup>2)</sup>	HDL <sup>3)</sup>	LDL <sup>4)</sup>
A-D	137.0±7.0	78.25±13.93	139.33±33.96	27.07±3.19	17.94±2.71

Values are means±SD(n=52).

<sup>1)-4)</sup> TC(total cholesterol), TG (triglycealdehyde), HDL(high-density lipoprotein cholesterol), LDL(low-density lipoprotein cholesterol)

한편, 해송이버섯분말 첨가식을 흰쥐에게 4주간 급여했을 때 혈당치와 간기능치에 미치는 영향은 Table 41와 같다. 혈당농도는 해송이버섯분말 1%첨가군(B)이 124 mg/dL로 통계적으로 높았고, 해송이버섯분말 2%(C)와 4%첨가군(D)이 각각 115, 114 mg/dL로 낮았고, 고지방대조군(A)이 105 mg/dL로 가장 낮았다(p<0.05). 간기능치중 SGOT활성은 A군이 176.9 IU/L로 해송이버섯분말첨가군 보다 유의하게 높았고, SGPT활성은 A군이 47.85 IU/L 로 해송이버섯분말첨가군(B, D) 보다 유의하게 높았고, 혈중 요소태질소(BUN)농도는 B군과 D군간에 유의한 차이가 있었다(p<0.05).

Table 41. Effect of Haesongi mushroom powder on blood glucose and SGOT, SGPT and BUN contents in rats fed high fat diet

Group*	Glucose (mg/dL)	SGOT <sup>5)</sup> (IU/L)	SGPT <sup>6)</sup> (IU/L)	BUN <sup>7)</sup> (mg/dL)
A	105±7.70 <sup>c</sup>	176.9±60.4 <sup>a</sup>	47.85±12.43 <sup>a</sup>	16.65±1.56 <sup>ab</sup>
B	124±11.2 <sup>a</sup>	122.4±23.4 <sup>b</sup>	39.77±4.10 <sup>b</sup>	16.90±2.12 <sup>a</sup>
C	115±10.5 <sup>b</sup>	118.9±25.3 <sup>b</sup>	41.62±8.56 <sup>ab</sup>	15.55±2.13 <sup>ab</sup>
D	114±6.70 <sup>b</sup>	139.0±16.7 <sup>b</sup>	39.08±9.68 <sup>b</sup>	15.18±1.78 <sup>b</sup>

\*A: 고지방대조군 B: 해송이버섯분말 1% C: 해송이버섯분말 2% D: 해송이버섯분말 4%

Values are means±SD(n=13).

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan`s multiple range test at α=0.05.

<sup>5)</sup> SGOT(serum glutamic oxaloactic transaminase)

<sup>6)</sup> SGPT(serum glutamic pyruvic transaminase)

<sup>7)</sup> BUN(blood urea-nitrogen)

해송이버섯분말 첨가식을 흰쥐에게 4주간 급여했을 때 혈청 지질농도에 미치는 영향은 Table 42과 같다. 총콜레스테롤(TC) 농도는 79.7~93.2 mg/dL으로 차이는 없었고, 고지방식이만 급여한 실험 1기의 평균 TC농도 78.25 mg/dL 보다 다소 높은 것으로 나타났다. 중성지방(TG) 농도는 A군과 B군이 각각 100.6, 104.7 mg/dL로 D군의 79.9 mg/dL 보다 통계적으로 유의하게 높았다(p<0.05). 실험 1기의 TG농도(139.33 mg/dL)와 비교할

때 고지방식이군(A)과 해송이버섯분말 첨가군(B, C, D)에서 모두 혈청 TG농도가 감소한 것으로 나타났지만 특히 C군과 D군의 감소가 더 큰 것으로 나타났다. 고밀도지단백콜레스테롤(HDL)농도는 10.15~11.85 mg/dL로 실험군간 차이가 없었고, 실험 1기와 비교할 때 평균 15 mg/dL이서 감소한 것으로 나타났다. 저밀도지단백콜레스테롤(LDL)농도는 16.15~22.15 mg/dL으로 A군과 B군이 C군과 D군에 비해 통계적으로 높았고( $p < 0.05$ ), 실험 1기와 비교할 때 A군과 B군은 평균 4 mg/dL 이상 증가한 반면, C군과 D군은 다소 감소하였다. Koh와 Lee(2005)는 새송이버섯의 급이가 고지방 식이를 급이한 흰쥐의 TC, LDL-콜레스테롤을 감소시키는 효과가 있다고 보고하였으며, 식용버섯의 콜레스테롤 저하에 관한 연구는 표고버섯, 영지버섯 및 느타리버섯의 혼합분말을 첨가한 식이로 흰쥐의 콜레스테롤을 감소시킨다 하였다(Kim 등, 2001).

Table 42. Effect of Haesongi mushroom powder on blood glucose and serum lipids concentrations in rats fed high fat diet

(unit: mg/dL)

Group*	TC <sup>1)</sup>	TG <sup>2)</sup>	HDL <sup>3)</sup>	LDL <sup>4)</sup>
A	86.7 ± 12.5 <sup>ns</sup>	100.6 ± 29.1 <sup>a</sup>	11.46 ± 1.99 <sup>ns</sup>	22.15 ± 2.82 <sup>a</sup>
B	93.2 ± 14.8	104.7 ± 29.6 <sup>a</sup>	11.46 ± 2.53	21.23 ± 3.12 <sup>a</sup>
C	79.7 ± 16.9	83.4 ± 23.4 <sup>ab</sup>	10.15 ± 3.21	16.15 ± 2.68 <sup>b</sup>
D	87.6 ± 19.3	79.9 ± 19.6 <sup>b</sup>	11.85 ± 3.30	17.62 ± 3.00 <sup>b</sup>

\*A: 고지방대조군 B: 해송이버섯분말 1% C: 해송이버섯분말 2% D: 해송이버섯분말 4%

Values are means ± SD (n=13).

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$ .

<sup>ns</sup> not significant

<sup>1)-4)</sup> TC (total cholesterol),

TG (triglyceraldehyde),

HDL (high-density lipoprotein cholesterol), LDL (low-density lipoprotein cholesterol)

#### (다) 간지질 함량

해송이버섯분말 첨가식을 흰쥐에게 4주간 급여했을 때 간조직의 총지질함량과 지질분획에 미치는 영향은 **Table 43**과 같다. 총지질(total lipid)함량은 102.2~120.1 mg/g으로 통계적인 차이는 없었고, A군과 B군에 비해 C군과 D군이 다소 많았다. 총콜레스테롤(TC)함량은 해송이버섯분말 4%첨가군이 19.43 mg/g으로 통계적으로 가장 높았

고, 해송이버섯분말 2%첨가군이 16.17 mg/g, A군과 B군이 각각 9.86, 11.60 mg/g으로 나타나서 각각 통계적으로 유의한 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). 중성지방(TG)함량 역시 TC와 같은 경향으로 해송이버섯분말 4%첨가군이 19.67 mg/g으로 통계적으로 가장 높았고, 해송이버섯분말 2%첨가군이 20.06 mg/g, A군과 B군이 각각 10.85, 14.20 mg/g으로 나타나서 각각 통계적으로 유의한 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). HDL-및 LDL-콜레스테롤함량은 실험군간 유의한 차이는 없었다.

Table 43. Effect of high fat diet on total lipid and its fraction contents in rats fed high fat diet

(unit: mg/g)

Group*	Total lipid	TC <sup>1)</sup>	TG <sup>2)</sup>	HDL <sup>3)</sup>	LDL <sup>4)</sup>
A	102.2±48.02 <sup>ns</sup>	9.86±1.50 <sup>b</sup>	10.85±2.47 <sup>c</sup>	5.33±1.93 <sup>ns</sup>	12.58±3.99 <sup>ns</sup>
B	107.1±29.15	11.60±3.53 <sup>b</sup>	14.20±9.16 <sup>bc</sup>	6.01±2.38	12.86±6.08
C	120.0±29.15	16.17±2.39 <sup>a</sup>	20.06±3.88 <sup>a</sup>	5.98±1.77	16.52±5.28
D	120.1±51.42	19.43±4.35 <sup>a</sup>	19.67±6.02 <sup>ab</sup>	6.59±2.51	14.92±6.78

\*A: 고지방대조군 B: 해송이버섯분말 1% C: 해송이버섯분말 2% D: 해송이버섯분말 4%

Values are means±SD(n=13).

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at  $\alpha=0.05$ .

<sup>ns</sup> not significant

<sup>1)</sup> TC: total cholesterol

<sup>2)</sup> TG: triglycealdehyde

<sup>3)</sup> HDL: high-density lipoprotein cholesterol <sup>4)</sup> LDL: low-density lipoprotein cholesterol

#### (라) 혈액학치(CBC)

한편, 해송이버섯분말 첨가식을 흰쥐에게 4주간 급여했을 때 혈액학치(CBC)는 실험군간 통계적인 차이는 나타나지 않았다. 적혈구(RBC)는  $8.56 \sim 8.76 \times 10^6/\text{mm}^3$ , 백혈구(WBC)는  $9.82 \sim 12.16 \times 10^3/\text{mm}^3$ 으로 B군과 D군이 가장 낮거나 높았지만 차이는 없었다. 혈소판은  $1128 \sim 1338 \times 10^3/\text{mm}^3$ 으로 B군과 C군이 가장 낮거나 높았지만 차이는 없었다. 헤마토크릿(Hematocrit)치는 46.78~48.10%, 혈색소(hemoglobin)함량은 15.24~15.78 g/dL으로 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 44).

Table 44. Effect of Haesongi mushroom powder on complete blood count in rats fed high fat diet

Group*	RBC <sup>1)</sup> ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	WBC <sup>2)</sup> ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	Platelet ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	Hematcrit (%)	Hemoglobin (g/dL)
A	8.56 $\pm$ 0.75 <sup>ns</sup>	11.15 $\pm$ 4.12 <sup>ns</sup>	1270 $\pm$ 256 <sup>ns</sup>	46.78 $\pm$ 3.95 <sup>ns</sup>	15.24 $\pm$ 1.09 <sup>ns</sup>
B	8.56 $\pm$ 0.37	9.82 $\pm$ 4.42	1128 $\pm$ 362	47.76 $\pm$ 1.66	15.52 $\pm$ 0.54
C	8.65 $\pm$ 0.45	1091 $\pm$ 3.01	1338 $\pm$ 196	48.10 $\pm$ 1.67	15.72 $\pm$ 0.50
D	8.76 $\pm$ 0.28	12.16 $\pm$ 4.51	1180 $\pm$ 348	45.54 $\pm$ 11.23	15.78 $\pm$ 0.49

\*A: 고지방대조군 B: 해송이버섯분말 1% C: 해송이버섯분말 2% D: 해송이버섯분말 4%

Values are means $\pm$ SD(n=13).

<sup>ns</sup> not significant.

<sup>1)</sup> RBC: red blood cell

<sup>2)</sup> WBC: white blood cell

#### (마) 장기무게와 내장지방량

해송이버섯분말 첨가식이를해 흰쥐에게 4주간 급여했을 때 장기무게 및 내장 지방량에 미치는 영향은 Table 45와 같다. 체중 100g당 무게로 환산한 장기무게는 간장 4.28-.70g, 비장 0.16-.18g, 신장 0.36-.40g, 정소 0.32-0.34 g으로 실험군간에 통계적인 차이는 없었다. 한편, 체지방중 갈색지방(brown adipose fat) 함량은 0.10-0.13g으로 고지방대조군이 가장 높았고, 해송이버섯분말 4%첨가군이 가장 낮았다. 정소상체지방패드(EFP) 무게는 0.81-0.87 g으로 해송이버섯분말 2%군과 4%첨가군이 각각 가장 높았고, 가장 낮았다. 신장지방패드(RFP)무게는 1.07-1.21 g으로 해송이버섯분말 2%군이 실험군중 가장 낮았고, 복부지방무게는 고지방대조군(0.98g)이 가장 높았고, 해송이버섯분말 4%군이 실험군중 가장 낮았다. Koh와 Choi(2003), Kim과 Lee(2001), Hong등(2005)은 고지방 식이의 급이가 간의 무게를 증가시킨다고 보고하였고, Hong등(2001)이 보고한 고지방식이 갈색지방보다는 체지방 증가에 영향을 미친다는 결과와 같은 결과를 나타내었다. Moon과 Koh(2004)는 고지방 식이의 급이가 부정소지방의 양을 증가시킨다고 보고하였다.



Table 45. Effect of Haesongi mushroom powder on organ weights and visceral fat in rats fed high fat diet

(unit: g/100g bw)

Group*	Organ wt.				Visceral fat			
	Liver	Spleen	Kidney	Testis	BAF <sup>1)</sup>	EFP <sup>2)</sup>	RFP <sup>3)</sup>	Abdo <sup>4)</sup>
A	4.67 ± 0.30 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.03 <sup>ns</sup>	0.40 ± 0.04 <sup>ns</sup>	0.32 ± 0.08 <sup>ns</sup>	0.13 ± 0.06 <sup>ns</sup>	0.83 ± 0.17 <sup>ns</sup>	1.16 ± 0.17 <sup>ns</sup>	0.98 ± 0.17 <sup>ns</sup>
B	4.70 ± 0.55 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.02	0.36 ± 0.04	0.34 ± 0.05	0.12 ± 0.07	0.85 ± 0.17	1.21 ± 0.27	0.89 ± 0.26
C	4.31 ± 0.35 <sup>b</sup>	0.18 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.33 ± 0.05	0.11 ± 0.05	0.87 ± 0.19	1.07 ± 0.40	0.89 ± 0.24
D	4.28 ± 0.37 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.33 ± 0.04	0.10 ± 0.04	0.81 ± 0.15	1.12 ± 0.32	0.84 ± 0.16

Values are means ± SD (n=13).

<sup>ns</sup> not significant.

<sup>1)</sup> BAF: brown adipose fat

<sup>2)</sup> EFP: epididymal fat pad

<sup>3)</sup> RFP: perirenal fat pad

<sup>4)</sup> Abdo: abdominal fat pad

### (3) 요약 및 결론

해송이버섯의 항비만 효과를 확인하기 위하여 고지방식을 급여한 다음 해송이버섯 분말첨가식을 4주 동안 급여하였다. 실험기간중 성장률은 해송이버섯분말 1%와 4%첨가군(B, D)이 고지방대조군(A)에 비해 다소 낮았다. 고지방식을 급여후 해송이버섯분말 첨가식을 흰쥐에게 4주간 급여했을 때 간기능치는 고지방대조군(A)이 해송이버섯분말첨가군(B, D) 보다 유의하게 높았다(p<0.05). 총콜레스테롤(TC) 농도는 고지방식이만 급여한 실험 1기의 평균농도(78.25 mg/dL) 보다 다소 높았고, 중성지방(TG)농도는 해송이버섯분말 4%첨가군(D)이 유의하게 낮았다(p<0.05). HDL-콜레스테롤농도는 차이가 없었고, LDL-콜레스테롤농도는 해송이버섯분말 2%와 4%첨가군에서 다소 감소하였다. 간조직중 총지질(total lipid)함량은 유의한 차이는 없었고, TC와 TG함량은 A군과 B군이 가장 낮았다(p<0.05). HDL-및 LDL-콜레스테롤함량은 실험군간 차이는 없었다. 체지방(갈색지방, 정소상체지방, 신장지방 및 복부지방) 무게는 해송이버섯분말 4%군이 실험군중 가장 낮았다.

이상의 결과로 볼 때 해송이버섯분말첨가군(2%, 4%)에서는 고지방식을 급여한 흰쥐의 혈청중 중성지방과 LDL-콜레스테롤농도를 낮추고, 체지방축적을 감소시키는 작용이 있는 것으로 사료되었다.

## 나. 해송이버섯 분말의 항 당뇨효과

### (1) 실험재료 및 방법

(가) 재 료 : 해송이버섯은 (주)해송산업으로부터 제공받아 35℃에서 24시간 건조 후 분말로 만든 후 -20℃에서 저장하여 실험에 사용하였다. 연구의 분석에 사용된 시약은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

(나) 해송이버섯 제조 : 시료를 냉풍건조 한 후 분쇄하여 제조하였다.

(다) 실험식이 : 실험식은 기본식이(AIN-93)에 해송이버섯 분말을 중량비율로 1%, 2%, 4%를 첨가하여 제조하여 50일동안 자유급이(*ad bilitum*)하였다.

(라) 실험동물과 당뇨유발 : 수컷흰쥐(SD male rat, 295g)를 공시하여 실험전 STZ (streptozotocin, A0130, Sigma Chemical Co. Ltd.)를 흰쥐 체중 1kg당 45mg이 되도록 0.1M citrate buffer(pH 4.0)에 녹여 0.2ml 씩 복강주사로 당뇨증을 유발하였다. STZ투여 후 7일에 Precision Plus™ Electrodes (Medisense Contract Manufacturing Ltd, United Kingdom)로 혈당을 측정하여 200mg/dL이상 되는 쥐를 선별하여 난괴법으로 처리군 당 10마리씩 배치하였다. 사육실의 조건은 온도 18±2℃, 조명주기(L/D cycle) 12시간, 습도 60%, 물과 식이는 자유급이하였다.

(마) 측정항목 : 체중, 증체량, 식이섭취량, 식이효율(FER), α-glucosidase activity저해활성, insulin, c-peptide, 혈당농도

(바) α-glucosidase activity 저해활성 측정 : 하루동안 절식시킨 흰쥐의 소장 상피층을 취하여 생리식염수로 현탁한 뒤, 초음파로 15초간 3회 분쇄하고, 10,000rpm에서(4℃) 30분간 원심분리하여 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 기질은 p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside를 사용하였으며, 조효소 용액 50uL을 96well plate에 넣고 해송이버섯추출액을 10uL를 넣어 잘 교반한 후 405nm에서 흡광도를 측정하였고 이를 zero time으로 하였다. 5분간 방치시킨 후 기질용액 50uL를 넣고 다시 5분 방치한 후 흡광도를 측정하였다.

(사) 인슐린, C-peptide농도 : 혈청 인슐린과 C-peptide는 각각의 측정기를 이용하여 분석하였다.

(아) 통계처리 : 모든 실험결과는 SAS프로그램(Version 8.01, SAS Institute Inc., USA)를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였다. 각 실험군간의 차이는 one way ANOVA를 사용하여 비교하였고, Duncan's multiple range test로 5%수준에서 유의성을 검증하였다.

Table 46. Experimental design

Group (n=13)	Initial wt. (g)	Treatment
A	293±25.6	Commercial rat chow(AIN-93G) + STZ inj. <sup>1)</sup>
B	308±17.3	AIN-93G + Mushroom powder 1% + STZ inj.
C	306±15.7	AIN-93G + Mushroom powder 2% + STZ inj.
D	309±16.6	AIN-93G + Mushroom powder 4% + STZ inj.

<sup>1)</sup> STZ(streptozotocin, A0130, Sigma Chemical Co. Ltd.)

Table 47. Composition of the basal experimental diet

Ingredient	Contents(%)
Casein(feed grade CP 85%)	20
Corn starch	15
Sucrose	45
Cellulose(fiber)	5
Tallow	5
Safflower oil	5
DL-methionine	0.3
AIN-vitamin mixture <sup>1)</sup>	1.0
AIN-mineral mixture <sup>2)</sup>	3.5
Choline bitartrate	0.2
<b>Total</b>	<b>100</b>

<sup>1)</sup> Contained per kg mixture; Thiamin•HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxine•HCl 700mg, Nicotinic acid 3g, Vit. A 400,000IU(RetinyI acetate), Vit E(dL- $\alpha$ -Tocopheryl acetate) 5,000 IU, Vit. D<sub>3</sub> 2.5mg, Vit. K 5.0mg and sucrose.

<sup>2)</sup> Contained per kg mixture ; CaHPO<sub>4</sub> 500g, NaCl 74g, K<sub>3</sub>C<sub>6</sub>O<sub>7</sub>•H<sub>2</sub>O 220g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52g, MgO 24g, 48 Mn 3.5g, 17% Fe 6.0g, 70% Zn 1.6g, 53% Cu 0.3g, KIO<sub>3</sub> 0.01g, CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•12H<sub>2</sub>O 0.55g and sucrose.

Table 48. Chemical composition of experimental diets

(unit: %)

Feed	Moisture	C. ash	C. protein	C. fat
B	7.0	7.9	29.1	7.8
C	6.9	8.1	31.7	7.6
D	7.2	8.1	32.9	7.8

## (2) 실험결과

## (가) 성장률

Streptozotocin(STZ)을 투여한 당뇨유발쥐에게 해송이버섯분말 첨가식을 4주간 급여했을 때 성장률과 식이효율에 미치는 영향은 Table 49와 같다. 실험식을 50일동안 급여 후의 종료체중은 해송이버섯분말 1%첨가군(B)이 449g으로 2%첨가군(C)의 387 g와 4%첨가군(D)의 419 g에 비해 통계적으로 높았다( $p<0.05$ ). 실험기간동안 평균 증체량은 B군이 C군 보다 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). 실험기간동안 식이섭취량과 식이효율(FER)은 차이가 없었다. 본 실험에서 해송이버섯분말 2%첨가군(C)의 증체량이 특히 낮았는데이는 STZ투여에 의한 당뇨유발과정에서 개체차에 기인된 결과로 사료된다.

Table 49. Effect of Hae-song-i mushroom powder on weight gain and food efficiency ratio in STZ-diabetic rats

Group*	Initial wt. (g)	Final wt. (g)	Gain wt. (g/day)	Diet intake (g/day)	FER <sup>1)</sup>
A	301±9.80 <sup>a</sup>	426±36.6 <sup>ab</sup>	2.46±0.55 <sup>ab</sup>	29.35±6.98 <sup>ns</sup>	0.082±0.036 <sup>ns</sup>
B	304±10.6 <sup>a</sup>	449±55.0 <sup>a</sup>	2.83±0.78 <sup>a</sup>	28.51±5.17	0.091±0.048
C	286±11.1 <sup>b</sup>	387±72.6 <sup>b</sup>	1.94±0.99 <sup>b</sup>	31.09±6.66	0.063±0.049
D	290±13.8 <sup>b</sup>	419±60.5 <sup>b</sup>	2.43±0.92 <sup>ab</sup>	28.36±6.65	0.080±0.049

\*A: 당뇨대조군 B: 해송이버섯분말 1% C: 해송이버섯분말 2% D: 해송이버섯분말 4%

Values are means±SD(n=12).

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan`s multiple range test at  $\alpha=0.05$ .<sup>ns</sup> not significant<sup>1)</sup> FER: feed efficiency ratio

(나) 장기무게

당뇨쥐에게 해송이버섯분말 첨가식을 50일간 급여했을 때 장기무게는 Table 50과 같다. 간장무게는 유의한 차이는 없었고, 해송이버섯분말 2% 첨가군(C)이 3.48g 으로 가장 무거웠고, 1% 첨가군(B)이 3.04 g으로 가장 가벼웠다. 비장무게는 0.15~0.16g으로 비슷하였다. 신장과 정소무게는 혈당수치가 가장 높은 것으로 나타난 C군이 A군과 B군 보다 유의하게 무거웠고, 췌장무게는 당뇨대조군(A)이 0.399g으로 해송이버섯분말 1%첨가군(B)의 0.339g 보다 통계적으로 유의하게 무거웠다( $p<0.05$ ).

Table 50. Effect of Hae-song-i mushroom powder on organ weights in STZ-diabetic rats

(unit: g/100g bw)

Group*	Liver	Spleen	Kidney	Testis	Pancreas
A	3.28±0.56 <sup>ns</sup>	0.16±0.02 <sup>ns</sup>	0.35±0.10 <sup>b</sup>	0.38±0.04 <sup>ab</sup>	0.399±0.07 <sup>a</sup>
B	3.04±0.31	0.15±0.02	0.35±0.07 <sup>b</sup>	0.36±0.04 <sup>b</sup>	0.339±0.05 <sup>b</sup>
C	3.48±0.70	0.15±0.02	0.41±0.12 <sup>a</sup>	0.41±0.07 <sup>a</sup>	0.368±0.05 <sup>ab</sup>
D	3.21±0.62	0.16±0.04	0.39±0.10 <sup>ab</sup>	0.39±0.06 <sup>ab</sup>	0.329±0.04 <sup>ab</sup>

\*A: 당뇨대조군 B: 해송이버섯분말 1% C: 해송이버섯분말 2% D: 해송이버섯분말 4%

Values are means±SD(n=12).

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan`s multiple range test at  $\alpha=0.05$ .

<sup>ns</sup> not significant

(다) 혈당농도

실험기간동안 혈당측정기(Accu-Chek<sup>®</sup> Active 601, Roche)을 사용하여 측정된 혈당치는 Table 51과 같다. 본 실험에서는 흰쥐를 대상으로 STZ를 투여했으나 용량(체중 kg당 45mg)이 다소 낮아서 개체별로 당뇨증 발현이 일정하지 않았다. 즉, 80마리중 혈당치가 150 mg/dL 이상인 개체를 선별한 결과 실험개시시 혈당농도는 238~276 mg/dL으로 기준혈당농도(day 0)는 평균 253 mg/dL이었고 실험군간 차이는 없었다. 실험 종료일전 16시간 절식시킨후 측정된 공복혈당농도는 당뇨대조군(167mg/dL)과 해송이버섯분말 1%첨가군(182mg/dL)이 비슷하게 낮았다. 혈중 인슐린 함량은 유의한 차이가 없이 0.32~0.56 ng/mL으로 당뇨대조군(A)이 가장 낮았고 해송이버섯분말첨가군 에서 다소

높았고, C-peptide함량은 B군이 3.39 ng/mL으로 A군(2.43ng/mL) 보다 유의하게 높았다. 혈중  $\alpha$ -glucosidase 활성저해효과는 실험군에서 88.5~91.2%로 차이가 없었다. 식이중의 전분은 소장에서  $\alpha$ -glucosidase에 의해 단당류로 분해된 후 흡수되어 식후 혈당치를 증가시키므로 in vitro에서  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 높은 것이 in vivo에서도 식후 혈당의 급격한 증가를 예방할 수 있을 것으로 기대된다(황과 한, 2007).

Table 51. Effect of Hae-song-i mushroom powder on blood glucose levels blood glucose level after feeding and fasting in STZ-diabetic rats

Group*	Blood glucose(mg/dL)**		Insulin (ng/mL)	C-peptide (ng/mL)	$\alpha$ -glucosidase inhibitors(%)
	Initial <sup>1)</sup>	Final <sup>2)</sup>			
A	243±46.4 <sup>ns</sup>	167±23.0 <sup>b</sup>	0.32±0.24 <sup>ns</sup>	2.43±0.78 <sup>b</sup>	91.1±5.4 <sup>ns</sup>
B	238±78.5	182.±54.8 <sup>ab</sup>	0.56±0.24	3.39±0.97 <sup>a</sup>	91.2±5.8
C	276±48.8	252±57.3 <sup>a</sup>	0.45±0.57	2.98±0.78 <sup>ab</sup>	88.5±9.8
D	253±82.3	205±43.7 <sup>ab</sup>	0.41±0.25	2.79±0.58 <sup>ab</sup>	87.1±8.4

\*A: 당뇨대조군 B: 해송이버섯분말 1% C: 해송이버섯분말 2% D: 해송이버섯분말 4%

Values are means±SD(n=12).

<sup>1)</sup> blood glucose level after feeding <sup>2)</sup> blood glucose level after fasting

Values within column with same superscript are not significantly different by

Duncan`s multiple range test at  $\alpha=0.05$ . <sup>ns</sup> not significant

\*\* The blood glucose concentration was measured after 16 hours of fasting in the venous blood taken from the tail vein by using glucose analyzer(Accu-CHEK<sup>®</sup> Active, Roche, Germany) based on the glucose oxidase method.

#### (라) 혈청 생화학치

당뇨쥐에게 해송이버섯분말 첨가식을 50일간 급여했을 때 혈당치와 간기능치 및 혈청 지질농도에 미치는 영향은 Table 52과 같다. 실험종료전 16시간 절식후 측정된 공복혈당치는 실험군에서 각각 161.9mg/dL(A군), 182.5 mg/dL(B군), 279.9mg/dL (C군), 227.6 mg/dL(D군)으로 A군과 B군은 C군에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다 ( $p<0.05$ ). 혈청 지질중 총콜레스테롤(TC) 농도는 60.86~65.64 mg/dL, 중성지방(TG) 농도는 85.93~108.4 mg/dL로 당뇨대조군(A)에서 높았고, HDL-콜레스테롤농도는 18.36~20.93 mg/dL로 해송이버섯분말 2%첨가군(C)이 높았다. 저밀도지단백콜레스테롤(LDL)농도는 당뇨대조군(8.14mg/dL)이 해송이버섯분말 2%첨가군(6.21mg/dL)과 4%첨가군

(6.43mg/dL) 보다 유의하게 높았다( $p < 0.05$ ). 유리콜레스테롤(free cholesterol)농도는 12.20~13.21 mg/dL로 당뇨대조군이 높았다. 간기능치(SGOT, SGPT)활성은 유의차는 없이 D군이 가장 높았고 B군이 가장 낮았다.

Table 52. Effect of Hae-song-i mushroom powder on hematochemicals in STZ-diabetic rats

Group*	Hematochemicals (mg/dL)							
	Glucose	TC <sup>1)</sup>	TG <sup>2)</sup>	HDL <sup>3)</sup>	LDL <sup>4)</sup>	FC <sup>5)</sup>	SGOT <sup>6)</sup> (IU/L)	SGPT <sup>7)</sup> (IU/L)
A	161.9 ± 27.59 <sup>b</sup>	65.64 ± 9.09 <sup>ns</sup>	108.4 ± 37.57 <sup>ns</sup>	19.71 ± 4.15 <sup>ns</sup>	8.14 ± 1.99 <sup>a</sup>	13.21 ± 2.86 <sup>ns</sup>	240.4 ± 61.88 <sup>ns</sup>	88.86 ± 35.67 <sup>ns</sup>
	182.5 ± 47.32 <sup>b</sup>	61.71 ± 8.59	85.93 ± 25.07	18.64 ± 4.29	7.50 ± 1.88 <sup>ab</sup>	12.64 ± 2.29	258.8 ± 28.17	106.8 ± 163.66
B	279.9 ± 59.93 <sup>a</sup>	61.71 ± 11.98	95.43 ± 19.50	20.93 ± 5.22	6.21 ± 1.78 <sup>b</sup>	12.00 ± 2.73	222.4 ± 77.30	84.00 ± 63.62
	227.6 ± 38.89 <sup>ab</sup>	60.86 ± 8.89	103.0 ± 35.10	18.36 ± 6.37	6.43 ± 1.92 <sup>b</sup>	12.29 ± 2.60	159.1 ± 54.67	63.43 ± 21.18

\*A: 당뇨대조군 B: 해송이버섯분말 1% C: 해송이버섯분말 2% D: 해송이버섯분말 4%

Values are means ± SD (n=12).

Values within column with same superscript are not significantly different by

Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$ . <sup>ns</sup> not significant

<sup>1)</sup> TC: total cholesterol

<sup>2)</sup> TG: triglyceride

<sup>3)</sup> HDL: high-density lipoprotein cholesterol <sup>4)</sup> LDL: low-density lipoprotein cholesterol

<sup>5)</sup> FC: free cholesterol

<sup>6)</sup> SGOT: serum glutamic oxaloacetic transaminase

<sup>7)</sup> SGPT: serum glutamic pyruvic transaminase

#### (마) 혈액학치

해송이버섯분말 첨가식을 흰쥐에게 50일간 급여했을 때 혈액학치(CBC)는 Table 53과 같다. 적혈구(RBC)는 해송이버섯분말 2%첨가군(C)과 4%첨가군(D) 간에 통계적으로 유의한 차이가 나타났고( $p < 0.05$ ), 백혈구(WBC)는  $7.65 \sim 9.15 \times 10^3/\text{mm}^3$ , 혈소판은  $1171.8 \sim 1347.7 \times 10^3/\text{mm}^3$ 으로 차이가 없었다. 헤마토크릿(Hematocrit)치는 C군이 48.71%로 D군의 45.73% 보다 유의하게 높았다( $p < 0.05$ ). 혈색소(hemoglobin)함량은 해송이버섯분말 2%첨가군(C)이 15.85 g/dL으로 A군(14.97g/dL)과 D군(14.96g/dL) 보다 유의하게 높았다.

Table 53. Effect of Hae-song-i mushroom powder on complete blood count in STZ-diabetic rats

Group*	CBC <sup>1)</sup>				
	RBC ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	WBC ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	Platelet ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	Hct (%)	Hb (g/dL)
A	8.31 $\pm$	7.73 $\pm$	1347.7 $\pm$	46.47 $\pm$	14.97 $\pm$
	0.40 <sup>ab</sup>	1.57 <sup>ns</sup>	119.1 <sup>ns</sup>	2.47 <sup>ab</sup>	0.67 <sup>b</sup>
B	8.39 $\pm$	7.65 $\pm$	1234.2 $\pm$	47.09 $\pm$	15.35 $\pm$
	0.62 <sup>ab</sup>	1.69	189.6	2.78 <sup>ab</sup>	1.05 <sup>ab</sup>
C	8.65 $\pm$	9.15 $\pm$	1171.8 $\pm$	48.71 $\pm$	15.85 $\pm$
	0.59 <sup>a</sup>	3.07	275.4	4.01 <sup>a</sup>	1.16 <sup>a</sup>
D	8.03 $\pm$	8.78 $\pm$	1230.2 $\pm$	45.73 $\pm$	14.96 $\pm$
	0.56 <sup>b</sup>	2.20	333.0	2.06 <sup>b</sup>	0.62 <sup>b</sup>

\*A: 당뇨대조군 B: 해송이버섯분말 1% C: 해송이버섯분말 2% D: 해송이버섯분말 4%

Values are means $\pm$ SD(n=12).

Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan`s multiple range test at  $\alpha=0.05$ .

<sup>ns</sup> not significant.

<sup>1)</sup> CBC: complete blood count, RBC: red blood cell, WBC: white blood cell  
Hct: hematocrit, Hb: hemoglobin

### (3) 요약 및 결론

해송이버섯분말이 혈당에 미치는 영향을 조사하기 위하여 흰쥐 기본식이 (AIN-93G)에 해송이버섯분말을 각각 1%, 2% 및 4%(weight basis)씩 첨가하여 STZ당뇨 쥐에게 50일동안 급여하였다. 실험기간중 성장률은 해송이버섯분말 1%첨가군(B)이 2%첨가군(C) 보다 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). 장기중 신장과 정소무게는 C군이 당뇨대조군(A)과 B군 보다 유의하게 무거웠고, 췌장은 A군이 B군 보다 유의하게 무거웠다( $p<0.05$ ). 실험개시시 기준혈당치는 평균 253 mg/dL이었다. 실험종료전 절식 후 측정된 공복혈당농도는 당뇨대조군(167mg/dL)과 해송이버섯분말 1%첨가군(182mg/dL)이 비슷하게 낮았다. 혈중 인슐린 함량은 A군이 가장 낮았고 실험군이 다소 높았다. C-peptide함량은 B군(3.39ng/mL)이 A군(2.43ng/mL) 보다 유의하게 높았고( $p<0.05$ ),  $\alpha$ -glucosidase 활성저해 효과는 차이가 없었다. 혈중 총콜레스테롤(TC)과 중성지방(TG)농도는 당뇨대조군(A)에서 높았고, HDL농도는 해송이버섯분말 2%첨가군(C)이 높았고, LDL농도는 A군이 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). 간기능치는 B군이 가장 낮았다. 혈액학치중 적혈구(RBC)와 헤마토크릿치는 C군과 D군간에 유의한 차이가 있었다( $p<0.05$ ). 혈색소는 해송이버섯분말 2%첨가군(15.85 g/dL)이 당뇨대조군(14.97g/dL) 보다 유의하게 높았다( $p<0.05$ ).

이상의 결과에서 성장률, 췌장무게, 절식후 공복혈당치, C-peptide함량, 혈중 TC와 TG 농도, 간기능치, 혈색소등의 결과를 종합적으로 검토할 때 해송이버섯분말 1%첨가군에서 당뇨유발쥐의 혈당강하 및 체내 혈청 생화학치의 개선작용이 있는 것으로 사료되었다.



## 6. 건조 및 분쇄 방법에 의한 생리활성 물질 및 영양성분의 변화

### 가. 식이섬유 함량의 변화

해송이버섯의 건조 및 분쇄방법에 따른 식이섬유의 함량의 변화은 Fig. 24과 같다. 건조방법에 따른 식이 섬유 함량의 함량은 차이가 적었으나, 분쇄방법에 의한 식이섬유의 함량 차이는 크게 나타났다. 볼밀을 사용한 경우에 동결건조는 36.46%, 냉풍건조는 35.81%, 열풍건조는 38.16%으로 다른 분쇄방법보다 높게 나타났으며, 열풍 건조시 식이 섬유 함량이 가장 높은 것으로 나타났다. 그러나 냉풍건조는 핀밀을 사용하여 분쇄하는 것과 볼밀을 사용하여 분쇄하는 것이나 비슷한 식이섬유의 함량을 나타내었으며, 롤밀을 사용하는 경우에는 식이섬유의 함량이 조금 감소하는 경향을 나타내었다. 해송이버섯의 식이섬유의 함량을 높이는 분쇄방법으로는 볼밀을 사용하는 것이 식이섬유의 함량이 높아지는 것으로 나타났다.

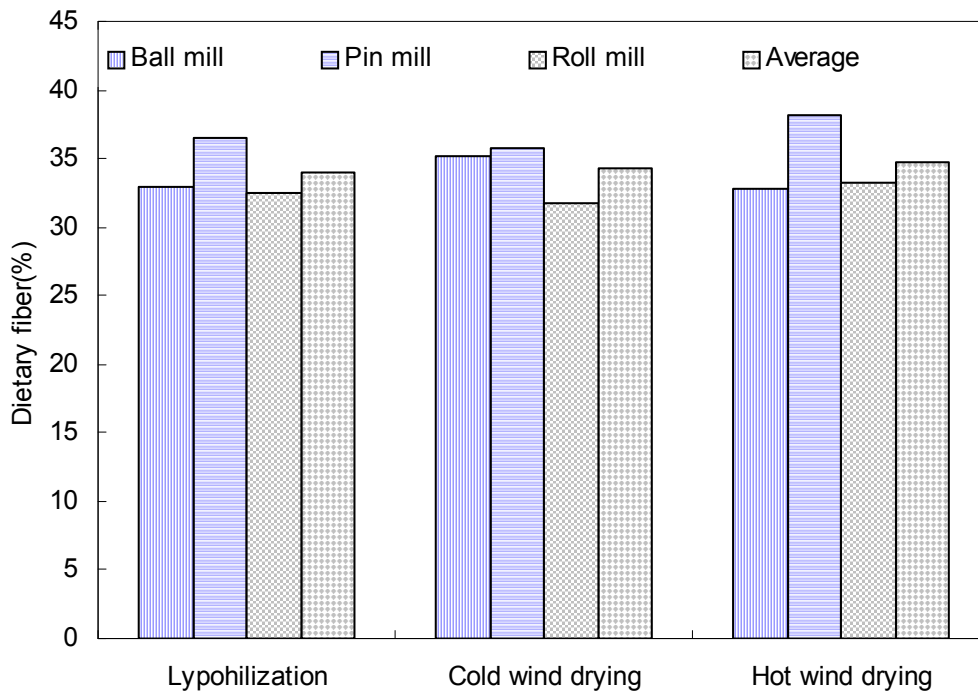


Fig. 24. Content of total dietary fiber by drying and milling methods.

나. 환원당, 폴리페놀, flavonoid,  $\beta$ -glucan

해송이버섯의 건조 및 분쇄방법에 의한 성분의 변하는 table 54과 같다.

Table 354. Contents of  $\beta$ -glucan, total polyphenol, flavonoid and reducing sugar in mushroom powder by drying and mill methods.

Dryng	Mill	Reducing sugar (%)	Total polyphenol (mg%)	Flavonoid (mg%)	$\beta$ -glucan (%)
Lypophilization	Pin	3.73	594.75	52.09	11.75
	Ball	2.52	999.45	55.96	12.11
	Roll	3.27	899.95	54.77	13.63
	Average	3.17	831.38	54.28	12.50
Hot wind drying	Pin	4.08	762.35	54.95	12.85
	Ball	3.37	875.3	59.22	11.35
	Roll	3.2	529.2	56.39	13.37
	Average	3.55	722.28	56.86	12.52
Cold wind drying	Pin	3.46	609.25	54.28	16.87
	Ball	2.58	751.65	57.36	10.77
	Roll	2.9	619.65	61.72	10.68
	Average	2.98	660.18	57.79	12.77

환원당은 3.55% 열풍건조를 한 경우에 가장 높게 나타났으며, 분쇄방법에 따른 변화는 편밀을 사용한 경우가 가장 함량이 높았으며, 볼밀을 사용하여 분쇄한 경우에 환원당의 함량이 가장 떨어지는 것으로 나타났다. 총 폴리페놀의 함량은 동결건조를 사용했을 경우에 831.88mg%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 분쇄방법에 따른 함량은 건조방법에 관계없이 볼밀을 사용한 경우에 폴리페놀의 함량이 높게 나타나는 경향이였다. 플라보노이드의 함량은 건조 및 분쇄 방법에 따른 차이는 적었으나, 냉풍건조를 사용한 경우에 57.79mg%로 조금 높게 나왔으며, 동결건조를 사용한 경우 평균 54.28mg%로 가장 적은 함량을 보였다. 분쇄방법에 따라서는 동결건조와 열풍건조는 볼밀을 사용한 경우에서 높

은 함량을 보였으나, 냉풍건조의 경우는 불밀을 사용한 경우에 가장 높은 함량을 나타내었다. 베타 글루칸의 함량은 동결건조, 열풍건조, 냉풍건조가 평균 12.50%, 12.52%, 12.77%를 나타내었으며, 동결건조와 열풍건조에서는 톨밀을 사용한 경우에 가장 높은 함량을 나타내었으며, 냉풍건조를 사용한 경우에는 핀밀을 사용한 경우 가장 좋은 결과를 보였다. Kim등(2007)은 증자 홍삼을 건조할 때 열풍건조를 한 경우 동결건조를 한 홍삼보다 총 페놀의 함량이 높다고 보고하였으며, 플라보노이드의 함량은 동결건조에서 가장 낮다고 보고하였는데 본 실험에서 이와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나, No노등(2005)은 양배추의 총 페놀성 화합물의 함량은 건조의 영향 보다는 추출용매나 추출시간 등의 영향을 받는다고 보고하였다. Jim등(2005)은 건조방법에 따른 보리의  $\beta$ -glucan의 함량에 변화가 거의 없다고 보고하였는데 이는 본 실험의 결과와 유사한 값을 나타내었다.

#### 다. 구성당 변화

해송이버섯의 건조 및 분쇄방법에 의한 구성당의 변화는 Table 55와 같다. 동결건조는 galactose의 함량이 가장 높게 나타났으며, glucose의 함량이 27.57%로 다른 건조군에 비해 적게 나타났으며, 열풍건조는 galactose의 함량이 1.53%로 가장 적게 나타났으며, glucose의 함량이 41.06%로 가장 높게 나타났다. 분쇄방법에 따른 함량의 변화는 동결건조의 경우 핀밀을 사용한 경우 glucose의 함량이 불밀과 톨밀을 사용하였을 때의 함량인 30.28%와 29.73%보다 낮게 나타났으며 galactose는 13.02%로 함량이 높게 나타났다. fucose, ribose, mannose는 각각 0.36~0.39%, 0.48~0.59%, 6.34~7.30%로 분쇄방법에 의한 성분의 큰 차이를 보이지 않았다. 냉풍건조는 분쇄방법에 따른 성분간의 차이는 저였으나, glucose에서 톨밀을 사용한 경우가 약간 높게 나타나는 경향이였다. 열풍건조 역시 냉풍건조와 비슷한 경향을 나타내었다.

Table 55. Monosaccharides composition of extracts and each fraction of from H.marmoreus.

Dryng	Mill	Mono- saccharide composition (%)				
		Fucose	Ribose	Mannose	Galactose	Glucose
	Pin	0.36	0.59	7.30	18.41	22.70
Lypophilization	Ball	0.39	0.49	6.34	8.82	30.28
	Roll	0.39	0.53	6.69	11.83	29.73
	average	0.38	0.54	6.78	13.02	27.57
-----						
	Pin	0.42	0.53	7.24	2.36	35.82
Cold wind drying	Ball	0.42	0.49	7.39	2.29	34.44
	Roll	0.43	0.53	7.41	3.38	39.05
	average	0.42	0.51	7.40	2.68	36.74
-----						
	Pin	0.39	0.53	6.95	1.06	44.61
Hot wind drying	Ball	0.35	0.49	6.69	2.46	37.09
	Roll	0.40	0.48	7.01	1.09	41.48
	average	0.38	0.50	6.88	1.53	41.06

## 라. 향기성분의 변화

### (1) 생버섯의 향기성분

해송이버섯을 SDE방법으로 추출한 후 GC/MS로 분석한 결과는 Table 56에 나타내었다. 해송이버섯의 성분은 총 38개의 향기 성분이 검출되었으며, 1-Octen-3-ol 이 42.82% 정도로 주요 향기성분이며 함유되어 있으며, 2-pentylfuran이 11.28%, Palmitic acid가 8.62%로 2번째, 3번째로 많이 함유되어 있었다. 특히 1-octen-3-one(6.97%), 1-octen-3-ol (42.82%), 3-octanol(0.80%), 2-octenal(5.60%), octanol(2.41%) 등 C<sub>8</sub> 인 화합물이 해송이버섯의 주요 향기성분을 구성하는 것을 알수있었다. 안등(1986)은 송이버섯의 주요 향기 성분이 1-octen-3-ol(73.95%), Methyl cinnamate(12.52%), 2-octanol(7.62%), octyl alcohol(22.03%)라 보고하였고, 홍등(1986)은 느타리버섯의 주요 향기성분이 67%의 1-octen-3-ol을 포함하여 3-octanone, 3-octanol, 2-octenol 및 2,4-decadienal이었으며 C<sub>8</sub> 화합물이 전체량의 약 80%를 차지하다고 하였고, 안등(1987)은 표고버섯의 주요 향기성분을 1-octen-3-ol이 71.05%, ethylacetate 1.17%, 2-octenol 1.22%, 그리고 octylalcohol 1.05%로 전체의 향기성분 중에서 74.47%를 함유하고 있었다고 하였다. 이등(1995)은 털목이버섯의 주요향기성분을 hexadecanoic acid(16.74%), benzeneethanol(7.77%), pentadecanoic acid(7.59%), dihydro-5-pentyl-2(3H)-furanone(4.28%), tetradecanoic acid(3.37%), pentanoic acid(3.68%), 1-octen-3-ol(1.26%)이라 보고하였고, 윤등(2004)은 검은비늘버섯의 주요 향기성분이 hexanal (8.55%), n-heptadehyde(13.02%), 2-pentyl furan(4.82%), benzeneacetaldehyde (3.34%), (E,Z) -2,4-Decadienal(3.06%), 6,10-dimethyl 5,9-undecadien-2-one(11.75%) 이었으며 1-octen-3-ol, 3-octanone, 3-octanol, 2-octanol, 1-octanol 등이라 보고하였다.

Table 56. Aromatic compounds of raw Haesongi mushroom.

Retention time	Compound	Peak area(%)
3.45	2-methyl-1-butanol	1.32
3.55	Pyridine	0.22
3.97	1-pentanol	0.26
4.55	1-octene	0.18
4.82	Hexanal	0.54
5.08	Ethyl acetate	0.11
7.25	1-Hexanol	0.19
8.14	2-Buthylfuran	0.12
8.66	Heptanal	0.18
11.26	(E)-2-heptenal	0.14
12.35	1-octen-3-one	6.97
12.88	1-Octen-3-ol	42.82
13.03	2-Pentylfuran	11.28
13.4	3-Octanol	0.80
13.68	Octanal	0.10
14.93	3-ethyl-2-methyl-1,3-hexadiene	0.24
15.6	Benzeneacetaldehyde	0.16
15.82	cis-1-Ethyl-2-methylcyclopentane	0.24
16.5	2-Octenal	5.60

Table 56. Continue

Retention time	Compound	Peak area(%)
16.94	Benzeneacetaldehyde	2.02
17.15	Octanol	2.41
18.81	Nonanal	0.14
19.03	Phenethyl Alcohol	0.13
20.88	(E)-2-Nonenal	0.21
21.22	cis-3-Nonen-1-ol	0.33
21.59	(E)-2-Nonenal	3.99
21.94	(E)-2-Nonen-1-ol	0.93
24.21	Nonanol	1.13
26.48	(E,E)-2,4-nonadienal	0.26
28.99	2-Amino-4,6-dimethylpyrimidine	0.23
29.83	2,4-Decadienal	0.23
37.14	2-Methylpiperazine	0.39
53.9	3-AMINO-2-CYCLOHEXEN-1-ONE	0.16
57.00	Palmitic Acid	8.62
58.95	Linoleic Acid	0.16
59.77	Stearic acid	6.18
74.44	Di(2-ethylhexyl) Phthalate	0.50
Total	38	100

(2) 건조방법 및 분쇄방법에 의한 해송이버섯의 향기성분의 변화  
 해송이 버섯의 건조 및 분쇄방법에 따른 향기성분의 변화은 Table 57과 같다.

Table 57. Changes in major volatile compounds of Haesongi mushroom by drying and milling methods.

Compound	(Peak area%)				
	1	2	3	4	5
2-methyl-1-butanol	0.82	—	0.42	—	—
Pyridine	—	—	—	—	—
1-pentanol	0.90	—	0.64	1.10	1.22
1-octene	—	—	—	—	—
Hexanal	6.27	10.85	4.94	19.16	18.38
Ethyl acetate	0.55	—	—	0.38	0.46
1-Hexanol	4.76	1.38	0.89	0.96	1.81
2-Butylfuran	—	—	—	0.56	—
Heptanal	0.71	—	—	0.68	—
(E)-2-heptenal	—	—	0.56	—	1.31
2-Cyclohexenone	2.75	2.54	1.18	1.90	1.58
1-octen-3-one	1.13	—	1.92	0.48	—
1-Octen-3-ol	18.53	16.72	22.18	0.47	2.07
3-Octanone	4.45	—	2.02	—	—



Table 57. Continue

Compound	(Peak area%)				
	1	2	3	4	5
2-Pentylfuran	19.29	22.07	17.42	19.60	19.72
3-Octanol	—	—	—	—	—
Octanal	—	—	—	—	—
3-ethyl-2-methyl-1,3-hexadiene	—	—	—	—	—
Benzeneacetaldehyde	0.18	6.69	0.87	1.90	1.18
cis-1-Ethyl-2-methylcyclopentane	—	—	—	—	—
2-Octenal	3.25	—	—	2.89	—
Cyclooctanol	—	—	—	0.56	—
Octanol	1.13	—	—	—	—
Nonanal	6.80	—	—	1.37	0.65
Phenethyl Alcohol	—	3.50	—	—	—
2-Nonenal	—	12.44	5.60	0.97	1.34
cis-3-Nonen-1-ol	—	—	—	—	—
(E)-2-Nonenal	—	—	—	—	—

Table 57. Continue

Compound	(Peak area%)				
	1	2	3	4	5
(E)-2-Nonen-1-ol	1.50	-	-	3.17	6.34
NONANOL	-	-	-	-	-
(E,E)-2,4-nonadienal	0.59	-	-	0.86	0.94
2-Amino-4,6-dimethylp yrimidine	0.89	-	-	0.87	-
2,4-Decadienal	5.45	4.77	5.86	11.59	16.50
2-Methylpiperazine	-	-	-	-	-
3-AMINO-2-CYCLOH EXEN-1-ONE	-	-	-	-	-
Palmitic Acid	3.47	6.26	11.01	4.47	0.58
Linoleic Acid	3.65	5.19	11.71		7.28
Stearic acid	-	-	-	-	-
Di(2-ethylhexyl) Phthalate	-	-	-	-	-
Total(38)	67.37 (21)	76.19 (12)	58.64 (16)	54.71 (20)	50.66 (17)

생버섯의 주요 향기 성분인 1-octen-3-ol은 냉풍건조에서 22.18%로 가장 적게 감소하였으며, 열풍건조에서 16.72%로 가장 많이 감소하였다. 두 번째로 많이 함유되어 있던 2-pentylfuran은 1-octen-3-ol과 반대의 경향을 나타내었다. 즉 1-octen-3-ol 이 많이 감소한 열풍건조에서 22.07%로 가장 많은 함량을 나타내었으며, 냉풍건조에서 17.42%로 가장 적은 함량을 나타내었다. 세 번째로 많은 함량을 보였던 palmitic acid는 냉풍건조에서 가장 많은 함량을 나타내었으며, 동결건조에서 가장 적은 함량을 나타내었다. 해송이 버섯의 건조 중 1-octen-3-ol의 함량이 감소하면서, 2-pentylfuran의 함량이 증가하는 경향을 나타내었다. 분쇄방법에 의한 향기성분의 차이는 핀밀을 사용한 경우 보다 볼밀, 롤밀을 사용한 경우 2,3-decadienal의 함량이 11.59%, 16.50%로 증가하였으며, Hexanal도

9.16%, 18.38%로 크게 증가하였으며, 1-octen-3-ol은 각각 0.47%, 2.07%로 급격히 감소하였다. Ku등(2002)은 송이버섯의 건조 중 1-octen-3-ol이 높게는 90% 까지 감소한다고 보고하였으며, Yoon등(2004)은 C<sub>8</sub> 화합물은 열풍건조 한 시료에서는 보이지 않는다 하였는데 이는 본 실험에서도 열풍건조를 한 시료의 경우 C<sub>8</sub> 화합물이 거의 존재하지 않는 것으로 나타났다.

## 7. 편의 가공식품 제조기술 개발

### 가. 해송이버섯 분말 첨가 두부제조

#### (1) 수율

두부의 수율은 Fig 25와 같다. 두부의 수율은 버섯의 첨가량이 증가할수록 175.7g에서 176.7g, 178.8g, 178.2g, 180g으로 증가하는 경향으로 나타났으며, 증가 폭이 버섯 분말의 첨가량보다는 두부내의 수분의 함량에 큰 영향을 받는 것으로 생각된다.

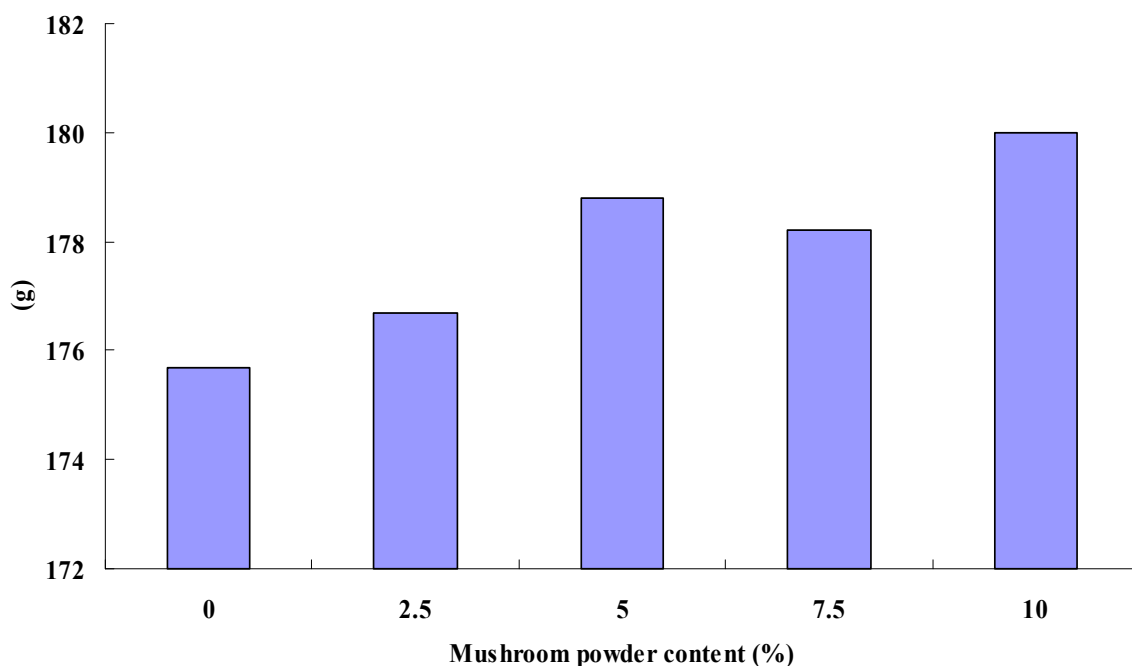


Fig. 25. Yield of soybean curd with mushroom powder.

#### (2) 색도

버섯 분말 첨가 두부의 적색도는 버섯 함량 0%에서는 -0.21이었으나, 버섯 분말의 함량이 증가할수록 0.21, 0.57, 0.79, 0.96으로 증가하였으며, 황색도 역시 적색도와 마찬가지로 14.21, 15.07, 16.16, 17.08, 17.6으로 증가하는 경향을 나타내었다. 명도는 버섯

분말의 함량이 증가할수록 84.51, 81.27, 78.8, 76.89, 74.08로 감소하는 경향을 나타내었으며, 갈색도는 버섯 분말의 함량이 증가할수록 점점 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 버섯 분말의 함량이 증가할수록 버섯 분말에 의한 두부의 색 변화 및 콩물의 가열시 버섯 분말 또한 같이 가열 되기 때문에 버섯 분말의 색 및 버섯 분말 추출물에 의해 두부의 색변화가 일어나는 것으로 사료된다(Fig. 26). Lu등(1996)은 두부로서 바람직하 색깔은 흰빛을 띠며 약간 노란색을 내는 두부가 좋다고 하였는데 해송이버섯 분말을 첨가한 두부는 적색도의 증가 폭이 황색도보다 높게 나타났으며, 이 변화에서 약간의 적색도 증가는 관능평가에서 색 점수에서 5%까지는 좋은 점수를 얻은 것을 비추어 볼 때 약간의 적색도 증가는 두부의 품질에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

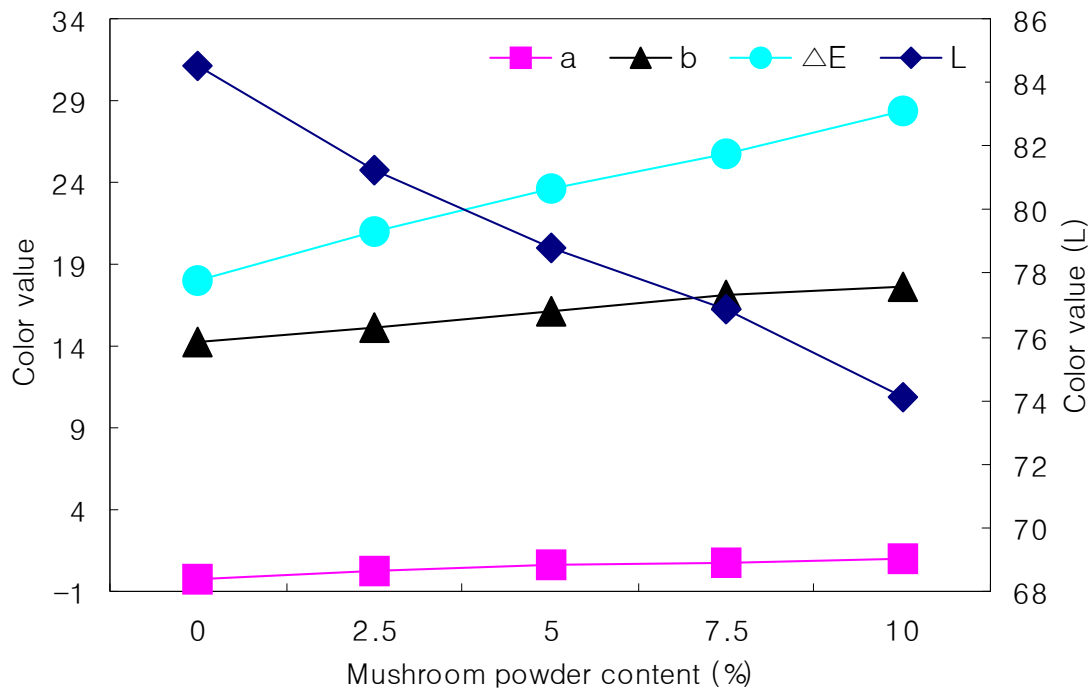


Fig. 26. Color value of soybean curd with mushroom powder

### (3) 물성

버섯 첨가 두부의 물성은 table 58과 같다. 버섯 첨가 두부의 경도는 5.0%에서 434.3으로 가장 높게 나타났으며, 10%에서 270.8로 가장 낮게 나타났다. 버섯 분말 첨가량은 두부의 응고시 버섯 분말이 두부간의 결합력에 영향을 주는 경향이 있는 것으로 나

타났다. 백등(2004)은 두부제조시 식이섬유가 첨가될 경우 경도가 급격히 약해진다고 보고하였으며, 본 실험에 사용된 해송이버섯은 식이섬유의 함량이 약 30%에 가깝기 때문에 10%, 15% 해송이버섯 분말을 첨가한 두부에서 견고성이 떨어진 것으로 보인다. 부서짐성은 버섯 분말 첨가량 5%에서 8.98로 가장 부서짐성이 적은 것으로 나타났으며, 10%에서 11.24로 가장 크게 나타났다. 탄성은 버섯 분말의 함량에 따라 0.928에서 0.955까지 나타났으며, 응집력은 0%에서 0.7275로 가장 크게 나타났으며, 2.5%에서 0.5588로 가장 적게 나타났다. 겉성은 10%에서 151.9로 가장 적었으며 5%에서 274.1로 가장 높게 나타났다. 물성 측정 결과 5%에서 물성값이 대체로 높게 나타났으며, 10%에서 낮게 나타나는 경향이였다. 두부의 응고과정에서 콩 단백질의 -SH group의 결합이 두부의 조직 형성에 중요한 역할을 하며 -SH group이 산화되면 gel이 약해지는 것으로 알려져 있다 (Hui등).

**Table 58. Texture properties of soybean curd with mushroom powder.**

Mushroom powder content	Hardness	Fracturability	Adhesiveness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess
0	329.7	9.83	-1.67	0.934	0.7275	240.4
2.5	309.0	11.2	-19.96	0.955	0.5588	172.8
5.0	434.3	8.98	-18.62	0.928	0.6310	274.1
7.5	327.7	8.81	-24.80	0.938	0.5692	186.1
10	270.8	11.24	-15.98	0.940	0.5615	151.9

#### (4) 관능검사

버섯 첨가 두부의 관능검사 결과는 Table 59과 같다. 색은 2.5% 첨가 두부에서 4.37로 가장 높았으며 10%에서 2.50으로 가장 낮은 점수를 얻었으며, 두부의 색상은 백색에 가깝을수록 점수가 높았으며, 2.5%에서는 버섯을 첨가한 기능 때문에 색에 호감을 느낀 것으로 사료된다. 물성은 0%와 2.5%에서 4.13으로 가장 좋은 점수를 얻었으며, 10%에서 1.75로 가장 낮은 점수를 나타내었다. 맛과 향은 2.5% 버섯 첨가군에서 가장 좋은 점수를 얻었으며, 10%에서 로 가장 낮은 점수를 얻었다. 종합적 기호도에서는 전체적으로 가장 좋은 점수를 얻은 2.5% 첨가군에서 가장 좋은 점수를 얻었으며, 버섯 분말을 첨가하지 않은 첨가군에서는 4.00으로 두 번째로 좋은 점수를 얻었으며, 7.5%와 10%에서는

2.29와 1.71로 낮은 점수를 나타내었다. 이는 두부에 해송이버섯을 첨가할 경우 2.5%의 버섯 분말 첨가가 가장 좋은 것으로 결과를 나타내는 것으로 확인되었다(Talbe 34).

**Table 59. Result of sensory evaluation of soybean curd with meshroom powder.**

mushroom powder content(%)	0	2.5	5	7.5	10
Color	4.0 <sup>ab</sup>	4.37 <sup>a</sup>	4.12 <sup>ab</sup>	3.0 <sup>bc</sup>	2.5 <sup>c</sup>
Texture	4.13 <sup>a</sup>	4.13 <sup>a</sup>	2.63 <sup>b</sup>	2.38 <sup>b</sup>	1.75 <sup>b</sup>
Taste	4.0 <sup>a</sup>	4.13 <sup>a</sup>	3.63 <sup>a</sup>	3.0 <sup>ab</sup>	2.38 <sup>b</sup>
Flavor	4.13 <sup>a</sup>	4.63 <sup>a</sup>	3.13 <sup>ab</sup>	2.38 <sup>bc</sup>	1.63 <sup>c</sup>
Overall	4.00 <sup>ab</sup>	4.43 <sup>a</sup>	3.29 <sup>b</sup>	2.29 <sup>c</sup>	1.71 <sup>c</sup>

(5) 일반성분

두부의 일반성분은 table 60과 같다. 버섯 분말의 첨가량이 증가함에 따라 수분은 82.8%에서 71.5%로 점점 감소하는 경향을 나타내었으며, 회분의 함량에는 0.1%로 거의 변화가 없었고, 단백질과 지방의 함량은 0%에서 10.5%와 5.4% 였으나, 10%에서는 8.7%와 4.6%로 점점 감소하는 경향을 나타내었다. 단백질과 지방의 함량이 감소하는 것은 해송이 버섯 분말에 함유 되어 있는 단백질과 지방의 양이 적기 때문에 함량이 감소하는 것으로 사료된다.

**Table 60. Proximate composition of soybean curd with mushroom powder.**

mushroom powder content (%)	Moisture	Ash	Protein	Lipid
0	82.8	0.1	10.5	5.4
2.5	82.3	0.1	10.3	5.0
5	79.2	0.1	9.8	4.8
7.5	74.6	0.1	9.3	4.8
10	71.5	0.1	9.2	4.6

## 나. 해송이버섯 추출물 첨가 요구르트 제조

### (1) 발효중 pH 및 적정산도의 변화

해송이버섯 추출물 첨가 요구르트의 pH의 변화는 Fig. 27과 같다. 멸치분말이 첨가되지 않은 요구르트는 발효가 진행됨에 따라 버섯 추출물 비 첨가 요구르트는 6.29에서 3.76으로, 1%에서는 6.3에서 3.64로 감소하였으며 5% 첨가군에서는 6.32에서 3.83으로 pH가 발효 시작후 9시간 까지는 급격히 감소하는 경향을 나타내다 9시간 이후로는 서서히 감소하지는 경향을 나타내었다. 요구르트의 발효과정 중 초기 3시간 까지는 버섯 첨가량에 따른 pH의 감소 차이가 적었으나 3시간 이후 9시간 까지는 버섯 추출물 첨가에 따른 pH의 변화를 나타내었으며, 9시간 이후에는 다시 첨가량에 따른 pH의 차이 폭이 적었다.

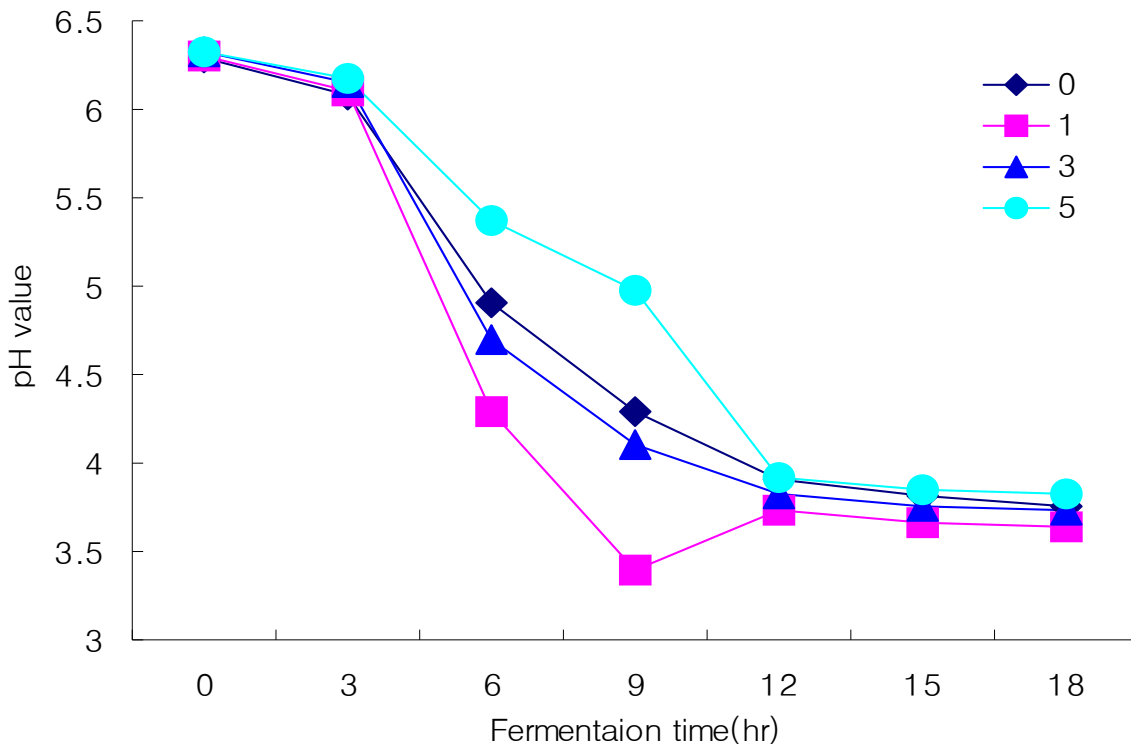


Fig. 27. Change in pH value of yogurt with powdered mushroom extracts fermentation at 38°C for 18 hours.

요구르트의 적정산도 발효가 진행되어 pH가 감소할수록 증가하는 경향을 나타내었으며, 초기의 산도는 0.03~0.05%로 버섯 추출물의 함량이 증가할수록 초기산도가 높았으며,

발효시간이 경과할수록 해송이 버섯을 첨가한 요구르트와 첨가하지 않은 요구르트 간에 산도 차이가 커지는 경향이였다. 해송이 버섯 추출물이 첨가된 요구르트의 경우에는 해송이 버섯 추출물의 첨가 농도에 따른 산도의 변화는 적게 나타났다. 이는 해송이 버섯 추출물을 첨가한 요구르트의 발효과정 중 적정산도의 변화에 해송이버섯의 추출물이 미치는 영향이 적다고 할 수 있다(fig. 28). 정과 강(1999)은 요구르트의 산도는 0.8~1.0%가 적당하며, Shin등(1994)은 호상 요구르트의 산도는 1.0~1.1%일 때 품질이 가장 좋다고 한 보고와 일치하였다.

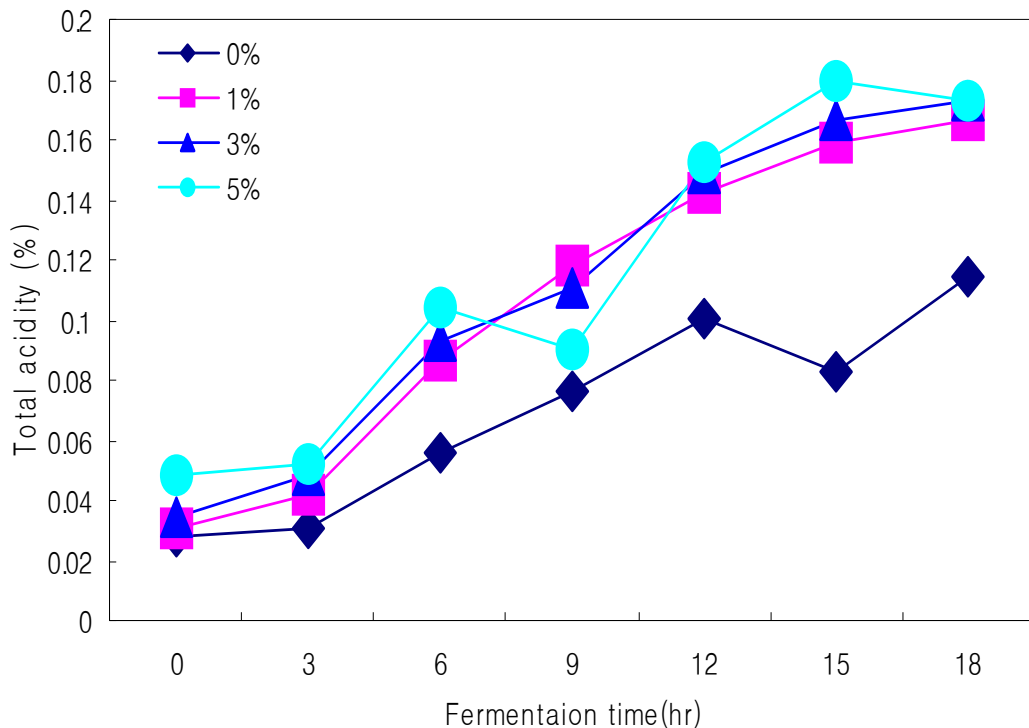


Fig. 28. Change in titratable acidity of yogurt with powdered mushroom extracts fermentation at 38°C for 18hours.

## (2) 유산균수

요구르트의 발효중 유산균 수의 변화는 발효시간이 증가함에 따라 발효 6시간째까지는 증가하는 경향을 보였으나 발효 9시간 후에는 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 발효초기의 유산균은  $10^7$ 의 범위의 유산균수가 나타났으나 발효 9시간 이후로는 모든 요구르트에서  $10^8$  정도의 유산균수를 나타내었으며, 요구르트의 유산균수는 발효시작 후 6시간까지 증가량이 많았으며 6시간이후는 천천히 증가하다 감소하는 경향을 나타내었다. (fig. 29). 배양인삼, 알로에 클로렐라를 첨가한 요구르트는 유산균의 증식을 촉진하는 효과가 있다고 보고되어 있으나(신등 1995, 이와 박 2003, 성등 2005), 본 연구에서는 첨가



농도에 따른 유산균의 증식 촉진효과는 나타나지 않았는데 이는 버섯의 항균작용에 의한 것으로 사료된다.

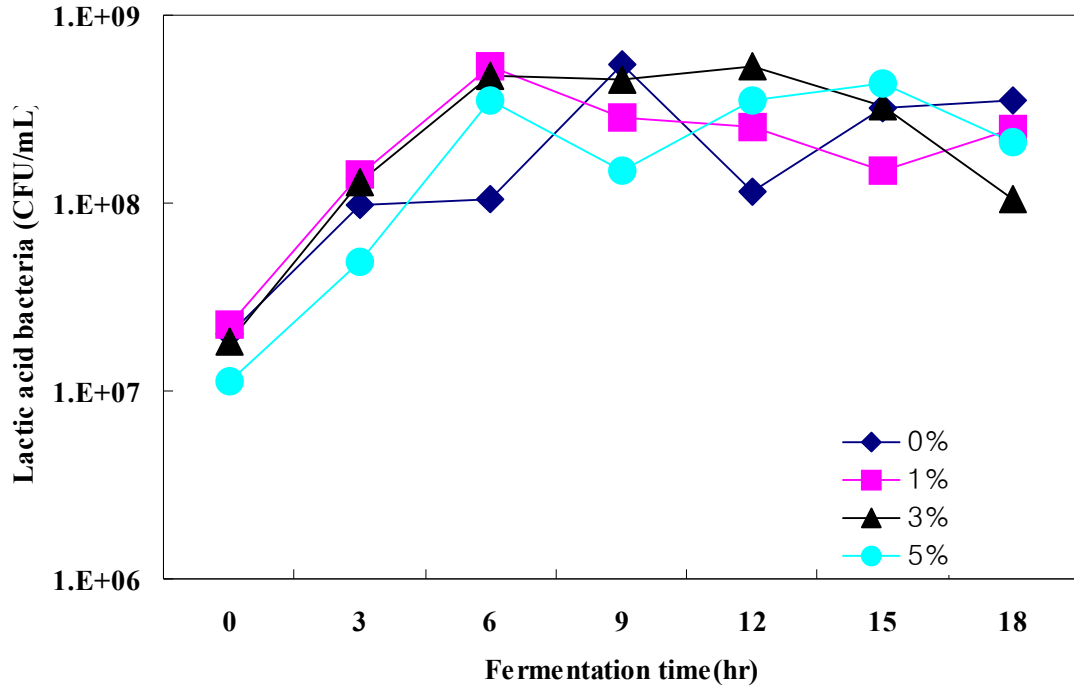


Fig. 29. Number of Lactic acid bacteria in yogurt with powdered mushroom extracts fermentation at 38°C for 18 hours.

(3) 관능검사

해송이 버섯 추출물을 첨가한 요구르트의 관능검사 결과는 Table 61와 같다.

Table 61. Result of sensory evaluation of yogurt with powdered mushroom extracts

Mushroom extracts content (%)	0	1	3	5
Color	4.37 <sup>a</sup>	3.75 <sup>ab</sup>	2.75 <sup>bc</sup>	2.50 <sup>c</sup>
Texture	3.12 <sup>a</sup>	3.50 <sup>a</sup>	3.62 <sup>a</sup>	3.37 <sup>a</sup>
Taste	4.50 <sup>a</sup>	3.37 <sup>b</sup>	2.25 <sup>b</sup>	2.37 <sup>b</sup>
Flavor	3.75 <sup>a</sup>	2.62 <sup>b</sup>	1.50 <sup>c</sup>	1.12 <sup>c</sup>
Overall	4.37 <sup>a</sup>	3.75 <sup>ab</sup>	2.75 <sup>bc</sup>	2.50 <sup>c</sup>

관능검사 결과 해송이 버섯을 첨가 하지 않은 처리군에서 가장 좋은 점수를 얻었으나, 해송이 버섯 추출물을 첨가한 요구르트에서는 1%에서 가장 좋은 점수를 얻었으나, 해송이 버섯 추출물을 첨가한 처리군에서는 유의적으로 좋은 점수를 얻었으며, 해송이 버섯을 첨가한 요구르트의 관능점수가 낮게 나온 이유는 버섯 추출물을 첨가시 추출물을 건조한 고농도의 추출물을 첨가하여, 1% 농도만 첨가하여도 버섯의 향과 맛이 아주 강하게 나타나서 쓴맛이 나타났기 때문에 관능점수가 낮게 나온 것으로 사료된다.

#### (4) 요구르트의 일반성분

멸치분말을 첨가한 농후발효유는 분유 및 멸치분말의 함량이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었으며, 지방은 분유 및 멸치분말의 함량 증가에 의해 큰 변화를 보이지 않았는데 이는 요구르트의 제조에 첨가된 분유 및 멸치분말 모두 탈지한 것이기 때문인 것으로 사료된다(Table 62).

Table 62. Proximate of yogurt prepared with mushroom extracted powder fermented at 38°C for 18hours.

Mushroom extracts content	Moisture	Ash	Fat	Protein
0	82.3	1.6	3.4	5.1
1	81.9	1.6	3.3	5.1
3	80.4	1.8	3.4	5.3
5	78.8	2.0	3.4	5.3

(%)

### 다. 해송이 분말 첨가 국수 제조

#### (1) 조리중 변화

해송이 버섯을 첨가한 조리국수의 조리특성은 다음 Table 63와 같다. 조리국수의 중량과 부피는 해송이버섯의 첨가량에 따른 큰 차이는 없었다. 675nm에서의 탁도는 해송이 버섯의 첨가량이 증가할수록 조리액의 탁도는 감소하는 경향으로 조리중 고형분의 유출이 해송이버섯의 첨가량이 증가할수록 감소하는 것으로 나타났다

Table 63. Cooking quality of noodle with mushroom powder.

Mushroom powder content	Cooked wt(g)	Cooked volume(mL)	Absorbance (675nm)
0%	196.5	180	0.3167
5%	198.7	180	0.2965
10%	200.3	180	0.2900
15%	198.7	180	0.2845

(2) 색도

해송이버섯을 첨가하여 제조한 국수의 색도는 Fig 와 같다. L값은 해송이버섯 비 첨가구에 해송이버섯 첨가구에서 값이 낮게 나타났으며, 첨가농도가 증가할수록 L값은 감소하는 경향을 나타내었다. 적색도를 나타내는 a값과 황색도를 나타내는 b값은 해송이버섯의 첨가량이 증가할수록 값이 증가하는 경향을 나타내었으며, 갈색도는 해송이버섯 분말의 첨가량에 비례하는 경향으로 나타났다(fig. 30). 김등(1997)은 국수의 제조시 대체분의 첨가량이 증가할수록 L값이 급격히 감소하고, a와 b값은 증가해 품질저해요인이 될 수 있다고 하였으나, 기능성이 강화된 해송이버섯 분말 첨가 국수의 경우는 관능검사에서 보듯 L값이 감소하고 a와 b값이 증가하여도, 높은 관능점수를 얻은 것으로 보아, L값이 감소하고 a와 b값이 증가하여도 큰 품질저해요인이 되지는 않는다고 사료된다.

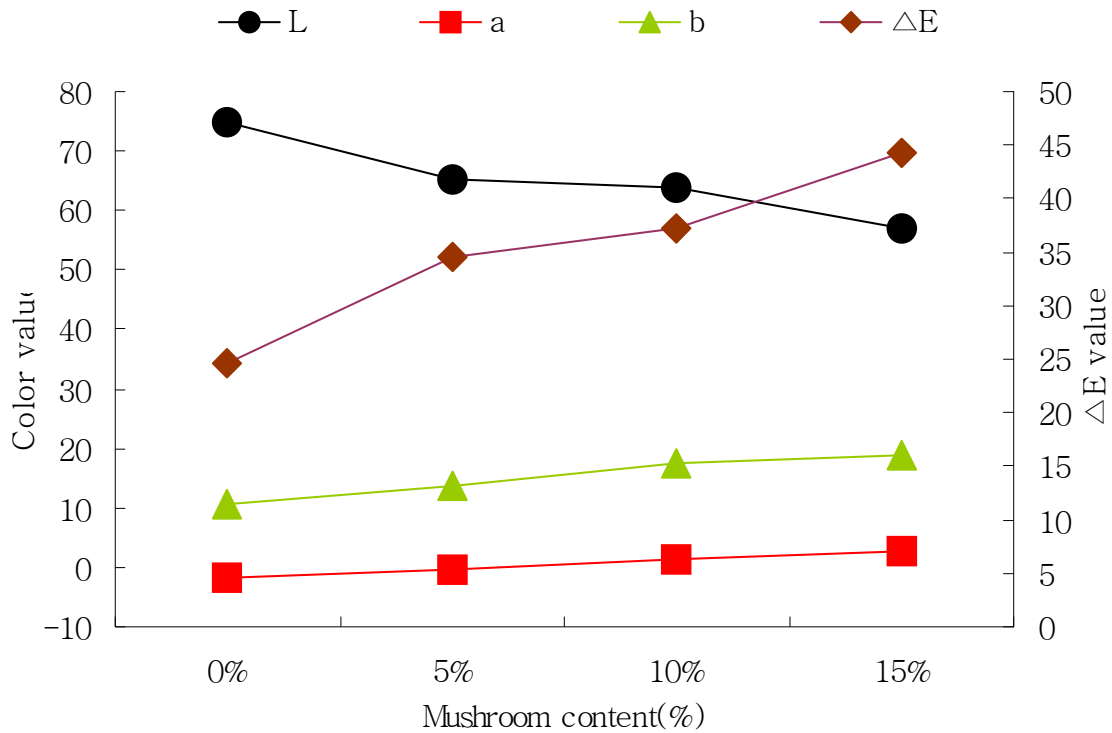


Fig. 30. Color value of cooked noodle with mushroom powder.

### (3) 물성 변화

해송이버섯 분말을 첨가하여 제조한 생면을 조리한 후 물성을 측정된 결과는 Table 과 같다. 견고성은 10% 해송이버섯 첨가군에서 가장 높게 나타났으며 해송이버섯 비 첨가군에서 가장 낮게 나타났는데 이는 해송이버섯 비첨가군의 경우에는 글루텐이 첨가가 되지 않았기 때문에 견고성이 낮게 나타난 것으로 사료된다. 부착성은 해송이버섯 분말 10% 첨가군에서 가장 좋게 나타났다. 씹힘성 역시 10% 첨가군에서 가장 좋게 나타났다. 이 결과를 보면 해송이버섯 분말을 첨가한 국수의 조리 후 물성은 10% 해송이버섯 첨가군에서 가장 좋은 결과를 보였다(table 64).

김(1998)은 느타리버섯과 표고버섯 분말을 사용하여 제면한 후 물성을 측정된 결과 느타리버섯은 견고성, 응집성, 씹는감 등이 급격히 감소한 반면, 표고버섯의 경우에는 증가하는 경향을 나타내어 버섯분말의 경우에 버섯 분말의 종류에 따라 가공적성에 큰 차이가 있다고 보고하였으며, 본 실험에서도 표고버섯으로 제면한 결과와 유사한 결과를 보였다.

Table 64. Texture of cooked noodle with mushroom powder.

Mushroom powder content (%)	Hardness (g)	Adhesiveness	Springiness	Cohesiveness	Chewiness
0	146.16	-14.52	2.10	0.321	101.05
5	163.97	-14.88	1.12	0.385	61.43
10	211.97	-17.86	2.27	0.352	167.44
15	182.70	-15.04	2.23	0.311	123.24

(4) 관능검사

해송이 버섯 분말을 첨가한 국수의 관능검사 결과는 Table 65과 같다.

Table 65. Sensory evaluation of cooked noodle with mushroom powder.

Mushroom powder content (%)	0	5	10	15
Color	3.0 <sup>a</sup>	3.4 <sup>a</sup>	3.9 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>
Texture	3.0 <sup>a</sup>	3.5 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>
Flavor	3.1 <sup>a</sup>	3.9 <sup>a</sup>	3.9 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>
Taste	3.1 <sup>b</sup>	3.6 <sup>ab</sup>	4.2 <sup>a</sup>	3.5 <sup>ab</sup>
Overall	3.2 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>	4.0 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>

색은 해송이 버섯을 첨가함은 인지한 상태에서 측정한 결과 10% 해송이버섯 첨가군에서 가장 좋은 점수를 얻었으며, 15% 첨가군의 경우에는 너무 색이 짙어서 10% 첨가군에 비하여 낮은 점수를 얻었다. 물성은 상기의 물성 측정 결과와 일관성 있는 10% 첨가군에서 가장 좋은 결과를 얻었으며, 견과성이 높을수록 관능검사의 물성 점수가 좋게 나타나는 경향이였다. 향은 5% 첨가군과 10% 첨가군에서 같은 점수를 얻었으며, 맛 역시 10% 첨가군에서 가장 좋은 점수를 얻었으며, 종합적 기호도는 10% 첨가군에서 가장 좋

은 점수를 얻었으며, 해송이버섯을 첨가하지 않은 조리면에서 두번째로 좋은 점수를 얻었으나 통계적인 유의적 차이는 없었다.

### 라. 해송이버섯 분말을 이용한 발효 식초 제조

#### (1) 종초의 제조

종초제조는 다음과 같이 실시하였다. 121℃에서 4시간 동안 가압추출하여 여과한 현미추출액 1000ml(현미에 물을 20배 가하여 추출)에 해송이추출물 건조분말 10g을 가하고 5% glucose, yeast extract 0.5g, peptone 5g, 1.1% 인산염, 6% 주정을 첨가하고, 미리 배양한 *A. aceti* 435(한국식품연구원에서 분양받음)를 접종하여 30℃에서 5일간 배양하여 제조하였다.

#### (2) 발효조건

발효조건은 예비실험 결과에 따라 초발산도 2%, 에탄올 6%, glucose 5%로 하였고 발효온도와 교반속도는 신 등(2003)과 같이 30℃, 200rpm으로 하였다.

#### (3) 숙성중 산도의 변화

해송이버섯 추출물과 현미추출물을 혼합하여 30℃에서 16일간 숙성하면서 총산의 변화를 조사한 결과는 Fig. 31과 같다.

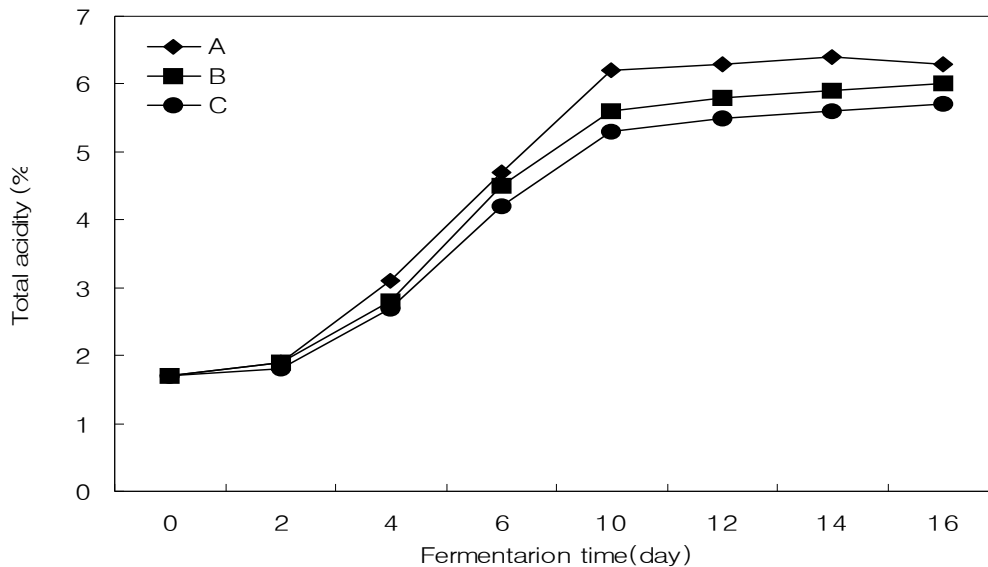


Fig. 31 . Changes in total acidity during acetic acid fermentation

- 1) A : brown rice extract : 1% solution of Haesongi mushroom extract = 2:1(v/v)
- B: brown rice extract : 1% solution of Haesongi mushroom extract = 1:2(v/v)
- C: brown rice extract : 1% solution of Haesongi mushroom extract = 1:1(v/v)

총산은 발효초기 1.7%로 발효가 진행됨에 따라 서서히 증가하여 발효 4일만에 2.7 - 3.1%로 되었다가 14일경에 각각 5.6 - 6.4로 가장 높은 수치를 나타낸 후 다소 감소하거나 변화가 없는 경향이였다. 총산도는 현미추출액의 함량이 높을수록 높은 값을 나타내는 경향이였다. 식품공전(2008)에 따르면 식초는 총산도가 4.0 - 29.0% 미만으로 되어 있어, 현미추출액과 해송이버섯 추출액을 혼합한 양조식초의 제조에는 어려움이 없을 것으로 생각된다.

#### (4) 유리아미노산

해송이버섯 추출물과 현미추출물을 혼합하여 숙성한 양조식초의 유리아미노산 함량을 조사한 결과는 Table 66과 같다.

Table 66. Free amino acid composition of vinegars

(Unit : mg%)

Free amino acids	Vinegars <sup>1)</sup>		
	A	B	C
Aspartic acid	0.5	1.2	0.3
Serine	2.1	0.2	1.3
Glutamic acid	3.1	4.5	3.3
Glycine	3.3	3.3	2.5
Histidine	1.1	1.8	0.9
Threonine	2.2	1.8	1.6
Arginine	3.3	-	2.1
Alanine	6.2	5.8	6.0
Proline	2.4	3.1	2.6
Cystine	-	-	-
Tyrosine	2.6	2.4	2.4
Valine	5.3	3.6	4.2
Methionine	1.2	1.3	0.9
Lysine	1.4	2.4	3.7
Isoleucine	1.4	1.1	1.2
Leucine	2.1	3.2	3.2
Phenylalanine	2.2	1.3	3.3
Total	40.4	37.0	39.5

<sup>1)</sup> referred in Fig. 31

아미노산은 원료에서 유리하지만 총유리아미노산함량은 A치리구가 40.4mg%, B치리구가 37.0mg%, C치리구가 39.5mg%로 나타났다. 유리아미노산중 alanine, valine 및 감칠맛을 내는 glutamic acid의 함량이 높았다.

#### (5) 유기산

해송이버섯 추출물과 현미추출물을 혼합하여 숙성한 양조식초의 유기산을 조사한 결과는 Table 67 와 같다.

유기산은 oxalic, malic, acetic citric 및 succinic acid가 검출되었으며 acetic acid의 함량이 가장 높았다. 식초의 유기산은 TCA cycle을 도와준다고 보고되고 있어 본 연구의 현미추출액과 해송이버섯추출액을 혼합하여 제조한 식초는 다량의 유기산 등이 체액을 산성으로하는 젖산 등의 생성을 방지하거나 분해시키는 데 도움을 줌으로써 인체대사를 촉진하는 역할을 기대할 수 있다. 시중에는 식초를 이용한 음료가 선보이고 있으며, 다이어트용 소재로서도 식초가 각광을 받고 있는 추세이다.

Table 67. Organic acid content of vinegars

Organic acid	Vinegars <sup>1)</sup>		
	A	B	C
Oxalic	3.5	3.6	4.4
Malic	13.2	17.4	15.1
Acetic	714.6	532.7	671.3
Citric	52.3	48.2	51.7
succinic	12.7	13.2	12.4
Total	796.3	615.1	754.9

<sup>1)</sup> referred in Fig. 31

#### (6) 무기질

해송이버섯 추출물과 현미추출물을 혼합하여 숙성한 양조식초의 무기질 함량을 분석한 결과는 Table 68와 같다. 미량성분중 P와 K의 함량이 높았다. 특히 해송이버섯 추출물의



함량이 높은 B처리구의 경우 K의 함량이 다른 처리구에 비하여 월드외 높았다. 이는 해송이 버섯에서 유래한 것으로 보이며 해송이버섯에는 K의 함량이 3,158mg%로 높게 함유되어 있는 특성이 있다.

Table 68. Organic acid content of vinegars

(Unit : mg%)

Mineral	Vinegars <sup>1)</sup>		
	A	B	C
Ca	0.8	—	trace
P	82.3	55.7	53.5
Mg	21.3	28.2	26.3
K	48.7	72.7	52.4
Na	15.7	9.1	12.6
Total	168.8	165.7	144.8

<sup>1)</sup> referred in Fig. 31

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절 연구개발 목표의 달성도

#### 1. 1차년도 연구개발목표에 대한 달성도

##### 가. 1차년도 연구개발목표 및 내용

연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
○ 해송이 유래 생리활성 물질 탐색 및 활성 구명	○ 생리 활성 물질의 탐색	○ 유용 성분의 조사 분석 - 일반성분, 무기질, 아미노산등 ○ 생리활성 물질 구명 - β-glucan, 식이섬유 등
	○ 추출물의 <i>in vitro</i> 생리활성 효과 구명	○ 추출방법에 따른 유효성분의 추출효과 및 생리활성 구명 - 항산화 효과 · DPPH 라디칼 소거법 - 항암효과 · MTT assay - 항비만효과 · CPT I 활성측정 - 항당뇨효과 · α-amylase inhibition · α-glucosidase inhibition

##### 나. 연구목표에 대한 달성도

###### (1) 유용성분의 조사분석

###### (가) 일반성분

신품종 해송이 버섯과 만가닥 버섯을 건조하여 분말화 하여 일반성분을 분석하였다. 해송이 버섯의 지방과 무기질 함량이 각각 4.5%와 8.7%로 만가닥 버섯에 비하여 많았다.

그러나 단백질과 당함량은 만가닥 버섯이 22.3%과 65.3% 로 해송이 버섯에 비하여 많은 함량을 나타냈다.

#### (나) 무기질

해송이 버섯의 K, Cu, Mg, Mn 그리고 Zn의 함량이 만가닥 버섯의 함량보다 높았다. 또한 다른 버섯류와 비슷하게 K의 함량이 다른 무기질의 함량보다 월등히 높은 함량을 나타내었다. 이는 해송이 버섯이 우수한 무기질 공급원의 식품이 될 수 있음을 보여주고 있다.

유해한 활성산소의 생성 저해와 관련이 있는 것으로 알려진 아연, 망간, 구리 그리고 철의 함량은 해송이 버섯의 경우 14.85mg%, 만가닥버섯은 16.32mg%로 만가닥버섯이 높은 함량을 나타내었다. 그러나 이노작용을 촉진시키고 고혈압에 좋은 효과를 나타낸다고 보고된 K와 체내의 저항력강화와 골격유지 등과 관련이 있는 Mg의 함량은 해송이 버섯이 높은 함량을 나타내었다.

#### (다) 아미노산

구성아미노산의 총 함량은 각각 10385.8mg%과 11418.3mg%로 만가닥 버섯이 많은 함량을 나타내었다. 필수 아미노산의 함량 또한 만가닥버섯이 4524.4mg%로 많은 함량을 나타냈다. 그러나 비필수 아미노산 중 arginine, asparic acid 그리고 glutamic acid의 함량은 해송이 버섯이 비교적 높았다. 다른 아미노산의 맛을 변화시키거나 강화시켜 주는 glutamic acid가 다량 함유되어 해송이 버섯의 특유한 맛을 증가시키는 것으로 생각된다

### (2) 생리활성물질 구명

#### (가) $\beta$ -glucan, 식이섬유, 환원당

해송이 버섯의 베타 글루칸 함량은 9.15%로 만가닥 버섯의 6.05%보다 많은 함량을 나타내었다. 그리고 해송이 버섯의 환원당은 4.36%로 만가닥 버섯의 1.46%보다 높은 함량을 나타내었으나 식이섬유의 함량은 해송이 버섯이 28.75%로 만가닥 버섯의 31.34%보다 낮은 함량을 나타내었으며, 해송이 버섯의 식이섬유는 만가닥 버섯보다 낮은 함량을 나타내었다.

### (3) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 유용성분 구명

#### (가) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 수율

해송이 버섯의 기능적 특성을 나타내는 유효성분을 효율적으로 추출하기 위하여 건조된 해송이와 만가닥 버섯 분말시료에 각기 다른 농도의 에탄올과 100℃에서 4시간씩 3

회 반복하여 추출한 후 그 추출액을 동결 건조하여 추출물을 제조하였다.

에탄올의 농도가 높아짐에 추출물의 수율이 감소하는 경향을 나타내었으며 물로 추출하였을 경우 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 수율이 각각 60.63%와 55.88%로 나타났고 95%의 에탄올로 추출하였을 경우 23.64%와 27.95%로 추출물의 제조수율이 급격히 감소하였다.

#### (나) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 당과 단백질 함량변화

추출 용매인 에탄올의 농도에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 총당과 단백질의 함량을 분석한 결과, 에탄올의 농도가 증가할수록 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 총당 함량은 각각 39.9%와 37.0%에서 36.8%와 36.3%로 감소하는 경향을 나타내었고 해송이 버섯 추출물이 만가닥 버섯 추출물보다 높은 당 함량을 나타내었다. 해송이와 만가닥 버섯의 추출물의 에탄올 농도에 따른 단백질의 함량 변화는 각각 39.9%와 37.0%에서 36.8%와 36.3%로 총당의 함량과 마찬가지로 에탄올 농도가 증가할수록 단백질의 함량이 감소하였다. 이는 해송이와 만가닥 버섯중의 단백다당체 등이 알코올에 의해 침전을 일으켜 여과 중에 제거 되었을 것으로 사료된다. 해송이 버섯 추출물의 단백질 함량 또한 만가닥 버섯 추출물보다 높은 함량을 나타냈다.

#### (다) 추출방법에 따른 해송이 버섯과 만가닥 버섯의 총 폴리페놀 함량변화

총 폴리페놀의 함량도 총당과 단백질의 함량변화와 마찬가지로 에탄올의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었고 해송이 버섯이 만가닥 버섯보다 전체적인 농도 범위에서 총 폴리페놀의 함량이 높음을 알 수 있었다. 해송이 버섯의 열수 추출물에서의 총 폴리페놀 함량이 1.89%로 새송이버섯, 팽이 버섯과 만가닥 버섯의 총 폴리페놀함량인 1.43%, 0.032~0.035% 그리고 0.15~0.29%보다 훨씬 높은 값을 보여주었다.

### (4) 추출물의 생리활성 구명

#### (가) 항산화 효과

DPPH를 이용하여 전자공여작용을 측정하였다. 해송이 버섯은 추출용매에 상관없이 50mg/mL이상의 농도에서 모두 90%이상의 높은 활성을 나타내었으며 해송이 버섯의 열수추출물을 100mg/mL의 농도에서 96.70%로 가장 높은 활성을 나타냈다. 그러나 만가닥 버섯추출물의 전자공여능은 50mg/mL의 농도에서 47~74%로 해송이 버섯보다 낮은 활성을 나타내었으며 95%에탄올 추출물 100mg/mL의 농도에서 91.30%로 가장 높은 활성을 나타내었다.

또한 해송이 버섯은 5mg/mL의 농도에서 51~57%의 활성을 나타내었으나 만가닥 버

섯추출물은 10%미만의 활성을 나타내어 해송이 버섯추출물에 비해 낮은 활성을 나타냈다.

#### (나) ACE 저해효과

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 ACE 저해활성은 열수추출물이 각각의 다른 농도의 에탄올 추출물보다 높은 활성을 나타냈다. 해송이 버섯의 열수추출물은 40mg/mL 이상의 농도에서 90%이상의 활성을 나타냈다. 만가닥 버섯의 경우 열수추출물을 제외한 나머지 처리구에서 40mg/mL의 농도에서도 50%이하의 낮은 활성을 나타냈다. 반면 해송이 버섯은 모든 처리구에서 30mg/mL의 농도에서 50%이상의 높은 활성을 보였으며 열수추출물의 경우 10mg/mL에서도 50%이상의 높은 활성을 나타내었다.

#### (다) AGS에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 위암세포인 AGS에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과, 모든 처리구의 해송이 버섯추출물은 1mg/mL의 농도 이상에서 50%이상의 증식 억제효과를 나타냈다. 그러나 만가닥 버섯추출물은 5mg/mL의 농도 이상에서 50%이상의 증식 억제효과를 나타냈다. 또한 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물 모두 추출액 알코올의 농도가 높아질수록 증식 억제효과가 떨어지는 것으로 나타났다. 해송이 버섯의 열수추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 10mg/mL의 농도에서 90%이상의 높은 증식억제효과를 보였다.

#### (라) HepG2에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 간암세포인 HepG2에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과, 해송이 버섯의 열수 추출물과 25%에탄올추출물의 경우 5mg/mL의 농도에서 50%이상의 증식억제효과를 나타냈으며 에탄올의 농도가 증가함에 따라 증식억제효과가 감소하는 경향을 보였으나 95% 에탄올에서는 증식 억제율이 증가하였다. 그러나 만가닥 버섯추출물의 경우 10mg/mL의 농도에서 에탄올의 농도가 증가함에 따라 증식억제효과가 비례적으로 증가하였으나 95% 에탄올 농도에서는 감소하여 해송이 버섯과 상이한 결과를 나타냈다. 추출물의 0.5mg/mL농도에서는 해송이 버섯의 열수추출물을 제외한 나머지 처리 구에서 모두 10%미만의 낮은 증식억제효과를 나타냈다.

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 1mg/mL의 농도에서의 세포증식억제효과는 각각 27.8~39.0%와 10.15~23.77%로 낮은 세포증식억제효과를 보임을 알 수 있었다.

(마) SW480에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 결장암 세포인 SW480에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과, 해송이 버섯의 열수추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 10mg/mL의 농도에서 50%이상의 세포 증식억제효과를 나타냈으며 나머지 처리구는 50%미만의 낮은 세포증식억제효과를 나타냈다. 반면 만가닥 버섯의 열수추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 5mg/mL이상의 농도에서 50%이상의 세포증식억제효과를 나타내어 SW480에 대한 세포증식억제효과는 만가닥 버섯의 추출물이 높은 경향을 나타내었다. 또한 SW480에 대해서도 마찬가지로 에탄올의 농도가 증가할수록 모든 처리구에서 낮은 세포증식억제효과를 나타냄을 알 수 있었다.

(바) HeLa에 대한 해송이와 만가닥 버섯의 세포독성

인간유래 자궁암세포인 HeLa에 대한 해송이 버섯과 만가닥 버섯 추출물의 세포독성을 실험한 결과, 해송이 버섯의 열수 추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 5mg/mL이상의 농도에서 50%이상의 증식억제효과를 나타냈으며 나머지 처리구에서는 모두 50%이하의 증식억제효과를 나타냈다. 또한 열수 추출물을 제외한 나머지 처리구의 0.5mg/mL의 농도에서 10%미만의 낮은 증식억제효과를 나타냈다. 만가닥 버섯의 경우 모든처리구에서 10%이상의 증식억제효과를 나타내었으며 0%~50%에탄올 추출물의 경우 5mg/mL이상의 농도에서 50%이상의 증식억제효과를 나타냈다. 자궁암 세포인 HeLa에 대해서 SW480과 마찬가지로 만가닥 버섯의 추출물이 더 낮은 효과를 나타냈다.

(사) 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 항당뇨 효과

① 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의  $\alpha$ -glucosidase inhibitory

해송이 버섯의 열수 추출물과 25%에탄올 추출물의 경우 0.5mg/mL의 농도에서 50%이상의  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해 효과를 나타냈으며 1mg/mL의 농도 이상에서는 모든 처리구에서 70%이상의 저해 효과를 나타내었다. 그러나 0.05mg/mL의 농도 이하에서는 10%미만의 저해 효과를 나타내었다.

해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해효과는 에탄올의 농도가 증가함에 따라 저해효과가 떨어지는 경향을 나타냈으며 해송이 버섯의 추출물이 만가닥 버섯의 추출물보다  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해효과가 높게 나타났다.

② 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의  $\alpha$ -amylase inhibitory

해송이 버섯의 열수추출물, 25% 그리고 50%에탄올 추출물의 경우 0.1mg/mL에서 50%이상의  $\alpha$ -amylase 저해효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나

75%에탄올 추출물의 경우 1.0mg/mL 농도에서 50%이상의  $\alpha$ -amylase 저해효과가 나타났고 95%에탄올 추출물의 경우는 1.0mg/mL 농도에서 47.5%의  $\alpha$ -amylase 저해효과를 나타냈다. 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의  $\alpha$ -amylase에 대한 저해효과가  $\alpha$ -glucosidase의 저해효과와 마찬가지로 에탄올의 농도가 증가함에 따라 감소함을 알 수 있었고 해송이 버섯추출물이 만가닥 버섯추출물보다 높은  $\alpha$ -amylase 저해효과가 있는 것으로 나타났다.

(아) 해송이 버섯과 만가닥 버섯추출물의 항비만 효과

해송이 버섯과 만가닥 버섯 모두 추출용매인 에탄올의 농도가 높아질수록 3T3-L1 cell의 지방세포분화 및 억제 능이 떨어지는 것으로 나타났다. 증류수로 추출하였을 경우 해송이와 만가닥 버섯의 항비만 효과는 각각 63.76%와 71.93%로 나타나 가장 높은 효과를 보였다. 또한 만가닥 버섯이 해송이 버섯보다 높은 항비만 효과를 나타내었다. 50%에탄올 농도까지는 항비만 효과가 완만한 감소를 보였으나 50%이상의 농도에서는 항비만 효과가 급격히 떨어지는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과로 볼 때, 당초 계획했던 연구목표를 충분히 달성(100%)한 것으로 판단된다.

다. 평가의 착안점 및 기준에 따른 달성도

평가의 착안점 및 기준	가중치	연구수행내용	달성도
○ 해송이 버섯의 생리활성 물질의 확인	40 %	○ 유용성분의 조사분석 완료 - 일반성분, 무기질, 아미노산 등 ○ 생리활성물질 구명 완료 - $\beta$ -glucan, 식이섬유, 환원당 등	100%
○ 적절한 추출방법의 선택 여부 ○ 추출방법에 따른 생리활성의 비교	60 %	○ 추출용매별 유효성분 추출효과 구명 완료 - 열수추출물>에탄올추출물 ○ 추출물의 in vitro 생리활성효과	100%

		구멍(만가닥버섯과 비교 실험) 완료 - 항산화, ACE저해효과, 항암, 항당뇨, 항비만효과 구멍	
--	--	--	--

## 2. 2차년도 연구개발목표에 대한 달성도

### 가. 2차년도 연구개발목표 및 내용

연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
○ 해송이 유래 생리활성 물질의 추출공정 설정 및 추출물의 식품소재화 기술 개발	○ 생리활성 물질의 최적 추출공정 설정	○ 반응표면분석법을 이용한 최적 추출조건 확립 - 추출용매, 추출온도, 추출시간 등 인자들의 다중반응 최적화 - 추출공정에 미치는 인자들의 영향요인 분석 ○ 추출방법별 추출효율 및 생리기능 효과 분석 ( <i>in vitro</i> ) ○ 추출물의 이화학적 특성 분석
	○ 추출물의 동물모델 ( <i>in vivo</i> )에서의 생리활성 검색	○ 항당뇨 효과 측정시험 ○ 항비만효과 측정시험
	○ 추출물의 식품소재화 기술 개발	○ 동결방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리 특성 변화 측정 ○ 건조방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리 특성 변화 측정 ○ 추출물을 이용한 시제품 제조시험

### 나. 연구목표에 대한 달성도

#### (1) 기능성분의 추출최적화

1차년도 연구결과 물로 추출하였을 때 유용성분과 생리기능성이 높았으므로 추출용매는 물을 선정하였다. 반응표면분석법에 의한 최적 추출조건은 추출온도 70℃, 추출시간 9시간, 용매비는 약 52배로 산출되었다. 이때 총폴리페놀과 베타글루칸 및 추출수율은 각각 1.8%, 22.0% 및 56%로 예상되었으나 실제값은 각각 1.72%, 22.4% 및 61%로 나타나 실험설계가 적합하였다.

#### (2) 추출공정에 미치는 인자들의 영향요인 분석



추출수율에는 추출온도와 추출시간이 주요 영향인자였으며, 총폴리페놀함량과  $\beta$ -glucan 함량은 추출용매비와 추출시간에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다.

### (3) 추출물의 분리와 분자량

해송이 버섯의 최적 추출물(SE)을 알코올 침전한 후 저분자물질을 제거하여 COE를 회수하였다. COE를 음이온 교환수지인 DEAE-Sephacell이 충전된 칼럼을 이용하여 증류수 분획의 중성다당체 (NP)와 2M-NaCl 분획의 산성다당체 (AP)로 분리하였다. 산성다당체와 중성다당체 모두 단백질과 결합된 단백다당체인 것으로 사료되어진다. 또한 NP와 AP의 분자량은 모두 20kDa 이상의 고분자 물질인 것으로 나타났다.

### (4) 추출물의 분획별 단당류 조성

SE와 COE는 glucose, galactose, mannose, ribose, fucose, 그리고 rhamnose로 구성되었으며 AP와 NP는 glucose, galactose, mannose, fucose, rhamnose로 구성되었다. COE의 주구성당은 glucose, galactose, mannose, 그리고 fucose이 있으며 AP의 주구성당은 glucose, galactose이 었다. 그리고 NP의 주요 구성당은 galactose, mannose, 그리고 fucose 이었다. COE의 glucose 함량이 가장 높았으며 galactose의 함량은 NP의 것이 가장 높았다. 또한 fucose의 경우 COE와 NP의 경우 각각 9.61%와 10.58%로 높았으나 SE와 AP의 경우 2%미만으로 낮은 함량을 나타내었다.

### (5) 추출물의 분획별 기능성분 함량

다른 분획에 비하여 COE의  $\beta$ -글루칸 함량이 22.20%로 가장 높은 것으로 나타났으며 NP의  $\beta$ -글루칸 함량이 가장 낮은 것으로 나타났다. SE의 총폴리페놀함량은 1.94%로 다른 분획에 비하여 가장 높은 함량을 나타내었다. COE와 NP의 당 함량은 57.05%와 57.49%로 높게 나타났으며 COE의 단백질함량은 26.92%로 다른 분획에 비하여 가장 높게 나타났다.

### (6) 추출물의 분획별 생리활성

#### (가) 항산화 활성

모든 분획이 농도가 증가할수록 전자공여능이 증가하는 경향을 나타내었다. SE가 다른 분획에 비하여 가장 높은 전자공여능 효과를 나타내었다. 30 mg/mL의 농도에서 SE, COE, AP, 그리고 NP의 DPPH 라디칼 소거효과가 각각 66.2%, 39.0%, 16.8% 그리고 21.8%로 나타났다. 40-60 mg/mL의 농도에서 SE, COE, AP와 NP의 전자공여능이 각각 79.1-79.6%, 46.1-56.1%, 그리고 25.3-36.1%로 세 가지 경향의 전자공여능 효과를 나타내었다.

(나) ACE 저해활성

모든 분획이 농도가 증가 할수록 저해활성이 커지는 것으로 나타났다. SP의 ACE 저해활성이 94.76%로 가장 높게 나타났으며 NP (77.73%), COE (60.26%) 그리고 SE (47.16%) 순으로 나타났다. AP와 COE의 경우 15 mg/mL의 농도까지 농도의존성 증가를 보인 그 이후 농도에서는 완만한 증가를 나타내었다. SE의 경우 가장 낮은 ACE 저해활성을 나타내었다.

(다)  $\alpha$ -amylase, glucosidase 저해 활성

30 mg/mL의 농도에서 COE의  $\alpha$ -amylase 저해활성은 68.20%로 다른 분획에 비하여 가장 높게 나타났으며 AP와 NP의  $\alpha$ -amylase 저해활성의 경우 27.98%와 33.09%로 낮은 활성을 나타내었다. SE와 COE의 경우 25mg/mL의 농도까지 완만한 증가를 보인 후 그 이상의 농도에서 급격한 저해활성을 나타내는 것으로 나타났다.

$\alpha$ -glucosidase 저해활성을 나타낸 것으로 모든 분획이 농도가 증가할수록 저해활성이 커지는 것으로 나타났다. COE는 2.5mg/mL의 농도에서  $\alpha$ -amylase 저해활성이 76.13%로 가장 높게 나타났으며 SE와 COE는 67.76%와 76.12%로 AP와 NP의 23.48%와 30.33%보다 높게 나타났다.

(라) 암세포에 대한 세포독성

COE는 0.5mg/mL의 농도에서 간암 세포주인 HepG2에 82.45%의 가장 높은 세포독성효과를 나타내었다. 위암세포주인 AGS 에대한 NP, SE, COE 그리고 AP의 세포독성효과는 각각 73.97, 54.23, 52.07, 그리고 31.88%로 나타났다. 대장암세포주인 SW480에 대한 세포독성효과는 모든 분획에서 20%미만으로 효과가 없는 것으로 나타났다.

(마) 항비만효과

COE의 경우 negative control과 비슷하게 지방구의 수와 크기가 positive control과 다른 분획물에 비하여 적은 것을 알 수 있었으나 NP의 경우 지방구의 수나 크기가 positive control과 유사한 것으로 나타났다. NP는 지방구생성에 효과가 적은 것으로 나타났으며 COE의 경우 지방구 생성에 효과가 있는 것으로 나타났다. 따라서 해송이버섯 추출물의 분획물 중 COE가 항비만효과가 가장 효과적일 것으로 사료되어진다.

(7) 추출물의 식품소재화 기술 개발

(가) 동결방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리학적 특성 변화

폴리페놀의 함량은  $-70^{\circ}\text{C}$  급속냉동을 한 경우에서  $-20^{\circ}\text{C}$  저장을 한 경우보다 많은 함

량을 나타내었으나, 항산화 활성의 경우에는  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 동결을 한 추출물이  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 동결을 한 추출물보다 항산화 활성 값이 떨어지는 경향을 나타내었다. 항당뇨효과는  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 동결을 한 추출물이  $\alpha$ -amylase의 억제효과가 뛰어난 경향을 나타내었으나,  $\alpha$ -glucosidase의 억제효과는  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 동결한 추출물에서 더욱 좋은 경향을 나타내었다.

(나) 건조방법에 따른 추출물의 이화학적 및 생리특성 변화

총 폴리페놀의 함량은 동결건조한 추출물이 1.7%로, 분무건조한 추출물의 1.5% 보다는 높았으나 큰 차이를 보이지는 않았으며, 항산화 효과는 동결건조가 84.65%, 분무건조가 82.24%로 동결건조가 보다 좋은 항산화 효과를 나타내는 경향이였다. 항당뇨 효과인  $\alpha$ -amylase와  $\alpha$ -glucosidase 억제 효과 역시 동결건조에서 각각 48.04%, 70.37%로 분무건조의 46.13%, 69.23%보다 높게 나타나는 경향을 나타내었다. 건조방법에 따른 생리특성의 변화를 보면 동결건조가 분무건조보다 분석된 모든 생리특성에서 우수한 경향을 나타내었다.

(8) 해송이 버섯 추출물의 *in vivo* 생리활성 검색

(가) 항당뇨효과

해송이버섯의 항당뇨 효과를 확인하기 위하여 STZ를 주사하여 당뇨를 유도한 후 해송이버섯과 만가닥버섯 추출물을 5주 동안 경구투여 한 결과 실험기간 중 성장률은 대조군이 낮았으나 통계적인 차이는 없었다. 혈당농도는 시작시에는 통계적인 차이는 없었으나, 실험 종료시 혈당은 만가닥버섯 추출물 D군(513 mg/dL)에서 가장 높았고, 만가닥버섯 추출물 E군(321 mg/dL)에서 통계적으로 낮았다( $p < 0.05$ ). 중성지질과 HDL은 실험군간에 통계적인 차이는 없었으며, Fatty acid는 만가닥버섯 추출물 E군에서 가장 낮았고, 대조군(A)에서 가장 높았다. 총콜레스테롤(TC)은 대조군에서 가장 높았고, 만가닥버섯추출물 D군에서 통계적으로 낮았다. 혈액화치는 실험군간의 통계적인 차이가 없었다. 체중 100g당 무게로 환산한 장기무게는 실험군간에 통계적인 차이가 없었다.

(나) 항비만효과

해송이버섯추출물은 만가닥버섯추출물에 비해 고지방식이를 급여한 흰쥐의 체지방의 억제작용과 함께 혈청 지질중 중성지방과 LDL농도를 낮추고 배변량과 장통과시간에서 양호한 결과를 나타내었다.

(9) 해송이버섯 분말의 *in vivo* 생리활성 검색

(가) 항당뇨효과

성장률, 체장무게, 절식후 공복혈당치, C-peptide함량, 혈중 TC와 TG농도, 간기능치, 혈

색소등의 결과를 종합적으로 검토할 때 해송이버섯분말 1%첨가군에서 당뇨유발쥐의 혈당강하 및 체내 혈청 생화학치의 개선작용이 있는 것으로 사료되었다.

(나) 항비만효과

해송이버섯분말첨가군(2%, 4%)에서는 고지방식이를 급여한 흰쥐의 혈청중 중성지방과 LDL-콜레스테롤농도를 낮추고, 체지방축적을 감소시키는 작용이 있는 것으로 사료되었다.

이상의 결과로 볼 때, 당초 계획했던 연구목표를 충분히 달성(100%)한 것으로 판단된다.

다. 평가의 착안점 및 기준에 따른 달성도

평가의 착안점 및 기준	가중치	연구수행내용	달성도
○ 추출제조공정의 개발 ○ 제조공정의 타당성여부	30 %	○ 반응표면분석법을 이용한 최적 추출공정 확립 완료 ○ 최적추출조건에 대한 예상치와 실증치 비교분석으로 실험계획 적합성 검증 완료	100%
○ in vivo 항당뇨 효과 검증 ○ in vivo 항비만 효과 검증	40 %	○ 해송이버섯 추출물과 분말에 대한 항당뇨효과 구명 완료 ○ 해송이버섯 추출물과 분말에 대한 항비만효과 구명 완료	100%
○ 적절한 동결방법 선택여부 ○ 적절한 건조방법 선택여부	30	○ 동결방법에 따른 폴리페놀함량, 항산화, 항당뇨 효과 검증 완료 · -70℃ 급속동결 > -20℃ 완만동결 ○ 건조방법별 폴리페놀함량 항산화, 항당뇨 효과 검증 완료 · 동결건조 > 분무건조	100%

### 3. 3차년도 연구개발목표에 대한 달성도

#### 가. 3차년도 연구개발목표 및 내용

○ 해송이 버섯을 이용한 분말소재화 및 가공식품 제조기술 개발	○ 분말소재화 기술 개발	○ 적정 건조방법 설정 및 특성변화 조사 - 영양성분의 변화 - 생리활성성분의 변화 - 향기성분의 변화 ○ 적정 분쇄방법 설정 및 특성 변화 조사 - 영양성분의 변화 - 생리활성성분의 변화 - 향기성분의 변화
	○ 편의 가공식품 제조기술 개발	○ 식품에로의 응용기술의 개발 - 버섯두부, 버섯국수, 버섯요구르트, 버섯식초 제품 등

#### 나. 연구목표에 대한 달성도

(1) 건조 및 분쇄 방법에 의한 생리활성 물질 및 영양성분의 변화

(가) 식이섬유

건조방법에 따른 식이 섬유 함량은 차이가 적었으나, 분쇄방법에 의한 식이섬유의 함량 차이는 크게 나타났다. 불밀을 사용한 경우에 동결건조는 36.46%, 냉풍건조는 35.81%, 열풍건조는 38.16%으로 다른 분쇄방법보다 높게 나타났으며, 열풍 건조시 식이섬유의 함량이 가장 높은 것으로 나타났다. 그러나 냉풍건조는 핀밀을 사용하여 분쇄하는 것과 불밀을 사용하여 분쇄하는 것이나 비슷한 식이섬유의 함량을 나타내었으며, 롤밀을 사용하는 경우에는 식이섬유의 함량이 조금 감소하는 경향을 나타내었다. 해송이버섯의 식이섬유의 함량을 높이는 분쇄방법으로 는 불밀을 사용하는 것이 식이섬유의 함량이 높아지는 것으로 나타났다.

(나) 환원당, 폴리페놀, flavonoid,  $\beta$ -glucan

환원당은 3.55% 열풍건조를 한 경우에 가장 높게 나타났으며, 분쇄방법에 따른 변화는 핀밀을 사용한 경우가 가장 함량이 높았으며, 불밀을 사용하여 분쇄한 경우에 환원당의 함량이 가장 떨어지는 것으로 나타났다. 총 폴리페놀의 함량은 동결건조를 사용했을 경우에 831.88mg%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 분쇄방법에 따른 함량은 건조방법에 관계없이 불밀을 사용한 경우에 폴리페놀의 함량이 높게 나타나는 경향이였다. 플

라보노이드의 함량은 건조 및 분쇄 방법에 따른 차이는 적었으나, 냉풍건조를 사용한 경우에 57.79mg%로 조금 높게 나왔으며, 동결건조를 사용한 경우 평균 54.28mg%로 가장 적은 함량을 보였다. 분쇄방법에 따라서는 동결건조와 열풍건조는 볼밀을 사용한 경우에서 높은 함량을 보였으나, 냉풍건조의 경우는 볼밀을 사용한 경우에 가장 높은 함량을 나타내었다. 베타 글루칸의 함량은 동결건조, 열풍건조, 냉풍건조가 평균 12.50%, 12.52%, 12.77%를 나타내었으며, 동결건조와 열풍건조에서는 롤밀을 사용한 경우에 가장 높은 함량을 나타내었으며, 냉풍건조를 사용한 경우에는 핀밀을 사용한 경우 가장 좋은 결과를 보였다.

#### (다) 구성당 변화

동결건조시 galactose의 함량이 가장 높게 나타났으며, glucose의 함량이 27.57%로 다른 건조군에 비해 적게 나타났으며, 열풍건조는 galactose의 함량이 1.53%로 가장 적게 나타났으며, glucose의 함량이 41.06%로 가장 높게 나타났다. 분쇄방법에 따른 함량의 변화는 동결건조의 경우 핀밀을 사용한 경우 glucose의 함량이 볼밀과 롤밀을 사용하였을 때의 함량인 30.28%와 29.73%보다 낮게 나타났으며 galactose는 13.02%로 함량이 높게 나타났다. fucose, ribose, mannose는 각각 0.36~0.39%, 0.48~0.59%, 6.34~7.30%로 분쇄방법에 의한 성분의 큰 차이를 보이지 않았다. 냉풍건조는 분쇄방법에 따른 성분간의 차이는 적었으나, glucose에서 롤밀을 사용한 경우가 약간 높게 나타나는 경향이였다. 열풍건조 역시 냉풍건조와 비슷한 경향을 나타내었다.

#### (라) 향기성분의 변화

해송이버섯에는 총 38개의 향기 성분이 검출되었으며, 1-Octen-3-ol 이 42.82% 정도로 주요 향기성분이며 함유되어 있으며, 2-pentylfuran이 11.28%, Palmitic acid가 8.62%로 2번째, 3번째로 많이 함유되어 있었다. 특히 1-octen-3-one(6.97%), 1-octen-3-ol (42.82%), 3-octanol(0.80%), 2-octenal(5.60%), octanol(2.41%) 등 C<sub>8</sub> 인 화합물이 해송이버섯의 주요 향기성분을 구성하는 것을 알 수 있었다.

건조 및 분쇄방법에 따라 차이는 있으나 많은 종류의 성분들이 소실되었다. 특히, 열풍건조시 C<sub>8</sub> 화합물은 거의 존재하지 않았다.

### (2) 편의가공식품제조기술 개발

#### (가) 해송이버섯 분말첨가 두부 제조

해송이버섯 분말을 2.5% - 10% 첨가하여 두부를 제조하고 관능검사를 실시한 결과, 2.5% 첨가군에서 색, 조직감, 맛, 향미 등 관능적 품질이 가장 높았다.

(나) 해송이버섯 추출물첨가 요구르트 제조

해송이 버섯 추출물을 1 - 5% 첨가한 요구르트의 관능적 품질을 비교한 결과 해송이 버섯을 첨가 하지 않은 처리군에서 가장 좋은 점수를 얻었으나, 해송이 버섯 추출물을 첨가한 요구르트에서는 1%에서 가장 좋은 점수를 얻었다.

(다) 해송이버섯 분말 첨가 국수 제조

해송이버섯 분말 5 - 15%를 첨가한 국수를 제조하고 관능검사를 실시한 결과 5 -10% 첨가시 관능적 품질이 양호하였다. 그러나 종합적 기호도에서는 비첨가군과 첨가군 사이에 유의차는 없었다.

(라) 해송이버섯 추출물을 이용한 식초제조

이상의 결과로 볼 때, 당초 계획했던 연구목표를 충분히 달성(100%)한 것으로 판단된다.

**다. 평가의 착안점 및 기준에 따른 달성도**

평가의 착안점 및 기준	가중치	연구수행내용	달성도
○ 분말 소재화 시 건조 방법 및 분쇄방법에 따른 성분의 변화 및 비교	50 %	○ 건조방법별, 분쇄방법별 성분변화 비교 검토 완료 - 식이섬유, 환원당, 폴리페놀, flavonoid, β-glucan, 구성당, 향기 성분 등	100%
○ 개발제품의 편의성  ○ 개발제품의 상품성	50 %	○ 해송이분말과 추출물을 이용한 편의가공식품개발 완료 - 두부, 요구르트, 국수, 식초 등 4종 ○ 개발한 편의가공식품의 첨가농도 별 관능검사로 상품화 가능성 확인 완료	100%

## 제 2 절 관련분야의 기술발전예의 기여도

### 1. 국내외 기술현황

#### 가. 유럽

유럽은 1960년대 양송이 순수분리법/종균제조법이 성공하면서 버섯산업에 대한 급격한 진전이 있었다. 초기에의 가공기술은 통조림이었으나 생버섯으로서의 시장성도 크게 확대되었다. 1990년대 이후 버섯종류가 다양화되면서 버섯이 갖고 있는 기능성에 주목하였으나 연구대상이 양송이 및 차가버섯 등 몇종에 국한되어 있다.

#### 나. 미국

미국은 1900년대에 양송이 산업이 크게 발전하여 육종관련기술이 크게 발전하였다. 최근에는 버섯류의 DNA 분석에 의한 동일 품종에서의 strain 간의 판별기술이 개발되었고, 각종 버섯에 기생하는 병원세균의 분자생물학적 분류 동정에 관한 연구가 추진되고 있다.

#### 다. 일본

일본에서는 국가기관에서는 기초 및 기반연구를 수행하고 있고, 민간에서는 품종육성 및 기능성 연구를 수행하고 있다. 최근에는 분자생물학적인 분류방식을 채택하는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 버섯의 방향성 향기성분과 버섯의 자실체 분화기작 해명 등에 관한 연구, 버섯 돌연변이 검출기술 개발, 식용버섯의 유전자 연쇄지도 제작과 그 효율성 구명에 관한 연구, 송이버섯을 포함한 각종 버섯에 대한 기능성 성분의 탐색 및 그 이용기술에 대해 중점적인 연구가 추진되고 있다.

#### 라. 국내

국내에서는 국가주도의 연구가 대부분이며, 최근 유용버섯 개발 연구비율이 35% 정도로 새로운 품종개발에 박차를 가하고 있다. 또한 버섯의 기능성 구명은 빈도가 증가하고 있으나 그 비율은 낮다. 특히 만가닥버섯의 일종인 해송이버섯에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다.

### 2. 관련기술발전예의 기여도

일상적으로 많이 접할 수 있는 특용작물인 버섯은 국내외에서도 다양한 기능성물질을 함유하고 있는 것으로 많이 보고 되어진다.

만가닥버섯은 버섯에 함유되어 면역력을 높여주는 다당단백질인 베타글루칸이 다른 버섯에 비해 많이 함유되어 강심작용과 비만억제 등 다양한 효능이 있는 것으로 알려지고 있다.



이러한 만가닥 버섯류의 일종인 해송이는 본 연구에서 개발하고자 하는 대상으로 소나무에 붙어서 자라는 종으로 강원도 영동권에서만 재배되고 있다. 특히 송이, 느타리 및 표고버섯에 비해 칼슘, 칼륨, 마그네슘 그리고 인을 비롯한 무기질 성분이 풍부하고 단백질의 경우에도 1.5~2.5배 이상 많이 함유하고 있음에도 불구하고 재배량이 다른 버섯에 비해 매우 적고 잘 알려져 있지 않아서 대부분의 연구들이 미비한 실정이다. 하지만 최근에 야생 해송이 버섯의 대량재배 기술이 개발되어 산업적 활용이 가능하여 연구개발을 통한 신식품종 해송이의 기능성 홍보 및 건강기능식품의 개발 필요성이 매우 높다.

본 연구에서는 해송이버섯에 함유되어 있는 영양성분과 기능성 물질의 분석, 추출물의 생리기능성 구명, 추출물과 분말의 식품소재화 기술 개발, 분말과 추출물을 이용한 편의가공식품 개발을 통하여 신식품종 육성을 촉진하였을 뿐 아니라 버섯을 활용한 가공식품 개발의 가능성을 제시하므로서 식품산업 발전에도 기여한 것으로 사료된다. 또한, 해송이버섯의 대량 소비를 촉진할 수 있는 기초자료들을 얻었으므로 해송이버섯의 대량생산을 통한 생산농민의 소득증대는 물론 건강지향적인 가공제품의 섭취를 통한 국민건강 증진에도 이바지 할 수 있을 것으로 판단된다.

## 제 5 장 연구개발 성과 및 성과 활용계획

### 제 1 절 연구개발성과

#### 1. 연구개발결과

##### 가. 해송이버섯의 영양성분 및 생리기능성분 구명

해송이버섯에 함유되어있는 일반성분(수분, 지방, 단백질, 탄수화물 등)과 베타글루칸, 식이섬유, 환원당, 아미노산, 무기질 등 생리기능성분을 구명하였음

##### 나. 해송이버섯 추출용매별 생리기능성 구명

해송이버섯을 물, 에탄올, 물+에탄올 혼합용매를 사용하여 유효성분을 추출한 다음 추출물의 항산화, ACE저해활성, 항암, 항당뇨, 항비만 활성을 구명하였다

##### 다. 열수추출물의 적정 추출조건 확립

물을 용매로 하였을 때 유효성분의 추출수율이 가장 높았으며 생리기능적 활성도 양호하였으므로 물을 용매로 한 최적 추출조건(추출온도, 시간, 용매비)을 확립하였다.

##### 라. 해송이버섯 추출물 및 분말의 동물모델에서의 생리활성 구명

추출물과 분말을 흰쥐에 급이하여 항당뇨 및 항비만 효능에 대하여 실험한 결과 효과가 인정되었다.

##### 마. 추출물 및 분말의 식품소재화기술 개발

식품소재화를 위하여 추출물은 적정 동결 및 건조방법을 구명하였으며, 분말소재화를 위하여 해송이버섯의 적정 건조 및 분쇄방법에 대하여 검토하였다.

##### 바. 편의가공식품 개발

해송이버섯 추출물과 분말을 이용하여 두부, 면류, 요구르트 및 양조식초 제조를 위한 소재화 가능성을 검토한 결과 1 - 10% 범위내에서 식품소재로 활용 가능함을 확인하였다.

#### 2. 연구성과,

가. 특허출원 실적(3건)

특허기술명	출원번호	출원일자
1. 암 예방 및 개선용 조성물, 요구르트 및 두부	10-2009-0033860	2009. 4. 17
2. 당뇨 예방 및 개선용 조성물, 요구르트 및 두부	10-2009-0033861	2009. 4. 17
3. 비만 예방 및 개선용 조성물, 요구르트 및 두부	10-2009-0033862	2009. 4. 17

나. 논문게재 실적(3건)

논문명	학회지명	권/호,페이지	게재년월일	저자명
해송이버섯( <i>Hypsizigus marmoreus</i> )의 영양성분과 추출용매에 따른 암세포 성장억제 효과	한국식품영양과학회지	37(11), 1395-1400	2008. 11	정은봉, 조진호, 조승목
반응표면분석에 의한 해송이버섯( <i>Hypsizigus marmoreus</i> ) 추출물 중 단백다당체의 암세포 성장억제 효과	한국식품영양과학회지	37(12), 1647-1653	2008. 12	정은봉, 조진호, 조승목
Hypoglycemic and Angiotension Converting Enzyme Inhibitory Effect of Water and Ethanol Extracts from Haesongi Mushroom ( <i>Hypsizigus marmoreus</i> )	한국식품과학회지(FSB)	18(2), xxxx-xxxx (게재예정)	2009. 6	Eun Bong Jung, Jin Ho Jo, and Seung Mock Cho

다. 학술발표실적(10건)

- (1) 조진호 등 : 해송이버섯 추출용매에 따른 ACE저해활성 및 항산화효과. 한국식품과학회(2007. 6. 21, 부산 Bexco)
- (2) 조진호 등 : 해송이버섯의 in vitro 항암 및 항당뇨효과. 한국식품과학회(2007. 6. 21, 부산 Bexco)
- (3) 정은봉 등 : 해송이버섯의 영양성분 분석. 한국식품과학회(2007. 6. 21, 부산 Bexco)
- (4) Jin Ho, Jo et al. : Extracting optimization of *Hypsizigus marmreus* for

functional component and electron donating activity. 한국식품영양과학회 (2007. 10. 18. 무주리조트)

(5) Jin Ho, Jo et al. : Physiological activity of extracts from *Hypsizigus marmreus*. 한국식품영양과학회 (2007. 10. 18. 무주리조트)

(6) 조진호 등 : 해송이버섯 추출물이 고지방식을 급이한 흰쥐에 미치는 영양. 한국식품과학회(2008. 6. 19. 광주 김대중컨벤션센터)

(7) 조진호 등 : 해송이버섯 추출물의 동결 및 건조방법에 따른 생리활성 변화. 한국식품과학회(2008. 6. 19. 광주 김대중컨벤션센터)

(8) 조진호 등 : 해송이버섯 추출물의 분획 및 생리활성. 한국식품과학회(2008. 6. 19. 광주 김대중컨벤션센터)

(9) 조진호 등 : 해송이버섯 추출물을 첨가한 요구르트의 품질특성. 한국식품영양과학회(2008. 10. 14. 라마다플라자 제주호텔)

(10) 조진호 등 : 해송이버섯분말을 첨가한 두부의 품질특성. 한국식품영양과학회(2008. 10. 14. 라마다플라자 제주호텔)

#### 라. 인재양성(석사 1명)

논문제목	대학교명	학위취득
Extracting optimization and physiological activity of Haesongi mushroom, <i>Hypsizigus marmoreus</i> .	고려대학교	2008. 2

## 제 2 절 성과 활용계획

### 1. 실용화·산업화 계획

해송이버섯은 야생버섯을 개량하여 재배에 성공한 품종으로 현재 강원도 일부에서만 생산되고 있어 관련 연구가 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 본 연구에서는 해송이버섯에 함유되어 있는 단백질, 유리아미노산, 무기질과 같은 영양성분, 베타글루칸, 식이 섬유함량 등 생리활성물질을 조사하여 영양적으로 우수함을 구명하였으며, 해송이버섯의 열수추출물은 항산화, 항고혈압, 항암, 항당뇨 및 항암효과가 있다는 것을 확인하였다.

이러한 효능을 지닌 해송이버섯으로 소비가 간편한 편의가공식품을 만들어 소비할 수 있다면 재배농가의 소득증대는 물론 국민들의 질병예방 등 건강증진에도 의의가 있다. 본

연구에서는 해송이버섯의 분말과 추출물을 식품소재화하는 기술을 개발하였고, 이들 소재를 이용한 가공제품으로 두부, 면류, 요구르트, 양조식초를 개발하였으며 일부는 특허출원하여 기술권 확보가 가능하다..

해송이버섯의 식품소재화기술과 편의가공식품제조기술은 산업화가 가능한 것으로, 우선 실용화를 위하여 참여기업인 (주)해송바이오에 기술이전을 추진할 계획이다.

이와는 별도로 본 기술의 활용을 희망하는 유기농식품, 건강식품업체를 발굴하여 기술이전을 추진할 계획이다.

## 2. 기술확산계획

### 가. 홍보

해송이버섯은 현재 강원권 잉대와 서울의 강남, 분당지역 일부에서만 유통되고 있으며 신상품종으로서 성분특성 및 생리기능성에 대한 정보가 거의 없는 실정이다. 본 연구에서 확인한 해송이버섯의 영양성분, 생리활성물질 및 기능성에 대한 정보를 널리 홍보한다면 해송이버섯의 소비촉진을 기할 수 있을 것이다. 이미 학술지 게재를 통하여 학계에는 해송이버섯에 대한 학문적 기초자료는 소개가 되었으므로 일반 소비자들을 대상으로 언론매체를 통한 해송이버섯의 우수성을 홍보할 계획이다.

## 3. 지식재산권 확보계획

### 가. 특허

특허기술명	출원시기
1. 버섯첨가 면류 제조방법	2009년 6월
2. 해송이버섯 추출물 첨가 양조식초 제조방법	2009년 6월

### 나. 논문게재

논문명	학회지(예정)	투고시기
해송이버섯을 급이한 흰쥐의 혈당강하 효과	한국식품영양과학회지	2009. 6
해송이버섯을 급이한 흰쥐의 체중감소 효과	한국식품영양과학회지	2009. 7
해송이버섯의 건조방법별 향기성분 변화	한국식품영양과학회지	2009. 8

### 제 3 절 타 연구에 활용 필요성

사회가 발달하면서 국민소득이 높아지고 인간의 수명도 많이 길어지게 되면서 우리는 건강하게 오래 살려는 욕구가 강하게 되었다. 이러한 요구를 영위하는 한 방법으로 건강 식품을 선호하는 것이 현재의 추세라 할 수 있다.

본 연구에서는 두부, 면류, 요구르트 및 양조식초 등 일부 식품에 적용하여 가능성을 확인하였으나, 드링크, 음료제품 등 성인용, 햄버거패티 등 청소년용, 외식관련 식품 등 유통량이 많은 가공식품에 분말 또는 추출물 소재를 다양하게 적용함으로써 해송이버섯의 이용도를 제고할 필요가 있다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

본 연구를 수행하는 과정에서 해외출장조사 계획이 없었기 때문에 직접 버섯관련 해외 정보를 수집한 사례는 없었다. 다만, 연구수행과정에서 수집한 학술정보를 기준으로 외국의 버섯관련 최근 연구동향을 기술하고자 한다.

### 1. 미국

Lynn SA(2008)등은 White Button Mushroom (*Agaricus Bisporus*) 버섯 추출물을 누드 마우스에 급이한 결과 DU145와 PC3 전립선 암 세포의 크기 감소 및 세포 증식 억제 효과가 있다고 보고하였으며, white button mushroom을 식사와 함께 섭취하면 남성의 전립선 암 예방에 도움이 될 수도 있으므로 추천한다고 하였다.

Mathew, J등(2008)은 식용-약용 버섯 *Volvariella volvacea* 버섯 균사체의 항산화 활성과 항암 활성에 관하여 보고하였다.

### 2. 일본

Mori, Koichiro등(2008)은 *Pleurotus eryngii* (Eringi), *Grifola frondosa* (Maitake), and *Hypsizyugus marmoreus* (Bunashimeji) 버섯이 동물실험 결과 동맥경화를 막는다고 보고하였으며,

Nobuaki K(2008) *Drosophila* 버섯 몸체의 신경조합에 관하여 연구하였으며, Kenji FUKUDA등(2008)은 *Flammulina velutipes*에서 추출한 새로운  $\text{exo-}\beta$ -1,3-1,6-glucanase의 정제와 특성에 관한 연구를 보고하였다.  $\text{exo-}\beta$ -1,3-1,6-glucanase의 분자량은 약 80kDa였고, 최적 pH와 온도는 각각 6.1, 60℃였다.

### 3. 중국

Guo, Li-Qiong등(2007)은 중국의 새로운 상용 버섯의 비휘발성 화합물에 관하여 연구하였으며, Ren, Gang등(2008)은 *Leucopaxillus giganteus* 버섯에서 추출한 Hela 암세포에 대한 증식 억제 효과에 관하여 연구하였으며,

Leifa Fan,등(2007)은 *Agaricus brasiliensis*을 액침배양하여 얻은  $\text{exo-polysaccharide}$ 가 Sarcoma 180 마우스에 대조군에 비해 72.19%의 강한 종양저항활성을 가진다고 하였다.

#### 4. 인도

Lidhoo CK(2008)등은 65℃ 공기로 건조하는 것이 저렴한 비용으로 좋은 품질을 얻는 방법에 관하여 발표하였으며, Kavishree, S.등(2008)이 인도의 식용버섯의 지방 및 지방산에 관하여 조사하였다.

#### 5. 브라질

Cristiane Castro Santana등(2008)은 다른 온도에서 저장한 shiitake (*Lentinula edodes*) 버섯의 미생물학적 관능적 품질특성에 관하여 보고하였으며, Regina Prado Zanes Furlani등(2008)은 재배한 버섯의 비타민 B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>의 함량을 측정하였으며,

Guerra Dore, Celina M. P.등(2007)은 *Geastrum saccatum*에서 추출한 베타글루칸에는 항산화활성과 항종양활성이 있다고 보고하였으며,

Kotwaliwale, Nachiket등(2007)은 oyster mushroom 열풍건조 중의 물성 및 색의 변화에 관하여 연구하였다.

#### 6. 터키

Elmastas MO등(20007)은 *Agaricus bisporus*, *Polyporus squamosus*, *Pleurotus ostreatus*, *Lepista nuda*, *Russula delica*, *Boletus badius*, *Verpa conica* 같은 식용 야생 버섯에서 메탄올 추출한 추출물과 항산화물질의 항산화활성은 100ug/ml에서 *Russula delica*, *Boletus badius*, *Agaricus bisporus*, *Polyporus squamosus*, *Pleurotus ostreatus*, *Lepista nuda* and *Verpa conica*가 각각99.7%, 99.2%, 98.8%, 98.4%, 98.3%, 97.9%, 97.7%의 항산화 활성을 보였으며,  $\alpha$ -tocopherol, BHA and BHT는 400ug/ml에서 각각 77%, 85%, 97%의 항산화활성을 보였다고 하였다.

#### 7. 이집트

Hesham A.A, Eissa가 신선한 버섯의 저장기한을 연장하기 위해 키토산 코팅을 한 결과 버섯의 polyphenoloxidase, peroxidase, catalase, phenylalanine ammonia lyase, laccase, cellulase, total amylase, 03B1-amylase의 효소활성을 감소시켰으며 변색을 지연시켰다고 하였으며, 키토산 코팅을 한 버섯이 4℃에서 15일간 저장하는 동안 미생물 수가 가장 적었다고 보고하였다.

#### 8. 스페인



Venturini, M.E.등(2008)은 식중독세균에 대한 버섯의 항균활성에 관하여 연구 보고 하였다.

## 제 7 장 참고문헌

정충일, 강국희 1999. 우유, 유제품 미생물학. 유한문화사. 서울. p179

황지영, 한지숙. 2007. 조릿대추출물의 탄수화물 소화효소 활성저해 및 식후 혈당강하효과. 한국영양식량학회지, 36(8): 989-994

한국식품공업협회. 2005. 식품공전. 문영사. 서울. p644

Adams LS, Phung S, Wu X, Ki L & Chen S. 2008. White Button Mushroom *Agaricus Bisporus* Exhibits Antiproliferative and Proapoptotic Properties and Inhibits Prostate Tumor Growth in Athymic Mice. *Nutrition and Cancer* 60(6):744 - 756.

Ahn JS, Lee KH. 1986. Studies on the Volatile aroma Components of Edible mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) of Korea. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 15(3), 258-262

Ahn JS, Kim Su, Park ES. 1987. Studies on the Volatile Components of edible mushroom (*Lentinus edodes*) of Korea. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 16(4), 328-332

AOAC. 1995. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 16th ed. Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA.

Apostolidis E, Kwon YI, Shetty K. 2006. Potential of cranberry-based herbal synergies for diabetes and hypertension management. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 15: 433-441

Bobek P, Ozdin L, Kuniak L. 1993. Influence of water and ethanol of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on serum and liver lipids of the Syrian hamsters. *Die Nahrung* 37: 571-575.

Cho SM, Lee JH, Han SB, Kim HM. 1995. Immuno-stimulating polysaccharides from the fruiting bodies of *Formitella fraxinea* (II). *Korean J Mycol* 23: 340-347.

Choi JW, Ryu DY, Kim YK, Hong EG, Kwun MS, Han JS. 2000. Extraction and purification of bioactive materials from *Agaricus blazei* fruiting bodies. *Korean J Biotechnol Bioeng* 15: 293–298.

Chun HS, Choi EH, Kim HJ, Choi CW, Hwang SJ. 2001. In vitro and in vivo anti-tumor activities of water extracts from *Agaricus blazei* Murill. *Food Sci Biotechnol* 10: 335–340

Chushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20: 1637–1648

C.K. Lidhoo YCA. 2008. OPTIMIZING TEMPERATURE IN MUSHROOM DRYING. *Journal of Food Processing and Preservation* 32(6):881–897.

Cushman DW, Ondetti MA. 1980. Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem Pharmacol* 29: 1871–1877.

Cristiane Castro Santana MCDVMCMK. 2008. Microbial growth and colour of minimally processed shiitake mushroom stored at different temperatures. *International Journal of Food Science & Technology* 43(7):1281–1285.

Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colormetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350–356

Elmastas M, Isildak O, Turkecul I & Temur N. 2007. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis* 20(3–4):337–345.

Furlani RPZ & Godoy HT. 2008. Vitamins B1 and B2 contents in cultivated mushrooms. *Food Chemistry* 106(2):816–819.

Furneaux RH, Miler IJ, Stevenson TT. 1990. Agaroids from New Zealand members of the Gracilariaceae(Gracilales, Rhodiphyta)– a novel dimethylated agar. *Hydrobiologia* 204/205, 645–654

Green LM, Reade JL, Ware CF. 1984. Rapid colometric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. *J Immunol Methods* 70: 257.

Guerra Dore CMP, Azevedo TCG, de Souza MCR, Rego LA, de Dantas JCM, Silva FRF, Rocha HAO, Baseia IG & Leite EL. 2007. Antiinflammatory, antioxidant and cytotoxic actions of [beta]–glucan–rich extract from *Geastrum saccatum* mushroom. *International Immunopharmacology* 7(9):1160–1169.

Hesham A.A E. 2007. EFFECT OF CHITOSAN COATING ON SHELF LIFE AND QUALITY OF FRESH–CUT MUSHROOM. *Journal of Food Quality* 30(5):623–645.

Hikino H, Konno C, Mirin Y, Hayashi T. 1985. Isolation and hypoglycaemic activities of ganoderan A and B, glucans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta Med.* 51: 339–340

Hong HD, Kim CY, Keum IK, Kim SS, Kim KI and Han CK. 2005. Effect of *Gastrodiae* rhizoma fractions on serum lipid concentrateions in rats fed with high fat diet. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 48(4), 370–374

Hong KH, KAng SA, Kim SC, Choue RW. 2001. Effect of high fat diet on serum leptin and insulin level and brown adipose tissue UCP 1 expression in rats. *The Korean Nutrition Society*, 34(8), 865–871

Hong KH, Kim BY, Kim HK. 2004. Analysis of nutritional components in *Pleutorus ferulea*. *Korea J Food Sci Tehchol* 36: 563–567.

Hui LK, Easa AM, Ismail N, 2000. Effect of thermal threathments on texture of soy protein isolate tofu. *J. food Process. Preserv.*, 24, 275–286

Hwang JB, Yang MO, Shin HK. 1997. Survey for approximate composition and mineral content of medicinal herbs. *Korean J Food Sci Technol* 29: 671–679.

Ikuzawa M, Oguchi Y, Matsunaga K, Toyoda N, Furusho T, Fujii T, Yoshikumi C. 1985. Pharmaceutical preparation containing a glycoprotein. German patent DE 3,429–551

Jin TY, Oh DH, Om AS, Lee HO, Eun JB. 2005. Changes of physicochemical characteristic and functional components of cereals for Saengsik, uncooked food by drying methods. *Korean J. Food Preserv.* 12(5), 442–448.

Kavishree S, Hemavathy J, Lokesh BR, Shashirekha MN & Rajarathnam S. 2008. Fat and fatty acids of Indian edible mushrooms. *Food Chemistry* 106(2):597–602.

Kim BK, Shin GG, Jeon BS, Cha JY. 2001. Cholesterol-lowering effect of mushroom powder in hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, 30(3), 510–515

Kim HJ, Han J, Yang EJ, Lee KR, Lee IS. 2000. Chemoprevention effect of *Polyozellus multiplex*, a wild and edible mushroom. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 161–167.

Kim KY, Shin JK, Lee SW Yoon SR, Jeong YJ, Choi MS, Lee CM, Moon KD, Kwon JH. 2007. Quality and functional properties of red ginseng prepared with different steaming time and drying methods. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 39(50), 494–499

Kim SO, Lee MY. 2001. Effect of ethylacetate fraction of onion on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(4), 673–678

Kim YS, Ha TY, Lee SH, Lee HY, 1997. Effect of rice bran dietary fiber on flour reology and quality of wet noodles (in Korea). *Korean K. Food Sci. Technol.*, 29(1), 90–95

- Kim YS. 1998. Quality of wet noodle prepared with wheat flour and mushroom powder. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30(6), 1373–1380
- Koh JB, Choi MA. 2003. Effect of *Paecilomyces japonica* on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32(2), 238–243
- Koh JB, Lee CU. 2005. Effect of *Pleurotus eryngii* on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 34(5), 626–631
- Kotwaliwale N, Bakane P & Verma A. 2007. Changes in textural and optical properties of oyster mushroom during hot air drying. *Journal of Food Engineering* 78(4):1207–1211.
- Ku KH, Cho MH, Park WS. 2002. Characteristics of Quality and Volatile Flavor Compounds in Raw and Frozen Pine-mushroom (*Tricholoma matsutake*). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 34(4), 625–630
- Lee JG, Do JH, Sung HS, Lww JW. 1995. Volatile Flavor Components of Korean *Auricularia polytricha* (Mont.) sacc. Mushroom. *Agric. Chem. Biotechnol.*, 38(6), 546–548
- Lee YS, Kim JB, Shin SR, Kim NW. 2006. Analysis of nutritional components of *Lepista nuda*. *Korean J Food Preserv* 13: 375–381.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr Al, Randall RJ. 1954. Protein measurement with the Folin phenol reagents. *J Biol Chem* 193: 265–275.
- Lu JY, Canter YE, Chang RA. 1980. Use of calcium salts for soybean crud preparation. *J. Food Sci.*, 45(1), 32–34
- Maii TT, Thu NN, Tien PG, Chuyen NV. 2007. Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 53: 267–276

- Manzi P, Pizzoferrate L. 2000.  $\beta$ -glucans in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 68(3), 315–318
- Mizuno M, Morimoto M, Minate K, Tsucjida H. 1998. Polysaccharides from *Agaricus blasei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 62: 434–437.
- Mizuno T. 1996. A development of antitumor polysaccharides from mushroom fungi. *Foods & Food ingredient Journal of Japan*, 167, 69–85
- Moon SP, Koh JB. 2004. Effects of liquid culture of *oriolus versicolor* on lipid metabolism and enzyme activities in rats fed high fat diet. *The Korean Nutrition Society*, 37(2), 88–94
- Mori K, Kobayashi C, Tomita T, Inatomi S & Ikeda M. 2008. Antiatherosclerotic effect of the edible mushrooms *Pleurotus eryngii* (Eringi), *Grifola frondosa* (Maitake), and *Hypsizygus marmoreus* (Bunashimeji) in apolipoprotein E-deficient mice. *Nutrition Research* 28(5):335–342.
- Nakajima A, Ishida T, Konga M, Takeuchi M. 2002. Effect of hot water extract from *Agaricus blasei* Murill on antibody-producing cells in mice. *Int Immunopharmacol* 2: 1205–1211.
- Nikerson GB, Likens ST. 1966. Gas chromatographic evidence for occurrence of hop oil components from a model systems in beer. *J. Chromatogr.* 21(1), 1–5
- Nobuaki K. Tanaka HTKI. 2008. Neuronal assemblies of the *Drosophila* mushroom body. *The Journal of Comparative Neurology* 508(5):711–755.
- Noh JE, Choi Yk, and Kim JH. 2005. Pre-establishment of microwave-assisted extraction condition for antioxidative extracts from cabbage. *Korean J. Food Preserv.*, 12(1), 62–67.

Park KS, Lee JY, Lee SJ, Kim SH, Lee JS. 1992. Extraction and separation of protein-bound polysaccharide produced by *Coriolus versicolor* (Fr) Quel. Korean J Mycol 20: 72-76.).

Ren G, Zhao Y-p, Yang L & Fu C-X. 2008. Anti-proliferative effect of clitocine from the mushroom *Leucopaxillus giganteus* on human cervical cancer HeLa cells by inducing apoptosis. Cancer Letters 262(2):190-200.

Rhyu MR, Nam YJ, Lee HY. 1996. Screening of angiotensin I-converting enzyme inhibitors in cereals and legumes. Food Sci. Biotechnol., 5(4), 334-339.

Saha SK, Brewer CF. 1994. Determination of the concentrations of oligosaccharides, complex type carbohydrates, and glycoproteins using the phenol-sulfuric acid method. Carbohydr Res 254: 157-167.

Schultz Th, Flath RA, Richard MT, Eggling, RT. 1977. Isolation of volatile components from a medel system. J. Agric. Food Chem., 25(3), 446-449

Shin YS, Sung HJ, Kim DH, Lee KS. 1994. Preparation of yoghurt added with Aloe vera and its quality characteristics. Korean J. Food Sci. Technol., 26(6), 266-271

Singleton VL, Rossi J Jr. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolyb-  
dic-phosphtungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16, 144-158

Singleton VL, Rossi J Jr. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolyb-  
dic-phosphtungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16: 144-158

Song JH, Lee HS, Hwang JK, Han JW, Han JG, Keum DH, Park KM. 2003a. Physiological activity of *Sarcodon aspratus* extracts. Korean J Food Sci Ani Resour 23: 172-179.

Song JH, Lee HS, Hwang JK, Chung TY, Hong SR, Park KM. 2003b. Physiological activities of *Phenllinus ribis ex*-tracts. Korean J Food Sci Technol 35: 690-695.)



Venturini ME, Rivera CS, Gonzalez C, Blanco, D. 2008. Antimicrobial Activity of Extracts of Edible Wild and Cultivated Mushrooms against Foodborne Bacterial Strains. *Journal of Food Protection*. 71(8), 1701–1706

Wasser SP. 2002. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Micro. and Biotech.*, 60(3), 258–274

Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. Isolation and identification of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from tochucha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci. Biotech. Bioch.* 61: 177–178 (1997)

Xu ML, Choi JY, Jeong BS, Li G, Lee KR, Lee CS, Woo MH, Lee ES, Jahng Y, Chang HW, Lee SH, Son JK. 2007. Cytotoxic constituents isolated from the fruit bodies of *Hypsizigus marmoreus*. *Arch Pharm Res* 30: 28–33.

Yang KH, Yang JH, Ryu BH. 1997. Antitumor effects of extracts obtained from *Daedalea dickinsii*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 178–182.

Yoon SH, Lim JH, Kim YS, Kim CH, Jo JH, Hwang YS. 1998. Pharmacological effects of proteoglycans extracted from fruiting bodies of *Formitella fraccineae*. *Korea J Mycol* 26: 511–518.,

Yoon HS, Oh EH, Joo SJ, Kim KS, Jeong EK, Chang WB, Kim SJ. 2004. Aroma characteristics of *Pholiota adiposa* (Geumbongi) with different drying methods. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, 36(4), 553–557

## 주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.