

UV 조사시간에 따른 원목표고당화물의 유용성분 및 항염증 효과

윤경원¹ · 임승빈² · 진성우² · 김경제² · 고영우² · 하늘이² · 정희경² · 정상욱² · 김승주³ · 김복선³ · 김기만⁴ · 최유진⁵ · 송다혜⁵ · 서경순^{2*}

¹순천대학교 한약자원개발학과

²(재)장흥군버섯산업연구원

³농업회사법인(주)기쁨농원

⁴광주대학교

⁵(재)임실치즈앤식품연구소

Anti-inflammatory effect and useful contents of saccharification extract powder using hot water extract from log cultivation *Lentinula edodes* by different UV irradiation

Kyeong-Won Yun¹, Seung-Bin Im², Seong-Woo Jin², Kyung-Je Kim², Young-Woo Koh², Seung-Bin Im², Neul-I Ha², Hee-Gyeong Jeong², Sang-Wook Jeong², Seung-Ju Kim³, Bok-Seon Kim³, Ki-Man Kim⁴, Yu-Jin Choi⁵, Da-Hye Song⁵, and Kyoung-Sun Seo^{2*}

¹Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon Nat'l University, Suncheon 57922, Korea

²Jangheung Research Institute for Mushroom Industry, Jangheung 59338, Korea

³Joyfulfarm Co., Jangheung 59315, Korea,

⁴Gwangju University, Gwangju 61743, Korea,

⁵Imsil Cheese & Food Research Institute, Imsil 55918, Korea

J. Mushrooms 2020 September, 18(4):357-364
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2020.18.4.357>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

Kyeong-Won Yun(Professor), Seung-Bin Im(Research engineer), Seong-Woo Jin(Senior Research engineer), Kyung-Je Kim(Principal Research engineer), Young-Woo Koh(Research engineer), Seung-Bin Im(Research engineer), Neul-I Ha(Research engineer), Hee-Gyeong Jeong(Research engineer), Sang-Wook Jeong(Research engineer), Seung-Ju Kim(CEO), Bok-Seon Kim(Research engineer), Ki-Man Kim(Professor), Yu-Jin Choi(Senior Research engineer), Da-Hye Song(Research engineer), Kyoung-Sun Seo(Principal Research engineer)

*Corresponding author

E-mail : astragali@daum.net

Tel : +82-61-862-8877

Received November 8, 2020

Revised December 14, 2020

Accepted December 23, 2020

ABSTRACT: The grade and price of *Lentinula edodes* largely differs in preference depending on the product area and seasonal factors. The product amount of autumn *L. edodes* was higher than that of spring *L. edodes*, but high quality, which is divided into “Hwago” is low in preference. Mostly, the autumn *L. edodes* is obtained as powder; hence, it is necessary to develop a processing method to utilize its flavor and aroma at an affordable price. Additionally, we estimated the content of β -glucan, ergosterol, vitamin D₂, reducing sugars, and free amino acids and evaluated the anti-inflammatory activity of saccharification powder of log-cultivated *L. edodes*. In the saccharification powders obtained via 7 min of UV irradiation of log-cultivated *L. edodes*, β -glucan and vitamin D₂ contents were found to be the highest, whereas ergosterol content was found to be the lowest. The content of reducing sugars ranged from 62.4 mg/L to 68.2 mg/L. The free amino acids were higher in these saccharification powders than in the control. Subsequently, RAW 264.7 cells were treated with different concentrations (10, 50, 100, 200, 300, and 500 μ g/mL) of the saccharification powders of log-cultivated *L. edodes* obtained via different UV irradiation time applications. The cells showed good viability; the anti-inflammatory effect was found to be the highest at 7 min UV irradiation. Therefore, 7 min of UV irradiation was determined to be the optimum condition for manufacturing saccharification

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.

powders of log-cultivated *L. edodes*. Hence, saccharification powders of log-cultivated *L. edodes* may be used as a raw material for natural sweeteners, food additives, and in the food industry.

KEYWORDS: *Lentinula edodes*, Vitamin D₂, Free aminoacids, Anti-inflammatory effect, Saccharification powder

서 론

버섯은 아미노산, 단백질을 비롯한 영양소가 골고루 함유되어 있고, 고유한 풍미를 지니고 있어 오래전부터 식용으로 이용된 기록이 존재하고 있으며, 근래에는 무공해 자연식품으로써 그리고 각종 약효성분이 함유되어 있어 민간요법제로도 예부터 진요하게 사용되어 왔다(Park, 2008; Wasser, 2002). 또한, 버섯의 성분에 더욱 관심이 높아져 식품 및 약리적 연구가 활발히 진행되어 버섯의 영양 및 약효성분이 밝혀지고 있다(Cho *et al.*, 2002; Chihara *et al.*, 1970). 이들 성분 중 vitamin D, β -glucan, 단백질 및 아미노산은 생체기능 및 대사에 큰 영향을 미치는 성분이며 또한 유리아미노산은 풍미와도 밀접한 관계를 갖는 성분으로 많은 학자들의 관심을 받고 있다(Park *et al.*, 2011).

그러나 국내의 경우 야생 및 인공재배 버섯들이 널리 식용되고 있으면서도 식품학적 측면에서 식용버섯의 성분에 관한 체계적인 연구가 미흡한 편이다. 즉, 표고의 지질에 관한 연구(Kwon, 1985), 11종의 식용버섯에 함유된 17종의 유리 및 전아미노산의 정량(Pyo and Ro, 1975). 아미노산의 TLC 및 아미노산 자동분석기에 의한 정량(Park, 1983) 및 식용버섯의 향기성분(Hong *et al.*, 1986a), 유기산 및 지방산 조성 등(Hong *et al.*, 1988b)과 같은 약간의 보고가 있는 실정이다.

버섯은 최근 약리적인 효과가 인정되어 제약분야와 함께 기능성 식품으로도 많은 주목을 받고 있다(Chang and Miles, 1989). 버섯이 의약품 및 새로운 식품소재로 관심을 끌고 있는 중요한 요인으로서는 식용이나 의료용으로 장기간 복용하여도 부작용이 거의 나타나지 않는다는 장점에 있다(Hong *et al.*, 1989). 또한, 여러 가지 건강기능성 물질이 많이 함유되어 있는 식재료로써 건강기능식품 및 의약품 원료로 많이 이용되고 있으며 자실체뿐만 아니라 균사체를 이용한 간기능, 면역력 개선 제품이 시판되고 있다(Kang *et al.*, 2015). 표고버섯의 독특한 감칠맛은 타 버섯류에 비해 구아닐산이 많기 때문이며 구아닐산은 콜레스테롤 수치를 낮추는 성질이 있어 고혈압과 심장병 환자들에게 좋은 것으로 알려져 있다(Ko, 1999; Hwang, 2003). 또한 표고에 들어 있는 렌티난은 강력한 항암 물질로 면역 체계를 활성화한다(Park *et al.*, 1998). 따라서 암뿐만 아니라 감기 같은 바이러스 질병과 고혈압, 당뇨에도 효과가 있는 것으로 보고되어 있다. 또한 표고에는 식물성 식품에는 거의 존재하지 않는 체내에서 비타민 D로

생합성의 전구체가 되는 ergosterol이 다량 함유되어 있다(Mattila *et al.*, 2001). Ergosterol은 자외선 조사를 받아 vitamin D₂ (ergocalciferol)로 전환되며, 칼슘 흡수를 촉진하여 골다공증 예방 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Takaumra *et al.*, 1991; Holick, 2009)

원목표고는 배지 표고에 비하여 표고 특유의 풍미가 있으나, 톱밥배지 재배표고에 비하여 원목표고는 생산 편차가 크게 발생하고, 기후의 영향에 따라 상품 등급의 편차가 크게 발생하는 단점이 있다. 원목표고를 활용한 제품은 마쇄하여 제조한 표고 분말이 대부분을 차지하고 있어, 이를 극복하기 위한 가공상품 개발이 요구되어 진다. 이에 따라 원목표고를 일광건조 및 UV조사를 통하여 vitamin D₂ 수율을 높인 후 효소처리를 통하여 영양성분 및 유용성분 추출 수율을 향상 시켜 원목표고의 상품성을 강화하고자 한다. 이에 본 연구는 상품성이 저하된 원목표고의 식품소재화를 목적으로 UV조사에 따른 표고 당화액 최적 제조조건 탐색, 유용성분 분석 및 항염증효과를 확인하였다.

재료 및 방법

재 료

본 연구에 사용한 원목표고는 장흥군 농업회사법인(주) 기쁨농원에서 구입하였으며, 당화제로 사용한 맥이는 새암푸드먼트에서 구입하여 사용하였다.

시약

본 실험에서 사용된 분석 및 추출, chromatography용 용매와 시약은 일급 또는 특급시약을 구입하여 사용하였다.

원목표고당화농축액 제조

원목표고당화농축액 제조를 위하여 원목표고 3 kg를 분쇄하여 50 mesh를 통과한 분말을 시료로 하였으며, 80°C 열수 10 L로 추출하였다. 열수추출물은 10 brix농축액으로 당화에 적용하였다. 당화제 적용을 위하여, 맥이를 각각 표고 추출액 4 L에 3시간 침지시킨 후 상등액과 침전된 맥이를 제외한 중층액을 얻었다. 침전된 맥이에 표고 추출액 3L를 붓고 3시간 침지시킨 후 상기와 같이 2차 중층액을 얻었다. 2차 중층액 분리 후 남은 침전물에 표고 추출액 3 L를 가하여 동일한 방법으로 3차 중층액을 회수하였다. 이렇게 취해진 중층의 당화액을 1분 단위로 5분~9분 UV 강도가 26 μ W인 UV 램프(GPH212T5L, UVNATURE

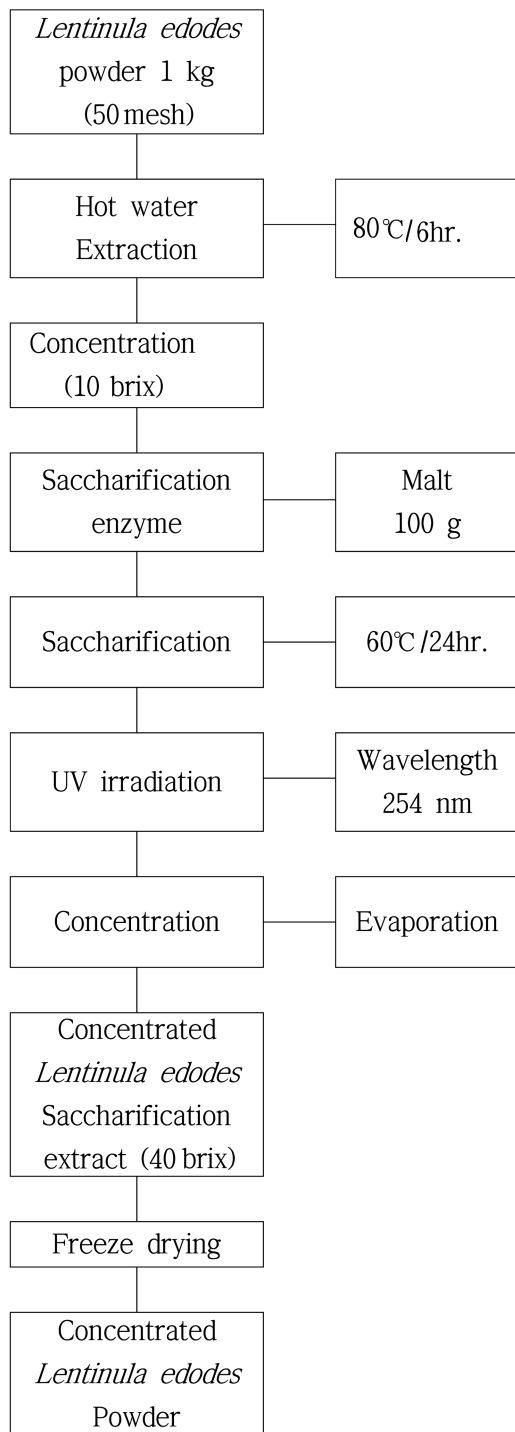


Fig. 1. The manufacture process of saccharification extract powder using hot water extracts from log cultivation *Lentinula edodes*.

Co. LTD)에 순환시킨 후, 고두밥 1 Kg을 첨가하여 70°C에서 18시간동안 당화작업을 거쳤다. 이후 당화액을 면포를 이용하여 여과하였으며 1 L로 농축해 당화농축액을 제조하였다. 당화제로는 맥아를 사용하였으며 60°C/24시간 당화

를 진행한 후 당화액을 40 brix로 농축하여 원목표고당화 농축액을 수득하였다. 최종적으로 원목표고당화농축액을 동결건조하여 원목표고당화물을 제조하였다(Fig. 1)

β-glucan 함량 분석

원목표고당화물의 β-glucan 함량은 mushroom and yeast beta-glucan assay procedure kit (Megazyme, Ireland)를 이용하여 측정하였다. 먼저 total glucan은 100 mesh 체로 거른 분쇄 시료 100 mg 을 tube에 넣어 37% HCl 1.5 mL을 넣고 45분간 30°C water bath에 넣어 분해하였다. 그 후 증류수 10 mL을 넣어 vortex하고, 100°C에서 2시간 incubation 시켰다. 그 후 실온에서 식히면서 2 N KOH를 10 mL씩 넣고 200 mM sodium acetate buffer (pH 5.0)로 100 mL 정용 후 충분히 mixing 하였다. 그 후 상등액 0.1 mL 에 200 mM sodium acetate buffer에 녹인 exo-1,3-β-glucanase (20 U/mL) plus β-glucosidase (4 U/mL) 0.1 mL을 넣고, reagent blank는 acetate buffer 0.2 mL을 넣고, D-glucose standard는 D-glucose standard 0.1 mL과 acetate buffer 0.1 mL을 넣고 mixing 후 40°C에서 60분 동안 incubation 하였다. GOPOD (Glucose oxidase/peroxidase mixture, Megazyme) 3 mL을 넣고 40°C에서 20분 동안 incubation 한 후, 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. α-Glucan은 100 mesh 체로 거른 분쇄 시료 100 mg 을 tube에 넣고 2 M KOH 2 mL씩 넣고 20분간 mixing 하였다. 1.2 M sodium acetate buffer (pH 3.8) 8 mL를 넣고 섞은 후 amyloglucosidase (1630 U/mL) plus invertase (500 U/mL) 0.2 mL을 넣고, 잘 섞어서 40°C water bath에서 30분간 incubation 하였다. 상등액 0.1 mL에 200 mM sodium acetate buffer (pH 5.0) 0.1 mL, GOPOD 3 mL을 넣고 40°C에서 20분간 incubation 한 후, 510 nm 흡광도에서 측정하여 α-glucan 함량의 계산에 사용하였다. 측정된 total glucan과 α-glucan의 흡광도는 표준물질인 glucose 용액(1 mg/mL)을 GOPOD 시약과 반응시킨 반응액의 흡광도를 이용하여 각각 함량 (g/100 g) 값으로 계산하였다. β-glucan 함량은 total glucan 함량에서 α-glucan 함량을 빼 준 값으로 계산하였다.

Ergosterol 함량 분석

Ergosterol 함량 분석을 위하여 시료 5 g에 hot water 100 mL을 넣어 80°C에서 1시간 환류추출 시킨 후, 상등액을 취하고 잔사에 hot water 100 mL을 넣고 80°C에서 1시간 환류추출 하였다. 추출물을 필터하여 20 mL hot water과 수산화칼륨 10 g을 넣고, 80°C에서 1시간 환류추출시킨 후 김화된 용액에 증류수 50 mL을 첨가하였다. 그 후, 핵산으로 50 mL씩 3번 분획하여 핵산 층을 취해서 완전 농축시킨 후 메탄올 10 mL로 녹인 다음 0.45 μm membrabe filter (Millipore Co., USA)로 여과한 여액을 HPLC (Agilent Technologies 1200 Series, Agilent, USA)를

이용하여 분석하였으며, 이동상은 98% methanol (Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였다. 유속은 1.0 mL/min으로 하였고, 주입량은 20 μ L로 설정하였으며, column은 Agilent XDB-C18 (4.6 mm I.D. \times 150 mm L., Agilent Technologies, USA)을 이용하였다. 함량은 외부표준법으로 계산하였다.

비타민 D₂ 분석

분쇄된 시료 5 g을 250 mL 플라스크에 넣고, vitamin C 1 g, hot water 50 mL, 50% potassium hydroxide를 넣고 50°C에서 10 분간 sonicate 시킨 후, 60°C에서 30 분간 환류 추출하였다. 추출액을 필터 한 후, hexane 30 mL 씩 3회 분획하고, 증류수를 이용하여 중화시켰다. 중화된 추출액을 농축하여 solvent 2 mL로 정용 후, 여과하여 HPLC 측정 시료로 사용하였다. 함량은 외부표준법으로 계산하였고, HPLC (Agilent Technologies 1200 Series, Agilent, USA)를 이용하여 분석하였으며, 이동상은 80% acetonitrile (Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였다. 유속은 1.2 mL/min으로 하였고, 주입량은 20 μ L로 설정하였으며, column은 Waters Symmetry® C₁₈ (4.6 mm I.D. \times 250 mm L, 5 μ m., Agilent Technologies, USA)을 이용하였다.

환원당 함량

원목표고당화물의 환원당 측정은 DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) 방법으로 측정하였으며, 표준물질로 말토스(maltose)를 사용하였다.

유리아미노산

유리 아미노산 분석은 Ohara and Ariyoshi(1979)의 방법을 준용하여 분석하였다. 시료 20 g에 증류수를 가하여 100 mL 정용 하여 추출시킨 다음 원심분리(3,000 rpm, 30 min)하여 상등액을 취하여 여과(Whatman No.2)한 후, 0.45 μ m membrane filter (Millipore Co., U.S.A)로 여과한 여액에 sulfosalicylic acid 25 mg을 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리(50000 rpm, 30분)하여 단백질 등을 제거하고, 상등액을 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 일정량 취하여 AccQ-Tag 시약을 사용하여 유도체화 시킨 후 HPLC로 분석하였으며, 함량은 integrator에 의한 외부표준법으로 계산하였다. 이동상은 AccQ-Tag eluent (A), 100% Acetonitrile (B), water (C)를 gradient 조건으로 A:B:C를 초기 100:0:0(% v/v)에서 0.5분에 99:1:0(% v/v), 18분에 95:5:0(% v/v), 19분에 91:0:0(% v/v), 26분에 86.7:13.3:0(% v/v), 30분에 84:16:0(% v/v), 32분에 83:17:0(% v/v), 36분에 83:17:0(% v/v), 36분에 0:60:40(% v/v), 39분에 100:0:0(% v/v)로 설정하였다. 유속은 1.0 mL/min으로 하였고, 주입량은 5 μ L로 설정하여, FLD(1200 Series, Agilent Technologies, USA)로 검출하였으며 AccQ-TagTM column (Water Co.,

3.9 mm I.D. \times 150 mm L.)을 이용하였다. 함량은 적분계에 의한 외부표준법으로 계산하였다.

Raw 264.7 세포에서 시료의 세포독성 확인

Raw 264.7 세포를 96 well plate에 1×10^5 cell/mL의 농도로 배양하여 실험에 사용하였다. 즉, 시료를 각각 10, 50, 100, 500 μ g/mL의 농도로 24시간 처리한 후, 배지를 제거하고 새로운 배지에 10 μ L MTS를 첨가하여 4시간동안 반응시킨 후 540 nm로 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 세포 생존율은 시료 무처리군을 100%로 하여 상대적으로 계산하였다.

Raw 264.7 세포에서 시료의 항염증 효과

Raw 264.7 세포를 96 well plate에 well당 1×10^5 cell/mL이 되도록 분주하고 24시간 배양한 후, 시료와 Lipopolysaccharide (LPS)를 처리하였다. LPS는 각각 1 μ g/mL의 농도로 처리하였으며, 각 시료는 10, 50, 100, 500 μ g/mL의 농도로 희석하여 세포에 첨가하였다. 24시간 후에 세포 배양액을 회수하여 Griess reagent system을 이용한 NO assay를 이용하여 NO 생성 억제능을 측정하였다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복하였으며, 실험결과를 SPSS 통계 프로그램(ver. 12.0, SPSS Inc., USA)을 이용하여 평균값과 표준편차를 산출하였으며 Duncan's multiple test를 통해 그 유의성 ($p < 0.05$)을 확인하였다.

결과 및 고찰

β -glucan 함량

표고가공제품 개발을 위한 원목표고당화물의 조사시간별 β -glucan 함량은 Table 1와 같다. 버섯에 함유되어 있는 주요한 생리활성 물질 중 하나인 β -glucan은 다당류의 일종으로 인체의 면역시스템에 작용하고 항당뇨, 혈압조절 작용 등을 한다고 보고되고 있다. 또한 암세포가 있는 체내로 들어가 사이토카인을 생산시킴으로서 면역세포의 활동을 도와 세포조직의 면역기능을 활성화시켜주는 역할을 한다(Chandrasekaran *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2015). 버섯류의 많이 존재하는 다당류의 일종인 β -glucan은 UV 조사시간을 7분 적용한 원목표고당화물에서 가장 높게 나타났다.

환원당 함량

표고가공제품 개발을 위한 원목표고당화물의 조사시간별 환원당 함량은 Table 2와 같다. 표고를 열수추출 하였을 때 환원당이 검출이 되지 않았다. 원목표고당화물의 환원당 분석 결과 maltose 한 종의 환원당이 검출 되었으

Table 1. The content of β -glucan from saccharification powder using log cultivation *Lentinula edodes* by different UV irradiation time applications (%)

Samples	Content	
Control	31.5±2.2 ¹⁾	
UV Irradiation time (min)	5	32.1±0.3d ²⁾
	6	33.4±0.2c
	7	37.7±0.4a
	8	35.4±0.5b
	9	32.9±0.3d

¹⁾All values are mean±SD.²⁾Mean with differences (a – c) letters are significantly different at $p < 0.05$ in column by Duncan's Multiple Range Test (DMRT)**Table 2.** The content of reducing sugars from saccharification powder using log cultivation *Lentinula edodes* by different UV irradiation time applications (mg maltose/mL)

Samples	Content	
Control	0	
UV Irradiation time (min)	5	65.3±0.2 ¹⁾ b
	6	67.2±0.1a ²⁾
	7	65.4±0.3b
	8	68.2±0.4a
	9	62.4±0.2c

¹⁾All values are mean±SD.²⁾Mean with differences (a – c) letters are significantly different at $p < 0.05$ in column by Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

며, UV를 8분 조사한 시료에서 68.2 mg%로 가장 높게 나타났지만 UV조사시간별 원목표고당화물의 환원당 함량은 큰 차이를 보이지 않았다. 맥아로 당화시킨 대표적인 식품인 식혜에 환원당이 다량 분포하는 이유는 맥아의 amylase 효소 작용으로 곡물의 전분이 분해되어 식혜로 용출되는 것에 기인한다(Suh *et al.*, 1997). 본 연구에서도 당화액들의 환원당이 68.2 mg%로 나타나, 원목표고추출물 첨가는 당화액 제조에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

Ergosterol 함량

원목표고와 맥아를 이용하여 제조한 원목표고당화농축물의 ergosterol 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. ergosterol은 호모나 맥각을 비롯하여 표고버섯 등 균류에 들어있는 스테로이드로 에르고스테린(ergosterin)이라고도 한다(Schnurer, 1993). 햇빛에 노출시키면 자외선의 작용으로 이성질화를 일으켜 vitamin D₂가 되므로 프로비타민 D라고 한다(Krzyczkowski *et al.*, 2009). ergosterol과 vitamin D₂는 밀접한 연관관계가 있으며, 골다공증 예방 효과가 있다고 알려진 바 있다(Ekblid *et al.*, 1998). UV

Table 3. The content of ergosterol from saccharification powder using log cultivation *Lentinula edodes* by different UV irradiation time applications (mg%)

Samples	Content	
Control	161.31±0.29 ¹⁾	
UV Irradiation time (min)	5	72.1±0.4b ²⁾
	6	80.1±0.3a
	7	63.2±0.2c
	8	71.4±0.1b
	9	81.5±0.5a

¹⁾All values are mean±SD.²⁾Mean with differences (a – c) letters are significantly different at $p < 0.05$ in column by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

조사 시간을 달리한 원목표고당화물의 ergosterol 함량은 9분 조사한 시료구에서 81.5 mg%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 7분 조사한 시료구에서 63.2 mg%로 가장 낮은 함량을 나타내었다. UV 조사시간 6분까지는 함량이 증가하였으며, 7분에서 감소한 후 다시 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 ergosterol이 UV 조사 7분에서 vitamin D₂로 전환되는 양이 가장 많은 것으로 보이며, vitamin D₂ 분석 결과와 비교 확인이 필요할 것으로 판단된다.

Vitamin D₂ 함량

원목표고당화물의 vitamin D₂ 함량을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 비타민 D는 D₂(ergocalciferol)와 D₃(cholecalciferol) 두 가지 형태로 나누어지며, 뼈 건강과 심혈관질환, 항암효과 등이 있다고 보고되어 있다(Lips, 2006).

Vitamin D₂는 ergocalciferol이라고도 부르며 버섯 등과 같은 식물성 스테롤인 ergosterol의 자외선 조사에 의해 합성된다(Holick, 2007; Muller *et al.*, 2011). UV 조사 시간을 달리한 원목표고당화물의 비타민 D₂는 UV 조사 시간 증가에 따라 함량이 증가하다가 조사 시간 7분 시료구에서 가장 높은 3.2 mg%로 나타내었으며, 이후부터 감소하는 경향을 나타내었다. 위의 ergosterol 함량 분석 결과와 비교하여 ergosterol 함량이 가장 낮게 나타난 UV 7분 조사 시료구에서 비타민 D₂의 함량이 가장 높게 나타난 것을 확인 하였다. 이러한 결과로 보아 원목표고당화물의 최적 UV 조사 시간은 7분이 적합한 것으로 판단된다.

유리 아미노산 함량

아미노산은 생체를 구성하는 중요한 영양소이며, 이를 유지하기 위해 외부에서 섭취해야만 한다(Son, 1993). 원목표고 당화물의 총 16종의 아미노산 중 주요아미노산은 Table 5와 같이 glutamic acid, histidine 및 alanine으로 나타났으며, 총 아미노산 함량은 UV를 7분 조사한 시험

Table 4. The content of vitamin D₂ from saccharification powder using log cultivation *Lentinula edodes* by different UV irradiation time applications

Samples		Content (mg%)
Control		0.2±0.0 ¹⁾
UV Irradiation time (min)	5	2.4±0.1c ²⁾
	6	2.7±0.2b
	7	3.2±0.2a
	8	2.9±0.1ab
	9	2.5±0.1bc

¹⁾All values are mean±SD.

²⁾Mean with differences (a – c) letters are significantly different at $p < 0.05$ in column by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

구에서 1,894.77 mg%로 가장 높게 나타났고, UV를 8분 조사한 시험구에서 1,846.93 mg%, UV를 6분 조사한 시험구에서 1,827.89 mg%, UV를 9분 조사한 시험구에서

1,806.82 mg%순으로 나타났다. Glutamic acid는 음식에 감칠맛을 주는 아미노산으로 알려져 있으며(Orzechowska *et al.*, 1998; Xie *et al.*, 2011), 동물실험에서 근육생성을 촉진하는 효과가 인정된 바 있다(Eronina *et al.*, 2009). Histidine은 필수아미노산의 하나로 대사질환 조절기능이 연구된 바 있으며(Ji *et al.*, 2016), 어린아이들에게 절대적으로 필요한 아미노산으로 알려져 있다(Semba *et al.*, 2016). 본 연구결과 대조구로 사용한 원목표고 열수추출물에 비하여 원목표고 당화물들의 유리아미노산 함량이 높은 것으로 나타났다. UV 조사시간에 따른 유리아미노산 함량은 원목표고당화액들이 대조구에 비하여 높게 나타남을 확인하였다.

세포독성 및 항염증효과

원목표고당화물의 세포독성과 항염증효과를 분석한 결과는 아래 Fig. 2, 3과 같다. 원목표고당화물의 세포독성을 확인한 결과 500 µg/mL 농도에서도 90%이상의 세포 생존율을 보여, 대조구로 사용한 원목표고 hot water 추출액과 원목표고당화물 모두 세포독성은 없는 것으로 확인

Table 5. Free amino acid contents in from saccharification powder using log cultivation *Lentinula edodes* by different UV irradiation time applications

Free amino acids	Irradiation time (min)					
	Control	5 min	6 min	7 min	8 min	9 min
Aspartic acid	53.00±2.25 ⁴⁾	51.21±1.71	61.24±2.61	68.45±2.70	66.58±2.38	62.25±3.80
Serine	64.60±1.95	58.51±2.72	69.77±4.19	73.43±2.79	71.66±3.28	67.74±3.43
Glutamic acid	526.96±22.52	551.25±17.91	574.35±5.54	584.25±6.99	564.96±8.12	567.62±7.12
Glycine	45.39±2.52	46.22±1.84	51.20±2.38	56.33±4.44	53.47±5.21	49.23±5.10
Histidine	452.01±15.42	473.51±18.47	468.25±21.69	481.66±18.78	477.09±15.90	477.25±13.30
Arginine	67.67±3.85	66.24±1.80	71.26±0.19	74.12±2.22	74.65±1.10	70.24±3.28
Threonine	64.69±5.11	62.22±1.56	69.28±0.57	75.25±0.27	72.24±0.18	69.48±4.35
Alanine	136.98±12.22	130.50±12.01	144.41±1.14	153.42±0.73	150.17±1.03	154.25±0.88
Proline	21.06±1.44	19.77±1.59	25.93±1.76	29.22±1.66	30.22±1.13	27.52±2.05
Tyrosine	25.98±1.08	27.40±1.70	30.11±1.12	31.25±2.19	32.45±0.80	28.55±1.17
Valine	41.38±3.21	45.69±1.62	45.75±1.13	46.69±0.22	44.35±2.25	43.38±2.36
Methionine	8.08±0.87	9.71±0.26	11.65±0.38	13.09±1.02	12.57±0.99	10.14±0.54
Lysine	61.85±2.25	62.22±1.40	72.30±1.86	74.34±0.27	72.80±1.07	68.69±0.66
Isoleucine	28.18±0.86	30.38±1.29	39.77±1.47	38.12±1.58	34.60±0.74	31.15±1.18
Leucine	33.98±1.58	35.17±1.12	42.28±2.12	40.55±2.15	37.58±3.11	37.61±2.16
Phenylalanine	41.00±2.47	43.08±2.09	50.34±2.81	54.60±0.86	51.54±1.18	41.11±1.06
TAA ¹⁾	1672.81±35.67	1713.08±42.25	1827.89±48.55	1894.77±49.22	1846.93±42.18	1806.21±38.53
EAA ²⁾	731.17±24.21	761.98±18.26	799.62±23.87	824.30±25.49	802.77±30.47	778.81±27.11
EAA/TAA(% ³⁾)	43.71±0.87	44.48±0.84	43.75±1.20	43.50±1.66	43.47±1.72	43.12±1.51

¹⁾TAA, total amino acid.

²⁾EAA, essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+His+Lys).

³⁾EAA/TAA(%), essential amino acid/total amino acid.

⁴⁾All values are mean±SD.

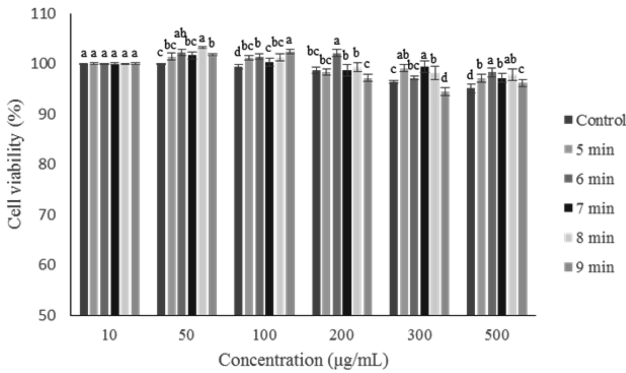


Fig. 2. The cell viability of saccharification powder using log cultivation *Lentinula edodes* by different UV irradiation time applications on Raw 264.7 cells.

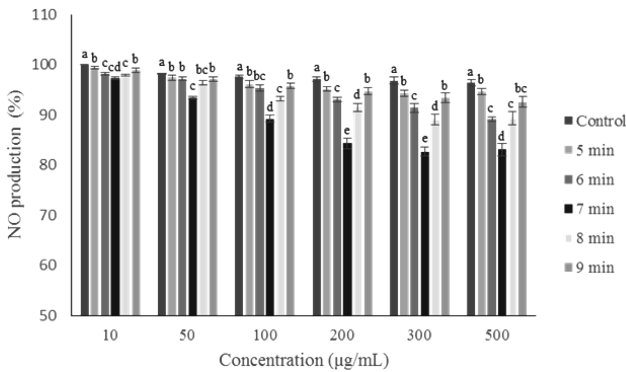


Fig. 3. Anti-inflammation effect of saccharification powder using log cultivation *Lentinula edodes* by different UV irradiation time applications on Raw 264.7 cells.

하였다. 원목표고당화물의 NO (nitrite oxide) 생성억제효과는 농도 의존적으로 높은 활성을 나타냈으며, UV 조사 7분 시험구에서 100 µg/mL 이상의 농도에서는 90% 이하의 낮은 NO 생성능을 확인하여, UV를 7분 조사한 시험구는 높은 수준의 항염증 효과가 있는 것으로 나타났으며, 이는 표고의 비타민 D 등의 면역관련 성분이 영향을 준 것으로 보인다(Lee et al., 2003; Kang et al., 2015). 따라서 본 연구에서는 원목표고당화물을 활용한 식품 개발 시 면역증강 효과도 함께 기대된다.

적 요

원목표고는 수확시기, 재배지역 같은 요인들에 의하여 품질과 가격의 차이가 다양하다. 가을에 생산되는 표고는 수량은 많지만 화고로 불리는 고품질의 표고 생산량이 적고, 등급이 낮은 표고 생산량이 많아, 주로 표고가루로만 가공되고 있다. 이에 따라 가을에 생산되는 등급이 낮은

표고 가공품 개발이 요구되어 진다.

원목표고당화물의 β-glucan, vitamin D₂ 함량은 UV 조사시간을 7분 적용한 원목표고당화물에서 가장 높게 나타났다. Ergosterol 함량은 UV 조사 7분 시험구에서 가장 낮은 함량을 보였다. 원목표고당화물의 환원당 함량은 62.4 mg/L~68.2 mg/L로 확인되었다. 원목표고당화물의 유리아미노산 함량을 분석한 결과, 총 16종의 유리아미노산이 검출되었으며, 대조구로 사용한 원목표고 열수추출물에 비하여 원목표고 당화물들의 유리아미노산 함량이 높음을 확인하였다. UV 조사시간에 따른 유리아미노산 및 필수아미노산 함량은 큰 차이를 보이지 않았다. 원목표고당화물의 세포독성을 확인한 결과 500 µg/mL 농도에서도 90%이상의 높은 세포 생존율을 보여, 대조구로 사용한 원목표고 hot water 추출액과 원목표고당화물 모두 세포독성은 없는 것으로 확인하였다. 원목표고당화물의 항염증 효과는 농도 의존적으로 높은 활성을 나타냈으며, UV 조사 7분 시험구에서 100 µg/mL 이상의 농도에서는 90% 이하의 낮은 NO 생성능을 확인하였다.

UV를 7분 조사한 원목표고당화물이 ergosterol을 제외한 유용성분 함량과 항염증 활성이 가장 높게 나타나, 원목표고당화액 제조 최적 UV 조사 시간은 7분으로 결정하였다. 본 연구결과 UV를 7분 조사한 원목표고당화물들은 안전성과 버섯의 유용성분 함량이 높아, 향 후 천연감미료 및 건강식품 소재로 다양한 활용이 기대된다.

감사의 글

본 연구결과는 산림청 산림생명자원 소재 발굴연구 “원목표고 발효물을 활용한 동남아시아 수출전략형 테이블소스개발(2020198A-2022-BA01)” 수행결과의 일부로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Bottle R, Gilbert G. 1958. The use of alkaline reagents to determine carbohydrate reducing groups. *Analyst* 83: 403-406.

Chandrasekaran G, Oh DS, Shin HJ. 2011. Properties and potential applications of the culinary-medicinal cauliflower mushrooms, *Sparassis crispa* Wulf:Fr. (Aphyllphoromycetidae): a review. *Int J Med Mushrooms* 13: 177-183.

Chang ST, Miles PG. 1989. The nutritional attributes and medicinal value of edible mushrooms. In *Edible mushrooms and their cultivation*. Boca Raton. FL: CRC Press 27-40.

Chihara G, Hamuro J, Maeda Y, Arai Y, Fukuoka F. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinula edodes* (berk.) Sing. (an edible mushroom). *Cancer Res* 30: 2776-2781.

Cho DB, Hyun KH, Choi JH, Na KC, Seo JS, KangSK, KimYD . 2002. Chemical compositions of *Lentinula* in growth stage-A

- study on application plan of *Lentinula I* -. *Korean J Plant Res* 15: 128-134.
- Ekblad A, Wallander H, Näsholm T. 1998. Chitin and ergosterol combined to measure total and living fungal biomass in ectomycorrhizas. *New Phytol* 138: 143-149.
- Eronina TB, Chebotareva NA, Bazhina SG, Makeeva VF, Kleymenov SY, Kurganov BI. 2009. Effect of proline on thermal inactivation, denaturation and aggregation of glycogen phosphorylase b from rabbit skeletal muscle. *Biophys Chem* 141: 66-74.
- Holick MF. 2007. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 357: 266-281.
- Holick MF. 2009. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol* 19: 73-78.
- Hong JS, Lee JY, Kim YH, Kim MK, Jung GT, Lee KR. 1986. Studies on the volatile aroma components of *Pleurotus ostreatus*. *Kor J Mycol* 14: 31-36.
- Hong JS, Kim YH, Lee KR, Kim MK, Cho CI, Park KH, ChoiYH, LeeJB . 1988. Composition of organic acid and fatty acid in *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes* and *Agaricus bisporus*. *Korean J Food Sci Technol* 20: 100-105.
- Hong JS, Kim YH, Kim MK, Kim YS, Sohn HS. 1989. Contents of free amino acids and total amino acids in *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*. *Korean J Food Sci Technol* 21: 58-62.
- Ji Y, Wu Z, Dai Z, Sun K, Wang J, Wu G. 2016. Nutritional epigenetics with a focus on amino acids: implications for the development and treatment of metabolic syndrome. *J Nutr Biochem* 27: 1-8.
- Kang IS, Kim RI, Kim GS, Kim NR, Shin JY, Kim CK. 2015. Effects of *Agaricus blazei* murill water extract on Immune response in BALB/c mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 1629-1636.
- Kim SC, Kim HS, Cho YU, Ryu JS, Cho SJ. 2015. Development of strain-specific SCAR marker for selection of *Pleurotus eryngii* strains with higher β -glucan. *J Mushroom Sci Prod* 13: 79-83.
- Ko JW, Lee WY, Lee JH, Ha YS, Choi YH. 1999. Absorption characteristics of dried shiitake mushroom powder using different drying methods. *Korean J Food Sci Technol* 31: 128-137.
- Krzyszowski W, Malinowska E, Suchocki P, Kleps J, Olejnik M, Herold F. 2009. Isolation and quantitative determination of ergosterol peroxide in various edible mushroom species. *Food Chem* 113: 351-355.
- Kwon YJ. 1985. Study on the lipid components of the cultivated mushrooms, champignon (*Agaricus bisporus*) and shiitake (*Lentinus edodes*). Chonnam National University.
- Lee JS, Yoon KH, Shin WS. 2003. Effect of UV-B Irradiation on the content of vitamin D₂, color and flavor pattern in *Lentinus edodes*. *Korean J Food Cookery Sci* 19: 121-126.
- Lips P. 2006. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol* 92: 4-8.
- Mattila P, Könkö K, Euroola M, Pihlava JM, Astola J, Vahteristo L, Hietaniemi V, Kumpulainen J, Valtonen M, Piironen V. 2001. Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J Agric Food Chem* 49: 2343-2348.
- Müller DN, Kleiwietfeld M, Kvakan H. 2011. Vitamin D review. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 12: 125-128.
- Ohara I, Ariyoshi S. 1979. Comparison of protein precipitants for the determination of free amino acids in plasma. *Agric Biol Chem* 43: 1473-1478.
- Orzechowska B, Janusz M, Domaraczenko B, Blach-Olszewska Z. 1998. Antiviral effect of proline-rich polypeptide in murine resident peritoneal cells. *Acta Virol* 42: 75-78.
- Park KM. 2008. Industrialization of mushroom functional substances. *J Mushroom Sci Prod* 6: 1-12.
- Park MH, Oh KY, Lee BW. 1998. Anti-cancer activity of *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*. *Korean J Food Sci Technol* 30: 702-708.
- Park WH. 1983. Studies on the components of *Sarcodon aspratus*(I). *Kor J Mycol* 11: 85-89.
- Park YA, Lee KT, Bak WC, Kim MK, Ka KH, Koo CD. 2011. Eritadenin contents analysis in various strains of *Lentinula edodes* using LC-MS/MS. *Kor J Mycol* 39: 239-242.
- Pyo MY, Ro IH. 1975. A study on the amino acid contents of edible mushrooms. *Korean J Nutr* 8: 47-59.
- Schnürer J. 1993. Comparison of methods for estimating the biomass of three food-borne fungi with different growth patterns. *Appl Environ Microbiol* 59: 552-555.
- Semba RD, Shardell M, Sakr Ashour FA, Moaddel R, Trehan I, Maleta KM, Ordiz MI, Kraemer K, Khadeer MA, Ferrucci L, Manary MJ. 2016. Child stunting is associated with low circulating essential amino acids. *EBioMedicine* 6: 246-252.
- Son TI. 1993. Preparation of amino acid by chemical synthetic methods. *J Korean Ind Eng Chem* 4: 254-263.
- Suh HJ, Jung SH, Whang JH. 1997. Characteristics of sikhye produced with malt of naked barley, covered barley and wheat. *Korean J Food Sci Technol* 29: 716-721.
- Takamura K, Hoshino H, Sugahara T, Amano H. 1991. Determination of vitamin D₂ in shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 545: 201-204.
- Xie Y, Fleming E, Chen JL, Elmore DE. 2011. Effect of proline position on the antimicrobial mechanism of buforin II. *Peptides* 32: 677-682.
- Wasser SP. 2002. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol* 60: 258-274.