

최 종
연구보고서

버섯균사체를 이용한 기능성
[간장 · 된장] 생산기술 개발

연구기관

경상대학교 농과대학

농 립 부



최 종 보 고 서

1999 년도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 버섯균사체를 이용한
기능성 간장·된장 생산기술 개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과
같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 10부

2. 최종보고서 디스켓 1매

2001 년 11 월 15 일

주관연구기관 : 경상대학교

총괄연구책임자 : 하 영 래 (인)

주관연구기관장 : 박 충 생

직 인

농 립 부 장 관 귀 하

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “버섯균사체를 이용한 기능성 간장·된장 생산기술 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001 년 11 월 15 일

주관연구기관명 : 경상대학교

총괄연구책임자 : 하 영 래

세부연구책임자 : 류 충 호

I. 제 목

버섯균사체를 이용한 기능성 간장·된장 생산기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

1. 연구개발의 목적

본 연구에서는 버섯엑체균사체를 이용하여 우리나라 전통식품인 된장과 간장의 기능성을 증가시키고 풍미를 개선하여 그 품질을 향상시키고자 함이 목적이다.

2. 중요성

가. 고기능성 간장과 된장의 개발 필요

- 1) 한국재래식 간장·된장은 flavonoid, 갈변물질과 같은 성분이 함유되어 항산화성은 강하지만 항암성은 미약하다.
- 2) 한국의 재래식 간장·된장은 맛과 향이 너무 강하고 독특하여 신세대들이 기피하고 있다.
- 3) 일본 된장·간장은 자기 나름대로의 독특한 기술을 개발하여 미국, 캐나다, 남미, 유럽 등지에서 수출 또는 현지생산공장의 설립 등으로 차츰 세계시장을 넓혀가고 있다. 그러나 한국의 간장·된장은 그렇지 못하다.
- 4) 국제 경쟁력과 시장의 확대, 소비증대 및 국민 건강 증진을 위해 항암효과, 체지방 감소 효과, 면역증강효과 등의 기능성을 갖는 간장·된장의 개발이 요구된다.

나. 고기능성 된장과 간장의 생산을 위해 버섯균사체의 이용 가능

- 1) 버섯은 항암성, 체지방 감소효과, 혈중 콜레스테롤 저하효과, 면역증강효과 등의 기능성을 갖는다.
- 2) 버섯은 생장을 하면서 자기의 영양원을 얻기 위하여 섬유소분해효소 단백질분해효소, 지방분해효소 등의 다양한 효소를 분비한다.
- 3) 버섯균사체도 자실체와 유사한 활성을 갖는다.
- 4) 따라서 버섯균사체메주를 생산하면 기능성 간장·된장의 생산이 가능하다.

다. 고기능성 및 향미가 순화된 된장·간장의 생산

- 1) 국민의 건강에 대한 인식의 성장과 함께 고부가 상품으로 소비를 증대시키고 건강증진에 기여할 수 있다.
- 2) 한국 재래식 간장·된장의 맛을 점점 잃어가는 차세대 한국인에게 새로운 한국 간장·된장 개발로 기호도를 높인다.
- 3) 버섯의 맛과 향을 즐기는 일본, 유럽, 미국 등지에 수출함으로써 한국 간장·된장 생산의 활성화 및 수출확대로 인한 경제효과를 기대할 수 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 버섯균사체 메주 생산

가. 메주적용 버섯균주 선발

(주)HK바이오텍에서 보관중인 버섯균주 pool을 이용하여 재래식 메주배지에서 잘 생육할 수 있는 버섯균주를 선발한다. 특히 관심이 있는 버섯균주는 느타리, 신령, 영지, 팽이, 상황, 동충하초, 표고버섯이다. 메주배지는 발효메주 가루 (지름이 5 mm 이하)를 사용하였다.

나. 액체배양

선발된 버섯균사체를 대량생산 (18 L)하기 위한 방법을 연구하였다.
기본 배지조성, agitation, 등의 조건을 구명하였다.

다. 버섯균사체매주 제조

선발된 버섯균주를 액체배양한 다음 이를 재래식 발효매주에 접종하고
배양하는 방법을 연구하였다. 표면에 살포하는 방법, 작은 구멍을 뚫은 후
접종하는 방법, 작은 괴 (약 $1 \times 1 \times 1$ cm)를 만들어 접종하는 방법 등을
연구하였다.

라. 관능 및 생리활성 조사

“다”에서 생산된 버섯균사체매주에 대해 관능 및 다양한 기능성 (특히
S-180 cell로 유발한 mouse 복수암에 대한 항암성)을 조사하고, 활성성분을
분석하였다.

마. 버섯균사체 매주 대량 생산

“라”에서 관능 및 생리활성이 뛰어난 버섯균사체 매주를 대량생산하고
이로부터 간장과 된장을 제조하였다.

2. 버섯균사체 된장 · 간장 생산

가. 된장 및 간장

상기 “1-마”에서 생산된 버섯균사체 매주를 재래식방법에 의하여
염수침지 후 간장 · 된장을 조제하였다.

나. 된장·간장의 관능검사 및 생리활성 조사

“가”에서 생산된 버섯균사체 된장·간장에 대해 관능검사를 하였고, 여러 가지 기능성 (버섯균사체메주에서 조사한 내용과 동일)과 활성성분을 분석하였다.

3. 버섯첨가 재래식 된장 생산

가. 버섯첨가 재래식 된장 제조

재래식메주를 사용하여 된장을 제조할 때에 메주량의 1% 버섯자실체 (“1-마”항에서 사용한 균의 자실체)를 잘게 부수어 (지름이 5 mm 이하) 첨가한 다음 숙성하여 된장을 제조하였다.

나. 생리활성 조사

“1-라”항에 준하여 기능성(항돌연변이성, 항암성)을 조사하였다.

4. 버섯균사체 개량식 된장 생산 (계획서에는 없음)

가. 버섯균사체 접종 방법 연구

개량식메주에 버섯균사체를 접종하고 배양하는 여러 방법을 연구하였다

나. 관능검사 및 생리활성 조사

“가”에서 생산된 버섯균사체 된장에 대해 관능검사를 하였고, 여러 가지 기능성 (버섯균사체 메주에서 조사한 내용과 동일)을 조사하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발결과

가. 재래식 버섯균사체 된장·간장

1) 버섯균사체 매주의 제조 및 기능성

가) 재래식 매주에 적응하는 버섯균의 선발

재래식 발효매주에서 생육이 우수한 버섯균은 영지, 느타리, 동충하초, 팽이, 잎새, 상황, 신령버섯 순 이었다.

나) 선발된 버섯균의 액체배양법 개발

선발된 7가지 버섯균을 대두박 0.4%, 황백당 2%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, KH_2PO_4 0.05%의 액체배지에 24℃, 7일간 진탕배양 (120 rpm)하였다. 액체배양 결과 균체생산능이 우수한 균주는 동충하초 (5.78 g/100 ml), 느타리버섯 (4.22 g/100 ml), 상황버섯 (3.39 g/100 ml)이었고, 균체생산능이 미약한 균은 신령버섯 (1.86 g/100 ml)과 잎새버섯 (1.87 g/100 ml)이었다.

다) 재래식 매주에 버섯균사체의 접종방법 연구

매주에 타공을 하고 이들 타공구에 버섯균사체배양액 10% (v/w)로 처리한 다음 24℃에서 4주간 정치배양한 방법이 균사의 생장이 가장 우수하였다.

라) 재래식 버섯균사체매주의 관능 및 기능성

(1) 관능

버섯균사체매주의 관능검사에서 느타리, 동충하초, 상황버섯균사체매주 순으로 높은 평가 점수를 얻었다. 국을 끓였을 경우에는

동충하초, 느타리, 상황버섯균사체매주 순으로 기호성이 높아졌다. 이것은 대조구에 비하여 높은 평가점수 이다. 이는 버섯 특유의 향미성분이 매주의 향미성분에 추가되어 그 기능성이 강화된 것으로 생각되며, 가열조건도 버섯균사체매주의 향미에 영향을 주는 것으로 생각된다.

※ 이상의 결과를 토대로 느타리, 상황, 영지, 신령버섯균을 계래식 버섯균사체된장·간장 제조 균으로 선발하였다.

2) 버섯균사체 된장 및 간장의 기능성

가) 관능

버섯균사체된장·간장은 대조구에 비해 높은 관능평가를 받았다. 버섯균사체된장은 향미, 풍미, 버섯향, 불쾌치, 색도, 씹은맛, 감미에서 전체적으로 대조 (4.6)에 비해 상황 (6.4), 느타리 (6.0), 신령 (5.1), 영지 (4.9)로 나타났고 버섯균사체간장은 대조 (5.0)에 비해 느타리 (6.6), 상황 (6.2), 신령 (5.8), 영지 (5.4)로 나타났다.

나) 기능성

(1) 항돌연변이성

버섯균사체된장은 *S. typhimurium* TA 98에 대한 IQ와 AFB₁의 돌연변이성을 처리농도 (100, 200, 400 μ g)에 따라 대조구에 비해 각각 26.7~62.0%와 24.8~50.8% 억제시켰고, *S. typhimurium* TA 100에서는 IQ와 AFB₁에 대해 각각 20.1~41.4%와 18.7~39.4% 억제하였다. 버섯균사체간장은 *S. typhimurium* TA 98에 대한 IQ와 AFB₁의 돌연변이성을 처리농도 (100, 200, 400 μ g)에 따라 대조구에 비해 각각 24.5~58.5%와 20.4~46.7% 억제시켰다. 마찬가지로 *S. typhimurium* TA 100에서는 IQ와 AFB₁에 대해 각각 21.0~58.0%와 20.4~50.1% 억제하였다.

(2) 항암성

버섯균사체된장의 S-180 cell에 대한 ED₅₀ 값 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)은 상황 (22.0), 느타리 (24.2), 신령 (24.8), 영지 (26.3) 순이었고 대조구는 33.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 였다. 수명연장효과는 무처리와 비교하여서 400 $\mu\text{g}/\text{g}$ mouse처리에서 신령 (25%), 영지 (30%), 상황 (26%), 느타리 (33%), 대조구 (11%) 였다. 버섯균사체간장의 S-180 cell에 대한 ED₅₀ 값 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)은 느타리 (13.3), 신령 17.3, 영지 (19.4) 상황 (20.3)이었다 (대조구 37.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$). 수명연장효과는 무처리와 비교하여 400 $\mu\text{g}/\text{g}$ mouse처리에서 신령 (39%), 영지 (37%), 상황 (40%), 느타리 (46%), 대조구 (15%) 였다.

(3) 면역증강성

버섯균사체된장 추출물 (400 mg/g) 처리에 의한 LPS 처리 24시간 후의 mouse 몸무게 감소억제는 신령 (-3.04 g), 영지 (-3.04 g), 상황 (-2.98 g), 느타리 (-3.15 g) 순으로 대조구 (-3.35 g)와 무처리 (-3.51 g)가 높다. 버섯균사체간장의 경우 영지 (-2.68 g), 상황 (-2.73 g) 느타리 (-2.73 g) 신령 (-3.16 g) 순으로 대조구 (-3.23 g)와 무처리 (-3.51 g)보다 훨씬 높다.

(4) 항산화성

버섯균사체된장 (신령, 상황, 영지, 느타리)으로 처리된 mouse의 liver microsome의 산화는 유도물질인 Asc/ Fe^{2+} 와 NADP/ Fe^{2+} , ABIN, CuOOH에 따라서 다소 차이는 있었지만 억제되었다. 이 효과는 처리농도에 비례하였고, 그 정도는 BHT (5 mg) 처리와 비슷하였다. 신령 및 느타리버섯균사체간장의 항산화능은 BHT와 비슷하거나 다소 높았다. 그 외 처리는 대조구와 비슷하였다.

(5) 체중감소성

Mouse 실험에서 버섯균사체된장 · 간장은 유의성 있는 체중감소효과는 볼 수 없었다. 그러나 처리 3주후부터 약간의 차이를 보여

30일에는 0.3~0.8 g 체중감소 효과를 볼 수 있었다. 사료섭취량 (평균 17.67 g/mouse/3 day)에는 차이가 없었다.

3) 주요성분

가) 조단백질 함량

버섯균사체된장의 조단백함량은 대조구의 1.1 mg-N%와 비슷하였으나 느타리버섯균사체된장은 1.2로 다른 처리구에 비해 높게 나타났다. 버섯균사체간장의 조단백함량은 대조구의 0.7 mg-N%와 비슷하였으나 신령버섯균사체간장은 0.6 mg-N%으로 다소 낮았다.

나) 조지방 함량 및 지방산 조성

버섯균사체된장의 조지방함량은 상황 및 신령에서 1.99%로 대조구된장보다 높게 나타났으나, 영지와 느타리에서는 각각 1.42, 1.51%로 대조구보다 낮게 나타났다. 신령, 상황, 느타리버섯균사체간장은 0.76, 0.76, 0.74%로 대조구와 비슷하였으나 영지는 0.64% 다소 낮았다. 버섯균사체된장의 지방산조성비는 대조와 비슷하였으나, 영지의 경우 linoleic acid와 CLA가 다른 처리구에 비해 높았다. 버섯균사체간장의 지방산조성비는 대조구와 비슷하였다. 버섯균사체간장의 CLA함량은 버섯균사체된장보다 높았는데 신령과 상황버섯균사체간장에서 약 1.3%의 CLA가 함유되어 있었다.

다) 향미성분

총 60종의 향기성분을 동정하였고, 각 버섯균사체된장과 간장에 따라 다양한 종류의 향기성분이 검출되었다. 이것은 버섯자체의 고유향기성분 또는 메주와 간장·된장 발효과정에서 생성된 물질인 것으로 생각된다.

라) 아미노산

버섯균사체 된장에는 총 18개의 아미노산이 동정되었고, 그 조성은 버섯균종에 따라 차이가 있었다. 신령은 leucine의 함량 (186 mg/100

g), 영지는 γ -aminobutyric acid (142 mg/100 g), 상황은 proline (1,947 mg/100 g), 느타리는 glutamic acid (477 mg/100 g)가 높았다. 또한 상황과 느타리버섯균사체간장에는 아미노산 함량이 상대적으로 높았다. 대조구간장은 γ -aminobutyric acid (156 mg/100 g), 신령은 glutamic acid (208 mg/100 g), 영지는 γ -aminobutyric acid (174 mg/100 g), 상황간장은 glutamic acid (345 mg/100 g), 느타리는 glutamic acid (641 mg/100 g)가 높았다.

마) 산가

상황과 신령버섯균사체 된장의 산가는 26.92로 높았으나, 느타리, 신령, 상황은 각각 17.85, 18.15, 20.65로 대조구와 비슷하였다. 버섯균사체간장의 산가는 대조구간장의 산가 20.76과 비슷하였다.

바) 갈변

버섯균사체 된장의 갈변도는 1.2428~1.6370이었으며 대조구>영지>느타리>상황>신령 순이었다. 버섯균사체간장의 갈변도는 0.6417~2.0331까지 있었으며 대조구>느타리>신령>영지>상황버섯균사체간장 순이었다.

사) 페놀화합물과 isoflavone 함량

버섯균사체된장의 페놀성화합물 함량은 느타리, 신령, 상황, 영지에서 각각 7.8, 6.9, 6.2, 5.9 mg/g이었고 (대조구된장은 6.8 mg/g), 총 isoflavone의 함량은 신령, 느타리, 상황, 영지에서 각각 1,583.7, 1,463.7, 1,427.2, 1,394.5 μ g/g (대조구된장은 1,538.5 μ g/g)였다. 또한 버섯균사체된장에서는 대조구보다 genistein함량이 daidzein보다 월등히 높았다. 버섯균사체간장의 페놀성 화합물 함량은 대조와 비슷한 1.3 mg/g 정도였다. 총 isoflavone의 함량은 느타리, 신령, 영지된장 순으로 34.0, 31.0, 26.6, 25.2 μ g/g이었다 (대조구간장은 29.3 μ g/g). 버섯간장의 genistein과 daidzein 함량은 버섯균사체된장에 비해 매우 낮았다.

자) 유리당 분석

Galctose, fructose, starchyose 3개의 당이 검출되었다.
된장에서는 galactose, fructose, starchyose의 순으로 높았다. 간장에서는 fructose, galactose, starchyose의 순으로 함량이 높았다.

나. 자실체 된장

S. typhimurium TA 98에 대해 AFB₁의 항돌연변이성은 신령버섯자실체 된장에서 42%로 가장 큰 항돌연변이효과를 보였다. S-180 cell에 대하여 항암성이 가장 강한 것은 상황버섯자실체된장이었다.

다. 개량식 버섯균사체 된장

1) 개량식메주에 버섯액체균사체 접종방법

개량식메주에 버섯균사체를 배양시키는 것은 아주 어려웠다. 여러 가지 방법 중에서 개량식 메주를 침지할 때에 10%의 버섯균사체배양액을 첨가하여 숙성시키는 방법이 가장 우수하였다. 이 경우 버섯균사체의 생육은 저조하였지만 여러 가지 효소작용에 의한 기능성 향상은 가능하였다.

2) 향미 및 물리성

개량식 버섯균사체된장은 상황, 느타리, 동충하초 순으로 높은 관능평가를 받았다. 국을 끓였을 때는 느타리, 상황, 동충하초 순으로 기호성이 좋았다. 색도는 느타리, 상황, 동충하초에서 lightness, redness yellowness가 증가하였다. 버섯균사체된장에서 경도, 부착성, 응집성, 탄력성, 점성, 파쇄성과 같은 물리성이 개선되었다.

3) 기능성

가) 항돌연변이성

S. typhimurium TA 98에 대해 IQ의 돌연변이성은 느타리버섯균사체된장 (77.0%), AFB₁의 돌연변이성은 동충하초버섯균사체된장 (56.1%)에서 가장 큰 항돌연변이성 효과를 보았다. *S. typhimurium* TA 100에서 IQ에 대해서는 표고와 상황버섯균사체된장 (22.2%), AFB₁에 대해서는 잎새버섯균사체된장 (14.4%)이 가장 높은 항돌연변이성을 나타내었다.

나) 항암성

S-180 cell에 대하여 세포독성이 가장강한 것은 상황, 동충하초, 잎새 느타리, 표고버섯균사체된장의 순으로 ED₅₀ 값 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)은 각각 33.4, 37.8, 45.3, 48.5, 97.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 이것은 대조구 된장의 112.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 보다 월등히 뛰어난 효과였다. Mouse 복수암에 대한 수명연장효과는 느타리버섯균사체된장 처리구에서 43%의 가장 높은 수명연장효과를 나타내었다.

□ 본 연구결과의 중요성

1. 재래식메주를 제조한 다음 버섯균사체를 다시 배양함으로써 재래식된장과 간장의 향미를 그대로 살리면서 버섯균사체가 부여하는 생리활성과 향미를 추가하는 기술을 개발하였다. 특히 상황버섯균사체된장과 신령버섯균사체간장의 AFB₁에 대한 항돌연변이성효과는 메주발효시 생성될수 있는 AFB₁의 돌연변이성을 억제시켜주는 기능을 부여할 수 있을 것으로 기대된다.
2. 재래식 및 개량식 상황버섯균사체된장은 갈색보다 밝은 노란색을 띄어 된장의 품질을 향상시키는 효과가 뛰어났다.
3. 재래식 및 개량식 느타리버섯균사체간장과 된장은 향이 우수하였다.

4. 재래식 및 개량식 버섯균사체된장과 간장은 항암성, 항돌연변이성, 면역증강성, 항산화성 등의 기능성이 대조구에 비해 우수하였다.
5. 본 기술은 곡립종균제조방법에 의해 개발된 기존의 버섯된장과 간장제조 기술과는 달리 재래식 고유의 된장과 간장의 특성을 그대로 살리면서 버섯균사체의 기능성을 추가한 기술개발이라는 점에서 그 중요성이 있다.

2. 활용에 대한 건의

1. 본 연구에서는 느타리, 영지, 상황, 및 신령버섯균사체액체배양액을 재래식메주에 접종하여 배양하여 기능성과 향미가 증강된 재래식된장·간장을 제조하였다. 또한 개량식 된장의 경우 황국균으로 제조된 메주를 염수침적시에 이들 버섯균사체액체배양액을 첨가하여 숙성함으로서 기능성과 향미가 증강된 개량식 된장을 생산하였다.
2. 본 연구진은 이들 기술을 (주)거성과 효자식품 등의 회사와 기술이전을 협상하고 있지만, 기술료 지불 등 보다 좋은 조건을 제시하는 업체에 기술이전 할 수 있도록 센터에서 적극 홍보하여 주십시오.

Summary

This study was conducted to enhance the functional quality, and taste and flavor of Doenjang (DJ) and Kanjang (KJ), using the liquid culture of mushrooms. For this purpose, mushroom strains used were *Pleurotus ostreatus* (PO), *Ganoderma lucidum* (GL), *Phellinus linteus* (PL), *Agaricus blazei* (AB) and *Paecilomyces japonicus* (PJ). The DJ and KJ were prepared with traditional meju (TM) grown submerged-mushroom culture (SMC) (designated TMCDJ and TMCKJ, respectively). Improved DJ was also prepared with improved meju by mixing SMC (designated IMCDJ).

Quality enhancement of TMCDJ and TMCKJ:

Several holes (1×3 cm) were made in each side of TM and to these holes was added SMC (10% of TM by weight) of PO, GL, PL and AB. The TM inoculated with SMC was incubated in a atmosphere-controlled room (24°C) for 4 weeks. Upon sensory analysis of these TMs, the score was in the order of PO-, GL-, PL- and AB-TMCMJs. These TMs strongly inhibited the mutagenicity of IQ and AFB₁ for *S. typhimurium* TA 98 and TA 100, and also inhibited the carcinogenicity of S-180 cells in mouse ascites. Thus, TMCDJ and TMCKJ were prepared from PO-, PL-, GL-, AB-TMCMJ.

TMCDJ and TMCKJ were received higher sensory scores than controls. Sensory value was in the order of PL-TMCDJ (6.4), PO-TMCDJ (6.0), AB-TMCDJ (5.1), GL-TMCDJ (4.9), PO-TMCKJ (6.6), PL-TMCKJ (6.2), AB-TMCKJ (5.8), and GL-TMCKJ (5.4). These products gave 18.7~62.0% inhibitory effects of mutagenicity of IQ and AFB₁ for *S. typhimurium* TA 98 and TA 100. Similarly, they inhibited 25~46% of mouse ascites carcinogenesis induced by S-180 cancer cells; anticarcinogenic activity of

TMCDJ was more strong than TMCKJ. Most effectives treatments were PO-TMCDJ and PO-TMCKJ, which exhibited 33 and 46% inhibition, respectively. Suppression of LPS-induced body weight loss by TMCDJ was in the order of AB-TMCDJ, GL-TMCDJ, AB-TMCDJ, PO-TMCDJ and by TMCKJ was GL-TMCK, AB-TMCKJ, PO-TMCKJ, and AB-TMCKJ. When tested using mouse liver microsomal assay, antioxidative activity of TMCDJ samples was similar to that of BHT. Among TMCDJ, only TMCKJ gave similar activity of BHT. No significant body fat reduction of mice was seen in TMCDJ and TMCKJ treatments.

Effective compounds isolated from TMCDJ and TMCKJ were CLA, γ -aminobutyric acid, glutamic acid, genistein, daidzein and starchyose. Brown pigmentation in TMCDJ and TMCKJ was significantly lowered, relative to controls. Most effectives treatments were AB-TMCDJ and PO-TMCKJ, respectively.

In overall, efficacy of SMC to improve quality and tastes of TMCDJ was in the order of PL>PO>AB>GL and of TMCKJ was in the order of PO>AB>PL>GL.

Quality enhancement of IMCDJ

It is difficult to culture mushroom onto/into the improved meju (IM), fermented with *A. oryzae*. The best way for the preparation of IMCDJ is to mix SMC with IM during soaking in brine solution. SMC (10% of IM, v/w) was thoroughly mixed with IM and then soaking in brine solution, followed by aging for 30 days. In so doing this, mycelia did not grow into/onto the IM, but some enzymes and bioactive compounds derived from the SMC enhanced the quality of the IMCDJ. Actually, SMC (PL, PO, PJ) treatments significantly enhanced the sensory score, color intensity, physical

properties, antimutagenicity and anticarcinogenicity, as compared to control treatments. Interestingly, this treatment diminished a bitter taste, which is a cause of low quality of such products.

In overall, efficacy of SMC to improve quality and tastes of IMCDJ was in the order of PO>PL>PJ>LE>GF

Significance of this study

1. This study developed a new technology improving bioactivity and flavor of traditional DJ and KJ by growing SMC into/onto TM. This technology enhanced biological activity and flavor of TMCDJ and TMCKJ without altering their native characteristics. Interestingly, antimutagenicity of PL-TMCDJ and AB-TMCKJ for AFB₁ is of significance since AFB₁ might be produced during fermentation of TM.
2. Yellowish color intensity, which is quality index, was enhanced in All TMCDJ and IMCDJ.
3. PO-TMCDJ, PO-TMCKJ and PO-IMCDJ possessed excellent flavor characters.
4. Significant biological activities (anticarcinogenicity, antimutagenicity, antioxidative activity, etc) were enhanced in all TMCDJ and IMCDJ
5. This technology, which provide the traditional characteristics of DJ and KJ, is distinguished from a technology manufacturing mushroom DJ and KJ, using mushroom grains, which did not provide the characteristics traditional DJ and KJ.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	23
Section 1. Background	23
Section 2. Objectives and importance	27
Section 3. Scopes	29
Section 4. References	32
 Chapter 2. Screening of mushroom strains	 36
Section 1. Screening	36
Section 2. Liquid culture of mushroom mycelia	38
 Chapter 3. Biological activities of traditional meju cultured with submerged-mushroom culture (TMCMJ)	 44
Section 1. Manufacture of traditional meju (TM)	44
Section 2. Methods for inoculation of submerged-mushroom culture (SCM)	50
Section 3. Antimutagenicity	59
Section 4. Anticarcinogenicity	65
Section 5. Flavor and physical properties	73
Section 6. Microorganisms	76
 Chapter 4. Biological activities of Deonjang (DJ) and Kanjang (KJ) prepared with TM grown SMC (designated TMCDJ and TMCKJ)	 79
Section 1. Preparation of TMCDJ and TMCKJ	79
Section 2. Antimutagenicity	82
Section 3. Anticarcinogenicity	112
Section 4. Immunity	125

Section 5. Antioxidative activity	136
Section 6. Body weight reduce	144
Section 7. Sensory test	147
Section 8. Important chemical components	150
Chapter 5. Biological activity of DJ mixed with msuhroom	180
Section 1. Preparation	180
Section 2. Biological activity	182
Chapter 6. Biological activities of DJ prepared with improved meju by mixing SMC (designated IMCDJ)	183
Section 1. Methods for the preparation of IMCMJ	183
Section 2. Antimutagenicity	187
Section 3. Anticarcinogenicity	193
Section 4. Flavor and physical properties	200
Section 5. Microorganims	205
Chapter 7. Summary	206

목 차

제 1 장 서 론	23
제 1 절 연구배경	23
1. 현황	23
2. 문제점 및 대책	26
제 2 절 연구개발의 목적 및 중요성	27
1. 목적	27
2. 중요성	27
제 3 절 연구개발의 내용 및 범위	29
1. 재래식버섯균사체 메주 생산	29
2. 재래식 버섯균사체 간장·된장	31
3. 재래식 버섯자실체 첨가 된장·간장의 생리활성 연구	31
4. 개량식버섯균사체 된장 (계획서에는 없음)	31
제 4 절 참고문헌	32
제 2 장 버섯균주의 선발	36
제 1 절 선발	36
1. 균주와 배지의 조제	36
2. 버섯균주의 활성	37
3. 결론	38
제 2 절 액체배양법 개발	38
1. 액체배지 제조	38
2. 액체배양	38
3. 배양액의 protein 함량	40
4. 배양액 (균사체 + 배양액)의 지방산 함량	41
5. 결론	43
제 3 장 재래식 버섯균사체 메주의 생리활성 구명	44
제 1 절 메주 제조	44

1. 제조	44
2. 버섯균의 선발	44
3. 결론	50
제 2 절 버섯액체균사체의 접종방법	50
1. 표면접종	50
2. 타공구에 접종	54
3. 작은 블록에 접종	58
4. 결론	59
제 3 절 항돌연변이성	59
1. 재료	59
2. 항돌연변이 실험	59
3. 항돌연변이 효과	60
4. 결 론	65
제 4 절 항암성	65
1. S-180 암세포에 대한 세포독성	65
2. Mouse 복수암에 대한 항암성	69
3. 결론	72
제 5 절 향미 및 물리성	73
1. 관능검사	73
2. 색도	75
3. 결론	76
제 6 절 미생물	76
1. 검사방법	76
2. 미생물군	77
3. 결론	78
제 4 장 재래식 버섯균사체 된장·간장의 생리활성 구명	79
제 1 절 버섯균사체 된장·간장의 제조	79
1. 메주의 대량 생산	79
2. 된장과 간장의 제조	80

3. 된장 · 간장의 미생물 분포조사	80
4. 결론	82
제 2 절 항돌연변이성	82
1. 시험방법	82
2. 된장의 항돌연변이 효과	82
3. 간장의 항돌연변이 효과	96
4. 결론	110
제 3 절 항암성	112
1. 실험방법	112
2. S-180 암세포에 대한 세포독성	112
3. Mouse 복수암	116
4. 결론	124
제 4 절 면역증강성	125
1. 실험방법	125
2. 된장의 catabolic response overcome 효과	125
3. 간장의 catabolic response overcome 효과	131
4. 결론	135
제 5 절 항산화성	136
1. 동물실험	136
2. Mouse liver microsome 분리	136
3. 항산화성 실험	137
4. 된장 · 간장의 항산화 효과	138
5. 결론	144
제 6 절 체중감소성	144
1. 실험방법	144
2. 된장	145
3. 간장	146
4. 결론	147
제 7 절 관능검사	147

1. 관능검사	147
2. 결론	149
제 8 절 생리활성 물질 분리	150
1. 수분함량	150
2. 조단백질함량	151
3. 조지방함량	153
4. 지방산 조성	155
5. 향미성분의 분석	156
6. 아미노산조성	163
7. 산가	168
8. 갈변도	169
9. 페놀화합물과 isoflavon 함량	171
10. 유리당 함량	174
11. 결론	177
제 5 장 버섯첨가 된장의 생리활성	180
제 1 절 된장 제조	180
제 2 절 생리활성	180
1. 항돌연변이성	180
2. Mouse 복수암	182
제 6 장 개량식 버섯균사체 메주의 생리활성 구명	183
제 1 절 개량식 메주에 버섯 액체균사체의 접종방법	183
1. 방법	183
2. 버섯균사체의 생육	184
3. 결론	186
제 2 절 항돌연변이성	187
1. 실험방법	187
2. 항돌연변이성	188
3. 결론	193

제 3 절 항암성	193
1. 세포독성	193
2. 항암성	194
3. 결 론	199
제 4 절 향미 및 물리성	200
1. 관능검사	200
2. 색도의 측정	202
3. 물리성	203
4. 결 론	204
제 5 절 미생물검사	205
1. 검사방법	205
2. 미생물군	205
제 7 장 적 요	206

제 1 장 서 론

제 1 절 연구배경

1. 현황

가. 간장·된장에 관한 연구

국내외에서 본 연구개발과 직접관련하여 수행한 연구개발 내용과 결과
흔치 않다. 그러나 한국 간장·된장 특성과 기능성에 관한 연구결과는 많다.

1) 기능성

가) 항암성 및 항산화성

메주의 발효 및 된장의 숙성중에 지질산화와 갈변을 억제하는
phenol 성 화합물 및 peptide 등이 다량 생성되어 재래식 메주 및
된장·간장은 항암성 및 항산화성을 나타낸다.

나) 항돌연변이성 및 항혈전성

된장은 항돌연변이성 및 혈소판 응집저해 활성을 갖는다고
보고되었다.

2) 맛 및 향기성분

가) 맛성분

Glutamine, asparagine등이 된장과 간장의 주요 감칠맛 성분이다.
그외 아미노산, peptide 등도 주요한 맛성분이다.

나) 향기성분

매주의 주요 향기성분으로는 3-methyl butanol과 1-butanol이 숙성된장에서는 재래식 된장 특유의 꼬릿한 냄새를 내는 pentanoic acid, propanoic acid와 같은 휘발성 지방산이 있으며 그외 구수한 냄새를 내는 pyrazine류의 화합물이 검출되었다. 이외에도 100여종 이상의 향기성분이 검출되었으며, 자극취를 내는 thiazole 등도 재래식 된장과 간장의 주요한 향기성분이다.

나. 버섯 및 버섯균사체에 관한 연구

1) 기능성

국내·외에서 버섯의 생리활성 및 향미성분에 관한 연구는 많이 수행되어 버섯은 기능성 식품으로 그 가치를 인정받고 있다.

가) 항암성

- (1) 일반적으로 조개느타리, 표고버섯등에 존재하는 단백질 다당체는 면역체계와 연결되어 간접적으로 종양 증식을 억제시키고 암세포나 유해 병원균을 사멸시키는 macrophage의 수를 증가시키는 것으로 알려져 있다.
- (2) β -1,3-glucan인 lentinan은 mouse 실험에서 5-FU 치료로 인한 체중감소를 억제시키고 종양에 의한 독성을 선택적으로 감소시키는 효과를 보였다. 또한 위암환자를 대상으로 한 임상실험에서 생존기간을 연장하고 식욕부진, 권태감, 오심, 동통등의 자각증상을 개선시켰다.
- (3) 상황버섯, 동충하초, 아가리쿠스 버섯은 최근 이들의 항암성에 대해 많은 주목을 받고 있다.

나) 면역 증강성

- (1) 표고버섯에 존재하는 β -1,3-glucan인 lentinan은 면역계의 host-mediated immune response에 관여하여 손상된 면역기능을 회복시켰다. 또한 생체내에서 감염방어등의 면역기능을 나타내는 보체계(complement system)를 활성화시킨다고 알려져 있다.
- (2) 느타리, 표고버섯 등에 존재하는 단백질 다당체는 인터페론생성을 촉진시키는 물질의 종양에 대한 생체 고유의 방어력을 높여줌으로써 인터페론의 유도를 활성화시킨다고 보고되었다.

다) 혈중 콜레스테롤 강하 및 체지방 감소성

- (1) Rat을 이용한 실험에서 표고의 엘리타데닌이 혈중콜레스테롤과 혈압을 강하시키는 작용이 있음이 보고되었다.
- (2) 느타리 버섯의 열추출물은 mouse의 체지방을 감소시키는 효과가 있었다.

라) 항바이러스성

- (1) 표고의 포자추출물에 인플루엔자 바이러스 저지효과가 있음이 알려져 있다.

2) 맛 및 향기성분

버섯 및 버섯균사체의 맛성분에는 핵산 (GMP), amino acid, peptide 등이 관여하고 버섯 고유의 특수한 향기는 휘발성 물질이 관여한다. 1-octen-3-ol, 3-octanone, 3-octanol, n-octanol, 및 2,4-decadienol은 느타리 버섯, 1-octen-3-ol과 3-octanone은 양송이 버섯, lenthionine과 lenthionic acid는 표고버섯, 1-octene-3-ol과 methyl cinnamate는 송이의 특유한 향기성분이다.

3) 효소

버섯의 효소는 주로 목재를 분해하는 효소군에 속한다. 이들 효소는 lignin 가수분해 효소 (phenol oxide)와 셀룰로스 가수분해 효소 (cellulase)로 대별되며 이외에도 protease, pectinase, chitinase, hemicellulase, glycosylase를 포함하여 다수의 효소가 있다.

다. 버섯균사체의 이용

버섯균사체를 이용한 발효음료 및 건강보조식품의 개발은 차츰 활성화되고 있으며, 영지 (영지균사체 음료), 상황 (상황균사체 엑기스), 표고균사체 (일본의 LAM), 아가리쿠스 균사체 혼합 음료 (일본에서 상품화)는 이미 상품화되어 국내시판 및 외국수출 등 활발한 기술개발이 되고 있다.

2. 문제점 및 대책

가. 주요식품인 간장·된장의 기능성이 낮다.

○ 기능성의 강화방법 개발이 요구된다.

나. 한국 간장·된장의 생리활성적 기능이 우수함은 인정되고 있지만 그 독특한 맛과 향이 너무 강하여 신세대 한국인과 외국인의 입맛에 맞지 않는 것이 문제이다. 따라서, 국내의 소비량이 점점 줄어들고 있고, 수출은 일본간장과 된장 (미소)에 비해 매우 저조한 형편이다.

○ 맛과 향기를 개선하면 소비 및 수출을 증대시킬수 있다.

다. 메주속에는 곰팡이 (*Aspergillus oryzae*, *Rhizopus japonicus*, *Penicillium monilia*), 효모 (*Zygomycetes soya*), 세균 (*Bacillus*, *Pseudomonas* 외 16종)과 같은 다양한 미생물이 존재하고 있다. 따라서 이러한 미생물에 대한 저항성의 문제가 생길 수 있다.

○ 저항성이 강한 버섯균주의 선발이 필요하다.

라. 버섯균은 호기성이기에 메주덩어리 내부에서 생육이 어렵다.

○ 메주내에서 버섯균이 자라게 할 수 있는 배양방법이 필요하다.

제 2 절 연구개발의 목적 및 중요성

1. 목적

본연구의 목적은 기능성 간장·된장을 생산하는 것이다. 즉 항암성, 면역성 및 맛과 향이 완화된 간장·된장을 생산하는 것이다.

2. 중요성

가. 기술적 측면

1) 고기능성 간장과 된장의 개발

가) 간장과 된장은 미생물에 의해 발효된 발효식품으로 한국인의 기본식품이다.

나) 한국재래식 간장과 된장은 flavonoid, 갈변물질과 같은 성분이 함유되어 항산화성은 강하지만 항암성은 미약하다.

다) 한국의 재래식 간장과 된장은 맛과 향이 너무 강하고 독특하여 신세대들이 기피하고 있다.

라) 일본 된장과 간장은 자기 나름대로의 독특한 기술을 개발하여 미국, 캐나다, 남미, 유럽등지에서 수출 또는 현지생산공장의 설립 등으로 차츰 세계시장을 넓혀가고 있다. 그러나 한국의 간장과 된장은 그렇지 못하다.

마) 국제 경쟁력과 시장의 확대, 소비증대 및 국민 건강 증진을 위해 항암효과, 체지방 감소 효과, 면역증강효과 등의 기능성을 갖는 간장·된장의 개발이 필요하다.

2) 고기능성 버섯의 이용

- 가) 버섯은 호기성 균류의 군사가 성장한 자실체이다.
- 나) 버섯은 생리활성 특히 항암성이 뛰어나 암환자들이 치료용으로 사용하거나 건강한 사람은 암 예방용으로 많이 이용하고 있다. 또한 버섯은 항암성이외에 체지방 감소효과, 혈중 콜레스테롤 저하효과, 면역증강효과 등의 기능성을 갖는다.
- 다) 버섯은 성장을 하면서 자기의 영양원을 얻기 위하여 섬유소분해효소, 단백질분해효소, 지방분해효소 등의 다양한 효소를 분비한다.
- 라) 버섯균사체도 자실체와 유사한 생리활성을 갖는다.
- 마) 따라서 이와 같은 생리활성과 특성을 지닌 버섯이나 버섯의 균사체를 이용하면 고기능성 간장·된장을 생산할 수 있다.

3) 버섯균사체를 이용한 고기능성 간장·된장의 개발

- 가) 기능성이 높은 버섯균사체메주를 생산하면 기능성 간장·된장의 생산이 가능하다.
- 나) 이를 위해 버섯균사체 생산법과 재래식 메주 또는 개량 메주에 대한 호기성 버섯균사체의 배양방법의 개발이 필요하다.
- 다) 본 연구진은 다년간의 기술 축적을 바탕으로 특수 버섯균사체를 생산하는 방법을 개발하였고 버섯균사를 메주에 배양하는 방법도 개발하였다.
- 라) 따라서 본 연구진은 항암성과 생리활성이 낮은 메주에 고기능성 버섯균사체를 접종, 배양하여 버섯 균사체 메주를 생산하여 향미가 순화되고 항암성과 생리활성이 높은 고기능성 간장·된장을 생산할 것이다.

나. 경제·산업적 측면

○ 고기능성 및 향미가 순화된 된장, 간장의 생산으로 다음과 같은 경제·산업적인 효과를 얻을 수 있음

- 1) 국민의 건강에 대한 인식의 성장과 함께 고부가 상품으로 소비를 증대시킬 수 있다.
- 2) 한국 간장·된장의 국내시장 점유율을 높일 수 있다.
- 3) 버섯의 맛과 향을 즐기는 일본, 유럽, 미국 등지에 수출함으로써 한국 간장·된장 생산의 활성화 및 수출확대로 인한 경제효과를 기대할 수 있다.
- 4) 농가의 소득을 증대할 수 있다.

다. 사회·문화적 측면

○ 고기능성 및 향미가 순화된 된장·간장의 생산으로 다음과 같은 사회·문화적인 효과를 얻을 수 있음

- 1) 한국 재래식 간장·된장의 맛을 점점 잃어가는 차세대 한국인에게 새로운 한국 간장·된장 개발로 기호도를 높인다.
- 2) 항암성 등의 생리활성 효과가 높은 기능성 한국 간장·된장의 소비량을 증가시킴으로써 국민건강 증진에 기여한다.

제 3 절 연구개발의 내용 및 범위

1. 재래식버섯균사체 매주 생산

가. 매주적용 버섯균주 선발

매주매지 적응 균주를 선발하기 위하여 (주)HK바이오텍에서 보관중인 수십종의 버섯균주들 가운데 생리활성이 뛰어난 느타리, 신령, 영지, 팽이, 상황, 동충하초, 표고버섯등을 선발하여 PDA상에서 활성화시켰다. 활성화시킨

버섯균주를 메주배지에서 다시 활성화 유무를 조사하였다. 이를 위하여 재래식 발효메주와 대두박을 이용한 속성발효메주 (국균을 접종한 개량식 메주)를 제조하였다. 메주중 여러가지 종류의 미생물 (곰팡이, bacteria, yeast 등)이 균총을 형성하고 있는 이런 상태에 적응하는 균주의 선발이 필요하였다. 메주가루나 작은 덩이 메주를 이용하여 확인하였다.

나. 액체배양

메주배지에 적응된 버섯균사체의 대량생산방법을 구명하기 위하여 “가”의 결과를 만족하는 즉, 메주배지에 적응력이 강한 버섯균사체를 대량배양할 수 있는 액체배양방법을 구명하였다.

다. 버섯메주 제조

선발된 균주를 이용한 버섯균사체메주 제조의 최적조건을 구명하였다. 버섯균사는 호기성이지만 메주 내부까지 균사체를 형성하기란 쉽지 않다. 따라서 균사체의 생장이 가장 우수한 접종방법을 개발하였다. 메주에 버섯균사체를 접종한 후 균종별, 접종방법별, 물성별로 생육이 가장 왕성한 배양조건을 구명하였다.

라. 관능검사 및 생리활성

버섯균사체를 이용하여 생산된 버섯균사체메주에 대한 관능검사와 생리활성을 조사하였다. 관능검사는 다변량 해석법에 따라 검사하였고 생리활성은 S-180 cell로 유발한 복수암 억제효과로 조사하였다.

마. 버섯균사체 메주 대량 생산

버섯균사체를 번식시켜 생산한 버섯균사체메주 중에서 관능과 생리활성이 우수한 메주를 대량생산 함과 동시에 생산된 메주중의 미생물상의 분포를 조사하였다.

2. 재래식 버섯균사체 간장 · 된장

가. 간장 및 된장의 제조

생산된 버섯균사체 메주를 재래식방법에 의하여 염수에 침지 한 다음 간장과 된장을 조제하였다.

나. 관능검사

기능성 버섯균사체 및 자실체 첨가 간장과 된장의 관능검사와 향미성분을 분석하였다. 관능검사는 “1”의 “라”의 방법에 준하여 실시하였고, 향미와 관련되는 성분은 휘발성 향기성분 분석법 (용매추출법)을 사용하였다

다. 생리활성 연구

재래식 방법에 의하여 생산된 간장과 된장의 생리활성은 S-180 cell로 유발한 mouse 복수암 억제효과를 조사하였고, 생리활성 성분을 조사하였다.

3. 재래식 버섯자실체 첨가 된장의 생리활성 연구

대조구에 버섯자실체를 첨가하여 된장을 제조한 다음 항돌연변이성 및 함암성을 조사하였다.

4. 개량식버섯균사체 된장 (계획서에는 없음)

관행에 따라 개량식 메주를 제조하고 여기에 액체균사체를 혼합하고 된장을 제조하였다. 이 된장의 기능성, 향미 및 물리성을 연구하였다.

제 4 절 참고문헌

1. Lee,J.H., Kim,M.H., and Im,S.S. Antioxidative materials in demestic Doenjang: 1. Lipid oxidation and browning during fermentation of Meju and Doenjang. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 20:148-155 (1994).
2. Kim,M.H., Im,S.S., Kim,S.H., Kim,G.E., and Lee,J.H. Antioxidative materials in demestic Doenjang: 2. Separation of lipopolic brown pigment and their antioxidative activity. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23:251-260 (1994).
3. Lee,J.H., Kim,M.H., Im,S.S., Kim,S.H., and Kim,G.E. Antioxidative materials in demestic Doenjang: 3. Separation of hydrophilic brown pigment and their antioxidative activity. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23:604-613 (1994).
4. Kim,M.H., Im,S.S., Yoo,Y.B., Kim,G.E., and Lee,J.H. Antioxidative materials in demestic Doenjang: 4. Separation of phenolic compounds and their antioxidative activity. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23:792-798 (1994).
5. Shon,D.H., Lee,K.A., Kim,S.H., An,C.W., Nam,H.S., and Lee,H.J. Screening of antithrombotic peptides from soybean paste by the microplate method. *Kor J. Food Sci. Tech.* 28:684-688 (1996).
6. Park,S.K., Cho,Y.S., Park,J.R., Moon,J.S., and Lee,Y.S. Changes in the contents of sugar, organic acid, free amino acid and nucleic acid-related compounds during fermentation of leaf mustard-Kimchi. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24:48-53 (1995).
7. Kim,G.E., Kim,M.H., Choi,B.D, Kim,T.S., and Lee,J.H. Flavor Compounds of Domestic Meju and Doenjang. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21:557-565 (1992).

8. Kim,G.E., Kim,M.H., Choi,B.D., Kim,T.S., and Lee,J.H. Flavor compounds of domestic Meju and Doenjang. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24:557-565 (1992).
9. Park,J.S., Lee,M.Y., Kim,K.S., and Lee.T.S. Volatile flavor components of soybean plaste(Doenjang) prepared from different types of strains. *Kor J. Food Sci. Tech* 26:255-260 (1994).
10. Park,M.H., Oh,K.Y., and Lee,B.W. Anti-cancer activity of *Letinus edoeds* and *Pleurotus astreatus*. *Kor J. Food Sci. Tech.* 30:702-708 (1998).
11. Lee,K.L., Lee,C.O., Kim,H.W., Kim,J.W., Kim,S.W., Choi,E.C., and Kim,J.W. Studies on constituents of higher fungi of Korea(XXXVIII). *Korea J. Mycology* 13:11-21 (1985)
12. Kim,S.J., Kim,J.O., Park,C.W., Kim,J.M., and Ha,Y.L. Reduction of mouse body fats by water extract of *Pleurotus ostratus*. *Kor. J. Food Sci.* 2:130-133 (1999).
13. Lee,M.H., Kim,H.W., Shim,M.J., and Toh,S,H. Studies on constituents of higher fungi of Korea(LVI). *Korea J. Mycology* 14:149-163 (1986).
14. Park,S.K., Cho,Y.S., Park,J.R., Moon,J.S., and Lee,Y.H. Changes in the Contents of sugar, organic acid, free acid and Nucleic acid-related compounds during fermentation of leaf Mustard-Kimchi. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24:48-53 (1995).
15. Hong,J.S., Lee,J.Y., Kim,H.K., Kim,M.K., Jung,G.T., and Lee,K.R. Studies on the volatile aroma components of *Pleurotus ostreatus*. *Korea J. Mycology* 14:31-36 (1986).
16. Yoo,J.Y., and Kim,H.G. Changes of microflora and enzyme activities of traditonal Meju during fermentation at Sunchang area. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 27:448-454 (1998).

17. Anderson,N.R. Algebraic models in perception. In "handbook of perception vol. 2,(eds.), Academic Press, New York, p.215 (1974).
18. Jordi Folch, Lees,M., and Sloane stanley, G.H. A simple method for the isolation purification of normal lipids from animal tissues. *J. Bio. Chem.* 497-509 (1956).
19. A.O.A.C. Official method of analysis. 14th ed. Association of official analytical chemist. Washington, DC., 233 (1980).
20. Waters Associate. Waters amino acid analysis PICO.TAG system. Youngin Scientic. Co., Ltd. 24 (1990).
21. Ryder,J.M. Determination of ATP and its breakdown products in fish muscle by HPLC. *J. Agri. Food Chem.* 33:678-680 (1985).
22. Jhune,C.S., You,C.H. Cha,D.Y., and Kim,G.P. Effects of thiabendazole on green mold, *Trichoderma* spp. during Cultivation of oyster mushroom, *Pleurotus* spp. *Korea J. Mycology* 18:89-95 (1990).
23. Joo,H.Y., Kim,D.H., and Oh,K.T. Chemical composition changes in fermented Doenjang depend on Doenjang koji and its mixture. *J. Korean Agirc. Chem. Soc.* 35:351-360 (1992).
24. Kim,B.N., Park,C.H., Yun,B.M., Jung,M.C., and Lee,S.Y. Changes of saccharides and amino acids in Natto added with spice during fermentation. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24:114-120 (1995).
25. Kim,B.N., Park,C.JH., Yun,B.M., Jung,M.C, and Lee,S.H. Changes of saccharides and amino acid in natto added with spice during fermentation. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24:114-120 (1995).

26. Min,T.J., Chang,H.B., and Choi,W.K. Synthesis of resin derivatives and purification of protein: synthesis of benzoyl-AH-sepharose 4B and purification in *Pleurotus cornucopiae*(mushroom). *Korea J. Mycology* 16:121-127 (1988).
27. Park,Y.H., Byun,M.O., and Fujii Hiroshi Comparision of electrophoretic isozyme band pattern of *Pleurotus* spp. in Korea. *Korea J. Mycology* 16:87-94 (1998).
28. Song,C.H., Kim,J.H., Yang,B.K., and Kim,K.W. Studies on anti-complementary polysaccharides produced from submerged mycelial culture of *Pleurotus sajor-caju*. *Korea J. Mycology* 24:104-110 (1996).
29. Yang,S.H, Choi,M.R., Kim,J.K., and Chung,Y.G.. Characteristics of the taste in traditional Korean soybean paste. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21:443-448 (1992).
30. Yang,S.H., Choi,M.R., Kim,J.K., and Chung,Y.G. Characteristics of the taste in traditional korean soybean paste. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21:443-448 (1992).
31. You,C.H., Yoo,Y.B., and Park,Y.H. Studies on protoplast formation and reversion of *Pleurotus sapidus* Kalchbr. *Korea J. Mycology* 16:214-219 (1988).

제 2 장 버섯균주의 선발

제 1 절 선발

1. 균주와 배지의 조제

가. 균주

본 연구에 사용한 버섯균주는 신령버섯 외 8종 (Table 1)으로 (주)HK바이오텍에서 보관중인 버섯 균주 pool로부터 선발하여 사용하였다.

Table 1. Mushroom strains used

No.	Korean name	Scientific name
1	신령버섯	<i>Agaricus blazei</i> (AB)
2	팽이버섯	<i>Flammulina velutipes</i> (FV)
3	앞새버섯	<i>Grifola frondosa</i> (GF)
4	영지버섯	<i>Ganoderma lucidum</i> (GL)
5	표고버섯	<i>Lentinus edodes</i> (LE)
6	동충하초	<i>Paecilomyces japonicus</i> (PJ)
7	상황버섯	<i>Phellinus linteus</i> (PL)
8	느타리버섯	<i>Pleurotus ostreatus</i> (PO)
9	송이버섯	<i>Tricholoma matsutake</i> (TM)

나. PDA 배지의 조제

감자 200 g을 잘게 썰어 100℃에서 15분간 삶은 후 실온에서 균질화하였다. 여기에 황백당 30 g, Bacto-agar 15 g을 각각 첨가하고, 증류수로 1 l 용량으로 보정하여 121℃에서 15분간 살균 한 후 지름 8.9 cm의 petri dish에 분주하여 배지로 사용하였다.

2. 버섯균주의 활성화

균주 pool에서 보관중인 버섯균을 지름 7 mm 크기로 잘라 PDA petri dish의 중앙에 올려놓고 24°C incubator에서 생육정도를 3, 7, 10, 14일 간격으로 관찰한 결과는 Table 2에 나타내었다. 본 실험에서 사용된 버섯균 중 PDA 배지에서 가장 생육이 빠른 균주는 영지, 느타리버섯으로 배양 7일 후 균사생장의 직경이 각각 52.0, 48.3 mm이었으며, 표고, 동충하초, 팽이, 신령버섯은 43~32 mm이었다. 잎새, 상황버섯은 10일 후에 63.0, 43.3 mm였으며, 송이버섯은 10일 후에도 실제 생육 7 mm 정도로 가장 균사 성장속도가 느렸다

Table 2. Growth of some mushroom mycelia (mm) in PDA media

Mushroom strains	Incubation period (day)			
	3	7	10	14
AB	10.3±1.5 ²⁾	32.0±1.5	51.2±0.3	78.3±0.4
FV	15.4±1.2	32.3±1.0	57.5±0.1	84.3±1.2
GF	12.0±0.1	15.0±0.1	63.0±0.4	87.2±0.1
GL	21.3±1.5	52.0±2.0	86.0±0.5	89.0 ³⁾
LE	22.3±1.5	43.3±2.9	53.2±0.3	87.1±0.2
PJ	18.3±1.5	34.5±2.0	85.7±0.1	89.0
PL	13.0±1.0	20.0±0.1	43.3±0.3	81.0±0.2
PO	17.5±1.2	48.3±1.5	87.0±0.4	89.0
TM	7.1±0.1	7.3±0.1	7.4±0.1	7.6±0.1

¹⁾ AB; *Agaricus blazei*, FV; *Flammulina velutipes*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*, TM; *Tricholoma matsutake*.

²⁾ Average±S.D. of triplication.

³⁾ Fully-covered the plate.

3. 결론

PDA배지에서 균사생장이 비교적 빠른 버섯은 느타리, 영지, 동충하초 순이었다. 송이버섯은 균사생장이 매우 저조하였다. 팽이버섯의 균사생장은 중간 정도였다. 따라서 7종의 버섯 (느타리, 영지, 동충하초, 신령, 잎새, 표고, 상황)을 메주배지 적응균주 선발시험에 사용하였다.

제 2 절 액체배양법 개발

1. 액체배지 제조

대두박 4 g을 30분간 물에 불린 후 mixer로 3분 정도 충분히 파쇄 시키고, 여기에 황백당 20 g과 $MgSO_4$ 0.5 g과 KH_2PO_4 0.5 g을 첨가하여 증류수 1 L로 보정하였다. 500 ml 삼각플라스크에 300 ml 씩 분주하고 121℃에서 30분간 고압 멸균하여 액체 배지로 사용하였다.

2. 액체배양

“1”에서 조제된 액체배지에 “제 1 절”에서 선정된 버섯균을 접종하고 shaking incubator (120 rpm, 24℃)에서 배양하였다 (Figure 1). 15 L 배양액을 121℃에서 90분간 고압멸균한 배지에 삼각플라스크에 배양된 균을 배양액의 10% 접종한 다음, 무균필터가 장착된 에어펌프로 1 v/v/m의 공기를 주입하면서 24℃에서 배양하였다.

버섯균사체를 액체배지에 7일간 배양한 균사액 100 ml을 여과하여 균사체를 회수한 후 무게를 측정하였다. 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 균사생장이 가장 양호한 것은 동충하초 (5.78 g)였다. 신령, 잎새, 표고버섯의 균사체량은 각각 1.86, 1.87, 1.96 g으로 다른 버섯균에 비하여 다소 적었다.



Figure 1. Submerged-culture of mushrooms.

Table 3. Growth of mushroom mycelia in submerged liquid culture

Mushroom strains ¹⁾	Mycellial weight (g/100 ml)
AB	1.86
GF	1.87
GL	2.67
LE	1.96
PJ	5.78
PL	3.39
PO	4.42

¹⁾ AB;*Agaricus blazei*, GF;*Grifola frondosa*, GL;*Ganoderma lucidum*, LE;*Lentinus edodes*, PJ;*Paecilomyces japonicus*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

3. 배양액의 protein 함량

버섯엑체균사체 배양액 내에 존재하는 단백질 함량은 Bradford 방법으로 분석하였다. Dye Reagent (Bio-RAD사)와 3차 증류수로 희석 (1:4, v/v)하여 filter paper로 여과하였다. Standard는 bovine serum albumin (BSA)를 사용하였다.

배양액 중의 protein 함량을 측정한 결과를 Table 4에 (100 ml 당 protein mg 수) 나타내었다. 균체량 (5.78 g)이 가장 많았던 동충하초 배양액 중의 protein 함량이 101.4 mg으로 가장 높았고, 신령버섯은 24.9 mg으로 protein 함량이 가장 낮았다. 반면 균사체량이 적었던 잎새와 표고버섯은 각각 95.7, 91.1 mg으로 균체량에 반하여 배양액중의 protein 농도가 높았다. 또한 균사체의 무게가 다소 많았던 영지, 상황, 느타리의 경우에는 이와 반대로 여액 중 protein 함량이 각각 35.8, 41.1, 51.6 mg으로 다소 낮았다.

Table 4. Protein content in the submerged liquid culture of mushroom after removal of mushroom mycelia

Mushroom strains ¹⁾	Protein (mg/100 ml)
AB	24.9±3.3 ²⁾
GF	95.7±0.9
GL	35.8±1.4
LE	91.1±3.8
PJ	101.4±2.9
PL	41.1±2.1
PO	51.6±1.5

¹⁾ AB; *Agaricus blazei*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

²⁾ Average±S.D. of triplication.

4. 배양액 (균사체 + 배양액)의 지방산 함량

가. 총지방의 추출

버섯액체균사체 배양액 중의 총지방은 Figure 2와 같은 방법으로 추출하였다.

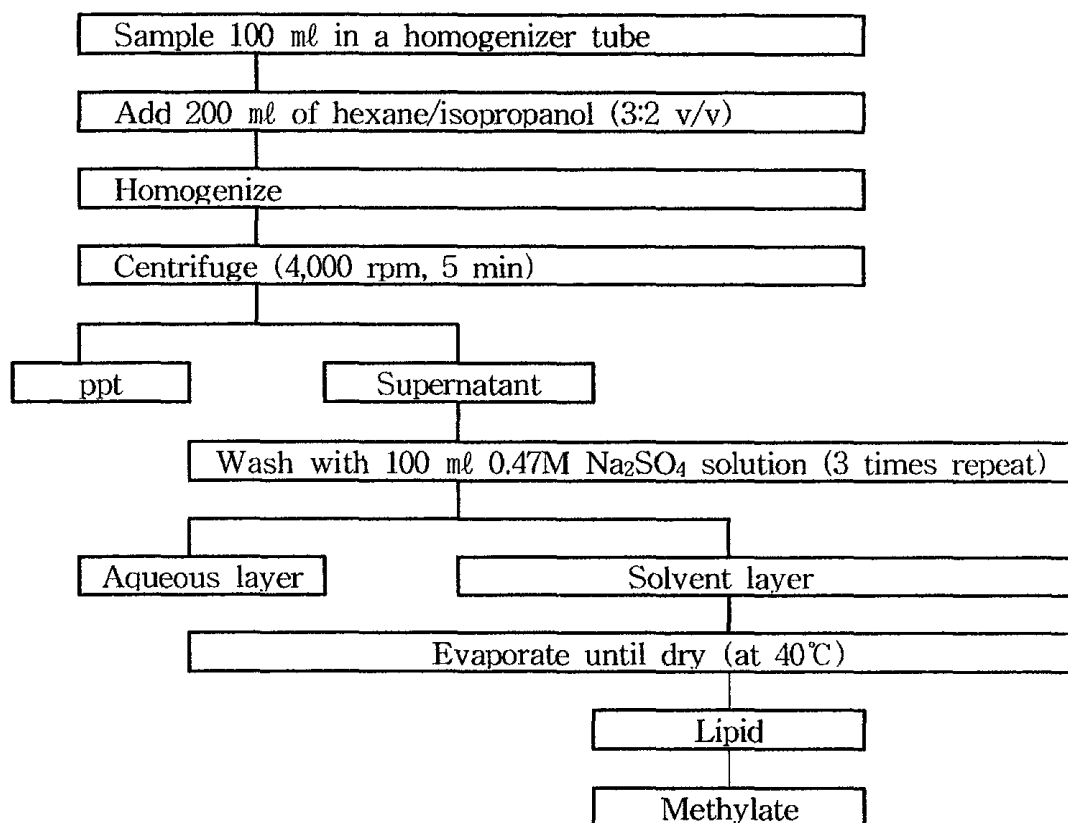


Figure 2. Procedure of total lipid extraction.

나. GC분석

4% H₂SO₄/methanol로 지방산을 methyl ester화시키고, Hewlett Packard 5890 GC [Column; Supelcowax-10 (60 m×0.32 mm), Detector; FID, Carrier gas; N₂ gas (2 ml/min)]를 이용하여 oven의 초기온도 180°C (5 min)에서 분당 5°C상승시키고 최종온도 220°C (20 min)로 하여 분석하였다.

배양액속의 지방산 조성을 분석한 결과를 Table 5에 나타내었다. 버섯 액체배양액에는 linoleic, oleic, palmitic acid와 같은 지방산의 함량이 높았다. 또한, 특징적인 것은 신령버섯과 앞새버섯을 제외하고 거의 모든 버섯배양액에 상당량의 CLA (conjugated linoleic acid)가 검출되었다.

Table 5. Composition of fatty acids in the total lipid of cultured media¹⁾

Fatty acid	Mushroom strains ²⁾						
	AB	GF	GL	LE	PJ	PL	PO
C10:0	0.67	-	0.97	0.37	3.07	0.26	3.99
C12:0	- ³⁾	-	-	0.19	0.86	0.13	1.00
C13:0	-	-	-	-	-	0.20	0.80
C14:0	1.23	0.28	0.62	0.68	1.34	0.73	2.99
C15:0	1.11	1.14	0.83	0.62	1.82	1.07	4.19
C16:0	27.87	17.69	24.22	24.77	31.09	26.93	32.93
C18:0	5.57	2.65	6.55	5.88	7.87	3.26	5.99
C18:1	19.51	39.64	36.46	23.96	26.10	4.86	17.37
C18:2	41.92	37.65	29.22	28.54	19.78	61.89	28.14
γ -LN	-	0.09	0.04	0.06	0.19	-	0.20
LN	2.12	0.86	0.79	14.43	6.63	0.53	1.00
c9,t11 CLA	-	-	0.20	0.31	0.10	0.07	0.40
t10,c12 CLA	-	-	0.10	0.19	1.15	0.07	1.00
Total	97	100	99.9	99.81	98.85	99.93	99

¹⁾ Sample contains media + mycelia.

²⁾ AB; *Agaricus blazei*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

³⁾ Not detected.

5. 결론

선발된 7종의 버섯균을 액체배양하기 위한 배양액의 조성은 대두박 0.4%, 황백당 2%, MgSO_4 0.05%, KH_2PO_4 0.05%가 적당하였고, 배양조건은 shaking incubator (120 rpm, 24℃)에서 7일간 배양하는 것이었다. 상기 조건에서 균사체생산능이 우수한 균은 동충하초 (5.78 g/100 ml), 느타리버섯 (4.22 g/100 ml), 상황버섯 (3.39 g/100 ml)이었고, 신령버섯 (1.86 g/100 ml)과 잎새버섯 (1.87 g/100 ml)은 균사체생산량이 적었다. 배양액 중에 단백질 함량이 가장 높은 균은 동충하초 (101.4 mg/100 ml)였고, 균사체의 무게가 다소 많았던 영지, 상황, 느타리의 경우에는 protein 함량이 각각 35.79, 41.08, 51.62 mg/100 ml로 다소 낮았다. 버섯균을 배양하는 과정에서 신령과 잎새버섯을 제외한 5개 버섯은 CLA를 생산하였다.

제 3 장 재래식 버섯균사체 메주의 생리활성 구명

제 1 절 메주 제조

1. 제조

시판되는 메주제조용 대두를 수돗물에 담구어 실온에서 18시간 불린 후 약 1시간 동안 여분의 물을 제거하고 100℃에서 5시간 동안 증자하여 절구에서 땀은 다음, 10×10×5 cm 크기로 메주를 성형하였다. 표면을 건조시킨 후 벗짚으로 묶어서 통풍이 잘되는 그늘진 곳에서 80일간 발효시켰다.

2. 버섯균의 선발

재래식방법으로 발효시켜 제조한 메주를 지름 5 mm 이하로 잘게 부수어 수분함량이 약 60% 되게 물에 불린 것을 배지로 사용하였다. 메주배지 (70 g/petri dish)에 PDA배지에서 생육한 버섯균을 일정하게 잘라 배지 중앙에 접종하고 24℃ 항온기에 배양하여 3, 7, 10, 14, 17일 간격으로 생육정도를 관찰하여 균사생장의 직경이 30 mm 이상되는 시기를 적응 기간으로 하였다.

사용한 9종의 버섯균 중에서 느타리, 영지버섯은 배양 7일만에 생육하였고 표고, 동충하초, 팽이버섯은 10일 잎새버섯은 17일만에 적응 생육하였으나 상황, 신령버섯은 생육속도가 느렸으며 송이버섯은 장기간 배양하여도 거의 생육이 관찰되지 않았다 (Table 6). 상황버섯의 생육이 다소 지연되는 원인은 배양도중 곰팡이와 다른 잡균에 오염되어 생육저해를 쉽게 받기 때문으로 생각된다. 각 버섯균의 PDA 배지와는 달리 영지가 느타리버섯보다 메주배지에서 가장 적응을 잘 하였고, 나머지 버섯들은 생육이 느리게 진행되었다.

각 버섯균의 특성에 따라 메주배지에 빠르게 적응하는 균주와 느리게 적응하는 균주로 구분할 수 있었다. 생육이 느린 균주들도 배양 3주 후에는 메주배지에 적응하여 생육하였다. 적응하는 시기와 생육의 차이가 있음을 알았다.

버섯균사체들이 메주를 배지로 하였을 때 적응하며 생육한 정도를 Figure 3~9에 나타내었다. 메주배지에 가장 적응이 빠른 균주는 영지버섯과 느타리버섯이었다. 잎새버섯의 경우 생육이 거의 되지 않았고, 표고버섯의 경우 일정 크기이상에서 생육이 멈추었다. 상황버섯의 경우 반복간에 모두 곰팡이와 기타 다른 잡균에 의하여 오염되어 생육에 저해를 받는 것으로 나타났다. 신령버섯과 동충하초의 경우에는 오랜시간이 경과되어서야 생육이 정상으로 완료되는 경우가 있었다 (Figure 5, 6). 표고버섯은 메주배지에서 그 생육이 다소 저조하였으며 (Figure 8), 잎새버섯은 재래식메주 배지에 생육이 매우 저조하였다 (Figure 9). 이것으로 버섯균주 개개의 특징에 의하여 빠르게 메주배지에 빠르게 적응하는 균주, 느리게 적응하는 균주, 적응이 미약한 균주를 분별할 수 있었다. 17일까지의 생육을 관찰하였을 때 적응이 빠른 균주를 확인하였지만 (Data에서는 표시되지 않았음), 이들을 메주배지에 3주간 계속 배양시켰을 경우에는 모든 메주배지에 적응하여 생육하였다. 이것은 버섯균주의 생육이 적응하는데 다소 시간이 걸리지만, 일단 적응이 되면 빠르게 메주에 적응하는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 메주배지에 적응하는 시간이 문제가 아니라 어떻게 메주 배지에 적응하며 적응 후 버섯균사체가 생성하는 효소나 생리활성물질이 어떤 작용을 하는가가 더 중요한 것으로 생각된다.

Table 6. Mycelial growth of mushroom strains on the TM

(unit: mm)

Mushroom strains ¹⁾	Incubation periods (day)				
	3	7	10	14	17
AB	9.0±0.1 ²⁾	10.0±0.1	13.2±0.6	21.4±0.8	24.0±2.0
FV	10.0±1.0	18.0±1.0	32.0±1.2	49.2±1.2	64.0±1.2
GF	9.0±0.1	11.3±2.1	15.7±3.2	23.4±3.6	34.2±4.2
GL	18.3±1.6	31.0±3.0	55.7±1.2	86.7±2.3	89.0 ³⁾
LE	9.0±0.1	14.0±2.6	33.7±4.7	45.4±5.1	62.4±5.6
PJ	12.7±0.6	14.3±1.2	31.4±1.4	37.4±2.1	54.2±3.2
PL	10.7±0.6	15.6±0.6	18.7±1.2	24.1±1.2	25.2±1.5
PO	12.0±1.0	37.7±4.9	55.7±1.2	85.6±3.2	89.0
TM	7.1±0.1	7.2±0.1	7.3±0.1	7.4±0.1	7.6±0.1

¹⁾ AB;*Agaricus blazei*, FV;*Flammulina velutipes*, GF;*Grifola frondosa*, GL;*Ganoderma lucidum*, LE;*Lentinus edodes*, PJ;*Paecilomyces japonicus*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*, TM;*Tricholoma matsutake*.

²⁾ Average±S.D of triplication.

³⁾ Fully-covered the plate.

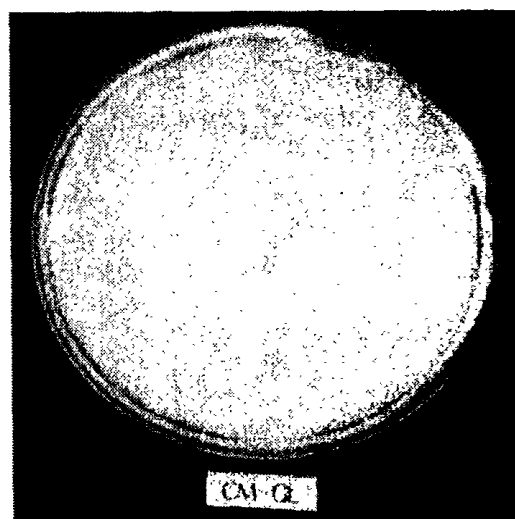


Figure 3. *Ganoderma lucidum* mycelia grown on TM sample (17 days incubation at 25°C).

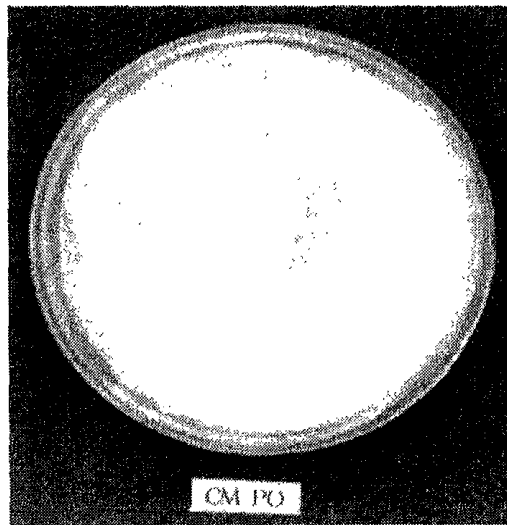


Figure 4. *Pleurotus ostreatus* mycelia grown on TM sample (17 days incubation at 25°C).

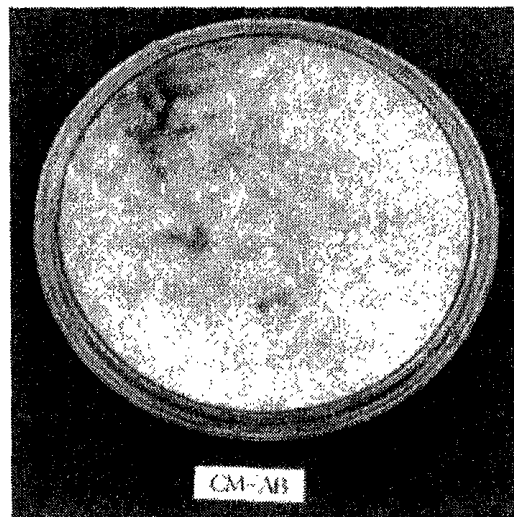


Figure 5. *Agaricus blazei* mycelia grown on TM sample (24 days incubation at 25°C).

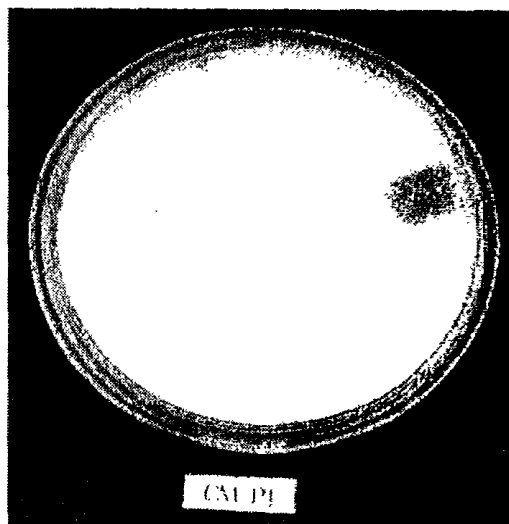


Figure 6. *Paecilomyces japonicus* mycelia grown on TM sample (24 days incubation at 25°C).

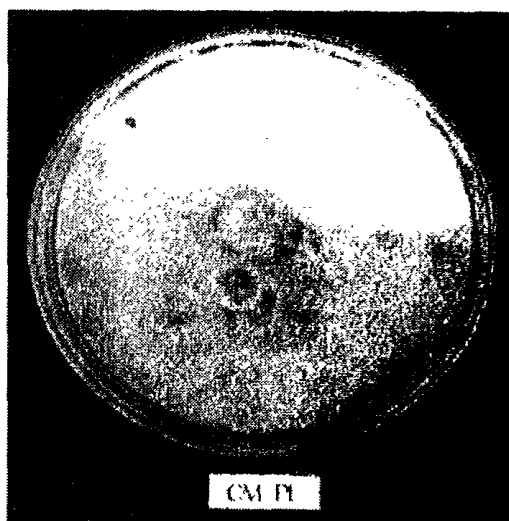


Figure 7. *Phellinus linteus* mycelia grown on TM sample (24 days incubation at 25°C).

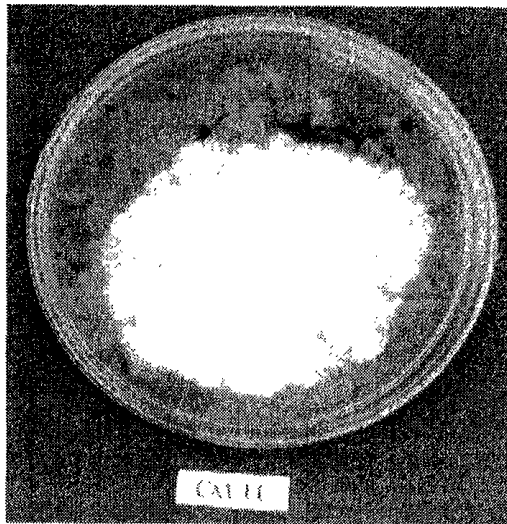


Figure 8. *Lentinus edodes* mycelia grown on TM sample (24 days incubation at 25°C).

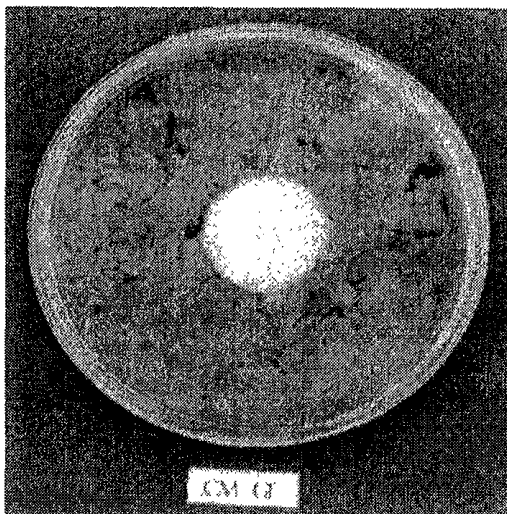


Figure 9. *Grifola frondosa* mycelia grown on TM sample (24 days incubation at 25°C).

3. 결론

메주배지 적응에 사용한 9종의 버섯균 중에서 메주배지에 적응성이 양호한 균은 느타리, 영지버섯으로 7일만에 균사의 직경이 30 mm 이상으로 생육하였고, 표고, 팽이, 동충하초는 10일, 잎새, 상황, 신령, 송이버섯의 경우 더 오랜 배양기간이 필요했다. PDA 배지와는 달리 느타리가 영지버섯 보다 메주배지에서 가장 적응을 잘 하였고, 나머지 버섯들은 생육 속도가 늦었다. 배양 후 3주가 경과하였을 경우에는 모든 버섯균주의 생육이 활발하였다. 균주 선발시 적응속도나 생육정도도 중요하지만 생리활성물질의 분비량이나 종류가 기능성 메주제조라는 측면에서 더 중요할 것으로 생각된다.

제 2 절 버섯액체균사체의 접종방법

1. 표면접종

재래식으로 성형발효된 메주 (10×10×5 cm) 를 3시간 동안 (수분함량 60%) 물에 침지하였다. 메주무게에 대해 “제 2 장”에서 액체배양한 버섯균사체 10% (w/v)를 메주 표면에 균일하게 접종하여 항온·항습배양기 (24℃, 습도 60%)에서 4주간 배양하였다.

버섯액체균사체가 재래식메주에 적응하며 생육하는 방법에 대한 결과를 Figure 10~16에 나타내었다. 버섯액체균사체를 메주의 표면에 살포하였을 경우 처리 후 1주일부터 버섯균사가 메주의 표면에서 생육을 시작하였다. 곰팡이에 대한 적응 정도는 뛰어나서 곰팡이 생육은 없었으나, 버섯액체 균사체 처리 시 주입된 일부 수분함량이 높은 곳에서는 버섯균사가 생육이 지연되는 경향을 보였다. 2주와 3주 경과 시에는 버섯균사가 신장되어 활발히 생육하였다. 균사의 생장정도는 영지버섯, 신령버섯, 동충하초, 잎새버섯, 표고버섯 느타리버섯, 상황버섯 순서로 나타났다. 메주의 내부까지 균사 신장 여부를 조사하기 위하여 메주 내부를 관찰하였다. 표면에 균사 생장이 활발했던 것과는 달리 메주 내부에서는 균사의 생장이 미약하였다. 이런 현상은 메주의 중심부위에는 산소가 부족하기 때문인 것으로 생각된다.

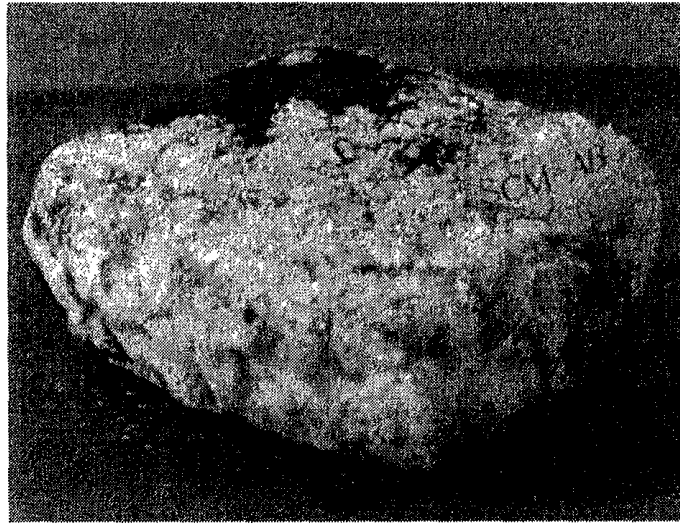


Figure 10. TM grown with *Agaricus blazei* mycelia for 4 weeks on the surface of the meju sample.

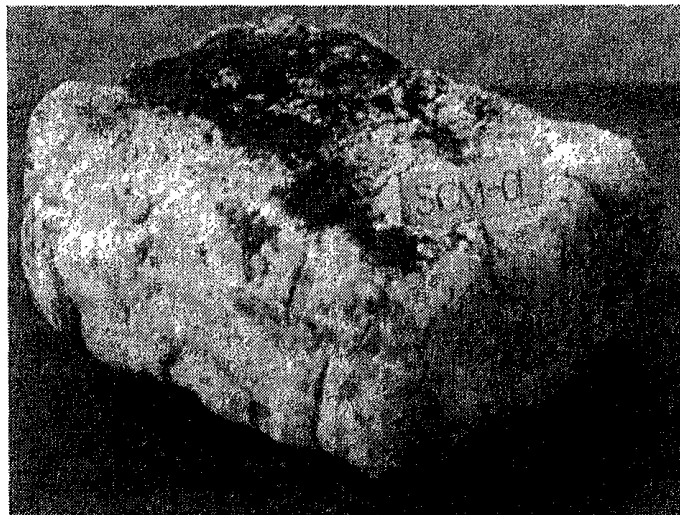


Figure 11. TM grown with *Ganoderma lucidum* mycelia for 4 weeks on the surface of the meju sample.

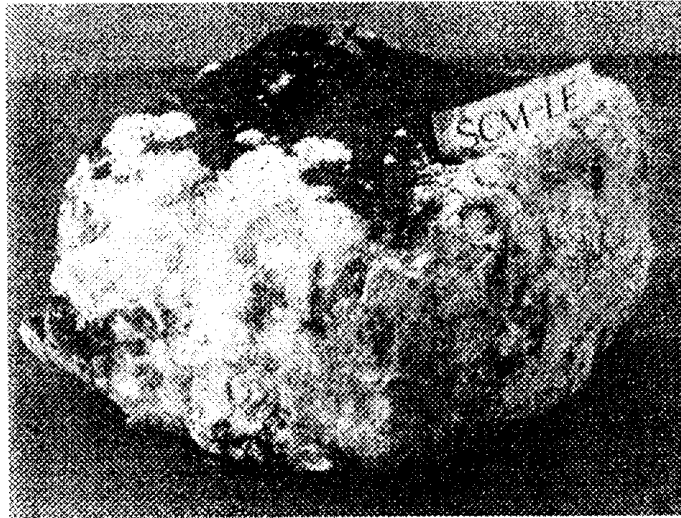


Figure 12. TM grown with *Lentinus edodes* mycelia for 4 weeks on the surface of the meju sample.

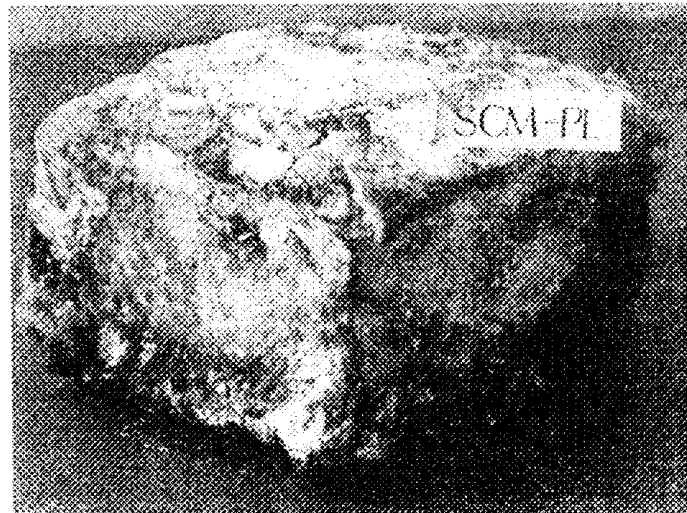


Figure 13. TM grown with *Phellinus linteus* mycelia for 4 weeks on the surface of the meju sample.



Figure 14. TM grown with *Pleurotus ostreatus* mycelia for 4 weeks on the surface of the meju sample.

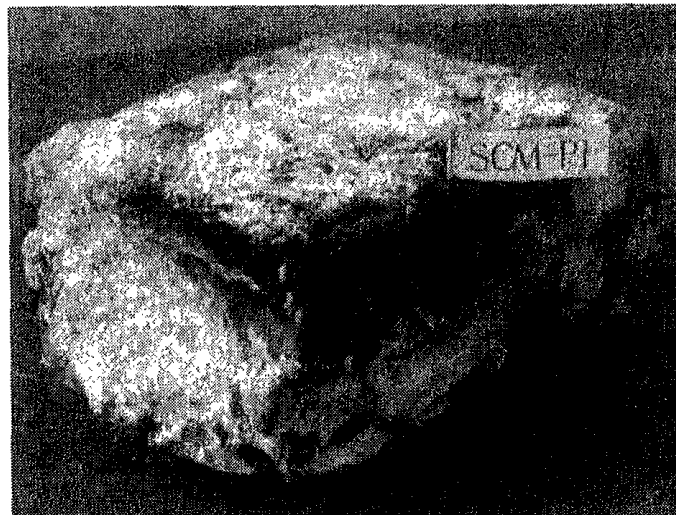


Figure 15. TM grown with *Paecilomyces japonicus* mycelia for 4 weeks on the surface of the meju sample.

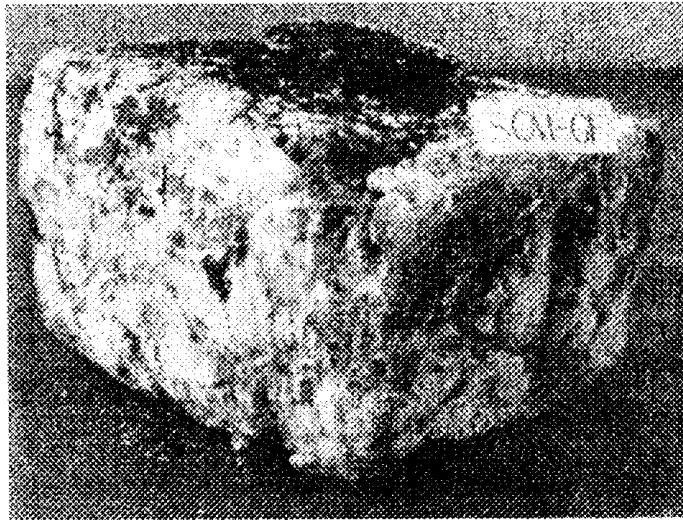


Figure 16. TM grown with *Grifola frondosa* mycelia for 4 weeks on the surface of the meju sample.

2. 타공구에 접종

재래식으로 성형발효된 메주 (10×10×5 cm)를 3시간 동안 (수분함량 60%) 물에 침지하였다. 각 면에 구멍 (1×3 cm)을 5개씩 내고, 메주 무게에 대해 제 2 장에서 배양한 버섯액체균사체 10% (w/v)를 각각의 구멍에 골고루 나누어 접종하여 항온·항습기 (24℃, 습도 60%)에서 4주간 배양하였다.

버섯액체균사체를 메주의 타공구에 살포하였을 경우 버섯균사체의 생육정도를 조사하여 Figure 17~23에 나타내었다. 타공구 접종 시에는 버섯액체균사체를 처리한 1주 경과 후에 타공구로부터 균사가 표면으로 진행되는 과정을 볼 수 있었다. 균사의 생장은 영지버섯, 동충하초가 양호하게 성장하였다. 타공구에서 균사의 성장 후 표면으로 퍼져 나가는 현상을 나타내었다. 2주 경과 후 타공구에서 더욱 확장되어 균사가 표면으로 보다 확장하여 성장하였고 3주 경과 후에는 대부분의 메주 표면까지 균사가 성장하였다. 영지버섯과 동충하초는 전 배양과정에서 양호한 생육상태를 보였다. 표고버섯과 느타리버섯은 초기에는 생육이 천천히 발생하다가 후기로 갈수록 균사의 생장이 증대됨을 볼 수 있었다.

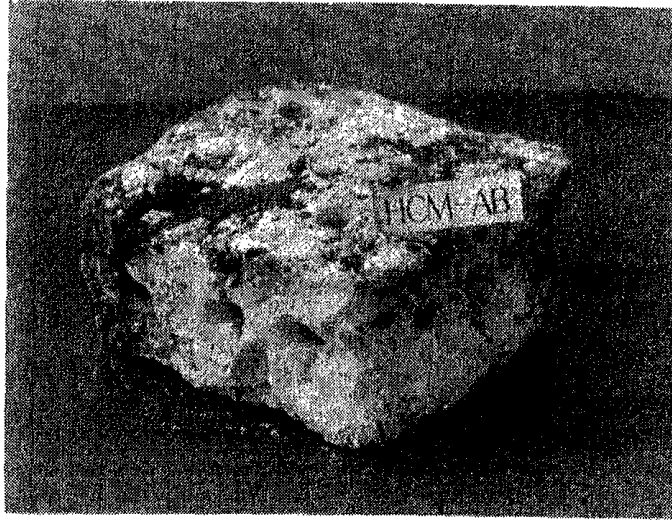


Figure 17. TM grown with *Agaricus blazei* mycelia for 4 weeks in the holes of the meju sample.

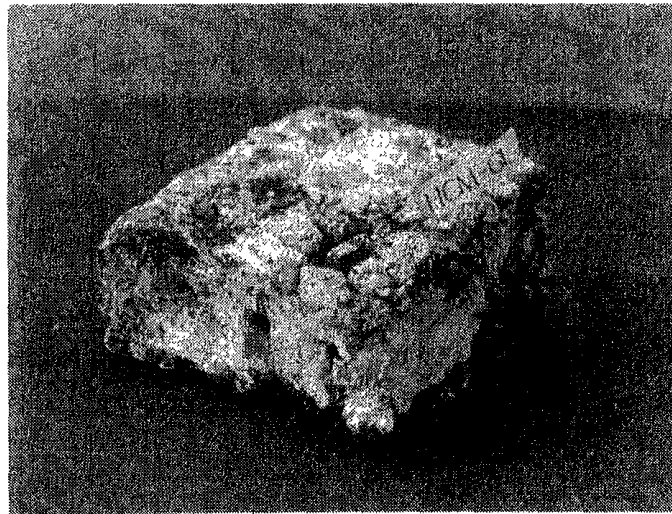


Figure 18. TM grown with *Ganoderma lucidum* mycelia for 4 weeks in the holes of the meju sample.

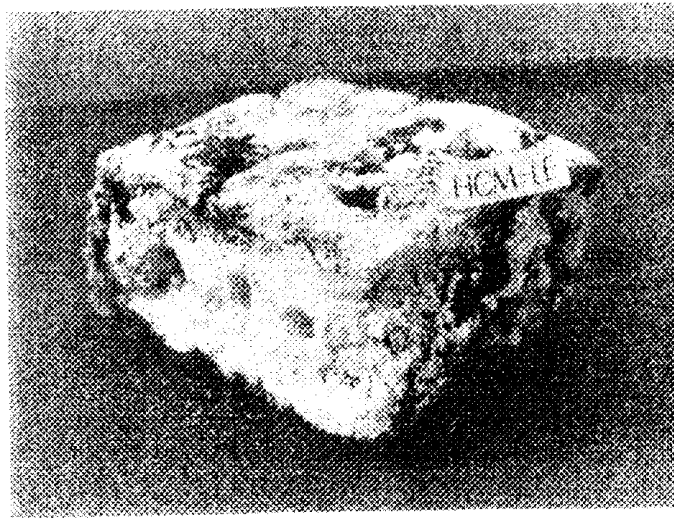


Figure 19. TM grown with *Lentinus edodes* mycelia for 4 weeks in the holes of the meju sample.

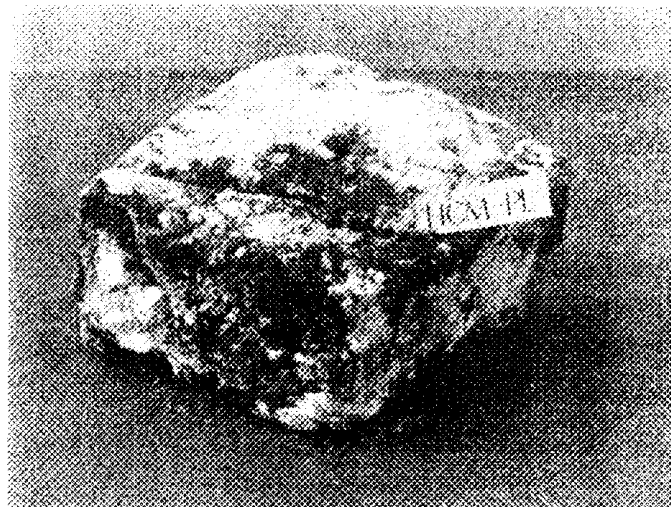


Figure 20. TM grown with *Phellinus linteus* mycelia for 4 weeks in the holes of the meju sample.

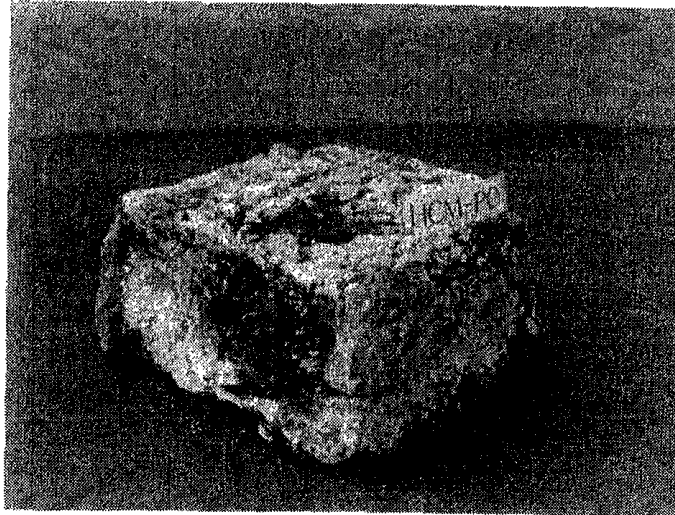


Figure 21. TM grown with *Pleurotus ostreatus* mycelia for 4 weeks in the holes of the meju sample.

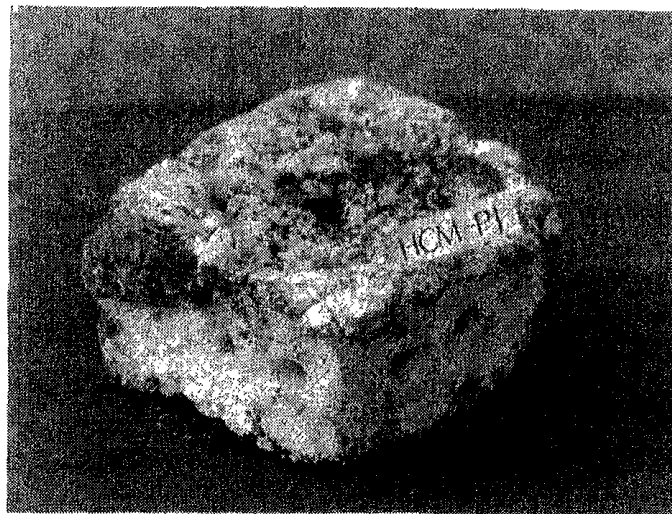


Figure 22. TM grown with *Paecilomyces japonicus* mycelia for 4 weeks in the holes of the meju sample.

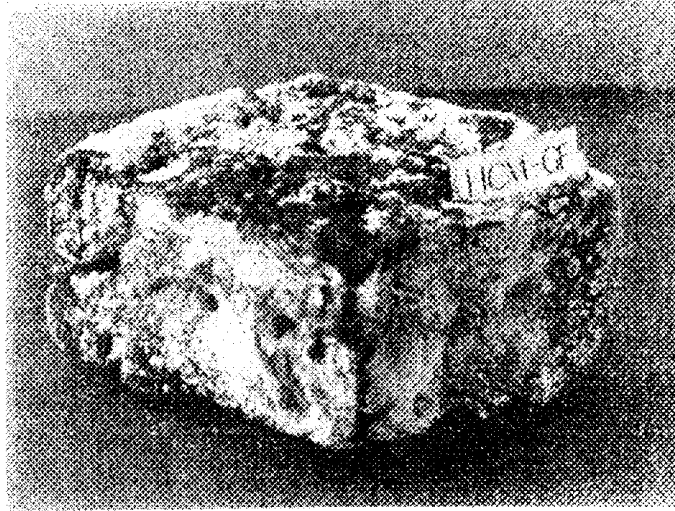


Figure 23. TM grown with *Grifola frondosa* mycelia for 4 weeks in the holes of the meju sample.

3. 작은 블록에 접종

재래식으로 성형발효된 ($10 \times 10 \times 5$ cm)를 3시간 동안 (수분함량 60%) 물에 침지하였다. 수분에 침지된 메주를 작은블록 (1×1 cm)으로 만들어 메주 무게에 대해 “제 2 장”에서 배양한 버섯액체균사체 10% (w/v)를 메주블럭에 끌고루 나누어 항온·항습기 (24°C , 습도 60%)에서 4주간 배양하였다.

작은 블록으로 만든 메주에 버섯액체균사체를 처리한 1주 경과 후 균사의 생장을 관찰한 결과 메주 표면과 내부에서 동시다발적인 생육이 일어나고 균사의 퍼짐이 뛰어난 것을 확인할 수 있었다. 수분함량을 60%로 조절하였음에도 불구하고 2주와 3주 경과 후부터는 일부 표면과 내부로부터 건조되는 현상으로 인하여 균사의 생장이 정지되는 부분이 발생하였으나 전체적으로 균사의 생장은 빨랐다.

4. 결론

재래식메주에 버섯액체균사체를 표면에 처리하였을 때 처리 3주차에 메주표면 전역으로 생육하였다. 그러나 메주의 중심부까지 균사가 퍼져 나가지는 못하였다. 재래식메주를 타공구에 처리하였을 때, 생육은 표면처리보다 빨랐으나 표면에 살포한 경우와 비슷하게 타공구의 표면과 메주표면 전체에서 균사가 활발하게 성장하였다. 작은 블록으로 만든 메주에 액체균사체를 배양한 경우 표면과 타공한 방법보다 월등하게 빠르고 넓은 지역과 내부에서 동시에 균사가 성장하였다.

제 3 절 항돌연변이성

1. 재료

시료는 타공법으로 생산한 버섯균사체 메주를 사용하였다. 버섯균사체 메주에 5배 (w/v)의 methanol:acetone (1:1, v/v) 용액으로 추출 용매를 진공농축기로 제거하여 시료로 사용하였다. 돌연변이 물질은 2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)는 Toronto Research Chemical 사 (Toronto, Canada)에서 Aflatoxin B₁ (AFB₁)은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

2. 항돌연변이 실험

항돌연변이 실험은 *S. typhimurium* TA98 [일본 Kikkoman회사에서 분양 받아 genotype (*rfa* mutation, ampicillin resistance, histidine requirement) 시험에서 이상이 없음을 확인한 후 사용]을 이용하여 S9-cofactor mixture는 Arochlor 1254를 Sprague Dawley rat에 몸무게 kg당 500 mg을 주사하여 얻은 간으로부터 조제한 S9를 cofactor mixture (1 M Na₂HPO₄, 300 mM H₂PO₄, 120 mM MgCl₂ · 6H₂O, 12 mM EDTA, 200 mM glucose-6-phosphate, 16.2 mM NADP)에 대해 5% 첨가하여 조제하였다. 항돌연변이성 실험은 ice bath 상에서 S9-cofactor mixture 0.5 ml, 12시간 배양된 균액 ($1\sim2\times10^9$ cells/ml) 0.1 ml, 시료 (200 µg/50 µl DMSO) 50 µl와 돌연변이성 물질을 녹인 DMSO

50 μ l를 첨가하고 혼합한 후 진탕 배양 (37°C, 150 rpm, 30 min)하고 여기에 45°C water bath에 보관 중인 top agar (histidine과 biotin을 각각 0.5 mM 함유한 용액을 10% 함유함) 2 ml를 가하여 minimal glucose agar plate에 도말한 다음 37°C에서 48시간 배양한 후 revertants 수를 계산하여 돌연변이성을 측정하였다.

3. 항돌연변이 효과

버섯균사체매주 추출물 200 μ g/50 μ l DMSO로 조제하여 사용하였다. *S. typhimurium* TA 98균에 대한 항돌연변이 효과를 조사하여 Table 7, 8에 나타내었다. *S. typhimurium* TA 98의 spontaneous revertant수는 18 ± 3 개였다. 돌연변이 유발원 IQ 0.02 μ g 처리에 의한 돌연변이수는 평균 1,254개 였고 (Table 7), AFB₁ 1 μ g 처리에 의한 돌연변이수는 평균 1,086개였다 (Table 8). IQ로 돌연변이를 유발하고 버섯균사체매주 추출물 200 μ g을 처리하여 65.9~32.2%의 항돌연변이 효과가 있었다. 이것은 대조구매주 추출물의 29.1% 보다 높은 돌연변이 억제효과였다. AFB₁로 돌연변이를 유발하고 버섯균사체매주 추출물 200 μ g을 처리한 결과 61.9%~37.4%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 이것은 대조구매주 추출물의 30.2% 보다 높은 돌연변이 억제효과이다. *S. typhimurium* TA 98에 IQ 처리에 대한 항돌연변이성은 영지버섯균사체매주 처리가 65.9%로 가장 높았으며, AFB₁ 처리에 대한 항돌연변이성은 상황버섯균사체매주 처리가 61.9%로 가장 높았다.

S. typhimurium TA 100균에 대한 항돌연변이 효과를 조사하여 Table 9, 10에 나타내었다. *S. typhimurium* TA 100의 spontaneous revertant는 122 ± 9 개 였다. 돌연변이 유발원 IQ 0.02 μ g 처리에 의한 돌연변이수는 평균 1,111개 였고 (Table 9), AFB₁ 1 μ g 처리에 의한 돌연변이수는 평균 958개 였다 (Table 10). IQ로 돌연변이를 유발하고 버섯균사체매주 추출물 200 μ g을 처리하여 52.0%에서 26.9%의 돌연변이 억제 효과를 나타내었다. 이것은 대조구매주 추출물의 22.4% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. AFB₁로 돌연변이를 유발하고 버섯균사체매주 추출물 200 μ g을 처리하여 53.5%에서

19.0%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 이것은 대조구메주 추출물의 14.3%보다 높은 돌연변이 억제효과이다. *S. typhimurium* TA 100에 IQ 처리에 대한 항돌연변이성은 신령버섯균사체메주 추출물 처리가 52.0%로 가장 높았으며, AFB₁ 처리에 대한 항돌연변이성도 신령버섯균사체메주 추출물 처리가 53.5%로 가장 높았다.

Table 7. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by mushroom-cultured meju fermented by traditional method (TMCMJ)¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1254 \pm 48	
Control ⁴⁾	889 \pm 31	29.1
AB ⁵⁾	534 \pm 22	57.4
GF	850 \pm 69	32.2
GL	428 \pm 19	65.9
LE	661 \pm 45	47.3
PJ	456 \pm 19	63.6
PL	687 \pm 47	45.2
PO	633 \pm 54	49.5

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 200 μg extract of mushroom cultured meju dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (18 \pm 3).

⁴⁾ Meju fermented by traditional method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured on meju. AB; *Agaricus blazei*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

Table 8. Inhibitory effect of AFB₁ mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by TMCMJ¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1086 \pm 50	
Control ⁴⁾	758 \pm 25	30.2
AB ⁵⁾	524 \pm 29	51.7
GF	680 \pm 21	37.4
GL	420 \pm 40	61.3
LE	635 \pm 33	41.5
PJ	488 \pm 22	55.1
PL	414 \pm 72	61.9
PO	505 \pm 27	53.5

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 200 μg extract of mushroom cultured meju dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (18 \pm 3).

⁴⁾ Meju fermented by traditional method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured on meju. AB; *Agaricus blazei*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

Table 9. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by TMCMJ¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1111 \pm 124	
Control ⁴⁾	862 \pm 34	22.4
AB ⁵⁾	533 \pm 39	52.0
GF	812 \pm 43	26.9
GL	608 \pm 27	45.3
LE	738 \pm 26	33.6
PJ	560 \pm 26	49.6
PL	677 \pm 42	39.1
PO	580 \pm 64	47.8

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 200 μg extract of mushroom cultured meju dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (122 \pm 9).

⁴⁾ Meju fermented by traditional method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured on meju. AB; *Agaricus blazei*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

Table 10. Inhibitory effect of AFB₁ mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by TMCMJ¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	958 \pm 31	
Control ⁴⁾	821 \pm 42	14.3
AB ⁵⁾	445 \pm 30	53.5
GF	776 \pm 17	19.0
GL	503 \pm 25	47.5
LE	742 \pm 32	22.5
PJ	554 \pm 26	42.2
PL	558 \pm 30	41.8
PO	495 \pm 58	48.3

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 200 μg extract of mushroom cultured meju dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (122 \pm 9).

⁴⁾ Meju fermented by traditional method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured on meju. AB; *Agaricus blazei*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

4. 결 론

S. typhimurium TA 98에 IQ로 돌연변이를 유발하여 재래식버섯균사체매주 추출물로 항돌연변이를 측정 한 결과 영지버섯균사체매주에서 가장 높은 항돌연변이성 (65.9%)이었고, AFB₁로 돌연변이를 유발한 경우 상황버섯균사체매주에서 가장 높은 항돌연변이성 (61.9%)을 나타내었다. *S. typhimurium* TA 100에 IQ로 돌연변이를 유발 한 경우 신령버섯균사체매주에서 가장 높은 항돌연변이성 (52.0%)을 나타내었고 AFB₁의 경우 신령버섯균사체매주에서 가장 높은 항돌연변이성 (53.5%)을 나타내었다.

제 4 절 항암성

1. S-180 암세포에 대한 세포독성

가. 재료

ICR mouse (Female, 6~7 주령), mouse용 pellet사료, β -chip은 효창 Science사 (대구)로부터 구입하였다. Sarcoma-180 세포 (KCLB No. 40066, 이하 S-180)는 한국세포주은행으로부터 분양 받았다. Penicillin-streptomycin, horse serum, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)는 모두 Gibco BRL사에서 구입하였다. 그 외 사용된 일반시약은 특급 내지 1급 이상이었다.

나. 배지조제

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)배지 1봉지를 900 ml의 3차 증류수에 넣고 완전히 녹여 penicillin-streptomycin 1 ml를 첨가하였다. 여기에 sodium bicarbonate (2 g)를 첨가하고 horse serum 100 ml 첨가한 후 filter paper (0.22 μ m)로 여과시켜 4℃에 보관하였다.

다. 전배양

S-180 cell을 mouse의 복강에 주사한 다음 7~10일 경과한 mouse의 복수에서 실험 시작 24시간 전에 S-180 cell을 채취하여 DMEM 배양액 (5% CO₂ incubator, 37℃, 24시간)에 계대 배양하였다. 계대 배양된 S-180 cell을 원심분리 (1,500 rpm, 2 min) 하여 cell을 회수한 후 DMEM배지에 회석하여 사용하였다.

라. 세포독성실험

시료를 10 mg/ml DMSO 용액으로 조제한 후 DMEM 배지로 다시 10배 회석하여 control처리는 DMSO (100 μ l) + DMEM (900 μ l), 시료처리군은 시료 회석액 (100 μ l) + DMEM (900 μ l) 농도가 되게 구성하였다 (DMSO의 독성을 줄이기 위함). 미리 배양된 S-180 cell을 1.5×10^5 cell/ml이 되게 회석하여 Table 11과 같이 3 ml 부피로 처리하였다 (5×10^4 cell/ml DMEM으로 회석). 처리된 well plate를 5% CO₂ incubator (37℃)에서 48시간 동안 배양하고 나서 trypan blue로 cell을 염색하여 haemocytometer로 생세포수를 조사하여 ED₅₀ 값을 구하였다.

Table 11. Composition of ingredients for cytotoxicity test of S-180 cells

Sample amount (μ g)	Cell suspension (ml)	Sample solution (μ l)	DMSO (μ l)	DMEM medium (ml)	Total volume (ml)
0	1	0	90	1.91	3
30	1	30	60	1.91	3
60	1	60	30	1.91	3
90	1	90	0	1.91	3

마. 세포독성 효과

버섯균사체메주의 세포독성을 시험한 결과를 Table 12에 나타내었다. 24 well plate에 S-180 cell을 5.0×10^4 cells/ml DMEM배지에 넣고 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양시킨 대조구는 68.0 cells/ml로 성장하였다. 메주추출물을 10~30 µg/ml 첨가하여 S-180 cell수와 ED₅₀을 측정하였다 (Table 12). 대조구메주를 10, 20, 30 µg/ml 처리 후 48시간 배양한 S-180 세포수는 각각 55.0, 48.0, 46.3×10^4 cells/ml로 배지속에서의 성장률을 100%로 보았을 때 79.4, 68.3, 65.6%였고 ED₅₀값은 92.5 µg/ml이었다. 세포독성이 가장 강한 것은 신령, 상황, 느타리, 동충하초, 영지, 잎새, 표고버섯균사체메주 추출물 순으로 각각 16.1, 17.4, 28.1, 29.4, 34.2, 56.6, 66.0 µg/ml이었다. 이상의 결과로 버섯균사체를 배양시킨 메주의 경우가 대조구메주에 비하여 세포독성이 강하다는 사실을 확인하였다. 이것은 버섯균사체가 성장하면서 생성한 물질 또는 버섯균사체의 작용에 의해 생성된 물질에 의한 효과인 것으로 생각된다.

Table 12. Cytotoxicity of TMCMJ for mouse S-180 ascites cancer cells¹⁾

Treatment	Doses ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Growth of Cells ($\times 10^4$ cells/ ml) ²⁾	Growth Ratio (%)	ED ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ³⁾
Control ⁴⁾	10	55.0 \pm 3.6	79.4	92.5
	20	48.0 \pm 2.6	68.3	
	30	46.3 \pm 3.5	65.6	
AB ⁵⁾	10	43.7 \pm 6.4	61.4	16.1
	20	33.3 \pm 2.8	44.9	
	30	27.0 \pm 2.1	34.9	
GF	10	54.7 \pm 1.0	78.9	56.6
	20	50.3 \pm 1.5	71.9	
	30	42.0 \pm 0.7	58.7	
GL	10	47.7 \pm 5.9	67.8	34.2
	20	46.7 \pm 3.5	66.2	
	30	35.0 \pm 5.7	47.6	
LE	10	53.3 \pm 0.7	77.7	66.0
	20	47.7 \pm 5.7	67.8	
	30	43.3 \pm 0.7	60.8	
PJ	10	53.7 \pm 0.7	77.3	29.4
	20	44.7 \pm 4.2	63.0	
	30	35.0 \pm 3.5	47.6	
PL	10	42.0 \pm 1.4	58.7	17.4
	20	37.7 \pm 2.1	51.9	
	30	38.3 \pm 2.1	37.0	
PO	10	49.0 \pm 1.7	70.0	28.1
	20	41.3 \pm 0.7	57.6	
	30	35.3 \pm 2.5	48.1	

¹⁾ DMEM was used for culture of S-180 cells as a medium.

²⁾ Initial cell concentration was 5×10^4 cells/ ml DMEM. Control cell concentration was 68.0×10^4 cells/ ml DMEM.

³⁾ ED₅₀ was calculated by B (slope) = $N(X_i \cdot Y_i) - (X_i)(Y_i) / N(X_i)^2 - (Y_i)^2$, A (intercept) = $Y_i/N - B \cdot X_i/N$ [N = number of point selected, X_i = log does, Y_i = growth rate calculated does)].

⁴⁾ Meju fermented by traditional method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured on meju. AB; *Agaricus blazei*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

2. Mouse 복수암에 대한 항암성

가. 동물실험

Female ICR mouse (6~7주령)는 β -chip이 깔린 polycarbonate cage (10 mice/cage)에서 mouse용 pellet 사료로 1주일동안 예비사육하여 체중이 24 ± 1 g인 것을 실험에 사용하였다. 온도와 습도가 조절되는 시설에 물과 음식을 자유롭게 먹도록 하였고, 조명은 12시간 간격의 light-and-dark cycle을 유지하여 자연조명에 가깝게 하였으며, 사육실의 온도는 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 60%로 조절하였다. Female ICR mouse 복강에서 계대 배양된 S-180 세포는 복강액을 0.85% ammonium chloride 용액에 혼합한 다음 원심분리 (1,500 rpm, 2 min, 2 times)하였다. 분리된 S-180 세포에 PBS용액을 가하여 조제한 세포 부유액 (1×10^7 cell/ml) 0.1 ml을 mouse의 복강에 주사하여 복수암을 유발하였다. 복수암 유발 후 2일마다 조제한 시료 0.1 ml (각각의 버섯균사체 메주추출물 300 $\mu\text{g/g}$ body weight)을 mouse의 복강에 주사하였다. Control mouse는 PBS만 0.1 ml 투여하였다. S-180 세포 복강 투여 후 3일 간격으로 mouse의 무게와 사료 섭취량을 조사하여 42일 동안 생존한 mouse의 수와 생존일수를 조사하였다.

나. 수명연장 효과

Mouse 복수암 세포 S-180 cell을 mouse의 복강에 투여하여 복수암을 유발한 mouse에 대한 버섯균사체메주 추출물의 수명연장 (평균 생존일) 및 생존율에 미치는 효과를 수행하였다 (Table 13). 상황버섯균사체 메주추출물의 평균수명은 31.1일로 대조구 메주추출물의 22.1일 보다 41%의 수명연장효과를 나타냈으며 최종 3마리가 생존하였다. 수명연장 효과는 상황, 영지, 신령, 동충하초, 잎새, 느타리, 표고버섯균사체메주 추출물 순으로 각각 41, 33, 31, 24, 19, 11, 10%의 수명연장효과를 나타내었다. 이것은 버섯균사체를 첨가하지 않은 대조구메주의 3%의 수명연장 보다 높은 수명연장효과이다. 생존율은 상황버섯균사체메주와 영지버섯균사체메주 추출물처리구에서 3마리, 신령,

앞새, 동충하초버섯균사체메주 추출물처리구에서 각각 2마리가 최종적으로 생존하였다 (Figure 24). 이것은 버섯균사체 첨가에 의한 효과인 것으로 생각된다. Mouse의 24일 경과 후의 평균몸무게 (Figure 25)는 처리간에 큰 유의성이 없었다.

Table 13. Effects of TMCMJ on mouse ascites carcinogenesis induced by S-180 cells

Treatment ¹⁾	Mean survival day ²⁾	Survival rate ³⁾	Survival Mouse ⁴⁾
Control	22.1	100	0/10
Po-Control ⁴⁾	22.7	103	0/10
AB ⁵⁾	29.0	131	2/10
GF	26.3	119	2/10
GL	29.5	133	3/10
LE	24.3	110	0/10
PJ	27.5	124	2/10
PL	31.1	141	3/10
PO	24.6	111	0/10

1) Each treatment was consisted of 10 mice. All the sample containing 300 $\mu\text{g/g}$ mouse/0.1 ml PBS. Control mice were given S-180 cells and PBS.

2) Average survival days of mouse until 42 days after treatment.

3) Survival rate = [mean survival days of treatment mice/mean survival day of control mice] \times 100.

4) Numbers of mouse survived until 42 days after treatment.

5) Meju fermented by traditional method.

6) Mushroom strains cultured on meju. AB; *Agaricus blazei*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

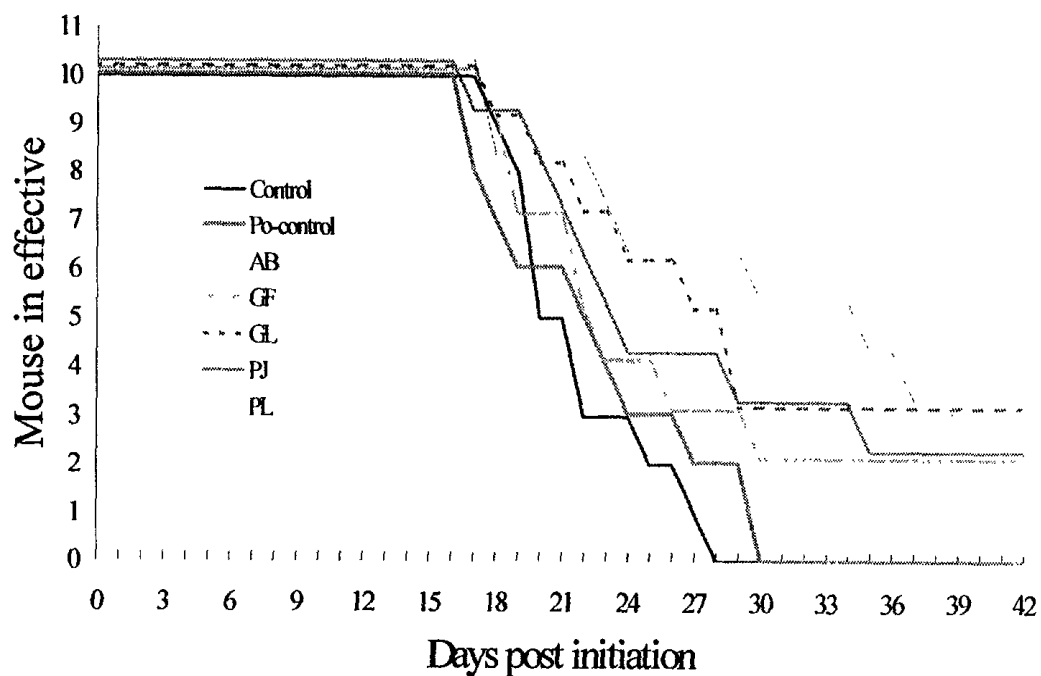


Figure 24. Effect of TMCMJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of TMCMJ (300 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days.

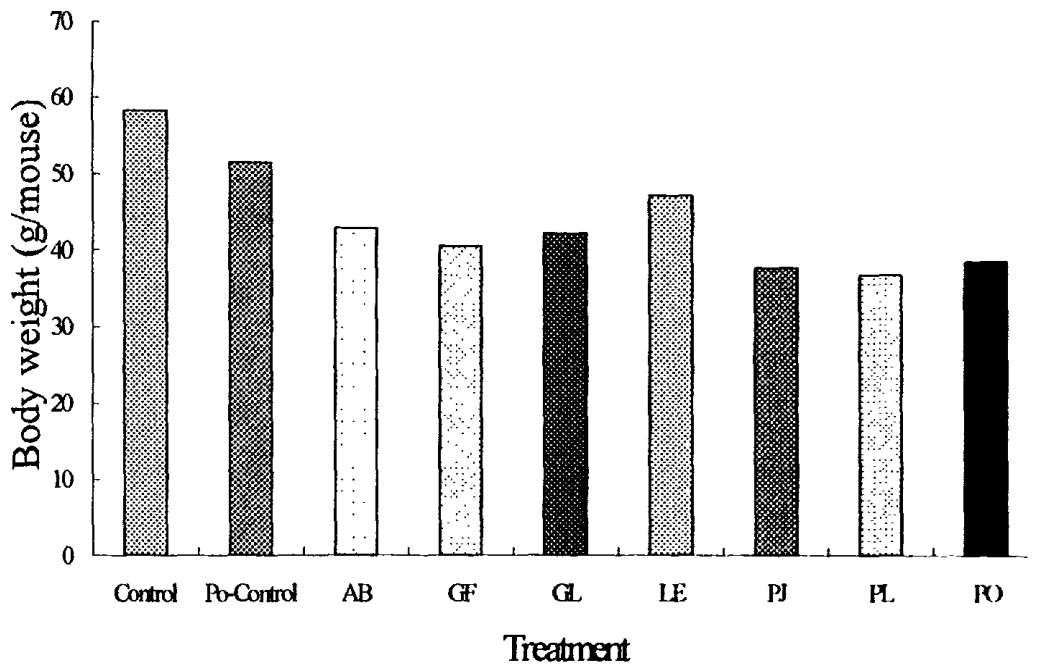


Figure 25. Effect of TMCMJ on the body weight of mice induced by S-180 cell. Each treatment group was consisted of 10 mice.

3. 결론

S-180 cell에 대한 세포독성이 가장 강한 것은 신령, 상황, 느타리, 동충하초, 영지, 잎새, 표고버섯균사체메주 추출물 순으로 각각 16.1, 17.4, 28.1, 29.4, 34.2, 56.6, 66.0 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 이것은 대조구메주의 92.5 $\mu\text{g/ml}$ 보다 훨씬 뛰어난 효과를 나타내었다. Mouse 복수암에 대한 수명연장효과는 상황버섯균사체메주 추출물이 41%로 가장 높은 수명연장효과를 나타내었고, 영지, 신령버섯균사체메주 추출물 처리구도 평균수명이 뛰어났다

제 5 절 향미 및 물리성

1. 관능검사

가. 방법

본 실험에 경상대학교 농화학과 학생 10명과 된장 제조회사인 (주)거성식품의 panelist 8명이 시료의 기본 맛 및 향에 대한 특성 연구에 참여하였다.

나. 메주

버섯엑체균사체를 접종하여 제조한 재래식메주에서 느타리버섯균사체메주가 5.3으로 가장 뛰어난 기호성을 나타내었다 (Table 14). 이것은 버섯균사체로 배양하지 않은 대조구의 4.1 보다 높은 평가 점수를 얻었다. 그리고 향미, 풍미, 버섯향, 불쾌치, 색도, 짭은맛, 감미에서 느타리, 동충하초, 상황버섯균사체메주 순으로 기호성이 높아졌다. 이것은 버섯 특유의 향미성분이 메주의 향미성분에 추가되어 그 기능성이 강화된 것으로 생각된다

다. 메주국

버섯엑체균사체를 접종하여 제조한 재래식메주를 가열하여 국을 끓였을 경우에는 동충하초버섯균사체메주가 5.5로 가장 뛰어난 기호성을 나타내었다 (Table 15). 이것은 대조구의 4.0보다는 높은 수치였다. 그리고 향미, 풍미, 버섯향, 불쾌치, 색도, 짭은맛, 감미 등에서 동충하초, 느타리, 상황버섯균사체메주 순으로 기호성이 높아졌다. 메주와 약간의 차이를 보이는 것은 가열에 의하여 버섯균사체메주의 향미와 풍미에 영향을 주는 것으로 생각된다.

Table 14. Odor, taste and acceptability of TMCMJ

	Meju			
	Control ¹⁾	PJ ²⁾	PL	PO
Aroma	4.3 ± 1.7	4.4 ± 1.7	6.4 ± 2.2	5.5 ± 1.6
Flavor	4.8 ± 1.7	4.8 ± 2.0	5.4 ± 1.8	5.2 ± 2.0
Mushroom flavor	3.8 ± 2.2	3.9 ± 2.3	4.3 ± 2.6	4.8 ± 2.6
Off-Flavor	3.3 ± 2.3	3.3 ± 1.8	4.1 ± 2.2	4.0 ± 1.8
Color	5.1 ± 2.3	4.9 ± 1.9	5.6 ± 2.0	6.1 ± 2.2
Tartness	4.4 ± 1.7	4.6 ± 1.1	4.4 ± 1.9	4.4 ± 1.9
Sweet taste	3.4 ± 1.7	4.0 ± 1.9	4.7 ± 1.8	6.4 ± 2.8
Acceptability	4.1 ± 1.7	4.5 ± 2.1	4.9 ± 1.7	5.3 ± 2.2

¹⁾ Meju fermented by traditional method.

²⁾ Mushroom strains cultured on meju. PJ;*Paecilomyces japonicus*,
PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

Table 15. Odor, taste and acceptability of the soup prepared from TMCMJ

	Meju soup			
	Control ¹⁾	PJ ²⁾	PL	PO
Aroma	4.5 ± 2.1	5.1 ± 2.3	3.1 ± 1.1	4.3 ± 2.1
Flavor	4.8 ± 1.9	5.8 ± 1.9	4.3 ± 2.0	5.3 ± 2.6
Mushroom flavor	3.4 ± 1.5	4.0 ± 1.8	2.6 ± 1.4	4.6 ± 1.5
Off-Flavor	4.3 ± 1.3	5.1 ± 2.1	3.8 ± 1.1	6.4 ± 1.6
Color	5.1 ± 1.3	5.2 ± 1.1	4.0 ± 1.5	5.2 ± 1.3
Tartness	4.2 ± 1.5	5.0 ± 1.1	3.8 ± 1.8	5.3 ± 1.6
Sweet taste	4.6 ± 1.5	5.3 ± 1.3	4.9 ± 2.0	5.4 ± 2.0
Acceptability	4.0 ± 1.6	5.5 ± 2.0	4.6 ± 1.3	5.0 ± 2.2

¹⁾ Meju fermented by traditional method.

²⁾ Mushroom strains cultured on meju. PJ;*Paecilomyces japonicus*,
PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

2. 색도

버섯균사체메주의 색도는 Colormeter (DP-301, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였으며, 이때 사용한 표준백색판의 scale은 Lightness (L^*) = 89.2, Redness (a^*) = 0.921, Yellowness (b^*) = 0.783 이었다.

최초 제조된 재래식메주의 lightness는 44.01, redness는 4.24, yellowness는 11.86 이었다 (Table 16). 80일간의 숙성 후에는 lightness는 변함이 없었으나 redness는 조금 적게 나타났다. 반면 yellowness는 높게 나타났다.

버섯균사체메주의 색도는 느타리버섯균사체메주에서 lightness와 yellowness가 조금 높게 나타났으나 대조구와 동충하초 상황버섯균사체메주와 별 차이가 없었다.

Table 16. Color value of TMCMJ

	Lightness	Redness	Yellowness
Control I ¹⁾	44.01 ± 2.92	4.24 ± 0.26	11.86 ± 0.64
Control II ²⁾	44.16 ± 0.16	3.36 ± 0.15	12.55 ± 0.14
PJ ³⁾	44.83 ± 1.43	3.94 ± 0.21	13.24 ± 0.22
PL	45.32 ± 0.98	3.68 ± 0.31	13.12 ± 0.43
PO	47.17 ± 0.81	3.70 ± 0.17	14.01 ± 0.88

¹⁾ Meju fermented by traditional method and then stored at 0°C until measurement was carried out.

²⁾ Meju fermented by traditional method and then stored for 80 days at room temperature.

³⁾ Mushroom strains cultured on meju. PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

3. 결론

버섯균사체를 접종하여 제조한 재래식메주의 관능검사에서 느타리버섯, 동충하초, 상황버섯균사체메주 순으로 높은 평가 점수를 얻었다. 국을 끓였을 경우에는 동충하초, 느타리, 상황버섯균사체메주 순으로 기호성이 높아졌다. 이것은 대조구에 비하여 높은 평가점수 이다. 이것은 버섯 특유의 향미성분이 메주의 향미성분에 추가되어 그 기능성이 강화된 것으로 생각되며, 가열조건도 버섯균사체메주의 향미와 풍미에 영향을 주는 것으로 생각된다.

버섯균사체 메주의 색도는 느타리균사체 메주에서 lightness와 yellowness의 수치가 조금 높았으나 대조구와 동충하초, 상황버섯균사체 메주간에는 큰 차이를 보이지 않았다.

제 6 절 미생물

1. 검사방법

가. 실험방법

버섯균사체 메주속의 미생물 생균수는 시료의 10배량에 해당하는 멸균생리 식염수와 혼합하여 균질화한 뒤 생리식염수로 적절히 단계 희석하여 효모, 곰팡이, 호기성세균, 혐기성세균으로 구분하여 각각을 최적배지에 접종하여 배양한 다음 계수하여 된장 시료 g당 CFU 단위로 표시하였다.

나. 계수방법

곰팡이는 Czapek Dox 한천배지 (Difco), 효모는 YM Agar (Difco)에 시료회석액 0.1 ml를 도말하여 30℃에서 48시간 배양한 후 colony를 육안으로 판별하여 계수하였고, 호기성세균은 표면을 건조시킨 Nutrient Agar (Difco)배지에 Conradi봉으로 시료를 도말하여 30℃에서 48시간 배양 후 생성된 colony를 계수하였다. 혐기성세균은 Thioglycollate Medium (Merck)에 1.5% 한천을 첨가한 배지를 멸균하여 55℃로 냉각시킨 후 시료액 1 ml와 혼석평판배지를 만든 후 동일 배지를 중층하여 혐기성배양조 (Gas Pak, BBL)에 넣은 후 30℃에서 48시간 배양한 뒤 계수하였다.

2. 미생물군

대조구메주에서 검출된 곰팡이 호기성세균, 혐기성세균 수는 4.2×10^3 cfu/g, 2.1×10^7 cfu/g, 6.2×10^4 cfu/g였다 (Table 17). 버섯균사체 매주간의 미생물 군수 및 종류에는 큰 차이점을 발견할 수 없었다. 그리고 검출된 호기성세균 중 그람 음성균은 없었고 대부분이 *Bacillus* 속의 그람 양성균이었다. 혐기성세균수는 $10^3 \sim 10^5$ cfu/g 으로 시료구간의 차이가 많았으며 유산구균의 비율이 높았다. 효모는 검출되지 않았다. 곰팡이는 대조구에서 4.2×10^3 cfu/g 검출되었고 다른 시료구에서는 검출되지 않은 점으로 미루어 버섯균사체가 생육하면서 곰팡이의 생육을 효과적으로 억제하는 것으로 생각된다.

Table 17. Microflora in TMCMJ (cfu/g)

Treatment	Yeast	Fungi	Aerobic bacteria	Anaerobic bacteria
Control ¹⁾	- ²⁾	4.2×10^3	2.1×10^7	6.2×10^4
AB ³⁾	-	-	3.0×10^7	2.4×10^3
GF	-	-	3.0×10^6	1.6×10^4
GL	-	-	2.8×10^6	8.0×10^3
LE	-	-	3.2×10^6	1.6×10^3
PJ	-	-	1.9×10^7	2.0×10^3
PL	-	-	1.1×10^7	2.8×10^4
PO	-	-	1.1×10^7	2.4×10^3

¹⁾ Meju fermented by traditional method at room temperature for 80 days.

²⁾ Not detected.

³⁾ Mushroom strains cultured on meju. AB; *Agaricus blazei*, GF; *Grifola frondosa*, GL; *Ganoderma lucidum*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

3. 결론

대조구메주에서 검출된 곰팡이, 호기성세균, 혐기성세균 수는 4.2×10^3 cfu/g, 2.1×10^7 cfu/g, 6.2×10^4 cfu/g였다. 혐기성세균수는 $10^3 \sim 10^5$ cfu/g 으로 시료구간의 차이가 많았으며 유산균의 비율이 높았다. 효모는 검출되지 않았다. 곰팡이는 대조구에서 4.2×10^3 cfu/g 검출되었고 다른 시료구에서는 검출되지 않았다.

제 4 장 재래식 버섯균사체 된장 · 간장의 생리활성 구명

제 1 절 버섯균사체 된장 · 간장의 제조

1. 매주의 대량 생산

가. 매주의 제조

“제 3 장”의 매주 제조방법에 준하여 매주를 40 kg 제조하여 빻짚으로 엮어서 통풍이 잘되는 그늘진 곳에서 80일 간 숙성시켜 매주를 발효시켰다.

나. 균주의 선발

“제 2 장”의 방법에 준하여 PDA배지와 액체배양배지에서 균사의 활력이 뛰어나고 “제 3 장”의 매주배지에 적응이 빠르며, 생리활성 검사법에서 생리활성이 뛰어난 느타리, 영지, 신령, 상황버섯 4종을 선발하였다.

다. 버섯균사체 매주의 배양방법 선택

“제 3 장”의 버섯액체균사체를 매주에 접종하여 균사체를 생육시키는 방법 중 작은 블럭 형태로 잘게 잘라 매주를 물에 불려 배양하는 방법은 버섯균사가 짧은 시간에 생육한다는 장점이 있었으나, 표면적이 상대적으로 넓어 표면으로의 건조증상이 심하여 버섯균이 장기간 생육하기 힘들고 수분 조절에 상당한 어려움을 초래하였다. 표면접종과 타공구에 접종하는 방법은 내부까지 완전히 생육하지 못한다는 단점은 있으나, 버섯균사체의 활착과 다른 미생물에 대한 피해가 적었다. 버섯균사체의 생육에 있어서는 타공구에 접종하는 방법이 생육이 빨랐다. 따라서 버섯균사체의 생육이 빠르면서 생육조절이 우수한 타공구에 버섯액체균사체를 접종하여 버섯균사체 매주를 생산하는 방법을 선택하였다.

라. 버섯균사체 메주의 제조

“다”의 타공구에 접종하는 방법에 준하여 버섯균사체를 접종하고
항온항습기 (24℃, 습도 60%)에 버섯균사체를 4주간 생육시켰다.

2. 된장과 간장의 제조

가. 된장

버섯균사체 메주를 3배량의 18% 소금물에 60일간 침지한 후 건지내고
옹기에 넣어 상온에서 1개월 동안 숙성시켜 된장을 제조하였다.

나. 간장

버섯균사체 메주를 3배량의 18% 소금물에 60일간 침지한 후 건지내고
남은 물은 100℃에서 1시간 정도 가열하고 옹기에 넣어 1개월 동안 숙성시켜
간장을 제조하였다.

3. 된장·간장의 미생물 분포조사

가. 방법

“제 3 장” “제 6 절”의 미생물검사방법에 준하여 실시하였다.

나. 된장

버섯균사체된장 1 g중의 일반 미생물 수는 $1.0 \sim 3.0 \times 10^6$ cfu,
유산균수는 $6.0 \times 10^5 \sim 7.9 \times 10^6$ cfu, 효모는 $5.0 \times 10^3 \sim 8.7 \times 10^5$ cfu, 곰팡이수는
 $2.2 \times 10^2 \sim 2.0 \times 10^3$ cfu로 일반세균이나 유산균의 수는 대조구된장과 거의
같았으나 효모수는 대조구된장보다 영지버섯균사체된장은 10배 적었고 신령,
상황, 느타리버섯균사체된장은 10배정도 많았다. 곰팡이수는 대조구된장이
버섯균사체된장보다 약 10배 높았다.

Table 18. Microflora in the traditional doenjang cultured with mushroom (TMCDJ) (unit: cfu/g)

Sample ¹⁾	Bacteria	Lactic acid bacteria	Yeast	Fungi
CODJ	1.0×10^6	9.7×10^5	4.0×10^4	2.0×10^3
ABDJ	1.0×10^6	7.9×10^5	8.7×10^5	4.7×10^2
GLDJ	3.0×10^6	9.8×10^5	5.0×10^5	4.0×10^2
PLDJ	1.0×10^6	5.1×10^5	8.4×10^5	3.4×10^2
PODJ	1.0×10^6	6.0×10^5	1.0×10^5	2.2×10^2

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

다. 간장

버섯균사체간장 1 ml 중 미생물수는 $1.0 \times 10^5 \sim 1.2 \times 10^7$ cfu, 유산균수는 $3.4 \times 10^5 \sim 9.6 \times 10^5$ cfu, 효모수는 $1.8 \times 10^4 \sim 3.8 \times 10^5$ cfu, 곰팡이 수는 $3.2 \times 10^1 \sim 8.0 \times 10^2$ cfu로 일반세균은 느타리버섯균사체간장이 대조구간장보다 최대 100배나 적었고, 곰팡이 수는 버섯균사체간장이 대조구간장보다 10배정도 낮았으며, 유산균, 효모수는 거의 차이가 없었다.

Table 19. Microflora in the traditional kanjang cultured with mushroom (TMCKJ) (unit: cfu/g)

Sample ¹⁾	Bacteria	Lactic acid bacteria	Yeast	Fungi
COKJ	1.2×10^7	5.8×10^5	7.3×10^4	4.3×10^2
ABKJ	1.5×10^6	9.6×10^5	7.0×10^4	8.0×10^2
GLKJ	6.9×10^6	3.4×10^5	1.8×10^4	5.8×10^2
PLKJ	1.8×10^6	5.7×10^5	3.8×10^5	3.8×10^1
POKJ	1.0×10^5	3.8×10^5	2.2×10^4	3.2×10^1

¹⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*

4. 결론

버섯균사체된장중의 일반미생물은 일반세균이나 유산균의 수는 대조구와 거의 같았으나 효모수는 대조구된장보다 영지버섯균사체된장에서 10배 적고 신령, 상황, 느타리버섯균사체된장은 10배정도 많았고 곰팡이수는 대조구된장이 가장 높았다. 버섯균사체간장 중 미생물수는 일반세균은 느타리버섯균사체간장이 대조구간장보다 최대 100배나 적었고, 곰팡이 수는 대조구간장보다 다른 버섯균사체간장의 10배정도 낮았으며, 유산균, 효모수는 거의 차이가 없었다.

제 2 절 항돌연변이성

1. 시험방법

“제 3 장” “제 3 절”의 항돌연변이 실험방법에 준하여 실험하였다. 돌연변이 실험 또한 동일한 방법에 준하여 실시하였다. 시료는 100, 200, 400 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$ DMSO농도로 처리하였다.

2. 된장의 항돌연변이 효과

가. 신령버섯균사체된장

신령버섯균사체된장의 acetone:methanol (1:1, v/v) 추출물에 대한 항돌연변이성을 Ames의 preincubation법으로 조사하였다. 0.02 μg 의 IQ는 *S. typhimurium* TA 98에서 1654개의 revertant를 보였고 (Table 20), 1 μg 의 AFB₁의 처리에서는 1220개의 revertant를 나타내었다 (Table 21). 신령버섯균사체된장의 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 IQ로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 각각 1212, 912, 628개의 revertant를 나타내었고, AFB₁으로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 각각 918, 736, 622개의 revertant를 나타내었다. 대조구된장 200 μg 처리구의 revertant수는 각각 1125개와 815개였다. 이 수치는 동일량을 처리한

신령버섯균사체된장 처리보다 높은 수치로서 버섯균사체 처리에 의하여 돌연변이 효과가 감소한다는 사실을 나타낸다. 돌연변이 유발원인 IQ 만을 처리한 대조구와 비교하였을 때 신령버섯균사체된장의 처리에 의하여 각각 26.7, 44.8, 62.0%의 돌연변이성이 감소하는 효과를 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 24.8, 39.7, 49.0%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 이 결과는 대조구된장 200 μ g 처리 32.0% 와 33.2%보다 높은 항돌연변이성이었다.

S. typhimurium TA 100을 균주로 사용하였을 경우 0.02 μ g IQ에 의하여 1424개 (Table 22), AFB₁에 의해서는 1073개의 revertant를 보였다 (Table 23). 대조구된장의 revertant 수는 각각 1033, 832개 였다.

신령버섯균사체된장 처리구에서는 그 농도 (100 200, 400 μ g)에 따라 IQ에 의해서는 각각 1137, 970, 857개, AFB₁에 의해서는 각각 872, 780, 679개의 revertant수를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 경우 IQ에 대해서는 각각 20.1, 31.8, 39.8%의 항돌연변이성을 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 18.7, 27.3, 36.7%의 항돌연변이성을 나타내었다. 이것은 대조구된장 200 μ g 처리의 27.4%와 22.4% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. 신령버섯균사체를 처리하여 제조한 메주를 이용하여 제조한 된장의 항돌연변이 효과가 대조구된장보다 뛰어난 것으로 보아 신령버섯균사체 처리에 의하여 메주와 된장의 발효과정에서 생리활성이 뛰어난 물질을 분비하거나, 생산한 것으로 생각된다.

신령버섯균사체된장이 돌연변이성을 확인하기 위하여 신령버섯균사체된장만을 처리하여 돌연변이 현상이 일어나는지 확인하였으니 신령버섯균사체된장만을 처리하여서는 돌연변이 유발효과가 대조구인 IQ와 AFB₁과 비교하여 2%미만의 돌연변이 효과를 나타내었다. 이것은 경미한 돌연변이 효과였으며, 자발적으로 돌연변이가 발생하는 spontaneous revertants수와도 별로 차이가 나지 않았다. 이것으로 보아 신령버섯균사체된장 자체는 *S. typhimurium* TA 98과 100의 돌연변이에 직접적인 돌연변이 유발물질은 아닌 것으로 생각되어 진다.

Table 20. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by *Agaricus blazei*-cultured treditional doenjang extract (AB-TMCDJ)¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1654 \pm 78	
CODJ 200	1125 \pm 65	32.0
ABDJ 100	1212 \pm 58	26.7
ABDJ 200	912 \pm 51	44.8
ABDJ 400	628 \pm 34	62.0

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (22 \pm 4).

Table 21. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by AB-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1220 \pm 29	
CODJ 200	815 \pm 25	33.2
ABDJ 100	918 \pm 32	24.8
ABDJ 200	736 \pm 63	39.7
ABDJ 400	622 \pm 23	49.0

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (21 \pm 3).

Table 22. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by AB-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1424 \pm 50	
CODJ 200	1033 \pm 52	27.4
ABDJ 100	1137 \pm 42	20.1
ABDJ 200	970 \pm 24	31.8
ABDJ 400	857 \pm 49	39.8

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (98 \pm 5).

Table 23. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by AB-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1073 \pm 58	
CODJ 200	832 \pm 45	22.4
ABDJ 100	872 \pm 36	18.7
ABDJ 200	780 \pm 23	27.3
ABDJ 400	679 \pm 31	36.7

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (101 \pm 3).

나. 영지버섯균사체된장

영지버섯균사체된장의 acetone:methanol (1:1, v/v) 추출물에 대한 항돌연변이성을 Ames의 preincubation법으로 조사하였다. 0.02 μg 의 IQ는 *S. typhimurium* TA 98에서 1654개의 revertant를 보였고 (Table 24), 1 μg 의 AFB₁의 처리에서는 1220개의 revertant를 나타내었다 (Table 25). 버섯균사체를 첨가하지 않고 생산한 대조구된장 200 μg 처리구의 revertant수는 1125개와 815개였다. 영지버섯균사체된장의 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 IQ에 의하여 각각 1227, 891, 732개의 revertant를 나타내었고, AFB₁에 의하여서는 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 각각 900, 754, 641개의 revertant를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 때 영지버섯균사체된장은 IQ에 대하여 각각 25.8, 46.1, 55.7%, AFB₁에 대해서는 각각 26.2, 38.2, 47.5%의 항돌연변이 효과를 보였다. 이것은 대조구된장 200 μg 처리의 32.0과 33.2%보다 높은 수치로서 버섯균사체처리에 의하여 돌연변이 효과가 감소한다는 사실을 나타내었다.

S. typhimurium TA 100을 균주로 사용하였을 경우 0.02 μg IQ에 의하여 1424개 (Table 26), AFB₁에 의해서는 1073개의 revertant를 보였다 (Table 27). 대조구된장의 revertant 수는 각각 1033, 832개 였다. 영지버섯균사체된장을 처리한 처리구에서는 그 농도가 증가함에 따라 IQ에 의해서는 각각 1107, 956, 874개, AFB₁에 의해서는 각각 875, 806, 679개의 revertant수를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 경우 IQ에 대해서는 각각 22.2, 32.9, 38.6%의 항돌연변이성을 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 18.5, 24.9, 34.8%의 항돌연변이성을 나타내었다. 이것은 대조구된장 200 μg 처리의 27.4%와 22.4% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. 영지버섯균사체를 처리하여 제조한 메주를 이용하여 제조한 된장의 항돌연변이 효과가 대조구된장보다 뛰어난 것으로 보아 영지버섯균사체 처리에 의하여 메주와 된장의 발효과정에서 생리활성이 뛰어난 물질을 분비하거나, 생산한 것으로 생각된다.

영지버섯균사체된장이 돌연변이성을 확인하기 위하여
영지버섯균사체된장만을 처리하여 돌연변이 현상이 일어나는지 확인하였으나,
영지버섯균사체된장만을 처리하여서는 돌연변이 유발효과가 대조구인 IQ와
AFB₁과 비교하여 3%미만의 돌연변이 효과를 나타내었다. 이것은 경미한
돌연변이 효과였으며, 자발적으로 돌연변이가 발생하는 spontaneous
revertants수와의 별로 차이가 나지 않았다. 이것으로 보아
영지버섯균사체된장 자체는 *S. typhimurium* TA 98과 100의 돌연변이에
직접적인 돌연변이 유발물질은 아닌 것으로 생각되어 진다.

Table 24. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98
by GL-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1654 \pm 78	
CODJ 200	1125 \pm 65	32.0
GLDJ 100	1227 \pm 50	25.8
GLDJ 200	891 \pm 40	46.1
GLDJ 400	732 \pm 34	55.7

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described
by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of
Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body
weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of
mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous
revertants (22 \pm 4).

Table 25. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by GL-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1220 \pm 29	
CODJ 200	815 \pm 25	33.2
GLDJ 100	900 \pm 59	26.2
GLDJ 200	754 \pm 47	38.2
GLDJ 400	641 \pm 16	47.5

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (21 \pm 3).

Table 26. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by GL-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1424 \pm 50	
CODJ 200	1033 \pm 52	27.4
GLDJ 100	1107 \pm 14	22.2
GLDJ 200	956 \pm 15	32.9
GLDJ 400	874 \pm 26	38.6

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (98 \pm 5).

Table 27. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by GL-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1073 \pm 58	
CODJ 200	832 \pm 45	22.4
GLDJ 100	875 \pm 16	18.5
GLDJ 200	806 \pm 15	24.9
GLDJ 400	679 \pm 25	34.8

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (101 \pm 3).

다. 상황버섯균사체된장

상황버섯균사체된장의 acetone:methanol (1:1, v/v) 추출물에 대한 항돌연변이성을 Ames의 preincubation법으로 조사하였다. 0.02 μg 의 IQ는 *S. typhimurium* TA 98에서 1654개의 revertant를 보였고 (Table 28), 1 μg 의 AFB₁의 처리에서는 1220개의 revertant를 나타내었다 (Table 29).

버섯균사체를 첨가하지 않고 생산한 대조구된장 200 μg 처리구의 revertant수는 1125개와 815개였다. 상황버섯균사체된장의 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 IQ에 의하여 각각 1181, 897, 658개의 revertant를 나타내었고, AFB₁에 의하여서는 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 각각 907, 757, 656개의 revertant를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을때, 상황버섯균사체된장 추출물은 IQ에 대하여 각각 28.6, 45.8, 60.2%, AFB₁에 대해서는 각각 25.7, 38.0, 46.2%의 항돌연변이 효과를 보였다. 이것은 대조구된장 200 μg 처리의

32.0과 33.2%보다 높은 수치로서 버섯균사체 처리에 의하여 돌연변이 효과가 감소한다는 사실을 나타내었다.

S. typhimurium TA 100을 균주로 사용하였을 경우 0.02 μg IQ에 의하여 1424개 (Table 30), AFB₁에 의해서는 1073개의 revertant를 보였다 (Table 31). 대조구된장의 revertant 수는 각각 1033, 832개 었다. 상황버섯균사체된장을 처리한 처리구에서는 그 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 IQ에 의해서는 각각 1145, 953, 834개, AFB₁에 의해서는 각각 849, 747, 651개의 revertant수를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 경우 IQ에 대해서는 각각 19.6, 33.1, 41.4%의 항돌연변이성을 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 20.9, 30.2, 39.4%의 항돌연변이성을 나타내었다. 이것은 대조구된장 200 μg 처리의 27.4%와 22.4% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. 상황버섯균사체를 처리하여 제조한 메주를 이용하여 제조한 된장의 항돌연변이 효과가 대조구된장보다 뛰어난 것으로 보아 상황버섯균사체 처리에 의하여 메주와 된장의 발효과정에서 생리활성이 뛰어난 물질을 분비하거나, 생산한 것으로 생각된다.

상황버섯균사체된장이 돌연변이성을 확인하기 위하여 상황버섯균사체된장만을 처리하여 돌연변이 현상이 일어나는지 확인하였으나, 상황버섯균사체된장만을 처리하여서는 돌연변이 유발효과가 대조구인 IQ와 AFB₁과 비교하여 3%미만의 돌연변이 효과를 나타내었다. 이것은 경미한 돌연변이 효과였으며, 자발적으로 돌연변이가 발생하는 spontaneous revertants수와의도 별로 차이가 나지 않았다. 이것으로 보아 상황버섯균사체된장 자체는 *S. typhimurium* TA 98과 100의 돌연변이에 직접적인 돌연변이 유발물질은 아닌 것으로 생각되어 진다.

Table 28. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by PL-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1654 \pm 78	
CODJ 200	1125 \pm 65	32.0
PLDJ 100	1181 \pm 73	28.6
PLDJ 200	897 \pm 56	45.8
PLDJ 400	658 \pm 55	60.2

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (22 \pm 4).

Table 29. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by PL-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1220 \pm 29	
CODJ 200	815 \pm 25	33.2
PLDJ 100	907 \pm 56	25.7
PLDJ 200	757 \pm 17	38.0
PLDJ 400	656 \pm 36	46.2

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (21 \pm 3).

Table 30. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by PL-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1424 \pm 50	
CODJ 200	1033 \pm 52	27.4
PLDJ 100	1145 \pm 48	19.6
PLDJ 200	953 \pm 37	33.1
PLDJ 400	834 \pm 31	41.4

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (98 \pm 5).

Table 31. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by PL-TMCDJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1073 \pm 58	
CODJ 200	832 \pm 45	22.4
PLDJ 100	849 \pm 36	20.9
PLDJ 200	747 \pm 43	30.2
PLDJ 400	651 \pm 24	39.4

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (101 \pm 3).

라. 느타리균사체된장

느타리버섯균사체된장의 acetone:methanol (1:1, v/v) 추출물에 대한 항돌연변이성을 Ames의 preincubation법으로 조사하였다. 0.02 μg 의 IQ는 *S. typhimurium* TA 98에서 1654개의 revertant를 보였고 (Table 32), 1 μg 의 AFB₁의 처리에서는 1220개의 revertant를 나타내었다 (Table 33). 버섯균사체를 첨가하지 않고 생산한 대조구된장 200 μg 처리구의 revertant수는 1125개와 815개였다. 느타리버섯균사체된장의 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 IQ에 의하여 각각 1148, 998, 734개의 revertant를 나타내었고 AFB₁에 의하여서는 각각 870, 736, 600개의 revertant를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 때, 느타리버섯균사체된장은 IQ에 대하여 각각 30.6, 39.6, 55.6%, AFB₁에 대해서는 각각 28.7, 39.7, 50.8%의 항돌연변이 효과를 보였다. 이것은 대조구된장 200 μg 처리의 32.0과 33.2%보다 높은 수치로서 버섯균사체처리에 의하여 돌연변이 효과가 감소한다는 사실을 나타내었다.

S. typhimurium TA 100을 균주로 사용하였을 경우 0.02 μg IQ에 의하여 1424개 (Table 34), AFB₁에 의해서는 1073개의 revertant를 보였다 (Table 35). 대조구된장의 revertant 수는 각각 1033, 832개였다. 느타리버섯균사체된장을 처리한 처리구에서는 그 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 IQ에 의해서는 각각 1132, 917, 843개, AFB₁에 의해서는 각각 856, 755, 679개의 revertant수를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 경우 IQ에 대해서는 20.5, 35.6, 40.8%의 항돌연변이성을 나타내었고, AFB₁에 대해서는 20.2, 29.6, 36.7%의 항돌연변이성을 나타내었다. 이것은 대조구된장 200 μg 처리의 27.4%와 22.4% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. 느타리버섯균사체를 처리하여 제조한 매주를 이용하여 제조한 된장의 항돌연변이 효과가 대조구된장보다 뛰어난 것으로 보아 느타리버섯균사체 처리에 의하여 매주와 된장의 발효과정에서 생리활성이 뛰어난 물질을 분비하거나, 생산한 것으로 생각된다.

느타리버섯균사체된장이 돌연변이성을 확인하기 위하여
느타리버섯균사체된장만을 처리하여 돌연변이 현상이 일어나는지

확인하였으나, 느타리버섯균사체된장만을 처리하여서는 돌연변이 유발효과가 대조구인 IQ와 AFB₁과 비교하여 2%미만의 돌연변이 효과를 나타내었다. 이것은 경미한 돌연변이 효과였으며, 자발적으로 돌연변이가 발생하는 spontaneous revertants수와의 별로 차이가 나지 않았다. 이것으로 보아 느타리버섯균사체된장 자체는 *S. typhimurium* TA 98과 100의 돌연변이에 직접적인 돌연변이 유발물질은 아닌 것으로 생각되어 진다.

Table 32. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by PO-TMCDJ extract¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1654 \pm 78	
CODJ 200	1125 \pm 65	32.0
PODJ 100	1148 \pm 61	30.6
PODJ 200	998 \pm 45	39.6
PODJ 400	734 \pm 39	55.6

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (22 \pm 4).

Table 33. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by PO-TMCDJ extract¹⁾

Treatment(μ g/plate) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1220 \pm 29	
CODJ 200	815 \pm 25	33.2
PODJ 100	870 \pm 65	28.7
PODJ 200	736 \pm 79	39.7
PODJ 400	600 \pm 22	50.8

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μ g AFB₁ and/or 200, 400 μ g extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μ l DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (21 \pm 3).

Table 34. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by PO-TMCDJ extract¹⁾

Treatment(μ g/plate) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1424 \pm 50	
CODJ 200	1033 \pm 52	27.4
PODJ 100	1132 \pm 30	20.5
PODJ 200	917 \pm 31	35.6
PODJ 400	843 \pm 2	40.8

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μ g IQ and/or 100, 200, 400 μ g extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μ l DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (98 \pm 5).

Table 35. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by PO-TMCDJ extract¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1073 \pm 58	
CODJ 200	832 \pm 45	22.4
PODJ 100	856 \pm 39	20.2
PODJ 200	755 \pm 32	29.6
PODJ 400	679 \pm 13	36.7

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (101 \pm 3).

3. 간장의 항돌연변이 효과

가. 신령버섯균사체간장

신령버섯균사체간장의 acetone:methanol (1:1, v/v) 추출물에 대한 항돌연변이성을 Ames의 preincubation법으로 조사하였다. 0.02 μg 의 IQ는 *S. typhimurium* TA 98에서 1559개의 revertant를 보였고 (Table 36), 1 μg 의 AFB₁의 처리에서는 1190개의 revertant를 나타내었다 (Table 37).

신령버섯균사체간장의 농도 (100, 200, 400 μg)에 따라 IQ로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 각각 1176, 953, 668개의 revertant를 나타내었고, AFB₁으로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 농도 (100, 200, 400 μg)에 따라 각각 937, 777, 634개의 revertant를 나타내었다. 버섯균사체를 첨가하지 않고 생산한 대조구간장 200 μg 처리구의 revertant수는 1065개와 854개였다. 이 수치는 동일량을 처리한 신령버섯균사체간장 처리보다 높은 수치로서

버섯균사체처리에 의하여 돌연변이 효과가 감소한다는 사실을 나타내었다. 돌연변이 유발원인 IQ 만을 처리한 대조구와 비교하였을 때 신령버섯균사체간장의 처리에 의하여 각각 24.5, 38.8, 57.1%의 돌연변이성이 감소하는 효과를 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 21.3, 34.7, 46.7%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 이 결과는 대조구간장 200 μ g 처리에 의한 31.7%와 28.2%보다 높은 항돌연변이성이었다.

S. typhimurium TA 100을 균주로 사용하였을 경우 0.02 μ g IQ에 의하여 1441개, AFB₁에 의해서는 1205개의 revertant를 보였다. 대조구간장의 revertant 수는 각각 1033, 847개 었다. 신령버섯균사체 간장을 처리한 처리구에서는 그 농도 (100 200, 400 μ g)에 따라 IQ에 의해서는 각각 1139, 934, 605개, AFB₁에 의해서는 각각 932, 778, 601개의 revertant수를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 경우 IQ에 대해서는 각각 21.0, 35.1, 58.0%의 항돌연변이성을 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 22.7, 35.4, 50.1%의 항돌연변이성을 나타내었다. 이것은 대조구간장 200 μ g 처리의 28.3%와 29.7% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. 신령버섯균사체를 처리하여 제조한 메주를 이용하여 제조한 간장의 항돌연변이 효과가 대조구간장보다 뛰어난 것으로 보아 신령버섯균사체 처리에 의하여 메주와 간장의 발효과정에서 생리활성이 뛰어난 물질을 분비하거나, 생산한 것으로 생각된다.

신령버섯균사체간장이 돌연변이성을 확인하기 위하여 신령버섯균사체간장만을 처리하여 돌연변이 현상이 일어나는지 확인하였으나, 신령버섯균사체간장만을 처리하여서는 돌연변이 유발효과가 대조구인 IQ와 AFB₁과 비교하여 2%미만의 돌연변이 효과를 나타내었다. 이것은 경미한 돌연변이 효과였으며, 자발적으로 돌연변이가 발생하는 spontaneous revertants수와의 별로 차이가 나지 않았다. 이것으로 보아 느타리버섯균사체간장 자체는 *S. typhimurium* TA 98과 100의 돌연변이에 직접적인 돌연변이 유발물질은 아닌 것으로 생각되어 진다.

Table 36. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by AB-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1559 \pm 48	
COKJ 200	1065 \pm 50	31.7
ABKJ 100	1176 \pm 33	24.5
ABKJ 200	953 \pm 10	38.8
ABKJ 400	668 \pm 27	57.1

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (17 \pm 3).

Table 37. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by AB-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1190 \pm 45	
COKJ 200	854 \pm 31	28.2
ABKJ 100	937 \pm 14	21.3
ABKJ 200	777 \pm 20	34.7
ABKJ 400	634 \pm 11	46.7

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication value was obtained by subtraction of spontaneous revertants (18 \pm 2).

Table 38. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by AB-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1441 \pm 54	
COKJ 200	1033 \pm 52	28.3
ABKJ 100	1139 \pm 55	21.0
ABKJ 200	934 \pm 19	35.1
ABKJ 400	605 \pm 38	58.0

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (101 \pm 3).

Table 39. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by AB-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1205 \pm 72	
COKJ 200	847 \pm 21	29.7
ABKJ 100	932 \pm 17	22.7
ABKJ 200	778 \pm 21	35.4
ABKJ 400	601 \pm 33	50.1

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (100 \pm 4).

나. 영지버섯균사체간장

영지버섯균사체간장의 acetone:methanol (1:1, v/v) 추출물에 대한 항돌연변이성을 Ames의 preincubation법으로 조사하였다. 0.02 μg 의 IQ는 *S. typhimurium* TA 98에서 1559개의 revertant를 보였고 (Table 40), 1 μg 의 AFB₁의 처리에서는 1190개의 revertant를 나타내었다 (Table 41).

영지버섯균사체간장의 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 IQ로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 각각 1158, 983, 802개의 revertant를 나타내었고, AFB₁으로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 각각 947, 816, 683개의 revertant를 나타내었다. 버섯균사체를 첨가하지 않고 생산한 대조구간장 200 μg 처리구의 revertant수는 1065개와 854개였다. 이 수치는 동일량을 처리한 영지버섯균사체간장 처리보다 높은 수치로서 버섯균사체처리에 의하여 돌연변이 효과가 감소한다는 사실을 시사한다. 돌연변이 유발원인 IQ 만을 처리한 대조구와 비교하였을 때 영지버섯균사체간장 추출물들의 처리에 의하여 각각 각각 25.7, 36.9, 48.5%의 돌연변이성이 감소하는 효과를 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 20.4, 31.4, 42.6%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 이 결과는 대조구간장 200 μg 처리에 의한 31.7%와 28.2%보다 높은 항돌연변이성을 보였다.

S. typhimurium TA 100을 균주로 사용하였을 경우 0.02 μg IQ에 의하여 1441개 (Table 42), AFB₁에 의해서는 1205개의 revertant를 보였나 (Table 43). 대조구간장의 revertant 수는 각각 1033, 847개 었다. 영지버섯균사체간장을 처리한 처리구에서는 그 농도가 증가함에 따라 IQ에 의해서는 각각 1136, 960, 653개, AFB₁에 의해서는 각각 959, 798, 634개의 revertant수를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 경우 IQ에 대해서는 각각 21.1, 33.4, 54.7%의 항돌연변이성을 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 20.4, 33.7, 47.4%의 항돌연변이성을 나타내었다. 이것은 대조구간장 200 μg 처리의 28.3%와 29.7% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. 영지버섯균사체를 처리하여 제조한 메주를 이용하여 제조한 간장의 항돌연변이 효과가 대조구간장보다 뛰어난 것으로 보아 영지버섯균사체 처리에 의하여 메주와

간장의 발효과정에서 생리활성이 뛰어난 물질을 분비하거나, 생산한 것으로 생각된다.

영지버섯균사체간장이 돌연변이성을 확인하기 위하여 영지버섯균사체간장만을 처리하여 돌연변이 현상이 일어나는지 확인하였으나, 영지버섯균사체간장만을 처리하여서는 돌연변이 유발효과가 대조구인 IQ와 AFB₁과 비교하여 3%미만의 돌연변이 효과를 나타내었다. 이것은 경미한 돌연변이 효과였으며, 자발적으로 돌연변이가 발생하는 spontaneous revertants수와의 별로 차이가 나지 않았다.

Table 40. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by GL-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1559 \pm 48	
COKJ 200	1065 \pm 50	31.7
GLKJ 100	1158 \pm 82	25.7
GLKJ 200	983 \pm 8	36.9
GLKJ 400	802 \pm 40	48.5

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (17 \pm 3).

Table 41. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by GL-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1190 \pm 45	
COKJ 200	854 \pm 31	28.2
GLKJ 100	947 \pm 42	20.4
GLKJ 200	816 \pm 31	31.4
GLKJ 400	683 \pm 10	42.6

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (18 \pm 2).

Table 42. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by GL-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1441 \pm 54	
COKJ 200	1033 \pm 52	28.3
GLKJ 100	1136 \pm 45	21.1
GLKJ 200	960 \pm 17	33.4
GLKJ 400	653 \pm 19	54.7

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (101 \pm 3).

Table 43. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by GL-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1205 \pm 72	
COKJ 200	847 \pm 21	29.7
GLKJ 100	959 \pm 12	20.4
GLKJ 200	798 \pm 3	33.7
GLKJ 400	634 \pm 41	47.4

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (100 \pm 4).

다. 상황버섯균사체간장

상황버섯균사체간장의 acetone:methanol (1:1, v/v) 추출물에 대한 항돌연변이성을 Ames의 preincubation법으로 조사하였다. 0.02 μg 의 IQ는 *S. typhimurium* TA 98에서 1559개의 revertant를 보였고 (Table 44), 1 μg 의 AFB₁의 처리에서는 1190개의 revertant를 나타내었다 (Table 45).

상황버섯균사체간장의 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 IQ로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 각각 1104, 935, 784개의 revertant를 나타내었고, AFB₁으로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 각각 926, 764, 643개의 revertant를 나타내었다. 버섯균사체를 첨가하지 않고 생산한 대조구간장 200 μg 처리구의 revertant수는 1065개와 854개였다. 이 수치는 동일량을 처리한 상황균사체간장 처리보다 높은 수치로서 버섯균사체처리에 의하여 돌연변이 효과가 감소한다는 사실을 나타내었다. 돌연변이 유발원인

IQ 만을 처리한 대조구와 비교하였을 때 상황버섯균사체간장의 처리에 의하여 각각 29.2, 40.0, 49.7%의 돌연변이성이 감소하는 효과를 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 22.2, 35.8, 46.0%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 이 결과는 대조구간장 200 μ g 처리 31.7%와 28.2%보다 높은 항돌연변이성이었다.

S. typhimurium TA 100을 균주로 사용하였을 경우 0.02 μ g IQ에 의하여 1,441개 (Table 46), AFB₁에 의해서는 1,205개의 revertant를 보였다 (Table 47). 대조구간장의 revertant 수는 각각 1,033, 847개 었다.

상황버섯균사체간장을 처리한 처리구에서는 그 농도 (100 200, 400 μ g)에 따라 IQ에 의해서는 각각 1108, 926, 617개, AFB₁에 의해서는 각각 937, 787, 612개의 revertant수를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 경우 IQ에 대해서는 각각 23.1, 35.7, 57.2%의 항돌연변이성을 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 22.2, 34.6, 49.2%의 항돌연변이성을 나타내었다. 이것은 대조구간장 200 μ g 처리의 28.3%와 29.7% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. 상황버섯균사체를 처리하여 제조한 메주를 이용하여 제조한 간장의 항돌연변이 효과가 대조구간장보다 뛰어난 것으로 보아 상황버섯균사체 처리에 의하여 메주와 간장의 발효과정에서 생리활성이 뛰어난 물질을 분비하거나, 생산한 것으로 생각된다.

상황버섯균사체간이 돌연변이성을 확인하기 위하여 상황버섯균사체간장만을 처리하여 돌연변이 현상이 일어나는지 확인하였으나, 상황버섯균사체간장만을 처리하여서는 돌연변이 유발효과가 대조구인 IQ와 AFB₁과 비교하여 3%미만의 돌연변이 효과를 나타내었다. 이것은 경미한 돌연변이 효과였으며, 자발적으로 돌연변이가 발생하는 spontaneous revertants수와도 별로 차이가 나지 않았다.

Table 44. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by PL-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1559 \pm 48	
COKJ 200	1065 \pm 50	31.7
PLKJ 100	1104 \pm 20	29.2
PLKJ 200	935 \pm 19	40.0
PLKJ 400	784 \pm 20	49.7

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (17 \pm 3).

Table 45. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by PL-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1190 \pm 45	
COKJ 200	854 \pm 31	28.2
PLKJ 100	926 \pm 7	22.2
PLKJ 200	764 \pm 27	35.8
PLKJ 400	643 \pm 22	46.0

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (21 \pm 3).

Table 46. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by PL-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1441 \pm 54	
COKJ 200	1033 \pm 52	28.3
PLKJ 100	1108 \pm 61	23.1
PLKJ 200	926 \pm 16	35.7
PLKJ 400	617 \pm 24	57.2

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (101 \pm 3).

Table 47. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by PL-TMCKJ extract¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1205 \pm 72	
COKJ 200	847 \pm 21	29.7
PLKJ 100	937 \pm 25	22.2
PLKJ 200	787 \pm 34	34.6
PLKJ 400	612 \pm 55	49.2

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (100 \pm 4).

라. 느타리버섯균사체간장

느타리버섯균사체간장의 acetone:methanol (1:1, v/v) 추출물에 대한 항돌연변이성을 Ames의 preincubation법으로 조사하였다. 0.02 μg 의 IQ는 *S. typhimurium* TA 98에서 1559개의 revertant를 보였고 (Table 48), 1 μg 의 AFB₁의 처리에서는 1190개의 revertant를 나타내었다 (Table 49). 느타리버섯균사체간장의 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 IQ로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 각각 1123, 945, 754개의 revertant를 나타내었고, AFB₁으로 돌연변이를 유발한 처리구에서는 농도 (100 200, 400 μg)에 따라 각각 937, 765, 658개의 revertant를 나타내었다. 버섯균사체를 첨가하지 않고 생산한 대조구간장 200 μg 처리구의 revertant수는 1065개와 854개였다. 이 수치는 동일량을 처리한 느타리버섯균사체간장 처리보다 높은 수치로서 버섯균사체처리에 의하여 돌연변이 효과가 감소한다는 사실을 나타내었다. 돌연변이 유발원인 IQ 만을 처리한 대조구와 비교하였을 때 느타리버섯균사체간장의 처리에 의하여 각각 28.0, 39.4, 51.6%의 돌연변이성이 감소하는 효과를 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 21.3, 35.7, 44.7%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 이 결과는 대조구간장 200 μg 처리의 31.7%와 28.2%보다 높은 항돌연변이성을 보였다.

S. typhimurium TA 100을 균주로 사용하였을 경우 0.02 μg IQ에 의하여 1441개 (Table 50), AFB₁에 의해서는 1205개의 revertant를 보였다 (Table 51). 대조구간장의 revertant 수는 각각 1033, 847개 였다. 느타리버섯균사체 간장을 처리한 처리구에서는 그 농도가 증가함에 따라 IQ에 의해서는 각각 1,133, 939, 666개, AFB₁에 의해서는 946, 802, 627개의 revertant수를 나타내었다. 이것을 대조구와 비교하였을 경우 IQ에 대해서는 각각 21.3, 34.8, 53.8%의 항돌연변이성을 나타내었고, AFB₁에 대해서는 각각 21.5, 33.5, 48.0%의 항돌연변이성을 나타내었다. 이것은 대조구간장 200 μg 처리의 28.3%와 29.7% 보다 높은 항돌연변이 효과를 보였다. 느타리버섯균사체를 처리하여 제조한 매주를 이용하여 제조한 간장의 항돌연변이 효과가 대조구간장보다 뛰어난 것으로 보아 느타리버섯균사체

처리에 의하여 메주와 간장의 발효과정에서 생리활성이 뛰어난 물질을
분비하거나, 생산한 것으로 생각된다.

느타리버섯균사체간장이 돌연변이성을 확인하기 위하여
느타리버섯균사체간장만을 처리하여 돌연변이 현상이 일어나는지
확인하였으나, 느타리버섯균사체간장 만을 처리하여서는 돌연변이 유발효과가
대조구인 IQ와 AFB₁과 비교하여 2%미만의 돌연변이 효과를 나타내었다.
이것은 경미한 돌연변이 효과였으며, 자발적으로 돌연변이가 발생하는
spontaneous revertants수와의 별로 차이가 나지 않았다.

Table 48. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98
by PO-TMCKJ extract¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1559 \pm 48	
COKJ 200	1065 \pm 50	31.7
POKJ 100	1123 \pm 27	28.0
POKJ 200	945 \pm 11	39.4
POKJ 400	754 \pm 33	51.6

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described
by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of
Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body
weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of
mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous
revertants (17 \pm 3).

Table 49. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by PO-TMCKJ extract¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1,190 \pm 45	
COKJ 200	854 \pm 31	28.2
POKJ 100	937 \pm 23	21.3
POKJ 200	765 \pm 27	35.7
POKJ 400	658 \pm 18	44.7

- ¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).
- ²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.
- ³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (18 \pm 2).

Table 50. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by PO-TMCKJ extract¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	1441 \pm 54	
COKJ 200	1033 \pm 52	28.3
POKJ 100	1133 \pm 59	21.3
POKJ 200	939 \pm 39	34.8
POKJ 400	666 \pm 27	53.8

- ¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochor 1254 (500 mg/kg body weight).
- ²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.
- ³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (101 \pm 3).

Table 51. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by *Pleurotus ostreatus*-cultured kanjang extract¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1205 \pm 72	
COKJ 200	847 \pm 21	29.7
POKJ 100	946 \pm 25	21.5
POKJ 200	802 \pm 19	33.5
POKJ 400	627 \pm 17	48.0

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 100, 200, 400 μg extract of mushroom-cultured kanjang extract dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (100 \pm 4).

4. 결론

S. typhimurium TA 98에 0.02 μg IQ처리에 대하여 신령버섯균사체된장은 26.7~62.0%, 영지버섯균사체된장은 25.8~55.7%, 상황버섯균사체된장은 28.6~60.2, 느타리버섯균사체된장은 30.6~55.6%, 1 μg AFB₁처리에 대해서는 신령버섯균사체된장은 24.8~49.0%, 영지버섯균사체된장은 26.2~47.5%, 상황버섯균사체된장은 25.7~46.2%, 느타리버섯균사체된장은 28.7~50.8%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. *S. typhimurium* TA 100에서는 0.02 μg IQ처리에 대하여 신령버섯균사체된장은 20.1~39.8%, 영지버섯균사체된장은 22.2~38.6%, 상황버섯균사체된장은 19.6~41.4, 느타리버섯균사체된장은 20.5~40.8%, 1 μg AFB₁처리에 대해서는 신령버섯균사체된장은 18.7~36.7%, 영지버섯균사체된장은 18.5~34.8, 상황버섯균사체된장은 20.9~39.4%, 느타리버섯균사체된장은 20.2~36.7%의 항돌연변이 효과를 나타내었다.

S. typhimurium TA 98에 0.02 μg IQ처리에 대하여 신령버섯균사체간장은 24.5~46.7%, 영지버섯균사체간장은 25.7~58.5%, 상황버섯균사체간장은 29.2~49.7, 느타리버섯균사체간장은 28.0~51.6%의 효과를 보였고, 1 μg AFB₁처리에 대해서는 신령버섯균사체간장은 21.3~46.7%, 영지버섯균사체간장은 20.4~42.6%, 상황버섯균사체간장은 22.2~46.0%, 느타리버섯균사체간장은 21.3~44.7%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. *S. typhimurium* TA 100에서는 0.02 μg IQ처리에 대하여 신령버섯균사체간장은 21.0~58.0%, 영지버섯균사체간장은 21.1~54.7%, 상황버섯균사체간장은 23.1~57.2, 느타리버섯균사체간장은 21.3~53.8%의 효과를 보였고, 1 μg AFB₁처리에 대해서는 신령버섯균사체간장은 22.7~50.1%, 영지버섯균사체간장은 20.4~47.4, 상황버섯균사체간장은 22.2~49.2%, 느타리버섯균사체간장은 21.5~48.0%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 버섯버섯균사체된장과 간장의 돌연변이 실험에서는 2~4% 돌연변이를 나타내어 직접적인 돌연변이 유발물질은 없는 것으로 나타났다.

제 3 절 항암성

1. 실험방법

가. 세포독성

“제 3 장” “제 4 절”의 항암성에 준하여 실험을 실시하였다.

나. Mouse 복수암

“제 3 장” “제 4 절”의 항암성에 준하여 실험을 실시하였다. 시료의 처리는 복수암 유발 후 매일 조제된 시료 0.1 ml (각각의 버섯균사체 된장 추출물 200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight/0.1 ml PBS)을 mouse의 복강에 주사하였다. Control mouse에게는 PBS만 0.1 ml 투여하였다. S-180 세포 복강 투여 후 3 일 간격으로 mouse의 무게와 사료 섭취량을 조사하여 42일 동안 생존한 mouse의 수와 생존일수를 조사하였다.

2. S-180 암세포에 대한 세포독성

가. 된장

버섯균사체된장의 세포독성을 시험한 결과를 Table 52에 나타내었다. 24 well plate에 S-180 cell을 초기 5×10^4 cells/ml DMEM배지를 넣어 5% CO₂ incubator에서 48 시간 배양시킨 후 무처리구에서 S-180 세포는 63.3 cells/ml로 성장하였다. S-180 cell에 대한 세포독성값을 ED₅₀값으로 나타내었다 (Table 52). 대조구된장 10, 20, 30 $\mu\text{g/ml}$ 처리구에서 S-180 세포들은 각각 48.3, 40.7, 35.0×10^4 cells/ml로 성장하였고 무처리의 성장률과 비교하였을 때, 그들의 성장률은 74.3, 61.2, 51.5%였고, 이것의 ED₅₀값은 33.1 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 버섯균사체를된장의 세포독성값은 상황, 느타리, 신령, 영지버섯균사체된장이 각각 22.0, 24.2, 24.8, 26.3 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 이상의 결과로 보아 버섯균사체를 배양시킨 메주의 경우에 무처리와 대조구된장에 비하여 다소 높은 세포독성 효과를 나타내었다. 그러나 이것은 재래식메주의

독성실험과는 달리 세포독성의 값이 다소 차이가 나지 않는 것으로 나타났다 이것은 버섯균사체가 분비한 물질이 간장을 담을 때 염수에 침지 되어 있는 동안 간장 쪽으로 다량 침출 되어진 것으로 생각되어진다. 하지만 버섯균사체된장 처리구가 대조구된장보다 세포독성이 뛰어난 것으로 보아 이들의 효과는 버섯균사체가 성장하면서 배출한 물질 또는 버섯균사체의 작용에 의해 생성된 물질에 의한 효과인 것으로 생각된다.

나. 간장

버섯균사체간장의 세포독성을 시험한 결과를 Table 53에 나타내었다. 24 well plate에 S-180 cell을 초기 5×10^4 cells/ml DMEM배지를 넣어 5% CO₂ incubator에서 48 시간 배양시킨 후 무처리에서 S-180 세포는 67.5 cells/ml로 성장하였다. S-180 cell에 대한 세포독성 값을 ED₅₀값으로 나타내었다 (Table 53). 대조구간장 10, 20, 30 $\mu\text{g/ml}$ 처리구에서 S-180 세포들은 각각 49.7, 39.0, 36.3×10^4 cells/ml로 성장하였고 무처리구의 성장률과 비교하였을 때, 그들의 성장률은 80.8, 61.5, 56.6%였고, 이것의 ED₅₀값은 37.3 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 버섯균사체간장의 세포독성 값은 느타리, 신령, 영지, 상황버섯균사체간장이 각각 13.3, 17.3, 19.4, 20.3 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 이상의 결과로 보아 버섯균사체간장추출물의 경우가 무처리와 대조구 간장에 비하여 다소 높은 세포독성 효과가 나타나는 사실을 확인하였다. 이상의 결과로 버섯균사체간장에서 무처리와 대조구 간장보다 세포독성 작용이 뛰어난 것으로 보아 이들의 효과는 버섯균사체가 성장에 의한 것으로 추정된다.

Table 52. Cytotoxicity of TMCDJ for mouse S-180 ascites cancer cells¹⁾

Treatment	Doses ($\mu\text{g/ml}$)	Growth of Cells ($\times 10^4$ cells/ml) ²⁾	Growth Ratio (%)	ED ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) ³⁾
Control ⁴⁾	10	48.3 \pm 4.7	74.3	33.1
	20	40.7 \pm 3.1	61.2	
	30	35.0 \pm 1.0	51.5	
ABDJ ⁵⁾	10	44.0 \pm 1.4	66.9	24.8
	20	37.7 \pm 1.4	56.1	
	30	31.3 \pm 1.4	45.1	
GLDJ	10	47.3 \pm 3.1	72.6	26.3
	20	39.0 \pm 2.1	58.3	
	30	31.7 \pm 1.4	45.8	
PLDJ	10	43.0 \pm 1.4	65.2	22.0
	20	35.7 \pm 2.1	52.7	
	30	30.3 \pm 0.7	43.4	
PODJ	10	42.0 \pm 2.0	63.5	24.2
	20	39.7 \pm 0.7	59.5	
	30	29.7 \pm 0.6	42.4	

¹⁾ DMEM was used for culture of S-180 cells as a medium

²⁾ Initial cell concentration was 5×10^4 cells/ml DMEM. Control cell concentration was 63.3×10^4 cells/ml DMEM.

³⁾ ED₅₀ was calculated by B (slope) = $N(X_i \cdot Y_i) - (X_i)(Y_i) / N(X_i)^2 - (Y_i)^2$, A (intercept) = $Y_i/N - B \cdot X_i/N$ [N = number of point selected, X_i = log doses, Y_i = growth rate calculated doses].

⁴⁾ Doenjang fermented by traditional method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured with meju. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

Table 53. Cytotoxicity of TMCKJ for mouse S-180 ascites cancer cells¹⁾

Treatment	Doses ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Growth of Cells ($\times 10^4$ cells/ ml) ²⁾	Growth Ratio (%)	ED ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ³⁾
Control ⁴⁾	10	49.7 \pm 2.1	80.8	37.3
	20	39.0 \pm 1.0	61.5	
	30	36.3 \pm 0.6	56.6	
ABKJ ⁵⁾	10	39.3 \pm 1.0	62.0	17.3
	20	31.7 \pm 0.7	48.3	
	30	25.0 \pm 1.4	36.2	
GLKJ	10	41.7 \pm 1.5	66.4	19.4
	20	32.3 \pm 0.7	49.4	
	30	26.7 \pm 0.7	39.2	
PLKJ	10	41.3 \pm 2.1	65.6	20.3
	20	33.0 \pm 0.7	50.6	
	30	27.7 \pm 2.1	41.0	
POKJ	10	35.3 \pm 0.6	54.8	13.3
	20	29.0 \pm 1.4	43.4	
	30	24.7 \pm 2.1	35.6	

¹⁾ DMEM was used for culture of S-180 cells as a medium

²⁾ Initial cell concentration was 5×10^4 cells/ ml DMEM. Control cell concentration was 67.5×10^4 cells/ ml DMEM.

³⁾ ED₅₀ was calculated by B (slope) = $N(X_i \cdot Y_i) - (X_i)(Y_i) / N (X_i)^2 - (Y_i)^2$, A (intercept) = $Y_i/N - B \cdot X_i/N$ [N = number of point selected, X_i = log does, Y_i = growth rate calculated does)].

⁴⁾ Kanjang fermented by traditional method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured with meju. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

3. Mouse 복수암

가. 된장

Mouse 복수암 세포 S-180 cell을 mouse의 복강에 투여하여 복수암을 유발한 mouse에 대한 버섯균사체된장의 평균 생존일 및 생존율에 미치는 효과를 수행하여 Table 54에 나타내었다. 신령버섯균사체된장을 각각 200, 400 $\mu\text{g/g}$ mouse/0.1 ml PBS의 농도로 제조하여 투여한 처리구의 평균수명은 동일하게 27.3일로 대조구 보다 25%의 수명연장효과를 나타내었다.

영지버섯균사체된장 200, 400 μg 처리구에서는 26.0, 28.3일 생존하였으며, 대조구보다 각각 19, 30%의 수명연장 효과를 나타내었다. 상황버섯균사체된장 200, 400 μg 처리구에서는 27.1, 27.4일 생존하였으며 대조구보다 각각 24, 26%의 수명연장 효과를 나타내었다. 느타리버섯균사체된장 200, 400 μg 처리구에서는 26.4, 29.0일 생존하였으며 대조구보다 각각 21, 33%의 수명연장 효과를 나타내었다. 이것은 대조구된장의 24.3일 생존과 11%의 수명연장효과보다 우수한 항암효과로 버섯균사체를 처리함으로 인하여 버섯균사체된장의 항암성이 증가되는 것을 확인시켜 주었다. 신령, 상황버섯균사체된장의 경우는 농도의 증가에 관계없이 수명연장 효과는 크게 차이가 나지 않았다.

영지버섯균사체된장의 경우는 농도가 증가함에 따라 수명이 증가하는 현상을 나타내었다. 수명연장효과가 가장 뛰어난 처리구는 느타리버섯된장 400 μg 처리구였다.

신령, 영지, 상황, 느타리버섯균사체된장의 mouse의 생존일을 Figure 26~29에 나타내었다. 버섯균사체된장의 생존율에 있어서는, 영지버섯균사체된장 400 μg 처리구, 상황버섯균사체된장 200 μg 처리구 그리고 느타리버섯균사체된장 400 μg 처리구에서 각각 최종 1마리가 생존하였다. 이것은 대조구와 대조구된장이 전부 사멸한데 비하여 버섯균사체에 의하여 그 가능성이 첨가되어 생존율을 높인 것으로 생각된다.

Table 54. Effects of TMCDJ on mouse ascites carcinogenesis induced by S-180 cells

Treatment ¹⁾	Mean survival day ²⁾	Survival rate ³⁾	Survival Mouse ⁴⁾
Control	21.8	100	0/10
CODJ 400	24.3	111	0/10
ABDJ 200	27.3	125	0/10
ABDJ ⁵⁾ 400	27.3	125	0/10
GLDJ 200	26.0	119	0/10
GLDJ 400	28.3	130	1/10
PLDJ 200	27.1	124	1/10
PLDJ 400	27.4	126	0/10
PODJ 200	26.4	121	0/10
PODJ 400	29.0	133	1/10

¹⁾ Each treatment was consisted of 10 mice. Each sample containing 200 or 400 $\mu\text{g/g}$ mouse/0.1 ml PBS. Control mice were given S-180 cells and PBS.

²⁾ Average survival days of mouse until 42 days after treatment.

³⁾ Survival rate = [mean survival days of treatment mice/mean survival day of control mice] \times 100.

⁴⁾ Numbers of mouse survived until 42 days after treatment.

⁵⁾ Mushroom strains cultured with meju. AB;*Agaricus blazei*, GL;*Ganoderma lucidum*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

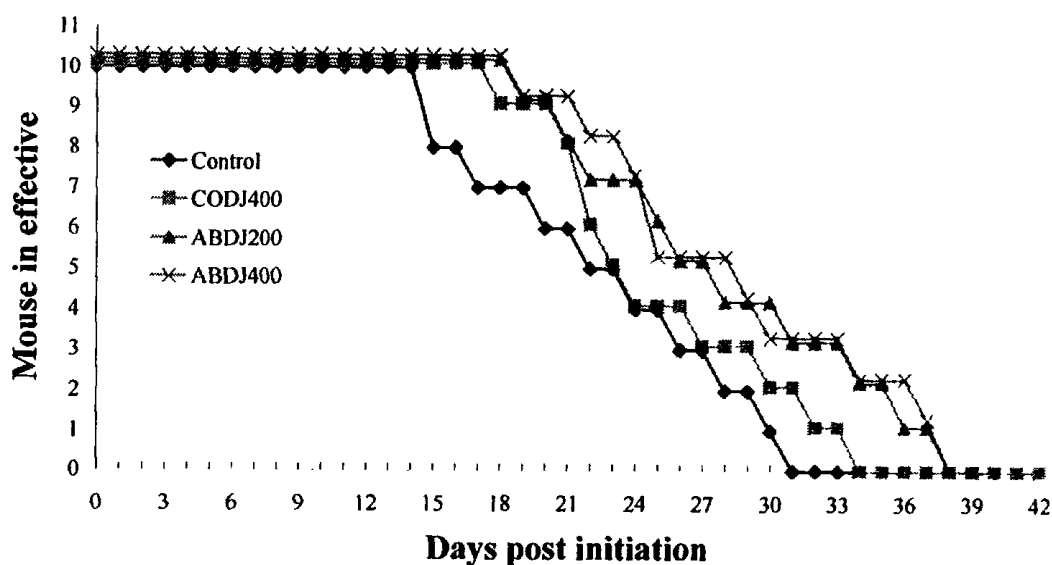


Figure 26. Effect of AB-TMCMJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of AB-TMCMJ (200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days.

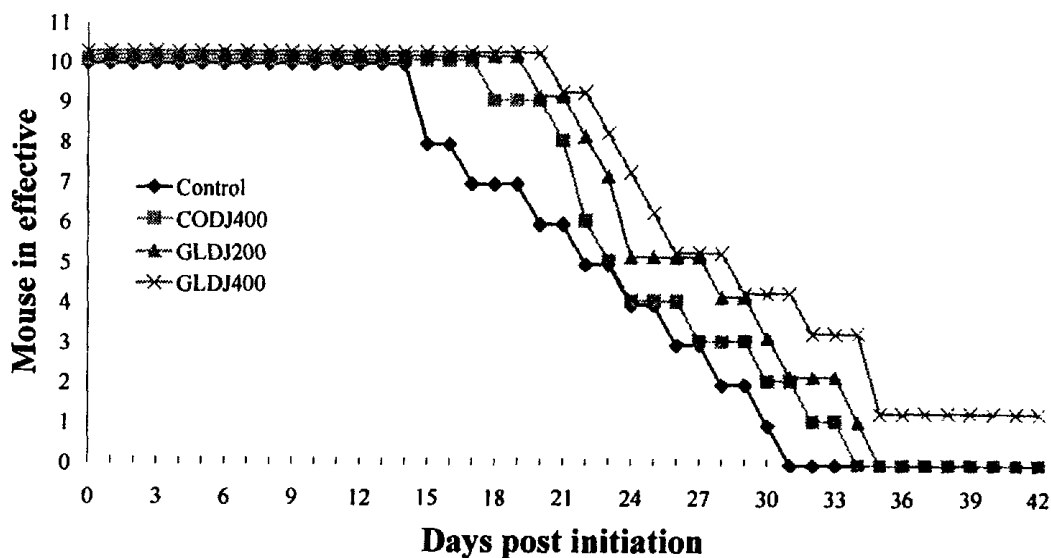


Figure 27. Effect of GL-TMCMJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of GL-TMCMJ (200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days.

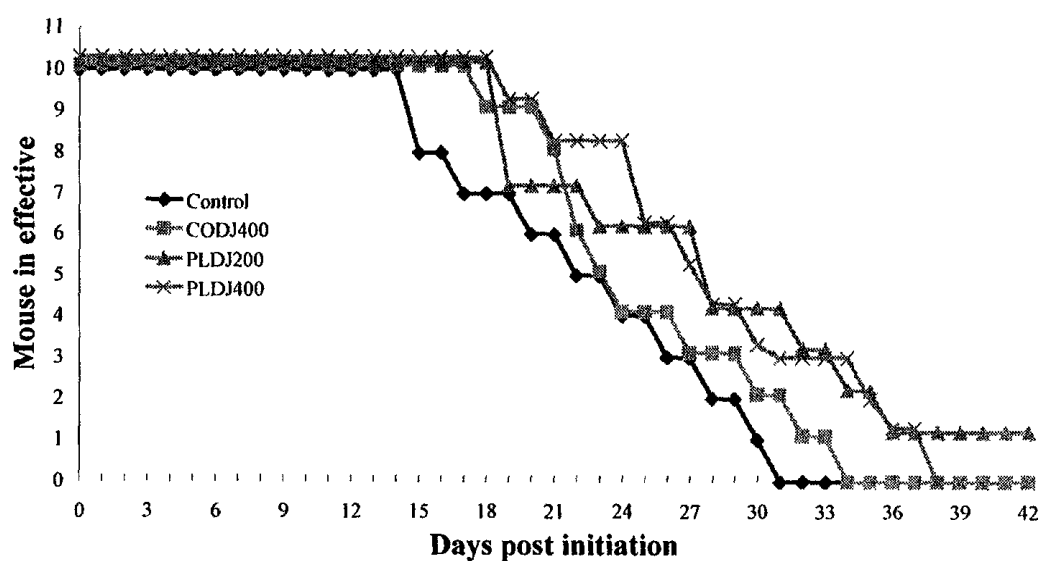


Figure 28. Effect of PL-TMCMJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of PL-TMCMJ (200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days.

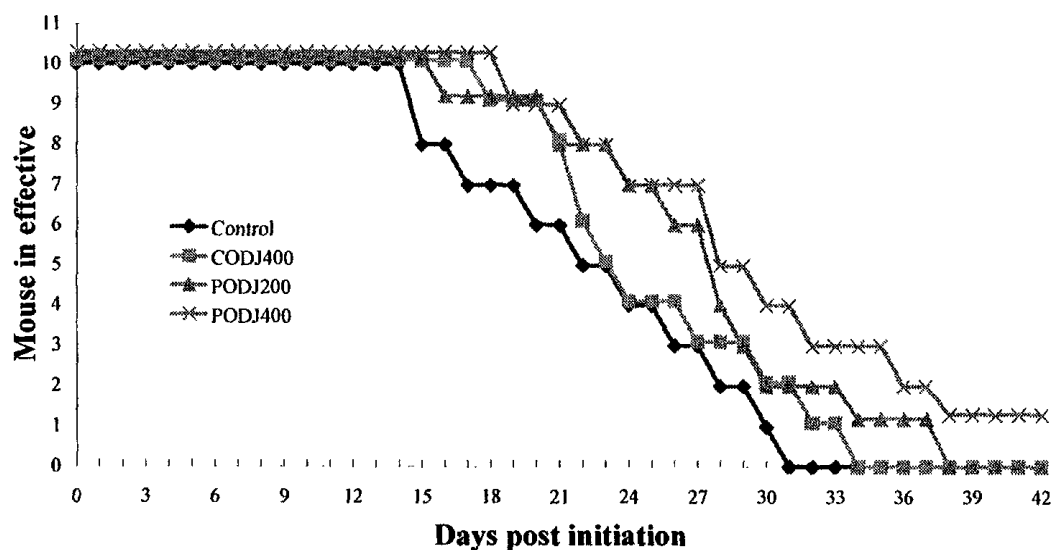


Figure 29. Effect of PO-TMCMJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of PO-TMCMJ (200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days.

나. 간장

Mouse 복수암 세포 S-180 cell을 mouse의 복강에 투여하여 복수암을 유발한 mouse에 대한 버섯균사체간장의 평균 생존일 및 생존율에 미치는 효과를 수행하여 Table 55에 나타내었다. 신령버섯균사체간장을 각각 200, 400 $\mu\text{g/g}$ mouse/0.1 ml PBS의 농도로 제조하여 투여한 처리구의 평균수명은 각각 29.2, 30.6일로 대조구보다 각각 32, 39%의 수명연장효과를 나타내었다. 영지버섯균사체간장 200, 400 μg 처리구에서는 29.3, 30.2일 생존하였으며 대조구보다 각각 33, 37%의 수명연장 효과를 나타내었다. 상황버섯균사체간장 200, 400 μg 처리구에서는 30.3, 30.7일 생존하였으며 대조구보다 각각 38, 40%의 수명연장 효과를 나타내었다. 느타리버섯균사체간장 200, 400 μg 처리구에서는 30.6, 32.2일 생존하였으며 대조구보다 각각 39, 46%의 수명연장 효과를 나타내었다. 이것은 대조구간장의 25.4일 생존과 15%의 수명연장효과보다 우수한 항암효과로 버섯균사체를 처리함으로 인하여 버섯균사체간장의 항암성이 증가되는 것을 확인 시켜 주었다. 네 종류의 버섯균사체간장은 농도가 증가함에 따라서는 유의성이 없는 수명연장효과였고, 전체적으로 32~46%까지의 우수한 수명연장효과가 나타났다. 수명연장효과가 가장 뛰어난 처리구는 느타리버섯균사체간장 400 μg 처리구로 32.2일의 평균수명일에 대조구에 비하여 46% 증가된 수명연장효과를 나타내었다.

신령, 영지, 상황, 느타리버섯균사체간장의 mouse의 생존일을 Figure 30~33에 나타내었다. 버섯균사체 간장의 생존율에 있어서는 느타리버섯균사체간장 400 μg 처리구에서 최종 1마리가 생존하였다. 생존율은 대조구에 비하여 뛰어난 편은 아니지만 생존율이 증가한 것으로 보아 버섯균사체가 메주에 생육하면서 분비한 생리활성물질이 간장 제조 과정에서 간장에 용해되어 간장의 기능성을 향상시킨 것으로 생각되어 진다.

Table 55. Effects of TMCKJ on mouse ascites carcinogenesis induced by S-180 cells

Treatment ¹⁾	Mean survival day ²⁾	Survival rate ³⁾	Survival Mouse ⁴⁾
Control	22.0	100	0/9
COKJ 400	25.4	115	0/9
ABKJ ⁵⁾ 200	29.2	132	0/9
ABKJ 400	30.6	139	0/9
GLKJ 200	29.3	133	0/9
GLKJ 400	30.2	137	0/9
PLKJ 200	30.3	138	0/9
PLKJ 400	30.7	140	0/9
POKJ 200	30.6	139	0/9
POKJ 400	32.2	146	1/9

¹⁾ Each treatment was consisted of 9 mice. Each sample containing 200, 400 $\mu\text{g/g}$ mouse/0.1 ml PBS. Control mice were given S-180 cells and PBS.

²⁾ Average survival days of mouse until 42 days after treatment.

³⁾ Survival rate = [mean survival days of treatment mice/mean survival day of control mice] \times 100.

⁴⁾ Numbers of mouse survived until 42 days after treatment.

⁵⁾ Mushroom strains cultrued with meju. AB;*Agaricus blazei*, GL;*Ganoderma lucidum*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

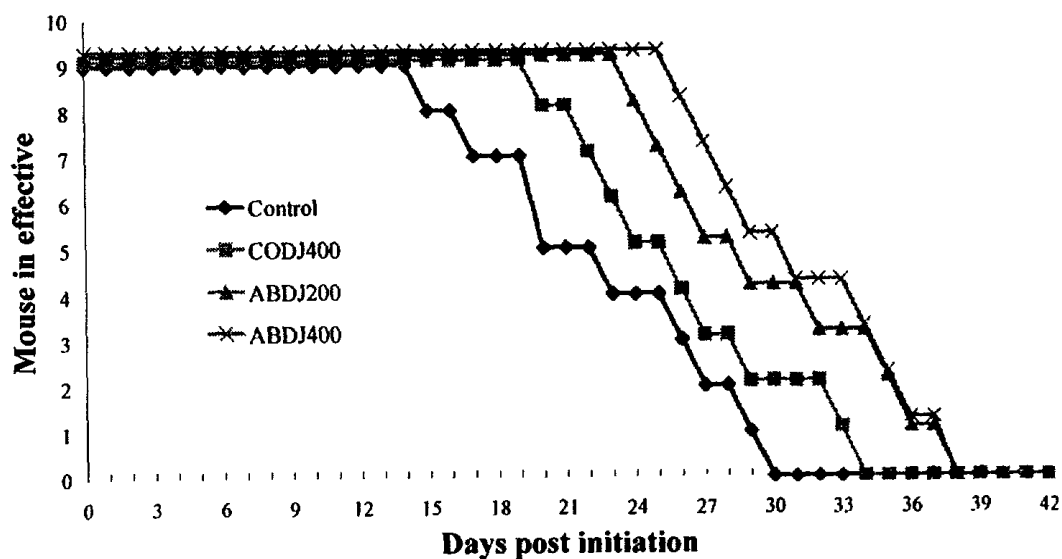


Figure 30. Effect of AB-TMCKJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of AB-TMCKJ (200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days.

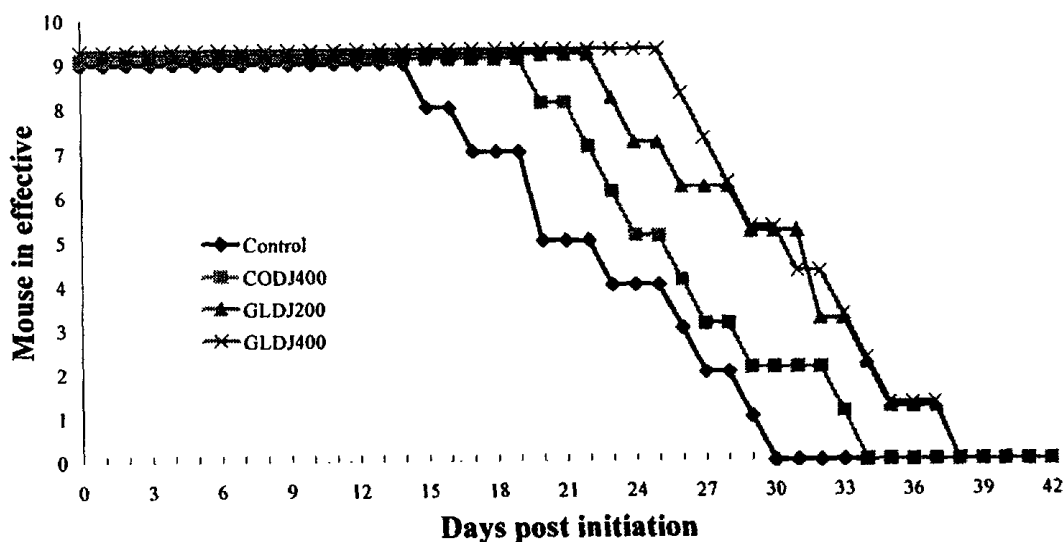


Figure 31. Effect of GL-TMCKJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of GL-TMCKJ (200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days.

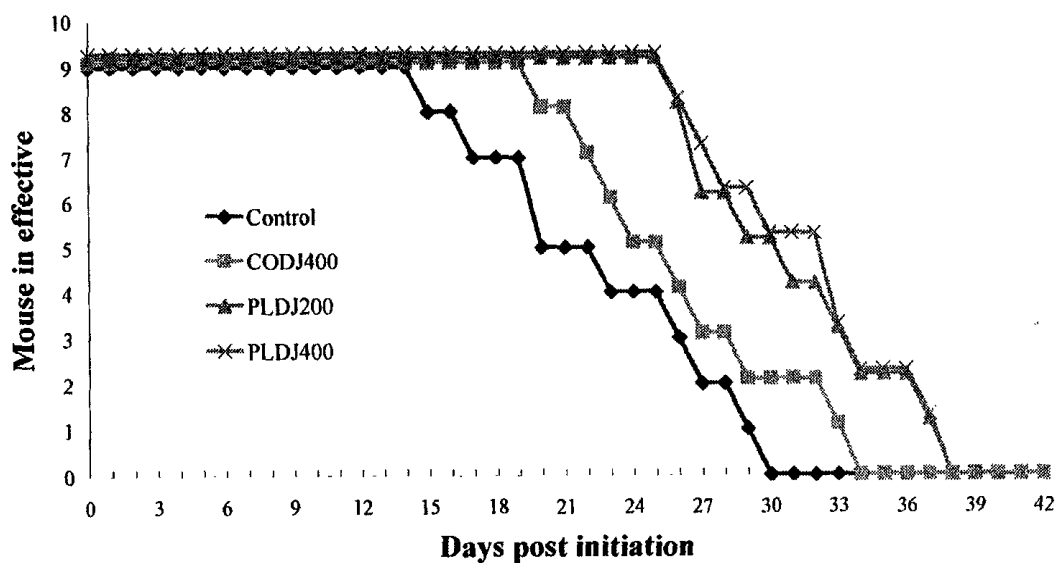


Figure 32. Effect of PL-TMCKJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of PL-TMCKJ (200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days.

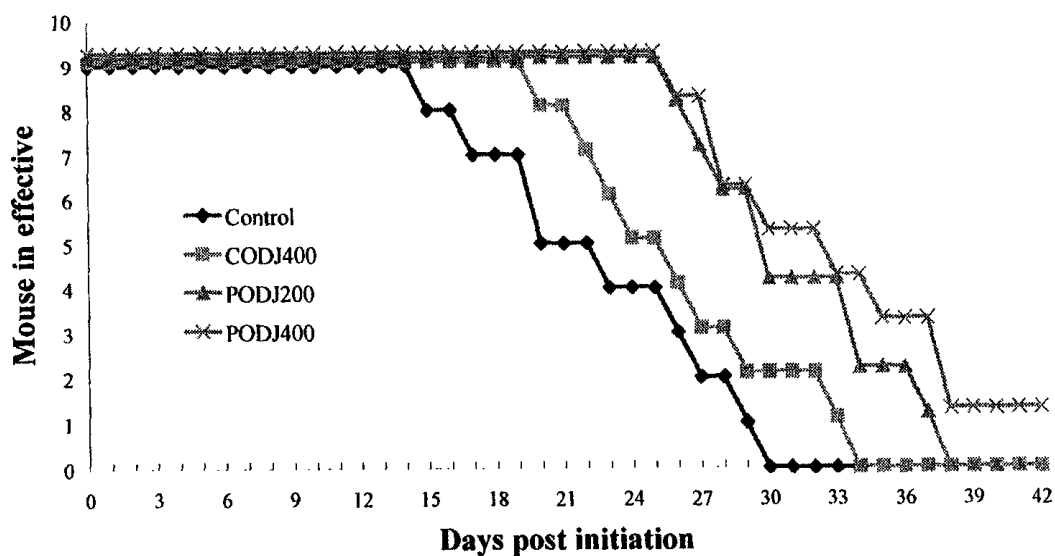


Figure 33. Effect of PO-TMCKJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of PO-TMCKJ (200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days.

4. 결론

S-180 cell에 대한 세포독성 시험에서 버섯균사체된장의 ED₅₀ 값($\mu\text{g}/\text{ml}$)은 상황, 느타리, 신령, 영지버섯균사체된장이 각각 22.0, 24.2, 24.8, 26.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 이것은 대조구된장의 33.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 보다 뛰어난 세포독성 효과였다. 버섯균사체간장의 ED₅₀값은 느타리, 신령, 영지 상황버섯균사체간장이 각각 13.3, 17.3, 19.4, 20.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 이것은 대조구간장의 37.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 보다 뛰어난 세포독성 효과였다.

버섯균사체된장의 수명연장효과는 대조구와 비교하여서 신령버섯균사체된장 200, 400 $\mu\text{g}/\text{g}$ mouse/0.1 ml PBS처리에서 동일하게 평균 27.3일 생존으로 25%, 영지버섯균사체된장은 평균 26.0, 28.3생존으로 19, 30%, 상황버섯균사체된장은 평균수명 27.1, 27.4일 생존으로 24, 26%, 느타리버섯균사체된장은 평균 26.4, 29.0일 생존으로 21, 33%의 수명연장 효과를 나타내었다. 이것은 대조구된장 400 μg 처리의 24.3일 생존의 11%의 수명연장효과보다 우수한 항암효과였다. 버섯균사체간장의 수명연장효과는 대조구와 비교하여 신령버섯균사체간장 200, 400 $\mu\text{g}/\text{g}$ mouse/0.1 ml PBS처리에서 평균 29.2, 30.6일 생존으로 32, 39%, 영지버섯균사체간장은 평균 29.3, 30.2일 생존으로 33, 37%, 상황버섯균사체간장은 평균 30.3, 30.7일 생존으로 38, 40%, 느타리버섯균사체간장은 평균 30.6, 32.2일 생존으로 39, 46%의 수명연장 효과를 나타내었다. 이것은 대조구간장의 25.4일 생존과 15%의 수명연장효과 보다 우수한 항암효과였다.

제 4 절 면역증강성

1. 실험방법

Female ICR mouse (6~7주령, 4 mice/cage/group)에서 mouse용 pellet 사료로 1주일 동안 예비 사육하여 체중이 25 ± 1 g인 것을 실험에 사용하였다. 물과 사료는 자유로이 제공하고, 조명은 12시간 간격의 light-and-dark cycle을 유지하여 자연조명에 가깝게 하며, 사육실의 온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 50%로 조절하여 사육하였다. 시료는 버섯균사체 된장과 간장을 acetone:methanol (1:1, v/v) 혼합액으로 추출하여 용매를 날려버린 것을 각각 200, 400 $\mu\text{g/g}$ body weight/0.1 ml PBS농도로 조제하여 10일간 매일 경구를 통하여 강제 투여하였다. 마지막 시료 처리 다음 날 각 mouse의 무게를 달고 lipopolysaccharide (LPS 1 mg/kg in sterile HEPES)를 mouse의 꼬리 정맥을 통하여 주사 하였다. LPS 주사한 직후 신속히 mouse의 몸무게를 조사하였다. 그리고 3, 8, 24, 48, 72 시간 경과 후 각각 mouse의 몸무게를 조사하였고, 동시에 사료 섭취량도 3, 8, 24, 48, 72 시간에 조사하였다. 또한 LPS를 처리 72시간 후 mouse의 무게를 마지막으로 측정하였다.

2. 된장의 catabolic response overcome 효과

가. 신령버섯균사체된장

실험동물 모두에게서 LPS의 작용에 의하여 mouse의 몸무게의 감소되었다. 시료를 처리하지 않고 PBS만 처리한 대조구는 LPS 처리 후 시간이 경과함에 따라 급격한 체중의 감소를 야기하였다. LPS 처리 24시간 후에는 LPS처리 전보다 3.51 g의 체중감소를 보이다가 48시간이 경과하면서 서서히 몸무게가 회복되어 몸무게가 증가하기 시작하였다 (Figure 34). 대조구된장과 신령버섯균사체된장에서 시간이 지나감에 따라 몸무게의 감소가 일어났으나 LPS만을 처리한 처리구보다는 그 체중감소의 정도가 적었다. 몸무게의 감소가 현저한 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도는 농도가

증가함에 따라 -3.35 g/CODJ400 , -3.21 g/ABDJ200 , -3.04 g/ABDJ400 로 체중의 감소가 적어짐을 알 수 있었다. 신령버섯균사체된장 $200 \mu\text{g}$ 처리구에서 72시간째에는 대조구된장 $400 \mu\text{g}$ 처리보다 낮은 체중회복 효과를 나타내었다. 하지만 대체적으로 신령버섯균사체된장이 LPS처리에 의한 체중감소현상을 낮추어 주는 효과가 탁월하게 나타났다. 이것은 신령버섯균사체가 첨가되어 매주에 활착하고 그 매주가 된장으로 발효되는 동안 신령버섯이 분비하는 대사산물 또는 생리활성물질이 LPS의 처리에 의한 급격한 체중 감소를 감소시켜 주는 것으로 생각된다. 신령버섯균사체된장의 농도가 증가함에 따라 또한 대조구된장보다 몸무게의 감소 정도가 적은 것으로 보아 LPS의 처리에 의한 급격한 체중 감소를 줄이는 것은 신령버섯균사체된장 급여에 의한 면역성임을 확인할 수 있었다.

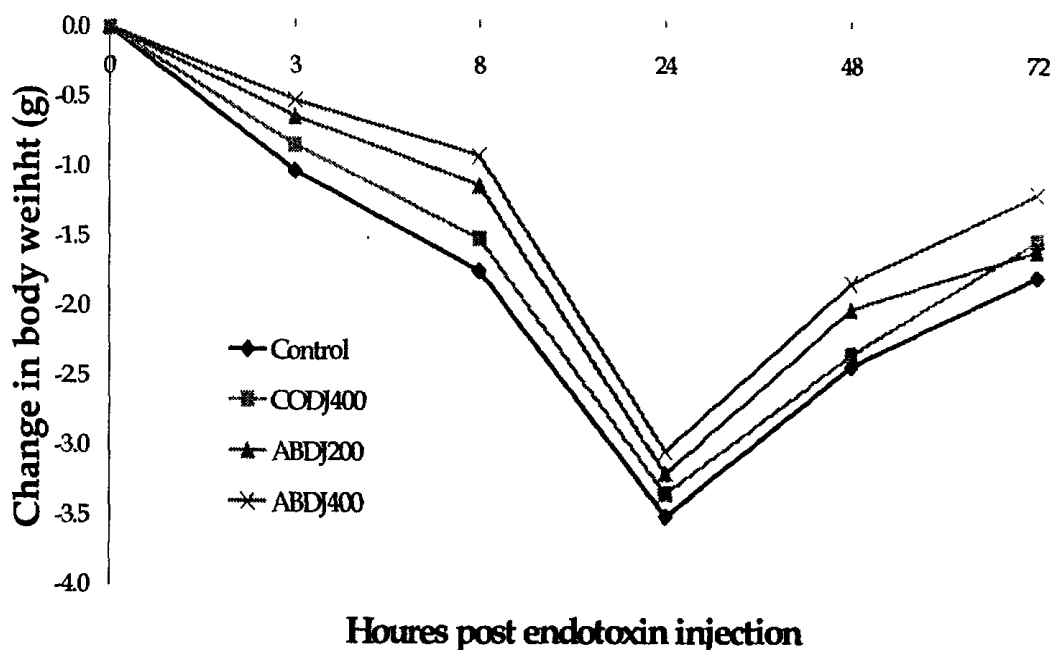


Figure 34. Effect of the AB-TMCDJ extract on body weight of mouse injected with LPS.

나. 영지버섯균사체된장

시료를 처리하지 않고 PBS만 처리한 대조구는 LPS 처리 후 시간이 경과함에 따라 급격한 체중의 감소를 야기하였다. LPS 처리 24시간 후에는 LPS처리 전보다 3.51 g의 체중감소를 보이다가 48시간이 경과하면서 서서히 몸무게가 회복되어 몸무게가 증가하기 시작하였다 (Figure 35). 대조구된장과 영지버섯균사체된장에서도 시간이 지나감에 따라 몸무게의 감소가 일어났으나, LPS만을 처리한 처리구보다는 그 체중감소의 정도가 적었다. 몸무게의 감소가 현저한 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도는 농도가 증가함에 따라 -3.35 g/CODJ400, -3.11 g/GLDJ200, -3.04 g/GLDJ400으로 체중의 감소가 적어짐을 알 수 있었다. 대체적으로 영지버섯균사체된장이 LPS처리에 의한 체중감소현상을 낮추어 주는 효과가 탁월하게 나타났다. 이것은 영지버섯균사체가 첨가되어 매주에 활착하고 그 매주가 된장으로 발효되는 동안 영지버섯이 분비하는 대사산물 또는 생리활성물질이 LPS의 처리에 의한 급격한 체중감소를 감소시켜 주는 것으로 생각되어 진다. 영지버섯균사체된장의 농도가 증가함에 따라 또한 대조구된장보다 몸무게의 감소 정도가 적은 것으로 보아 LPS의 처리에 의한 급격한 체중 감소를 줄이는 것은 영지버섯균사체된장 급여에 의한 면역성임을 확인 할 수 있었다.

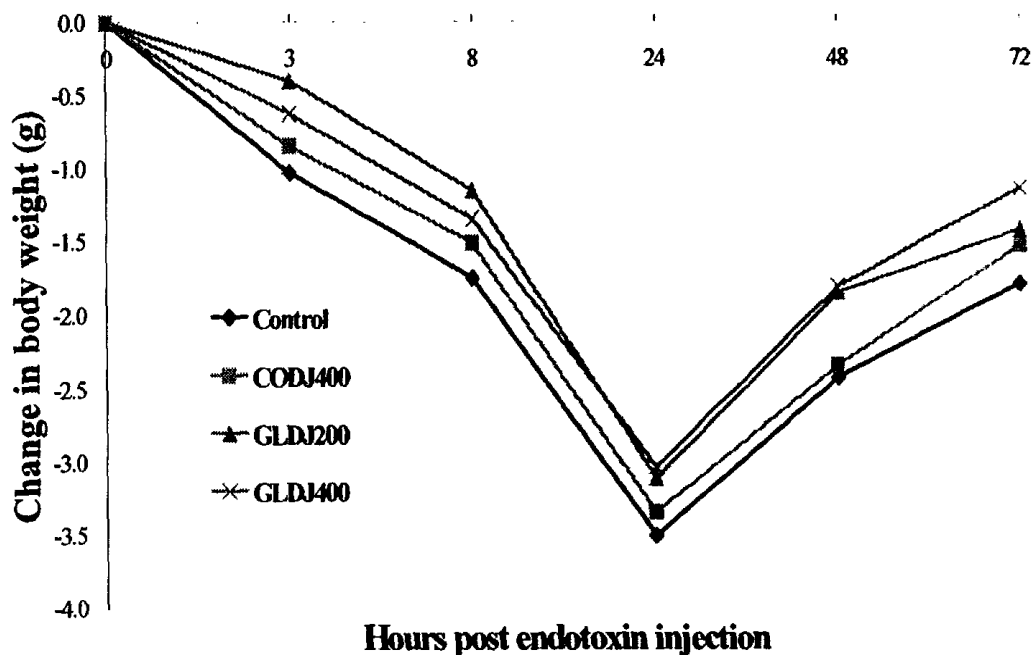


Figure 35. Effect of the GL-TMCDJ extract on body weight of mouse injected with LPS.

다. 상황버섯균사체된장

시료를 처리하지 않고 PBS만 처리한 대조구는 LPS 처리 후 시간이 경과함에 따라 급격한 체중의 감소를 야기하였다. LPS 처리 24시간 후에는 LPS처리 전보다 3.51 g의 체중감소를 보이다가 48시간이 경과하면서 서서히 몸무게가 회복되어 몸무게가 증가하기 시작하였다 (Figure 36). 대조구 된장과 상황버섯균사체 된장 처리구에서 시간이 지나감에 따라 몸무게의 감소가 일어났으나 LPS 처리구 보다는 그 체중감소의 정도가 적었다. 몸무게의 감소가 현저한 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도는 농도가 증가함에 따라 -3.35 g/CODJ400, -3.08 g/PLDJ200, -2.98 g/PLDJ400로 체중의 감소가 적어짐을 알 수 있었다. 대체적으로 상황버섯균사체된장이 LPS 처리에 의한 체중감소현상을 낮추어 주는 효과가 탁월하게 나타났다. 특히 상황버섯균사체된장 400 μ g 처리구에서는 다른 처리구보다 3시간과 8시간대에서 체중이 저하되는 현상이 현격하게 줄어드는 효과를 나타내었다.

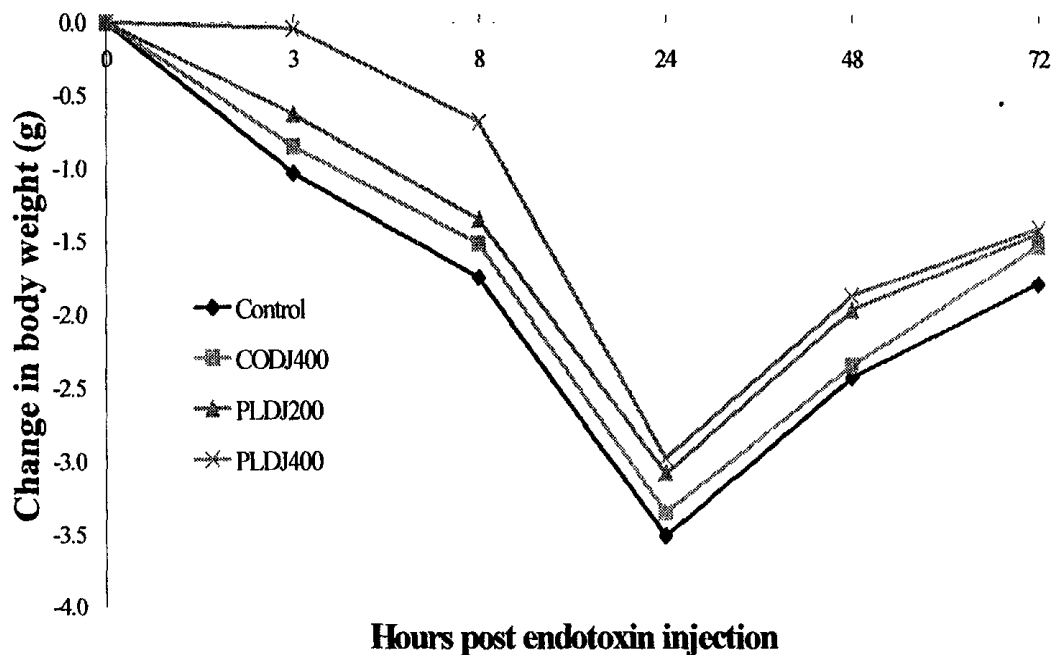


Figure 36. Effect of the PL-TMCDJ extract on body weight of mouse injected with LPS.

라. 느타리버섯균사체된장

시료를 처리하지 않고 PBS만 처리한 대조구는 LPS 처리 후 시간이 경과함에 따라 급격한 체중의 감소를 야기하였다. LPS 처리 24시간 후에는 LPS처리 전보다 3.51 g의 체중감소를 보이다가 48시간이 경과하면서 서서히 몸무게가 회복되어 몸무게가 증가하기 시작하였다 (Figure 37). 대조구된장과 느타리버섯균사체된장에서 시간이 지나감에 따라 몸무게의 감소가 일어났으나 LPS만을 처리한 처리구 보다는 그 체중감소의 정도가 적었다. 몸무게의 감소가 현저한 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도는 농도가 증가함에 따라 -3.35 g/CODJ400, -3.14 g/PODJ200, -3.15 g/PODJ400로 체중의 감소가 적어짐을 알 수 있었다. 대체적으로 느타리버섯균사체된장이 LPS처리에 의한 체중감소현상을 낮추어 주는 효과가 탁월하게 나타났다. 그러나 시간대에 따라 느타리버섯균사체된장 200, 400 μ g 처리구가 서로 엇갈리는 효과를 나타내기도 하였다. LPS 처리 8시간 후에는 3시간 경과 보다 200 μ g 처리구가 체중

감소가 더 낮았다. 또한 24시간 경과시에는 두 처리간에 별 차이가 나지 않다가 48시간 경과 후에 다시 400 μ g 처리구가 체중 회복속도가 더욱 뛰어났다. 그러나 다시 72시간이 경과되면서 느타리버섯균사체된장 200 μ g 처리구가 체중회복이 더욱 빨라졌다.

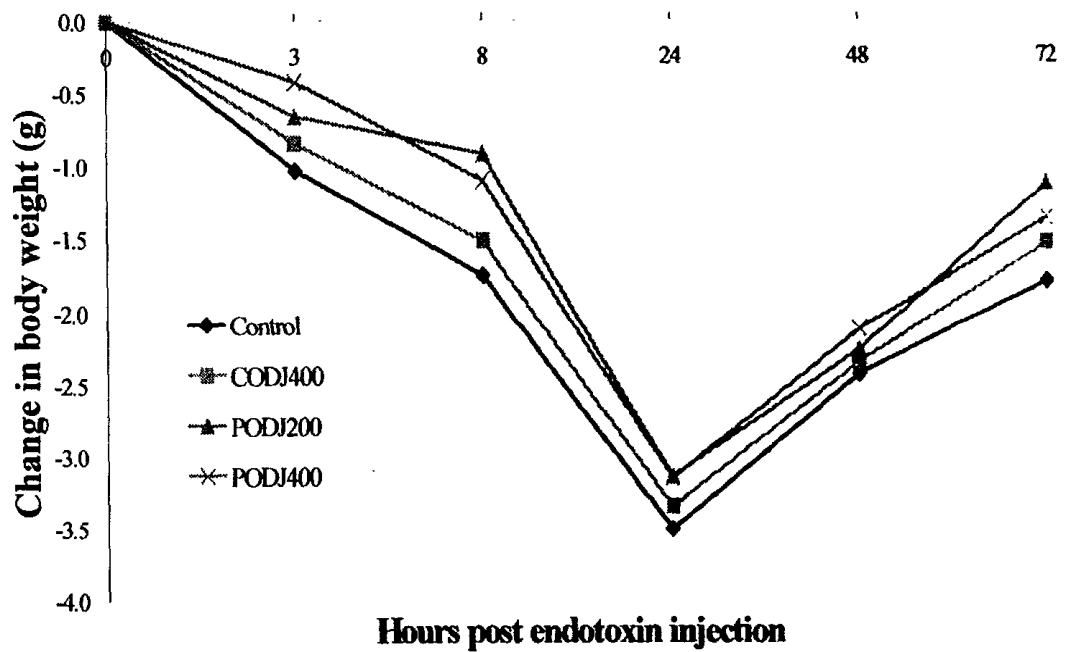


Figure 37. Effect of the PO-TMCDJ extract on body weight of mouse injected with LPS.

3. 간장의 catabolic response overcome 효과

가. 신령버섯균사체간장

시료를 처리하지 않고 PBS만 처리한 대조구는 LPS 처리 후 시간이 경과함에 따라 급격한 체중의 감소를 야기하였다. LPS처리 24시간 후에는 LPS 처리전보다 3.51 g의 체중감소를 보이다가 48시간이 경과하면서 서서히 몸무게가 회복되어 몸무게가 증가하기 시작하였다 (Figure 38). 대조구간장과 신령버섯균사체간장에서 시간이 지나감에 따라 몸무게의 감소가 일어났으나 LPS만을 처리한 처리구 보다는 그 체중감소의 정도가 적었다. 몸무게의 감소가 현저한 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도는 -3.23 g/COKJ400, -2.96 g/ABKJ200, -3.16 g/ABKJ400로 나타났다. 대체적으로 신령버섯균사체간장이 LPS처리에 의한 체중감소현상을 낮추어 주는 효과가 탁월하게 나타났다. 이러한 효과는 대조구간장과 LPS만 처리한 대조구보다 높은 체중저하 조절효과를 보였다.

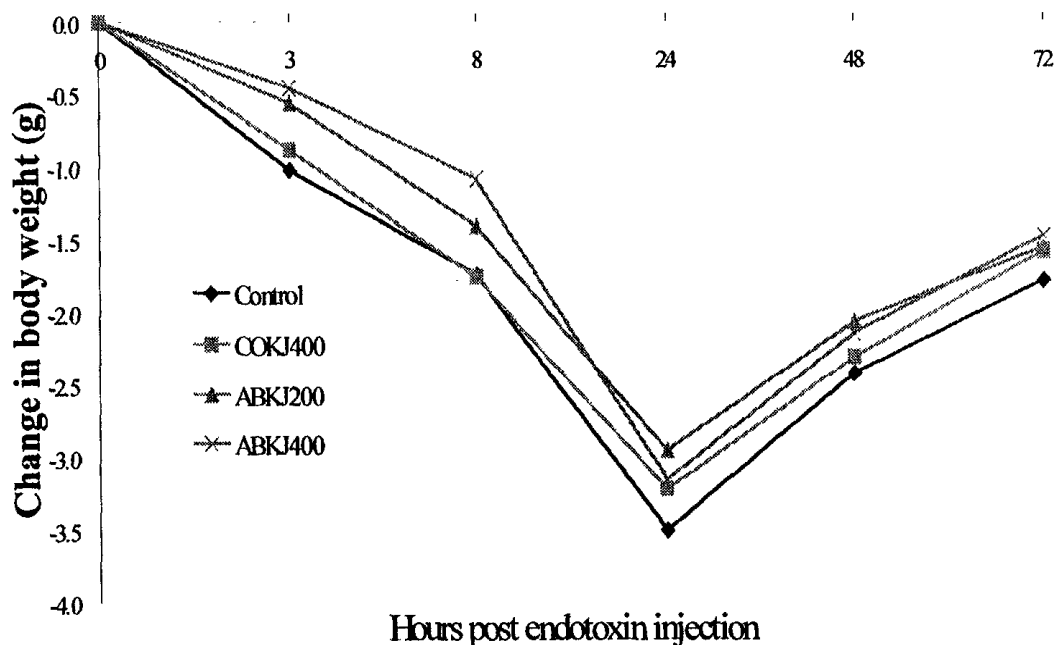


Figure 38. Effect of the AB--TMCKJ extract on body weight of mouse injected with LPS.

나. 영지버섯균사체간장

시료를 처리하지 않고 PBS만 처리한 대조구는 LPS 처리 후 시간이 경과함에 따라 급격한 체중의 감소를 야기하였다. LPS 처리 24시간 후에는 LPS 처리전보다 3.51 g의 체중감소를 보이다가 48시간이 경과하면서 서서히 몸무게가 회복되어 몸무게가 증가하기 시작하였다 (Figure 39). 대조구간장과 영지버섯균사체간장에서 시간이 지나감에 따라 몸무게의 감소가 일어났으나 LPS만을 처리한 처리구보다는 그 체중감소의 정도가 적었다. 몸무게의 감소가 현저한 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도는 -3.23 g/COKJ400, -2.79 g/GLKJ200, -2.68 g/GLKJ400으로 나타났다. 영지버섯균사체간장은 농도의 변화에 따라 LPS처리에 의한 체중감소현상을 낮추어 주는 효과가 탁월하게 나타났다. 영지버섯균사체간장 200 μ g 처리구의 몸무게 감소량이 대조구와 대조구간장과 같이 급속하게 체중이 떨어지는 현상과는 달리 400 μ g 처리구에서는 보다 완만한 체중저하 현상을 나타내었다.

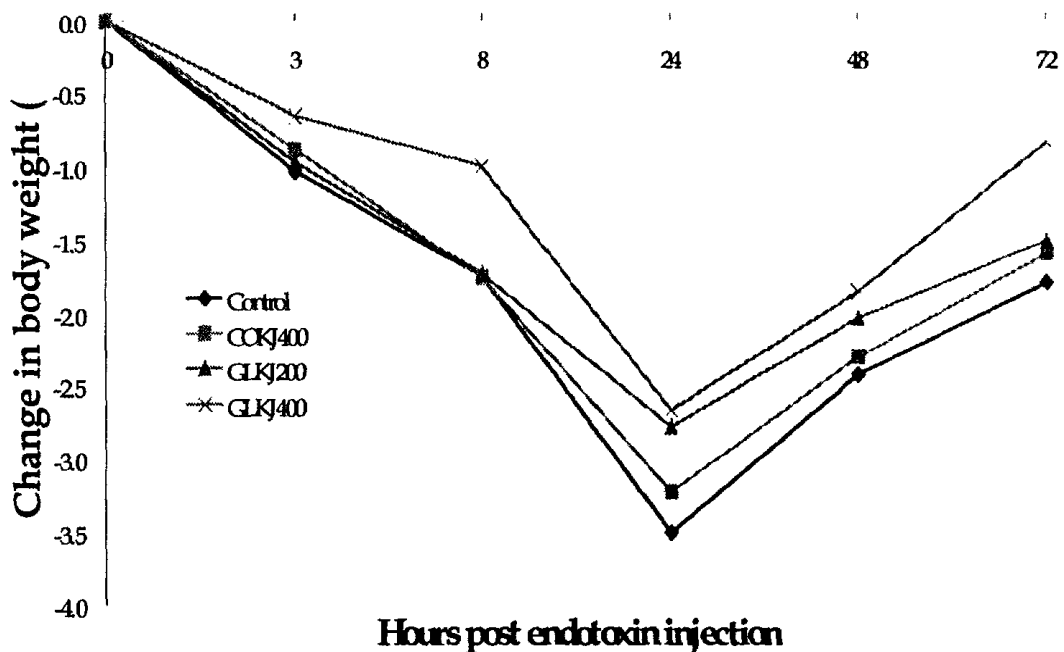


Figure 39. Effect of the GL-TMCKJ extract on body weight of mouse injected with LPS.

다. 상황버섯균사체간장

시료를 처리하지 않고 PBS만 처리한 대조구는 LPS 처리 후 시간이 경과함에 따라 급격한 체중의 감소를 야기하였다. LPS 처리 24시간 후에는 LPS 처리전보다 3.51 g의 체중감소를 보이다가 48시간이 경과하면서 서서히 몸무게가 회복되어 몸무게가 증가하기 시작하였다 (Figure 40). 대조구간장과 상황버섯균사체간장에서 시간이 지나감에 따라 몸무게의 감소가 일어났으나 LPS만을 처리한 처리구보다는 그 체중감소의 정도가 적었다. 몸무게의 감소가 현저한 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도는 -3.23 g/COKJ400, -2.93 g/PLKJ200, -2.73 g/PLKJ400로 나타났다. LPS를 처리한 후 3시간과 8시간이 경과하였을 경우에는 상황버섯균사체간장 200 μ g 처리구가 400 μ g 처리구보다 체중저하 효과가 지연되었으나 24시간이 경과하면서 400 μ g 처리구가 높은 체중저하 조절 현상을 나타내었다.

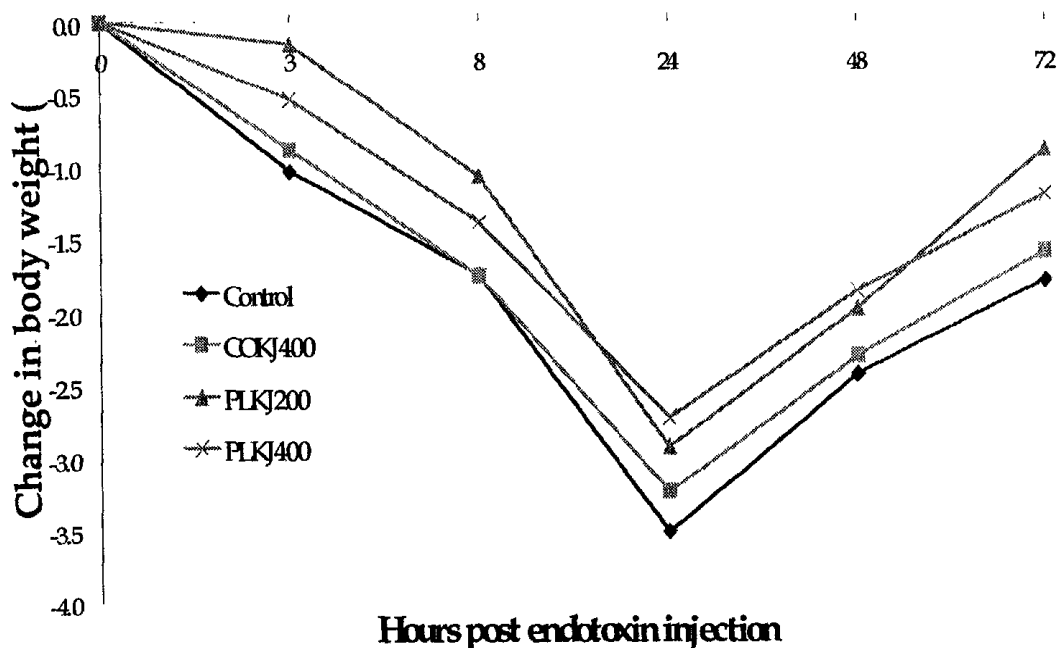


Figure 40. Effect of the PL-TMCKJ extract on body weight of mouse injected with LPS.

라. 느타리버섯균사체간장

시료를 처리하지 않고 PBS만 처리한 대조구는 LPS 처리 후 시간이 경과함에 따라 급격한 체중의 감소를 야기하였다. LPS 처리 24시간 후에는 LPS 처리전보다 3.51 g의 체중감소를 보이다가 48시간이 경과하면서 서서히 몸무게가 회복되어 몸무게가 증가하기 시작하였다 (Figure 41). 대조구간장과 느타리버섯균사체간장에서 시간이 지나감에 따라 몸무게의 감소가 일어났으나 LPS만을 처리한 처리구보다는 그 체중감소의 정도가 적었다. 몸무게의 감소가 현저한 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도는 -3.23 g/COKJ400, -2.93 g/POKJ200, -2.73 g/POKJ400로 나타났다. LPS를 처리한 3시간 후에 400 μ g 처리구에서 다소 완만한 체중감소를 보였다. 8시간이 경과하면서 200 μ g 처리구에서는 비슷한 체중감소 효과를 보이다가 48시간이 경과하면서는 200 μ g 처리구보다 낮은 회복 효과를 나타내었으나 76시간이 경과하면서는 체중이 정상적으로 회복되었다.

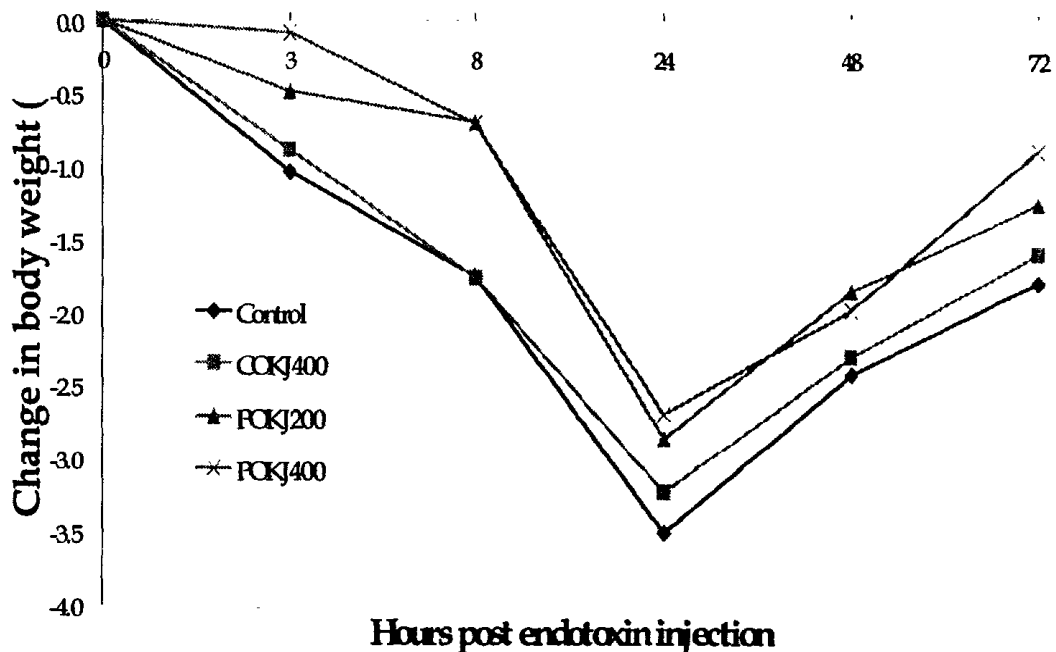


Figure 41. Effect of the PO-TMCKJ extract on body weight of mouse injected with LPS.

4. 결론

몸무게의 감소가 현저한 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도는
신령버섯균사체된장은 -3.21 g/ABDJ200, -3.04 g/ABDJ400,
영지버섯균사체된장은 -3.11 g/GLDJ200, -3.04 g/GLDJ400,
상황버섯균사체된장은 -3.08 g/PLDJ200, -2.98 g/PLDJ400,
느타리버섯균사체된장은 -3.14 g/PODJ200, -3.15 g/PODJ400으로 농도가
증가할수록 감소폭이 적었다. 이것은 대조구된장 -3.35 g/CODJ400과 대조구
-3.51 g/control 보다 높은 체중감소 저해효과였다. 버섯균사체간장에서는
신령버섯균사체간장 -2.96 g/ABKJ200, -3.16 g/ABKJ400, 영지버섯균사체간장
-2.79 g/GLKJ200, -2.68 g/GLKJ400, 상황버섯균사체간장 -2.93 g/PLKJ200,
-2.73 g/PLKJ400, 느타리버섯균사체간장 -2.93 g/POKJ200, -2.73
g/POKJ400으로 농도가 증가할수록 감소폭이 적었다. 이것은 대조구간장 -3.23
g/COKJ400과 대조구 -3.51 g/control 보다 높은 체중감소 저해효과였다.

제 5 절 항산화성

1. 동물실험

Female ICR mouse (6~7주령)를 polycarbonate cage에 cage당 평균 몸무게가 동일하게 임의적으로 5 mice/cage씩 넣었다. 온도와 습도가 조절되는 시설에 물과 사료를 자유롭게 먹도록 하면서 1주간 사육시키면서 적응시켰다. 시료의 조제는 대조구 된장·간장 추출물 100 mg/0.2 ml PBS, 버섯균사체 된장·간장을 50, 100 mg/0.2 ml PBS, BHT 5 mg/0.2 ml PBS 농도로 조절하여 조제된 시료 0.2 ml씩을 10일 동안 mouse의 경구를 통하여 급여하였다. 대조구는 phosphate buffered saline (PBS)만을 경구 급여하였다. 처음으로 시료를 처리한 2주 후에 mouse를 sacrifice하여 간을 채취하고 microsome을 분리하였다.

2. Mouse liver microsome 분리

Mouse를 sacrifice하기 12시간 전에 물을 제외한 먹이 공급을 중단하였다. 목부위를 눌러 빠르게 sacrifice 시킨 후 조심스럽게 mouse의 간을 잘라내고 PBS로 피가 제거될 때까지 계속 세척하였다. 피가 제거된 mouse간의 무게를 달고 나서 0.25 M sucrose + 10 mM Tris-HCl + 1 mM EDTA 혼합액에 mouse의 간 무게 1 g당 혼합액 3 ml씩 되게 섞은 다음 homogenizer로 mouse의 간을 완전히 마쇄 시키고 10,000×g로 30분간 원심분리 시켰다. 최상층에 있는 지방층을 조심스럽게 제거하고 나서 바로 밑의 상층액을 천천히 ultracentrifuge tube에 옮겨 담고 ultracentrifuge로 105,000×g 에서 60분간 원심분리 시켰다. 원심분리된 상층액은 버리고 50 mM Tris-HCl (pH 7.4)로 원심분리용액을 씻고 나서 50 mM Tris-HCl로 침전물을 재현탁시키고 다시 105,000×g로 60분간 2회에 걸쳐 반복 원심분리 시켰다. 원심분리된 상층액은 버리고 침전된 microsome을 10 mg/ml 50 mM Tris-HCl로 희석하였다 희석된 microsome 현탁액을 1 ml씩 E-tube에 담고 액체질소로 급냉 후에 -70℃ 냉동고에 보관하였다.

3. 항산화성 실험

산화물로는 Ferrous ammonium sulfate (Fe^{++}) 1 μM , NADPH : 0.2 mM, Ascorbate-Na(Asc-Na) 0.5 mM, 2,2'-Azobis[isobutyronitrile] (AAIN) 40 mM, Cumene hydroperoxide (CuOOH) 0.1 mM을 사용하였다.

10 mg/ml Tris-HCl (pH 7.4)로 희석된 microsome을 ice bath 위에서 천천히 녹인 후 8 ml test tube에 조심스럽게 옮겨 담았다. Microsome 1 ml에 Asc-Na/ Fe^{++} 0.5 ml, NADPH/ Fe^{++} 0.5 ml, AAIN 0.5 ml, CuOOH 0.5 ml을 혼합하여 37°C에서 15분간 산화시켰다. Control은 microsome 1 ml과 Tris-HCl (pH 7.4)액 0.5 ml만을 사용하였다. 반응의 종결은 ice bath에 test tube을 옮겨 담음으로써 반응을 종결 시켰다. 반응의 종결 후 곧 바로 TBA test를 실시하였다.

Microsome의 산화반응물 0.5 ml를 함유한 screw-capped test tube에 1% phosphoric acid (3 ml)와 0.6% 2-thiobarbituric acid (TBA) 용액 (1 ml)을 첨가하고 vortex로 10초간 2회 현탁 시킨 후 boiling water bath에서 45분간 반응시킨 다음 실온으로 냉각시켰다. 냉각 시킨 후 n-butanol (4 ml)을 첨가하여 10초간 강하게 흔들어 추출한 후 원심분리 (2,000 rpm, 10분) 하였다. Butanol층을 531 nm의 흡광도에서 측정하여 표준곡선으로부터 TBA 값을 측정하였다.

표준곡선은 1,1,3,3,-tetramethoxypropane {malonaldehyde bis[dimethyl acetal], MA}를 2, 4, 6, 8, 10 nmol 농도로 조제하여 ice bath 상에서 screw-capped test tube에 취하여 시료와 동일한 조건으로 수행하여 표준곡선을 그렸다. 이때 blank는 증류수를 0.5 ml 사용하였다.

4. 된장 · 간장의 항산화 효과

가. 된장의 항산화성

버섯균사체를 처리한 메주를 이용하여 제조한 버섯균사체된장을 mouse에 경구투여하고 얻은 microsome에 산화유도물질 Asc-Na/Fe⁺⁺, NADPH/Fe⁺⁺, AAIN, CuOOH를 처리하여 그 산화가 억제되는 효과를 관찰하였다 (Figure 42~45). PBS만 처리한 대조구와 항산화물질로 알려진 BHT를 동일하게 처리하여 산화 억제 효과를 확인하였다.

신령버섯균사체된장 처리구는 농도 (50, 100 mg)가 증가할수록 대조구에 비해 MA의 생성이 억제되었다 (Figure 42). 그러나 CuOOH 처리구에는 50 mg처리구에서 대조구된장보다 낮은 항산화성을 나타내었다. 그러나 전체적으로는 대조구와 대조구된장보다 높은 산화억제효과를 나타냈지만 BHT 처리구보다는 낮은 항산화성을 나타내었다. 상대적으로 항산화성이 우수하였으나, Asc/Fe와 NADP/Fe 처리구에서 대체적으로 높은 항산화성을 나타내었다. 그러나 ABIN이나 CuOOH는 산화를 억제시키는 작용이 다소 약하게 나타났다.

전처리구에서 영지버섯균사체된장 50 mg 처리구가 대조구된장 100 mg보다 낮은 산화억제 효과를 나타내었다. 그러나 100 mg 처리구에서는 대체적으로 높은 항산화성을 나타내었고, 농도 (50, 100 mg)가 증가함으로써 그 항산화성도 뛰어났다 (Figure 43). 상황버섯균사체된장 (Figure 44), 느타리버섯균사체된장 (Figure 45)을 포함하는 모든 된장 처리구에서 그 농도가 증가함으로써 항산화성은 증가하였다. 그러나 BHT보다는 낮은 산화억제효과를 나타내었다.

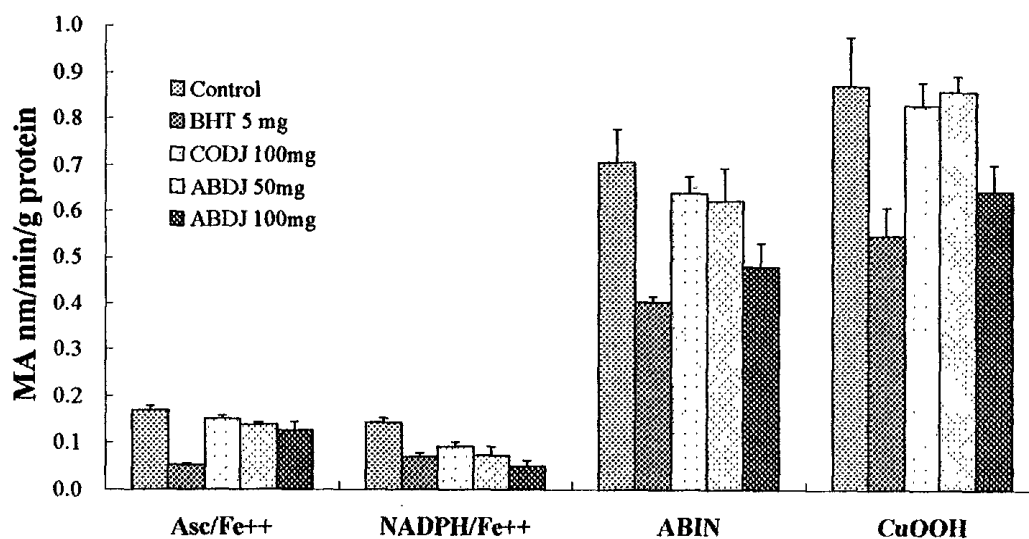


Figure 42. Formation of malonaldehyde from the mouse liver microsomes treated with various concentration of AB-TMCDJ extract.

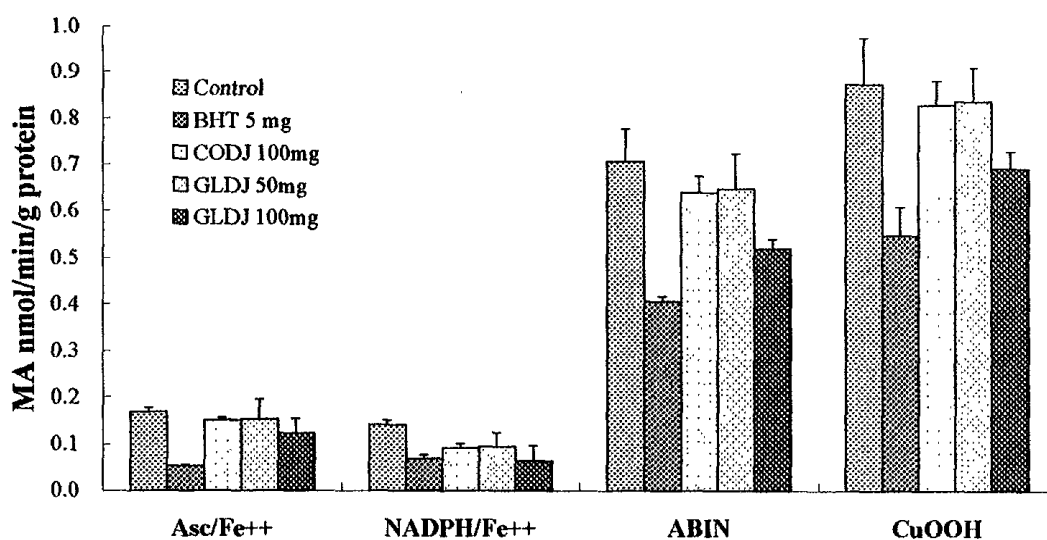


Figure 43. Formation of malonaldehyde from the mouse liver microsomes treated with various concentration of GL-TMCDJ extract.

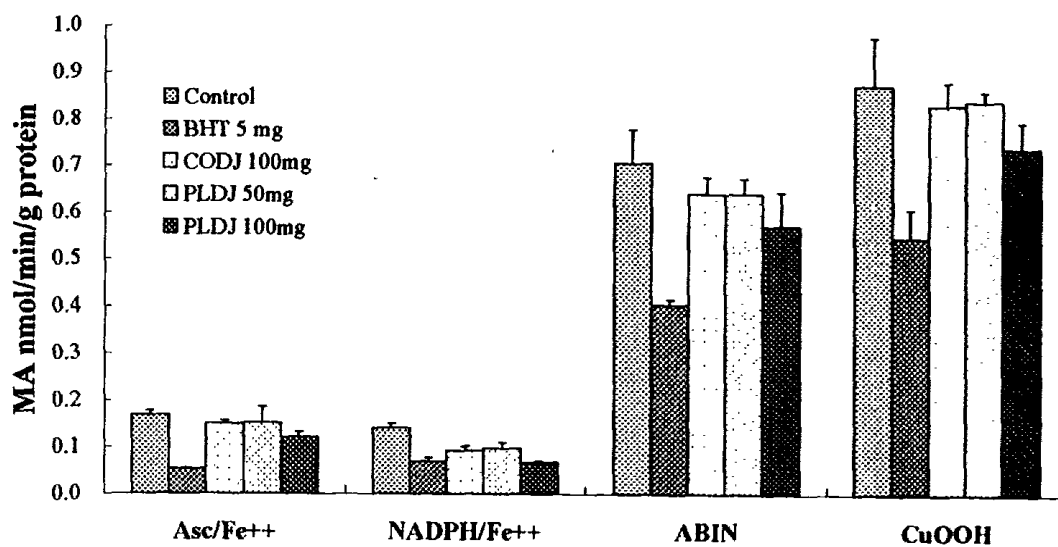


Figure 44. Formation of malonaldehyde from the mouse liver microsomes treated with various concentration of PL-TMCDJ extract.

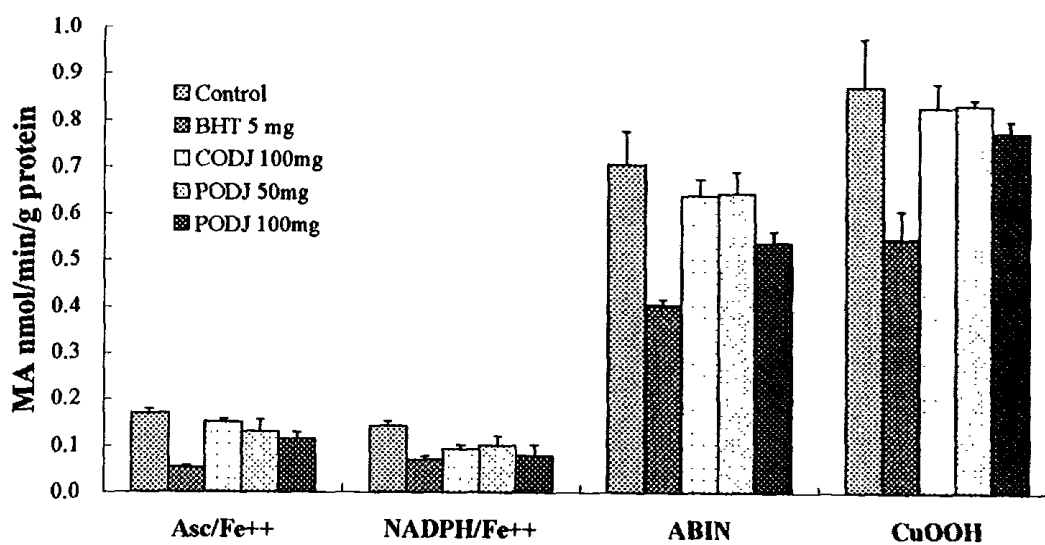


Figure 45. Formation of malonaldehyde from the mouse liver microsomes treated with various concentration of PO-TMCDJ extract.

나. 간장의 항산화성

버섯균사체를 처리한 매주를 이용하여 제조한 버섯균사체간장을 mouse에 경구투여하고 얻은 microsome에 산화유도물질 Asc-Na/Fe, NADPH/Fe, AAIN, CuOOH를 처리하여 그 산화가 억제되는 효과를 관찰하였다 (Figure 46~49). PBS만 처리한 대조구와 항산화물질로 알려진 BHT를 동일하게 처리하여 항산화 효과를 조사하였다.

신령버섯균사체간장 처리구는 농도가 증가할수록 MA 생성을 억제하였다. 대체적으로 다른 버섯균사체간장과는 달리 신령버섯균사체간장 100 mg처리구에서 Asc/Fe로 산화를 유발한 처리구를 제외한 나머지 산화유도물질에서 산화억제효능이 큰 BHT와 비슷하거나 그보다 다소 낮은 항산화 효과를 나타내었다 (Figure 46). 그리고 신령버섯균사체간장 50 mg 처리구가 대조구간장 100 mg처리구보다 전체적으로 낮은 항산화효과가 있었다. 영지버섯균사체간장 처리구는 대조구에 비해 항산화 효과가 높았으며 농도가 증가할수록 효과가 뛰어났다 (Figure 47). 상황버섯균사체간장의 처리구에서는 그 농도가 증가할수록 높은 항산화력을 나타내었다 (Figure 48). 그러나 BHT 처리구보다는 효과가 낮았다. 느타리버섯균사체간장 처리구에서는 신령버섯균사체간장에 미치지 못하는 못하지만 ABIN처리구를 제외하고는 BHT와 비슷하거나 조금 낮은 항산화력을 나타내었다 (Figure 49).

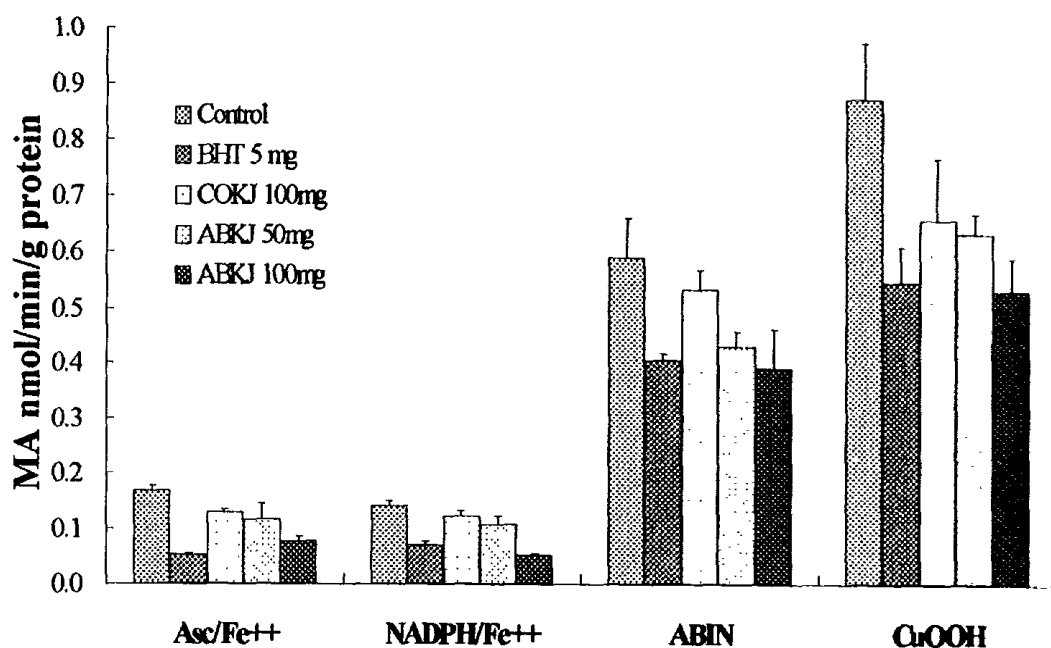


Figure 46. Formation of malonaldehyde from the mouse liver microsomes treated with various concentration of AB-TMCKJ extract.

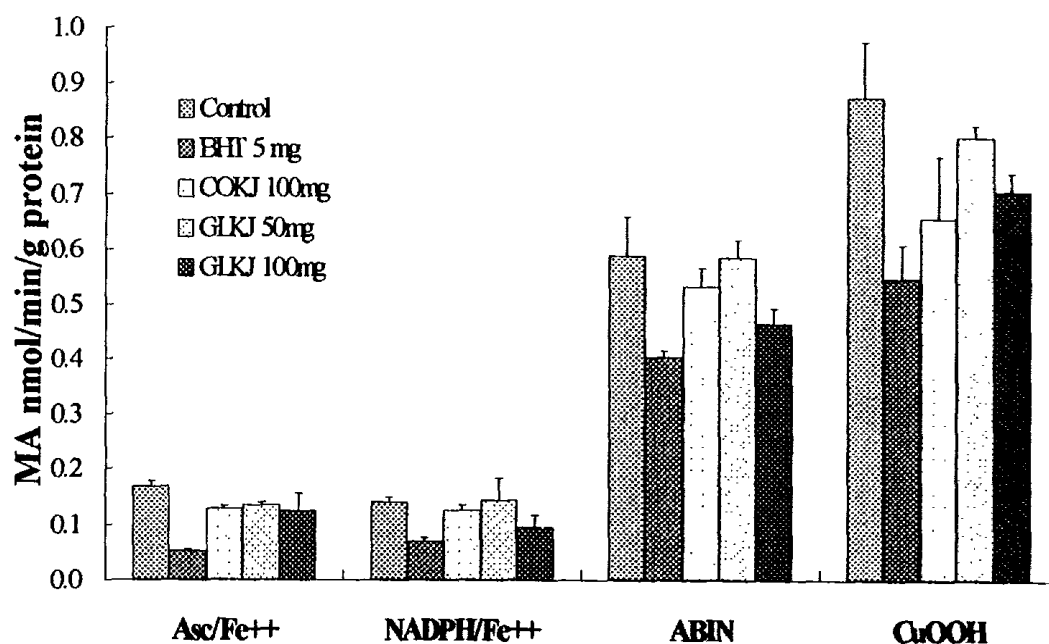


Figure 47. Formation of malonaldehyde from the mouse liver microsomes treated with various concentration of GL-TMCKJ extract.

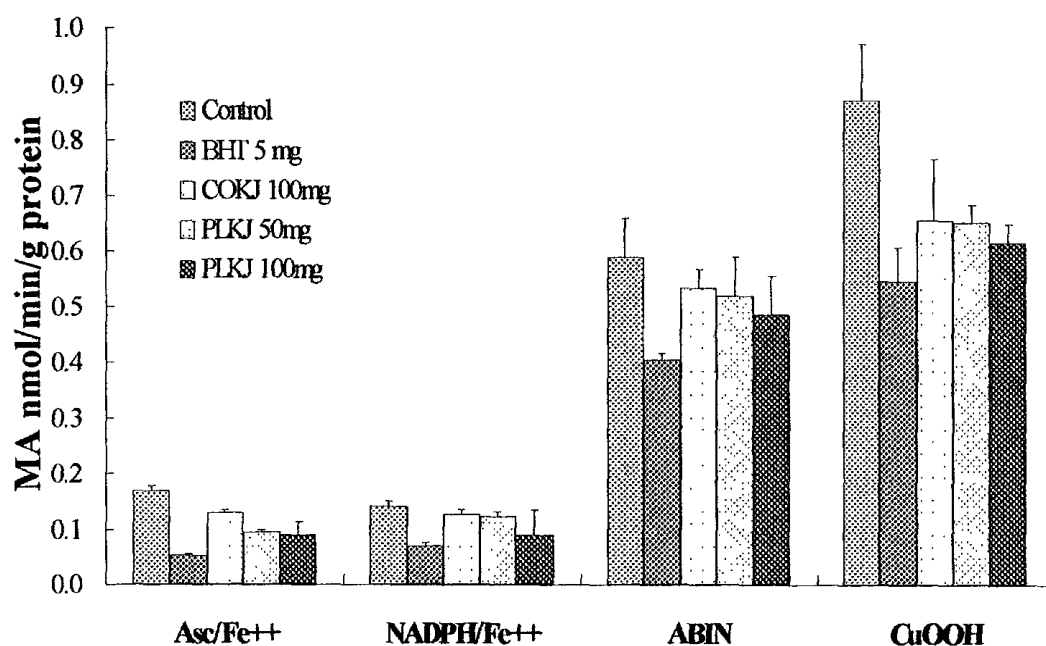


Figure 48. Formation of malonaldehyde from the mouse liver microsomes treated with various concentration of PL-TMCKJ extract.

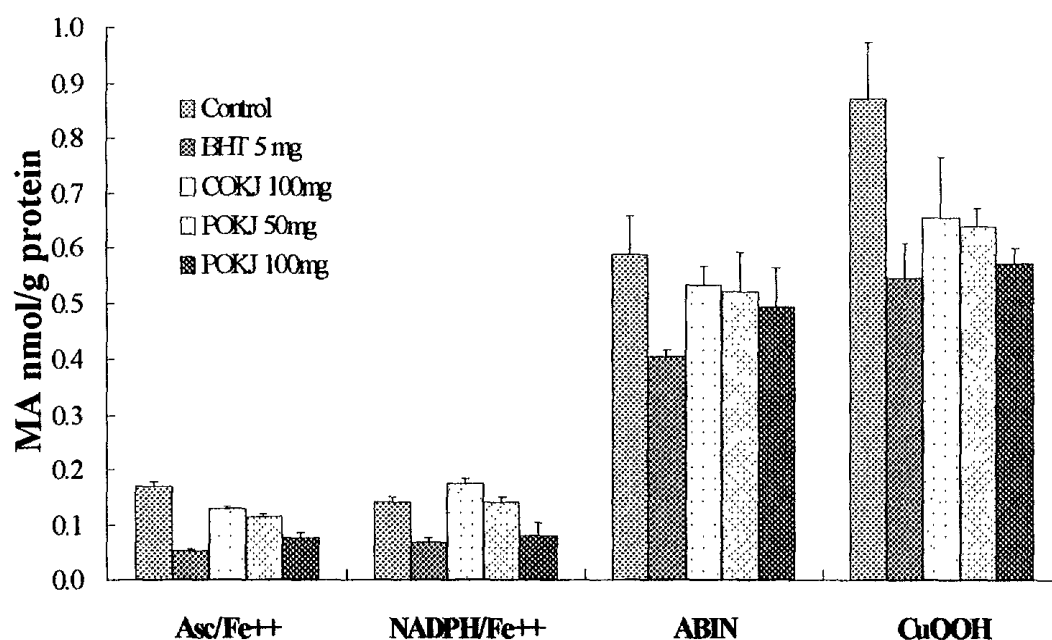


Figure 49. Formation of malonaldehyde from the mouse liver microsomes treated with various concentration of PO-TMCKJ extract.

5. 결론

신령, 상황, 영지, 느타리버섯균사체된장의 농도가 증가할수록 MA의 생성을 억제하였다. 또한 대조구된장에 비하여 높은 항산화성을 나타내었으나 BHT 5 mg 처리구보다는 낮았다. 신령버섯균사체간장 100 mg 처리구에서 Asc/Fe로 산화를 유발한 처리구를 제외한 나머지 산화유도물질에서 BHT와 비슷하거나 약간 높은 항산화 효과를 나타내었다. 느타리버섯균사체간장 처리구도 ABIN처리구를 제외하고는 BHT와 비슷하거나 약간 높은 항산화력을 나타내었다. 산화유도물질 처리에 있어서는 버섯균사체간장과 버섯균사체된장은 Asc/Fe와 NADP/Fe처리구에 대해서는 높은 항산화성을 보였으나, ABIN이나 CuOOH는 산화를 억제시키는 작용이 다소 약하게 나타났다.

제 6 절 체중감소성

1. 실험방법

Female ICR mouse (6~7주령, 5 mice/cage/group)에서 mouse용 pellet 사료로 1주일 동안 예비 사육하여 체중이 25 ± 1 g인 것을 실험에 사용하였다. 물과 사료는 자유로이 제공하고, 조명은 12시간 간격의 light-and-dark cycle을 유지하여 자연조명에 가깝게 하며, 사육실의 온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 50%로 조절하여 사육하였다. 시료는 버섯균사체 된장·간장을 각각 100 mg/0.2 ml PBS농도로 조제하여 10일간 매일 경구를 통하여 강제 투여하였다. 대조구에는 0.2 ml PBS만을 처리하였고, 각 mouse의 무게를 3일 간격으로 달고 30일 동안 몸무게 변화량을 관찰하여 체중감소효과를 관찰하였다.

2. 된장

버섯균사체를 이용하여 제조한 배주를 이용하여 제조한 버섯균사체된장을 mouse의 경구를 통하여 처리하였을 때 체중감소효과가 나타나는지 확인하였다 (Figure 50). 대조구된장 처리구의 최초 몸무게는 25.50 ± 1.12 g이었던 mouse의 몸무게는 30일이 경과하면서 34.09 ± 3.45 g으로 몸무게가 변화하였다. 대조구된장, 신령균사체된장, 영지균사체된장, 상황균사체된장, 느타리균사체된장 처리구에도 대조구와 비교하여 mouse의 몸무게 증가량의 큰 차이점은 나타내지 않았다. 그러나 시료처리 21일 경과 후부터 버섯균사체된장 처리구와 대조구간의 몸무게 증가량이 다소 지연되면서 30일경과시까지 관찰한 결과 0.3~0.8 g 정도의 체중감소 효과를 발생하였다. Mouse의 사료섭취량이 체중증가와 감소에 영향을 미칠 것으로 생각하여 사료섭취량을 조사하였으나 매 3일간 섭취한 mouse의 사료는 평균 17.67 g/3 days로 전처리구에서 사료섭취에 의한 요인을 찾을 수는 없었다.

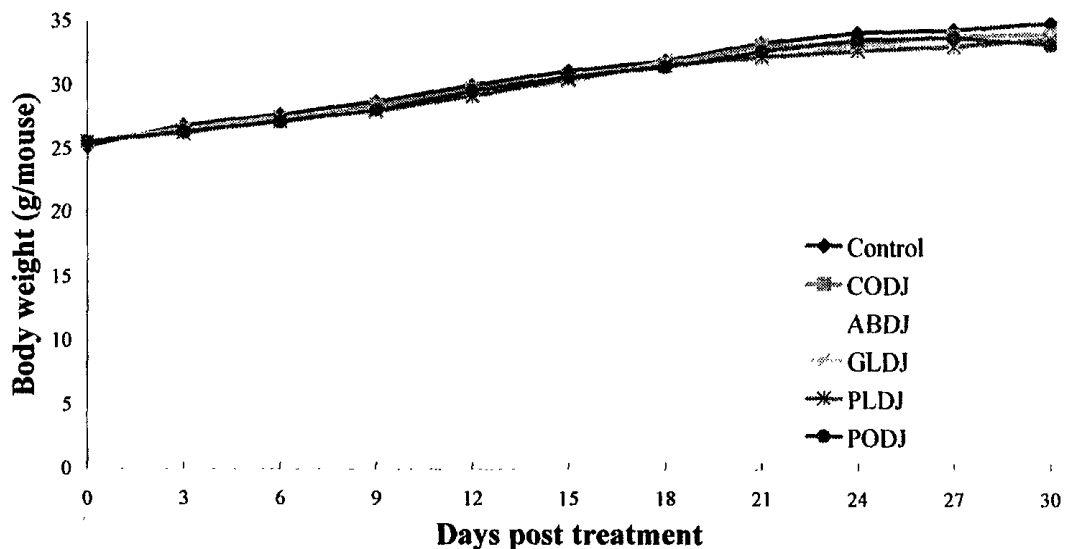


Figure 50. Effect of TMCDJ on the body weight of mice.

3. 간장

버섯균사체를 이용하여 제조한 메주를 이용하여 제조한 간장추출물을 mouse의 경구를 통하여 처리하였을 때 체중감소효과가 나타나는지 확인하였다 (Figure 51). 대조구간장 처리 mouse의 최초의 무게는 25.20 ± 1.15 g 이었던 mouse의 몸무게는 30일이 경과하면서 34.09 ± 3.12 g으로 몸무게가 변화하였다. 대조구간장, 신령균사체간장, 영지균사체간장, 상황균사체간장, 느타리균사체간장 처리구에도 대조구와 비교하여 mouse의 몸무게 증가량의 차이점은 나타내지 않았다. 그러나 시료처리 21일 경과 후부터 버섯균사체 간장처리구와 대조구간의 몸무게 증가량이 다소 지연되면서 30일경과시까지 관찰한 결과 0.3~0.7 g 정도의 체중감소 효과를 발생하였다. Mouse의 사료섭취량이 체중증가와 감소에 영향을 미칠 것으로 생각하여 사료섭취량을 조사하였으나 매 3일간 섭취한 mouse의 사료는 평균 17.71 g/3 days로 전처리구에서 사료섭취에 의한 체중변화 요인을 찾을 수는 없었다.

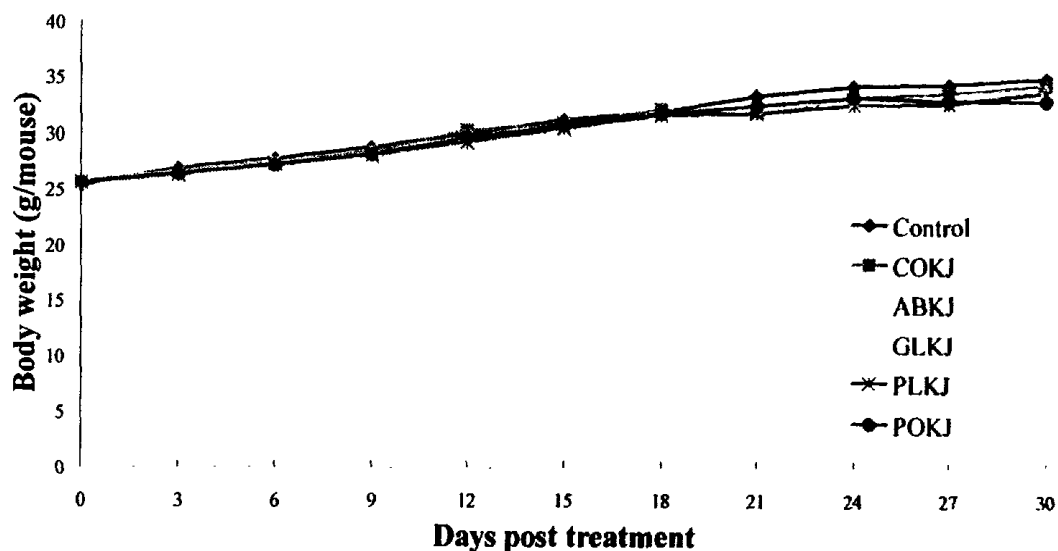


Figure 51. Effect of TMCKJ on the body weight of mice

4. 결론

대조구, 신령, 영지, 상황, 느타리버섯균사체간장·된장 모든 처리구에서 대조구와 비교하여 mouse의 몸무게 증가량의 유의성은 없었다. 시료처리 21일 경과 후부터 약간 차이를 보이다가 30일 경과하면서 0.3~0.8 g과 0.3~0.7 g 정도의 체중감소 효과를 발생하였다. 매 3일간 섭취한 사료는 평균 17.67 g, 17.71 g/3day로 전처리구에서 사료섭취에 의한 체중 변화 요인을 찾을 수는 없었다.

제 7 절 관능검사

1. 관능검사

가. 방법

“제 3 장” “제 5 절”의 관능검사방법에 준하여 실시하였다.

나. 된장

버섯균사체를 매주에 접종하여 제조한 된장의 관능검사에서 상황버섯균사체된장이 6.4로 가장 뛰어난 기호성을 나타내었다. 이것은 대조구된장의 4.6 보다 높은 평가 점수를 얻었다. 그리고 향미, 버섯향, 불패치, 색도, 짭은맛, 감미에서 전체적으로 상황, 느타리, 신령, 영지버섯균사체된장 순으로 6.4, 6.0, 5.1, 4.9의 기호성을 나타내었다 (Table 56). 이들은 또한 대조구된장과 비하여 기호성이 높았다. 이것은 버섯 특유의 향미성분과 그 분해 산물이 된장의 숙성과정에 관여하여 된장의 향미 성분에 영향을 미친 것으로 생각된다.

Table 56. Sensory score of TMCDJ

	Sample ¹⁾				
	CODJ ²⁾	ABDJ	GLDJ	PLDJ	PODJ
Aroma	4.2 ± 1.6	5.2 ± 1.9	4.8 ± 1.6	6.4 ± 1.7	5.8 ± 1.6
Flavor	4.6 ± 1.6	4.8 ± 1.8	4.8 ± 1.8	5.6 ± 1.6	5.2 ± 1.8
Mushroom flavor	4.0 ± 1.9	4.4 ± 1.3	4.3 ± 1.6	5.8 ± 1.8	5.2 ± 1.6
Off-flavor	3.6 ± 1.8	3.8 ± 1.8	4.1 ± 1.2	4.0 ± 1.7	4.0 ± 1.7
Color	5.0 ± 1.8	5.6 ± 1.2	5.4 ± 1.0	6.2 ± 1.2	6.2 ± 1.7
Tartness	4.4 ± 1.7	4.6 ± 1.9	4.4 ± 1.7	4.4 ± 1.7	4.6 ± 1.6
Sweet taste	4.8 ± 1.7	5.4 ± 1.9	5.2 ± 1.7	6.2 ± 1.8	6.2 ± 1.6
Acceptability	4.6 ± 1.7	5.1 ± 2.1	4.9 ± 1.7	6.4 ± 1.2	6.0 ± 1.8

¹⁾ Mushroom strains cultured doenjang. AB; *Agaricus blazai*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

²⁾ Doenjang fermented by traditional method.

다. 간장

버섯균사체를 메주에 접종하여 제조한 간장의 관능검사에서 느타리버섯균사체간장이 6.6로 가장 뛰어난 기호성을 나타내었다. 이것은 대조구간장의 5.0 보다 높은 평가 점수를 얻었다 (Table 57). 그리고 향미, 버섯향, 불쾌치, 색도, 짭은맛, 감미에서 전체적으로 느타리, 상황, 신령, 영지버섯균사체간장 순으로 6.6, 6.2, 5.8, 5.4의 기호성을 나타내었다. 이것들은 대조구간장에 비하여 기호도가 높았다. 이것은 버섯 특유의 향미성분과 그 분해 산물이 간장의 숙성과정에 관여하여 간장의 향미 성분에 영향을 미친 것으로 생각된다.

Table 57. Sensory score of TMCKJ

	Sample ¹⁾				
	COKJ ²⁾	ABKJ	GLKJ	PLKJ	POKJ
Aroma	5.2 ± 1.8	5.6 ± 1.7	5.6 ± 1.8	6.4 ± 1.5	6.8 ± 1.6
Flavor	5.0 ± 1.5	5.2 ± 1.8	5.0 ± 1.6	5.4 ± 1.7	5.8 ± 1.8
Mushroom flavor	4.8 ± 1.8	5.4 ± 1.4	5.3 ± 1.8	5.8 ± 1.4	5.6 ± 1.6
Off-flavor	3.4 ± 1.5	3.8 ± 1.6	4.1 ± 1.5	4.0 ± 1.2	4.2 ± 1.2
Color	5.2 ± 1.6	5.8 ± 1.5	5.6 ± 1.4	6.0 ± 1.5	6.2 ± 1.9
Tartness	4.4 ± 1.8	4.4 ± 1.5	4.2 ± 1.8	4.2 ± 1.6	4.3 ± 1.6
Sweet taste	5.0 ± 1.8	5.8 ± 1.8	5.4 ± 1.6	6.2 ± 1.8	6.2 ± 1.7
Acceptability	5.0 ± 1.5	5.6 ± 1.9	5.2 ± 1.7	6.2 ± 1.9	6.6 ± 1.4

¹⁾ Mushroom strains cultured kanjang. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

²⁾ Kanjang fermented by traditional method.

2. 결론

향미, 풍미, 버섯향, 불쾌치, 색도, 뚝은맛, 감미에서 전체적으로 상황, 느타리, 신령, 영지버섯균사체된장 순으로 6.4, 6.0, 5.1, 4.9의 기호성은 나타내었다. 이것은 대조구된장의 4.6 보다 높은 기호성이었다. 간장은 느타리, 상황, 신령, 영지버섯균사체간장 순으로 6.6, 6.2, 5.8, 5.4의 기호성을 나타내었다. 이것은 대조구간장의 5.0보다 기호도가 높았다.

제 8 절 생리활성 물질 분리

1. 수분함량

가. 수분 측정

시료를 100℃로 설정되어 있는 dry oven에서 항량병을 항량한 후 무게가 일정하게 유지될 때까지 수분함량을 측정하였다.

나. 된장

버섯균사체된장의 수분함량을 Table 58에 나타내었다. 전체적인 수분함량은 68.6~71.6% 사이로 대조구와 버섯균사체된장간에는 큰 차이가 없었다.

Table 58. Water concentration of TMCDJ

Sample ¹⁾	Water concentration (%)
CODJ	71.6
ABDJ	68.7
GLDJ	69.5
PLDJ	70.0
PODJ	68.6

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

다. 간장

버섯균사체간장의 수분함량을 Table 59에 나타내었다. 전체적인 수분함량은 97.9~99.3% 사이로 대조구와 버섯균사체간장간에는 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 59. Water concentration of TMCKJ

Sample ¹⁾	Water concentration (%)
COKJ	99.3
ABKJ	97.9
GLKJ	98.1
PLKJ	99.3
POKJ	98.1

¹⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

2. 조단백질함량

가. 분석법

질소함량이 2~3 mg에 해당하는 양의 된장·간장 시료를 취하여 킬달플라스크에 넣고 여기에 분해촉진제 0.5 g을 넣은 후 플라스크 내벽을 따라 황산 3~5 mL을 넣은 다음 플라스크를 흔들어 주면서 30% 과산화수소 1 mL을 조금씩 조심하여 넣었다. 플라스크를 천천히 가열하고 시료의 탄화물이 보이지 않을 때까지 온도를 높여 끓인 후 분해액이 투명한 담청색이 될 때까지 다시 1~2시간동안 가열하였다. 분해액을 냉각시킨 후 물 20 mL을 첨가하여 가열한 후 이 플라스크를 증류 장치에 연결하였다. 조단백질 함량은 Tecator Beltec Auto sample system 1035 analyzer로 자동분석 하였다.

나. 된장

버섯균사체된장의 조단백함량은 1.040~1.217 mg-N%로 나타났다 (Table 60). 대조구 된장과 신령, 영지, 상황버섯균사체된장에서의 조단백질함량은 1.047, 1.068, 1.043, 1.040으로 크게 변화가 없었으나, 느타리버섯균사체된장에서는 1.217로 다른 처리구에 비해 높은 조단백질 함량을 나타내었다.

Table 60. Concentration of crude protein for TMCDJ¹⁾

Sample ²⁾	Crude protein concentration (mg-N%)
CODJ	1.047 ± 0.027
ABDJ	1.068 ± 0.071
GLDJ	1.043 ± 0.076
PLDJ	1.040 ± 0.018
PODJ	1.217 ± 0.150

¹⁾ $N(\%) = 0.7003 \times (a-b) \times 100 \times \text{Sample (mg)}$. a; Blank used 0.05 N-NaOH (ml), b; Sample used 0.05 N-NaOH (ml).

²⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

다. 간장

버섯균사체간장의 조단백함량은 0.559~0.748 mg-N%으로 나타났다 (Table 61). 대조구간장과 영지, 상황, 느타리버섯균사체간장에서의 조단백질함량은 0.716, 0.748, 0.705, 0.733으로 크게 변화가 없었으나, 신령버섯균사체 간장의 경우에는 0.559으로 다른 처리구에 비해 상대적으로 조단백질 함량이 낮았다.

Table 61. Concentration of crude protein for TMCKJ¹⁾

Sample ²⁾	Crude protein concentration (mg-N%)
COKJ	0.716 ± 0.008
ABKJ	0.559 ± 0.034
GLKJ	0.748 ± 0.056
PLKJ	0.705 ± 0.005
POKJ	0.733 ± 0.024

¹⁾ $N(\%) = 0.7003 \times (a-b) \times 100 \times \text{Sample (mg)}$. a; Amount of 0.05 N-NaOH used for blank (ml), b; Amount of 0.05 N-NaOH used for sample (ml).

²⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

3. 조지방함량

가. 된장

비이커에 버섯균사체된장 100 g, 증류수 200 ml, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (69.3 g/L D.D.W) 10 ml 및 0.25N NaOH을 순서대로 가하여 액성이 미산성이 될 때까지 0.25 N-NaOH를 가하였다. 침전물을 여과하여 100 ℃의 dry oven에서 2시간 건조한 다음 원통여과지에 옮겨 속실판출기에 넣은 후 ether액을 원통여과지에 부어 여과지에 남은 부분을 세척하여 넣은 다음 8시간동안 추출하였다 (Table 62). 상황버섯균사체된장과 신령버섯균사체된장은 동일하게 1.994%로 대조구 된장 1.826%보다 높게 나타났다. 그러나 영지, 느타리버섯균사체된장은 1.423, 1.513%로 대조구와 상황, 신령버섯균사체된장 처리구보다 조지방함량이 낮았다.

Table 62. Concentration of crude fat for TMCDJ¹⁾

Sample ²⁾	Crude fat concentration (%)
CODJ	1.826
ABDJ	1.994
GLDJ	1.423
PLDJ	1.994
PODJ	1.513

¹⁾ Crude fat (%) = $(W_1 - W_0) / S \times 100$. W_0 ; Bottle weight (g). W_1 ; Dried bottle weight (g) containing fat sample, S; Sample weight (g).

²⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

나. 간장

액체추출기의 추출관에 약 100 ml의 버섯균사체간장을 담아 넣고 아랫쪽 구멍에 있는 중관을 넣어 그 윗쪽에 냉각관에서 에테르가 떨어 질 수 있게 냉각관을 접속하여 된장의 추출법과 동일하게 하였다 (Table 63). 대조구 간장, 신령, 상황, 느타리버섯균사체간장은 각각 0.7555, 0.7639, 0.7639, 0.7410%로 비슷하거나 동일한 조지방함량을 나타내었다. 그러나 영지버섯균사체간장은 0.6403%로 비교적 낮은 조지방함량을 나타내었다.

Table 63. Concentration of crude fat for TMCKJ¹⁾

Sample ²⁾	Crude fat concentration (%)
COKJ	0.7555
ABKJ	0.7639
GLKJ	0.6403
PLKJ	0.7639
POKJ	0.7410

¹⁾ Crude fat (%) = $(W_1 - W_0) / S \times 100$. W_0 ; Bottle weight (g). W_1 ; Dried bottle weight (g) containing fat sample, S; Sample weight (g).

²⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

4. 지방산 조성

가. 분석방법

“제 2 장” “제 2 절” “4”항의 실험방법에 준하여 지방산함량을 측정하였다.

나. 된장

버섯균사체된장의 지방산함량을 조사해본 결과 (Table 64), 시료간의 지방산 조성비는 큰 차이가 없었다. 전 처리구간에서 CLA가 생성되었으며 특히 영지버섯균사체된장의 경우 linoleic acid와 CLA가 높게 나타났다

Table 64 . Composition (%) of fatty acid in the total lipid of TMCDJ

Fatty acid	Sample ¹⁾				
	CODJ	ABDJ	GLDJ	PLDJ	PODJ
C14:0	0.15	0.31	0.22	0.22	0.22
C16:0	14.49	17.42	11.96	17.06	14.35
C18:0	6.62	6.16	4.01	7.00	5.23
C18:1	22.44	19.16	20.56	19.45	19.72
C18:2	47.58	46.77	52.78	46.60	49.75
γ -LN	0.37	0.72	0.43	0.49	0.63
γ -LN	7.09	8.29	8.81	8.26	9.35
CLA	0.47	0.52	0.83	0.18	0.19
EPA	0.78	0.65	0.40	0.74	0.56
TOTAL	100	100	100	100	100

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB;*Agaricus blazei*, GL;*Ganoderma lucidum*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

다. 간장

버섯균사체간장의 지방산함량을 조사해본 결과를 Table 65에 나타내었다. 각각의 간장의 지방산 조성은 영지버섯균사체간장에서 oleic acid의 함량이 다소 높았고 다른 지방산의 함량 변화에는 크게 작용하지 않았다. 모든 시료에서 CLA가 검출되었다는 점은 주목 할만하다. 신령, 상황버섯균사체간장에서 1.28%의 CLA가 함유되어 있음을 확인할 수 있었다.

Table 65. Composition (%) of fatty acid in the total lipid of TMCKJ

Fatty acid	Sample ¹⁾				
	COKJ	ABKJ	GLKJ	PLKJ	POKJ
C14:0	0.32	0.82	0.57	0.15	0.38
C16:0	18.86	14.95	20.71	14.79	15.96
C18:0	7.49	3.93	5.88	3.98	4.98
C18:1	19.51	23.44	20.39	23.68	25.71
C18:2	44.56	47.17	43.11	47.76	44.18
γ -LN	0.30	0.71	0.79	0.57	0.65
γ -LN	7.25	7.46	7.45	7.54	7.36
CLA	0.98	1.28	0.89	1.28	0.46
EPA	0.74	0.24	0.20	0.24	0.33
TOTAL	100	100	100	100	100

¹⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

5. 향미성분의 분석

가. 향미성분의 분리

버섯균사체된장 5 g 또는 버섯균사체간장 10 ml을 ether 10 ml에 넣고 실온에 방치하여 3회 반복 추출하여 ether층과 물층을 분리하였다. Ether 층에 Na₂SO₄를 첨가하여 탈수시킨 후 ether층을 concentration tube에 넣고 농축하였다.

나. GC분석

향기성분의 GC의 분석 조건은 Table 66와 같고 60가지의 표준향기성분의 결과는 Table 67과 같다. Retention time을 비교하여 시료에 함유되어 있는 향기성분을 분석하였다.

Table 66. Capillary GC operating conditions for the analysis of flavor compounds

Item	Condition of HEWLETT PACKARD 5890
Oven temperature	50~200°C (4°C/min)
Initial temperature	50°C
Final temperature	200°C
Injector temperature	260°C
Detector temperature	260°C
Column	Capillary column (Supelcowax-10 : 60 m × 0.32 mm, i.d)
Detector	FID
Carrier Gas	N ₂ (Flow rate : 2 ml/min)

Table 67. Retention time of standard flavor compounds

RT	화 합 물 명	RT	화 합 물 명
2.610	2-pentanone	15.550	2-octen-3-one
3.151	2,3-pentadione	15.637	4-ethyloctanoic acid
4.872	cyclopentylfuran	15.819	10% 2-octen-1-al
5.544	2-pentylfuran	15.837	o-tolualdehyde
5.599	4-cis-heptenal	16.108	phenylacetaldehyde
5.864	3-octanone	17.161	ethylbenzoate
8.231	1-hexanol	17.260	isovaleric acid
8.405	2,6-dimethyl-5-heptenal	18.179	t,t-2,4-nonadienal
8.729	cis-3-hexen-1-ol	18.684	pentanoic acid
9.216	nonanal	19.145	2-ethylbutyric acid
9.605	3-octanol	19.434	2-methylpentanoic acid
9.613	1-octen-4-ol	19.463	3-methylpentanoic acid
9.929	2-octen-1-al	20.423	4-methylpentanoic acid
10.576	2,5-diethylpyrazine(10%)	21.959	α -ionone
10.684	2-vinylpyrazine	22.398	benzyl alcohol
10.782	1-octen-3-one	23.195	phenethyl alcohol
10.980	1-octen-3-ol	24.482	benzothiazole
11.050	methional	24.829	3,5,5-trimethyl hexanoic acid
11.290	2,3,5,6-tetramethylpyrazine	26.799	4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone
12.360	2-isobutyl-3-methoxypyrazine	27.565	1-octen-3-one
12.716	benzaldehyde	31.540	2-ethylnonanoic acid
13.146	trans-2-nonenol	32.163	α -methyldodecanoic acid
13.725	linalool	32.657	5-ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanone
13.936	1-octanol	33.539	2-ethyldecanoic acid
14.171	4-decanol	34.829	2-decen-1-al
14.242	5-methylfurfural	35.540	10-undecenoic acid
14.968	2,5-dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanone	38.118	5-hydroxymethylfurfural
15.507	δ -valerolactone		

다. 된장

버섯균사체된장의 향기성분 분석결과를 Table 68~72에 나타내었다. 이 분석결과는 표준품의 retention time과 mass spectrum을 비교하여 일치하는 것만을 표시하였다. 일치하지 않는 다른 물질은 동정을 하지 못하였다. 대조구된장은 2-octen-1-al를 포함하여 총 4종의 향기성분이 검출되었다 (Table 68). 신령버섯균사체된장은 2,6-trimethylhexanoic acid를 포함하여 6종의 향기성분이 검출되었다 (Table 69). 영지버섯균사체된장은 o-tolualdehyde를 포함하여 5종의 향기성분이 검출되었다 (Table 70). 상황버섯균사체된장은 2-pentylfuran을 포함하여 11종의 향기성분이 검출되었다 (Table 71). 느타리버섯균사체된장은 o-tolualdehyde를 포함하여 5종의 향기성분이 검출되었다 (Table 72). 향기성분은 첨가된 버섯균사체의 종류에 따라 약간 다른 향기성분이 확인되었다.

Table 68. Flavor compounds identified in control doenjang

RT	Compounds
8.287	1-Hexanol
15.785	2-Octen-1-al
31.214	2-Ethylnonanoic acid
33.707	2-Ethyldecanoic acid

Table 69. Flavor compounds identified in AB-TMCDJ

RT	Compounds
8.478	2,6-Trimethylhexanoic acid
15.938	o-Tolualdehyde
24.870	3,5,5-Trimethyl hexanoic acid
31.415	2-Ethylnonanoic acid
33.291	2-Ethyldecanoic acid
38.275	5-Hydroxymethylfurfural

Table 70. Flavor compounds identified in GL-TMCDJ

RT	Compounds
8.240	1-Hexanol
15.899	<i>o</i> -Tolualdehyde
24.656	Benzothiazole
34.835	2-Decen-1-al
38.374	5-Hydroxymethylfurfural

Table 71. Flavor compounds identified in PL-TMCDJ

RT	Compounds
5.544	2-Pentylfuran
13.130	<i>trans</i> -2-Noneol
14.946	2,5-Dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanone
18.194	<i>t,t</i> -2,4-Nonadienal
18.521	Pentanoic acid
18.951	2-Ethylbutyric acid
20.394	4-Methylpentanoic acid
24.640	Benzothiazole
32.953	5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanone
34.835	2-Decen-1-al
38.400	5-Hydroxymethylfurfural

Table 72. Flavor compounds identified in PO-TMCDJ

RT	Compounds
8.220	1-Hexanol
15.911	<i>o</i> -Tolualdehyde
24.889	3,5,5-Trimethylhexanoic acid
31.486	2-Ethylnonanoic acid
38.374	5-Hydroxymethylfurfural

라. 간장

대조구간장은 3-octanone를 포함하여 총 13종의 향기성분이 검출되었다 (Table 73). 신령버섯균사체간장에서 3-octanol를 포함하여 9종의 향기성분이 검출되었다 (Table 74). 영지버섯균사체간장은 cyclopentylfuran을 포함하여 18종의 향기성분이 검출되었다 (Table 75). 상황버섯균사체간장은 3-octanone을 포함하여 13종의 향기성분이 검출되었다 (Table 76). 느타리버섯균사체간장에서 cyclopentylfuran을 포함하여 9종의 향기성분이 검출되었다 (Table 77). 향기성분은 첨가된 버섯균사에 따라 약간씩 다른 향기성분이 검출되었다.

Table 73. Flavor compounds identified in control kanjang

RT	Compounds
5.935	3-Octanone
9.592	3-Octanol
11.473	2,3,5,6-Tetramethylpyrazine
14.205	4-Decanol
16.123	Pheylacetaldehyde
16.918	Ethylbenzoate
19.020	2-Ethylbutyric acid
19.389	2-Methylvaleric acid
20.363	2-Methylpentanoic acid
22.052	α -Ionone
32.715	5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanone
33.259	2-Ethyldecanoic acid
35.569	10-Undecanoic acid

Table 74. Flavor compounds identified in AB-TMCKJ

RT	Compound
9.558	3-Octanol
15.581	2-Octen-3-one
16.102	Phenylacetaldehyde
18.111	t,t-2,4-nonadienal
19.369	2-methylpentanoic acid
20.335	4-methylpentanoic acid
32.267	α -methyldodecanoic acid
32.534	5-ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanone
35.399	5-hydroxymethylfurfural

Table 75. Flavor compounds identified in GL-TMCKJ

RT	Compounds
4.460	Cyclopentylfuran
5.590	4-cis-Heptenal
5.936	3-Octanone
9.930	2-Octen-1-al
10.441	2,5-Diethylpyrazine
11.334	2,3,5,6-Tetramethylpyrazine
12.537	Benzaldehyde
14.352	5-Methylfurfural
16.310	Phenylacetaldehyde
17.037	Ethylbenzoate
19.125	2-Ethylbutyric acid
19.493	2-Methylpentanoic acid
20.450	4-Methylpentanoic acid
22.448	Benzyl alcohol
32.671	5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanone
33.560	2-Ethyldecanoic acid
35.555	10-Undecanoic acid
38.009	5-Hydroxymethylfurfural

Table 76. Flavor compounds identified in PL-TMCKJ

RT	Compounds
5.794	3-Octanone
7.928	1-Hexanol
9.728	1-Octen-4-ol
15.682	4-Ethyloctanoic acid
16.033	Phenylacetaldehyde
19.389	2-Methylvaleric acid
20.372	4-Methylpentanoic acid
22.797	Benzyl alcohol
23.666	Phenethyl alcohol
24.242	Benzothiazole
32.676	5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanone
35.570	10-Undecanoic acid
37.927	5-Hydroxymethylfurfural

Table 77. Flavor compounds identified in PO-TMCKJ

RT	Compounds
4.753	Cyclopentylfuran
5.945	3-Octanone
9.611	3-Octanol
16.168	Phenylacetaldehyde
19.042	2-Ethylbutyric acid
22.806	Benzyl alcohol
23.295	Phenethyl alcohol
24.328	Benzothiazole
32.747	5-Ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanone
35.577	10-Undecenoic acid

6. 아미노산조성

가. 아미노산분석

버섯균사체된장 5 g, 버섯균사체간장 5 ml을 6 N-HCl에 용해시켜, 질소를 충전한 후 밀봉하여 110℃에서 24시간 동안 가수분해시킨 다음 냉각하고, 염산을 감압·제거하여 증류수로 2회 세척한 다음 건조시켰다. 건조시킨 시료를 citric acid buffer (pH 2.2)로 용해하여 여과한 다음, 5 ml로

정용한 뒤 0.22 μm membrane filter로 여과한 여액을 아미노산 분석기 (Biodorum 20)로 분석하였다.

나. 된장

버섯균사체된장을 구성하고 있는 아미노산의 구성성분을 아미노산 분석기로 분석한 결과를 Table 78에 나타내었다. 전 처리구에서 18개의 아미노산이 검출되었으나, 아미노산 종류나 구성성분의 분포는 균종에 따라 달랐다. 상황버섯균사체된장의 경우 aspartic acid가 검출되지 않은 반면 다른 처리구에서는 검출되지 않은 asparagine이 481 mg/100 g으로 많은 양이 검출되었다. 각각의 아미노산 조성이 다른 것은 버섯균사체가 생육하면서 분비한 아미노산 또는 그들이 된장의 발효과정에 관여하여 생성시킨 아미노산일 것으로 생각된다. 아미노산 분석기로 분석한 결과 대조구된장은 γ -aminobutyric acid가 136 mg/100 g으로 가장 많은 함량을 나타내었으며, 총 아미노산 함량은 828 mg/100 g이었다. 신령버섯균사체된장은 leucine의 함량이 186 mg/100 g 으로 가장 높았고 총 아미노산 함량은 1,727 mg/100 g이었다. 영지버섯균사체된장은 γ -aminobutyric acid가 142 mg/100 g으로 가장 많은 함량을 나타내었으며, 총 아미노산 함량은 839 mg/100 g이었다. 상황버섯균사체된장은 proline이 1,947 mg/100 g으로 가장 많은 함량을 나타내었으며, 총 아미노산 함량은 3,208 mg/100 g이었다. 느타리버섯균사체된장은 glutamic acid가 477 mg/100 g으로 가장 함량이 높았고, 총 아미노산 함량은 2,280 mg/100 g이었다. 대체적으로 상황균사체된장과 느타리균사체된장이 높은 아미노산 함량을 나타내었다.

Table 78. Amino acid composition of TMCDJ (mg/100 g)

Amino acid	Sample ¹⁾				
	CODJ	ABDJ	GLDJ	PLDJ	PODJ
Aspartic acid	36	49	18	–	72
Threonine	14	66	15	21	80
Serine	– ²⁾	48	–	14	–
Asparagine	–	–	–	481	–
Glutamic acid	36	172	40	45	477
Proline	42	89	58	1847	98
Glycine	47	80	35	111	95
Alanine	121	168	104	–	204
Citrulline	20	53	20	–	42
α -Aminobutyric acid	8	–	6	–	–
Valine	103	146	97	110	186
Methionine	19	39	22	26	44
Isoleucine	57	113	58	82	143
Leucine	91	186	91	24	213
Tyrosine	15	38	15	28	36
Phenylalanine	20	124	48	81	145
γ -Aminobutyric acid	136	173	142	91	34
Ornithine	9	18	8	14	64
Lysine	50	150	58	99	173
Histidine	4	15	4	14	48
Carnosine	–	–	–	20	54

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

²⁾ Not detected

다. 간장

버섯균사체간장을 구성하고 있는 아미노산의 구성성분과 함량을 Table 79에 나타내었다. 버섯균사체 처리에 의하여 아미노산 구성성분에 많은 변화를 초래하였다. 특히 대조구간장에서는 검출되지 않은 serine, asparagine, alanine, citrulline, β -alanine, carnosine과 같은 아미노산이 버섯균사체간장에서 발견되었다. 그리고 버섯균사체를 처리한 처리구에서 아미노산 구성성분의 분포는 버섯균종에 따라 다양하였다. 이러한 현상으로 볼 때, 각각의 아미노산이 다른 것은 버섯균사체가 생육하면서 생산한 아미노산 또는 간장의 발효과정에서 효소에 의해 단백질로부터 생성된 것으로 생각된다. 아미노산 분석기로 분석한 결과 대조구간장은 γ -aminobutyric acid가 156 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 총 아미노산 함량은 813 mg/100 g이었다. 신령버섯균사체간장은 glutamic acid의 함량이 208 mg/100 g으로 가장 높았고 총 아미노산 함량은 1,973 mg/100 g이었다. 영지버섯균사체간장은 γ -aminobutyric acid가 174 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 총 아미노산 함량은 989 mg/100 g이었다. 상황버섯균사체간장은 glutamic acid가 345 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 총 아미노산 함량은 2,634 mg/100 g이었다. 느타리버섯균사체간장은 glutamic acid가 641 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 총 아미노산 함량은 2,877 mg/100 g이었다. 대체적으로 상황버섯균사체간장과 느타리버섯균사체간장에서 아미노산 함량이 높았다.

Table 79. Amino acid composition of TMCKJ (mg/100 g)

Amino acid	Sample ¹⁾				
	COKJ	ABKJ	GLKJ	PLKJ	POKJ
Aspartic acid	41	59	25	98	75
Threonine	16	80	22	96	115
Serine	– ²⁾	55	3	46	18
Asparagine	–	51	–	26	49
Glutamic acid	49	208	62	345	641
Proline	54	112	77	146	152
Glycine	59	94	52	124	130
Alanine	–	203	145	264	296
Citrulline	–	55	20	72	88
α -Aminobutyric acid	10	–	6	1	3
Valine	111	156	113	226	229
Methionine	20	40	26	54	53
Isoleucine	61	121	71	168	170
Leucine	98	188	104	246	254
Tyrosine	13	37	15	50	36
b-Alanine	–	–	57	–	–
Phenylalanine	54	119	–	154	157
γ -Aminobutyric acid	156	201	1.74	210	47
Ornithine	10	18	11	27	53
Lysine	57	162	–	216	218
Histidine	4	14	6	33	56
Carnosine	–	–	–	32	37

¹⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

²⁾ Not detected

7. 산가

가. 시험방법

버섯균사체된장 1 g과 버섯균사체간장 1 ml을 취하여 benzene/ethanol (1:1, v/v) 용액 100 ml를 가하여 용해시킨 후 1% phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N-KOH/ethanol로 적정하였다.

나. 된장

버섯균사체된장의 산가를 Table 80에 나타내었다. 대조구된장의 산가는 23.95이었고 상황, 신령, 느타리버섯균사체된장은 20.80, 20.92, 23.68로 낮은 반면 영지버섯균사체된장만 26.92로 대조구 보다 높은 산가를 나타내었다.

Table 80. Acidity of TMCDJ

Samples ¹⁾	Acidity
CODJ	23.95 \pm 0.43
ABDJ	20.92 \pm 0.62
GLDJ	26.92 \pm 0.10
PLDJ	20.80 \pm 0.55
PODJ	23.68 \pm 0.04

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

다. 간장

버섯균사체간장의 산가를 측정한 값을 Table 81에 나타내었다. 대조구간장이 23.95의 산가를 나타내었고 느타리, 신령 상황버섯균사체간장은 17.85, 18.15, 20.65로 대조구에 비하여 낮은 산가를 나타낸 반면 영지버섯균사체간장은 20.76으로 대조구간장과 비슷한 산가를 나타내었다.

Table 81. Acidity of TMCKJ

Sample ²⁾	Acidity
COKJ	20.57 ± 0.22
ABKJ	18.15 ± 0.33
GLKJ	20.76 ± 0.25
PLKJ	20.26 ± 0.26
POKJ	17.85 ± 0.38

²⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB;*Agaricus blazei*, GL;*Ganoderma lucidum*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

8. 갈변도

가. 측정

버섯균사체된장·간장 중의 갈변도는 Chung과 Toyomizu의 방법에 따라 측정하였다. 즉 각 시료 5 g에 n-hexane 50 ml을 가하여 탈지시킨 후 여과조작을 3회 반복하고 잔사에 chloroform:methanol (2:1, v/v) 혼합액 50 ml을 가하여 5℃에서 48시간 동안 추출한 것을 420 nm에서 흡광도로 측정하여 수용성 갈변 물질로 하였다.

나. 된장

버섯균사체된장의 착색정도를 측정한 결과를 Table 82에 나타내었다. 버섯균사체된장의 처리구에서는 모두 대조구된장 보다 갈변화 정도가 낮았다. 버섯균사체된장의 경우에는 대조구, 영지, 느타리, 상황, 신령버섯균사체된장 순으로 갈변화도가 심한 것을 알 수 있었다. 갈변도는 1.2428~1.6370까지 있었다. 영지버섯균사체된장은 대조구된장과 거의 같았고, 상황과 느타리버섯균사체된장은 대체적으로 유사한 착색경향을 나타냈다. 최근 장류의 소비 동향에도 많은 변화가 있는데 특히 더 밝은 색의 된장을 선호하는 경향이 강하므로 상황버섯균사체된장과 신령버섯균사체된장을 상품화한다면 고품질 상품으로의 개발이 가능할 것이다.

Table 82. Browning value of TMCDJ

Sample ¹⁾	Browning value
CODJ	1.6370
ABDJ	1.2428
GLDJ	1.5447
PLDJ	1.3036
PODJ	1.3231

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

다. 간장

버섯균사체간장의 착색정도를 측정한 결과를 Table 83에 나타내었다. 버섯균사체간장의 처리구에서는 모두 대조구간장 보다 갈변화 정도가 낮았다. 버섯균사체간장은 대조구, 느타리, 신령, 영지, 상황버섯균사체간장 순으로 갈변화도가 심한 것을 알 수 있었다. 갈변도는 0.6417~2.0331까지 있었으며, 특히 상황버섯균사체간장의 갈변도는 대조구간장 보다 약 3.2배나 낮았다. 최근 장류의 소비 동향에도 많은 변화가 있는데 특히 더 밝은 간장을 선호하는 경향이 강하므로 상황버섯균사체간장과 신령버섯균사체간장을 상품화한다면 고품질 상품으로 개발 가능할 것이다.

Table 83. Browning value of TMCKJ

Sample ¹⁾	Browning value
COKJ	2.0331
ABKJ	1.6300
GLKJ	1.5222
PLKJ	0.6417
POKJ	1.8717

¹⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

9. 페놀화합물과 isoflavon 함량

가. Crude phenolics의 추출방법

버섯균사체간장·된장을 n-hexan으로 탈지시킨 후 Hammerachmidt와 Pratt의 방법에 준하여 페놀화합물을 추출하였다. 즉, 시료 40 g을 200 ml 메탄올에 충분히 침지시킨 후 균질화하고 5분 동안 가열하여, Whatman No. 42 여과지로 여과한 잔여물을 150ml 뜨거운 메탄올로 씻은 뒤 여과하여 불용성 잔여물은 제거하였다. 여과액을 40℃ 회전식 진공농축기로 농축시켜 분획한 메탄올 추출물을 소량의 메탄올로 녹여 용기에 넣고 질소가스를 충전하고 밀봉하여 -20℃ 냉동고에 저장하면서 실험에 사용하였다.

나. 총 페놀 함량분석

총 페놀의 함량은 2% 탄산나트륨용액 2ml와 추출한 crude phenolics 시료용액 0.1 ml을 첨가하여 잘 혼합하여 (Blank: 0.1 ml 메탄올 용액) 2분간 방치시킨다음 50% Folin-Ciocalteu시약 0.1 ml을 첨가하여 30분 동안 실온에서 방치하고 750 nm에서 흡광도를 측정하여 구하였다. 이 때 chlorogenic acid를 표준물질로 사용하였다.

다. Isoflavone 함량분석

Isoflavone의 함량은 Wang의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 시료 된장, 간장 1.0 g 에 1 N-HCl 3 ml를 넣어서 잘 섞은 후 98℃에서 1시간동안 가열, 환류냉각하여 분해한 다음, methanol 15 ml를 넣어 추출하였다. 추출액을 냉장고에서 1일 정치 후 상정액을 취해서 Membrane filter (0.22 μ m)로 여과한 다음 HPLC분석시료로 사용하였다. 사용한 HPLC의 조건은 Table 84와 같다. 표준물질로 Genistein (4',5,7-trihydroxyisoflavone)과 daidzein (4',7-dihydroxyisoflavone)을 Sigma 사로부터 구입하여 사용하였다.

Table 84. Operating conditions of HPLC for the analysis of isoflavone

HPLC	YOUNG-LIN M-930
Detector	YOUNG-LIN M-720 255 nm
Column	μ -LUNA C18
Mobile phase	Methanol:1mM Ammmnium acetate (6:4)
Flow rate	1ml/min

라. 된장

버섯균사체된장에 함유되어 있는 페놀성화합물의 함량을 Table 85에 나타내었다. 대조구된장의 페놀성 화합물의 함량은 6.8 mg/g이었다. 페놀성화합물은 느타리, 신령, 상황, 영지버섯균사체된장 순으로 그 함량은 7.8, 6.9, 6.2, 5.9 mg/g이었다. 그 중에서 상황버섯균사체된장과 영지버섯균사체된장은 대조구된장에 비하여 다소 낮은 함량을 나타내었다. 총 이소플라본의 함량은 신령, 느타리, 상황, 영지버섯균사체된장 순으로 1,583.7, 1,463.7, 1,427.2, 1,394.5 μ g/g이었다. 대조구된장은 1,538.5 μ g/g이었다 (Table 86). 느타리버섯균사체 된장을 제외하고는 대조구된장보다 이소플라본 함량이 낮았다. Daidzein의 함량을 비교해볼 때 대조구된장은 810.7 μ g/g이었으나, 느타리, 상황, 신령, 영지버섯균사체된장 순으로 873.5, 657.9, 651.8, 618.4 μ g/g으로 매우 낮은 함량을 나타내었다. 그러나 Genistein의 함량을 비교해 볼 때, 대조구된장은 727.8 μ g/g이었으나, 신령, 느타리, 상황, 영지버섯균사체된장 순으로 931.9, 790.2, 769.3, 776.2 μ g/g으로 대조구된장보다 매우 높은 함량을 나타내었다. 이상의 결과로 볼 때, 버섯균사체를 첨가한 메주를 이용하여 된장을 만들 때, 버섯균사체의 작용에 의하여 daidzein이 genistein으로 변화를 초래한 것으로 생각되어진다. 미생물의 종류나 발효속성에 따른 차이에 의해 daidzein과 genistein 함량과 비율상의 차이가 생길 수 있고, 주로 원료에 함유된 당이 genistein과 반응하여 conjugate를 형성함으로 검출량이 실제량보다 감소할 수 있다고 함으로 이소플라본 총량에 대한 더욱 상세한 연구가 요망된다.

Table 85. The contents of phenolic compounds in TMCDJ

Sample ¹⁾	Phenolic compounds (mg/g)
CODJ	6.8
ABDJ	6.9
GLDJ	5.9
PLDJ	6.2
PODJ	7.8

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB;*Agaricus blazei*, GL;*Ganoderma lucidum*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

Table 86. Isoflavone contents of TMCDJ

Sample ¹⁾	Isoflavone ($\mu\text{g/g}$)		
	Daidzein	Genistein	Total
CODJ	810.7	727.8	1,538.5
ABDJ	651.8	931.9	1,583.7
GLDJ	618.3	776.2	1,394.5
PLDJ	657.9	769.3	1,427.2
PODJ	673.5	790.2	1,463.7

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB;*Agaricus blazei*, GL;*Ganoderma lucidum*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

마. 간장

버섯균사체간장에 함유되어 있는 페놀성화합물의 함량을 Table 87에 나타내었다. 대조구간장의 페놀성 화합물의 함량은 1.3 mg/g이었다. 페놀성화합물은 상황, 영지버섯균사체간장은 1.3 mg/g이었으며, 신령, 느타리버섯균사체간장은 1.2 mg/g이었다. 총 이소플라본의 함량은 느타리, 신령, 신령, 영지버섯균사체간장 순으로 34.0, 31.0, 26.6, 25.2 $\mu\text{g/g}$ 이었다. 대조구간장은 29.3 $\mu\text{g/g}$ 이었다 (Table 97). 신령과 영지버섯균사체간장은 대조구보다 낮은 총 이소플라본 함량을 나타내었다. Diadzein의 함량을 비교해볼 때 대조구간장은 22.3 $\mu\text{g/g}$ 이었으나, 느타리, 신령, 상황,

영지버섯균사체간장 순으로 27.2, 25.2, 22.5, 20.5 $\mu\text{g/g}$ 으로 매우 낮은 함량을 나타내었다. 그러나 genistein의 함량을 비교해 볼 때 대조구간장은 7.0 $\mu\text{g/g}$ 이었으나, 느타리, 신령, 영지, 상황버섯균사체간장 순으로 6.8, 6.2, 4.7, 4.1 $\mu\text{g/g}$ 으로 대조구간장보다 모두 낮은 함량을 나타내었다. 이상의 결과로 볼 때, 버섯균사체를 첨가한 메주를 이용하여 간장 만들 때, 된장과는 달리 daidzein과 genistein 함량이 매우 낮았다. 이것은 된장자체에 함유되고 용액인 간장으로의 용출이 적은 것으로 생각되어 진다. 미생물의 종류나 발효속성에 따른 차이에 의해 daidzein과 genistein 함량에 비율상의 차이가 생길 수 있고, 주로 원료에 함유된 당이 genistein과 반응하여 conjugate를 형성함으로 검출량이 실제량보다 감소할 수 있다고 함으로 이소플라본 총량에 대한 더욱 상세한 연구가 요망된다.

Table 87. Isoflavone contents of TMCKJ

Sample ¹⁾	Phenolic compounds (mg/g)
COKJ	1.3
ABKJ	1.2
GLKJ	1.3
PLKJ	1.3
POKJ	1.2

¹⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

Table 88. Isoflavone contents of TMCKJ

Sample	Isoflavone ($\mu\text{g/g}$)		
	Daidzein	Genistein	Total
COKJ	22.3	7.0	29.3
ABKJ	25.2	6.2	31.4
GLKJ	20.5	4.7	25.2
PLKJ	22.5	4.1	26.6
POKJ	27.2	6.8	34.0

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

10. 유리당 함량

가. 분석방법

Fructose, glucose, sucrose, galactose, maltose, raffinose, starchyose의 표준품 1 g을 100 ml용 메스플라스크에 달아 물 50 ml을 첨가하여 녹인 후 acetonitrile을 첨가하여 100 ml로 보정하여 표준용액으로 사용하였다.

버섯버섯균사체 된장 10 g을 물 40 ml을 첨가하여 homogenizer로 완전히 마쇄시킨 후 100 ml용 메스플라스크에 넣고 acetonitrile을 첨가하여 100 ml로 보정하여 시험용액으로 사용하였다. 버섯균사체 간장은 10 ml을 물 40ml을 첨가하여 100 ml용 메스플라스크에 넣고 acetonitrile을 첨가하여 100 ml로 보정하여 시험용액으로 사용하여 HPLC로 분석하였다 (Table 89) 조건으로 분석하였다.

Table 89. Operating conditions of HPLC for the analysis of free sugar

HPLC	Waters 410
RI detector	Waters 410 differential Refractometer
Column	Carbohydrate (waters) 3.9×100mm
Mobile phase	80% acetonitril
Flaw rate	1ml/min

나. 된장

7종의 표준당으로 분석하였으나 전 처리구에서 galactose, fructose와 starchyose 3개의 당만이 검출되었다 (Table 90). Galactose의 함량은 느타리, 상황, 신령, 영지순으로 4450, 4067, 3475, 3422 ppm으로 대조구된장의 3331 ppm보다 많이 검출되었다. Fructose의 함량은 모두 대조구된장보다 함량이 낮았지만 영지버섯균사체된장은 520 ppm으로 그 함량이 비슷하였다. Starchyose의 함량도 대조구된장보다 함량이 낮았지만 영지버섯균사체 된장만 38 ppm으로 높았다.

Table 90. The concentration of free sugar in TMCDJ (ppm)

Sugar	Sample ¹⁾				
	CODJ	ABDJ	GLDJ	PLDJ	PODJ
Fructose	638	33	520	47	50
Glucose	- ²⁾	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-
Galactose	3331	3475	3422	4067	4450
Maltose		-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-
Stachyose	22	9	39	11	10
Total	3991	3,517	3,981	4,125	4,510

¹⁾ Mushroom strains used for doenjang preparation. AB;*Agaricus blazei*, GL;*Ganoderma lucidum*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

²⁾ Not detected

다. 간장

7종의 표준당으로 분석하였으나 전처리구에서 galactose, fructose와 starchyose 3개의 당만이 검출되었다 (Table 91). Galactose의 함량은 영지, 신령, 상황 영지버섯균사체간장 순으로 1327, 1285, 1277, 1105 ppm으로 대조구된장의 1278 ppm보다 다소 높거나 낮게 검출되었다. Fructose의 함량은 느타리, 영지, 신령, 상황버섯균사체간장 순으로 4748, 4701, 4124, 4079 ppm으로 대조구간장의 3888 ppm보다 높은 함량으로 검출되었다. Stachyose은 신령버섯균사체간장의 111 ppm 함량을 제외하고는 모두 높거나 같은 함량이었다. 버섯균사체된장의 경우 galactose의 함량이 높은 반면, 버섯균사체간장의 경우는 fructose의 함량이 높았다.

Table 91. The concentration of free sugar in mushroom cultured kanjang (ppm)

Sugar	Sample ¹⁾				
	COKJ	ABKJ	GLKJ	PLKJ	POKJ
Fructose	3888	4124	4701	4079	4748
Glucose	- ²⁾	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-
Galactose	1278	1285	1327	1105	1277
Maltose	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-
Starchyose	899	111	1893	1033	899
Total	6,063	5,520	7,921	6,217	6,924

¹⁾ Mushroom strains used for kanjang preparation. AB; *Agaricus blazei*, GL; *Ganoderma lucidum*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

²⁾ Not detected

11. 결론

버섯균사체된장의 수분함량은 68.6~71.6% 사이로 대조구와 처리구에 따라 큰 차이점을 나타내지 않았다. 버섯균사체간장은 97.9~99.3% 사이로 대조구와 전 처리구에서 별차이를 보이지 않았다.

버섯균사체된장의 조단백함량은 대조구의 1.047 mg-N%과 비슷하였으나 느타리버섯균사체된장은 1.217로 다른 처리구에 비해 높게 나타났다.

버섯간장의 조단백함량은 대조구의 0.716 mg-N%과 비슷하였으나 신령버섯균사체간장은 0.559 mg-N%으로 조단백질 함량이 낮았다.

버섯균사체된장의 조지방함량은 상황, 신령버섯균사체된장은 1.994%로 대조구된장보다 높게 나타났으나, 영지와 느타리버섯균사체된장은 1.423, 1.513%로 대조구보다 낮게 나타났고 신령, 상황, 느타리버섯균사체간장은 0.7639, 0.7639, 0.7410%로 대조구와 비슷하였으나 영지버섯균사체간장은 0.6403% 다소 낮았다

대조구된장과 버섯균사체된장의 지방산 조성비는 비슷하였으나 영지버섯균사체된장의 경우 linoleic acid와 CLA가 다른 처리구에 비해 높게 나타났다. 버섯균사체간장의 지방산 조성비는 영지버섯균사체간장의 경우 oleic acid의 함량이 다소 높았으나 다른 지방산은 큰 차이가 없었다. CLA함량은 버섯균사체된장보다 높았는데 신령과 상황버섯균사체간장에서 1.28%의 CLA가 함유되어 있음을 확인할 수 있었다.

버섯균사체된장과 버섯균사체간장에서 서로 다양한 종류의 향기성분이 검출되었다. 이것은 버섯자체의 고유향기성분 또는 메주와 간장·된장 발효과정에서 생성된 물질인 것으로 생각된다.

버섯균사체된장은 전 처리구에서 모두 18종의 아미노산이 발견되었으나 구성 아미노산의 종류와 그들의 분포는 처리한 버섯균종에 따라 다양하게 나타났다. 각 된장의 주된 아미노산, 총 아미노산의 대조구된장의 아미노산조성은 γ -aminobutyric acid가 136 mg/100 g으로 가장 높고 총 아미노산 함량은 828 mg/100g 이었다. 신령버섯균사체된장에서는 아미노산 총량이 1,727 mg/100 g이었으며, 186 mg/100 g의 leucine이 포함되어있어 가장 많은 아미노산이었다. 영지버섯균사체된장은 γ -aminobutyric acid가 142 mg/100 g로 가장 높은 함량이었고 총량은 839 mg/100 g이었다. 상황버섯균사체된장은 proline이 1,947 mg/100 g이었고 총량은 3,208 mg/100 g이었다. 느타리버섯균사체된장은 glutamic acid가 477 mg/100 g이었고 총량은 2,280 mg/100 g이었다. 상황버섯균사체 된장과 느타리버섯균사체 된장에서 아미노산 함량이 높았다. 버섯균사체간장도 구성아미노산과 그들의 함량은 처리한 버섯균종에 따라 다양하게 나타났다. 대조구간장은 γ -aminobutyric acid가 156 mg/100 g으로 높았고 총아미노산함량은 813 mg/100 g이었다. 신령버섯균사체간장에서는 glutamic acid의 함량이 208 mg/100 g이었고 총아미노산함량은 1,973 mg/100 g이었다. 영지버섯균사체간장에서는 γ -aminobutyric acid가 174 mg/100 g이었고 총 아미노산함량은 9.89 mg/100 g이었다. 상황버섯균사체간장에서는 glutamic acid이 3.45 mg/100 g이었고 총아미노산함량은 26.34 mg/100 g이었다.

상황, 신령, 느타리버섯균사체된장은 20.80, 20.92, 23.68로 대조구보다 낮은 산가를 나타내었으나, 영지버섯균사체된장의 산가는 26.92로 가장 높았다. 느타리, 신령 상황버섯균사체간장은 17.85, 18.15, 20.65로 대조구간장에 비하여 낮은 산가를 나타낸 반면 영지버섯균사체된장은 20.76으로 대조구된장과 비슷한 산가를 나타내었다.

버섯균사체된장의 갈변도는 1.2428~1.6370이었으며 대조구, 영지, 느타리, 상황, 신령버섯균사체 된장 순으로 갈변화도가 심하였다. 버섯균사체 간장의 갈변도의 차이는 0.6417~2.0331까지 있었으며 대조구, 느타리, 신령, 영지, 상황버섯균사체간장 순으로 갈변화도가 심하였다.

버섯버섯균사체된장의 페놀성화합물 함량은 느타리, 신령, 상황, 영지버섯균사체된장 순으로 그 함량은 7.8, 6.9, 6.2, 5.9 mg/g이었고 대조구된장은 6.8 mg/g이었다. 총 이소플라본의 함량은 신령, 느타리, 상황, 영지버섯균사체된장 순으로 1,583.7, 1,463.7, 1,427.2, 1,394.5 $\mu\text{g/g}$ 이었고 대조구된장은 1,538.5 $\mu\text{g/g}$ 이었다. 버섯버섯균사체된장의 경우는 대조구 된장보다 genistein함량이 dzidzein보다 월등히 높았다. 이것은 버섯균사체의 작용으로 생각되어진다. 버섯균사체 간장의 페놀성 화합물의 함량은 1.3 mg/g이었다. 페놀성화합물은 상황, 영지, 대조구버섯균사체간장은 1.3 mg/g이었으며, 신령, 느타리버섯균사체간장은 1.2 mg/g이었다. 총 이소플라본의 함량은 느타리, 신령, 신령, 영지버섯균사체간장 순으로 34.0, 31.0, 26.6, 25.2 $\mu\text{g/g}$ 이었고 대조구 간장은 29.3 $\mu\text{g/g}$ 이었다. 버섯균사체간장의 daidzein과 genistein 함량은 버섯된장보다 매우 낮은 함량이었다

버섯버섯균사체된장 · 간장에서 galactose, fructose, starchyose 3개의 당만이 검출되었다. 당의 함량은 galactose, fructose, srachyose의 순으로 높았다. 버섯간장은 fructose, galactose, starchyose의 순으로 함량이 높았다.

제 5 장 버섯첨가 된장의 생리활성

제 1 절 된장제조

상기 제4장의 방법에 준하여 제조한 재래식메주를 염수에 침지할 때 건조된 버섯자실체(느타리, 상황, 영지, 신령)를 분쇄하여 메주의 1% (w/w)를 첨가하여 재래식된장의 제조방법에 준하여 숙성하였다. 제조된 된장에 관하여 항돌연변이성과 항암성효과를 조사하였다.

제 2 절 생리활성

1. 항돌연변이성

상기 항돌연변이성 실험법에 준하여 재래식된장에서 가장 문제시 될 수 있는 돌연변이성 물질인 AFB1의 돌연변이성 억제실험을 실시하였다. 그 결과 대조구에 비해 약간의 항돌연변이성이 있는 것으로 나타났으나 큰 차이는 없었다. 또한 버섯균사체된장과 비교하였을 때 그 효과는 떨어졌다.

2. Mouse 복수암

상기 복수암 실험방법에 준하여 버섯자실체 (느타리, 영지, 상황, 신령)를 첨가하여 제조한 된장의 복수암 억제실험을 실시하였다. 그 결과 대조구에 비해 약간의 항암성효과는 있었다. 그러나 이 효과는 제4장의 버섯균사체된장의 효과보다는 다소 낮았다.

Table 92. Inhibitory effect of AFB₁'s mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by DJ prepared from TM mixed with the fruit body of mushrooms¹⁾

Treatment ($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
AFB ₁	1210 \pm 29	
CO	815 \pm 25	32
PO	710 \pm 25	41
PL	801 \pm 15	33
GL	730 \pm 22	39
AB	702 \pm 11	42

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 μg AFB₁ and/or 200 μg extract of mushroom-fruit body doenjang extract dissolved in 50 μl DMSO. CO, control, PO, *Pleurotus ostreatus*; PL, *Phellinus linteus*; GL, *Ganoderma lucidum*; and AB, *Agaricus blazei*.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (21 ± 3).

Table 93. Effects of the doenjang prepared from TM mixed with the fruit body of mushrooms on mouse ascites carcinogenesis induced by S-180 cells

Treatment ¹⁾	Mean survival day ²⁾	Survival rate ³⁾	Survival Mouse ⁴⁾
Control	21.8	100	0/10
CO	24.2	111	0/10
PO	26.5	121	0/10
PL	28.1	128	0/10
GL	27.6	126	0/10
AB	27.0	120	0/10

¹⁾ Each treatment was consisted of 10 mice. Each sample containing 400 μ g/g mouse/0.1 ml PBS. Control mice were given S-180 cells and PBS. CO, control doenjang; PO;*Pleurotus ostreatus*; PL;*Phellinus linteus*, GL;*Ganoderma lucidum*; and AB;*Agaricus blazei*

²⁾ Average survival days of mouse until 42 days after treatment.

³⁾ Survival rate = [mean survival days of treatment mice/mean survival day of control mice] \times 100.

⁴⁾ Numbers of mouse survived until 42 days after treatment.

3. 결론

버섯첨가된장의 기능성은 대조된장에 비해 항돌연변이성과 항암성은 인정되었지만, 그 정도는 버섯균사체된장보다 낮았다.

제 6 장 개량식 버섯균사체된장의 생리활성 구명

제 1 절 개량식 메주에 버섯액체균사체의 접종방법

1. 방법

가. 생대두배지에서 접종

대두를 실온에서 18시간동안 물에 불린 후 물끼를 제거하였다. 대두 300 ml을 500 ml 용량의 삼각 flask에 넣고, 각각 65℃에서 180분, 100℃에서 90분, 121℃에서 30분간 가열하여 버섯액체균사체 30 ml (10%, v/v)을 골고루 섞어 접종하였다.

나. 황국균을 배양한 대두배지에 접종

황국균을 배양한 대두를 배지로 이용하였다. 황국균 대두배지 300 ml을 500 ml flask에 넣고, 각각 65℃에서 180분, 100℃에서 60분, 120, 180분, 121℃에서 30분 동안 가열한 후 버섯액체균사체 30 ml (10%, v/v)을 골고루 섞어 접종하였다.

다. 대두배지에 버섯균을 생육시킨 후 황국접종

대두를 실온에서 18시간동안 물에 불린 후 물끼를 제거하였다. 대두 300 ml을 500 ml 삼각 flask에 넣고, 65℃에서 180분, 100℃에서 90분, 121℃에서 30분간 동안 증자하여 버섯액체균사체 30 ml (10%, v/v)을 골고루 섞어 접종하여 버섯균을 대두에 생육시킨 후 황국균 0.2% (w/w)를 접종하였다.

라. 황국균메주의 염수침지 후 버섯균 접종

제조된 황국균메주를 염수에 침지한 다음 버섯균사체 10% (w/v)를 골고루 섞어 접종하여 30일간 숙성시켰다.

2 버섯균사체의 생육

가. 생대두배지에서 접종

65℃에서 180분 가열한 대두배지에서는 균사가 생장하지 못하였다. 또한 저온에서 장시간 살균하는 동안 발생한 수분에 의하여 고온성 세균에 오염되었다. 또한 살균되지 않은 일부분의 대두는 싹이 튀어 균사가 생장하지 못하는 현상이 발생하였다. 100℃에서 60, 120, 180분 가열한 대두배지에서는 대부분 비슷한 생육 현상을 나타내었다. 균사가 서서히 성장하여 3주차에 접어들면서 배지의 대부분에 균사가 생장하였다 (Figure 51). 균사는 생장하였으나 균사생장이 다소 늦는다는 단점이 있었다. 121℃에서 30분 동안 가열한 대두배지에서는 전체적으로 버섯액체균사의 생육정도가 매우 양호하였으며, 2주차에 대부분의 표면에 균사가 생장하였고, 3주차에는 전체적으로 균사가 퍼졌다 (Figure 52).

나. 황국균으로 접종된 대두배지에 접종

65℃에서 180분간 가열한 황국균개량메주는 이미 황국균이 자란 상태여서 버섯액체균사체가 생육하지 못하였다. 100℃에서 90분 가열한 황국균개량메주는 균사가 일부 생육하였으나 65℃ 처리에서와 비슷한 현상을 나타내었다. 121℃에서 30분동안 가열한 황국균 접종배지의 경우 버섯액체균사체가 1, 2주차에는 대두내부로의 생육이 제한되었으나 3주차 이후 균사가 양호하게 성장하였다.

다. 대두에 버섯균을 생육시킨 후 황국균 접종

“가”와 동일하게 생육한 버섯균사체메주에는 버섯균사체가 대두에 활착하여 균사체의 생육이 뛰어 났으나, 이후 황국균의 접종으로 인하여 대두에 활착된 버섯균사체의 조직이 오염되어 버섯균사체가 사멸하는 현상을 보였다.

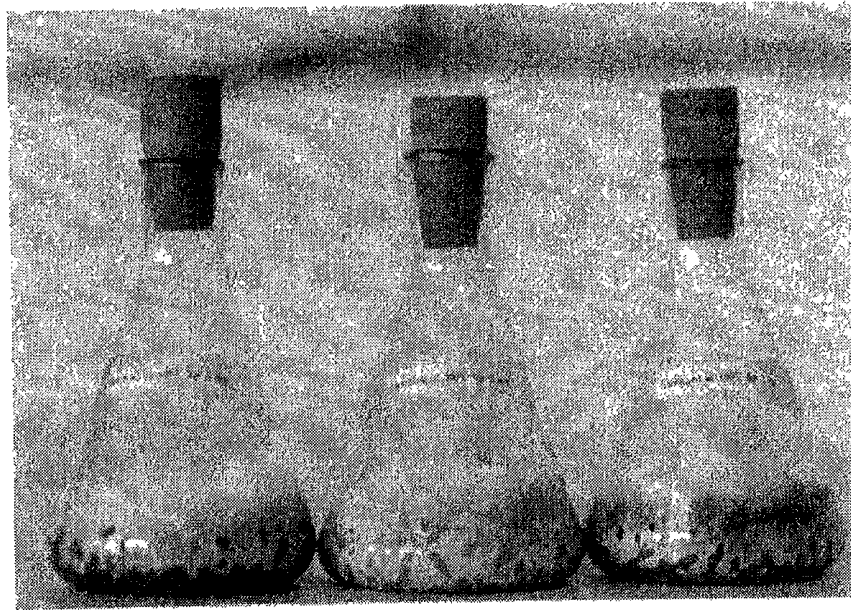


Figure 51. Mushroom mycelia grown for 3 weeks on soybean sample. Left; autoclaved 100°C for 1 hr. middle; autoclaved 100°C for 2 hrs, right; autoclaved 100°C for 3 hr.

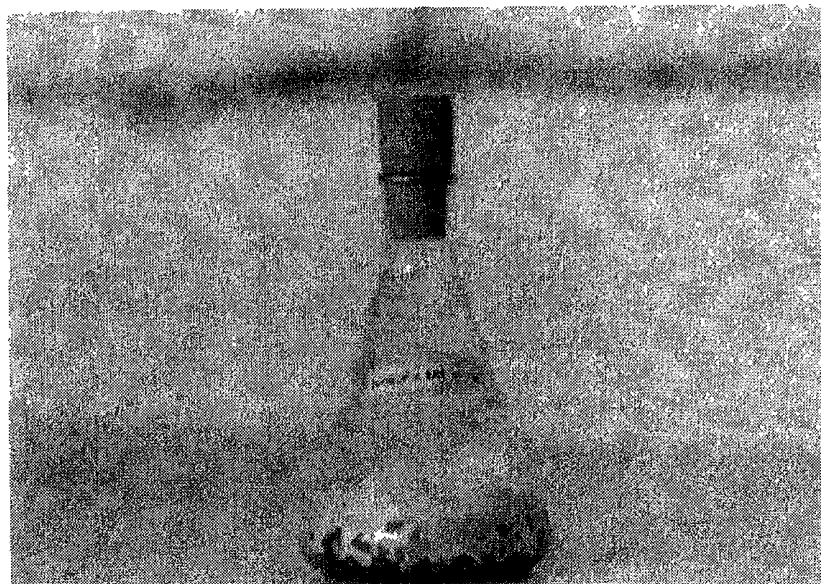


Figure 52. Mushroom mycelia grown for 2 weeks on soybean sample. Autoclaved at 121°C for 30 min.

라. 황국균 메주의 염수 침지 후 버섯균 접종

“나”의 방법으로 제조한 메주를 염수에 침지한 다음 침지액에 대하여 버섯균사체 10% (v/v)를 접종하여 30일간 숙성시켰다. 이때 버섯균사체는 생육하지는 못하였지만 이 방법은 산업적으로 개량식 메주를 생산하는 방법에 버섯균사체를 접종하는 것을 접목한 방법으로 산업적으로 이용이 편리한 방법이다. 개량식메주의 향미를 증가시킬 수 있었으므로, 이미 산업적으로 이용하고 있는 방법에 버섯액체균사체만을 첨가하더라도 버섯균사체액체 배양물 중의 효소작용에 의해 더욱 향미를 증가시킬 수 있음을 시사하였다 (Figure 53).

3. 결론

황국균으로 제조한 개량메주를 염수에 침지한 다음 버섯균사체 액체배양액 10%를 첨가하여 숙성시키는 방법이 메주의 향미와 기능성을 증가시키면서, 산업적으로 이용할 수 있는 방법이었다.

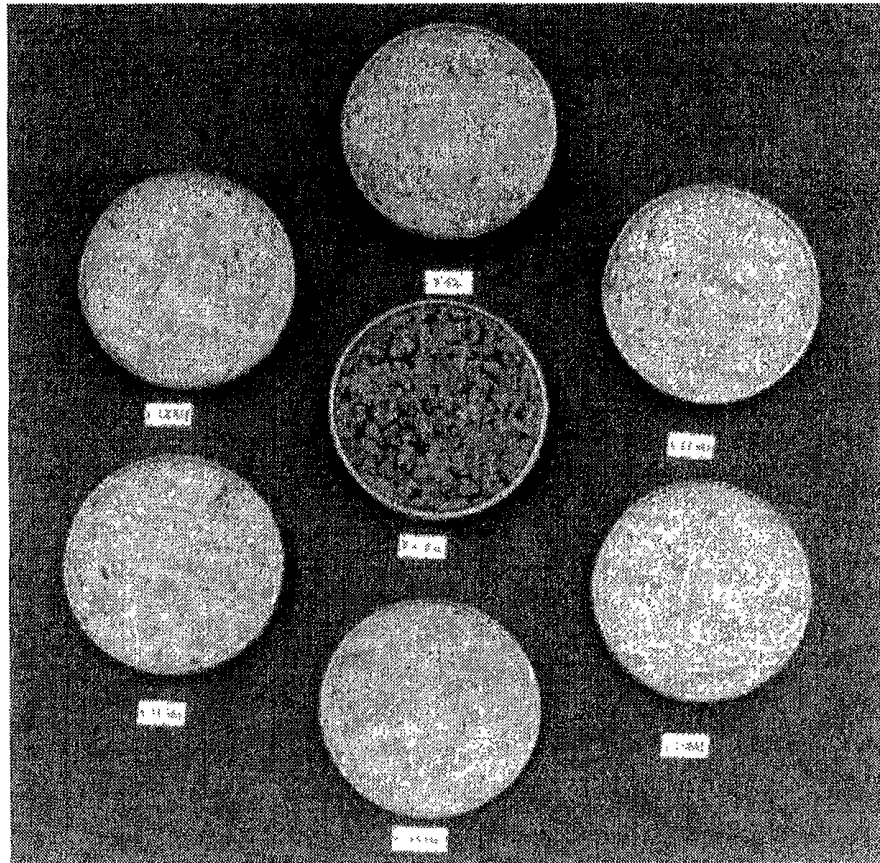


Figure 53. Appearance of IMCDJ. Dish identification (clockwise from top):Control doenjang, LE-IMCDJ, PJ-IMCDJ, PO-IMCDJ, PL-IMCDJ, GF-IMCDJ, center is IMJ in brine solution.

제 2 절 항돌연변이성

1. 실험방법

“제 3 장” “제 3 절”의 항돌연변이 실험방법에 준하여 실험하였다. 시료는 전기 “라”항에서 제조한 버섯균사체된장을 사용하였다.

2. 항돌연변이성

개량식 버섯균사체된장을 5배의 methanol:acetone (1:1, v/v) 용액으로 추출하여 200 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$ DMSO로 조제하여 사용하였다. *S. typhimurium* TA 98균에 대한 항돌연변이 효과를 조사하였다 (Table 94, 95). *S. typhimurium* TA 98의 spontaneous revertant는 13 ± 3 개였다. 돌연변이 유발원 IQ 0.02 μg 처리에 의한 돌연변이수는 평균 993개 였고, AFB₁ 1 μg 처리에 의한 돌연변이수는 평균 1,165개 였다. IQ로 돌연변이를 유발하고 버섯균사체된장 200 μg 을 처리하였을 때, 77.0% (느타리버섯균사체된장)에서 54.9% (상황버섯균사체된장) 범위로 돌연변이 억제효과를 나타내었다 (Table 94). 이것은 대조구된장의 42.4% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. AFB₁으로 돌연변이를 유발하고 버섯균사체된장 추출물 200 μg 처리하였을 때, 56.1%에서 17.6%의 돌연변이 억제 효과를 나타내었다 (Table 95). 이것은 대조구된장 (17.3%)의 돌연변이 효과와 비슷하거나, 그 보다 높은 항돌연변이 효과였다. *S. typhimurium* TA 98에 IQ 처리에 대한 항돌연변이성은 느타리버섯균사체된장이 77.0%로 가장 높았으며, AFB₁ 처리에 대한 항돌연변이 효과는 동충하초버섯균사체된장이 56.1%로 가장 높았다.

S. typhimurium TA 100균에 대한 항돌연변이 효과를 나타내었다 (Table 96, 97). *S. typhimurium* TA 100의 spontaneous revertant는 157 ± 20 개였다. 돌연변이 유발원 IQ 0.02 μg 처리에 의한 돌연변이수는 평균 971개 였고, AFB₁ 1 μg 처리에 의한 돌연변이수는 평균 942개 였다. IQ로 돌연변이를 유발시킨 다음 버섯균사체된장 추출물 200 μg 을 처리하였을 때, 22.2%에서 15.1%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다 (Table 96). 이것은 대조구된장의 9.4% 보다 항돌연변이 효과가 높았다. AFB₁으로 돌연변이를 유발시킨 다음 버섯균사체된장 200 μg 을 처리하였을 때, 14.4%에서 8.4%의 항돌연변이 효과를 나타내었다 (Table 97). 이것은 대조구의 6.5% 보다 높은 항돌연변이 효과였다. *S. typhimurium* TA 100에 IQ 처리에 대한 항돌연변이성은

상황버섯균사체된장이 22.2%로 가장 높았으며, AFB₁ 처리에 대한
 항돌연변이성은 잎새버섯균사체된장이 14.4%로 가장 높았다.

Table 94. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98
 by IMCDJ¹⁾

Treatment($\mu\text{g}/\text{plate}$) ²⁾	Revertant/plate	Inhibition (%)
	Avg \pm S.D. ³⁾	
IQ	993 \pm 105	
Control ⁴⁾	572 \pm 30	42.4
LE ⁵⁾	264 \pm 12	73.4
GF	248 \pm 17	75.0
PJ	336 \pm 27	66.2
PL	448 \pm 95	54.9
PO	228 \pm 43	77.0

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 200 μg extract of mushroom cultured doenjang dissolved in 50 μl DMSO.

³⁾ Mean \pm S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (13 \pm 3).

⁴⁾ Doenjang fermented by improved method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured with doenjang. GF; *Grifola frondosa*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

Table 95. Inhibitory effect of AFB₁ mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by IMCDJ¹⁾

Treatment ²⁾	Revertant/plate ³⁾	Inhibition (%)
AFB ₁	1165 ± 70	
Control ⁴⁾	964 ± 35	17.3
LE ⁵⁾	920 ± 39	21.0
GF	903 ± 49	22.5
PJ	512 ± 21	56.1
PL	960 ± 18	17.6
PO	691 ± 27	40.7

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 µg AFB₁ and/or 200 µg extract of mushroom cultured doenjang dissolved in 50 µl DMSO.

³⁾ Mean ± S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (13 ± 3).

⁴⁾ Doenjang fermented by improved method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured on doenjang. GF; *Grifola frondosa*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

Table 96. Inhibitory effect of IQ's mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by IMCDJ¹⁾

Treatment ²⁾	Revertant/plate ³⁾	Inhibition (%)
IQ	971 ± 34	
Control ⁴⁾	880 ± 25	9.4
LE ⁵⁾	757 ± 47	22.0
GF	793 ± 50	18.3
PJ	824 ± 57	15.1
PL	755 ± 35	22.2
PO	759 ± 56	21.8

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 0.02 µg IQ and/or 200 µg extract of mushroom cultured doenjang dissolved in 50 µl DMSO.

³⁾ Mean ± S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (157 ± 20).

⁴⁾ Doenjang fermented by improved method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured on doenjang. GF; *Grifola frondosa*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

Table 97. Inhibitory effect of AFB₁ mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by IMCDJ¹⁾

Treatment ²⁾	Revertant/plate ³⁾	Inhibition (%)
AFB ₁	942 ± 17	
Control ⁴⁾	881 ± 43	6.5
LE ⁵⁾	845 ± 30	10.3
GF	806 ± 59	14.4
PJ	863 ± 30	8.4
PL	852 ± 62	9.6
PO	814 ± 52	13.6

¹⁾ Antimutagenicity assay was based on the preincubation method described by Maron and Ames. S9 fraction was prepared from the liver of Sprague-Dawley male rat injected with Arochlor 1254 (500 mg/kg body weight).

²⁾ Each plate contained 1 µg AFB₁ and/or 200 µg extract of mushroom cultured doenjang dissolved in 50 µl DMSO.

³⁾ Mean ± S.D. of triplication was obtained by subtraction of spontaneous revertants (157 ± 20).

⁴⁾ Doenjang fermented by improved method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured on doenjang. GF; *Grifola frondosa*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

3. 결론

S. typhimurium TA 98에 IQ를 처리한 후 버섯균사체된장 200 μ g을 처리한 것 중 느타리버섯균사체된장 처리구가 77.0%로 가장 높은 항돌연변이 효과를 나타내었고, AFB₁ 처리에는 동충하초버섯균사체된장이 56.1%로 가장 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다. *S. typhimurium* TA 100에 IQ를 처리한 후 버섯균사체된장 추출물 200 μ g을 처리한 것 중 표고와 상황버섯균사체된장 처리구가 22.2%로 가장 높은 항돌연변이성을 나타내었고, AFB₁ 처리에는 잎새버섯균사체된장이 14.4%로 가장 높은 항돌연변이성을 나타내었다

제 3 절 항암성

1. 세포독성

가. 실험방법

“제 3 장” “제 4 절”의 항암성 실험 방법에 준하여 실시하였다. 시료는 전기 “라”항에서 제조한 버섯균사체된장을 사용하였다. 버섯균사체된장 g당 5배의 methanol:acetone (1:1, v/v) 용액으로 추출, 원심분리한 후 용매를 제거하여 시료로 사용하였다.

나. S-180 cell에 대한 세포독성

버섯균사체된장의 세포독성을 시험한 결과를 Table 98에 나타내었다. Well plate (24)에 S-180 cell을 초기 5×10^4 cells/ml DMEM배지를 넣어 5% CO₂ incubator에서 48 시간 배양시킨 후 대조구에서 S-180 세포는 69.3 cells/ml로 성장하였다. S-180 cell에 대한 세포독성 값을 ED₅₀값으로 나타내었다 (Table 22). 대조구된장 10, 20, 30 μ g/ml을 처리하였을 경우

초기에 처리된 S-180 세포 5×10^4 cells/ml로 부터 각 62.7, 57.7, 50.3×10^4 cells/ml로 성장하였다. 대조구의 성장률을 100%로 보았을 때 그 성장률은 각각 89.7, 82.0, 70.5%였다. 이것의 ED₅₀값은 112.2 μ g/ml이었다.

버섯균사체된장의 세포독성은 상황, 동충하초, 잎새 느타리, 표고버섯균사체된장 순으로 각각 33.4, 37.8, 45.3, 48.5, 97.6 μ g/ml 이었다. 이것은 대조구된장의 112.2 μ g/ml보다 뛰어난 효과였다. 이상의 결과로 볼 때, 버섯균사체된장의 경우가 대조구된장에 비하여 세포독성 효과가 크다는 사실을 확인하였다. 이것은 버섯균사체가 성장하면서 배출한 물질 또는 버섯균사체의 작용에 의해 배지로부터 생성된 물질에 의한 효과일 것으로 생각된다.

2. 항암성

가. 동물실험

Female ICR mouse (6~7주령)는 β -chip이 깔린 polycarbonate cage (9 mice/cage)에서 mouse용 pellet 사료로 1주일동안 예비사육하여 체중이 25 ± 1 g인 것을 실험에 사용하였다. 온도와 습도가 조절되는 시설에 물과 음식을 자유롭게 먹도록 하였고, 조명은 12시간 간격의 light-and-dark cycle을 유지하여 자연조명에 가깝게 하였으며, 사육실의 온도는 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 60%로 조절하였다. Female ICR mouse 복강에서 계대 배양된 S-180 세포는 복강액을 0.85% ammonium chloride 용액에 혼합한 다음 원심분리 (1,500 rpm, 2 min, 2 times)하였다. 분리된 S-180 세포에 PBS용액을 가하여 조제한 세포 부유액 (1×10^7 cell/ml) 0.1 ml을 mouse의 복강에 주사하여 복수암을 유발하였다. 복수암 유발 후 2일마다 조제한 시료 0.1 ml (각각의 버섯균사체된장 300 μ g/g body weight)을 mouse의 복강에 주사하였다. Control mouse에게는 PBS만 0.1 ml 투여하였다. S-180 세포를 복강 투여 한 후 3일 간격으로 mouse의 무게와 사료 섭취량을 조사하여 42일 동안 생존한 mouse의 수와 생존일수를 조사하였다.

나. 수명연장 효과

Mouse 복수암 세포 S-180 cell을 mouse의 복강에 투여하여 복수암을 유발한 mouse에 대한 버섯균사체된장의 수명연장 (평균 생존일) 및 생존율에 미치는 효과를 수행하였다 (Table 99). 느타리버섯균사체된장을 처리한 mouse의 평균수명은 31.3일로 대조구된장의 평균수명 21.9에 비해 43%의 수명연장효과를 나타내었다. 그리고 최종 2마리가 생존하여 생존율은 80%였다. 수명연장 효과는 느타리, 상황, 동충하초, 표고, 잎새버섯균사체된장의 순으로 각각 43, 32, 23, 19, 19%의 수명연장효과를 나타내었다. 이것은 대조구된장의 17%에 비해 높은 수명연장효과이다. 느타리버섯균사체된장 처리구에서 2마리, 동충하초버섯균사체된장 처리구에서 1마리가 최종적으로 생존하였다 (Figure 54). 24일 경과 후 살아남은 mouse의 평균몸무게는 처리간에 차이가 없었다 (Figure 55).

Table 98. Cytotoxicity of IMCDJ for mouse S-180 ascites cancer cells¹⁾

Treatment	Doses ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Growth of Cells ($\times 10^4$ cells/ ml) ²⁾	Growth Ratio (%)	ED ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ³⁾
Control ⁴⁾	10	62.7 \pm 2.5	89.7	112.2
	20	57.7 \pm 1.5	82.0	
	30	50.3 \pm 1.4	70.5	
GF ⁵⁾	10	58.0 \pm 1.4	82.4	45.3
	20	50.3 \pm 1.5	70.5	
	30	42.0 \pm 0.7	57.5	
LE	10	57.3 \pm 1.4	81.3	97.6
	20	53.7 \pm 1.4	75.7	
	30	46.7 \pm 4.7	64.9	
PJ	10	57.7 \pm 2.1	82.0	37.8
	20	47.0 \pm 3.6	65.3	
	30	40.7 \pm 1.4	55.5	
PL	10	52.0 \pm 1.4	73.1	33.4
	20	45.7 \pm 1.0	63.3	
	30	37.3 \pm 2.1	50.2	
PO	10	58.0 \pm 2.6	82.4	48.5
	20	50.0 \pm 1.4	70.0	
	30	43.0 \pm 2.6	59.0	

¹⁾ DMEM was used for culture of S-180 cells as a medium.

²⁾ Initial cell concentration was 5×10^4 cells/ ml DMEM. Control cell concentration was 69.3×10^4 cells/ ml DMEM.

³⁾ ED₅₀ was calculated by $B \text{ (slope)} = N(X_i \cdot Y_i) - (X_i)(Y_i) / N (X_i)^2 - (Y_i)^2$, $A \text{ (intercept)} = Y_i/N - B \cdot X_i/N$ [N = number of point selected, X_i = log does, Y_i = growth rate calculated does)].

⁴⁾ Doenjang fermented by improved method.

⁵⁾ Mushroom strains cultured on doenjang. GF; *Grifola frondosa*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

Table 99. Effects of IMCDJ on mouse ascites carcinogenesis induced by S-180 cells

Treatment ¹⁾	Mean survival day ²⁾	Survival rate ³⁾ (%)	Survival Mouse ³⁾
Control	21.9	100	0/10
Po-Control ⁵⁾	25.6	117	0/10
LE ⁶⁾	26.0	119	0/10
GF	26.0	119	0/10
PJ	26.9	123	1/10
PL	28.9	132	0/10
PO	31.3	143	2/10

¹⁾ Each treatment was consisted of 10 mice. All the sample containing 300 $\mu\text{g/g}$ mouse/0.1 ml PBS. Control mice were given S-180 cells and PBS.

²⁾ Average survival days of mouse until 42 days after treatment.

³⁾ Survival rate = [mean survival days of treatment mice/mean survival day of control mice] \times 100.

⁴⁾ Numbers of mouse survived until 42 days after treatment.

⁵⁾ Doenjang fermented by improved method.

⁶⁾ Mushroom strains cultured on doenjang. GF;*Grifola frondosa*, LE;*Lentinus edodes*, PJ;*Paecilomyces japonicus*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

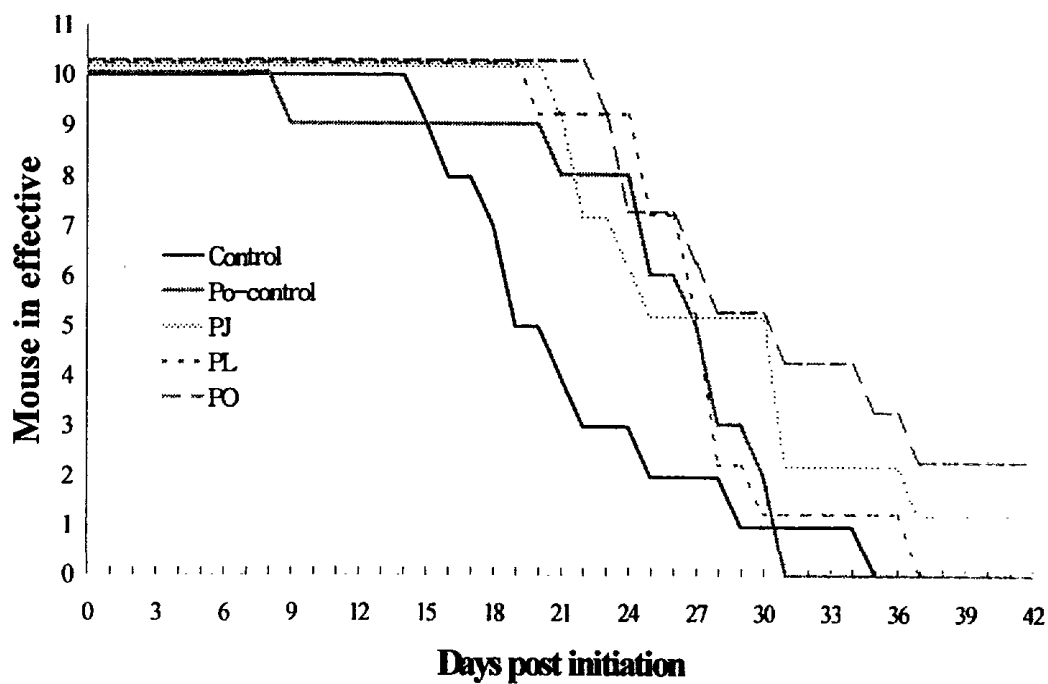


Figure 54. Effect of IMCMJ on the survival days of mice induced by S-180 ascites cancer cell. Extract of IMCMJ (300 $\mu\text{g/g}$ body weight) was injected i.p. for 10 consecutive days

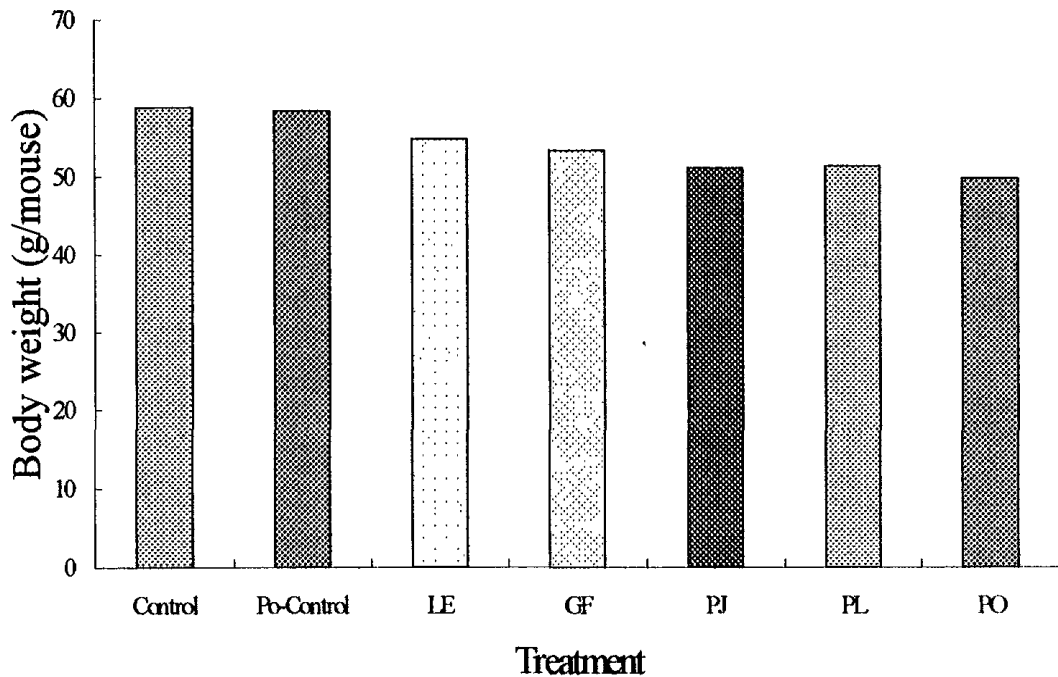


Figure 55. Effect of IMCMJ on the body weight of mice induced by S-180 cell. Each treatment group was consisted of 10 mice.

3. 결 론

세포독성이 가장 강한것은 상황, 동충하초, 잎새, 느타리, 표고버섯균사체된장 순으로 각각 33.4, 37.8, 45.3, 48.5, 97.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 대조구된장의 112.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 보다 효과가 뛰어났다.

버섯균사체된장의 mouse 복수암에 대한 수명연장효과는 느타리버섯균사체된장 처리구에서 43%로 가장 높은 수명연장효과를 나타내었다. 그 다음, 상황버섯균사체된장이 뛰어난 수명연장효과를 보였다. 느타리버섯균사체된장은 2마리, 동충하초버섯균사체된장은 1마리가 최종 생존하였다.

제 4 절 향미 및 물리성

1. 관능검사

가. 관능검사방법

“제 3 장” “제 5 절”의 향미검사방법에 준하여서 실시하였다.

나. 된장과 된장국의 관능

1) 된장의 관능

버섯균사체된장의 관능검사에서 상황버섯균사체된장의 기호도가 5.6으로 가장 높았다 (Table 100). 이것은 대조구된장의 4.1보다 높은 수치이며, 동충하초버섯균사체된장의 4.8과 느타리버섯균사체된장의 5.0보다 높은 점수이다. 그리고 향미, 버섯향, 불쾌치, 색도, 짭은맛, 감미도에서 동충하초버섯균사체된장이 높은 점수를 받았다.

2) 된장국의 관능

버섯균사체된장을 가열하여 국을 끓였을 경우에는 느타리버섯균사체된장이 5.0으로 가장 뛰어난 기호성을 나타내었다 (Table 101). 이것은 대조구된장국의 3.9보다 높은 점수이다. 그리고 향미, 버섯향, 불쾌치, 색도, 짭은맛, 감미에서 느타리, 상황, 동충하초균사체된장의 순으로 기호도가 좋았다.

Table 100. Odor, taste and acceptability of IMCDJ

	Doenjang			
	Control ¹⁾	PJ ²⁾	PL	PO
Aroma	4.3 ± 1.7	5.8 ± 2.2	4.1 ± 1.6	5.1 ± 1.7
Flavor	4.8 ± 1.7	5.6 ± 1.7	5.8 ± 1.4	5.8 ± 1.8
Mushroom flavor	3.8 ± 2.2	4.3 ± 2.4	4.6 ± 2.4	4.2 ± 2.5
Off-Flavor	3.3 ± 2.3	3.9 ± 2.4	3.6 ± 2.0	4.3 ± 2.6
Color	5.1 ± 2.3	6.1 ± 1.9	6.6 ± 2.5	6.7 ± 1.7
Tartness	4.4 ± 1.7	3.6 ± 1.2	4.4 ± 1.9	4.4 ± 1.1
Sweet taste	3.4 ± 1.7	4.6 ± 1.9	4.5 ± 1.9	4.0 ± 1.7
Acceptability	4.1 ± 1.7	4.8 ± 1.7	5.6 ± 1.7	5.0 ± 2.1

¹⁾ Doenjang fermented by improved method.

²⁾ Mushroom strains cultured with doenjang. PJ;*Paecilomyces japonicus*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

Table 101. Odor, taste and acceptability of IMCDJ

	Doenjang soup			
	Control ¹⁾	PJ ²⁾	PL	PO
Aroma	3.7 ± 1.5	3.9 ± 1.4	5.8 ± 2.0	4.3 ± 2.1
Flavor	5.1 ± 1.3	4.4 ± 1.8	5.6 ± 2.0	5.3 ± 2.6
Mushroom flavor	3.4 ± 1.6	3.5 ± 1.0	3.5 ± 1.6	4.6 ± 1.5
Off-Flavor	5.3 ± 1.3	4.6 ± 1.2	5.6 ± 1.9	6.4 ± 1.6
Color	5.9 ± 1.6	4.6 ± 1.3	5.8 ± 1.6	5.2 ± 1.3
Tartness	4.0 ± 2.0	4.3 ± 1.6	4.6 ± 1.3	5.3 ± 1.6
Sweet taste	4.7 ± 2.2	4.7 ± 1.8	5.4 ± 1.6	5.4 ± 2.0
Acceptability	3.9 ± 2.4	4.5 ± 1.0	4.7 ± 1.0	5.0 ± 2.2

¹⁾ Soup prepared with doenjang fermented by improved method.

²⁾ Mushroom strains cultured with doenjang. PJ;*Paecilomyces japonicus*, PL;*Phellinus linteus*, PO;*Pleurotus ostreatus*.

2. 색도

가. 실험방법

색도는 Colormeter (DP-301, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였으며, 이때 사용한 표준백색판의 scale은 Lightness (L^*) = 89.2, Redness (a^*) = 0.921, Yellowness (b^*) = 0.783 이었다.

나. 색도

개량식버섯균사체된장의 색도는 lightness 41.96, redness 3.24, yellowness 9.86 이었다. 각각의 버섯균사체된장의 색도를 Table 102에 나타내었다. 30일간 숙성되는 동안 lightness와 yellowness는 증가하였으며, redness는 감소하였다. 대조구와 버섯균사체 처리구간에 lightness와 yellowness는 차이가 없었으나 느타리버섯균사체된장의 redness가 약간 높았다.

Table 102. Color value of IMCDJ

	Lightness	Redness	Yellowness
Control I ¹⁾	41.96 ± 1.19	3.24 ± 0.26	9.86 ± 0.64
Control II ²⁾	44.16 ± 0.16	3.36 ± 0.15	12.55 ± 0.14
PJ ³⁾	43.69 ± 0.39	4.53 ± 0.12	13.01 ± 0.19
PL	43.97 ± 1.52	4.56 ± 0.58	13.12 ± 1.10
PO	44.01 ± 2.92	5.20 ± 0.16	12.96 ± 0.74

¹⁾ Doenjang fermented by improved method and then stored at 0°C until measurement was carried out.

²⁾ Doenjang fermented by improved method and then stored for 30 days at room temperature.

³⁾ Mushroom strains cultured with doenjang. PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

3. 물리성

가. 실험방법

경도 (Hardness), 부착성 (Adhesiveness), 응집성 (Cohesiveness), 탄력성 (Springness), 점성 (Gumness), 파쇄성 (Brittleness)의 물성은 Rheometer (COMPAC-100, Sun scientific, Japan)를 이용하여 측정하였다.

나. 물리성

물질을 변형시킬 때 필요한 힘을 나타내는 경도 (hardness)는 positive-control이 숙성된 된장보다 높게 나타났다. 버섯균사체된장의 경우 대조구된장 (28.601 g/cm²)보다 적게 나타났다. 느타리버섯균사체된장은 11.874 g/cm²로 가장 낮은 값을 나타내었다. 이것은 숙성과정에서 연화가 일어났다는 증거가 된다. 물체의 표면과 표면이 부착되어 있는 것을 분리시키는데 필요한 힘을 나타내는 부착성 (adhesiveness)은 숙성된 된장에서 높은 수치를 나타내었다. 또한 버섯균사체된장은 대조구의 -128 g보다 높은 부착성을 가졌다. 된장의 조직이 연화되어 표면적이 넓어진 것이 원인인 것 같다. 식품의 형태를 구성하는 내부적 결합력을 나타내는 응집성 (cohesiveness)도 숙성된 된장에서 높은 수치를 나타내었다. 물체에 외부로부터 힘을 가한 후 생긴 변형이 힘의 제거 시 원상 복귀하는 성질을 나타내는 탄력성 (springness)은 버섯균사체 된장처리구에서 대조구에 비해 훨씬 높은 수치를 나타내었다. 반고체 식품을 삼킬 수 있도록 씹는데 필요한 힘을 나타내는 점성 (gumness)은 최초의 된장보다 숙성된 된장에서 낮은 값을 나타내었다. 그러나 버섯균사체 처리구에서 동충하초, 느타리, 상황버섯균사체된장의 순으로 탄력성이 높았으며, 이는 대조구 (104.514 g)보다 높은 수치였다. 부서지는 성질을 나타내는 파쇄성 (brittleness)은 숙성전 된장 139.942 g과 대조구된장의 67.657 g 보다 높게 나타났다. 처리 농도별로는 농도가 낮을수록 높은 값을 나타내었다.

Table 103. Physical character of IMCDJ

	Control I ¹⁾	Control II ²⁾	PJ ³⁾	PL	PO
Hardness (g/cm ²)	50.632	28.601	27.744	15.121	11.874
Adhesiveness (g)	-247	-128	-109	-112	-94
Cohesiveness (%)	28.264	26.194	44.308	40.185	50.227
Springness (%)	57.239	64.735	330.721	267.047	278.655
Gumminess (g)	244.486	104.514	154.635	106.088	132.598
Brittleness (g)	139.942	67.657	511.412	371.128	369.492

¹⁾ Doenjang fermented by improved method and then stored at 0℃ until measurement was carried out.

²⁾ Doenjang fermented by improved method and then stored for 30 days at room temperature.

³⁾ Mushroom strains cultured with doenjang. PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

4. 결 론

개량식버섯균사체된장은 상황, 느타리, 동충하초버섯균사체된장 처리구순으로 높은 평가를 받았다. 국을 끓였을 때는 느타리, 상황, 동충하초버섯균사체된장의 순으로 기호성이 좋았으며 대조구에 비하여 높은 평가점수를 받았다. 이것은 버섯 특유의 향미성분이 메주의 향미성분과 어우러져 향미가 좋아진 것으로 생각되며, 가열조건도 버섯균사체된장의 향미에 영향을 주는 것으로 생각된다. 버섯균사체된장의 색도에 있어서 느타리, 상황, 동충하초균사체된장이 대조구된장에 비하여 lightness, redness, yellowness가 증가하였다. 버섯균사체된장의 물리성, 경도, 부착성, 응집성, 탄력성, 점성, 파쇄성등에서 대조구보다 높거나 낮았다.

제 5 절 미생물검사

1. 검사방법

“제 3 장” “제 6 절”의 방법에 준하여 측정하였다.

2. 미생물군

대조구에서 검출된 호기성세균, 혐기성세균 수는 6.4×10^6 cfu/g, 9.6×10^4 cfu/g 이하였다. 혐기성세균수는 대조구와 개량식매주구에서 10^6 cfu/g으로 시료구간에 차이가 많았으며 유산균의 비율이 높았다. 잎새버섯과 상황버섯에서 각각 4.8×10^3 , 4.0×10^2 의 효모가 검출되었으며 다른 처리구에서는 발견되지 않았다. 전처리구에서 곰팡이는 검출되지 않았다 (Table 104).

Table 104. Microflora in IMDJ (cfu/g)

	Yeast	Fungi	Aerobic bacteria	Anaerobic bacteria
Control I ¹⁾	— ²⁾	—	6.4×10^6	9.6×10^4
GF ³⁾	4.8×10^3	—	9.8×10^6	8.0×10^4
LE	—	—	2.4×10^6	1.2×10^4
PJ	—	—	6.1×10^6	8.4×10^4
PL	4.0×10^2	—	4.8×10^6	2.4×10^4
PO	—	—	1.9×10^6	1.6×10^4

¹⁾ Doenjang fermented by improved method at room temperature for 30 days.

²⁾ Not detected.

³⁾ Mushroom strains cultured with doenjang. GF; *Grifola frondosa*, LE; *Lentinus edodes*, PJ; *Paecilomyces japonicus*, PL; *Phellinus linteus*, PO; *Pleurotus ostreatus*.

제 7 장 적 요

I. 재래식 버섯균사체 메주

1. 재래식버섯균사체메주 제조

기능성이 강화된 재래식·개량식 버섯균사체메주와 간장을 생산하기 위하여 PDA 배지에서 생육정도가 양호한 7종의 버섯균 (느타리, 영지, 동충하초, 신령, 잎새, 영지, 표고, 상황버섯)을 대두박 0.4%, 황백당 2%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, KH_2PO_4 0.05%이 함유된 액체배지에 24℃, 7일간 진탕배양 (120 rpm)하였다. 이들 버섯균사체액체배양액 (SMC)을 재래식방법으로 제조된 메주 (IM) 가루에 접종하여 배양한 결과 모두 생육이 가능하였다.

SMC를 재래식메주에 접종하는 방법 중 메주 각면에 구멍 (1×3 cm)을 만들고 그 구멍에 접종 (메주무게의 10%)하여 배양하는 방법이 가장 이용 가능한 방법이었다. 이 방법을 사용하여 버섯균사체메주(TMCM)를 생산하였다.

2. 기능성

TMCM 중 기능성 (항돌연변이성 및 항암성)과 관능검사 결과 우수한 것은 영지, 신령, 상황, 느타리버섯균으로 제조한 TMCM이었다. 따라서 이들 TMCM으로부터 버섯균사체된장(TMCDJ)과 버섯균사체간장 (TMCKJ)을 제조하였다.

II. 제래식버섯균사체 된장 및 간장

1. 기능성

TMCSJP는 *S. typhimurium* TA 98에 대해 0.02 μg IQ처리에서 신령버섯균사체된장은 26.7~62.0%, 1 μg AFB₁처리에는 느타리버섯균사체된장은 28.7~50.8%, *S. typhimurium* TA 100에 대해 0.02 μg IQ처리에서 상황버섯균사체된장은 19.6~41.4, 1 μg AFB₁처리에서 상황버섯균사체된장이 20.9~39.4%로 가장 뛰어난 항돌연변이 효과를 나타내었다. TMCKJ는 *S. typhimurium* TA 98에 대해 0.02 μg IQ처리에서 영지버섯균사체간장은 25.7~58.5%, 1 μg AFB₁처리에는 신령버섯균사체간장은 21.3~46.7%, *S. typhimurium* TA 100에 대해 0.02 μg IQ처리에서 신령버섯균사체간장은 21.0~58.0%, 1 μg AFB₁처리에서 신령버섯균사체간장은 22.7~50.1%로 가장 뛰어난 항돌연변이성을 나타내었다.

TMCDJ는 S-180 cell에 대한 세포독성에서 버섯균사체된장의 ED₅₀값은 상황, 느타리, 신령, 영지버섯균사체된장이 각각 22.0, 24.2, 24.8, 26.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. TMCKJ의 ED₅₀값은 느타리, 신령, 영지 상황버섯균사체간장이 각각 13.3, 17.3, 19.4, 20.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 또한 신령버섯균사체된장은 25%, 영지버섯균사체된장은 19~30%, 상황버섯균사체된장은 24~26%, 느타리버섯균사체된장은 21~33%의 수명연장 효과를 나타내었다. 이것은 대조구 된장의 11% 보다 우수한 항암효과였다. TMCKJ는 신령버섯균사체간장은 32~39%, 영지버섯균사체간장은 33~37%, 상황버섯균사체간장은 38~40%, 느타리버섯균사체간장은 49~46%의 수명연장 효과를 나타내었다. 이것은 대조구 간장의 15%의 수명연장효과 보다 우수한 항암효과였다.

면역증강효과는 LPS 처리 24시간 후의 몸무게의 저하정도가 -2.98~-3.21 g 범위였으며 TMCDJ의 농도가 증가할수록 증가하였다. 이것은 대조구된장 -3.35 g과 control -3.51 g 보다 높은 체중감소 저해효과였다. TMCKJ에서는

-2.73~3.16 g 범위였었다. 이것은 대조구간장 -3.23 g과 control -3.51 g보다 높은 체중감소 저해효과였다.

항산화성 효과는 신령, 상황, 영지, 느타리버섯균사체된장의 농도가 증가할수록 malonedialdehyde (MA)의 생성을 억제하였다. 이는 대조구된장에 비하여 높은 항산화성을 나타내었으나 BHT 5 mg 처리구보다는 낮았다. 산화유도물질 처리에 있어서는 모든 TMCDJ와 TMCKJ 처리는 Asc/Fe와 NADP/Fe처리구에 대해서는 높은 항산화성을 보였으나, ABIN이나 CuOOH는 산화를 억제시키는 작용이 다소 약하게 나타났다.

체중감소효과는 대조구, 신령, 영지, 상황, 느타리버섯균사체 간장·된장 모든 처리구에서 대조구와 비교하여 mouse의 몸무게 증가량의 차이점 거의 없었다.

2. Sensory 검사

TMCDJ은 향미, 풍미, 버섯향, 불쾌치, 색도, 짭은맛, 감미에서 전체적으로 상황, 느타리, 신령, 영지버섯균사체된장 순으로 6.4, 6.0, 5.1, 4.9의 기호성은 나타내었다. 이것은 대조구된장의 4.6 보다 높은 기호성이었다. TMCK은 느타리, 상황, 신령, 영지버섯균사체 간장 순으로 6.6, 6.2, 5.8, 5.4의 기호성을 나타내었다. 이것은 대조구간장의 5.0보다 기호도가 높았다.

3. 주요성분

조단백질함량은 느타리버섯균사체된장은 1.217 mg-N%로 다른 처리구에 비해 높게 나타났고 신령버섯균사체간장은 0.559 mg-N%으로 조단백질 함량이 낮았다. 조지방함량은 상황, 신령버섯균사체된장은 1.994%로 대조구된장보다 높게 나타났으나, 영지와 느타리버섯균사체된장은 1.423, 1.513%로 대조구보다 낮게 나타났고 신령, 상황, 느타리버섯균사체간장은 0.7639, 0.7639, 0.7410%로 대조구와 비슷하였으나 영지버섯균사체간장은 0.6403% 다소 낮았다. 또한 대조구된장과 버섯균사체된장 처리구의 지방산조성비는 비슷하였으나 버섯균사체된장과 버섯균사체간장에서 서로 다양한 종류의 향기성분이

검출되었다. 이것은 버섯자체의 고유향기성분 또는 메주와 간장·된장 발효과정에서 생성된 물질인 것으로 생각된다.

TMCDJ의 전 처리구에서 모두 18종의 아미노산이 발견되었으나 구성 아미노산의 종류와 그들의 분포는 처리한 버섯균종에 따라 다양하게 나타났다. 상황과 느타리버섯균사체된장에서 아미노산 함량이 높았다. TMCSS도 구성아미노산과 그들의 함량은 처리한 버섯균종에 따라 다양하게 나타났다.

상황, 신령, 느타리버섯균사체된장은 20.80, 20.92, 23.68로 대조구보다 낮은 산가를 나타내었으나, 영지버섯균사체 된장의 산가는 26.92로 가장 높았다. 느타리, 신령 상황버섯균사체간장은 17.85, 18.15, 20.65로 대조구에 비하여 낮은 산가를 나타낸 반면 영지버섯균사체된장은 20.76으로 대조구된장과 비슷한 산가를 나타내었다.

버섯균사체된장의 갈변도는 1.2428~1.6370이었으며 대조구, 영지, 느타리, 상황, 신령버섯균사체 된장 순으로 갈변화도가 심하였다. 버섯버섯균사체 간장의 갈변도의 차이는 0.6417~2.0331까지 있었으며 대조구, 느타리, 신령, 영지, 상황버섯균사체 간장 순으로 갈변화도가 심하였다.

TMCDJ의 페놀성화합물 함량은 느타리, 신령, 상황, 영지버섯균사체된장 순으로 그 함량은 7.8, 6.9, 6.2, 5.9 mg/g이었고 대조구된장은 6.8 mg/g이었다. 총 이소플라본의 함량은 신령, 느타리, 상황, 영지버섯균사체된장 순으로 1,583.7, 1,463.7, 1,427.2, 1,394.5 $\mu\text{g/g}$ 이었고 대조구 된장은 1,538.5 $\mu\text{g/g}$ 이었다. TMCSS의 페놀성 화합물의 함량은 1.3 mg/g이었다. 페놀성화합물은 상황, 영지, 대조구버섯균사체간장은 1.3 mg/g이었으며, 신령, 느타리버섯균사체간장은 1.2 mg/g이었다. 총 이소플라본의 함량은 느타리, 신령, 신령, 영지버섯균사체간장 순으로 34.0, 31.0, 26.6, 25.2 $\mu\text{g/g}$ 이었고 대조구간장은 29.3 $\mu\text{g/g}$ 이었다.

TMCDJ과 TMCKJ에서 galactose, fructose, starchyose 3개의 당이 검출되었다.

III. 버섯자실체 된장

재래식 메주를 침질할 때 버섯자실체 (느타리, 영지, 상황, 신령) 건조물을 1% (w/w) 첨가하여 된장을 조제하고 항돌연변이성과 항암성을 조사하였다. 대조구에 비해 약간의 효과가 있었으나 버섯균사체 된장에 비해 그 효과가 다소 낮았다.

IV. 개량식버섯균사체 된장

1. 개량식버섯균사체된장 (IMCDJ) 제조

개량식 버섯균사체 메주는 황국균으로 제조한 개량메주를 염수에 침지한 다음 버섯균사체 액체배양액 10%를 첨가하여 숙성시키는 방법이 메주의 향미와 기능성을 증가시키면서, 산업적으로 이용할 수 있는 방법이다.

2. 기능성

IMCDJ은 *S. typhimurium* TA 98에 0.02 μg 처리와 느타리버섯균사체된장처리구가 77.0%, 1 μg AFB₁ 처리에는 동충하초버섯균사체된장이 56.1%, *S. typhimurium* TA 100에 0.02 μg IQ 처리에서 상황버섯균사체된장 처리구가, AFB₁ 처리에는 잎새버섯균사체 된장이 14.4%로 가장 높은 항돌연변이성을 나타내었다.

세포독성이 가장 강한 것은 상황, 동충하초, 잎새, 느타리, 표고버섯균사체 된장추출물 순으로 각각 33.4, 37.8, 45.3, 48.5, 97.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. IMCDJ의 mouse 복수암에 대한 수명연장효과는 느타리버섯균사체된장 처리구가 43%로 가장 높은 수명연장효과를 나타내었다. 느타리, 상황버섯균사체된장 추출물이 수명연장효과가 뛰어났다.

3. Sensory 검사

관능평가는 상황, 느타리, 동충하초버섯균사체된장 처리구순으로 높은 평가를 받았다. 국을 끓였을 때는 느타리, 상황, 동충하초버섯균사체된장 순으로 기호성이 좋았다.

4. 물리성

IMCDJ의 색도는 느타리, 상황, 동충하초균사체된장이 대조구된장에 비하여 lightness, redness, yellowness가 증가하였다. 물리성은 IMCDJ 처리구에서 경도, 부착성, 응집성, 탄력성, 점성, 파괴성 등에서 대조구보다 개선되었다

V. 본 연구결과의 중요성

1. 재래식메주를 제조한 다음 버섯균사체를 다시 배양함으로써 재래식된장과 간장의 풍미를 그대로 살리면서 버섯균사체가 부여하는 생리활성과 풍미를 추가하는 기술을 개발하였다. 특히 상황버섯균사체된장과 신령버섯균사체간장의 AFB1에 대한 항돌연변이성효과는 메주발효시 생성될수 있는 AFB1의 돌연변이성을 억제시켜주는 기능을 부여할 수 있을 것으로 기대된다.
2. 재래식 및 개량식 상황버섯균사체된장은 갈색보다 밝은 노란색을 띄어 된장의 품질을 향상시키는 효과가 뛰어 났다.
3. 재래식 및 개량식 느타리버섯균사체간장과 된장은 향이 우수하였다.
4. 재래식 및 개량식 버섯균사체된장과 간장은 항암성, 항돌연변이성, 면역증강성, 항산화성 등의 기능성이 대조구에 비해 우수하였다.
5. 본 기술은 곡립종균제조방법에 의해 개발된 기존의 버섯된장과 간장제조 기술과는 달리 재래식 고유의 된장과 간장의 특성을 그대로 살리면서 버섯균사체의 기능성을 추가한 기술개발이라는 점에서 그 중요성이 있다.