

고등균류를 이용한 신기능 식품소재  
개발 및 응용 연구

Studies on the Development and Application of  
Functional Food Materials Using by Myco-protein

연 구 기 관

한국식품개발연구원

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 "고등균류를 이용한 신기능 식품소재 개발 및 응용 연구" 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2002년 11월 18일

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원

총괄연구책임자 : 최 신 양

세부연구책임자 : 성 기 승

연 구 원 : 이 남 형

연 구 원 : 홍 석 산

연 구 원 : 임 성 일

연 구 원 : 김 윤 속

연 구 원 : 지 중 룡

# 요 약 문

## I. 제 목

고등균류를 이용한 신기능 식품소재 개발 및 응용 연구

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 목 적

본 연구의 목적은 식품소재중 동물성 단백질과 지방을 신기능 생물소재인 식물성 단백질로 대체하기 위하여 고등균류의 myco-protein을 탐색하고 myco-protein생산 우수균주를 선정 한 후 이를 활용하여 저지방, cholesterol free, 식이섬유 등의 기능을 강화시킨 modified novel foods를 개발하는 데 있다.

### 2. 필요성

단백질 부족자원을 해결하기 위하여 식품산업에서는 미생물의 대량배양에 의한 단백질생산(SPC)에 많은 관심을 보여 왔으며 버섯류를 비롯한 고등균류도 매우 적합한 것으로 알려져 있다. 지구상에는 수천종의 버섯류가 자생하고 있어 각종 약리활성을 나타내는 신약개발의 소재로서 뿐 만 아니라 기능성 식품소재로도 주목을 받고 있다. 자실체를 포함한 버섯재배가 여러달 걸리는 데 비해 버섯균사는 대량배양에 의해 쉽게 얻을 수 있고 mycelium의 건체량도 단백질함량이 높고 아미노산의 조성면에서도 영양학적으로 가치가 있어 이러한 식이버섯배양에 근거를 둔 기술은 앞으로 지구상의 식품부존자원을 극복할 수 있는 유망한 수단으로 각광받고 있다.

한편 Luncheon meat, Chicken patty 등의 축산가공품은 도축과정중 발생하는 내장육, 부로일러 신선육 판매용으로 불합격된 계육, 산란계, 돈육 등으로 제조되고 있으며 가공시 첨가하는 식물성 단백질(SPC 또는 SPI)은 100% 수입에 의존하고 있는 실정이다. 따라서 동물성 단백질과 지방을 신기능 생물소재인 식물성 단백질로 대체하고 식이섬유를 강화한 인조육을 제조하고 이를 이용한 새로운 육가공제품을 개발한다면 이들이 갖는

저지방, 양질의 단백질, 식이섬유로서의 소재, cholesterol을 함유하지 않는 등의 특성을 살려 좋은 식품을 개발할 수 있게 된다. 영국의 Quorn사에서는 1964년부터 *Fusarium graminearum*을 이용한 fungal myco-protein 생산을 연구하여 안정성이 확인되어 식품으로 허가된 1984년부터 인조육을 대량생산, 세계에서 유일하게 시판하고 있다. 대두단백을 이용한 인조육제조 경우에는 cooking과정에서 향료, 색소 등이 밖으로 빠져 나오고 조직감이 좋지 않은 단점이 있는 데 비해 myco-protein을 이용한 인조육제조 경우에는 첨가된 향료, 색소 등이 cooking과정에서 안정하며 조직감도 탁월한 장점이 있다.

우리나라에는 약 820여종의 버섯이 있으며 이중 328종이 식용 및 약용버섯으로 알려져 있다. 따라서 고등균류를 이용한 새로운 식품소재를 국가적인 차원에서 발굴함으로써 채식주의자들이 고기를 안 먹으면서도 고기의 맛을 즐길 수 있고 고기와는 달리 가열 조리할 필요없이 시식이 가능한 점 등과 mild flavour를 갖고 있는 점을 활용하여 식품가공에 다양하게 응용하도록 유도, 국내식품산업의 새로운 영역을 구축하고 세계시장에 적극적으로 진출할 필요가 있다고 본다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. Mycoprotein생산균주 탐색 및 선정

Mycoprotein개발용 균주를 screening하기 위하여 식용버섯 종균을 수집, 분리하고 분리 균주의 biomass, 생육기준, 단백질함량, 식이섬유함량 및 지방함량 측정 등에 의해 균주를 선정하였다. 탄수화물소재 개발을 위하여 food-grade의 저가 탄수화물소재(wheat starch, corn syrup, gluten 등)에서의 생육을 측정하였으며 발효방법(batch culture 등)에 따른 균체생산 최적화방법을 설정하였다.

#### 2. Mycoprotein개발 및 시험실규모 제품 개발

단백질, 저지방, 식이섬유 함량 등의 결과에 따라 선정한 균주가 생산하는 mycelium의 식품가공특성을 조사하고 제조한 modified novel foods의 조직과 물리화학적 특성을 조사하고 기호성과 영양학적 특성을 분석하였다.

#### 3. 시험실규모 제품특성 및 공정개발

제조한 modified novel foods의 생체소화율을 시험하기 위하여 S.D. rat를 이용한

사양시험을 통하여 분석하였으며 modified novel foods제조의 최적공정(안)을 설정하였다.

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

##### 1. 연구개발 결과

###### 가. Myco-protein 생산균주 탐색 및 선정

농진청 농업과학기술원과 한국중균협회로부터 분양받은 식용버섯을 대상으로 식용버섯 균사체의 증식을 조사한 결과, *Ganoderma lucidum*(영지버섯 1호)의 건조중량이 2.11 g으로 가장 높았으며, *Flammulina velutipes*(팽이버섯 2호), *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)가 각각 1.71, 1.59 g으로 높은 생육도를 보였다.

버섯 균사체의 조단백질 함량은 *Coriolus versicolor*(구름버섯 KCCM 11258)의 조단백질 함량이 27.5%로 가장 높았으며 *Grifola fromdosa*(잎새버섯 1호)의 26.2 %, *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)가 20.6 %, *Pleurotus ostreatus*(느타리버섯 원형1호)가 20.3 %로 비교적 조단백질 함량이 높았다. 쇠고기와 닭고기의 단백질 함량이 각각 22.8 %와 20.7 %인 것과 비교해 보면 버섯 균사체도 우수한 단백질원으로 사료되었다. 균사체 전체의 조단백질 함량은 *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)와 *Grifola fromdosa*(잎새버섯 1호), *Flammulina velutipes*(팽이버섯 2호)의 전체 조단백질 함량이 각각 0.33 g, 0.32 g, 0.26 g으로 다른 버섯 균사체에 비해 높은 값을 나타내었다.

조단백질 함량이 비교적 높은 *Agrocybe aegerita*, *Grifola fromdosa* 및 *Coriolus versicolor*의 구성아미노산 조성을 측정된 결과, 잎새버섯은 총 아미노산의 37.8 %가 필수 아미노산으로서 버들송이버섯의 31.5 %보다 높았으며 전체 아미노산 함량도 잎새버섯이 많음을 나타내었다. 비교적 조단백질 함량이 높은 버섯을 선발하여 균사체내의 조지방 함량을 측정된 결과, *Agrocybe aegerita*와 *Coriolus versicolor*의 경우, 쇠고기와 닭고기의 지방 함량이 각각 3.7 %와 4.8 %인 것과 비교하여 지방 함량이 낮음을 알 수 있었다. 균사체내의 조단백질 함량이 높고 조지방 함량이 낮은 *Grifola fromdosa*와 *Agrocybe aegerita*의 식이함량은 잎새버섯이 27.0 %로 버들송이 버섯의 20.4 %보다 높았으며 이는 영국에서 개발된 Myco-protein이 갖는 6.8 %보다는 상당히 식이섭취 함량이 높았다.

*Grifola fromdosa*(잎새버섯 1호)와 *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)의 대량

배양을 위한 값싼 food-grade의 탄수화물 소재 탐색을 위하여 PDB 배지성분 중 glucose를 각각 wheat starch, corn starch, corn syrup, 밀가루, 사과박, soybean waste(건조 콩비지) 및 조gluten으로 같은 비율로 대체하여 건조균체량을 측정한 결과, 버들송이 버섯이 잎새 버섯에 비해 높은 생육을 보였으며 특히 soybean waste에서 생육이 가장 좋았다.

식용버섯 균사체의 증식에서는 *Ganoderma lucidum*이 제일 높았으며 버섯 균사체의 조단백질 함량, 아미노산 구성 및 식이버섯 함량에서는 잎새 버섯이 선정에 유리하였으나 버들송이 버섯은 균사체 전체의 조단백질 함량과 조지방 함량 및 대량배양을 위한 값싼 food-grade의 탄수화물 소재 탐색을 위한 배양시험에서 월등히 좋은 결과를 보여 버들송이를 mycoprotein 생산균주로 최종적으로 선정하였다.

Mycoprotein 생산용 선발균주의 최적배양조건을 조사하기 위하여 먼저 초기 pH를 3.5~7.5로 조정하고 25℃에서 배양하여 건조균체량을 조사한 결과, pH의 영향은 거의 없었으며 질소원은 Urea첨가구 만이 대조구와 비슷한 건조균체량을 생성하였으며 Yeast extract, Peptone,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  등의 질소원은 대조구에 비해 15~20%의 균체량의 증가를 보여 주었다.

#### 나. Myco-protein 개발 및 시험실 규모 제품 개발

Mycoprotein 생산능이 좋은 것으로 밝혀진 *Agrocybe aegerita* 종균을 potato infusion 40%, corn starch 2%, peptone 0.2%로 구성된 배지에 접종하여 식용버섯 원균을 활성화시킨 후 25℃, 7일간 진탕배양하였다. 균사체의 중량(wet weight)은 배양액의 30%에 달하였으며 수분이 95%에 달하였다. 조단백질 함량은 건조 균체량의 약 20%, 조지방함량은 건조균체량의 약 1.5%로 저지방의 특성을 보여주었다. 따라서 개발된 mycoprotein의 low fat, cholesterol free의 특성에 난백, 전분, 식이섬유(corn hull) 등을 강화시킨다면 modified novel food제조가 가능한 것으로 사료되었다.

버섯 균사체, 옥수수수피(corn hull) 및 난백의 혼합조성물을 이용한 기능성 식품소재의 제조를 위하여 이축 압출 성형 장치를 이용하였다. 버섯 균사체를 corn hull과 난백 원료와의 적정 혼합비로 배합하여 원료공급장치에서 공급이 가능한 상태의 입자상태로 제조하여 단백질 조직화 반응을 유도하고 단백질 조직화 제품은 판상형 제품으로 생산하여 색도를 측정된 결과, 탁한 갈색을 가졌으며 대두 인조육에 비해 관능검사 분석항목 모두에서 유의성 없이 약간 낮은 평가를 받아 기호성 증진을 위한 보완이 필요하였다. 제조한 압출성형품의 일반성분은 Quorn과의 수분함량의 차이를 감안하더라도 Quorn이 특징으로

하고 있는 vegetable origin의 low fat, no animal fat, no cholesterol, 양질의 protein과 식이섬유원을 만족하는 것으로 나타났다.

#### 다. 시험실 규모 제품 특성 및 공정 개발

이축 압출 성형 장치를 이용하여 판상형 제품으로 만든 후 이를 이용한 사양시험에 의한 생체소화율 시험은 수행하였다. 체중이 150g~170g의 범위에 속하는 숫쥐(S.D rat ♂ : Sprague-Dawley)를 이용하였으며 시험사료 제조는 AIN-76 사료에 modified novel food를 첨가하여 Pelleter를 사용하여 사료를 만들었으며 사육기간은 예비시험 일주일을 포함하여 5주일 동안 하였다. 고등균류 사료와 일반사료를 이용한 사양시험에서 체중의 변화는 급여 1주일 후부터 일반사료를 섭취한 군보다 고등균류 사료를 섭취한 군에서 근소한 차이긴 하지만 10 g 정도의 약간 높은 체중을 나타내었다. 사료 섭취량도 역시 일반 사료보다 고등균류를 첨가한 처리군에서 섭취량이 증가하였으며 이것은 체중이 늘어난 것과 유사한 경향을 나타냈으며 쥐가 고등균류가 첨가된 사료를 선호하는 것으로 사료되었다.

실험종료 3일간의 사료 섭취량 및 분 배설량을 측정된 결과, 사료 섭취량에 있어서 일반사료를 섭취한 군은 67.69g을 섭취한 반면 고등균류 첨가 사료는 76.79g을 섭취한 것으로 보아 고등균류 첨가 사료를 더 선호하는 것으로 나타났다. 3일간 분으로 배설된 양을 보면 사료를 많이 섭취했음에도 고등균류 사료를 섭취한 군에서 적게 배설하여 고등균류를 첨가한 사료가 쥐의 체내에서 소화가 잘 이루어지는 것으로 판단되었다.

생체소화율을 보기 위하여 섭취사료의 영양소와 분으로 배설된 배설물의 영양소를 분석한 결과, 지방 흡수율(Fatty-absorption)의 경우, 대조군(control)은 48%의 흡수율을, 고등균류는 59.96%의 흡수율을 보였고, 단백질(protein)은 대조군에서 52% 이었으나 고등균류는 65.8%의 흡수율을 보였다. 영양소 흡수율(nutrition-absorption)에서도 단백질과 지방 모두 고등균류의 흡수율이 높은 것으로 나타났으며 이것은 고등균류 사료가 쥐의 체내 이용률(intestine-utilization)이 높은 것으로 사료되었다.

5주일간의 사양시험을 행한 후에 쥐(S.D rat ♂ : Sprague-Dawley)의 혈액을 채취하여 혈액중의 GOT, GPT 및 cholesterol을 측정된 결과 modified novel food를 3% 첨가한 사료 급여군의 cholesterol 함량이  $53.50 \pm 7.34$ 로서 대조군의  $63.86 \pm 9.68$ 에 비해 낮아 생체소화율 뿐 만 아니라 cholesterol 함량까지 감소시키는 효과를 관찰하였다.

지금까지의 연구결과를 토대로 modified novel foods제조 최적공정을 설정하였다. 생육도와 조단백질, 조지방, 아미노산 조성, 식이섬유 함량 등을 고려하여 myco-

protein 생산균주로 버들송이(*Agrocybe aegerita*)를 최종적으로 선정하고 최적배양조건으로 potato infusion 40%, corn starch 2%, peptone 0.2%로 구성된 배지에 접종하여 식용버섯 원균을 활성화시킨 후 25℃, 7일간 진탕배양한 후 여과하여 균사체를 수집하였다. Modified novel foods 제조는 버섯 균사체, 옥수수피(corn hull) 및 난백의 혼합조성물을 이축압출성형장치를 이용하여 단백질 조직화 반응을 유도하고 단백질 조직화 제품은 판상형 제품으로 생산하였다.

## 2. 활용에 대한 건의

식품소재 중 동물성 단백질과 지방을 신기능 생물소재인 식물성 단백질로 대체하기 위하여 고등균류의 myco-protein을 탐색하고 myco-protein생산 우수균주를 선정 후 이를 활용하여 저지방, cholesterol free, 식이섬유 등의 기능성을 강화시킨 modified novel foods를 개발하였다.

식물성 단백을 이용한 저지방, cholesterol free, 식이섬유 함유 modified novel foods의 개발은 채식주의자와 국민건강에 유익할 것이며 상품화를 위하여 국내 식품산업에 여러 가지 응용과 기술전수를 노력할 것이다.



# SUMMARY

## I. Subject of the Study

Studies on the Development and Application of Functional Food Materials Using by Myco-protein

## II. The Objective and Importance of Research

The objective of this study were to select myco-protein producing strain from edible mushrooms and develop modified novel foods which enhanced functional properties like as low fat, cholesterol free, dietary fiber etc. for replace animal protein with vegetable protein.

For supplement protein sources in food industry, many researchers were interested in production of single cell protein(SCP) by microbial culture. It was known that edible mushroom was proper to production of SCP. A thousands of mushrooms in the world have various medical action and functional properties of human. Cultivation of mushroom containing fruit body was required several month, but cultivation of mycelium could collect easily by fermentation and also have high protein composition. So, fermentation technology of edible mushrooms will be spotlighted as promising means to overcome the global natural resources of food in the future.

On the other hand, livestock product like as luncheon meat, chicken patty were usually manufactured by rejected chicken or pork and imported SPC. If livestock product which enhanced low fat, cholesterol free, dietary fiber etc. were developed by using vegetable protein, it can be good food for health. Only Quorn company located in UK sales artificial meat which made by fungal myco-protein, *Fusarium graminearum*, in the world. Artificial meat made by myco-protein have excellent merit in texture and stabilization of cooking compared with one made by soy protein.

We have about 328 kinds of edible of medicinal mushrooms in our country. Development of new functional food materials by these edible mushroom is very

useful to national health and vegetarians. Various application of myco-protein to domestic food industry will need to construct new category and advance global market.

### III. The Scope and Contents of Research

#### 1. Screening and selection of myco-protein producing strain

For screening and selection of myco-protein producing strain, edible mushrooms were gathered and measured growth, crude protein, amino acid composition, crude fat and dietary fiber content of mycelium. Carbon and nitrogen sources for myco-protein production were tested and established optimum culture condition of finally selected myco-protein producing strain.

#### 2. Development of myco-protein and Lab-scale product

Characteristics of developed myco-protein for food process were studied. Modified novel food was manufactured by twin screw extruder and tested physicochemical characteristics, acceptability and nutritional characteristics of modified novel foods

#### 3. Characteristics of Lab-scale product and development of process

Biodigestibility of modified novel foods was carried out with breeding test of S.D. rat and establish the optimum process of modified novel foods.

### IV. Results of Research and Recommendation

#### 1. Results of research

Selection of myco-protein producing strain from edible mushrooms and development of modified novel foods which enhanced functional properties like as low fat, cholesterol free, dietary fiber etc. for replace animal protein with vegetable protein were investigated. As results of screening and selection of myco-protein producing

strain, dry weight of *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Agrocybe aegerita* were shown relative high growth like as 2.11, 1.71 and 1.59 g, respectively. Crude protein contents of *Coriolus versicolor*(27.5 %) and *Grifola fromdosa*(26.2 %) were high compared with beef(22.8 %) and chicken(20.7 %). Among the structural amino acid composition of *Agrocybe aegerita*, *Grifola fromdosa* and *Coriolus versicolor*, essential amino acid contents of *Grifola fromdosa* and *Agrocybe aegerita* were 37.8 % and 31.5 % of total amino acid. Crude fat contents of *Agrocybe aegerita* and *Coriolus versicolor* were lower than beef(3.7 %) and chicken(4.8 %). Dietary fiber contents of *Grifola fromdosa* and *Agrocybe aegerita* were 27.0 % and 20.4 %, respectively and higher than 6.8% of Quorn. Carbon and nitrogen sources of *Agrocybe aegerita* fermentation which selected finally, soybean waste and peptone were shown more effective growth than other sources.

Characteristics of developed myco-protein for food process were studied. As results of *Agrocybe aegerita* fermentation containing potato infusion 40%, corn starch 2%, peptone 0.2% in medium, wet weight of mycelium was 30% of culture broth. Moisture content of mycelium was 95%, and crude protein and fat contents were 20% and 1.5% of dry cell weight which showed typical low fat. If myco-protein which have properties of low fat and cholesterol free enhanced egg white, starch and corn hull as dietary fiber, it can be manufactured modified novel food. Modified novel food was manufactured by twin screw extruder. this product had dark brown color and need more supplement of ingredient because of poor sensory evaluation compared with artificial meat made by soy protein. Physicochemical and nutritional characteristics of modified novel foods were satisfied that of Quorn concerned low fat, no animal fat, no cholesterol, protein quality and dietary fiber of vegetable origin.

Biodigestability of modified novel foods was carried out with breeding test of S.D. rat. Body weight of myco-protein feeding group were slightly heavier than control group after one weeks. Feed-Intake volume was also increased at myco-protein feeding group than control and considered as S.D. rat prefer to feed added myco-protein. Feed-intake and feces-excretion of final three days were analyzed. S.D. rat were prefer to feed added myco-protein as a results of feed-intake

volume analysis. On the other hand, feces-excretion volume of myco-protein feeding group was more less than control which means effective digestability nevertheless much intake. Fatty acid and protein absorption rate of myco-protein feeding group were 59.96 % and 65.8 % compared with 48 % and 52 % of control group. It was considered that myco-protein feeding group was more efficient than control group in nutrition-absorption and intestine-utilization. And also blood cholesterol content of myco-protein feeding group and control group were  $53.50 \pm 7.34$  and  $63.86 \pm 9.68$ , respectively. It was observed that myco-protein had cholesterol-lowering effect.

The optimum process of modified novel foods was established with these research results. We selected *Agrocybe aegerita* as strain and cultured in medium containing potato infusion 40%, corn starch 2%, peptone 0.2% at 25°C, for 7 days. And composition rate of raw materials were consist of mycelium 40%, corn hull 30%, egg albumin 30% and manufactured texturized myco-protein product by extrudated with twin screw extruder.

## 2. Recommendation

We were studied to select myco-protein producing strain from edible mushrooms and develop modified novel foods which enhanced functional properties like as low fat, cholesterol free, dietary fiber etc. for replace animal protein with vegetable protein.

For supplement protein sources in food industry, fermentation technology of edible mushrooms will be spotlighted as promising means to overcome the global natural resources of food in the future. If livestock product which enhanced low fat, cholesterol free, dietary fiber etc. were developed by using vegetable protein, it can be good food for health. Artificial meat made by myco-protein have excellent merit in texture and stabilization of cooking compared with one made by soy protein. Development of new functional food materials by these edible mushroom is very useful to national health and vegetarians.

We will endeavor various application of myco-protein to domestic food industry and transfer these technology to companies for commercialization.

# CONTENTS

## Chapter 1. Outline of the research project

1. Objective of the research
2. Necessity of the research
3. Scope of the research

## Chapter 2. The state of art in the country and abroad

## Chapter 3. Contents and results of the research

### 1. Materials and Methods

- 1) Microorganisms and Media
- 2) Methods
  - (1) Measurement of Moisture
  - (2) Measurement of crude protein
  - (3) Measurement of crude fat
  - (4) Measurement of structural amino acid
  - (5) Measurement of dietary fiber
  - (6) Measurement of texture
  - (7) Measurement of chromaticity
  - (8) Manufacture of modified novel foods
  - (9) Test of biodigestability

### 2. Results and Discussion

- 1) Screening and selection of myco-protein producing strain
  - (1) Growth of mycelium
  - (2) Crude protein and amino acid composition of mycelium
  - (3) Crude fat of mycelium

- (4) Dietary fiber content of mycelium
- (5) Screening of carbon source for mycoprotein production
- (6) Selection of myco-protein producing strain
- (7) Optimum culture condition of selected strain
- 2) Development of myco-protein and Lab-scale product
  - (1) Characteristics of developed myco-protein for food process
  - (2) Manufacture and characteristics of modified novel foods
    - ① Manufacture of modified novel foods by steam
    - ② Manufacture of modified novel foods by twin screw extruder
    - ③ Physicochemical characteristics of manufactured modified novel foods
  - (3) Acceptability and nutritional characteristics of modified novel foods
- 3) Characteristics of Lab-scale product and development of process
  - (1) Biodigestibility of modified novel foods
  - (2) Development of optimum process of modified novel foods

Chapter 4. Objective achievement and contribution to relative field

Chapter 5. Application plan of results

Chapter 6. Science technology informations collected from abroad during  
research program

Chapter 7. References

# 목 차

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제 1절 연구개발의 목적

### 제 2절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면
2. 경제·산업적 측면
3. 사회·문화적 측면

### 제 3절 연구개발 범위

1. Mycoprotein생산균주 탐색 및 선정개발
2. Mycoprotein개발 및 시험실규모 제품개발
3. 시험실규모 제품특성 및 공정개발

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1절 실험재료 및 방법

1. 사용균주 및 배지
2. 실험방법
  - 가. 수분
  - 나. 조단백질 함량 측정
  - 다. 조지방 함량 측정
  - 라. 구성아미노산 함량
  - 마. 식이섬유의 함량 측정
  - 바. 조직감 측정

- 사. 색도측정
  - 아. Modified novel foods제조
  - 자. 사양시험에 의한 생체소화율 시험
- 제 2절 연구결과 및 고찰
1. Myco-protein 생산균주 탐색 및 선정
    - 가. 균사체의 증식
    - 나. 균사체의 조단백질 및 아미노산 조성
    - 다. 균사체의 조지방 함량
    - 라. 식이섬유의 함량
    - 마. Mycoprotein 생산을 위한 탄수화물 소재 탐색
    - 바. 최종 Mycoprotein 생산균주 선정
    - 사. 선정 Mycoprotein 생산균주의 최적배양조건
  2. Myco-protein 개발 및 시험실 규모 제품 개발
    - 가. 개발 mycoprotein의 식품가공특성
    - 나. Modified novel foods제조 및 저장 특성
      - 1) Steam을 이용한 Modified novel foods제조
      - 2) 이축압출성형장치를 이용한 Modified novel foods제조
      - 3) 제조한 modified novel foods의 물리화학적, 조직 및 저장 특성
    - 다. Modified novel foods의 기호성 및 영양학적 특성
  3. 시험실 규모 제품 특성 및 공정 개발
    - 가. Modified novel foods의 생체소화율 시험
    - 나. Modified novel foods제조의 최적공정 개발

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 5 장 연구개발결과의 활용계획



제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 7 장 참고문헌

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1절 연구개발의 목적

본 연구의 목적은 식품 소재 중 동물성 단백질과 지방을 신기능 생물소재인 식물성 단백질로 대체하기 위하여 고등균류의 myco-protein을 탐색하고 myco-protein생산 우수 균주를 선정한 후 이를 활용하여 저지방, cholesterol free, 식이섬유 등의 기능성을 강화시킨 modified novel foods를 개발하는 데 있다.

## 제 2절 연구개발의 필요성

### 1. 기술적 측면

단백질 부족자원을 해결하기 위하여 식품산업에서는 미생물의 대량배양에 의한 단백질생산(SPC)에 많은 관심을 보여 왔으며 버섯류를 비롯한 고등균류도 매우 적합한 것으로 알려져 있다. 지구상에는 수천종의 버섯류가 자생하고 있어 각종 약리활성을 나타내는 신약개발의 소재로서 뿐 만 아니라 기능성 식품소재로도 주목을 받고 있다. 자실체를 포함한 버섯재배가 여러달 걸리는 데 비해 버섯균사는 대량배양에 의해 쉽게 얻을 수 있고 mycelium의 전체량도 단백질함량이 높고 아미노산의 조성면에서도 영양학적으로 가치가 있어 이러한 식이버섯배양에 근거를 둔 기술은 앞으로 지구상의 식품부존자원을 극복할 수 있는 유망한 수단으로 각광받고 있다.

한편 Luncheon meat, Chicken patty 등의 축산가공품은 도축과정중 발생하는 내장육, 부로일러 신선육 판매용으로 불합격된 계육, 산란계, 돈육 등으로 제조되고 있으며 가공시 첨가하는 식물성 단백질(SPC 또는 SPI)은 100% 수입에 의존하고 있는 실정이다. 따라서 동물성 단백질과 지방을 신기능 생물소재인 식물성 단백질로 대체하고 식이섬유를 강화한 인조육을 제조하고 이를 이용한 새로운 육가공제품을 개발한다면 이들이 갖는 저지방, 양질의 단백질, 식이섬유로서의 소재, cholesterol을 함유하지 않는 등의 특성을 살려 좋은 식품을 개발할 수 있게 된다. 영국의 Quorn사에서는 1964년부터 *Fusarium graminearum*을 이용한 fungal myco-protein 생산을 연구하여 안정성이 확인되어 식품으로 허가된 1984년부터 인조육을 대량생산, 세계에서 유일하게 시판하고 있다. 대두단백을

이용한 인조육제조의 경우에는 cooking과정에서 향료, 색소 등이 밖으로 빠져 나오고 조직감이 좋지 않은 단점이 있는 데 비해 myco-protein을 이용한 인조육제조의 경우에는 첨가된 향료, 색소 등이 cooking과정에서 안정하며 조직감도 탁월한 장점이 있다.

우리나라에는 약 820여종의 버섯이 있으며 이중 328종이 식용 및 약용버섯으로 알려져 있다. 따라서 고등균류를 이용한 새로운 식품소재를 국가적인 차원에서 발굴함으로써 채식주의자들이 고기를 안 먹으면서도 고기의 맛을 즐길 수 있고 고기와는 달리 가열 조리할 필요없이 시식이 가능한 점 등과 mild flavour를 갖고 있는 점을 활용하여 식품가공에 다양하게 응용하도록 유도, 국내식품산업의 새로운 영역을 구축하고 세계시장에 적극적으로 진출할 필요가 있다고 본다.

## 2. 경제·산업적 측면

고등균류가 생산하는 myco-protein에 대한 연구를 경제·산업적 측면에서 고찰하여 보면 지금까지는 주로 동물사료로서의 SPC(single cell protein)로 이용되어 왔으며 식품에의 이용은 영국의 Quorn사에서 1964년부터 *Fusarium graminearum*을 이용한 fungal myco-protein 생산을 연구하여 안정성이 확인되어 식품으로 허가된 1984년부터 인조육을 대량생산, 세계에서 유일하게 시판하고 있다. 이것은 단백질함량이나 아미노산조성에서는 쇠고기와 대등하며 지방함량과 열량은 오히려 낮아 구미에서는 쇠고기보다 높은 가격에 팔리고 있으며 다양한 용도개발이 이루어져 수요가 증대되고 있는 추세이다. 따라서 부가가치가 높은 식품소재를 국가적인 차원에서 발굴하여 식품가공에 다양하게 응용하도록 유도, 국내식품산업의 새로운 영역을 구축하고 세계시장에 적극적으로 진출한다면 경제적 파급효과는 매우 클 것이다. 한편 산업적 응용범위는 고등균류의 유전자원 확보 및 효율적 이용에 따른 신기능의 식품소재를 개발함으로써 국내 농민의 소득증대는 물론 이와 관련된 생물산업의 기반강화 등 식품산업에 걸쳐 응용범위가 확대될 것이다. 또한 우리나라의 경우 쇠고기 냉장육수입이 1996년부터 시작되었으며, 쇠고기 수입자유화가 되는 2000년 이후에는 소비자들이 고기에 대한 욕구가 감소되고 고기섭취량이 둔화될 것으로 예상된다. 이때 고기대체품으로서 건강에도 유익한 mycomeat수요가 새로이 등장될 것으로 본다. myco-protein이나 mycomeat는 공장단위생산이기 때문에 국내농업과 축산업의 사양화에 대처할 수 있는 농업공장시스템으로써 전천후로 년중 생산할 수 있으므로 미래 농업의 대체작목으로 아주 필요한 산업이다.

### 3. 사회·문화적 측면

국내의 경제 및 산업이 급격히 향상됨과 더불어 우리나라도 선진국과 비슷한 인간의 수명이 크게 증가하고 있으며 사회적으로 노령화가 가속화되고 있다. 또한 생활수준의 향상에 따른 국민의 건강한 생활이 요구되고 있으며 경제발전이 가속화됨에 따라 감염성 질환이 감소하는 반면 선진국형 성인병의 비중이 높아지고 있어 이에 대한 대책이 시급한 형편이다.

따라서 고등균류로부터 myco-protein을 생산하는 균을 이용하여 mycomeat를 개발한다면 이것이 갖고 있는 혈중cholesterol저하기능, LDL(low-density lipoprotein)감소기능, 아미노산 조성이 훌륭한 단백질, 식이섬유로서의 소재로서 기능성있는 좋은 식품을 개발할 수 있게 되어 국민식생활과 성인병예방에 크게 기여하리라 생각된다.

## 제 3절 연구개발 범위

### 1. Mycoprotein생산균주 탐색 및 선정

Mycoprotein개발용 균주를 screening하기 위하여 식용버섯 종균을 수집, 분리하고 분리 균주의 biomass, 생육기준, 단백질함량, 식이섬유함량 및 지방함량 측정 등에 의해 균주를 선정하였다. 탄수화물소재 개발을 위하여 food-grade의 저가 탄수화물소재(wheat starch, corn syrup, gluten 등)에서의 생육을 측정하였으며 발효방법(batch culture 등)에 따른 균체생산 최적화방법을 설정하였다.

### 2. Mycoprotein개발 및 시험실 규모 제품 개발

단백질, 조지방, 식이섬유 함량 등의 결과에 따라 선정된 균주가 생산하는 mycelium의 식품가공특성을 조사하고 제조한 modified novel foods의 조직과 물리화학적 특성을 조사하고 기호성과 영양학적 특성을 분석하였다.

### 3. 시험실규모 제품특성 및 공정개발

제조한 modified novel foods의 생체소화율을 시험하기 위하여 S.D. rat를 이용한 사양시험을 통하여 분석하였으며 modified novel foods제조 최적공정(안)을 설정하였다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

단백질 부족자원을 해결하기 위하여 식품산업에서는 미생물의 대량배양에 의한 단백질생산(Single Cell Protein)에 많은 관심을 보여 왔으며 버섯류를 비롯한 고등균류도 매우 적합한 것으로 알려져 있다. 지구상에는 수천종의 버섯류가 자생하고 있어 각종 약리활성을 나타내는 신약개발의 소재로서 뿐 만 아니라 기능성 식품소재로도 주목을 받고 있다. 자실체를 포함한 버섯재배가 여러달 걸리는 데 비해 버섯균사는 대량배양에 의해 쉽게 얻을 수 있고 mycelium의 전체량도 단백질함량이 높고 아미노산의 조성면에서도 영양학적으로 가치가 있어 이러한 식이버섯배양에 근거를 둔 기술은 앞으로 지구상의 식품부존자원을 극복할 수 있는 유망한 수단으로 각광받고 있다.

한편 Luncheon meat, Chicken patty, Pork meat ball 등의 축산가공품은 도축과정중 발생하는 내장육, 부로일러 신선육 판매용으로 불합격된 계육, 산란계, 돈육 등으로 제조되고 있으며 가공시 첨가하는 식물성 단백질(SPC 또는 SPI)은 100% 수입에 의존하고 있는 실정이다. 따라서 동물성 단백질과 지방을 신기능 생물소재인 식물성 단백질로 대체하고 식이섬유를 강화한 인조육을 제조하고 이를 이용한 새로운 육가공제품을 개발한다면 즉, myco-protein을 이용한 인조육 제조와 이를 육류대용품으로 활용한다면 myco-protein이 갖는 저지방, 아미노산 조성이 훌륭한 단백질, gluten free이므로 식이섬유로서의 소재, cholesterol을 함유하지 않는 등의 특성을 살려 좋은 식품을 개발할 수 있게 된다.

국내의 경제 및 산업이 급격히 향상됨과 더불어 우리나라도 선진국과 비슷한 인간의 수명이 크게 증가하고 있으며 사회적으로 노령화가 가속화되고 있다. 또한 생활수준의 향상에 따른 국민의 건강한 생활이 요구되고 있으며 경제발전이 가속화됨에 따라 감염성 질환이 감소하는 반면 선진국형 성인병의 비중이 높아지고 있어 이에 대한 대책이 시급한 형편이다.

영국의 Quorn사에서는 1964년부터 *Fusarium graminearum*을 이용한 fungal myco-protein 생산을 연구하여 안정성이 확인되어 식품으로 허가된 1984년부터 인조육을 대량생산, 세계에서 유일하게 시판하고 있다. 이것은 단백질함량이나 아미노산조성에서는 쇠고기와 대등하며 지방함량과 열량은 오히려 낮아 구미에서는 쇠고기보다 높은 가격에 팔리고 있으며 다양한 용도개발이 이루어져 수요가 증대되고 있는 추세이다. Table 1은 영국의 Quorn사에서 생산하는 Quorn mycoprotein의 영양성분 분석값으로서 단백질함량이나

아미노산조성에서는 쇠고기와 대등하며 지방함량과 열량은 쇠고기나 닭고기보다 낮고 Cholesterol 함량이 거의 없는 특징을 나타내고 있다. 대두단백을 이용한 인조육제조의 경우에는 cooking과정에서 향료, 색소 등이 밖으로 빠져 나오고 조직감이 좋지 않은 단점이 있는 데 비해 myco-protein을 이용한 인조육제조의 경우에는 첨가된 향료, 색소 등이 cooking과정에서 안정하며 조직감도 탁월한 장점이 있다.

Table 1. Nutritional Analysis of Quorn myco-protein

	g/100g
Protein	2.1
Dietary Fibre	6.8
Fat Total	3.4
Fatty Acids	
Saturated	0.5
Mono-unsaturated	0.3
Polyunsaturated	1.5
Total	2.3
Other lipid components	1.1
Carbohydrate	1.7
of which sugars	0.8
Ash	0.8
Sodium	0.004
Cholesterol	Nil
Water	75.0
Energy : Kcal/100g	86

우리나라는 쇠고기 냉장육 수입이 1996년부터 시작되었으며, 쇠고기 수입자유화가 되는 2000년 이 후에는 소비자들이 고기에 대한 욕구가 감소되고 고기섭취량이 둔화될 것으로 예상된다. 이때 고기 대체품으로서 건강에도 유익한 mycomeat수요가 새로이 등장될 것

으로 본다. 우리나라에는 약 820여종의 버섯이 있으며 이중 328종이 식용 및 약용버섯으로 알려져 있다. 따라서 고등균류를 이용한 새로운 식품소재를 국가적인 차원에서 발굴함으로써 채식주의자들이 고기를 안 먹으면서도 고기의 맛을 즐길 수 있고 고기와는 달리 가열 조리할 필요없이 시식이 가능한 점 등과 mild flavour를 갖고 있는 점을 활용하여 식품가공에 다양하게 응용하도록 유도, 국내식품산업의 새로운 영역을 구축하고 세계시장에 적극적으로 진출할 필요가 있다고 본다.

고등균류는 대량배양에 의해 쉽게 얻을 수 있고 mycelium의 건체량과 단백질함량이 높고 아미노산의 조성면에서도 영양학적으로 가치가 있을 뿐 만 아니라 혈중지질농도를 낮추어 주거나 cholesterol함량을 낮추어 주기 때문에 이를 이용한 myco-protein 또는 mycomeat기술개발은 앞으로 식품소재로서 유망한 수단으로 각광받고 있다(Biacs, P.A. 등 1990, Byrne, M., 1988, Edelman, J., 1987, Edelman, J., A. 등 1983, Edwards, D.G., 1993, Edwards, G., 1986, Sadler, M., P. 등 1990, Smith, J., 1994, Woollen, A., 1984, Yan-chinski, S., 1984)

Mycoprotein은 토양 등지에 살고 있는 호기성 microfungi가 생산하는 탄수화물을 단백질로 변환시켜 만드는 물질로서(Sadler, M.J., 1993) 1960년대부터 식품으로 이용하기 위한 연구가 진행되어 오고 있으나 지금까지 식품으로 이용하기 위해 성공적으로 만들어진 물질은 “Quorn”이라고 하는 mycoprotein 뿐이다. 이것은 영국의 Quorn사에서 1964년부터 *Fusarium graminearum*을 이용하여 생산에 성공한 fungal mycoprotein으로서 1984년에 안정성이 확인되었다(Trinci, A.P., 1994).

국내에서 고등균류를 이용한 기능성 식품소재개발에 대한 연구는 거의 찾아볼 수 없으며 단지 버섯을 이용한 음료제조에 관한 특허들(정성구, 1983, 양성욱, 1988, 박종희, 1984, 김희중, 1985)이 있을 뿐이다.

국외의 경우 지금까지의 연구결과는 Quorn을 중심으로 되어 있을 뿐으로서 Turnbull 등(1993)은 *Fusarium graminearum*을 연속발효시켜 mycoprotein을 생산하고 이것이 닭고기에 비하여 에너지섭취가 낮으며 mycoprotein이 갖고 있는 식이섬유가 식욕을 증진시킴을 보고하였다. 또한 Owen 등(1975, 1976)은 *Fusarium graminearum* 배양산물을 rat에 급여한 결과 plasma cholesterol 함량이 감소함을 보고하였다. Udall 등(1984)도 *Fusarium graminearum*와 *Paecilomyces variotii*의 산물을 쿠키 등에 첨가하고 식이시험을 행한 결과 *Fusarium graminearum*을 첨가한 시험군에서 serum cholesterol 함량이 낮아짐을 보고하였다. Edwards 등(1993)은 mycoprotein의 영양학적 평가시험을 통하여 RNA함량을 감소

시키고 양질의 단백질과 식이섬유조성을 밝힌 바 있다. Miles 등(1988)은 mushroom의 mycelium을 이용하여 soybean slurry로부터 “Mycomeat”을 생산하였으며 Trinci 등(1990)은 Quorn mycoprotein의 대량생산시 연속발효법이 fed-batch발효보다 수율이 높음을 보고한 바 있다.

세계적으로 1987년부터 물질특허제도가 발효되면서부터 국내외의 많은 연구자들은 다양한 미생물자원에 많은 관심을 갖게 되었으며 선진국에서는 이러한 제도에 입각하여 자국의 이익증대를 위하여 최대한의 물질보호를 하고 있다. 따라서 국내에서도 우리나라의 고유한 물질을 국제적으로 보호하기 위해서는 국가적인 대처가 필요하며 이러한 미생물자원을 이용한 신기능의 식품소재개발은 선진국과 대등한 경쟁을 가능하게 할 것이며 세계 시장에 적극적으로 참여함으로써 부존자원이 부족한 우리나라로써는 전망이 밝다고 하겠다.

따라서 본 연구에서는 식품소재중 동물성 단백질과 지방을 신기능 생물소재인 식물성 단백질로 대체하기 위하여 고등균류의 mycoprotein을 탐색하고 mycoprotein생산 우수균주를 선정 후 이를 활용하여 저지방, cholesterol free, 식이섬유 등의 기능성을 강화시킨 modified novel foods를 개발하고자 하였다.



## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1절 실험재료 및 방법

#### 1. 사용균주 및 배지

본 실험에 사용된 버섯균주는 농진청 농업과학기술원으로부터 *Pleurotus ostreatus* (느타리 버섯 원형1호), *Hypsizygus marmoreus*(만가닥 버섯 1호), *Agrocybe aegerita*(버들송이 버섯 1호), *Ganoderma lucidum* (영지 버섯 1호), *Grifola fromdosa*(일새 버섯 1호), *Flammulina velutipes*(팽이 버섯 2호), *Lentinus edodes*(표고 버섯 농기3호), *Agaricus bisporus*(양송이 버섯 505호) 등 식용버섯 원균 8종을 분양 받고, 한국종균협회로부터 *Coriolus versicolor*(구름 버섯 KCCM 11257, KCCM 11258, KCCM 11259), *Auricularia auricula-judae*(목이 버섯 KCCM 32023) 등을 구입하여 사용하였다. 배지는 PDA(potato dextrose broth)를 사용하였고 *Agaricus bisporus*는 벗짚퇴비 추출배지를 사용하였다. 분석 시약은 특급시약을 사용하였다.

#### 2. 실험방법

##### 가. 수분

수분 측정은 105℃ 통풍 상압 건조법으로 하였다. 즉, 시료 1~2 g을 미리 항량을 구한 칭량병에 정확히 취하여 105℃ 항온기에서 항량이 될 때까지 건조시켜 아래와 같이 수분 함량을 구하였다.

$$\text{수분(\%)} = \left(1 - \frac{\text{건조후 시료무게(g)}}{\text{건조전 시료무게(g)}}\right) \times 100$$

##### 나. 조단백질 함량 측정

버섯 균사체의 조단백질 함량은 Kjeltac Auto sampler system 1035 Analyzer (Tecator, Sweden)를 이용한 Kjeldahl 법으로 측정하였다. 즉, 시료를 약 0.5 g을 정확히

달아 분해관에 넣고 분해촉매제를 2정을 넣는다. 황산을 넣고 400. 로 가열해 분해한 다음 방냉한 후 Kjeltac Auto sampler system 1035 Analyzer에 장착한 다음 분석한다. 이때 단 백계수는 6.25로 하였다.

$$\text{조단백질량} = ((A - B) \times 0.0014 \times f \times 6.25 \times 100) / \text{시료량(g)}$$

A ; 본실험 소비 ml수

B ; 바탕실험 소비 ml수

#### 다. 조지방 함량 측정

조지방 함량 측정은 시료 10 g을 취해 무수황산나트륨 30 g을 혼합한 다음 원통 거름종이에 넣는다. 혼합할 때 사용한 막자사발과 막자를 에테르로 세척하여 soxlet 추출기에 옮겨 넣는다. 원통거름종이 입구를 탈지면으로 막고 에테르를 90ml를 넣는다. soxhlet 장치에 연결하여 수조의 온도를 50~55℃, 약 5시간 추출한다(5~6 방울/초). 추출 후 사이폰에서 원통여지를 제거하고 용매가 들어 있는 사이폰에 연결해서 수조에서 에테르를 농축한다. 농축이 끝나면 후드내에서 잔량의 에테르를 날린다. 건조기에서 낮은 온도부터 시작해 105℃에서 1시간 이상 건조시킨다. 미리 수기의 무게를 달고 추출, 건조가 끝난 후 수기의 무게를 달아 지방함량을 구하였다.

$$\text{지 방 (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{S} \times 100$$

W<sub>1</sub> : 추출 건조 후의 전체무게

W<sub>0</sub> : 지방수기의 무게

S : 시료의 무게(g)

#### 라. 구성아미노산 함량

균사체의 구성아미노산 함량은 HPLC를 이용한 AccQ-Tag 방법으로 측정하였다. 시료의 전처리에는 시료 0.5 g을 취해서 0.1N HCl로 50ml로 정용한 후 원심분리하였다. 상등액을 취하여 vial에 sample 10 $\mu$ l과 AccQ-Flour Borate Buffer 170 $\mu$ l 과 AccQ Flour Reagent 20 $\mu$ l을 넣고 vortex시킨 다음 55℃에서 10분 동안 activation시키고 냉각하여 5 $\mu$ l

를 injection하였다. 표준물질로는 Amino acids Std. Soln.(Type H ; Wako)를 사용하였으며 Eluent solvent는 eluent A(0.14M Sodium acetate를 물 1ℓ에 녹이고 trimethylamine (0.97ml/ℓ)을 첨가한 후 Phosphoric acid로 pH 5.0~5.01로 맞추)과 eluent B(60% Acetonitrile)를 사용하여 gradient를 하였다.

#### 마. 식이섬유의 함량 측정

식이섬유의 함량 측정은 Total Dietary Fiber assay kit(Sigma)를 이용하여 α-amylase, protease, amyloglucosidase를 순서대로 처리해 시료의 식이섬유를 추출한 다음 여과, 건조하여 함량을 측정하고 미리 구한 단백질(Micro Kjeldahl법)과 회분 함량으로부터 식이섬유 함량을 측정하였다.

#### 바. 조직감 측정

조직감의 측정은 조직감 측정기(Instron Universal Testing Machine, Model 1140, USA)로 2회 반복 측정하였고 텍스처 프로파일 분석방법에 따라 hardness, cohesiveness, springiness를 산출하였다.

#### 사. 색도측정

색도는 색차계(Chromameter CR 200, Minolta, Japan)을 사용하였으며 reference plate는 백색판을 기준으로 L값 99.46, a값 +0.01, b값 +2.10으로 한 Hunter scale에 의해 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값으로 표시하였다.

#### 아. Modified novel foods제조

버섯 균사체, corn hull 및 난백의 혼합조성물을 이용한 기능성 식품소재의 제조를 위하여 이축압출성형장치를 이용하여 버섯균사체 혼합조성물의 단백질의 조직화 실험을 실시하였다. 실험에 사용되는 이축압출성형장치는 Buhler Brother Co.의 DNDL-44 기종으로서 L/D는 20으로 조절하여 실험에 사용하며, 조직화를 위하여 cooling die 또는 circular die를 사용하였다. 이때의 공정변수는 다음과 같았다.

- 원료조성비(버섯균사체: corn hull: 난백)
- 원료 투입량: 10~50 kg/hr
- 수분함량: 0~30%

- o 스크류 회전속도: 150~450 rpm
- o 바렐가열온도: 130, 150, 170°C

원료의 전처리 및 제품생산 방법으로 버섯 균사체를 corn hull과 난백 원료와의 적정 혼합비로 배합하여 원료공급장치에서 공급이 가능한 상태의 입자상태로 제조하여 단백질 조직화 반응을 유도하고 단백질 조직화 제품은 판상형 제품으로 생산하며, 필요시 cooling die를 제작하여 실험에 사용하였다.

#### 자. 사양시험에 의한 생체소화율 시험

동물실험은 쥐(S.D rat ♂ : Sprague-Dawley)를 이용하였으며 이때 체중은 150 g~170g의 범위에 속하는 수놈으로 공시하였으며, 체중은 일주일 단위로 측정하였으며 시험사료는 AIN-76의 Formula의 방법에 따라 제조한 것을 대조구 사료로 하여 제조한 modified novel food를 3%, 5%, 7%를 첨가하여 총 4 처리구의 시험을 실시하였다. 시험사료 제조는 AIN-76 사료에 제조한 modified novel food를 혼합하여 Pelleter를 사용하여 사료를 만들었으며 사육기간은 예비시험 일주일을 포함하여 5주일 동안 하였다. 5주째는 쥐를 대사cage로 옮겨 분(糞)과 뇨(尿)를 채취하였다. 이것은 급여한 사료의 섭취량인 총 에너지에서 분(糞)과 뇨(尿)로 배출된 에너지를 제외하면 실질적으로 쥐가 대사에 이용한 대사에너지 알 수 있는 방법으로 소화되어 없어진 양을 알 수 있다. 사료는 일주일 단위로 잔량을 측정하여 실질적으로 섭취한 양을 계산하였으며 물은 자유 섭취토록 하면서 사양하였다. 실험동물 사육실의 온도는 23°C로 고정하였으며 습도는 60%를 유지하였다.

## 제 2절 연구결과 및 고찰

### 1. Myco-protein 생산균주 탐색 및 선정

#### 가. 균사체의 증식

농진청 농업과학기술원으로부터 분양받은 *Pleurotus ostreatus*(느타리 버섯 원형 1호), *Hgpsizygyus marmoreus*(만가닥 버섯 1호), *Agrocybe aegerita*(버들송이 버섯 1호), *Ganoderma lucidum* (영지 버섯 1호), *Grifola fromdosa*(잎새 버섯 1호), *Flammulina velutipes*(팽이버섯 2호), *Lentinus edodes*(표고 버섯 농기3호), *Agaricus bisporus*(양송이버섯 505호) 등 식용버섯 원균 8종과 한국중균협회로부터 *Coriolus versicolor*(구름버섯 KCCM 11257, KCCM 11258, KCCM 11259), *Auricularia auricula-judae*(목이버섯 KCCM 32023) 등을 대상으로 식용버섯 균사체의 증식을 조사하기 위하여 Submerge culture에서의 생육도를 조사하였다. 250 ml의 potato dextrose broth에 균사체 절편을 접종한 후 25 °C에서 15일간 진탕배양한 후 얻어진 균사체의 건조균체량을 측정하였다. 표 2에서 보는 바와 같이 *Ganoderma lucidum*(영지버섯 1호)의 건조중량이 2.11 g으로 가장 높았으며, *Flammulina velutipes*(팽이버섯 2호), *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)가 각각 1.71, 1.59 g으로 높은 생육도를 보였다.

#### 나. 균사체의 조단백질 및 아미노산 조성

버섯 균사체의 조단백질 함량은 Fig. 1에 보는 바와 같이 *Coriolus versicolor*(구름버섯 KCCM 11258)의 조단백질 함량이 27.5%로 가장 높았으며 *Grifola fromdosa*(잎새버섯 1호)의 26.2 %, *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)가 20.6 %, *Pleurotus ostreatus*(느타리버섯 원형1호)가 20.3 %로 비교적 조단백질 함량이 높았다. 쇠고기와 닭고기의 단백질 함량이 각각 22.8 %와 20.7 %인 것과 비교해 보면 버섯 균사체도 우수한 단백질원으로 사료되었다. 이 결과를 토대로 균사체 전체의 조단백질 함량을 조사한 결과, Fig. 2에 나타낸 바와 같이 *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)와 *Grifola fromdosa*(잎새버섯 1호), *Flammulina velutipes*(팽이버섯 2호)의 전체 조단백질 함량이 각각 0.33 g, 0.32 g, 0.26 g으로 다른 버섯 균사체에 비해 높은 값을 나타내었다.

Table 2. Comparison of the dry weight of the mycelium after 15 day culture

Species	Dry weight(g)
<i>Agaricus bisporus</i> (양송이 버섯505호)	1.23
<i>Agrocybe aegerita</i> (버들송이 버섯1호)	1.59
<i>Auricularia auricula-judae</i> (목이버섯 KCCM 32023)	N.D.
<i>Coriolus versicolor</i> (구름버섯 KCCM 11257)	0.85
<i>Coriolus versicolor</i> (구름버섯 KCCM 11258)	0.16
<i>Coriolus versicolor</i> (구름버섯 KCCM 11259)	0.29
<i>Flammulina velutipes</i> (팽이 버섯2호)	1.71
<i>Ganoderma lucidum</i> (영지 버섯1호)	2.11
<i>Grifola fromdosa</i> (잎새 버섯1호)	1.23
<i>Hgpsizygyus marmoreus</i> (만가닥 버섯1호)	0.29
<i>Lentinus edodes</i> (표고 버섯 농기3호)	0.36
<i>Naematoloma sublateritium</i> (개암버섯 KCCM 12354)	N.D.
<i>Pleurotus ostreatus</i> (느타리 버섯 원형1호)	0.88

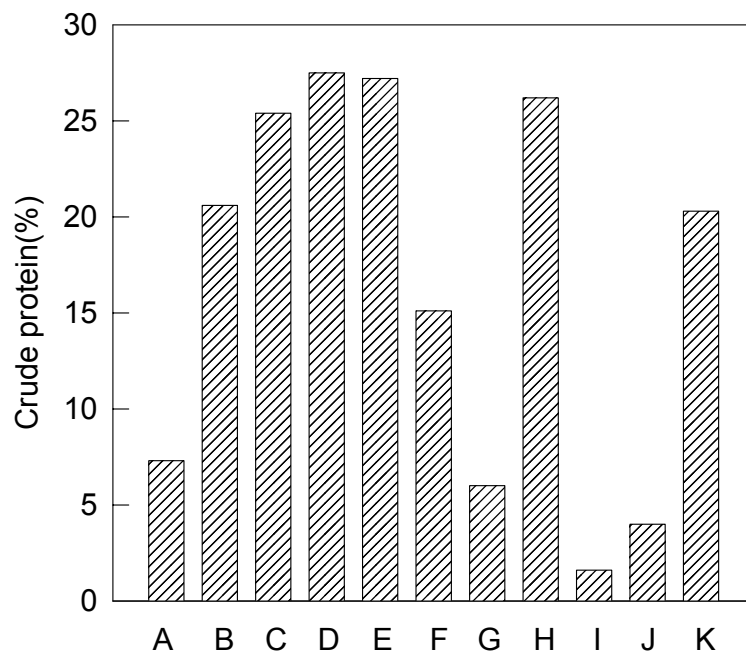


Fig. 1. Comparison of the protein content of tested mushroom

A : *Agaricus bisporus*

B : *Agrocybe aegerita*

C : *Coriolus versicolor* KCCM 11257

D : *Coriolus versicolor* KCCM 11258

E : *Coriolus versicolor* KCCM 11259

F : *Flammulina velutipes*

G : *Ganoderma lucidum*

H : *Grifola fromdosa*

I : *Hgpszizygus marmoreus*

J : *Lentinus edodes*

K : *Pleurotus ostreatus*

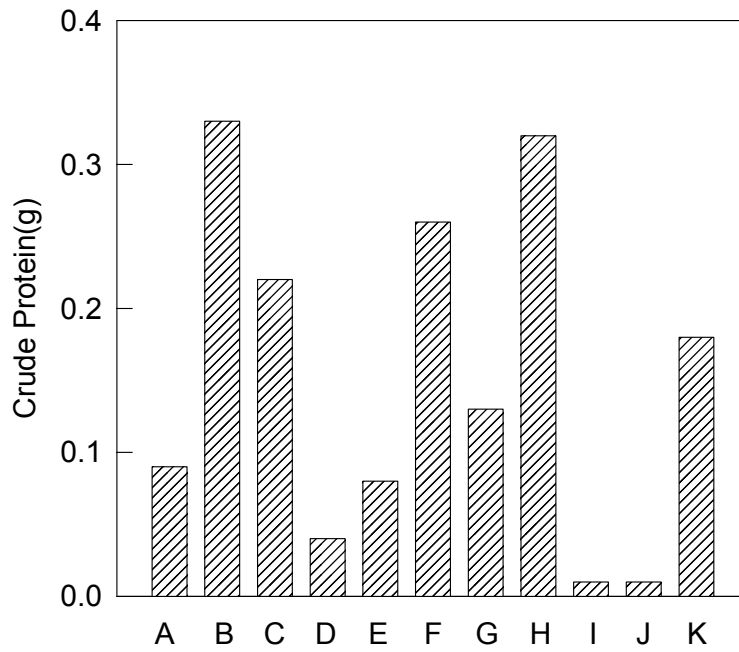


Fig. 2. Comparison of the total protein content of tested mushroom

A : *Agaricus bisporus*

B : *Agrocybe aegerita*

C : *Coriolus versicolor* KCCM 11257

D : *Coriolus versicolor* KCCM 11258

E : *Coriolus versicolor* KCCM 11259

F : *Flammulina velutipes*

G : *Ganoderma lucidum*

H : *Grifola fromdosa*

I : *Hgpszizygus marmoreus*

J : *Lentinus edodes*

K : *Pleurotus ostreatus*



조단백질 함량이 비교적 높은 *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호), *Grifola fromdosa*(잎새버섯 1호) 및 *Coriolus versicolor*(구름버섯 KCCM 11257, 11258, 11259)의 구성아미노산 조성을 측정한 결과, 표 3에 나타낸 바와 같이 잎새버섯은 총 아미노산의 37.8 %가 필수아미노산으로서 버들송이버섯의 31.5 %보다 높았으며 전체 아미노산 함량도 잎새버섯이 많음을 나타내었다.

Table 3. Amino acid composition of *Agrocybe aegerita*, *Coriolus versicolor* KCCM 11257, 11258, 11259 and *Grifola fromdosa*

(unit : mg%)

Amino acids	<i>A. aegerita</i>	<i>C. versicolor</i> KCCM 11257	<i>C. versicolor</i> KCCM 11258	<i>C. versicolor</i> KCCM 11259	<i>G. fromdosa</i>
Asp	2315.8	1676.9	2033.9	2008.2	2758.5
Ser	1032.3	595.4	704.9	726.4	1404.5
Glu	2473.6	2851.0	3202.1	3032.9	3041.9
Gly	886.2	936.4	1155.6	1195.5	1079.1
His	284.9	463.1	657.1	574.4	639.6
Thr	940.6	699.8	984.8	907.2	1139.9
Arg	1415.6	1080.5	1392.3	1255.7	1343.0
Ala	1446.5	1416.2	2033.3	1649.7	1597.7
Pro	863.0	748.4	1316.6	1000.3	921.6
Cys	476.7	불검출	불검출	불검출	390.5
Tyr	513.7	391.6	499.1	442.7	898.3
Val	758.3	1115.3	1336.3	1240.5	1028.1
Met	174.5	238.4	318.2	264.4	326.6
Lys	739.0	1284.5	1772.1	1502.7	1580.6
Isoleu	625.5	873.8	1180.2	977.4	777.8
Leu	1208.9	1337.5	1549.6	1536.8	1678.5
Phe	521.2	760.5	1101.1	886.7	978.2
Total	16676.3	16469.3	21237.1	19201.6	21584.4

#### 다. 균사체의 조지방 함량

비교적 조단백질 함량이 높은 버섯을 선발하여 균사체내의 조지방 함량을 측정 한 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 *Ganoderma lucidum*(영지버섯 1호)이 9.8 %로 가장 조지방 함량이 높았으며, *Grifola fromdosa*(잎새버섯 1호)와 *Pleurotus ostreatus*(느타리버섯 원형1호)가 4.6 %, *Flammulina velutipes*(팽이버섯 2호)가 2.1 %, *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)가 1.4 %, *Coriolus versicolor*(구름버섯 KCCM 11258)이 0.9%로 가장 조지방 함량이 낮았다. 이를 쇠고기와 닭고기의 지방 함량이 각각 3.7 %와 4.8 %인 것과 비교해 보면 *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)와 *Coriolus versicolor*(구름버섯 KCCM 11258)의 경우, 지방 함량이 낮음을 알 수 있었다.

#### 라. 식이섬유의 함량

비교적 균사체내의 조단백질 함량이 높고 조지방 함량이 낮은 *Grifola fromdosa*(잎새버섯 1호)와 *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)의 식이함량을 측정한 결과, 표 4에 나타낸 바와 같이 잎새버섯이 27.0 %로 버들송이 버섯의 20.4 %보다 높았으며 이는 영국에서 개발된 Myco-protein이 갖는 6.8 %보다는 상당히 식이섬유 함량이 높았다.

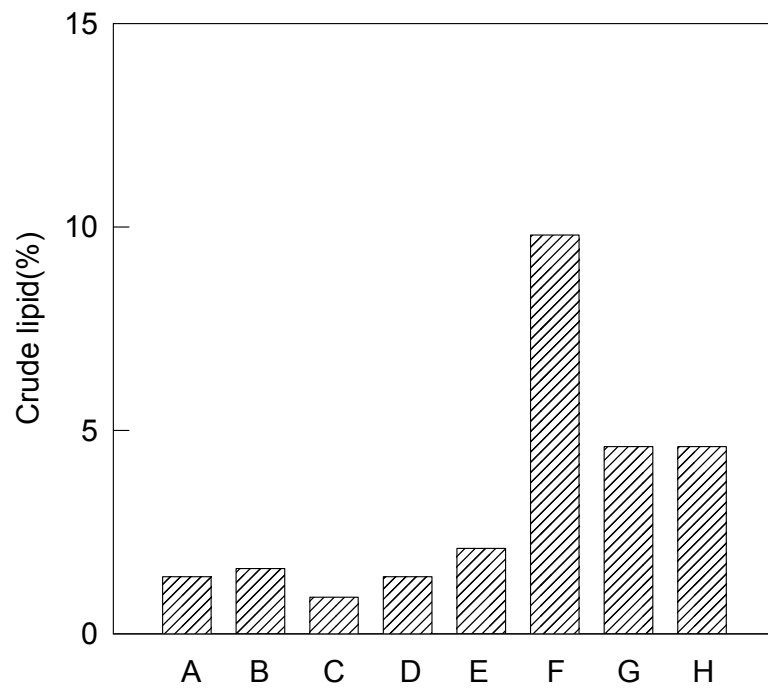


Fig. 3. Comparison of the lipid content of tested mushroom

A : *Agrocybe aegerita*

B : *Coriolus versicolor* KCCM 11257

C : *Coriolus versicolor* KCCM 11258

D : *Coriolus versicolor* KCCM 11259

E : *Flammulina velutipes*

F : *Ganoderma lucidum*

G : *Grifola fromdosa*

H : *Pleurotus ostreatus*

Table 4. Dietary fiber content of *Agrocybe aegerita* and *Grifola fromdosa*

Strain	Dietary fiber content(%)
<i>Agrocybe aegerita</i> (버들송이버섯 1호)	20.4
<i>Grifola fromdosa</i> (잎새버섯 1호)	27.0

마. Mycoprotein 생산을 위한 탄수화물 소재 탐색

*Grifola fromdosa*(잎새버섯 1호)와 *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호)의 대량 배양을 위한 값싼 food-grade의 탄수화물 소재 탐색을 위하여 PDB 배지성분 중 glucose를 각각 wheat starch, corn starch, corn syrup, 밀가루, 사과박, soybean waste(건조 콩비지) 및 조gluten으로 같은 비율로 대체해 넣어 배지를 조제한 후 버들송이 및 잎새버섯 균주를 접종하여 25 °C, 150 rpm에서 坂口 flask를 이용하여 14일 배양하여 건조균체량을 측정된 결과, 표 5에서 보는 바와 같이 버들송이 버섯이 잎새 버섯에 비해 높은 생육을 보였으며 특히 soybean waste에서 생육이 가장 좋았다.

바. 최종 Mycoprotein 생산균주 선정

식용버섯 균사체의 증식에서는 *Ganoderma lucidum*(영지버섯 1호)이 제일 높았으며 버섯 균사체의 조단백질 함량, 아미노산 구성 및 식이버섯 함량에서는 잎새 버섯이 선정에 유리하였으나 버들송이 버섯은 균사체 전체의 조단백질 함량과 조지방 함량 및 대량 배양을 위한 값싼 food-grade의 탄수화물 소재 탐색을 위한 배양시험에서 월등히 좋은 결과를 보였으며 표 6에서 비교한 자료를 토대로 본 연구에서는 mycoprotein 생산균주로 버들송이를 최종적으로 선정하였다.

Table 5. Effect of carbon sources on the growth of *Agrocybe aegerita* and *Grifola fromdosa*

unit: dry weight of mycelium(g)

Carbon source	<i>Agrocybe aegerita</i>	<i>Grifola fromdosa</i>
Wheat starch	1.90	0.58
Corn starch	2.53	0.34
Wheat flour	0.58	0.61
Corn syrup	1.25	0.26
Apple pomace	2.83	0.97
Crude gluten	3.57	0.18
Soybean waste	3.55	0.98
Glucose	1.59	1.23

Table 6. Remarks of of *Agrocybe aegerita* and *Grifola fromdosa*

	버들송이 버섯 ( <i>Agrocybe aegerita</i> )	앞새 버섯 ( <i>Grifola fromdosa</i> )
육성년도	1989	1986
배지조성	미송톱밥70%+밀기울30%	참나무톱밥75%+포폴라25%
접종원 배양	25-30일	25-30일
종균 배양	20-25일	20-25일
배양기간	23-25일	45일
초발소요일수	8-10일	8일
자실체생육일수	7-8일	16일
특 징	맛이 좋음 한국인의 기호에 적합 배양조건이 까다로움 상품가치 높음	병충해에 약함 (방제에 철저 요망)

사. 선정 Mycoprotein 생산균주의 최적배양조건

Mycoprotein 생산용 선발균주의 최적배양조건을 조사하기 위하여 먼저 초기 pH를 3.5~7.5로 조정하고 25°C, 150 rpm에서 坂口 flask를 이용하여 14일 배양하여 건조균체량을 조사한 결과, Fig. 4에서 보는 바와 같이 1.03~1.12 g로 pH의 영향은 거의 없었다.

질소원에 따른 영향은 Fig. 5에 보는 바와 같이 Urea첨가구 만이 대조구와 비슷한 건조균체량을 생성하였으며 Yeast extract, Peptone,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  등의 질소원은 대조구에 비해 15~20%의 균체량의 증가를 보여 주었다.

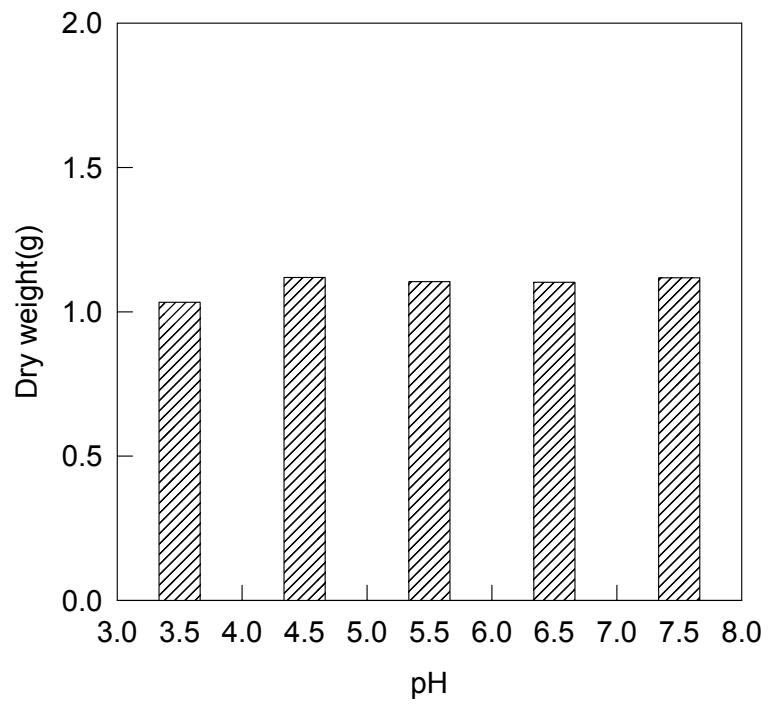


Fig. 4. Effects of initial pH on the growth of *Agrocybe aegerita*

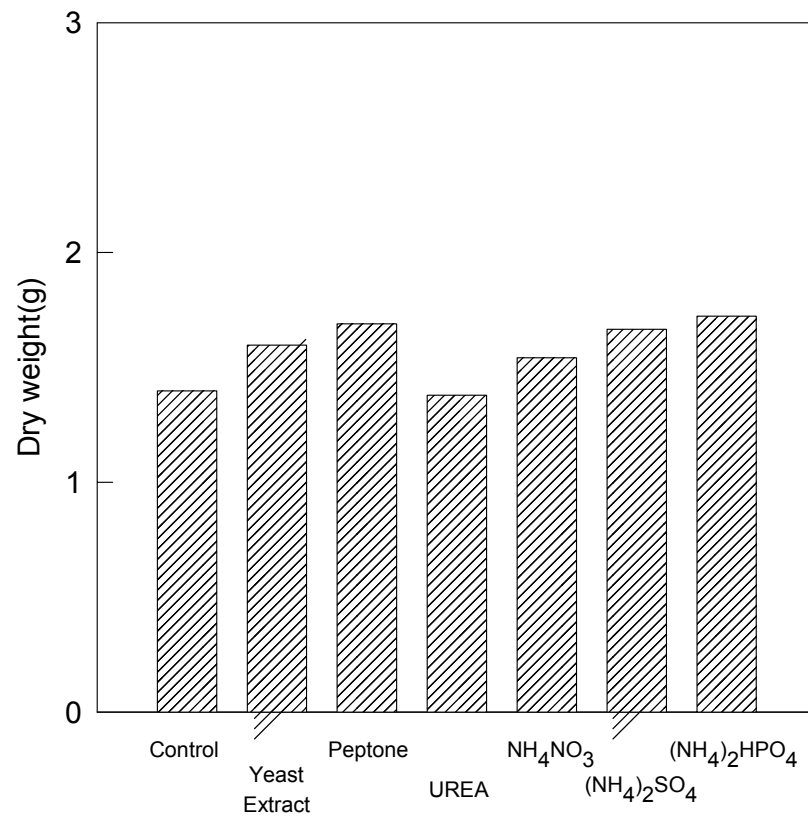


Fig. 5. Effects of Nitrogen source on the growth of *Agroclybe aegerita*



## 2. Myco-protein 개발 및 시험실 규모 제품 개발

### 가. 개발 mycoprotein의 식품가공특성

Mycoprotein 생산능이 좋은 것으로 밝혀진 *Agrocybe aegerita*(버들송이버섯 1호) 종균을 potato infusion 40%, corn starch 2%, peptone 0.2%로 구성된 배지에 접종하여 식용버섯 원균을 활성화시킨 후 25℃, 7일간 진탕배양한 후 여과하여 균사체를 수집하였다. 균사체의 중량(wet weight)은 배양액의 30%에 달하였으며 수분이 95%에 달하였다. 조단백질 함량은 건조 균체량의 약 20%, 조지방함량은 건조균체량의 약 1.5%로 저지방의 특성을 보여주었다. 따라서 개발된 mycoprotein의 low fat, cholesterol free의 특성에 난백, 전분, 식이섬유(corn hull) 등을 강화시킨다면 modified novel food제조가 가능한 것으로 사료되었다(Data not shown).

### 나. Modified novel foods제조 및 저장 특성

#### 1) Steam을 이용한 Modified novel foods제조

예비실험으로서 문헌을 이용한 배합비율을 mycoprotein 63%, 난백 10%, 전분 10%, 식용유 15%, 소금 2% 및 meat flavour 미량을 첨가하여, 한 part는 autoclave을 이용하여 100℃에서 20분간, 다른 한 part는 찜통을 이용하여 100℃에서 20분간 cooking하였다. 형상은 마치 어묵을 으깨어 놓은 것 같이 되었다.

예비실험에서의 trial and error를 거친 후 mycoprotein을 50%로 하고 전분과 난백을 각기 0%~50% 조합하여 찜통을 이용하여 100℃에서 1시간 steaming하였다. 전분을 첨가하지 않고 난백 50% 처리구에서는 응집력이 거의 나타나지 않았으며 전분 20%, 난백 30% 첨가 처리구가 조직감이나 응집력이 양호하였으나 전반적으로 식품가공용으로는 부적합하였다. 전분함량이 적게 첨가된 쪽이 전반적인 L값이 높게 나타났으나 a, b값은 큰 차이를 보여주지 않았다(Data not shown).

#### 2) 이축압출성형장치를 이용한 Modified novel foods제조

버섯 균사체, 옥수수수피(corn hull) 및 난백의 혼합조성물을 이용한 기능성 식품소재의 제조를 위하여 이축압출성형장치를 이용하여 버섯균사체 혼합조성물의 단백질의 조직화 실험을 수행하였다. 예비실험을 하기 위해서는 많은 량의 균사체(최소 10kg)가 필요

하므로 발효조 및 진탕배양기를 이용하여 균사체를 수집하였다.

원료의 전처리 및 제품생산 방법으로 버섯 균사체를 corn hull과 난백 원료와의 적정 혼합비로 배합하여 원료공급장치에서 공급이 가능한 상태의 입자상태로 제조하여 단백질 조직화 반응을 유도하고 단백질 조직화 제품은 판상형 제품으로 생산하였다(Fig. 6).



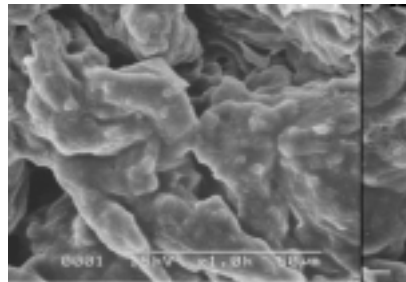
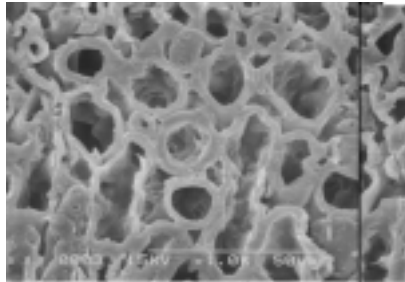
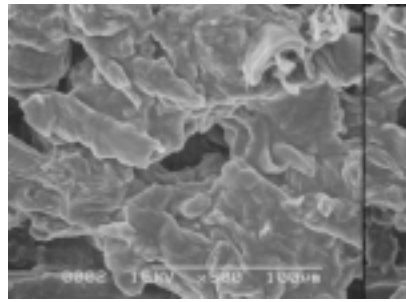
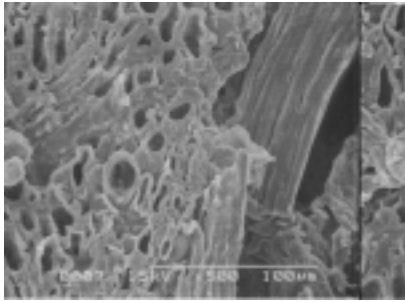
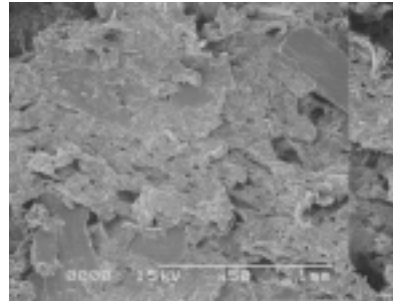
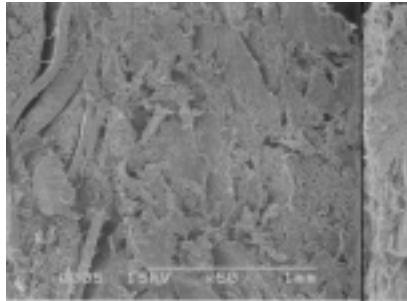
Fig. 6. Texturized Myco-protein by Extrudated with Twin Screw Extruder

3) 제조한 modified novel foods의 물리화학적, 조직 및 저장 특성

제조한 modified novel foods, 압출성형품Ⅱ의 색도는 표 7과 같았다. 밝기를 나타내는 L값은 50.86, 적색을 나타내는 a값은 +1.64, 황색을 나타내는 b값은 +18.10으로 도토리묵의 경우, L값 42.4, a값 3.81, b값 18.28과 비교할 때, 본 시료는 탁한 갈색을 갖는 것으로 보였다. 또 L, a, b값을 Munsell conversion으로 R(red), G(green), B(blue)값으로 환산한 결과, R값 148, G값 132, B값 105로 나타났다. 압출성형물Ⅱ의 조직모양은 Fig. 7과 같았다.

Table 7. Comparative Chromaticity of Texturized Myco-protein and Acorn Starch Jelly

	L	a	b
Texturized Myco-protein	50.86	1.64	18.10
Acorn Starch Jelly	42.40	3.81	18.28



( A )

( B )

Fig. 7. Scanning electron micrographs of Texturized Myco-protein II

( A : Cutting face, B : Surface )

다. Modified novel foods의 기호성 및 영양학적 특성

Modified novel foods의 기호성 분석은 대두 인조육을 대조구로 하여 색, 외관, 맛, 조직감, 전체적인 기호도에 관한 차이식별검사를 실시한 후 SAS통계에 의한 분산분석 및 Anova test를 실시하였다. 표 8에 나타난 바와 같이 대두 인조육에 비해 분석항목 모두에서 유의성 없이 약간 낮은 평가를 받아 기호성 증진을 위한 보완이 필요하였다.

표 8. Sensory evaluation of artificial meat made by soy and myco-protein

항 목	Soy-protein	Myco-protein
색	5.70±2.83 <sup>a</sup>	5.00±2.14 <sup>a</sup>
외 관	5.70±2.50 <sup>a</sup>	5.27±2.41 <sup>a</sup>
맛	4.30±2.98 <sup>a</sup>	4.82±2.09 <sup>a</sup>
조직감	5.04±2.63 <sup>a</sup>	4.50±2.00 <sup>a</sup>
전체적인 기호도	4.91±2.74 <sup>a</sup>	4.80±2.26 <sup>a</sup>

Modified novel foods의 영양학적 분석은 일반성분과 지방산, 구성아미노산의 분석을 하고 영국에서 시판되고 있는 고기대용품 Quorn과 비교하였다. Quorn은 닭고기 가슴살과 비슷한 육질을 가지고 있으며 토양에서 분리한 *Fusarium graminearum*을 이용하여 만든 vegetable origin의 low fat, no animal fat, no cholesterol, 양질의 protein과 식이섬유원을 특징으로 하고 있는 고기대용품이다. 표 9에서 보는 바와 같이 압출성형품의 일반 성분은 Quorn과의 수분함량의 차이를 감안하더라도 Quorn이 특징으로 하고 있는 vegetable origin의 low fat, no animal fat, no cholesterol, 양질의 protein과 식이섬유원을 만족하는 것으로 나타났다.

압출성형물의 지방산 조성은 표 10에서 보는 바와 같이 Quorn에 비해 Stearic acid, Linolenic acid 함량이 낮고 그만큼 Linoleic acid 함량이 높았지만 필수지방산인 Linolenic acid 함량과 Linoleic acid 함량이 풍부한 것을 알 수 있었다. 압출성형물의 구성아미노산 조성은 표 11과 같았으며 단백질함량과 거의 일치하였다.

Table 9. Proximate Composition of Texturized Myco-protein II (100g)

Item	Texturized Myco-protein II	Quorn
Total Fat	0.21 g	3.5 g
Cholesterol	0 mg	Nil.
Sodium	262 mg	240 mg
Dietary Fiber	17.0 g	4.8 g
Protein	21.6 g	11.8 g
Vitamin C	0 mg	0 mg
Calcium	81.6 mg	21.0 mg
Iron	1.6 mg	0.7 mg
Moisture	54.7 g	75 g
Ash	1.6 g	1.3 g

Table 10. Fatty acid contents of Texturized Myco-protein II

화학식	지방산(일반명)	조성비(%)	
		압출성형품 II	Quorn
C16:0	팔미틴산(Palmitic acid)	14.2	15.4
C18:0	스테아린산(Stearic acid)	2.9	7.7
C18:1	올레인산(Oleic acid)	26.5	26.9
C18:2	리놀레인산(Linoleic acid)	53.2	38.5
C18:3	리놀레닌산(Linolenic acid)	3.2	11.5
합 계		100.0	100.0

Table 11. Structural amino acid composition of texturized myco-protein II  
(mg/100g)

Amino Acid	Content	
아스파르트산(Aspartic acid)	1991.4	
세린(Serine)	906.7	
글루탐산(Glutamic acid)	2920.3	
글리신(Glycine)	825.7	
히스티딘(Histidine)	592.9	
트레오닌(Threonine)	858.7	HPLC
아르기닌(Arginine)	1180.9	(AccQ-Tag)
알라닌(Alanine)	1368.8	
프롤린(Proline)	1023.3	
시스테인(Cystein)	786.4	
티로신(Tyrosine)	592.2	
발린(Valine)	1536.4	
메티오닌(Methionine)	604.4	
리진(Lysine)	1396.5	
이소로이신(Isoleucine)	1178.0	
로이신(Leucine)	1935.4	
페닐알라닌(Phenylalanine)	1257.2	
Total	20955.3	

### 3. 시험실 규모 제품 특성 및 공정 개발

#### 가. Modified novel foods의 생체소화율 시험

버섯 균사체, 옥수수피(corn hull) 및 난백의 혼합조성물을 이축압출성형장치를 이용하여 고압처리, 원료공급장치에서 공급이 가능한 상태의 입자상태로 제조하여 단백질 조직화 반응을 유도하고 단백질 조직화 제품은 판상형 제품으로 생산하였다.

사양시험에 의한 생체소화율 시험은 체중이 150g~170g의 범위에 속하는 숫쥐(S.D rat ♂ : Sprague-Dawley)를 이용하였으며 사료 섭취량 및 체중은 일주일 단위로 측정하였으며 시험사료는 AIN-76의 Formula의 방법에 따라 제조한 것을 대조구 사료로 하여 제조한 modified novel food를 3% 첨가하여 시험을 실시하였다. 시험사료 제조는 표 12와 같이 제조한 AIN-76 사료에 modified novel food를 첨가비율별로 혼합하여 Pelleter를 사용하여 사료를 만들었으며 사육기간은 예비시험 일주일을 포함하여 5주일 동안 하였다. 표 12에 첨가한 미네랄과 비타민은 표 13과 표 14와 같은 혼합물을 사용하였다. 사료는 일주일 단위로 잔량을 측정하여 실질적으로 섭취한 양을 계산하였으며 물은 자유 섭취토록 하면서 실험종료 3일간 섭취량 및 배설량을 측정하여 쥐의 사료 영양소를 흡수(absorption)한 것을 측정하였다. 실험동물 사육실의 온도는 23℃로 고정하였으며 습도는 60%를 유지하였다.



Table 12. AIN-76 purified diet table of feed

Feed	%
Casein(Feed grade, cp 85%)	20.0
DL-Methionine	0.3
Corn starch	15.0
Sucrose	50.0
Cellulose	5.0
Corn oil (Commercial)	5.0
AIN Mineral mix	3.5
AIN Vitamin mix	1.0
Choline bitartrate	0.2
Total	100

(AIN, 1977)

Table 13. Mineral mixture table of AIN-76

Mineral	Content(g/kg)
Calcium phosphate, dibasic	500.0
Sodium chloride	74.0
Potassium citrate, monohydrate	220.0
Potassium sulfate	52.0
Magnesium oxide	24.0
Manganous carbonate(43-48% Mn)	3.5
Ferric citrate(16-17% Fe)	6.0
Zinc carbonate(70% ZnO)	1.6
Cupric carbonate(53-55% Cu)	0.3
Potassium iodate	0.01
Sodium selenite	0.01
Chromium Potassium sulfate	0.55
Sucrose, finely Powdered to make	1,000

(AIN, 1977)

Table 14. Vitamin mixture table of AIN-76

Vitamin	Content
Thiamin HCl	600mg
Riboflavin	600mg
Pyridoxine HCl	700mg
Nicotinic acid	3g
D-Calcium Pantothenate	1.6g
Folic acid	200mg
Biotin	20mg
Cyanocobalamin (vitamin B-12)	1mg
Retinyl Palmitate or acetate( vitamin A)	+
dl- $\alpha$ -Tocopheryl acetate (vitamin E)	+
Cholecalciferol (vitamin D3)	2.5mg
Menaquinone (vitamin K)	5.0mg
Sucrose, Finely Powdered to make	1,000g

(AIN, 1977)

고등균류 사료와 일반사료를 이용한 사양시험에서 체중의 변화는 Fig. 8에서 보는 바와 같이 급여 1주일 후부터 일반사료를 섭취한 군보다 고등균류 사료를 섭취한 군에서 근소한 차이긴 하지만 10 g 정도의 약간 높은 체중을 나타내었다. 일일 증체량의 변화는 Fig. 9에 나타낸 바와 같이 일반사료와 고등균류 사료 군에서 거의 차이가 없었으며 특히 2주에서 3주 사이에는 두 처리군에서 모두 체중이 거의 늘지 않는 경향을 보였다.

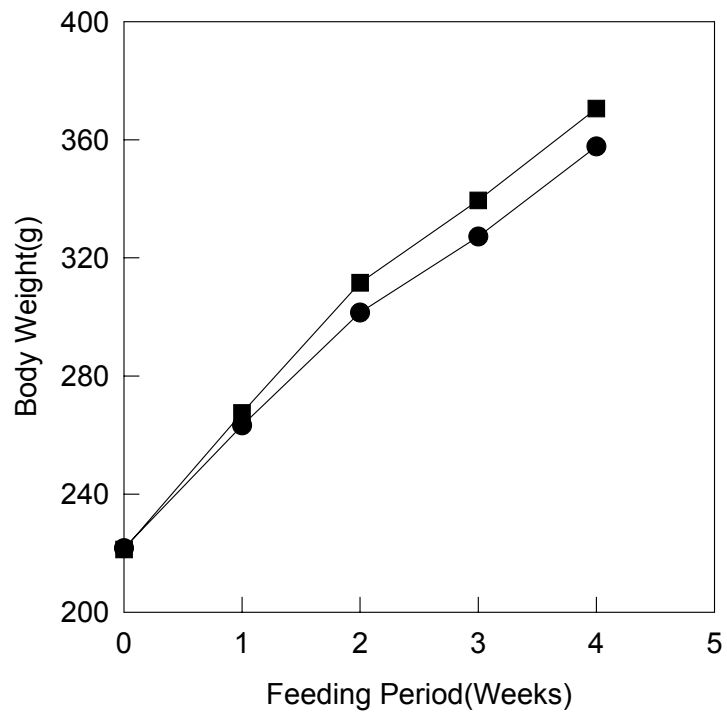


Fig. 8. Changes of body weight by feeding different feed of S.D. rat

● : Control Feed  
■ : Feed added Myco-protein

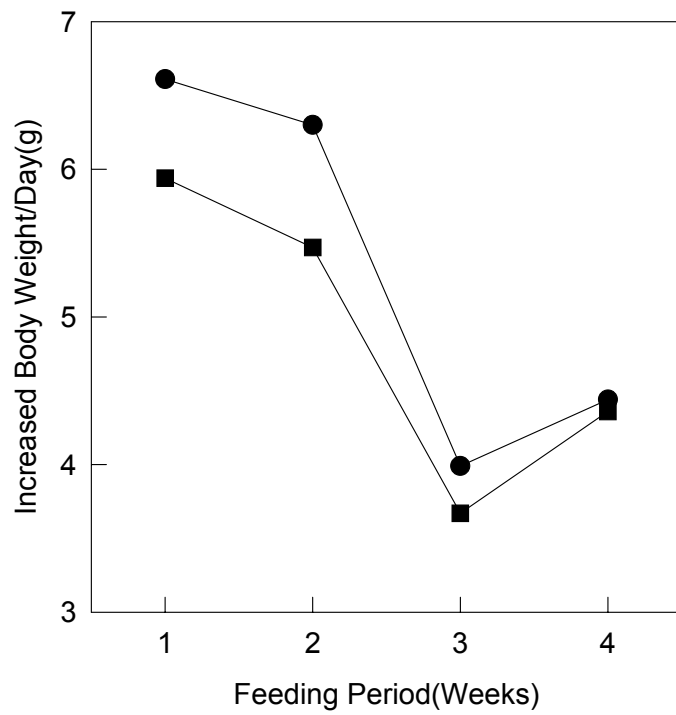


Fig. 9. Changes of body weight per day by feeding different feed of S.D. rat

- : Control Feed
- : Feed added Myco-protein

사료 섭취량은 Fig. 10에서 보는 바와 같이 일반 사료보다 고등균류를 첨가한 처리군에서 섭취량이 증가하였으며 이것은 체중이 늘어난 것과 유사한 경향을 나타냈으며 쥐가 고등균류가 첨가된 시료를 선호하는 것으로 사료되었다.

실험종료 3일간의 사료 섭취량 및 분 배설량을 측정하기 위하여 일반사료를 급여한 처리군 14마리, 고등균류의 사료를 섭취한 처리군 16마리를 대상으로 실험하였다. Rat Cage에 2마리씩 넣고 급여하였으며 Fig. 11에 나타낸 바와 같이 사료 섭취량에 있어서 일반사료를 섭취한 군은 67.69g을 섭취한 반면 고등균류 첨가 사료는 76.79g을 섭취한 것으로 보아 고등균류 첨가 사료를 더 선호하는 것으로 나타났다. 3일간 분으로 배설된 양을 보면 사료를 많이 섭취했음에도 고등균류 사료를 섭취한 군에서 적게 배설하여 고등균류를 첨가한 사료가 쥐의 체내에서 소화가 잘 이루어지는 것으로 판단되었다.

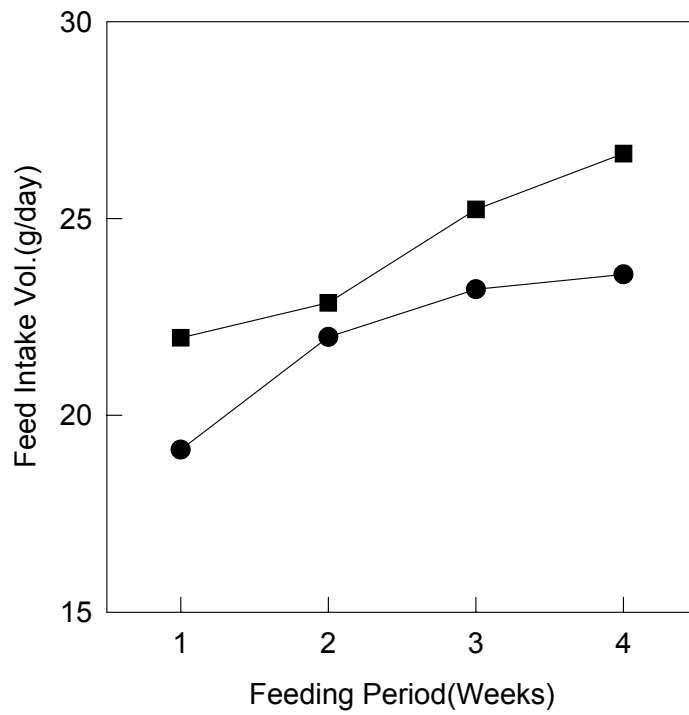


Fig. 10. Changes of feed intake volume by feeding different feed of S.D. rat

- : Control Feed
- : Feed added Myco-protein

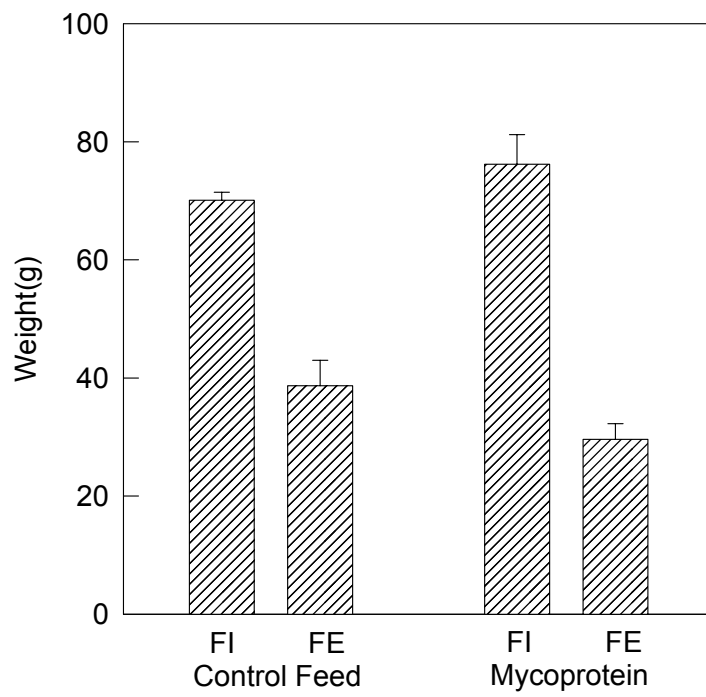


Fig. 11. Weight of feed-intake and feces-excretion during three days for feces sampling

FI : Feed-Intake, FE : Feces-Excretion

건물량으로 환산하여 사료 섭취량 및 분으로 배설된 량에서도 Fig. 12에 나타낸 바와 같이 대조군(control)은 사료를 적게 섭취하였음에도 배설량이 많았으며 고등균류는 섭취량이 많음에도 불구하고 배설량은 적은 경향을 보였다. 이것은 고등균류를 첨가한 사료가 소화기관(digestive organ)내에서 흡수율(absorption)이 높아 소화 흡수가 잘 되는 것으로 판단되었다.

생체소화율을 보기 위하여 섭취사료의 영양소와 분으로 배설된 배설물의 영양소를 분석한 결과, 표 15와 같았다. 지방 흡수율(Fatty-absorption)의 경우, 대조군(control)은 48%의 흡수율을 보였으며 고등균류는 59.96%의 흡수율을 보였고, 단백질(protein)은 대조군에서 52% 였으나 고등균류는 65.8%의 흡수율을 보였다. 영양소 흡수율(nutrition-absorption)에서도 단백질과 지방 모두 고등균류의 흡수율이 높은 것으로 나타났으며 이것은 고등균류 사료가 쥐의 체내 이용률(intestine-utilization)이 높은 것으로 사료되었다.

5주일간의 사양시험을 행한 후에 쥐(S.D rat ♂ : Sprague-Dawley)의 혈액을 채취하여 혈액중의 GOT, GPT 및 cholesterol을 측정하였다. 표 16에 보는 바와 같이 modified novel food를 3% 첨가한 사료 급여군의 cholesterol 함량이  $53.50 \pm 7.34$ 로서 대조군의  $63.86 \pm 9.68$ 에 비해 낮아 생체소화율 뿐 만 아니라 cholesterol 함량까지 감소시키는 효과를 관찰하였다.



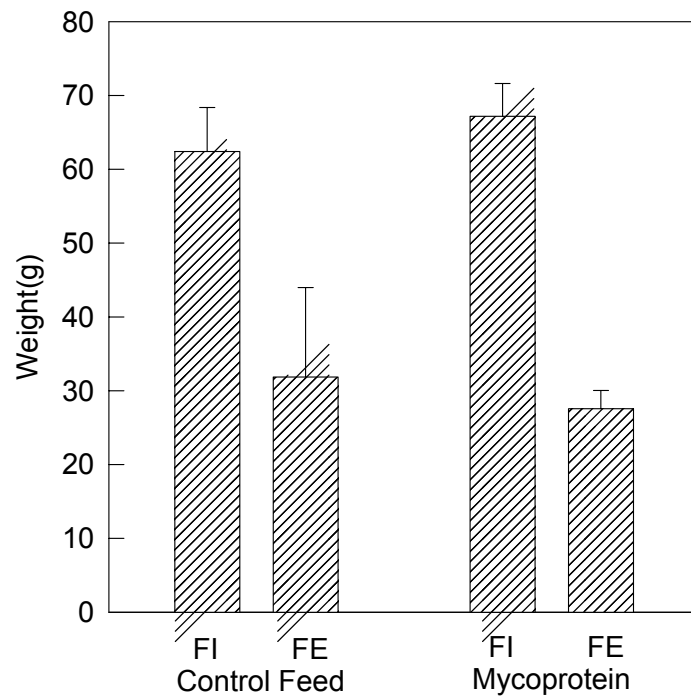


Fig. 12. Dry weight of feed-intake and feces-excretion during three days for feces sampling

FI : Feed-Intake, FE : Feces-Excretion

Table 15. Biodigestibility of S.D. rat by feeding different feeds

	Control Feed				Myco-protein			
	Feed-Intake	Feces-Excretion	Digesti-bility	Absorp-tion	Feed-Intake	Feces-Excretion	Digesti-bility	Absorp-tion
Moisture(%)	7.7	6.4			11.8	6.9		
Lipid(%)	64.37	33.46	30.91	48.02	73.03	29.24	43.79	59.96
Ash(%)	62.88	26.82	36.06	57.35	71.65	23.89	47.76	66.66
Protein(%)	51.65	24.78	26.87	52.02	59.13	20.18	38.95	65.87
Fiber(%)	65.32	29.21	36.11	55.28	73.64	25.76	47.88	65.02

\*3일 동안 사료 총 섭취량에 대한 영양소 총량에서 분으로 배설된 영양소를 제외한 나머지 영양소가 실험동물 체내에서 흡수된 것임. 단 뇨로 배설된 영양소가 사양관리 핸드북(1989)에 의하면 1~3% 정도 된다고 하여 뇨로 배출된 영양소는 계산하지 않았음.

표 16. Blood function test of S.D. rat by feeding different feeds

Group	SGOT	SGPT	Cholesterol
CF	79.43±16.66	59.21±12.95	63.86±9.68
MF	77.31±16.97	51.00±5.62	53.50±7.34

CF : Control feed treatment group

MF : Mycoprotein containing feed group

#### 나. Modified novel foods 제조의 최적공정 개발

지금까지의 연구결과를 토대로 modified novel foods 제조의 최적공정을 설정하였다. 각 종 버섯 균사체의 생육도와 조단백질, 조지방, 아미노산 조성, 식이섬유 함량 등을 고려하여 mycoprotein 생산균주로 버들송이(*Agrocybe aegerita*)를 최종적으로 선정하고 최적배양조건으로 potato infusion 40%, corn starch 2%, peptone 0.2%로 구성된 배지에 접종하여 식용버섯 원균을 활성화시킨 후 25℃, 7일간 진탕배양한 후 여과하여 균사체를 수집하였다. Modified novel foods 제조는 버섯 균사체, 옥수수껍질(corn hull) 및 난백의 혼합조성물을 이축압출성형장치를 이용하여 단백질 조직화 반응을 유도하고 단백질 조직화 제품은 관상형 제품으로 생산하였다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

식품소재중 동물성 단백질과 지방을 신기능 생물소재인 식물성 단백질로 대체하기 위하여 고등균류의 myco-protein을 탐색하고 myco-protein생산 우수균주를 선정한 후 이를 활용하여 저지방, cholesterol free, 식이섬유 등의 기능성을 강화시킨 modified novel foods를 개발하기 위하여 본 연구과제계획서에 계획한 내용에 충실하고자 하였다.

Mycoprotein개발용 균주를 screening하기 위하여 식용버섯 종균을 수집, 분리하고 분리 균주의 생육도, 단백질함량, 식이섬유 함량 및 지방함량 측정 등에 의해 균주를 선정하고 균체생산 최적화방법을 설정하였다. 선정한 균주가 생산하는 mycelium의 식품가공특성을 조사하고 제조한 modified novel foods의 조직과 물리화학적 특성을 조사하고 기호성과 영양학적 특성을 분석하였다. 제조한 modified novel foods의 생체소화율을 시험하기 위하여 S.D. rat를 이용한 사양시험을 통하여 분석하였으며 modified novel foods제조 최적공정(안)을 설정하였다.

식물성 단백을 이용한 저지방, cholesterol free, 식이섬유 함유 modified novel foods의 개발은 채식주의자와 국민건강에 유익할 것이며 상품화를 위하여 국내 식품산업에 여러 가지 응용과 기술전수를 통하여 많은 기여를 할 것으로 기대된다.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구진이 수행한 식품소재중 동물성 단백질과 지방을 신기능 생물소재인 식물성 단백질로 대체하기 위하여 고등균류의 myco-protein을 탐색하고 myco-protein생산 우수 균주를 선정한 후 이를 활용하여 저지방, cholesterol free, 식이섬유 등의 기능성을 강화시킨 modified novel foods를 개발은 아래와 같이 활용하고자 한다.

- 국내식품산업의 새로운 영역을 구축하고 기술력 제고
- 미생물이 생산하는 우수한 myco-protein을 개발, 생산하여 이를 이용한 새로운 식품소재를 개발함으로써 기술축적 뿐만 아니라 제품의 국산화에 이바지함
- 수출증대에 따른 세계적인 식품으로서의 기반을 구축하고 국민보건 향상을 기대
- 농공단지를 이용한 공장건설로 농민소득의 증대화
- 인조육과 같은 기능성 식품 개발에 의한 용도의 다양화
- 성인병 예방식품으로서의 활용도 제고

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

본 연구를 수행하면서 해외과학기술정보의 수집은 주로 문헌 및 특허를 중심으로 행하였으며 해외에서 지금까지의 연구결과는 Quorn을 중심으로 되어 있을 뿐이다. 영국의 Quorn사에서는 1964년부터 *Fusarium graminearum*을 이용한 fungal myco-protein 생산을 연구하여 1984년에 안정성이 확인되어 식품으로 허가된 1984년부터 인조육을 대량생산, 세계에서 유일하게 시판하고 있다. 이것은 단백질함량이나 아미노산조성에서는 쇠고기와 대등하며 지방함량과 열량은 오히려 낮아 구미에서는 쇠고기보다 높은 가격에 팔리고 있으며 다양한 용도개발이 이루어져 수요가 증대되고 있는 추세이다. 따라서 본 연구진은 이와 관련된 논문과 특허 대부분을 수집하였으며 해외 출장자를 통한 Quorn 사의 응용 제품인 "2 Quorn® & Vegetable Crispbakes"을 수집하였다. 수집한 문헌 및 특허 등은 참고문헌에 기록하였거나 본 연구진이 사본들을 갖고 있음.



## 제 7 장 참고문헌

- 1) Davies, J. and Lightowler, H. : Plant-based alternatives to meat. *Nutri. Food Sci.*, 2/3, 90-94(1998)
- 2) Griffen, A.M., Novakova, M., Mokhtar, S.I., Wiebe, M.G., Robson, G.D. and Trinci, A.P.J.: Protease-deficient mutants of the QuornRegistered myco-protein fungus, *Fusarium graminearum* A3/5. *FEMS Microbiol. Lett.*, 158, 231-236(1998)
- 3) Wiebe, M.G., Robson, G.D., Oliver, S.G. and Trinci, A.P.J. : pH oscillations and constant low pH delay the appearance of highly branched (colonial) mutants in chemostat cultures of the QuornRegistered myco-protein fungus, *Fusarium graminearum* A3/5. *Biotechnol. Bioeng.*, 51(1), 61-68(1996)
- 4) Wiebe, M.G., Blakebrough, M.L., Craig, S.H., Robson, G.D. and Trinci, A.P.J. : How do highly branched (colonial) mutants of *Fusarium graminearum* A3/5 arise during Quorn Registered myco-protein fermentations? *Microbiology*, 142(3), 525-532(1996)
- 5) Royer, J.C., Moyer, D.L., Reiwitich, S.G., Madden, M.S., Jensen, E.B., Brown, S.H., Yonker, C.C., Johnstone, J.A., Golightly, E.J., Yoder, W.T. and Shuster, J.R. : *Fusarium graminearum* A 3/5 as a novel host for heterologous protein production. *Bio/Technology*, 13(13), 1479-1483(1995)
- 6) Wiebe, M. : A new use for the myco-protein organism. *Bio/Technology*, 13(13), 1434(1995)
- 7) Wiebe, M.G., Robson, G.D., Oliver, S.G. and Trinci, A.P.J. : Evolution of *Fusarium graminearum* A3/5 grown in a glucose-limited chemostat culture at a slow dilution rate. *Microbiology*, 140(11), 3023-3029(1994)
- 8) Wiebe, M.G., Robson, G.D., Oliver, S.G. and Trinci, A.P.J. : Use of a series of chemostat cultures to isolate 'improved' variants of the QuornRegistered myco-protein fungus, *Fusarium graminearum* A3/5. *Microbiology*, 140(11), 3015-3021(1994)
- 9) Trinci, A.P.J. : Evolution of the QuornRegistered myco-protein fungus, *Fusarium*

*graminearum* A3/5. *Microbiology*, 140(9), 2181-2188(1994)

- 10) Smith, J. : New opportunities in food biotechnology. *Food Australia*, 46(6), 262-265(1994)
- 11) Edwards, D.G. : The nutritional evaluation of myco-protein. *Intl. J. Food Sci. Nutr.*, 44(Suppl. 1), S37-S43(1993)
- 12) Lant, P.A., Tham, M.T. and Montague, G.A. : On the applicability of adaptive bioprocess state estimators. *Biotechnol. Bioeng.*, 42(11), 1311-1321 (1993)
- 13) Turnbull, W.H., Walton, J. and Leeds, A.R. : Acute effects of myco-protein on subsequent energy intake and appetite variables. *Am. J. Clin. Nutr.*, 58(4), 507-512(1993)
- 14) Sadler, M.J. : Myco-protein, in *Encyclopedia of Food Sci., Food Technol., Nutr.*, 1993, p.3191-3196, R. Macrae et al.(ed.), Academic Press
- 15) Wiebe, M.G., Robson, G.D., Cunliffe, B., Trinci, A.P.J. and Oliver, S.G. : Nutrient-dependent selection of morphological mutants of *Fusarium graminearum* A3/5 isolated from long-term continuous flow cultures. *Biotechnol. Bioeng.*, 40(10), 1181-1189(1992)
- 16) Turnbull, W.H., Leeds, A.R. and Edwards, D.G. : myco-protein reduces blood lipids in free-living subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 55(2), 415-419(1992)
- 17) Turnbull, W.H., Bessey, D., Walton, J. and Leeds, A.R. : The effects of myco-protein on hunger, satiety and subsequent food consumption, *Obesity in Europe*, 91, 67-70(1991)
- 18) Biacs, P.A. and Beczner, J. : Fermented foods in human nutrition, *Catering and Health*, 1, 225-231(1990)
- 19) Sadler, M., Cottage, P. and Farm, H. : Myco-protein - a new food, *BNF Nutr. Bulletin*, 15, 180-190(1990)
- 20) Turnbull, W.H., Leeds, A.R. and Edwards, D.G. : Effect of myco-protein on blood lipids, *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, 646-650(1990)
- 21) Trinci, A.P.J. and Wiebe, M.G. : Production of fungal biomass and fungal spores in continuous and fed-batch culture. *Aspects of Applied Biology*, 24, 255-262 (1990)



- 22) Campbell, P.G. and Cook, P.E. : Fungi in the production of foods and food ingredients. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.*, 18, 117S-131S(1989)
- 23) Wiebe, M.G., Robson, G.D. and Trinci, A.P.J. : Effect of choline on the morphology, growth and phospholipid composition of *Fusarium graminearum*. *J. Gen. Microbiol.*, 135(8), 2155-2162(1989)
- 24) Byrne, M. : Whatever happened to new protein? *Food Manufacture*, 63(10), 51-52, 54, 57(1988)
- 25) Miles, P.G. and Chang, S-T. : "Mycomeat"-A food produced from soybean slurry by Fungal mycelium, *Recent Advances in Biotechnol. Appl. Biol.*, 577-586(1988)
- 26) 양성욱 : 표고균사체의 인공배양과 음료화 방법, 특허공고 88-7005(1988)
- 27) Edelman, J. : Foods of the '80s, *Food Manufacture*, 62(7), 75-76(1987)
- 28) Edwards, G. : Myco-protein - The development of a new food, *Food Lab. Newsletter*, 6, 21-24(1986)
- 29) 김희중 : 불로초 버섯을 이용한 청량음료의 제조법, 특허공고 85-8443(1985)
- 30) 박종희 : 버섯음료의 제조방법, 특허공고 84-1258(1984)
- 31) Udall, J.N., Lo, C.W., Young, V.R. and Scrimshaw, N.S. : The tolerance and nutritional value of two microfungus foods in human subjects, *Am. J. Clin. Nutr.*, 40, 285-292(1984)
- 32) Woollen, A. : Rhm's myco-protein ready for launch, *Food Processing*, July, 24(1984)
- 33) Yanchinski, S. : U.K. sinks its teeth into myco-protein, *Bio/Technol.*, 2(11), 933(1984)
- 34) Edelman, J., Fewell, A. and Solomons, G.L. : Myco-protein - a new food, *Nutr. Abst. Rev. Clin. Nutr.*, 53, 471-480(1983)
- 35) 정성구 : 버섯음료의 제조방법, 특허공고 83-1204(1983)
- 36) Anon. : Fungus-based food tastes like meat. *Food Engineering Intl.*, 6(9), 69-70 (1981)
- 37) Owen, D.E., Munday, K.A., Taylor T.G. and Turner, M.R. : Effects of wheat bran and a mould(*Fusarium*) on cholesterol excretion in rats, *Proc. Nutr. Soc.(Abstr.)*, 35, 38A-39A(1976)

- 38) Owen, D.E., Munday, K.A., Taylor T.G. and Turner, M.R. : The possible nature of the hypocholesterolaemic action of a mould(*Fusarium*), *Proc. Nutr. Soc.*(Abstr.), 35, 127A-128A(1976)
- 39) Owen, D.E., Munday, K.A., Taylor T.G. and Turner, M.R. : Hypochol-esterolaemic action of wheat bran and a mould(*Fusarium*) in rats and hamsters, *Proc. Nutr. Soc.*(Abstr.), 34, 16A-17A(1975)
1. 한인규, 하종규: 사양관리 핸드북(제2판), p 38, 한국사료협회 · 한국영양사료학회(1989)
  2. 한인규, 정천용: 가축영양학, p223~230, 한국방송통신대학교출판부(1993)
  3. 한인규, 최윤재: 실험동물사육학, p1~19, 서울대학교농과대학(1989)

## 주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.