

Anti-obesity and Anti-diabetes Effects of the Fermented White Jelly Fungus (*Tremella fuciformis* Berk) Using *Lactobacillus rhamnosus* BHN-LAB 76

Jun-Hyeong Lee^{1,2}, Byung-Hyuk Kim¹, Yeo-Cho Yoon^{1,2}, Jung-Gyu Kim^{1,2}, Ye-Eun Park¹, Hye-Suk Park¹, Hak-Soo Hwang³, In-Sook Kwun⁴, Gi-Seok Kwon^{2*} and Jung-Bok Lee^{1*}

¹Institute for Development of Bioindustrial Materials, BHNbio Co., LTD., Chungbuk 27850, Korea

²Division of Horticulture & Medicinal Plant, Andong National University, Gyeongbuk 36729, Korea

³Kyochon F&B Co., LTD., Gyeonggi-do 18150, Korea

⁴Department of Food Science and Nutrition, Andong National University, Andong, Gyeongbuk 36729, Korea

Received November 27, 2018 / Revised April 5, 2019 / Accepted April 19, 2019

White jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) is effective for hypertension, diabetes, obesity, lung disease, beauty, and has been known as an elixir of life in ancient Chinese dynasty. In this study, we investigated the anti-obesity and diabetic effects of the fermented white jelly fungus extract by the bio-conversion process. We fed an obesity-inducing mouse with 5% non-fermented *Tremella fuciformis* (TF), 2.5% fermented *Tremella fuciformis* (FTF), and 5% FTF containing High Fats Diet (HFD) and HFD for 8 weeks, respectively. The oral glucose tolerance test (OGTT) was performed analysis after 7 weeks of feeding and the dietary intake, food efficiency ratio, body weight, liver, epididymal fat weight, and serum insulin level were measured after 8 weeks of feeding. Also, HOMA-IR was analyzed. The concentrations of serum total cholesterol, triglycerides test was analyzed. The FTF compare with 5% TF and HFD confirmed that 5% FTF reduced body weight, tissue weight, triglycerides concentration, HOMA-IR, respectively. As a result, we confirmed that the fermented white jelly fungus has the anti-obesity effect. Finally, this study can be used a basic data for obesity treatment using fermented white jelly fungus.

Key words : Diabetes, fermentation, lactic acid bacteria, obesity, white jelly fungus

서론

최근 한국은 서구화된 식생활습관으로 비만 인구가 지속적으로 증가되며, 비만과 관련된 성인병 환자의 수가 급격히 증가되고 있다[7]. 비만(obesity)이란 에너지 섭취량이 신체에서 사용되는 에너지 소비량보다 많을 때 잉여에너지가 지방세포로 이루어진 체지방 조직에 과잉 축적된 상태로 정의되며, 비만은 운동부족, 스트레스, 유전적 요인, 내분비 장애, 과도한 열량 섭취 등이 원인으로 알려져 있지만, 대부분 과도한 에너지 섭취를 통한 체지방 과잉 축적이 원인으로 보고되었다[26]. 비만은 제2형 당뇨병, 고혈압, 동맥경화, 고지혈증 등 다양한 생활습관형 성인병을 유발하는 주된 원인으로 알려져 사회적 문제로 대두되고 있다[18]. 따라서 생활습관형 성인병의 원인

인 비만 및 합병증의 개선방법은 신약과 건강기능식품을 이용하며, 이 제품에 대한 개발이 증가되며 관련 시장도 급격하게 증가되고 있다[21].

비만 치료는 식사조절 및 운동 등을 통한 비약물요법과 약물요법 및 수술요법이 있으나, 바쁜 현대인에게 비약물요법과 수술요법은 현실적인 어려움이 있다. 약물요법은 1980~1990년대 식욕억제제로 fenfluramine, dexfenfluramine, fenfluramine-phentermine 등이 큰 인기를 얻었지만 복용한 환자가 심장판막질환으로 사망하는 사건이 생기는 등 부작용을 초래하였다. 또한, 현재까지 많은 연구가 진행되었지만 FDA 승인을 얻는 약물은 sibutramine (Reductil)과 orlistat (Xenical) 두 가지 뿐이다[20]. 따라서, 화학 의약품의 부작용을 최소화하고 안전성을 확보할 수 있는 천연 의약품 개발이 매우 시급하다.

흰목이 버섯(white jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk))은 이담자균강(Heterobasidiomycetes) 흰목이목(Tremellales) 흰목이과(Tremellaceae)에 속하며 중국에서는 은이(銀耳, silver ear), 일본에서는 시로키쿠라케(白木耳, シロキクラゲ)라고도 불린다[13]. 세계적으로 40 여종이 분포하고 있는 주요 식용 버섯이며 고대중국에서는 불로장생약으로 불리며 의약품으로 사용되어 왔다[14]. 흰목이 버섯에는 비타민 D와 β -glucan 외에도 Glutamine, Tyrosine, Serine 등의 11종 아미노산이 다량 함유되어 있어 항주름, 항미백, 항암, 항당뇨병, 항

*Corresponding authors

Tel : +82-54-822-8972, Fax : +82-54-822-8973

E-mail : bio91@bhnbio.com (Jung-Bok Lee)

Tel : +82-54-820-5909, Fax : +82-54-820-6252

E-mail : gskwon@andong.ac.kr (Gi-Seok Kwon)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

비만, 항고혈압 및 콜레스테롤 저하에 효과가 있다고 알려져 있다[2, 3, 11, 12, 22, 24, 25, 27].

유산균(Lactic acid bacteria)은 당분을 분해하여 젖산(lactic acid)을 50% 이상 생성하며 사람이나 동물에게 유익한 장내 세균을 말한다[1, 5]. 유산균의 효능은 설사, 변비 같은 장 질환을 억제하고 면역 기능의 활성화, 아토피, 알레르기, 체내 콜레스테롤 저하, 항암효과, 혈당조절 및 장내 유해 세균을 억제하고 영양소의 분해와 흡수 촉진 등 다양한 효능이 있다고 알려져 있으며, 최근 연구에서는 체지방 축적을 억제하여 항비만 효과를 나타낸다고 보고되었다[10, 17, 19, 28].

따라서, 본 연구에서는 흰목이 버섯을 유산균으로 발효하여 항비만 및 항당뇨 효과를 검증하고자, 발효 전과 발효 후 산물의 항비만 및 항당뇨 효과를 mice에서 확인하였으며, 유산균 발효 흰목이 버섯 추출물이 건강기능식품 소재로 활용 가능성을 확인하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 흰목이 버섯(*Tremella fuciformis* Berk)은 (주)부농에서 재배된 것을 구입하여 본 연구에 사용하였다.

사용 균주

흰목이 버섯의 발효를 위한 유산균은 약 20여 가지 젖갈에

서 분리한 유산균과 흰목이버섯을 혼합하여 발효하였으며, 발효 유무와 오염도를 확인한 후 가장 우수한 1개 균주를 선별하였다. 본 연구에 사용한 유산균은 16S rRNA gene분석을 통해 동정하여, *Lactobacillus rhamnosus*와 99% 유사도를 갖는 것으로 확인하여 *L. rhamnosus* BHN-LAB 76으로 명명하였다. 전배양 조건은 MRS 배지에 37°C, 48시간 동안 배양 후 회수하여 흰목이 버섯 발효에 이용하였다.

유산균 발효 흰목이 버섯 시험물질 제조

흰목이 버섯은 고압멸균기를 이용하여 멸균하였으며, 멸균된 흰목이 버섯 100 g을 섞은 후 *L. rhamnosus* BHN-LAB 76 배양액 50 ml 접종하여 37°C에서 72시간 발효 후 동결 건조하여 연구에 사용하였다.

고지방식이 유발 비만형 제2형 당뇨병 동물 모델의 제작

실험동물은 C57BL/6N종 수컷 5주령 mice (Orientbio, Korea)를 7일간 순화시킨 뒤 실험에 사용하였다. 실험동물은 온도 23±3°C, 상대 습도 55±15% 및 12시간 명암주기로 조절되는 환경에서 사육하였으며, 케이지당 1마리씩 사육하였다. 물과 식이는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 고지방식이사료(HFD, 45% AIN-76 diet 45% fat calorie) (DooYeol Biotech, Seoul, Korea)를 8주간 섭취시켜 비만형 제2형 당뇨병을 유발했으며, 정상군에는 표준식이(ND, AIN-76 diet 10% fat calorie) (DooYeol Biotech, Seoul, Korea)를 섭취하였다(Table 1).

Table 1. Composition of experimental diets

	ND ¹⁾	HFD ²⁾	5% TF ³⁾	2.5% FTF ⁴⁾	5% FTF	1% PG ⁵⁾	1% PM ⁶⁾
Choline bitartrate	10	10	7	7	7	7	7
Methionine	15	15	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5
Cholesterol	-	25	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5
Vitamin	50	50	35	35	35	35	35
Mineral	175	175	122.5	122.5	122.5	122.5	122.5
Casein	1000	1000	700	700	700	700	700
Cellulose	250	250	175	175	175	175	175
Corn oil	250	250	175	175	175	175	175
Lard	0	1000	700	700	700	700	700
Corn starch	1750	725	332.5	420	332.5	472.5	472.5
Sucrose	1500	1500	1050	1050	1050	1050	1050
<i>Tremella fuciformis</i> Berk			175				
Fermented <i>Tremella fuciformis</i> Berk				87.5	175		
Garcinia cambogia extract						35	
Mullberry root extract							35
Total (g)	5,000	5,000	3,500	3,500	3,500	3,500	3,500

¹⁾ND: normal diet group.

²⁾HFD: high fat diet group.

³⁾TF: high fat diet group with 5% White jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) powder.

⁴⁾FTF: high fat diet group with 2.5% or 5% Fermented White jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) powder.

⁵⁾PG: high fat diet group with 1% Garcinia cambogia (*Garcinia cambogia*) extracts.

⁶⁾PM: high fat diet group with 1% Mulberry (*Morus alba* L.) Root Bark Extracts.

군분리는 고지방식이(HFD)를 섭취한 군을 표준식이(ND)에 비교하여 체중은 30% 이상, 혈당은 공복혈당이 126 mg/dL 이상의 mouse만을 선별하였으며, 각 군의 평균 체중 및 혈당 값이 균등하게 분리하였다.

식이에 따른 동물실험군 선정

실험군은 C57BL/6N mouse 각 군당 8마리씩 사육하였으며, 식이사료는 정상군(ND, normal diet), 대조군(HFD, high fat diet), 실험군인 발효하지 않은 흰목이 버섯(Not Fermented *Tremella fuciformis*; TF) 5% 첨가한 실험군(5% TF, high fat diet with 5% White jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) powder), 발효한 흰목이 버섯(Fermented *Tremella fuciformis*; FTF) 2.5% 첨가한 실험군(2.5% FTF, high fat diet with 2.5% Fermented White jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) powder), 5% 첨가한 실험군(5% FTF, high fat diet with 5% Fermented White jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) powder), 양성대조군인 1% 가르시니아 추출물을 첨가한 실험군(PG)과 1% 상백피 에탄올 추출물을 첨가한 실험군(PM, high fat diet group with 1% Mulberry (*Morus alba* L.) Root Bark Extracts)으로 나누어 연구를 수행하였다. 또한, 흰목이 버섯 투여군과 양성대조물질 투여군은 High fat diet (HFD, 45% AIN-76 diet 45% fat calorie)에 시험물질을 용량 별로 섞어 8주간 섭취하도록 하였다(Table 1). 흰목이 버섯이 첨가된 사료의 최고 농도는 14일 반복예비독성시험을 수행하여 최대내성용량(MTD, Maximum Tolerated Dose)을 확인하여 독성이 나타나지 않는 최고 농도로 설정하였다. 모든 동물 실험 과정은 안동대학교 동물실험윤리 위원회의 승인을 받아 실시하였다(No. 2018-3-0501-01-01).

체중, 식이 섭취량, 식이섭취효율 측정

체중은 실험 시작일에 측정된 다음 매주 1회 측정하였으며, 실험 종료일까지 8주에 걸쳐 측정하였다. 식이 섭취량은 매주 1회 측정하였다. 식이 섭취량은 이전 사료 공급량에서 잔량을 감하여 계산하였으며, 식이섭취효율은 실험 기간중의 체중증가량을 식이섭취량으로 나누어 계산하였다.

부고환 지방조직 및 간 무게 측정

부고환 지방조직(epididymal fat pad) 및 간무게 측정은 실험 시작 8주째 mouse를 희생 시킨 후 부검하여 측정하였다.

경구당부하검사(oral glucose tolerance test, OGTT)

경구 당부하 검사는 실험 7주째 12시간 이상 금식 시킨 후, 공복 시 혈당을 측정된 다음 glucose (2 g/kg body weight)를 멸균주사용수에 녹여 경구 투여한 다음 30, 60, 90, 120, 150, 180분 후 mouse의 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하고 혈당측정기(g doctor, Allmedicus, Korea)를 이용하여 혈당을 측정하였다.

실험동물의 혈청 제조

분석에 이용한 혈청(serum)은 실험 종료 전 12시간 동안 mouse를 절식 시키고, 체중과 공복 혈당을 측정된 다음, ethyl ether로 마취하여 심장에서 채혈한 후, 채혈된 혈액은 실온에서 1시간 방치하고 4,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 제조하였다.

인슐린 저항성 및 혈중 인슐린 농도 측정

인슐린 저항성은 HOMA-IR 계산법을 이용하여 산출하였다. 혈당 및 insulin은 실험 시작 8주째에 12시간 이상 금식 시킨 후 공복 시에 측정하였고, 인슐린 농도는 Mouse Insulin Elisa kit (SHIBAYAGI, Co., Gunma, Japan)를 사용하여 ELISA로 측정하였다. 인슐린 저항성의 지표로 사용되는 HOMA-IR (homeostasis model assessment)은 다음의 공식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{HOMA-IR} = \text{공복 시 혈당 blood glucose (mg/dL)} \times \text{insulin (}\mu\text{IU/ml)} / 405$$

Total cholesterol, Glucose 함량 측정

혈청 중 glucose 및 total cholesterol 함량은 효소법에 따라 조제된 시약 kit (Asanpharm, Korea)를 이용하였으며, kit에서 제공하는 protocol에 따라 측정하였다.

Triglyceride 함량 측정

혈청의 triglyceride 함량은 효소법에 따라 조제된 시약 kit (Asanpharm, Korea)를 이용하였으며, kit에서 제공하는 protocol에 따라 측정하였다.

통계 처리

모든 통계분석은 SPSS version 25을 이용하였으며, 모든 실험 결과는 평균(mean) ± 표준편차(SD)로 나타냈다. ND (실험)군과 HFD (실험)군은 independent t-test를 이용하여 검증하였고, HFD (실험)군과 HFD에 시험물질을 첨가한 군은 one-way ANOVA를 실시 한 후, 사후 검증 방법으로 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검증하였다. 모든 경우의 유의적 수준은 $p < 0.05$ 를 적용하였다.

결과 및 고찰

식이에 따른 체중증가량(몸무게 변화) 감소 효과

실험식이 급여 8주 후, 일반식이 섭취 mice와 고지방식이 사료를 섭취한 mice에서 각 실험군의 최종 체중, 식이섭취량 및 식이섭취효율을 조사하였다(Table 2). 고지방식이를 섭취하여 비만 유도 시 ND (실험)군에 비해 HFD (실험)군이 유의적($p < 0.001$)으로 높은 약 30.1%의 체중 증가율을 보여 고지방식이로 비만이 유도되었음을 확인하였다. 실험 전 ND (실험)군을 제

Table 2. Effect of fermented white jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) powder on final body weight, food intake and food efficiency ratio

	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Food intake (g/8 weeks)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio (%) ⁴⁾
ND	31.29±2.47 ^{***1)}	33.13±2.51 ^{***}	177.01±6.33	3.16±0.11	1.04±0.75 ^{**2)}
HFD	40.86±2.46	47.43±1.43 ^{a3)}	171.11±11.00 ^a	3.06±0.20 ^a	3.79±1.04 ^a
5% TF	40.18±2.14	44.91±1.07 ^{ab}	165.86±8.10 ^a	2.96±0.14 ^a	2.87±1.11 ^{ab}
2.5% FTF	40.60±2.01	43.48±2.21 ^{bc}	172.38±13.74 ^a	3.08±0.25 ^a	2.56±1.15 ^{ab}
5% FTF	40.98±1.62	43.08±2.22 ^{bc}	173.00±9.38 ^a	3.09±0.17 ^a	1.99±0.88 ^b
PG	42.23±2.74	41.34±1.62 ^c	173.03±13.95 ^a	3.09±0.25 ^a	0.60±1.62 ^c
PM	39.99±4.48	41.18±3.49 ^c	174.11±22.77 ^a	3.11±0.41 ^a	0.60±0.92 ^c

^{1)***}Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p<0.001$).

^{2)**}Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p<0.01$).

³⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

⁴⁾FER (food efficiency ratio = body weight gain/food intake) ×100.

의한 모든 mice의 평균 체중은 약 40 g으로 실험군 사이에 유의한 차이가 없었다. 그러나, 실험식이 급여 8주 후 5% TF (실험)군, 2.5% FTF (실험)군, 5% FTF (실험)군은 HFD (실험)군에 비해 각각 5.3%, 8.3%, 9.2% 평균 체중이 감소되어 2.5% FTF(실험)군, 5% FTF (실험)군은 HFD (실험)군에 비해 유의적으로 낮아졌고($p<0.05$), 그 중 5% FTF (실험)군이 가장 큰 감소를 보였다. 이에 비해, 양성대조군인 PG (실험)군, PM (실험)군은 각각 12.8%, 13.2% 체중이 감소되었다($p<0.05$). 식이 섭취량은 ND (실험)군과 HFD (실험)군은 유의한 차이는 없었고 HFD (실험)군과 실험군의 식이 섭취량을 비교했을 때 모든 군에서 유의한 차이가 없었다. 식이섭취효율은 HFD (실험)군이 ND (실험)군에 비해 유의하게 높았으며($p<0.01$), HFD (실험)군과 실험군의 식이섭취효율 비교 시 모든 실험군에서 HFD (실험)군보다 낮아졌고 5% FTF (실험)군, PG (실험)군, PM (실험)군에서 유의적으로 낮은 결과를 보였다($p<0.05$). 선행연구에서 돼지를 이용하여 발효흰목이 버섯을 사료에 섞어 2주간 섭취한 실험에서는 비록 체중 변화는 없었지만 및 식이 섭취효율이 일반섭취군에 비교해서 유의적으로 낮아진다고

보고되었다[16]. 본 연구에서도 발효흰목이 버섯이 포함된 사료 섭취 시 체중감소와 식이섭취효율이 감소되는 것을 확인하였으며, 발효한 흰목이 버섯이 발효하지 않은 흰목이 버섯보다 체중감소 및 식이섭취효율이 조금 더 낮은 것을 확인하였다. 이에 본 연구를 통해 발효흰목이 버섯이 체중감소에 효과가 있는 것으로 판단된다.

식이에 따른 장기무게(장기무게변화) 감소 효과

실험 식이의 종류에 따른 간과 부고환 지방의 무게를 측정하였다(Fig. 1). 간과 부고환지방 무게 모두 HFD (실험)군이 ND (실험)군에 비해 유의하게 증가하였으며($p<0.001$), 실험 식이의 경우 간의 무게는 5% TF (실험)군, 2.5% FTF (실험)군, PG (실험)군은 HFD (실험)군과 차이가 없었으나, 5% FTF (실험)군과 PM (실험)군은 HFD (실험)군에 비하여 각각 19.5%, 28.1% 감소하며 유의하게 낮았다($p<0.05$). 부고환지방의 무게는 HFD (실험)군에 비하여 5% TF (실험)군, 2.5% FTF (실험)군, 5% FTF (실험)군, PG (실험)군, PM (실험)군은 각각 22.4%, 29.4%, 30.6%, 27.4%, 12.0% 감소하며 모든 군에서 유의하게

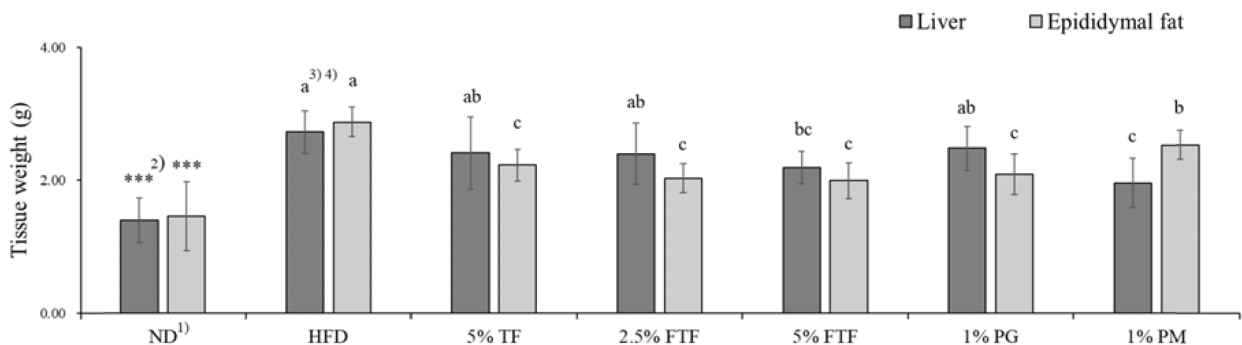


Fig. 1. Liver and epididymal fat weight of mice fed experimental diets supplemented with fermented White jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) at 1% of diets for 8 weeks. ¹⁾Groups are the same as in Table 2. ²⁾All values are mean ± SD. ^{3)***}Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p<0.001$), ⁴⁾Values with different

낮았다($p<0.05$). 선행연구에서 각각 흰목이 버섯 분말 5%, 10%를 고지방식이 사료에 섞어 4주간 섭취한 rats의 간 무게는 HFD(실험)군에 비해 5% 첨가군 경우 간의 무게는 감소하였지만, 10% 첨가군 경우 유의하게 낮아졌다고 보고되었다($p<0.05$) [2].

본 연구에서도 간의 무게 측정 시 5% TF (실험)군에서는 HFD (실험)군에 비해 무게가 감소하였지만 유의하지 못하다는 선행연구결과와 유사하였으나, 5% FTF (실험)군에서는 HFD (실험)군에 비해 유의하게 낮아진 것을 확인하였다($p<0.05$). 또한, 부고환지방 무게 또한 모든 군에서 유의적으로 감소하였으며($p<0.05$), 5% FTF (실험)군에서 부고환지방 무게가 가장 적게 측정되었다. 이 결과를 통해 *L. rhammosus* BHN-LAB 76으로 흰목이 버섯을 발효하면, 간과 부고환지방 무게를 크게 감소하는 효과가 있을 것으로 판단된다. 또한 유산균 발효는 흰목이 버섯의 항비만 효과를 더욱더 극대화시킬 수 있는 매우 유용한 기술이라 사료된다.

혈중 분석을 통한 지질농도 감소 효과

본 연구에서 혈중 지질 농도를 분석하였다(Table 3). 총 콜레스테롤과 중성지방 모두 HFD (실험)군이 ND (실험)군에 비해 증가하는 것을 확인하였다($p<0.05$, $p<0.01$). 실험식에 따른 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 5% TF (실험)군, 2.5% FTF (실험)군, 5% FTF (실험)군, PG (실험)군, PM (실험)군은 HFD (실험)군에 비해 각각 10.6%, 11.6%, 18.6%, 23.0%, 20.7% 감소하는 것을 확인하였으며, 고지방식이 사료에 고농도의 발효 흰목이 버섯이 첨가된 군 일수록 HFD (실험)군에 비해 총콜레스테롤 함량이 감소되었다. 그러나 중성지방 함량은 5% TF (실험)군, 2.5% FTF (실험)군, 5% FTF (실험)군, PG (실험)군, PM (실험)군은 HFD (실험)군에 비해 각각 40.2%, 50.2%, 51.5%, 55.4%, 54.6% 감소하였으며, 고농도인 발효 흰목이 버섯군일수록 더욱더 중성지방의 낮은 함량을 확인하였으며, 유의성을 확인하였다($p<0.05$). 돼지를 이용하여 발효 흰목이 버섯을 사료에 섞어 2주간 섭취한 실험에서도 일반섭취군에 비해 총콜레스테롤 함량은 유의성을 보지는 못하였지만, 중성지방 경우 유의성 있는 감소를 확인하였다고 보고되었으며($p<0.05$), rats를 이용한 흰목이 버섯 분말 5%와 10%를 각각 고지방식이 사료에 섞어 4주간 섭취 시 총콜레스테롤 함량은

5% 첨가군에서는 유의성이 없었지만 10% 첨가군에서는 유의성 있는 감소를 보였다($p<0.05$). 또한, 중성지방 경우에서도 5% 첨가군에서는 유의성이 없었고 10% 첨가군에서만 유의성 있는 감소를 보였다($p<0.05$) [2, 16].

본 연구에서는 발효 흰목이 버섯 섭취를 통한 총콜레스테롤 함량 변화는 유의성 있는 감소를 확인하지는 못했지만, 고농도의 발효 흰목이 버섯이 첨가된 군일수록 총콜레스테롤 함량을 낮추었으며, 중성지방 함량 역시 낮아지는 것을 확인하였다. 본 연구와 기존 보고를 통해 흰목이 버섯의 혈중 지질 감소 효과보다 발효한 흰목이 버섯이 더욱더 혈중 지질 농도를 낮출 수 있음을 확인하였다.

식이에 따른 경구당 부하검사(AUC) 결과

실험식이 급여 7주 후 경구당 부하검사를 수행한 후 혈당 농도 반응을 혈당 반응 면적(Area under curve, AUC)으로 산출하였다(Fig. 2). 2.5% FTF (실험)군과 5% FTF (실험)군의 혈당 반응 면적은 HFD (실험)군에 비해 각각 8.6%와 16.2%로 각각 감소됨을 확인하였다. 그러나, 양성대조군인 PG (실험)군과 PM (실험)군은 각각 46.7%와 65.1% 감소되는 것을 확인하였다($p<0.05$). 기존에 보고된 연구에서 흰목이 버섯을 실험실에서 고체배양 시킨 후 제 2 당뇨병 모델 mice에 52일간 경구투여 후 경구당 부하검사 진행 시 혈당 반응 면적(Area under curve, AUC)이 일반대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다는 보고가 있다[4]. 이를 통해, 앞서 제시한 보고와 본 연구를 통해 흰목이 버섯의 배양 조건과 동물의 투여 조건에 따라 혈당의 변화에 영향을 미칠 것으로 판단되어진다.

혈중 글루코스 함량, 인슐린 및 HOMA-IR 감소 효과

인슐린은 신체 내 포도당 항상성 유지에 역할을 하는 호르몬이다. 인슐린은 골격근과 지방 조직에서 포도당을 대사하고 간에서 당생합성을 억제하여 체내 포도당의 항상성을 조절한다[15]. 인슐린 저항성은 인슐린이 충분한 상태에서 인슐린 또는 간, 지방조직, 골격근에서 인슐린과 관련된 수용체 등이 제 기능을 하지 못하여 포도당 대사, 포도당 신생합성의 억제 반응이 감소되어 고혈당이 유지되는 것을 말한다. 인슐린저항성은 제2당뇨병의 주된 원인이며, 비만, 심혈관 질환, 고혈압 등 여러 성인 대사성 질환의 원인이 된다[6, 8, 9, 23]. 본 연구에

Table 3. The lipid profiles of each experimental group after 8 weeks

	ND ¹⁾	HFD	5% TF	2.5% FTF	5% FTF	PG	PM
Total cholesterol (mg/dL)	143.34±23.17 ^{***1)}	243.26±36.50 ^{a2)}	217.52±52.46 ^{ab}	215.16±47.01 ^{ab}	198.05±44.12 ^{ab}	187.40±44.29 ^b	192.93±46.03 ^{ab}
Triglyceride (mg/dL)	65.16±13.92 ^{**}	97.88±10.97 ^a	58.52±16.02 ^b	48.70±8.33 ^{bc}	47.47±6.82 ^{bc}	43.69±12.51 ^c	44.46±13.67 ^c

¹⁾**Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p<0.01$).

²⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

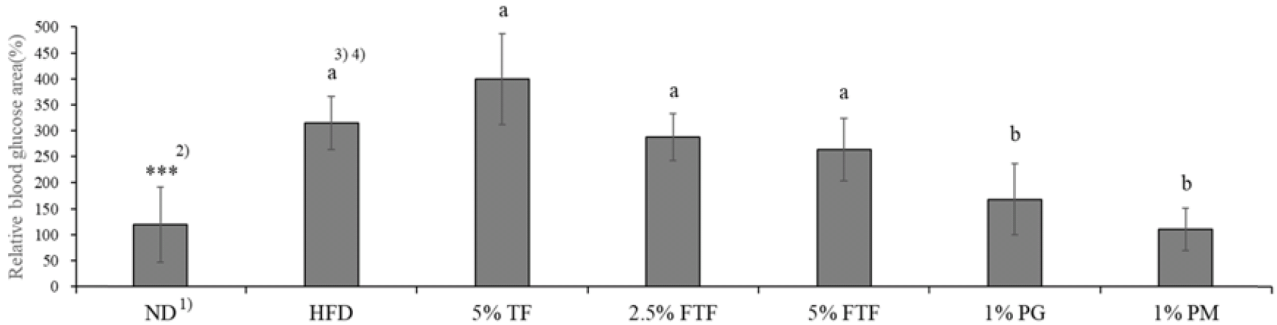


Fig. 2. AUC (Area under the curve) calculation after glucose treatment in mice fed experimental diets supplemented with fermented White jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) at 1% of diets for 8 weeks. ¹⁾Groups are the same as in Table 2. ²⁾All values are mean ± SD. ^{3)***}Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p < 0.001$), ⁴⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

Table 4. Effects of the fermented white jelly fungus (*Tremella fuciformis* Berk) on serum glucose and insulin levels in mouse

	ND	HFD	5% TF	2.5% FTF	5% FTF	PG	PM
Glucose level (mg/dL)	135.47±41.84 ^{**1)}	223.30±25.79 ^{a2)}	224.57±34.03 ^a	210.42±25.38 ^{ab}	210.10±32.83 ^{ab}	178.34±27.75 ^b	186.31±34.30 ^b
Insulin level (ng/ml)	0.35±0.04 ^{**}	2.07±0.04 ^a	1.63±0.26 ^a	1.61±0.28 ^a	1.60±0.18 ^a	0.91±0.26 ^b	0.52±0.16 ^b
HOMA-IR ³⁾	0.08±0.02 ^{**}	0.86±0.11 ^a	0.69±0.22 ^{ab}	0.60±0.17 ^{abc}	0.48±0.12 ^{bcd}	0.25±0.06 ^{cd}	0.10±0.04 ^d

^{1)**}Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p < 0.01$).

²⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

³⁾HOMA-IR : homestasis model assessment blood glucose (mg/dL) × insulin (μIU/ml)/405.

서 혈중 글루코스 함량 및 인슐린 농도 측정과 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR 분석하였다(Table 4). 혈중 글루코스 함량, 인슐린 농도 및 HOMA-IR은 HFD (실험)군이 ND (실험)군에 비해 증가하는 것을 확인하였다($p < 0.01$). 실험식이에 따른 혈중 글루코스 함량은 2.5% FTF (실험)군, 5% FTF (실험)군과 HFD (실험)군을 비교하였을 때 각각 5.8%와 5.9% 감소하였으며, 양성대조군인 PG (실험)군과 PM (실험)군은 HFD (실험)군과 비교하여 각각 20.1%, 16.6% 감소하였다($p < 0.05$). 실험식이에 따른 혈중 인슐린 농도는 5% TF (실험)군, 2.5% FTF (실험)군 및 5% FTF (실험)군을 HFD (실험)군과 비교하였을 때 각각 21.3%, 22.2% 및 22.7% 감소하였으며, 양성대조군인 PG (실험)군과 PM (실험)군은 각각 56.0%와 74.9% 감소함을 확인하였다($p < 0.05$). 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR은 5% TF (실험)군, 2.5% FTF (실험)군을 HFD (실험)군과 비교하였을 때 각각 19.8%, 30.2% 감소하는 것을 확인하였다. 또한, 5% FTF (실험)군, PG (실험)군 및 PM (실험)군은 각각 68.6%, 70.9%와 88.4%이며 유의적 감소를 확인하였다($p < 0.05$). 돼지를 이용한 발효흰목이 버섯 함유 사료를 2주간 섭취한 연구 결과에서 혈중 내 글루코스 함량은 일반섭취군에 비교해서 낮아지는 경향을 보였지만 유의성을 보이지는 못하였다[2]. 본 연구에서도 글루코스 함량과 인슐린 함량이 낮아지는 경향을

보였지만 유의성 있는 감소를 보이지는 못하였다. 그러나 인슐린저항성을 측정할 수 있는 HOMA-IR 분석에서 5% FTF (실험)군과 HFD (실험)군을 비교하여 유의적인 감소를 확인하였으며($p < 0.05$), 본 연구를 통해 유산균을 이용한 발효 흰목이 버섯은 인슐린저항성 억제에 관여하여 혈중 내 혈당을 조절할 수 있는 가능성을 확인하였다.

흰목이 버섯은 강력한 항산화물질, 비타민 D, β-glucan 및 다양한 다량의 아미노산이 함유되어 있어 비만, 항염증, 항주름, 항미백, 항암 및 성인병에 대해 우수한 효과가 보고되었다. 따라서, 흰목이 버섯을 이용한 식품 소재 활용 연구개발이 많이 진행되고 있다. 유산균은 면역 기능의 활성화, 아토피, 알레르기, 항비만, 체내 콜레스테롤 저하, 항암효과, 혈당조절, 장내 유해 세균을 억제하고 영양소의 분해와 흡수 촉진 등 다양한 기능성 생리활성효능이 알려져 있다. 하지만 유산균 발효 연구는 아직 초기연구단계로 많은 연구가 필요하다. 본 연구에서는 흰목이 버섯과 유산균을 이용하여 흰목이 버섯을 유산균으로 발효 후 항비만 및 항당뇨와 같은 성인병 질환의 효과를 검토하기 위해 *in vivo model*을 이용하여 실험을 진행하였다. 유산균으로 발효를 한 흰목이 버섯에 고지방식이로 비만이 유도되어 제 2형 당뇨병 특성을 나타내는 C57BL/6N mice에서 지질수 개선, 비만 및 혈당조절에 미치는 영향을 알아보

기 위해 C57BL/6N mice에 8주간 고지방식이를 급여하여 비만과 고혈당을 유도하고 발효흰목이 버섯이 비만 및 혈당에 미치는 영향을 확인하였다. 실험동물은 정상 대조군(ND), 고지방식이 대조군(HFD), HFD+발효하지 않은 5% 흰목이 버섯 투여군(5% TF), HFD+발효 2.5% 흰목이버섯 투여군(2.5% FTF), HFD+발효 5% 흰목이버섯 투여군(5% FTF), HFD + 1% 가르시니아추출물(PG), HFD + 1% 상백피 에탄올 추출물(PM) 6군으로 나누어 사육하였다. 8주간 시험물질이 섞여있는 사료를 섭취시켰을 때 5% TF (실험)군, 2.5% FTF (실험)군, 5% FTF (실험)군 모두 HFD (실험)군과 유의한 차이를 보였다. 특히, 5% FTF (실험)군은 체중, 간, 부고환 지방 무게, HOMA-IR, 중성지방을 측정된 결과, HFD (실험)군과 비교하였을 때 유의적으로 차이를 보이며 큰 효과를 보였다. 또한, 5% TF (실험)군과 비교하였을 때도 모든 고지혈증, 항비만 및 항당뇨실험에서 효과를 보였다. 본 연구를 통해, 발효 흰목이 버섯 섭취는 고지방식이를 통해 비만/당뇨로 유발시킨 C57BL/6N mice의 지질수준 개선, 비만에 긍정적인 영향을 확인하였으며, 혈당조절 소재로서 가능성을 확인하였다. 본 연구결과를 통해 발효 흰목이 버섯을 이용한 건강기능식품 개발 가능성이 매우 높다고 판단되며, 지속적인 발효흰목이 버섯을 이용한 심도 깊은 연구가 필요하고 판단된다. 또한, 본 연구에서 유산균 발효는 체내의 생리활성을 증대시킬 수 있는 매우 유익한 기술임을 확인하였으며, 유산균 발효를 이용한 연구가 더욱더 증진 되어야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 중소벤처기업부의 기술개발사업 지원에 의한 연구임(C0563692).

References

- Ahmed, F. E. 2003. Genetically modified probiotics in foods. *Trends Biotechnol.* **21**, 491-497.
- Cheng, H. H., Hou, W. C. and Lu, M. L. 2002. Interactions of lipid metabolism and intestinal physiology with *Tremella fuciformis* Berk edible mushroom in rats fed a high-cholesterol diet with or without Nebacitin. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 7438-7443.
- Cheung, P. C. 1996. The hypocholesterolemic effect of two edible mushrooms: *Auricularia auricula* (tree-ear) and *Tremella fuciformis* (white jelly-leaf) in hypercholesterolemic rats¹. *Nutr. Res.* **16**, 1721-1725.
- Cho, E. J., Hwang, H. J., Kim, S. W., Oh, J. Y., Baek, Y. M., Choi, J. W., Bae, S. H. and Yun, J. W. 2007. Hypoglycemic effects of exopolysaccharides produced by mycelial cultures of two different mushrooms *Tremella fuciformis* and *Phellinus baumii* in ob/ob mice. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **75**, 1257-1265.
- Hanniffy, S., Wiedermann, U., Repa, A., Mercenier, A., Daniel, C., Fioramonti, J., Tlaskolova, H., Kozakova, H., Israelsen, H. and Madsen, S. 2004. Potential and opportunities for use of recombinant lactic acid bacteria in human health. *Adv. Appl. Microbiol.* **56**, 1-64.
- Hotamisligil, G. S., Peraldi, P., Budavari, A., Ellis, R., White, M. F. and Spiegelman, B. M. 1996. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α -and obesity-induced insulin resistance. *Science* **271**, 665-670.
- Jung, H. K., Sim, M. O., Jang, J. H., Kim, T. M., An, B. K., Kim, M. S. and Jung, W. S. 2016. Anti-obesity effects of *Peucedanum japonicum* Thunberg L. on 3T3-L1 cells and high-fat diet-induced obese mice. *Kor. J. Plant Res.* **29**, 1-10.
- Kahn, B. B. and Flier, J. S. 2000. Obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **106**, 473-481.
- Kahn, S. E., Hull, R. L. and Utzschneider, K. M. 2006. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* **444**, 840.
- Kalliomäki, M., Salminen, S., Arvilommi, H., Kero, P., Koskinen, P. and Isolauri, E. 2001. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* **357**, 1076-1079.
- Kim, T. H., Jo, S. H., Kim, M. J., Yu, Y. B., Jang, M. H. and Park, K. M. 2012. Comparative study on nutritional contents of *Auricularia* spp. *J. Mushrooms* **10**, 29-36.
- Kim, Y. H., Han, K. I., Jeon, M., Hwang, S. G., Jung, E. G., Kwon, H. J. and Han, M. D. 2014. Antihyperlipidemic activities of a chemically engineered sulfated mushroom β -glucan on high fat dietary-induced hyperlipidemia in sprague-dawley rats. *Life Sci.* **24**, 1209-1216.
- Lee, M. S., Lee, S. J. and Kang, S. M. 2009. Effect of *Tremella fuciformis* Berk on anti-stress activities during long-term and short-term in mice. *KSBB J.* **24**, 131-139.
- Lee, D. h., Park, J. S. and Lee, J. S. 2005. Quality and angiotensin I-converting enzyme inhibitor activity of korean traditional rice wine brewed by antihypertensive *pholiota adiposa* and *S. cerevisiae*. *J. Mushrooms* **3**, 128-128.
- Lee, H. 2014. Methods for the assessment of insulin resistance. *J. Kor. Diabetes* **15**, 7-11.
- Li, X., Wen, M. and Wang, K. 2011. Effect of *Tremella fuciformis* ferment substance on the growth performance and lipid metabolism of finishing pigs. *J. Anim. Feed Sci.* **20**, 546-555.
- Miyazawa, K., He, F., Yoda, K. and Hiramatsu, M. 2012. Potent effects of, and mechanisms for, modification of cross-talk between macrophages and adipocytes by lactobacilli. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **56**, 847-854.
- Mokdad, A. H., Bowman, B. A., Ford, E. S., Vinicor, F., Marks, J. S. and Koplan, J. P. 2001. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the united states. *JAMA* **286**, 1195-1200.
- Panduru, M., Panduru, N., Sălăvăstru, C. and Tiplica, G. S. 2015. Probiotics and primary prevention of atopic dermatitis: a meta analysis of randomized controlled studies. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **29**, 232-242.
- Park, H. S. 2001. Pharmacological therapy of obesity. *Kor.*

- J. Obes.* **10**, 118-127.
21. Park, M. J. 2005. Recent advances in regulating energy homeostasis and obesity. *Kor. J. Pediatr.* **48**, 126-137.
 22. Perera, P. K. and Li, Y. 2011. Mushrooms as a functional food mediator in preventing and ameliorating diabetes. *Funct. Food Health Dis.* **1**, 161-171.
 23. Steppan, C. M. and Lazar, M. A. 2002. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol. Metab.* **13**, 18-23.
 24. Ukai, S., Hirose, K., Kiho, T. and Hara, C. 1974. Polysaccharides in Fungi. I. Purification and characterization of acidic heteroglycans from aqueous extract of *Tremella Fuciformis* Berk. *Chem. Pharm. Bull.* **22**, 1102-1107.
 25. Ukai, S., Hirose, K., Kiho, T., Hara, C., Irikura, T., Kanechika, T. and Hasegawa, Y. 1972. Antitumor activity on sarcoma 180 of the polysaccharides from *Tremella fuciformis* Berk. *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 2293-2294.
 26. Woo, S. E., Kwon, J. H., Yang, S. Y., Park, H. J. and Kim, K. 2008. Development of egg yolk antibody specific to the pancreatic lipase domain for anti-obesity. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**, 299-306.
 27. Wu, Y. J., Wei, Z. X., Zhang, F. M., Linhardt, R. J., Sun, P. L. and Zhang, A. Q. 2018. Structure, bioactivities and applications of the polysaccharides from *Tremella fuciformis* mushroom: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* **121**, 1005-1010.
 28. Yang, J. O. 2014. The current status and prospect of probiotic research and industrialization. *Food Sci. Ind.* **47**, 29-44.

초록 : 유산균을 이용한 흰목이 버섯의 발효를 통한 항비만과 항당뇨 효과

이준형^{1,2} · 김병혁¹ · 윤여초^{1,2} · 김중규^{1,2} · 박예은¹ · 박혜숙¹ · 황학수³ · 권인숙⁴ · 권기석^{2*} · 이중복^{1*}

(¹비에이치엔바이오 기업부설 생물산업소재개발연구소, ²안동대학교 원예·생약융합학부, ³교촌 F&B, ⁴안동대학교 식품영양학과)

흰목이 버섯(*Tremella fuciformis* Berk)은 고혈압, 당뇨병, 비만, 폐질환, 미용에 효과가 있으며, 고대 중국에서는 불로장생약이라고 알려져 있다. 본 연구에서는 생물전환공정을 통해 발효된 흰목이 버섯 추출물의 항비만 및 당뇨병 효과를 조사하였다. 우리는 비만 유도 시킨 C57BL / 6N 마우스에 High Fats Diet (HFD), 5% non-fermented *Tremella fuciformis* (TF), 2.5% fermented *Tremella fuciformis* (FTF), 5% FTF를 8주간 투여하였다. 경구당 부하검사는 7주간 식이섭취 후 실시하였으며, 8주간 식이섭취 후 섭취량, 식이섭취효율, 체중, 간, 부고환 지방량 및 혈청 인슐린 수치 및 HOMA-IR을 분석하였다. 또한, 혈청 총콜레스테롤 함량 및 중성지방 함량을 분석하였다. FTF (실험)군과 TF (실험)군 및 HFD (실험)군과 비교한 결과 5% FTF (실험)군이 체중, 조직 중량, 중성지방 함량 및 HOMA-IR을 감소시키는 것을 확인하였다. 이 결과를 통해 발효 흰목이 버섯은 항비만 효과를 확인하였다. 마지막으로, 본 연구는 발효 흰목이 버섯을 이용한 비만 치료의 기초자료로 사용하고자 한다.