The Korean Journal of Mycology
© The Korean Society of Mycology

한국균학회지
Kor. J. Mycol. 38(1) : 54-56 (2010)

항비만성 Lipase 저해물질을 함유한 식품첨가용 상황버섯 분말의 제조 및 특성

이종국[1] · 장정훈[2] · 서건식[3] · 이종수[2]*

[1]충남 농업기술원, [2]배재대학교 생명유전공학과, [3]한국농수산대학 특용작물과

Manufacture and Characteristics of Food Additives, *Phellineus linteus* Powder-containing Anti-obesity Lipase Inhibitor

Jong-Kug Lee[1], Jeong-Hoon Jang[2], Geon-Sik Seo[3] and Jong-Soo Lee[2]*

[1]*Chungnam Agricultural Research and Extension Services, Yesan 340-861, Korea*
[2]*Dept. of Life Science and Genetic Engineering, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea*
[3]*Korea National College of Agriculture and Fisheries, Bongdam, Hwasung, Kyonggi 445-893, Korea*

(Received March 5, 2010. Accepted March 28, 2010)

ABSTRACT: This study was performed to develop anti-obesity *Phellineus linteus* powder for application as food additives. *P. linteus* powders which contained anti-obesity lipase inhibitor were prepared by freeze drying and spray drying. Effects of various additives on the quality of their powders were investigated. 10% over addition of dextrin and gum-arabia was good in the rheological properties of their powders and optimal spray temperature was near 130°C. When their powders were sealed and storaged at room temperature for 6 months, its characteristics were not changed. Especially, changes of its colors was repressed by addition of 0.3 M oxalic acid, citric acid and ascorbic acid than those by non-treatment.

KEYWORDS : Anti-obesity lipase inhibitor, Food additives, *Phellineus linteus* powder

과체중과 비만은 오래 전부터 고혈압과 심장병 등 심혈관 질환과 당뇨, 암, 간 질환 등 여러 가지 만성질환과 밀접하게 연관되어 있는 것으로 알려져 왔으며, 수술이나 임신에 대한 위험을 증가 시킨다(Levinson, 1977). 특히 세계보건기구에서는 비만을 당뇨 등 성인병의 주요 인자로 보고, 21세기 인류의 건강과 복지를 위협하는 가장 큰 위험 요인으로 규정한 바 있다(Taubes, 2000).

비만을 효율적으로 관리하는 방법으로는 먼저 식품섭취를 줄이는 방법으로 *Garcinia cambogia* 열매로부터 추출한 hydroxycitric acid를 이용하는 것이 대표적인 예이다. 약품으로는 뇌의 섭식중추에 작용하여 식욕을 억제하는 Sibutramine이 개발되어 있다. 또한, 대사를 조절하는 방법으로 탄수화물 분해효소나 췌장 lipase를 저해는 방법이 있는데, 탄수화물 분해효소 저해제로는 acarbose가 비만을 효과적으로 억제하는 것이 보고되었고(Vedula *et al*., 1991), lipase저해제에 관해서도 많은 연구가 되었으며(김과 김, 2005; Shimura *et al*., 1992), 현재 FDA에 승인되어 시판되고 있는 항비만성 lipase 저해제로는 sibutramine(serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor)과 orlistat(xenical) 2종이 있다(Bray *et al.,* 1999).

최근, 국내외에서 비만억제효능을 갖는 소재의 탐색 및 제품개발 연구가 활발하게 진행되고 있는데, 고추의 매운 맛 성분인 capsaicin의 대사조절 효능을 응용한 제품, 난소화성 다당체(식이섬유)를 이용한 제품, α-glucosidase 저해제를 함유한 음료 등이 출시되거나 개발되어 있다(김 등, 1999; 홍, 1998). 또한 버섯추출물, 한약재 추출물, 산채류, flavonoids 등에 대한 탄수화물 소화효소 α-glucosidase의 저해활성을 탐색하여 활성성분으로 luteolin 등을 확인한 보고 등이 있다(Kim *et al*., 2000).

Lipase 저해제로는 phosphatidyl choline, saponin, tannin등이 각종 식물로부터 분리 되었고(Lee *et al*., 2010), 미생물 기원의 lipase 저해제로는 S*treptomyces toxytricini*로부터 생산한 lipase저해활성 물질을 xenical(olistat)이라는 시제품으로 개발하여 비만 치료제로써 응용되고 있다(Bray *et al*., 1999).

그러나 위와 같이 다양한 lipase 저해제가 식물이나 미생물들로부터 생산되고 있으나 수율이 낮고 효능이 높지 않아 산업화가 미미한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 새로운 항비만 치료(예방) 효과를 갖는 건강식품이나 의약품 소재를 개발하고자 전보(Lee *et al.*, 2010)에서 lipase 저해 활성이 높아 우수시료로 선발된 상황버섯(*Phellinus linteus*)을 이용하여 식품첨가용 분말을 제조한 후 이들의 특성을 조사하였다.

*Corresponding author <E-mail : biotech8@pcu.ac.kr>

재료 및 방법

버섯, 효소 및 시약

본 연구에서 사용한 상황버섯은 충남 부여의 백마 영농법인에서 분양 받아 동결건조 한 후 분쇄기로 분쇄하여 사용하였다.

Lipase 저해활성 측정에는 효소로 porcine pancreatic lipase (Type II, Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였고, 기질로는 triolein (Sigma-Aldrich Co.)을 사용하였으며, buffer조제에는 TES (*N*-Tris(hydroxymethyl)methyl-2-aminoethanesulfonic acid), taurocholic acid, gum arabia(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였고, 발색시약으로는 bathocuproine(2-9-dimethyl-4-7-diphenyl-1,10-phenanthroline, Sigma-Aldrich Co.) 시약을 사용하였다.

버섯 추출물의 제조

상황버섯 자실체를 급속냉동 후 동결 건조하여 얻은 분말 10 g에 95% 에탄올 200 ml를 넣고 40°C에서 24시간씩 2회 추출한 후 여지(Whatman No. 2)로 여과하고 감압 농축하여 시료로 사용 하였다.

Lipase 저해활성 측정

Lipase의 저해활성은 Bitou 등(1999)의 방법을 일부 변형시켜 triolein으로부터 생성되는 oleic acid를 측정하여 저해활성을 산출하였다. 기질은 0.1 M NaCl이 첨가된 0.1 N TES(*N*-Tris(hydroxymethyl)methyl-2-aminoethanesulfonic acid) buffer (pH7.0) 9 ml에 trioein(120 mg), gum arabic(90 mg), taurocholic acid (10.16 mg)을 넣고 5분간 sonication하여 제조하였다. Lipase 활성측정을 위한 반응용액은 효소용액(pancreatic lipase, 500 U/ml) 50 ul, 시료추출물 50 ul (4 mg/ml), 기질용액 300 ul를 첨가하여 최종부피가 400 ul가 되도록 제조한 후, 37°C에서 30분간 반응 하였다.

효소반응 후 생성된 oleic acid의 정량은 Zapf 등(1981)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 효소반응 후 반응용액(incubation mixture) 0.4 ml에 2%(v/v) ethanol이 포함된 chloroform/n-hexane(1 : 1)용액 3 ml을 첨가하여 10분 동안 교반 한 후 원심분리(2,000 × g)하여 수층을 제거하였다. 여기에 copper 반응액 1.0 ml을 첨가하여 다시 10분 동안 shaking 한 후, 10분간 원심분리(2,000 × g)하고, 추출된 유리 지방산의 copper salts가 함유되어 있는 organic phase 1.0 ml를 취하여 0.05%(W/V) 3-tert-buyl-4-hydroxyanisol이 포함된 0.1%(W/V) bathocuproine-chloroform용액 0.5 ml를 혼합하여 10분간 반응 후 480 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Inhibition activity}(\%) = (A - B)/A \times 100$$

A: enzyme activity without inhibitor

B: enzyme activity with inhibitor

식품첨가용 분말 제조 및 품질특성 측정

상황버섯(*P. linteus*) 에탄올 추출물을 감압 농축 한 후 이들을 동결 건조기와 분무 건조기로 각각의 분말을 제조하였으며, 이때 사용된 부형제로는 덱스트린, 검 아라비아 등의 당류를 사용하였다.

품질 특성으로 pH는 pH 미터(Orion 250$^+$,USA)로, 당도는 당도계(Atago, Japan)로 측정하였고, 색도는 색도 색차계(Minolta chromameter CR-200, Japan)를 이용하여 명도(L값), 적색도(a값), 황색도(b값)로 나타내었고, ΔE(색차)는 $\sqrt{(L - L')^2 + (a - a')^2 + (b - b')^2}$로 나타내었다.

결과 및 고찰

동결건조 분말의 물성에 미치는 부형제의 영향

상황버섯(*P. linteus*) 에탄올 추출물을 감압농축 한 후, 덱스트린, 유당, 검 아라비아 등 각종 부형제(건조 보조제)를 첨가하여 동결건조 분말 의 물성에 미치는 이들의 효과를 조사한 결과 검 아라비아를 10%와 30% 첨가 하였을 때 가장 좋은 물성을 나타내었고, 덱스트린과 유당을 각각 10%와 30% 첨가 하여 제조한 분말도 비교적 양호한 물성을 가지고 있었다 (Table 1). 따라서, 검 아라비아를 10% 첨가하였을 때 가장 경제적이고 우수한 물성을 가진 건조분말을 제조할 수 있었다.

분무건조 분말 제조 조건

분무건조 상황버섯 분말을 제조하기 위하여 부형제로 다양한 당을 첨가하여 분말을 제조한 결과, 유당과 트레하로스, 포도당 등은 내열성이 약하여 분말을 만들기 어려웠고, 덱스트린과 검 아라비아를 10%이상 첨가하였을 때 우수한 물성을 가진, 식품첨가용 분말을 제조할 수 있었다(Table 2). 또한, 검 아라비아는 20%, 덱스트린은 30%이상 첨가했을 때도 물성이 비교적 양호하고 안정적인 분무건조 분말을 제조할 수 있었다.

Table 1. Effects of various additives on the characteristics of *P. linteus* powder during manufacture of freeze dried powder

Additives	Addition contents[a] (g/100 ml)	Colors			Status of powder[b]
		L	a	b	
Dextrin	10	88.20	–0.67	25.61	+++
	30	82.37	1.95	32.45	+++
Gum arabia	10	86.99	0.34	20.64	++++
	30	80.45	3.01	25.87	++++
Lactose	10	92.98	–2.26	21.10	+++
	30	89.35	–1.16	26.54	+++
Trehalose	10	93.19	–1.97	18.88	+
	30	90.02	–1.34	22.98	++
Anhydro-crystal glucose	10	92.39	–1.51	20.39	+
	30	86.48	0.27	27.08	++

[a]Addition contents of additives for 100ml ethanol extracts from 100 g *P. linteus* powder.

[b]Status of powder; + poor, ++ normal, +++ good, ++++ very good

Table 2. Effects of dextrin and gum-arabia on the characteristics of *P. linteus* powder during manufacture of spray dried powder

Additives	Addition contents[a] (g/100 ml)	Color			Formation of powder	Status of powder[b]
		L	a	b		
Dextrin	10	88.20	-0.67	25.61	possible	+++
	20	82.04	1.52	33.00	"	+++
	40	80.38	2.51	32.98	"	++++
	60	79.43	2.80	31.41	"	++++
	80	81.18	2.24	29.95	"	++++
Gum-arabia	10	86.99	0.34	20.64	possible	+++
	20	81.81	2.29	24.55	"	++++
	40	78.66	3.10	29.64	"	++++
	60	78.15	3.34	27.82	"	++++
	80	79.69	2.74	27.25	"	++++

[a]Addition contents of additives for 100 ml ethanol extracts from 100 g *P. linteus* powder.
[b]Status of powder; + poor, ++ normal, +++ good, ++++ very good

Table 3. Effects of spray drying on the characteristics of *P. linteus* powder

Additives	Temp. (°C)	feed flow (ml/hr)	spray air flow (l/hrs)	Status of powder[a]
Dextrin	110	500	5,000	+++
	130	700	6,000	++++
	150	900	7,000	+++
Gum-arabia	110	600	6,000	+++
	130	800	7,000	++++
	150	800	8,000	++++

[a]Status of powder ; + poor, ++ normal, +++ good, ++++ very good

Table 4. Effects of storage period on the characteristics of *P. linteus* powder

Powder	Additive of organic acids (0.3 M)	Total color difference (E)		Status of powder[a]
		3 months	6 months	
Freeze-dried powder	Control	4.29	8.05	+++
	Oxalic acid[b]	3.68	6.24	++++
	Citric acid	3.53	5.92	++++
	Ascorbic acid	3.43	6.51	++++
Spray-dried powder	Control	4.80	8.87	+++
	Oxalic acid	3.84	7.12	++++
	Citric acid	4.17	7.38	++++
	Ascorbic acid	4.39	8.19	++++

[a]Status of powder; + poor, ++ normal, +++ good, ++++ very good
[b]Drying additives; dextrin 30%, PE sealing package, room temperature storage(dark)

한편, 최적 분무건조 조건을 조사한 결과 Table 3과 같이 분무건조 온도는 덱스트린을 사용할 경우에는 130°C 전후, 검 아라비아를 부형제로 사용할 경우는 130~150°C가 적당하였고, air flow는 6,000~7,000 l/시간에서 양호한 분무건조 분말을 제조할 수 있었다.

유기산 첨가효과

위와 같이 재조한 동결건조 분말과 분무건조 분말을 6개월간 밀봉하여 음지에서 상온 저장 시에 분말상태는 양호하였고, 0.3 M의 oxalic acid, citric acid, ascorbic acid를 각각 첨가하였을 때 무첨가 보다 색상 변화가 적었으며, citric acid와 oxalic acid의 효과가 비교적 우수하였다(Table 4).

적요

천연물로부터 항비만 lipase 저해물질을 개발하여 산업화에 용용 하고자 lipase 저해활성이 높은 상황버섯 추출물을 동결건조 방법과 분무건조 방법을 이용하여 각각의 상황버섯 분말을 제조하여 이들의 특성을 조사한 결과, 덱스트린과 검 아라비아를 10% 이상 첨가함으로써 물성이 우수한 식품첨가용 분말을 제조할 수 있었고, 최적 분무건조 온도는 130°C 전후이었다. 또한, 제조된 상황버섯 분말을 밀봉하여 6개월간 음지에서 상온 저장하였을 때 분말상태는 양호하였고, 분말제조 시 0.3 M의 oxalic acid, citric acid, ascorbic acid를 각각 첨가하였을 때 무처리 보다 색상 변화가 적었다.

참고문헌

김중화, 김종원. 2005. 사상체질별 약물의 lipase 저해활성을 통한 항비만 효능에 관한 실험적 연구. 동의생리병리학회지 19:710-715.
김현복, 정운영, 류강선. 1999. 뽕잎 아이스크림의 관능적 특성 및 혈당 상승 억제효과. 한국잠사학회지 41:129-134.
홍석산, 권석형. 1998. 동아의 생리활성. 식품기술 11:7-10.
Bray G. A., Blackburn G. L., Ferguson J. M., Greenway F. L., Jain A. K., Mendel C. M., Mendels J., Ryan D., Schwartz S. L., Scheinbaum M. L. and Seation T. B. 1999. Sibutramine produces dose -related weight loss. *Obesity Research* 7:189-198.
Kim J. S., Kwon C. S. and Son K. H. 2000. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 64:2458-2461.
Lee J. K., Jang J. H., Lee J. T. and Lee J. S. 2010. Extraction and characteristics of anti-obesity lipase inhibitor from *Phellinus linteus.* Mycobiology 39(accepted).
Levinson M. L. 1977. Obesity and health. *Prev. Med*. 6:172-180.
Shimura S. W., Tsuzuki, S. Kobayashi and T. Suzuki. 1992. Inhibitor effect on lipase activity of extracts from medicinal herbs. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56:1478-1479.
Taubes, G. 2000.Weight increases worldwide. *Science* 280:1368.
Vedula U., Schnitzer P. R. and Tulp O. L. 1991. The effect of acarbose on the food intake, weight gain, and adiposity of LA/N-cp rats. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 100:477-482.
Zapf J., Schoenle E., Waldvogel M., Sand M. and Froesch E. R. 1981. Effect of trypsin treatment of rat adipocyte on biological effects and binding of insulin and insulin-like growth factors. *Eur. J. Biochem*. 133:605-609.