발간등록번호
11-1541000-001216-01

참송이버섯 배양법 확립 및 이를 이용한 고부가 제품 개발

(Establishment of Chamsong-I mushroom cultivation and development of higher value-added products)

하나바이오텍 (주)

농 림 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 "참송이버섯 배양법 확립 및 이를 이용한 고부가 제품 개발에 관한 연구"의 보고서로 제출합니다.

2011 년 12 월 29 일

주관연구기관명 : 하나바이오텍(주)
주관연구책임자 : 박 동 윤
세부연구책임자 : 박 동 윤
연 구 원 : 최 승 오
연 구 원 : 고 인 수
연 구 원 : 이 복 주
연 구 원 : 서 성 조
협동연구기관명 : 세종대학교 식품공학과
협동연구책임자 : 이 수 용
연 구 원 : 이 현 규
연 구 원 : 배 인 영
연 구 원 : 유 지 영
연 구 원 : 이 승 미

요 약 문

Ⅰ. 제 목

참송이버섯 배양법 확립 및 이를 이용한 고부가 제품 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발 필요성

표고버섯은 밤과 더불어 중요한 임산소득 작물이며, 버섯산업 전체에서도 생산액 기준 1위를 차지하여 버섯류 중 생산량 대비 부가가치가 가장 높은 특용작물 이지만, 기후변화와 중국산 표고의 수입 등으로 위기를 맞고 있다. 표고재배는 예로부터 참나무에서 나는 것으로 현재까지도 상당수가 참나무 원목에 종균을 접종하고 배양하여 재배하는 방식으로 이루어져 왔으나, 참나무 원목의 수급 불안정과 맞물려 기후변화에 의해 단위면적당 표고의 생산량이 줄어들고 있으며 이 틈을 중국산 표고가 급격히 파고들고 있다. 2011년 한국농촌경제연구원 농업전망에 따르면 2005년 중국산 표고의 수입 금액은 597만 5,000달러(생표고 63만 7,000달러, 건표고 533만 8,000달러)였으나 2010년에는 3,801만 달러(생표고 828만 2,000달러, 건표고 2,972만 8,000달러)로 5년 만에 6배 이상의 증가세를 보였다. 이러한 위기 극복의 대안으로 톱밥재배가 대두되고 있다.

표고버섯 톱밥재배는 원목재배에 비해 초기 투자비용이 많지만, 자원, 노동력 및 재배 공간의 절약이 가능하고, 재배기간이 짧아 자본회수가 용이하며, 계획생산 및 출하가 가능하다는 점 등의 장점이 있다. 표고버섯 주요 생산국인 중국은 약 95%, 일본도 82% 이상 톱밥재배 방식으로 생산하고 있는 것으로 알려져 있으며, 우리나라도 10여년 전부터 톱밥재배 방식으로 전환하고 있다. 2006년 산림조합중앙회 산림버섯연구소 조사결과에 따르면 초기 중국배지(244 만봉) 수입재배와 더불어 최근에는 자체 톱밥배지(220 만봉) 배양 및 재배기술의 개발이 이루어져 생산량이 증가 추세에 있다고 보고하였다.

그러나 표고버섯 톱밥재배 방법으로 개발 보급된 공식적인 한국형 재배기술이 없이, 대만식(원통형배지 상면발생 지면재배법), 중국식(막대형배지 균상재배법) 및 일본식(블록형배지 측상면 균상재배법) 등이 혼재하여 개별 표고농가 또는 작목반을 중심으로 자체 재배기술을 연구, 재배하고 있는 실정이다.

또한 농진청 농업정보포털 농축산물가격 및 분석정보 자료에 의하면 2011년 11월 생표고 특품, 상품, 하품의 가락시장 평균 경락가는 4kg당 평균 39,970원, 17,000원, 14,000원으로 생산농가의 1kg당 공급가는 약 9,900원, 4,250원, 3,500원으로 출하하는 등 낮은 가격에 공급되고 있는 것이 현실이며 톱밥재배 표고는 국내 원목재배 표고의 일시적인 출하와 중국산 및 북한산 표고의 수입증가로 가격하락과 계절별 변동이 심하여 안정적인 표고농가 수입원으로서의 불안한 요인이 되고 있다.

본 연구에서 사용할 참송이버섯은 표고버섯(*Lentinus edodes*)을 개량하여 송이버섯

(*Tricholoma matsutake*) 모양으로 육종한 신품종으로 대부분의 주름버섯과 달리 갓이 벌어지지 않고 대가 굵게 형성되는 특징이 있으며, 특히 모양과 육질 및 맛이 송이와 유사하고, 15~25℃ 사이에서 생장하는 중온성 버섯으로 소비자들에게 호평을 받으며 판매되고 있는 버섯이다. 우리나라에서 표고는 단순히 식용버섯으로만 알고 있지만, 실제는 약용버섯이라 할 수 있다. 일본의 유명한 조미료회사인 아지노모토에서는 이미 20여년 전에 표고버섯에서 베타글루칸이라는 항암면역 성분을 추출하여 렌티난(Lentinan)이라는 항암제를 개발하였고, 렌티난은 국내 유명 제약회사에서도 제조, 판매하고 있으며, 일본에서는 병원에서 의약품으로 처방하고 있다. 참송이버섯은 맛과 모양, 육질 등에 있어서는 송이(松栮)를 닮은 식용버섯(Culinary Mushroom)이며, 면역 증강물질인 베타글루칸의 함유량을 보면 표고버섯과 유사한 약용버섯(Medicinal Mushroom)이다. 참송이버섯에는 이와 같이 우수한 생리활성 효과를 보이는 렌티난의 원료인 베타글루칸을 28.3%나 함유하고 있는 기능성버섯이다.

식용버섯은 독특한 질감과 향으로 인해 많은 나라에서 다양하게 이용되고 있다. 또한 식용버섯들은 건강에 도움을 주는 물질들이 과학적으로 증명되면서 과거 10여년 동안 세계적으로 소비가 증가하고 있다. 특히 많은 의학적 연구는 기능성 식품으로의 가능성에 큰 관심을 가지게 하였다. 그렇지만 버섯을 여러 가지 식품에 적용한 예는 매우 제한적이다. 전통적으로 버섯은 주로 생물이나 건조분말을 양념에 첨가하는 형태로 소비 되어왔고, 냉동이나 통조림 등은 소규모의 가공시장을 형성하였다.

게다가 식품학적 측면에서 버섯의 연구는 조리 시 이들이 가지고 있는 영양학적 가치나 수확 후 버섯의 오랜 저장 기간이 주된 관심사였다. 식품학적 연구의 예로서 잎새버섯과 표고버섯 가루를 빵의 제조에 활용하거나 상황버섯 가루를 라면의 제조에 활용한 사례가 있으나 버섯 가루를 튀김 음식에 적용한 예는 없는 것으로 조사되었다.

뿐만 아니라, 생버섯 시장에서는 주로 버섯의 외관상 형태, 모양이나 크기, 신선도가 판매의 주된 요인으로 작용하며, 영양학적이나 기능적 측면에서 아무런 차이가 없지만 단지 이들의 조건에 부합되면 판매도 어려워지고 가격도 낮아진다. 그래서 이러한 저등급 부산물들은 요리에 맛과 향을 더하는 용도로 사용되어진다.

식품조리 공정에는 다양한 방법이 있겠지만 유탕처리방법은 식품조리 공정 중 예술(art) 이라고 불리며(Getz, 2004), 전 세계적으로 2천만 톤의 식용유지가 생산될 정도로 가정에서 뿐 아니라 요식업, 식품 산업에서 널리 사용되고 있는 방법이다. 유탕처리 방법은 고온(150℃~200℃)의 식용유지에 식품을 넣어 조리하는 전통적인 식품 조리 방법 중 하나이다. 그러나 유탕처리 식품은 다량의 지방을 함유한 대표적인 식품군으로 심지어 총 중량의 50%에 해당하는 높은 지방을 함유하고 있으며 특히, 스낵, 라면 등의 유탕식품은 어린이등의 취약집단이 즐겨먹는 가공식품류이기에 그 심각성은 매우 크다고 할 수 있다. 이에 따라, 2007년 12월부터 영양성분 표시가 강화되어 총 지방, 트랜스지방 및 포화지방 함량을 의무적으로 표시해야 하므로 유탕 식품의 흡유 저감화를 위한 국가적 차원의 정책 방안 수립 및 국민의 지방 섭취를 줄이기 위한 다각적인 연구가 시급한 상황이지만 아직까지 유탕처리 중 흡유를 저감화하기 위한 연구는 미미한 실정이며 최근에 이르러서야 활발한 연구가 이루어지고 있지만 아직 초기단계이다. 2007년 대두피를 이용하여 튀김용 액상 반죽의 지방 함량을 줄인 연구와 공기분사장치를 이용하여 공기를 분사시켜 지방을 감소시킨 라면제조 등 몇 가지 연구만이 보고되고 있을 뿐이다.

다량의 지방을 함유한 유탕처리 식품의 흡유 저감화 연구는 흡유를 저감화하기 위한 방법

으로 water replacement 기작에 중점을 둔 식품기질의 물성학적 성질을 개량하는 접근방법이 시도되고 있고, 최근 흡유 저감화 연구를 살펴보더라도 다양한 친수성 hydrocolloid들이 사용되고 있다. 따라서, 참송이버섯에 함유된 친수성 hydrocolloid인 베타글루칸을 이용하여 유탕면류에 적용시킬 수 있다면, 흡유 저감효과, 생리활성 물질인 베타글루칸 함유, 버섯 부산물의 이용 등에 따른 다양한 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

2. 연구개발 목표

이상과 같이 본 연구에서는 현재 어려움을 겪고 있는 국내 버섯 산업의 활성화와 UPOV의 적극적인 대응 방안으로 1) 참송이버섯의 생산성 향상을 위한 배양조건을 확립하고, 2) 버섯의 저장성, 영양학적 특성 및 생리활성을 평가하며, 3) 생버섯, 건조버섯, 단순 조미료 첨가제로만 판매되고 있는 현재의 가공품과는 차별화된 고부가가치 기능성 식품소재로 및 고품질화 제품 개발을 통해 버섯 제품의 고부가가치를 창출하여 버섯농가의 안정적인 소득확보 및 수출상품을 확보하는데 그 목적이 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 고품질화 참송이버섯 종균개발 및 생산성 향상

기존 톱밥종균과의 비교를 통한 우수 액체종균 제조 및 고품질 참송이버섯의 배양조건을 최적화하며, 생산된 참송이버섯의 형태학적, 이화학적, 식품학적 특성 분석을 통하여 품질유지에 필요한 저장 조건을 확립하고, 참송이버섯(저등급/부산물)으로부터 수용성 베타글루칸 추출법 확립함.

2. 참송이버섯 부산물을 이용한 고부가 가공 식품 개발

참송이버섯(저등급/부산물)을 이용하여 천연공법을 통한 베타글루칸 함량이 강화된 기능성 소재 및 고부가 제품(유탕면류/주류)을 개발함. 물리적/효소적 복합처리공정을 통한 베타글루칸 강화 분말을 제조하고, 유탕처리 공정에서 흡유 저감화 소재로의 가능성을 평가함으로써 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 이용한 흡유 저감 유탕면류를 개발하며, 참송이버섯 부산물의 발효특성 조사 및 베타글루칸이 첨가된 주류의 생리활성 및 식품학적 특성분석을 통하여 고품질 주류 제조법을 확립함.

Ⅳ. 연구개발결과

1. 고품질화 참송이버섯 액체종균개발 및 생산성 향상

가. 참송이버섯 균사체 액체 배양조건 확립 및 생산성 비교

○ 온도, pH, 탄소원, 질소원, Amino acid, C/N ratio 및 복합배지 조사를 통해 균사생장의 최적 조건을 확립하였고, 여기서 선발된 최적배지를 이용하여 균사생장이 우수한 액체종균을 제조함.

○ 참나무톱밥 배지에 톱밥종균과 액체종균을 접종하여 재배한 후 생산성을 비교한 결과 액체종균이 6.5% 증수됨.

나. 참송이버섯의 특성 분석 및 베타글루칸 추출공정 확립

○ 수확 후 버섯의 저장조건에 따른 버섯의 외관, 부피/무게변화, 갈변화도, 수분함량 등을 분석하여 고품질 유지를 위한 조건을 확립함.

○ 베타글루칸 추출공정을 확립해 건조버섯에 대한 정제수 투입배수, 추출온도, 버섯 투입방법, 정제수의 pH 및 추출시간을 확립함.

다. 고품질화 참송이버섯의 대량생산공정 확립

○ 톱밥배지에 종균을 접종한 후 최적의 배양기간을 설정하였고, 배지무게 및 형태별로 재배하여 대량생산 공정을 확립함.

2. 참송이버섯 부산물을 이용한 고부가 가공 식품 개발

가. 천연공법을 통한 참송이버섯 분말의 베타글루칸 강화

○ 화학적 처리를 배제한 물리적 처리만을 사용하여 50%의 높은 수율로 베타글루칸을 49% 함유한 새로운 베타글루칸 강화 소재를 개발함.

○ 참송이버섯 베타글루칸 강화 소재의 경우 암세포에 대한 독성 효과를 보였으며, DPPH 라디칼 소거능에 대해서도 우수한 효과를 보여줌.

나. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 가공적성 및 발효특성 평가

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 이화학적 특성을 분석한 결과 1,3-1,6-β-D-glucan의 구조를 가지고 있으며, 220 kDa의 분자량을 보여줌.

○ 베타글룰칸 강화 참송이버섯의 물성 분석 결과 shear-thinning 현상을 보였으며, 이는 Power-law에 잘 적용됨을 보여줌.

○ 다른 성분과의 상호 작용을 분석 시, 밀가루와 혼합할 경우 페이스트 형성능을 감소시켰고, 아울러 전분 호화 개시 온도 및 엔탈피 값도 감소를 시킴.

○ 버섯 열수추출액에 *Sacaromyces cerevisiae*를 접종하여 발효를 진행시키면서 생성되는 알코올 농도, 향기성분, 환원당 및 색의 변화 등을 측정함으로써 버섯의 발효조건을 결정하고, 기능성분인 수용성 베타글루칸 첨가시기 및 첨가농도에 따른 주류특성 변화를 측정함.

다. 베타글루칸 강화 참송이버섯 소재를 이용한 흡유 저감 유탕면류 개발 및 고부가 기능성 주류 개발

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 소재를 사용 시 유탕면의 텍스처가 견고해지면서, 유통 및 취급 과정에서 물리적 손상이 감소됨을 예측할 수 있었고, 이는 베타글루칸 강화 소재 사용에 따라 유탕면 내부의 조직이 매우 치밀해지기 때문인 것으로 생각됨.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯을 이용하여 유탕면을 제조 시 대조구와 비교하여 대체적으로 낮은 흡유량을 보임. 특히, 6% 첨가 시 대조구에 비하여 21%에 해당하는 흡유

저감효과를 보여줌.

○ 버섯 열수추출액과 수용성 베타글루칸 첨가에 따른 참송이버섯 발효주의 생리활성과 관능적 특성 조사를 통하여 건강 기능성이 강화된 참송이버섯 발효주의 상품성을 평가함.

Ⅴ. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 학문적 및 기술적 측면

가. 참송이버섯 부산물을 활용한 고기능성 가공식품 개발 및 저장특성 개선 연구 발표 (국제 SCI급 논문 3편/국내 논문 1편 게재 완료, SCI급 논문 1편 투고 준비 중, 국내 특허 3개 출원 완료)

나. 제14회 농림수산식품과학기술대상 농림수산식품부장관상 수상

수상명 : 명품 참송이버섯의 대량재배 시스템 개발

다. 본 연구의 생산기술 결과를 이용하여 건강식품 및 식품제조분야의 다양한 제품을 생산할 수 있는 기반 기술로 활용 가능

라. 건강기능성이 증대된 다양한 형태의 건강 식・의약제품 개발 기술 기반의 확립

마. 기능성 소재 생산 식품가공기술의 다각화 및 관련분야의 학문 발전에 기여

바. 버섯 이외의 곡물 부산물을 이용할 수 있는 제조기술 보급

2. 경제적・산업적 측면

가. 한미 FTA(자유무역협정)로 인한 농산물, 식품 시장의 개방을 대비하여 새로운 식품 기술을 이용한 고부가가치 식품 개발로 국가 식품 산업의 경쟁력 확보

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

다. 첨단 식품가공 방법의 개발에 대한 기술이전 및 상용화로 고용창출 효과 기대

라. 새로운 버섯 함유 기능성 식품 개발로 내수 및 수출 증가로 국가 경제발전에 기여

3. 사회적・문화적 측면

가. 고기능의 생리활성 성분이 함유된 참송이버섯의 과학적 연구에 바탕을 둔 홍보를 통한 일반 소비자들에 대한 참송이버섯의 인식 향상.

나. 버섯을 이용한 건강 기능성 제품 생산으로 국민 건강 증진에 기여

4. 연구성과 활용 계획

가. 기능성 참송이 소재를 이용한 흡유 저감화 유탕면류 제품 개발

나. 참송이버섯 제품의 확대로 공급량 대비 수요량 증가로 독농가의 농가 수익에 기여

다. 참송이버섯 기능성소재를 이용한 제품개발로 수입제품 대체 및 수출판로 개척

라. 고부가가치 버섯 가공제품의 생산으로 새로운 시장 및 틈새시장 개척

마. 생리활성 결과를 활용하여 건강기능식품 개별인정으로의 가능성 타진

SUMMARY

Ⅰ. Title

Establishment of Chamsong-I mushroom cultivation and development of higher value-added products

Ⅱ. Research background and objectives

1. Research background

Shiitake mushrooms are commercially important crops that produce forestry high income, along with chestnuts. Its productivity is ranked as No.1 in the mushroom industry and considered as special crops that provide added value, compared to its volume of production. However, the locally grown shiitake mushrooms are now in danger of being eliminated by climate change and most of shiitake mushrooms are imported from China. Traditionally, Shiitake mushrooms are cultivated in an oak and Shiitake spawn has been inoculated on logs of an oak and propagated as a method of cultivation. But, the supply of oaks logs has been reduced recently and in the meantime, Chinese shiitake mushroomes are mainly on the shelf of Korean markets. According to outlook of agriculture published in 2011 by Korea rural economic institute, total amount of shiitake imported from China indicates USD 5,975,000(USD 82,802,000 for raw shiitake, USD 29,728,000 for dried shiitake). Based on this data, its import has increased more than six times within 5 years. Therefore, sawdust-based cultivation has received attentions as a new method of cultivation in response to this crisis.

The method of sawdust-based cultivation for shiitake mushrooms has a weakness which is the high initial investment costs. But, this method saves resource, labor, and space needed for cultivation. In addition, since the cultivation period is shortened, it has an advantage for planned production and predicted ship-out schedule.

The main production countries of shiitake mushrooms which use sawdust-based cultivation method are China (approximately 95%) and Japan (more than 82%). In Korea, the method of sawdust-based cultivation was introduced 10 years ago.
But, there are no officially developed and propagated methods of sawdust-based cultivation in Korea. Therefore, consolidated methods such as sawdust round media-ground cultivation in Taiwan, sawdust stick media bed cultivation in China, and sawdust block media bed cultivation in Japan are being used in shiitake farms. These farms are researching and cultivating shiitake mushrooms by their own cultivation methods .

In addition, Korean Rural Development Administration indicates that an average auction prices (November, 2011) for raw shiitake mushroom of premium, medium and low quality in Ka-Rack Market are approximately ₩39,970(won) per kg, ₩17,000(won), and ₩14,000(won), respectively. Each supply price of production farm families revealed approximately ₩9,900(won), ₩4,250(won) and ₩3,500(won), respectively. Based on this data, we believe that not only temporally increased production of locally grown shiitake mushrooms by the method of mushroom culture on logs and increased imports of shiitakes from China or North Korea result in reduced selling price, but also climate change makes the income of shiitake farmers unstable.

For our research, we improved *Lentinus edodes* and bred it in the form of *Tricholoma matsutake*. Unlike Agaricus mushroom, this new cultivar(Chamsong-I) does not have open cap and has the characteristics of thickly shaped stem. Especially this new cultivar(Chamsong-I) grows between 15~25℃ and its shape, texture and taste are similar to those of *Tricholoma matsutake*. Therefore, Chamsong-I mushroom has started to receive great attentions by satisfactorily meeting consumer preference. Shiitake is simply known as an edible mushroom in Korea. But, many people do not know that shiitake could be used as medicated mushroom. Ajinomoto which is a well known seasoning company in Japan extracted an ingredient with anticancer immunity which is called "beta-glucan" from Shiitake mushrooms and developed anticancer drug called "Lentinan" 20 years ago.

This drug "Lentinan" are now being made and sold by a couple of pharmaceutical companies in Korea. Moreover, Lentinan is widely prescribed as an anticancer drug in Japan. The taste, shape, and texture of Chamsong-I look just like *Tricholoma matsutake*. Also, its immunity substance "Beta-Glucan" is similar to that in medical mushrooms and Chamsong-I has 28.3% beta-glucan.

Culinary mushroom has distinctive scent and texture and is used variously in many countries. Likewise, since the beneficial substance of culinary mushrooms for health has been verified scientifically, the consumption has increased worldwide within 10 years. Especially various researches have been looking for the possibility to apply it to functional foods. However, the application of mushrooms to various food products is very limited. Traditionally mushroom has been consumed in the form of food additives such as seasoning mixed with dry powder or processed in frozen or canned foods.

Moreover, from the food scientific point of view, there are great interests in the nutritional value and storage period of mushroom after harvest. For instance, there are several cases that powder of *Grifola fondosa* and shiitake mushrooms were used for baked bread and powder of *Phellinus linteus* was also employed in the process for instant noodles. Nevertheless, in our research we found that there are no previous studies and reports that used the powder of mushroom in the process of making a fried food as an oil barrier.

Furthermore, apparent shape, size, and freshness are the key factors for mushrooms in the market in order to be selected by consumers. Besides these key figures, there are no

significant differences nutritionally and functionally among raw mushrooms. But, it is true that low grade mushrooms which are not qualified for the standards of these key figures, lose the value of commodities and the price goes down. Thus, most of low-grade mushrooms are simply used as food additives to bring out the flavor and the taste.

In the food industry, a frying process is called "Art"(Getz, 2004) and a very popular cooking method that is used globally from domestic house to food industry. Frying process is one of traditional cooking ways that put foods in edible oil and fat with high temperature(150℃~200℃). But, since fried foods contain high amounts of fat and oil, they belong to the representative food groups with high fat and calorie. Especially fried foods such as snack, instant noodle, etc are being enjoyed by children, increasing the degree of seriousness for their health. Thus, an extensive effort is necessary to reduce the fat content in fried foods because the nutritional fact regarding fat (specially, saturated and trans fat) content is strictly regulated. However, there are no reports to use mushroom as an oil barrier to reduce fried foods so far. Therefore, this study can provide potentials to obtain mushroom ingredients with beneficial health effects from Chamsong-I mushrooms and apply them as a high value-added food ingredient

2. Research objectives

As mentioned above, the objectives of this research are to invigorate national mushroom industry which is faced into serious difficulties and also to provide a positive plan for UPOV. For doing so, the specific objectives are 1) to establish cultivation condition in order to improve productivity of Chamsong-I, 2) to evaluate nutritional characteristics, mushroom storage, and biological active substances, and 3) to stabilize mushroom rural household incomes and secure exported goods by developing new mushroom food products.

Ⅲ. Research content and scope

1. Development of high quality spawn and productivity improvement

The culture conditions of Chamsong-I mushrooms were optimized through liquid spawn. The optimum storage conditions were also investigated in order to extend the shelf-life of Chamsong-I mushrooms by the analysis of physicochemical and textural profiles. In addition, the experimental procedures to prepare β-glucan-enriched materials from Chamsong-I mushrooms were established.

2. Development of high value-added processed foods with Chamsong-I mushroom byproducts

Green processing for beta-glucan-enriched materials (BGEMs) from Chamsong-I

mushrooms was established and the resultant BGEMs were applied to develop high value-added food products (fried noodles/wine). For doing so, combined physical and enzymatic treatments were applied to produce BGEMs and their oil resisting properties were characterized in fried noodles. In addition, the fermentation process of wine by BGEMs were characterized and the procedures to develop high quality mushroom wine were established.

Ⅳ. Results

1. Development of high quality spawn and productivity improvement

가. Optimization of the culture condition of the mycelia of Chamsong-I mushroom and productivity comparison

○ The optimal culture condition for mycelia growth were established through the complex media, temperature, pH, carbon source, nitrogen source, amino acid, and C/N ratio. Liquid spawn was made by using the optimal culture media.

○ Sawdust and liquid spawn were inoculated in sawdust-based media. After cultivation, the products yield was increased up to 6.5% by liquid spawn.

나. Quality analysis of Chamsong-I mushroom and development of β-glucan extraction process

○ The optimal storage conditions for the extended shelf-life of Chamsong-I mushrooms were established through the analysis of geometry, weight loss, color, polyphenoloxidase activity, and texture profiles.

○ The optimal extract conditions for the β-glucan were established through the conditions of added water ratio, temperature, mushroom size, pH and extraction time.

다. Development of mass cultivation for high quality Chamsong-I mushroom

○ Optimal culture period was evaluated by utilizing sawdust-based media and many kinds of culture methods were evaluated for mushroom production. As a result mass cultivation process was developed.

2. Development of high value-added processed foods with Chamsong-I mushroom byproducts

가 Development of beta-glucan-enriched materials from Chamsong-I mushroom by green processing

○ Green natural processing to produce BGEMs from Chamsong-I mushroom was established, producing a new mushroom powder with 49% beta-glucan. Also, a high extraction yield (50%) was obtained.

○ BGEMs exhibited cytotoxic activities against tumor-cells and also had an

effective DPPH-radical scavenging activity.

나. Evaluation of processing performance of BGEMs and investigation of fermentation behavior

○ Physicochemical analysis showed that mushroom BGEMs mainly consisted of 1,3-1,6-β-D-glucan and their molecular weight was determined to be 220 kDa.

○ BGEMs exhibited a flow behavior like shear-thinning fluids which could be well characterized by a Power-law model.

○ When BGEMs were mixed with other food ingredients (e.g. wheat flour and water), the pasting properties of wheat flour were distinctly reduced and the onset temperature and enthalpy of starch gelatinization decreased.

○ The fermentation behavior of Chamsong-I mushroom was evaluated by utilizing hot water Chamsong-I extracts as a substrate for alcohol fermentation and the conditions for a functional wine with Chamsong-I mushroom were developed.

다. Development of fried noodles with reduced oil absorption by BGEMs and a value-added wine

○ When BGEMs were incorporated into the formulation of fried noodles, the noodle samples became darker while they had firmer texture. It would be mainly due to the compact and tight structure of BGEM noodles, providing advantages of reduced physical damages during handling and transportation.

○ The use of BGEMs signficantly reduced the oil uptake of fried noodles, even showing 21% oil reduction when 6% BGEMs were used.

○ The health-beneficial effects of Chamsong-I wines were evaluated in terms of the amount of Chamsong-I mushroom ß-glucan and ß-glucan-added period and the quality attributes of the final products were characterized.

Ⅴ. Research accomplishments and utilization plans

1. Scientific and technological aspects

가. Development of processed food products with Chamsong-I mushroom and improvement of its storage stability (International manuscript publication 3/domestic journal 1, SCI-grade manuscript in preparation 1, Patent application 3)

나. Award by Ministry of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries

Title: Development of mass production system for premium Chamsong-I mushroom

다. Utilization of mushroom-processed techniques as platform technology in the field of functional foods

라 Establishment of various functional food-pharmaceutical technology

마. Diversification of food processing technology for the development of functional ingredients
바. Extension of the developed techniques to other cereal processing beyond mushrooms

2. Economic and industrial aspects
가. Reinforcement of international competitiveness for Korea-USA FTA
나. Development of a new market and a niche market for mushroom functional products
다. Expansion of employment and technology transfer with developed cutting-edge technology
라. Contribution to the improvement of national economic situation by increasing the export of mushroom-related products.

3. Social and cultural aspects
가. Improvement of consumer preference to Chamsong-I mushroom through the scientific study on functional bioactive mushroom components
나. Contribution to the health of people by the production of functional mushroom food products

4. Research utilization plans
가. Development of fried noodles with reduced oil absorption by functional Chamsong-I mushroom ingredients
나. Increase in the profit of farmers by raising the consumption of Chamsong-I mushroom
다. Pioneering of new international exports with functional Chamsong-I mushroom ingredients
라. Development of a new market and a niche market with high value-added mushroom processed foods

CONTENTS

Chapter 1. General Introduction ---------------------------------15
Section 1. Research importance ---------------------------------------15
Section 2. Research content and scope ----------------------------------17
Section 3. Research objectives ---17

Chapter 2. Domestic and international research status -----------18

Chapter 3. Contents and results of research development -------19
Section 1. Development of high quality spawn and productivity improvement --19
Section 2. Development of high value-added processed foods with Chamsong-I mushroom byproducts -------------------------------------42

Chapter 4. Attainments and contribution to the related fields ---88
Section 1. Attainments --88
Section 2. contribution to the related fields -----------------------------92

Chapter 5. Research accomplishments and utilization plans ------93
Section 1. Commercial and industrial plans ------------------------------93
Section 2. Marketing plan --93
Section 3. Plans for intellectual property --------------------------------93
Section 4. Future study and utilization plan for other projects ---------------94

Chapter 6. Overseas scientific and technical information during research and development process -------------------96

Chapter 7. References ---99

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 15

제 1 절 연구개발의 필요성 15

제 2 절 연구개발의 내용 및 범위 17

제 3 절 연구개발의 목표 17

제 2 장 국내외 기술개발 현황 18

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 19

제 1 절 고품질화 참송이버섯 액체종균개발 및 생산성 비교 19

제 2 절 참송이버섯 부산물을 이용한 고부가 가공 식품 개발 42

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 88

제 1 절 목표 달성도 88

제 2 절 관련분야에의 기여도 92

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 93

제 1 절 실용화, 산업화 계획 93

제 2 절 홍보계획 93

제 3 절 지식 재산권 확보 계획 93

제 4절 추가연구, 타연구에 활용 계획 94

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 96

제 7 장 참고문헌 99

제 1 장　연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

2008년 기준 표고버섯의 우리나라 생산량은 약 4만 톤으로 밤과 더불어 중요한 임산소득 작물이며, 버섯산업 전체에서도 생산액 기준 1위를 차지하여 버섯류 중 생산량 대비 부가가치가 가장 높은 특용작물 이지만, 기후변화와 중국산 표고의 수입 등으로 위기를 맞고 있다. 표고재배는 예로부터 참나무에서 나는 것으로 현재까지도 상당수가 참나무 원목에 종균을 접종하고 배양하여 재배하는 방식으로 이루어져 왔으나, 참나무 원목의 수급 불안정과 맞물려 기후변화에 의해 단위면적당 표고의 생산량이 줄어들고 있으며 이 틈을 중국산 표고가 급격히 파고들고 있다.

표고버섯 톱밥재배는 원목재배에 비해 초기 투자비용이 많지만, 자원, 노동력 및 재배 공간의 절약이 가능하고, 재배기간이 짧아 자본회수가 용이하며, 계획생산 및 출하가 가능하다는 점 등의 장점이 있다. 표고버섯 주요 생산국인 중국은 약 95%, 일본도 82% 이상 톱밥재배 방식으로 생산하고 있는 것으로 알려져 있으며, 우리나라도 10여년 전부터 톱밥재배 방식으로 전환하고 있다.

우리나라는 2002년에 국제식물신품종보호동맹(UPOV)에 50번째로 정식 가입하였으며, 2008년부터는 표고버섯이 “종자산업법”에 의거한 품종보호 대상 작물로 지정되었고, 2008년부터 UPOV 협약에 의해 외국품종 재배 시 많은 로열티를 지불해야 한다. 안타깝게도 국내에 유통되는 표고버섯 원목재배용 품종은 외국에서 수입한 미등록종균이 60%이상이며 톱밥재배용은 100%로 추정하고 있다. UPOV 협약이 발효되면서 국내에서 육성된 20여 품종이 품종보호를 출원한 상황이나, 농가에서 재배하는 품종은 3~4개에 집중되어 있다. 2005년 기준으로 일본은 153개의 표고 품종이 품종보호출원이 되어 있으며 우리나라에서 육성된 품종은 대부분이 일본 품종과 매우 유사하여 국제분쟁의 소지가 많다.

재배방법 또한 톱밥재배 방법으로 개발 보급된 공식적인 한국형 재배기술이 없이, 대만식(원통형배지 상면발생 지면재배법), 중국식(막대형배지 균상재배법) 및 일본식(블록형배지 측상면 균상재배법) 등이 혼재하여 개별 표고농가 또는 작목반을 중심으로 자체 재배기술을 연구, 재배하고 있는 실정이다.

식용버섯은 독특한 질감과 향으로 인해 많은 나라에서 다양하게 이용되고 있다. 또한 식용버섯들은 건강에 도움을 주는 물질들이 과학적으로 증명되면서 과거 10여년 동안 세계적으로 소비가 증가하고 있다. 특히 많은 의학적 연구는 기능성 식품으로의 가능성에 큰 관심을 가지게 하였다. 그렇지만 버섯을 여러 가지 식품에 적용한 예는 매우 제한적이다. 전통적으로 버섯은 주로 생물이나 건조분말을 양념에 첨가하는 형태로 소비 되어왔고, 냉동이나 통조림 등은 소규모의 가공시장을 형성하였다.

게다가 식품학적 측면에서 버섯의 연구는 요리 시 이들이 가지고 있는 영양학적 가치나 수확 후 버섯의 오랜 저장 기간이 주된 관심사였다. 식품학적 연구의 예로서 잎새버섯과 표고버섯 가루를 빵의 제조에 활용하거나 상황버섯 가루를 라면의 제조에 활용한 사례가 있으나 버섯 가루를 튀김 음식에 적용한 예는 없는 것으로 조사되었다.

뿐만 아니라, 생버섯 시장에서는 주로 버섯의 외관상 형태, 모양이나 크기, 신선도가 판매의 주된 요인으로 작용하며, 영양학적이나 기능적 측면에서 아무런 차이가 없지만 단지 이들의 조건에 부합되면 판매도 어려워지고 가격도 낮아진다. 그래서 이러한 저등급 부산물들은 요리에 맛과 향을 더하는 용도로 사용되어진다.

식품조리 공정에는 다양한 방법이 있겠지만 유탕처리방법은 식품조리 공정 중 예술(art) 이라고 불리며(Getz, 2004), 전 세계적으로 2천만 톤의 식용유지가 생산될 정도로 가정에서 뿐 아니라 요식업, 식품 산업에서 널리 사용되고 있는 방법이다. 유탕처리 방법은 고온(150℃~200℃)의 식용유지에 식품을 넣어 조리하는 전통적인 식품 조리 방법 중 하나이다. 그러나 유탕처리 식품은 다량의 지방을 함유한 대표적인 식품군으로 심지어 총 중량의 50%에 해당하는 높은 지방을 함유하고 있으며 특히, 스낵, 라면 등의 유탕식품은 어린이등의 취약집단이 즐겨 먹는 가공식품류이기에 그 심각성은 매우 크다고 할 수 있다. 이에 따라, 2007년 12월부터 영양성분 표시가 강화되어 총 지방, 트랜스지방 및 포화지방 함량을 의무적으로 표시해야 하므로 유탕 식품의 흡유 저감화를 위한 국가적 차원의 정책 방안 수립 및 국민의 지방 섭취를 줄이기 위한 다각적인 연구가 시급한 상황이지만 아직까지 유탕처리 중 흡유를 저감화하기 위한 연구는 미미한 실정이며 최근에 이르러서야 활발한 연구가 이루어지고 있지만 아직 초기단계이다. 2007년 대두피를 이용하여 튀김용 액상 반죽의 지방 함량을 줄인 연구와 공기분사장치를 이용하여 공기를 분사시켜 지방을 감소시킨 라면제조 등 몇 가지 연구만이 보고되고 있을 뿐이다.

다량의 지방을 함유한 유탕처리 식품의 흡유 저감화 연구는 흡유를 저감화하기 위한 방법으로 water replacement 기작에 중점을 둔 식품기질의 물성학적 성질을 개량하는 접근방법이 시도되고 있고, 최근 흡유 저감화 연구를 살펴보더라도 다양한 친수성 hydrocolloid들이 사용되고 있다. 따라서, 참송이버섯에 함유된 친수성 hydrocolloid인 베타글루칸을 이용하여 유탕면류에 적용시킬 수 있다면, 흡유 저감효과, 생리활성 물질인 베타글루칸 함유, 버섯 부산물의 이용 등에 따른 다양한 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

이상과 같이 본 연구에서는 현재 어려움을 겪고 있는 국내 버섯 산업의 활성화와 UPOV의 적극적인 대응 방안으로 1) 참송이버섯의 생산성 향상을 위한 배양조건을 확립하고, 2) 버섯의 저장성, 영양학적 특성 및 생리활성을 평가하며, 3) 생버섯, 건조버섯, 단순 조미료 첨가제로만 판매되고 있는 현재의 가공품과는 차별화된 고부가가치 기능성 식품소재로 및 고품질화 제품 개발을 통해 버섯 제품의 고부가가치를 창출하여 버섯농가의 안정적인 소득확보 및 수출상품을 확보하는데 그 목적이 있다.

제 2 절 연구개발의 내용 및 범위

1. 고품질화 참송이버섯 액체종균 개발 및 생산성 향상

기존 톱밥종균과의 비교를 통한 우수 액체종균 제조 및 고품질 참송이버섯의 배양조건을 최적화하며, 생산된 참송이버섯의 형태학적, 이화학적, 식품학적 특성 분석을 통하여 품질유지에 필요한 저장 조건을 확립하고, 참송이버섯(저등급/부산물)으로부터 수용성 베타글루칸 추출법을 확립함.

2. 참송이버섯 부산물을 이용한 고부가 가공 식품 개발

참송이버섯(저등급/부산물)을 이용하여 천연공법을 통한 베타글루칸 함량이 강화된 기능성 소재 및 고부가 제품(유탕면류/주류)을 개발함. 물리적/효소적 복합처리공정을 통한 베타글루칸 강화 분말을 제조하고, 유탕처리 공정에서 흡유 저감화 소재로의 가능성을 평가함으로써 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 이용한 흡유 저감 유탕면류를 개발하며, 참송이버섯 부산물의 발효특성 조사 및 베타글루칸이 첨가된 주류의 생리활성 및 식품학적 특성분석을 통하여 고품질 주류 제조법을 확립함.

제 3 절 연구개발의 목표

1. 최종 목표

본 연구의 최종 목표는 고기능성 생리활성 성분이 다량 함유된 참송이버섯의 품질 및 생산성을 향상시킬 수 있는 배양조건을 확립하고, 참송이버섯(저등급/부산물)으로부터 베타글루칸을 추출하기 위한 공정을 최적화하며, 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 가공적성을 평가하여 고기능성 식품(흡유 저감화 유탕면류, 고품질화 주류)을 개발하고자 함.

2. 세부 목표

1차년도: 참송이버섯의 품질 및 생산성 개선을 위하여 우수 액체종균 제조 및 배양조건을 최적화하며, 참송이버섯(저등급/부산물)의 생리활성 및 발효특성을 평가하고, 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 제조를 위한 천연 가공 공정을 확립함.

2차년도: 참송이버섯의 품질에 영향을 주는 요인과 저장 중 특성변화를 분석함으로써 저장조건을 최적화하고, 고품질화 주류제조를 위한 참송이버섯(저등급/부산물)의 발효조건을 확립하며, 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 가공적성을 조사함으로써 흡유 저감화 소재로의 응용 가능성을 평가함.

3차년도: 고품질 참송이버섯의 대량 생산 공정을 최적화하고, 참송이버섯(저등급/부산물)을 이용한 흡유 저감화 유탕면류 및 기능성 주류 제조법을 확립하고, 이러한 고부가가치 가공제품의 생리활성 및 식품학적 특성을 평가함.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

표고버섯 재배가 10여년 전부터 톱밥재배 방식으로 전환되고 있지만 최근 산림버섯연구소 국립산림과학원에서 몇 품종 외에는 공식적으로 재배기술이 확립되어 보급되는 공식균주는 없는 것이 사실이며, 원목을 이용한 표고버섯의 재배방법 및 성형종균 등의 개발은 활발히 이루어져 왔음. 톱밥재배의 경우 농가부산물을 배지에 첨가하여 생산성을 향상시키는 방법, 배지제조(원통형, 블록형, 막대기형) 방법 및 재배법(지면재배법, 균상재배법, 측상면 균상재배법) 등의 기술이 대만, 중국, 일본에 보고됨.

버섯으로부터 베타글루칸을 고수율로 추출 분리하는 방법은 여러 가지 특허로 보고되고 있음. 즉, 초음파로 자실체를 분해하고 고압열수로 세포벽을 분쇄한 후 효소 처리하여 추출수율을 향상시키는 방법(특허출원 10-2003-0028783), 분쇄버섯분말을 구연산을 함유한 열수로 추출하여 다당체를 추출 분리하는 방법(특허출원 10-2003-0036895) 등이 보고됨.

버섯의 생리활성 연구는 주로 일본을 중심으로 한국, 중국 등에서 항암(Ye et al., 2007), 면역증진(Kim et al., 2007), 항산화(Rout & Banerjee, 2007), 항균(Han et al., 2008), 콜레스테롤 저하(Bobek et al., 1998), 항당뇨(Lo et al., 2006) 등의 효능검증 및 이의 기능성분 규명(주로 β-glucan류)(Pramanik et al., 2007)으로 이루어져 왔음. 버섯의 생리활성은 기능성분인 다당체(단백다당체 포함)의 구조와 연관성을 보임(Misaki et al., 1981). 단백질이나 핵산과 달리 다당체의 구조적 다양성은 생리활성 발현과 세포 내 활성기전을 조절함. 따라서 다당체의 구조변형은 용해도 향상, 기능기 부여 및 생리활성 증가 등의 유용성을 증진시킬 수 있음(Zhang et al., 2007).

버섯을 이용한 제품화 연구는 버섯분말 및 추출물을 국수(성 등, 2008; 김 등, 2005a), 라면(김 등, 2005b), 증편(고 등, 2007), 전병(박 & 나, 2007), 된장(최 등, 2006), sponge cake(이 등, 2007) 및 버섯 추출물을 함유한 복분자주의 향기성분 비교(신 등, 2006) 등으로 단순한 첨가에 따른 품질변화 및 관능적 특성을 분석한 것으로 국한됨.

이상과 같이, 본 연구에서는 기존 국내의 취약 연구 분야인 버섯재배 및 품종개량 분야의 활성화와 단순한 첨가에 따른 품질변화 분석이 아닌 과학적인 원리에 근거한 고품질화 기능성 가공식품 개발을 이루고자 하였음.

<table>
<tr><th>분야</th><th>선행 국내외 연구</th><th>본 연구의 방향</th><th>비고</th></tr>
<tr><td>버섯
재배</td><td>• 표고버섯의 대량재배는 골목재배에 의존
• 최근 톱밥재배로 전환하고 있지만 적합한 품종 개발이 과제로 남음</td><td>• 참송이버섯의 생리적 특성을 분석, 고품질의 버섯 생산 및 대량생산의 기초자료 확립
• 이화학적, 식품학적 특성연구
• 베타글루칸 추출법 확립</td><td rowspan="2">• 신품종 표고버섯의 연구

• 저등급 버섯 및 부산물의 이용성 향상

• 버섯 가공제품의 다양화

• 버섯의 다기능성 소재화</td></tr>
<tr><td>제품
개발</td><td>• 버섯분말 및 추출물을 이용한 국수, 증편, 된장, 케익 제조
• 버섯 균사체를 활용한 주류 개발 등 버섯분말 및 추출액의 단순 첨가에 따른 품질특성 분석에 국한
• 미생물학적 관점에서 버섯의 균사체를 이용하는 연구에 치중</td><td>• 버섯을 이용한 흡유 저감화 소재 개발
• 버섯의 생리활성 물질인 베타글루칸이 강화된 면류제조
• 버섯 부산물 및 추출액을 발효에 이용하고, 베타글루칸 첨가에 따른 기능성 향상된 고부가 주류 개발</td></tr>
</table>

제 3 장　연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 고품질화 참송이버섯 액체종균개발 및 생산성 비교

1. 참송이버섯 균사체 액체 배양조건 확립 및 생산성 비교

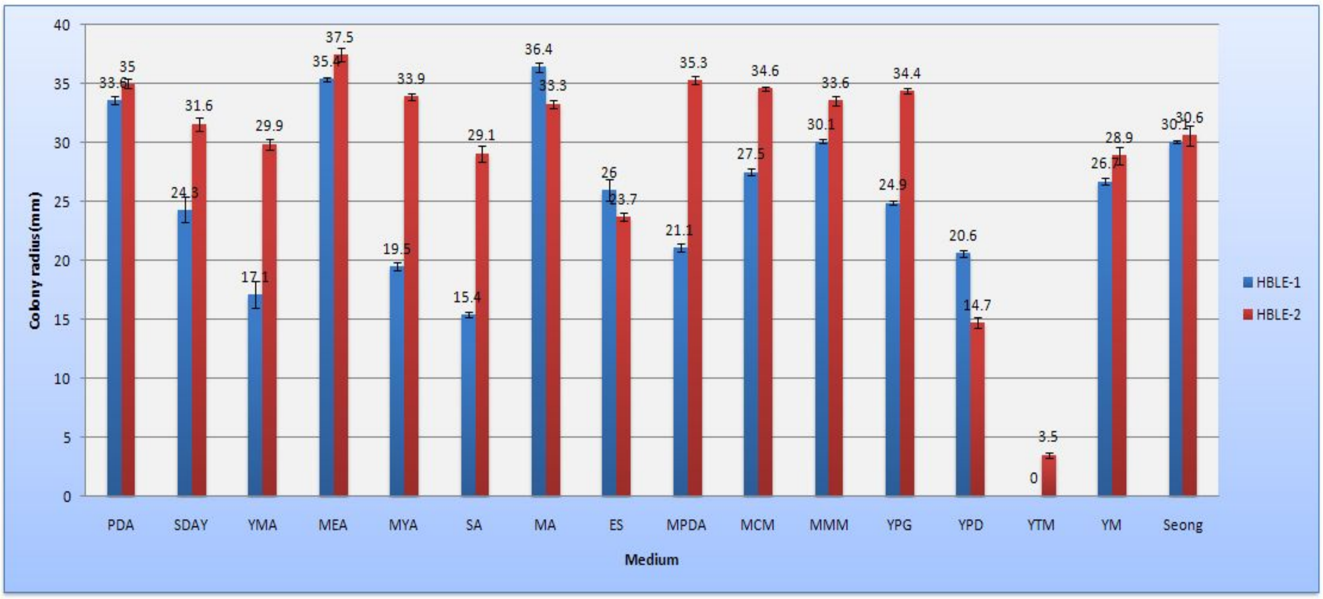
가. 균사체 액체 배양을 위한 생리적 특성 조사

(1) HBLE-1(참송이버섯), HBLE-2(재래종 표고버섯)의 배양적 특성 조사

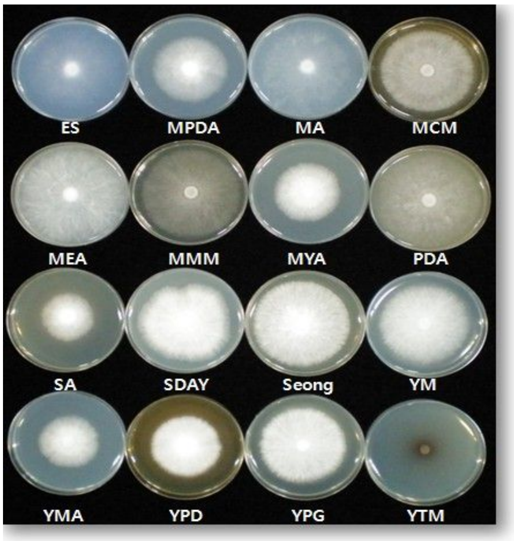
(가) HBLE-1과 HBLE-2 균주에 따른 최적 복합배지 조사

○ HBLE-1과 HBLE-2 두 균주에 따른 적정배지를 선발하기 위하여 PDA(potato dextrose agar; Difco Co.)를 비롯한 16종의 복합배지를 이용. 각각의 배지는 121℃에서 20분간 멸균한 후 90 ㎜ Petri dish에 분주하여 조제하였으며 PDA배지에서 10일간 배양된 균주의 균사선단 부분을 8 ㎜ cork borer로 균총을 떼어내어 접종. 접종된 배지는 25℃의 incubator에서 20일간 배양한 후 균사의 직경과 균사배양 밀도를 5반복 측정함.

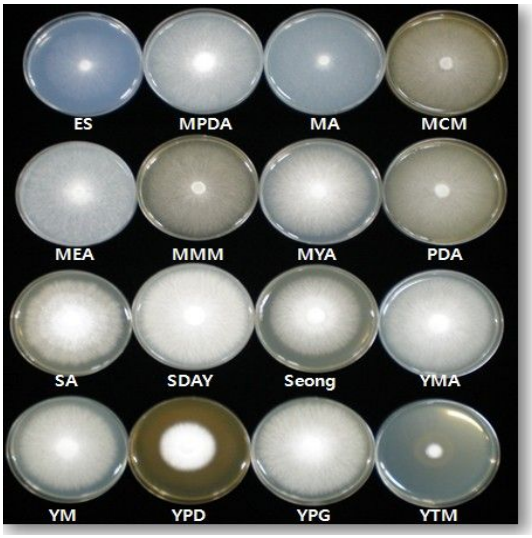
○ HBLE-1은 MA, MEA, PDA배지에서 우수한 균사 생장을 보였고, HBLE-2는 MEA, PDA, MPDA에서 우수한 균사 생장을 보임. MA배지의 경우 균사체가 자란 반경은 크지만, 균사배양 밀도가 매우 작음을 관찰할 수 있었음.



* PDA, potato dextrose agar; SDAY, Sabounrand's dextrose agar yeast extract; YMA, yeast extract malt extract agar; MEA, malt extract agar; MYA, malt extract yeast agar; SA, Sabounrand's agar; MA, maltose agar; ES, ebiose medium; MPDA, Martin's peptone dextrose medium; MCM, mushroom complete medium; MMM, mushroom minimal medium; YPG, yeast extract peptone glucose medium; YPD, yeast extract peptone dextrose medium; YTM, yeast trypeptone medium; YM, yeast extract glucose medium; Seong, Seong's medium.



<HBLE-1>



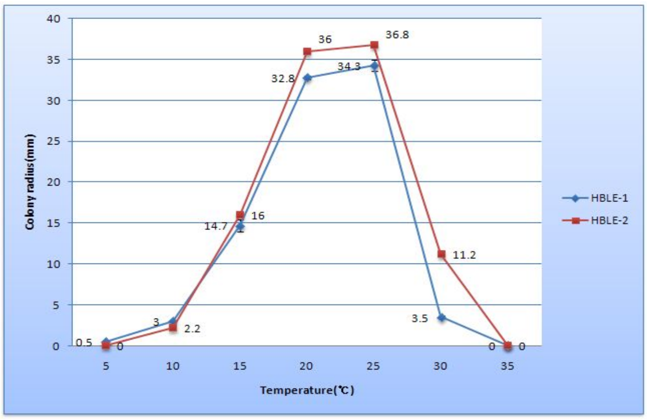
<HBLE-2>

(나) HBLE-1과 HBLE-2 균주에 따른 최적 온도 조사

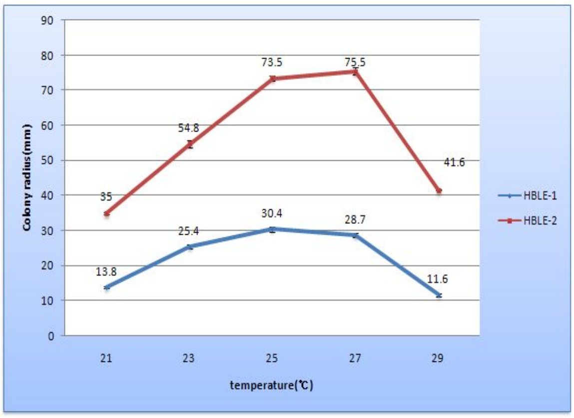
○ HBLE-1과 HBLE-2 균주에 따른 균사성장에 적합한 온도를 선발하기 위하여 PDA배지를 멸균하여 90 ㎜ Petri dish에 분주한 후, PDA배지에서 배양된 균주의 균사선단 부분을 8 ㎜ cork borer로 균총을 떼어내어 접종. 접종된 배지는 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35℃까지 5℃간격으로 온도를 조절하여 incubator에 10일간 배양함.

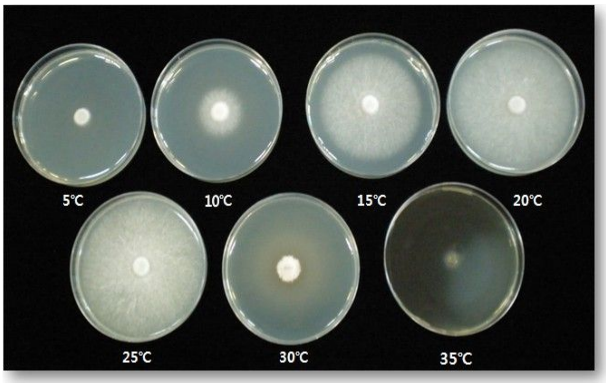
○ 두 균주 모두 20℃~25℃의 온도에서 36.8 mm, 34.3 mm로 균사 생장이 가장 우수하였고, 5℃와 35℃에서는 생장을 거의 하지 못하였음. 균사 생장이 우수한 온도의 범위를 확인한 후 세부적인 온도 조사를 위해 21, 23, 25, 27, 29℃로 온도를 세분화하여 incubator에 다시 반복 배양함. 그 결과 HBLE-1은 25℃에서 HBLE-2는 27℃에서 균사 생장이 가장 우수함을 알 수 있었음.

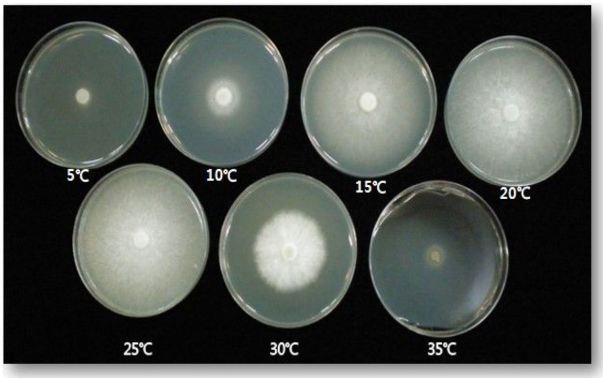
<적정온도>



<세부온도>

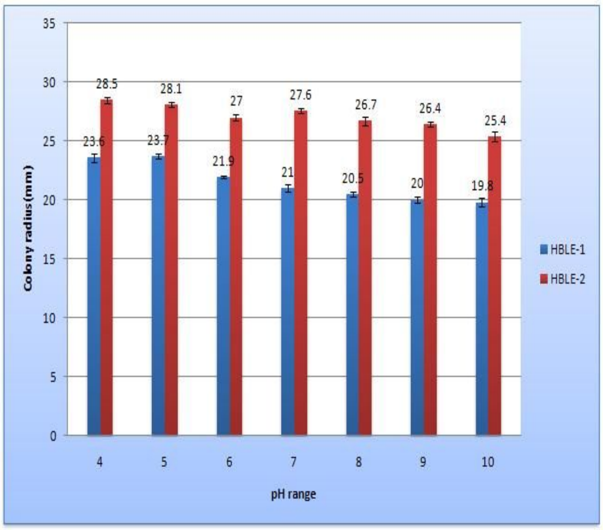






(다) HBLE-1과 HBLE-2 균주에 따른 최적 pH 조사

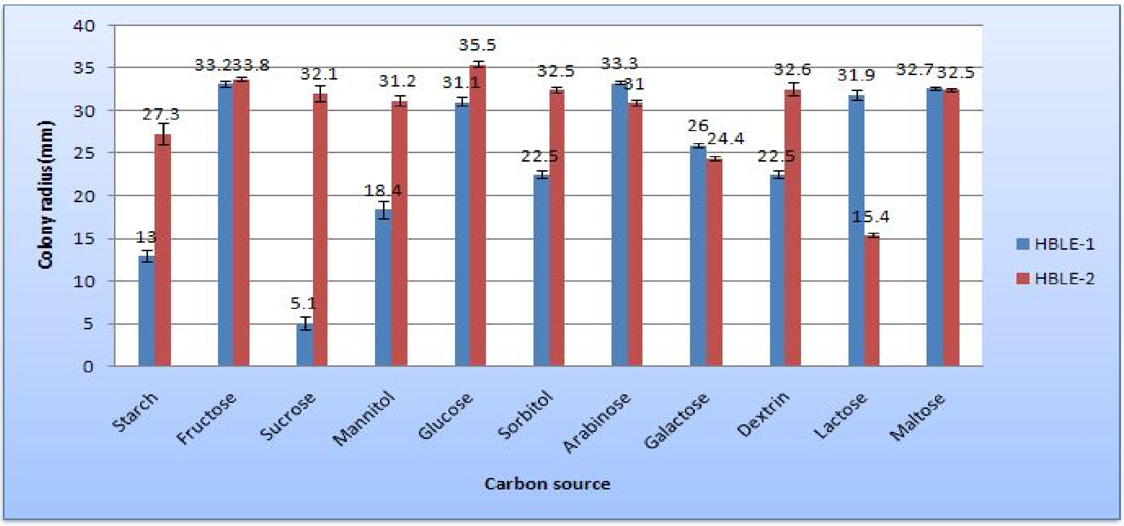
○ HBLE-1과 HBLE-2 두 균주에 따른 적정 pH를 선발하기 위하여 0.1N HCl과 0.1N NaOH로 조절된 MPDA(Martin's peptone dextrose medium; Dextrose 1%, Peptone 0.5%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, KH_2PO_4 0.1%, Agar 2%)배지를 멸균하여 90 ㎜ Petri dish에 분주한 후, PDA배지에서 배양된 균주의 균사선단 부분을 8 ㎜ cork borer로 균총을 떼어내어 접종. 접종된 배지는 pH 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10까지 pH 1 간격으로 제조되었으며 25℃의 incubator에서 20일간 배양한 후 균사의 직경과 균사배양 밀도를 5반복 측정함. 그 결과, pH 4~5에서 우수한 균사 생장을 보였음.



(라) HBLE-1, HBLE-2 균주에 따른 적정 탄소원 조사

○ HBLE-1과 HBLE-2 두 균주에 대한 적정 탄소원을 선발하기 위하여 Czapek-dox (Sucrose 3%, $NaNO_3$ 0.3%, K_2HPO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, KCl 0.05%, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001%, Agar 1.5%; 단, 본 실험에서는 Sucrose가 탄소원이기 때문에 제외시킴) 배지를 기본배지로 하여 starch, D(-)fructose, sucrose, D(-)mannitol, D(+)glucose, D(-)sorbitol, L(+)arabinose, galactose, dextrin, lactose, D(+)maltose의 농도를 100 mM로 조절하여 각 배지를 조제. PDA배지에서 배양된 2가지 균주의 균사선단 부분을 8 ㎜ cork borer로 균총을 떼어내어 접종한 후 20℃의 incubator에서 20일간 배양, 균사의 직경과 균사배양 밀도를 5반복 측정함.

○ 두 균주 모두 fructose, arabinose, maltose에서 우수한 균사 생장을 보였고, HBLE-1은 arabinose에서 HBLE-2는 glucose에서 가장 우수함. 하지만 HBLE-1은 sucrose에서 HBLE-2는 lactose에서 균사 생장이 좋지 않았음.

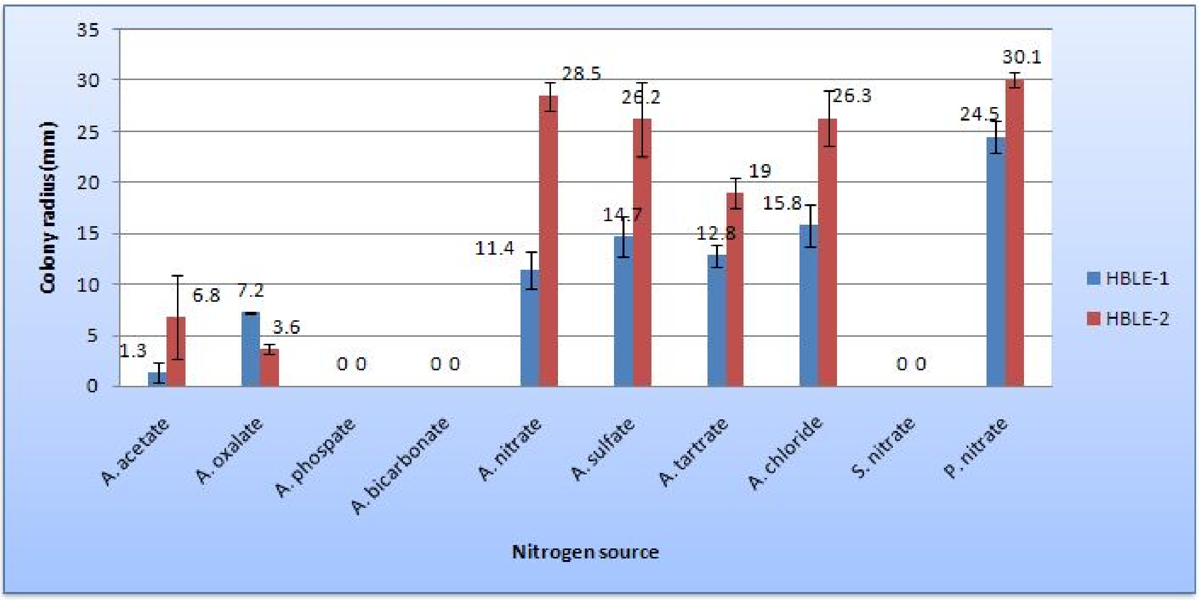


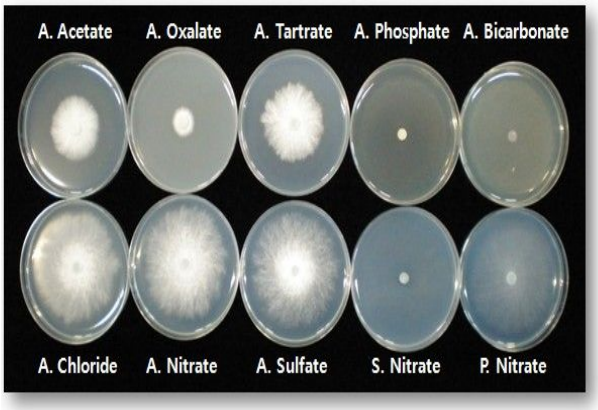
<HBLE-1> <HBLE-2>

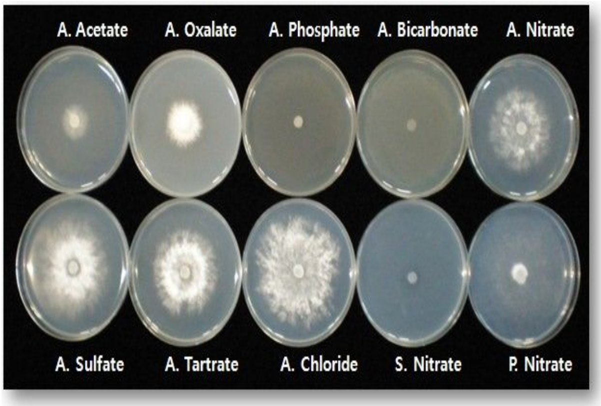
(마) HBLE-1, HBLE-2 균주에 따른 적정 질소원 조사.

○ HBLE-1과 HBLE-2 두 균주에 대한 적정질소원을 선발하기 위하여 Czapek-dox (본 실험에서는 질소원이 되는 $NaNO_3$를 제외시킴) 배지를 기본배지로 하여 ammonium acetate, ammonium oxalate, ammonium phosphate, ammonium bicarbonate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, ammonium tartrate, ammonium chloride, sodium nitrate, potassium nitrate를 20 mM로 조절하여 각 배지를 조제. PDA배지에서 배양된 2가지 균주의 균사선단 부분을 8 ㎜ cork borer로 균총을 떼어내어 접종한 후 20℃의 incubator에서 20일간 배양, 균사의 직경과 균사배양 밀도를 5반복 측정함.

○ HBLE-1과 HBLE-2는 potasium nitrate에서 우수한 균사생장을 보였지만, 낮은 밀도로 균사가 성장함. 높은 밀집도를 보인 것은 ammonium tartrate, ammonium chloride, ammonium nitrate, ammonium sulfate였고, 그 중 가장 우수한 균사생장을 보인 것은 HBLE-1은 ammonium clroride, HBLE-2는 ammonium nitrate로 분석됨. 하지만 질소원을 포함시킨 모든 배지에서 HBLE-1과 HBLE-2는 타 실험배지에 비해 생장속도가 늦었음.





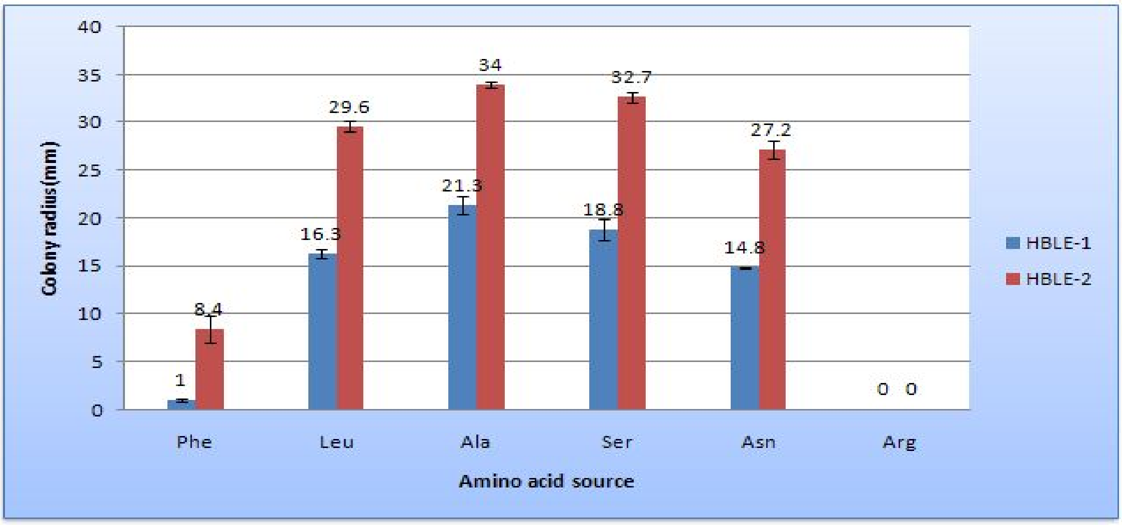


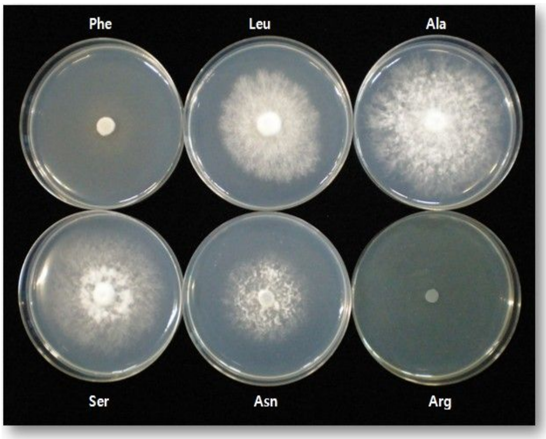
<HBLE-1> <HBLE-2>

(바) HBLE-1, HBLE-2 균주에 따른 적정 Amino acid 조사

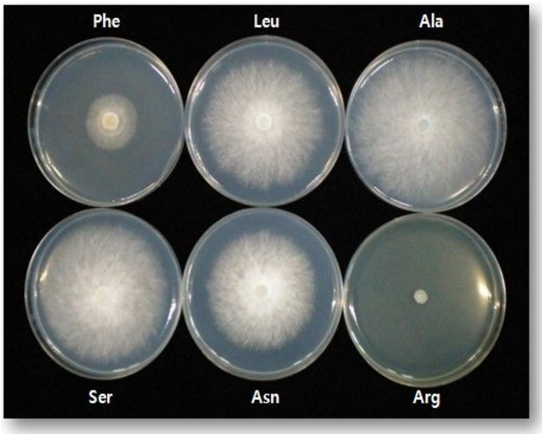
○ HBLE-1과 HBLE-2 두 균주에 대한 적정 amino acid를 선발하기 위하여 Czapek-dox 배지를 기본배지로 하여 Phe, Leu, Ala, Ser, Asn, Arg을 20 mM로 조절하여 각 배지를 조제. PDA배지에서 배양된 7가지 균주의 균사선단 부분을 8 ㎜ cork borer로 균총을 떼어내어 접종한 후 20℃의 incubator에서 20일간 배양, 균사의 직경과 균사배양 밀도를 5반복 측정.

○ HBLE-1과 HBLE-2의 균사생장에 적합한 amino acid로는 HBLE-1과 HBLE-2 모두 alanine과 serine에서 균사생장이 빠르게 이루어졌으나, 두 균주 모두 phenylalanine에서는 균사생장이 좋지 않았고, arginine에서는 균사가 생장하지 못하였음.





<HBLE-1>



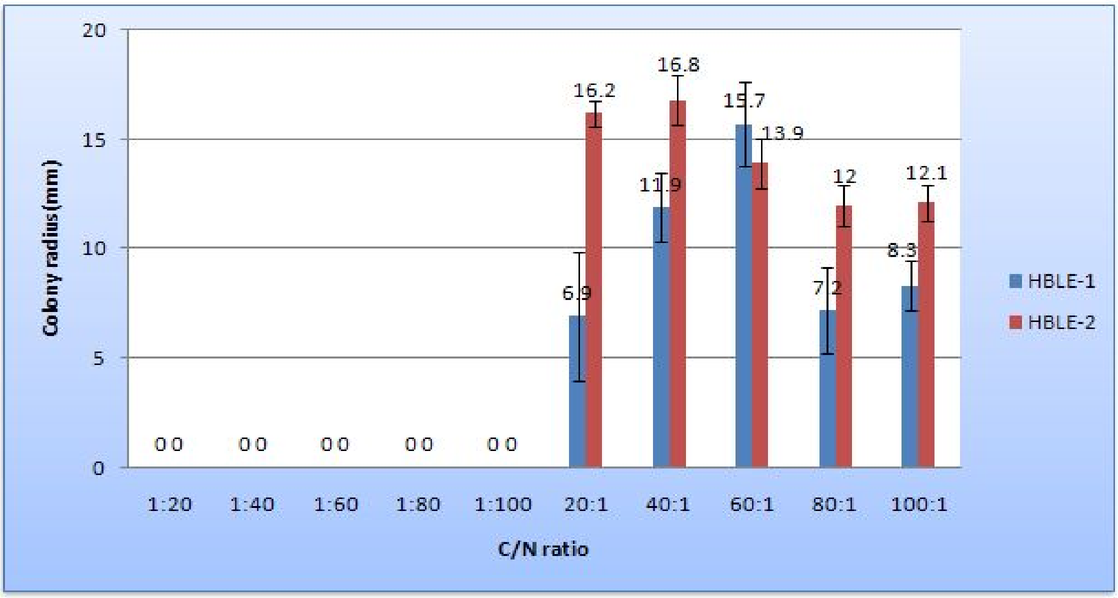
<HBLE-2>

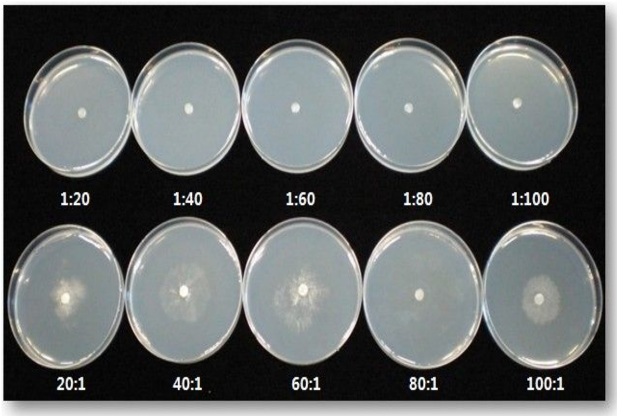
(사) HBLE-1, HBLE-2 균주에 따른 적정 C/N 조사

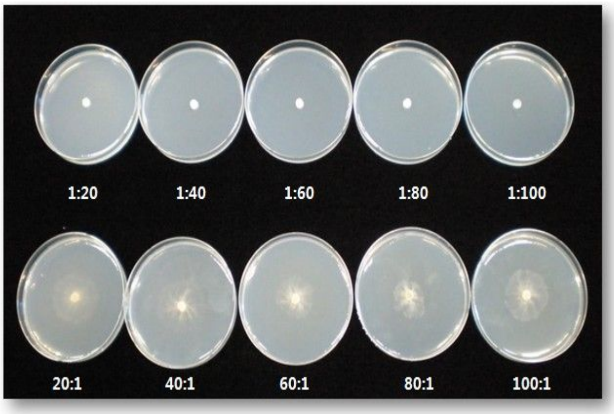
○ HBLE-1과 HBLE-2의 균사생장에 적합한 탄소원과 질소원의 비율을 선발하기 위하여 Czapek-dox배지를 기본배지로 하여 탄소원으로는 glucose와 질소원으로는 $NaNO_2$를 이용하여 C/N비를 1:20, 1:40, 1:60, 1:80, 1:100, 20:1, 40:1, 60:1, 80:1, 100:1로 조절하여 배지를 조제함. PDA배지에서 배양된 2가지 균주의 균사선단 부

분을 8 ㎜ cork borer로 균총을 떼어내어 접종한 후 20℃의 incubator에서 20일간 배양, 균사의 직경과 균사배양 밀도를 5반복 측정함.

○ 탄소의 양을 고정시키고 질소의 양을 조절하여 실험한 C/N비가 1:20에서부터 1:100까지는 균주들이 모두 자라지 못하였고, 질소의 양을 고정시키고 탄소의 양을 조절하여 실험한 C/N비가 20:1에서부터 100:1까지에서 HBLE-1은 60:1에서, HBLE-2는 40:1에서 균사생장이 양호하였음.







<HBLE-1> <HBLE-2>

나. 최적의 균사체 액체 배양 기술 확립

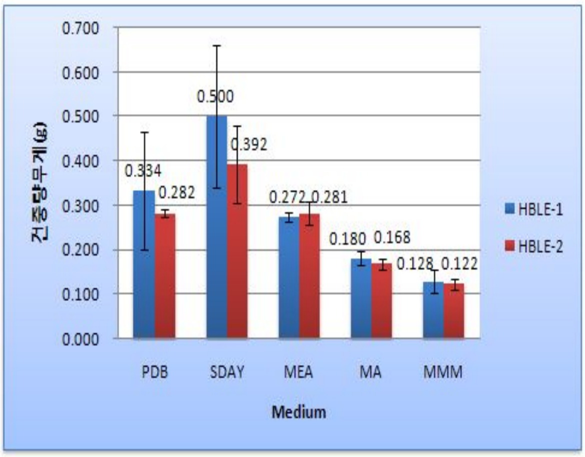
(1) 액체종균 배양 및 균사체 건중량 측정

○ 복합배지 중에서 균사생장이 우수했던 배지인 SDAY, MMM, MEA, PDB, MA 5종을 선발하여 멸균 전 pH를 4~5로 조정한 후 250 ml 삼각플라스크에 100 ml씩 분주한 후 균사(직경 8 mm)를 접종함. 25℃ 진탕배양기에서 15일 동안 배양한 후 filter paper로 여과하여 균사체를 수확한 다음, 80℃ dry oven에서 24시간 동안 건조시킨 후 각각의 균사체 무게를 측정함.

○ 균사체 건중량이 가장 높은 SDAY를 액체배양용 배지로 선정하여 농가에서 쉽게 구입할 수 있는 생수통(18리터)과 관상어용 전기기포 발생기, 실리콘 튜브 등을 이용하여 톱밥 재배용 배지에 접종할 액체종균을 제조함. 또한 액체종균의 접종량을 결정하기 위하여 50 g 톱밥배지를 시험관에 넣어 살균한 후 액체종균을 각각 1, 2, 3, 4 ml, 톱밥종균을 각각 1, 2, 3, 4 g씩 접종하여 톱밥종균과의 균사생장 속도비교를 통하여 접종량을 결정함.

○ 균사생장이 가장 우수한 액체종균 4 ml, 톱밥종균 4 g을 기준으로 버섯재배용 1 kg 톱밥배지에 접종 시 접종량으로 환산하여 액체종균은 50~80 ml, 톱밥종균은 50~80 g을 접종함.

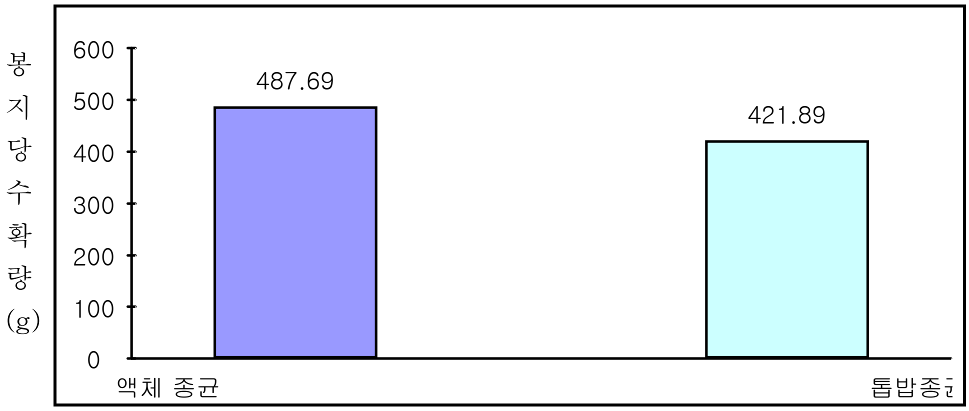
○ 액체종균과 톱밥종균의 생산성을 비교하기 위하여 1 kg 톱밥배지 108봉씩을 제조하여 액체종균 50~80 ml, 톱밥종균 50~80 g을 접종한 후 25℃에서 4개월간 배양함. 배양이 완료된 시점에서 봉지를 제거하고 생육을 시작하여 수확한 버섯의 무게를 측정하여 생산량을 비교한 결과, 총생산량을 봉지당 수확량으로 나누었을 때 액체종균이 약 6.5% 증수된 효과를 보였음.



<HBLE-1>

<HBLE-2>

	톱밥종균				액체종균			
접종량	1 g	2 g	3 g	4 g	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml
균사생장(mm)	71.1	80	84	85.2	70.3	79.9	78.2	94.7



다. HBLE-1 과 HBLE-2의 비교

○ HBLE-1과 HBLE-2의 생산성을 비교하기 위하여 1 kg 톱밥배지 18봉씩 재배하여 버섯의 특징인 갓의 직경과 두께, 대길이, 생산량, 개체수, 개체량 및 건중량을 비교하여 각각의 특성을 조사한 결과, 갓의 직경은 HBLE-2가 크고, 갓의 두께와 대길이는 HBLE-1이 더 컸으며, 생산량은 HBLE-2가 조금 높았음.

	갓의 직경 (mm)	갓의 두께 (mm)	대길이 (mm)	생산량 (g)	개체수 (개)	개체량 (g)	건중량 (g)
HBLE-1	48.73	27.62	61.13	7,649.00	204.50	39.29	35.35
HBLE-2	68.74	16.71	49.29	7,577.23	239.67	31.80	25.11

라. 숙성도 조사

○ 톱밥배지의 숙성도 정도를 알아보기 위해 톱밥배지 각 120개에 종균을 접종하고 접종일로부터 15일 간격으로 배지의 무게를 측정. 15일부터 120일까지의 중량 변화를 측정한 결과, 첫 측정값보다 약 6% 중량이 감소함. 하지만 이러한 방법으로 숙성도를 조사한다는 것은 큰 의미가 없을 것으로 판단됨.

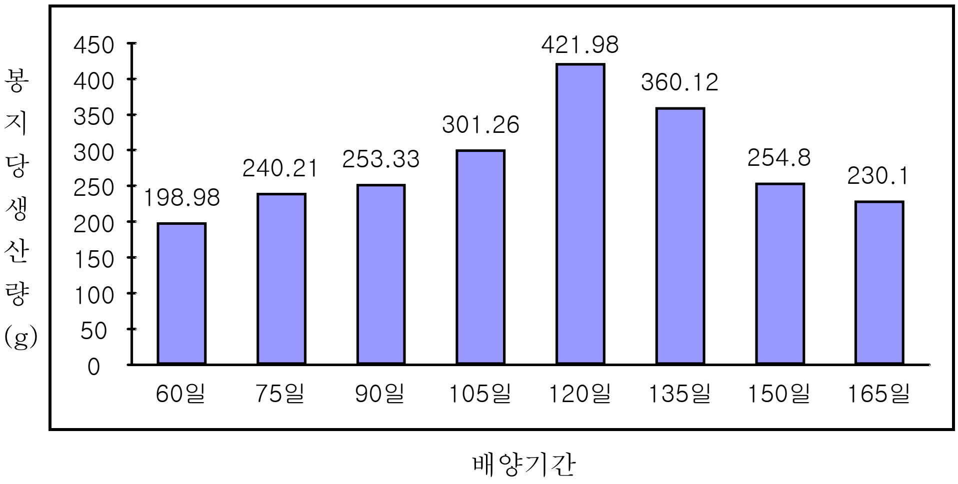
○ 따라서, 배양기간별로 버섯을 재배하여 그 중량을 비교함으로써 정확한 배양기간을 설정하고자 했음. 즉, 톱밥배지에 종균을 접종한 후 60부터 15일 간격으로 165일까지 배양하면서 생육을 조사한 결과, HBLE-1, HBLE-2 두 균주 모두 120일에서 버섯 생산량이 가장 높았기에 두 균주의 최적 균사배양 기간은 120일임을 확인함.

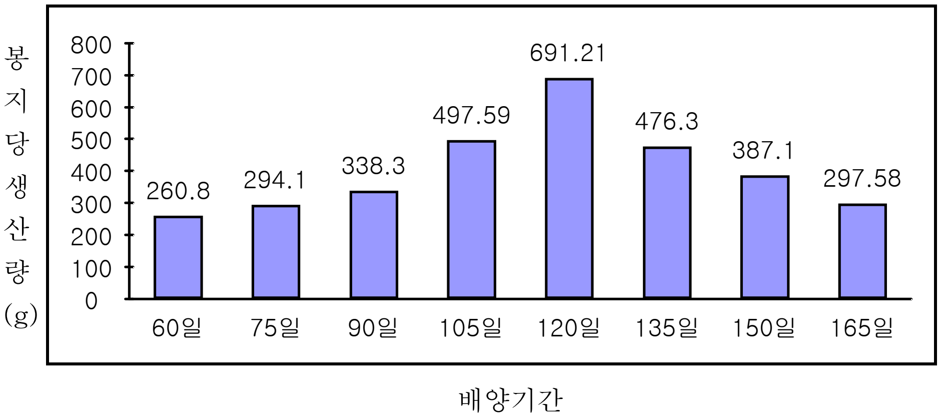
<HBLE-1>

배양기간	1~5번 Box(작은 Box)	6~10번 Box(큰 Box)
30일	59.0 kg	70.4 kg
45일	57.7 kg	69.3 kg
60일	57.6 kg	68.6 kg
75일	57.5 kg	68.6 kg
90일	56.7 kg	68.1 kg
105일	56.2 kg	67.6 kg
120일	55.7 kg	66.9 kg

<HBLE-2>

배양기간	박스크기(小)	박스크기(大)
30일	59.4 kg	69.7 kg
45일	58.3 kg	68.6 kg
60일	57.4 kg	67.8 kg
75일	57.3 kg	67.9 kg
90일	56.7 kg	66.6 kg
105일	56.2 kg	66.1 kg
120일	56.0 kg	65.7 kg





2. 참송이버섯의 특성 분석 및 베타글루칸 추출공정 확립

가. 참송이버섯의 특성분석

(1) 참송이버섯의 일반성분 분석

○ 재배 후 수확한 참송이버섯을 열풍건조기를 이용하여 건조시킨 후 건조된 참송이버섯 100 g에 함유된 단백질, 지방, 회분, 탄수화물, 나트륨, 인, 철, 칼슘, 칼륨, 티아민, 리보플라빈, 총 아스코르브산, 비타민D2, 비타민D2(IU), 비타민B, 식이섬유, 트리할로오스, 말티톨, 수분의 함량을 분석함.

(2) 참송이버섯의 에르고티오네인 분석

○ 버섯이 함유하고 있는 대표적인 항산화물질인 에르고티오네인의 함량을 조사한 결과, 81 mg/100 g으로 표고버섯(9.6~200 mg), 양송이버섯(55 mg), 닭의 간(14 mg)과 비교해도 상당히 많이 함유되어 있었음. 버섯류에는 밀의 싹보다 12배, 닭의 간보다는 4배나 많은 양의 에르고티오네인을 함유하고 있고, 일본 東医食治研 究會 다무라(田村哲彦)박사는 그의 논문 '신체의 산화를 예방하는 주목받는 식재료'에서 '에르고티오네인은 비타민E의 7000배라는 강력한 항산화작용이 있다'라는 결과를 발표함.

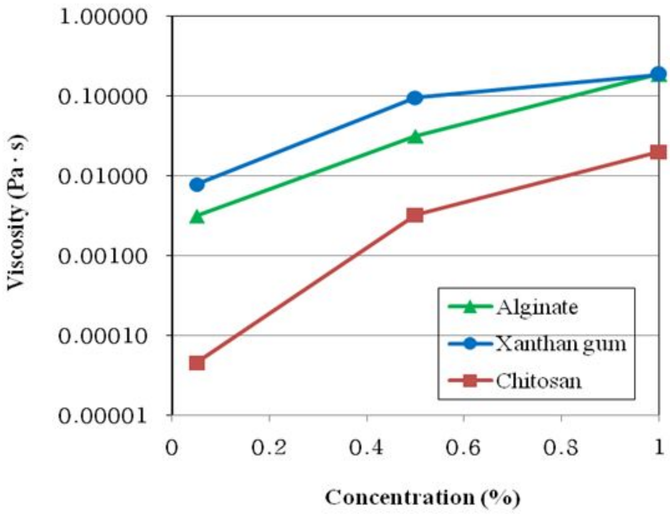
No.	Test Item	Results
1	Protein	16.4 g/100 g
2	Fat	1.8 g/100 g
3	Ash	4.6 g/100 g
4	Carbohydrates	68.3 g/100 g
5	Sodium	11.2 mg/100 g
6	Phosphorus	463 mg/100 g
7	Iron	8.43 mg/100 g
8	Calcium	18.7 mg/100g
9	Potassium	2.14 g/100 g
10	Thiamin	0.89 mg/100g
11	Riboflavin	1.02 mg/100g
12	Total ascorbic acid	not detected (LD 1 mg/100g)
13	Calciferol	4.8 ㎍/100 g
14	Calciferol (IU)	190 IU/100 g
15	Pantothenic acid	10.2 mg/100 g
16	Dietary fiber	39.7 g/100 g
17	Trehalose	1.93 g/100 g
18	Maltitol	not detected (LD 0.1 g/100 g)
19	Moisture	8.9 g/100 g

나. 참송이버섯의 저장성 연구

(1) 참송이버섯의 저장성 연구를 위한 코팅조건 결정

○ 코팅제로 사용한 alginate, xanthan gum, chitosan의 농도는 Rheometer(Rheostress RS1, Thermo Haake, Karsruhe, Germany)를 이용하여 측정한 점도를 기준으로 결정함. 즉, 0.05-1.0%로 제조한 용액에 대해 25℃에서 0.1-200/sec까지 전단속도를 변화시키면서 전단응력을 측정하였고, 0.47/sec의 전단속도에서 0.01 Pas의 점도를 보이는 농도를 처리 농도로 결정함.

○ 버섯의 코팅처리는 동일한 점도를 보이는 일정 농도(alginate, 0.3%; xanthan gum, 0.05%; chitosan, 0.8%(w/v))로 제조한 코팅용액을 스프레이를 이용하여 균일하게 코팅하여 12℃에서 6일간 저장하면서 2일 간격으로 시료를 취해 분석함. 또한, 우수한 저장성 연장 효과를 보인 chitosan에 대해서는 4, 12 및 25℃에서 저장하면서 온도에 따른 저장특성을 분석함.

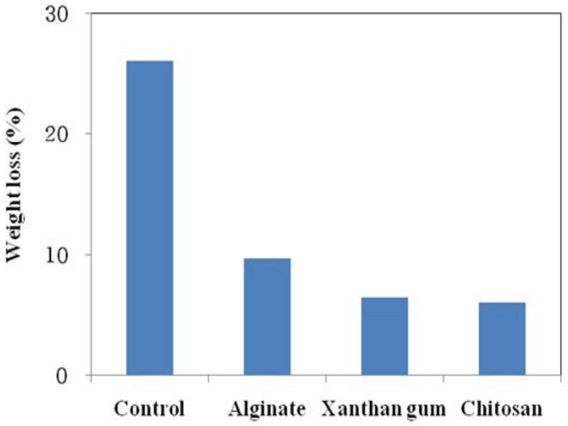


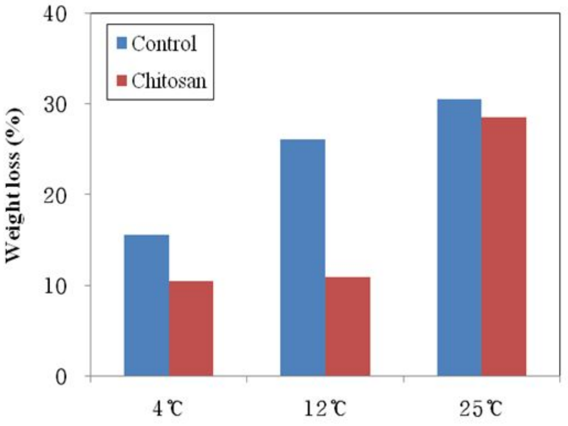
(2) 참송이버섯의 저장조건에 따른 중량감소율 변화

○ 참송이버섯의 저장 중 수분 손실 정도를 알아보기 위하여 수확 직후 얻어진 버섯 표면을 alginate, xanthan gum, chitosan 코팅 처리한 다음 12℃에서 6일 동안 저장 후 중량 감소율을 측정함. 온도에 따른 수분 손실 정도는 0.8% chitosan 용액을 선정하여 코팅처리 후 4, 12, 25℃에서 저장 후 품질 변화를 조사함.

○ 참송이버섯에 alginate, xanthan gum, chitosan을 처리한 경우 중량 감소율은 각각 10%, 7%, 6%로 처리하지 않은 대조군(26%)에 비해 중량 감소율이 저하됨. 특히 chitosan으로 코팅 처리한 경우 대조군과 비교하여 62%의 수분 손실 감소 효과가 나타남. 따라서 온도에 따른 수분 손실 정도를 알아보기 위하여 0.8% chitosan 용액을 선정하여 코팅처리 후 4, 12, 25℃에서 저장 후 품질 변화를 조사함. Chitosan 코팅은 4℃와 12℃에서 저장 시 6%의 중량 감소율을 보여 대조군(26%)보다 향상된 저장성을 보였으나, 25℃에서는 코팅 처리 효과를 보이지 않았음. 이상과 같이, 대조군에 비해 코팅 처리한 버섯의 중량감소율은 향상되었으나, 코팅처리물질과 저

장온도에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았음. 이상의 결과로부터 참송이버섯에 chitosan과 같은 코팅물질을 처리하는 것이 저장 시 버섯의 수분 손실을 방지하는 데 효과가 있음을 알 수 있었음.





(3) 참송이버섯의 저장조건에 따른 색도 변화

○ 저장 기간 중 색도 변화를 관찰하기 위하여 버섯 자루 부분의 절단면을 표준백판(L=92.30, a=0.19, b=1.92)으로 보정한 Chroma Meter(DP-400, Minolta Co., Osaka, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 명도(L)와 색도차(ΔE)로 나타냄. 각 처리구에서 시료 10개씩 취하여 3회 반복 측정한 후 최대값과 최소값을 제외한 8개의 측정치의 평균값을 결과로 사용함.

○ 저장기간 동안 무처리 버섯에 비하여 코팅 물질을 처리한 시료의 L값의 변화와 ΔE값의 증가 정도가 유의적으로 감소함($p<0.05$). 수확직후 측정한 버섯의 L값은 88.11이었으며 저장 6일이 되면서 무처리 버섯은 81.65로 감소한 반면, 코팅 처리한 버섯은 84.75-84.89의 범위로 유의적으로 높은 L값을 유지함. 또한 무처리군의 경우 저장 4일 이후부터 유의적으로 L값이 감소하였으나 xanthan gum과 chitosan을 처리한 경우에는 저장 6일까지 유지됨. 색도의 차이를 나타내는 ΔE는 저장 6일에 chitosan을 코팅 처리한 버섯에서 가장 낮은 값을 보임으로써 색도의 품질 유지 효과를 보임.

Color	Storage day	Control	Alginate	Xanthan gum	Chitosan
L	0	88.11	88.11	88.11	88.11
	2	86.04	86.99	85.02	87.23
	4	83.29	86.64	86.27	86.13
	6	81.65	84.75	84.81	84.89
ΔE	0	13.41	13.41	13.41	13.41
	2	16.05	14.32	15.98	14.25
	4	17.39	14.85	15.51	14.92
	6	19.57	17.31	17.38	16.95

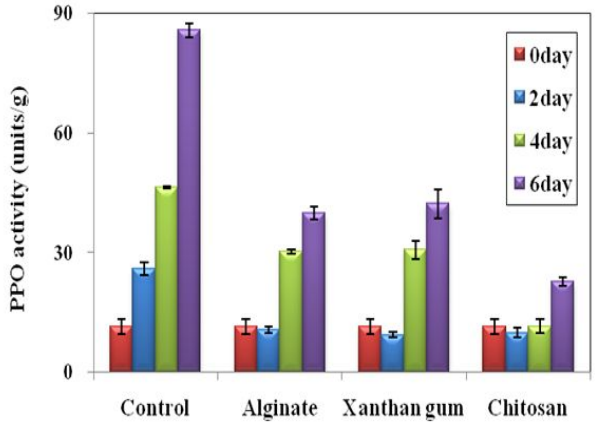
○ 버섯 저장에 대한 온도의 효과를 조사하고자 chitosan을 코팅제로 선정하여 처리한 후 4, 12, 25℃에서 저장기간에 따른 색도변화를 조사함. 모든 시료에서 저장 기간이 경과함에 따라 L값이 감소하고 ΔE값은 증가하였으며, 저장 온도가 상승할수록 변화폭은 높아지는 경향을 보임. 무처리 버섯의 경우 25℃에서 저장 시 4일 이후부터 현저하게 L값이 감소한 반면, chitosan 처리로 6일까지 색도가 유지됨. 한편, 저온(4℃와 12℃) 저장 경우에는 코팅 물질 처리 유무와 무관하게 저장 6일까지 색도를 유지하는 경향을 보임. ΔE값은 저장 일수의 경과에 따라 증가하는 경향을 보였으나, 저온 저장과 chitosan 처리에 의해 ΔE값이 감소함으로써 초기 저장 시의 버섯의 색도를 유지함. 따라서 저장 중 버섯의 갈변작용을 저해하기 위해서는 저온에서 저장하는 것이 필요하며, 상온 저장 조건에서는 코팅처리를 통하여 색도유지 기간을 연장할 수 있음을 알 수 있었음.

Color	Storage day	Control			Chitosan		
		4℃	12℃	25℃	4℃	12℃	25℃
L	0	88.11	88.11	88.11	88.11	88.11	88.11
	2	87.68	86.04	85.42	88.08	87.23	86.69
	4	86.11	83.29	79.58	86.42	86.13	83.54
	6	84.72	81.65	71.27	85.32	84.89	80.47
ΔE	0	13.41	13.41	13.41	13.41	13.41	13.41
	2	13.57	16.05	16.40	13.30	14.25	15.05
	4	15.28	17.39	22.56	14.66	14.92	18.21
	6	16.20	19.57	30.58	16.38	16.95	21.65

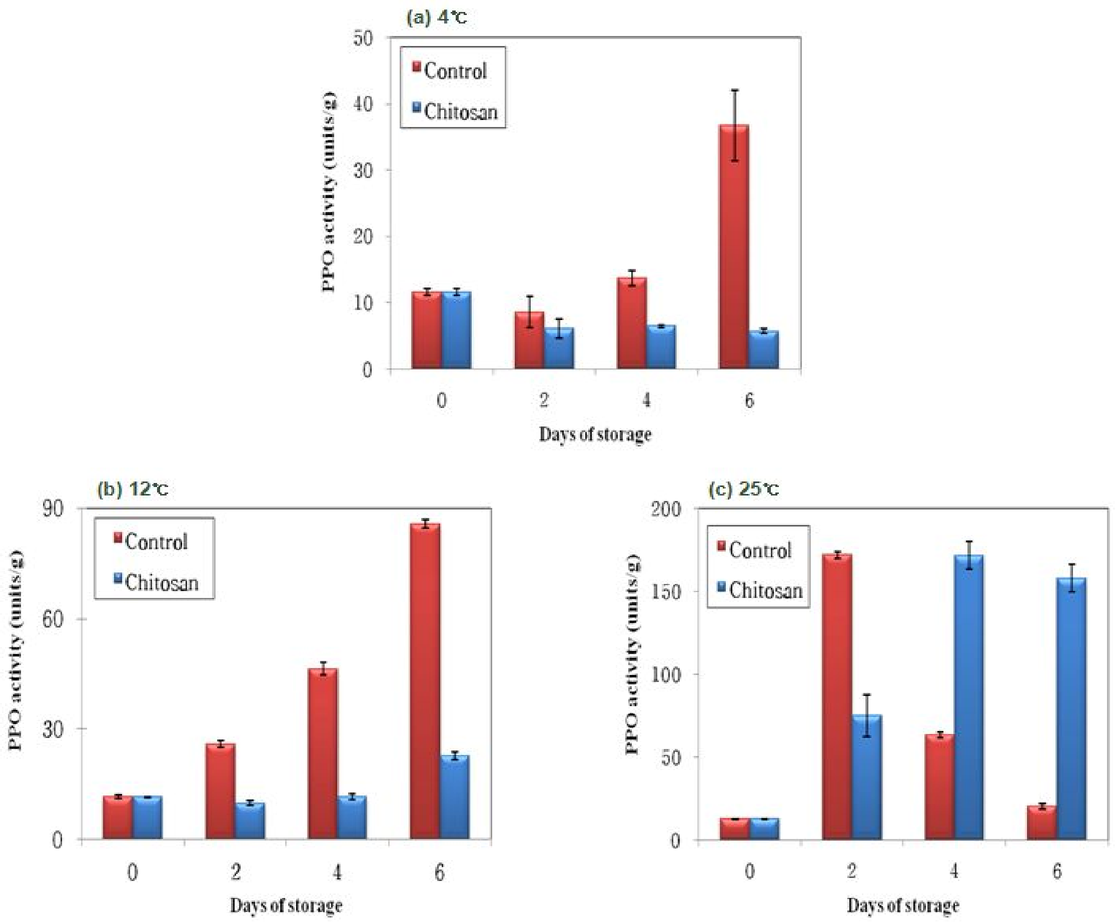
(4) 참송이버섯의 저장조건에 따른 Polyphenoloxidase 활성 변화

○ Polyphenoloxidase(PPO) 활성은 시료 10 g에 20 mL의 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 6.0)를 첨가하여 마쇄, 여과하여 얻은 여액 0.2 mL에 0.1 M catechol 2.8 mL를 가하여 420 nm에서 3분간 흡광도의 변화를 측정하였고, 효소액 0.1 mL이 1분간 0.001의 흡광도를 증가시킨 것을 1 unit으로 정의함.

○ PPO 활성은 버섯의 품질을 평가하는 요인 중 하나로 색도와 함께 품질변화에 중요한 척도로 작용함. 버섯 내의 tyrosinase는 PPO의 일종으로 0.2%의 구리를 함유하며, polyphenol 및 monophenol에 작용하여 산소 존재 하에 melanin을 생성함으로써 갈변을 유도함. 따라서 본 연구에서는 겔 형성능이 우수한 alginate, xanthan gum, chitosan을 선정하여 공기와의 접촉을 감소시킴으로써 버섯의 갈변작용을 유발하는 PPO 활성에 미치는 영향을 조사함. 저장일수가 증가할수록 PPO 활성도 함께 증가함으로써 버섯의 저장 기간 중 색도 변화에 영향을 주었음. 저장 기간 중 무처리군과 비교하여 코팅 처리에 의해 PPO 활성은 최대 81%까지 유의적으로 억제됨. 특히, chitosan을 처리한 버섯의 경우 6일 저장 후 무처리 버섯보다 5배 정도 감소된 효소활성을 보임. 따라서 버섯 저장 시 chitosan 코팅을 통하여 효소적 갈변작용을 저해하여 품질 유지 기간 연장이 가능할 것으로 기대됨.



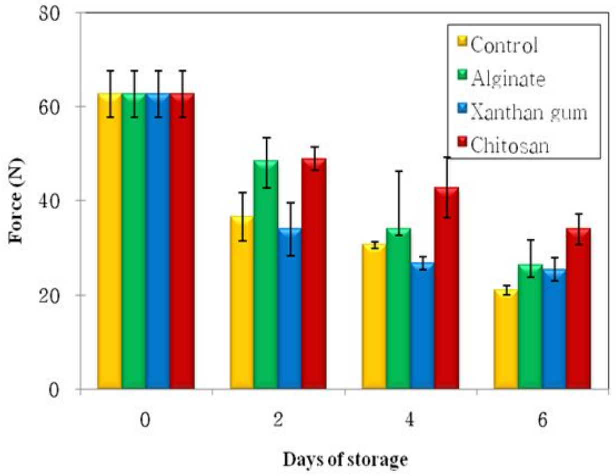
○ 버섯 저장 과정에서 PPO 효소 활성에 대한 저장 온도와 chitosan 처리 효과를 조사한 결과, 무처리 버섯은 모든 저장 온도에서 저장 기간이 증가함에 따라 PPO 활성이 증가하는 경향이었으며, 온도가 증가할수록 급격한 활성증가를 보임. Chitosan 코팅한 버섯은 저장 온도가 4→12→25℃로 상승함에 따라 PPO 활성 억제 저장 일수는 6→4→2일로 감소됨. 특히, chitosan 코팅 처리 후 4℃에서 저장한 경우 저장 6일까지 6.0 unit/g 이하로 PPO 활성을 유지시킴. 한편, 25℃에서 저장한 무처리 버섯의 경우 저장 4일 이후부터 급격하게 효소활성이 감소함. 이러한 결과는 저장 과정 중 효소적 갈변작용이 빠르게 진행됨에 따라 반응에 관여하는 phenol 함량이 급격하게 감소함으로써 더 이상의 효소반응이 진행되지 못하여 오히려 PPO 활성이 감소함. 따라서 버섯의 저장 과정 중 저온 저장과 함께 chitosan을 코팅 처리하는 것이 효과적으로 PPO 효소 활성을 저해함으로써 저장성을 연장시킬 수 있음.



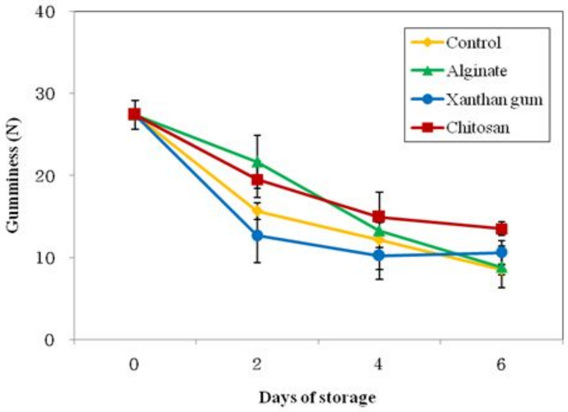
(5) 참송이버섯의 저장조건에 따른 조직감 변화

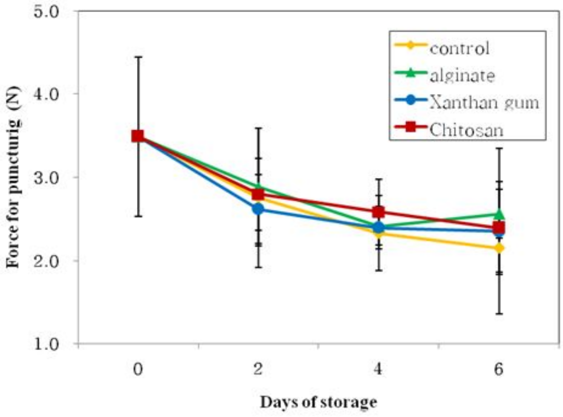
○ 버섯의 조직감은 Texture Analyzer(Model TAXT2i, Stable Micro Systems, Surrey, England)를 이용하여 측정함. 버섯 갓 부분을 직경 11 mm, 높이 10 mm로 잘라 20 mm 직경의 probe(contact force 0.5 N, speed 1.0 m/s)로 약 80%까지 압착하는 texture profile analysis(TPA)를 이용하여 hardness와 gumminess를 측정함. 버섯 자루 부분은 1 cm의 정육면체로 만든 후 자루의 균사와 평행한 방향으로 힘을 가하여 8 mm의 깊이로 2 mm 직경의 probe(contact force 0.5 N, speed 5.0m/s)를 침투시키는 Penetration test를 실시함.

○ 저장 일수가 증가할수록 모든 버섯의 hardness가 감소하였으며, 무처리 시료와 xanthan gum 코팅 시료의 경우에는 저장 2일부터 hardness가 감소함. Alginate를 코팅 처리한 버섯은 저장 4일부터 hardness가 감소한 반면, chitosan 처리 시료는 저장 6일까지도 수확직후 버섯의 hardness와 비교하여 50% 이상을 유지함으로써 가장 효과적임. 이상과 같이, chitosan의 우수한 겔 형성능과 항균활성이 시료 표면의 수분 증발 현상을 방지하고 미생물의 번식에 의한 조직 연화를 지연시킴으로써 저장 과정 중 hardness 감소를 지연시킴.

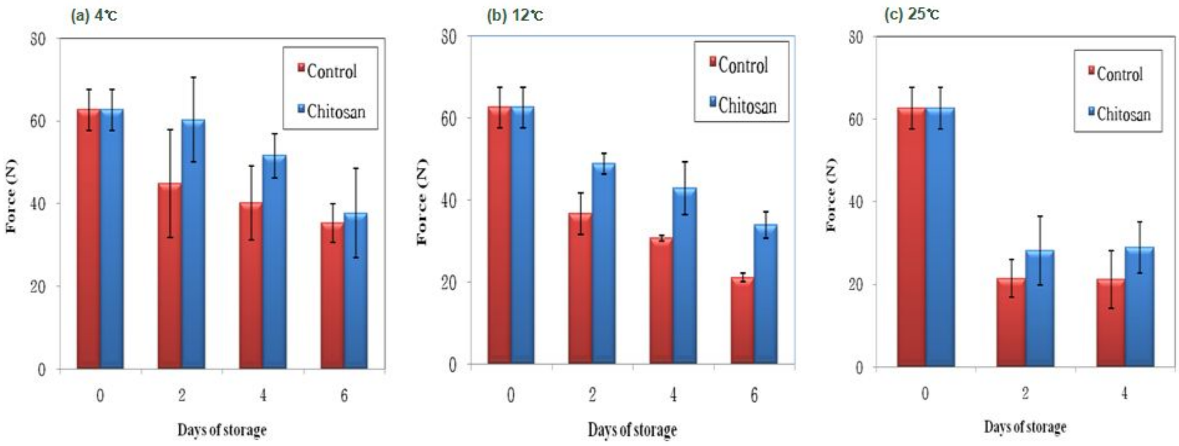


○ Gumminess의 경우는 저장 일수가 증가함에 따라 모든 시료에서 감소하였고, 저장 2일과 4일에 alginate와 chitosan을 코팅한 시료에서 유의적으로 무처리구보다 높은 값을 보임. Alginate 처리군의 경우, 저장 4일까지는 무처리구보다 높은 값을 보였으나 이 후 6일부터 급격히 감소하여 무처리구와 유사한 gumminess를 보였다. Xanthan gum 처리 시료는 저장 2일에 가장 낮은 gumminess값을 보였으나, 저장 4일 이후부터는 유지됨. 한편, chitosan 처리군은 다른 시료에 비하여 저장 6일까지도 gumminess 변화가 적게 나타남으로써 버섯의 조직감 유지에 효과적임. 본 연구에서 코팅 물질 종류별로 6일간의 저장 기간 중 penetration test를 수행하여 버섯의 무른 정도(softening)를 분석한 결과, 시료간의 유의적 차이는 없었으며, 저장 2일 이후부터 유의적으로 감소하는 경향을 보임.

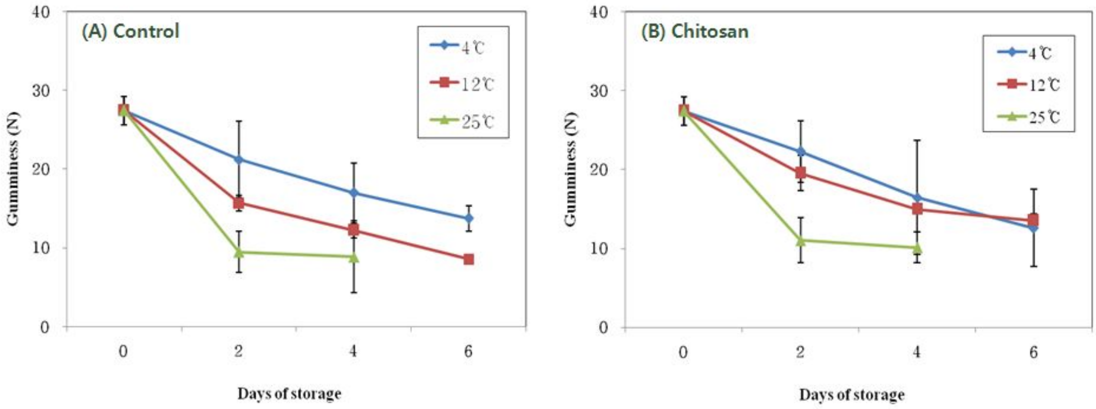


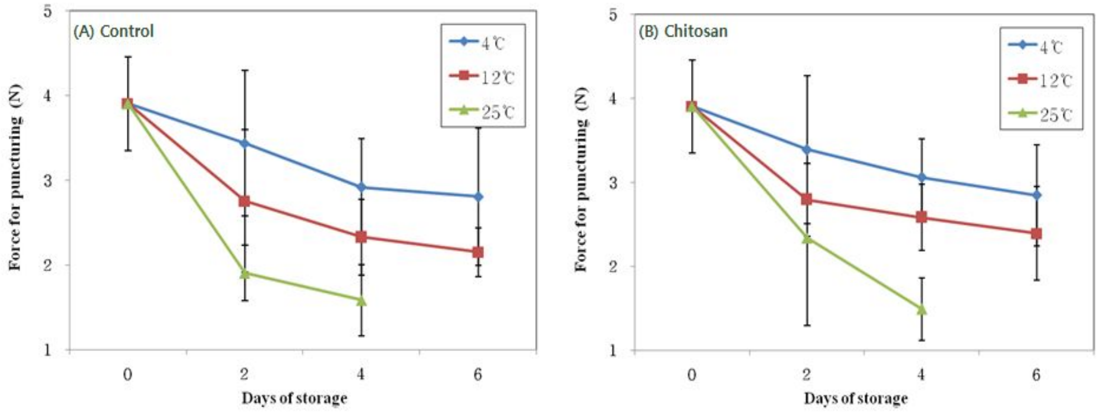


○ 버섯의 chitosan 코팅 처리 후 저장 온도에 따른 조직감의 변화를 측정한 결과, 코팅 물질 종류별 결과와 유사하게 저장 기간이 증가할수록 모든 온도에서 hardness가 감소함. 4℃에서 저온 저장한 경우, 코팅 처리한 버섯에서 51.57 N으로 저장 4일까지 유의적인 차이 없이 조직감이 유지됨. 그러나 25℃에서는 코팅 처리와 관계없이 약 60%이상의 감소를 보여 버섯의 hardness는 온도와 밀접한 관련이 있음을 확인함.



○ 조직감 중 gumminess와 softening은 저장 기간 중 저장 온도가 상승함에 따라 모든 시료에서 감소함. 특히, chitosan으로 코팅 처리한 경우 무처리군에 비하여 gumminess와 softening의 감소가 적게 일어남으로써 저장에 의한 조직감 변화가 적었음. 버섯은 저장 온도가 증가함에 따라 호흡에 의한 이화작용에 의하여 조직이 연화되는 현상이 발생하는데, 본 연구에서도 저장 기간 중 연화작용에 의한 버섯의 조직감 변화가 관찰되었으나, 저온 저장 및 chitosan 처리에 의해 연화현상이 지연될 수 있음을 확인함.





다. 베타글루칸 추출공정 확립

(1) 추출 온도 조건

○ 베타글루칸 추출시 최적의 온도조건을 알아보기 위하여 85℃, 90℃, 95℃, 100℃, 105℃조건에서 각각 18시간동안 추출하여 고형분 함량 및 수율을 조사한 결과, HBLE-1, HBLE-2 모두 정제수는 50배 투입, 추출온도는 HBLE-1 100℃, HBLE-2 105℃에서 우수한 수율을 보였음.

온도		정제수 20배		정제수 50배	
		고형분	수율	고형분	수율
85℃	HBLE-1	3.52g	35.2%	1.40g	14.0%
	HBLE-2	2.30g	23.0%	1.05g	26.3%
90℃	HBLE-1	2.90g	29.0%	0.99g	24.8%
	HBLE-2	1.90g	19.0%	1.24g	31.0%
95℃	HBLE-1	3.48g	34.8%	1.28g	32.0%
	HBLE-2	1.40g	14.0%	1.04g	26.0%
100℃	HBLE-1	2.97g	29.7%	1.70g	**42.5%**
	HBLE-2	1.50g	15.0%	1.20g	30.0%
105℃	HBLE-1	2.90g	29.0%	1.44g	36.0%
	HBLE-2	2.16g	21.6%	1.65g	**41.3%**

(2) 버섯 투입 방법

○ 베타글루칸 추출 시 버섯의 투입방법에 따른 추출효율을 알아보기 위해 슬라이스된 건조버섯, 일반분쇄(약 1.18mm), 미분쇄(약 150㎛) 상태로 추출 후 추출효율을 비교하였고, 정제수도 건조버섯 중량의 20배, 50배로 각각 투입하여 그 효율을 비교하여 최적의 투입방법을 조사함.

○ HBLE-1 투입방법의 최적 조건으로 일반분쇄, 정제수 50배, HBLE-2는 미분쇄, 정제수 50배 투입에서 가장 높은 효율을 보임.

입도		정제수 20배		정제수 50배	
		고형분	수율	고형분	수율
원물	HBLE-1	3.06g	30.6%	1.44g	36.0%
	HBLE-2	3.0g	30.0%	1.11g	27.8%
일반분쇄(약 1.18mm)	HBLE-1	3.40g	34.0%	1.90g	**47.5%**
	HBLE-2	3.0g	30.0%	1.75g	43.8%
미분쇄(약 150㎛)	HBLE-1	3.72g	37.2%	1.80g	45.0%
	HBLE-2	1.65g	16.5%	1.92g	**48.0%**

(3) pH 및 추출시간

○ 정제수의 pH 및 추출시간을 조절하여 추출물의 수율을 고형분 함량(brix)으로 조사함. 투입된 정제수의 pH를 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12로 조정하고 9시간, 18시간, 24시간 동안 105℃에서 각각 추출하여 비교. pH 3, 24시간 추출에서 HBLE-1, HBLE-2 모두 우수한 결과를 보임

.

pH	HBLE-1			HBLE-2		
	9hr	18hr	24hr	9hr	18hr	24hr
3	6.6	6.8	7.2	5.0	5.6	5.8
4	2.4	2.2	2.8	2.4	2.6	2.4
5	2.4	2.4	2.6	2.6	2.6	2.2
6	2.4	2.4	2.6	2.4	2.4	2.4
7	2.2	2.4	2.6	2.6	2.0	2.4
8	2.0	2.4	2.6	2.0	2.4	2.2
9	2.2	2.2	2.6	2.0	2.2	2.2
10	2.4	2.2	2.4	1.8	2.2	2.4
11	2.2	2.0	2.4	2.2	2.0	2.0
12	2.2	2.2	2.4	2.4	2.4	2.4

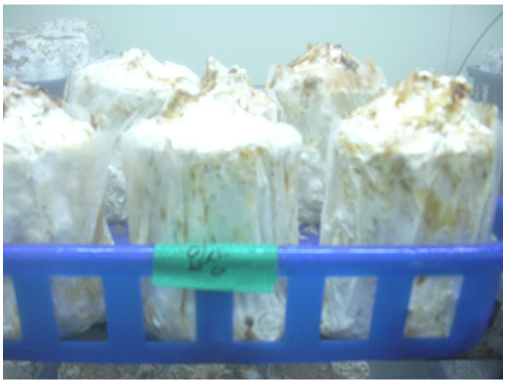
3. 고품질화 참송이버섯의 대량생산공정 확립

가. 다양한 방법을 이용한 재배법

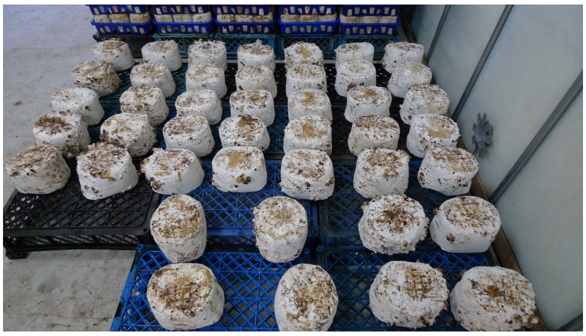
○ 고품질화 참송이버섯의 대량생산공정을 확립하기 위하여 배지의 무게(1.2 kg, 3 kg, 10 kg 등), 배지의 형태(원형, 블록, 원목모양 성형 등), 참나무단목(30 cm), 참나무골목(1 m 20 cm) 및 봉지재배 등 여러 가지 방법을 시도함. 이러한 방법으로 배양, 생육을 거쳐 수확량을 조사한 결과 배지의 무게나 형태에서 기등록한 특허인 “균사결합 및 흑변조작에 의한 표고버섯 개량 신품종 참송이버섯의 재배방법”이 최적임을 다시 한번 확인함.

○ 아울러, 2010년 4월 1 m 20 cm 참나무 골목 각 100본에 HBLE-1, HBLE-2를 접종한 후 야외 비닐하우스 재배사에서 배양 및 생육을 실시한 결과, HBLE-1의 수확량이 HBLE-2에 비해 다소 떨어지지만, 톱밥배지에서 재배된 HBLE-1보다 조직강도는 더 높은 결과를 얻었음.

<톱밥종균> <액체종균>



<참나무 단목 재배>



<봉지재배> <3 Kg 블록재배>

<골목형 톱밥배지 제조 및 생육>

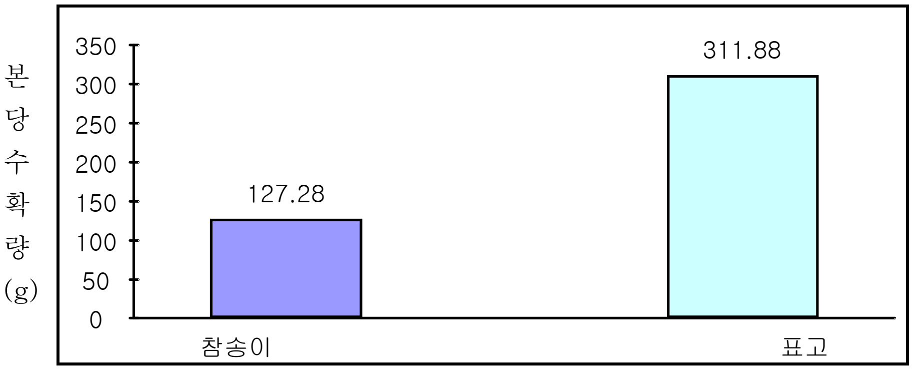
<균사결합 및 흑변조작 재배: HBLE-1>

<균사결합 및 갈변조작 재배: HBLE-2>

<참나무 골목재배>

<참나무 골목재배: HBLE-1>

<참나무 골목재배: HBLE-2>



<참나무 골목재배 수확량 비교>

제 2 절 참송이버섯 부산물을 이용한 고부가 가공 식품 개발

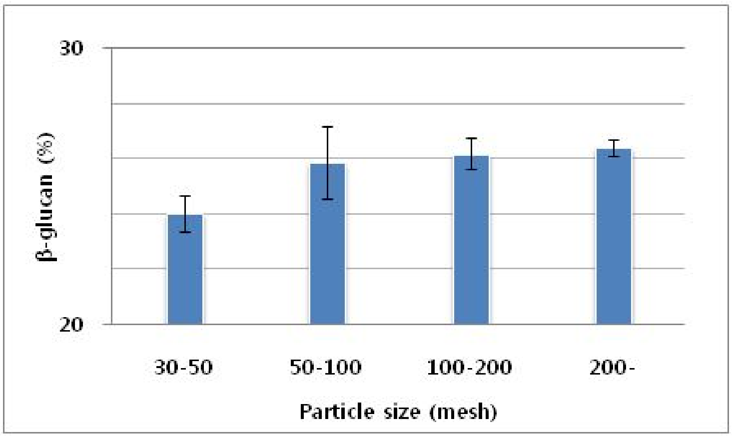
1. 천연공법을 통한 참송이버섯 분말의 베타글루칸 강화

가. 다양한 물리적 처리에 따른 참송이버섯 베타글루칸 함량 및 수율 분석

(1) 베타글루칸 추출을 위한 전처리 공정

(가) 입자크기

○ 참송이버섯 원물을 건조(55℃, 24 시간)하여 분쇄기로 분쇄한 후 체 분리를 통하여 입자크기 (30-50, 50-100, 100-200, <200 mesh) 별로 분리함.

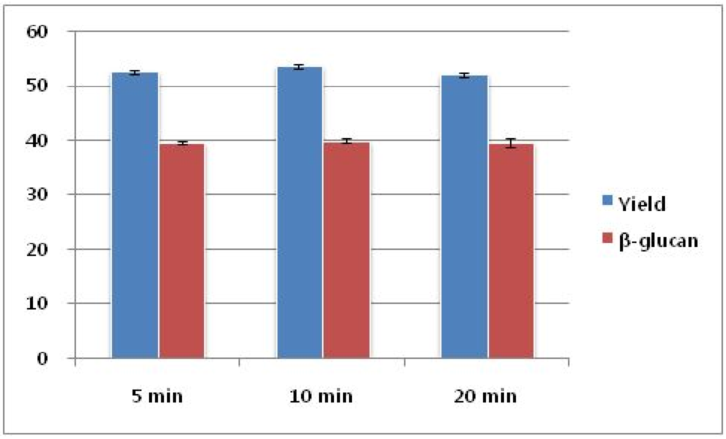


	Particle size (mesh)			
	30-50	50-100	100-200	< 200
β-glucan (%)	24.02	25.85	26.17	26.43

○ 입도별로 베타글루칸의 함량을 분석한 결과 입도가 작아질수록 추출되는 베타글루칸 함량이 높아지는 경향을 보였으나 50 mesh 보다 더 작아지면 그 함량을 거의 비슷함. 또한, 100 mesh 이하의 입자크기를 다량으로 얻는 것은 추출공정뿐 만 아니라 경제적인 면에서도 용이하지 않아, 이 후 추출 공정에서 50 mesh를 통과한 입자를 사용함.

○ 참송이버섯 분말(3 g)에 60 mL의 증류수를 가해 현탁액을 만든 후 stirrer를 이용하여 각 5분, 10분, 20분 동안 500 rpm속도로 교반함. 그 후 miracloth 천을 사용해 감압여과하고 수용성 불순물을 제거 후 남은 잔류물을 동결건조하여 수율 및 베타글루칸 함량을 측정함.

(나) 교반 시간



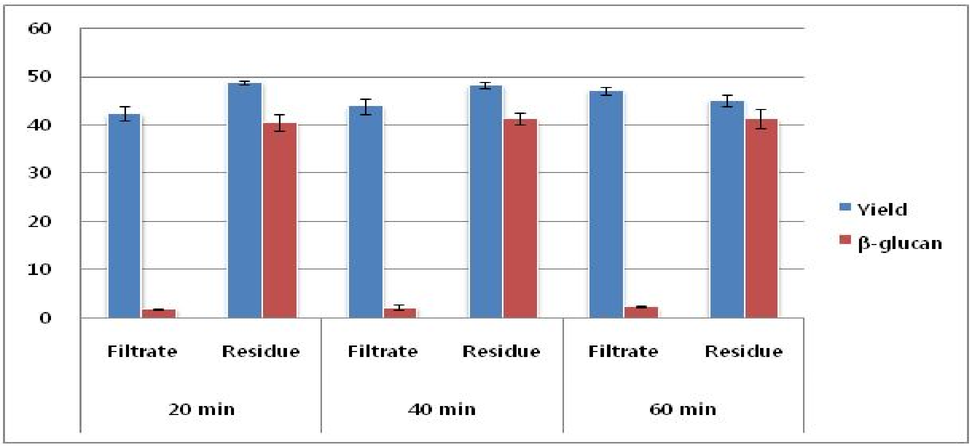
Agitation	5 min	10 min	20 min
Yield (%)	52.49	53.63	52.02
β-glucan(%)	39.56	39.85	39.43

○ 교반시간에 따른 함량 및 수율의 변화가 없으므로 교반시간을 5분으로 결정함.

(2) 물리적 처리를 통한 참송이버섯 베타글루칸 강화

○ 참송이버섯 분말(3 g)에 증류수 60 mL을 가해 현탁액을 만든 후 각각의 물리적 처리(Ultrasonication, Homogenization, Boiling, Autoclaving)를 한 다음 miracloth 천을 이용하여 감압여과하고 여과액과 잔류물로 분리한 뒤 동결건조 한 후 각각의 수율 및 베타글루칸 함량을 측정함.

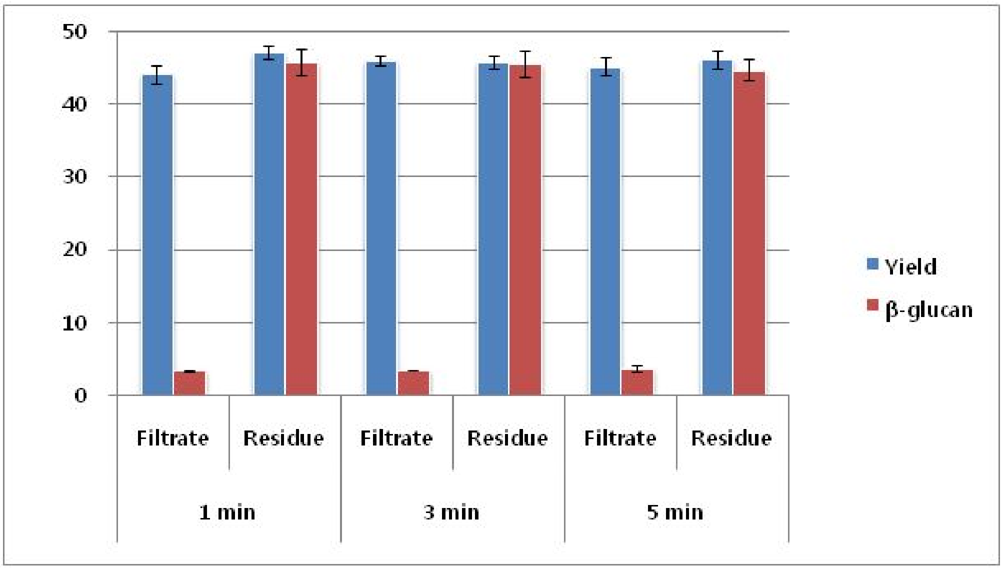
(가) Ultrasonication



	20 min		40 min		60 min	
	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue
Yield (%)	42.29	48.76	43.82	48.12	47.04	45.03
β-glucan (%)	1.85	40.52	2.15	41.26	2.34	41.28

○ 초음파 처리 시간에 따른 베타글루칸 함량 및 수율의 변화를 분석한 결과 처리 시간이 길어질수록 잔류물의 수율이 감소하는 경향을 보였고, 베타글루칸 함량은 조금씩 증가함을 보임. 반면, 여과액의 베타글루칸 함량 및 수율은 증가하는 경향을 보임.

(나) Homogenization



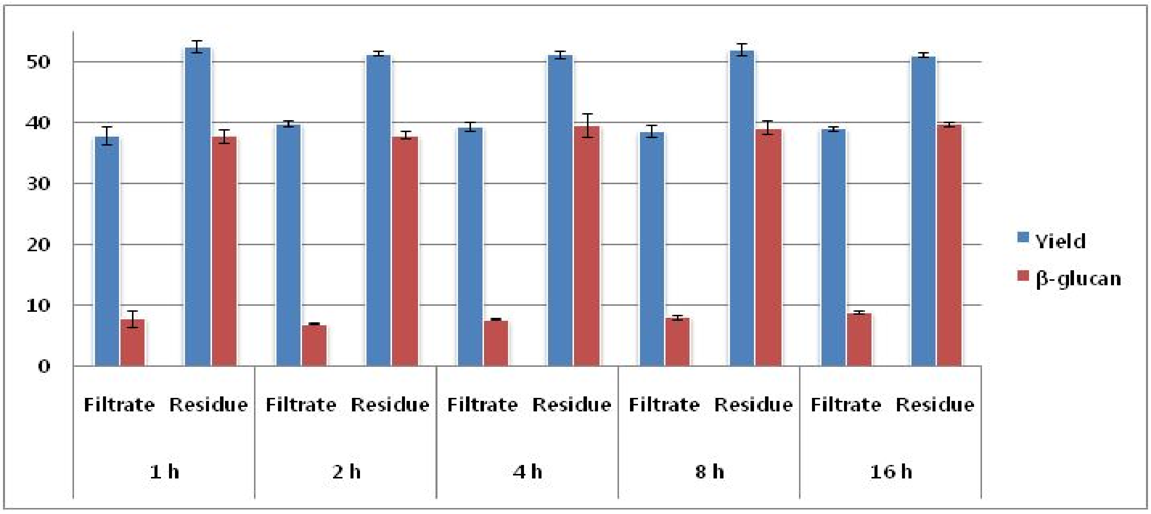
	1 min		3 min		5 min	
	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue
Yield (%)	44.13	47.12	46.04	45.79	45.23	46.16
β-glucan (%)	3.28	42.77	3.43	42.53	3.65	41.80

○ Homogenization 처리에 따른 영향을 분석한 결과, 여과 후 잔류물의 경우 homogenization 처리 시간이 증가할수록 함량 및 수율이 약간씩 감소함을 보임. 이에 반하여 여과액의 경우 베타글루칸 함량 및 수율이 약간 증가함.

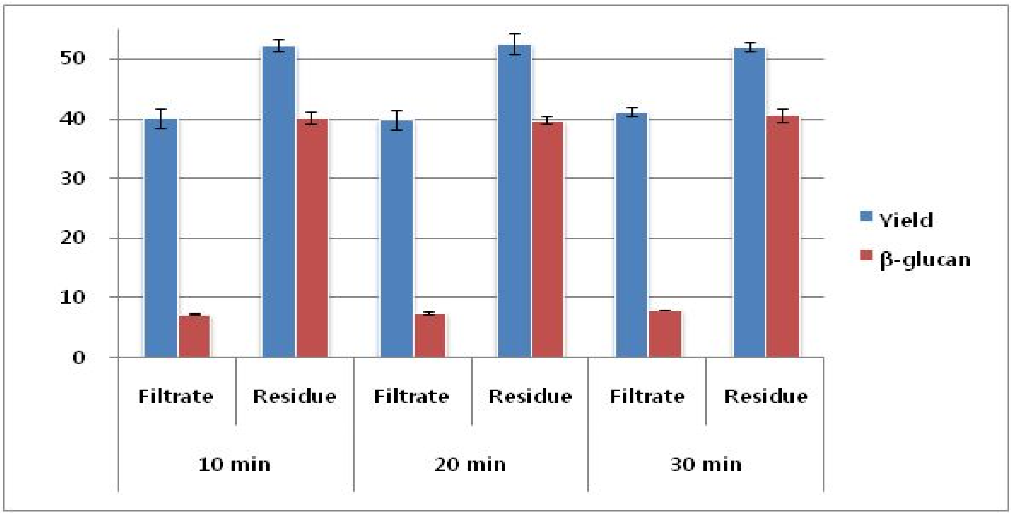
(다) Boiling

	1 h		2 h		4 h		8 h		16 h	
	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue
Yield (%)	37.99	52.58	39.86	51.48	39.38	51.26	38.73	52.13	39.10	51.18
β-glucan (%)	7.76	37.91	6.99	38.05	7.67	39.65	8.10	39.28	8.90	39.81

○ 참송이버섯 분말 현탁액을 1, 2, 4, 8, 16 시간동안 boiling 처리하여 여과 잔류물 및 여과액의 베타글루칸 함량 및 수율을 분석한 결과 현격한 베타글루칸 함량 및 수율 변화는 관찰되지 않음.



(라) Autoclaving



	10 min		20 min		30 min	
	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue	Filtrate	Residue
Yield (%)	40.08	52.30	39.84	52.53	41.14	52.04
β-glucan (%)	7.23	40.16	7.43	39.75	7.87	40.58

○ Autoclaving이 참송이버섯 베타글루칸 추출에 미치는 영향을 조사한 결과 autoclaving을 10분 이상 처리 시 베타글루칸 함량 및 수율에는 변화가 없음.

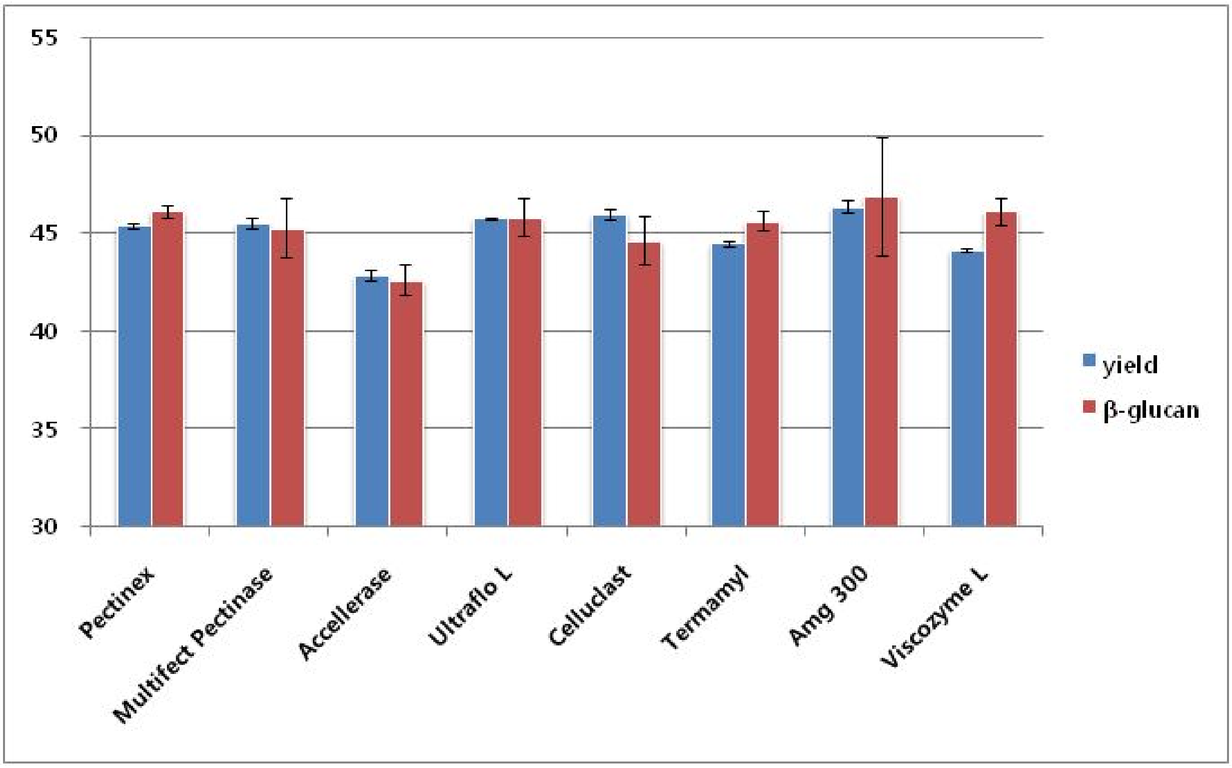
○ 참송이버섯 분말 현탁액을 각각의 물리적 처리 및 여과 후 베타글루칸 함량 및 수율을 분석한 결과, 여과액 보다는 잔류물에서 베타글루칸의 함량 및 수율이 높게 관찰됨. 또한, ultrasonication, homogenization 처리 후 잔류물의 수율이 boiling, autoclaving 처리에 비해 낮음. 또한 autoclaving 처리와 boiling 처리를 비교해 보면 잔류물의 수율은 비슷하나 autoclaving 처리 시 베타글루칸 함량이 높게 측정될 뿐 아니라 처리시간도 훨씬 짧아 효율적임.

나. 참송이버섯의 베타글루칸 추출 효율 개선을 위한 효소적 처리방법 적용

(1) 효소적 처리를 통한 참송이버섯 베타글루칸 강화

(가) 탄수화물 관련 효소 처리

사용된 효소		
- Pectinex	- Multifect	- Pectinase
- Accellerase	- Ultraflo L	- Celluclast
- Termamyl	- Amg 300	- Viscozyme L

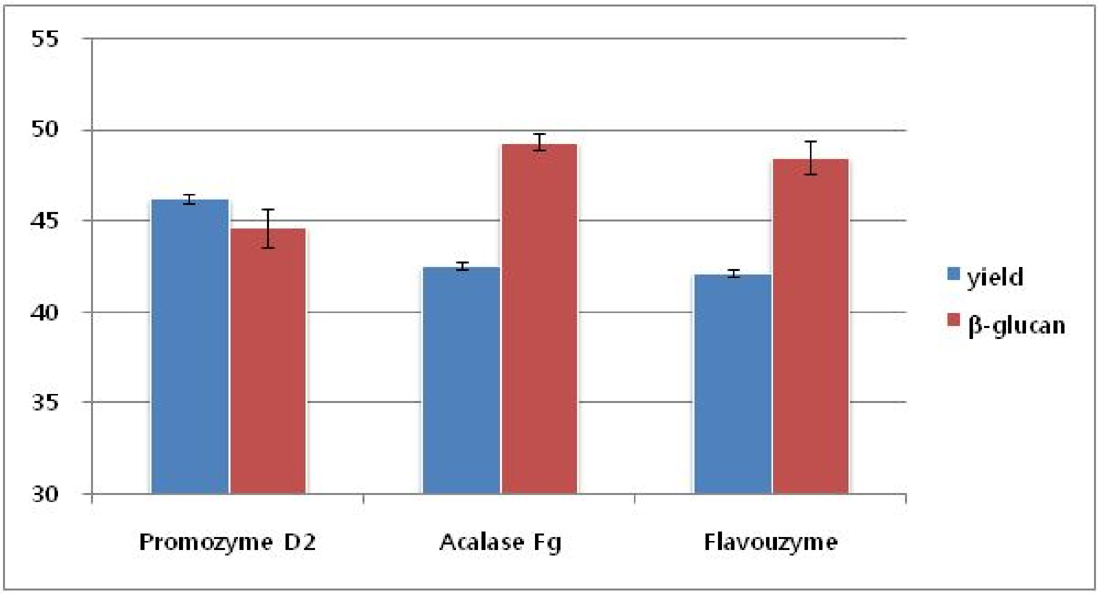


	Pectinex	Multifect Pectinase	Accellerase	Ultraflo L	Celluclast	Termamyl	Amg 300	Viscozyme L
Yield (%)	45.41	45.49	42.89	45.78	45.95	44.47	46.38	44.11
β-glucan (%)	46.12	45.28	42.64	45.83	44.63	45.65	46.90	46.12

○ 참송이버섯 현탁액에 탄수화물 관련 효소를 각각 적용시켜 반응 후 여과하여 잔류물의 베타글루칸 함량 및 수율을 측정한 결과 Acellellerase, Celluclast 작용시 잔류물의 베타글루칸 함량이 낮아짐을 보여, 이 두 효소가 참송이버섯 분말에 비교적 잘 작용하여 베타글루칸을 가용화시킬 수 있음을 보여줌.

(나) 단백질 관련 효소 처리

사용된 효소
- Promozyme D2
- Acalase Fg
- Flavouzyme



	Promozyme D2	Acalase Fg	Flavouzyme
Yield (%)	46.23	42.54	42.13
β-glucan (%)	44.62	49.28	48.48

○ 참송이버섯 현탁액에 단백질 관련 효소를 각각 적용시켜 반응 후 여과하여 잔류물의 베타글루칸 함량 및 수율을 측정한 결과 Promozyme D2에 비하여 Acalase Fg, Flavouzyme 의 경우 49%의 베타글루칸 함량을 보이는 반면 수율은 42%로 낮아짐이 관찰됨.

다. 참송이버섯 분말 소재의 베타글루칸 함량 극대화를 위한 물리적/효소적 융합처리 기술 최적화

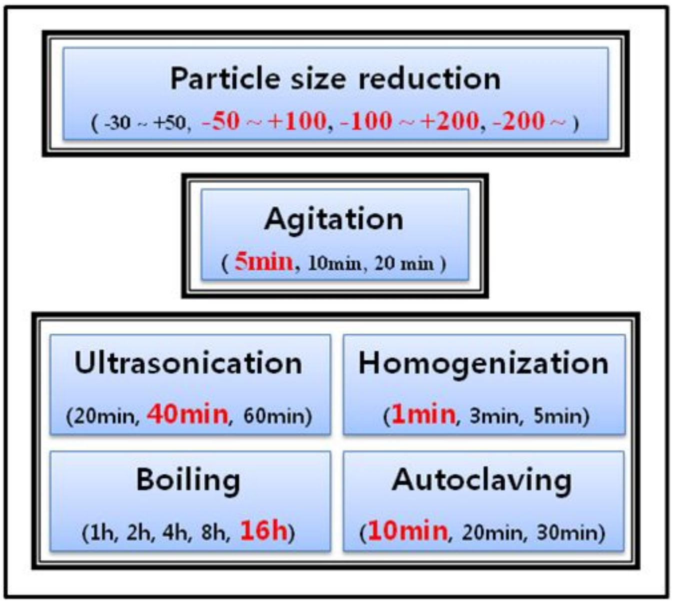
(1) 참송이버섯 베타글루칸 강화를 위한 물리적 처리 변수 최적화

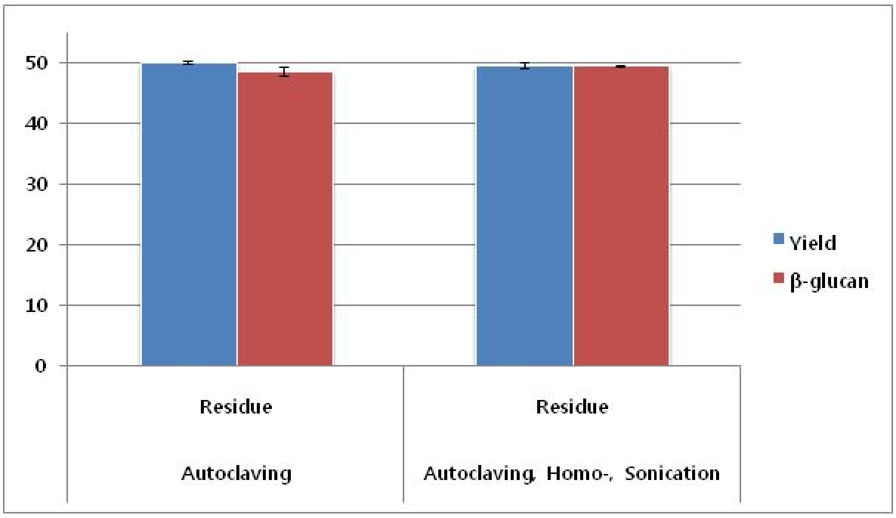
(가) 각 물리적 처리 공정에서의 최적 변수 결정

○ 참송이버섯 베타글루칸 수율 및 함량 결과를 토대로 하여 각 물리적 처리방법에서의 공정 변수를 결정함.

○ 위에서 결정된 각 공정 변수와의 상호작용을 탐색하기 위하여 베타글루칸 추출을 위한 전처리 공정에서 선정된 -50 mesh의 입자크기와 교반 공정 그리고 autoclaving

처리를 조합한 후 수율 및 베타글루칸 함량을 측정함. 또한 위 조합에 ultrasonication, homogenization 처리를 첨가하여 수율 및 베타글루칸 함량을 측정함.

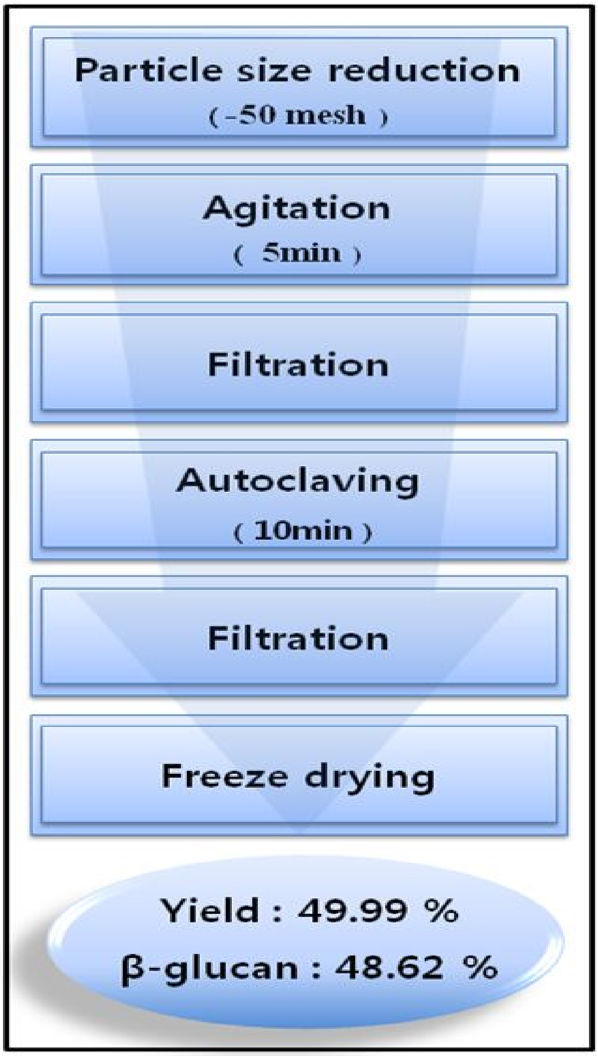




	Autoclaving Residue	Autoclaving, Homo-, Sonication Residue
Yield (%)	49.99	49.48
β-glucan (%)	48.62	49.45

○ 위 두 결과를 비교하였을 때 수율 및 베타글루칸의 함량의 변화가 거의 없으므로 ultrasonication, homogenization 처리는 참송이버섯 베타글루칸을 강화하는 공정에 불필요함을 보임. 따라서 agitation 공정을 통한 불순물 제거 후 autoclaving 처리만으로도 높은 수준의 수율 및 베타글루칸 함량을 가진 참송이버섯 분말 제조가 가능함을 밝혀냄.

(나) 최적화된 일련의 물리적 처리 공정 확립



라. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 이화학적 특성 분석

(1) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 일반성분 및 유용성분 분석

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 일반성분(총당, 단백질)과 유용성분(베타글루칸, 총폴리페놀)을 측정한 결과, 총당 55%, 단백질 32%, 베타글루칸 34%, 총폴리페놀 11 mg of GAE/g으로 분석됨.

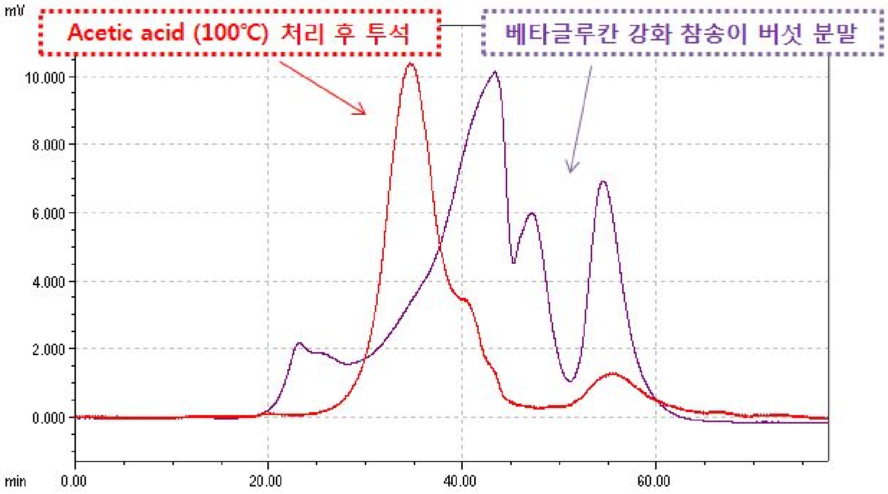
○ 참송이버섯에는 건중량 대비 20-25% 정도의 베타글루칸이 함유되어 있으며, 본 연구에서 베타글루칸을 강화함으로써 약 2배 정도로 함량이 증가됨을 확인함.

○ 따라서 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 다당체 성분 중 60% 정도가 베타글루칸으로 구성되어 있음을 알 수 있었으며, 이는 총폴리페놀 화합물과 함께 항산화 및 항암활성 등 버섯의 생리활성을 발현하는 유용성분으로 강화 분말의 기능성 향상을 기대할 수 있음.

(2) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 분자량 분포

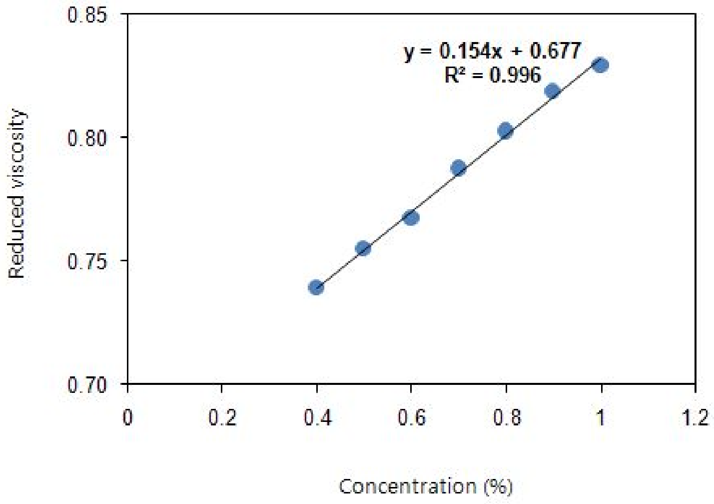
○ 버섯 다당체의 분자량 분포는 용해도 및 점도 등 여러 가지 식품학적 특성에 영향을 주며, 특히 용해도는 분말의 생리활성 발현과 강한 상관성을 보이는 주요 인자로 알려져 있음.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 분자량 분포는 JAIGEL-W254-255 column이 장착된 HPLC를 이용하여 분석한 결과, 분석시간 20-60분까지 다양한 분자량대의 분포로 이루어져 있음을 알 수 있었음. 또한, acetic acid 처리 및 투석과정을 통해 베타글루칸이 정제됨에 따라 전분, 단백질 등의 고분자 영역이 사라짐을 확인함.



(3) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 고유점도 및 유동특성

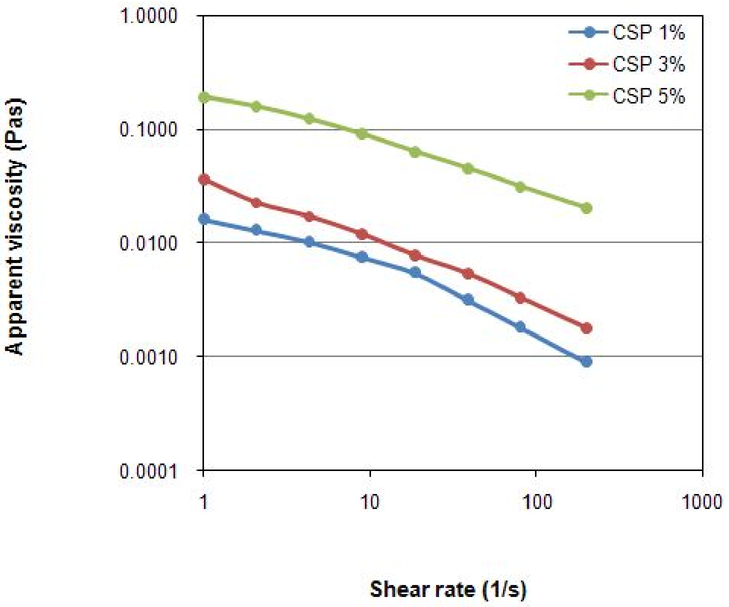
○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 고유점도는 모세관점도계를 이용하여 0.4-1.0%의 농도범위에서 증류수를 기준으로 측정한 결과, 0.68 dL/g로 분석됨. 이는 참송이버섯의 모체인 표고버섯(0.24-0.28 dL/g)과 비교하여 약 3배 정도 높은 것으로 나타남.



○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 1, 3, 5%의 농도가 되도록 증류수에 용해하여 shear rate

1-200/s의 범위에서 rheometer를 이용하여 25℃에서 shear stress를 측정하였으며, 유동특성은 shear stress를 shear rate으로 나누어준 apparent viscosity로 변환시켜 분석함.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 수용액은 모든 농도범위에서 shear rate이 증가함에 따라 apparent viscosity는 감소하는 전형적인 의가소성 유체특성을 나타냄.



○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 수용액의 유동특성을 Power law model식에 적용시켜 해석한 결과, 수용액의 농도가 증가함에 따라 유동지수는 감소하고 점조도지수는 증가하여 전반적으로 의가소성이 증가하는 경향을 보임.

Sample	Power law parameters		
	K (Pa s^n)	*n*	R^2
1%	0.0363	0.4717	0.99
3%	0.0504	0.2772	0.98
5%	0.0662	0.0014	0.99

(4) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 수화능

○ 수화능은 향후 식품학적 이용에 있어 주요 인자로 작용하는 물리적 특성 중 하나로, 수분흡수능(WAI; water absorption index), 용해도(WS; water solubility), 팽윤력(SP; swelling power)으로 분류할 수 있음.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 수화능은 표2와 같이, 수분흡수능 5.8, 용해도 46%, 팽윤력 11 g/g으로 분석됨.

○ 아래 표에 제시한 것처럼, 쌀전분 및 곡류 베타글루칸 강화 분말과 비교하여 수분흡수능이나 팽윤력은 유사하고, 용해도에서는 4배 이상 높은 특성을 보임으로써 다

양한 식품으로의 적용가능성이 높고, 생리활성 발현에서도 우수할 것으로 예상됨.

Sample	WAI	WS (%)	SP (g/g)
Beta-glucan enriched mushroom powder	5.8±0.2	46.2±1.5	10.8±0.3
Oat beta-glucan[1]	11.4	10.9	15.1
Rice flour (RF)[2]	4.9	2.5	4.1
Steam-jet cooked RF[2]	9.4	21.3	11.9

1) Food Hydrocolloids 23 (2009) 2016–2021.
2) Journal of Texture Studies 40 (2009) 192–207.

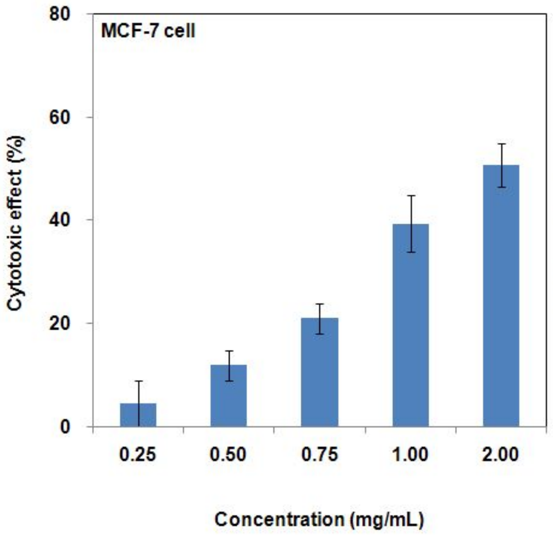
마. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 생리활성 탐색

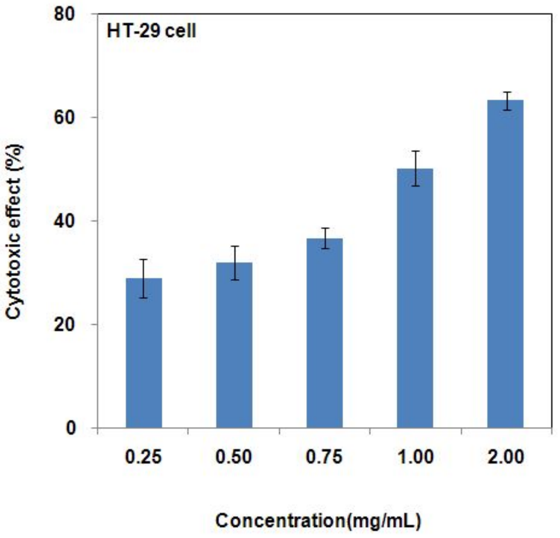
(1) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 암세포 독성 효과

○ 본 연구에서 항암활성 측정은 유방암세포인 MCF-7과 대장암세포인 HT-29에 대한 세포독성 효과를 MTT assay를 이용하여 탐색함.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 암세포에 대한 독성 효과는 0.25-2.00 mg/mL 범위에서 모두 농도의존적인 효과를 보였으며, MCF-7과 HT-29 세포주에 대해 각각 4.75% → 50.73%, 20.97% → 63.23%로 나타남.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말과 모체인 표고버섯의 항암활성을 IC50값(암세포 성장을 50% 저해할 때 필요한 시료의 농도)으로 비교해 보면, 대장암세포인 HT-29의 경우에는 참송이버섯이 0.39 mg/mL로 0.41 mg/mL인 표고버섯과 유사한 효과를 보임. 그러나 유방암세포인 MCF-7에 대해서는 참송이버섯이 0.50 mg/mL로 표고버섯(0.25-2.00 mg/mL 농도범위에서 50% 이하의 효과를 나타냄)보다 우수한 활성을 나타냄.

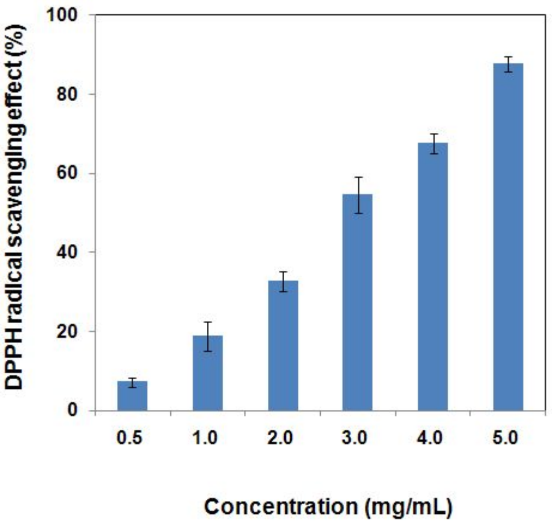




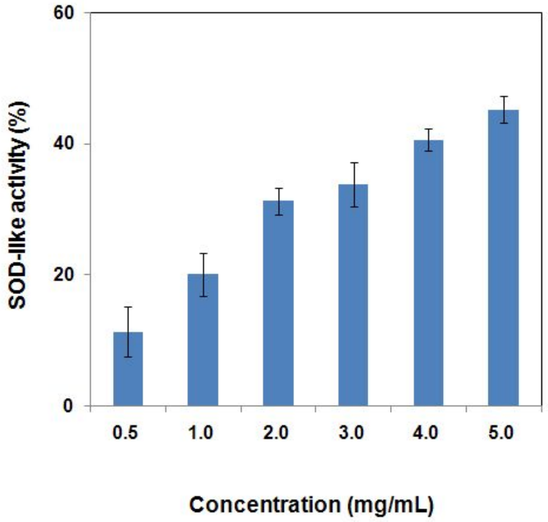
(2) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 항산화 효과

○ 항산화 활성의 측정은 시료가 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디컬을 제거하는 효과와 용액 내에서 산소라디칼로부터 생체를 보호하는 SOD와 유사한 효능을 pyrogallol의 산화를 이용하는 측정하는 두 가지 방법으로 조사함.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 DPPH 라디컬 소거능은 0.5-5.0 mg/mL 범위에서 농도의존적인 효과를 보였으며, 특히 1.9 mg/mL의 IC50값을 보여 모체인 표고버섯(2.2 mg/mL)보다 우수한 라디컬 제거효과를 나타냄.



○ SOD 유사활성은 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 농도가 0.5 → 5.0 mg/mL로 증가함에 따라 11.31% → 45.26%로 농도의존적인 증가를 보였으며, 특히 3.2 mg/mL의 IC50값을 보여 모체인 표고버섯(동일 농도범위에서 50% 이하의 활성)보다 우수한 효과를 나타냄.



○ 이상과 같이, 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 용해도, 점도 등 식품학적 특성과 항암,

항산화 등의 생리활성을 포함한 우수한 기능성은 베타글루칸, 폴리페놀 화합물과 기타 유용성분(단백질, 당단백질, 당-펩타이드 복합체 등)의 작용에 기인하는 것으로 사료되며, 향 후 발효주 제조 등을 위한 기질 및 첨가물로 활용 시 기능성 주류제조가 가능할 것임.

2. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 가공적성 및 발효특성 평가

가. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 가공적성 및 물성학적 특성 분석

(1) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 및 참송이버섯 분말의 일반성분 분석

Sample	Moisture (%, WB)	Ash (%)	Fat (%)	Protein (N×6.25, %)	Total Carbohydrate (%)	β-glucan (%)
Chamsong-I Mushroom Powder	9.02 ± 0.10	5.58 ± 0.08	2.83 ± 0.29	20.28 ± 0.82	62.29	26.35 ± 0.36
β-glucan–enriched Material	5.67 ± 0.24	0.44 ± 0.00	1.68 ± 0.07	13.13 ± 0.57	79.08	48.62 ± 0.71

○ 수분, 회분, 지방, 및 단백질 함량은 AOAC 방법으로 측정하였고, 총 탄수화물의 함량은 다른 성분들과의 차이로부터 계산함. 아울러, 베타글루칸 함량은 Megazyme assay kit을 이용한 효소적 방법으로 측정함. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말은 수분 5.7%, 회분 0.4%, 지방 1.7%, 단백질 13.1%로 원물에 비해서 수분, 회분, 지방, 단백질의 함량이 감소하였고 그 대신 탄수화물 함량이 증가함. 베타글루칸의 경우 48.6%로서 원물에 비하여 약 2 배 정도 함량이 증가함.

(2) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 수화능 측정

○ 수화능을 나타내는 3가지 '수분흡수능(WAI; water absorption index), 용해도(WS; water solubility), 팽윤력(SP; swelling power)'는 아래의 식에 의해서 계산함.

$$\text{Water absorption index (WAI)} = \text{Wet sediment weight} / \text{Sample weight}$$

$$\text{Water solubility (WS, \%)} = \text{Residue weight} / \text{Sample weight} \times 100$$

$$\text{Swelling power (SP)} = \text{Wet sediment weight} / \text{Sample weight} \times [\,1 - (\,\text{WS} / 100\,)]$$

Sample	Water absorption index (WAI)	Water solubility (WS, %)	Swelling power (SP)
Chamsong-I Mushroom Powder	8.82±0.51	25.53±0.95	11.84±0.67
β-glucan-enriched Material	13.33±0.33	0.87±0.41	13.45±0.65

○ 참송이버섯 분말는 베타글루칸 강화 공정 후 13.3%의 수분흡수능을 보여 참송이 분말가루에 비하여 수분흡수능은 증가하였고 용해도는 큰 폭으로 감소함을 보였다. 팽윤력은 약간 증가하였지만 큰 영향을 미치지 않음.

(3) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 유지 흡착능 측정

	Grape	Soybean	Corn	Canola	Olive
Chamsong-I Mushroom Powder	5.45 ±0.21	5.61 ±0.23	5.67 ±0.17	5.66 ±0.23	5.44 ±0.12
β-glucan-enriched Materials	11.88 ±0.27	11.83 ±0.18	11.90 ±0.13	11.51 ±0.43	11.39 ±0.24

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말에 식용유지(Grape, Soybean, Corn, Canola, Olive oil)을 첨가하여 30 분 동안 방치한 후 원심분리 하여 남은 유지와 유지를 머금은 부분으로 분리함. 유지 흡착능은 유지를 머금은 부분을 분말무게로 나누어 계산한 결과 유지 종류별 흡착능의 차이는 관찰되지 않지만, 베타글루칸 강화 분말의 경우 원물에 비하여 두 배정도의 높은 유지 흡착능을 보여줌.

(4) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 구조 분석

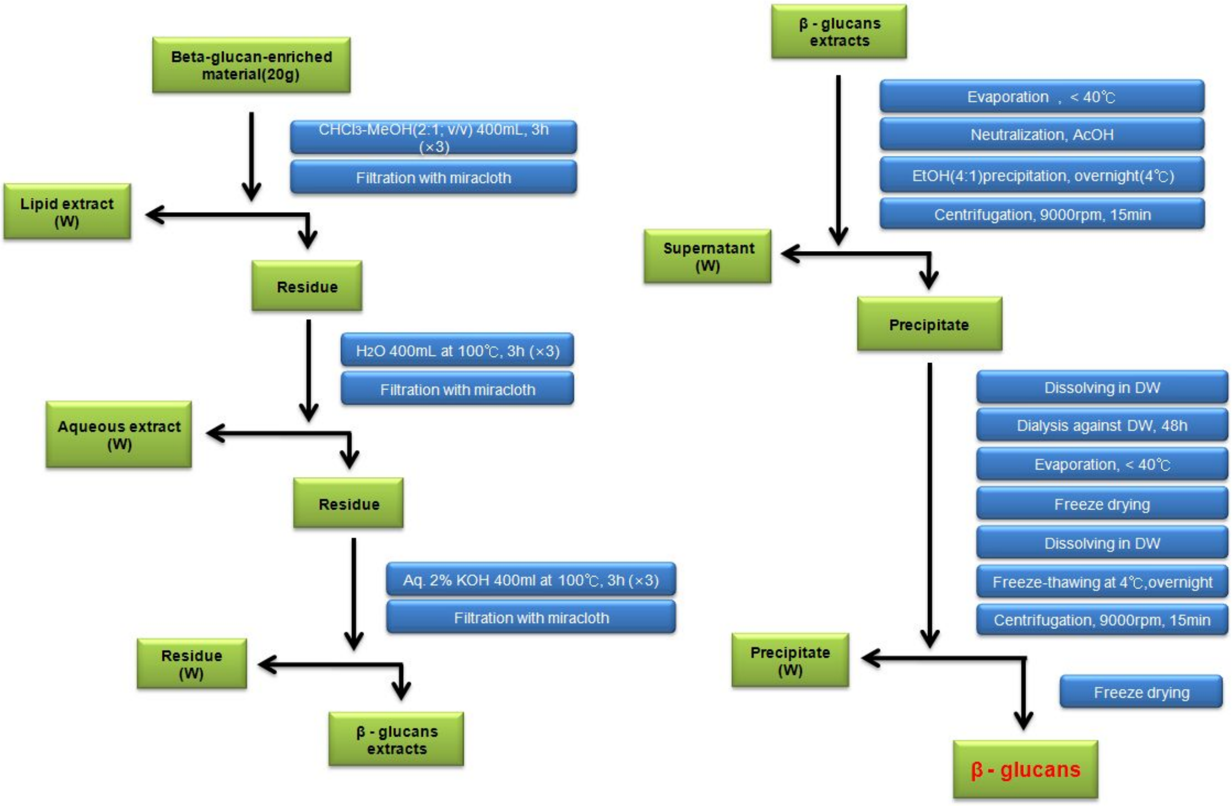
○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 구조 분석을 위하여 아래 추출정제공정을 통하여 베타글루칸을 얻은 후 13C NMR 과 FT-IR 분석을 통하여 베타글루칸 강화 분말 성분의 구조를 측정함. 아울러, 구조분석을 위한 대조구로서 Megazyme에서 시판되고 있는 (1-3)(1-6)-β-glucan 표준물질을 같이 분석함.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말과 베타글루칸 표준물질의 탄소 핵자기공명 스펙트럼 결과를 비교하였을 때, chemical shift의 위치 및 형태가 거의 일치하는 것을 확인함.

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-6'
(→3,6)-β-D-Glcp-(1→)[1]	103.0	72.7	86.3	68.3	76.3	60.8	70.0
Lentinan[2]	103.3	73.5	86.8	68.5	76.3	60.5	70.2
Standard β-glucan	103.3	72.9	86.3	68.5	76.4	60.9	69.8
β-glucan-enriched material	103.3	73.4	87.7	68.4	76.6	61.1	69.8

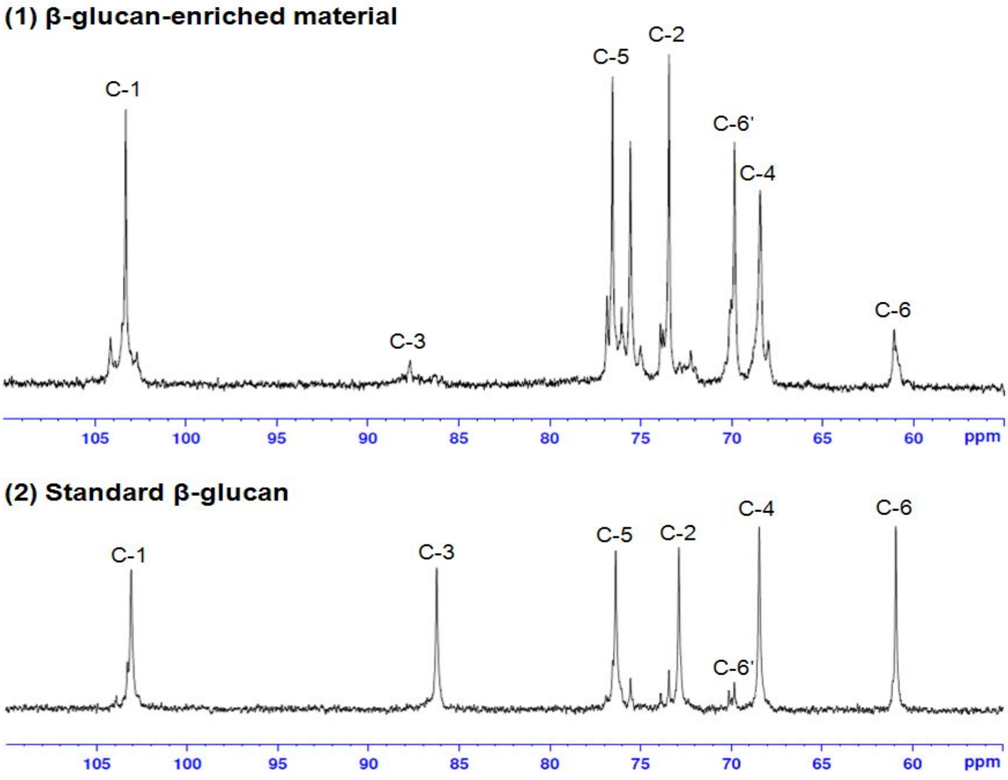
1) Carbohydrate Research 339(2004) 327-334
2) Polymer Journal 34(2002) 443-449

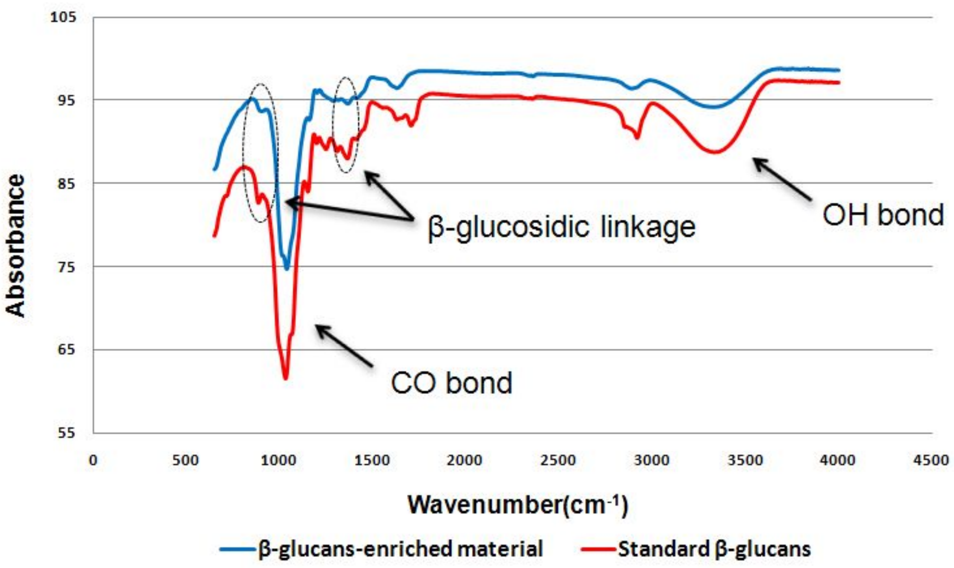
○ 아울러 기존 문헌 조사를 통하여 해당하는 탄소의 chemical shift의 값이 서로 유사함을 보였고 이로서 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 구조가 1,3-1,6-β-D-glucan인 것을 확인함.



Step 1. Extraction

Step 2. Purification

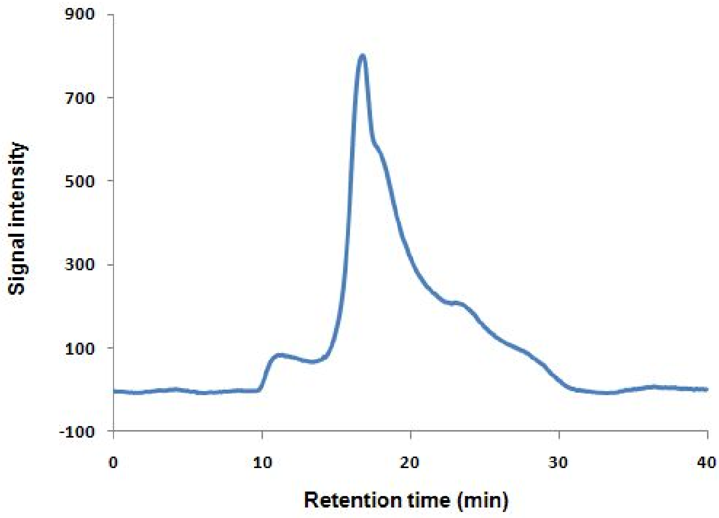




○ FT-IR 결과에서 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말과 표준 베타글루칸 spectrum이 매우 유사한 형태를 보임. 특히, 베타글루칸의 특성을 나타내는 파상수인 890 cm^{-1}, 1370 cm^{-1}에서 peak가 형성되는 것으로 보아 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 구조가 1,3-1,6-β-D-glucan이라는 것을 재확인함.

(5) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 분자량 분석

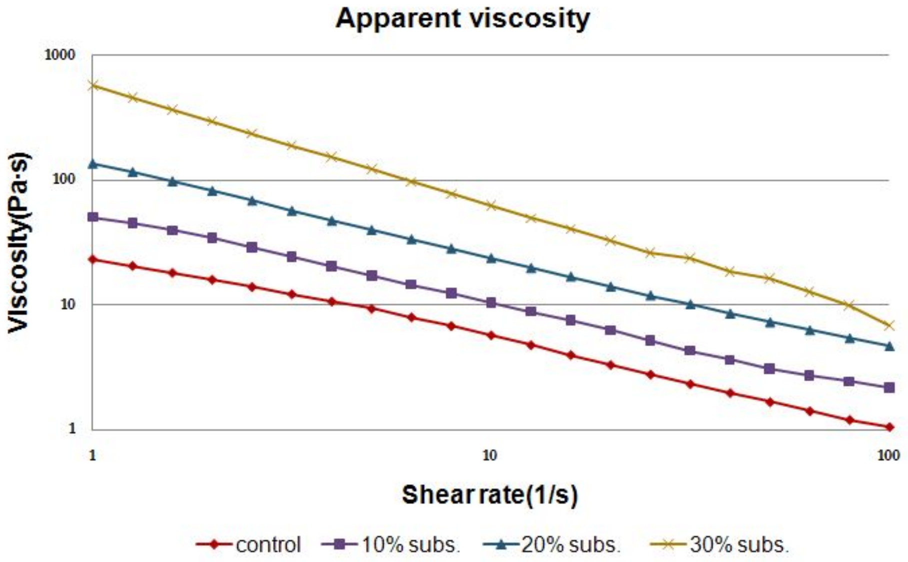
HPLC	Agilent 1100 series, CA, USA
Detector	RI Detector
Column	Bio Sep - SEC - S2000 & S4000
Mobile phase	Water
Flow rate	1 mL/min
Column temp.	40℃



○ HPLC를 이용하여 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 분자량 분포를 분석한 결과 retention time은 16.79 분 이었고 표준시료와 비교를 통하여 분자량이 220 kDa인 것을 확인함.

(6) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 유변학적 물성 측정

(가) 정상 유동 특성 (steady-shear viscosity) 분석



○ 밀가루를 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말로 10, 20, 30% 치환하여 batter를 만들어 shear rate에 따른 apparent viscosity를 측정함. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 함량이 높아질수록 viscosity가 증가 하였으며, shear rate이 증가함에 따라 viscosity 감소하는 shear-thinning 형태의 유동 특이성을 보여줌.

- Power law model

$$\sigma = \kappa(\dot{\gamma})^n$$

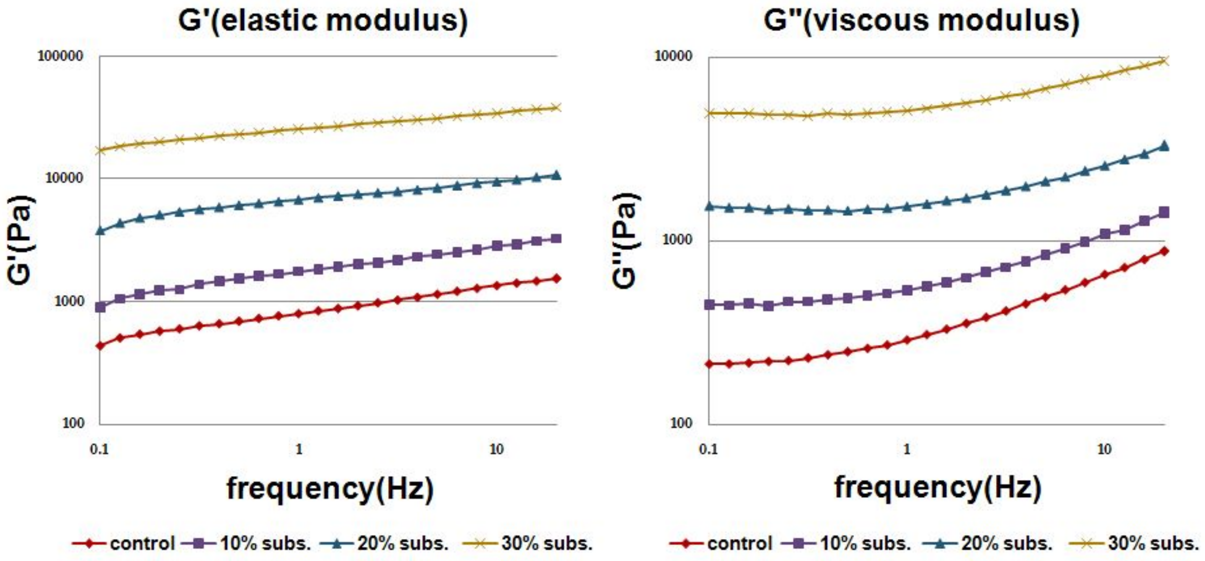
σ : Shear stress
κ : Consistency index
$\dot{\gamma}$: Shear rate
n : Flow behavior index

	κ	n	R^2
control	28.41d	0.284a	0.99
10% subs.	55.82c	0.281a	1.00
20% subs.	134.50b	0.260b	1.00
30% subs.	542.55a	0.083c	1.00

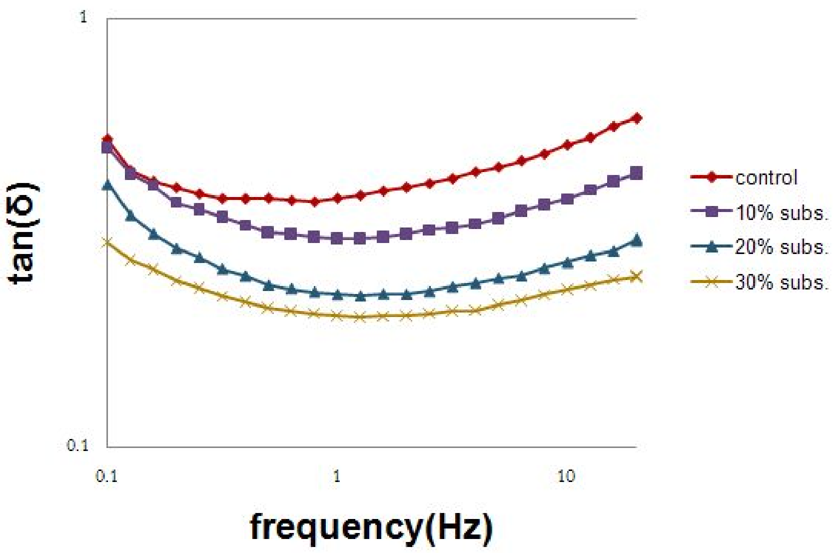
○ 베타글루칸 강화 분말의 유동특성은 Power law model에 매우 잘 적용됨(R2=1)을 알 수가 있었고, 이를 분석한 결과 베타글루칸 강화 참송이 분말의 함량이 높아질수록 k (flow consistency)가 증가하였으며 n (flow behavior index)값은 감소하는 경향을

보여줌. 또한 n (flow behavior index)값이 1보다 작은 범위에 모두 포함됨에 따라 shear-thinning 특성을 재확인할 수 있었음.

(나) 동적점탄성 (dynamic viscoelasticity) 분석



○ 밀가루를 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말로 10%, 20%, 30% 치환하여 batter를 만들어 frequency에 따른 G′(elastic modulus) 와 G″(viscous modulus)를 측정함. frequency가 증가할수록 G′, G″ 값 모두 증가하는 경향을 보여 frequency 의존성임을 확인하였고 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 함량이 많아질수록 G′, G″ 값이 증가하는 형태로 나타남.



○ 베타글루칸 강화 참송이 분말을 대체한 함량에 따른 batter의 점탄성 특성에서 측정된 G′, G″ 값에 상대적인 비(G″/G‘) 이용하여 계산한 tan(delta) 값을 분석한 결과 대체한 함량이 증가함에 따라 낮아지는 경향을 보였고, 이는 점점 더 탄성적인 성질이 강해짐을 나타냄.

나. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말과 다른 식품성분과의 상호작용 평가

(1) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말이 밀가루의 수화능에 미치는 영향

Sample	Water absorption index (WAI)	Water solubility (WS, %)	Swelling power (SP)
Control (weak flour)	1.63±0.03[d]	5.59±0.05[a]	1.72±0.03[d]
10% substitute	2.21±0.05[c]	4.69±0.04[b]	2.32±0.06[c]
20% substitute	3.03±0.14[b]	4.05±0.09[c]	3.16±0.15[b]
30% substitute	4.04±0.16[a]	3.43±0.12[d]	4.19±0.17[a]

○ 베타글루칸 강화 참송이 분말을 사용하여 밀가루를 대체한 결과 상온에서 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 함량이 많아질수록 수분흡수능과 팽윤력은 증가하였고 용해도는 감소함.

Sample	Water absorption index (WAI)	Water solubility (WS, %)	Swelling power (SP)
Control (weak flour)	9.09±0.25[a]	21.30±0.41[a]	11.55±0.38[a]
10% substitute	8.95±0.15[b]	20.00±0.45[b]	11.18±0.13[b]
20% substitute	8.36±0.22[c]	18.20±0.74[c]	10.22±0.18[c]
30% substitute	7.73±0.11[d]	15.98±0.38[d]	9.20±0.09[d]

○ 베타글루칸 강화 참송이 분말을 사용하여 밀가루를 대체 후 100℃에서 30 분 동안 가열하여 호화시켰을 경우 수화능에 미치는 영향을 분석하였다. 그 결과 밀가루를 대체하는 양이 늘어날수록 수분흡수능, 용해도, 팽화력 모두 감소하는 경향을 보임.

(2) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말이 밀가루의 유지흡착능에 미치는 영향

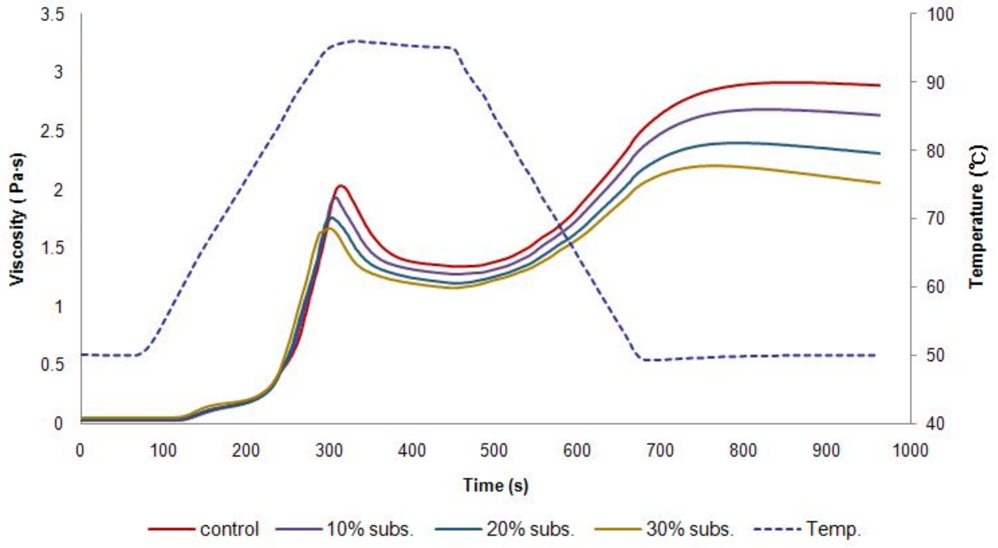
	Grape	Soybean	Corn	Canola	Olive
Control (weak flour)	1.79 ±0.02	1.77 ±0.02	1.79 ±0.02	1.82 ±0.04	1.84 ±0.05
10% substitute	2.44 ±0.03	2.38 ±0.03	2.41 ±0.02	2.47 ±0.02	2.43 ±0.05
20% substitute	3.18 ±0.04	3.15 ±0.04	3.14 ±0.02	3.19 ±0.03	3.20 ±0.05
30% substitute	4.13 ±0.08	4.04 ±0.06	4.07 ±0.04	4.11 ±0.02	4.07 ±0.05

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말에 식용유지(Grape, Soybean, Corn, Canola, Olive)을 첨가하여 30 분 동안 방치한 후 원심분리 하여 남은 유지와 유지를 머금은 부분으로 분리함. 유지 흡착능은 유지를 머금은 부분을 분말무게로 나누어 계산한 결과, 유지

종류별 흡착능의 차이는 보이지 않았고 베타글루칸 강화 참송이 분말 많이 치환될수록 유지 흡착능이 증가함.

(3) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말이 밀가루의 페이스트 특성에 미치는 영향

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 사용하여 밀가루를 대체 시 밀가루의 페이스트 특성에 미치는 영향을 분석하기 위하여 starch pasting cell을 사용하였으며 샘플을 10.7%농도로 만들어 50℃에서 1 분 동안 유지하고 3.75 분 동안 95℃까지 증가시킨 다음 95℃에서 2.5 분간 유지시킴. 다시 3.75 분 안에 50℃까지 낮추었고 50℃에서 5분간 유지시켰다. 위 각 구간동안 점도를 측정함.

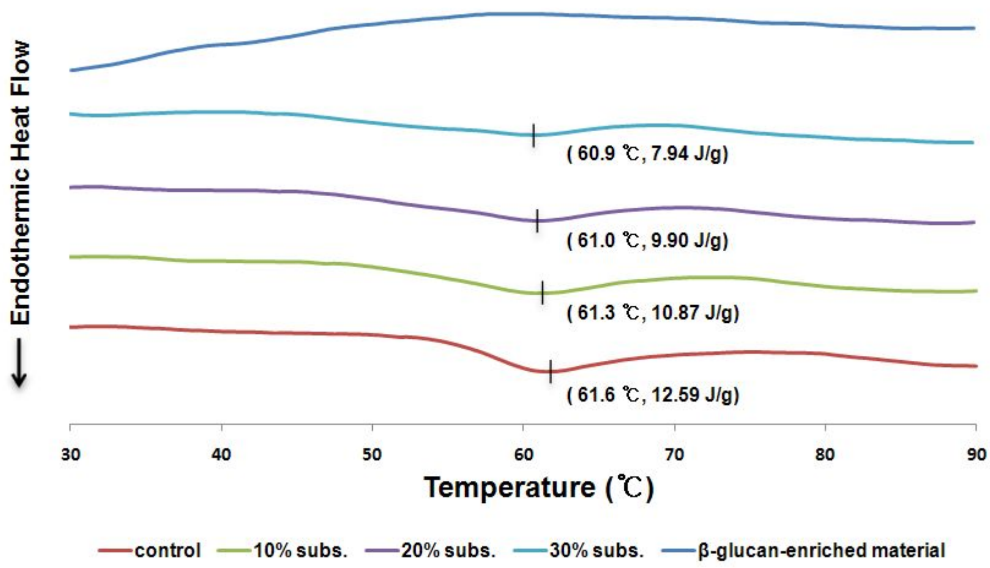


	Peak viscosity (Pa·s)	Final viscosity (Pa·s)	Break down (Pa·s)	Setback (Pa·s)	Peak time (s)
Control	2.06a	2.92a	0.72a	1.58a	312.5a
10% subs.	1.94b	2.69b	0.66b	1.41b	306.5b
20% subs.	1.75c	2.39c	0.56c	1.20c	303.0c
30% subs.	1.67d	2.20d	0.51d	1.05d	299.0d

○ 밀가루를 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말로 10%, 20%, 30% 대체하여 페이스트 형성능을 측정한 결과 Peak viscosity, Final viscosity, Break down, Setback, Peak time 모든 pasting parameter들이 감소하는 경향을 보임. 이는 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말로 대체하는 양이 많아지면 상대적으로 전분의 양이 감소하여 위와 같은 결과가 나타난 것으로 생각됨.

(4) 시차주사 열량계 (DSC)를 이용한 호화특성 분석

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 사용하여 밀가루를 대체 시 밀가루의 호화 특성에 미치는 영향을 분석하기 위하여 시차주사 열량계(Differential Scanning Calorimeter)를 사용함. Aluminum pan에 시료를 주입 후 밀봉한 다음 30℃에서 90℃(5℃/분)까지 가열함.



○ DSC(시차주사열량계)를 이용한 밀가루 대체 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 함량에 따른 열분석 결과 대체양이 증가할수록 Peak 온도가 감소하였으며 호화 시키는데 들어가는 에너지 또한 감소하는 경향을 보임. 그리고 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 열분석 결과 endothermic peak가 보이지 않는 것으로 보아 호화가 일어나지 않는 것을 확인할 수 있었음.

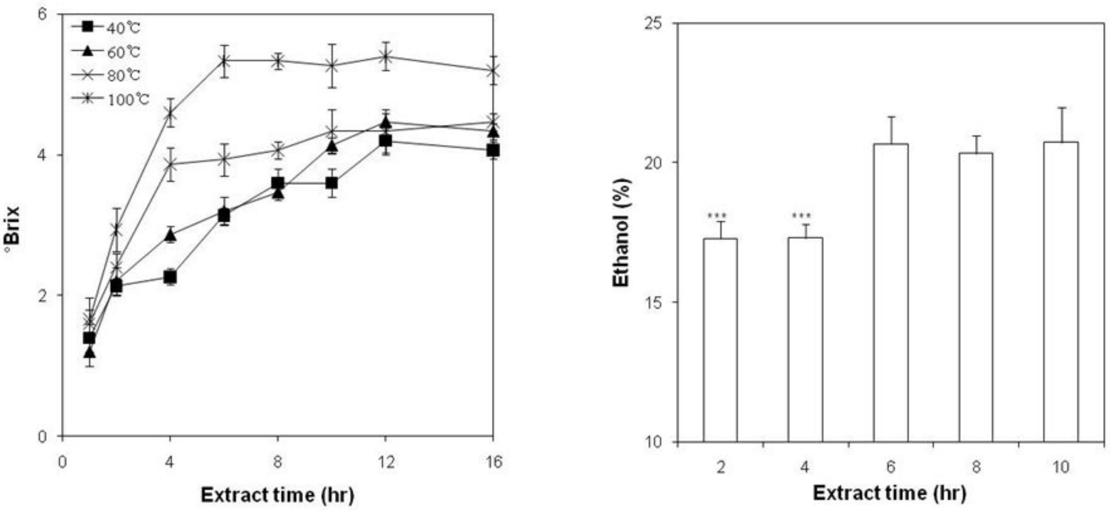
다. 발효조건(기질농도 등) 및 기간에 따른 특성(알코올, 유용성분, 색 등) 변화

(1) 참송이버섯 추출액의 발효 특성

○ 참송이버섯 10 g에 100 mL의 물을 가하여 40, 60, 80, 100℃에서 2시간 간격으로 최대 16시간까지 가열하여 다양한 조건의 열수추출액을 제조함.

○ 참송이버섯 추출액 제조조건을 결정하고자 추출 온도 및 시간에 따른 당도 변화를 조사한 결과(좌측), 추출 온도가 높아짐에 따라 추출액의 당도는 유의적으로 증가함($p<0.05$). 추출액의 당도는 40℃와 60℃에서는 추출 12시간, 80℃에서는 4시간, 100℃는 6시간까지 급격히 증가하다가 이후 가열시간이 증가하여도 당도 변화는 나타나지 않았음. 이러한 경향은 추출 온도가 증가함에 따라 버섯 세포 내 유용물질의 분리 및 용해도가 향상되고, 95℃이상의 높은 온도에서는 오히려 세포벽 분해 효소의 파괴로 수율이 저하됨에 따른 현상으로 사료됨.

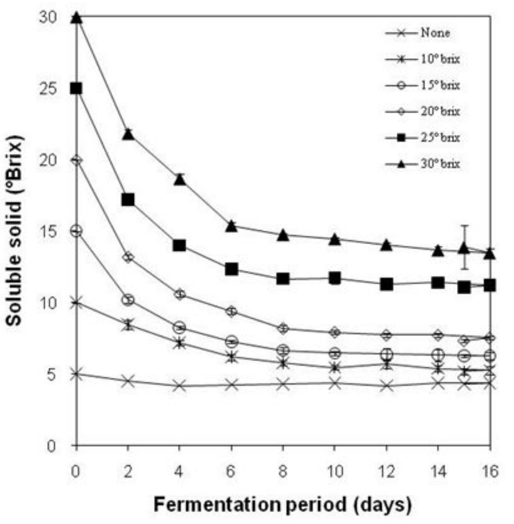
○ 버섯 열수추출액 제조 조건을 확인하고자 보당 후 추출시간에 따른 알코올 함량 변화를 조사한 결과(우측), 추출 6시간 이후부터는 유의적인 알코올 함량 증가를 보이지 않았음. 따라서, 본 연구에서 발효의 기질로 사용할 버섯 추출액은 100℃에서 6시간 추출하는 조건으로 결정함.

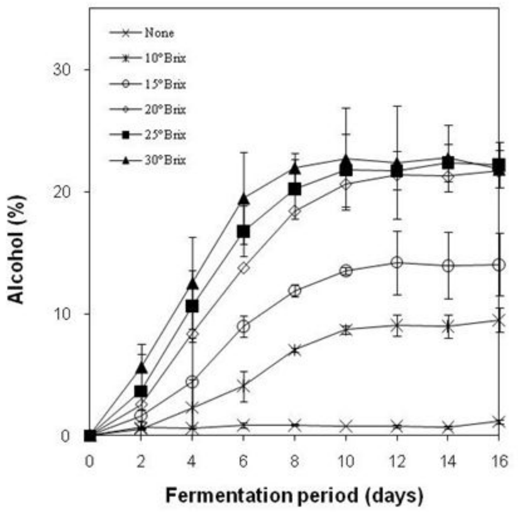


(2) 보당에 따른 알코올 발효 특성 변화

○ 본 연구에서 사용한 버섯 열수추출액의 보당정도에 따른 발효능을 조사하고자 벌꿀을 이용하여 추출액의 당도를 5, 10, 15, 20, 25, 30°Brix로 조절한 후 *Saccharomyces cerevisae*(EC1118, Lalvin, Australia)를 0.04%(w/v)의 농도로 첨가하고 25℃에서 15일 동안 알코올 생성능을 조사함. 알코올 함량 분석은 시료를 0.45 um membrane filter로 여과한 후 J&W Scientific DB-WAX silica column이 장착된 gas chromatograph를 이용하여 컬럼50℃, injector 230℃, detector 250℃에서 He을 carrier gas로 사용하여 분석함.

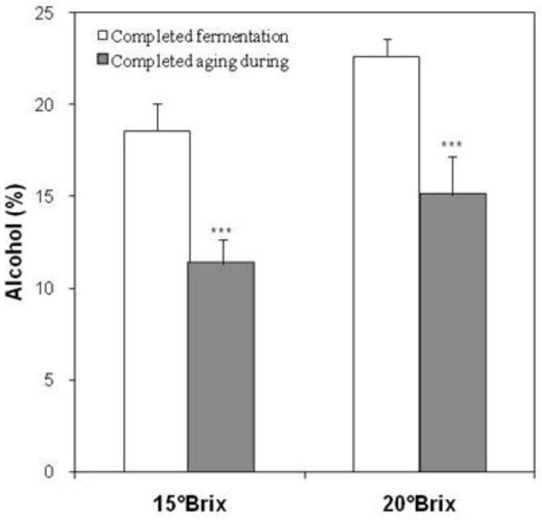
○ 발효주 제조 시 기질의 당도가 높을수록 알코올 생성량은 증가하지만, 과다하게 높을 경우 stuck fermentation 현상으로 인하여 관능적 특성 및 저장성에 영향을 주기 때문에 초기 당함량이 중요함. 보당을 하지 않은 열수추출액은 발효 15일 후에도 5°Brix를 유지하면서 1% 미만으로 거의 알코올 생성이 이루어지지 않았음. 10, 15, 20, 25, 30°Brix의 초기 당함량을 갖는 경우 각각 9, 14, 22, 22, 22%의 알코올이 생성된 반면, 당도는 각각 5, 6, 7, 11, 14°Brix로 감소함. 또한, 초기 당도 10, 15°Brix군은 발효 12일에 알코올 발효가 정지된 반면, 20-30°Brix군은 8일 이후 알코올 발효가 멈추었음. 이와 같이, 초기 당도가 높을수록 최대 알코올 함량에 도달하는 발효기간은 감소하였으나, 20°Brix 이상의 당도에서는 최종 알코올 생성능에서 유의적인 차이가 없었음. 초기 당도 25-30°Brix 이상에서는 오히려 고농도의 당함량이 삼투압작용을 유발하여 당내성이 약한 효모에서는 활성이 저해되어 알코올 발효가 더 이상 진행되지 않는다고 보고됨. 따라서, 참송이버섯 열수추출액을 발효주 제조에 적용 시 효율성을 고려하고, stuck fermentation 현상을 방지하기 위하여 15-20°Brix 범위로 보당하는 것이 적합하다고 판단됨.





(3) 숙성에 따른 알코올 발효 특성 변화

○ 15-20°Brix로 보당한 참송이버섯 열수추출액의 발효 후 숙성 과정에서의 알코올 함량 변화를 조사하고자 초기 당도 15와 20°Brix로 조정된 추출액에 *Saccharomyces cerevisae*를 0.04%(w/v)의 농도로 첨가하여 25℃에서 10일 동안 발효시킨 후, 100℃에서 10분 동안 열처리하여 12℃에서 10일 동안 숙성시킨 후 알코올 함량을 분석함.



○ 초기 당도 15와 20°Brix에서 제조한 발효주의 숙성 후 알코올 함량 변화는 각각 14%와 22%에서 11%와 15%로 감소하였다. 와인의 적정 알코올 함량은 13-15%로 보고되고 있으므로 본 연구에서도 숙성 과정에서 손실되는 알코올 함량을 고려하여 참송이버섯 발효주 제조를 위한 열수추출액의 초기 당도는 20°Brix로 결정함.

라. 베타글루칸 첨가에 따른 주류의 특성 변화

(1) 베타글루칸 첨가시기 및 첨가량을 다르게 제조한 발효주의 이화학적 특성

○ 참송이버섯 열수추출액을 기질로 알코올 발효를 진행함에 있어 베타글루칸을 첨가하는 시기와 첨가량에 따른 주류의 품질변화를 조사하고자 베타글루칸을 발효 전 1, 3, 5%, 발효 후 1, 2, 3%씩 첨가하여 발효주를 제조함. 분석항목으로는 알코올 함량(GC 이용), 환원당(DNS법), 당도(당도계), 총산도(phenolphthalein 지시약 사용, tartaric acid로 환산), pH (pH Meter) 등을 분석함.

○ 발효 전 베타글루칸을 첨가한 발효주의 알코올 함량은 21→25%로, 무첨가군에 비하여 1% 첨가 시 18%, 3%와 5% 첨가한 경우에는 8% 정도 높은 알코올을 생성함. 한편, 발효 후에 베타글루칸을 첨가한 경우에는 모든 시료에서 18%의 알코올 농도를 보여 첨가량에 따른 유의적인 차이가 없었음. 환원당 함량은 베타글루칸 첨가량이 증가함에 따라 발효 전 첨가군에서는 10.5→9.8 g/L로 감소한 반면, 발효 후 첨가군에서는 11.7→12.3 g/L로 증가함($p<0.05$). 당도는 베타글루칸 첨가량이 증가함에 따라 발효 전에는 8.5→7.6°Brix로 감소한 반면, 발효 후에는 9.5→12.3°Brix로 증가하여 환원당 결과와 유사한 경향을 보임($p<0.05$).

○ 이상과 같이, 발효 전 베타글루칸 첨가군에서는 베타글루칸 함량이 증가할수록 알코올 생성량은 증가하고, 환원당과 당도는 감소함. 그러나, 발효 후 첨가군에서는 베타글루칸 첨가량과 알코올 발효 간 상관성이 보이지 않았음. 따라서, 알코올 발효 과정에서 효모는 참송이버섯 열수추출액 외에 베타글루칸을 영양원으로 이용함을 알 수 있었으며, 첨가량 대비 효율을 고려했을 때 발효 전 1%의 베타글루칸 첨가가 적합한 것으로 판단됨.

○ 발효 전 베타글루칸을 첨가한 발효주의 총산도는 3.8→5.0 g/L로 증가한 반면, 발효 후 첨가군에서는 3.4→2.6 g/L로 감소함. 한편, pH는 발효 전 첨가한 그룹에서는 3.7→3.2로 감소하였으나, 발효 후 첨가시에는 4.1→4.8로 증가함으로써 총산도와 역의 관계를 보임. 효모는 발효 과정에서 알코올과 함께 다량의 유기산을 생성하는데, 발효 전 베타글루칸을 첨가함으로써 효모가 이용할 수 있는 기질의 총함량의 증가가 총산도의 증가 및 pH의 감소를 초래한 것으로 생각됨.

Sample		Alcohol (%)	Reducing sugar (g/L)	°Brix	Total acid (g/L)	pH
Before fermentation	1%	20.99±0.83^{b}	10.45±0.21^{b}	8.53±0.23^{b}	3.84±0.41^{b}	3.67±0.12^{bc}
	3%	21.97±1.50^{b}	10.08±0.11^{c}	8.07±0.12^{c}	4.73±0.31^{a}	3.37±0.15^{ab}
	5%	24.76±1.43^{a}	9.84±0.0.08^{d}	7.60±0.20^{d}	4.98±0.28^{a}	3.16±0.06^{a}
After fermentation	1%	17.40±1.61	11.67±0.17^{c}	9.47±0.12^{c}	3.37±0.47^{b}	4.14±0.07^{b}
	2%	17.56±1.47	12.02±0.16^{b}	11.17±0.90^{b}	2.85±0.46^{a}	4.48±0.14^{a}
	3%	17.82±0.57	12.30±0.13^{a}	12.33±0.31^{a}	2.60±0.24^{a}	4.75±0.16^{a}
Control		17.73±0.62^{c}	11.21±0.11^{a}	9.13±0.12^{a}	3.68±0.53^{b}	3.73±0.26^{c}

(2) 베타글루칸 첨가시기와 첨가량을 다르게 제조한 발효주의 숙성에 따른 이화학적 특성 변화

○ 참송이버섯 열수추출액을 기질로 알코올 발효를 진행함에 있어 베타글루칸을 첨가하는 시기와 첨가량에 따른 주류를 제조한 후 12℃에서 10일간 숙성한 다음 성분 변화를 조사함.

○ 발효 전 베타글루칸을 첨가하여 제조한 발효주의 숙성 후 알코올, 환원당, 총산도 및 pH는 첨가량이 증가함에 따라 각각 21→25%에서 18→20%, 10.5→9.8 g/L에서 10.2→9.6 g/L, 8.5→7.6°Brix에서 7.7→6.7°Brix, 3.8→5.0 g/L에서 4.7→5.8 g/L, 3.7→3.2에서 3.6→2.9로 감소함.

○ 발효 후 베타글루칸을 첨가하여 제조한 발효주의 숙성 후 알코올, 환원당, 및 pH는 첨가량이 증가함에 따라 각각 18%에서 17%, 11.7→12.3 g/L에서 11.4→12.0 g/L, 9.5→12.3°Brix에서 8.7→10.9°Brix, 4.1→4.8에서 3.9→4.5로 약간 감소하였으나, 총산도는 3.4→2.6 g/L에서 3.8→3.3 g/L로 증가함.

Sample		Alcohol (%)	Reducing sugar (g/L)	°Brix	Total acid (g/L)	pH
Before fermentation	1%	17.74±0.91[bc]	10.17±0.17[b]	7.73±0.12[a]	4.73±0.55[b]	3.57±0.13[b]
	3%	18.85±2.11[ab]	9.75±0.09[c]	7.20±0.20[b]	5.17±0.28[a]	3.32±0.10[a]
	5%	19.89±1.20[a]	9.56±0.14[d]	6.73±0.12[c]	5.78±0.36[a]	2.89±0.06[a]
After fermentation	1%	16.47±0.96	11.39±0.17[b]	8.73±0.31[c]	3.77±0.35[c]	3.90±0.10[b]
	2%	16.55±0.73	11.93±0.11[c]	9.67±0.31[b]	3.47±0.16[b]	4.13±0.11[b]
	3%	17.21±0.74	12.04±0.08[d]	10.93±0.61[a]	3.28±0.16[a]	4.53±0.38[a]
Control		16.49±1.09[c]	10.82±0.17[a]	8.00±0.20[a]	4.20±0.44[c]	3.67±0.10[c]

○ 베타글루칸 첨가시기와 첨가량을 다르게 제조한 발효주의 숙성 후 베타글루칸과 총페놀 함량의 변화를 분석함.

○ 발효 전 베타글루칸을 첨가한 발효주의 베타글루칸 함량은 0.9→1.5%로, 무첨가군에 비하여 3% 및 5% 첨가군에서 각각 10% 및 9%의 증가량을 보였으나 유의적인 차이는 없었음. 한편, 발효 후에 베타글루칸을 첨가한 경우에는 1.5→2.2%로 첨가량이 1, 2, 3%로 증가함에 따라 50%, 100%, 120%까지 향상됨. 이상과 같이, 발효 전에 베타글루칸을 첨가하는 경우보다 발효 후에 첨가할 때 발효주 내에 잔존하는 베타글루칸의 함량보다 높았으며, 발효 후 3% 이상은 첨가하여도 첨가량 대비 효율면에서 저하됨. 또한, 알코올 발효 과정에서 효모가 베타글루칸을 영양원으로 이용하기에 발효 전에 베타글루칸을 첨가하는 것은 잔존량을 증가시키기 보다는 알코올 생성능에 더 큰 영향을 미침을 알 수 있었음.

○ 발효 전 베타글루칸을 첨가한 발효주의 총페놀화합물은 1,100→1,700 GAE mg/L로, 무첨가군에 비하여 1, 3, 5% 첨가 시 각각 41%, 22%, 31%씩 증가하여 1% 첨가군의 잔존효율이 가장 높았음. 한편, 발효 후에 베타글루칸을 첨가한 경우에는 1,300→2,300

GAE mg/L로 첨가량이 1, 2, 3%로 증가함에 따라 50%, 100%, 120%까지 향상됨. 따라서, 베타글루칸 함량 결과와 유사하게 총페놀화합물의 경우에도 발효 후에 첨가하는 것이 효율적으로 판단됨.

○ 숙성 후 베타글루칸과 총페놀화합물의 변화는 발효 전 첨가한 발효주에서 각각 0.9→1.5%에서 0.8→1.1%, 1,100→1,700 GAE mg/L에서 970→1,600 GAE mg/L, 발효 후에 첨가한 발효주에서 각각 1.5→2.2%에서 1.2→1.8%, 1,300→2,300 GAE mg/L에서 1,200→2,000 GAE mg/L로 모든 시료에서 감소하는 경향을 보임.

Sample		Fermentation		Aging	
		β-Glucan (%)	Total phenolics (GAE mg/L)	β-Glucan (%)	Total phenolics (GAE mg/L)
Before fermentation	1%	0.92±0.08[b]	1,111±133[c]	0.83±0.04[b]	967±66[c]
	3%	1.37±0.27[a]	1,324±86[b]	1.05±0.10[a]	1,203±46[b]
	5%	1.54±0.05[a]	1,706±60[a]	1.12±0.08[a]	1,559±35[a]
After fermentation	1%	1.50±0.10[c]	1,321±46[c]	1.22±0.04[b]	1,219±65[c]
	2%	1.90±0.06[b]	1,564±61[b]	1.66±0.09[a]	1,558±84[b]
	3%	2.17±0.04[a]	2,275±238[a]	1.80±0.03[a]	2,053±160
Control		1.04±0.13[b]	791±45[d]	0.82±0.03[b]	742±66[d]

○ 이상과 같이, 베타글루칸과 페놀계 화합물은 버섯 내 주요 생리활성 성분으로 면역증강과 암세포 독성 작용 및 라디컬 소거능과 연계된 항산화 작용을 통하여 항암, 노화방지, 동맥경화예방 등의 효능을 보임. 따라서, 본 연구에서 베타글루칸 첨가에 따른 발효주의 기능 성분 함량 증가는 향 후 발효주의 건강기능성에 유효한 효능을 보일 것으로 기대됨.

(3) 참송이버섯 발효주의 향기성분 분석

○ 참송이버섯 발효주의 향기성분 분석은 SPME를 이용하여 휘발성 향기성분을 추출하고, GC-MS법으로 비교 분석함. 50 mL Headspace flask에 완성된 발효주 시료를 넣고 teflon cap으로 밀봉 후 40℃에서 40분간 방치 후, SPME fiber를 1 cm 노출시켜 30분 동안 향기성분을 취하여 200℃ injector port에서 fiber를 노출시켜 1분 동안 탈착시킴. Column은 DB-5MS와 DB-WAX를 사용하였고, oven 온도는 40℃에서 5분간 유지한 후 200℃까지 5℃/min의 속도로 승온시켜 20 분간 유지함. Injector 온도는 200℃, detector 온도는 250℃이었으며, carrier gas로는 helium을 사용하였고, 유속은 0.8 mL/min, Ionization voltage는 70 eV, 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33-350으로 분석함.

○ 참송이버섯 열수추출액으로만 발효한 무첨가군과 발효 전후에 1%의 베타글루칸을 첨가하여 제조한 발효주의 휘발성 향기성분을 측정한 결과, ethyl alcohol, isoamyl alcohol, ethyl octylate, acetic acid, ethyl acetate, 3-methyl-1-butanol, hexanoic acid 등이

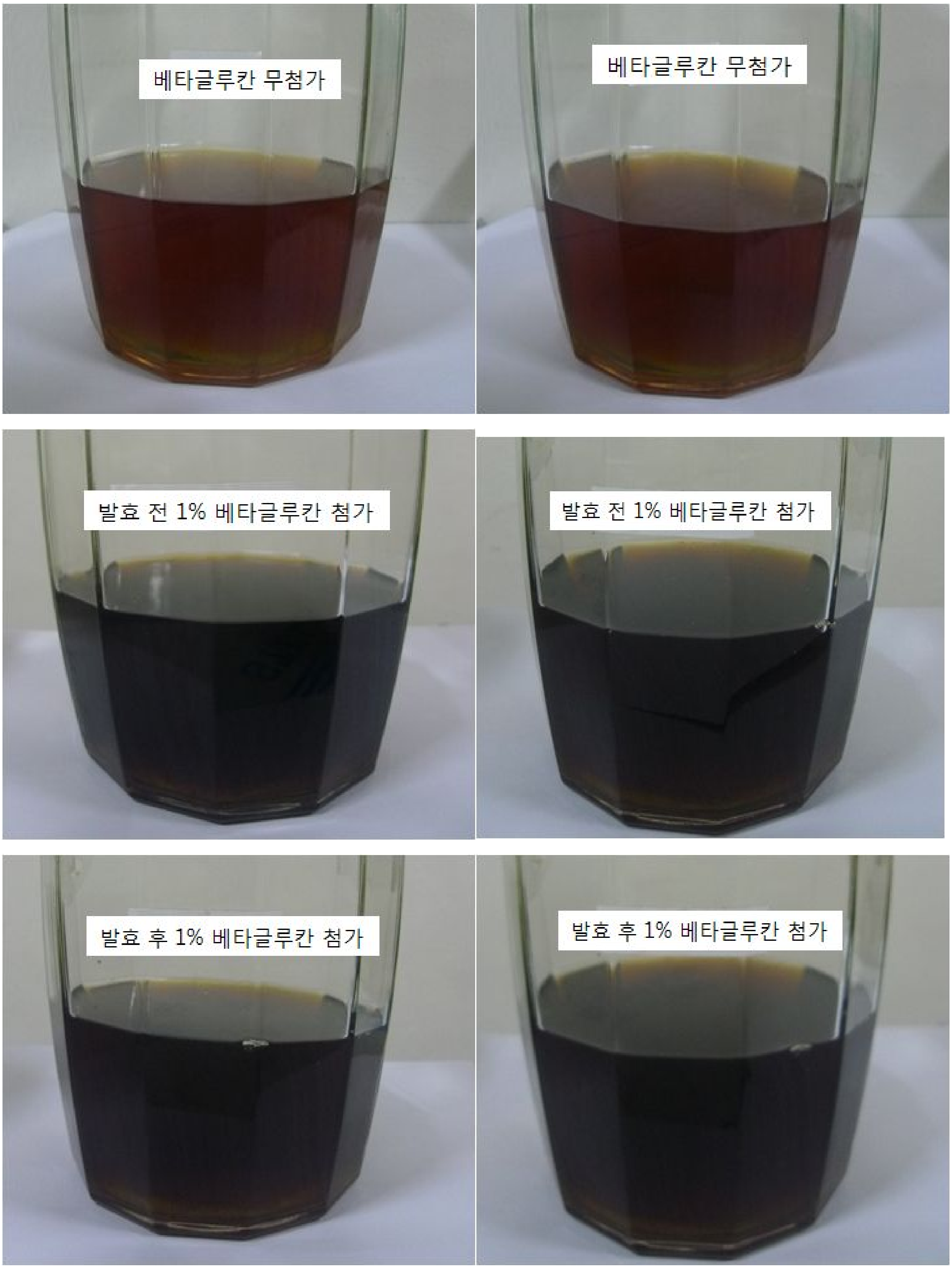
모든 시료에서 다량 검출됨. Isoamyl alcohol은 감미 있는 바나나향을 나타내며, 기질 내 아미노산인 leucine으로부터 효모 발효 과정을 통해 생성된 물질임. Ethyl acetate는 과실 에센스, 과즙, liquor, 탄산음료, 과자 등의 향료로 널리 이용되는 저급 지방산이 에탄올과 효모의 작용으로 ester화 되어 생성되는 물질로 민속소주, 일본소주, 청주 등의 주요한 향미성분으로 분류됨. 효모가 관여하는 발효공정과 열화학 반응 등에 의하여 생성되는 자극취의 성분인 acetaldehyde는 모든 시료에서 검출되지 않았음.

○ 향기성분 종류별로 함량변화를 분석해보면, pentadecane, octanoic acid, ethyl octylate, ethyl octanoate, 2-phenylethyl acetate, decanoic acid, isoamyl octanoate, isopropyl ester, ethyl ester는 무첨가군→발효 전 베타글루칸 첨가군→발효 후 첨가군의 순으로 감소하는 경향을 보임. 반면, ethyl acetate, acetic acid, isoamyl alcohol, 2-methylbutan-1-OL, 2,3-butanediol, 3-methyl-1-butanol, hexanoic acid, phenylethyl alcohol, ethyl decanoate, dodecanoic acid, isopropyl myristate, hexadecanoic acid는 무첨가군→발효 전 베타글루칸 첨가군→발효 후 첨가군의 순으로 증가함. 발효 전 베타글루칸 첨가군의 경우에는 ethyl alcohol과 tetradecanoic acid만이 다른 발효주에 비해 높게 함유됨. 특히, 베타글루칸 첨가에 의해 decanoic acid는 급격히 감소한 반면, ethyl decanoate는 감소하는 경향을 보임.

No.	RT	Compound	Sample (unit: peak area %)		
			Control	Before fermentation (1% β-glucan)	After fermentation (1% β-glucan)
1	4.403	ethyl alcohol	47.07	53.84	48.48
2	6.258	ethyl acetate	1.99	2.24	2.52
3	7.019	acetic acid	2.13	2.59	3.26
4	9.720	isoamyl alcohol	2.10	3.90	5.92
5	9.868	2-methylbutan-1-OL	0.14	0.21	1.55
6	11.915	2,3-butanediol	0.09	0.25	0.58
7	15.084	3-methyl-1-butanol	1.17	1.67	2.30
8	19.619	hexanoic acid	1.43	1.53	1.69
9	23.736	phenylethyl alcohol	2.10	2.48	3.20
10	23.947	pentadecane	0.83	0.51	0.37
11	25.434	octanoic acid	1.30	0.67	0.59
12	26.168	ethyl octylate	21.09	14.77	13.56
13	28.000	ethyl octanoate	0.72	0.43	0.37
14	28.941	2-phenylethyl acetate	1.27	0.76	0.37
15	30.891	decanoic acid	13.05	0.14	0.12
16	31.775	ethyl decanoate	0.13	9.01	10.14
17	33.134	isoamyl octanoate	1.66	0.09	trace
18	36.762	dodecanoic acid	0.03	1.94	2.23
19	38.019	isopropyl ester	0.07	0.03	0.02
20	41.113	ethyl ester	0.59	0.24	0.08
21	42.306	tetradecanoic acid	trace	0.43	trace
22	43.378	isopropyl myristate	0.44	0.35	0.73
23	51.677	hexadecanoic acid	0.59	0.64	1.64

(4) 참송이버섯 발효주의 색상 변화

<발효 후> <숙성 후>

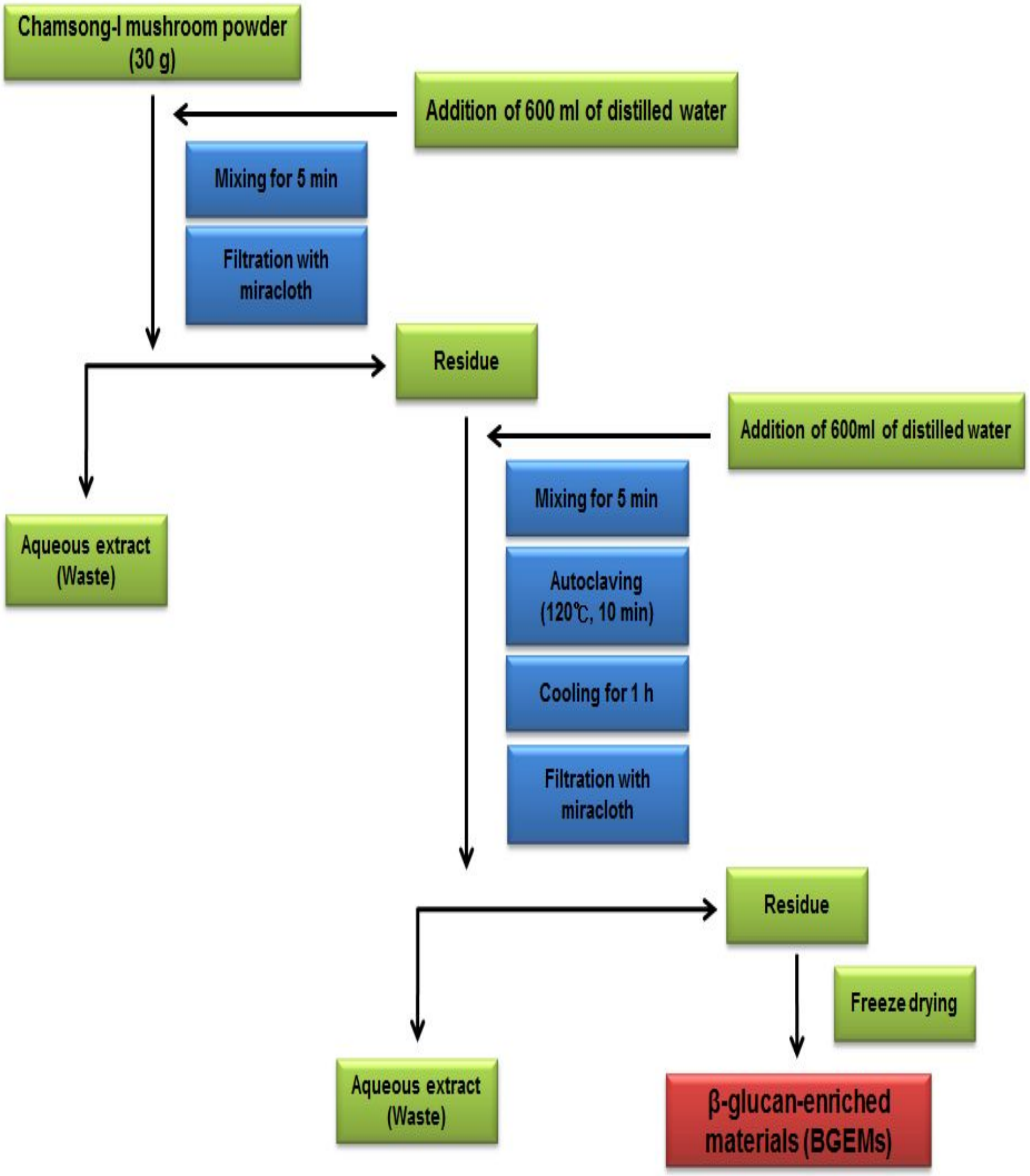


○ 참송이버섯 발효주의 베타글루칸 첨가조건 및 숙성에 따른 색도변화는 육안으로 관찰한 결과, 베타글루칸 무첨가군에 비해 첨가군의 색이 더욱 진하였으며, 숙성에 따른 변화는 보이지 않았음.

3. 베타글루칸 강화 참송이버섯 소재를 이용한 흡유 저감 유탕면류 및 고부가 기능성 주류 개발

가. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 첨가에 따른 유탕 면류 제조

(1) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 제조



○ 본 연구에서 개발한 물리적 처리방법은 화학용매를 전혀 사용하지 않고 순수한 물리적 처리방법으로만 베타글루칸을 추출하는 공정으로서 기존의 베타글루칸 추출 방법인 알칼리 추출법이나 열수추출법에 비하여 추출공정도 훨씬 단순하며 추출시간도 단축함.

○ 참송이버섯에는 건중량 대비 20-25% 정도의 베타글루칸이 함유되어 있는데, 본 연구에서 개발된 공정을 통하여 추출한 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말은 베타글루칸 함량이 48.62%로 약 2 배 정도로 함량이 증가됨.

(2) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 첨가한 유탕면의 Formulation과 유탕면의 외관

(가) 유탕면의 Formulation

	Control	2% BGEMs	4% BGEMs	6% BGEMs
Medium flour	50 g	49 g	48 g	47 g
BGEMs	0 g	1 g	2 g	3 g
Water	20 g	20 g	20 g	20 g
NaCl	0.75 g	0.75 g	0.75 g	0.75 g

○ 본 연구에서 개발된 버섯 베타글루칸 고함유 소재로 밀가루(중력분)를 0%, 2%, 4%, 6% 대체하여 유탕면 (중력분 50 g, 물 20 g, 소금 0.75 g)을 제조함.

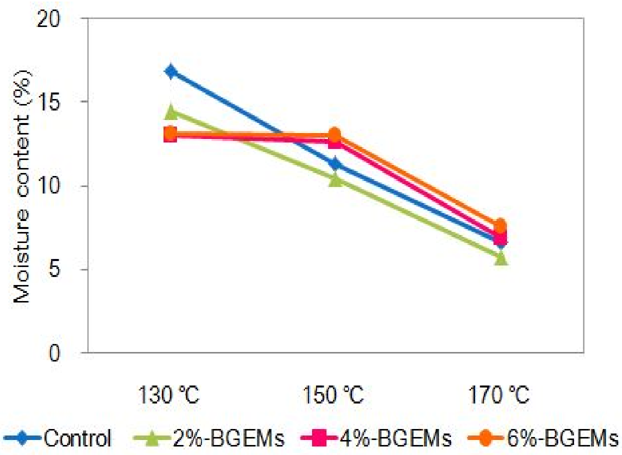
(나) 생면과 유탕면의 외관

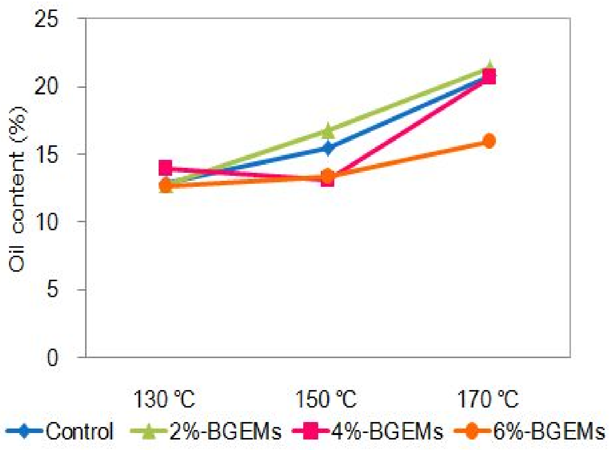
	Control	2% BGEMs	4% BGEMs	6% BGEMs
생면				
유탕면				

○ 유탕처리 후, 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 함량이 증가할수록 control과 비교하여 모양을 잘 유지하고 기포도 거의 생성되지 않음.

(3) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 첨가한 유탕면의 유탕처리 조건(온도 및 시간)에 따른 흡유 정도 분석

(가) 유탕 처리 온도에 따른 유탕면의 흡유율과 수분함량 분석





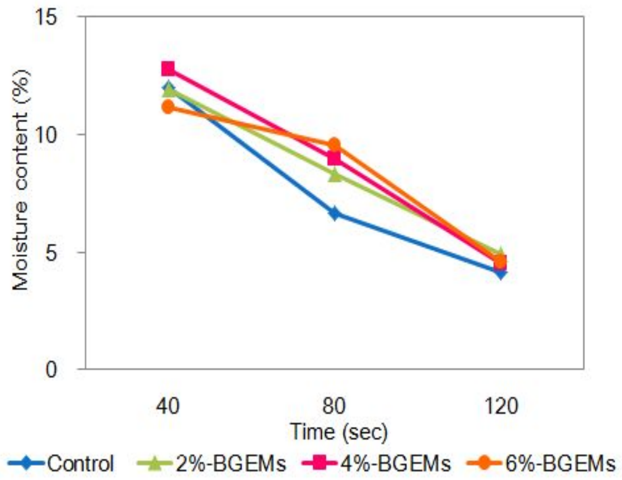
	Moisture content(%)			Oil content(%)		
	Frying temperatures(℃)			Frying temperatures(℃)		
	130	150	170	130	150	170
Control	16.90	11.34	6.65	12.87	15.43	20.84
2% BGEMs	14.42	10.46	5.71	12.71	16.76	21.34
4% BGEMs	13.03	12.61	6.91	13.97	13.06	20.62
6% BGEMs	13.15	13.04	7.59	12.67	13.30	15.99

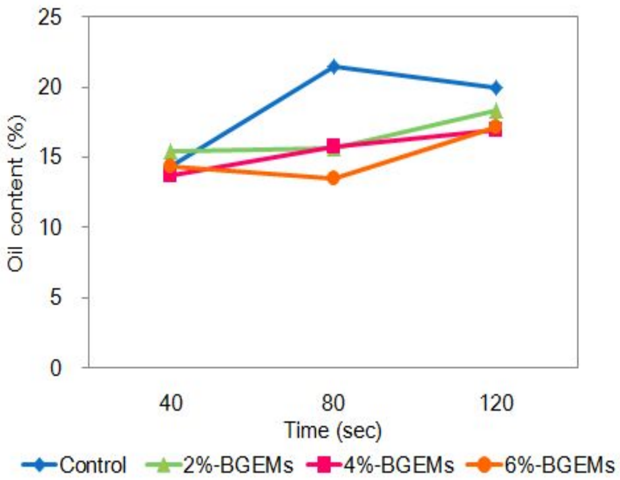
○ 유탕 처리 온도에 따른 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 첨가한 유탕면의 흡유율과 수분함량을 분석하기 위하여 유탕 처리 온도를 130, 150, 170℃로 하여 제조한 유탕면의 수분함량과 지방함량을 측정함.

○ 수분함량의 경우에는 유탕 처리 온도가 증가할수록 수분함량은 감소하는 경향을 보였으나 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 밀가루의 4%, 6% 대체 시 130℃ 와 150℃에서 유탕면의 수분함량은 비슷함.

○ 흡유율은 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 밀가루의 4%, 6% 대체 시 170℃에서 제조한 유탕면과 비교하여 130℃ 와 150℃에서 유탕 처리한 샘플의 지방함량이 낮게 측정되었고, 또한, 150℃에서는 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 함량이 증가할수록 흡유량이 낮아지는 경향을 보임.

(나) 유탕 처리 시간에 따른 유탕면의 흡유율과 수분함량 분석





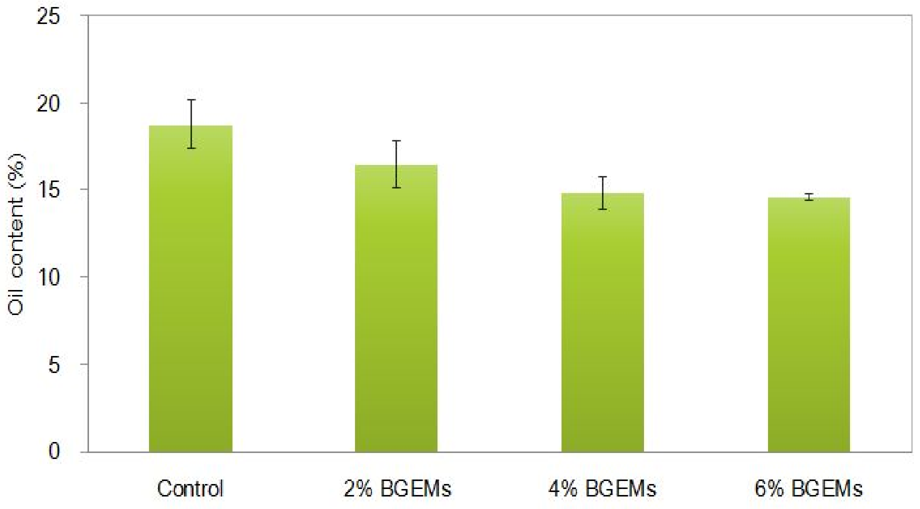
	Moisture content (%)			Oil content (%)		
	Frying times (sec)			Frying times (sec)		
	40	80	120	40	80	120
Control	12.01	6.65	4.13	14.37	21.42	20.00
2% BGEMs	11.89	8.29	4.90	15.43	15.62	18.31
4% BGEMs	12.76	8.97	4.53	13.73	15.77	16.94
6% BGEMs	11.17	9.56	4.61	14.33	13.52	17.19

○ 유탕처리 시간에 따른 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 첨가한 유탕면의 흡유율과 수분함량을 분석하기 위하여 유탕 처리 온도 150℃에서 각각 40, 80, 120 초로 유탕 처리한 유탕면의 수분함량과 지방함량을 측정함.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말이 첨가된 유탕면의 유탕 처리 시간에 따른 수분함량과 흡유율을 측정하였더니 수분함량은 유탕처리 온도가 증가할수록 감소하는 경향을 보였고 오일함량은 증가하는 경향을 보임.

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말이 함유된 유탕면은 유탕처리 시간이 40 초와 120 초일 경우 control과 샘플들 간의 차이가 거의 없었고, 유탕처리 80 초 근처에서는 수분함량과 흡유율 모두 control 과 큰 차이를 보여줌.

(4) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 첨가한 유탕면의 흡유 정도 분석



	Control	2% BGEMs	4% BGEMs	6% BGEMs
Oil content (%)	18.71±1.39a	16.44±1.33ab	14.82±0.94b	14.60±0.20b

○ 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 밀가루 대체량에 따른 유탕면의 흡유율을 분석하기 위하여 유탕 처리 온도 150℃에서 50 초간 유탕 처리한 유탕면을 Soxhlet 방법(AOAC, 2002)으로 지방함량을 측정함.

○ 그 결과, 참송이버섯 베타글루칸 고함유 소재를 첨가한 유탕면은 흡유량이 줄어드는 것을 확인함. 특히, 4% 이상 첨가 시 흡유량이 현저히 낮아졌는데, 이는 control에 비하여 21%에 해당하는 흡유 저감효과를 나타냄.

다. 참송이 분말 함유 유탕 면류의 식품학적 품질 평가

(1) 유탕면의 색

	Control	2% BGEMs	4% BGEMs	6% BGEMs
L*	82.27±0.94a	69.87±1.34b	63.33±1.57c	59.51±1.03d
a*	-2.60±0.18d	1.45±0.10c	3.05±0.22b	3.88±0.16a
b*	20.13±0.27c	20.68±0.68bc	21.47±0.44ab	21.93±0.47a
Chroma	20.30±0.77b	20.73±0.53	21.68±0.72a	22.27±0.67a
Hue angle	-82.64±0.58d	86.00±0.39a	81.92±0.64b	79.96±0.51c
△E	0.00±0.00d	13.07±1.43c	19.83±1.64b	23.74±1.53a

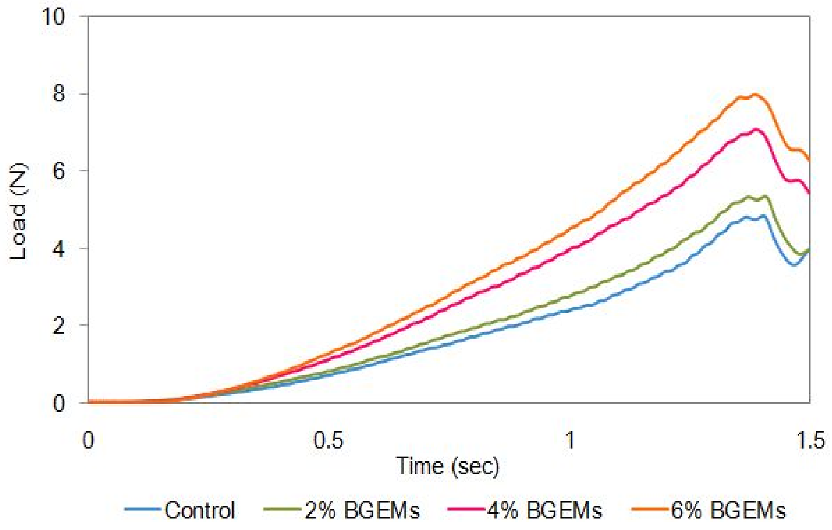
○ Color chromameter를 사용하여 베타글루칸 강화 참송이 분말 함량에 따른 유탕면의 색을 측정하여 L*, a*, b* value을 얻었고, 이 결과로 Chroma, Hue angle, △E value을 계산함.

○ L value 가 감소하는 것으로 보아 베타글루칸 강화 참송이 분말의 밀가루 대체 비율이 높아질수록 유탕면의 색의 밝기가 어두워지는 경향을 보였고, a value 와 b value가 감소하는 경향으로 보아 함량이 증가할수록 노란색 계열, 붉은색 계열로 짙어지는 것을 확인함.

○ 이 결과를 응용하여 Chroma, Hue angle, △E value를 계산해 보면 베타글루칸 강화 참송이 분말의 밀가루 대체 비율이 높아질수록 Chroma(채도)가 유의적으로 증가하고, Control과 샘플간의 색의 차이를 나타내는 △E value 또한 유의적으로 증가함을 확인함.

(2) 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말이 첨가된 유탕면의 텍스처 분석

(가) 생면의 텍스처 측정

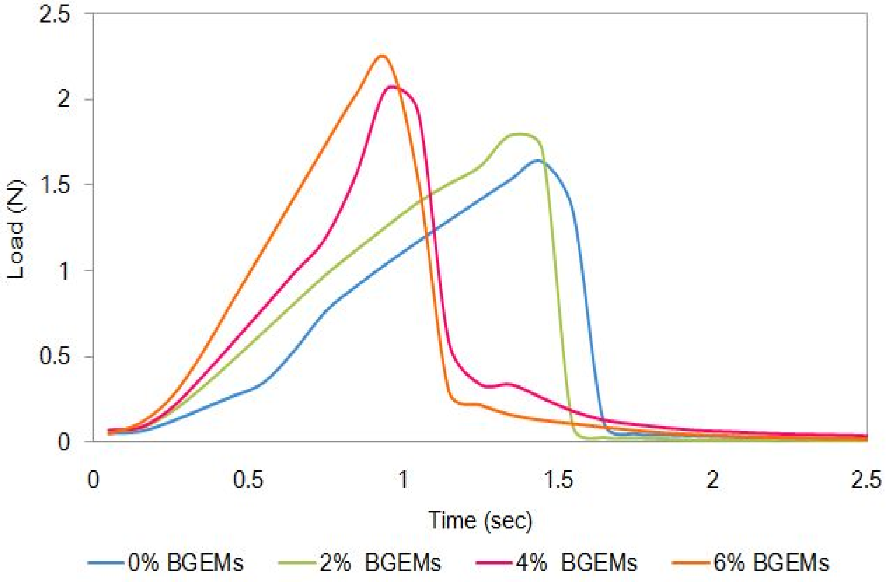


	Control	2% BGEMs	4% BGEMs	6% BGEMs
Hardness(N)	4.88±0.63d	5.35±0.39c	6.97±0.52b	8.33±1.20a

○ 스팀 처리하기 전의 생면을 Texture analyzer의 platform에 올려놓고 둥근 가장자리 blade로 속도 50 mm/min, 70%의 변형율로 Compression test를 실시함.

○ 그 결과 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 함량이 증가할수록 Hardness(N) 또한 유의적으로 증가하는 경향을 보임.

(나) 유탕면의 텍스처 측정



	Control	2% BGEMs	4% BGEMs	6% BGEMs
Hardness (N)	1.87±0.29b	1.87±0.35b	1.95±0.42ab	2.19±0.30a

○ 유탕면의 텍스처를 측정하기 위하여 three-point break test를 실시한 결과 4% 유탕면까지는 control과 비교하여 유의적인 차이는 없었으나, 6%는 다른 유탕면 샘플들과 비교하여 유의적으로 가장 높은 Hardness (N) 가 측정됨.

(다) 유탕면의 Breaking stress 분석

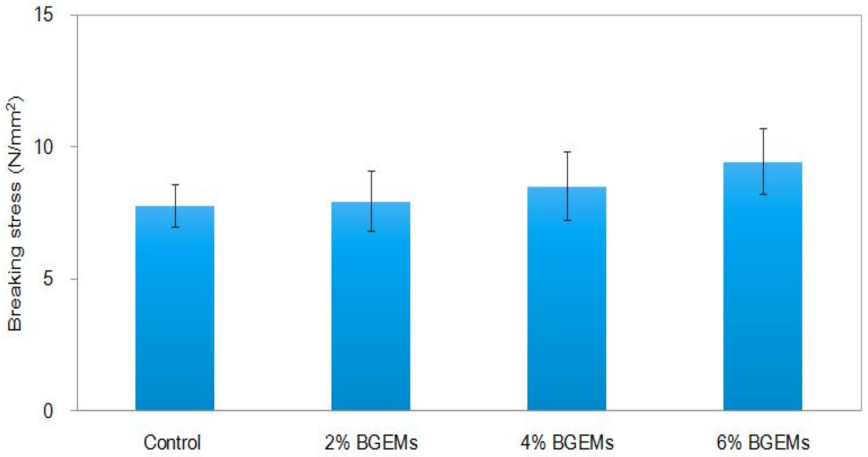
$$\text{Breaking stress (N/mm}^2) = \frac{3FL}{2WT^2}$$

F : Applied force (N)

L : Length (mm)

W : Width (mm)

T : Thickness of noodle stick (mm)

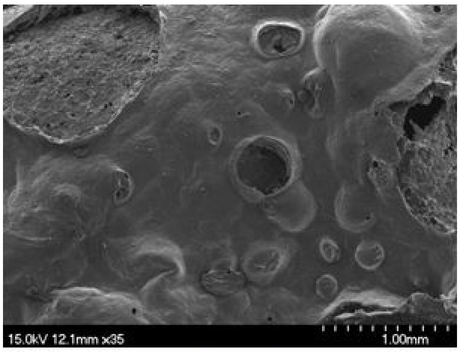


	Control	2% BGEMs	4% BGEMs	6% BGEMs
Breaking stress (N/mm^2)	7.75±0.82b	7.93±1.15b	8.50±1.31ab	9.44±1.25a

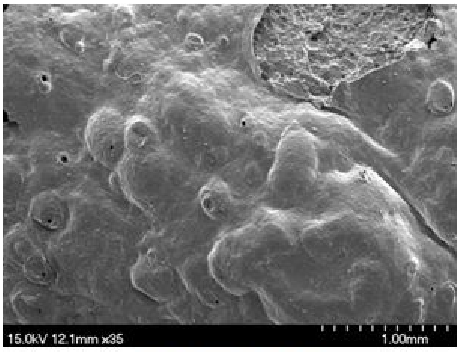
○ 유탕면을 three-point break test를 실시한 결과로 Breaking stress (N/mm2)를 분석함. 4%의 유탕면 샘플까지는 control과 비교하여 유의적인 차이는 없었으나, 6%는 다른 샘플들과 비교하여 유의적으로 가장 높은 Breaking stress (N/mm^2)가 측정됨.

(3) Scanning Electron microscope (SEM)을 이용한 유탕면의 표면과 내부 구조 분석

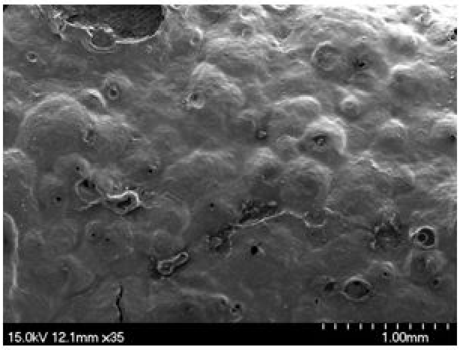
(가) 유탕면의 표면



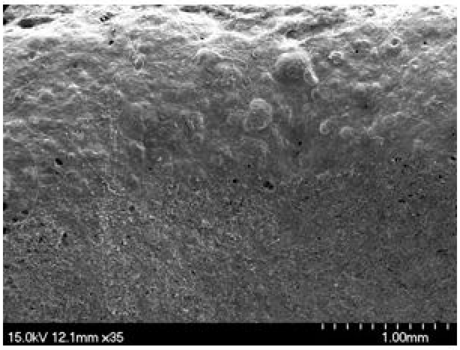
< Control >



< 2% BGEMs >



< 4% BGEMs >

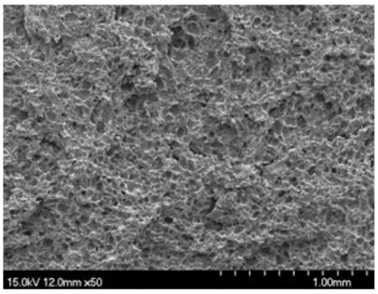


< 6% BGEMs >

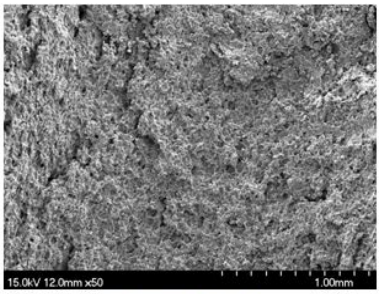
○ Scanning Electron microscope (SEM)로 유탕면의 표면을 관찰하기 위하여 유탕면 제조 후, ethyl ether에 12 시간 동안 담가 지방을 제거하고, 동결건조 후 15 nm의 백금 코팅을 함.

○ Control 유탕면의 경우에는 표면에 크고 불규칙한 크기의 기포가 나타나지만, 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 이용한 밀가루 대체 비율이 높아질수록 유탕면의 표면은 기포의 크기가 줄어들고 표면 또한 평평해 지는 것을 확인함.

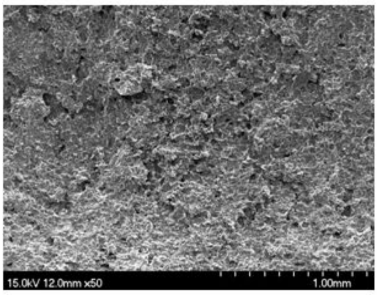
(나) 유탕면의 내부



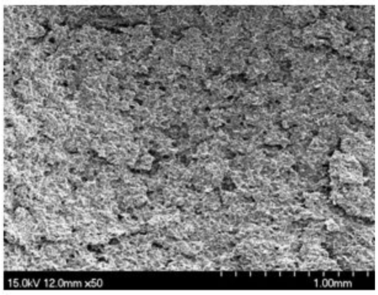
< Control >



< 2% BGEMs >



< 4% BGEMs >

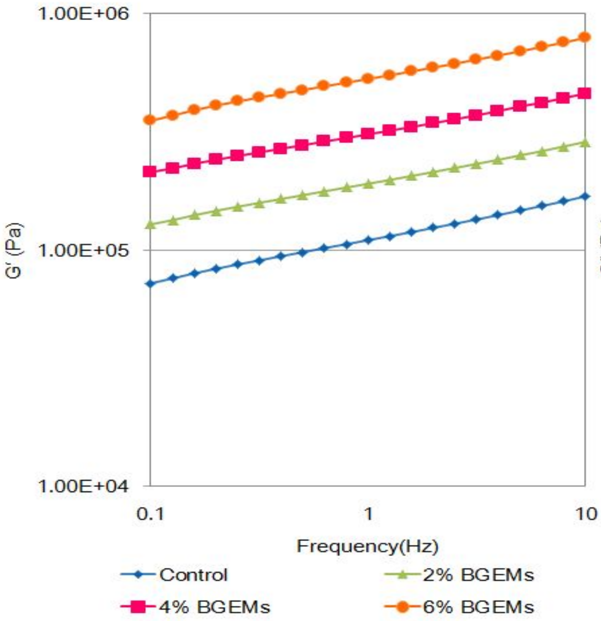


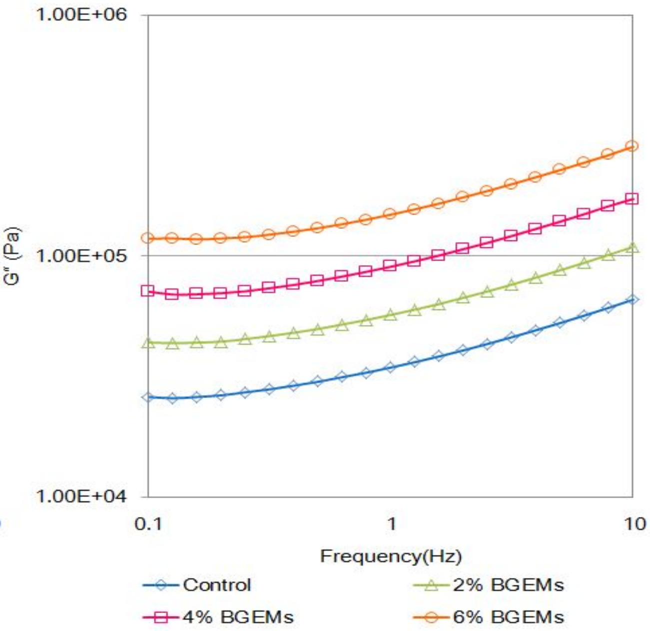
< 6% BGEMs >

○ 유탕면의 내부구조의 경우에는 샘플 간에 특별한 차이는 관찰되지 않음.

라. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말이 첨가된 유탕면 dough의 물성학적 특성 평가

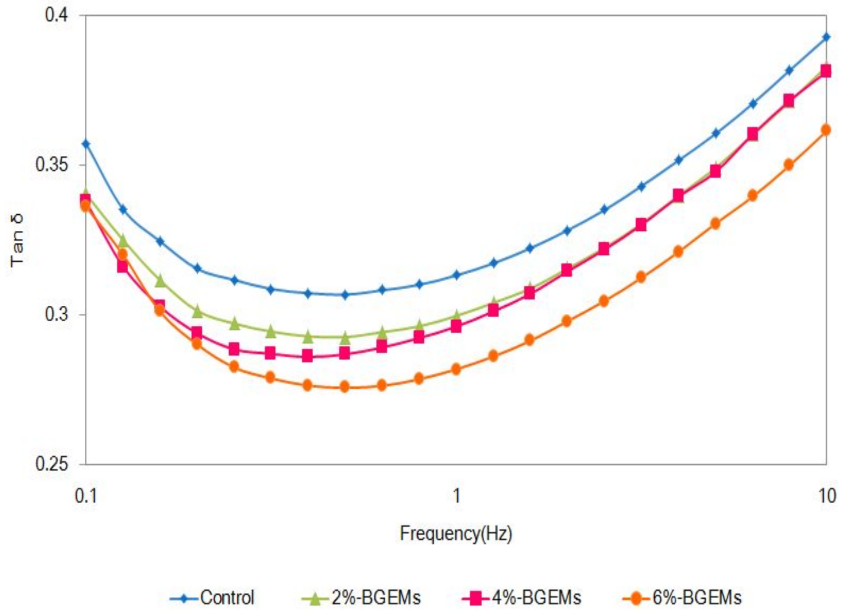
(1) 동적점탄성 (dynamic viscoelasticity) 분석





○ 밀가루를 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말로 2, 4, 6% 치환하여 dough를 만들어서 20 mm parallel plate를 사용하여 0.1-10 Hz 범위의 frequency에 따른 G′(elastic modulus)와

G″(viscous modulus)를 측정함. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 함량이 높아질수록 frequency가 증가함에 따라 G′, G″ 값 모두 증가하는 경향을 보임.



○ 베타글루칸 강화 참송이 분말을 대체한 함량에 따른 dough의 점탄성 특성에서 측정된 G′, G″ 값에 상대적인 비(G″/G′) 이용하여 계산한 tan delta 값을 분석한 결과 대체한 함량이 증가함에 따라 낮아지는 경향을 보였고, 이는 점점 더 탄성적인 성질이 강해짐을 보여줌.

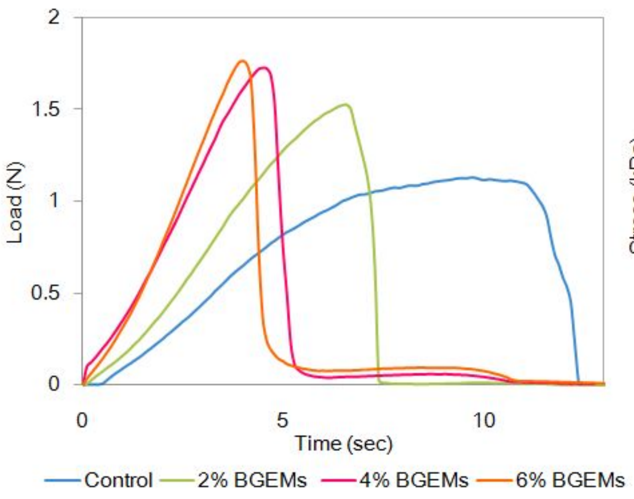
(2) 신장성 (Extensional properties) 분석

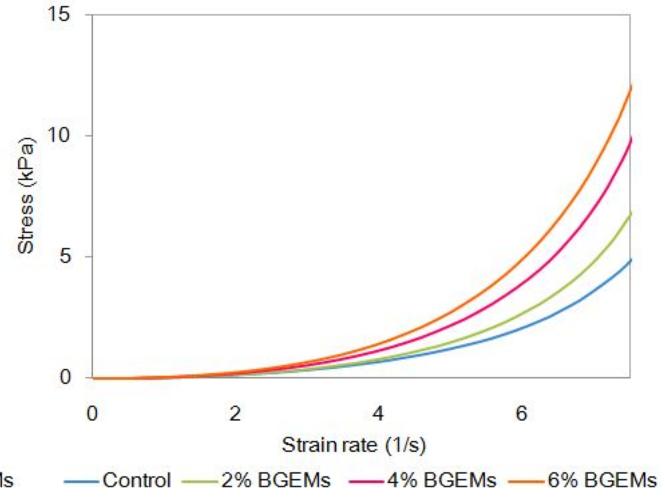
Elongation stress $= \dfrac{F(t) \cdot v \cdot t}{2\pi \cdot R \cdot h_0 \cdot l_0}$ Elongation rate $= \dfrac{1}{l(t)} \cdot \dfrac{dl(t)}{d(t)}$

F(t): the force measured as a function of time (t)
v: the probe speed
R: average radius between probe and aperture perimeter
h_0: the initial thickness of the dough sheet
l_0: the distance between the probe surface and aperture perimeter
l(t): the length of sheet as a function of time (t)

	Control	2% BGEMs	4% BGEMs	6% BGEMs
Extensional viscosity (Pa • s) (Strain rate = 7.35)	0.67±0.04d	0.91±0.07c	1.21 ±0.06b	1.47±0.05a

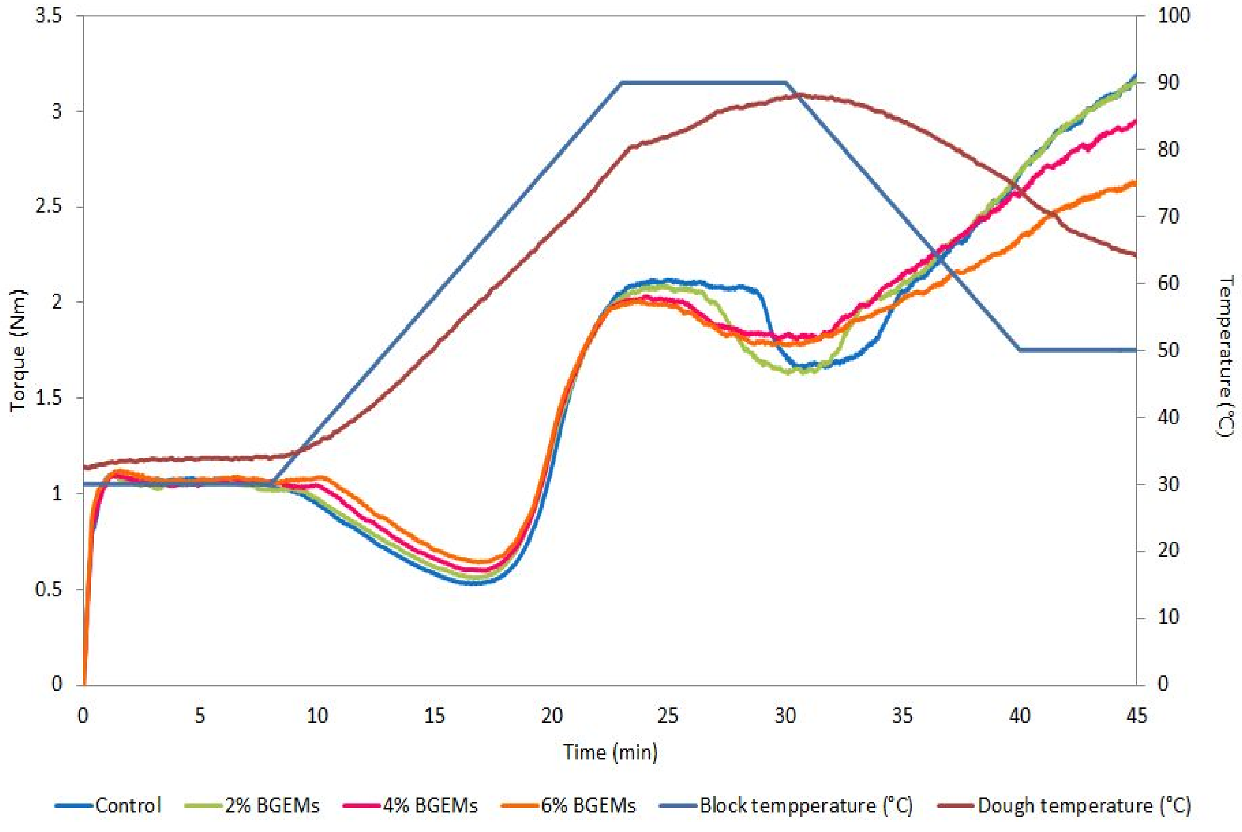
○ 유탕면의 dough를 지름 5 mm, 두께 1.4 mm 로 만들어 3 mm 지름의 구멍이 뚫려있는 두 개의 plate에 사이에 놓고 여섯 개의 핀으로 고정하여, 지름 10 mm의 실린더형 probe로 100 mm/min 속도로 유탕면 dough sheet를 뚫고 지나가게 하여 dough의 신장력을 측정함.





○ 왼쪽의 figure는 참송이버섯 베타글루칸 강화 소재함량이 증가함에 따른 dough의 전형적인 force-time curve를 나타내고, 오른쪽의 그래프는 위의 식으로부터 계산된 값으로 도출된 결과임. Strain rate이 7.35일 때, dough의 Extensional viscosity (Pa·s)는 베타글루칸 강화 참송이 분말을 대체한 함량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 보임.

(3) Thermo-mechanical properties 분석



		Control	2% BGEMs	4% BGEMs	6% BGEMs
Torque (Nm)	C1	1.12±0.02a	1.11±0.01a	1.10±0.02a	1.11±0.03a
	C2	0.53±0.01d	0.57±0.01c	0.59±0.01b	0.64±0.01a
	C3	2.13±0.02a	2.10±0.01b	2.02±0.01c	2.01±0.00c
	C4	1.69±0.03a	1.63±0.03a	1.71±0.16a	1.78±0.02a
	C5	3.20±0.01a	3.19±0.02a	2.95±0.08b	2.67±0.05c
Water absorption (%)		50.73±0.06d	53.80±0.20c	57.50±0.10b	60.73±0.15a
Stability (min)		9.13±0.22d	9.71±0.11c	10.62±0.22b	11.10±0.16a
Development time (min)		1.21±0.01a	1.28±0.06a	1.32±0.02a	1.35±0.11a

○ 밀가루의 참송이버섯 베타글루칸 강화 소재 대체량에 따른 유탕면 dough의 Thermo-mechanical properties를 측정하기 위하여 Mixolab을 사용함.

○ Mixolab을 측정하기 위한 물의 양과 밀가루 또는 참송이버섯 베타글루칸 강화 소재로 대체된 샘플은 최적 dough 상태 지표인 C1이 1.1 Nm가 되는데 필요한 양을 계산하여 사용하였으며, Mixolab의 Chopin+ 프로토콜을 이용하여 샘플을 30℃에서 8 분간 믹싱을 유지하고, 4℃/min로 90℃까지 온도를 올려준 다음 90℃에서 7 분간 온도를 유지시키고, 다시 5℃/min로 50℃까지 온도를 내린 다음 50℃에서 5 분간 유지시켰다. 위의 각 구간동안 믹싱되는 dough의 Torpue (Nm)를 측정함.

○ Mixolab parameter들 중 C2, C3, C4, C5는 각각 단백질 구조 약화, 전분의 호화, 호화된 전분의 물리적 파괴, 전분의 노화를 나타냄. 베타글루칸 강화 참송이버섯 소재를 대체할수록 C2는 증가하였는데 이는 더 많은 베타글루칸 강화 소재를 함유하면 기계적 shearing 동안에 저항할 수 있다는 것을 의미하고, 이것은 또한 dough의 stability time과도 관련이 있다. C3와 C5의 감소는 베타글루칸 강화 소재 함량이 증가함에 따라 관찰되었으며, 베타글루큰 강화 소재의 사용은 water absorption과 development time의 증가와도 관련이 있음.

마. 참송이버섯 발효주의 생리기능성

(1) 베타글루칸 첨가시기 및 첨가량을 다르게 제조한 발효주의 항산화 활성

(가) 발효 전 베타글루칸 첨가하여 제조한 발효주의 항산화능

○ 참송이버섯 발효주의 항산화 활성은 ABTS와 DPPH 라디컬 소거능을 측정하여 평가함. ABTS 라디컬 소거능 분석은 ABTS 7 mM과 potassium persulphate 2.45 mM을 12시간 이상 암소에 방치하여 ABTS 라디칼을 형성한 뒤, 1:1의 비율로 섞어 734 nm에서 흡광도 값이 1.0이 되는지 확인함. 이 후 ABTS 라디칼 용액 980 uL에 12%의 에탄올로 1:50

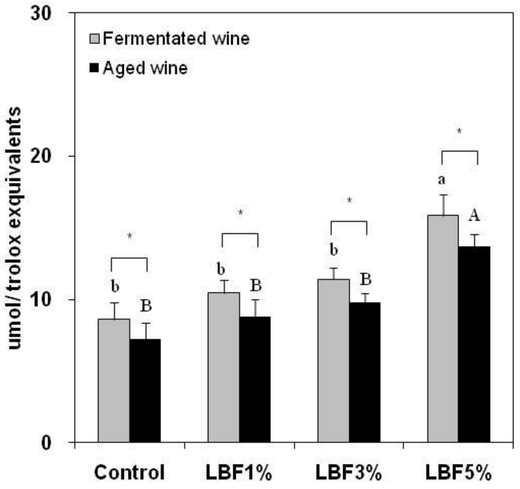
비율로 희석한 발효주 시료 20 uL을 가하여 15분 후에 734 nm에서 흡광도를 측정함. 이때 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid(Trolox®, 238813, Sigma Aldrich, St Louis, Mo)로 표준곡선을 작성한 뒤 항산화력을 산출함.

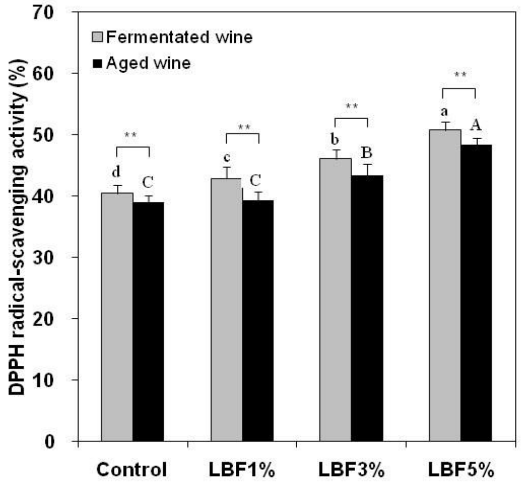
○ DPPH 라디컬 소거능은 Camire 등 (1993)과 Boyd 등 (1996)의 방법을 변형하여 실험함. 즉, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical 50 uM를 함유하는 ethanol 1 mL에 시료 1 mL을 첨가하여 1시간 동안 37℃에서 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정함.

○ 발효 전 참송이버섯 다당체 를 1, 3, 5%(w/v) 첨가하여 제조한 발효주의 ABTS radical 소거능을 측정한 결과(좌측), 발효 완료 직후에는 8.40-15.83 mmol TE/L의 범위를 나타내었으며 베타글루칸 첨가량에 따라 활성이 유의적으로 증가함(p<0.05). 1, 3, 5%까지 베타글루칸을 첨가함에 따라 라디컬 소거능은 각각 21%, 33%, 84%까지 향상되었고, 첨가 효율은 1% 첨가군에서 가장 높았음.

○ 숙성 완료 후 측정한 항산화능은 7.24-13.70 mmol TE/L로서 베타글루칸 첨가량이 증가할수록 활성이 유의적으로 증가하는 경향은 같았음(p<0.05). 또한, 1, 3, 5%까지 베타글루칸을 첨가함에 따라 활성이 각각 21%, 35%, 89%까지 증가하였으며 첨가 효율은 발효 완료 후와 동일하게 1% 첨가군이 가장 높았음.

○ 발효 전 베타글루칸을 첨가하여 제조한 참송이버섯 발효주의 DPPH radical 소거능(우측)은 발효완료 후에는 16.66-19.08 mmol TE/L, 숙성까지 완료한 후에는 17.55-0.06 mmol TE/L였음. 발효 전 다당체 첨가에 의하여 활성은 유의적으로 증가하였으나 숙성에 의한 활성의 증가는 나타나지 않았음. 발효 전 1, 3, 5% 첨가군의 DPPH radical 소거능이 무첨가군 대비 각각 4, 2, 4% 증가하여 1% 첨가군의 첨가 효율이 가장 높았음. 발효 전 1, 3, 5% 첨가군을 숙성 완료 후 측정한 결과에서도 무첨가군에 대비하여 DPPH radical 소거능이 각각 3, 2, 4%까지 증가함으로서 발효 완료 직후 결과와 유사하게 1% 첨가군의 효율이 가장 높았음.





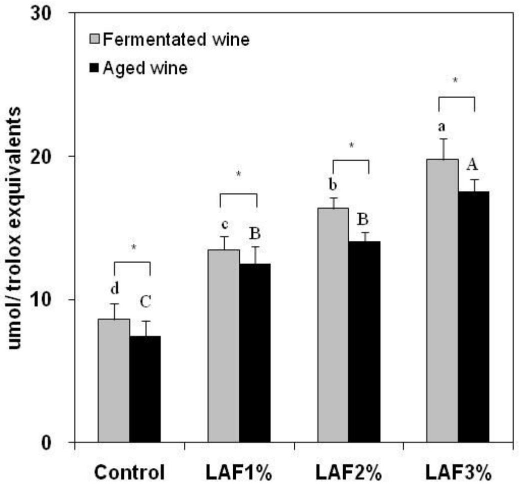
○ 본 연구에서 제조한 참송이버섯 발효주의 항산화 활성은 기존에 보고된 white wine 및 red wine의 항산화 활성 결과와 유사한 경향을 보였음(Gülçn et al., 2003; Hogan et al., 2009; Roussis et al., 2008; Yang et al., 2009). 또한, 기존 연구(Schwarz et al., 2009;

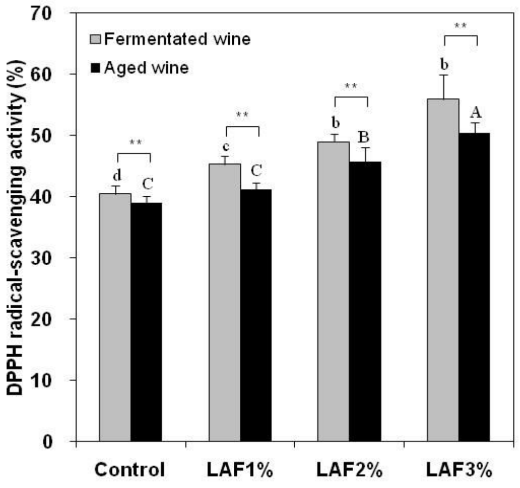
Viallano et al., 2004; Vrcek et al., 2011)에서 와인의 항산화 활성과 페놀화합물 간 높은 정의 상관관계가 보고된 바 있음. 따라서, 참송이버섯 발효주의 ABTS와 DPPH radical 소거능은 발효주에 함유되어 있는 페놀화합물 함량에서 기인한 것으로 판단됨.

(나) 발효 후 베타글루칸을 첨가하여 제조한 발효주의 항산화능

○ 발효 후 숙성단계에서 참송이버섯 베타글루칸을 1, 2, 3%(w/v) 첨가하여 제조한 발효주의 ABTS radical 소거능을 Trolox®의 항산화능으로 환산하여 나타낸 결과(좌측), 발효 직후 실험군은 8.40-19.77 mmol TE/L의 범위를 나타내었으며 베타글루칸의 첨가량이 증가할수록 활성이 유의적으로 증가함. 또한, 숙성 완료 후 항산화능은 7.24-17.55 mmol TE/L로서 베타글루칸 첨가량이 증가할수록 유의적으로 증가하는 유사한 경향을 보임.

○ 발효 후 숙성단계에서 참송이버섯 베타글루칸을 1, 2, 3%(w/v) 첨가하여 제조한 발효주의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과(우측), 발효주에 베타글루칸 첨가 직후 17.27-19.48 mmol TE/L, 숙성 완료 후 17.55-20.06 mmol TE/L로 숙성과정에 의하여 유의적으로 증가함($p<0.05$).





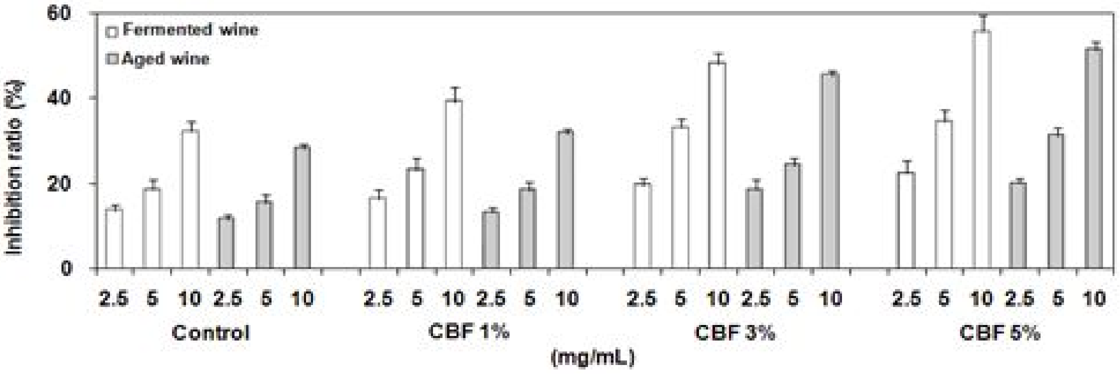
(2) 베타글루칸 첨가시기 및 첨가량을 다르게 제조한 발효주의 항암활성

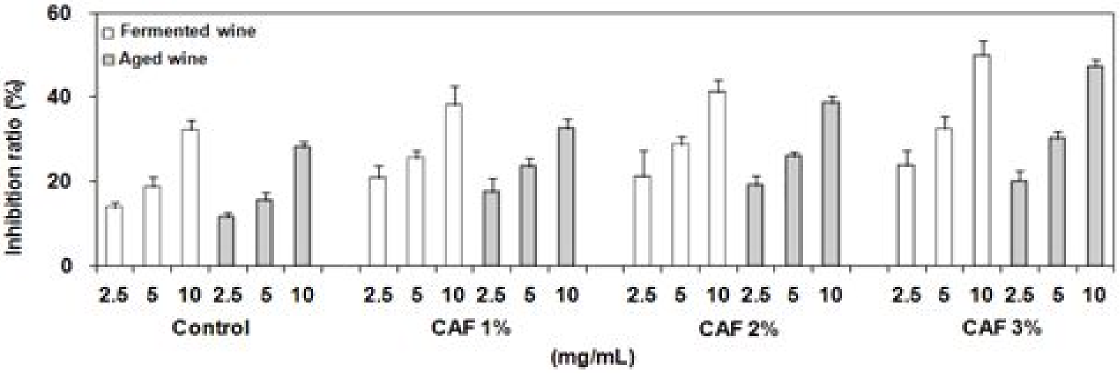
(가) 유방암 세포주(MCF 7 cells)에 대한 성장 저해 효과

○ 본 연구에서 참송이버섯 발효주의 생리기능성 탐색의 일환으로 유방암 세포인 MCF7 세포주와 대장암 세포인 HT29 세포주에 대한 암세포 독성 효과를 측정함. 발효주는 speed-vacuum을 이용하여 알코올 및 수분을 제거하여 사용함. 96 Well plate에 암세포(1×104 cells/well)와 시료를 100 uL씩 분주하고 37℃, 5% CO2 incubator에서 72시간 배양 후 인산생리식염수에 5 mg/mL 농도로 제조한 MTT 용액 20 uL를 첨가하여 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상징액을 제거한 후 DMSO 200 uL를 가하여 30분간 교반 후 540 nm에서 흡광도를 측정함.

○ 발효 전 참송이버섯 베타글루칸을 1, 3, 5% 첨가하여 유방암 세포인 MCF-7의 증식 억제율을 측정한 결과(상), 발효 완료 직후 발효주의 추출물을 농도별로 처리하였을 때, 암세포 증식 억제능이 13.70-55.61%의 범위로 베타글루칸 첨가량이 증가할수록 처리 농도와 비례하여 성장 저해 활성이 증가함. 또한, 1, 3, 5% 첨가군 각각의 첨가효율을 고려하여 환산 시 22, 19, 15%로서 1% 첨가군의 암세포 증식 억제 효율이 가장 높았음.

○ 숙성 완료 후 측정한 발효주의 항암활성은 11.50-51.28%로서 5 mg/mL 처리군은 숙성 단계에 의하여 활성이 유의적으로 감소함($p<0.05$). 또한, 1, 3, 5% 첨가군 각각의 첨가효율을 고려하여 환산한 경우, 16, 20, 17%로서 발효 전 3% 첨가군의 효율이 가장 높았음.
○ 참송이버섯의 주요 생리활성 물질 중 하나인 β-glucan의 함량과 유방암 세포에 대한 활성의 상관관계를 구한 결과, Ycell growth inhibit activity(%)=7.7536+7.8695 Xβ-glucan(%)의 관계로 90.13%의 높은 상관성을 보였음.
○ 발효 후(하) 첨가군의 첨가 효율 환산 시, 1% 첨가군이 37%로 가장 높았고 2, 3% 첨가군의 경우 약 15%로서 발효 후 첨가군 또한 1% 첨가군의 효율이 가장 높았음. 숙성과정을 거친 뒤 발효주의 암세포 증식 억제능은 11.50-47.05%의 범위를 나타내었음. 이와 같이, 숙성 후 발효주의 항암활성은 처리농도에 따라 유의적으로 증가하였으나, 숙성과정이 지난 후에는 유의적으로 감소됨.

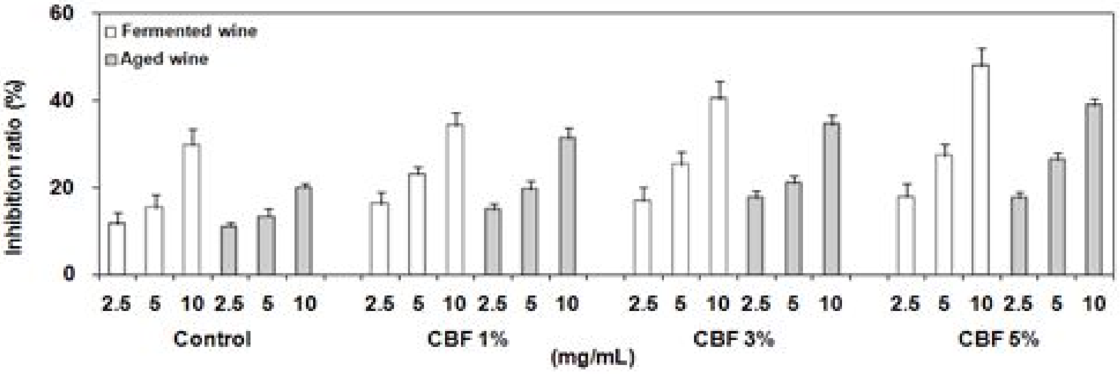


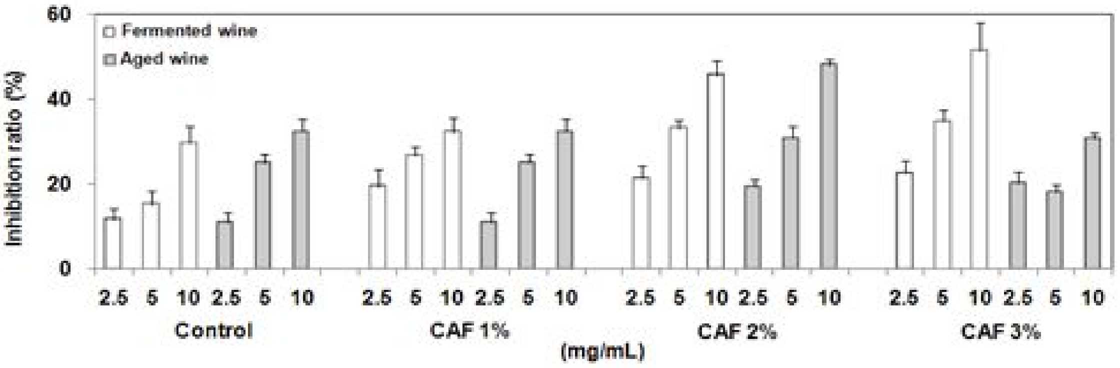


(나) 대장암 세포주(HT29 cells)에 대한 성장 저해 효과
○ 발효 전 참송이버섯 베타글루칸을 1, 3, 5%(w/v) 첨가하여 대장암 세포의 증식 억제율을 측정한 결과(상), 11.23-51.26%의 범위로 나타났고, 발효 완료 직후(숙성 전) 암세포 증식 억제능이 11.87-47.70%의 범위로 베타글루칸 첨가량이 증가할수록 농도의존적으로 저해 활성이 증가함. 또한, 1, 3, 5% 첨가군의 첨가효율로 환산 시 각각 35, 16, 13%로서 1% 첨가군의 암세포 증식 억제 효율이 가장 높았음.
○ 숙성 완료 후 측정한 발효주의 항암활성은 10.65-36.24%로 숙성 후 10 mg/mL 처리군의 저해 활성이 유의적으로 감소함($p<0.05$). 첨가효율은 1, 3, 5% 첨가군이 각각 46, 22, 15%로 1% 첨가군의 효율이 가장 높았음. 발효 완료 후 무첨가군 발효주에 참송이버섯 베타글루칸을 1, 2, 3% 첨가 후 암세포 증식 억제는 11.57-51.26%로 베타글루칸 첨가량과 각 시료별 처리 농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 보임. 또한, 1, 2, 3% 첨가군의

첨가효율은 각각 50, 28, 20%로 1% 첨가군의 효율이 다른 첨가군 보다 2배 정도 높았음.

○ 발효 후 참송이버섯 베타글루칸을 첨가한 경우(하), 숙성 완료 후 HT29 세포의 증식 억제능은 10.65-48.06%의 범위로 처리농도에 따라 유의적으로 증가하였으며, 숙성 과정에 의해 2% 첨가군의 5 mg/mL 처리군을 제외하고 생리활성의 유의적인 감소가 나타나지 않았음. 또한, 1, 2, 3% 첨가군의 첨가효율은 각각 68, 35, 25%로 발효 전과 동일하게 1% 첨가군의 효율이 다른 첨가군 보다 2배 정도 높았음.





(3) 참송이버섯 발효주의 관능평가

○ 이상과 같이, 참송이버섯 베타글루칸 첨가시기와 첨가량에 따른 항산화 및 항암활성을 조사한 결과, 베타글루칸 첨가 효율은 발효 전 1%와 발효 후 1% 첨가군에서 가장 높았음. 따라서, 참송이버섯 베타글루칸 무첨가군을 대조군으로 하고, 발효 전, 후 1% 첨가군을 각각 실험군으로 소비자 기호도 검사를 한양대학교 생활과학대학 학생 및 식품영양학과 대학(원)생들을 대상으로 3회 수행함. 전체 참여 인원은 88명이었으며, 조사 대상의 연령 분포는 20대(95%)와 30대(5%)로 나타났고, 남녀 성비는 균등하게 하였음. 각각의 참송이버섯 발효주는 유리병에 담아 12℃에서 10일간 숙성시킨 다음 5℃에 저장한 뒤, 관능검사 결과의 정확도를 높이기 위하여 서늘한 환경(18-19 ℃)에서 관능검사를 수행하였고, 기호도 조사 전 발효주에 관한 이론 및 시음법 교육을 한 시간 동안 실시한 후 평가를 진행함. 발효주 시료는 약 20 mL을 난수표로 표기된 유리잔에 제공하였으며, 한 시료에 대한 평가가 종료된 후 다음 시료를 제공하였고, 9점 척도법으로 기호도 검사를 수행한 후 선호도 검사를 추가적으로 수행함.

○ 참송이버섯 발효주 제조 시 베타글루칸을 발효 전과 후에 첨가한 결과, 색을 제외한 향, 단맛, 쓴맛, 신맛, 전체적인 기호도에 영향을 미치지 않았음. 베타글루칸의 경우 에탄올의 함량이 높을수록 용해도가 감소하므로 발효주 제조 시 주질을 해칠 수 있으므로

적정량을 첨가하여야 하는데, 생리활성 효율이 가장 높은 1%의 베타글루칸을 발효주에 첨가했음에도 불구하고 관능적 품질에 유의적인 영향을 미치지 않았음. 따라서, 베타글루칸 첨가가 관능적인 품질을 유지하면서 건강 기능성은 증대된 고부가 참송이버섯 발효주 제조가 가능함을 확인할 수 있었음.

Sample	Control	Before fermentation (1% β-glucan)	After fermentation (1% β-glucan)
Color	5.62±2.24[a]	5.77±1.69[a]	4.41±1.79[b]
Flavor	5.05±1.64	5.03±1.69	5.46±1.89
Sweet taste	3.90±1.74	3.82±1.45	3.85±1.79
Bitter taste	4.26±1.89	4.56±1.79	4.64±2.05
Sour taste	4.56±1.92	4.87±1.78	4.31±1.95
Overall acceptability	5.03±1.81	5.21±1.73	4.82±1.99

○ 이상과 같이, 본 연구를 통하여 저장기간이 짧아 선도유지에 어려움이 있으며, 재배 시 외형상의 불균일로 저등급 제품이 다량 발생하는 참송이버섯의 가공제품화를 위한 이용성 증대 방법의 일환으로 버섯의 자실체를 기질로 사용하고, 기능성분인 베타글루칸이 강화되어 건강 기능성이 증대되고, 식품학적 품질은 유지되는 고부가 발효주 제조 조건을 확립함.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표 달성도

1. 1차년도

세부과제목표	세부연구내용	월 단위 추진계획												달성도
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
참송이버섯 균사체 액체 배양조건 확립 및 생산성 비교	- 균사체 액체 배양을 위한 생리적 특성 조사 및 최적 액체 배양 기술 확립													100%
	- 톱밥종균과 액체종균의 생산성 비교													100%
천연공법을 통한 참송이 버섯 분말의 베타글루칸 강화	- 다양한 물리적 처리에 따른 참송이버섯 베타글루칸 함량 및 수율 분석													100%
	- 참송이버섯의 효소 처리에 따른 베타글루칸 추출 효율 개선방안 연구													100%
	- 참송이버섯 분말 소재의 베타글루칸 함량 극대화를 위한 물리적/효소적 융합처리 기술 최적화													100%
	- 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 이화학적 특성(성분, 분자량, 용해도 등) 및 생리활성 (항암 등) 조사													100%

가. 고품질화 참송이버섯 액체종균개발 및 생산성 향상

1. 참송이버섯의 균사체 액체배양을 위한 생리적 특성을 조사하여 최적의 액체종균을 제조함.
2. 톱밥종균과 액체종균을 톱밥배지에 접종하여 배양, 생육 후 생산량을 비교하여 액체종균이 6.5% 증수되어 향후 참송이 종균을 액체종균으로 전환할 수 있는 공정을 확립함.

나. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 가공 적성 평가

1. 화학적 용매를 전혀 사용하지 않고 저등급 참송이버섯을 물리적 효소적 복합처리하여 베타글루칸 강화 소재를 생산할 수 있는 천연 공정을 확립함.
2. 순수한 물리적 처리 공정을 통하여 50%의 수율로 49%의 베타글루칸을 함유한 참송이버섯 베타글루칸 강화 소재를 개발하여 2차년도의 그 이화학적, 가공 특성 분석에 사용함.
3. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 일반성분, 유용성분(베타글루칸 및 총폴리페놀 화합물)의 함량과 물리적 특성 및 생리활성(항암 및 항산화 활성)을 조사하여 베타글루칸 강화에 따른 기능성 소재로의 가능성을 탐색함.

2. 2차년도

세부과제목표	세부연구내용	월 단위 추진계획												달성도
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
참송이버섯의 특성 분석 및 베타글루칸 추출공정 확립	- 참송이버섯의 특성분석 및 저장에 따른 특성 조사													100%
	- 베타글루칸 추출공정 확립													100%
베타글루칸 강화 참송이 버섯 분말의 가공적성 평가	- 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 가공적성 및 물성학적 특성 분석													100%
	- 다른 식품 성분과의 상호작용 평가													100%
	- 발효조건 (기질농도 등) 및 기간에 따른 특성(알코올, 유용성분, 색 등) 변화													100%
	- 베타글루칸 첨가에 따른 주류의 특성 변화													100%

가. 참송이버섯의 특성 분석 및 베타글루칸 추출공정 확립

1. 참송이버섯의 특성을 분석하여 버섯의 일반성분 및 강력한 항산화 물질로 알려진 에르고티오네인을 분석함.
2. 버섯의 투입방법, 정제수 배수, pH, 추출온도, 추출시간 등의 조건을 달리하여 베타글루칸 추출공정을 확립함.
3. 다양한 코팅물질과 저장온도에 따른 참송이버섯의 품질 특성 변화 분석을 통하여 키토산 스프레이 코팅법을 이용하여 4℃에서 저장함으로써 최대 두 배 이상 저장기간이 증가되는 조건을 확립함.

나. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말의 가공 적성 평가

1. 참송이버섯의 NMR, FTIR 특성 분석 결과 1,3-1,6-β-D-glucan의 구조를 가지고 있으며, shear-thinning의 유동 특성을 가짐을 밝혀내고 이를 Power-law 모델식에 적용하여 유동 특성을 예측함. 아울러, 수화능, 유지보유능의 분석에 따른 가공 분석을 수행함.
2. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 다른 식품 성분과 혼합 시, 전분의 페이스트 형성 변수값을 낮추며, 전분 호화의 경우 호화 온도뿐 만 아니라 그 엔탈피 값도 감소시킴을 보여주어, 3년차의 식품 적용을 위한 가공 특성 자료를 제시함.
3. 참송이버섯 추출액의 발효주 제조 시 기질로써의 사용을 위하여 추출온도, 추출시간, 보당조건, 발효조건 등에 따른 알코올 농도를 기준으로 발효주 제조방법을 결정하고, 유용성분 함량과 색 및 향기성분 분석 등을 통하여 참송이버섯 발효주의 품질 평가 인자를 결정함.

3. 3차년도

세부과제목표	세부연구내용	월 단위 추진계획												달성도
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
고품질 참송이버섯의 대량생산공정 확립	- 참송이버섯 대량생산공정 확립													100%
	- 참송이버섯 (저등급/부산물)의 베타글루칸 추출법 scale-up													100%
베타글루칸 강화 참송이 버섯 소재를 이용한 흡유 저감 유탕면류 개발	- 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말 첨가에 따른 유탕 면류 제조 및 흡유율 평가													100%
	- 참송이 분말 함유 유탕 면류의 식품학적 품질 평가													100%
	- 참송이버섯 주류 제조법 확립 및 제조된 주류의 활성 탐색													100%
	- 제조된 주류의 성분 및 관능적 특성 평가													100%

가. 고품질화 참송이버섯의 대량생산공정 확립

1. 배지의 무게, 배지 형태, 배지의 숙성기간 등 다양한 방법으로 참송이버섯을 재배하여 최적의 대량생산공정을 확립함.
2. 200리터 추출기를 이용하여 베타글루칸 추출을 scale-up 하였다.

나. 베타글루칸 강화 참송이버섯 소재를 이용한 흡유 저감 유탕면류 개발

1. 베타글루칸 강화 참송이버섯을 흡유 저감화 소재로 활용하여 유탕면류에 적용하여 그 특성을 분석함.
2. 베타글루칸 강화 참송이버섯 분말을 사용하여 유탕면류 제조 후 그 흡유량을 분석할 결과 대조구와 비교하여 21%의 흡유 저감화 효과를 보여 저지방, 저칼로리 흡유저감 유탕면류

개발을 완료함.

3. 참송이버섯 추출액을 기질로 사용하고, 기능성 향상을 위하여 베타글루칸 첨가시기 및 첨가량에 따른 발효주의 유용성분 함량과 생리활성, 관능특성 분석 등을 통하여 품질은 유지하고 건강 기능성이 새로이 부가된 고부가 참송이버섯 발효주의 제조 조건을 확립함.

제 2 절 관련분야에의 기여도

1. 기술적 측면

가. 본 연구의 생산기술 결과를 이용하여 건강식품 및 식품제조분야의 다양한 제품을 생산할 수 있는 기반 기술로 활용

나. 건강기능성이 증대된 다양한 형태의 건강 식・의약제품 개발 기술 기반의 확립

다. 기능성 소재 생산 식품가공기술의 다각화 및 관련분야의 학문 발전에 기여

라. 버섯 이외의 곡물 부산물을 이용할 수 있는 제조기술 보급

마. 버섯 유래 기능성 강화 소재를 활용한 저지방, 저칼로리 유탕 식품 제조 기술 확립

2. 경제적, 산업적 측면

가. 한미 FTA(자유무역협정)로 인한 농산물, 식품 시장의 개방을 대비하여 새로운 식품 기술을 이용한 고부가가치 식품 개발로 국가 식품 산업의 경쟁력 확보

나. 버섯을 이용한 다양한 특수 기능성 제품의 개발로 새로운 시장 창출

다. 첨단 식품가공 방법의 개발에 대한 기술이전 및 상용화로 고용창출 효과 기대

라. 새로운 버섯 함유 기능성 식품 개발로 내수 및 수출 증가로 국가 경제발전에 기여

마. 저지방, 저칼로리 유탕 식품 및 버섯 유래 발효 제품 개발을 통한 식품 산업에서 새로운 틈새시장 개척

바. 국내산 버섯을 활용한 제품 개발로 농가 소득에 기여

3. 사회적, 문화적 측면

가. 고기능의 생리활성 성분이 함유된 참송이버섯의 과학적 연구에 바탕을 둔 홍보를 통한 일반 소비자들에 대한 참송이버섯의 인식 향상.

나. 버섯을 이용한 건강 기능성 제품 생산으로 국민 건강 증진에 기여

다. 국내산 버섯 활용을 통한 가공 식품 개발로 소비자 선호도 증가

라. 새로운 건강 기능 버섯 가공 식품을 활용한 국민 건강 유지 및 질병 예방에 기여

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 실용화, 산업화 계획

1. 버섯을 구매하는 소비자들에게 본 버섯이 가지고 있는 맛이나 향 이외에 면역활성에 도움을 주는 베타글루칸을 고(高)함유하고 항산화활성 등의 생리활성이 우수한 버섯임을 홍보하여 소비를 촉진케함.
2. 액체종균을 활용하여 대규모 스케일의 재배실험을 할 계획이며, 이 결과를 바탕으로 재래종 표고버섯 톱밥재배에 톱밥종균을 대체할 수 있는 기술로 발전시킴.
3. 가공식품의 연구결과를 활용하여 식품으로의 개발이 가능한 업체와의 공동연구를 추진하여 고기능성 고부가치 식품을 개발할 예정임.
4. 확립된 베타글루칸 추출공정을 활용하여 건강보조식품, 화장품, 항생제 대체 원료로 관련 업체에 홍보 및 판매할 계획임.

제 2 절 홍보 계획

1. 각종 전시회 참여 및 인터넷 신문 등을 활용하여 연구결과를 홍보함.
2. 현재 판매하고 있는 백화점 및 대형마트에서 버섯 판매시 소비자들에게 적극적으로 홍보할 예정임.
3. 지역 특산물 전시실 및 인터넷 홍보를 적극 이용함.
4. 하나바이오텍 홈페이지의 적극 활용을 모색함.

제 3 절 지식 재산권 확보 계획

1. 논문 (국제 SCI 3편, 국내 저널 1편 게재 완료, 국제 SCI 1편 투고 준비중)

가. Juyong Kim, Jongbin Lim, In Young Bae, Hyuk-Gu Park, Hyeon Gyu Lee, Suyong Lee. Particle size effect of Lentinus edodes mushroom (Chamsong-I) powder on the physicochemical, rheological, and oil-resisting properties of frying batters. Journal of Texture Studies. 41: 381-395 (2010)

나. Juyong Kim, Seung Mi Lee, In Young Bae, Hyuk-Gu Park, Hyeon Gyu Lee, Suyong Lee. (1-3)(1-6)-β-Glucan-enriched materials from Lentinus edodes mushroom as a high-fibre and low-calorie flour substitute for baked foods. Journal of the Science of Food and Agriculture. 91: 1915-1919 (2011)

다. Soojeong Heo, Seung Mi Lee, In Young Bae, Hyuk-Gu Park, Hyeon Gyu Lee, Suyong Lee. Effect of Lentinus edodes β-glucan-enriched materials on the textural, rheological, and oil resisting properties of instant fried noodles. Food and Bioprocess Technology (in press)

라. 배인영, 이유진, 김은서, 이수용, 박혁구, 이현규. 참송이버섯의 코팅 처리 및 온도 변화에 따른 저장 특성. 한국식품과학회지. 42: 682-687 (2010)

마. Hye Won Kim, In young Bae, Suyong Lee, Hyuk-Gu Park, Hyeon Gyu Lee. Physicochemical and health beneficial effects of wines incorporated Lentinus edodes β-glucan-enriched materials (in preparation)

2. 특허 (국내 특허 출원 3건)

가. 부재료로 버섯 유래 베타글루칸을 첨가한 유탕면의 제조방법 (출원번호 10-2011-0033473)

나. 참송이버섯 유래의 수용성 베타글루칸을 이용하여 참송이버섯 와인을 제조하는 방법 (출원번호 10-2011-0033473. 10-2011-0036991)

다. 참송이버섯 및 표고버섯 자실체 대량생산을 위한 액체종균 제조방법 (출원번호 10-2009-0094898)

3. 학술발표

가. Extraction of beta-glucan from Chamsong-I mushroom (Lentius edodes) by green processing. 2009. 한국식품과학회. 대전.

나. Application of Lentinus edodes mushroom (Chamsong-I) powder as an oil barrier in fried foods. 2010. IFT. Chicago. USA

다. Utilization of β-Glucan-Enriched Materials from Chamsong-I Mushrooms (Lentinus edode) as a high-fiber wheat flour substitute. 2010. 한국산업식품공학회. 서울.

라. Preparation and characterization of Chamsong-I wine. 2010. 한국식품과학회. 인천

마. Evaluation of β-Glucan-Enriched Materials from Chamsong-I Mushrooms (Lentinus edode) as an Oil Barrier in Fried Noodles. 2011. 한국식품과학회. 대구.

제 4 절 추가연구, 타연구에 활용 계획

1. 본 연구에서 개발된 베타글루칸 강화 물질 분리 기술을 다른 곡류에 적용함으로써 다양한 곡류 유래 식이섬유 강화 소재 개발에 적용할 계획임.
2. 베타글루칸 강화 소재를 활용한 흡유 저감 유탕면 기술을 다른 유탕 식품 특히, 액상 반죽을 이용하는 유탕 제품에 적용 활용한 계획임.
3. 본 연구에서 얻어진 베타글루칸 강화 버섯 분말을 유탕 식품 이외에 다양한 식품군으로 적용 가능함.
4. 참송이버섯 자실체 및 이로부터 추출한 베타글루칸 강화 소재를 이용한 고부가 신기능성 주류 제조 가능성을 확인하였기에 이를 바탕으로 타버섯으로 확대 적용하여 버섯 특성에 따른 발효패턴을 조사함으로써 단순 첨가가 아닌 case-by-case에 따른 맞춤형 적용으로 버섯의 가공식품화로의 성공적인 제품화를 위한 새로운 판로를 탐색할 예정.
5. 본 연구에서 밝혀진 항암 및 항산화 활성 결과를 바탕으로 식약청 건강기능식품 개별인정

타진 가능성을 조사하여 타 연구의 기초자료로 활용할 계획임.

6. 개발된 액체종균을 활용하여 대규모 스케일의 재배실험을 수행할 계획이며, 다른 재래종 표고버섯과의 생산성도 비교할 예정임.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 버섯의 저장관련 연구경향

가. 현재 우리나라의 버섯 생산량은 매해 증가하고 있으며 이는 소비계층의 다양화 및 대중화에 영향을 주었고, 계절과 무관하게 연중 생산이 가능하고 특히 건강에 관한 관심도가 높아져 소비자들의 고품질 고기능성 버섯에 대한 요구도가 점차 증가하고 있음. 그러나 생버섯의 유통기한은 약 2-3일 정도로 다른 과실 및 채소류의 5-7일과 비교하여 매우 단기간이므로 버섯 생산량의 90% 정도가 건조 및 단순가공 형태로 소비되는 실정임. 따라서 버섯 고유의 특성을 유지하면서 저장성을 연장시키는 것이 절실히 필요한 현실임. 현재 농가에서는 수확 직후 종이 박스에 포장하여 저온저장 하였다가 출하시키기며, 출하된 버섯은 polyvinyl chloride(PVC) 필름으로 포장하거나 전혀 포장되지 않은 상태로 판매되고 있음. 따라서 유통기간 중 버섯의 상품성을 증가시키는 중요한 요인인 저장성 연장에 대한 연구가 다양하게 진행되어 왔음.

나. 버섯의 저장 방법으로는 저장장소의 환경가스조절, 코팅 및 흡습제 처리 방법 등으로 구분할 수 있으며, 환경가스조절 기술은 controlled atmosphere(CA)와 modified atmosphere packaging(MAP)로 분류됨. CA저장은 공기 조성을 효과적으로 조절함으로써 저장성을 향상시키는 방법으로 주로 장기간의 저장을 요하는 시료에 효과적이라고 알려져 있으므로 버섯에 적용하기에는 적당하지 않음. 반면, MAP저장은 포장 물질의 가스 투과도를 조절하여 버섯의 미생물학적, 생리적 변화율을 감소시킴으로써 버섯 저장에 편리하게 적용할 수 있음. 그 외에도 저온 저장, 코팅제 처리, sorbitol 등의 흡습제 처리 등을 통해 저장기간을 연장시킬 수 있음. Villaescusa과 Gil(2003)은 MAP 저장법에 의해 느타리버섯의 저장 기간을 4℃에서 7일간 연장시켰음. 또한 0℃에서 표고버섯을 저온 저장한 Pujantoro 등(1993)은 저온저장과 동시에 산소 및 이산화탄소의 농도에 변화를 주어 표고버섯의 CA저장에 최적 조건을 확립한 바 있음. 그러나 이러한 환경가스조절방법은 버섯농가에서 활용하기에는 고가의 장비 및 기술을 요하고 있으므로, 효과적이고 간편하면서도 경제적인 처리법에 대한 연구가 필요한 실정임.

2. 버섯의 생리활성관련 연구경향

가. 현대 산업이 발달함과 동시에 식생활의 서구화 및 영양의 불균형 등에 의하여 각종 암과 성인병이 증가 하면서 건강에 관한 인간의 관심이 증대됨에 따라 일상생활에서 섭취하고 있는 식품이 가지는 기능성에 대한 많은 연구가 수행되고 있음. 특히, 일상생활에서 섭취하는 식품은 생체 내에서 유해성과 부작용이 적을 것으로 생각되어 식품이 함유하고 있는 약리성분을 찾으려는 노력이 계속 되고 있으며, 최근 이러한 노력을 바탕으로 건강 기능식품 중 하나로 버섯의 중요성이 대두되고 있음(Kim & Lee, 2004).

나. 버섯은 예로부터 독특한 향기와 맛을 지닌 기호도가 높은 식품으로 민간 전통 한약으로 전래되어 이용되어 왔음. 또한 버섯류에 대한 항암 효과, 항콜레스테롤 효과 및 항병이원성 효과 등의 여러 활성이 보고되어 왔으며 이는 버섯의 단백다당체에 의한 것임이 밝혀짐. 특히

버섯의 베타글루칸은 면역조절인자(Biological Response Modifiers, BRM)로써 체내에서 면역활성체의 역할을 하며 항산화능, 생체 조직의 재생 및 치유기능, 항균, 항바이러스 및 항종양 효과가 있다고 보고됨(Wasser, 2002).

표고버섯은 2008년까지 영지, 운지와 더불어 균사체와 자실체 추출물이 '혈행개선, 생리활성물질 함유, 건강증진 및 유지' 등의 효능을 인정받아 식약청에서 인정한 고시형 기능성원료였으나 식약청에서는 고시형원료 재평가를 통해 영지 자실체 추출물의 '혈행개선'기능성만을 남기고 기존 버섯류를 고시형 기능성원료에서 퇴출시켰다. 한국에서 표고버섯이 단순히 식용버섯으로만 알려져 있지만, 일본의 유명한 조미료회사인 아지노모토(味の素)에서는 이미 20여년 전에 표고버섯에서 베타글루칸(β-glucan)을 추출하여 렌티난(Lentinan)이라는 항암제(抗悪性腫瘍注射剤)를 개발하였고, 최근에는 표고 자실체에서 추출한 베타글루칸을 0.2um까지 미세화한 제품 면역강화 건강보조식품을 개발, 고가에 판매하고 있음.

<표> 일본 아지노모토의 표고버섯 전문의약품 및 건강보조식품

	レンチナン Lentinan	超微粒子β-グルカン
제품		
성분	표고버섯 추출 베타글루칸 항암 주사제 (전문의약품)	표고버섯 추출물 함유 면역강화 건강보조식품 37,800円 (100ｇ*30袋)

* JAPIC 医療用医薬品DB, 일본 味の素 Home page (www.ajinomoto.co.jp)

또한 일본에서는 식자재로서의 생표고와 건표고의 유통 외에도, 표고버섯의 다양한 생리활성물질 분석과 기능성 연구에 의한 소비자들의 신뢰를 바탕으로 표고버섯을 가공한 분말, 과립, 캡슐, 정제, 엑기스, 음료 등 다양한 제형의 많은 건강식품이 개발되어 판매되고 있음. 특히 일본에서 표고버섯은 뼈 발육촉진, 콜레스테롤 및 혈압강하, 혈소판 응집억제, 항산화, 항종양 및 면역증강, 항인플루엔자 등 다양한 기능성에 대한 연구 및 규명을 바탕으로 식자재 및 가공제품의 마케팅에서 Sales Tool로 이용하고 있음.

3. 버섯의 가공 식품 기술 연구경향

가. 버섯은 감칠맛을 내는 식품 재료로서 주로 원물 상태로 소비되며, 버섯 특유의 맛이나 향 때문에 가공 식품으로서는 대부분 가루 형태의 조미료로 사용되고 있음. 제빵(Hong et al., 2005; Seguchi et al., 2001), 즉석섭취스낵(Singla et al., 2009)과 제면(Kim et al., 2008)에 버섯을 적용한 몇 가지 연구 사례가 있지만 아직까지는 가공식품에 버섯이 적용된 연구는 부족한 실정임.

나. 버섯 베타글루칸은 주로 β-(1-3)(1-6) 결합으로 되어있으며(Mantovani et al., 2008), 콜레스테롤 저하, 항암, 면역조절 등의 효과가 있음(Cheung, 2008). 이러한 약효 때문에 버섯 베

타글루칸은 잠재적인 건강 기능성 식품 소재로서 물리적, 생화학적 활성 평가와 건강 또는 기능성 재료로서의 특성 평가에 초점을 둔 연구가 많이 시행됨. 일반적으로 귀리나 보리 겨 등 부산물에서 생산되는 곡류 베타글루칸은 경제적 환경적 이점이 있을 뿐만 아니라, 미국의 FDA에서는 곡류 베타글루칸이 serving 당 0.75 g 함유되어 있을 때 가공 식품에 콜레스테롤 수치를 낮출 수 있다는 건강강조표시(health claim)를 할 수 있도록 허가되어 있음(FDA, 1997). 이에 따라, 빵이나 제과를 포함한 다양한 가공 식품에 적용할 수 있는 곡류 베타글루칸 강화 소재를 생산하기 위한 노력을 해왔으며(Lazaridou & Biliaderis, 2007), 미국에는 Oatrim, CTrim, Oatwell 과 같은 상업적인 베타글루칸 강화 소재들이 출시됨.

다. 하지만, 버섯 베타글루칸은 곡류 베타글루칸과 비교하여 가공 식품에 있어서의 산업적, 과학적 연구 시도가 부족한 실정이며, 실제로 제빵이나 제과 같은 가공 식품에 적용할 수 있는 버섯 베타글루칸 강화 소재의 생산과 적용에 대한 연구는 거의 없는 실정임.

제 7 장 참고문헌

Akira Misaki, Mariko Kakuta, Takuma Sasaki, Motohiro Tanaka, Hideki Miyaji. 1981. Studies on interrelation of structure and antitumor effects of polysaccharides: Antitumor action of periodate-modified, branched (1 → 3)-β-d-glucan of A*uricularia auricula-judae*, and other polysaccharides containing (1 → 3)-glycosidic linkages. Carbohydrate Research, 92(1): 115-129.

Bobek, P., L. Ozidin, S. Galbavy. 1998.Dose and time-dependent hypercholesterolemic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rats. Nutrition, 14(3): 282-286.

Cheung PCK. 2008. Mushrooms As Functional Foods. Wiley, New Jersey.

FDA. 1997. Food labeling: Health claims; oats and coronary heart disease. Fed Regist. 62: 3584-3601.

Ho Gyoung Kim, Deok Hyo Yoon, Won Ho Lee, Sang Kuk Han, Bhushan Shrestha, Chun Hoi Kim, Mi Hee Lim, Woochul Chang, Soyeon Lim, Sunga Choi, Won O. Song, Jae Mo Sung, Ki Chul Hwang, Tae Woong Kim. 2007. *Phellinus linteus* inhibits inflammatory mediators by suppressing redox-based NF-κB and MAPKs activation in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophage. J of Ethnopharmacology, 114(3): 307-315.

Hong GH, Kim YS, Song GS. 2005. Effect of oyster mushroom (*Pleurotue ostreatus*) powder on bread quality. J. Food Sci. Nutr. 10: 214 - 218.

Hui-Chen Lo, Fu-Ann Tsai, Solomon P. Wasser, Jyuer-Ger Yang, Bu-Miin Huang. 2006. Effects of ingested fruiting bodies, submerged culture biomass, and acidic polysaccharide glucuronoxylomannan of *Tremella mesenterica* Retz.:Fr. on glycemic responses in normal and diabetic rats Life Sciences, 78(17): 1957-1966.

Kim SY, Kang MY, Kim MH. 2008. Quality characteristics of noodle added with browned oat mushroom (Lentinus edodes). Kor. J. Food Cook Sci. 24:665-671.

Kim, H.-J., Lee, I.-S. 2004. Antimutagenic and cytotoxic effects of korean wild mushroom extracts. Korean Journal of Food Science and Technoloy 36: 662-668.

Lazaridou A, Biliaderis CG. 2007. Molecular aspects of cereal β-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. J. Cereal Sci. 46:101-118.

Malay Pramanik, Indranil Chakraborty, Soumitra Mondal, Syed S. Islam. 2007. Structural analysis of a water-soluble glucan (Fr.I) of an edible mushroom, *Pleurotus sajor-caju.* Carbohydrate Research, 342(17): 2670-2675

Mantovani MS, Bellini MF, Angeli JPF, Oliveira RJ, Silva AF, Ribeiro LR. 2008. β-Glucans in promoting health: Prevention against mutation and cancer. Mutat. Res-Rev. Mutat. 658: 154 - 161.

Mao Ye, Ji-Kai Liu, Zhong-Xin Lu, Yan Zhao, Su-Fang Liu, Li-Li Li, Ming Tan, Xin-Xian Weng, Wei Li, Ya Cao. 2007. Grifolin, a potential antitumor natural product

from the mushroom *Albatrellus confluens*, induces cell-cycle arrest in G1 phase via the ERK1/2 pathway. FEBS Letters 258(2): 199-207.

Peng Han, Chao-Qi Chen, Chun-Le Zhang, Kang-Kang Song, Han-Tao Zhou, Qing-Xi Chen. 2008. Inhibitory effects of 4-chlorosalicylic acid on mushroom tyrosinase and its antimicrobial activities Food Chemistry, 107(2): 797-803.

Pujantoro, L., Tohru, S., & Kenmoku, A. 1993. The changes of quality of fresh Shiitake (*Lentinus edodes*) in storage under controlled atmosphere conditions. Proceeding of the international Conference for Agricultural Machinery and Process Engineering 10: 423-432.

Rout S, Banerjee R 2007. Free radical scavenging, anti-glycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from Punica granatum Bioresource Technology, 98(16): 3159-3163.

Seguchi M, Morimoto N, Abe M, Yoshino Y. 2001. Effect of maitake (*Grifola frondosa*) mushroom powder on bread properties. J. Food Sci. 66:261 - 264.

Singla R, Ghosh M, Ganguli A. 2009. Phenolics and antioxidant activity of a ready-to-eat snack food prepared from the edible mushroom (*Agaricus bisporous*). Nutr. Food Sci. 39:227 - 234.

Villaescusa, R., & Gil, M. I. 2003. Quality improvement of Pleurotus mushrooms by modified atmosphere packaging and moisture absorbers. Postharvest Biology and Technology 28: 169-179.

Wasser, S. P. 2002. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Applied Microbiology and Biotechnology 60: 258-274.

Zhang, M., Cui, S.W.W., Cheung, P.C.K. and Wang, Q. 2007. Antitumor polysaccharides from mushrooms: A review on isolation process, structural characteristics and antitumor activity. Trends in Food Science and Technology, 18, 4-19.

고명수, 김상애. 2007. 새송이 버섯을 첨가한 증편의 관능적, 물리화학적 품질 특성 변화. 한국식품과학회지 39(2): 194-199.

김행란, 홍진선, 김태영, 김상범, 조수묵, 전혜경. 2005b. 상황버섯 추출액을 첨가한 라면의 품질 특성. 한국식품과학회지, 37(6): 928-932.

김행란, 홍진선, 최정실, 한귀정, 김태영, 김상범, 전혜경. 2005a. 상황버섯 분말과 추출액을 첨가한 국수의 품질특성. 한국식품과학회지, 37(4): 579-583.

박정숙, 나환식. 2007. 표고버섯 가루를 첨가한 전병의 특성. 한국식품저장유통학회지 14(4): 337-344.

상황버섯의 구연산 수용액 열수추출 방법 및 이를 이용한다당체 제조방법. 대한민국특허출원 10-2003-0036895.

성송이, 김미현, 강미영. 2008. 새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)을 첨가한 국수의 품질 특성. 한국식품조리과학회지, 24(4): 405-411.

신현재, 남형근, 임익재, 차월석. 2006. 일반 복분자주와 버섯 추출물을 함유한 복분자주의 향기성분 비교. 한국생물공학회지 21(6): 410-413.

이종숙, 김한섭, 이윤주, 정인창, 배종호, 이재성. 2007. 잎새버섯(*Grifola frondosa*) 분말 첨가가 sponge cake의 품질 특성에 미치는 영향 한국식품과학회지, 39(4): 400-405.

초음파에 의한 세포벽 파쇄 및 효소발효법을 이용한 상황버섯 베타글루칸 추출방법. 대한민국 특허출원 10-2003-0028783.

최선영, 성낙주, 김행자. 2006. 표고버섯을 첨가한 전통된장의 이화학적 특성. 한국조리과학회지 22(1): 69-79.

주　　의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.