고부가가치식품기술개발사업 R&D report

발 간 등 록 번 호
11-1543000-001424-01

자외선 조사를 통한 비타민 D 함량이 증대된 기능성강화 표고버섯의 대량생산 제조 조건 확립 및 상품개발

최종보고서

2016. 10. 31

주관연구기관 / 농업회사법인(주)건농

협동연구기관 / 고려대학교 산학협력단

농 림 축 산 식 품 부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 "자외선 조사를 통한 비타민 D 함량이 증대된 기능성강화 표고버섯의 대량생산 제조 조건 확립 및 상품개발" (개발기간 : 2014. 8. 1 ~ 2016. 7. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016. 9. 13.

주관연구기관명 : 농업회사법인(주)건농 장 철 호 (인)

협동연구기관명 : 고려대학교 산학협력단 고 성 아 (인)

참여기관명 : 농업회사법인(주)건농 장 철 호 (인)

주관연구책임자 : 장 철 호
협동연구책임자 : 고 성 아
참여기관책임자 : 장 철 호

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

<table>
<tr><td>과제고유번호</td><td>114021-02</td><td>해 당 단 계
연 구 기 간</td><td>2014. 8. 1 ~
2016. 7. 31
(2년)</td><td>단 계 구 분</td><td>1/1</td></tr>
<tr><td rowspan="2">연 구 사 업 명</td><td>중 사 업 명</td><td colspan="4">고부가가치식품기술개발사업</td></tr>
<tr><td>세부 사업명</td><td colspan="4"></td></tr>
<tr><td rowspan="2">연 구 과 제 명</td><td>대 과 제 명</td><td colspan="4">자외선 조사를 통한 비타민 D 함량이 증대된 기능성강화 표고버섯의 대량생산 제조 조건 확립 및 상품개발</td></tr>
<tr><td>세부 과제명</td><td colspan="4">▪ 자외선 조사를 통한 비타민 D 함량이 증대된 기능성강화 표고버섯의 대량생산 및 제품 개발
▪ RSM 분석을 통한 자외선 조사를 통한 표고버섯의 비타민 D 함량 증대의 최적 조건 설정 및 체내이용률 확인</td></tr>
<tr><td rowspan="2">연 구 책 임 자</td><td rowspan="2">장 철 호</td><td>해당단계
참 여
연구원 수</td><td>총: 11명
내부: 3명
외부: 8명</td><td>해당단계
연 구 개 발 비</td><td>정부:160,000천원
민간: 40,000천원
계:200,000천원</td></tr>
<tr><td>총 연구기간
참 여
연구원 수</td><td>총: 11명
내부: 3명
외부: 8명</td><td>총 연구개발비</td><td>정부:160,000천원
민간: 40,000천원
계:200,000천원</td></tr>
<tr><td>연구기관명 및
소 속 부 서 명</td><td colspan="3">농업회사법인(주)건농</td><td colspan="2">참여기업명
농업회사법인(주)건농</td></tr>
<tr><td>위 탁 연 구</td><td colspan="3">없음</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="4">요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)</td><td colspan="2">보고서 면수
83</td></tr>
</table>

요 약 문

	D-01

연구의 목적 및 내용	▪ 자외선 조사를 통한 비타민 D 함량이 증대된 기능성강화 표고버섯 제조의 최적조건 확립을 통한 제품개발 및 상품화 ▪ 최적조건 하에 생산된 비타민 D 강화 제품에 대한 생체이용률 및 뼈에 미치는 영향 확인				
연구개발성과	1. 재배방식에 따른 버섯들의 자외선 조사에 의한 비타민 D 생산성 조사 ▪ 자외선 조사를 통한 비타민 D의 생산성은 톱밥재배 표고가 원목재배 표고에 비해 우세했으며, 건조한 뒤 자외선을 조사하는 경우, 칩형태일 때 슬라이스 형태에 비해 비타민 D의 생산성이 향상됨. 2. 자외선 조사를 통해 표고버섯의 비타민 D 함량 증대 시 RSM 분석을 통한 최적 조건 설정 ▪ 온도, 자외선 조사량, 버섯의 수분함량을 독립변수로 설정해서 최적조건을 구한 결과, 각각의 값이 40.56 ℃, 36.27 kJ/m^2, 80.46% 일 때가 최적의 비타민 D 수율을 보임. 3. in vivo 테스트를 통한 표고버섯의 생체이용률 및 골손실 예방 효과 조사 ▪ 1차년도에 설정한 최적조건 하에서 생산한 비타민 D 강화 버섯은 rat의 혈중 비타민 D함량을 높이는데 효과적이었으며 대퇴골의 골손실 속도를 늦추는데도 긍정적인 영향을 줌. 4. 식품건조기 개발 ▪ 식품건조기 특허 (10-1556074)를 취득하였으며(2015.09), 고선량 자외선램프를 사용해 자외선 조사시간을 단축할 수 있는 장점이 있음. 5. 제품 생산 ▪ 개발된 건조기로 생산된 건표고버섯을 원형, 슬라이스, 칩 형태의 제품으로 개발, 판매				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	▪ 자외선 조사가 가능한 건조기와 RSM을 통해 다른 식품의 비타민 D 증진에도 활용이 가능할 것으로 기대됨. ▪ 기능성 버섯의 개발은 고부가가치를 창출하므로 농가소득 증진 뿐 아니라 국민들의 질병예방에도 도움을 줄 것으로 사료되며, 나아가 이유식 또는 고령친화식품에도 이용될 수 있을 것으로 예상됨.				
중심어 (5개 이내)	표고버섯	비타민 D	자외선 조사	최적조건	생체이용률

〈 SUMMARY 〉

	D-02

Purpose& Contents	▪ To establish the optimal conditions for the vitamin D-fortified Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) and to commercialize ▪ To study bioavailability and bone loss inhibition effects of the vitamin D-fortified Shiitake mushroom produced under the optimal conditions
Results	1. Effect of cultivation method on the vitamin D-fortified Shiitake mushroom through UV irradiation ▪ Vitamin D production of sawdust-grown Shiitake mushroom was better than that of log-grown Shiitake mushroom. When UV irradiation is performed after drying, chipped form showed better vitamin D production compared to sliced form. 2. Process optimization of the vitamin D-fortified Shiitake mushroom using response surface methodology ▪ Temperature, UV dosage, and moisture content of mushroom were selected as independent variables, and the optimal conditions for the factors were 40.56 ℃, 36.27 kJ/m^2,and 80.46%, separately. 3. To study bioavailability and bone loss prevention effect through *in vivo* test ▪ Shiitake mushrooms, irradiated under the optimal conditions effectively improved rats' serum vitamin D conditions and showed positive effects on retarding bone loss speed. 4. Development of Food dryer ▪ Patent for Food dryer (patent No. 10-1556074, 2015.09). High performance UV lamps were used for time saving. 5. Production ▪ Dried Shiitake mushroom products are produced in various forms: including whole, sliced, chipped forms to fulfill the customers' needs.
Expected Contribution	▪ The expansion of vitamin D fortification with other food source is being expected, using Food dryer and RSM methodology. ▪ Development of functional mushrooms can improve the national health as well as farming household income. Moreover, a big change in food market particularly for babies' and old people's could be induced.

Keywords					
	shiitake mushroom	vitamin D	UV irradiation	Optimal conditions	Bioavailability

CONTENTS

Chapter 1. Introduction of Research ----------7

Chapter 2. Trends of Domestic and International Technical Development ----------10

Chapter 3. Contents and Results of Research and Development ----------16

Chapter 4. Achievements and Contributions to related area ----------72

Chapter 5. Plan for Future Utilizations of Research ----------73

Chapter 6. Information of Foreign Science and Technology ----------74

Chapter 7. Security level of Research ----------78

Chapter 8. Facilities and Equipment registered in NTIS ----------78

Chapter 9. Record of Safety Management of Laboratory abided by implemented Research and Development Project ----------78

Chapter 10. Typical Results of Research and Development Project ----------79

Chapter 11. Further Information ----------79

Chapter 12. Reference ----------79

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의개요 ····· 7

2. 국내외 기술개발 현황 ····· 10

3. 연구수행 내용 및 결과 ····· 16

4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 ····· 72

5. 연구결과의 활용계획 등 ····· 73

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보 ····· 74

7. 연구개발성과의 보안등급 ····· 78

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록한 연구시설·장비현황 ····· 78

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적 ····· 78

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적 ····· 79

11. 기타사항 ····· 79

12. 참고문헌 ····· 79

<별첨> 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

○ 비타민 D는 비타민 D의 활성을 가진 화합물들의 총칭으로 지금까지 발견된 비타민 D의 종류는 D_2부터 D_7까지지만, 이 중에서도 비타민 D_2(ergocalciferol)와 비타민 D_3(cholecalciferol)가 가장 생리활성이 높다. 비타민 D_3가 동물의 체내에서 생성되는 동물성 비타민 D라고 한다면 비타민 D_2는 식물성 비타민 D라 불린다.

○ 비타민 D_2(ergocalciferol)와 비타민 D_3(cholecalciferol)는 각각 식물성 스테롤인 에르고스테롤(ergosterol)과 동물성 스테롤인 7-디하이드로콜레스테롤(7-dehydrocholesterol:7-DHC)로부터 자외선 조사에 의해 합성이 된다.

○ 이렇게 합성된 비타민 D는 간을 거쳐 25-하이드록시 비타민 D(25-hydroxyvitamin D:25(OH)D)가 되고 신장을 거쳐 최종적으로 활성화 형태인 1,25-디하이드록시 비타민 D(1,25-dihydroxyvitamin D:1,25$(OH)_2$D)로 전환되어 소장에서 '칼슘-결합 단백질(calcium-binding-protein)'의 합성을 촉진시키게 되고 이는 혈액으로의 칼슘 흡수를 돕는 중요한 역할을 한다. 활성 비타민 D의 농도가 높아지면 장에서의 칼슘흡수가 높아져 혈중 칼슘농도를 높인다.

○ 버섯은 예로부터 독특한 향기와 맛을 지닌 기호도가 높은 식품으로 민간 전통 한약으로 전래되어 이용되어 왔다. 버섯은 인공재배를 통해 중요한 고부가가치 농산물로 자리를 잡고 있으며, 특유의 맛과 향을 함유하고, 당질, 단백질, 비타민, 무기질과 같은 영양소를 골고루 함유하여 식용으로도 널리 사용되고 있으며 또한 다양한 약용버섯 종류들은 항암활성, 항콜레스테롤 효과, 면역증강 효과 및 항산화 효과 등의 약리효과를 보유하여 우수한 식품소재이다.

○ 버섯에는 비타민 D의 전구체인 ergosterol의 함량이 많아 비타민 D 강화 소재로써 최적의 조건을 갖춘 식품이다. 그러나 사람들이 쉽게 접할 수 있는 대부분의 버섯은 인공 재배된 것들이며 이들은 대부분 햇빛이 차단된 어두운 방에서 습하고 서늘한 조건하에 길러진다. 따라서 버섯내의 많은 양의 ergosterol이 비타민 D로 전환되지 못한 채 소비되었다. 이러한 ergosterol을 비타민 D로 전환하기 위해 햇빛 또는 자외선 조사를 해주었을 때 버섯의 비타민 D 함량이 크게 증가한 연구들이 보고되었다.

○ 다양한 자외선 조사선(UV-A, B, C) 중 UV-B가 버섯의 비타민 D_2 함량을 높이는데 가장 효과가 좋은 것으로 알려져 있다. 또한 양송이버섯에 UV-B를 기준으로 같은 조사선량만큼 햇빛과 인위적인 자외선(UV-B) 처리 이후 비타민 D_2 생성량을 비교한 결과 인위적인 자외선 처리 시 햇빛 처리에 비해 약 17-20배가량 더 많은 비타민 D_2가 생산되었음을 보고한 실험도 있었다.

○ 현재까지 버섯에 자외선 조사를 하여 비타민 D 함량을 증가시키는 연구는 많이 연구되어 왔으나 농가, 또는 기업에서 비타민 D가 증대된 기능성 버섯을 상품화하기 위한 조건을 확립한 연구는 거의 없었다. 이는 버섯에 자외선 조사 시 고려되어야 할 온도, 습도, 자외선 조사량, 조사위치 등의 조건이 통일 및 확립되지 않아 기기를 설비하기에 부담을 가져왔다. 따라서 본 연구에서는 기존의 여러 논문 등을 통해 발표된 버섯에서의 비타민 D 함량 증가방법들을 통합 조사하고, 상품화 가능한 최적의 조건을 반응표면분석(RSM)을 통하여 과학적으로 확립하고자 한다. 그리고 자외선 조사에 의해 증대된 비타민 D의 bioavailability를 조사하여 생산된 기능성 버섯의 효과를 입증 하고자 한다. 또한 소비자들이 쉽게 이용할 수 있는 비타민 D 강화 버섯제품의 개발은 비타민 D 결핍증 예방에 큰 도움을 줄 것이라 생각된다.

1-2. 연구개발의 필요성

○ 비타민 D의 영양적 가치

- 혈중 칼슘농도 증가는 뼈의 무기화(skeletal mineralization)을 촉진해서 뼈의 밀도를 높이게 된다. 비타민 D는 뼈의 용골세포(osteoclast)의 전구체를 뼈로 운반하는 역할을 하며 동시에 용골세포의 성장도 촉진한다.
- 최근에는 비타민 D의 항암효과도 부각되고 있다. 1,25$(OH)_2$D은 유방암의 증식을 억제하는 능력이 있으며 고지방 식이를 섭취한 rat에서는 대장암에도 효과를 보였다는 증거가 있다.
- 뇌와 비타민 D의 상관관계를 밝히는 논문들도 최근 들어 나오고 있다.

○ 비타민 D의 결핍

- 비타민 D는 햇빛에 의해 피부에서 합성되기 때문에 중요성이 간과되어 왔으며 상대적으로 결핍에 대한 걱정이 덜 했던 편이다. 그러나 최근 오존층의 파괴로 사람들은 자외선에 노출되는 것을 극히 꺼리기 때문에 비타민 D의 생합성이 방해를 받고 있다. 전세계적으로 비타민 D 결핍증 환자들이 증가하고 있다.

- 비타민 D가 결여 되면 유아나 어린이는 구루병(rickets)이, 성인은 골연화증(osteomalacia)이 유발될 수 있다. 뼈의 칼슘 부족은 뼈의 기능을 망가뜨리고 뼈마디의 끝을 갈라져서 넓어지게 한다. 그 결과 성장에 큰 영향을 미치게 되며 다리를 활처럼 휘게 만든다. 성인의 경우는 칼슘과 인의 흡수, 배출의 조절 이상으로 골밀도가 저하되어 작은 충격에도 쉽게 뼈에 금이 가기 때문에 뼈에 칼슘을 전달하는 비타민 D의 필요성이 대두된다.

- 한국의 비타민 D결핍증 진료 인원이 2007년 약 1천800명에서 2011년 약 1만6천 명으로 5년간 약 1만 4천200명 증가했다고 발표했는데 이는 비타민 D 결핍증이 매해 평균 81.2% 증가한 수치이며 5년 새 약 9배가 증가한 것이다

- 미국 등 서구에서는 이미 오래전부터 유제품이나 마가린 혹은 곡류나 빵 등에도 비타민 D를 첨가하여 시판하고 있다. 현재 우리나라에서도 요거트, 두유, 우유, 마가린, 버터, 분유 치즈

등에 비타민 D가 강화된 제품들이 판매되고 있으며 특히 칼슘과 함께 강화된 제품도 다수 판매되고 있다.

- 비타민 D가 풍부한 식품으로는 표고버섯이 대표적이다. 하지만 표고버섯을 말리는 방법에 따라 비타민 D의 함유량이 달라진다, 건조기에 말릴 경우보다 햇빛에 말리는 것이 비타민 D의 함유량이 훨씬 높다. 햇빛 속에 있는 자외선이 버섯 속에 있는 에르고스테롤을 비타민 D로 전환시키기 때문이다. 이러한 내용들이 방송을 통해 소비자들에게 조금씩 노출되고 있어 비타민 D의 중요성에 대한 인식이 높아질 것이라 생각된다.

- 따라서 비타민 D가 증대된 표고버섯의 개발은 국내 소비자들이 주로 이용하는 형태인 건조 통버섯, 조리용 슬라이스 버섯, 버섯 분말, 국물용 다시팩, 스낵 등의 상품과 더불어 버섯이 이용된 가공식품의 개발에 이용될 수 있을 것이며 비타민 D 효율을 극대화 시켜 건강기능 식품으로의 개발도 가능할 것으로 생각된다. 또한 비타민 D 결핍증이 심각한 유럽 등의 국가에 비타민 D 강화식품은 좋은 반응을 보일 것으로 생각된다. 또한 본 기업의 생산기능과 유통망을 이용하여 비타민 D가 강화된 식품을 소비자들에게 쉽게 공급할 수 있을 것이다.

1-3. 연구개발 범위

○ RSM 분석을 통한 자외선 조사를 통한 표고버섯의 비타민 D 함량 증대의 최적 조건 설정 및 체내이용률 확인

1) 표고버섯의 UV 조사를 통한 비타민 D_2의 최적 수율 조건 설정(RSM)
   - 버섯을 통으로 1개 내지 3개 정도 섭취해도 비타민 D의 하루 권장 섭취량(5~10㎍)에 도달하도록 적정한도 설정
   - 비타민 D_2의 수율에 영향 주는 여러 요인들 선별
   - 반응표면분석(RSM)을 통하여 최적의 조건 확립

2) UV조사의 최적조건 설정 하의 통 표고버섯과 슬라이스 표고버섯의 비타민 D_2 수율 비교
   - 실제 표고버섯의 자루(줄기부분)를 잘라내고 윗부분을 통으로 처리해 유통하기도 하나 소비자들의 편의를 위해 슬라이스 되어 건조된 뒤 포장 된 채로 유통되는 경우도 많다.
     따라서 RSM분석을 통해 얻어진 최적조건을 따라 통 표고버섯과 슬라이스 표고버섯의 비타민 D_2 수율 비교

○ 비타민 D 강화 버섯의 대량 생산 제조조건을 확립
   - 연구에 사용될 버섯을 기업에서 보유하고 있는 농장에서 재배하여 동일한 재배방법에 의한 버섯 시료 생산
   - 1협동에서 Lab 스케일로 연구하여 확립된 비타민 D 함량 증대 조건을 대량생산 조건에 적용 실험
   - 자외선 조사기기, 건조조건, 상품의 가격 등을 고려하여 대량생산화를 위한 최적 조건 확립

○ in vivo 테스트를 통한 본 연구 제품의 체내이용률 비교

1) rat을 통한 in vivo test

2) 혈액 내 물질 조사

- 25(OH)D - 비타민 D의 최종 체내 활성화 물질은 $1,25(OH)_2D$ 이지만 이 물질의 혈액 내 농도는 매우 낮다. 혈액을 돌아다니는 25(OH)D를 필요할 때마다 신장으로 이동시켜 $1,25(OH)_2D$를 만들고 그때그때 쓰기 때문에 25(OH)D의 양을 측정.

- 칼슘 - 비타민 D의 주요 역할 중 하나인 혈중 칼슘 농도 증가 및 항상성 유지를 알아보기 위해 rat으로부터 혈액샘플을 채취해 칼슘 농도 측정.

3) 뼈 조사

- 뼈 강도 측정 - 비타민 D와 칼슘 사이의 상호작용이 뼈의 밀도에 미치는 영향을 물리적으로 알아보기 위해 뼈가 부서질 때까지 압력을 주고 그 때의 압력을 측정.

- 뼈의 단층 촬영 - 뼈의 밀도에 비타민 D와 칼슘이 미치는 영향을 시각적으로 알아보기 위해 단층촬영을 이용. 대조군과 실험군 rat의 대퇴골의 절단면을 구한 뒤 'micro-CT 100 scanner'를 이용해 각각의 이미지를 비교.

- 말단 대퇴골의 길이 측정 - 골밀도 뿐 아니라 뼈의 성장에도 비타민 D가 관여하는 것을 알아보고자 rat의 말단 대퇴골의 길이를 'mm단위'로 측정.

○ 비타민 D 강화 버섯의 제품개발 및 상품화

- 통버섯, 슬라이스버섯, 버섯 가루 등 국내시장에 적합한 상품 개발
- 비타민 D 강화 버섯을 이용한 기능성 식품 개발

2. 국내외 기술개발 현황

(1) 국내 제품생산 및 시장 현황

○ 비타민 D 강화식품

- 국내 제품생산 및 시장 현황

우리나라 일부 초등학생과 중학생의 영양강화식품 섭취 실태 등을 조사한 연구에서 조사대상자가 섭취한 총 114건의 영양강화식품에서 칼슘강화식품이 65.8%를 차지하고, 이어 비타민 C 강화식품(33.4%), 비타민 D 강화식품(33.3%), 비타민 A 강화식품(24.6%), 비타민 B군 강화식품(24.6%) 등의 순으로 나타났다. 결론적으로, 비타민 D와 칼슘은 체내 대사에 서로 긴밀히 작용하여 영향을 미치는 것을 확인할 수 있으며 섭취량 부족을 해소하고 생리학적 기능성을

확보하도록 이들 영양소의 강화 필요성이 요구되고 있다.

○ 비타민 D 강화식품 산업 현황

비타민 D의 중요성을 인식하면서 국내에서도 비타민 D 강화식품이 많이 개발되어 판매되고 있다. 이들은 비타민 D만 강화, 비타민 D와 칼슘을 함께 강화 하는 형태로 제조되고 있다.

표. 1. 국내에서 시판되고 있는 비타민 D 강화식품

유형	제조사	제품명	비타민 D (㎍/100 g) (㎍/100 mL)
농후발효유	서울우유	비요뜨 크런치볼	0.69
농후발효유	푸르밀	프리미엄 후레쉬 블루베리	1.39
두유	연세두유	검은콩	1
두유	연세두유	고소한아몬드 & 잣두유	1
두유	연세두유	연세 어린이두유 키짱	1.3
마가린	오뚜기	식물성 마가린	15
발효유	동원	토마스와 친구들 사과	1
발효유	매일	헬로엔요 비타민 파워	0.38
버터	소와나무	모닝버터 Omega3	25
버터	오뚜기	1/2 하프버터린	15
버터	오뚜기	FreshValley 오메가3 버터	15
버터	오뚜기	옥수수 마가린	15
분유	일동	일동 후디스 헤모틴틴 베이비	250
우유	남양	초코에몽	0.36
우유	서울우유	에너지 초코우유	0.5

그림 1. 가정전용 배달우유 ‘비타민 D 우유’를 출시 (2015년 6월)

남양유업은 한컵(200 ml) 음용 시 일일 비타민 D 권장량의 40%를 충족(2 ㎍만큼의 비타민 D3 함유)하고, 칼슘역시 일일 영양소 기준치의 31%를 만족(220 mg의 칼슘함유)하며 지방함량은 1/2로 낮춘, 강화저지방 우유 ‘칼슘 흡수를 위한 뼈건강 비타민 D 우유’를 출시했다.

그림 2. 비타민 퍼니 밀크 드롭스 (어린이용 짜먹는 비타민 D 우유) - 비타민 D 1일 섭취량 100% 함유되어 있으며 우유에 짜서 먹는 제품.

표. 2. 국내 비타민 D 보충제

제품명	판매원	제조원	캡슐(정) 당 비타민 D 함량 (μg)	섭취량	
				회	일
유한m 비타민 D 2000 IU	유한 메디카	한미양행	50	1캡슐	1회
영진 비타민 D 2000 IU	영진약품공업(주)	(주)한국씨엔에스팜	50	1캡슐	1회
대웅 비타민 D3	대웅	뉴트리바이오텍	50	1캡슐	1회
비타민 D 2000 IU 츄어블	종근당건강(주)	콜마비앤에이치(주)	50.5	1정	1회
초이스 츄어블 칼슘 앤 비타민 D	비타민하우스(주)	네이처퓨어코리아(주)	1.5	2정	1회

(2) 국외 제품생산 및 시장 현황

○ 세계적 영양 강화식품의 소비경향

칼슘과 비타민 C 위주의 강화식품에서 철, 아연, 비타민 D, E 등의 강화식품의 종류 다양화

◦ 일본에서는 Codex 원칙에 따라 소맥분, 식빵, 건면(마카로니, 스파게티 포함), 즉석면, 된장, 어육햄, 소시지등에 칼슘을 강화
◦ 미국 FDA는 식품에 무분별한 영양소의 첨가를 제한하고 생식품(fresh produce), 육류, 가금류, 어육가공품, 설탕, 캔디, 탄산음료 등의 식품에 강화하는 것은 적합하지 않다고 규정. 씨리얼류, 곡류 및 파스타, 우유 및 유제품, 대두음료 등의 식품에 비타민 D 첨가 허용.
◦ 캐나다에서는 비타민 D 결핍으로 인한 심각한 구루병 발병율 증가에 대해 우유에 비타민 D를 강화하는 규정을 확정해 공중 건강 문제로서 구루병을 제거하게 됨.
◦ 최근 식품소비자들의 건강지향적인 식품에 대한 관심도가 높아지면서 영양강화식품을 선호함.

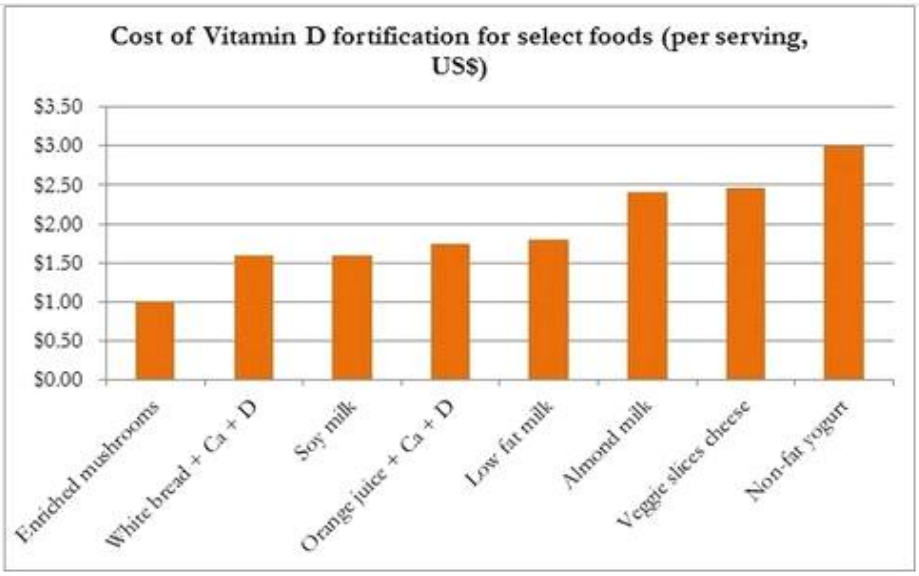


그림 3. 미국에서의 비타민 D 강화 식품구매 비용

그림. 4. 오스트리아에서 판매되는 비타민 D 강화식품

○ 제품

그림. 5. Alta Dena 우유 - 비타민 D_3가 강화되었으며 1컵으로 하루 권장량의 25%를 충족할 수 있다고 한다. 칼슘은 같은 양을 섭취할 때 하루 권장량의 25%가 들어있다.

그림. 6. 떠먹는 요구르트 - Vitamin D의 함량이 125g 당 5ug 가 함유되어 있는 떠먹는 요구르트 제품.

그림. 7. 오렌지 주스 - 미국의 Tropicana 사에서 나온 주스. 비타민 D_3를 사용해 비타민 D를 강화했으며 100 mL 당 4.17 μg 만큼의 비타민 D가 들어있다.

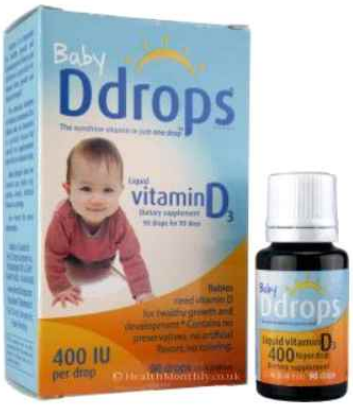


그림. 8. 분유 Drop - 영국의 HealthMonthly라는 회사에서 분유에 타서 먹이는 제품이다. 1방울의 drop 당 비타민 D_3를 400 IU(10 μg)만큼 제공할 수 있다고 선전하고 있다.

표. 3. 해외 비타민 D 보충제

제품명	판매원	제조원	국적	캡슐(정) 당 비타민 D 함량 (μg)	섭취량	
					회	일
VESTA Vitamin D 1000 IU	명성뉴트라	NIC Health Ltd.	캐나다	25	1캡슐	1회
Calcium Magnesium Zinc & Vitamin D	숭명통상	Naturalize Health Inc.	캐나다	10	1정	1회
SUNSHINE PLUS Vitamin D 2000 IU	이니시아	Fullfillnature INC.	캐나다	50	1캡슐	1회
Now Foods, Vitamin D-3, 2000 IU, 120 Softgels		Now Foods	미국	50	1정	1회

3. 연구수행 내용 및 결과

< 1 세부 >

Ⅰ. 버섯의 비타민 D 증대 관련 국내외 문헌 조사를 통한 data base 구축

▣ 논문

○ 1998년 J. Agric. Food Chem 저널에서 발표된 Ultraviolet Irradiation Increased Vitamin D_2 Content in Edible Mushrooms 논문에서는 표고버섯, 양송이버섯, 풀버섯에서 자외선 종

류(UV-B선과 UV-C선)와 조사시간에 따른 비타민 D_2의 함량 변화를 조사했다.

○ 1998년 Journal of Food Science에서 나온 Stability and Photochemistry of vitamin D_2 in Model System에서는 우유에 들어있는 비타민 D가 빛의 존재 하에서 감소했는데 이는 함께 들어있는 리보플라빈의 일중항산소 생성능 때문이라고 말하고 있다. 또한 비타민 D의 저장안정성에서 온도나 빛보다 리보플라빈에 의한 손실이 더 크다는 결론을 내렸다.

○ 2004년 Food Chemistry 저널에서 나온 Distribution of ergosterol in different tissues of mushrooms and its effect on the conversion of ergosterol to vitamin D_2 by UV irradiation 논문은 표고버섯, 양송이버섯, 느타리버섯, 전복느타리버섯, 팽이버섯에 UV-A 조사를 통한 비타민 D_2의 생성 효율을 알아보았다.

○ 2006년 Food chemistry 저널의 Ultraviolet irradiation: The generator of Vitamin D_2 in edible mushrooms 논문에서는 포고버섯, 양송이버섯, 느타리버섯, 전복느타리버섯등 네 가지의 서로 다른 종류의 버섯에 함유되어 있는 ergosterol의 비타민 D_2 전환율을 비교 실험하였다.

○ 2006년 Progress In Biophysics & Molecular Biology 저널에서 나온 What is the optimal vitamin D status for health? 논문은 성인 기준 하루 최소 50μg을 섭취해야 뼈건강을 유지하는 최소 혈중 25(OH)D 농도인 50nmol/L를 유지할 수 있다고 보고하고 있다.

○ 2007년 Food Science & Technology 저널의 Sterol and vitamin D_2 concentrations in cultivated and wild grown mushrooms: Effects of UV irradiation 논문에서는 3종류의 자연산 버섯-살구버섯, 그물버섯 등과 5종류의 양식 버섯-양송이버섯, 표고버섯, 느타리버섯 등에 존재하는 ergosterol 과 비타민 D_2함량에 대한 파장종류(UV-A와 UV-C)의 영향을 알아보았다.

○ 2007년 Journal of Food Engineering의 Kinetics of the conversion of ergosterol in edible mushrooms 논문은 표고버섯과 양송이의 비타민 D_2 함량을 늘리는데 영향을 주는 요인으로 온도와 자외선 조사시간, 그리고 수분함량을 언급했다. 또한 비타민 D_2의 전구체인 ergosterol이 비타민 D_2로 변하는 역학적 모델을 0차 반응 모델에 적용시켰다.

○ 2007년 Journal of the Science of Food and Agriculture 저널의 Sensory and microbiological quality of shiitake mushrooms in modified-atmosphere packages : MAP 포장이 표고버섯의 품질에 미치는 영향(- 미생물학적, 관능적 요소) 및 조직감 test에서 설정한 조건들이 언급되었다.

○ 2008년 Journal of Agriculture and Food Chemistry 저널에서 나온 Vitamin D_2 Formation from Post-Harvest UV-B Treatment of Mushrooms (Agaricus bisporus) and Retention During Storage 논문은 자외선 처리한 Portabella 버섯의 저장기간에 따른, 또한 수확 후

자외선 처리까지 지난 기간에 따른 비타민 D_2의 손실에 대해 알아봤다. 그 결과 수확 후의 기간은 거의 영향이 없었으며 저장 일수에 따라 큰 차이를 보였다.

○ 2008년 Carbohydrate Polymers 저널에서 발행된 Optimization of extraction process of crude polysaccharides from wild edible BaChu mushroom by response surface methodology 논문에서는 식용 BaChu 버섯을 이용한 다당류 추출의 최적조건을 RSM을 이용해 구하였다. 4가지 영향인자를 설정한 뒤 회전가능한 중심합성계획법에 근거해 결과를 도출했다.

○ 2010년 Postharvest Biology and Technology 저널의 Influence of UV-C treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and texture of postharvest shiitake (Lentinus edodes) mushrooms during storage 에서는 표고버섯에 처리하는 UV-C 선의 수확 이후의 긍정적인 영향을 조직감, 항산화물질, 항산화효소 등을 통해 알아보았다. 조직감 측정에 대한 내용을 본 연구진들은 참고했다.

○ 2011년 European Journal of Clinical Nutrition 저널에서 발행된 Bioavailability of vitamin D_2 from UV-B-irradiated button mushrooms in healthy adults deficient in serum 5-hydroxyvitamin D: a randomized controlled trial 논문은 같은 양의 비타민 D의 함량을 갖는 비타민 D강화된 양송이와 기존의 비타민 D 영양제의 생체이용률을 비교했다. 건장한, 그리고 젊은 층의 성인집단에서 양송이를 통한 생체이용률이 더 우수했음을 보였으며 동시에 매일 100㎍ 만큼의 비타민 D를 복용해도 해가 전혀 없이 안전하다는 내용도 싣고 있다.

○ 2012년 Food chemistry 저널의 Generation of potentially bioactive ergosterol-derived products following pulsed ultraviolet light exposure of mushrooms (Agaricus bisporus)논문에서 양송이 버섯에 자외선 조사 시 에르고스테롤이 비타민 D 로 가장 많이 합성되고 이외 몇가지 유도체들로 합성되는 것을 보고하였다. 그리고 자외선 조사시 비타민 D의 양은 직선적으로 증가하나 고선량의 자외선을 조사 시 그 증가율이 둔화하는 것을 보였다.

○ 2012년 Archives of Biochemistry and Biophysics 저널의 Vitamin D safety and requirements 논문에서는 Hatchkock et al.(2007)의 논문을 인용하며 기존의 50～100㎍/day로 한정된 일일한계량의 수치는 너무 낮다며 일일한계량을 250㎍로 설정해도 전혀 몸에 악영향이 없다는 내용을 주장하고 있다.

○ 2013년 Osteoporos Int 저널의 Vitamin D_2 from light-exposed edible mushrooms is safe,bioavailable and effectively supports bone growth in rats 논문에서 고함유 비타민 D 버섯을 rat에게 먹여 그 안정성, 생체효율 등을 조사한 결과 고함량 비타민 D 증대 버섯을 먹은 rat에서 혈중 25(OH)D의 함량이 높았고 자외선 조사에 의한 비타민 D는 생체효율성이 있으며 독성없이 안전하다고 보고하였다.

○ 2013년 Food and Chemical Toxicology 저널의 Safety assessment of the post-harvest treatment ofbutton mushrooms (Agaricus bisporus) using ultraviolet light 논문에서는 UV처리는 식품분야에서 오랫동안 사용되어져 온 만큼 버섯으로의 적용에서도 안전성에 문제가 없음에 대해 기술하고 있다.

○ 2014년 Food Chemistry 저널의 Stability of vitamin D in foodstuffs during cooking 논문은 요리 중 일어나는 비타민 D의 안정성 변화에 대해 조사했다. 후라이, 굽기, 끓이기 등 요리방법을 달리해서 결과를 도출했다. 요리가 비타민 D에 악영향을 줄 수는 있지만 식품의 유형과 열을 가해주는 방법에 따라 그 손실이 다름을 보이고 있다.

▣ 특허

○ "버섯 자실체 내의 비타민 D_2 함유량 증량방법"(2003년 4월 2일, 공개번호 : 특2003-0040258)
이 특허는 종래에 사용하지 않은 방식인 자외선등을 이용해 버섯의 비타민 D_2의 함량을 증가시켜 고부가가치화 한다는 내용이었다. 표고버섯을 포함해 팽이버섯, 양송이버섯, 새송이버섯, 느타리버섯에 높이(15, 30, 45, 60 ㎝)와 시간(10, 20, 30, 40 초)을 달리해서 자외선 조사를 처리했다.
사용한 자외선등의 파장에 대한 범위의 언급이 없었고, 본 연구진들이 수행한 비타민 D_2의 함량에 비해 100배~300배 가량 낮았다.

○ "버섯의 비타민D2 함량을 증대시키는 자외선 조사장치 및 이를 이용한 버섯의 제조방법"
(2012년 7월 28일, 등록번호 : 10-1171465)
원적외선과 음이온을 방사하는 세라믹 타일을 부탁한 컨베이어벨트형 자외선 조사장치를 통해 이동식으로 한번에 여러 버섯의 비타민 D_2를 강화할 수 있는 기기를 만들었다. UV-B선을 방출하는 등을 사용했으며 자외선조사량의 단위를 전력을 뜻하는 와트(W)로 사용했다. 80, 120, 160W로 2분간 자외선을 조사했을 때 비타민 D_2의 함량은 각각 150, 230, 210 ㎍/100g(건물 기준)으로 36㎍/100g(건물)만큼의 비타민 D_2를 함유한 대조군에 비해 월등히 높아진 수치를 기록했다. 하지만 본 연구진들의 결과에 비해 20-38배 가량 적은 양이었으며 이 특허에서도 마찬가지로 영향인자들에 대한 파악은 이루어지지 않았다.

Ⅱ. 재배방법에 따른 표고버섯의 자외선 조사 후 이화학적 차이 조사

○ ㈜건농 농장에서 두 가지 방식으로 재배된(원목 재배, 톱밥 재배) 버섯들에 대한 특성을 조사하였다. 자외선 조사 시 비타민 D_2의 변환율 뿐 아니라 소비자들이 생각하는 좋은 상품으로써의 중요 항목인 조직감 및 색도를 조사했다.

○ 분석된 샘플

원목 및 톱밥재배, 그리고 원형과 슬라이스에 상관없이 모두 40℃에서 30 kJ/㎡만큼 자외선을 조사했다(그림. 9-14).

< 약어 설명 >
- 생원 : 원목 재배 生표고(자외선 처리를 하지 않은)
- 원통 : 원목 재배 통표고(40℃에서 30 kJ/㎡)
- 원슬 : 원목 재배 슬라이스(40℃에서 30 kJ/㎡)
- 생톱 : 톱밥 재배 生표고(자외선 처리를 하지 않은)
- 톱통 : 톱밥 재배 통표고(40℃에서 30 kJ/㎡)
- 톱슬 : 톱밥 재배 슬라이스(40℃에서 30 kJ/㎡)

그림. 9. 원목 재배 生표고

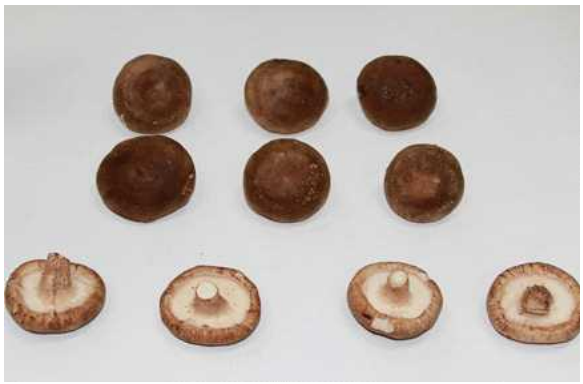


그림. 10. 톱밥 재배 生표고

그림. 11. 원목 재배 통표고(UV 처리)

그림. 12. 톱밥 재배 통표고(UV 처리)

그림. 13. 원목 재배 슬라이스 표고(UV 처리)

그림. 14. 톱밥 재배 슬라이스 표고(UV 처리)

가. 재배방법에 따른 비타민 D_2 함유량 차이

○ 6개의 샘플 중에서 비타민 D_2 함량 조사에 필요한 양(약 80g)을 각각 grouping하고 급송동결을 하루 동안 했다. 다음 동결건조를 거쳐 분말화한 후에 냉동보관을 했다. 버섯 가루 시료를 1g 취한 뒤 산화제인 비타민 C 1g과 함께 검화과정을 거친 뒤 헥산을 추출용매로 이용해 비타민 D_2를 정량 분석했다.

[결과]

○ 원목과 톱밥재배 표고의 비타민 D_2 함량은 生표고의 경우 거의 차이가 없었다. 하지만 통표고와 슬라이스표고에 자외선 처리를 했을 경우, 원목재배에 비해 톱밥재배 표고들의 비타민 D_2 함유량이 많았다(그림. 15). 자외선을 통으로 처리 할 경우 원목표고는 40.05 μg/g(Dry matter(건물기준); 이하 DM), 톱밥표고는 73.95 μg/g(DM)으로 톱밥재배가 월등히 우세했고 슬라이스 처리의 경우 원목표고는 73.95 μg/g(DM), 톱밥표고는 117 μg/g(DM)으로 역시 큰 차이를 보였다. 또한 대조군을 제외하고는 자외선을 처리한 슬라이스 표본에서 재배방법에 상관없이 우세한 비타민 D_2 생성능을 보였다.

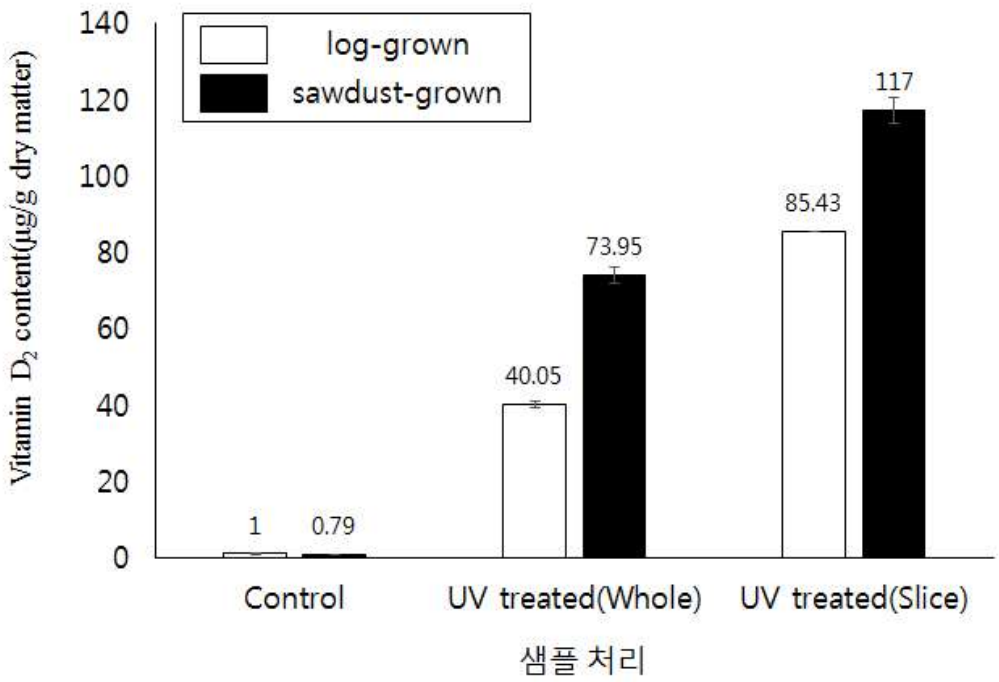


그림. 15. 재배방법과 형태가 다른 표고버섯들의 비타민 D_2 함량

나. 자외선 조사 이후 조직감 변화

○ 조직감 특성은 TA.XT2 texture analyzer를 이용해 측정했다(그림. 16). 지름이 5㎜인 원통형 probe를 사용했다. 샘플의 깊이가 5㎜가 될 때까지 probe가 2㎜/s의 속도로 눌러주고 후퇴했다가 다시 같은 속도로 2차 압축응력을 수행해서 처음과 두 번째에 기록된 '힘-시간' 그래프를 통해 1) 강도, 2) 탄력성, 3) 씹힘성, 4) 점착성 등을 알아봤다. 또한 버섯 표본들을 4℃에서 10일 동안 냉장보관하면서 변화되는 4가지의 조직감 물성을 알아봤다.

○ 조직감 실험은 모두 슬라이스 형태로 해서 측정했다. 생표고와 자외선 처리된 통표고의 경우 줄기부분을 포함하는 가운데 부분을 두께가 1㎝ 이상 되게 슬라이스 한 뒤 갓의 중앙부위에 압축 probe가 오게 하여 측정했다(그림. 17).

그림. 16. TA.XT2 texture analyzer

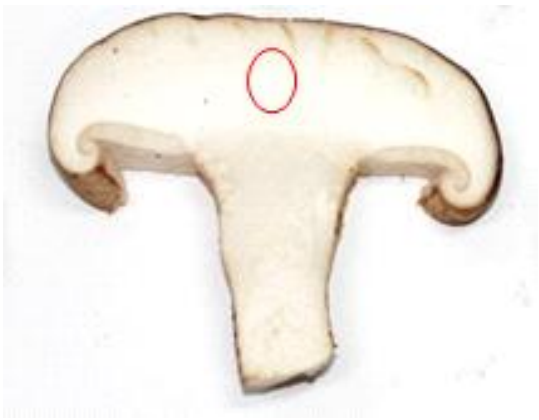


그림. 17. 조직감 측정 부위(붉은 원)

[결과]

① 조직감 실험의 결과

표. 4. 조직감을 나타내는 4가지 항목에 대한 결과

재배 방식		조사 항목			
		강도 (Hardness, N)	탄력성 (Springiness)	씹힘성 (Chewiness)	점착성 (Gumminess)
대조군	원목재배	8.92±1.15	0.88±0.03	5.97±0.72	6.81±0.81
	톱밥재배	7.05±1.32	0.86±0.05	4.31±0.81	5.03±0.96
자외선 조사 (통표고)	원목재배	9.19±1.80	0.89±0.02	6.22±1.28	6.97±1.40
	톱밥재배	6.15±1.64	0.87±0.03	3.99±1.10	4.61±1.30
자외선 조사 (슬라이스)	원목재배	10.52±2.32	0.87±0.04	6.94±1.73	7.74±1.70
	톱밥재배	10.57±2.32	0.90±0.03	7.56±1.73	8.40±1.85

○ 자외선 처리에 의한 차이

生원목 표고와 통처리 원목 표고의 조직감을 비교해 봤을 때(표. 4), 표에 언급된 4가지 항목에서 큰 차이를 보이지 않았으나 강도와 씹힘성은 자외선을 처리했을 때 대조군에 비해 각각 0.27 N, 0.25 정도 더 높았다. 따라서 원목표고의 경우 자외선 처리로 인한 4가지 물성에 부정적 영향은 없었다. 톱밥표고의 경우는 대조군에 비해 자외선 처리된 통표고의 강도, 씹힘성, 그리고 점착성이 각각 0.9 N, 0.32, 0.42만큼 낮아졌음을 알 수 있었다.

○ 재배방법에 따른 차이

원목과 톱밥으로 재배된 生표고를 비교해 봤을 때, 조직감을 나타내는 4가지 항목에서 모두 원목재배가 높게 나왔음을 알 수 있었다. 이러한 경향은 자외선을 처리한 원목 통표고와 톱밥 통표고에서도 동일하게 나타났다. 이는 원목재배 버섯과 톱밥재배 버섯의 수분함량에 기인한 것으로 사료된다. 원목재배 버섯의 수분함량은 77.7%로 톱밥재배 버섯의 수분함량 (89%) 보다 낮았다.

○ 표본의 형태에 따른 차이

자외선 처리된 통표고와 슬라이스 표고의 비교 시, 슬라이스 표고가 대부분 모든 항목에서 높았다. 자외선 처리된 원목표고의 경우 슬라이스 처리 시 탄력성에서만 조금 낮은 값을 보였을 뿐 다른 모든 항목에서 통표고에 비해 높은 값을 보였다. 자외선 처리된 톱밥표고의 경우 그 차이가 월등히 컸는데 강도는 4.42 N, 씹힘성은 3.57, 점착성은 3.79 만큼의 큰 차이를 기록했다.

② 저장기간(0, 5, 10일)에 따른 조직감 변화

○ 강도(N)

그림. 18.에서 통표고의 경우 자외선의 처리는 生표고의 물성에 거의 차이를 주지 않았으며 기간이 지날수록 서서히 감소되는 경향을 보였다. 결과적으로 강도는 자외선조사에 큰 영향을 받지 않았다. 生원목과 生톱밥 표고의 수분함량을 측정했을 때 각각 77.7%, 89% 로 큰 차이를 보였었다. 따라서 수분함량이 적은 원목배지 표고의 강도가 처음에는 높았을 것으로 추정된다. 하지만 시간이 지남에 따른 강도의 저하도 원목 표고가 톱밥 표고에 비해 앞섰으므로 10일 뒤에는 거의 차이를 보이지 않았다. 조직감에 영향을 주는 요인에는 버섯 내에 존재하는 미생물에 의한 부패, 효소에 의한 성분변화, 세포의 대사 활동 등이다. 원목과 톱밥에 따른 조직감 변화 속도의 차이는 각각의 버섯에 내재된 미생물에 대한 면역력, 효소의 차이, 호흡률 차이 등으로 추정할 수 있다.

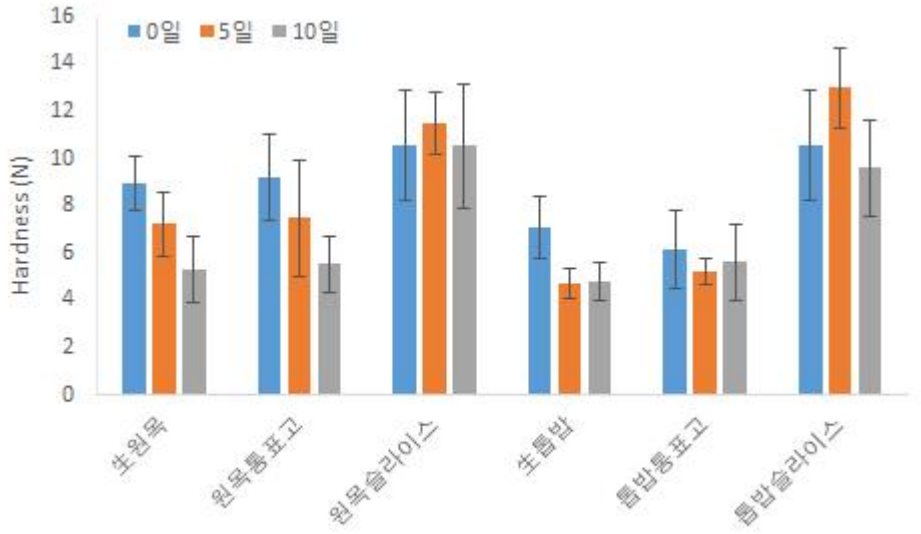


그림. 18. 저장기간에 따른 강도

○ 탄력성

재배방법과는 상관없이 자외선을 처리했던 슬라이스 표본들의 수치가 높았으며 10일동안 거의 변하지 않았다(그림. 19). 다만 통표고의 경우 재배방식에 따른 차이를 보였는데 生원목 통표고는 10일 동안 변화가 거의 없이 탄력을 유지한 반면, 生톱밥통표고는 5일 뒤 그리고 10일 뒤 각각 일정한 간격으로 수치가 줄어들어 10일 뒤에는 生원목통표고와의 차이가 크게 났음을 알 수 있었다. 자외선 처리를 한 통표고의 경우 톱밥통표고의 수치는 5일 뒤 감소했다가 10일 뒤에는 당일의 수치와 비슷하게 증가했고 원목통표고의 경우 감소해 결과적으로 톱밥통표고의 수치보다 낮았다. 이로써 탄력성은 원목재배의 경우 生표고가, 톱밥재배의 경우 자외선 처리 통표고가 높았음을 알 수 있었다.

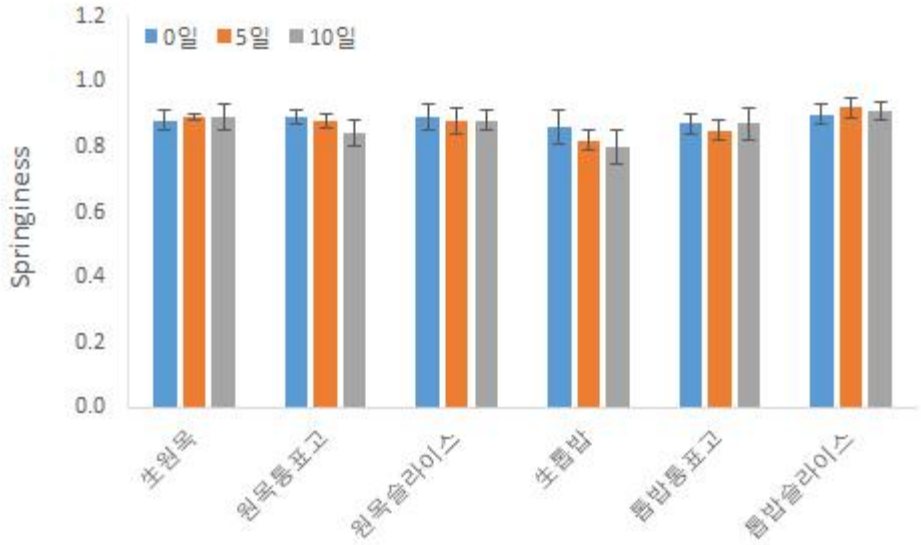


그림. 19. 저장기간에 따른 탄력성

○ 씹힘성

씹힘성의 경우 강도의 결과와 유사한 경향을 보였으며 (그림. 20) 저장기간이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 자외선 처리하지 않은 대조군과 자외선 처리한 통표고버섯의 경우 큰 차이를 보이지 않았다.

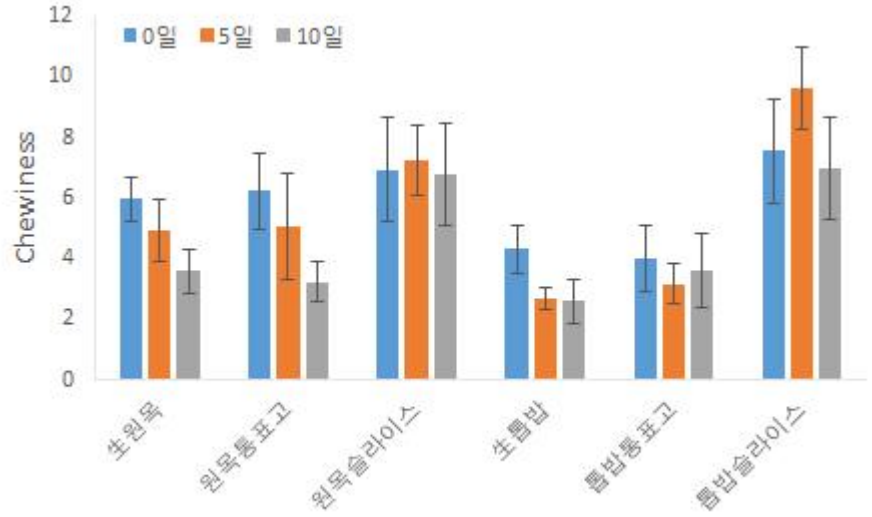


그림. 20. 저장기간에 따른 씹힘성

○ 점착성

점착성의 결과 역시 강도와 씹힘성의 결과와 매우 유사한 결과를 보였다(그림. 21). 통표고의 경우 점착성이 원목재배가 톱밥재배에 비해 처음에는 높았으나 시간이 지나 10일이 되었을 때 그 차이가 많이 나지 않았다. 또한 자외선의 처리에 관계없이 生표고와 비슷한 경향을 보였다.

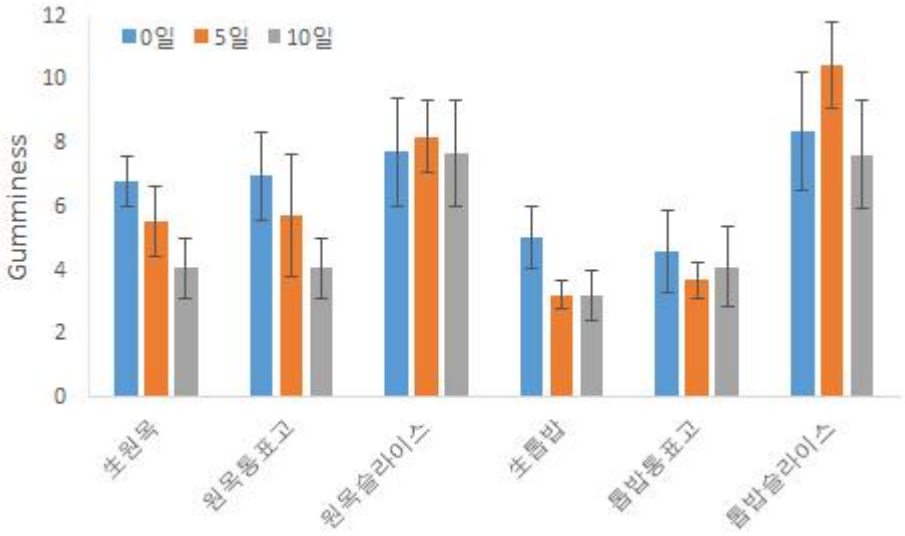


그림. 21. 저장기간에 따른 점착성

다. 자외선 조사에 따른 색도 변화

○ 색도 측정에 쓰인 system 버섯 샘플의 색도 측정을 위해서 Lab value(CIE 1976 체계) system을 이용했다(그림. 22). 통표고는 색도 측정 직전에 1cm 두께로 슬라이스 한 뒤 그림. 23.와 같이 세 지점의 색도 측정값의 평균을 한번으로 해서 10반복 측정했다.

그림. 22. CIE 1976 system

그림. 23. 색도 측정 시 찍은 부분 (붉은 원)

[결과]

표. 5. 자외선 조사에 의한 색도 변화

	L^*	a^*	b^*
원목 통 표고버섯 - UV(X)	95.19±1.21	0.21±0.29	6.02±0.7
원목 통 표고버섯 - UV(O)	95.89±0.43	0.11±0.15	5.58±0.31
원목 슬라이스 - UV(O)	93.76±1.32	0.71±0.34	9.44±1.74
톱밥 통 표고버섯 - UV(X)	92.90±0.71	0.78±0.21	8.17±0.67
톱밥 통 표고버섯 - UV(O)	92.68±0.92	0.87±0.24	8.4±0.53
톱밥 슬라이스 - UV(O)	93.2±0.91	0.75±0.18	9.5±1.4

○ 자외선 처리에 의한 차이

生 원목표고와 통으로 자외선을 처리한 원목표고를 비교했을 때 자외선 처리가 색도에 미치는 영향은 거의 없었다(표. 5). 이러한 경향은 生 톱밥표고와 통처리 톱밥표고 샘플에서도 마찬가지로 나타났다. 生표고와 자외선 처리를 받은 표고는 재배방식에 상관없이 L, a, b 값이 비슷하게 나타났다. 즉, 40℃에서 30 kJ/m^2 만큼의 자외선 조사는 L값뿐 아니라 a와 b값에서도 차이를 크게 보이지 않아 상품성에는 지장이 없음을 알 수 있었다.

○ 재배방법에 따른 차이

원목과 톱밥재배 된 生표고를 먼저 비교 했을 때, 대체적으로 원목 표고의 L값이 높았다. 반면 a와 b값은 톱밥재배 표고가 더 컸다. 원목배지 표고버섯의 a와 b의 값이 더 큰 것으로 보아 톱밥배지 표고보다 더 희고 갈변도 적어서 결과적으로 색도 면에서는 원목재배 표고가 톱밥재배 표고에 비해 더 밝은 빛을 띄었다고 할 수 있었다. 이러한 경향은 자외선 처리한 원목통표고와 톱밥통표고, 그리고 원목슬라이스표고와 톱밥슬라이스표고를 비교했을 때도 동일했다. 2009년 Journal of Food Engineering에서 발표된 Modelling browning and brown spotting of mushrooms (Agaricus bisporus) stored in controlled environmental conditions using image analysis 논문에서는 버섯의 갈변현상은 효소적 갈변에 기인한다고 기술하고 있다. 버섯에는 총페놀함량이 높을 뿐 아니라 tyrosinase같은 갈변을 촉진하는 효소 함께 들어있어 갈변에 취약하다고 밝혔다. 이를 통해 톱밥재배 표고에는 원목재배 표고에 비해 더 많은 갈변 촉진 효소 혹은 총페놀함량으로 인해 위와 같은 결과가 도출되었을 것으로 사료된다.

○ 표본의 형태에 따른 차이

재배방법은 동일하지만 자외선을 처리하고 형태를 통과 슬라이스로 달리한 표본들을 각각 비교해 보았다. 원목재배의 경우 통표고의 a, b 값이 슬라이스에 비해 낮게 나왔다. 2000년 LWT - Food Science and Technology에서 발표된 Post-harvest Treatment with Citric Acid or Hydrogen Peroxide to Extend the Shelf Life of Fresh Sliced Mushrooms에서는

버섯을 슬라이스하는 과정에서 버섯의 균사세포가 파괴되어 기질-효소적 반응을 촉진해 갈변을 일으킨다고 했다. 이런 요소 뿐 아니라 슬라이스 처리 이후 버섯의 표면적이 넓어짐으로 인해 공기 중의 산소에 더 많이 노출됨으로써 흑갈색 색소인 멜라민 생성과정이 촉진된다고 사료된다. 결과적으로 원목재배의 경우, 색도 보존은 슬라이스보다는 통표고가 더 우수했다.

Ⅲ. 자외선 조사를 통한 비타민 D 함량이 증대된 기능성강화 표고버섯의 대량생산 조건 확립

가. 자외선 조사 이후 건조가 비타민 D 함량에 미치는 영향

비타민 D가 강화된 표고버섯을 생산하고자 할 때, 기업의 입장에서는 버섯의 보존성을 높이기 위해 건조과정을 거치는 것이 유리하다. 본 연구진들은 자외선 처리를 한 뒤 건조과정이 비타민 D에 미치는 영향을 알아봤다(표. 6). 버섯은 비타민 D의 함량이 더 많았던 톱밥재배 표고를 이용했다(그림. 24.).

○ 자외선 조사량 및 온도

건조온도와 자외선 조사량은 40℃, 30 kJ/m^2 로 통일했다.

표. 6. 건조가 미치는 영향을 알아보기 위한 통과 슬라이스 표고의 샘플처리

샘플 번호 (통표고)	처리	샘플 번호 (슬라이스 표고)	처리
1-0	生표고	2-0	生표고
1-1	건조과정 없이, UV(30kJ/m^2, 40℃)	2-1	건조과정 없이, UV(30kJ/m^2, 40℃)
1-2	일반건조(40℃)만	2-2	일반건조(40℃)만
1-3	UV(30kJ/m^2, 40℃) 후 건조(10시간)	2-3	UV(30kJ/m^2, 40℃) 후 건조(10시간)
1-4	UV(30kJ/m^2, 40℃) 후 건조(15시간)	-	-

그림. 24. 샘플 사진

[결과]

○ 통표고의 경우(그림. 25), 온도와 자외선 조사량을 일치시키더라도 그 후에 건조과정을 거치느냐 거치지 않느냐에 따라 버섯 내 비타민 D_2 함량에 차이가 있었다. 건조를 거치지 않은 1번 표본의 비타민 함량은 41.71 μg/g으로 가장 많았고 자외선 조사 이후 10시간, 15시간의 건조과정을 거친 3, 4번 표본의 비타민 D_2 함량은 각각 36.83 μg/g(DM), 29.98 μg/g(DM)으로 건조시간이 증가할 때마다 줄어들었다.

이는 건조과정 중 열풍에 의해 비타민 D_2가 일부 파괴 되었을 가능성을 염두 할 수 있다. 또한 건조에 의해 넓어진 표면적은 비타민 D_2의 산화 가능성을 증가시키는 점 역시 비타민 D_2의 함량이 낮아지게 하는 원인이라고 생각했다.

Control과 2번 샘플을 비교해 보면, 아무 처리를 하지 않은 원물 표고에도 약간의 비타민 D_2가 존재했음(4.17 μg/g(DM))을 알 수 있었는데, 이 역시 위에 언급한 가능성에 의해 그 함량이 건조 후 감소된 것을 추측할 수 있었다.

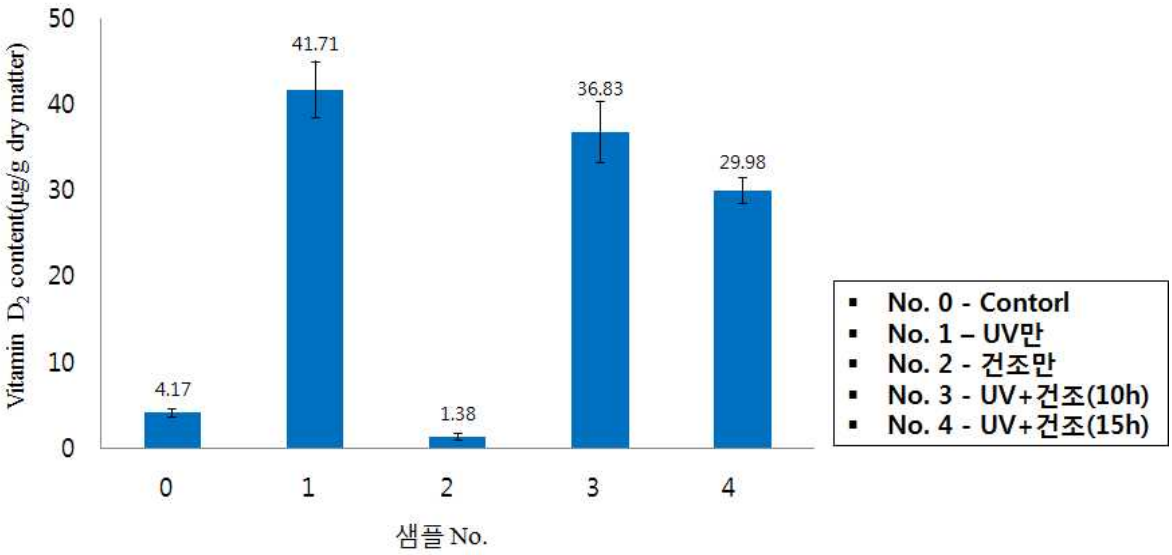


그림. 25. 자외선처리 이후 건조를 거치거나 거치지 않은 통표고버섯의 비타민 D_2 함량

○ 슬라이스 표고의 경우(그림. 26) 건조 이후 비타민 D_2 함량이 줄어들었으나 그 차이가 통표고에 비해 적었다. 또한 건조과정의 유무와 상관없이 슬라이스표고의 비타민 D_2 함량이 통표고에 비해 두 배 가까이 증가했음을 알 수 있었으며(그림. 27.) 건조에 의한 비타민 D_2의 파괴가 크지 않았음을 확인하였다.

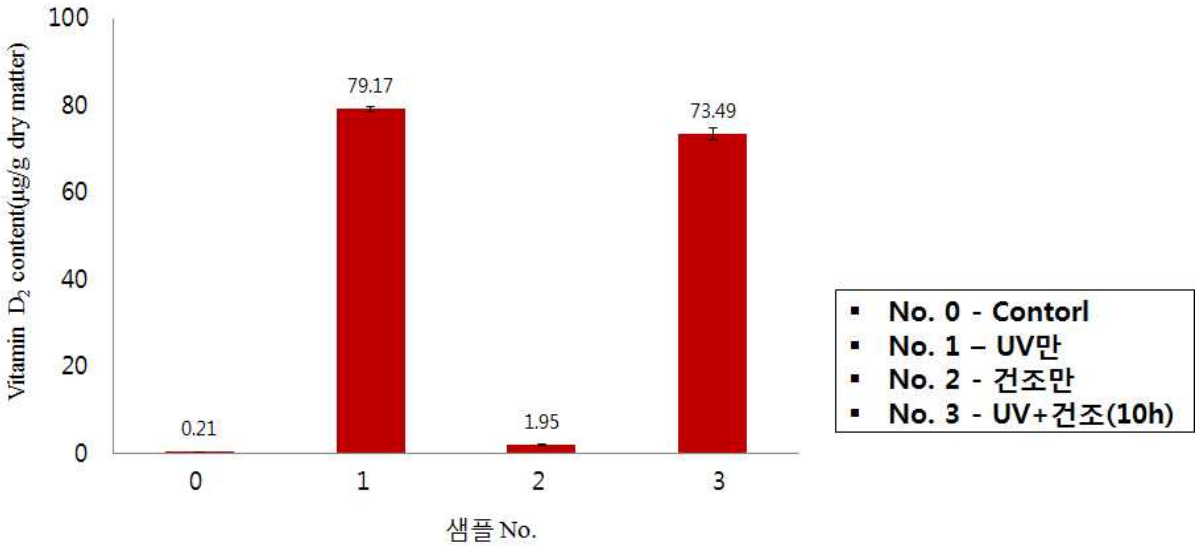


그림. 26. 자외선 처리 이후 건조를 거치거나 거치지 않은 슬라이스 표고버섯의 비타민 D_2 함량

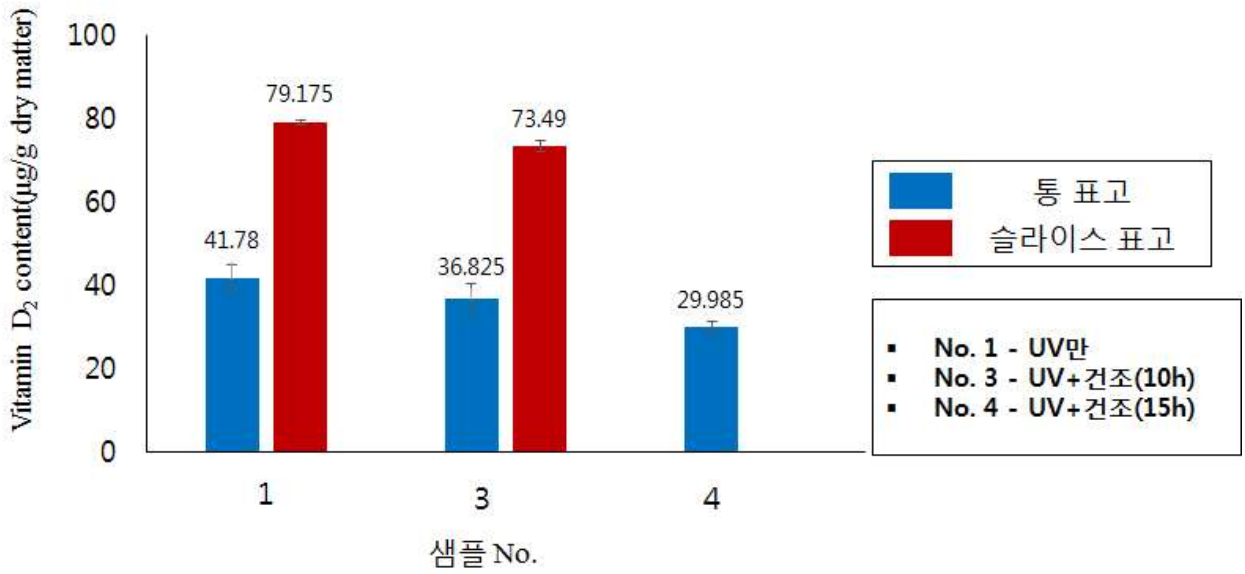


그림. 27. 자외선 처리 이후 건조를 거치거나 거치지 않은 통표고와 슬라이스 표고버섯의 비타민 D_2 함량

나. 건조 제품의 비타민 D 강화

건 표고버섯은 통표고와 슬라이스, 깍뚝 썰기로 잘게 썰어서 만든 칩 형태로 시중에서 판매되고 있다. 이에 건조과정을 거친 뒤 자외선을 동일하게 처리했을 때 슬라이스표고와 칩표고의 비타민 D_2 생성량을 비교하였다. 또한 자외선 조사 이전의 건조공정이 건조 이후 자외선 조사량을 늘림으로써 비타민 D_2의 함량 역시 증가시킬 수 있는지 조사했다.

○ 샘플 처리

톱밥재배 표고를 슬라이스와 칩의 형태로 썰어서 열풍건조를 한 뒤, 자외선 조사량을 40℃ 조건에서 30 kJ/m^2, 60 kJ/m^2만큼 조사하여 준비하였다(그림. 28).

그림. 28. 건조 이후 자외선 처리가 된 슬라이스와 칩 샘플

[결과]

○ 자외선 조사량에 따른 비타민 D_2 함량 차이

건조 슬라이스와 건조 칩 두 가지 샘플 모두 자외선을 처리하지 않은 샘플에서는 비타민 D_2 함량에서 차이를 보이지 않았다(그림. 29). 자외선의 양이 증가함에 따라 건조 슬라이스와 건조 칩의 비타민 D_2 함량이 모두 증가했다.

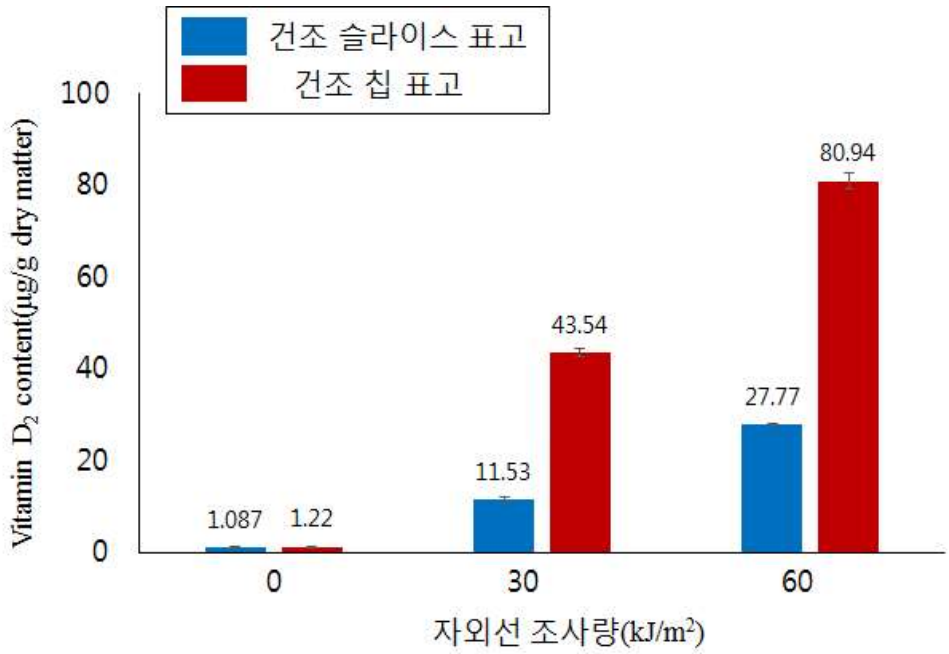


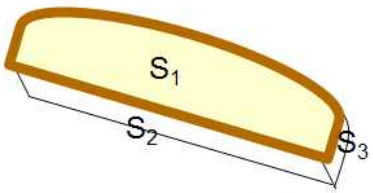
그림. 29. 건조 슬라이스·칩의 조사량에 따른 비타민 D_2 생성량 비교

○ 형태에 따른 비타민 D_2 함량 차이

건조 슬라이스와 건조 칩 표본이 생성한 비타민 D_2 함량에는 큰 차이가 있었다. 30 kJ/m^2에서 건조 슬라이스와 건조 칩의 비타민 D_2 생성량은 각각 11.53 μg/g(DM), 43.54 μg/g(DM)로 큰 차이를 보였으며 60 kJ/m^2에서도 27.77 μg/g(DM)과 80.94 μg/g(DM)만큼의 큰 차이를 보이며 비타민 D_2를 생성했다. 이러한 차이가 나는 이유를 본 연구진들은 다음의 두 가지 이유를 들어 설명하고자 했다.

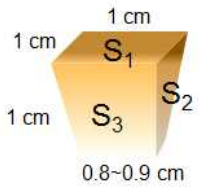
a. 표면적 차이에 따른 조사량 흡수량 차이

건조된 슬라이스와 칩은 표면적에서 큰 차이를 보이는데 중량이 1 g으로 같을 경우 슬라이스는 21.97 cm^2/g을 칩은 34.67 cm^2/g로 약 12.7 cm^2/g만큼의 차이를 보였다(그림. 30). 이는 자외선에 노출되는 ergosterol의 양이 그만큼 더 많기 때문에 비타민 D_2의 생성도 차이가 나는 것이라 생각된다.



$S = 2 \cdot S_1 + S_2 + S_3$

- 평균 표면적 : 31.024 cm^2
- 평균 중량 : 1.412 g
- **중량대비 표면적 : 21.97 cm^2/g**



$S = 2 \cdot (S_1 + S_2 + S_3)$

- 평균 표면적 : 5.72 cm^2
- 평균 중량 : 0.165 g
- **중량대비 표면적 : 34.67 cm^2/g**

그림. 30. 건조 슬라이스와 건조 칩 표본의 표면적

b. 주름의 방향

자외선에 의해 ergosterol → 비타민 D_2의 변환이 가장 활발하게 일어나는 곳은 버섯의 주름부위이다. 슬라이스 형태보다 칩의 경우 주름이 위쪽을 향해 자외선에 직접 노출될 경우가 상대적으로 많기 때문에 주름에 의한 자외선의 효과가 더 클 것으로 생각된다 (그림. 31).

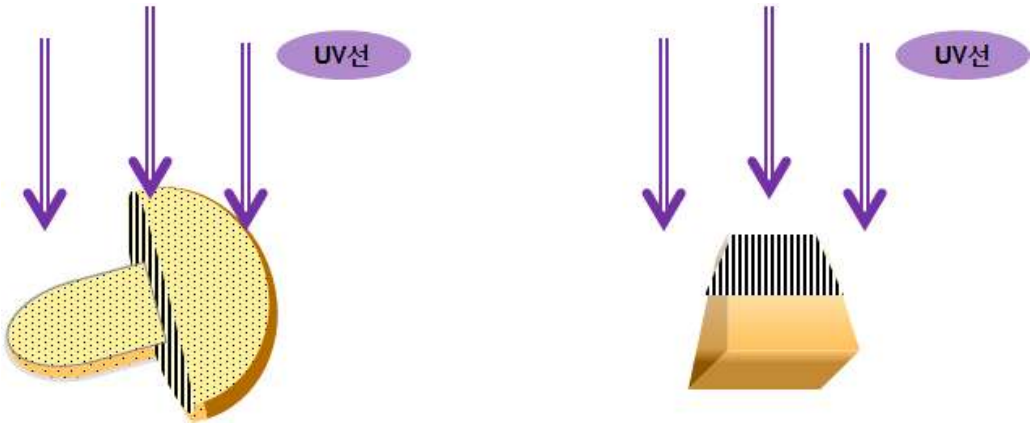


그림. 31. 자외선에 노출되는 슬라이스와 칩 표고의 모식도

Ⅳ. 자외선 조사를 통한 비타민 D 함량이 증대된 표고버섯의 대량생산을 위한 건조기 제작 및 제품 생산

가. 식품건조기 제작

○ 버섯을 포함한 다양한 식품을 건조하면서 자외선 조사를 할 수 있도록 제작 되었다.

○ 2006년 1협동 고려대학교 에서 획득한 특허(특허명 : 비타민 D_2 함량이 증대된 버섯의 제조방법, 등록번호 : 10-0637833)에 사용된 자외선등은 자외선 파장의 범위가 280~313nm로 UV-B의 전 파장대가 넓었던 반면 본 건조기에 사용되는 자외선등은 310, 311nm의 파장대만

을 조사한다. 또한 기존의 자외선등은 15 W였던 반면 이번의 등은 36 W의 출력을 내기 때문에 비타민 D_2의 증진이 더 효과적이었다.

○ 건조기의 열풍설비의 경우 기존의 건조기들과는 다르게 측면의 작은 여러 개의 구멍을 통해 나오므로 더 빠르고 효과적인 건조가 가능했다. 뿐만 아니라 버섯의 색도 변화도 거의 없었으며 식감도 마른 느낌이 나지 않고 탄력이 상당히 유지되었다(그림. 34, 35).

그림. 32. 건조기 내부 사진

그림. 33. 건조기 내부의 버섯 샘플

그림. 34. 포장이 완료된 칩 표고 제품

그림. 35. 포장이 완료된 슬라이스 표고 제품

Ⅴ. 국내외시장의 기능성 버섯 상품 조사

< 국내 >

국내에 아직까진 비타민 D 증가 버섯이 제품으로 판매되고 있는 것은 없었으며 버섯을 이용한 다양한 식품이 개발되어 판매되고 있다. 이러한 식품 등에 본 연구결과인 비타민 D 가 강화된

버섯을 이용한다면 더욱 제품의 기능을 더욱 높일 수 있을 것이라 사료된다.

○ 표고버섯 이용 제품

<table>
<tr>
<td>

대상 종가집 - 표고버섯 손두부</td>
<td>

환공식품 - 표고버섯 6% 함유 어묵</td>
</tr>
<tr>
<td>

천호식품 - 표고버섯 균사체</td>
<td>

케이비에프(주) - 표고버섯 75%, 용도 및 용법:스낵류,조미식품,기타식품의 부원료로 사용</td>
</tr>
</table>

<table>
<tr>
<td>

㈜꽃피는 아침 - 표고버섯 10% 함유된 표고버섯 고추장 굴비</td>
<td>

버섯 스낵</td>
</tr>
<tr>
<td colspan="2">

표고버섯 통조림</td>
</tr>
</table>

< 해외 >

○ 미국 캘리포니아주의 미국 농무부 농업연구청(Agricultural Research Service, ARS)은 Monterey Mushroom 사와 함께 버섯에 비타민 D가 강화된 버섯을 출시하였다. 버섯을 수확한 후 자외선을 처리해 기존의 비타민 D의 함량보다 높은 수준으로 제공한다. 주로 쓰이는 버섯의 종류로는 흰버섯, 갈색버섯, 포타벨라 등이 있다. 100g 당 약 500,000 IU (12,500 ㎍)만큼의 비타민 D_2를 제공한다.

그림. 36 . 시중에서 판매되는 Montery mushroom 사의 비타민 D 강화 버섯 제품

○ 비타민 D 함유 버섯 파우더

1. Dole 사 - 포타벨라 버섯을 자외선 처리 후 가루화 시켜서 제품화. 1티스푼에 약 600 IU (15 ㎍)의 비타민 D_2를 제공한다고 선전하고 있다.

그림. 37. Dole 사의 비타민 D 함유 버섯 파우더

2. Minvita 사 - 영국에 본사를 둔 이 회사에서는 100% 자연산 유기농 양송이를 자외선에 노출시켜 재배하며 100g의 파우더 당 약 10 ㎍만큼의 비타민 D_2를 제공한다.

그림. 38. Minvita 사의 비타민 D 함유 버섯 파우더

Ⅵ. 비타민 D 강화 버섯을 이용한 기능성 식품 개발

○ ㈜건농의 버섯제품과 타 회사들의 버섯제품들의 비타민 D_2 함량을 비교하기 위해 비타민 D_2 분석을 한국기능식품연구원에 의뢰하였다 (표 7-1). ㈜건농 제품의 경우 生표고에 자외선을 30 kJ/m^2 만큼 처리한 뒤 건조과정을 거쳤고 타사의 제품은 건조만 거친 표고버섯이었다. 본사의 자외선 처리 버섯의 경우 비타민 D 함량이 타사 제품에 비해 월등히 높은 것을 확인 할 수 있었다.

표. 7-1. ㈜건농과 타사 버섯제품의 비타민 D_2 함량 비교

No.	업체명	검체명	비타민 D_2함량 (μg/g DM)	UV처리 (30 kJ/m^2)
1	농협양재 - 정남	건표고버섯 칩	4.49	×
2	이마트 - 용인유통	건표고버섯 원형	0.86	×
3	이마트 - 용인유통	건표고버섯 슬라이스	2.70	×
4	양재농협 - 부농표고영농조합	건표고버섯 칩	4.07	×
5	롯데마트 - ㈜)일집	건표고버섯 슬라이스	3.41	×
6	홈플러스 - 청계영농조합	건표고버섯 원형	3.71	×
7	롯데백화점 - 청계영농조합	건표고버섯 원형	1.90	×
8	농업회사법인(주)건농	UV처리->건조표고 원형	10.58	○
9	농업회사법인(주)건농	UV처리->건조표고 슬라이스(두꺼운)	19.54	○
10	농업회사법인(주)건농	UV처리->건조표고 슬라이스(얇은)	55.98	○
11	농업회사법인(주)건농	UV처리->건조표고 칩	23.20	○
12	농업회사법인(주)건농	건조표고슬라이스->UV처리	21.70	○

○ 본사가 개발한 식품 건조기를 이용한 표고버섯이외의 다른 식품에의 적용도를 확인하기 위하여 生양송이에 대한 비타민 D_2 분석도 한국기능식품연구원에 의뢰했다. 자외선을 조사하지 않은 시중(구입처 : 구리도매시장)의 원형 양송이와 슬라이스 양송이의 비타민 D_2를 비교했다(표 7-2). 또한 자외선 처리 전의 슬라이스 처리와 처리 후의 슬라이스 처리에 대한 비교 및 자외선 처리 후 바로 급냉했을 때의 비타민 D_2의 양도 비교했다(표 7-3).

표. 7-2. 자외선 처리를 하진 않은 양송이의 비타민 D_2 함량

No.	검사조건	검체명	비타민 D_2함량 (μg/g DM)	UV처리 (30 kJ/m^2)
1	생양송이를 그대로 검사	생양송이(원형)	0.15	×
2	생양송이를 그대로 검사	생양송이(슬라이스)	0.16	×

표. 7-3. 자외선 처리를 한 양송이의 비타민 D_2 함량

No.	검사조건	검체명	비타민 D_2함량 (μg/g DM)	UV처리 (30 kJ/m^2)
1	생원형양송이->슬라이스 ->UV31분->건조	양송이슬라이스	5.76	0
2	생원형양송이->UV31분 ->슬라이스->건조	양송이슬라이스	0.99	0
3	생원형양송이->슬라이스 ->UV31분->급냉	양송이슬라이스 (급냉)	3.27	0

○ 生양송이의 경우 원형과 슬라이스 간 비타민 D_2 함량에 차이를 보이지 않았다. 또한 동일한 양의 자외선을 처리할 경우 버섯 원물을 슬라이스 한 다음 자외선을 처리했을 때 비타민 D_2의 함량이 가장 많았다.

Ⅶ. 식품건조기 특허 취득 (10-1556074, 2015년 9월)

버섯류 또는 야채나 건어물내의 비타민 함량, 특히 비타민 D의 함량을 증가시킬 수 있는 자외선 조사 기능이 첨가된 식품 건조기에 대한 특허를 취득하였다.

건조 식품은 쉽게 부패하지 않으며 무게가 가볍고 부피가 작아 보관하기가 쉽기 때문에 많은 종류의 식품들이 건조 처리되어 저장 또는 유통되고 있는 실정이다. 식품 건조와 관련된 기술은 잘 알려져 있으며, 최근에는 식품을 간단하게 건조할 수 있는 식품건조기가 개발되어 이용되고 있다.
이러한 식품건조기는 건조될 식품이 배치될 복수의 선반을 포함하고, 건조 중 발생하는 수증기로 인한 건조기내의 과습 공기가 외부로 배출되도록 하는 동시에 외부 공기가 내부로 유입되도록 건조기의 하단에 공기유입구를 형성하고, 상단의 덮개에는 공기배출구를 형성하여 공기 순환이 이루어지도록 구성되어 있다. 또한 자외선 램프를 설치하여 버섯을 포함하는 건조물내의 비타민 D_2 함량을 증가시킬 수 있는 식품 건조기를 제작하였다. 따라서 선택된 식품 종류에 대응하여 자외선 조사시간, 건조온도 및 습도를 조절하여 식품의 건조, 보관을 용이하게 할 수 있는 기기를 개발하였다.

Ⅷ. 상품 개발

건표고버섯은 주로 통버섯, 슬라이스 버섯등의 형태로 많이 판매되고 있으며 최근에는 조리의 편리성을 강화시킨 칩 형태의 제품도 판매되고 있다. 따라서 본 기업에서도 개발된 식품 건조기를 이용하여 비타민 D 가 증대된 버섯을 가정에서 소비자들이 많이 사용하는 형태인 통버섯, 슬라이스, 칩 형태로 제품으로 개발하여 홈쇼핑, 대형마트에서 판매하고 있다.

그림. 39. 본 사에서 판매하고 있는 건표고버섯 제품

* 크라운제과
- 표고버섯스낵 개발을 2014. 12. 19에 시작했으며 현재도 원활히 진행 중.
- 2015. 03. 12 크라운제과와 제품의 현장생산 적정여부에 관한 전체미팅 진행. 크라운제과의 개발부장, 스낵공장장과 팀장, 고려대 연구팀, ㈜건농 연구원 4명이 참석하여. 제품개발에 대한 논의를 하였다. 표고버섯의 비타민 D 함량증가 부분을 두고 심도 높은 미팅을 진행 하였고 현재 “쫄깃쫄깃한 정과스타일(당침과정)” 제품과, 벌꿀을 가미해 분쇄된 표고버섯을 과자로 만드는 기술을 개발 중이다.

* 풀무원 (2015. 03월부터 진행중)

- 생양송이 버섯에 자외선을 조사해 비타민 D를 강화한 제품을 스파게티 재료로써 납품 추진 중이며 납품 중 발생 가능한 갈변현상의 방지를 위해 맞춤형 포장법을 개발 중이다.
- 5*5 ㎜ 사이즈의 칩으로 한 건표고버섯 제품을 생라면스프에 사용할 목적으로 납품 추진 중이다.

< 1 협동 >

Ⅰ. 비타민 D_2의 수율에 영향 주는 요인들의 최적 조건 설정

자외선 조사를 통해 버섯 내 비타민 D_2의 함량을 증대시키는 효율을 극대화 시키기 위해 본 실험과 유사한 내용을 다뤘던 논문들과 특허를 조사했으며 그것들의 내용을 토대로 종속변수인 비타민 D_2의 함량에 크게 영향을 미치는 인자들의 종류에는 1) 온도, 2) 자외선 조사량(조사시간), 3) 버섯의 수분함량, 4) 자외선 조사선의 종류(UV-A, B, C), 5) 자외선이 조사되는 버섯의 부위 등이 있음을 알아내었다. 이들 중 자외선 조사선의 종류로는 UV-B가 가장 우수한 비타민 D_2 생성 효율을 보였으며, 버섯의 부위 중에서는 주름부위가 비타민 D_2의 변환에 가장 효과적이었다(Ko et al.).

온도와 자외선 조사량, 그리고 버섯 내 수분함량은 버섯의 비타민 D를 증진시키는 과정에서 상호간 영향이 있을 것으로 생각되었을 뿐 아니라 세 가지 인자들은 범위를 갖고 있으므로 각 인자들이 최고의 비타민 D 생산효율을 보이는 정확한 지점을 찾는 것이 어렵다는 공통점이 있다. 이에 본 연구진들은 세 가지 영향인자들이 버섯의 비타민 D_2 강화과정에서 상호간 미치는 영향을 알아볼 수 있는 RSM 통계분석을 적용하기로 했다.

○ 예비실험 시 참고한 각 영향인자의 범위
- 온도 : 20-50 ℃
- 총 조사량 : 10-30 kJ/m^2
- 수분함량 : 65-85 %

○ 샘플 선택 및 처리
* 샘플 선택 : 베이지 통표고(톱밥 재배)
  1) 균일한 크기 : 지름이 5-6cm인 표고
  2) 상처가 없으며 주름이 잘 펴진(주기수가 모두 비슷한) 표고

* 수분함량 조절 : 줄기 제거 후 주름부분을 위로 놓고 특정 수분함량에 도달할 때까지 건조.

* 자외선 조사 : 실험을 위해 설정한 특정 온도로 맞춘 UV incubator에서 주름이 자외선 등을 향하게 위로 하게 하여 자외선 조사.
* 실험 전, 후 버섯 보관 : 냉장 보관(3-4℃)

1. 범위선정 실험

가. 온도별 & 조사선량별 비타민 D_2 함량

○ 최적 조건, 즉 비타민 D_2의 수율을 높일 수 있는 세 가지 영향인자들의 적정 범위 설정을 위해 범위선정 실험이 필요했다. UV 조사는 JEIO TECH의 UV-incubator을 이용해 진행되었다. (그림. 40). UV 전등은 Philips사의 'PL-L 36W/01/4P' 제품을 선택했으며 파장은 310-311nm의 단파장을 방출한다(그림. 41). UV 의 강도(intensivity:W/m^2) 및 조사량의 측정은 Delta-OHM사의 라디오미터(radiometer : HD 2102.2)를 이용해 측정한다(그림. 42). 라디오미터 본체에 연결하는 자외선 측정 센서인 프로브(Probe)는 UV-B파장을 인식하는 것으로 구매했으며 파장 인식범위는 280-315nm 이다(그림. 43).

그림. 40. UV incubator

그림. 41. UV전등(Philips 'PL-L 36W/01/4P')

그림. 42. Radiometer 본체(Delta-OHM사)

그림. 43. 연결 probe(측정기)

[결과]

35℃ 이상의 온도에서 비타민 D의 함량을 알아본 결과 40 ℃에서 비타민 D의 양이 증가했을 뿐 45 ℃에서 다시 낮아지는 경향을 보였다 (그림. 44). 고온에 버섯이 오래 노출되면 색이나 품질에 악영향을 미치고 상품성도 낮출 뿐 아니라 비타민 D가 강화된 버섯을 생산하는 온도가 낮을수록 경제적 측면에서 긍정적이므로 35℃를 크게 벗어나는 범위에서 자외선 처리하는 것은 바람직하지 않았다. 이에 본 연구진들은 온도의 중심점(0)을 35℃로 정했고 35℃ 내외의 온도 범위에서 최적조건이 나올 수 있을 것이라고 가정했다. 자외선 조사선량이 증가함에 따라 비타민 D의 함량 역시 비례적으로 증가했음을 알 수 있었다 (그림. 45). 40 kJ/m^2에서의 비타민 D 함량이 43.26 μg/g으로 가장 높았으며 50 kJ/m^2에서는 소폭 감소했음을 알 수 있었다.

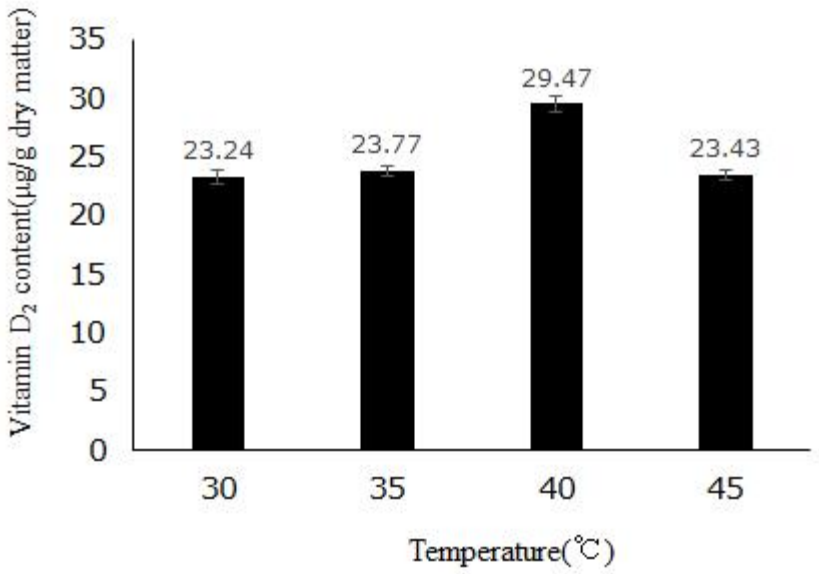


그림. 44. 온도별 비타민 D_2 함량 (조사선량 : 30 kJ/m^2)

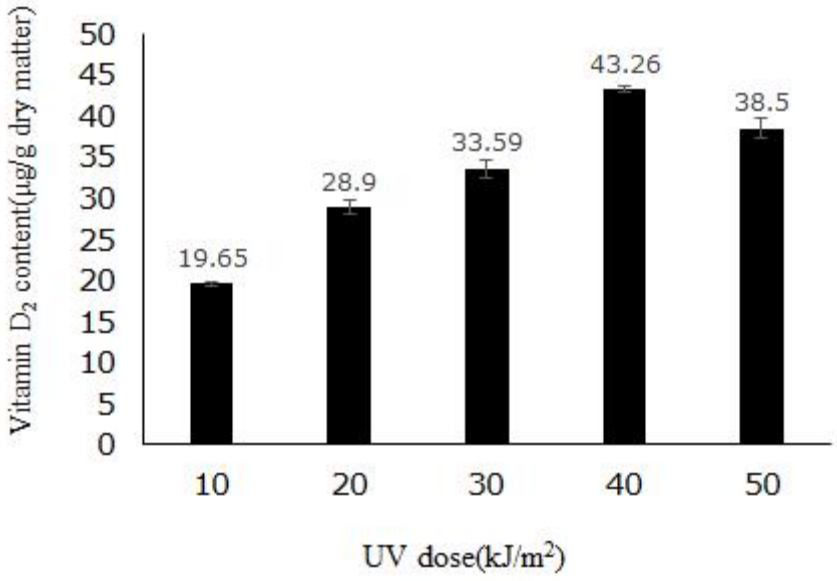


그림. 45. 조사선량별 비타민 D_2 함량 (온도 : 35 ℃)

나. 수분함량별 비타민 D_2 함량

버섯이 처음부터 함유하고 있는 수분함량의 경우 버섯의 품종, 재배 지역, 재배환경, 운반 방식, 날씨 등의 환경적, 유전적 요인을 포함한 외적 요인에 크게 영향을 받기 때문에 수분함량을 측정했다.

시간에 따른 수분함량 감소는 80℃로 맞춘 Dry oven에서 건조를 시키며 일정 시간에 무게를 조사한 뒤 고형분만 남은 표고의 무게를 이용하여 시간에 따른 수분함량의 감소경향과 그의 방정식을 구해서 수분함량(%)-시간(분)의 그래프를 얻을 수 있었다.

여러 논문을 참고해 수분함량의 범위를 65-85 %로 정하고 RSM code value를 입력할 때 간격을 고려해 66.6, 70, 75, 80. 83.41, 87.5(生표고)%에서의 비타민 D_2 함량을 측정하였다. 방정식을 통해 얻어진 예상소요시간의 정확성은 Moisture analyzer를 통해 확인했다(그림. 46).

○ 샘플 처리

- 66.6, 70, 75, 80. 83.41, 87.5(生표고)%의 수분함량을 먼저 맞춘 뒤, 35℃에서 30 kJ/m^2만큼의 자외선을 조사했다.

그림. 46. Moisture analyzer

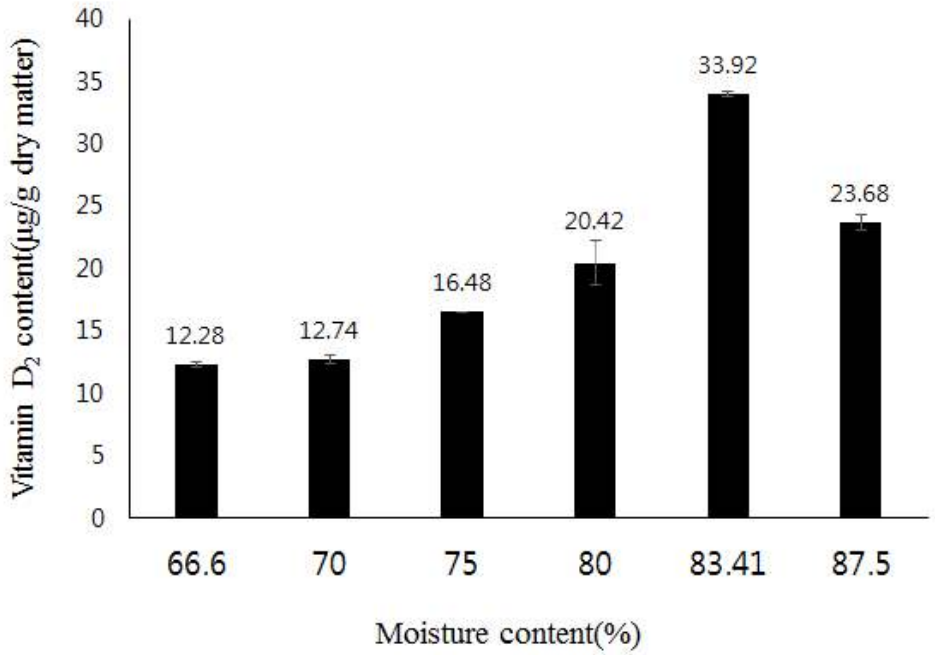


그림. 47. 수분함량별 비타민 D_2 함량 (온도 : 35 ℃, 30 kJ/m^2)

[결과]

수분함량이 83.41%보다 낮을 때는 수분함량과 비타민 D_2의 양은 비례하는 경향을 보였다(그림. 47). 83.41%에서 비타민 D_2의 양은 33.92 μg/g(DM)으로 가장 높은 수치를 기록했으며 87.5%의 수분함량을 갖는 生표고는 이보다 낮은 수치를 기록하였다. 여러 논문을 조사해(Perera et al., 2003; Jasinghe & Perera, 2004) 봤을 때 처음 生표고의 수분함량은 모두 달랐으나 본 예비실험의 결과와 마찬가지로 처음의 수분함량보다 약간 적은 지점에서 최고의 비타민 D_2 생성을 보였다.

2. RSM 실험

가. 최적조건을 위한 RSM 통계 설계

RSM은 'Response Surface Methods'의 줄임말로 종속변수에 영향을 주는 독립변수, 즉 각각의 영향인자들의 최적범위 및 수치를 구하기 위한 실험계획법이다. 영향인자들이 2개 이상이 되고 제품의 생산과정 중 서로 간 영향을 미칠 가능성이 존재한다면 RSM 통계분석은 복합적인 영향인자들에 대한 반응값의 변화를 추적할 수 있는 장점이 있다.

위와 같이 예비실험들을 거친 후에 그 결과들을 토대로 각각의 독립변수들의 최적의 수율을 낼 수 있다고 예상되는 범위를 설정하고 RSM 본실험에 임했다. RSM 본실험을 시작하기에 앞서 중요한 것은 균일한 샘플의 획득과 적절한 범위 설정이었다.

중심합성계획은 3인자(독립변수)를 5단계 차원에서 다루는 2차회귀모형에 적합하기에 이를 적용하기로 하였다. 이를 위해 예비실험과 여러 논문들의 결과들을 토대로 세 가지 요인변수들을 -1.682, -1, 0, 1, 1.682로써 다섯 단계로 부호화 하였고 각 실험값은 표. 8.과 같이 하였다. 본 실험에서 16가지 방법으로 처리할 버섯 샘플들을 중심합성 디자인(표. 9)에 맞게 준비했다.

표 8. 다섯 단계의 부호화 및 실험 값

		Coded values				
X_i	Independent variables	-1.682	-1	0	1	1.682
X_1	temperature(℃)	26.59	30	**35**	40	43.41
X_2	UV dose(kJ/m^2)	13.18	20	**30**	40	46.82
X_3	moisture content(%)	66.6	70	**75**	80	83.4

표. 9. 중심합성 디자인을 위한 샘플 grouping

Design point	Factors			Response
	X_1	X_2	X_3	$vitD_2$ content(μg/g)
1	-1	-1	-1	
2	-1	-1	1	
3	-1	1	-1	
4	-1	1	1	
5	1	-1	-1	
6	1	-1	1	
7	1	1	-1	
8	1	1	1	
9	0	0	0	
10	0	0	0	
11	-1.682	0	0	
12	1.682	0	0	
13	0	-1.682	0	
14	0	1.682	0	
15	0	0	-1.682	
16	0	0	1.682	

나. 샘플 선별 및 처리

○ 샘플 구입 및 선별

: 양평군 양동에서 생산되어 당일 도착한 톱밥 재배 표고를 사용했다.

○ 선별작업

크기는 5-6cm 범위에 드는 상처가 없으며 주름이 잘 펴진 표고를 선별했다(그림. 48, 49).

그림. 48. 정밀한 실험을 위한 버섯 선별작업 중

그림. 49. 본 실험에 사용될 버섯들로 선별된 통표고의 표본

다. 수분함량 조절

○ 생물(生物)인 버섯의 수분함량의 조절은 매우 까다롭고 쉽게 예측할 수 없기 때문에 버섯 내 비타민 D_2의 수율 증진에 영향을 미치는 그 어떠한 영향인자들보다 주의를 기울일 필요가 있었다.

그림. 50. 수분함량 조절 전 채반 위의 통표고

[결과]

○ 수분함량 조절을 위해 버섯의 줄기를 제거한 뒤 주름 부분이 위로 가게 하여 80℃ 조건하에서 건조를 진행했으며 (그림. 50) 시간대별로 변화된 무게를 기록하고 다시 건조기에 넣었다. 그 후 105℃에서 overnight시켜 최종 고형분의 무게를 구한 뒤 시간대별로 나타내는 버섯의 평균 수분함량을 구할 수 있었다(표. 10).

○ 그림. 51.는 20개 샘플들의 건조시간에 따른 수분함량의 변화를 그래프로 나타낸 것이며 R^2값이 0.9875로 매우 정밀한 결과였음을 알 수 있었다. 그래프로부터 얻은 예상시간에 대한 식을 근거로 하여 본 실험의 16가지 샘플들의 수분을 조절했다.

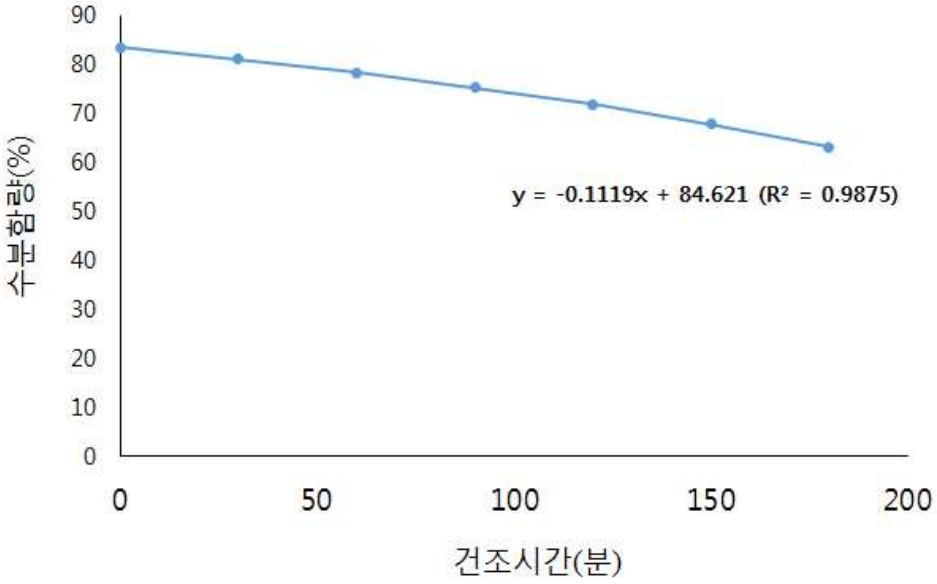


그림. 51. 80℃ 건조기에서의 '건조시간-수분함량'에 따른 그래프

표. 10. 20개의 통표고에 대한 시간대별 평균 수분함량

시간(분) / 샘플 No.	0	30	60	90	120	150	180
1	84.57	82.08	79.08	75.99	72.53	68.6	64
2	83.28	81.02	77.99	74.92	71.61	67.94	63.85
3	82.65	80.19	77.08	73.77	70.14	66.18	61.82
4	86.56	84.72	82.22	79.24	75.77	71.61	66.62
5	83.88	81.43	78.24	74.54	70.27	65.15	59.08
6	84.71	82.35	79.68	76.98	74.13	70.79	67.06
7	84.66	82.89	80.65	78.37	76.03	73.44	70.6
8	79.47	76.74	73.4	69.71	65.61	60.83	55.32
9	82.99	80.96	78.62	75.86	72.91	69.58	65.83
10	84.71	82.48	79.44	75.78	71.5	66.08	59.54
11	83.13	80.45	77.84	74.97	71.87	68.39	64.33
12	85.62	83.59	81.46	79.05	76.47	73.55	70.25
13	82.98	80.33	77.48	74.09	70.27	65.6	60.06
14	84.74	82.69	80.4	77.54	74.3	70.31	65.62
15	80.67	78.14	75.05	71.48	67.47	62.97	57.86
16	84.65	81.89	79.2	76.14	72.77	68.69	63.79
17	80.89	77.03	73.35	69.15	64.51	58.86	52.44
18	85.06	82.67	80.51	77.71	74.7	71.04	66.84
19	83.57	81.12	78.56	75.57	72.3	68.37	63.96
20	83.41	81.44	79.2	76.64	73.84	70.7	67.26
평균 수분함량(%)	**83.61±1.69**	**81.2105±1.98**	**78.4725±2.31**	**75.375±2.69**	**71.95±3.16**	**67.934±3.79**	**63.3065±4.61**

라. 온도 & 자외선

○ 줄기를 제거한 뒤 수분함량이 조절된 버섯 샘플들을 특정 온도에 세팅된 자외선 인큐베이터에서 자외선을 조사하였다. 자외선 조사 시 버섯의 주름을 위로가게 해서 실험을 했다. 자외선 램프와 샘플 간의 거리는 약 12cm 였으며 자외선의 강도(intensity)는 평균 16~18 W/m^2였다(그림. 52.).

그림. 52. 자외선 전의 표고버섯

마. 전처리(추출)

○ 중심합성 디자인에 따라 수분함량, 온도, 자외선 조사까지 완료된 버섯샘플들은 바로 급속동결을 시켰으며 하루 뒤 동결건조에 들어갔다. 동결건조가 완료된 버섯분말을 추출 후 HPLC분석장비를 이용해 버섯샘플 내 비타민 D 함량을 정밀히 측정했다.

○ 시료의 전처리 과정은 아래와 같은 단계로 이루어졌다(그림. 53). 냉동보관 되어 있는 버섯 샘플 분말을 1g 취한 후 산화방지제인 L-ascorbic acid 와 함께 둥근 플라스크에 넣고 에탄올과 검화를 유도하는 수산화칼륨을 함께 넣어준 뒤 85℃에서 30분간 검화를 진행했다.

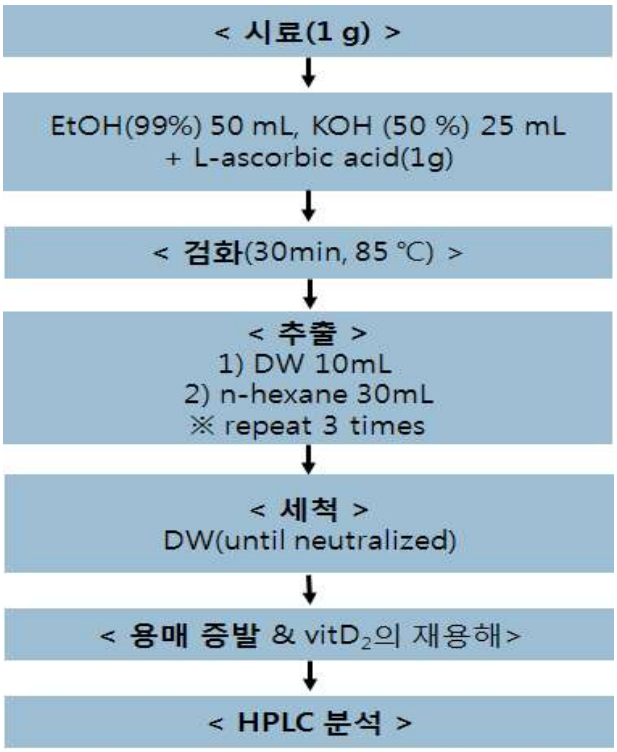


그림. 53. HPLC분석을 위한 전처리 과정

○ 그 후 둥근플라스크에 있던 용액과 침전물 모두 분액여두(separatory funnel)에 따르고 추출용매인 n-hexane을 30mL, 증류수를 10mL 만큼 둥근플라스크에 넣어 잔여 용액과 침전물을 회수해 분액여두에 다시 넣었다. 그 후 수초동안 가볍게 흔들어준 뒤 아래에 나뉘어진 물층을 따라내어 버렸다. 이 같은 과정을 3회 반복한 뒤 증류수를 25mL씩 넣고 흔들어서 증류수층에 섞여나오는 수용성 불순물을 3번 제거해주었다. 세척되고 밑으로 분리된 증류수층을 버린 뒤 위에 남은 헥산층 용액을 새로 준비한 둥근플라스크로 옮겼다. 감압증류장치(rotary evaporator)에 플라스크를 연결하고 용매를 50℃에서 증발시킨 뒤 플라스크에 남아있는 비타민 D_2를 isopropyl alcohol과 methanol, acetonitrile혼합용액(각각 2;1:3 v/v)2mL로 수거한 뒤 vial에 일정량 옮긴 뒤 HPLC 분석을 진행했다.

바. 분석

○ LC/MS 해석

LC/MS란 정량분석에 쓰이는 HPLC 장비의 기능뿐 아니라 분석물질의 정성분석 기능도 겸비한 분석기기이다. 쉽게 말해 화합물의 분석에 사용되는데 LC로 화합물을 분리한 뒤, 분자를 쪼개어 쪼개지는 분자량으로 정성검사를 진행하는 원리이다. 비타민 D_2의 표준물질을 LC/MS로 정성분석 하고자 할 때 쪼개지고 생성되는 product ion의 분자량은 69, 105, 107(m/z)를 나타낸다. 어떠한 미지의 물질에 비타민 D_2가 들어있는지 알고 싶으면 비타민 D_2 표준물질의 LC peak이 나타나는 시간과 일치하는지 먼저 본 뒤에 product ion의 분자량

이 69, 105, 혹은 107와 일치정도가 80～120%범위 안에 들 경우, “그 물질이 비타민 D_2다 “라고 말 할 수 있게 된다.

그림. 54.은 비타민 D_2로 예상되는 물질의 쪼개진 분자량을 본 것이고 69, 107을 띄는 product ion과의 일치율이 103.9, 100.4%로 80～120%의 범위 안에 들어왔으므로 본 연구진이 버섯에 자외선을 조사했을 때 비타민 D_2가 생성되었음을 알 수 있었다.

반면 그림. 55.은 비타민 D_3로 의심되는 미지 물질의 쪼개진 분자량을 본 것이다. 비타민 D_3의 표준물질의 product ion은 79, 105, 107(m/z)의 분자량을 보이는데 검출이 되지 않거나 일치율이 400%를 넘어가므로 본 연구진이 만든 시료에는 비타민 D_3가 포함되어 있지 않았음을 알 수 있었다.

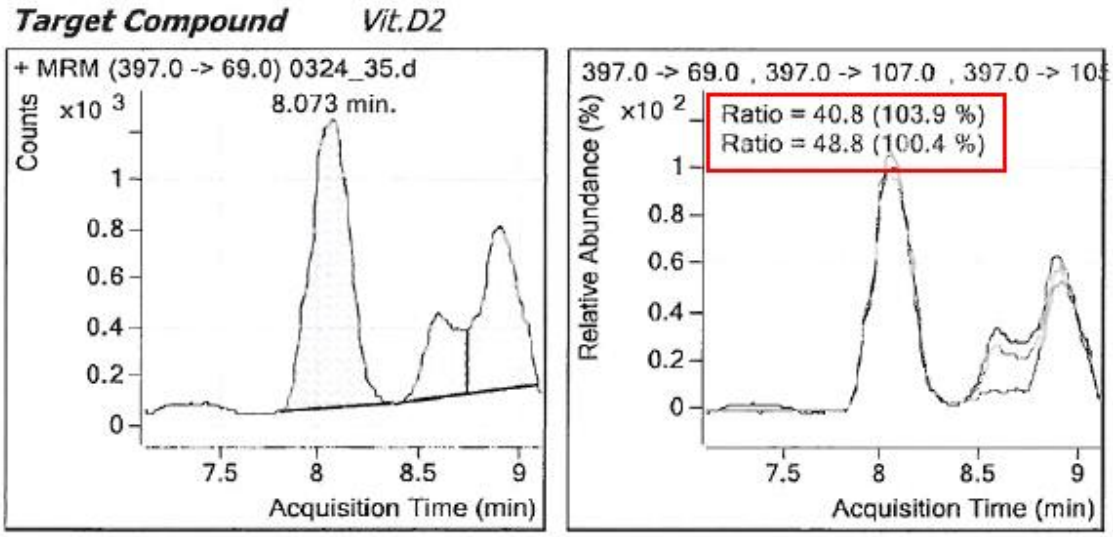


그림. 54. 비타민 D_2에 대한 LC/MS 분석 결과 및 해석

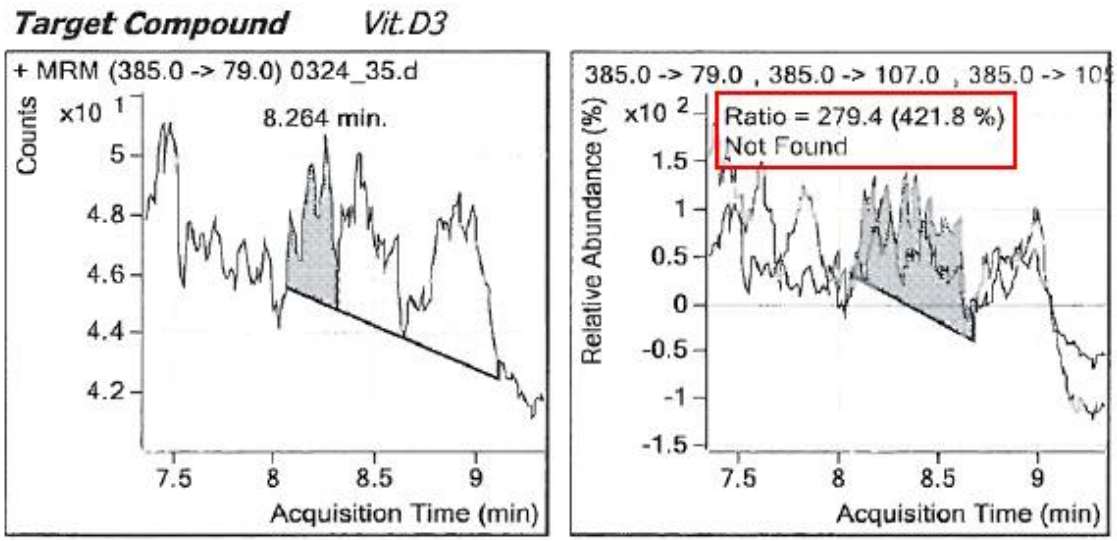


그림. 55. 비타민 D_3에 대한 LC/MS 분석 결과 및 해석

○ 분석 조건

표. 11.은 이번 본 실험에서 사용한 분석조건이다. 비타민 D_2의 정량분석은 Agilent사의 역상컬럼인 Polaris 컬럼을 이용했다. 비타민 D_2 표준용액의 standard curve를 이용한 외부표준분석법으로 버섯 샘플 내 비타민 D_2에 대한 정량분석이 이루어졌다.

표. 11. HPLC 분석 조건

Column	reverse phase C18 column (Polaris 3.0 x 250 mm)
Mobile Phase	Methanol : Acetonitrile = 25: 75
Injection volume	8.5㎕
Flow rate	0.43mL/min
Detector	UV 265nm

사. RSM 결과

① Grouping된 16개 샘플의 결과에 대한 분석

○ 표. 12.는 RSM 분석에 필요한 16개 샘플의 결과인 비타민 D_2의 함량에 대한 결과이다. 3가지 영향인자의 각 실험값에 맞춰 처리한 샘플들의 평균 비타민 D_2 함량 및 표준편차를 나타내었다.

표. 12. 16개 샘플에 대한 영향인자별 비타민 D_2 함량(3반복)

No.	X1 (온도)	X2 (자외선 조사량)	X3 (수분함량)	Y Vit D_2 content(μg/g)
No.1	30	20	70	20.28±0.42
No.2	30	20	80	20.62±0.6
No.3	30	40	70	26.98±1.03
No.4	30	40	80	27.7±0.66
No.5	40	20	70	24.7±0.82
No.6	40	20	80	29.97±0.82
No.7	40	40	70	26.32±0.95
No.8	40	40	80	32.16±1.79
No.9	35	30	75	26.77±1.22
No.10	35	30	75	29.9±1.47
No.11	26.6	30	75	24.45±0.76
No.12	43.4	30	75	28.98±0.23
No.13	35	13.18	75	21.32±1.74
No.14	35	46.82	75	32.14±0.87
No.15	35	30	66.6	23.45±2.77
No.16	35	30	83.4	28.47±1.06

② RSM 통계분석

○ SAS program에 의해 유도된 이차회귀식은 다음과 같았다.

$Y=-143.850457-0.873616X_1+1.333187X_2+3.887659X_3-0.024925X_1X_2+0.050250X_1X_3+0.002375X_2X_3-0.025404X_1^2-0.006282X_2^2-0.036104X_3^2$

이 식의 R^2값은 0.9494로 큰 상관관계를 가졌음을 알 수 있었다.

○ 수분함량(%)-자외선 조사량(kJ/m^2)

우선 수분함량과 관계없이 자외선 조사량의 값이 10 kJ/m^2부터 50 kJ/m^2까지 증가함에 따라 비타민 D_2의 함량이 계속 증가함을 알 수 있었다(그림. 56). 자외선 조사량이 낮았을 때와 높았을 때 비타민 D_2의 최고 함량을 나타내는 수분함량의 경향이 달랐다. 조사량이 낮았을 때(10 kJ/m^2)의 비타민 D_2가 가장 높은 지점을 기록한 수분함량은 80%부근이었으나 조사량이 높았을 때(50 kJ/m^2)는 83%부근에서 가장 높은 비타민 D_2를 기록했다.

○ 온도(℃)-수분함량(%)

그림. 57.의 결과를 봤을 때, 온도가 낮았을 때 수분함량의 함량이 71-80% 사이일 때 비타민 D_2의 최고 함량을 나타냈고 수분함량이 낮았을 때도 온도가 31℃부근에서 최고점을 나타내었다. 하지만 온도가 높아짐에 따라 비타민 D_2를 높게 생산하는 수분함량의 값도 높아지는 경향을 보였다.

○ 온도(℃)-자외선량(kJ/m^2)

온도가 25℃로 낮았을 때 자외선의 양이 증가할수록 비타민 D_2의 양도 계속해서 증가함을 볼 수 있었다(그림. 58). 자외선량이 10 kJ/m^2로 낮을 때 온도의 증가에 따라 비타민 D_2의 양도 역시 비례해서 증가했음을 알 수 있었다. 하지만 두 영향인자가 같이 증가할 때는 굴곡이 나타나 온도가 높다고 비타민 D_2의 양이 증가하는 것은 아님을 알 수 있었으며 자외선량이 높을 때 온도가 31-38℃ 사이에서 최고량을 보였다.

○ 중심합성계획을 바탕으로 RSM분석을 한 결과 비타민 D_2의 최대추출을 위한 최적조건은 1) 온도가 40.56 ℃, 2) 자외선량이 36.27 kJ/m^2, 3) 수분함량이 80.46% 이었다. 또한 최적조건에 의해 산출된 비타민 D_2의 이론값은 32.33 μg/g이었다. 최적조건 하에서 생산된 표고버섯의 비타민 D_2의 실제값은 29.87 ± 1.38 μg/g으로 이론과 실제의 값에 큰 차이가 없었음을 확인하였다.

○ 버섯의 수분함량이 약 85~90%인 것을 감안 했을 때 자외선 조사된 중간크기의 버섯 (약 15 g) 하나가 함유하는 비타민 D의 양은 약 45 μg정도 된다. 비타민 D의 하루 최대허용치 (미국 : 100 μg/g, 한국 60 μg/g)를 고려하였을 때 버섯 1-3개 섭취가 가능하며 비타민 D를 가장 효과적으로 생산할 수 있는 조건을 최적조건으로 정하였다.

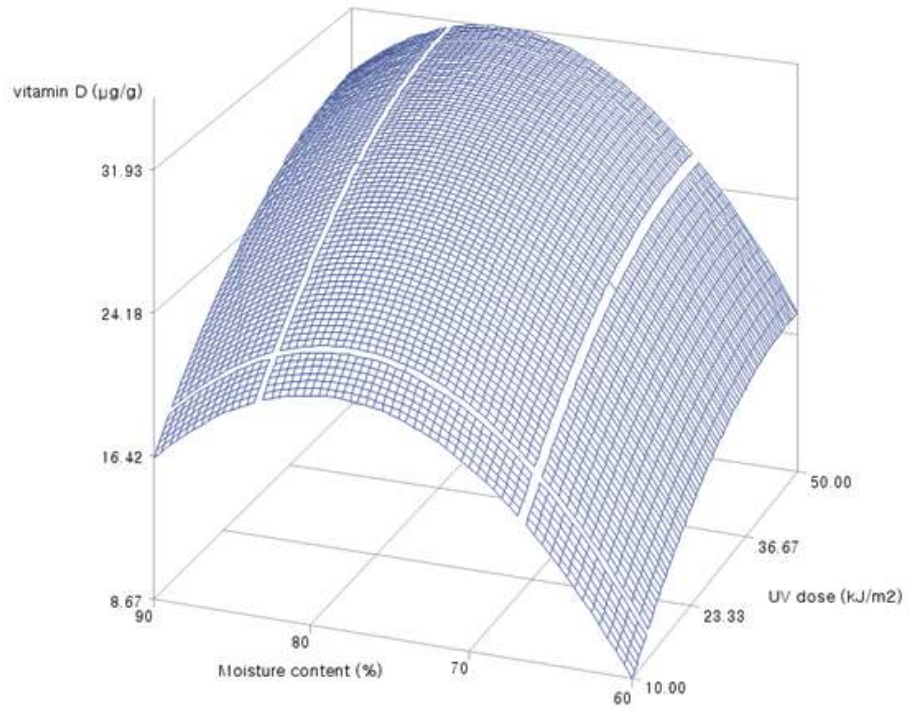


그림. 56. 온도가 0점(35 ℃)일 때의 '수분함량' 과 '자외선 조사량' 의 비타민 D_2 생성을

위한 최적조건

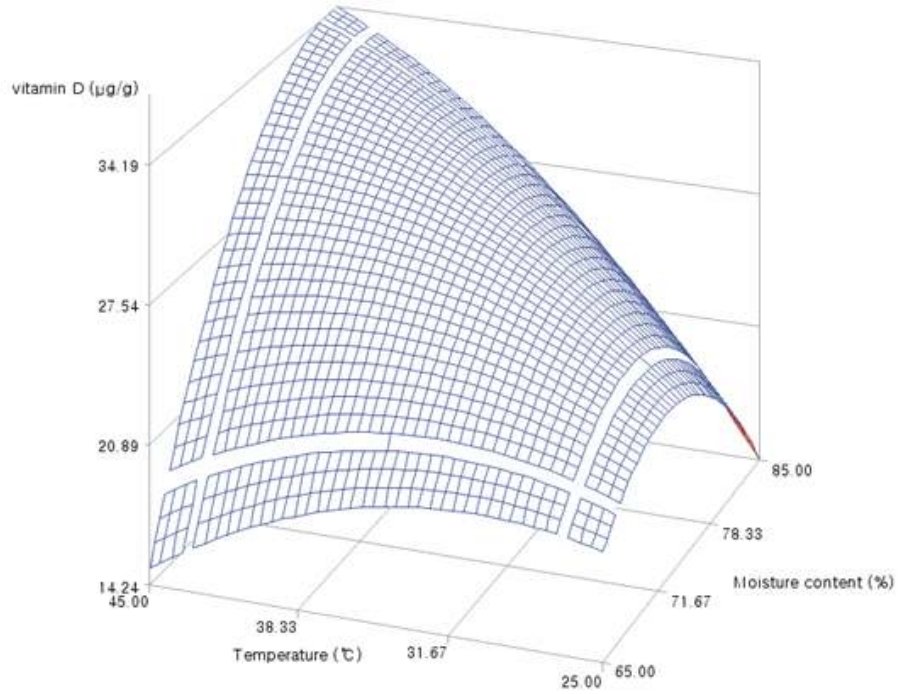


그림. 57. 자외선 조사량이 0점(30 kJ/㎡)일 때의 ‘온도’와 ‘수분함량’의 비타민 D_2 생성을 위한 최적조건

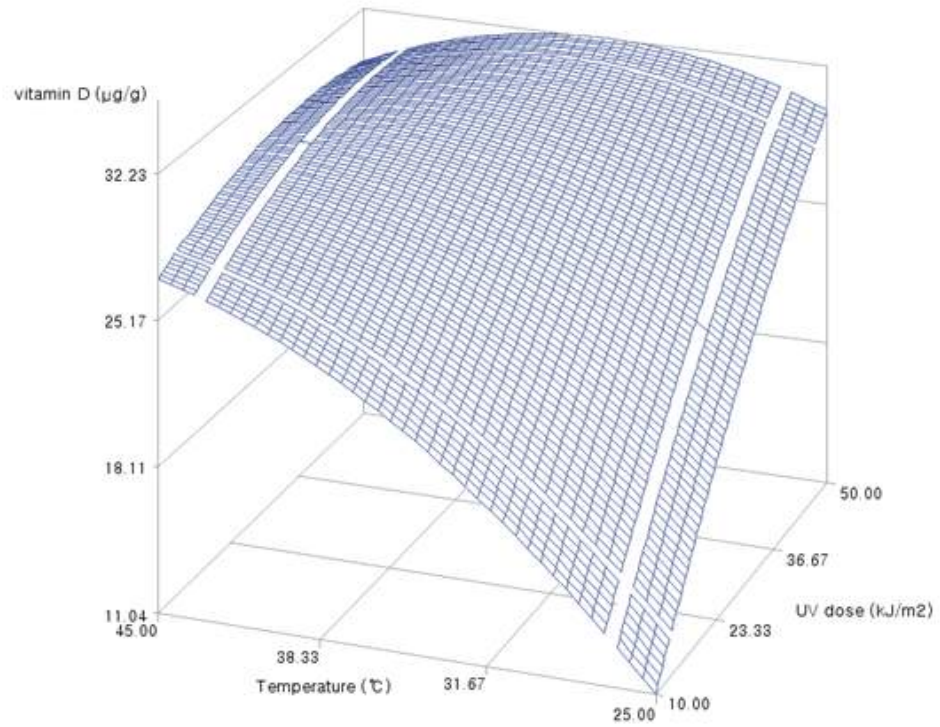


그림. 58. 수분함량이 0점(75%)일 때의 ‘온도’와 ‘자외선 조사량’의 비타민 D_2 생성을 위한 최적조건

Ⅱ. in vivo 테스트를 통한 본 연구 제품의 체내이용률 비교

가. 실험목표 : 강화된 표고버섯의 비타민 D의 생체이용률 조사
1) 생체이용률
2) 뼈 손실 예방 효과

나. 실험 변수
○ 비타민 D의 유무
비타민 D가 대퇴골과 정강이뼈의 해면질 손실 예방에 긍정적인 영향을 줬다는 선행연구들에 의해 본 연구진은 대퇴골의 해면질을 뼈의 손실 예방 지표로 사용하였다. 이에 3가지 식이를 준비해서 실험기간 동안 먹였으며 실험종료 후 얻은 혈액의 비타민 D 수치 확인을 통해 식이를 통한 비타민 D의 생체이용률을 확인하였다.

○ 난소의 유무
폐경기 이후의 골다공증의 1차적 특징은 해면질의 손실이라는 연구들을 바탕으로 난소가 있는 Sham 그룹(난소제거 과정과 동일한 수술 시행, 단 난소는 건드리지 않음)과 난소를 제거한 OVX 그룹(난소제거 수술 : Ovariectomy)으로 나눠서 위에 언급한 세 가지 식이를 먹였다. 또한 난소 유무에 따른 비타민 D 강화버섯을 통한 비타민 D의 생체이용률을 비교 하였다.

다. 식이 지정
○ 사료 내 비타민 D 함량을 750 μg/kg(사료) 으로 선정한 이유
2013년 Osteoporosis International 저널에서 나온 Vitamin D_2 from light-exposed edible mushrooms is safe, bioavailable and effectively supports bone growth in rats 논문은 본 실험에서 사용한 rat과 같은 종의 rat에게 고함량의 비타민 D가 포함된 버섯을 먹이고 그 안전성, 생체이용률을 확인했다. 이 논문의 경우, 비타민 D를 너무 많이 섭취했을 때의 부작용이 '고칼슘혈증' 및 신장의 기능부전으로 신장에 결석이 생기게 되므로 고농도의 비타민 D가 함유된 버섯을 먹인 rat의 신장과 간, 지라에 칼슘의 퇴적 여부에 대한 안전성을 평가했다. 비타민 D 결여 사료 1kg 당 자외선을 쪼인 버섯의 분말을 2.5%, 5% 만큼 섞어줬을 때 각각 비타민 D의 함량이 1kg 사료 내에 375 μg, 750 μg 이었으며 750 μg 만큼의 비타민 D가 들어있는 사료를 먹여도 칼슘의 퇴적은 없었다. 이에 본 연구진은 안전성이 검증된 범위 내에서 최대값이 필요했기 때문에 750 μg (비타민 D)/kg (식이)를 기준으로 식이를 만들었다.

1)TD89123사료 (비타민 D 결핍사료)
: Control 군

2)TD89123사료 + 자외선을 처리하지 않은 버섯 분말 (비타민 D 거의 없음)
: UV(X) 군

3)TD89123사료 + 자외선을 처리한 버섯 분말 (비타민 D 풍부)
: UV(O) 군

○ 식이 제조과정

1차년도에 RSM분석을 통해 선정한 온도와 자외선 조사량, 수분함량의 최적조건이었던 40.56 ℃, 36.27 kJ/m^2,80.46%의 조건하에서 비타민 D를 강화시킨 버섯을 만들고 동결건조 시킨 후 비타민 D 결여 사료와 섞어주었다(그림. 59, 60). 생산된 버섯 분말의 비타민 D함량을 분석한 결과 25 μg/g (DM) 이었으므로 1kg의 사료에 비타민 D의 함량을 750μg로 맞추기 위해 30g의 건조버섯분말과 970g의 비타민 D 결여 사료분말을 혼합하고 잘 교반한 뒤 pellet을 만들었다. 자외선 처리가 되지 않은 버섯이 들어간 사료에도 동일하게 동결건조 후 분말화된 자외선 처리를 하지 않은 표고버섯을 30g 넣어준 뒤 교반, pelleting 했다.

그림. 59. 최적조건하에서의 비타민 D 강화과정

그림. 60. 버섯분말과 비타민 D 결여 사료의 교반 및 pelleting 과정

라. 동물실 조건 및 실험진행

○ rat은 Sprague-Dawley 종을 이용했으며 난소가 제거된 (OVX 처리된) rat 24마리와 난소제거 시술만 받고 난소는 건드리지 않은 (Sham 처리된) rat을 24마리를 구입했다. 플라스틱 1케이지당 2마리씩 넣고 빛은 12시간 주기로 오전 7시에 점등, 오후 7시에 소등 되었고 온도와 습도는 각각 22-24 ℃, 50-60% 범위에서 일정하게 유지하였다.

○ 비타민 D가 강화된 버섯과 난소의 유무가 혈중 비타민 D 수치와 대퇴골의 해면질에 미치는 영향을 확인하기 위해 Sham그룹과 OVX그룹으로 나누고 그 안에서 세 가지의 동일한 식이를 각각 급여했다 (표. 13). 난소제거 rat과 제거되지 않은 rat을 이용한 실험의 경우 대부분 pair-feeding을 하는데 sham그룹의 하루섭취량을 OVX 그룹의 다음 날 식이량에 맞춰 지급했다. 이는 난소가 제거되면 이상식욕 항진증이 발생해 하루 식이량이 비교가 되지 않을정도로 많아져 몸무게를 포함한 여러 항목에 변수를 초래할 수 있기 때문이다. 따라서 sham 그룹은 자유식이를, OVX 그룹은 각 식이별에 맞춘 sham그룹의 하루 전 식이량에 맞춰 식이를 공급했다. 식이량은 매일, 몸무게는 매주 한번 기록 되었다.

표.13. 동물실험 디자인

	Sham (control)	Sham UV(X)	Sham UV(O)	OVX (control)	OVX UV(X)	OVX UV(O)
기본 사료	Vit D 결핍 식이	Vit D 결핍 식이	Vit D 결핍 식이	Vit D 결핍 식이	Vit D 결핍 식이	Vit D 결핍 식이
첨가물	X	자외선 처리가 되지 않은 버섯의 분말	자외선 처리가 된 버섯의 분말	X	자외선 처리가 되지 않은 버섯의 분말	자외선 처리가 된 버섯의 분말
Vit D_2	X	X	750 μg/kg diet	X	X	750 μg/kg diet
(사료 1kg 내) 첨가된 버섯 분말	X	30 g	30 g	X	30 g	30 g
마리 수	8	8	8	8	8	8

마. 실험 지표

1. 혈액

혈액은 CO_2로 질식시킨 rat들의 혈청을 얻어서 녹십자 의료재단에서 이루어졌다.

○ Total 25(OH)D : 비타민 D의 biomarker인 25(OH)D의 수치를 측정했다.HPLC-MS/MS를 사용해 측정했으며 25(OH)D2와 25(OH)D3를 합한 값인 total 25(OH)D의 수치를 얻었다.

○ Calcium : 혈청의 칼슘 수치를 확인해 식이로부터 혈류로 흡수된 Ca의 양을 추정하기 위해 colorimetric assay법을 이용해 확인하였다.

○ Estradiol : 난소제거시술이 잘 되었는지 확인하기 위해 sham과 OVX rat들 중 대조군 그룹의 혈청에서 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) kit를 이용해 Estradiol 수치를 확인하였다.

2. 뼈

○ 오른쪽 대퇴골을 발골해 뼈에 붙어있는 지질과 잔 근육들을 제거하고 몸쪽 대퇴골

(proximal femur)의 해면질(trabecular bone: 망상구조)을 측정했다. 비타민 D가 뼈에 미치는 긍정적인 영향은 뼈의 피층(cortical bone)에 비해 망상구조에 더 효과적이므로 뼈의 망상구조에 초점을 두고 조사하였다.

○ ROI(Region of interest, 관심영역) 설정은 대퇴골두의 성장판으로부터 60 μm 떨어진 지점에서부터 시작해 대퇴경부(femoral neck) 방향으로 750 μm 범위의 해면질골로 설정했다.

○ 항목별 의미

< 조직형태학적 분석 >

1) BMD (Bone mineral density, mg/cm^3)
   : 골밀도
2) BV/TV (Bone volume/total volume, %)
   : 전체 뼈의 부피 중 석회화된 뼈의 비율
3) BS/BV (Bone surface/bone volume, 1/mm)
   : 특정 부피의 뼈 내 뼈의 표면적
4) Tb. Th. (Trabecular thickness, mm)
   : 섬유주의 평균 굵기
5) Tb. No. (Trabecular number, 1/mm)
   : 관심영역 내 길이 당 존재하는 섬유주의 수
6) Tb. Sp. (Trabecular separation, mm)
   : 섬유주간 떨어져 있는 거리

○ 대퇴골 단층 촬영

오른쪽 대퇴골 (n=48)의 해면질을 군별로 시각화하기 위해 단층을 촬영했다. Micro computed tomography (VivaCT80, Scanco Medical AG, Switerland)가 사용되었으며 분석 소프트웨어에는 μCT Evaluation Program V6.6 (Scanco)가 사용되었다. Threshold값은 350, sigma 0.7, support 1.0 조건 하에서 분석이 되었다.

○ 길이 및 강도 측정

왼쪽 대퇴골 (n=30)의 길이는 디지털 버니어 캘리퍼스를 사용해 측정했고 강도는 Instron 5569 universal testing machine을 사용해 3중점으로 측정했다(그림. 61). 하부 Span(뼈 지지대)의 길이는 20 mm로 해서 cross-head speed는 10.0 mm/min으로 압축하중을 가해 최대하중(N)을 측정했다.

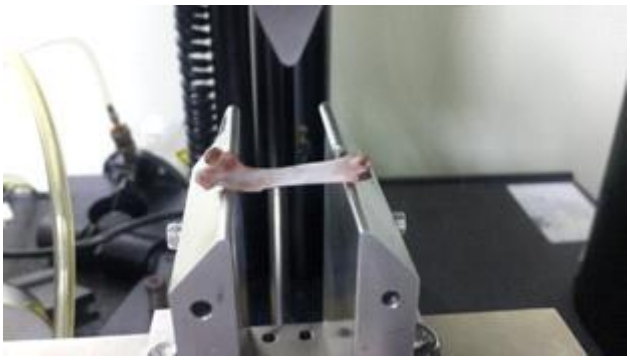


그림. 61. 왼쪽 대퇴골의 강도를 측정하기 위해 3중점 파괴 실험을 하는 장면

○ 몸쪽 대퇴골의 분석 부위

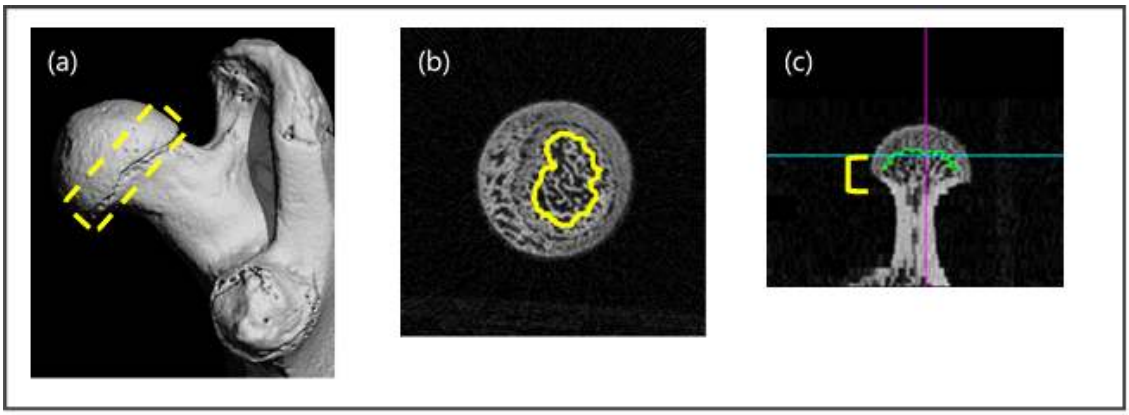


그림. 62. 대퇴골 해면질 분석부위

(a): 대퇴골의 전체 윤곽 - 노란 점선은 이번 실험에서 분석된 범위를 나타낸다.
(b): 대퇴골의 횡단면 사진 - 노란선은 분석된 영역을 나타낸다.
(c): 대퇴골의 종단면 사진 - 연두선은 성장판을, 노란선은 분석된 범위를 나타낸다.

바. 통계

모든 값들은 mean±SD로 나타내었다. Sham그룹과 OVX그룹 내에서의 식이(비타민 D의 유무)에 따른 차이는 one-way ANOVA로 각각 유의성을 알아봤으며, 같은 식이의 Sham과 OVX 그룹 간(난소의 유무에 따른) 비교는 Student's t-test를 통해 유의성을 검정했다. SPSS 소프트웨어를 사용했으며 *P*값이 0.05이하일 때 유의적인 차이가 있다고 간주했다.

【 결과 】

1. 혈액

표. 14. 혈중 비타민 D 함량 및 칼슘 수치

	Sham			OVX		
	Con	UV(X)	UV(O)	Con	UV(X)	UV(O)
25(OH)D (ng/mL)	0.71±0.15^{b}	0.69±0.13^{b}	11.16±1.31*^{a}	0.73±0.15^{b}	0.61±0.06^{b}	8.71±0.43^{a}
Ca (mg/dL)	10.93±0.28*^{a}	9.95±1.33*^{b}	7.91±0.22*^{c}	5.93±0.16	5.61±0.38	5.58±0.28

($^{a, b, c}$ 식이별 유의성: one-way ANOVA, * OVX그룹과 Sham그룹간의 유의성: t-test)

○ 하루 평균 마리 당 섭취하는 식이의 양은 약 15 g이었다. 비타민 D가 증대된 버섯을 섭취한 UV(O)그룹의 rat은 하루 약 11.25 μg으로 한국인의 하루 비타민 D 권장량(약 10 μg)에 해당하는 양과 비슷했다. Sham과 OVX그룹의 UV(O)군은 모두 control군과 UV(X)군과 비교했을 때 25(OH)D의 수치에서 유의적인 차이를 보였다(표. 14). Sham그룹의 UV(O)군과 OVX그룹의 UV(O)군의 25(OH)D 수치에서도 유의적 차이를 보였는데 비슷한 양의 비타민 D를 섭취해도 혈액에 흐르는 25(OH)D의 양은 난소가 있는 rat들이 높은 것으로 보아 난소의 부재는 비타민 D의 생체이용률에 부정적인 영향을 미침을 알 수 있었다.

○ 이 실험에서 모든 사료의 바탕으로 쓰인 식이는 비타민 D가 거의 없는 TD89123이란 식이였다. 표고버섯으로부터 생성된 비타민 D를 하루에 약 11.25 μg씩 10주간 섭취한 rat의 혈청 25(OH)D 수치가 8.71-11.16 ng/mL 만큼 높아진 것을 감안하면 비타민 D가 부족한 사람의 혈중 25(OH)D 수치를 높일 때도 긍정적인 효과가 있을 것으로 생각된다.

○ 혈중 칼슘의 양은 Sham그룹과 OVX그룹에서 각각 상이한 결과가 나왔다. Sham그룹의 경우 모든 식이군에서 유의적인 차이가 나타났는데 비타민 D가 증대된 버섯을 먹은 UV(O)군에서 가장 낮은 수치를 보였다. 또한 비타민 D 증대가 되지 않은 버섯을 먹은 그룹의 칼슘 수치도 control군과 비교해 봤을 때 낮았음을 알 수 있었다. 반면 OVX그룹에서는 유의적인 차이 없이 모든 식이군의 혈중 칼슘 수치가 비슷했다.

○ 혈중 칼슘 농도의 경우, Sham그룹에서 비타민 D가 증가된 버섯을 섭취한 2005년 British Journal of Nutrition에서 발행된 Bioavailability of vitamin D_2 from irradiated mushrooms: an in vivo study 논문에서도 TD89123 사료를 사용했으며 비타민 D가 증대된 표고버섯을 먹인 쥐의 골밀도와 혈중 칼슘양을 측정했다. 대조군과 비교했을 때 비타민 D가 강화된 버섯을 먹인 쥐의 골밀도는 증가했으나 혈중 칼슘농도가 감소함으로써 본 연구결과와 유사한 경향을 나타냈다. TD89123 사료에는 0.47%의 칼슘이 들어있는데 비슷한 양의 칼슘을 섭취했을 세 군 중 UV(O)군의 혈중 칼슘이 낮게 나오고 골밀도를 비롯한 해면질의 지표가 높게 나온 이유는 비타민 D의 영향으로 혈류에 있는 칼슘이 뼈로 이동해 해면질을 구성하는데 사용된 것으로 사료된다. 난소가 제거된 OVX그룹 내 세 군들 간에는 혈중 칼슘의 농도 차이가 없었음을 확인했다.

○ 난소의 유무가 칼슘에 미치는 영향을 알아보고자 동일한 식이를 섭취한 Sham그룹과 OVX그룹의 군간 차이를 각각 알아봤을 때 난소가 있는 Sham그룹에서 모두 유의적인 차이를 보이며 월등히 높은 수치를 기록했음을 알 수 있었다. 이를 통해 난소의 부재가 칼슘의 생체이용률을 크게 낮춘다는 사실을 유추할 수 있었다.

○ 난소절제술이 성공적으로 됐는지 알아보기 위해 측정했던 혈중 Estradiol 수치는 OVX그룹에서 모두 검출한도 이하(< 3.0 pg/mL)로 나왔다.

2. 뼈

표. 15. 뼈의 조직학적 지표 분석

	Sham			OVX		
	Con	UV(X)	UV(O)	Con	UV(X)	UV(O)
BMD (mg/cm^3)	939.94 ± 14.39^{b}	940.31 ± 21.25^{b}	963.09 ± 11.03^{a}	930.95 ± 15.14^{b}	940.96 ± 21.53^{ab}	951.69 ± 12.19^{a}
BV/TV (%)	0.65±0.06*	0.67±0.07*	0.71±0.03*	0.47±0.02	0.48±0.04	0.48±0.04
BS/BV (1/mm)	$18.42\pm1.91^{*a}$	$17.09\pm1.88^{*ab}$	$15.7\pm1.07^{*b}$	22.68±0.74	22.08±1.79	22.18±1.16
Tb. Th. (mm)	$0.11\pm0.01^{*b}$	$0.12\pm0.01^{*ab}$	$0.13\pm0.01^{*a}$	0.1±0	0.11±0.01	0.11±0
Tb. No. (1/mm)	7.93±0.73*	7.83±0.65*	8.08±0.42*	6.03±0.31	5.99±0.55	6.25±0.4
Tb. Sp. (mm)	0.1±0.01*	0.1±0.01*	0.1±0.01*	0.15±0.01	0.14±0.01	0.14±0.01

($^{a, b, c}$ 식이별 유의성: one-way ANOVA, * OVX그룹과 Sham그룹간의 유의성: t-test)

○ 표 15에서 Sham 그룹 간 식이에 따른 비교에서 비타민 D 가 증대된 버섯이 함유된 식이를 섭취한 rat들의 BMD가 유의적으로 증대되었다. 비타민 D가 증대된 식이를 섭취한 UV(O)군의 BMD 값이 control군과 UV(X)군에 비해 크게 증가한 반면, 비타민 D가 증대되지 않은 버섯이 들어간 식이를 섭취한 UV(X)군과 control군 간에는 BMD의 차이가 없었다. OVX그룹에서도 비슷한 경향이 나왔다. UV(O)군과 control군 간 BMD 값은 유의적인 차이를 보이며 BMD 값에 미치는 비타민 D 강화 버섯의 효과를 입증했다.

○ 뼈의 석회화된 비율을 나타내는 BV/TV 항목의 값을 조사해본 결과 Sham그룹의 rat이 OVX그룹의 rat에 비해 해면질의 부피 (%)가 더 컸음을 알 수 있었으며 비타민강화 버섯을 섭취한 rat의 BV/TV값이 control에 비해 큰 것으로 보아 비타민D가 뼈의 석회화에 영향을 미쳤음을 확인할 수 있었다. BS/BV 항목에서는 Sham그룹 내에서 contorl군의 해면질의 표면적이 UV(O)군에 비해 유의적으로 높았다. 이는 뼈내의 빈 공간이 비타민 D 강화 버섯을 섭취함으로써 감소했음을 알 수 있었다. 동 식이군을 놓고 그룹 간 비교했을 때, OVX그룹의 BS/BV항목이 눈에 띄게 컸으므로 뼈에 공간이 더 많았음을 간접적으로 유추할 수 있었다.

○ Tb. Th.는 섬유주에 구를 대입함으로써 섬유주의 두께를 나타내는 척도이다 (그림. 63).

비타민 D가 강화된 버섯을 섭취한 Sham그룹의 UV(O)군의 Tb. Th. 값이 0.13 mm로 가장 두꺼웠다. 비록 비타민 D가 강화된 버섯과 그렇지 않은 버섯을 섭취한 군들 간에는 Tb. Th. 항목에서 유의성은 보이지 않았지만 버섯이 들어가지 않은 control군과 비교하면 비타민 D가 강화된 버섯의 유의적인 효과를 볼 수 있었으며 CT사진에서도 알 수 있듯이 기둥의 두께가 두꺼웠다 (그림. 64). OVX그룹 내에서는 군들 간 유의성은 없었지만 control군에 비해 버섯을 섭취한 두 UV(X), UV(O)군들의 Tb. Th. 값이 미세하게 컸다. Sham그룹과 OVX그룹 간 비교에서는 모든 군에서 유의적인 차이를 보였다. Sham그룹의 해면질 단층의 뼈의 기둥들이 OVX그룹의 기둥들에 비해 더 굵고 튼튼했음을 알 수 있었다 (그림. 64).

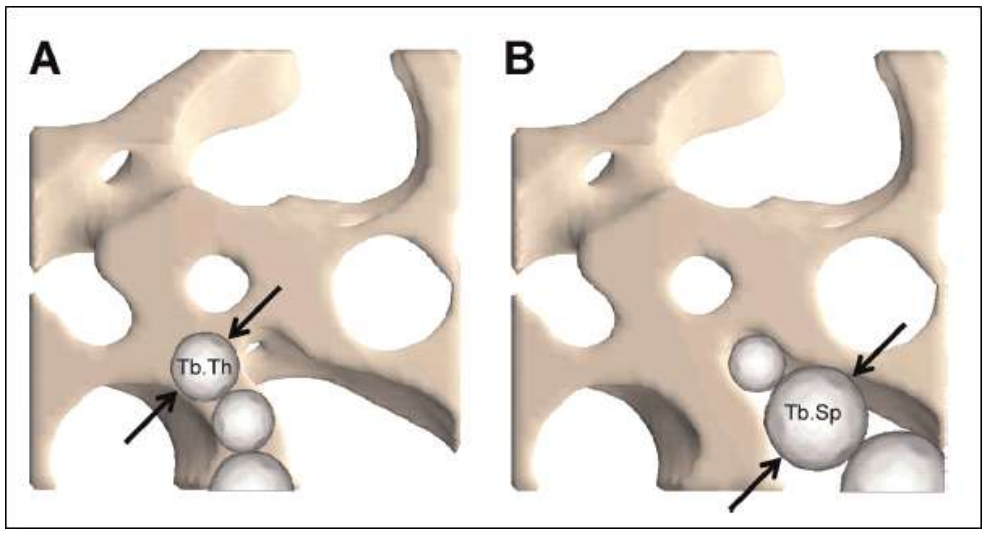


그림. 63. - 참고사진 (Tb. Th. 와 Tb. SP. 에 대한 부가 설명)

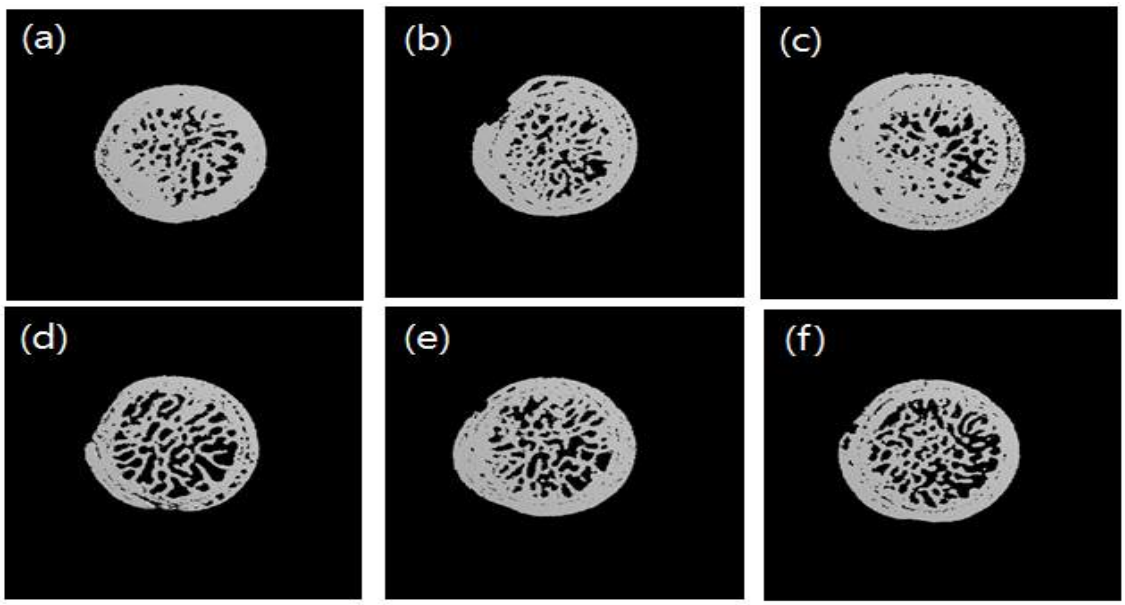


그림. 64. 대퇴골 단면(해면질)의 micro-CT 사진
(a) : Sham그룹의 control군
(b) : Sham그룹의 UV(X)군
(c) : Sham그룹의 UV(O)군

(d) : OVX그룹의 control군
(e) : OVX그룹의 UV(X)군
(f) : OVX그룹의 UV(O)군

○ Tb. Sp.는 섬유주의 뒷배경에 구를 대입함으로써 거리를 측정해 해면질을 이루는 기둥들 간의 간격을 나타내는 값이다 (그림. 63). 따라서 이 항목의 값이 클수록 해면질을 이루는 기둥들 간의 간격이 벌어져 있음을 뜻하며 그만큼 해면질의 손상이 크다는 것을 나타낸다. Sham그룹 내에서는 식이군에 따른 어떠한 차이를 보이지 못했다. OVX그룹 내에서는 비타민 D 강화 여부와 관계없이 버섯을 섭취한 군들의 Tb. Sp. 값이 0.01 mm 만큼 낮아져 해면질 손실을 예방했음을 나타냈다. 같은 식이군들에 대한 Sham그룹과 OVX그룹 간 비교에서는 모두 유의성을 보이며 난소가 없는 모든 군들의 Tb. Sp 값이 컸으며 그림. 64에서 볼 수 있듯이 확연한 빈 공간 차이를 보였다.

○ ROI(Region of interest, 관심영역) 의 길이 내에 존재하는 기둥의 수를 나타내는 Tb. No. 값에서 Sham그룹과 OVX그룹 간에는 큰 차이를 보이며 유의성을 띄었으나 식이에 따른 차이는 두 그룹에서 차이를 보이지 못했다.

○ 버섯의 비타민 D가 대퇴골의 해면질 외의 피층에 미치는 영향을 알아보기 위해 측정했던 뼈의 길이와 골강도는 모든 군에서 유의적인 차이가 없었다 (표. 16). 의 결과로 비타민 D와 난소가 대퇴골에 미치는 영향은 해면질에 국한되었으며 대퇴골의 가운데인 mid-shaft부근의 피층과 길이에는 두 요소 모두 거의 영향을 주지 않았음을 알 수 있었다. 2010년 Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology에서 나온 Discordant effects of vitamin D deficiency in trabecular and cortical bone architecture and strength in growing rodents 논문에서도 비타민 D의 해면질과 피층에 미치는 영향을 비교했는데 비타민 D 부족이 해면질의 손실을 유도한 반면, 피층에는 영향을 주지 않았다고 보고하였다.

표. 16. 외쪽 대퇴골의 길이(mm) 및 골 강도(N)

	Sham			OVX		
	Con	UV(X)	UV(O)	Con	UV(X)	UV(O)
뼈 길이(mm)	34.86±1.54	36.49±0.44	36.2±1.17	37.13±2.2	36.3±0.96	37.09±0.66
골 강도(N)	129.12±6.51	120.6±13.05	132±17.39	133.7±13.45	123.46±12.78	135.14±2.75

【 결론 】

○ 자외선 조사에 의한 표고버섯의 비타민D 항량은 온도, 수분함량, 자외선 조사량에 의해 영향을 받았으며 RSM분석 통한 비타민 D_2의 최대추출을 위한 최적조건은 온도 40.56 ℃, 자외선량 36.27 kJ/m^2, 수분함량이 80.46% 이었다. 또한 최적조건에 의해 산출된 비타민 D_2의 이론값은 32.33 μg/g이었다. 최적조건 하에서 생산된 표고버섯의 비타민 D_2의 실제값은 29.87 ± 1.38 μg/g으로 이론과 실제의 값에 큰 차이가 없었음을 확인하였다.

○ 비타민 D가 증대된 버섯의 섭취는 혈중 비타민 D의 수치를 높이는데 효과가 우수했음을 알 수 있었다. 일반적으로 뼈 질병 및 부갑상선기능항진 예방을 위한 사람의 최소 적정 혈중 비타민 D 수치는 20-30 ng/mL로 알려져 있다. 반면 혈중 비타민 D 수치가 214 ng/mL를 넘어가면 고칼슘혈증을 동반할 수 있는 비타민 D 중독이 야기된다고 알려져 있다. 따라서 비타민 D 강화 버섯을 섭취한 Sham, OVX그룹의 UV(O)군 rat들의 혈중 비타민 D 수치가 8.71-11.16 ng/mL 만큼 높아진 것은 비타민 D 독성을 야기를 걱정하지 않아도 되는 수준에서 비타민 D가 부족한 사람의 혈중 25(OH)D 수치를 높일 때도 긍정적인 효과가 있을 것으로 생각된다. Sham그룹의 UV(O)군에 비해 OVX그룹의 UV(O)군의 혈중 비타민 D 수치가 약 22%가량 감소하며 유의적인 차이를 보였다. 이로써 난소의 부재는 비타민 D의 흡수율을 떨어뜨림을 유추할 수 있었다.

○ 비타민 D가 강화된 버섯의 섭취는 골밀도를 유의적으로 증가시켰고 대퇴골의 해면질 기둥의 두께가 가늘어지는 것을 예방하여, 뼈건강에 효과가 있음을 알 수 있었다. 그리고 망상구조를 이루는 대퇴골의 해면질에 긍정적인 영향을 줬음을 알 수 있었다.

○ 난소의 부재는 해면질 손실에 미치는 영향이 컸음을 알 수 있었다. 단위길이 당 존재하는 섬유주의 수, 두께가 Sham그룹에서 압도적으로 높게 나왔고 섬유주간 벌어져 있는 간격을 나타내는 Tb.Sp.값 역시 OVX그룹과 큰 차이를 보였다.

○ 폐경기 이후로 여성들에게 급격하게 일어나는 골 손실(bone loss)의 예방에 비타민 D의 역할을 알아보기 위해 수행했던 이번 실험의 결과를 통해 비타민 D의 존재는 골 손실의 진행을 완화할 수 있음을 확인하였다.

◆ 연구개발 과제의 홍보 및 전시

<신문기사>

조선일보 2015년 12월 21일자

-1협동 고려대 박현진 교수는 비타민 D 의 중요성과 버섯이 비타민 D 의 중요한 급원이라는 내용을 조선일보 건강 칼럼에 게재하였다.

아하! 이 음식
햇볕에 말린 버섯·멸치

선조들, 비타민 D 보충 위해 건조해서 먹었어요

비타민은 생명 유지에 꼭 필요하고 모든 생체반응에 관여하는 유기화합물이에요. 특히 비타민 D는 칼슘 흡수에 중요한 역할을 하지요. 비타민 D는 장에서 칼슘·인산염의 흡수를 촉진하고, 석회화된 뼈에서 혈액으로 칼슘을 이동시키며, 신장에서 칼슘·인산염을 재흡수하게 만들어요. 어렵다고요? 쉽게 말해 비타민 D가 결핍될 경우, 뼈에서 각종 병이 생긴다는 뜻이에요. 어린이는 뼈가 변형되는 구루병이 발생할 우려가 있고, 중년기 여성이나 노인과 같은 어른들은 뼈와 석회질이 감소하여 나타나는 골연화증이나 뼈의 성분이 과도하게 감소해 작은 충격에도 골절이 쉽게 일어나는 골다공증이 일어나요. 그만큼 비타민 D는 중요하지요.

현재 비타민 D는 사람이 햇볕을 쪼이면 자외선을 통해 자연스럽게 인체 내에서 합성돼요. 태양으로부터 나오는 자외선은 파장 길이에 따라 UV-A, UV-B, UV-C로 나뉘는데, 이 중 UV-B가 사람의 피부에서 비타민 D를 생성하는 작용을 하지요. 하지만 피부에 좋지 않은 자외선을 무한정 받고 있을 수는 없어요. 자외선은 사람의 피부를 태우고 피부 조직에 침투하여 피부암을 일으키는 부작용도 있거든요. 그래서 우리는 자외선 차단제를 피부에 바르고 외출해지요. 그러니 결국 비타민 D가 들어 있는 음식을 섭취해 적절하게 비타민 D를 공급해야만 해요.

비타민 D가 많이 들어 있는 음식에는 어떤 것이 있을까요? 계란 노른자, 우유나 유제품에도 들어 있지만 함유량이 낮은 편이에요. 미국에선 비타민 D 부족을 보충하기 위하여 우유나 유가공품에 비타민 D를 강화하여 팔지요. 하지만 우리한테는 더 좋은 대안이 있어요. 우리 밥상에 오르는 친숙한 식재료를 증에 햇볕을 쪼여 적절 건조한 멸치 같은 어류나 버섯에 비타민 D가 많이 들어 있거든요.

대표적 식용버섯인 표고버섯과 양송이버섯에는 에르고스테롤이라는 물질이 많이 들어 있어요. 표고버섯과 양송이버섯을 양지바른 곳에서 말리면 햇볕 속 자외선이 에르고스테롤을 비타민 D_2로 전환하는데, 자연적으로 햇빛에서 권장한 보통 크기의 표고버섯 1개에는 1일 비타민 D 권장량(5~10㎍)의 3~3배가 함유되어 있어요. 멸치에도 이와 비슷하게 7-디히드로콜레스테롤이라는 물질이 다량 함유되어 있는데, 멸치를 햇빛에 건조시키면 이 물질이 분해되어 비타민 D_3로 전환돼요. 햇빛에 건조된 대멸치를 기준으로 5~10마리를 먹으면 1일 비타민 D 권장량을 채울 수 있지요. 버섯과 멸치가 우리 대신 자외선을 받아 비타민 D를 만들어주는 셈이죠.

아주 옛날 자연에서 채취한 버섯은 수분함량이 높아 하루 이틀 지나면 상하기 쉬웠어요. 그래서 버섯을 따면 햇빛에 말려 보관해 두었죠. 그러곤 필요할 때마다 건조한 버섯을 불려서 반찬에 넣어 먹었어요. 바다에서 잡아들인 멸치 역시 생물이라 쉽게 상하기 때문에 잡은 즉시 끓는 바닷물에 넣어서 익힌 후 햇빛에 말려 국물을 낼 때 쓰거나 볶음반찬으로 먹었던 거예요. 우리 선조가 비타민 D 부족을 햇빛에 말린 버섯과 멸치 반찬으로 극복하였다는 사실이 놀랍지 않나요?

박현진 고려대 교수(식품공학과)

멸치가 유명한 전남 완도군에서 한 어민이 막 잡은 멸치를 말리고 있어요. 멸치는 쉽게 상하기 때문에 햇볕에 쬐어 말려서 파는데, 건조하는 과정에서 멸치 속에 비타민 D가 많이 생성되지요.

표고버섯볶음.

<방송판매>

2016년 7월 21일 홈쇼핑(홈앤쇼핑) 판매

본 연구과제에서 개발된 식품건조기로 생산된 제품으로 홈쇼핑을 통하여 특허받은 건조기를 이용하여 비타민 D 가 함유된 버섯임을 소개 및 판매.

<대형마트 판매>

홈플러스에서 건조 표고버섯 제품 판매 및 홍보. (2015년 7월 2일, 15일- 2회)

<전시>

1. 호치민 식품박람회 Food & Hotel Vietnam, 베트남 호치민, 2015. 04. 21-23(3일간)

본 사의 건 표고버섯 제품을 전시하여 여러 회사에서 많은 관심과 가격 요청 등을 받고 지속적인 상담을 하고 있음. 전시회 기간 중 샘플을 소포장하여 홍보하고 특히, 카탈로그, 샘플 등을 준비하여 많은 홍보 및 관심을 갖게 함.

2. 서울 국제 식품 산업대전, 일산 킨텍스, 2015. 05. 12-15(4일간)

롯데마트, 인터넷 티몬, 그 외 중국계 온라인 회사를 포함한 여러 회사들이 깊은 관심을 가지고 있어 지속적으로 상담하고 있음. 특히 '하늘농가' 라는 회사는 학교급식 및 식자재 납품업체로써 아이들의 건강에 필요한 버섯과 비타민 D_2 함량을 강화한 영양소 공급에 관심이 많아서 납품하도록 샘플을 지정해 줬고 현재 한국기능식품협회에 의뢰 중에 있음.

3. 2015년 남양주 슬로라이프 식품대전 참가, 2015. 10. 8-17(10일간)

4. 2016년 서울 국제식품산업대전 전시, 일산 킨텍스 2016.05.10.-13(4일간)

◆ 연구개발성과

특허 등록 - 2건

상표등록 : 해담은집 등록번호 : 40-1095419 등록일자 : 2015년 3월 23일 상표권자 : 장철호	특허 : 식품건조기 등록번호 : 10-1556074 등록일자 : 2015년 9월 21일 특허권자 : 농업회사법인주식회사 건농

◆ 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0.5억원
			향후 3년간 매출	20억원
		관련제품	개발후 현재까지	억원
			향후 3년간 매출	15억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 50 % 국외 : 0 %
			향후 3년간 매출	국내 : 55% 국외 : 25 %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0% 국외 : 0%
			향후 3년간 매출	국내 : 50 % 국외 : 10 %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		위

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		5년		
	소요예산(백만원)		5억원		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			5천만	20억	50억
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	2%	30%	45%
		국외		5%	9%
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		사용하기편한 파우치 음료제품 개발중 라면스프등에 사용진행중 먹거리간식류 개발 진행중(스넥,말랭이)		

◆ 학술대회 참가

1. 2015 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology, 한국식품과학회, 부산 Bexco (2015. 06. 03-05)
제목 : Establishment of the Optimal Conditions for the Vitamin D_2-fortified Shiitake Mushrooms caused by UV Irradiation

2. The 6th International Conference on Food Factors (ICoFF), 서울 Coex (2015. 11. 22-25)
제목 : Establishment of the Optimal Conditions for Vitamin D_2-increased Shiitake Mushrooms cuased by UV Irradiation using Response Surface Methodology

3. UIUC-KU-CAS Joint Symposium, University of Illinois, USA (2016. 07. 22)
제목 : Vitamin D_2-increased Shiitake Mushrooms and their bioavailability

4. 2016 Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Technology, 한국식품과학회, 대구 Exco (2016. 08. 17-19)
제목 : Process optimization of the vitamin D_2-fortified Shiitake mushroom (Lentinula edodes) using response surface methodology

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

4-1. 목표달성도

구분	세부연구개별 목표	달성도(%)	성 과
1세부	▪ 자외선 조사를 통한 비타민 D 함량이 증대된 기능성강화 표고버섯의 대량생산 조건 확립 연구	100	▪ 자외선 조사와 건조가 동시에 가능한 식품건조기에 대한 특허 획득 ▪ 고선량 자외선 램프를 이용해 비타민 D의 증강시간 단축 ▪ 온도와 습도를 감지하고 제어할 수 있으며 조사선량 조절을 통한 비타민 D 강화조건의 다양화
	▪ 재배방식에 따른 버섯들의 자외선 조사 효과 비교연구	100	▪ 자외선 조사를 통해 비타민 D를 생산할 시, 톱밥재배 표고가 원목재배 표고에 비해 비타민 D 수율이 우수함 ▪ 건조 뒤 자외선을 조사하는 경우, 칩형태일 때 슬라이스형태에 비해 비타민 D의 생산성이 향상됨
	▪ 비타민 D 강화 버섯의 제품개발 및 상품화	100	▪ 건표고버섯 제품의 다양화를 위해 통버섯, 슬라이스 버섯 형태 뿐 아니라 조리의 편리성을 더한 칩형태의 제품도 판매 중 ▪ 기업과 대학간 연계를 통한 새로운 제품 개발에 대한 시도가 활발히 진행 중 ▪ 전시회 및 박람회 참가를 통한 본사에서 생산된 제품에 대한 활발한 홍보활동
1협동	▪ RSM 통계를 이용한 UV 강화 표고버섯의 비타민 D_2의 최적 조건 설정연구	100	▪ 자외선 조사를 통해 비타민 D가 강화된 버섯을 얻기 위한 “최적조건” * 온도 : 40.56 ℃ * 자외선 조사량 : 36.27 kJ/m^2 * 버섯의 수분함량 : 80.46%
	▪ 비타민 D 강화 버섯의 생체이용률 효과 연구 (in vivo)	100	▪ 최적조건 하에서 생산한 비타민 D 강화 버섯의, * 생체 이용률 혈중 비타민 D함량이 유의적으로 증가함을 확인 * 대퇴골의 골건강 해면질의 손실을 완화시키는데 효과를 보임

4-2. 관련분야 기여도

○ 램프와 특허를 획득한 식품건조기의 활용
- 인위적인 자외선 조사는 수돗물을 통해 감염되는 작은와포자충의 접합자낭의 감염력을 58-98%까지 감소시키며 Pseudomonas, Streptococcus, Candida 속 같은 병원성균에 대해 살균효과를 보임. 이러한 자외선 램프의 살균력을 이용해 새싹채소와 같은 제품의 신선포장에 행하는 새로운 살균법으로써의 시도가 가능
- 버섯 이외의 비타민 D의 급원으로써 ergosterol을 가진 균류나 저렴한 동물성 식품원에 자외선을 노출시켜 비타민 D를 얻는 방안도 긍정적
- 수확한 버섯의 시간에 따른 조직감 악화를 예방해주는 자외선 조사의 긍정적인 기능을 다른 농작물에 적용해 마찬가지의 효과를 거둘 수 있는지에 대한 연구가 가능

○ RSM 통계분석을 활용
- RSM 통계분석의 기반을 마련함으로써 버섯을 통한 비타민 D 과정 이외의 다른 식재료로부터 기능성 물질을 얻어내는 방안에 대한 과학적인 접근
- 녹차의 유용성분인 카테킨, 자색양파에 많이 들어있는 플라보노이드나 안토시아닌 같은 유용한 성분의 추출을 극대화하려면 최적의 조건을 잡아야 하는데 RSM 통계분석을 통해 보다 과학적이고 효율적인 접근이 가능. 유용한 영양소를 다양한 식물과 과일에서 얻음으로써 기능성 식품의 개발, 나아가 고부가가치 창출의 기대가 가능

○ 생체이용률 및 골건강에 미치는 영향 연구
- 자외선 조사로 비타민 D가 강화된 버섯의 생체효율을 알아본 결과 혈중 비타민 D 수치를 월등히 높임. 실내생활이 많아 자연적인 비타민 D의 합성이 어려운 현대인과 입원치료가 많은 노인들의 혈중 비타민 D의 수치를 높여 비타민 D 부족으로 야기될 수 있는 다양한 질병들에 대한 예방이 가능
- 비타민 D 강화 버섯제품을 운동 부족과 낙상사고의 위험에 노출 되고 있는 노인들의 식이에 접목해 제품을 개발, 판매한다면 다가오는 고령화 사회에서 수요가 클 것으로 예상됨

5. 연구결과의 활용계획

1) 활용방안:

○ 본 연구에서 확립된 자외선조사를 이용한 비타민 D 강화 버섯 제조조건을 토대로 다른 식품에 적용함으로써 다양한 기능성 강화 소재개발에 이용 가능

○ 버섯류의 비타민 D 함량증가 기술에 추가하여 다양한 조리에 적용 가능하도록 타정 및 분말가공기술 연구

- 비타민 D가 강화된 버섯 및 어류의 개발이 진행 중에 있으나 비타민 D의 감소나 파괴없이 이를 분말, 타정하면 다양한 조리 방법을 통해 많은 비타민 D 섭취가 가능할 수 있음.

- 건식업체, 이유식제조업체, 노인식업체에 응용 가능

○ 비타민 D 강화버섯을 이용한 건강기능식품 개발 가능

○ 비타민 D 강화식품 개발로 비타민 D 결핍증이 심각한 유럽 등에 수출 확대

2) 기대성과:

(1) 기술적 측면

○ 버섯의 기능성을 강화시키는 최적의 조건을 확립함으로써 버섯이외의 다른 식품에의 응용연구를 위한 자료로 활용

○ 건강기능성이 증대된 다양한 형태의 건강 식·의약제품 개발 기술 기반의 확립

○ 기능성 소재 생산 식품가공기술의 다각화 및 관련분야의 학문 발전에 기여

(2) 경제적 • 산업적 측면

○ 기능성을 강화시킨 고품질의 가공제품 개발로 연결, 외국의 항암, 항산화, 항염증, 면역계관련 기능성제품의 수입대체 효과를 이룸과 동시에 국내시장뿐만 아니라 국제시장에 경쟁력 확보

○ 효능을 향상시킨 기능성 버섯의 개발은 재배농가의 소득증대는 물론 국민들의 질병예방 등 건강증진에 기여

○ 버섯을 이용한 다양한 특수 기능성 제품의 개발로 새로운 시장 창출 및 틈새시장 개척

○ 비타민 D가 강화된 버섯의 최적 생산 기술의 개발로 고부가가치의 기능성 버섯의 생산성 향상과 산업화에 기여

○ 이번 연구를 통해 버섯자원의 우수함과 고부가가치가 있음을 알림으로써 소비자들의 건강식품으로서의 버섯에 대한 인식과 국가적 차원에서의 투자 촉진을 기대

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

○ 1998년 Journal of Food Science에서 나온 Stability and Photochemistry of vitamin D_2 in Model System에서는 우유에 들어있는 비타민 D의 안정성을 조사했다. 그 결과 빛의 존재 하에서 비타민 D의 양은 감소했는데 이는 함께 들어있는 리보플라빈의 일중항산소 생성능 때문이라고 말하고 있다. 또한 비타민 D의 저장안정성에 미치는 악영향은 온도나 빛보다 리보플라빈에 의한 요인이 더 크다는 결론을 내렸다.

○ 2005년 Food Chemistry 저널에서 나온 Distribution of ergosterol in different tissues of mushrooms and its effect on the conversion of ergosterol to vitamin D_2 by UV irradiation 논문에서는 표고버섯, 양송이버섯, 느타리버섯, 전복느타리버섯, 팽이버섯에 UV-A 조사를 통한 비타민 D_2의 생성 효율을 알아보았다. 버섯의 종류에 따른 ergostrol과 비타민 D함량을 조사했으며 ergosterol의 양은 양송이버섯, 표고버섯 순으로 가장 많았고, 2시간동안 자외선 처리를 같은 조건에서 했을 때, 비타민 D 함량이 느타리버섯, 표고버섯 순으로 많아져 표고버섯의 비타민 D의 전구체의 양 뿐 아니라 비타민 D의 생산효율 역시

우수하다는 사실을 알 수 있었다. 또한, 자외선 조사 시 주변온도와 버섯의 수분함량이 비타민 D의 수율에 미치는 영향을 알아본 결과, 온도는 30-40 ℃ 사이에서, 버섯의 수분함량은 75-80% 정도 일 때 비타민 D의 수율이 가장 좋다고 기술했다.

○ 2005년 Alternative Medicine Review 저널에서 나온 논문인 Benefits and Requirements of Vitamin D for Optimal Health: A Review 에서는 사람의 일생에 걸친 비타민 D의 기능들을 열거하고 있다. 출생 전후에 비타민 D가 특히 중요하다고 하는데 비타민 D의 주된 역할 중 하나인 칼슘과 인의 흡수와 뼈건강을 위한 대사 때문이다. 저체중출생은 임신기간 동안 비타민 D의 부족에 의해 야기된 결과라고 하며, 임신 중 비타민 D의 충분함은 태아의 적절한 칼슘과 치아발달을 위해 꼭 필요한 조건이라고 언급하고 있다. 또한 유아기 동안 불충분한 비타민 D 섭취는 생화학적 문제들과 함께 뼈의 미네랄 감소로 성장 속도가 저하되고 심할 경우 뼈의 기형을 초래할 수 있는 등 뼈와 관련된 질병에 치명적일 수 있다. 성인의 건강과 비타민 D의 관계의 경우, 비타민 D는 최적의 근력을 유지해 주며 17가지의 암의 위험도를 감소시킨다. 또한 폐결핵 환자들은 낮은 혈청 25(OH)D 수치와 관련이 있고 낮은 혈청 25(OH)D 수치를 가진 사람들에게서 폐결핵의 위험도 역시 증가한다. 노년기에는 충분한 비타민 D와 적절한 칼슘의 섭취, 그리고 적절한 운동은 뼈 골절의 위험도를 감소시키는데 도움이 된다.

○ 2006년 Food chemistry 저널의 Ultraviolet irradiation: The generator of Vitamin D_2 in edible mushrooms 논문에서는 포고버섯, 양송이버섯, 느타리버섯, 전복느타리버섯 등 네 가지의 서로 다른 종류의 버섯에 함유되어 있는 ergosterol의 비타민 D_2 전환율을 비교 실험하였다. 또한 UV-A, B, C 파장의 비타민 D 생성률을 비교해 봤는데, UV-B > C > A순의 효율을 보였으며, 느타리 버섯의 비타민 D 증가율이 독보적으로 좋았음을 알 수 있었다.

○ 2007년 Food Science & Technology 저널의 Sterol and vitamin D_2 concentrations in cultivated and wild grown mushrooms: Effects of UV irradiation 논문에서는 3종류의 자연산 버섯-살구버섯, 그물버섯 등과 5종류의 양식 버섯-양송이버섯, 표고버섯, 느타리버섯 등에 존재하는 ergosterol 과 비타민 D_2함량에 대한 파장종류(UV-A와 UV-C)의 영향을 알아보았다. 버섯의 비타민 D를 증가시키는데 가장 널리 쓰이는 UV-B 파장이 아닌 UV-A와 UV-C 파장을 사용해 비교한 논문이었다. UV-A와 UV-C 간 비타민 D 생성률을 비교해본 결과, UV-C가 UV-A에 비해 월등했음을 보여줬다.

○ 2008년 Journal of Agricultural and Food Chemistry 저널에서 나온 Vitamin D2 Formation from Post-Harvest UV-B Treatment of Mushrooms (Agaricus bisporus) and Retention During Storage 논문에서는 버섯 수확 후 자외선 처리를 해주는 시기의 차이가 냉장보관 조건에서 비타민 D의 안정성에 영향을 주는지를 연구했다. 또한 자외선 처리된 버섯의 냉장 보관 기간도 비타민 D에 영향을 미치는지를 알아봤다. 그 결과 버섯 수확 후 1일과 4일 뒤 같은 조사선량의 자외선을 처리했을 때 냉장보관동안(당일, 2일 후) 둘의 차이는 거의 없음을 알 수 있었다. 반면 냉장보관 당일과 2일 후는 비타민 D의 감소에 큰 영향을 줌을 알 수 있었다. 요약하자면, 버섯의 수확 후 자외선 조사를 언제 적용할지는 크게 문제가

되지 않으나 보관하는 시간이 지남에 따라 버섯 내 비타민 D의 양은 크게 줄어들었음을 알 수 있었다.

○ 2008년 Molecular Aspects of Medicine 저널에 나온 The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal health: Mechanisms of action 논문에서는 비타민 D의 뼈건강 개선 외의 여러 의학적 기능을 설명하고 있다. 우선 항암작용 기능과 원리를 설명했는데, vitamin D receptor이 있는 악성 세포에 $1,25(OH)_2D3$가 반응하면 악성세포의 추가적인 분화를 막고 세포 말기 분화를 유도해 자가소멸을 유도시킴으로써 암을 억제한다고 했다. 전립선, 유방, 폐, 직장 등에서 이러한 항암작용이 나타난다고 했다. 다음으로는 자가면역 반응인데 대식세포에서 생성된 $1,25(OH)_2D3$에 의해 Cathelicidin gene이 발현이 되고, 이렇게 생성된 Cathelicidin은 감염성 있는 균이나 바이러스들을 파괴하는 역할을 하게 된다. 마지막으로 심혈관계 질환 예방 기능인데 $1,25(OH)_2D3$은 renin이라는 물질의 생성을 억제한다. 이 renin이란 물질은 효소에 의해 angiotensin Ⅱ라는 물질로 변해 혈관수축을 유도하며 $1,25(OH)_2D3$의 renin 생성 억제는 결과적으로 울혈성 심부전과 동맥경화를 예방한다고 했다.

○ 2010년 Postharvest Biology and Technology 저널의 Influence of UV-C treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and texture of postharvest shiitake (Lentinus edodes) mushrooms during storage 에서는 표고버섯을 수확하고 처리하는 UV-C 조사가 상온보관 되는 버섯 제품에 어떠한 긍정적인 영향을 주는지 알아보았다. 그 결과 조직감 유지, 플라보노이드와 비타민 D 함량 증대, 항산화력 증가 등의 효과가 있었음을 밝혔다.

○ 2011년 European Journal of Clinical Nutrition 저널에서 발행된 Bioavailability of vitamin D_2 from UV-B-irradiated button mushrooms in healthy adults deficient in serum 25-hydroxyvitamin D: a randomized controlled trial 논문은 비타민 D가 강화된 양송이와 동일한 양의 비타민 D가 들어있는 보충제의 생체이용률을 비교했다. 그 결과 같은 양의 비타민 D가 섭취될 경우, 버섯을 통해 늘어난 혈중 25(OH)D 수치는 보충제를 통해 향상된 그것의 수치와 거의 차이가 없음을 보여 버섯을 통한 생체이용률의 우수성을 보였다. 또한 건장한, 그리고 젊은 층의 성인집단에서 양송이를 통한 생체이용률이 더 우수했음을 보였으며 동시에 매일 100㎍ 만큼의 비타민 D를 복용해도 안전하다는 내용도 싣고 있다.

○ 2011년 Acta Derm Venereol 저널에 실린 Factors Influencing Vitamin D Status 리뷰논문에서는 비타민 D의 위장에서의 흡수를 언급했다. 피부에서의 합성을 통한 또는 경구 섭취 후의 비타민 D의 생체 이용률은 장의 흡수, 지방 저장과 대사에 의존한다고 했다. 또한 비만은 비타민 D의 생체이용률을 감소시킨다고 하였다.

○ 2012년 Food Chemistry 저널에서 나온 Generation of potentially bioactive ergosterol-derived products following pulsed ultraviolet light exposure of mushrooms

(Agaricus bisporus) 논문에서는 양송이 버섯에 자외선을 조사 했을 때 ergosterol이 비타민 D로 변환되는 과정에서 생성되는 유도체들과 합성 경로의 연구 및 고선량의 자외선 조사 시 그 증가율의 감소에 대해 보고하였다. 또한 Xenon 사의 펄스장치(Steripulse-XL 3000)를 이용해 단시간(수초)만에 버섯 내의 비타민 D 수율을 극대화 할 수 있는 방안을 연구했다(그림. 65). 초당 3펄스를 내며 1펄스 당 7.91 kJ/m^2의 조사량을 낸다. 7 ㎜ 두께로 슬라이스 친 양송이 버섯을 1초(3펄스)동안 노출 시켰을 때 32.2 ㎍/g만큼의 비타민 D2가 생성되었다.

그림. 65. Steripulse-XL 3000 펄스장치

○ 2013년 Osteoporos Int 저널의 Vitamin D2 from light-exposed edible mushrooms is safe,bioavailable and effectively supports bone growth in rats 논문에서는 비타민 D가 높은 수준으로 강화된 버섯을 사료에 섞어서 rat에게 먹인 뒤 안전성과 생체효율 등을 조사했다. 안전성 평가는 고함량 비타민 D로 야기될 수 있는 간, 신장, 그리고 지라 내에서의 칼슘의 석회화 여부를 Von Kossa staining을 통해 알아보았으며, 비타민 D의 생체이용률은 RIA 검사를 통해 조사했다. 그 결과 고함량 비타민 D가 포함된 버섯의 섭취는 rat들의 혈중 25(OH)D을 월등히 높여줌으로써 생체이용률의 우수성을 증명했고 간, 신장, 지라 모두에서 칼슘의 석회화가 일어나지 않아 자외선 조사에 의한 비타민 D 강화는 독성없이 안전하다고 보고하였다.

○ 2015년 Critical Reviews in Food Science and Nutrition 저널의 리뷰논문인 Vitamin D Bioavailability : State of the Art 에서는 비타민 D의 생체이용률에 대해 자세히 기술하고 있다. 이 논문에서는 나이가 들어감에 따라 음식을 통한 비타민 D의 흡수율이 떨어진다고 여겨지는 기존의 상식은 잘못되었다고 반박했다. 대신 노인들의 혈중 25(OH)D가 젊은이들에 비해 낮은 이유를 다른 곳에서 찾았는데 식사량 자체의 감소 및 햇빛에 노출되는 시간의 감소로 피부로부터 생산되는 비타민 D가 부족하기 때문일 것이라고 가정했다. 또한 비타민 D2와 비타민 D_3의 체내 흡수율은 비슷하지만 체내에 미치는 영향은 다르다고 했는데 이는 비타민 D_3의 체내 최종 생산물인 $1,25(OH)_2D_3$가 비타민 D_2의 최종산물인 $1,25(OH)_2D_2$에 비해 biological activity가 3배 가량 높기 때문에 가능하다고 했다. 그 외에 비타민 D와 섭취되는 지질의 양과 식품의 조직(matrix) 등의 요인들은 비타민 D의 생체이용률에 거의 영향을 미치지 않는다고 기술했다.

7. 연구개발결과의 보안등급

- 해당사항 없음

8. 등록한 연구시설·장비 현황

- 해당사항 없음

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

○ 연구실 안전조치 현황

1) 본 연구소는 “연구실 안전환경조성에 관한 법률(제10874호, 2011.07.21, 일부개정)”과 시행규칙 및 시행령을 준수하여 교내에 연구실 안전관리규정(2007.09.01제정)을 시행하고 있음
2) 한국엔지니어링협회의 2012년도 연구실 정기점검 및 정밀안전진단 지원사업 선정(2012.06)
3) 실험실 안전관리와 사고예방 대책 세미나 시행(2012.06.15)
4) 연구실 안전관리 보험 가입 (2012.02.01 가입/ 교원공제회)

○ 연구실 안전조치 이행계획

1) 본 연구소는 앞으로 각 실험실별 안전관리를 더 강화할 예정임
   - 소화기 추가 배치
   - 안전관리 교육강화 (연 2회 → 연 3회)
   - 안전관리 미교육자는 실험 및 실습에 제한조치 취함
   - 실험실 안전관리규정 배포 및 비치강화
   - 퇴실 시 각 실험실별 안전점검 카드 작성
2) 실험실 정밀안전진단 시행
   - 점검기관 : 한국소방안전협회(기술자 1명, 특급기술자 1명, 고급기술자 1명, 초급기술자 2명)
   - 정기 점검 및 정밀안전진단 내용
     ① 시약 관리상태
     ② 기자재 관리상태
     ③ 전기 및 전력상태
     ④ 보호구 및 안전기기 등 비치상태
     ⑤ 의료폐기물 관리상태

■ 고려대학교는 본교의 연구실 안전관리 규정을 준수할 것임.

- 본교는 “연구실 안전환경 조성에 관한 법률(제10874호, 2011.7.21, 일부개정)” 과 시행규칙 및 시행령을 준수하여 교내에 연구실 안전관리규정을 2007년 9월 1일 제정 및 시행하고 있음.
- 연구실 정기점검 및 정밀안전진단을 한국엔지니어링 협회의 지원을 받아 수행하기로 협약하였으며 2012년 10월중에 실시할 것임.
- 본교에서 시행하는 참여연구원의 교육훈련, 건강검진 실시, 보험가입 등에 적극 호응하여 안전관리에 만전을 기할 것임.
- 본교의 규정을 준수하며 안전관리에 적극 협조하고 있음.
- 연구실 책임자급의 참여연구원은 실험실의 안전을 책임지며 일상점검을 강화할 것임.
- 본교는 안전교육을 추가적으로 별도로 시행하고 있으며 다음 단계에서는 안전 실무교육 즉 소화기 위치 숙지하기, 가상화재 시 대피 실습을 할 것임.

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

								D-12	
번호	구분(논문/특허/기타	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/특허등록국가	Impact Factor	논문게재일/특허등록일	사사여부(단독사사 또는 중복사사)	특기사항(SCI여부/인용횟수 등)
1	특허	식품 건조기(Food dryers)	농업회사법인(주)건농		대한민국		2015.09.30		

11. 기타사항

○ 특이사항 없음

12. 참고문헌

○ 박형무. 한국의 골다공증 약제의 사용 현황. *Korean Journal of Obstetrics and Gynecology* 2010, 53.

○ 이진실; 김선주; 안령미; 최희숙; 최희령; 윤석권; 홍완수; 김명해; 황혜선; 권대중; 김여진. 자외선 B파 조사와 열풍건조가 표고버섯의 비타민 D2 함량에 미치는 영향. *KOREAN J. SOC. FOOD. COOKERY SCI.* 2002, 18.

○ Aguirre, L. X.; Frias, J. M.; Barry-Ryan, C.; Grogan, H., Modelling browning and brown spotting of mushrooms (Agaricus bisporus) stored in controlled environmental

conditions using image analysis. *J Food Eng* 2009, *91*, 280-286.

- Bjorn, L. O.; Wang, T., Is provitamin D a UV-B receptor in plants? *Plant Ecol* 2001, *154*, 1-8.
- Borel, P.; Caillaud, D.; Cano, N. J., Vitamin D Bioavailability: State of the Art. *Crit Rev Food Sci* 2015, *55*, 1193-1205.
- Bouxsein, M. L.; Boyd, S. K.; Christiansen, B. A.; Guldberg, R. E.; Jepsen, K. J.; Muller, R., Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res* 2010, *25*, 1468-86.
- Brennan, M.; Le Port, G.; Gormley, R., Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms. *Lebensm-Wiss Technol* 2000, *33*, 285-289.
- Calvo, M. S.; Babu, U. S.; Garthoff, L. H.; Woods, T. O.; Dreher, M.; Hill, G.; Nagaraja, S., Vitamin D2 from light-exposed edible mushrooms is safe, bioavailable and effectively supports bone growth in rats. *Osteoporos Int* 2013, *24*, 197-207.
- Calvo, M. S.; Whiting, S. J.; Barton, C. N., Vitamin D intake: A global perspective of current status. *J Nutr* 2005, *135*, 310-316.
- Connelly, S. J.; Wolyniak, E. A.; Williamson, C. E.; Jellison, K. L., Artificial UV-B and solar radiation reduce in vitro infectivity of the human pathogen Cryptosporidium parvum. *Environmental science & technology* 2007, *41*, 7101-7106.
- de Paula, F. J. A.; Rosen, C. J., Vitamin D safety and requirements. *Arch Biochem Biophys* 2012, *523*, 64-72.
- Eyles, D. W.; Burne, T. H.; McGrath, J. J., Vitamin D, effects on brain development, adult brain function and the links between low levels of vitamin D and neuropsychiatric disease. *Front Neuroendocrinol* 2013, *34*, 47-64.
- Farraye, F. A.; Nimitphong, H.; Stucchi, A.; Dendrinos, K.; Boulanger, A. B.; Vijjeswarapu, A.; Tanennbaum, A.; Biancuzzo, R.; Chen, T. C.; Holick, M. F., Use of a Novel Vitamin D Bioavailability Test Demonstrates That Vitamin D Absorption Is Decreased in Patients with Quiescent Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011, *17*, 2116-2121.
- Grant, W. B.; Holick, M. F., Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: A review. *Altern Med Rev* 2005, *10*, 94-111.
- Gritz, D. C.; Lee, T. Y.; McDonnell, P. J.; Shih, K.; Baron, N., Ultraviolet radiation for the sterilization of contact lenses. *Eye & Contact Lens* 1990, *16*, 294-298.
- Hohman, E. E.; Martin, B. R.; Lachcik, P. J.; Gordon, D. T.; Fleet, J. C.; Weaver, C. M., Bioavailability and Efficacy of Vitamin D-2 from UV-Irradiated Yeast in Growing, Vitamin D-Deficient Rats. *J Agr Food Chem* 2011, *59*, 2341-2346.
- Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal

health: Mechanisms of action. Mol Aspects Med 2008, 29(6):361-368.
○ Jakobsen, J.; Knuthsen, P., Stability of vitamin D in foodstuffs during cooking. *Food Chem* 2014, *148*, 170-5.
○ Jasinghe VJ, Perera CO. Distribution of ergosterol in different tissues of mushrooms and its effect on the conversion of ergosterol to vitamin D_2 by UV irradiation. Food Chem 2005, 92(3):541-546.
○ Jasinghe VJ, Perera CO. Ultraviolet irradiation: The generator of vitamin D_2 in edible mushrooms. Food Chem 2006, 95(4):638-643.
○ Jasinghe VJ, Perera CO, Barlow PJ. Bioavailability of vitamin D_2 from irradiated mushrooms: an in vivo study. Brit J Nutr 2005, 93(6):951-955.
○ Jasinghe VJ, Perera CO, Sablani SS. Kinetics of the conversion of ergosterol in edible mushrooms. J Food Eng 2007, 79(3):864-869.
○ Kalaras, M. D.; Beelman, R. B.; Holick, M. F.; Elias, R. J., Generation of potentially bioactive ergosterol-derived products following pulsed ultraviolet light exposure of mushrooms (Agaricus bisporus). *Food Chem* 2012, *135*, 396-401.
○ Keeney, J. T. R.; Forster, S.; Sultana, R.; Brewer, L. D.; Latimer, C. S.; Cai, J.; Klein, J. B.; Porter, N. M.; Butterfield, D. A., Dietary vitamin D deficiency in rats from middle to old age leads to elevated tyrosine nitration and proteomics changes in levels of key proteins in brain: Implications for low vitamin D-dependent age-related cognitive decline. *Free Radical Bio Med* 2013, *65*, 324-334.
○ Kida, K.; Goodman, D. S., Studies on the transport of vitamin D and of 25-hydroxyvitamin D in human plasma. *J Lipid Res* 1976, *17*, 485-90.
○ Ko JA, Lee BH, Lee JS, Park HJ. Effect of UV-B exposure on the concentration of vitamin D_2 in sliced shiitake mushroom (Lentinus edodes) and white button mushroom (Agaricus bisporus).J Agric Food Chem 2008, 56(10):3671-3674.
○ Larsen, T.; Mose, F. H.; Bech, J. N.; Hansen, A. B.; Pedersen, E. B., Effect of cholecalciferol supplementation during winter months in patients with hypertension: a randomized, placebo-controlled trial. *Am J Hypertens* 2012, *25*, 1215-22.
○ Lee, A. M. C.; Anderson, P. H.; Sawyer, R. K.; Moore, A. J.; Forwood, M. R.; Steck, R.; Morris, H. A.; O'Loughlin, P. D., Discordant effects of vitamin D deficiency in trabecular and cortical bone architecture and strength in growing rodents. *J Steroid Biochem* 2010, *121*, 284-287.
○ Li, T. L.; Min, D. B., Stability and photochemistry of vitamin D-2 in model system. *J Food Sci* 1998, *63*, 413-417.
○ Mastaglia, S. R.; Pellegrini, G. G.; Mandalunis, P. M.; Chaves, M. M. G.; Friedman, S. M.; Zeni, S. N., Vitamin D insufficiency reduces the protective effect of bisphosphonate on ovariectomy-induced bone loss in rats. *Bone* 2006, *39*, 837-844.
○ Mau, J.-L.; Chen, P.-R.; Yang, J.-H., Ultraviolet irradiation increased vitamin D2 content in edible mushrooms. *J Agr Food Chem* 1998, *46*, 5269-5272.
○ Ovesen L, Brot C, Jakobsen J. Food contents and biological activity of

25-hydroxyvitamin D: A vitamin D metabolite to be reckoned with? Ann Nutr Metab 2003, 47(3-4):107-113.

○ Parentelli, C.; Ares, G.; Corona, M.; Lareo, C.; Gámbaro, A.; Soubes, M.; Lema, P., Sensory and microbiological quality of shiitake mushrooms in modified-atmosphere packages. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2007, *87*, 1645-1652.

○ Perera CO, Jasinghe VJ, Ng FL, Mujumdar AS. The effect of moisture content on the conversion of ergosterol to vitamin D in shiitake mushrooms. Dry Technol 2003, 21(6):1091-1099.

○ Rangel-Castro, J. I.; Staffas, A.; Danell, E., The ergocalciferol content of dried pigmented and albino Cantharellus cibarius fruit bodies. *Mycol Res* 2002, *106*, 70-73.

○ Roberts, J. S.; Teichert, A.; McHugh, T. H., Vitamin D(2) formation from post-harvest UV-B treatment of mushrooms (Agaricus bisporus) and retention during storage. *J Agr Food Chem* 2008, *56*, 4541-4544.

○ Sapozhnikova, Y.; Byrdwell, W. C.; Lobato, A.; Romig, B., Effects of UV-B Radiation Levels on Concentrations of Phytosterols, Ergothioneine, and Polyphenolic Compounds in Mushroom Powders Used As Dietary Supplements. *J Agric Food Chem* 2014.

○ Simon, R.; Borzelleca, J.; DeLuca, H.; Weaver, C., Safety assessment of the post-harvest treatment of button mushrooms (Agaricus bisporus) using ultraviolet light. *Food and chemical toxicology* 2013, *56*, 278-289.

○ St-Arnaud, R., The direct role of vitamin D on bone homeostasis. *Arch Biochem Biophys* 2008, *473*, 225-230.

○ Suda, T.; Takahashi, F.; Takahashi, N., Bone effects of vitamin D - Discrepancies between in vivo and in vitro studies. *Arch Biochem Biophys* 2012, *523*, 22-29.

○ Sundar, I. K.; Rahman, I., Vitamin D and susceptibility of chronic lung diseases: role of epigenetics. *Frontiers in pharmacology* 2011, *2*, 50.

○ Tabata, T.; Yamasaki, Y.; Ogura, T., Comparison of chemical compositions of maitake (Grifola frondosa (Fr.) S. F. Gray) cultivated on logs and sawdust substrate. *Food Sci Technol Res* 2004, *10*, 21-24.

○ Takano-Yamamoto, T.; Rodan, G. A., Direct effects of 17 beta-estradiol on trabecular bone in ovariectomized rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1990, *87*, 2172-2176.

○ Teichmann A, Dutta PC, Staffas A, Jägerstad M. Sterol and vitamin D_2 concentrations in cultivated and wild grown mushrooms: effects of UV irradiation. LWT-Food Sci Technol 2007, 40(5):815-822.

○ Tsiaras, W. G.; Weinstock, M. A., Factors Influencing Vitamin D Status. *Acta Derm-Venereol* 2011, *91*, 115-124.

○ Urbain P, Singler F, Ihorst G, Biesalski HK, Bertz H. Bioavailability of vitamin D_2 from UV-B-irradiated button mushrooms in healthy adults deficient in serum 25-hydroxyvitamin D: a randomized controlled trial. Eur J Clin Nutr 2011, 65(8):965-971.

○ Urbain, P.; Valverde, J.; Jakobsen, J., Impact on Vitamin D2, Vitamin D4 and Agaritine in Agaricus bisporus Mushrooms after Artificial and Natural Solar UV Light Exposure. *Plant Foods Hum Nutr* 2016, *71*, 314-21.

○ Vieth R. Vitamin D toxicity, policy, and science. J Bone Miner Res 2007,22:V64-V68.

○ Vieth, R. What is the optimal vitamin D status for health? *Prog Biophys Mol Bio* 2006, *92*, 26-32.

○ XuJie, H.; Wei, C., Optimization of extraction process of crude polysaccharides from wild edible BaChu mushroom by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers* 2008, *72*, 67-74.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.