J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.
31(6), 986~993(2002)

한국식품영양과학회지

항암성과 향미가 개선된 재래식 버섯균사체메주의 제조

김영숙 · 박철우 · 김석종 · 박숙자 · 류충호 · 조현종* · 김정옥** · 임동길*** · 하영래†

경상대학교 응용생명과학부, *농협중앙회 식품연구소
**(주) HK바이오텍, ***부산지방식품의약품안전청

Preparation of Mushroom Mycelia-cultured Traditional *Meju* with Enhanced Anticaricinogenicity and Sensory Quality

Young-Suk Kim, Cherl-Woo Park, Seck-Jong Kim, Sook-Jahr Park, Chung-Ho Ryu, Hyun-Jong Cho*, Jeong-Ok Kim, Dong-Kil Lim*** and Yeong-Lae Ha†**

Division of Applied Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea
**National Agricultural Cooperative Federation, Seoul 100-707, Korea*
***HK Biotech. Co., Ltd, Jinju 660-932, Korea*
****Busan Regional KFDA, Busan 608-080, Korea*

Abstract

Mushroom mycelia-cultured traditional *meju* (MTM) was prepared by inoculating 10% submerged-liquid culture of mushroom strains to five holes (1×3 cm) per side of the traditionally-fermented *meju* (10×10×10 cm), followed by incubating additional 4 weeks at 25°C. Mushroom strains used were Neutari (*Pleurotus ostreatus*, PO), Yeongji (*Ganoderma lucidum*, GL), Synryeong (*Agaricus blazei*, AB), Ypsae (*Grifola frondosa*, GF), Pyogo (*Lentinus edodes*, PE), Dongchunghacho (*Paecilomyces japonicus*, PJ) and Sanghwang (*Phellinus linteus*, PL). All MTMs showed an enhanced anticarcinogenicity against S-180 cell-induced mouse ascites cancer, antimutagenicity against aflatoxin B_1 (AFB_1) and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ), and sensory qualities, relative to control *meju*. Such positive effects of MTM prepared with Sanghwang, Yeongji, or Synryeong were superior to those of MTM with Ypsae, Pyogo, Dongchunghacho, or Neutari.

Key words: Mushroom mycelia-cultured traditional *meju*, anticarcinogenicity, sensory qualities

서 론

전통식품인 재래식 간장과 된장은 flavonoid, 갈변물질 등과 같은 성분을 함유하고 있어 항산화성은 강하지만 항암성이 약한 것으로 알려져 있다(1-3). 또한 이들 전통식품은 자극적인 짠맛과 독특한 향(암모니아취 등)을 갖고 있어 신세대들이 기피함은 물론, 해외 수출에도 장애요소가 되고 있다. 그러나 맛을 향상시키고 향을 완화시킨 일본식 된장과 간장은 미국, 캐나다, 남미, 유럽 등으로 수출되고 있어 차츰 그 세계시장을 넓혀가고 있다.

따라서 국제 경쟁력과 국민 건강증진을 위해 항암효과, 체지방감소효과, 면역증강효과 등의 여러 가지 기능성이 강화된 재래식 된장과 간장의 개발이 필요하다. 이와 같은 목적을 달성하기 위해서는 된장과 간장에 특수한 기능성 물질을 첨가시킬 수도 있지만, 근원적으로 메주에 함유된 특수한 성분을 기능성물질로 변화시키거나 메주자체에 기능성물질을 첨가시키는 방법이 모색되어야 할 것이다.

버섯은 항암, 체지방감소, 혈중 콜레스테롤저하, 면역증강 등의 효과를 갖는 기능성물질을 다량 함유하고 있는 유용한 식품 원료이다(4-7). 버섯자실체를 제조된 된장이나 간장에 첨가하는 것은 가능하지만 재래식 발효메주에 첨가하는 것은 불가능하다. 또한 버섯균은 생육 중 생장에 필요한 영양원을 확보하기 위하여 섬유소분해효소, 단백질분해효소, 지방분해효소 등의 다양한 효소를 분비하는데 버섯균 종에 따라 이들 효소의 종류나 특성이 다양하다(8). 따라서 버섯균을 메주에 배양함으로써 버섯균으로부터 유래한 효소작용에 의해 기능성이 강화된 버섯균사체메주를 생산할 수 있을 것이다.

곰팡이, 유산균, 효모, *Bacilli* 등의 복잡한 미생물군에 의해 발효된 재래식메주는 지역이나 가정에 따라 선호하는 맛이나 향이 다르고 규격화된 발효조건이나 종균이 확립되어 있지 않았다(9-16). 따라서, 재래식 발효메주는 다양한 종류의 미생물을 함유하고 있어 버섯균사체가 생육하기 어렵다. 그러므로, 재래식 발효메주에 잘 적응하여 생육할 수 있는 버섯균의 선발이 필요하다.

†Corresponding author. E-mail: ylha@nongae.gsnu.ac.kr
Phone: 82-55-751-5471, Fax: 82-55-757-0178

본 연구에서는 재래식 발효메주에 잘 적응하는 버섯균을 선발하고, 이들 버섯균을 재래식 발효메주에 증식시켜 생리활성이 강화된 기능성 재래식 메주를 생산하는 방법을 연구하였다.

재료 및 방법

재료

메주제조용 대두는 시중에서 구입하였고, 신령버섯(AB; *Agaricus blazei*), 잎새버섯(GF; *Grifola frondosa*), 영지버섯균(GL; *Ganoderma lucidum*), 표고버섯균(LE; *Lentinus edodes*), 동충하초버섯균(PJ; *Paecilomyces japonicus*), 상황버섯균(PL; *Phellinus linteus*) 및 느타리버섯균(PO; *Pleurotus ostreatus*)은 ㈜HK바이오텍에서 보관중인 균주를 사용하였다. Potato dextros agar(PDA), Czapek Dox agar, YM agar, Nutrient agar는 모두 Difco사(USA), Thioglycollate medium은 Merck사(Germany), Dye Reagent는 Bio-Rad사(USA), 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]-quinoline(IQ)는 Toronto Research Chemical사(Canada), aflatoxin B_1(AFB_1)은 Sigma Chemical사(USA)로부터 구입하였다.

Female ICR mouse(6~7주 령, Life science, Deagu)는 β-chip이 깔린 polycarbonate cage(10 mice/cage)에서 mouse용 Chow 사료로 1주일동안 예비 사육하여 체중이 24±1 g인 것을 항암실험에 사용하였다.

버섯균사체배양

PDA배지(121°C, 15분간 살균)를 petri dish(Φ9 cm)에 분주하여 제조한 평판한천배지를 버섯균주의 보존 및 활성화용으로 사용하였다. 보관 중인 PDA 버섯균 평판배지를 직경 0.5 cm 크기로 잘라 새로운 PDA 평판배지 중앙에 접종하여 24°C에서 7~14일간 배양하여 버섯균을 활성화시켰다. 액체배지(황백당 20 g, $MgSO_4$ 0.5 g, KH_2PO_4 0.5 g/L 증류수 함유)는 삼각플라스크(500 mL)에 300 mL씩 분주하고 살균(121°C, 15 min) 하여 사용하였다. 조제된 액체배지에 활성화된 버섯균(¼ petri dish/flask)을 접종하고 shaking incubator(120 rpm, 24°C)에서 7일간 배양하였다.

메주제조 및 메주배지에 적응된 버섯균주 선발

재래식 발효메주는 재래식 메주제조 방법에 준하여 괴상(10×10×5 cm)으로 성형하여 80일간 발효시켰다. 이 재래식 메주를 지름 5 mm 이하의 입자로 잘게 부수어 물에 불린 것(60% 수분)을 버섯균 선발용 메주배지로 사용하였다. 활성화한 버섯균을 직경 0.5 cm로 잘라 이 배지(70 g/petri dish)의 중앙에 접종하여 24°C에서 일정기간(3, 7, 10, 14, 17일) 배양하였다.

버섯균사체메주 조제

표면 접종 : 발효된 재래식 메주를 수분함량이 약 60%정도 되게 약 3시간 동안 침지하여 버섯균 접종용 메주로 사용하였다. 메주무게에 대해 버섯균사체액체배양액 10%(v/w)를 메주 표면에 균일하게 접종하여 항온·항습배양기(24°C, 습도 60%)에서 4주간 배양하였다.

타공구 접종 : 상기 버섯균 접종용 메주의 각 면에 구멍(1×3 cm)을 5개씩 내고, 메주 무게에 대해 버섯균사체액체배양액 10%(v/w)를 각 구멍에 골고루 나누어 접종하여 항온·항습배양기(24°C, 습도 60%)에서 4주간 배양하였다.

작은 블록에 접종 : 상기 버섯균 접종용 메주를 작은 블록(약 1×1 cm)으로 만들어 플라스틱바구니(아래로부터 바람이 잘 통함)에 담고 메주 무게에 대해 버섯균사체액체배양액 10%(v/w)를 골고루 접종한 후 항온·항습배양기(24°C, 습도 60%)에서 4주간 배양하였다.

버섯균사체메주의 관능검사

관능검사는 Anderson(17)의 방법에 따라 훈련된 본 학과 학생 10명과 장유 제조회사인 ㈜거성식품(경남 사천시)의 panelist 8명이 시료의 맛과 향에 대한 특성을 9점법으로 조사하였다. 관능검사용 시료는 제조된 버섯균사체메주와 버섯균사체메주국을 사용하였다. 버섯균사체메주국은 조미료를 첨가하지 않고 메주(10%, w/v)만으로 제조하여 20분간 조리한 것을 사용하였다.

버섯균사체메주의 색도검사

시료의 색도는 colormeter(DP-301, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였다. 이때 사용한 표준백색판의 Lightness (L)=89.2, Redness(a)=0.921, Yellowness(b)=0.783이었다.

미생물 검사방법

버섯균사체메주를 멸균한 생리식염수와 혼합(1 : 10, w/v)·균질화한 후 단계별로 희석하여 효모, 곰팡이, 호기성세균, 혐기성세균의 수를 조사하였다. 희석액 0.1 mL을 배지에 도말하여 30°C에서 48시간 배양한 후 생성된 colony를 육안으로 판별하여 계수하였다. 곰팡이는 Czapek Dox agar배지, 효모는 YM agar배지, 호기성세균은 nutrient agar배지를 사용하여 균수를 측정하였다. 혐기성세균은 thioglycollate medium에 1.5% 한천을 첨가한 배지 20 mL를 멸균하여 55°C로 냉각시킨 후 시료액 1 mL와 혼성평판배지를 만든 후 동일배지로 중층하여 혐기성 Jar(Gaspak, BBL, USA)에서 배양(30°C, 48시간)한 후 생성된 colony를 계수하였다.

단백질 함량 측정

단백질 함량은 Bradford(18) 방법에 준하여 분석하였다. Dye reagent는 3차 증류수로 희석(1 : 4, v/v)하여 filter paper로 여과하여 사용하였다. Bovine serum albumin(BSA)을 standard로 사용하였다.

항돌연변이성 측정

버섯균사체메주를 5배(v/w)의 methanol : acetone(v/v; 1 : 1) 용매로 추출한 후 감압농축하여 시료로 사용하였다. 시료의 IQ 및 AFB_1에 대한 항돌연변이성은 *S. typhimurium* TA 98과 100을 사용하여 Maron과 Ames(19)의 방법에 준하여

측정하였다.

항암성 측정

S-180 세포는 female ICR mouse 복강에서 계대배양한 복강액을 0.85% ammonium chloride용액에 혼합한 다음 2회 원심분리(1,500 rpm, 2 min)하여 회수하였다. 회수된 S-180 세포에 potassium phosphate saline(PBS)용액을 가하여 조제한 세포 부유액(1×10^7 cell/mL) 0.1 mL를 mouse의 복강에 주사하여 복수암을 유발하였다. 복수암 유발 후 2일마다 10일간 조제된 시료용액(항돌연변이성 실험에서 조제한 시료 300 μg/g body weight) 0.1 mL를 mouse의 복강에 투여하였다. Control mouse는 PBS만 0.1 mL 투여하였다. 각 처리마다 mouse의 생존 수와 생존일수를 계산하였다. S-180 세포 복강투여 후 3일 간격으로 mouse의 무게와 사료 섭취량을 42일 동안 조사하였다.

결 과

버섯균주 활성화 및 버섯균사체 액체배양

PDA배지에서 버섯균의 생장속도를 관찰하였다(Table 1). 24°C에서 배양 10일에 생장정도를 조사한 결과, 생장이 빠른 버섯균주는 느타리, 영지 및 동충하초로 균락 직경이 각각 87.0, 86.0, 85.7 mm이었다. 잎새, 표고 및 신령버섯균의 경우는 그 직경이 63.0~51.2 mm이었다. 상황버섯균의 생장은 생장이 가장 빠른 느타리버섯균에 비해 약 1/2인 43.3 mm로 실험에 사용된 버섯균 중 생장이 가장 느렸다.

PDA배지에서 완전배양(전체가 균사체로 덮임)한 버섯균사체를 액체배지에 접종하여 shaking incubator(120 rpm, 24°C)에서 7일간 배양 후 균사체의 무게를 측정하였다(Table 2). 균체량은 동충하초(5.78 g), 느타리(4.42 g), 상황(3.39 g), 영지(2.67 g)의 순으로 나타났으며, 잎새, 신령, 표고버섯의 균체량은 각각 1.87, 1.86, 1.96 g으로 다른 버섯균에 비하여 다소 작았다.

버섯균사체배양액 중의 protein 함량과 균체량과의 관계를 조사하기 위해 버섯균사체배양액의 protein 함량을 측정하였다(Table 2). 균체량이 가장 많았던 동충하초배양액에서 protein 함량(101.4 mg)이 가장 높았고, 균체량이 가장 적었던 신령버섯배양액에서 protein 함량(24.9 mg)이 가장 낮았다. 반면 균체량이 비교적 적었던 잎새와 표고버섯배양액의 protein은 각각 95.7, 91.1 mg으로 다른 버섯균배양액의 protein 농도보다 높게 나타났다. 또한 균체의 무게가 다소 많았던 느타리, 상황, 영지의 경우에는 이와 반대로 배양액의 protein 함량이 각각 51.6, 41.1, 35.8 mg으로 다소 낮았다. 이러한 결과는 배양액 중의 protein 함량과 균체량과는 밀접한 관계가 없었다.

메주적응 버섯균주 선발

PDA배지에서 완전배양(전체가 균사체로 덮임)한 버섯균을 버섯균주선발용 메주배지(직경 5 mm 이하, 70 g/petri dish)에 접종하고 균사생장의 직경이 30 mm 되는 배양기간을 버섯균이 메주배지에 적응되는 시기로 간주하여 그 기간을 측정하였다(Table 3, Fig. 1). 사용한 7종의 버섯균 중에서 버섯균사의 길이가 직경 30 mm에 도달하는 기간이 느타리와 영지버섯은 7일, 표고와 동충하초는 10일, 잎새버섯은 17일이었고, 상황과 신령버섯은 17일 이상이었다. 영지와 느타리버섯균은 발효메주배지에 잘 적응하였으나 표고, 동충하초버섯균은 적응이 느렸고, 신령버섯과 상황버섯은 적응기간이 아주 길었다. 이 결과로 버섯균주 개개의 특성에 따라 발효메주배지에 적응이 빠른 균주(영지, 느타리), 중간 균주(표고, 동충하초), 느린 균주(잎새, 상황, 신령)로 분류되었으며, 모든 균주는 3주간 배양으로 메주배지에 적응하여 정상적으로 생장하였다. 즉, 발효된 전통메주에 버섯균 접종·배양시 균주에 따라 적응 유도시간의 차이는 있었으나, 실험에

Table 1. Growth of mushroom mycelia on PDA plate[1)]

Mushroom strain[2)]	Incubation (day)			
	3	7	10	14
Synryeong	10.3±1.5[3)]	32.0±1.5	51.2±0.3	78.3±0.4[a4)]
Ypsae	12.0±0.1	15.0±0.1	63.0±0.4	87.2±0.1[b]
Yeongji	21.3±1.5	52.0±2.0	86.0±0.5	89.0[c5)]
Pyogo	22.3±1.5	43.3±2.9	53.2±0.3	87.1±0.2[bc]
Dongchunghacho	18.3±1.5	34.5±2.0	85.7±0.1	89.0[bc]
Sanghwang	13.0±1.0	20.0±0.1	43.3±0.3	81.0±0.2[a]
Neutari	17.5±1.2	48.3±1.5	87.0±0.4	89.0[bc]

[1)]Incubated for 14 days in a low temperature incubator (24°C).
[2)]Strain identification: Synryeong, *Agaricus blazei*; Ypsae, *Grifola frondosa*; Yeongji, *Ganoderma lucidum*; Pyogo, *Lentinus edodes*; Dongchunghacho, *Paecilomyces japonicus*; Sanghwang, *Phellinus linteus*; and Neutari, *Pleurotus ostreatus*.
[3)]Means (mm)±SD of triplication.
[4)]Means with same superscript small letters are not significantly different each other by Duncan's multiple test.
[5)]Fully-covered the plate.

Table 2. Submerged liquid culture of the mushroom strain for the preparation of mushroom mycelia-cultured traditional *mejus*[1)]

Mushroom strain[2)]	Mycelial weight (g/100 mL)	Protein (μg/100 μL)
Synryeong	1.86	24.9±3.3[3)a4)]
Ypsae	1.87	95.7±0.9[b]
Yeongji	2.67	35.8±1.4[c]
Pyogo	1.96	91.1±3.8[bd]
Dongchunghacho	5.78	101.4±2.9[e]
Sanghwang	3.39	41.1±2.1[f]
Neutari	4.42	51.6±1.5[g]

[1)]Incubated for 7 days in a shaking incubator (120 rpm, 24°C).
[2)]Strain identification: Synryeong, *Agaricus blazei*; Ypsae, *Grifola frondosa*; Yeongji, *Ganoderma lucidum*; Pyogo, *Lentinus edodes*; Dongchunghacho, *Paecilomyces japonicus*; Sanghwang, *Phellinus linteus*; and Neutari, *Pleurotus ostreatus*.
[3)]Means (mm)±SD of triplication.
[4)]Means with same superscript small letters are not significantly different each other by Duncan's multiple test.

Table 3. Growth of mushroom mycelia on traditional *meju*[1)]

Mushroom strain[2)]	Incubation (day)				
	3	7	10	14	17
Synryeong	9.0±0.1[3)]	10.0±0.1	13.2±0.6	21.4±0.8	24.0±2.0[a4)]
Ypsae	9.0±0.1	11.3±2.1	15.7±3.2	23.4±3.6	34.2±4.2[b]
Yeongji	18.3±1.6	31.0±3.0	55.7±1.2	86.7±2.3	89.0[c5)]
Pyogo	9.0±0.1	14.0±2.6	33.7±4.7	45.4±5.1	62.4±5.6[d]
Dongchunghacho	12.7±0.6	14.3±1.2	31.4±1.4	37.4±2.1	54.2±3.2[d]
Sanghwang	10.7±0.6	15.6±0.6	18.7±1.2	24.1±1.2	25.2±1.5[abe]
Neutari	12.0±1.0	37.7±4.9	55.7±1.2	85.6±3.2	89.0[cf]

[1)]Each plate contained 70 g *meju* sample (<5 mm in diameter). Incubated for a over a period of 17 days in a low temperature incubator (24°C).
[2)]Strain identification: Synryeong, *Agaricus blazei*; Ypsae, *Grifola frondosa*; Yeongji, *Ganoderma lucidum*; Pyogo, *Lentinus edodes*; Dongchunghacho, *Paecilomyces japonicus*; Sanghwang, *Phellinus linteus*; and Neutari, *Pleurotus ostreatus*.
[3)]Means (mm)±SD of triplicate.
[4)]Means with same superscript small letters are not significantly different each other by Duncan's multiple test.
[5)]Fully-covered the plate.

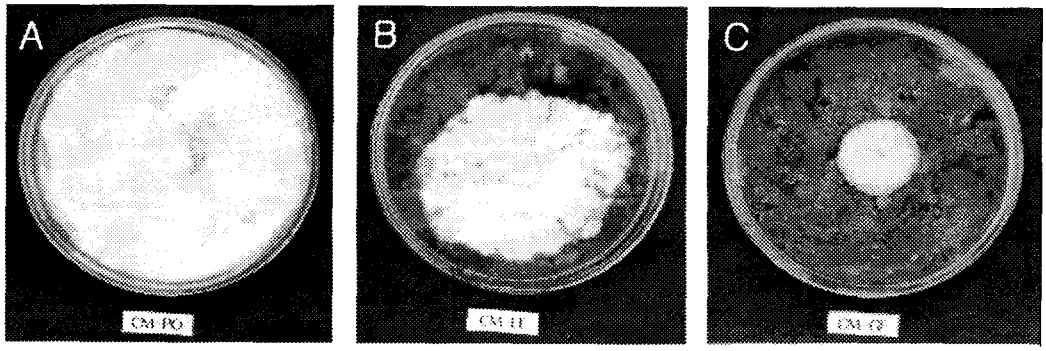

Fig. 1. Mushroom mycelia grown for 17 days on *meju* media.
Panel identification: A, Neutari (*Pleurotus ostreatus*); B, Pyogo (*Lentinus edodes*); and C, Ypsae (*Grifola frondosa*).

사용된 모든 균주가 메주 배지에서 정상적으로 생장할 수 있었다.

버섯균사체메주 생산

버섯균사체배양액을 재래식메주에 여러 방법으로 접종·배양하여 버섯균사체메주를 생산하였다. 버섯균사체액체배양액을 메주표면에 살포하였을 경우, 1주일 후부터 메주의 표면에 버섯균사가 생장하기 시작하였다. 2~3주에는 버섯균사 생장이 활발하였다. 버섯균은 호기성이기 때문에 메주 표면에서는 활발한 생장을 보였으나 내부에서는 생장이 지연되었다. 균사의 생장정도는 영지버섯, 신령버섯, 동충하초, 잎새버섯, 표고버섯 느타리버섯, 상황버섯 순이었다.

버섯균사체배양액을 타공구에 처리하였을 경우 접종 1주 후에 타공구 표면에 균사가 생장하였다(Fig. 2). 접종 2주 후에 타공구 주변으로 더욱 생장이 확장되었고, 3주 후에는 메주 전 표면에 균사가 덮었다. 영지버섯과 동충하초는 전 배양과정에서 양호한 생장을 하였고, 표고버섯과 느타리버섯은 초기생육이 저조하였으나 생육후기로 갈수록 균사의 생장이 활발하였다. 버섯균사체가 메주 내부 일부에까지도 침투하여 생장하였다.

작은 블록으로 만든 메주에는 접종 1주일 후 표면과 내부에서 동시에 균사체가 생장하였다. 수분함량을 60%로 조절하였음에도 불구하고 접종 2~3주 후부터는 일부 표면과 내부로부터 건조현상이 일어나 균사의 생장이 다소 저조하였으나 전체적으로 균사의 생장은 빨랐다.

버섯균사체메주의 색도 및 관능

버섯액체균사체를 메주의 타공구 접종법으로 접종하여 4주간 배양한 메주배지를 분말화하여 색도 및 관능검사를 조사하였다. 대조메주의 명도, 적색도 및 황색도는 각각 44.2, 3.4, 12.6이었다. 색도는 느타리버섯균사체메주에서 명도와 황색도가 조금 높았고 그 외 버섯균사체메주는 대조메주와 큰 차이가 없었다(Table 4).

버섯균사체메주의 관능검사를 실시한 결과(Table 5), 느타리버섯균사체메주는 기호도가 대조구(4.1)보다 높은 5.3을 나타내어 시료 중 가장 우수한 기호도를 나타내었다. 그리고 향미, 풍미는 영지버섯균사체메주가 우수하였고, 버섯향, 색도, 감미는 느타리버섯균사체메주가 우수하였다. 버섯액체균사체메주국의 기호도는 신령버섯균사체메주국이 5.5로 가장 우수하였고(이것은 대조구의 4.0보다는 높음), 향미, 풍미는 신령버섯균사체메주국이 버섯향, 떫은맛, 감미는 느타리버섯균사체메주국이 우수하였다(data는 제시하지 않았음).

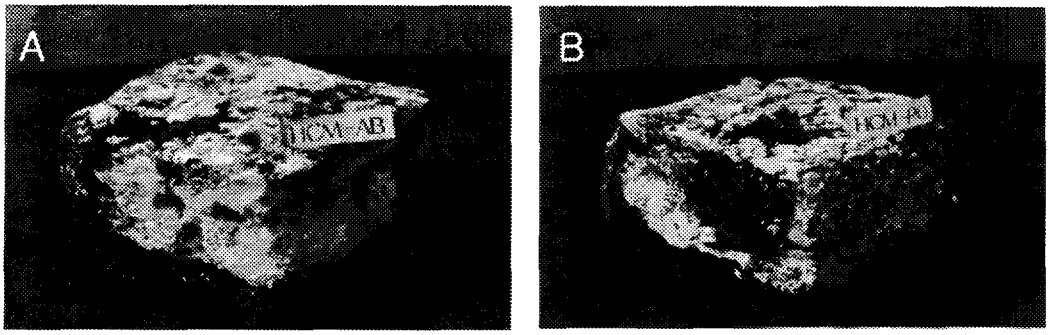

Fig. 2. Typical mushroom mycelia-cultured traditional *meju* grown mushroom strains in the holes of the traditionally fermented *mejus*.
Panel identification: A, Synryeong (*Agaricus blazei*); and B, Neutari (*Pleurotus ostreatus*).

Table 4. Color intensity of mushroom mycelia-cultured traditional *mejus*

Treatment	Parameters of color[1]		
	L	a	b
Control[2]	44.2±0.2[3]	3.4±0.2	12.6±0.1
Dongchunghacho[4]	44.8±1.4	3.9±0.2	13.2±0.2
Sanghwang	45.3±1.0	3.7±0.3	13.1±0.4
Neutari	47.2±0.8	3.7±0.2	14.0±0.9

[1]Parameter of color was determined, using Colormeter (DP-301, Minolta, Japan). The standard white board scale was lightness (L, 89.2), redness (a, 0.921) and yellowness (b, 0.783).
[2]*Meju*, fermented for 80 days by traditional method, was stored at 25°C for 4 weeks without inoculation of mushroom mycelia.
[3]Means±SD of triplicate.
[4]*Meju*, fermented for 80 days by the traditional method, was incubated for 4 weeks in a low temperature incubator (24°C; humidity, 60%) with a given mushroom strain. Strain identification: Dongchunghacho, *Paecilomyces japonicus*; Sanghwang, *Phellinus linteus*; and Neutari, *Pleurotus ostreatus*.

Table 5. Sensory qualities of mushroom mycelia-cultured traditional *mejus*

Sensory parameter	Control[1]	AB[2]	GL	PO
Aroma	4.3±1.7[3)a4)]	4.4±1.7[a]	6.4±2.2[a]	5.5±1.6[a]
Flavor	4.8±1.7[a]	4.8±2.0[a]	5.4±1.8[a]	5.2±2.0[a]
Mushroom flavor	3.8±2.2[a]	3.9±2.3[a]	4.3±2.6[a]	4.8±2.6[a]
Off-Flavor	3.3±2.3[a]	3.3±1.8[a]	4.1±2.2[a]	4.0±1.8[a]
Color	5.1±2.3[a]	4.9±1.9[a]	5.6±2.0[a]	6.1±2.2[a]
Tartness	4.4±1.7[a]	4.6±1.1[a]	4.4±1.9[a]	4.4±1.9[a]
Sweet taste	3.4±1.7[a]	4.0±1.9[a]	4.7±1.8[a]	6.4±2.8[a]
Acceptability	4.1±1.7[a]	4.5±2.1[a]	4.9±1.7[a]	5.3±2.2[a]

[1]*Meju*, fermented for 80 days by traditional method, was stored at 25°C for 4 weeks without inoculation of mushroom mycelia.
[2]Represent mushroom strain, cultured for 4 weeks in the holes of *meju*, which was fermented for 80 days by traditional method. Identification of mushroom strain: AB, *Agaricus blazei*; GL, *Ganoderma lucidum*; and PO, *Pleurotus ostreatus*.
[3]Means±SD of triplicate.
[4]Means with same superscript small letters are not significantly different each other by Duncan's multiple test.

버섯균사체메주의 미생물

된장의 주원료가 되는 메주 중의 미생물은 된장의 품질에 중요한 영향을 주며 특히 맛과 향 생성에 크게 기여하는 것으로 보고되어 있다. 제조된 버섯균사체메주의 생균수를 조사한 결과(Table 6), 대조메주에 존재하는 곰팡이는 4.2×10^3 spore/g, 호기성·혐기성 세균수는 각각 2.1×10^7, 6.2×10^4 cfu/g가 검출되었으며, 각 시료간의 미생물의 종류 및 수에는 큰 차이가 없었다. 또한 검출된 호기성세균 중 *Bacillus* 속의 그람양성균이 대부분이었으며 그람음성균은 거의 없었다. 혐기성 세균수는 1.6×10^3~2.4×10^5 cfu/g으로 시료간의 차이가 많았으며 유산균의 비율이 높게 나타났고, 모든 시료에서 효모는 검출되지 않았다. 대조구의 곰팡이는 4.2×10^3 spore/g로 검출되었으나 시료 처리구에서는 검출되지 않은 점으로 미루어 버섯균사체가 재래식 메주에서 생육하면서 곰팡이의 생육을 효과적으로 억제한 것으로 추측된다.

버섯균사체메주의 항돌연변이성

버섯균사체메주의 메탄올추출물(200 μg/50 μL DMSO)을 시료로 사용하였다. *S. typhimurium* TA 98균에 대한 항돌연변이효과를 조사하여 Table 7에 나타내었다. *S. typhimurium*

Table 6. Microflora in the mushroom mycelia-cultured traditional *mejus*

Treatment	Yeast (cfu/g)	Fungi (spore/g)	Bacteria (cfu/g)	
			Aerobic	Anaerobic
Control[1]	-[2]	4.2×10^3	2.1×10^7	6.2×10^4
Synryeong[3]	-	-	3.0×10^7	2.4×10^3
Ypsae	-	-	3.0×10^6	1.6×10^4
Yeongji	-	-	2.8×10^6	8.0×10^3
Pyogo	-	-	3.2×10^5	1.6×10^3
Dongchunghacho	-	-	1.9×10^7	2.0×10^3
Sanghwang	-	-	1.1×10^7	2.8×10^4
Neutari	-	-	1.1×10^7	2.4×10^5

[1]*Meju*, fermented for 80 days by traditional method, was stored at 25°C for 4 weeks without inoculation of mushroom mycelia.
[2]No detected.
[3]Represent mushroom strain, cultured for 4 weeks in the holes of *meju*, which was fermented for 80 days by traditional method. Identification of mushroom strain: Synryeong, *Agaricus blazei*; Ypsae, *Grifola frondosa*; Yeongji, *Ganoderma lucidum*; Pyogo, *Lentinus edodes*; Dongchunghacho, *Paecilomyces japonicus*; Sanghwang, *Phellinus linteus*; and Neutari, *Pleurotus ostreatus*.

TA98의 spontaneous revertant수는 18개였다. 돌연변이 유발원 IQ 0.02 μg 처리에 의한 revertant수는 1,254개이었고, AFB_1 1 μg 처리에 의한 revertant수는 1,086개였다. 시료 200 μg은 IQ의 돌연변이성을 32.2~65.9% 억제하였다. 이것은 대조시료의 29.1%보다 높은 돌연변이 억제효과였다. 또한 시료 200 μg은 AFB_1의 돌연변이성을 37.4~61.9% 억제하였다. 이것은 대조시료의 30.2%보다 높은 돌연변이 억제효과이다. *S. typhimurium* TA 98에 대한 IQ의 돌연변이성 억제율은 영지버섯균사체메주 시료가 65.9%로 가장 높았으며, AFB_1 처리에 대한 것은 상황버섯균사체메주 시료가 61.9%로 가장 높았다.

Table 8에서는 *S. typhimurium* TA 100에 대한 버섯균사체메주 시료의 항돌연변이효과를 나타내었다. *S. typhimurium* TA 100의 spontaneous revertant는 122개, IQ 0.02 μg의 revertant수는 1,111개, AFB_1 1 μg에 의한 revertant수는 958개 이었다. 시료 200 μg에 의한 IQ 돌연변이성은 26.9%~52.0% 억제되었다(대조시료는 22.4%). AFB_1의 경우 시료 200 μg은 19.0%~53.5% 억제하였다(대조시료는 14.3%). *S. typhimurium* TA 100에 대한 IQ의 돌연변이성 억제율은 신령버섯균사체메주 시료가 52.0%로 가장 높았으며, AFB_1 처리에 대한 경우에도 신령버섯균사체메주 시료가 53.5%로 가장 높았다.

버섯균사체메주의 항암성

Table 9와 Fig. 3은 S-180 cell로 유발한 mouse 복수암에 대한 시료(버섯균사체메주 메탄올추출물)의 수명연장(평균생존일) 및 생존율을 나타내었다. 상황버섯균사체메주 시료

Table 7. Inhibitory effect of IQ and AFB_1 mutagenicity for *S. typhimurium* TA 98 by mushroom mycelia-cultured traditional *mejus*

Treatment (μg/plate)	IQ[1]		AFB_1[2]	
	Revertant/plate Avg±SD	Inhibition (%)	Revertant/plate Avg±SD	Inhibition (%)
Control	1254±48[3]	0.0	1086±50	0.0
Control *meju*[4]	889±31	29.1	758±25	30.2
Synryeong[5]	534±22	57.4	524±29	51.7
Ypsae	850±69	32.2	680±21	37.4
Yeongji	428±19	65.9	420±40	61.3
Pyogo	661±45	47.3	635±33	41.5
Dongchunghacho	456±19	63.6	488±22	55.1
Sanghwang	687±47	45.2	414±72	61.9
Neutari	633±54	49.5	505±27	53.5

[1]Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 200 μg extract of mushroom cultured *meju* dissolved in 50 μL DMSO.
[2]Each plate contained 1 μg AFB_1 and/or 200 μg extract of mushroom cultured *meju* dissolved in 50 μL DMSO.
[3]Average±SD of triplication was obtained by the subtraction of spontaneous revertants (18±3).
[4]*Meju*, fermented for 80 days by traditional method, was stored at 25°C for 4 weeks without inoculation of mushroom mycelia.
[5]Represent mushroom strain, cultured for 4 weeks in the holes of *meju*, which was fermented for 80 days by traditional method. Identification of mushroom strain: Synryeong, *Agaricus blazei*; Ypsae, *Grifola frondosa*; Yeongji, *Ganoderma lucidum*; Pyogo, *Lentinus edodes*; Dongchunghacho, *Paecilomyces japonicus*; Sanghwang, *Phellinus linteus*; and Neutari, *Pleurotus ostreatus*.

Table 8. Inhibitory effect of IQ and AFB_1 mutagenicity for *S. typhimurium* TA 100 by mushroom mycelia-cultured traditional *mejus*

Treatment (μg/plate)	IQ[1]		AFB_1[2]	
	Revertant/plate Avg±SD	Inhibition (%)	Revertant/plate Avg±SD	Inhibition (%)
Control	1111±124[3]	0.0	958±31	0.0
Control *meju*[4]	862±34	22.4	821±42	14.3
Synryeong[5]	533±39	52.0	445±30	53.5
Ypsae	812±43	26.9	776±17	19.0
Yeongji	608±27	45.3	503±25	47.5
Pyogo	738±26	33.6	742±32	22.5
Dongchunghacho	560±26	49.6	554±26	42.2
Sanghwang	677±42	39.1	558±30	41.8
Neutari	580±64	47.8	495±58	48.3

[1]Each plate contained 0.02 μg IQ and/or 200 μg extract of mushroom cultured *meju* dissolved in 50 μL DMSO.
[2]Each plate contained 1 μg AFB_1 and/or 200 μg extract of mushroom cultured *meju* dissolved in 50 μL DMSO.
[3]Average±SD of triplication was obtained by the subtraction of spontaneous revertants (122±9).
[4]*Meju*, fermented for 80 days by traditional method, was stored at 25°C for 4 weeks without inoculation of mushroom mycelia.
[5]Represent mushroom strain, cultured for 4 weeks in the holes of *meju*, which was fermented for 80 days by traditional method. Identification of mushroom strain: Synryeong, *Agaricus blazei*; Ypsae, *Grifola frondosa*; Yeongji, *Ganoderma lucidum*; Pyogo, *Lentinus edodes*; Dongchunghacho, *Paecilomyces japonicus*; Sanghwang, *Phellinus linteus*; and Neutari, *Pleurotus ostreatus*.

Table 9. Effects of mushroom mycelia-cultured traditional *mejus* on the 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
Control *meju*[5)]	22.7	103	0/10
Synryeong[6)]	29.0	131	2/10
Ypsae	26.3	119	2/10
Yeongji	29.5	133	3/10
Pyogo	24.3	110	0/10
Dongchunghacho	27.5	124	2/10
Sanghwang	31.1	141	3/10
Neutari	24.6	111	0/10

[1)]Each treatment was consisted of 10 mice. All the sample contained 300 μg/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)×100.
[4)]Numbers of mouse survived until 42 days after treatment.
[5)]*Meju*, fermented for 80 days by traditional method, was stored at 25℃ for 4 weeks without inoculation of mushroom mycelia.
[6)]Represent mushroom strain, cultured for 4 weeks in the holes of *meju*, which was fermented for 80 days by traditional method. Identification of mushroom strain: Synryeong, *Agaricus blazei*; Ypsae, *Grifola frondosa*; Yeongji, *Ganoderma lucidum*; Pyogo, *Lentinus edodes*; Dongchunghacho, *Paecilomyces japonicus*; Sanghwang, *Phellinus linteus*; and Neutari, *Pleurotus ostreatus*.

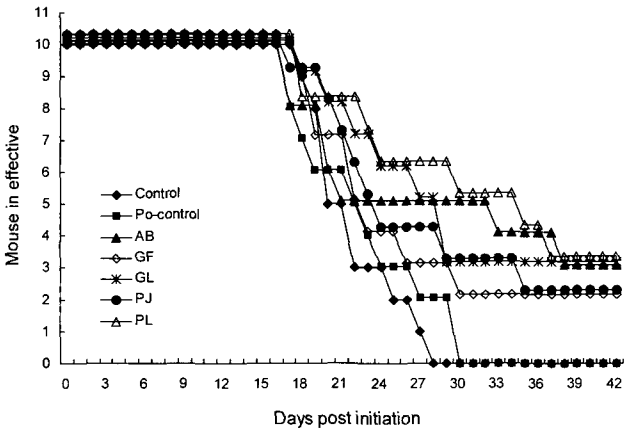

Fig. 3. Survival days of tumor-bearing mice.
Tumorigenesis of mice was initiated with S-180 ascites cancer cells. Two days later, the mice were given, i.p., methanol extract (300 μg/g body weight) of the mushroom mycelia-cultured *meju* or 0.1 mL PBS for control group. Each treatment group was consisted of 10 mice. Survival day of mice was counted for 42 days after initiation of tumor. The abbreviations of AB, GF, GL, PJ and PL present methanol extracts of Synryeong-, Ypsae-, Yeongji-, Dongchunghacho- and Sanghwang-cultured traditional *meju*, respectively.

의 평균수명은 31.1일로 대조시료의 22.1일보다 41%의 수명연장효과를 나타내었다. 수명연장 효과는 상황, 영지, 신령, 동충하초, 잎새, 느타리, 표고버섯균사체메주 시료 순이었고, 그 효과는 각각 41, 33, 31, 24, 19, 11, 10%이었다. 이것은 대조메주 시료의 3% 수명연장보다 우수하였다. 42일간 생존한 mouse수는 상황버섯균사체메주와 영지버섯균사체메주 시료 처리구에서 각각 3마리, 신령, 잎새, 동충하초버섯균사체메주 시료 처리구에서 각각 2마리였다. Mouse의 24일 경과 후의 평균몸무게는 처리간에 큰 유의성이 없었다.

고 찰

본 연구에서는 재래식 버섯균사체메주의 생산을 위해 먼저 재래식메주에서 단 시간에 정상 생육을 할 수 있는 버섯균의 선발, 메주 내부까지 쉽게 버섯균을 생육시킬 수 있는 방법의 모색, 그리고 재래식메주에 항암성과 향미완화능이 우수한 버섯균의 선발에 관한 연구를 수행하였다.

연구에 사용한 7종의 버섯균은 재래식메주에 적응하였지만, 그 적응기간은 상이하였다. 버섯균사체 간에 적응기간의 차이가 있었던 것은 버섯균사체 자체의 생육정도에도 차이가 있었겠지만, 발효메주에 존재하는 미생물(*Bacillus*, 곰팡이)에 대한 저항성도 관여하는 것으로 사료된다. 버섯균사체 재래식메주의 생산용으로는 느타리, 영지 등이 적합하였다. 현재까지 재래식 메주 발효에 관여하는 미생물에 관한 연구는 많이 수행되었지만(9-12), 재래식 버섯균사체메주를 생산하기 위해 버섯균과 메주발효에 관여하는 미생물과의 상호관계에 관한 연구는 거의 없다. 따라서 이 분야에 관한 연구는 수행되어야 할 것이다.

버섯균은 호기성으로서 재래식메주의 표면에는 생육이 가능하였지만 메주의 내부에는 생육이 어려웠다. 따라서 단 시간 내에 버섯균사체가 내부에까지 생육할 수 있는 방법을 검증한 결과, 메주에 일정한 크기의 구멍(1×3 cm)을 만들어 여기에 버섯균사체배양액을 첨가하여 배양하는 것이 가장 우수한 방법이었다. 메주를 작은 블록으로 만든 다음 버섯균사액체배양액을 분무하여 배양하는 방법도 균사체가 내부까지 생육시킬 수 있었지만, 표면이 쉽게 건조되어 실제로는 버섯균사체의 생육이 지연되었다.

버섯균사체메주의 기능성을 조사하는 방법은 여러 가지가 있지만 본 연구에서는 항암성물질 검증에 많이 활용되는 S-180 cell로 유발한 mouse 복수암 모델을 사용하였다. 이 경우 항암성이 가장 강한 버섯균사체메주는 상황, 영지였고, 그 다음이 신령이었다. 또한, 제조한 모든 버섯균사체메주의 메탄올 추출물은 AFB_1과 IQ의 돌연변이성을 억제하였다. 그 중 *S. typhimurium* TA 100에 대한 IQ의 돌연변이성 억제율은 신령버섯균사체메주가 가장 큰 효과를 나타내었다. 이와 같은 결과는 식품위생학적인 측면에서 아주 중요한 의미를 갖는다. AFB_1은 전통재래식발효메주를 발효시킬 때 생성될 수도 있는 강력한 발암물질이고 IQ는 소고기 등과 같은 고 단백질의 고기를 가열할 때에 생성되는 발암물질이다(20, 21). 이들 발암물질은 우리의 생활습관으로 볼 때 피할 수 없는 물질인데 이들의 돌연변이성이 버섯균사체메주에 의해 감소된은 버섯균사체 된장이나 간장에 의해 우리가 발암성물질

로부터 노출을 경감시킬 수 있음을 의미한다. 이것은 버섯균들의 특이성을 의미하며, 상황, 영지, 신령버섯균이 실험에 사용된 타 버섯균에 비해 생육과정에서 항돌연변이성 및 항암성과 관련된 물질을 원료인 대두로부터 생산하거나 버섯균이 분비하기 때문으로 생각한다.

버섯균사체메주의 향미 검증을 위해 버섯균사체메주에 대한 관능검사를 실시한 결과, 대조메주에 비해 모든 버섯균사체메주에서 향과 맛이 완화된 것으로 나타났다. 이와 같은 효과는 버섯균사체메주국에서도 같은 효과를 얻었다. 기호도면에서 신령버섯균사체메주국이 가장 우수하였고, 그 다음이 느타리버섯균사체메주국 순이었다. 재래식메주의 메주의 독특한 향미에 관여하는 물질(butyric acid 등)이 버섯균사체에 의해 분해 또는 독특한 향미가 없는 물질로 전환되거나 버섯균사체에 의해 생성된 물질이 재래식메주에 부가되어 향미를 개선시킨 것으로 생각되지만, 본 연구에서는 이들 특수 성분은 정량하지 않았다. 이들 성분의 변화는 버섯균사체간장과 된장에 관련되는 논문에서 보고할 것이다.

요 약

항암성과 향미가 개선된 기능성 재래식 버섯균사체메주는 버섯균을 액체배양하여 재래식메주의 각 면에 5개씩 만든 구멍(1×3 cm)에 버섯균배양액을 메주 무게의 10%를 접종한 후 25°C에서 4주간 배양하여 제조하였다. 제조한 버섯균사체메주 중 상황, 영지, 또는 신령버섯균사체메주가 항암성과 향미완화능이 우수하였다.

감사의 글

본 연구는 1999년도 농림기술개발사업(299017-2)의 연구비 지원에 의해 수행되었음을 감사 드립니다.

문 헌

1. Son YD, Choi CU, An BJ, Son GM, Choi C. 1985. Changes in lipid and fatty acid composition in Korean native *meju* during fermentation. *J Korean Agric Chem Soc* 28: 226-232.
2. Lim SY, Park KY, Rhee SH. 1999. Anticancer effect of *doenjang* in vitro sulforhodamine B (SRB) assay. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 240-245.
3. Cheigh HS, Lee JS, Lee CY. 1993. Antioxidative charac teristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 570-575.
4. Park MH, Oh KY, Lee BW. 1998. Anti-cancer activity of *Letinus edoeds* and *Pleurotus astreatus*. *Kor J Food Sci Tech* 30: 702-708.
5. Kim GJ, Kim HS, Chung SY. 1992. Effects of varied mushroom on lipid compositions in dietary hypercholestrolemic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 131-135.
6. Lee JW, Bang KW. 2001. Biological activity of *Phellinus* spp. *Food Industry and Nutrition* 6: 25-33.
7. Kim BK, Shin GG, Jeon BS, Cha JY. 2001. Cholesterol-lowering effect of mushrooms powder in hyperlilidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 510-515.
8. Yoo JY, Kim HG. 1998. Changes of microflora and enzyme activities of traditional *meju* during fermentation at Sunchang area. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 448-454.
9. Cho DH, Lee WJ. 1970. Microbiological studies of Korean native soy-sauce fermentation. *Agr Chem Biotech* 13: 35-42.
10. Lee SS, Sung CK, Bae JC, Yu JY. 1997. *Kanjang* and *meju* made with a single inoculum of the microorganism isolated from the Korean traditional *meju*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 751-758.
11. Lee SS, Park KH, Choi, KJ, Won SA. 1993. Identification and isolation of *Zygomycetous* fungi found on *mejus*. *Kor J Mycol* 21: 172-187.
12. Lee SS, Park KH, Choi KJ, Won SA. 1993. A study on Hyphomycetous fungi found on *mejus*. *Kor J Mycol* 21: 247-272.
13. Hahn YS, Kim KJ. 1962. Studies on manufacturing of soy sauce 5. On genus mucor in Korean *meju*. *The Report of National Industrial Research Institute* 11: 140.
14. Chang KH, Lee KH, Park SO. 1962. Studies on koji for soy sauce brewing, 1. Isolation of *Aspergillus* sp. *Report of the Army Research and Testing Laboratory* 1: 40.
15. Lee KH, Chang KH. 1963. Studies on koji for soy sauce brewing, 2. On the optimum conditions of growth and identification of *Aspergillus* sp. *Report of the Army Research and Testing Laboratory* 2: 23.
16. Lee JS, Yi SH, Kwon SJ, Ahn CA, Yoo JY. 1997. Isolation, identification and cultural conditions of yeasts from traditional *meju*. *Kor J Appl Biotechnol* 25: 435-441.
17. Anderson NR. 1974. Algebric models inperception. In *Handbook if perception*. Academic Press, New York. Vol 2, p 215.
18. Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
19. Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the Samonella mutagenicity test. *Mut Res* 113: 173-178.
20. Lee EJ, Bahn KN, Shim KH, Lee JH, Ha YL. 1995. Bacterial mutagenicity of some hot air dried shellfish and canned products of some red muscle fish during storage. *Environmental Mutagens & Carcinogens* 15: 115-121.
21. Wakabayashi K, Nagao M, Esumi H, Sugimura T. 1992. Food-derived mutagens and carcinogens. *Cancer Res* 52: 2092 2098.

(2002년 8월 28일 접수; 2002년 12월 10일 채택)