

사과/배 부산물 및 표고버섯균사체를 이용한 발효물 개발

김진경¹ · 조승화¹ · 김은지¹ · 정도연^{1,*}

¹(재)발효미생물산업진흥원

Development of an apple/pear pomace fermented with *Lentinus edodes* Mycelia

Jin-Kyeong Kim¹, Seong-Wha Jo¹, Eun-Ji Kim¹, and Do-Youn Jeong^{1,*}

¹Microbial Institute for Fermentation Industry

Abstract The purpose of this study was to investigate the possibility of enhancing the functional compounds in apple and pear pomace (APP) by fermentation with mycelia from the mushroom *Lentinula edodes*. A 30% (w/v) APP with added rice bran and *Biji* was fermented with *L. edodes* at 24°C and 80% humidity. The cellulase and pectinase activities in the fermented APP (FAPP) were higher than those in the non-fermented control. In addition, the physiological activities of the FAPP, including DPPH, ABTS radical scavenging, and SOD-like activity, as well as the total polyphenol and β -glucan contents were higher than those in the control. FAPP treatment significantly reduced LPS-induced nitric oxide (NO) levels in Raw 264.7 cell. Therefore, FAPP treatment was considered to more effectively suppress cell injury caused by inflammatory cytokines through inhibition of LPS-induced NO production. These results suggest that the levels of functional components in APP can be increased by fermentation with this mushroom mycelium. However, further studies are needed before it can be used as a functional material.

Keywords: apple/pear pomace, DPPH radical scavenging, ABTS radical, SOD-like activity, β -glucan

서 론

식생활이 서구화되면서 많은 현대인들이 건강과 웰빙에 관한 관심이 높아지고 있고, 이러한 건강에 대한 관심으로 과일 및 채소의 섭취량이 늘고 있으며, 특히 천연과즙에 대한 소비자들의 선호도가 증대되고 있다(Lee 등, 2012). 그러나 사과, 배, 감귤 및 포도의 경우, 압착하여 주스를 만든 후 찌꺼기 형태로 생성되는 과일박의 양은 사용된 과일의 약 20% 정도이다(Kim, 2002). 1년에 가공하는 사과의 양은 약 23,225톤이며, 배의 가공 또한 생산량이 연간 약 9,959톤이라는 한국 통계청(KOSIS, 2018)의 자료를 바탕으로 볼 때 사과, 배는 부산물의 형태로 생산되나 재활용에 관한 기술개발이 많이 이루어지지 않아 대부분 폐기하거나 일부는 건조 후 가축사료에 첨가하여 소비하고 있는 실정이다.

사과부산물은 수분함량, 단백질 및 섬유소 함량이 비교적 높으며, 기호성이 양호하다는 특징을 갖고 있다. 특히 항알러지, 항산화, 항염증성 등의 생리활성을 나타내는 총 페놀 및 플라보노이드가 함유되어 있고, 비만증, 당뇨, 담석증, 고혈압, 대장암, 심장질환 등의 예방 및 각종 독성 물질의 흡수를 억제하는 기능성을 갖는 식이섬유가 55.56% 함유되어 있는 것으로 보고되었다(Keisuke, 1992; Kim, 2015; Lee 등, 2000).

또한 최근 사과 껍질에 다량 존재하는 ursolic acid는 근육량 증가 및 체중감소, 혈당 강하효과가 있는 것으로 보고되어 유용한 식품소재로서 가치가 높다(Bang 등, 2014; Kunkel 등, 2012; Lee 등, 2016). 이러한 사과박의 유용한 기능성 성분을 산업적으로 이용하기 위해 사료나 가공식품 등 이와 관련된 연구들이 주로 이루어져 왔다(Cho 등, 1999; Lee 등, 2016; Park 등, 2011).

배 부산물에는 충분한 인체 유효성분들이 남아 있음에도 불구하고 이를 식용이나 기능성 소재로 이용되는 사례는 거의 없다. 배 과실 조직의 세포벽은 다당류인 펙틴(35%), 셀룰로오스(20-30%), 헤미셀룰로오스(25%)와 당단백질(5-10%) 그리고 미량의 페놀계 물질로 구성되어 있으며, 배 부산물의 주성분은 펙틴으로 이루어져 있어 효소 처리(exopolysaccharidase)에 의한 펙틴 추출, 발효배부산물(fermented pearpomace) 생산 등의 연구가 일부 이루어지고 있다(Park과 Kim, 1997; Yuk 등, 1999). 배의 과피에는 caffeic acid, chlorogenic acid, arbutin, catechin, epicatechin, *p*-coumaroylquinic acid와 rutin 등 일부 배당체들이 밝혀졌으며, 호흡기계 질환이나 대사성 질환에 활용되며 배 부산물 물 추출물에서 지방 합성 억제 및 인슐린 저항성 개선 효과가 보고되었다(Cho 등, 2011; Rhyu 등, 2014). 이렇게 사과와 배 부산물의 활용 가치는 높으나 제품개발에는 미미한 실정이다.

한편 표고버섯(*Lentinus edodes*)은 담자균강 주름버섯목 느타리과 잣버섯속에 속하는 식용버섯으로 봄에서 가을에 걸쳐 주로 재배하며, 활엽수림 중주로 참나무의 고목에 발생하는 백색부후균으로 목질을 분해할 수 있는 리그닌 분해효소를 생산하는 것으로 보고되었으며(Field 등, 1993), 물질순환에 중요한 역할뿐만 아니라 식용 및 약용으로 널리 이용되어져 왔다. 표고버섯의 약리 효과는 균사체(mycelium) 및 자실체(fruiting body)에 존재하는 성

*Corresponding author: Do-Youn Jeong, Microbial Institute for Fermentation Industry, Sunchang 56048, Korea
Tel: +82-63-650-2000
Fax: +82-63-653-9590
E-mail: jdy2534@korea.kr
Received January 24, 2019; revised March 13, 2019;
accepted April 11, 2019

인병 예방과 인터페론 생성을 촉진하는 단백당체가 종양에 대한 생체 고유의 방어력을 높여줌으로서 간접적으로 종양세포의 증식을 저해하거나, 암세포나 병원성균을 직접 사멸시키는 중요한 역할을 담당하는 대식세포의 수를 증가시키는 작용을 하는 것으로 보고되고 있다(Takehara, 1979). 이러한 단백당체는 주로 균사체에 많이 존재하며 바이러스성 질병에 스스로 방어하고 인터페론과 같은 항체생성을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Tsunoda, 1969). 또한 버섯균사체의 β -glucan은 1997년 미국 식품의약국(US Food and Drug Administration)으로부터 승인을 받은 이래 건강식품 및 식품첨가물로 널리 이용되고 있는 물질 중 하나이다(Choi 등, 2009). β -Glucan은 버섯, 곡물, 효모, 곰팡이, 세균 등의 세포벽에서 유래하는 다당류로(Kim 등, 2006; Navarini 등, 1996; Ohno 등, 1999), 면역증강, 혈당 및 체중 감소 효과, 항콜레스테롤, 피부 재생 효과 등 다양한 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 또한 이들 물질은 면역조절제와 항암 및 항산화에 대한 생리활성 효과가 있는 것으로 보고되어 다양한 분야에서 활용되고 있다(Hong 등, 2005; Kim 등, 1999; Schultz 등, 1977). 따라서 본 연구에서는 사과/배 부산물로부터 유용물질을 증가시키고 또한 고부가 제품을 개발할 수 있는 소재를 활용한 발효물 개발을 위하여, 표고버섯균사체를 접목시켜 원료가 지니는 기능성뿐만 아니라 일반적으로 소량으로 존재하는 생리활성 성분을 증강하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 사과/배 부산물은 (주)발효에스에서 제공받아 시료로 사용하였으며, 열풍건조기 50°C, 48 h 동안 건조 후 분쇄하고 100 mesh 분말로 제조하여 사용하였다. 표고버섯 균사체는 (*Lentinula edodes*) 한국미생물보존센터(Korean culture center of microorganisms, KCCM)로부터 분양받아 사용하였으며, *L. edodes* KCCM12339는 PDB (Potato Dextrose Broth, DB Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 접종한 후 7일간 배양하였다.

사과/배 부산물 및 표고버섯균사체 발효물 제조 조건

사과/배 부산물 및 표고버섯균사체 발효물 제조조건은 미강과 두부박을 Table 1과 같이 비율별로 첨가하였으며, 1번 시료를 제외한 모든 시료에 *L. edodes*를 10% 접종하였고, 수분함량은 70%로 설정하여 발효조건은 24°C에서 3주간 발효를 진행하였다.

일반성분 분석

수분함량은 적외선 수분측정기(Infrared moisture analyzer FD-720, Kett, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였으며, 조회분은 시료 0.5 g을 250°C에서 예비 회화한 후 550°C에서 직접 회화법으로, 조단백질의 함량은 Kjeldahl 분해 및 자동적정장치(Kjeltec™ 8400/Kjeltec™ Sampler 20, FOSS, Beijing, China)를 이용하여 시료를 분해하고 질소함량 측정 후 단백질계수인 6.25를 곱하여 측정하였으며, 조지방의 함량은 Soxhlet 추출법으로 측정하였다.

환원당 측정

환원당은 dinitrosalicylic acid (DNS)법을 변형하여 측정하였다. 시료 1 mL에 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) reagent 3 mL를 첨가하여 순차적으로 중탕(100°C, 5분) 및 냉각(5°C, 5분)한 용액의 흡광도 값은 UV-Vis spectrophotometer (Beckman coulter DU 800, Fullerton, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 측정하였고 표

Table 1. Different addition ratio of nutrient for apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes* mycelia

Samples	Addition ratio of rice bran (%)	Addition ratio of tofu pomace (%)	Inoculation ratio of mycelia (v/w) (%)	Moisture content (%)
1	-	-	Non-fermented	
2	-	-		
3	2	1		70
4	1	2	10	
5	3	-		
6	-	3		

준물질로는 glucose를 사용하였다.

효소활성 측정

Amylase 활성 측정은 시료 5 g에 0.02 M phosphate buffer (pH 7.0) 95 mL를 첨가한 뒤 실온에서 진탕 후 원심분리(15,000 rpm, 15분)하여 상층액으로부터 효소액을 조제한 다음 효소활성을 측정하였다. Amylase의 기질로는 1% 가용성 전분(0.02 M phosphate buffer, pH 7.0) 1 mL를 사용하였다. 미리 조제한 효소액을 1 mL 첨가하여 37°C에서 30분간 반응 시킨 후 1 M acetic acid 10 mL로 반응을 정지시키고 요오드화 용액(0.005% I₂+ 0.05% KI) 2 mL을 넣고 발색시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하여 blank O.D. 값의 10% 감소시키는 것을 1 unit로 하여 시료 1 g으로 환산시킨 후 표시하였다.

Protease 활성 측정은 시료 5 g에 0.02 M phosphate buffer (pH 7.0) 95 mL를 첨가한 뒤 실온에서 진탕 후 원심분리(15,000 rpm, 15분)하여 상층액으로부터 효소액을 조제한 다음 효소활성을 측정하였다. 단백질 분해 효소 활성은 즉, 기질로 0.2 M Tris-HCL (pH 8.0) buffer에 용해한 1% azocasein용액 200 μ L와 효소액 200 μ L 혼합하여 37°C와 55°C에서 각각 30분간 반응시킨 다음, 10% TCA (trichloroacetic acid)용액 100 μ L를 첨가 하여 반응을 정지시킨 후 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성 단위는 37°C와 55°C에서 각각 1분 동안 450 nm에서 흡광도 값을 0.01 증가시키는 단백질의 양을 1 unit로 하였다.

Cellulase 활성 측정은 0.05 M citrate buffer pH 5.0에 녹인 1% CMC (carboxy methyl cellulose)용액 5 mL에 효소용액 0.5 mL 가하여 50°C에서 1시간 반응 시킨 후, dinitrosalicylic acid (DNS)용액 3 mL를 가하여 파장 500 nm에서의 흡광도로서 유리된 환원당을 측정하였다. 효소 활성도는 1분 동안 최종 분해 산물인 glucose equivalents 1 mg을 생성하는 효소의 양을 1 unit으로 정의하였다.

Pectinase 활성 측정은 0.5% crude pectin (pH 10) 용액을 기질 용액으로 사용하였다. 시료 0.5 mL를 0.5 mL의 기질 용액에 첨가 후 40°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 3 mL DNS reagent를 첨가하여 반응을 정지시키고 끓는 물에서 5분간 정치 후 550 nm에서 비색정량하고, 사전에 작성된 표준곡선으로부터 환원당(D-galacturonic acid)의 양을 환산하였다. 1 unit는 1분 동안 1 μ mol D-galacturonic acid를 생성하는 효소의 양으로 하였다.

총 폴리페놀 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis 변법에 따라 추출된 시료를 농도별로 적절히 희석한 후 측정하였다. 각 농도별 시료 200 μ L에

Folin-Ciocalteu reagent 12.5 μ L를 혼합하여 교반한 뒤, 120분 동안 상온에서 방치하여 반응시켰다. 반응액의 흡광도 값은 UV-Vis spectrophotometer (Beckman coulter DU 800) 사용하여 750 nm에서 분석하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 분석시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준검량선 으로부터 시료 추출물의 총 페놀 함량을 산출 하였고, 총 폴리페놀 함량은 1 L 중의 mg gallic acid equivalent로 나타내었다.

DPPH radical 소거능

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능은 Blois와 Marsden (Blois와 Marsden, 1958)의 방법을 변형하여 전자공여작용 (electron donating abilities, EDA)에 대한 효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 시료 50 μ L에 0.15 mM DPPH solution (99% methanol에 용해) 150 μ L을 가한 후 30분간 상온에서 방치한 후 흡광도 값은 UV-Vis spectrophotometer (Beckman coulter DU 800)를 사용하여 517 nm에서 변화를 측정하였다. 각 시료의 라디칼 소거능은 아래의 식에 의해 시료 첨가구 및 무 첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

SOD-like activity

SOD 측정은 19160 SOD determination kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 측정하였으며, kit에서 제공하는 계산식에 의하여 계산하였다.

ABTS+ cation radical scavenging activity 측정

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS+ cation decolorization assay 방법 Roberta (Roberta 등, 1999) 등 방법을 준용하여 측정하였다. 7 mM 2,2'-azino-bis (3-ethyl benzothiazoline-6-sulphonic acid)와 2.4 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온에서 24시간 동안 방치한 후 ABTS+를 형성시켜 ethanol로 희석하여 사용하였으며, ABTS+ 90 μ L에 시료 10 μ L를 가하고 10분 동안 방치한 후 흡광도 값은 UV-Vis spectrophotometer(Beckman coulter DU 800)를 사용하여 732 nm에서 측정하였다.

$$\text{소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

베타글루칸(β -glucan) 함량

β -glucan 정량은 Yeast and Mushroom β -glucan assay kit (Megazyme, Bray, Ireland)를 사용하여 측정하였다. 사용한 kit는 total glucan과 α -glucan을 측정하고 그 차이를 β -glucan으로 측정하였으며 Megazyme사에서 제공하는 β -glucan 함량 계산 프로그램에 대입하여 각각 함량(mg/100 mg) 값으로 계산하였다.

Raw 264.7 대식세포주의 생존률 평가

Raw 264.7 cell의 sample에 대한 cell viability는 cell counting kit-8을 이용하여 독성을 조사하고 이를 통해 항염증 평가에 사용할 시료의 농도를 결정하였다. 배양중인 Raw 264.7 cell을 96 well plate에 5×10^4 cells/mL로 seeding하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 시료를 일정한 농도로 희석하여 처리하였다. 이를 48시간 동안 배양한 후 배지를 모두 제거하고 PBS 100 μ L와 cck-8 시약 10 μ L를 첨가하여 2시간 동안 암실의 37°C, 5% CO₂ incubator에서 반응시켰다. 발색된 각 well을

microplate reader (Infinite 200, Tecan Trading AG, Mannedorf, Switzerland)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였고, 세포 생존율은 다음의 식을 이용하여 확인하였다.

$$\text{세포 생존율(\%)} = \frac{\text{Absorbance}_{\text{sample}}}{\text{Absorbance}_{\text{control}}} \times 100$$

NO (Nitric oxide) 생성량 비교

Raw 264.7 cell로부터 생성된 NO의 양은 NO²⁻의 형태로서 griess 시약을 사용하여 측정하였다. 배양중인 Raw 264.7 cell을 96 well plate에 5×10^5 cells/mL로 seeding하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 세포생존율이 80%이상 유지된 희석배수로 처리하고 LPS (1 μ g/mL)를 첨가한 실험구와 비첨가구를 나누어 24시간까지 배양하였다. 배양 후 배양상등액 100 μ L를 취해 griess reagent 100 μ L와 혼합하여 실온에서 10분간 반응시켰다. 반응 후 microplate reader (Infinite 200, Tecan Trading AG)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였고, sodium nitrite (NaNO₂)를 표준물질로 하여 μ M nitrite로 NO 생성량을 측정하여 면역활성 및 항염증활성을 비교하였다.

통계처리

모든 실험은 3 반복으로 진행되었으며, 각 실험에서 얻은 결과는 SPSS package program (Ver.12.0K, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 각 시료 간의 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 one-way ANOVA로 분산분석한 후에 Duncan's multiple range test로 비교하였다.

결과 및 고찰

사과/배 부산물 및 표고버섯 균사체를 이용한 발효물 일반성분

사과/배 부산물 및 표고버섯균사체를 이용한 발효물의 일반성분 함량에서 수분은 6번 시료에서 71.36%로 가장 높게 나타났으며, 4번 시료에서 69.92%로 가장 낮게 나타났다(Table 2). 조단백질 함량은 시료별 큰 차이를 보이지 않았으나 발효 후에 조금 증가하는 경향을 나타내었다. 조회분은 6번 시료에서 가장 높게 나타났으며, 3번과 4번 시료에서 가장 낮은 함량을 보였다. 조지방 또한 6번에서 가장 높게 나타났고, 4번과 5번 시료에서는 균사체 발효를 하지 않은 1번 시료보다 값이 낮게 나타났다. 조회분과 조지방 함량은 시료별 차이를 나타냈으나, 첨가물의 차이에 따라 값의 차이를 보였으며, 이에 대한 이유는 추가 연구가 더 필요할 것으로 보인다. 환원당이란 반응성이 있는 알데히드기와 케톤기를 갖고 금속염 알칼리 용액을 환원시키는 당당류와 이당류의 총칭이며 설탕을 제외한 포도당, 과당 그리고 맥아당 등이 포함된다. 5번 시료에서 222.60 \pm 1.98 mg/L로 가장 높게 나타났으며, 1번 시료에서 210.01 \pm 1.20 mg/L로 가장 낮게 나타났다. 일반적으로 균사체나 탄수화물은 주로 다당류로서 환원당 함량이 낮으나 버섯균사체를 이용한 발효물의 경우 발효과정 중 탄수화물이 더 활발히 분해되어 짧은 당쇄의 탄수화물 또는 환원당이 많이 생성된 것으로 보이며, 미강을 3% 첨가된 것도 이유로 보이나 그 차이는 미약하였다.

효소활성 측정

표고버섯균사체가 사과/배 부산물을 가수분해 효소로 작용하는지 알아보기 위해 측정된 결과에서 전분분해효소(α -amylase) 활성은 사과/배 부산물에서는 활성을 보이지 않았으나 균사체를 접

Table 2. Proximate of apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes* mycelia

Samples*	Moisture (%)	Crude ash (%)	Crude lipid (%)	Crude protein (%)	Reducing sugar (mg/L)
1	70.12±0.04 ^{bc}	1.12±0.02 ^c	1.33±0.03 ^c	1.81±0.14 ^{cd}	210.01±1.20 ^c
2	70.94±0.05 ^c	1.00±0.01 ^d	1.66±0.07 ^b	1.67±0.22 ^d	214.80±1.34 ^b
3	71.13±0.07 ^b	0.99±0.02 ^d	1.00±0.05 ^d	2.24±0.15 ^a	216.95±2.19 ^b
4	69.92±0.05 ^f	0.99±0.01 ^d	0.66±0.04 ^e	2.03±0.10 ^{abc}	215.65±2.33 ^b
5	70.49±0.06 ^d	1.32±0.02 ^b	0.66±0.02 ^e	1.94±0.15 ^{bc}	222.60±1.98 ^a
6	71.36±0.07 ^a	1.99±0.02 ^a	1.99±0.05 ^a	2.11±0.06 ^{ab}	217.55±1.06 ^b

*1, None fermentation; 2, apple/pear pomace; 3, apple/pear pomace+rice bran (2%)+tofu pomace (1%); 4, apple/pear pomace+rice bran (1%)+tofu pomace (2%); 5, apple/pear pomace+rice bran (3%); 6, apple/pear pomace+tofu pomace (3%)

^bValues are presented as mean±SD (n=3).

^{a-f}Mean values with the different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

Table 3. Enzyme activities of apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes* mycelia

Samples*	α -Amylase activity (unit/g)	Protease activity (unit/g)	Cellulase activity (unit/g)	Pectinase activity (unit/g)
1	-	-	1967.75±2.12 ^e	148.25±0.84 ^f
2	18.58±1.36 ^a	0.27±0.01 ^c	7379.75±4.87 ^b	5571.25±1.12 ^e
3	0.55±0.39 ^d	0.05±0.06 ^d	7387.75±2.89 ^b	6216.00±7.80 ^b
4	16.49±1.88 ^b	0.70±0.01 ^b	7365.50±4.73 ^c	5839.25±6.43 ^d
5	19.52±1.15 ^a	-	7422.00±6.93 ^a	6237.50±3.81 ^a
6	5.27±0.34 ^c	1.27±0.03 ^a	7143.75±4.10 ^d	6100.00±4.45 ^c

*1, None fermentation; 2, apple/pear pomace; 3, apple/pear pomace+rice bran (2%)+tofu pomace (1%); 4, apple/pear pomace+rice bran (1%)+tofu pomace (2%); 5, apple/pear pomace+rice bran (3%); 6, apple/pear pomace+tofu pomace (3%)

^{a-f}Mean values with the different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

중간 처리구(Sample 2-6)에서 활성을 나타내었다(Table 3). 미강이나 두부박의 첨가여부에 따라 값의 차이를 보였으며, 그 중 미강을 3% 첨가한 처리구가 19.52±1.15 unit/g으로 가장 높은 활성을 나타냈다. Park 등(2010) 보고에서 전분분해효소는 전분질 원료의 당화와 향미부여 등의 중요한 역할을 하며, 실험결과 전분분해효소활성은 균체의 증식속도와 많은 상관관계가 있는 것으로 나타났으며, 곡물의 종류에 따라서도 효소활성에 많은 차이가 있었다. 또한 미강과 두부박의 첨가여부에 따라 값이 차이를 나타낸 것과 관련이 있을 것으로 사료된다. 단백질 분해효소 활성은 두부박을 3% 첨가한 처리구가(Sample 6) 높은 활성을 나타내었다. Cellulase활성을 알아보기 위하여 carboxymethylcellulase (CMCase) 방법으로 효소활성측정을 하였다. CMCase (carboxymethylcellulase, endo- β -1,4-glucanase)는 exo-1,4-glucanase, β -glucosidase와 함께 cellulase계 구성 효소로써 cellulase활성이 다량의 식이섬유를 사과/배부산물을 저분자로 분해하는데 작용하는지 알아보았다. 그 결과 사과/배부산물은 1967.75±2.12 unit/g을 나타내었고 사과/배 부산물 표고버섯 발효물은 7143.75±4.10-7387.75±2.89 unit/g을 나타내었다. Kim(2018)에 따르면 표고액체종균 배양배지 조성 중 참나무분 0.3%와 대두박분 처리구가 cellulase활성이 가장 우수함을 나타냈으며, 균사체 건중량이 증가함에 따라 cellulase 활성도 또한 비례하게 증가하였다는 보고와 유사하게 본 연구결과에서도 균사체를 접종하지 않은 시료보다 균사체를 접종한 시료가 cellulase 활성이 높아지는 결과와 비슷하였다. 버섯 균사체는 식물 세포벽 구성물질인 cellulose와 hemicellulose 등의 섬유소를 분해하여 영양소를 섭취한다는 보고(Min과 Han, 2000)와 같이 사과/배 부산물 표고버섯 균사체 발효물의 cellulase활성 증가 시 사과/배부산물의 섬유소를 분해하여 저분자 시키며 유효성분 추출에도 활용이 가능할 것이다. Pectinase 활성은 사과/배부산물이 148.25±0.84 unit/g을 나타내었고 사과/배부산물 표고버섯 발효물은 5571.25±1.12-6237.50±3.81 unit/g을 나타내었다. 버섯균은 대

부분 목재 부후성 균으로 lignin과 cellulose를 분해하여 생육에 필요한 영양분을 얻으며 살아가며, 매우 중요한 효소로 작용한다(Kim, 2018). 따라서 본 실험의 결과 cellulase 및 pectinase 활성에서 표고버섯 균사체 발효를 통하여 사과/배 부산물의 섬유소를 분해시켜 발효가 진행되었음을 확인할 수 있었다.

총 폴리페놀 함량

페놀 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolichydroxyl기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과 등의 생리활성 기능도 가진다. 따라서 폴리페놀의 함량으로 항산화 효과를 가능케 볼 수 있다. 이들 폴리페놀 물질은 다양한 구조, 분자량 및 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화, 항균생물 활성효과 등의 생리활성 기능을 가지는 것으로 알려져 있다(Cuvelier 등, 1998). 사과/배 부산물 및 표고버섯균사체를 이용한 발효조성물의 total polyphenol 함량은 시료 100, 1000 mg/mL에서 폴리페놀 함량이 나타났으며, 1000 mg/mL에서 발효하지 않은 사과/배부산물 보다 사과/배부산물 표고버섯 발효물이 더 높은 함량을 나타내었다(Fig. 1). So(2014)의 결과와 유사하게 버섯균사체 발효물에서 총 폴리페놀 함량이 증가를 보였으며, 이는 사과/배 부산물 내에 당과 결합하고 있던 페놀성 화합물을 표고버섯 균사체가 분해한 것으로 판단된다(Kim 등, 2004). 실제로 표고버섯을 비롯하여 버섯에도 페놀성 화합물을 일정량 함유하고 있고, 이로 인한 항산화 활성을 나타낸 것으로도 판단되어진다. 총 폴리페놀 함량 역시 시료 모든 농도에서 비발효균과 발효균에서의 차이만 있을 뿐 미강과 두부박 첨가에 의한 항산화효과는 크게 나타나지 않았다.

DPPH radical 소거능

인체 내의 free radical은 지질, 단백질 등과 반응하여 생체의

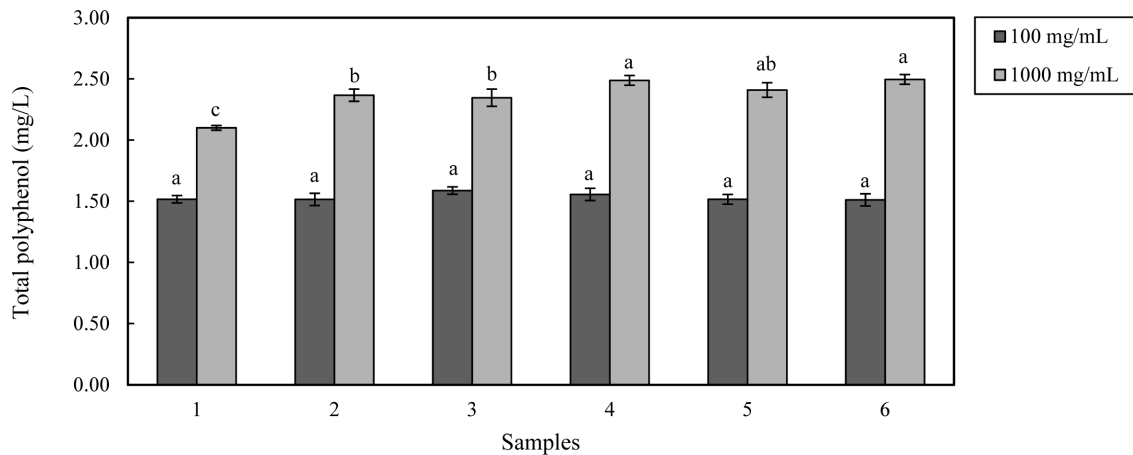


Fig. 1. Total phenolic contents of apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes mycelia*. 1, None fermentation; 2, apple/pear pomace; 3, apple/pear pomace+rice bran (2%)+tofu pomace (1%); 4, apple/pear pomace+rice bran (1%)+tofu pomace (2%); 5, apple/pear pomace+rice bran (3%); 6, apple/pear pomace+tofu pomace (3%). Means with the different letters (a-c) on bars of each sample are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

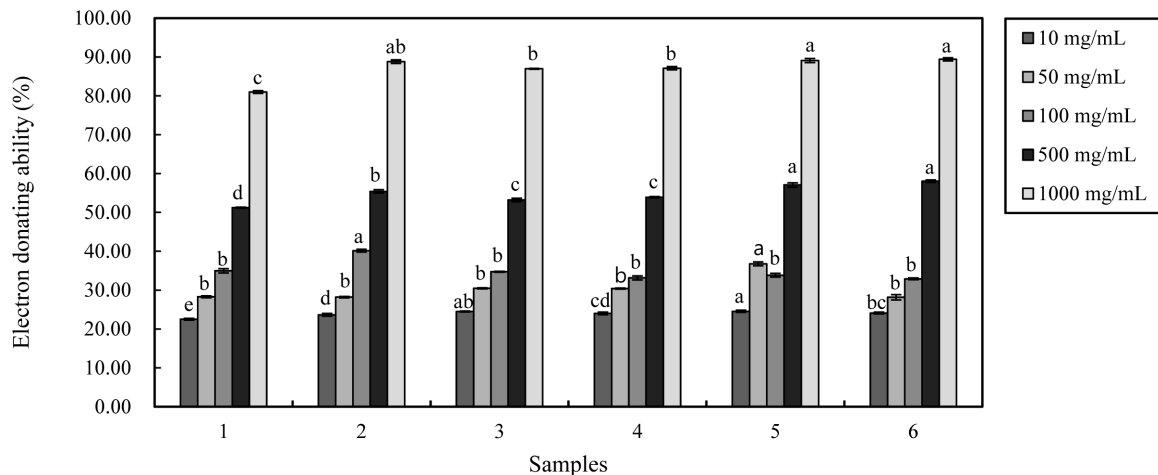


Fig. 2. DPPH radical scavenging of apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes mycelia*. 1, None fermentation; 2, apple/pear pomace; 3, apple/pear pomace+rice bran (2%)+tofu pomace (1%); 4, apple/pear pomace+rice bran (1%)+tofu pomace (2%); 5, apple/pear pomace+rice bran (3%); 6, apple/pear pomace+tofu pomace (3%). Means with the different letters (a-d) on bars of each sample are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

노화를 촉진할 수 있는 물질로, 이러한 free radical을 제거할 수 있는 천연물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical소거법은 항산화물질의 전자공여능을 이용한 항산화력 측정법으로 주로 phenolic구조와 aromatic amine 화합물에서 많이 사용되는 방법이다. 지질 과산화 과정 중 만들어진 자유 라디칼은 암, 심장병 등과 같은 만성병 유발에 있어서 중요한 역할을 한다(Dorman 등, 2003). 자유라디칼은 천연물에 있는 flavonoids 및 phenolic 물질 등에 의해 안정되는데 이들의 라디칼 환원 및 상쇄 능력이 클수록 높은 항산화 활성을 기대할 수 있다. 또 이러한 활성은 인체 내에서 자유 라디칼에 의해 진행되는 노화의 적제 정도를 측정하는 척도로 이용할 수 있다(Torel 등, 1986). 사과/배 부산물 및 표고버섯균사체를 이용한 발효조성물의 DPPH radical 소거능은 시료 1000 mg/mL에서 발효하지 않은 사과/배 부산물이 80.97±0.53%로 가장 낮은 함량을 나타내었으며, 나머지 시료에서는 87.11±0.11-89.39±0.38%로 큰 차이를 나타내지는 않았다(Fig. 2). 시료 500, 1000 mg/mL의 농도에서 비발효균과 발효균에서의 차이만 있을 뿐 미강과 두

부박 첨가에 의한 항산화효과는 나타나지 않았다.

SOD (Superoxide dismutase) 유사활성

SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 주로 phytochemical에 속하는 저분자 물질이 SOD와 유사한 역할을 하여 superoxide의 반응성을 억제함으로써 superoxide로부터 생체를 보호한다. 따라서 SOD 유사활성을 갖는 물질은 인체내의 superoxide를 제거함으로써 노화 억제와 더불어 산화적 장애의 방어 효과를 가진다(Kitani 등, 2002). 사과/배 부산물 및 표고버섯균사체를 이용한 발효조성물의 SOD-like activity 결과는 DPPH 소거능과 유사한 결과를 보였다. 시료 1000 mg/mL에서 발효하지 않은 사과/배 부산물이 81.15±1.71%로 가장 낮은 함량을 나타내었으며, 나머지 시료에서는 87.54±1.81-92.49±1.25%로 큰 차이를 나타내지는 않았다(Fig. 3). 이와 같은 결과는 Uchida 등(1987)과 Nice 등(1995)의 보고와 유사한 결과를 나타내고 있다(Nice, 1995; Uchida, 1987). 시료 모든 농도에서 비발효균과 발효균에서의 차이만 있을 뿐 미강과 두부박 첨가에 의한 항산화효과는 크게 나타나지 않았다.

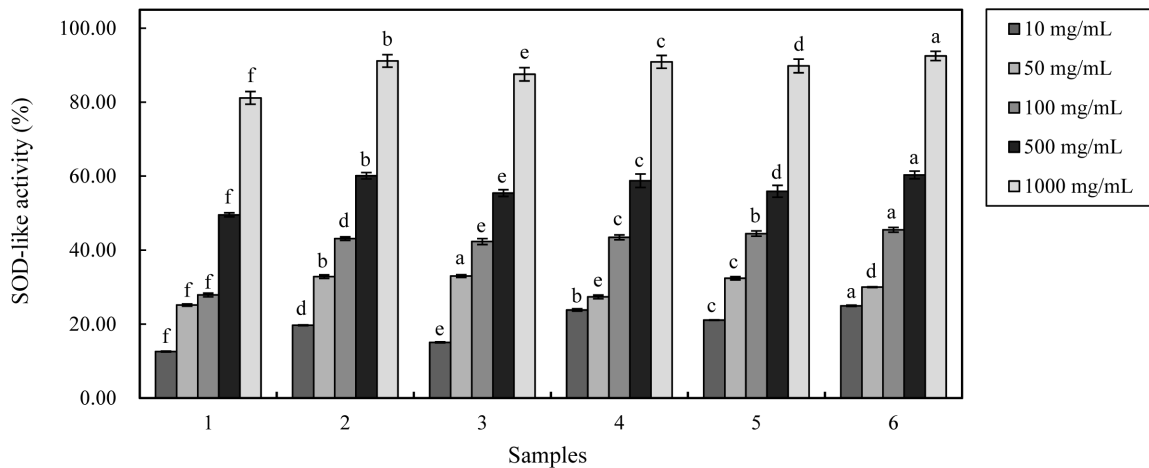


Fig. 3. SOD-like activity of apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes* mycelia. 1, None fermentation; 2, apple/pear pomace; 3, apple/pear pomace+rice bran (2%)+tofu pomace (1%); 4, apple/pear pomace+rice bran (1%)+tofu pomace (2%); 5, apple/pear pomace+rice bran (3%); 6, apple/pear pomace+tofu pomace (3%). Means with the different letters (a-f) on bars of each sample are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

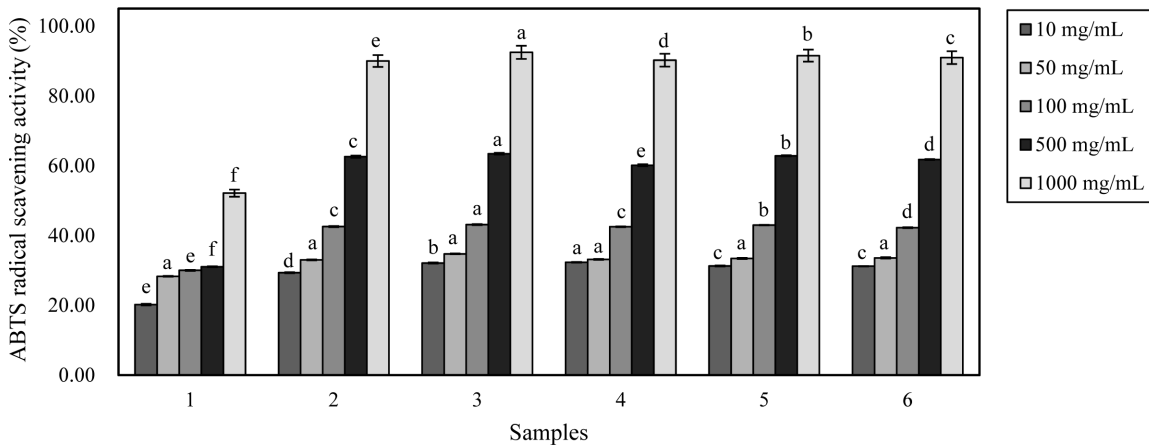


Fig. 4. ABTS+ cation radical scavenging activity of apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes* mycelia. 1, None fermentation; 2, apple/pear pomace; 3, apple/pear pomace+rice bran (2%)+tofu pomace (1%); 4, apple/pear pomace+rice bran (1%)+tofu pomace (2%); 5, apple/pear pomace+rice bran (3%); 6, apple/pear pomace+tofu pomace (3%). Means with the different letters (a-f) on bars of each sample are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

ABTS radical 소거능

ABTS 라디칼 소거능은 ABTS와 potassium persulfate의 반응으로 생성되는 ABTS+ free 라디칼이 추출물 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼의 짙은 청록색이 무색으로 탈색되는 원리를 이용한 항산화 활성 측정법이다(Re 등, 1999). 사과/배 부산물 및 표고버섯균사체를 이용한 발효조성물의 ABTS+ cation radical scavenging activity는 시료의 농도 1000 mg/mL일 때 발효하지 않은 사과/배 부산물에서 $52.16 \pm 1.03\%$ 로 낮게 나타났으며, 사과/배 부산물 표고버섯 균사체로 발효한 3번 시료에서 $92.48 \pm 1.89\%$ 로 가장 높게 나타났다. 나머지 시료는 90.01 ± 1.71 - $91.54 \pm 1.73\%$ 로 큰 차이가 없었으며, 표고버섯균사체를 접종한 시료가 높은 ABTS radical 소거능을 보였다(Fig. 4). Joung 등(2010)의 결과 ABTS 라디칼 소거능은 control에서 보다, 3종의 버섯균사체에서 높은 활성을 나타냈으며, 이는 균사체가 배양되는 과정에서 항산화 물질들이 증가함에 따라 항산화활성도 증가된 것으로 생각된다. 이와 같이 본 실험에서도 control보다 버섯균사체가 성장함에 따라 ABTS 라디칼 소거능 활성이 높아졌으며, 균사체가 성장하면서

항산화 물질의 증가에 기인하여 같은 결과가 나타난 것으로 사료된다. 알려진 바와 같이 반응속도가 빠른 ABTS 라디칼 소거 활성은 극성 및 비극성 물질 모두와 반응하여 소거될 뿐만 아니라 일부 항산화 물질들과 잘 반응하여 DPPH 라디칼 소거 활성보다 높은 활성을 보인다는 보고와 같이(Huang 등, 2005), 본 연구 결과에서도 DPPH 라디칼보다 ABTS 라디칼에서 더 높은 소거 활성을 확인할 수 있었다. 또한 다른 항산화활성과 비슷하게 시료 모든 농도에서 비발효균과 발효균에서의 차이만 있을 뿐 미강과 두부박 첨가에 의한 항산화효과는 크게 나타나지 않았다.

베타글루칸 함량

베타글루칸은 항종양, 암세포 성장 저해 등의 기능성을 나타내는 버섯의 주된 기능성 물질이다. 베타글루칸은 포도당이 베타(β) 결합으로 연결된 다당체이다. 그 중에서도 버섯은 β-(1-3)(1-6)-D-glucan으로 β-1,3 결합된 사슬에 β-1,6의 가지가 연결된 구조를 가진다. 버섯에 함유되어 있는 다당체들은 인체 면역기능을 강화시켜 주는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그 중 한 종류

Table 4. β -glucan contents of apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes mycelia*

Samples*	β -glucan (%)
1	-
2	5.21±1.87 ^e
3	7.75±1.41 ^a
4	6.48±1.47 ^b
5	5.56±1.27 ^d
6	6.00±1.20 ^c

*1, None fermentation; 2, apple/pear pomace; 3, apple/pear pomace+rice bran (2%)+tofu pomace (1%); 4, apple/pear pomace+rice bran (1%)+tofu pomace (2%); 5, apple/pear pomace+rice bran (3%); 6, apple/pear pomace+tofu pomace (3%)

^{a-e}Mean values with the different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

인 분지 베타글루칸은(β -(1,6) branched β -(1,3)-D-glucan, 이하 β -D-glucan)은 효능의 우수성이 알려져 있다. 표고버섯에 있는 β -(1-3)(1-6)-D-glucan은 Lentinan으로 암세포의 성장을 저해하고 면역세포의 기능을 활성 시켜 면역기능에 도움을 주며 콜레스테롤 및 혈당 수치를 낮추는 작용을 한다. 본 실험 결과 사과/배 부산물 및 표고버섯균사체를 이용한 발효조성물의 베타글루칸 함

량은 발효하지 않은 사과/배 부산물은 함량을 나타내지 않았고 영양성분을 첨가해주지 않은 시료 2번에서 5.21±1.87%로 가장 낮게 나타났으며, 시료 3번 에서 7.75±1.41%로 가장 높은 함량을 보였다(Table 4). 사과/배 부산물 표고버섯 균사체 발효물 또한 버섯 균사체로부터 기인한 베타글루칸의 함량으로 보여진다. Lee와 Lee(2009)에 결과에 따르면 밀을 첨가한 곡류배지에서 베타글루칸 함량이 높은 결과를 보였으며 대두에서는 베타글루칸이 정량되지 않았다고 하였는데 본 연구결과에서는 미강과 대두박을 첨가한 처리구에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 이는 단일곡물을 첨가하지 않았으며, 사과 및 배부산물이 첨가되어 다른 결과를 보였으리라 판단되며, 균사체의 성장으로 살펴볼 때 모든 처리구에서 비슷한 정도를 나타내었지만 버섯균의 생육 시 사과 및 배 부산물과 미강, 대두에 의해 일어나는 생리적 대사작용에 의해서 베타글루칸 함량의 차이가 생기는 것으로 판단되어 이에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 보인다.

세포생존율

Raw 264.7 대식세포의 세포생존율을 확인하기 위해 시료 6개 중 2개 시료를 임의적으로 선택하여 농도별 세포생존율을 측정하였다. 2 mg/mL까지 80% 이상의 생존율을 확인하여, 6개 시료를 2 mg/mL로 하여 Raw 264.7 대식세포의 세포생존율을 평가한

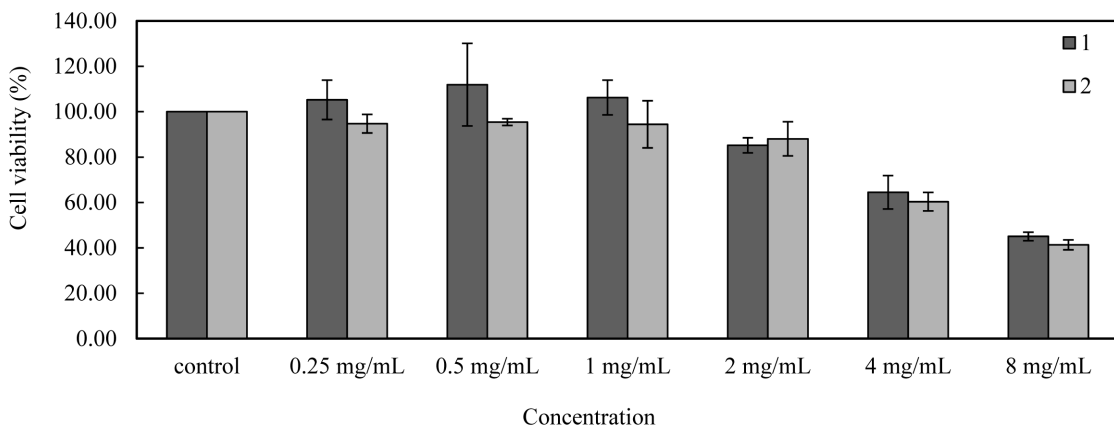


Fig. 5. Effect of apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes mycelia* on the cell viability of raw 264.7 cell. 1, None fermentation; 2, apple/pear pomace. Data represent the mean±SE (n=3).

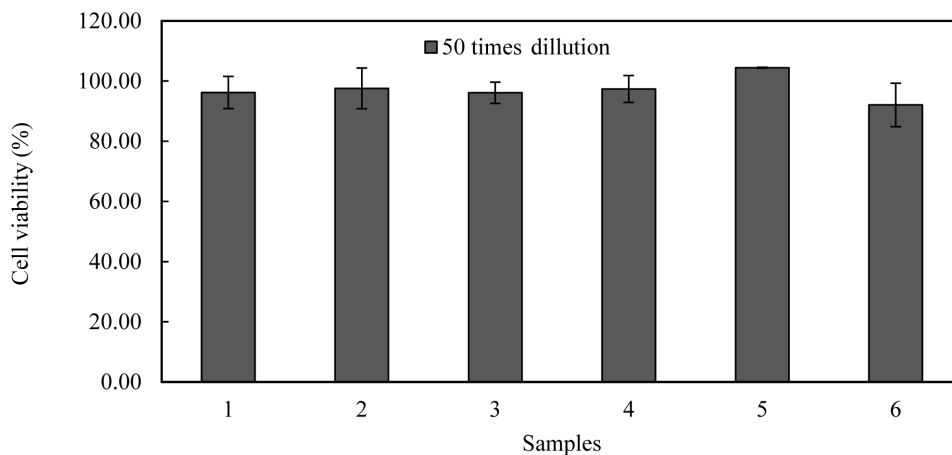


Fig. 6. Effect of apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes mycelia* on the cell viability of raw 264.7 cell. 1, None fermentation; 2, apple/pear pomace; 3, apple/pear pomace+rice bran (2%)+tofu pomace (1%); 4, apple/pear pomace+rice bran (1%)+tofu pomace (2%); 5, apple/pear pomace+rice bran (3%); 6, apple/pear pomace+tofu pomace (3%). Data represent the mean±SE (n=3).

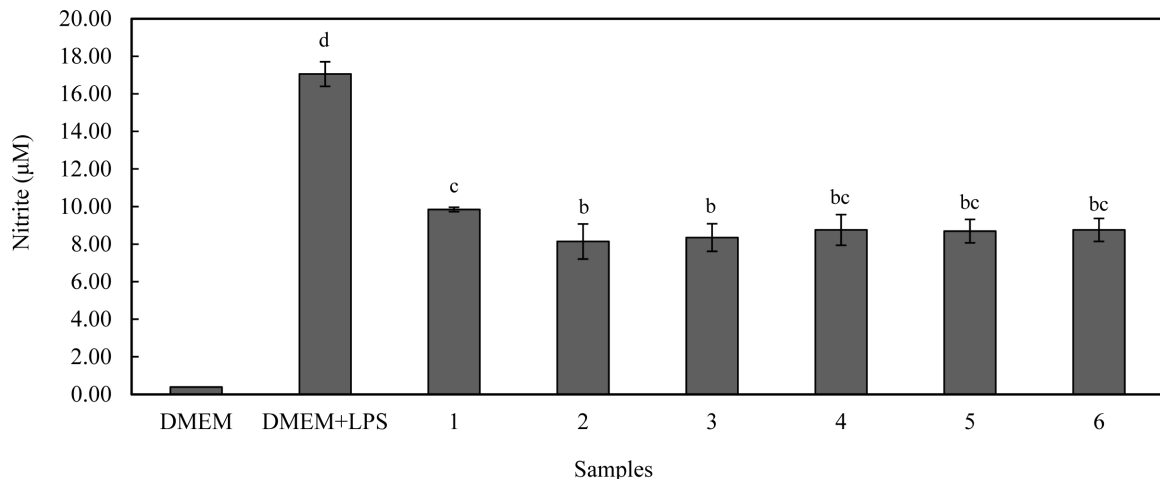


Fig. 7. Production of nitric oxide in apple/pear pomace ferment with *Lentinula edodes* mycelia. 1, None fermentation; 2, apple/pear pomace; 3, apple/pear pomace+rice bran (2%)+tofu pomace (1%); 4, apple/pear pomace+rice bran (1%)+tofu pomace (2%); 5, apple/pear pomace+rice bran (3%); 6, apple/pear pomace+tofu pomace (3%). Data represent the mean±SE (n=3). Different letter superscripts mean significantly different extract concentration as analyzed by one-way ANOVA, Duncantest ($p<0.05$)

결과 6개 시료 모두 80% 이상의 생존율을 확인할 수 있었다(Fig. 5, 6). 따라서 2 mg/mL 이하 농도에서 시료처리 시 독성이 없는 것으로 판단되어 2 mg/mL의 농도로 제조하여 다음 실험을 진행하였다.

Nitric oxide (NO) 생성량 측정

면역 활성 등의 역할을 하는 nitric oxide (NO)는 무기 저분자 라디칼로서 신경 전달기능, 혈액응고 및 혈압조절기능, 암세포에 대항하는 면역기능 등의 역할이 알려져 있으며, NOS (nitric oxid-synthase)에 의해 L-arginine으로부터 합성된다. 특히 macrophase는 생체 내에서 염증 등의 자극에 의해 nitric oxide를 생성하여 항염, 항종양 등의 면역 활성에 중요한 역할을 하게 된다(Abramson 등, 2001). 면역세포 Raw(대식세포)이용하여 염증 유발 물질로 주로 사용되는 LPS (Lipopoly saccharide)를 1 µg/mL 사용하여 염증을 유발시켰으며 Raw 264.7의 세포에서 생성되는 nitric oxide 산화물인 NO₂-(nitrite)를 Griess시약과 반응 발색시켜 대식세포의 생성정도를 나타내었다. 본 연구결과 발효하지 않은 사과/배 부산물보다 사과/배 부산물 표고버섯 발효물이 nitric oxide 생성량이 감소하여 발효추출물 처리 시 염증유발을 억제하는 것으로 판단되었다(Fig. 7). Park 등(2013)의 실험에서 영지균사체 6종의 추출물을 100 g/mL 농도에서 LPS에 의해 자극된 Raw 264.7 cell에 처리하였을 때, NO 저해능을 측정된 결과 감소되었다는 보고와 유사한 결과를 나타내었고, 사과/배 부산물을 이용한 표고버섯 발효물은 영양성분 첨가에 따라서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

요 약

본 연구는 표고버섯 균사체를 이용한 사과, 배 부산물의 기능성소재로의 활용가능성을 파악하고자 진행하였다. 사과/배 부산물 분말 농도 30% 및 미강, 대두박의 영양성분을 비율별로 첨가하고 *Lentinula edodes* KCCM 12339를 접종하여 온도 24°C, 습도 80%에서 발효하였다. 사과/배 부산물 및 표고버섯 발효물의 효소활성은 전분분해 및 단백분해활성은 발효전과 발효후의 차이는 보이지 않았으며, cellulase 및 pectinase 활성에서 표고버섯 균사체를 이용한 사과/배 부산물 발효물이 더 높은 활성을 나타내어 가

수분해 작용에 균사체가 작용함을 알 수 있었다. 사과/배 부산물 및 표고버섯 발효물의 생리활성은 DPPH radical 소거능, SOD-like activity, total polyphenol, ABTS radical 소거능, 베타글루칸 함량을 측정된 결과 사과/배부산물 보다 사과/배부산물 표고버섯 균사체 발효물이 더 높은 함량을 나타내었다. Raw 264.7(대식세포)cell 배양 중 LPS를 처리하여 염증반응을 유도시켜 사과/배 부산물 및 표고버섯 균사체 발효물의 NO 생성능을 측정된 결과 발효하지 않은 사과/배 부산물보다 사과/배 부산물 표고버섯 균사체 발효물이 더 낮은 생성량을 보여 발효물 처리 시 염증유발을 억제하는 것으로 판단되었다. 사과/배 부산물의 표고버섯 균사체 발효를 통하여 다양한 활용이 가능할 것으로 기대되며, 천연 기능성 물질 소재로 이용되기 위해서는 유효성분에 대한 균사체 발효 최적화 조건의 구체적인 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

References

- Abramson SB, Attur M, Amin AR, Clancy R. Nitric oxide and inflammatory mediators on the perpetuation of osteoarthritis. *Curr. Rheumatol. Res.* 3: 535-564 (2001)
- Bang HS, Seo DY, Chung YM, Oh KM, Park JJ, Arturo F, Han J. Ursolic acid-induced elevation of serum irisin augments muscle strength during resistance training in men, *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 18: 411-446 (2014)
- Blois, Marsden S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature* 4617: 1199-1200 (1958)
- Cho YJ, Kim CT, Kim CJ, Hwang JK. Modeling of extrusion for pectin extraction from apple pomace. *Korean J Food Sci. Technol.* 31: 1011-1016 (1999)
- Cho JY, Park KY, Lee KH, Lee HJ, Lee SH, Cho JA, Kim WS, Shin SC, Park KH, Moon JH. Recovery of arbutin in high purity from fruit peels of pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Korean J. Food Sci. Technol.* 20: 801-807 (2011)
- Choi HE, Kim JD, Park MY. A 4 week randomized, doubleblind human trial to compare the efficacy and safety of *Aureobasidium pullulans* cultured solution and placebo on improvement of immune in subjects. *Korean J. Orient. Med.* 15: 83-91 (2009)
- Cuvelier ME, Richard H, Berset C. Antioxidative activity of phenolic composition of polot plant and ammercial extracts of sage and rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73: 645-652 (1998)
- Dorman HJD, Peltoketo, Hiltunen R, Tikkanen MJ. Characterization of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts

- from selected Lamiaceae herbs. *J. Agr. Food Chem.* 83: 255-62 (2003)
- Field JA, Jong E, Feijoo-Costa G, Bont J. Screening for ligninolytic fungi applicable to the biodegradation of xenobiotics. *Trends in biotechnology.* 11: 44-49 (1993)
- Hong KH, Jang KH, Jang JC, et al. Bacterial β -glucan exhibits potent hypoglycemic activity via decrease of serum lipids and adiposity, and increase of UCP mRNA expression. *J. Microbiol Biotechnol.* 9: 826-831 (2005)
- Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agr. Food Chem.* 53: 1841-1856 (2005)
- Joung EM, Kim HY, Hwang IG, Jeong JH, Yu KW, Lee JS, Jeong HS. Changes of Antioxidant Activities on Cultured Ginseng with Mushroom Mycelia During Cultivation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1346-1352 (2010)
- Keisuke T. Nutritional role of dietary fiber recent knowledge on dietary fiber. *Korean J. Food Hygiene.* 7: 173-196 (1992)
- Kim JM. Development of process for mass production of microbial product with agro-industrial byproducts. MS Thesis. Dong-A University, Busan, Korea (2002)
- Kim IR. Inhibitory effects of apple peel extract on inflammatory enzymes. *Korean J. Food Hygiene.* 47: 534-538 (2015)
- Kim JH. Mycelial growth and wood decaying enzymatic activity analysis by various addition rates of oak powder in the liquid spawn of *Lentinula edodes*. *J. Korean Soc. Mushroom Sci.* 16: 74-78 (2018)
- Kim SJ, Lim DK, Hyung SW, Kim MS, Kim MN, Lee KK, Ha YL. Inhibition of lipid autoxidation by the extract of the submerged-liquid culture of mushroom in the medium containing mulberry tree powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 249-254 (2004)
- Kim HN, Lee JN, Kim GE, Lee YM, Kim CH, Sohn JW. Comparative study of immune-enhancing activity of crude and mannoprotein-free yeast-glucan preparations. *J. Microbiol Biotechnol.* 9: 826-831 (1999)
- Kim SY, Song HJ, Lee YY, Cho KH, Roh YK. Biomedical issues of dietary fiber β -glucan. *J. Korean Med. Sci.* 21:781-789 (2006)
- Kitani K, Minami C, Amamoto T, Kanai S, Ivy GO, Carrillo MC. Pharmacological interventions in aging and age-associated disorders: potentials of propargylamines for human use. *Ann. NY Acad. Sci.* 959: 295-307 (2002)
- KOSIS. Survey of annual production of agricultural products (fruit production). Available from: http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT_1ET0292&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=F1H&seqNo=&lang_mode=ko&language=kor&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITLE. Accessed June 14, 2018.
- Kunkel SD, Elmore CJ, Bongers KS, Ebert SM, Fox DK, Dyle MC, Adams CM. Ursolic acid increases skeletal muscle and brown fat and decreases diet-induced obesity, glucose intolerance and fatty liver disease. *J. Pone.* 2012: 0039332 (2012)
- Lee JH, An YT, Kim HM, Choi ID, Lee OS, Jung JU. Development of industrial availability of functional muscle strength materials from apple pomace waste. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Korea Research Report. 11-1543000-001280-01 (2016)
- Lee SJ, Jang HR, Shin SR, Yoon KY. Quality characteristics of apple juice according to the sterilization methods. *Korean J. Food Preserv.* 19: 178-184 (2012)
- Lee JH, Kim YC, Kim MY, Chung HS, Chung SK. Antioxidative activity and related compounds of apple pomace. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 908-913 (2000)
- Lee HD, Lee KS. β -glucan and glucosamine contents in various cereals cultured with mushroom mycelia. *Kor. J. Mycol.* 37: 167-172 (2009)
- Min EG, Han YH. Characteristics of extra cellular β -glucosidase in *Tricholoma matsutake*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 15: 9-13 (2000)
- Navarini L, Bella J, Flaibani A, Gilli R, Rizza V. Structural characterization and solution properties of an acidic branched (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan from *aureobasidium pullulans*. *Int. J. Biol Macromol.* 19: 157-163 (1996)
- Nice DJ, Robinson DS, Holden MA. Characterization of a heat-stable antioxidant co-purified with the superoxide dismutase activity from dried peas. *Food Chem.* 52: 393-397 (1995)
- Ohno N, Uchiyama M, Tsuzuki A, Tokunaka K, Miura N, et al. Solubilization of yeast cell-wall β -(1 \rightarrow 3)-D-glucan by sodium hypochlorite and dimethyl sulfoxide extraction. *Carbohydr. Res.* 316: 161-172 (1999)
- Park YM, Kim JK. Characterization of the degradation of pear fruit cell wall by pectolytic enzymes and their use in fruit tissue liquefaction. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 38: 255-262 (1997)
- Park HS, Kim BH, Choi HS, Kim JM, Kim MK. Enzyme activity of basidiomycetes products in each cereals. *J. Mushroom Sci. Production* 8: 102-108 (2010)
- Park YK, Kim HS, Park HY, Han GJ, Kim MH. Retarded retrogradation effect of Garaetteok with apple pomace dietary fiber powder. *Korean J. Food Cult.* 26: 400-408 (2011)
- Park YJ, Nam JY, Yoon DE, Kwon OC, Kim HI, Yoo YB, Kong WS, Lee CS. Comparison of anti-inflammatory, antioxidant and anti-allergic effects of *Ganoderma* species mycelial extracts. *J. Mushroom Sci. Product.* 11: 111-115 (2013)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
- Rhyu J, Kim MS, You MK, Bang MA, Kim HA. Pear pomace water extract inhibits adipogenesis and induces apoptosis in 3T3-L1 adipocytes. *Nutr. Res. Pract.* 8: 33-39 (2014)
- Roberta R, Nicoletta P, Anna P, Anath P, Min Y, Catherine RE. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
- Schultz RM, Papamatheakis JD, Leutzeler J, Chirigos MA. Association of macrophage activation with anti-tumor activity by synthetic and biologic agents. *Cancer Res.* 37: 3338-3343 (1977)
- So BH. Antioxidant and antimicrobial activities of *Smilacis glabrae* rhizoma fermented with *Phellinus baumii* or *Ganoderma lucidum* mycelium. MS Thesis. Kyungpook National University, Daegu, Korea (2014)
- SK. Crop Production Statistics. Statistics Korea, Daejeon Metropolitan City, Korea (2018)
- Takehara M. Antiviral activity of virus-like particles from *Lentinus edodes* (Shiitake). *Arch. Virol.* 59: 269-274 (1979)
- Torel J, Gillard J, Gillard P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry* 25: 383-385 (1986)
- Tsunoda A. A mushroom extract as an interferon inducer. *Ann. NY Acad. Sci.* 173: 719-725 (1969)
- Uchida S, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Nonaka GY, Nishioka I, Niwa M, Ozaki M. Condensed tannins scavenge active oxygen free radicals. *Med. Sci. Res.* 15: 831-834 (1987)
- Yuk HG, Choi JH, Cho YJ, Ha JU, Hwang YI. Investigation of reactive conditions to extract pectin with exo-polygalacturonase from pear pomace. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 971-976 (1999)