

## 가시오가피 버섯균사체 발효물의 기능성 식품 소재 개발

조주현<sup>†</sup> · 최구희 · 박인재 · 백순옥 · 김형하 · 김충식

휴림 중앙연구소

### Development of Functional Food Materials from *Acanthopanax senticosus*-Fermented Mushroom Mycelia

Ju-Hyun Cho<sup>†</sup>, Goo-Hee Choi, In-Jae Park, Soon-Ok Baik, Hyung-Ha Kim, and Choong-Sik Kim

Hurum Central Research Institute Co., Ltd., Chungbuk 363-883, Korea

**ABSTRACT** Three mushroom mycelia, *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceum*, and *Phellinus linteus*, were separately diluted with the natural culture media *Acanthopanax senticosus*. Solid-state fermentation was used to produce three different *A. senticosus*-fermented mushroom mycelium groups: *G. lucidum* mycelia, *H. erinaceum* mycelia, and *P. linteus* mycelia. The resulting mycelia were analyzed to assess their efficacies as health functional foods. Optimized fermentation conditions were determined by considering the density and growth speed of mycelia in each *A. senticosus*-fermented mushroom mycelium group. The cultured mushroom mycelia under the optimized conditions were extracted using water and 70% ethanol. Extraction was followed by filtration, concentration and freeze-drying to produce extract powder of *A. senticosus*-fermented mushroom mycelia: Water extracts (FM-5111, FM-5121, and FM-5131) and 70% ethanol extracts (FM-5112, FM-5122, and FM-5132). Analysis of extract powder of *A. senticosus*-fermented mushroom mycelia was performed using the marker compounds eleutheroside B and eleutheroside E. Analysis of  $\beta$ -glucan contents was performed by enzymatic procedures.

**Key words:** *Acanthopanax senticosus* fermentation, *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceum*, *Phellinus linteus*, eleutheroside

## 서 론

오가피(*Acanthopanax Cortex*)나무는 가시오가피나무과(두릅나무과)에 속하는 다년생 낙엽관목으로서 우리나라, 중국, 일본, 러시아 등지의 동북아시아 지역에 널리 분포하고 있으며, 잎은 산삼이나 인삼과 비슷한 특징을 가지고 있다(1,2). 또한 오가피나무(*Acanthopanax sessiliflorum*)의 근피로부터 분리된 lignan계 배당체인 eleutheroside A, B, C, D, E와 (-)-sesamin, (-)-savinin 등은 다양한 약리활성을 나타내는 것으로 보고되었으며(3-6), eleutheroside류가 외부의 스트레스에 대한 생체의 적응력 및 피로회복을 증대시켜 주는 작용, 대사촉진 작용, 수명 연장 등에 탁월한 효능이 있다고 보고되었다(7). 그중 eleutheroside B 및 E는 인삼과 매우 유사한 adaptogenic activities 약물에 속하며, 인삼 배당체보다 효능이 강해 일명 Siberian ginseng으로 불린다(8,9).

한편 버섯류는 예로부터 식용 및 약용으로 널리 이용되고 있으며(10), 면역증강효과(11), 항균효과(12), 항암효과(13, 14, 15), 혈압강하효과(16), 질병회복 및 질병개선효과(12),

콜레스테롤 저하(12) 및 혈당강하효과(15) 등에 대한 연구가 수행되고 있다.

현재 다양한 천연물 및 폐기물을 배지로 이용하여 제조된 약리활성물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나(17) 가시오가피와 버섯균사체를 함께 이용한 연구는 찾아보기 어려운 실정이다. 따라서 본 연구에서는 가시오가피 줄기와 잎을 혼합한 것을 천연물배지로 하여 예로부터 식용 및 약용으로 많이 이용되어진 3종의 버섯균사체(*Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceum*, *Phellinus linteus*)를 배양 발효시켜 가시오가피보다 기능성이 증대된 새로운 가시오가피 버섯균사체 발효 추출물 소재를 개발하고자 하였으며, 1차적으로 가시오가피 버섯균사체 발효물을 건강기능식품 소재로 활용하기 위하여 가시오가피의 지표성분으로 알려진 eleutheroside B와 eleutheroside E 함량과 버섯류에 다량 함유되어 있는  $\beta$ -glucan 함량을 분석하여 소재화 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료 및 시약

본 연구에서 공시균주로 사용한 영지버섯(*Ganoderma lucidum*; KCTC 6729), 상황버섯(*Phellinus linteus*; KCTC

Received 8 November 2013; Accepted 23 December 2013

<sup>†</sup>Corresponding author.

E-mail: dusvnd608@hurum.co.kr, Phone: +82-43-217-1077

6719)은 생물자원센터 유전자은행(Daejeon, Korea)으로부터 분양받아 사용하였으며, 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceum*)의 경우 충주대학교 식품공학과(Jeungpyeong, Korea)에서 분양받아서 사용하였다. 각 균주를 접종할 기질로 사용하기 위한 가시오가피 줄기와 잎은 2009년부터 2011년도까지 강원도에서 생산된 것을 효광바이오켐(Chungju, Korea)으로부터 구입하여 사용하였다.

### 버섯균주별 배양조건 및 종균 제조

영지버섯, 상황버섯 종균(전배양액) 제조는 PDA 배지에 접종하고 28°C에서 7일간 배양한 후 cork borer(φ 8 mm)로 절취하여 균주디스크를 만들어 potato dextrose broth (PDB, Difco, NJ, USA) 배지가 100 mL씩 분주되어 있는 삼각플라스크에 5~6개의 균주디스크를 접종하여 6일간 진탕배양(SI-400R, JEIOTECH, Daejeon, Korea)한 다음 분쇄기(Waring, Winsted, CT, USA)로 균질화하여 다시 PDB 배지가 100 mL씩 분주되어 있는 삼각플라스크에 9 mL를 접종하여 5일간(상황버섯은 6일) 배양한 후, 5 L 종균을 배양할 수 있는 생물반응기에서 5일간(상황버섯은 6일) 배양하여 종균으로 사용하였다. 또한 노루궁뎅이버섯은 상기와 같은 방법으로 제조하되 배양온도를 24°C로 하였으며, 종균으로 사용하기 위한 배양일수는 6일이었다(18-23).

### 버섯균사체 배양을 위한 가시오가피 줄기와 잎의 혼합비율 최적화

가시오가피(줄기, 잎)를 천연배지로 하여 버섯균사체를 배양할 때에 가시오가피 줄기와 잎의 혼합비율에 따라 배양의 특성이 달라진다. 이에 따라 배양된 버섯균사체의 조밀도, 배양속도 및 산업화 측면을 고려하였을 때 가장 적절한 혼합비율을 알아보고자 진행되었다. 가시오가피 줄기와 잎의 혼합비율은 Table 1과 같은 비율로 천연 가시오가피배지를 제조하여 1차 멸균을 한 다음, 배양용 시험관(column, φ 35 mm)에 일정량을 채우고 시험관을 실리스토퍼로 막은 후 121°C에서 20분간 2차 멸균을 실시한 뒤 가시오가피 배지를 25°C까지 급랭시켰다. 이것을 천연배지로 하여 각각의 버섯종균을 9%씩 접종하고 각각의 최적배양온도(영지버섯과 상황버섯은 28°C, 노루궁뎅이버섯은 24°C)에서 배양하며 24시간마다 관찰하였고, 버섯균사체별 5개의 혼합비율조건 시험관 중 2개 이상의 혼합조건에서 70% 이상 성장할 경우까지 상대적인 시험을 실시하여 1차적으로 버섯균사

체별 가시오가피 줄기와 잎의 비율에 대한 최적배양조건을 확인하였으며, 조밀도를 좀 더 세부적으로 관찰하기 위하여 실험용 배양포트(φ 60 mm, 500 mL)에 같은 혼합배지조건으로 가시오가피배리를 60% 채우고 121°C에서 30분간 멸균한 후 25°C까지 급랭시킨 다음 상기와 같은 조건으로 각각의 버섯균을 접종하고 배양하여 관찰하였다.

### 가시오가피를 천연배지로 한 버섯균사체의 배양

상기 배양용 시험관 방법으로 얻어진 천연배지로서 가시오가피 줄기와 잎의 최적비율을 토대로 하여 산업화에 적용이 가능한 배양포트(φ 300 mm, 2,000 mL)에서 최적배양기간을 확립하여 가시오가피 발효물을 얻고자 하였다. 천연배지는 건조된 가시오가피의 잎과 줄기를 마쇄하여 균일한 크기의 분쇄물을 얻은 후 영지버섯은 오가피의 줄기와 잎의 비율이 80:20, 노루궁뎅이버섯과 상황버섯은 50:50 비율로 혼합하였다. 그 후 수분함량이 63±3%가 되도록 정제수를 투입하고 autoclave에서 121°C, 20분간 초벌 멸균하였다. 그 후 배양포트 부피의 50~65%가 되도록 적당한 압력으로 눌러 담은 후 뚜껑으로 밀폐하여 autoclave에서 121°C, 40분간 멸균을 실시하였다. 멸균 다음 온도를 25°C까지 급랭시켜 천연배지로 사용하였다. 이것에 각각의 종균을 9%씩 접종하여 각각의 최적배양온도(영지버섯과 상황버섯은 28°C, 노루궁뎅이버섯은 24°C)에서 영지버섯은 14일, 노루궁뎅이버섯은 40일, 상황버섯은 30일 배양하여 가시오가피 버섯균사체 발효물을 얻었다.

### 시료의 제조

배양과정을 거쳐 얻어진 가시오가피 버섯균사체 발효물과 가시오가피 최적화 비율에 맞게 조정된 원물에 10배수의 증류수를 넣고 환류 추출장치에서 95°C의 온도로 6시간 동안 추출하였으며, 10배수의 70% 에탄올을 넣고 환류 추출장치에서 85°C의 온도로 6시간 동안 환류 추출하였다. 각각의 방법을 2회 실시하였으며, 1차 및 2차에서 얻어진 추출물을 혼합하여 filter paper(ADVANTEC, Tokyo, Japan)로 여과한 다음 일정 농도까지 농축(VV20, Heidolph, Schwabach, Germany)한 후 동결건조(MCFD5510, Il-sin, Dongducheon, Korea) 하여 열수추출 분말시료와 70% 에탄올추출 분말시료를 얻었다. 이렇게 얻어진 분말시료는 NR1-W(가시오가피 원물 줄기:잎=80:20 열수추출물), NR2-W(가시오가피 원물 줄기:잎=50:50 열수추출물), NR1-E(가시오가피 원물 줄기:잎=80:20 70% 에탄올추출물), NR2-E(가시오가피 원물 줄기:잎=50:50 70% 에탄올추출물), FM-5111(가시오가피 영지버섯균사체 발효물 열수추출물), FM-5121(가시오가피 노루궁뎅이버섯균사체 발효물 열수추출물), FM-5131(가시오가피 상황버섯균사체 발효물 열수추출물), FM-5112(가시오가피 영지버섯균사체 발효물 70% 에탄올추출물), FM-5122(가시오가피 노루궁뎅이버섯균사체 발효물 70% 에탄올추출물), FM-5132(가시오가

**Table 1.** The mixing ratios of *Acanthopanax senticosus* stem and leaves (natural culture media)

Condition	Stem (%)	Leaves (%)
1	100	0
2	80	20
3	60	60
4	40	60
5	0	100

**Table 2.** Classifications of *Acanthopanax senticosus*, extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented mushroom mycelium

	Samples <sup>1)</sup>	Stem : Leaves	Incubation (mycelia)	Extract solvent
1	NR1-W	80:20	—	Water
2	NR2-W	50:50	—	Water
3	NR1-E	80:20	—	70% ethanol
4	NR2-E	50:50	—	70% ethanol
5	FM-5111	80:20	<i>Ganoderma lucidum</i>	Water
6	FM-5121	50:50	<i>Hericium erinaceum</i>	Water
7	FM-5131	50:50	<i>Phellinus linteus</i>	Water
8	FM-5112	80:20	<i>Ganoderma lucidum</i>	70% ethanol
9	FM-5122	50:50	<i>Hericium erinaceum</i>	70% ethanol
10	FM-5132	50:50	<i>Phellinus linteus</i>	70% ethanol

<sup>1)</sup>NR1-W, NR2-W: water extracts of *Acanthopanax senticosus*, NR1-E, NR2-E: 70% ethanol extracts of *Acanthopanax senticosus*, FM-5111: water extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented *Ganoderma lucidum*, FM-5121: water extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented *Hericium erinaceum*, FM-5131: water extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented *Phellinus linteus*, FM-5112: 70% ethanol extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented *Ganoderma lucidum*, FM-5122: 70% ethanol extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented *Hericium erinaceum*, FM-5132: 70% ethanol extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented *Phellinus linteus*.

피 상황버섯균사체 발효물 70% 에탄올추출물)로 각각의 실험 방법에 따라 전처리하여 사용하였다(Table 2).

**Eleutheroside B와 eleutheroside E 함량 분석**

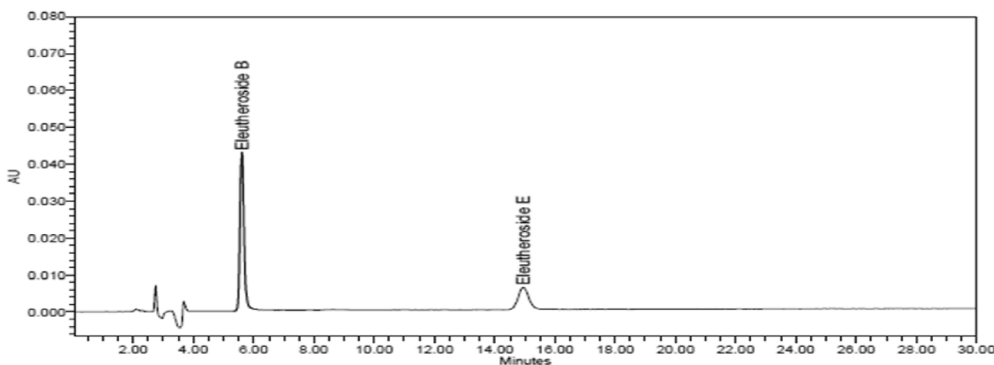
**표준용액과 시험용액의 조제:** Eleutheroside B(Chroma-Dex, Irvine, CA, USA)와 eleutheroside E(ChromaDex)를 각각 2.5 mg씩을 취하여 증류수 20 mL로 용해한 다음 methanol(JT baker, Avantor Performance Materials, Center Valley, PA, USA)을 가해 100 mL로 하여 각각의 표준원액으로 하였다. 표준원액에서 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL씩 취하고 정확히 10.0 mL가 되도록 methanol을 가하여 정용하여 eleutheroside B와 eleutheroside E가 혼합된 표준액을 제조하였다. 또한 시료 100 mg을 각각 10 mL volumetric flask에 넣고 water 2 mL를 넣은 후 methanol로 용해하여 ultrasonic cleaner(Powersonic 420, Hwashin tech, Daegu, Korea)에서 40분 동안 추출한 후 최종 10 mL로 정용한 것을 다시 0.45 µm membrane filter (ADVANTEC, Dublin, CA, USA)로 여과하여 시험용액으로 하였다.

**HPLC에 의한 함량 분석:** 상기 조제된 표준용액과 시험용액을 HPLC(WATERS 2695, Milford, MA, USA),

Photodiode Array Detector(WATERS 996)를 사용하여 분석하였다. 고정상으로는 Capcell pak C<sub>18</sub>(5 µm 4.6×250 mm, Shiseido, Tokyo, Japan) 칼럼을 사용하였고, 이동상은 acetonitrile과 water가 15:85의 비율로 isocratic flow 1.0 mL/min로 설정하여 220 nm 파장에서 분석하였다. Eleutheroside B와 eleutheroside E의 검량선을 작성하고 시험용액에 함유된 함량 값을 계산하였다(Fig. 1)(24,25). 검량선의 회귀방정식은 eleutheroside B가  $y=58608x-6633.3(R^2=0.9994)$ 이었고 eleutheroside E가  $y=21949x-4635.6(R^2=0.9998)$ 으로 고도의 유의적인 정의 상관관계가 있었다.

**베타글루칸(β-glucan) 함량 분석**

β-Glucan 분석은 Megazyme사(Megazyme Int. Ireland Ltd., Wicklow, Ireland)의 yeast beta-glucan kit를 사용하여 β-glucan 분석법(26,27)에 따라 실험하였다. 즉 시료 100 mg을 50 mL 용량의 glass test tube에 넣고 1.5 mL의 37% 염산을 넣어 30°C 항온수조에서 45분간, 15분마다 교반하면서 반응시킨 후 10 mL의 증류수를 첨가하고 혼합하였다. 그 후 끓는 물에서 cap을 느슨하게 열어놓은 상태에서 5분간 반응시킨 다음, cap을 단단히 닫고 100°C 항온수조



**Fig. 1.** HPLC-chromatogram (Standard) of eleutheroside B and eleutheroside E.

에서 2시간 동안 교반 후 냉각하였다. 이에 10 mL의 2 N KOH를 넣고 혼합한 후 1,500 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 상등액을 얻었다. 상등액 0.1 mL에 각각 0.1 mL씩의 *exo-1,3-β-glucosidase*를 첨가한 후 40°C에서 60분간 반응시켜 total glucan 분석에 사용하였다. 또한 100 mg의 시료를 50 mL 용량의 glass test tube에 담아 2 mL의 2 M KOH를 넣어 얼음에서 20분 동안 교반시킨 다음 8 mL의 1.2 M sodium acetate buffer(pH 3.8)와 0.2 mL의 amyloglucosidase plus invertase를 넣어 혼합하여 40°C 항온수조에서 30분간 반응시킨 후 1,500 rpm으로 10분 동안 원심분리 하여 상등액을 얻었다. 상등액 0.1 mL에 200 mM sodium acetate buffer(pH 5.0)를 가한 것을 α-glucan 분석에 사용하였다. Total glucan과 α-glucan 분석용 시료에 3 mL의 glucose oxidase/peroxidase/4-amino-anipyrine (GOPOD)을 넣어 40°C 항온수조에서 20분간 반응시킨 후 UV-Vis Spectrophotometer(UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하고 다음 계산식에 따라 β-glucan 함량(%)으로 나타내었다.

$$\beta\text{-Glucan 함량}(\%) = \text{Total glucan 함량} - \alpha\text{-glucan 함량}$$

### 통계처리

실험에서 얻어진 통계적 유의성은 SPSS(statistical package for social sciences, ver. 19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) package program을 이용하여 실험군당 평균과 표준편차로 표시하였고, Duncan's multiple range test( $P < 0.05$ )에 의해 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 버섯균사체 배양을 위한 가시오가피 줄기와 잎의 혼합비율 최적화

가시오가피 줄기와 잎의 혼합비율에 따라 배양되는 버섯균사체의 성장속도와 조밀도 면에서 차이점이 있었다. 배양용 시험관(column,  $\phi$  35 mm)에 영지버섯균사체를 접종한 혼합배지 중 2개 이상의 시험관에서 70% 성장이 이루어진 기간은 14일이며, 이때 100:0(줄기:잎)의 혼합비율로 제조된 배지가 80±3%이며, 80:20 배지는 75±5% 그리고 60:40, 40:60, 0:100의 혼합비율로 제조된 배지에서는 각각 61±2%, 60±3%, 52±3% 깊이까지 성장하는데 그쳤다. 그러나 혼합배지의 균사체의 조밀도 부분에 있어서는 Table 3에서 보는 바와 같이 80:20의 혼합비율에서 배양된 영지버섯균사체가 100:0에서 배양된 것보다 더욱 조밀하게 자랐다. 이에 성장속도와 조밀도 등을 고려하여 비교한 결과 영지버섯균사체 배양배지는 80:20의 혼합비율이 적절할 것으로 판단되었다.

배양용 시험관(column,  $\phi$  35 mm)에 노루궁뎅이버섯균사체를 접종한 혼합배지 중 2개 이상의 시험관에서 70% 성장이 이루어진 기간은 40일이며, 이때 100:0(줄기:잎)과

**Table 3.** Mycelium density by mixing condition in culture tubes (column,  $\phi$  35 mm)

Condition	Mycelial density		
	<i>G. lucidum</i> <sup>1)</sup>	<i>H. erinaceum</i> <sup>2)</sup>	<i>P. linteus</i> <sup>3)</sup>
100:0	●●●	●●●	●●●
80:20	●●●●●	●●●	●●●
60:40	●●●	●●●●●	●●●●●
40:60	●●●	●●●●●	●●●●●
0:100	●●●	●●●●●	●●●●●

●~●●●●●: Degree of mycelium density.

<sup>1)</sup>*Acanthopanax senticosus*-fermented *Ganoderma lucidum*: incubation for 14 days.

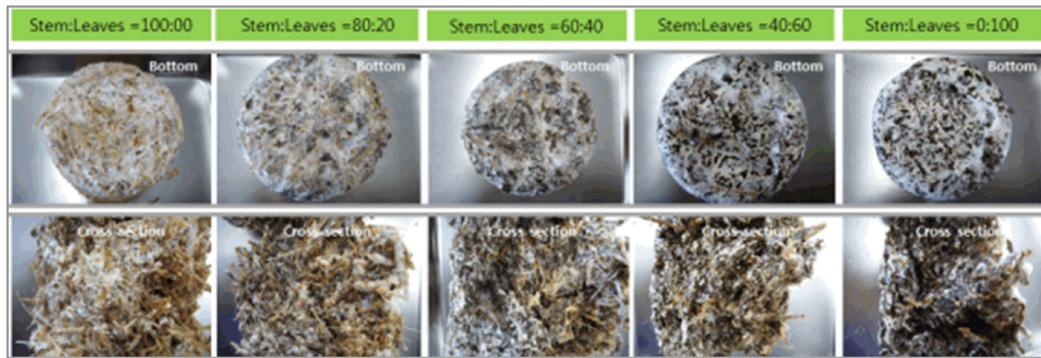
<sup>2)</sup>*Acanthopanax senticosus*-fermented *Hericium erinaceum*: incubation for 40 days.

<sup>3)</sup>*Acanthopanax senticosus*-fermented *Phellinus linteus*: incubation for 30 days.

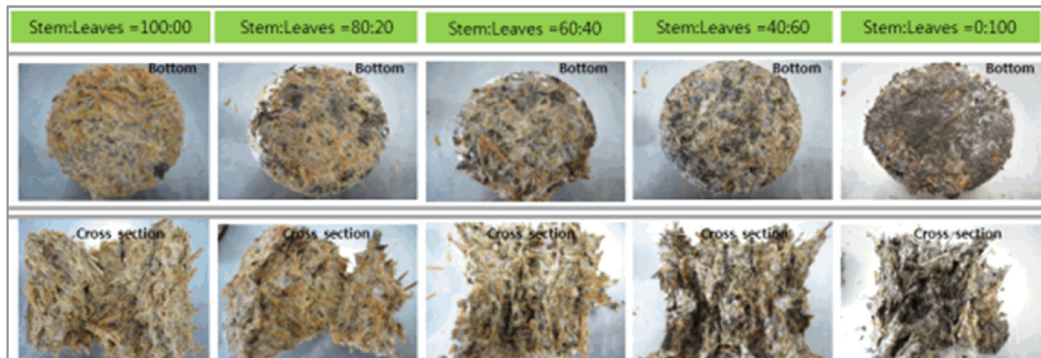
80:20의 혼합비율로 제조된 배지가 75±3%이며, 60:40과 40:60의 혼합비율로 제조된 배지는 73±2% 그리고 0:100의 혼합비율로 제조된 배지는 50±5%의 깊이까지 성장하였다. 그러나 혼합배지의 균사체 조밀도에 있어서는 Table 3에서 보는 바와 같이 60:40과 40:60의 혼합비율로 제조된 배지에서 가장 우수하였으며, 그 다음으로는 0:100이 우수하였고 100:0과 80:20의 혼합배지는 상대적으로 조밀도가 낮았다. 이에 노루궁뎅이버섯균사체의 최적배지혼합비율을 성장속도와 균사생육의 조밀도를 고려하여 가시오가피의 줄기와 잎의 비율이 60:40~40:60이 적절할 것으로 판단되어, 본 연구에서는 노루궁뎅이버섯균사체 배양배지는 가시오가피 줄기와 잎의 혼합비율을 50:50으로 선정하였다.

상황버섯균사체를 접종한 혼합배지의 경우는 70% 이상 성장이 이루어진 기간은 30일이며, 100:0(줄기:잎)과 80:20의 혼합비율로 제조된 배지가 76±3%이며, 60:40과 40:60의 혼합비율로 제조된 배지는 72±2% 그리고 0:100의 혼합비율로 제조된 배지는 50±5%의 깊이까지 성장하였다. 그러나 혼합배지의 균사체 조밀도에 있어서는 Table 3에서 보는 바와 같이 60:40과 40:60의 혼합비율로 제조된 배지에서 가장 우수하였으며, 그 다음으로는 0:100이 우수하였고 100:0과 80:20의 혼합배지는 상대적으로 조밀도가 낮았다. 이에 상황버섯균사체의 최적배지혼합비율을 성장속도와 균사생육의 조밀도를 고려하여 가시오가피의 줄기와 잎의 비율이 60:40~40:60이 적절할 것으로 판단되어, 본 연구에서는 상황버섯균사체 배양배지는 가시오가피 줄기와 잎의 혼합비율을 50:50으로 선정하였다.

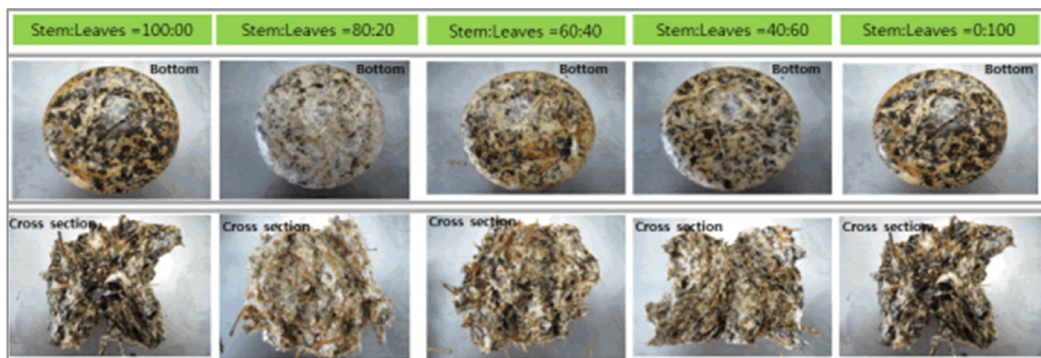
실험용 배양포트( $\phi$  60 mm, 500 mL)에 5종류의 혼합배지 조건에 각각의 버섯균사체를 접종한 다음 영지버섯균사체 14일, 노루궁뎅이버섯균사체 40일, 상황버섯균사체 30일을 각각 배양하여 Fig. 2와 같은 가시오가피 발효물을 얻었으며, 각각의 발효물에 대한 균사체의 조밀도 정도를 Table 4에 나타내었다. 영지버섯균사체를 접종한 혼합배지의 경우 0:100 혼합비율을 제외하고는 전체적으로 생육이 양호하였으나, 균사체가 조밀하게 자란 정도는 80:20의 혼



(a) *Acanthopanax senticosus*-fermented *Ganoderma lucidum*



(b) *Acanthopanax senticosus*-fermented *Hericium erinaceum*



(c) *Acanthopanax senticosus*-fermented *Phellinus linteus*

Fig. 2. *Acanthopanax senticosus*-fermented mushroom mycelium by mixing ratios.

Table 4. Mycelium density by mixing condition in culture pot (φ 60 mm, 500 mL)

Condition	Mycelial density		
	<i>G. lucidum</i> <sup>1)</sup>	<i>H. erinaceum</i> <sup>2)</sup>	<i>P. linteus</i> <sup>3)</sup>
100:0	●●●	●●●	●●●
80:20	●●●●●	●●●●	●●●●
60:40	●●●●	●●●●●	●●●●●
40:60	●●●●	●●●●●	●●●●●
0:100	●●●	●●●●	●●●●

● ~ ●●●●●: Degree of mycelium density.

<sup>1)</sup> *Acanthopanax senticosus*-fermented *Ganoderma lucidum*: incubation for 14 days.

<sup>2)</sup> *Acanthopanax senticosus*-fermented *Hericium erinaceum*: incubation for 40 days.

<sup>3)</sup> *Acanthopanax senticosus*-fermented *Phellinus linteus*: incubation for 30 days.

합비율이 가장 우수하였으며 다음으로는 60:40, 40:60 순으로 조사되었다.

노루궁뎅이버섯균사체를 접종한 혼합배지의 경우, 전체적으로 생육이 양호하였으나 균사체 조밀도에 있어서는 60:40과 40:60의 혼합비율배지에서 가장 우수하였으며, 다음으로는 80:20, 0:100 순으로 조사되었다.

상항버섯균사체를 접종한 혼합배지의 경우, 전체적으로 생육은 양호하였으나 균사체 조밀도에 있어서는 60:40과 40:60의 혼합비율배지에서 가장 우수하였으며, 다음으로는 0:100, 80:20 순으로 조사되었다.

상기 배양용 시험관(column, φ 35 mm)과 실험용 배양포트(φ 60 mm, 500 mL)를 이용한 최적배지설정에 대한 균사체 생육 및 조밀도를 측정된 결과, 각각의 버섯균사체에 적

**Table 5.** Mycelial density by period of fermentation in culture pot (φ 180 mm, 2,000 mL)

Period of fermentation (day)	Mycelial density		
	<i>G. lucidum</i> <sup>1)</sup>	<i>H. erinaceum</i> <sup>2)</sup>	<i>P. linteus</i> <sup>3)</sup>
5	●	—	—
10	●●●	●	●
14(15)	●●●●●	●	●●
20		●●	●●●
25		●●●	●●●●
30		●●●●	●●●●●
35		●●●●	●●●●●
40		●●●●●	●●●●●

●~●●●●●: Degree of mycelium density, ●●●●●: Maximum density.

<sup>1)</sup>*Acanthopanax senticosus*-fermented *Ganoderma lucidum*.

<sup>2)</sup>*Acanthopanax senticosus*-fermented *Hericium erinaceum*.

<sup>3)</sup>*Acanthopanax senticosus*-fermented *Phellinus linteus*.

합한 가시오가피 혼합배지(가지 : 잎)로는 영지버섯 균사체는 80:20의 혼합비율을 선정하였으며, 노루궁뎅이버섯과 상황버섯은 50:50 혼합비율을 선정하였다.

**가시오가피 버섯균사체 발효물 배양**

가시오가피의 천연배지로서 최적화 비율을 토대로 하여 산업화에 적용이 가능한 배양포트(φ 180 mm, 2,000 mL)에서 3종 버섯균의 배양기간에 따른 가시오가피 버섯균사체 발효물의 조밀도 등을 검토하여 Table 5에 나타내었다. 영지버섯 균사체를 접종한 가시오가피 혼합배지(가지 : 잎 =80:20)의 경우 14일간 배양하였을 때 균사의 생육 및 조밀도에 있어서 가장 우수한 결과를 얻었으며, 노루궁뎅이버섯과 영지버섯은 50:50 혼합배지에서 각각 40일과 30일을 배양하였을 때 우수한 발효물을 얻었다(Fig. 3, Table 5).

**시료의 추출 및 동결건조 수율**

가시오가피 줄기와 잎을 각각의 버섯균사체의 최적배지

**Table 6.** Yields in extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented mushroom mycelium (through freeze drying)

Sample name <sup>1)</sup>	Extract solvent	Extract yield (%)
FM-5111	Water	13.30±3.1 <sup>e2)</sup>
FM-5121	Water	25.08±3.2 <sup>a</sup>
FM-5131	Water	17.91±2.8 <sup>c</sup>
FM-5112	70% ethanol	14.98±3.3 <sup>d</sup>
FM-5122	70% ethanol	21.82±2.6 <sup>b</sup>
FM-5132	70% ethanol	17.21±2.4 <sup>cd</sup>

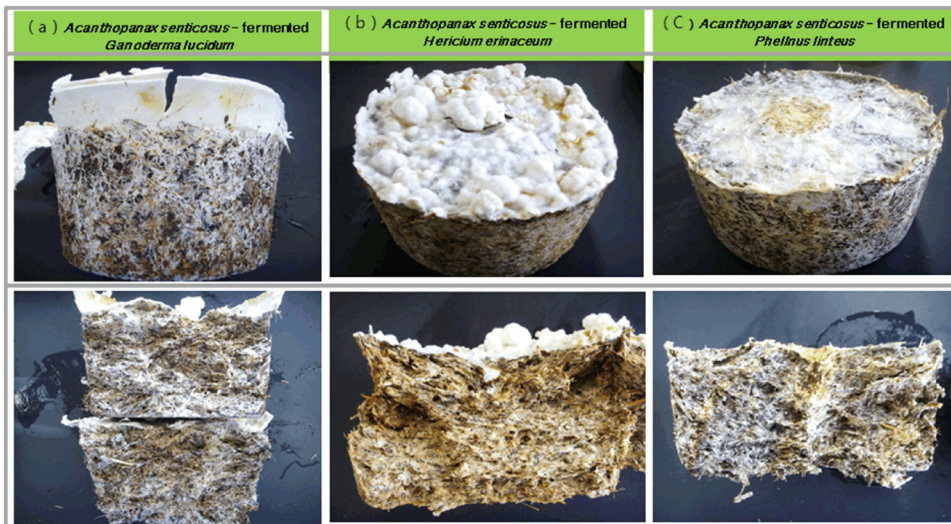
<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column (a-e) are significantly different (P<0.05).

에 맞게 혼합 사용하여 얻어진 가시오가피 발효물을 물과 70% 에탄올을 이용하여 추출, 농축, 동결건조를 실시하여 얻어진 수득율(%)은 Table 6과 같다. FM-5111과 FM-5112의 수득율은 각각 13.30±3.1%와 14.98±3.3%로 70% 에탄올추출이 좀 더 높은 수득율을 보였고, FM-5121과 FM-5122의 수득율은 각각 25.08±3.2%와 21.82±2.6%로 열수추출에서 더 높은 수득율을 보이고 있었다. FM-5131과 FM-5132의 수득율은 각각 17.91±2.8%와 17.21±2.4%로 열수추출과 70% 에탄올추출에서 유사한 수득율을 보여, 가시오가피 버섯균사체 발효물의 수득율은 추출용매에 따라 큰 차이를 보이지 않았다.

**가시오가피 버섯균사체 발효물 소재의 지표성분 함량 분석**

가시오가피 원물의 eleutheroside B와 eleutheroside E의 함량을 측정된 결과는 Table 7과 같다. 줄기와 잎의 배합이 80:20인 배합물에서 50:50 배합물보다 높은 함량을 나타내었으며 가시오가피 전처리 추출용매에 따라 70% 에탄올추출물이 열수추출물보다 높은 함량을 보이는 것을 확인하였다. Jwa 등(28)은 오갈피나무의 부위에 따른 eleutheroside 함량 분석 시 줄기>뿌리>잎 순으로 잎에서 가장 낮은 함량을 나타냈고, Jwa 등(29)은 최적추출조건과 성분



**Fig. 3.** *Acanthopanax senticosus*-fermented mushroom mycelium incubated at the optimized mixing ratios.

**Table 7.** Contents of eleutheroside in *Acanthopanax senticosus* and extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented mushroom mycelium (unit: mg/g)

Sample <sup>1)</sup>	Eleutheroside	
	B	E
NR1-W	3.345±0.042 <sup>2)</sup>	3.222±0.415 <sup>ab</sup>
NR2-W	1.507±0.052 <sup>bc</sup>	1.394±0.03 <sup>b</sup>
NR1-E	3.356±0.124 <sup>a</sup>	3.386±0.307 <sup>a</sup>
NR2-E	1.547±0.041 <sup>b</sup>	1.408±0.021 <sup>b</sup>
FM-5111	0.050±0.003 <sup>c</sup>	0.064±0.011 <sup>f</sup>
FM-5121	0.067±0.001 <sup>d</sup>	0.047±0.006 <sup>g</sup>
FM-5131	0.028±0.001 <sup>h</sup>	0.074±0.064 <sup>e</sup>
FM-5112	0.038±0.002 <sup>g</sup>	0.091±0.012 <sup>d</sup>
FM-5122	0.090±0.005 <sup>c</sup>	0.028±0.023 <sup>h</sup>
FM-5132	0.041±0.001 <sup>f</sup>	0.102±0.025 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column (a-h) are significantly different ( $P<0.05$ ).

조성을 분석하였을 때 에탄올 농도가 높을수록 eleutheroside의 수율이 증가한다고 보고하였다. 이와 마찬가지로 가시오가피 원물에서는 줄기가 잎보다 eleutheroside 성분이 많이 함유되어 있고 분획 과정 시 70% 에탄올로 추출한 시료가 eleutheroside 성분의 함량이 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 고체배양물에서 eleutheroside B는 노루궁뎅이 버섯균사체 발효물 추출물인 FM-5121(0.067±0.001 mg/g)과 FM-5122(0.090±0.005 mg/g), eleutheroside E는 상황버섯균사체 발효물 추출물인 FM-5131(0.074±0.064 mg/g)과 FM-5132(0.102±0.025 mg/g)가 가장 높게 측정되었고, 가시오가피 원물의 경우 NR1-E에서 eleutheroside B와 eleutheroside E의 함량이 높게 측정된 것을 확인할 수 있었다. 또한 버섯균사체별로 비교하였을 때 eleutheroside B는 FM-5122에서, eleutheroside E는 FM-5132에서 가장 높게 측정이 되는 것을 확인하였다. Ahn 등(30)은 가시오가피에 곰팡이를 이용한 발효물에서 polyphenol 함량을 측정하였을 때 원물이 4.11%이었고 발효물의 경우 1.41~2.30%로 낮아졌다고 보고하여 본 연구와 같은 경향을 나타내었다. 이는 미생물을 이용한 발효과정을 거치면서 polyphenol류인 eleutheroside B와 eleutheroside E의 성분이 감소된 것으로 판단된다.

한편 가시오가피 원물의  $\beta$ -glucan 함량을 측정한 결과는 Table 8과 같다. 가시오가피 줄기와 잎의 배합비율이 80:20인 NR1-W(6.83±0.11%)와 NR1-E(7.25±0.09%)가 50:50인 NR2-W(5.86±0.37%)와 NR2-E(5.98±0.18%)보다 높게 측정되었다. 이를 통하여 배합비율에서 줄기의 함유량이 많고 용매 추출 시 70% 에탄올추출물에서  $\beta$ -glucan 함량이 높게 측정이 되는 것을 확인하였으며 가시오가피 버섯 발효물 추출물에서는 3.41~5.18%의 함량을 보였으며 원물과 같이 70% 에탄올추출물에서 좀 더 높은 함량을 나타내는 경향을 보였다.

$\beta$ -Glucan 함량 또한 eleutheroside와 같이 원물과 비교

**Table 8.** Contents of glucan in *Acanthopanax senticosus* and extracts of *Acanthopanax senticosus*-fermented mushroom mycelium (unit: %, w/w)

Sample <sup>1)</sup>	Total-Glucan	Alpha-Glucan	Beta-Glucan
Control	54.62	0.13	54.49±0.21
NR1-W	7.38	0.55	6.83±0.11 <sup>b2)</sup>
NR2-W	6.49	0.63	5.86±0.37 <sup>c</sup>
NR1-E	7.83	0.58	7.25±0.09 <sup>a</sup>
NR2-E	6.48	0.50	5.98±0.18 <sup>c</sup>
FM-5111	4.96	0.49	4.47±0.14 <sup>c</sup>
FM-5121	3.99	0.58	3.41±0.15 <sup>g</sup>
FM-5131	4.70	0.55	4.15±0.06 <sup>ef</sup>
FM-5112	5.68	0.50	5.18±0.36 <sup>d</sup>
FM-5122	4.23	0.49	3.74±0.40 <sup>f</sup>
FM-5132	4.85	0.48	4.37±0.32 <sup>e</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column (a-g) are significantly different ( $P<0.05$ ).

시 감소되는 경향을 나타내었는데, 이러한 결과는 버섯균사체가 생육할 때 필요한 탄소원 등이 발효 시 소모되어 2차 대사산물로 전환된 것으로 사료된다(31).

## 요 약

가시오가피(*Acanthopanax senticosus*)의 잎과 줄기를 천연물배지로 발효미생물인 영지버섯, 노루궁뎅이버섯 및 상황버섯균사체를 각각 최적조건으로 발효하여 3종의 가시오가피-버섯발효물인 가시오가피 영지버섯균사체 발효물, 가시오가피 노루궁뎅이버섯균사체 발효물, 가시오가피 상황버섯균사체 발효물을 얻었으며 이를 건강기능식품 소재로서 이용하고자 하였다. 우선적으로 배양용 시험관과 실험실용 배양병을 사용하여 버섯균사체별 가시오가피의 천연배지로서 최적혼합비율을 검토한 결과 영지버섯균사체, 노루궁뎅이버섯균사체 및 상황버섯균사체의 가시오가피 줄기와 잎의 혼합비율을 각각 80:20, 50:50, 50:50으로 확립하였으며, 이 조건을 가지고 산업용 배양포트(2,000 mL)에서의 최적배양시간을 검토한 결과 영지버섯균사체 14일, 노루궁뎅이버섯균사체 40일, 상황버섯균사체 30일로 확립하였다. 상기와 같이 최적화된 조건으로 배양된 3종의 가시오가피 버섯균사체 발효물들을 물과 70% 에탄올로 추출, 여과, 농축, 동결건조를 수행하여 가시오가피 버섯균사체 발효물 추출분말인 열수추출물(FM-5111, FM-5121, FM-5131)과 70% 에탄올추출물(FM-5112, FM-5122, FM-5132)을 얻었다. 이 가시오가피 버섯균사체 발효물 추출분말의 eleutheroside B와 eleutheroside E를 분석한 결과, eleutheroside B는 FM-5111 0.050±0.003 mg/g, FM-5121 0.067±0.001 mg/g, FM-5131 0.026±0.001 mg/g, FM-5112 0.038±0.002 mg/g, FM-5122 0.053±0.005 mg/g, FM-5132 0.025±0.001 mg/g의 함량을 나타내었고, eleutheroside E는 FM-5111 0.052±0.014 mg/g, FM-5121 0.047

±0.003 mg/g, FM-5131 0.078±0.003 mg/g, FM-5112 0.045±0.002 mg/g, FM-5122 0.040±0.002 mg/g, FM-5132 0.080±0.011 mg/g의 함량을 보였으며, β-glucan의 경우 FM-5111 4.47±0.14%, FM-5121 3.41±0.15%, FM-5131 4.15±0.06%, FM-5112 5.18±0.36%, FM-5122 3.74±0.40%, FM-5132 4.37±0.32%의 함량이 측정되었다.

## 감사의 글

본 논문은 농림수산식품기술기획평가원 고부가가치식품 기술개발사업(과제번호:1101283)의 지원으로 이루어진 것임.

## REFERENCES

1. Yook CS, Lee DH, Seo YK. 1976. A new forma of *Acanthopanax* species (I). *Korean J Pharmacogn* 7: 179-190.
2. Lee WT. 1979. Distribution of *Acanthopanax* plant in Korea. *Korean J Pharmacog* 10: 103-107.
3. Ovodov YS, Ovodova RG, Solov'eva TF, Elyakov GB, Kochetkov NK. 1965. The glycosides of *Eleutherococcus senticosus* Max. I. Isolation and some properties of eleutheroside B and E. *Khim Prir Soedin* 1: 3-7.
4. Ovodov YS, Frolova GM, Nefedova MY, Elyakov GB. 1967. The glycosides of *Eleutherococcus senticosus* Max. II. The structure of eleutheroside A1, B1, C and D. *Khim Prir Soedin* 3: 53-54.
5. Elyakova LA, Dzizenko AK, Elyakov GB. 1965. Structure of lignan glycosides from *Acanthopanax* roots. *Dokl Akad Nauk SSSR* 165: 562-565.
6. Elyakova LA, Dzizenko AK, Sova VV, Elyakov GB. 1966. Sesamin and (-)-sainine obtained from *Acanthopanax sessiliflorus* and their NMR spectra. *Akad Rlauk Uz SSR* 2: 149-152.
7. Brekhman II, Dardymov IV. 1969. New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Ann Rev Pharmacol* 9: 419-430.
8. Brekhman II, Dardymov IV. 1969. Pharmacological investigation of glycosides from ginseng and *Eleutherococcus*. *Lloydia* 32: 46-51.
9. Halstead BW, Hood LL. 1984. *Eleutherococcus senticosus* *Siberian ginseng*. Oriental Healing Arts Institute, Bristol, CT, USA. p 1-94.
10. Lee GD, Chang HG, Kim HK. 1997. Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J Food Sci Technol* 29: 432-436.
11. Kim SW, Kim ES, Kim YS. 1995. Studies on the polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum*. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 147-153.
12. Hwang KH, Kim HK, Han YN. 1997. Screening of inhibitory activity of edible mushrooms on dopamine β-hydroxylase. *Korean J Food Sci Technol* 29: 194-197.
13. Lee BW, Lee MS, Park KM, Kim CH, Ahn PU, Choi CH. 1998. Anticancer activities of the extract from the mycelia of *Coriolus versicolor*. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 30: 702-708.
14. Lee SY, Kang TS, Moon SO, Lew ID, Lee MY. 1996. Fractionation and antitumor activity of the water soluble exo-polysaccharide by submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* mycelium. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 24: 459-464.
15. Kim SH, Lee JN, Kim SH, Oh SJ, An SW, Lee JH, Park YS, Chung EK, Lee HY. 1998. Studies on screening and comparison of biological activities from the fruiting body and mycelium of *Elfvigia applanata*. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 26: 331-337.
16. Kim YI, Kim BK, Jeong H, Lee KH. 1991. Production of antihypertensive constituents from *Ganoderma lucidum* IY005 by fermentation using industrial wastes. *Korean J Mycol* 19: 79-84.
17. Cho SM, Park JS, Kim KP, Cha DY, Kim HM, Yoo ID. 1999. Chemical features and purification of immunostimulating polysaccharides from the fruit bodies of *Agaricus blazei*. *Korean J Mycology* 27: 170-174.
18. Jeong JH, Wee JJ, Shin JY, Cho JH, Jung DH. 2005. Antioxidative effect of crude saponin fraction prepared from culture product of *Basidiomycota* cultured with fresh ginseng as substrate. *Korean J Food Sci Technol* 37: 67-72.
19. Oh SI, Lee MS. 2005. Antioxidative and antimutagenic effects of *Ganoderma lucidum* Krast extracts. *Korean J Food & Nutr* 18: 54-62.
20. Seo KW, Cho IS, Oh MH, Lee KM, Kim HJ. 1996. Subacute toxicity of G009, a polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* IY009. *J Fd Hyg Safety* 11: 261-271.
21. Bae HS, Kang SK, Shin IS, Woo SK, Kim YJ, Kim MA, Ra JC. 2009. The effects of extracts mixture drink from *Inonotus obliquus*, *Phellinus linteus* and *Ganoderma lucidum* on hematopoietic stem cells and lymphocyte subset of blood in human. *J Fd Hyg Safety* 24: 78-85.
22. Choi MA, Park NY, Woo SM, Jeong YJ, Shin SR. 2003. Characteristics of *Hericium erinaceus* and its extracts. *Korean J Food Preserv* 10: 560-564.
23. Jung JH, Lee KE, Lee SY. 2006. Optimization of submerged cultivation of *Hericium erinaceum*. *KSBB Journal* 21: 96-102.
24. Lim JH, Lee SH, Jun BS, Yang YT, Koh JS. 2005. Changes in major constituents by soaking of *Acanthopanax koreanum* with spirit solution. *J Korean Soc Appl Bio Chem* 48: 166-172.
25. Sung CK, Kim YM. 1995. Studies on the production of eleutherosides by plant tissue culture of *Acanthopanax* spp. *Korean J Pharmacogn* 26: 101-102.
26. McCleary BV, Shameer I. 1987. Assay of malt-glucanase using azo barley glucan: an improved precipitant. *J Inst Brew* 93: 87-90.
27. McCleary BV, Glennie-Holmes M. 1985. Enzymic quantification of (1-3), (1-4)-D-glucan in barley and malt. *J Inst Brew* 91: 285-295.
28. Jwa CS, Yang YT, Koh JS. 2000. Changes in eleutherosides contents of *Acanthopanax koreanum* by harvest time. *Korean J Food Preserv* 7: 362-365.
29. Jwa CS, Yang YT, Koh JS. 2001. Preparation of extract from *Acanthopanax koreanum* by extraction conditions and its chemical compositions. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 44: 24-29.
30. Ahn HY, Cha JY, Cho YS. 2012. Biological activity and chemical characteristics of fermented *Acanthopanax senticosus* by mold. *J Life Sci* 22: 1704-1711.
31. Park SJ, Song SW, Seong DH, Park DS, Kim SS, Gou J, Ahn JH, Yoon WB, Lee HY. 2009. Biological activities in the extract if fermented *Codonopsis lanceolata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 983-988.