

博士學位論文

감귤착즙박을 이용한 버섯균사체  
배양물의 성분 연구



濟州大學校 大學院

食品工學科

李 昌 煥

2007年 12月

# 감귤착즙박을 이용한 버섯균사체 배양물의 성분 연구

指導教授 姜 永 周

李 昌 煥

이 論文을 工學 博士學位 論文으로 提出함

2007年 12月

李昌煥의 工學 博士學位 論文을 認准함

審査委員長 金 洙 賢 印

委 員 河 璉 桓 印

委 員 高 榮 煥 印

委 員 高 正 三 印

委 員 姜 永 周 印

濟州大學校 大學院

2007年 12月

Study on the Components of Mushroom  
Cultivation Products with Citrus Press Cake

Chang-Hwan Lee

(Supervised by professor Yeung-Joo Kang)

A thesis submitted in partial fulfillment of the  
requirement for the degree of Doctor of Engineering

2007. 12.

Department of Food Science and Engineering

GRADUATE SCHOOL

CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

# 목 차

Abstract .....	1
I. 서 론 .....	3
II. 연 구 사 .....	5
1. 감귤 .....	5
1) Flavonoid .....	5
(1) 함량 .....	5
(2) 생리활성 .....	6
2) 식이섬유 .....	8
3) 휘발성 물질 .....	9
2. 버섯 .....	9
1) 성분함량 .....	10
2) 생리활성 .....	10
3) 휘발성 물질 .....	11
4) $\beta$ -Glucan .....	12
III. 재료 및 방법 .....	14
1. 재료 .....	14
1) 감귤건조분말제조 .....	14
2) 배양배지 제조 .....	14
3) 버섯 종균의 배양 및 균사체 분말 제조 .....	15
2. 방법 .....	15
1) 일반성분 .....	15

(1) 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분 .....	15
(2) 환원당 .....	16
(3) 총산 .....	16
2) 유기산 및 유리당 .....	16
3) Flavonoid .....	18
4) 식이섬유 .....	18
(1) TDF (total dietary fiber) 측정 .....	19
(2) NDF (neutral dietary fiber) 측정 .....	20
(3) ADF (acid dietary fiber) 측정 .....	20
5) $\beta$ -Glucan 측정 .....	21
6) 총 polyphenol .....	21
7) 항산화성 시험 .....	22
(1) 전자공여작용 측정 .....	22
(2) 아질산염 소거능 측정 .....	22
8) Acetylcholine esterase (ACE) 저해율 .....	22
9) 휘발성물질 .....	23
(1) 시약 및 기기 .....	23
(2) GC/MS 시료의 전처리 .....	23
(3) GC/MS 조건 .....	24
(4) 분석 결과 처리 .....	24
10) 통계처리 .....	25
<b>IV. 결과 및 고찰 .....</b>	<b>26</b>
1. 일반성분 .....	26
2. 유기산 및 유리당 .....	28
3. Flavonoid .....	31
4. 식이섬유 및 $\beta$ -glucan .....	35
5. 총 polyphenol 및 항산화성 .....	38

6. ACE 저해율 .....40

7. 휘발성 물질 .....42

V. 요약 .....47

VI. 참고 문헌 .....49



## List of Figures

- Fig. 1. HPLC chromatograms of free sugar. ....30
- Fig. 2. HPLC chromatograms of flavonoids. ....33
- Fig. 3. HPLC sample chromatograms of flavonoids with and without standards. ....34
- Fig. 4. Total dietary fiber contents in citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia (dry basis, %). ....36
- Fig. 5.  $\beta$ -Glucan and dietary fiber contents in citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia (dry basis, %). ....37
- Fig. 6. Total ion chromatograms of hexamethoxyflavone and pentamethoxyflavone compounds identified from the dry powder prepared from citrus press cake by GC/MS. ....45

## List of Tables

Table 1. HPLC conditions for organic acid analysis .....	17
Table 2. HPLC conditions for free sugar analysis .....	17
Table 3. HPLC mobile phase composition for flavonoid analysis .....	18
Table 4. Analytical condition of GC/MS .....	24
Table 5. General components of citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia .....	27
Table 6. Organic acid and free sugar contents in citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia .....	29
Table 7. Narirutin, hesperidin and neohesperidin contents in citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia .....	32
Table 8. Total polyphenol contents, electron donating abilities and nitrite scavenging activities of mushroom mycelia cultivation products in citrus press cake .....	39
Table 9. Inhibition rate of acetylcholine esterase of citrus powder, and citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia .....	41
Table 10. Volatile compounds of citrus powder prepared from prematured	



*Citrus unshiu*, matured *Citrus unshiu*, *Citrus unshiu* peel and citrus  
press cake by GC/MS .....43

Table 11. Volatile compounds of mushroom mycelia cultivated with citrus  
press cake by GC/MS .....44



## Abbreviations

ACE	acetylcholine esterase
ADF	acid dietary fiber
AOAC	association of official analytical chemists
BHA	buthyl hydroxy anisole
CPC	citrus press cake
CP	crude pectin
CUP	<i>Citrus unshiu</i> peel
DNS	3,5-dinitrosalicylic acid
DPPH	$\alpha, \alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl
EDA	electron donating abilities
GC/MS	gas chromatograph mass spectrometer
GC	gas chromatograph
GL	<i>Ganoderma lucidum</i>
HC	<i>Hericium coralloides</i>
HPLC	high performance liquid chromatograph
IDF	insoluble dietary fiber
LE	<i>Lentinus edodes</i>
MCU	matured <i>Citrus unshiu</i>
NDF	netural dietary fiber
NSA	nitrite scavenging activities
PC	<i>Pycnoporus coccineus</i>
PCU	prematured <i>Citrus unshiu</i>
PE	<i>Pleurotus eryngii</i>
PS	<i>Panellus serotinus</i>
SDF	soluble dietary fiber
TDF	total dietary fiber

## Abstract

This study investigated the major components of the citrus press cake (CPC) and their changes resulting from cultivation of mushroom mycelia using CPC as substrates. Such mushrooms as *Pycnoporus coccineus* (PC), *Lentinus edodes* (LE), *Pleurotus eryngii* (PE), *Hericium coralloides* (HC), *Panellus serotinus* (PS) and *Ganoderma lucidum* (GL) were cultivated. Also, inhibition of acetylcholine esterase (ACE), pesticide residues and solvent-extracted volatile components from the dried powder prepared from *Citrus unshiu* product such as prematured *Citrus unshiu* (PCU), matured *Citrus unshiu* (MCU), *Citrus unshiu* peel (CUP), CPC, and the mushroom mycelia such as *Pycnoporus coccineus* (PC), *Lentinus edodes* (LE), *Pleurotus eryngii* (PE), *Hericium coralloides* (HC), *Panellus serotinus* (PS) and *Ganoderma lucidum* (GL), all cultivated using CPC, were examined. The crude ash contents of the mushroom mycelia increased more than those of CPC but total acid, reducing sugar, crude protein and crude fat were similar to or less than those of CPC. The organic acid contents of the mushroom mycelia were similar to or less than those of CPC but the organic acid contents of the PE mycelium increased 2.7 times or more than those of CPC because of increases in malic acid and citric acid. The fructose content of the mushroom mycelia showed a tendency to increase but that of PE mycelium was decreased than that of CPC. The glucose and sucrose contents of the mushroom mycelia showed a tendency to decrease. The narirutin contents of the mushroom mycelia ranged from 448.7–933.0 mg% and were similar to or less than those of CPC. However, the hesperidin of the mushroom mycelia ranged from 3020–4981 mg% and were 25.89–52.61% greater than the CPC (except PC and GL

mycelium). The total dietary fiber (TDF), crude pectin (CP), neutral dietary fiber (NDF) and acid dietary fiber (ADF) contents of the mushroom mycelia were similar to or more than those of CPC. The  $\beta$ -glucan content of the mushroom mycelia as 9.43–13.69% were similar to or less than that of CPC and the total polyphenol contents of the mushroom mycelia as 8.01–20.28 mg% showed a tendency to decrease. With the exception of PE, both the electron donating abilities (EDA) and nitrite scavenging activities (NSA) showed a tendency to decrease. The ACE inhibition rates of citrus powder was 27.05–30.20% but the ACE inhibition rate of CPU as 41.35% was greater than that of CPC. The ACE inhibition rate of mushroom mycelia as 14.47–24.60% decreased than, 37.37%, that of CPC. GC/MS spectra library such as NIST and PMW was searched for the pesticide residues but any pesticide residues were not detected of all the samples. Twenty-nine volatile components were identified in dried powder prepared from *Citrus unshiu*. Of these,  $\delta$ -elemene,  $\beta$ -elemene,  $\beta$ -caryophyllene, caryophyllene,  $\gamma$ -elemene, germacrene-D and  $\delta$ -cadinene were volatile components in the citrus essence oil, but 8-hydroxy-linalool,  $\beta$ -selinene, tetradecanoic acid and pentadecanal were changed components from essence oil components. Tangeretin, nobiletin and stigmasterol were detected in some samples. Eighteen volatile components were characterized from the mushroom mycelia. Of these,  $\beta$ -elemene, germacrene-D, and  $\delta$ -cadinene, were derived from CPC, but caryophyllene, hexadecanoic acid, decanoic acid and tetradecanoic were synthesized by the mushroom mycelia. However, limonene-1,2-epoxide, ethyllinoleate, 1,2-benzenedicarboxylic acid, dicyclohexyl ester and  $\gamma$ -sitosterol were changed components from the volatile components of mushrooms or mushrooms mycelia.

## I. 서 론

제주 감귤산업의 회생정책으로 생과의 고품질화에 중점을 두고 있기 때문에 비상품과 즉, 가공용 감귤 량이 급격히 증가하고 있으며 이에 따라 감귤 주스 가공도 상당히 증가하는 실정이다. 감귤 주스 가공 시 발생하는 착즙박은 생원료의 50% 정도로 매년 제주 지역에서 10-15만 톤의 감귤이 주스가공원료로 이용되고 있으므로 착즙박도 5-7.5만 톤 이 발생되고 있다. 이 가공 폐기물의 이용은 그동안 pectin, flavonoid 등 함유 성분 분리 원료로 이용되거나 가축 사료로의 이용방안 등이 제시되고 있으나 경제성 또는 기술적인 문제 등으로 본격적인 이용이 되지 않고 있다. 제주지역에서는 이들을 주로 가축 혼합 사료로나 사용하고 있어서 감귤 가공 폐기물의 효율적 이용기술 개발이 중요한 과제로 대두되고 있다.

감귤류의 flavonoid는 항산화 작용, 순환기계 질환의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하 작용, 면역증강 작용, 모세혈관 강화작용 등에 효능이 있으며(1-3), 특히 hesperidin은 낮은 섭취 수준에서도 간 내 지질 과산화물을 억제하는데 효과적이라고 보고되고 있다(4). 감귤의 착즙박에 다량 함유되어 있는 식이섬유는 포도당, 담즙산, 카드뎀 투과억제 능력을 가지며, 다이어트 성분, 혈중 콜레스테롤 저하 및 중금속 해독 기능 등 우수한 성질을 갖고 있다고 보고되고 있다(5). 한편, 감귤의 방향성분에 관한 연구로는 온주밀감 껍질에서 정유를 분리 및 분석하였으며(6), 한국산 감귤 주스의 향기 성분을 보고하였고(7), 머섯의 휘발성 향기성분에 대한 연구로는 검은 비늘머섯에서 향기특성을 보고하였으며(8), 느타리머섯의 휘발성 향기성분 및 저장중의 변화를 연구하였다(9, 10).

감귤착즙박을 이용하려면 감귤재배에 사용하는 농약이 잔류될 가능성이 있어서 농약 잔류량 검사를 실시할 필요가 있다. 현재 우리나라에는 총 380종류의 농약에 대하여 허용기준이 설정되어 있으며, 밀감 99종류, 감귤류 10종류 및 기타감귤류 72종류의 농약에만 농약 잔류량 허용기준이 정하여져 있다(11). 이들 농약은 GC, HPLC 방법에 의하여 분석되고 있으나 농약 종류에 따라서 분석방

법이 다르고 많은 시간과 비용이 소모되고 있는데, Luke 등(12)은 수분함량이 많은 재료의 농약 잔류량 분석을 위하여 비교적 간단한 용매추출법을 보고하였다. 한편 농약 중에 유기인계 및 카바메이트계는 ACE(acetylcholine esterase) 저해활성이 있어서(13), ACE 저해율을 측정하여 엽경채소류 중의 농약 잔류량을 신속하게 검사하는데 사용되기도 한다. 즉 ACE 저해율이 높을수록 농약 잔류량이 높은 것으로 판단할 수 있다. 그러나 ACE 저해활성은 농약이외의 물질에서도 나타나기 때문에 농약 잔류량을 확정하기 위해서는 반드시 GC 또는 HPLC에 의한 정밀 검사를 하여야 한다. 현재 엽경채소류 농약 잔류량 검사에서는 ACE저해율이 20% 이상이면 잔류량이 있는 것으로 보고 정밀 검사를 실시하고 있다.

감귤의 과피 또는 가공 후 남은 착즙박에는 각종 성인질환에 약효가 있는 다양한 생리활성성분들을 함유하고 있어 효율적인 이용기술 개발이 절실한 실정이다. 버섯 재배에는 다량의 톱밥이 주로 이용되고 있으나, 톱밥구입 및 버섯균사체 재배 후에 톱밥을 제거하고 유효성분을 추출해야하는 등의 단점이 있다. 따라서 비상품 감귤이나 가공 후 폐기되는 감귤착즙박을 원료로 한 건조분말을 이용하여 버섯 재배가 가능하다면 폐기되는 감귤을 자원화 시킬 수 있을 뿐 만 아니라 감귤의 생리활성 성분에 버섯에서 생성되는 성분이 첨가되어 우수한 감귤 버섯 제품으로 제주지역 특산품 개발이 가능하게 될 것이다.

더구나 감귤을 이용한 버섯 재배 기술의 개발은 톱밥인 경우 유용 생리활성성분의 추출 정제방법과는 다르게 2차적인 폐기물의 생성 및 처리하는 과정을 생략할 수 있어서, 유용성분의 농축, 신규 생리활성성분의 개발 등 고부가가치성 창출이 용이하고 식품, 의약품, 향장품, 사료 등 다양한 산업으로의 확산 효과가 있을 것으로 판단된다.

이에 본 연구에서는 감귤 부위별 및 감귤주스 가공 후 폐기되는 감귤착즙박을 주 성분으로 하는 버섯배양배지에서 재배된 간, 표고, 새송이, 산호침, 참부채 및 영지버섯균사체의 성분을 비교분석하여, 배양된 버섯균사체를 이용한 기능성 버섯가공식품의 개발에 활용 될 수 있는 자료를 얻고자 일반성분, 유기산, 유리당, 플라보노이드, 식이섬유, 항산화성, ACE 저해율 및 휘발성 물질에 대하여 분석한 결과를 보고하고자 한다.

## II. 연구사

### 1. 감귤

감귤은 독특한 풍미와 색깔 그리고 풍부한 과즙을 보유하고 있어 생과실로는 물론 과즙음료의 재료로도 가장 널리 이용되고 있는 과실 중 하나이다. 우리나라에서는 주로 온주밀감(온주)이 생산되며 이들 대부분은 생과실로 소비되고 있으며 극히 한정된 양만 주스, 넥타, 마말레이드 그리고 젤리 등의 가공원료로 이용되고 있다.

감귤은 과피와 과육으로 나눌 수 있으며, 품종에 따라 차이는 있으나 과피는 총 과실의 50%에 해당하며 유포와 색소인 flavedo와 cellulose, hemicellulose, pectin등으로 이루어진 albedo로 이루어져 있다. 지금까지 감귤 가공은 주로 주스 제조에 의하여 과육만 이용되었으며 과피는 환경을 오염시키는 폐기물로 취급되어왔다. 그러나 우리나라를 비롯한 동양에서는 오래전부터 감귤류 건조 껍질을 진피라 하여 중요한 한약재로 사용하여 왔다. 감귤에 존재하는 flavonoid, limonoid, pectin, essential oil 및 carotenoid 등은 생리활성물질이 강한 기능성 성분으로, 과육보다도 껍질 부분에 대부분 존재하는 것으로 밝혀져 이들의 효율적인 이용이 필요하다. 이들 성분의 함량 및 생리기능성에 대한 최근의 연구 결과들을 보면 아래와 같다.

#### 1) Flavonoid

##### (1) 함량

홍진조생 주스를 0.45  $\mu$ m millipore filter로 여과하여 HPLC로 분석한 결과, hesperidin 함량이 18.1 mg/100 mL이었고, 홍진조생 과피를 20% dimethylformamide(dimethylformamide/methanol, 20/80, v/v)로 수욕상 4 h

환류추출하여 HPLC로 분석한 결과, 건조물기준으로 242 mg/g이라고 보고하였다(14). 제주산 감귤의 과피를 제거하고 착즙을 여과하여 주스를 만들어 280 nm에서 HPLC에 의해서 분석한 결과, naringin은 검출되지 않았고 hesperidin은 54.3-74.2 mg%로서, valencia sweet orange 30.8 mg%보다 많다고 보고하였다(15). 한국산 온주밀감 과피에서 hesperidin을 추출하여 Davis 법으로 정량한 결과 건조중량으로 5.07%, 생 중량으로 0.925%라고 하였으나, naringin은 결정을 얻지 못하였다고 보고하였다(16).

한편, 감귤류의 과피와 과실은 옛날부터 한방의 처방에 진피, 귤피, 지실, 지각의 이름으로 사용되어진 생약이라고 하였다(17). 대한약전 제8개정(18)에 진피는 귤(*Citrus unshiu* Markovich) 또는 기타 동속 근연식물(산초과 *Rutaceae*)의 성숙한 과피이며, 이 약은 건조한 것을 정량할 때, hesperidin 4.0% 이상을 함유한다고 하였으며, 지실은 탕자나무(*Poncirus trifoliata* Rafinesqal)의 익지 않은 열매를 그대로 또는 반으로 자른 것이며, 이 약은 건조한 것을 정량할 때, poncirin 2.0% 이상을 함유한다고 하였다. 미숙감귤로 제조한 분말에서 일반성분, 식이섬유, 유리당, 유기산 및 flavonoid를 분석한 결과 미숙과일수록 총식이섬유, 중성식이섬유, 산성식이섬유, 유기산, narirutin 및 hesperidin은 함량이 많았으나, 유리당은 완숙과일수록 그 함량이 증가하였다고 하였다(19). 다만 유기산 중 ascorbic acid는 완숙과일수록 그 함량이 많았다고 하였다. Flavonoid는 감귤류의 기능성성분 중 매우 중요한 성분이며, 항암, 항염증, 심혈관계 질환의 예방 및 치료 등의 기능을 가지고 있는데, 온주밀감에서는 초기수확 과실일수록 완숙과보다 그 함량이 많은 것으로 보고되고 있다(20). 제주산 감귤의 유리당, 유기산 및 flavonoid를 분석한 결과 미숙과일수록 유기산, naringin 및 hesperidin은 함량이 많았으나, 유리당은 완숙과일수록 그 함량이 증가하였다고 하였으며, 감귤을 이용한 가공품 제조 시에는 완숙과를 사용해야 가공품의 혼탁과 쓴 맛이 적을 것으로 예상된다하였다(1).

## (2) 생리활성

Flavonoid의 생리활성으로는 항산화작용, 활성산소제거, 아질산염소거작용, 충치예방, 항균작용, 항염증, 항돌연변이성, 항암, 혈중 콜레스테롤 저하, 심혈관계



질환의 예방 및 치료와 발암물질에 의한 질환의 예방 및 치료에 효과가 있다고 보고되고 있다(21).

*Citrus unshiu* 과피의 열수추출물이 혈압을 저하시키는 효과가 있음을 보고하였으며, 이 성분들 일부로는 rutin과 narirutin이 있음을 밝혀내었다(22).

토끼와 레트를 이용하여 1% 고콜레스테롤 식이와 함께 naringin, hesperidin 및 감귤피 추출액을 병행 투여하여 순환기 질환의 예방 및 치료효과를 관찰한 결과, 쥐의 경우 시험물질 투여군들의 혈장콜레스테롤 수준이 대조군보다 유의적으로 낮았고, 간의 cholesterol 합성수준도 감소하였으며, 간 조직의 콜레스테롤 합성수준을 조절하는 율속효소인 HMG-CoA reductase와 간 조직의 free cholesterol을 에스테르화하는 효소인 ACAT의 활성이 hesperidin 군을 제외한 모든 군들에서 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타나는 결과를 얻게 되어 효과적인 지질 강하제 후보약물로서의 가능성을 시사할 수 있다고 하였다(17). Flavonoid가 충치예방에 효과가 있음을 보고하였는데, glucan형성을 억제하는 효과를 보면, quercetin의 억제효과가 강하였고, naringenin, hesperetin은 부분적으로 효과가 있었으며, rutin, hesperidin은 억제효과가 없는 것으로 나타났다(23). 감귤류 limonoid가 발암 억제제로서의 작용을 한다고 보고하였는데, 이 중에서 limonin, limonin-17- $\beta$ -D-glucopyranoside는 유의성 있는 억제작용을 하였으며, limonin carboxymethoxim은 부분적인 억제작용을 한다고 하였다(24). 34종류의 감귤류의 주스 추출물이 A549 사람폐암세포, B16 마우스 흑색종, CCRF-HSB2 사람 백혈암세포, TGBC11TKB 사람위암세포에 대하여 항증식효과를 실험한 결과, *Citrus nobilis*의 경우에 모든 종의 암세포에 강력한 증식 억제효과를 보였다고 하였다. Sweet lime, kabucchi는 3가지 암세포에서 증식억제효과를 보였으며, 이들 추출물은 사람세포에 대해서는 대조적으로 세포독 효과를 보이지 않는 것으로 나타났다고 보고하였다(25).  $\beta$ -cryptoxantin이 감귤류 중 온주밀감에 가장 많이 함유된 carotinoid로 과실 1개에 1-2 mg이 함유되어 있고, 강한 발암 억제 활성을 갖고 있다고 하였다(17). 현재까지 감귤류로부터 약 60여종의 flavonoid가 분리되었으며, 새로운 생리활성 성분이 계속 발견되고 있다고 하였다(26). 감귤 고유의 flavonoid인 tangeretin에 암세포 침윤 및 전이 방지 효과, 암세포의 에이팍토시스 유도효과 및 백혈병 세포의 분화

촉진 작용이 강한 것으로 밝혀졌으며, 특히 naringin 및 hesperidin은 흰쥐를 이용한 독성 실험에서 급성, 아급성, 만성독성, 생식독성, 돌연변이원성 등이 거의 없는 안전한 화합물로 미국 FDA가 보고하여 많은 식품 의약품의 첨가물로 이용되고 있다고 하였다(26). 감귤류의 과피와 종자에서의 methanol추출물과 알칼리 가수분해 추출물에 대하여 citronellal 산화작용을 저지하는 활성을 조사한 결과, 모두 항산화 활성을 보였으며, 과피보다는 종자 추출물에서의 항산화 효과가 더 좋았다고 보고했으나, 항산화 효과와 이들 추출물의 페놀성 화합물의 조성과의 어떤 명확한 관계는 보이지 않았다고 보고하였다(27).

Hesperidin과 naringin을 첨가한 식이로 수컷 흰쥐를 4주간 사육한 결과, naringin은 항산화계 효소들의 활성을 변화시키지 않으면서 혈장에서 지질과산화물 형성을 억제하였고 식이 첨가수준이 높을수록 그 항산화효과가 높았으며, 간에서는 hesperidin이 지질 과산화물 형성을 억제하며, 0.25%의 낮은 섭취수준에서도 간 내 지질 과산화물 형성을 억제하는데 효과적임을 보고하였다(4).

## 2) 식이섬유

식이섬유는 대장암, 당뇨병, 심장질환의 예방과 관련이 있는 것으로 관심의 대상이 되어 왔다. 불용성 식이섬유는 소화관운동을 증진시키고 배변을 촉진시키며 변의 부피를 증가시키는 경향이 있고, 수용성 식이섬유는 당질 및 지질 대사를 개선시키고 소화관에서 영양소의 흡수를 느리게 하여 장의 pH를 변화시키는 작용이 있다(28-31). 감귤 과피의 TDF(total dietary fiber), IDF(insoluble dietary fiber), SDF(soluble dietary fiber)를 식이무게의 4%로 흰쥐에게 2주간 공급하였을 때, SDF가 뇨, 변으로의 Cd 배설량을 증가시켜 Cd 흡수를 감소시키고, 소장, 간 신장으로의 Cd 축적을 억제하였으며 IDF, TDF도 식이섬유를 첨가하지 않은 군보다 Cd 중독을 완화시키는 경향을 보였다(32). 지방 대사에 미치는 효과를 보면 불용성인 IDF 첨가군이 변 무게를 증가시켜 이에 따른 변으로의 지방 배설량을 증가시켰고 혈청 TG 및 간지방 함량을 낮추었으며, SDF 첨가군도 변을 통한 지방 배설량을 증가시켜 혈청 cholesterol을 낮추었으며 조직 내 지방 농도도 낮추었다고 하였다. 즉, 감귤 과피로부터 분리한 식이섬유 중 IDF는 특히 지방대사에서 변의 무게를 증가시켜 변을 통한 총 지방 및

cholesterol 배설을 촉진시켜 혈청 및 간지질 함량을 낮추는 효과를 보였으며, SDF는 지방대사에서 뿐만 아니라 Cd 대사에서도 Cd을 변으로 배설되는 것을 촉진시켜 조직 내 Cd 함량을 낮추고 Cd 중독을 완화시키는 효과를 보였다고 하였다(32).

### 3) 휘발성 물질

제주도산 온주밀감 껍질 중에 함유된 정유의 성분을 조사한 결과, 주요성분인 limonene 함량은 크로마토그램의 상대피크면적으로 47.6-68.6%이었으며, 정유의 수율은 감귤이 완숙되기 직전인 9월에 최대치를 나타내었고 그 이후 약간 감소하는 경향을 보였으나, 습윤 과피 중량기준으로 1% (w/w) 이상이 함유되어 있다고 하였다. 이 외에도  $\gamma$ -terpinene,  $\beta$ -elemene, farnesene, hexadecanoic acid,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -myrcene 그리고 linalool이 각각 7.75, 2.96, 2.29, 1.76, 1.63, 1.56, 1.46% 차지하고 있는 것으로 보고하였다(6).

오렌지 주스의 가공과정에서 향기 성분을 분석한 결과, 비 살균 및 살균주스에서의 향기성분은 신선한 주스에서와 그 패턴의 차이가 발견되지 않았지만, 열처리한 농축주스로부터 재구성한 살균주스에서는 acetaldehyde, methyl acetate, methyl butyrate 및 ethyl butyrate는 감소하는 반면에 decanal, octanal 및 linalool은 증가하는 경향을 보인다고 하였다(33).

국내감귤 중 임온주 및 청도 품종의 향기성분을 분석한 결과 탄화수소류 11종, 알코올류 10종, 알데하이드류 4종, 에스테르 1종 등 31종이 확인되었으며, 이들 중 limonene이 임온주 및 청도에서 62.63, 88.56%로 대부분이었고, 이외에는 octanal, terpineol, styrene, d-citronellol, farnesol,  $\alpha$ -pinene,  $\alpha$ -terpinene citronellal 등이 존재하고 있음을 확인하였다(7).

## 2. 버섯

버섯은 당질, 단백질, 핵산, 무기질과 같은 영양소가 채소류 이상으로 골고루

함유되어 있어 특유한 맛과 향기를 지닌 기호성이 좋은 식품으로서 예부터 널리 이용되어오고 있다. 최근에는 식생활의 향상 및 다양화로 인한 자연식품, 저칼로리 식품, 무공해 식품의 선호추세로 버섯의 소비량이 날로 증가하고 있는 실정이다. 한국산버섯은 현재 992종이 분류되어 있으며 그 중 식용 가능한 버섯이 100여종, 독버섯은 50여종이며 특히 맹독성을 가진 버섯이 20여종으로 확인되어 있다(34). 이들 버섯 성분의 함량 및 생리기능성에 대한 최근의 연구 결과들을 보면 다음과 같다.

### 1) 성분함량

표고버섯균사체의 물리적 특성을 분석한 결과, 일반성분의 함량은 조단백질 16.16%, 조지방 2.96%, 조회분 3.25%, 탄수화물 77.63%이었으며, 총식이섬유는 54.5%라고 보고하였다(35). 참부채버섯을 에탄올로 추출, 농축 후 얻은 침전물을 검화한 후 column chromatography 및 TLC로 정제하여 침상결정을 얻었고, 이 결정을 GLC로 분석하여 ergosterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol의 peak임을 확인하였으며, mass spectrum으로 재확인한 결과 각각 m/e 414, 412, 396에서 확인함으로써 이들이 ergosterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol이라고 판단할 수 있었다고 보고하였다(36).

### 2) 생리활성

지금까지 조사된 버섯의 기능으로는 혈압 cholesterol 저하, 혈압조절, 항산화효과, 각종 성인병 예방 및 치료효과가 있는 것으로 알려지고 있다.

액체 배양을 통하여 얻어진 영지버섯균사체에서 분리한 spingolipid는 500  $\mu\text{g/mL}$  이상의 농도에서 20%정도 피부보습효과가 증가하였으며, 100  $\mu\text{g/mL}$  이상의 농도에서 피부 표면 거칠기 감소에 유의한 결과를 나타내었다고 보고하였다(37). 버섯균사체를 희석감귤농축액과 일반합성배지에서 각각 배양한 배양물을 에탄올 추출하고 여과하여 동결건조 후 얻어진 버섯균사체 배양 추출물에 대한 항균활성과 항산화활성을 조사한 결과, 감귤농축액 첨가배지에서의 버섯균사체 배양추출물의 항산화활성은 일반합성배지에서와 거의 유사한 결과를 얻을 수 있었는데, 전체적인 항균활성을 비교해 보았을 때, 항균활성이 조금 증가한

양상을 얻을 수 있었다고 하였다. 표고버섯, 새송이버섯 및 산호침버섯 배양 추출물은 합성항산화제인 BHA보다도 높은 효소활성이 관찰되어 기존항생제와 합성항산화제를 대체할 수 있는 천연 항산화제의 개발 가능성을 확인할 수 있었다고 하였다. 또한 천연배지로 사용된 감귤 농축액을 버섯 배양에 유용하게 활용할 수 있음을 확인하였으며, 값비싼 합성배지를 대체할 천연물질로의 가능성을 시사하였다(38).

80개의 수집된 버섯 균주를 대상으로 한 실험 결과 이들이 항산화기능을 보유하고 있음을 확인하였고(39), *Pholiota adiposa*에서 stigmasterol 등을 분리하여 cytotoxic 활성이 있다고 보고하였다(40).

영지버섯, 아가리쿠스, 표고버섯, 운지버섯, 상황버섯균사체를 100°C에서 3 h 열수 추출하는 방법으로 분리한 단백 다당체를 조제하고, TH1 cell의 세포 증식을 조사한 결과 10 mg/mL 농도에서는 모든 시료가 40% 이상 세포증식효과를 보였다고 하였다. 7 종류의 암세포를 이용한 암세포 생존율을 조사한 실험결과, P388D1, L1210에서 표고버섯은 48.4%와 52.5%의 생존율을 보였다. Sarcoma 180으로 복수암을 유발시킨 마우스에게 아가리쿠스와 표고버섯으로부터 추출한 단백다당체를 투여할 경우 생존율이 27-40%까지 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다고 하였다(41).

### 3) 휘발성 물질

버섯의 향기는 미량이지만 식품소재로서의 상품적 가치에 큰 영향을 미치며, 수확 후 저장, 가공 및 건조과정에서 쉽게 변화하는 것으로 알려지고 있다. 저장 시간 경과에 따라서 1-octen-3-ol의 함량이 감소한다. 신선한 표고버섯 및 건조표고버섯에서 휘발성 향기 성분을 분석한 결과, 신선한 표고버섯에서 1-octen-3-ol이 전체 향기성분의 74.7%, 건조표고버섯에서는 1,2,4 trithiolane이 66.3%를 차지하였다고 보고하였다(42). *Agaricus bisporus*의 향기성분은 3-octanone, 3-octenone, 1-octen-3-ol, benzaldehyde, n-octanol, 2-octen-1-ol 등이 중요 향기 성분이라고 하였으며(43), *Agaricus bisporus*에서 분리한 휘발성 향기성분 중 1-octen-3-ol과 1-octen-3-one이 중요 향기성분이라 보고하였다(44). 버섯을 가열 조리하거

나 건조했을 때에는 신선한 상태의 버섯과는 향기 성분의 조성이 달라지는 것으로 알려져 있는데 신선한 *Agaricus bisporus*에서는 1-octen-3-ol이 중요한 향기성분이지만 가열조리 했을 때에는 1-octen-3-one이 특징적인 성분으로 생성되며(43), 버섯을 건조했을 경우 가장 많이 함유된 1-octen-3-ol은 대부분 소실되고 대신 benzaldehyde와 benzyl alcohol 비율이 증가하는 것으로 보고하고 있다(45). 느타리 버섯류의 향기성분을 분석한 결과, 1-octen-3-ol, 3-octanone, 3-octanol, n-hexanol, phenol, n-pentanal, n-pentanal, 1,5-octadiene-3-one 등 이었으며, 특히 확인된 성분 중에는 탄소수가 8개인 alcohol 및 carbonyl 화합물이 많았으며, 전체 향기성분에 대한 C<sub>8</sub> 화합물의 비율은 각각 35.85%–72.46%이었다고 하였다(9).

#### 4) $\beta$ -Glucan

$\beta$ -Glucan은  $\alpha$ -glucan과는 다르게 면역반응을 나타내어 소화기관내 흡수 시 체내 면역기능을 획기적으로 증진시키는 것으로 알려져 있으며, 또한 유해 미생물 바이러스 toxin, 곰팡이 등에 대하여 다양한 자극을 통해 매우 강한 독소를 발생시키고 이를 효율적으로 억제, 제거하는 역할을 한다고 한다. 영지 균핵의 열수 추출물에서 수용성 단백질, 아미노산, polypeptide, saccharide가 분리되었고, 균사체와 심부배양 여과물에서 sterol, lactone, alkaloid, polysaccharide가 발견되었으며, 이 중에서 생리활성과 약리적 기능에 대하여 많은 관심을 받고 있는 것이 polysaccharide와 triterpene이다(46). 영지 polysaccharide는 건조 자실체나 액체 균사 배양액에서 분리되는 생물활성을 갖는 거대분자로 물리화학적 특성과 다양한 구조적 특징을 갖는 물질로, 이들 polysaccharide의 주된 형태는  $\beta$ -glucan이다.  $\beta$ -Glucan의 약리학적 중요성은 오랜 역사를 갖고는 있지만, 실제 과학적인 접근을 하게 된 것은 Ringler 등(47)이 약용버섯의 항암, 면역조정 활성을 보고한 것이 최초이며, 이후 Sugiura와 Ito(48)가 영지 자실체에서 추출한  $\beta$ -glucan을 sarcoma-180이 이식된 마우스에 50 mg/kg 용량으로 투여한 결과, 어떠한 부작용 없이 항암효과가 나타났다고 발표하였다. 지금까지 자실체, 포자, 균사체 배양액 등의 여러 형태와 여러 종류의 영지에서 200종 이상의  $\beta$ -glucan이 분리된 것으로 보고되었다. 영지의 또 다른 생리활성물질인

triterpene 중 ganoderic acid 는 Kucuba 등(49)에 의하여 처음 분리되었다. 이 후 지금까지 영지 자실체, 포자, 균사체, 배양액에서 130종 이상의 산화 triterpene을 분리 하였다. 일반적으로 triterpene은 항산화, 간세포 보호, 항알레르기, 항고혈압, 콜레스테롤 저하, 혈소판 응집 저해 등에 효과가 있는 것으로 보고되었다. 특히 생리활성을 갖고 있는 ganoderic acid 는 영지에서만 생산된다는 사실은 주목할 만 하다. 영지에서 분리된 triterpene 중 대부분이 ganoderic acid와 lucidenic acid 이며, ganoderic acid A, B, H는 자실체에서만 확인되는 반면에 ganoderic acid R, T, S는 균사체에서 많이 나타난다(50). 영지 triterpene의 효과를 보고한 것으로는 영지 균사체에서 분리한 triterpene 분획이 protein kinase C를 저해하고, mitogen 활성화 protein kinase를 활성화 시키고, G2 phase 세포주기의 진행을 억제시켜 인간의 간암세포 성장을 저해하였다고 하였다(51).

효모 변이주와 wild type으로부터  $\beta$ -glucan을 추출하여 면역활성에 미치는 영향을 조사하기 위해 생쥐의 복강에 주사하고 생성되는 면역세포의 수, NO 생성능 및 면역세포의 대다수를 차지하는 대식세포의 탐식능을 측정 한 결과  $\beta$ -glucan의 종류에 상관없이 면역세포의 수, NO 생성능 및 면역세포의 대다수를 차지하는 대식세포의 탐식능이 증가하는 결과를 얻었다고 하였다(52).

표고버섯과 보리에서 추출한  $\beta$ -glucan을 alloxan으로 당뇨를 유발시킨 마우스에 10일간 경구투여를 실시한 결과, 체중 및 혈중 포도당 농도가 감소하였으며, 특히 보리  $\beta$ -glucan은 혈중 중성지방 농도를 감소시키는 경향을 보였으므로 표고버섯과 보리의  $\beta$ -glucan이 당뇨병에 대한 개선효과가 있음이 인정되며 이를 이용한 기능성 식품으로의 개발 가능성이 높다고 하였다(53).

### Ⅲ. 재료 및 방법

#### 1. 재료

재료로 사용된 감귤은 제주도 한경면 조수리에 소재한 유기농인증을 받은 감귤과수원에서 재배된 것으로 미숙감귤(prematured *Citrus unshiu* : PCU)은 2005년 9월에 적과한 것을 사용하였고, 완숙감귤(matured *Citrus unshiu* : MCU)은 2005년 12월에 것을 구입하였으며, 외피(*Citrus unshiu* peel : CUP) 및 주스 착즙박(citrus press cake : CPC)는 가공 후 폐기되는 것을 수집하여 실험용 재료로 사용하였다.

##### 1) 감귤건조분말제조

각각의 재료를 colloid mill(Model PAT 10395, Shidae Machine, Korea)을 이용하여 습식분쇄하고 전자과 가열(Model MDA 65000, MSTA, Korea)하여 수분 8%로 건조하고 건식분쇄를 하여 50 mesh 이하의 분말로 제조하였다.

##### 2) 배양배지 제조

완숙과 감귤을 껍질 채 착즙한 후 얻어진 박을 colloid mill을 이용하여 습식 분쇄하고 전자과 가열하여 수분 8%로 건조하고 건식분쇄한 후 20 mesh 분말로 제조하여 배양배지에 사용하였고, 150 mesh 분말로 제조하여 종균과 액체배양 용으로 사용하였다. 감귤 농축액(62° Brix)를 증류수에 10% (v/v) 첨가한 후 균사체 배양에 사용한 보고(34)를 참고로 하여, 종균용 배지는 150 mesh 분말 50 g, CaCO<sub>3</sub> 2 g, agar 20 g 및 물 1 L를 배합하였고, 액체배지는 150 mesh 분말 50 g, CaCO<sub>3</sub> 2 g 및 물 1 L를 배합하여 121℃에서 15 min 살균하여 사용하였다. 배양배지는 20 mesh 분말 5 kg, CaCO<sub>3</sub> 250 g, 및 물 5 L를 가하여 균질화하고 121℃에서 90 min 살균하여 사용하였다.



### 3) 버섯 종균의 배양 및 균사체 분말 제조

균사체 제조에 사용한 종균은 예비실험을 통하여 식용으로 이용되는 버섯 중에서 감귤착즙박에서 성장이 우수한 간버섯(*Pycnoporus coccineus* KACC 50241 : PC), 표고버섯(*Lentinus edodes* KACC 50778 : LE), 새송이버섯(*Pleurotus eryngii* C.T. 1001 : PE), 산호침버섯(*Hericium coralloides* KCTC 6722 : HC), 참부채버섯(*Panellus serotinus* KACC 50625 : PS), 영지버섯(*Ganoderma lucidum* KCTC 6739 : GL)을 사용하였다. 종균용 배지와 액체배지에 종균을 접종하여 27℃에서 12일간 배양하였으며, stock culture는 종균용 배지와 동일한 조건에서 20일간 배양한 후 5℃ 이하에서 보존하면서 2개월마다 계대 배양하였다. 버섯균사체의 최적배양조건은 액체배지에서 표고버섯균사체 25℃, pH 4.0, 영지버섯균사체 30℃, pH 5.0 및 목질진흙버섯균사체 25-30℃, pH 6.0-7.0이었다는 보고(54-56)를 참고로 하여, 액체배지에서 배양한 액체 종균 20 mL를 배양배지에 접종하여 23℃, 습도 70-75%로 조절하면서 40일간 균사체를 배양하였으며, 배양시킨 균사체를 다시 전자과 가열건조를 하여 건식분쇄 후 50 mesh 이하의 분말로 제조하여 버섯균사체 시료로 하였다.

## 2. 방법

### 1) 일반성분

#### (1) 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분

수분은 135±2℃에서 2 h건조하는 상압가열건조방법을 사용하였고(57), 조단백질은 킬달분해 후 증류한 NH<sub>3</sub>를 산에 흡수시켜, 남아 있는 과량의 산을 역적정하는 방법을 사용하였다(58). 조지방은 ether를 사용한 Soxhlet 추출법(59), 조회분은 525℃에서 회화하는 방법을 사용하였다(60).

## (2) 환원당

환원당은 DNS(3,5-dinitrosalicylic acid)법으로 측정하였다(61). 즉, 분말 1 g을 정확히 취하여 증류수를 넣고 100 mL로 정용한 후 교반하여 50% 중성초산납으로 단백질을 침전시킨 다음 과량의 액을 제거하고 여과하여 시료로 하였다. 시험관에 각각 시료 1 mL, 농도별 glucose 표준용액 1 mL 및 DNS시약 1 mL를 차례로 취하고 잘 섞은 후 비등욕에서 15 min 반응하게 한 다음 20°C에서 15 min 냉각하였다. 발색된 반응액에 증류수 3 mL를 넣어 희석한 후 분광광도계(Model UV-1201, Shimadzu, Japan) 546 nm에서 흡광도를 측정하였고, glucose 표준용액 검량선에 의해 산출하였다.

## (3) 총산

총산은 McAllister(62)의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 시료 1 g을 취하여 증류수로 100 mL에 균질화하고 1% 페놀프탈레인 용액을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH용액으로 적정하여 소비량을 산출한 후 다음의 식에 의해 citric acid로 환산하여 계산하였다.

$$\text{Total acidity(\%)} = \frac{\text{Titration volume(mL)} \times 0.0064 \times 100}{\text{Sample weight(g)}}$$

## 2) 유기산 및 유리당

유기산 및 유리당 분석은 표준물질로 citric acid, malic acid, ascorbic acid, glucose, fructose, sucrose(Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였다. 각각의 분말 125 mg을 취하여 초순수 5 mL를 넣은 후 초음파에서 2 min 진탕 추출하고, 5 min 방치하여 그 상층액을 취하였다. 상층액을 sep-pak(C18)처리하여 나오는 여액을 milipore filter(0.45 μm)로 여과한 후 HPLC 주입용 시료로 하였다(63). 유기산 정량분석에서 HPLC(Model P4000/UV3000, TSP Co., USA) 운영조건은 Table 1과 같으며, 유리당 정량분석의 HPLC(Model 9012/RI9040, Varian Inc. USA) 운영조건은 Table 2와 같다.

**Table 1. HPLC conditions for organic acid analysis**

---

Column	Atlantis C <sub>18</sub> column waters 3.0×150, 5 μm
Mobile phase	1% KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (pH 2.5 with H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )
Flow rate	1.0 mL/min
Sample size	20 μL
Detected wavelength	210 nm(malic, citric), 240 nm(ascorbic)

---

**Table 2. HPLC conditions for free sugar analysis**

---

Column	Shodex asahipack NH <sub>2</sub> -P50 4E, 4.6×250
Mobile phase	acetonitrile / H <sub>2</sub> O = 75/25
Flow rate	1.0 mL/min
Detector	RI (Varian 9040)
Gradient pump	Varian 9012
Temperature	30°C
Sample size	10 μL

---

### 3) Flavonoid

표준물질로는 narirutin(Extrasynthese, France), hesperidin 및 naringin (Sigma Chemical Co., USA)을 dimethylsulfoxide/methanol(1/1, v/v)에 용해하여 표준액으로 사용하였고, 각각의 분말 50 mg을 취하여 dimethylsulfoxide/methanol (1/1) 25 mL를 넣어 초음파에서 5 min 진탕 추출하고 세워서 5 min 방치하여 그 상층액을 취하였다. 상층액을 millipore filter(0.45  $\mu$ m)로 여과한 후  $\mu$ -bondapak C18(3.9 mm x 300 mm) column으로 methanol과 water/acetic acid(1000/5, v/v)인 용매를 가지고 gradient로 HPLC(Model P4000/UV3000HR, TSP Co., USA) 분석을 하였다 (19). 검출파장은 285 nm, 주입량은 20  $\mu$ L를 사용하였으며, 이동상은 Table 3과 같다.

Table 3. HPLC mobile phase composition for flavonoid analysis

Time(min)	Methanol	Water/acetic acid(1000/5)	Flow rate (mL/min)
0	15	85	1.0
15	15	85	1.0
20	30	70	1.0
45	60	40	1.0
46	100	0	1.0
52	100	0	1.0
53	15	85	1.0

### 4) 식이섬유

식이섬유 중 TDF(total dietary fiber)는 효소중량법인 Prosky 등의 방법 (64)에 따라 측정하였고, NDF(neutral dietary fiber)와 ADF(acid dietary fiber)는 화학적 분석법인 Van Soest법(65)으로 함량을 분석하였다. 또한

CP(crude pectin)는 AOAC법(66)에 따라 분석하였다.

### (1) TDF 측정

분말 시료 1g에 0.08 M phosphate buffer(pH 6.0) 50 mL를 첨가한 후 pH가  $6.0 \pm 0.2$  되도록 조절(0.275 N NaOH, 0.275 N HCl 이용)하여 내열성  $\alpha$ -amylase인 termamyl(A3306, Sigma, USA)을 0.1 mL 첨가한 후 95°C에서 15 min 가열하여 효소반응을 시켰다. 방냉 후 0.275 N NaOH 용액으로 pH  $7.5 \pm 0.1$ 로 조정하고 protease(P3910, Sigma, USA)를 50 mg/mL 농도로 조제한 액 0.1 mL를 넣은 후 60°C에서 30 min 가열 효소반응 후 방냉하였다. 다시 0.275 N HCl 용액으로 pH 4.0-4.6으로 조정한 후 amyloglucosidase(A9913, Sigma, USA) 0.3 mL를 넣고 60°C에서 30 min 가열 효소반응을 시켰다. 0.5 g의 celite를 coarse glass-frit(ASTM 40-60  $\mu$ m 60 mL)에 담아 미리 항량하여 무게를 측정한 뒤 위에 반응 완료시킨 효소 혼합액을 여과시키고 증류수, 95% ethyl alcohol, acetone 각각 10 mL씩으로 2회 세척 후 침전물이 담긴 도가니를 105°C 건조기에서 하룻밤 건조하였고, 방냉 후 무게를 측정하였다. 킬달법으로 단백질을 정량하고, 회화 후 회분량을 정량한 후 IDF 산출식에 적용하여 불용성식이섬유 함량을 산출하였다. 위에서 얻어진 여액에 증류수를 가하여 100 mL가 되도록 한 다음, 60°C로 가열된 ethanol 400 mL를 가하여 실온에서 60 min 방치하였고, 0.5 g의 celite를 coarse glass-frit(ASTM 40-60  $\mu$ m, 60 mL)에 담아 무게를 측정한 뒤 침전 혼합물을 여과시킨 후 각각 78% ethanol 20 mL로 3회 세척, 95% ethanol 10 mL로 2회 세척, acetone 10 mL로 2회 세척한 다음 침전물이 담긴 도가니를 105°C 건조기에서 하룻밤 건조하였다. 다시 방냉 후 항량, 무게를 구한 후 킬달법으로 단백질을 정량하고, 회화 후 회분량을 정량 후 SDF 산출식에 적용하여 가용성식이섬유 함량을 산출하였다.

$$\text{IDF}(\%) = (\text{mg residue} - (\text{mg protein in residue} + \text{mg ash in residue} - \text{blank})) \times 100 / \text{mg sample}$$

$$\text{SDF}(\%) = (\text{mg residue} - (\text{mg protein in residue} + \text{mg ash in residue} - \text{blank})) \times 100 / \text{mg sample}$$

$$\text{TDF}(\%) = \text{SDF} + \text{IDF}$$

## (2) NDF 측정

식이섬유 분석 kit(Model Fibertec 2021system, Foss pecator AB, Sweden)를 사용하여 측정하였고 즉, 향량이 된 캡슐에 분말시료 1 g을 넣고 중성세제 용액(N.D.시약) 350 mL와 decahydronaphthalene 7 mL, sodium sulfate 1.75 g 넣고 60 min 가열한 후 각각 뜨거운 증류수로 3회 세척, 차가운 증류수로 1회 세척, 아세톤으로 3회 세척 후 105℃ 건조기에서 세척이 된 캡슐을 하룻밤 동안 건조한 다음 방냉 후 칭량하였다. 건조된 캡슐을 회화용기에 담고 500℃ 회화로에서 4 h 작열시키고 회분함량을 구하였고, NDF 산출식에 적용하여 중성식이섬유 함량을 산출하였다.

$$\text{NDF}(\%) = ((W3 - W1) - (W5 - W4 - C)) / W2 \times 100$$

W1 = 초기 캡슐 무게

W2 = 시료무게

W3 = 세척 건조 향량 처리 후 무게

W4 = 비어있는 회화용기 무게

W5 = 회화 후 무게

C = Capsule ash

## (3) ADF 측정

식이섬유 분석 kit(Model Fibertec 2021system, Foss pecator AB, Sweden)를 사용하여 측정하였다. 즉, 향량이 된 캡슐에 분말시료 1 g을 넣고 산성세제 용액(A.D.시약) 350 mL와 decahydronaphthalene 7 mL 넣고 60 min 가열한 후 각각 뜨거운 증류수로 3회 세척, 차가운 증류수로 1회 세척, 아세톤으로 3회 세척 후 105℃ 건조기에서 세척이 된 캡슐을 하룻밤 동안 건조한 다음 방냉 후 칭량하였다. 건조된 캡슐을 회화용기에 담고 500℃ 회화로에서 4 h 작열시키고 회분함량을 구하였고, ADF 산출식에 적용하여 산성식이섬유 함량을 산출하였다.

$$\text{ADF}(\%) = ((W3 - W1) - (W5 - W4 - C)) / W2 \times 100$$

W1=초기 캡슐 무게  
W2=시료무게  
W3=세척 건조 항량 처리 후 무게  
W4=비어있는 회화용기 무게  
W5=회화 후 무게  
C =Capsule ash

### 5) $\beta$ -Glucan 측정

Prosky 등의 방법(64)에서 soluble dietary fiber 정량에 따라, 균질화한 시료를 실온에서 20 h 연화시킨 후 pH 6으로 고정시키고 thermostable  $\alpha$ -amylase(A3306, Sigma, USA)로 95°C에서 2 h 효소처리하고 실온으로 냉각한 후 pH 5로 조정하고, amyloglucosidase(A9913, Sigma, USA)로 60°C에서 2 h 수욕 중에 교반하였다. 효소를 불활성화 시키기 위해 pH 4로 조정시킨 다음 95°C에서 30 min 수욕상에서 교반한 후 냉각하고 ethanol로 침전시켰다. 침전물을 세척하여 물에 녹인 수용액 상태의 시료를 pH 4.5, 58°C에서 2 h amyloglucosidase 재처리하였다. 95°C에서 30 min 효소 불활성화 시킨 다음 냉각하고 ethanol 재침전시켜 crude  $\beta$ -glucan을 얻었다. 침전물을 78% ethanol 3회, 95% ethanol 2회 및 acetone 2회 세척하고, 건조 후 무게를 측정하였으며, 킬달법으로 단백질을 정량하고, 회화로 회분량을 정량하여 보정하였다.

### 6) 총 polyphenol

시료 1 g을 각각 취하여 물 100 mL를 넣고 95°C 수욕 상에서 1 h 환류추출하고 냉각 후 원심분리한 상층액을 시료로 사용하였다. 총 polyphenol 함량은 Folin-Denis방법(67)에 의하여 측정하였다. 시험용액 1 mL에 50% Folin시약 1 mL를 가하고 3 min 후 10% sodium carbonate 1 mL를 넣어 혼합하고 30°C에서 1 h 발색시킨 다음 700 nm에서 흡광도를 측정하고 (+)catechin으로 환산하였다.

## 7) 항산화성 시험

총 polyphenol 측정과 동일한 시험용액으로 하였다. 전자 공여작용 (electron donating abilities : EDA)의 측정은 각 시료용액의 DPPH ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl)에 대한 환원력을 측정하는 것으로 Blois의 방법(68)을 변형하여 측정하였다. 아질산염 소거작용 (nitrite scavenging activity : NSA)는 Gray 등(69)의 방법에 의하여 측정하였다.

### (1) 전자공여작용 측정

시험관에 각각의 시험액 400  $\mu$ L 및  $4 \times 10^{-4}$  M DPPH(in ethanol) 800  $\mu$ L, 0.1 M phosphate buffer(pH 6.5) 4 mL를 가한 후 vortex mixer로 10 sec 진탕하고 10 min 방치 후 분광광도계(Model 8453, Agilent, USA)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 여과액을 첨가하지 않은 구에 대한 여과액 첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

### (2) 아질산염 소거능 측정

각각의 시험용액 1 mL를 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액 2 mL에 가한 후, 0.1 N HCl (pH 1.2) 및 0.1 M citrate buffer(pH 3.0, 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 6.0으로 조정하고 최종 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 혼합액을 37°C, 1 h 반응을 시킨 후, 이 반응액을 각각 1 mL를 취하여 2% 초산용액 5 mL, griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것으로 사용하기 직전에 제조) 0.4 mL를 첨가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 15 min 방치시킨 후 분광광도계 (Model 8453, Agilent, USA)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산 양을 산출하였다. 대조구는 griess 시약 대신 증류수를 0.4 mL 가하여 앞에서와 같은 방법으로 실시하고, 각 여과액의 아질산염 소거작용은 여과액을 첨가하지 않은 구에 대한 여과액 첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

## 8) Acetylcholine esterase(ACE) 저해율



엽경채소류 신속검사법에 따라서 잔류농약 간이속성검사 kit(진성유니텍, 서울)를 사용하여 다음과 같이 분석하였다. 각각의 분말시료 1 g을 취하여 methanol 20 mL에 추출하여 잔류농약 분석 시료로 하였다. 인산완충액 5 mL, 효소용액 100  $\mu$ L를 넣은 시험관에 추출액 100  $\mu$ L를 넣었다. 공시험 및 대조군에는 시료 대신 methanol 1 mL를 넣었고 공시험에는 반응정지액을 100  $\mu$ L 넣었다. 모든 시험관을 37 $^{\circ}$ C, 5 min 수욕상에서 항온시키고 진탕하면서 기질 100  $\mu$ L를 넣은 후 37 $^{\circ}$ C, 10 min 효소반응을 시켰다. 반응 후 공시험을 제외한 모든 시험관에 반응 정지액 100  $\mu$ L를 넣어 반응을 정지 시키고, 2 min 방치 후 발색시약 100  $\mu$ L를 넣고 진탕하였다. 분광광도계(Model 8453, Agilent, USA)로 412 nm에서 흡광도를 측정하고 효소 반응의 저해율을 계산하여 잔류농약을 검출하였다.

$$\text{저해율(\%)} = (\text{대조군 흡광도} - \text{시료 흡광도}) / \text{대조군 흡광도} \times 100$$

## 9) 휘발성물질

### (1) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 기기는 autosampler(Model 8200, Varian Co., USA)가 장착된 GC/MS(Model Star 3600CX-GC, Saturn2000-MS, USA), 원심분리기(Model Union 55R, Hanil Science Industrial Co., Korea) 및 nitrogen evaporator(Model N-EVAP111, Organomation Associates Co., USA)를 사용하였다. 추출용매는 acetone(optima grade, Fisher scientific, USA), petroleum ether(organic residue analysis grade, J.T.Baker, USA), dichloromethane(organic residue analysis grade, J.T.Baker, USA)을 사용하였다.

### (2) GC/MS 시료의 전처리

휘발성물질의 추출방법은 Luke 등(12)의 방법을 변형하여 건조 분말시료 1 g을 40 mL 바이알에 각각 취하여 물 5 mL를 가하고 진탕하여 침지시킨 후, acetone 10 mL씩 넣어서 진탕 추출하였다. 여기에 petroleum ether 및

dichloromethane을 각각 10 mL 씩 넣어서 진탕 추출한 시료를 2500 rpm에서 3 min 원심분리한 후, 원심분리한 상층액 20 mL를 취하여 nitrogen evaporator로 40°C에서 증발 건조하였다. 증발 건조한 시료에 아세톤 2 mL를 가하여 용해시키고 기기분석용 시료로 하였다.

### (3) GC/MS 조건

전처리한 시료를 GC/MS에 주입하여 분석하였으며, 이때의 GC/MS의 분석조건은 Table 4와 같다.

Table 4. Analytical condition of GC/MS

Model	GC/MS (Star 3600CX-GC, Saturn2000-MS, Varian Co., USA)
Column	HP-5(crosslinked 5% PH ME Siloxane) 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm
Flow rate	carrier gas(N <sub>2</sub> ) : 0.9 mL/min
Temperature	injector : 250°C detector : 290°C column : 70°C (2min) → 25°C/min → 150°C → 3°C/min → 200°C → 8°C/min → 280°C (10 min) → 25°C/min → 300°C (8 min)
MS	ionization mode : EI ionization voltage : 70eV scanning range : 40~450 m/z scanning time : 1 second

### (4) 분석 결과 처리

GC/MS 크로마토그램상에 검출되는 모든 성분들은 NIST 및 PMW Mass

Library와 비교하여 농약 종류를 확인하였으며, NIST 및 Wiley Mass Library와 비교하여 휘발성 성분을 확인하였다(70-72).

#### 10) 통계처리

실험결과는 SPSS(73)를 이용하여 통계처리하였다. Duncan's multiple range test에 의하여 분석하였고, 유의성검정은  $\alpha=0.05$ 에서 시행하였다.



## IV. 결과 및 고찰

### 1. 일반성분

감귤착즙박에 버섯균사체를 배양했을 때, 일반성분 함량은 Table 5와 같다.

착즙박의 일반성분은 조희분 2.98%, 조지방 4.01%, 조단백질 2.96% 및 환원당 24.84%로서, 조희분 2.1-3.2%, 조지방 2.1-3.2%, 조단백질 2.3-3.0% 및 환원당 14.2-19.7%이었다는 보고(19)와 비슷하였다. 조희분은 착즙박에서 2.98%이었으나, 버섯균사체에서 그 값이 증가하여 영지버섯에서 9.19%로 가장 작았으며, 참부채버섯에서 11.96%로서 최고값을 보였다. 버섯균사체의 조희분은 표고버섯 및 균사체 그리고 새송이버섯에서 0.76-3.25%라는 보고(35,74,75) 보다는 높게 나타났으나 노루궁뎅이버섯 및 느타리버섯에서 8.10% 및 5.68-7.40%이었다는 보고(76,77)와 비슷하였다. 본 실험에서  $\text{CaCO}_3$ 를 착즙박에 5% 첨가한 것을 고려하면 4.19-6.96%이므로 비슷한 결과라고 볼 수 있다. 총산은 착즙박 6.67%보다 버섯균사체에서 감소하여 참부채버섯에서 2.49%로 최저였으며, 표고버섯에서 4.73%로서 최고값을 나타내었다. 버섯균사체에서의 조희분의 증가 및 총산의 감소는 배지제조에  $\text{CaCO}_3$  5% 첨가에 따른 것이라 판단된다.

버섯균사체의 환원당은 산호침버섯에서 15.29%로 최저였으며, 영지버섯에서 26.83%으로서 가장 많았으나, 착즙박에 비하면 전체적으로 비슷하거나 일부 감소하는 경향을 보였다. 이는 버섯균사체가 성장하면서 환원당을 탄소원으로 사용함으로써 감소하는 것으로 판단된다. 버섯균사체의 조단백질은 표고버섯에서 1.46%로서 가장 작았고, 새송이버섯에서 2.84%로서 최고값을 보였으나, 착즙박보다 비슷하거나 일부 감소하는 경향을 보였다. 버섯균사체의 조단백질은 영지버섯에서 13.2-13.6%(33), 표고버섯균사체에서 16.16%(35)과는 차이가 있었으나, 새송이버섯에서 3.48%이었다는 보고(75)와 비슷하였다.

Table 5. General components of citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia

(dry basis, %)

	CPC <sup>1)</sup>	PC <sup>2)</sup>	LE <sup>3)</sup>	PE <sup>4)</sup>	HC <sup>5)</sup>	PS <sup>6)</sup>	GL <sup>7)</sup>
Crude ash	2.98 ±0.04	11.54 <sup>a</sup> ± 0.52	10.14 <sup>b</sup> ±0.20	9.73 <sup>b</sup> ±0.30	10.66 <sup>ab</sup> ±0.38	11.96 <sup>a</sup> ±0.49	9.19 <sup>b</sup> ±0.60
Total acidity	6.67 ±0.44	2.86 <sup>a</sup> ±0.12	4.61 <sup>b</sup> ±0.12	4.73 <sup>b</sup> ±0.25	2.61 <sup>a</sup> ±0.12	2.49 <sup>a</sup> ±0.50	2.74 <sup>a</sup> ±0.12
Reducing sugars	24.84 <sup>a</sup> ±1.07	22.98 <sup>a</sup> ±1.04	23.24 <sup>a</sup> ±0.68	9.88 ±0.78	15.29 <sup>b</sup> ±1.09	18.56 <sup>b</sup> ±1.61	26.83 <sup>a</sup> ±2.39
Crude protein	2.96 <sup>a</sup> ±0.13	2.18 <sup>b</sup> ±0.26	1.46 <sup>c</sup> ±0.16	2.84 <sup>ab</sup> ±0.30	1.59 <sup>bc</sup> ±0.34	2.17 <sup>b</sup> ±0.22	2.43 <sup>ab</sup> ±0.18
Crude fat	4.01 <sup>a</sup> ±0.12	2.92 <sup>bc</sup> ±0.35	3.47 <sup>ac</sup> ±0.13	3.75 <sup>ab</sup> ±0.25	2.18 ±0.21	3.37 <sup>ab</sup> ±0.24	4.03 <sup>a</sup> ±0.34

<sup>1)</sup>Citrus press cake

<sup>2)</sup>*Pycnoporus coccineus*

<sup>3)</sup>*Lentinus edodes*

<sup>4)</sup>*Pleurotus eryngii*

<sup>5)</sup>*Hericium coralloides*

<sup>6)</sup>*Panellus serotinus*

<sup>7)</sup>*Ganoderma lucidum*

The value are mean ± S.D. of 3 replications.

The same superscripts in the same row are not significantly different at p<0.05.

버섯균사체의 조지방은 산호침버섯에서 2.18%로서 가장 작았으며, 영지버섯에서 4.03%로서 가장 많았으나, 착즙박과 비슷하거나 일부 감소하는 경향을 보였으며, 버섯균사체의 조지방은 영지버섯에서 3.5-3.8%(74), 표고버섯균사체에서 2.96%(35)이었다는 보고와 비슷하였다.

## 2. 유기산 및 유리당

버섯균사체의 유기산 및 유리당의 함량은 Table 6과 같으며, 유리당의 chromatogram은 Fig. 1에 나타내었다.

대부분의 버섯균사체 중 유기산의 함량은 5.68-13.96%로서, 착즙박의 함량 9.89%와 비슷하거나 감소하는 경향을 보였으나, 새송이버섯에서는 30.24%로서 착즙박의 2.7배 이상 유기산의 함량이 증가하였는데, 특히 malic acid 및 citric acid의 함량이 증가하였다. 착즙박에서의 유기산의 함량은 습량기준으로 12월에 수확한 온주밀감에서 1.03%이었다는 보고(1)와 비슷하였다.

버섯균사체 중 ascorbic acid의 함량은 0.06-0.20%로서, 착즙박의 함량 0.08%보다 비슷하거나 증가하는 경향을 보였는데, 온주밀감의 ascorbic acid 함량은 과육에서 35 mg/100 g, 과피에서 150-200 mg/100 g 이라는 보고(17)로 볼 때 착즙박의 ascorbic acid 함량은 비슷한 것으로 나타났다. 버섯균사체에서의 함량은 구름버섯에서 7.50%, 영지버섯에서 0.81%라는 보고(78)보다는 그 함량이 작게 나타났다. 이는 ascorbic acid를 정량할 때 비색법으로 정량(78)하여 그 차이가 있는 것으로 판단된다.

착즙박의 유리당의 함량은 fructose 4.98%, glucose 5.19% 및 sucrose 8.57%로서, 습량기준으로 12월에 수확한 온주밀감에서 fructose 1.58%, glucose 1.37% 및 sucrose 4.77%이었다는 보고(1)보다 작게 나타나고 있는데, 이는 주스를 제외한 착즙박이어서 감소한 것으로 보인다.

Table 6. Organic acid and free sugar contents in citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia

(dry basis, %)

	CPC	PC <sup>1)</sup>	LE <sup>2)</sup>	PE <sup>3)</sup>	HC <sup>4)</sup>	PS <sup>5)</sup>	GL <sup>6)</sup>
Malic acid	0.57 <sup>a</sup> ±0.12	1.96 <sup>b</sup> ±0.11	1.31 <sup>ab</sup> ±0.51	11.42 ±0.22	1.32 <sup>ab</sup> ±0.02	1.90 <sup>b</sup> ±0.26	1.48 <sup>b</sup> ±0.33
Ascorbic acid	0.08 <sup>a</sup> ±0.0	0.16 <sup>b</sup> ±0.0	0.16 <sup>b</sup> ±0.01	0.06 <sup>a</sup> ±0.0	0.19 <sup>b</sup> ±0.04	0.20 <sup>b</sup> ±0.01	0.08 <sup>a</sup> ±0.02
Citric acid	9.24 <sup>a</sup> ±1.44	2.56 <sup>b</sup> ±0.46	9.88 <sup>a</sup> ±0.57	15.76 ±0.49	4.69 <sup>c</sup> ±0.90	1.66 <sup>b</sup> ±0.11	6.40 <sup>c</sup> ±0.20
Total	9.89	5.68	13.35	30.24	10.2	8.76	13.96
Fructose	4.98 ±0.35	9.20 <sup>a</sup> ±0.10	9.76 <sup>ab</sup> ±0.55	2.65 ±0.19	9.70 <sup>ac</sup> ±0.28	11.06 <sup>bcd</sup> ±1.02	10.33 <sup>ad</sup> ±0.44
Glucose	5.19 ±0.08	3.25 <sup>a</sup> ±0.04	4.02 <sup>b</sup> ±0.26	3.43 <sup>a</sup> ±0.09	1.03 ±0.10	1.71 ±0.08	4.09 <sup>b</sup> ±0.20
Sucrose	8.57 ±0.79	1.06 <sup>a</sup> ±0.05	2.99 <sup>b</sup> ±0.19	0.35 <sup>a</sup> ±0.04	6.96 <sup>c</sup> ±0.16	6.14 <sup>c</sup> ±0.98	3.76 <sup>b</sup> ±0.22

<sup>1)</sup>Citrus press cake

<sup>2)</sup>*Pycnoporus coccineus*

<sup>3)</sup>*Lentinus edodes*

<sup>4)</sup>*Pleurotus eryngii*

<sup>5)</sup>*Hericium coralloides*

<sup>6)</sup>*Panellus serotinus*

<sup>7)</sup>*Ganoderma lucidum*

The value are mean ± S.D. of 3 replications.

The same superscripts in the same row are not significantly different at p<0.05.

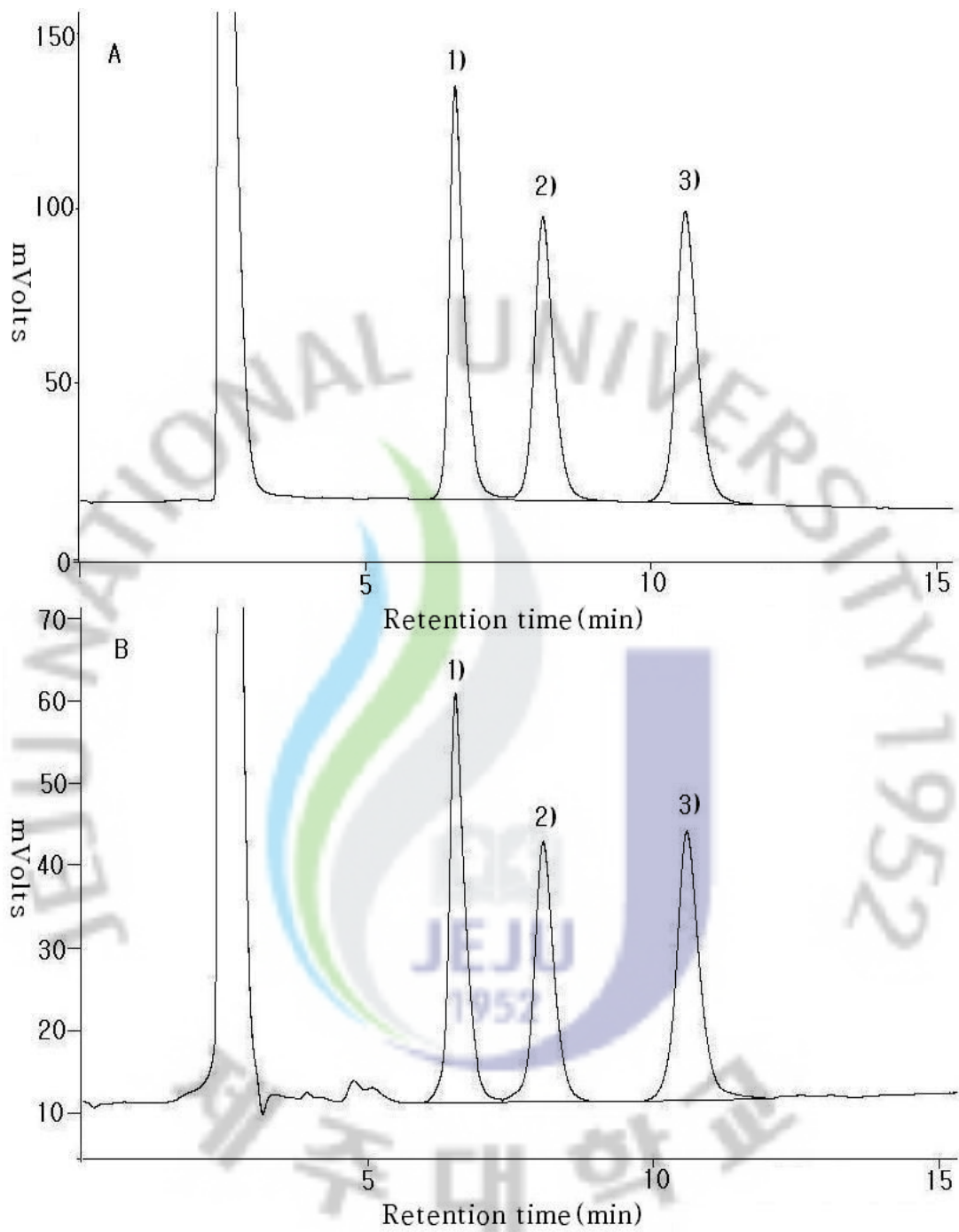


Fig. 1. HPLC chromatograms of free sugar.

A : standard, B: Citrus press cake

<sup>1)</sup>Fructose

<sup>2)</sup>Glucose

<sup>3)</sup>Sucrose



버섯균사체 중 fructose는 9.20–11.06%로서 착즙박 4.98%보다 증가하는 경향을 보였으나, 새송이버섯에서는 2.65%로서 함량이 매우 감소하였으며, glucose의 경우는 1.03–4.09%로서, 모든 버섯균사체에서 그 함량이 착즙박 5.19%보다 매우 감소하는 경향을 보였는데, 산호침버섯 및 참부채버섯에서 감소하는 현상이 더욱 심하였다. 버섯균사체 중 sucrose는 0.35–6.96%로서 착즙박의 함량 8.57%보다 감소하는 경향을 보였는데, 간버섯과 새송이버섯에서 감소현상이 심하였다.

버섯균사체의 유리당 함량은 새송이버섯 분말에서 glucose 1104.0 mg%, fructose 1671.0 mg%이며(75), sucrose는 노루궁뎅이버섯에서 검출되지 않았다는 보고(76)에 비하면 매우 높게 측정되었으나, 이는 착즙박 자체에 남아있던 유리당 때문에 높게 나타난 것으로 판단된다. Sucrose 함량이 매우 감소하는 것으로 보아 비슷한 경향을 보이고 있으며, 버섯균사체가 생육하면서 이당류의 생성은 없는 것으로 판단된다. 버섯균사체 생장에 미치는 탄소원의 영향을 조사한 결과 영지버섯에서는 soluble starch와 cellobiose가 양호하였고(79), 표고버섯에서는 glucose(80), 목질진흙버섯에서는 단당류가 적합하였다(56)고 하여 버섯균사체 종류에 따라 달라짐을 알 수 있다. 이 실험결과 fructose는 새송이버섯에서만 탄소원으로 사용되어 소비되었을 것으로 추정된다. Glucose 및 sucrose는 실험에 사용한 모든 버섯에서 탄소원으로 사용된 것으로 보인다. 이 중에서도 glucose는 산호침버섯과 참부채버섯에서, sucrose는 간버섯과 새송이버섯에서 그 함량이 감소 정도가 큰 점으로 보아 탄소원으로서 사용되는 것으로 판단된다. 한편 fructose는 감미도가 glucose나 sucrose보다 크므로 fructose의 증가는 버섯균사체 배양물의 단맛을 증가시켜, 식품으로서의 맛을 좋게 하는 역할을 할 것으로 판단된다.

### 3. Flavonoid

버섯균사체의 flavonoid 함량은 Table 7과 같으며, flavonoid의 chromatogram

은 Fig. 2에 나타내었다.

Table 7. Narirutin, hesperidin and neohesperidin contents in citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia  
(dry basis, mg%)

	CPC	PC <sup>1)</sup>	LE <sup>2)</sup>	PE <sup>3)</sup>	HC <sup>4)</sup>	PS <sup>5)</sup>	GL <sup>6)</sup>
Narirutin	986.4 <sup>a</sup> ±2.14	448.7 <sup>b</sup> ±43.92	933.0 <sup>a</sup> ±80.03	859.2 <sup>a</sup> ±81.73	658.4 <sup>c</sup> ±69.93	640.4 <sup>c</sup> ±71.05	529.4 <sup>bc</sup> ±27.37
Hesperidin	3264 <sup>a</sup> ±128.7	3020 <sup>a</sup> ±185.0	4725 <sup>b</sup> ±269.2	4981 <sup>b</sup> ±295.6	4109 <sup>bc</sup> ±301.6	4497 <sup>bd</sup> ±350.9	3845 <sup>acd</sup> ±89.8
Neohesperidin	N.D. <sup>7)</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

<sup>1)</sup>Citrus press cake

<sup>2)</sup>*Pycnoporus coccineus*

<sup>3)</sup>*Lentinus edodes*

<sup>4)</sup>*Pleurotus eryngii*

<sup>5)</sup>*Hericium coralloides*

<sup>6)</sup>*Panellus serotinus*

<sup>7)</sup>*Ganoderma lucidum*

<sup>8)</sup>Not Detected

The value are mean ± S.D. of 3 replications.

The same superscripts in the same row are not significantly different at p<0.05.

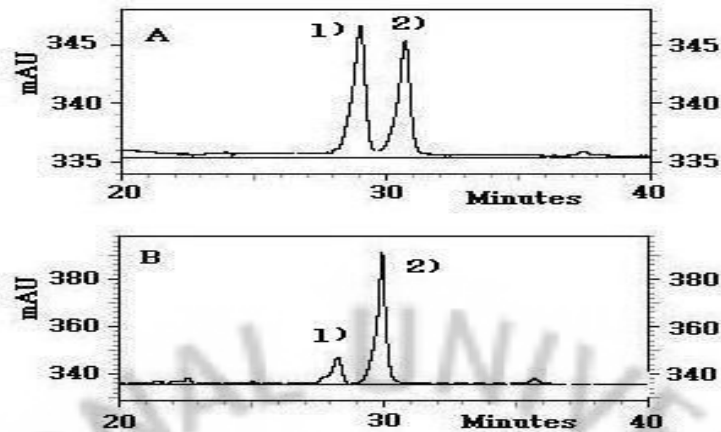


Fig. 2. HPLC chromatograms of flavonoids.

A : Standard, B: Sample

<sup>1)</sup>Narirutin

<sup>2)</sup>Hesperidin

버섯균사체의 narirutin 함량은 448.7–933.0 mg%로서 대부분 착즙박에 비하여 비슷하거나 조금 감소하는 경향을 보였으나, hesperidin의 함량은 3020–4981 mg%로서 간버섯 및 영지버섯의 경우만 착즙박과 비슷한 수준이었고, 그 외 모든 버섯에서 착즙박보다 25.89–52.61%증가하여 농축되는 현상을 나타내었다. Neohesperidin의 경우는 착즙박, 배지 및 모든 버섯균사체에서 검출되지 않았다. 착즙박에서의 flavonoid 함량은 10월에 수확한 온주밀감으로 제조한 통밀감 분말에서 narirutin 884 mg% 및 hesperidin 4421 mg%이었다는 Kang 등의 보고(19)와 비슷한 결과이다. Hesperidin은 간 내 지질 과산화물을 억제하는데 효과적이므로(4), 이 성분이 농축되는 버섯균사체는 기능성 식품의 원료로 가능성이 있을 것으로 판단된다. Matsubara 등(22)은 *Citrus unshiu* 과피의 열수추출물이 혈압을 저하시키는 효과가 있음을 보고하였으며 이 성분들로는 rutin과 narirutin이라고 하였다. 감귤착즙박을 이용하여 배양한 균사체 배양물에서 착즙박의 45.5–94.6%에 해당하는 narirutin이 남아 있다는 것은 다른 배지를 사용한 균사체 배양보다 유리한 점이라 할 수 있다.

한편, flavonoid의 성분을 확인하는 과정에서 검출되는 성분이 naringin인지

narirutin인지 구별하기 어려운 부분이 있어서, 검액에 각각 narirutin, naringin 표준액 및 narirutin과 hesperidin 표준액을 동시에 혼합하여 HPLC로 분석하고, 나타나는 chromatogram을 비교분석하여 시료 중에 나타나는 성분이 naringin이 아니라 narirutin임을 확인하였으며, 이 때의 chromatogram을 Fig. 3에 나타내었다. Naringin 과 narirutin은 분자식이  $C_{27}H_{32}O_{14}$ 로 동일하고 분자량도 580.55로서 동일하며, flavanone으로서 naringenin aglycone을 기본으로 하여 배당체가 붙어 있는 형태이다. 배당체가 naringin의 경우는 neohesperidose이고, narirutin은 rutinoside인 점이 다르다(81). 이러한 이유 때문에 HPLC로 분석을 할 경우 retention time이 비슷하여 확인하기가 어렵고, mass spectrometer로 분석하여도 구분이 곤란하다.

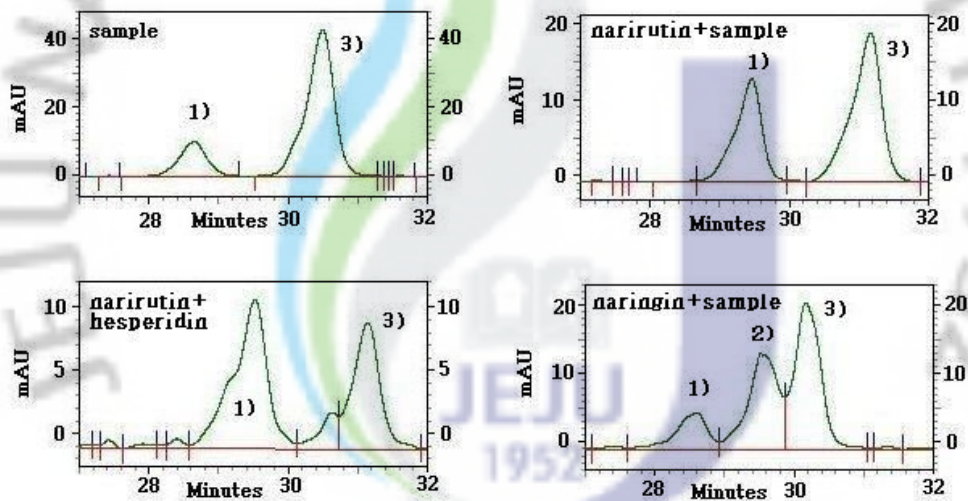


Fig. 3. HPLC sample chromatograms of flavonoids with and without standards.

- <sup>1)</sup>Narirutin
- <sup>2)</sup>Naringin
- <sup>3)</sup>Hesperidin

Fig. 3의 chromatogram에서 시료 중에 narirutin 표준액을 첨가하여 분석을 하면 별도의 peak가 나타나지 않으나, naringin을 첨가하여 분석을 하면 1번

narirutin peak와 3번 hesperidin peak 사이에서 2번 naringin peak가 나타남을 확인할 수 있었다. 이는 온주밀감에서 narirutin은 검출되었으나 naringin은 검출되지 않았다는 보고(82), 한국산 감귤주스에서 naringin이 검출되지 않았다는 보고(15) 및 제주산 온주밀감에서 naringin은 8-9월까지의 품종에 따라서 0.01-0.04 mg/g 이 검출되었으나 숙기가 진행됨에 따라 10월 이후로는 모든 품종에서 검출되지 않았다는 보고(83)와 일치하고 있다.

#### 4. 식이섬유 및 $\beta$ -glucan

버섯균사체의 식이섬유 및  $\beta$ -glucan 함량은 Fig. 4 및 Fig. 5와 같다.

버섯균사체 중 TDF 함량은 38.87-51.49%로서 대부분 착즙박의 함량 38.28%와 비슷하거나 증가하는 현상을 보였다. 새송이버섯의 경우에 함량이 51.49%로서 가장 많았으며, 이는 IDF의 함량이 많은 결과로 나타난 것이었다. 착즙박에서의 식이섬유 함량은 Kang 등(19)의 보고와 비슷한 결과이며 버섯균사체에서의 TDF 함량은 43.5-54.5%라는 보고(35,74,75)와 비슷하였다. 버섯균사체 중 IDF 함량은 29.09-41.08%로서 착즙박의 함량 25.38%보다 증가하는 현상을 보였는데, 새송이버섯의 경우에 함량이 41.08%로서 가장 많았으며, SDF 함량은 착즙박의 함량 12.89%와 비슷한 경향을 보여 변화가 없었다. 감귤 과피로부터 분리한 식이섬유 중 IDF는 특히 지방대사에서 변 무게를 증가시켜 변을 통한 총지방 및 cholesterol 배설을 촉진시켜 혈청 및 간지질 함량을 낮추는 효과를 보고(32)한 점으로 보면, 버섯균사체에서 식이섬유의 증가는 좋은 영향을 줄 것으로 판단된다.

버섯균사체의 CP 함량은 각각 21.83-28.79%로서 모든 버섯에서 착즙박 20.32%보다 비슷하거나 증가하는 경향을 보였다. 버섯균사체의 NDF 및 ADF 함량은 각각 11.94-17.67% 및 11.0-14.09%로서 표고버섯을 제외한 모든 버섯균사체에서는 착즙박보다 그 함량이 증가하는 경향을 보였다.

버섯균사체의  $\beta$ -glucan 함량은 9.43-13.69%로서 착즙박과 비슷하거나 조

금 감소하는 경향을 보였는데, 아가리쿠스버섯에서  $\beta$ -glucan 함량은 추출방법에 따라서 19.03-32.34%이었다는 보고(84)보다는 그 함량이 낮았다.

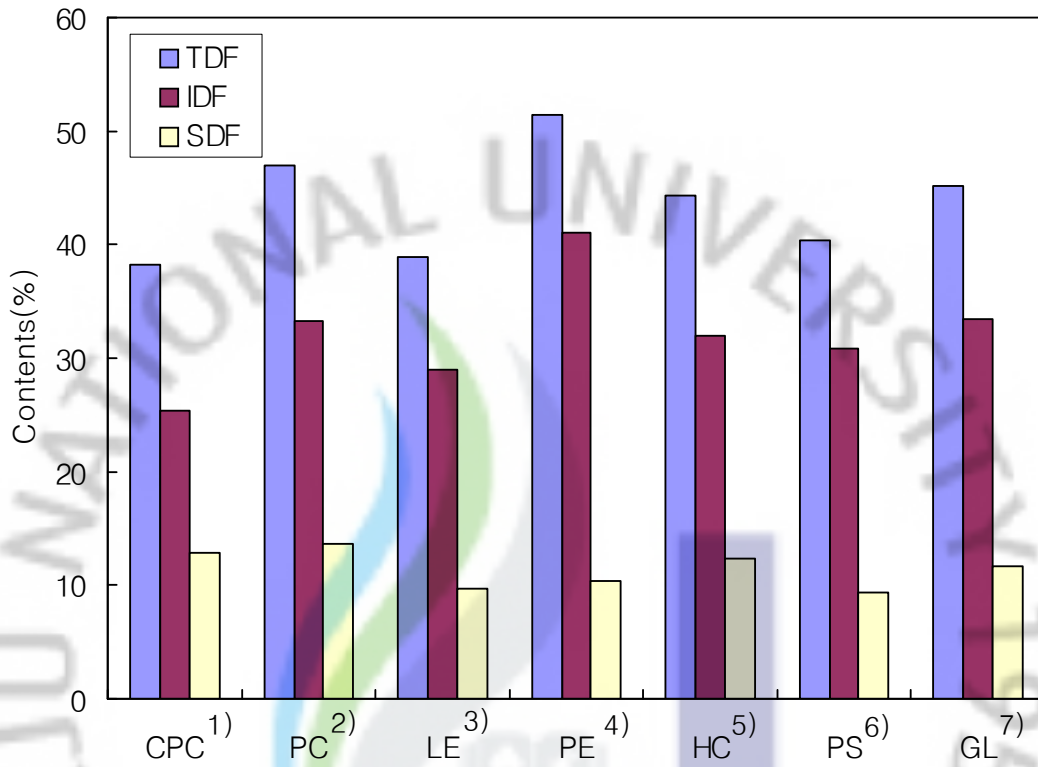


Fig. 4. Total dietary fiber contents in citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia (dry basis, %).

<sup>1)</sup> Citrus press cake

<sup>2)</sup> *Pycnoporus coccineus*

<sup>3)</sup> *Lentinus edodes*

<sup>4)</sup> *Pleurotus eryngii*

<sup>5)</sup> *Hericium coralloides*

<sup>6)</sup> *Panellus serotinus*

<sup>7)</sup> *Ganoderma lucidum*

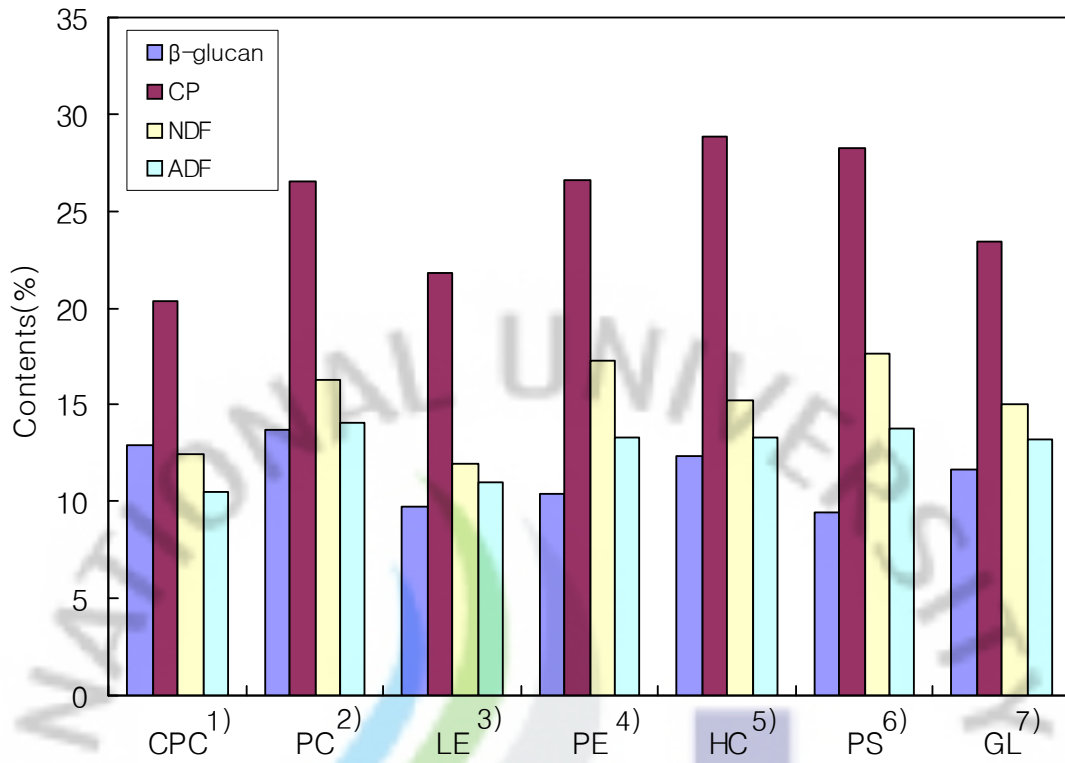


Fig. 5.  $\beta$ -Glucan and dietary fiber contents in citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia (dry basis, %).

<sup>1)</sup>Citrus press cake

<sup>2)</sup>*Pycnoporus coccineus*

<sup>3)</sup>*Lentinus edodes*

<sup>4)</sup>*Pleurotus eryngii*

<sup>5)</sup>*Hericium coralloides*

<sup>6)</sup>*Panellus serotinus*

<sup>7)</sup>*Ganoderma lucidum*

## 5. 총 polyphenol 및 항산화성

버섯균사체의 총 polyphenol 함량 및 항산화성 실험 결과는 Table 8에 나타내었다.

총 polyphenol은 착즙박에서의 함량이 18.94 mg%에 비하여 모든 버섯균사체에서 8.01–20.28 mg%로서 그 함량이 비슷하거나 대부분 감소하였다. 착즙박 중의 총폴리페놀 함량은 미숙감귤분말에서 16.3–21.7 mg%라고 보고(19)한 바와 비슷하였다. 버섯균사체 1 g을 100 mL로 추출하여 측정된 결과 총 polyphenol이 8.01–20.28 mg%이므로, 새송이버섯 15 g을 추출하여 150 mL로 정용한 후 총 polyphenol을 측정된 결과 387 mg%라는 보고(75) 및 구름버섯에서 0.058 g/100 g, 영지버섯에서 chlogenic acid를 표준물질로 하여 측정된 결과 0.097 g/100 g이라는 보고(78)에 비하면 그 함량이 낮았으며 이는 사용한 표준물질의 차이에 기인한 것으로 판단된다. Chi 등(85)은 Folin–Denis방법(67)을 이용하여 총폴리페놀 함량을 계산할 때 사용하는 폴리페놀 표준물질에 따라 총폴리페놀 함량의 차이가 있으므로 페놀 표준물질의 선택에 있어서 신중한 선택이 필요한 것으로 보고하고 있다.

버섯균사체의 EDA는 14.73–39.62%로서 새송이버섯균사체를 제외한 모든 버섯균사체에서 착즙박 34.31%보다 감소하는 경향을 보였으며, 영지버섯균사체에서 10.97%로서 가장 작게 나타났다. 새송이버섯 12종류의 80% methanol 추출물 1% 용액의 EDA는 15.45–31.78%라는 보고(85)와 비교하여 보면 본 실험에서는 균사체 배양물 시료 1 g을 물 100 mL로 추출하여 EDA 실험을 하였으므로 추출물 함량이 5%로 판단하여도 추출물로는 0.05% 용액으로 실험한 것이 된다. 따라서 이 실험에서 0.05% 추출물의 EDA는 Chi 등(85)의 1% 추출물의 EDA와 비슷하게 나타났으므로 항산화 효과가 매우 큰 것으로 판단된다. NSA는 pH 1.2의 경우 새송이버섯균사체를 제외한 모든 버섯균사체에서 착즙박 38.35%보다 작게 나타났다. 새송이버섯 5 g을 물 1 L로 80°C 4 h 추출한 경우의 NAS는 pH 1.2에서  $26.21 \pm 2.22\%$ 라고 보고(86)하였다.



Table 8. Total polyphenol contents, electron donating abilities and nitrite scavenging activities of mushroom mycelia cultivation products in citrus press cake

	CPC <sup>1)</sup>	PC <sup>2)</sup>	LE <sup>3)</sup>	PE <sup>4)</sup>	HC <sup>5)</sup>	PS <sup>6)</sup>	GL <sup>7)</sup>
Total polyphenol (dry basis, mg%)	18.94 <sup>a</sup> ±2.27	10.91 <sup>b</sup> ±0.28	15.27 ±0.15	20.28 <sup>a</sup> ±0.07	8.01 <sup>c</sup> ±0.31	8.23 <sup>c</sup> ±0.06	9.55 <sup>bc</sup> ±0.03
<sup>8)</sup> EDA (%)	34.31 <sup>a</sup> ±0.28	27.82 <sup>a</sup> ± 1.11	27.74 <sup>a</sup> ± 5.99	39.62 <sup>a</sup> ± 1.03	14.73 <sup>b</sup> ± 2.69	17.78 <sup>b</sup> ± 4.37	10.97 <sup>b</sup> ± 0.64
pH 1.2	38.35 <sup>a</sup> ±2.36	30.55 <sup>bc</sup> ± 3.11	26.66 <sup>b</sup> ± 0.88	36.61 <sup>ac</sup> ± 3.10	25.67 <sup>b</sup> ± 3.72	24.82 <sup>b</sup> ± 0.73	26.16 <sup>b</sup> ± 1.52
<sup>9)</sup> NSA (%) pH 3.0	28.77 <sup>a</sup> ±1.33	23.89 <sup>b</sup> ± 1.30	17.50 <sup>c</sup> ± 1.08	25.22 <sup>ab</sup> ± 2.43	18.28 <sup>c</sup> ± 0.17	15.09 <sup>c</sup> ± 0.22	15.44 <sup>c</sup> ± 2.85
pH 6.0	4.98 <sup>a</sup> ±1.56	3.36 <sup>ab</sup> ± 0.76	1.36 <sup>bc</sup> ± 0.49	2.31 <sup>bd</sup> ± 1.01	0.32 <sup>cde</sup> ± 0.20	0.89 <sup>cdf</sup> ± 0.02	2.62 <sup>bef</sup> ±0.80

<sup>1)</sup>Citrus press cake

<sup>2)</sup>*Pycnoporus coccineus*

<sup>3)</sup>*Lentinus edodes*

<sup>4)</sup>*Pleurotus eryngii*

<sup>5)</sup>*Hericium coralloides*

<sup>6)</sup>*Panellus serotinus*

<sup>7)</sup>*Ganoderma lucidum*

<sup>8)</sup>electron donating abilities

<sup>9)</sup>nitrite scavenging activities

The value are mean ± S.D. of 3 replications.

The same superscripts in the same row are not significantly different at p<0.05.

본 연구에서는  $36.61 \pm 3.10\%$ 로 높게 나타났으나, 이는 시료 1 g을 물 100 mL로 추출하였기 때문에 항산화물질의 농도가 2배 증가한 차이 및 감귤박 자체의 항산화활성 때문으로 판단된다. 감귤 농축액을 첨가한 배지에서 배양한 *Ganoderma lucidum*, *Cordyceps militaris* 균사체 추출물의 라디칼 소거활성이 증가하였으며, 항균활성도 조금 증가하였다(38)고 보고하고 있어, 버섯균사체의 배양에 착즙박은 좋은 재료가 될 것으로 판단된다.

## 6. ACE 저해율

농약 중에 유기인계 및 카바메이트계는 ACE(acetylcholine esterase)저해활성이 있어서(13), ACE 저해율을 측정하여 엽경채소류 중의 농약 잔류량을 신속하게 검사하는데도 사용되고 있다. 시료로 사용한 감귤착즙박 및 버섯균사체의 농약 잔류량을 간편하게 검사할 목적으로 ACE저해율을 측정하였으며, 그 결과를 Table 9에 나타내었다. 통감귤의 ACE 저해율은 27.05-30.20%를 나타내어 비슷한 수준으로 나타났으나, 외피의 경우 41.35%로서 매우 높게 나타났다. 착즙박의 경우는 37.37%로 통감귤보다 많으나 외피보다 작은 값을 나타냈다. 여기서 ACE 저해율은 감귤 중의 외피 비율이 높을수록 증가하는 것으로 보인다. 버섯균사체의 ACE 저해율은 14.47-24.60%로서 착즙박보다 감소하는 현상을 나타내었다. ACE 저해활성이 20%이상이면 농약 잔류량이 있는 것으로 의심이 되므로 GC/MS분석 후 NIST 및 PMW Mass Library와 비교하여 정밀분석을 하였으나 잔류 농약 성분은 확인되지 않았다. 이 결과로 볼 때 ACE 저해활성을 측정하여 감귤 및 감귤착즙박으로 재배한 버섯균사체에서의 농약 잔류량을 스크린하는 방법으로는 부적당하다고 판단된다. 한편 ACE 저해물질은 알츠하이머병(Alzheimer's disease)의 치료에 사용되어 왔으며, 현재 알츠하이머병에 대한 유일한 효과적인 치료방법은 ACE 저해 물질을 사용하여 콜린계를 목표로 하는 것(87)이라고 보고한 점으로 보면, 알츠하이머병의 치료에 사용할 수 있을 것으로 기대된다. 감귤착즙박을 이용하여 재배한 버섯균사체에서도 ACE 저해활성이

20% 정도 나타난다는 점은 다른 배지로 재배한 버섯균사체와는 차별이 가능할 것으로 판단된다.

Table 9. Inhibition rate of acetylcholine esterase of citrus powder, and citrus press cake before and after cultivation with mushroom mycelia (%)

	<sup>1)</sup> CPC	<sup>2)</sup> PCU	<sup>3)</sup> MCU	<sup>4)</sup> CUP			
Inhibition rate of ACE	37.37 <sup>a</sup> ±2.19	30.20 <sup>ab</sup> ±1.08	27.05 <sup>b</sup> ±3.95	41.35 <sup>a</sup> ±2.35			
	<sup>1)</sup> CPC	<sup>5)</sup> PC	<sup>6)</sup> LE	<sup>7)</sup> PE	<sup>8)</sup> HC	<sup>9)</sup> PS	<sup>10)</sup> GL
Inhibition rate of ACE	37.37 ±2.19	22.86 <sup>a</sup> ±1.49	19.00 <sup>ab</sup> ±3.21	24.60 <sup>a</sup> ±0.81	19.07 <sup>ac</sup> ±2.57	18.62 <sup>ad</sup> ±2.13	14.47 <sup>bcd</sup> ±3.36

<sup>1)</sup>citrus press cake

<sup>2)</sup>prematured *Citrus unshiu*

<sup>3)</sup>matured *Citrus unshiu*

<sup>4)</sup>*Citrus unshiu* peel

<sup>5)</sup>*Pycnoporus coccineus*

<sup>6)</sup>*Lentinus edodes*

<sup>7)</sup>*Pleurotus eryngii*

<sup>8)</sup>*Hericium coralloides*

<sup>9)</sup>*Panellus serotinus*

<sup>10)</sup>*Ganoderma lucidum*

The value are mean± S.D. of 3 replications.

The same superscripts in the same row are not significantly different at p<0.05.

## 7. 휘발성 물질

휘발성 물질을 분석하는 방법으로는 시료를 수증기 증류하여 회수한 시료를 GC/MS로 분석하는 방법이 보통이다. 이들 방법은 순수한 향기성분 분석에는 적합하나 향기성분 이외에 배지인 감귤착즙박 성분의 버섯균사체로 전이되는 생리성분들을 확인하는 방법으로 Luke 등(12)의 용매추출에 의한 분석방법을 사용함으로써 향기성분과 생리성분들을 한번에 간단하게 검출할 수 있었다.

감귤분말 및 버섯균사체의 휘발성 물질을 분석한 결과는 Table 10 및 Table 11과 같다. 감귤 분말에서 확인된 휘발성 성분은 총 29종류이었다. 완숙감귤에서 가장 많은 20종류가 검출되었으며, 착즙박에서 그 종류가 12로서 가장 작았다. 검출된 성분들은 대부분 sesquiterpene hydrocarbons이었으며, 휘발성이 강한 monoterpene들은 검출되지 않았다. 온주감귤에서 검출된 정유성분 구성분의 종류 수는 과실이 성숙함에 따라 점차 감소하는 경향을 보였다고 하였는데 (6), 여기서는 정유성분 종류의 수가 미숙과나 완숙과에서 비슷하여 다르게 나타났다. 이는 감귤들을 분말화하면서 초음파 가열건조과정에서 휘발성이 강한 정유성분이 대부분 손실된 원인 때문으로 판단된다. 검출 성분들 중에서  $\delta$ -elemene,  $\beta$ -elemene,  $\beta$ -caryophyllene, caryophyllene,  $\gamma$ -elemene, germacrene-D 및  $\delta$ -cadinene은 감귤류의 essence oil에서 검출된다는 보고(6,7,88-92)와 일치하고 있다. 그러나 감귤류에서 검출됨이 보고된 linalool(6,7,88,89,92)은 검출되지 않았으며, 8-hydroxy-linalool이 검출되었다. 또한  $\alpha$ -selinene(6,7)대신에  $\beta$ -selinene이 검출되었으며, tetradecan, tetradecanal 및 pentadecan (88,89) 대신에 산화형태인 tetradecanoic acid와 pentadecanal이 검출되었다. 특이한 점은 휘발성이 강한 성분들이 검출되지 않는 대신에 acetone 용매로 추출된 휘발성이 없는 4',5,6,7,8-pentamethoxyflavone(tangeretin), 3',4',5,6,7,8-hexamethoxyflavone(nobiletin), 및 stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, 3 $\beta$ -(stigmasterol)이 검출되었는데, tangeretin 및 nobiletin의 total ion chromatograms는 Fig. 6에 나타내었다.

Table 10. Volatile compounds of citrus powder prepared from prematured *Citrus unshiu*, matured *Citrus unshiu*, *Citrus unshiu* peel and citrus press cake by GC/MS

		(Area %)			
Retention Time	Component	PCU <sup>1)</sup>	MCU <sup>2)</sup>	CUP <sup>3)</sup>	CPC <sup>4)</sup>
5.49	Tetramethyl-1-benzoyloxy-4,5-dihydropyrido(1,2-A) azepine-2,3,4,5-tetracarboxyla	1.42	N.D. <sup>5)</sup>	N.D.	N.D.
5.50	Benzoic acid	N.D.	2.23	N.D.	N.D.
5.98	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-	0.78	3.23	N.D.	N.D.
6.69	Phenol, 4-ethenyl-2-methoxy	1.52	2.00	0.69	1.36
7.02	$\delta$ -Elemene	2.26	N.D.	3.55	0.51
7.22	8-Hydroxy-linalool	N.D.	0.47	N.D.	N.D.
7.49	$\beta$ -Elemene	6.08	4.67	11.57	1.31
7.81	$\beta$ -Caryophyllene	1.70	N.D.	N.D.	N.D.
7.89	Caryophyllene	0.88	0.54	0.75	N.D.
7.99	$\gamma$ -Elemene	0.58	0.27	1.02	N.D.
8.68	Germacrene-D	2.41	0.96	5.25	N.D.
8.77	$\beta$ -Selinene	1.17	0.88	N.D.	0.27
9.14	Calarene	N.D.	N.D.	N.D.	0.34
9.23	$\delta$ -Canene	1.38	1.12	2.06	N.D.
9.88	Hedycaryol	N.D.	N.D.	4.21	N.D.
13.70	Tetradecanoic acid	N.D.	0.92	N.D.	N.D.
16.97	Ferulic acid	N.D.	2.71	N.D.	N.D.
19.00	Hexadecanoic acid	19.85	25.80	15.65	29.87
22.22	Ethyllinoleate	N.D.	17.96	N.D.	26.74
23.10	2-Hexadecen-1-ol,3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R',R'-(E)]]-	1.20	N.D.	N.D.	N.D.
30.47	Pentadecanal	N.D.	N.D.	0.46	N.D.
36.03	(3-Deuterium)- $\gamma$ -tocopheryl methyl ether	N.D.	13.06	26.36	N.D.
36.60	Vitamin E	8.04	N.D.	N.D.	8.81
37.55	4',5,6,7,8-Pentamethoxyflavone	5.12	6.27	23.91	2.23
38.37	Ergost-5-en-3 $\beta$ -ol	8.25	10.19	N.D.	20.99
39.06	Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3 $\beta$ ,22E)-	3.98	5.03	4.51	6.53
39.50	$\gamma$ -Sitosterol	32.91	N.D.	N.D.	N.D.
40.80	Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, 3 $\beta$ -	N.D.	0.81	N.D.	N.D.
41.79	3',4',5,6,7,8-Hexamethoxyflavone	1.47	0.90	N.D.	1.03

<sup>1)</sup>Prematured *Citrus unshiu*.

<sup>2)</sup>Matured *Citrus unshiu*.

<sup>3)</sup>*Citrus unshiu* peel.

<sup>4)</sup>citrus press cake.

<sup>5)</sup>Not Detected.

Table 11. Volatile compounds of mushroom mycelia cultivated with citrus press cake by GC/MS

		(Area %)					
Retention Time	Component	PC <sup>1)</sup>	LE <sup>2)</sup>	PE <sup>3)</sup>	HC <sup>4)</sup>	PS <sup>5)</sup>	GL <sup>6)</sup>
5.85	Benzofuran, 4,7-dimethyl-	N.D. <sup>7)</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.52
6.69	Phenol, 4-ethenyl-2-methoxy	N.D.	N.D.	3.15	N.D.	N.D.	N.D.
6.90	Limonene-1,2-epoxide	3.65	N.D.	13.70	18.61	35.02	30.28
7.01	Decanoic acid	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	5.13
7.49	$\beta$ -Elemene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	38.43	37.09
7.79	Phenol, 3,4-dimethoxy-	N.D.	N.D.	0.39	N.D.	N.D.	N.D.
7.89	Caryophyllene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.64
8.68	Germacrene-D	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	5.23
9.11	2,6-Dimethylbenzaldehyde	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.33
9.23	$\delta$ -Cadinene	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4.57	6.77
13.70	Tetradecanoic acid	N.D.	N.D.	N.D.	6.37	N.D.	N.D.
16.90	3,4-Benzocycloundec-3-ene-1,5-diyne	3.77	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
19.00	Hexadecanoic acid	56.66	90.05	22.51	N.D.	21.97	7.00
21.50	Heptadecanoic acid	N.D.	N.D.	N.D.	5.87	N.D.	N.D.
22.22	Ethyllinoleate	N.D.	3.07	N.D.	N.D.	N.D.	1.99
29.34	1,2-Benzenedicarboxylic acid,dicyclohexyl ester	5.13	N.D.	7.63	N.D.	N.D.	N.D.
36.03	(3-Deuterium)- $\gamma$ -tocopheryl methyl ether	2.08	6.89	N.D.	7.82	N.D.	N.D.
39.50	(3 $\beta$ ,24S)-Stigmast-5-en-3-ol	28.70	N.D.	52.62	61.34	N.D.	N.D.

<sup>1)</sup> *Pycnoporus coccineus*

<sup>2)</sup> *Lentinus edodes*

<sup>3)</sup> *Pleurotus eryngii*

<sup>4)</sup> *Hericium coralloides*

<sup>5)</sup> *Panellus serotinus*

<sup>6)</sup> *Ganoderma lucidum*

<sup>7)</sup> Not Detected.

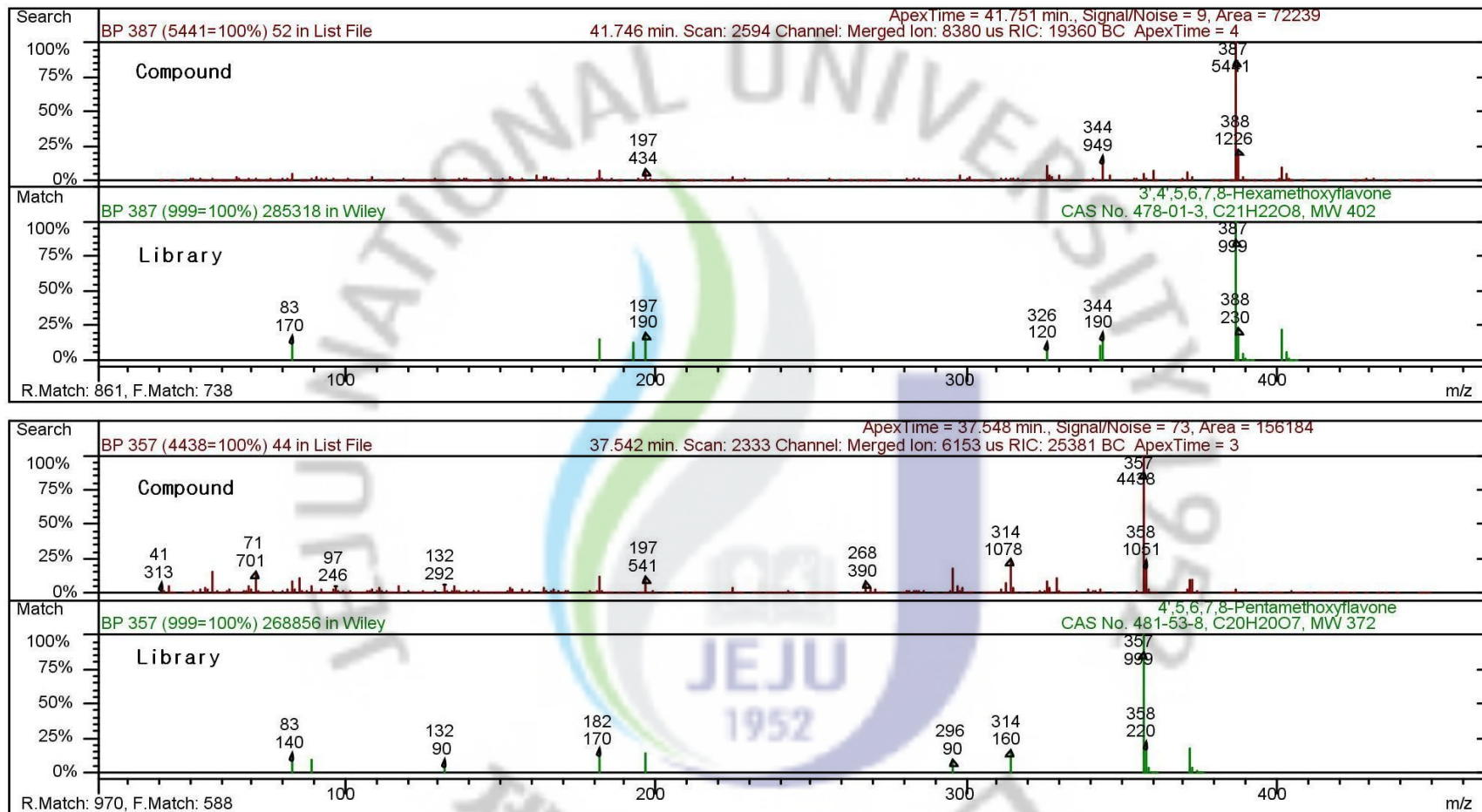


Fig. 6. Total ion chromatograms of hexamethoxyflavone and pentamethoxyflavone compounds identified from the dry powder prepared from citrus press cake by GC/MS.

Stigmasterol에 관한 문헌으로는 버섯(36,40), 종려의 일종인 *serenea repens*의 열매(93), 콩기름(94) 및 감귤뿌리(95)에서 보고되었으며, 콜레스테롤의 흡수를 억제하고 혈중 콜레스테롤의 농도를 낮추어 심혈관계 질환을 방지하는 역할을 한다고 보고(89)되고 있으나, 감귤에서의 보고는 없는 실정이다. Tangeretin 및 nobiletin은 제주도 온주밀감 중의 성분으로 보고(96)된 것이 추출과정에서 일부 추출되어 나타난 것으로 판단되며, 이들의 분석법으로는 지금까지 HPLC법을 주로 사용하는 것으로 알려져 있으나, 미량을 분석할 경우 GC/MS에 의한 분석방법도 가능할 것으로 판단된다.

버섯균사체 분말에서 검출된 휘발성 성분들은 18종이었으며, 영지버섯에서 10종으로 가장 많은 종류가 검출 되었으나, 버섯의 주성분인 1-octen-3-ol은 검출되지 않았다. 이는 열풍건조에 따라 소실되며 저장기간에 따라서도 감소한다는 보고(8-10)와 비슷한 결과라고 볼 수 있다. 검출된  $\beta$ -elemene, germacrene-D 및  $\delta$ -cadinene은 버섯이나 균사체에서 보고되지 않은 것으로 보아 균사체 배지로 사용한 착즙박에서 유래한 것으로 판단된다. Limonene이 감귤(6) 및 검은비늘버섯(8)에서 검출되는 것이 보고된 점으로 보아, 검출된 limonene-1,2-epoxide는 이들이 산화한 형태라고 판단되며, caryophyllene 및 hexadecanoic acid는 감귤 및 버섯(8,10)에서 동시에 보고된 성분이다. Decanoic acid 및 tetradecanoic acid가 검출되는 것은 Jung and Hong(10)의 보고와 일치하였다. 이 외에도 ethyllinoleate, 1,2-benzenedicarboxylic acid, dicyclohexyl ester 및 (3 $\beta$ ,24S)-Stigmast-5-en-3-ol( $\gamma$ -sitosterol)이 검출되었다. 버섯에서 linoleic acid를(97) 1,2-benzenedicarboxylic acid 및 butylethylester(8)를,  $\beta$ -sitosterol를(36) 보고한 것으로 보아, 이들이 초음파 가열건조 중에 변화된 것으로 보인다.



## 요 약

감귤착즙박의 활용가능성을 검토하기 위하여 감귤착즙박을 주성분으로 하는 버섯배양배지를 만들고 간, 표고, 새송이, 산호침, 참부채 및 영지버섯 균을 접종하여 균사체 제품을 만들었다. 만들어진 균사체배양물은 착즙박에 비하여 대체적으로 조희분은 증가하였으나, 총산, 환원당, 조단백질 및 조지방은 착즙박과 함량이 비슷하거나 일부 감소하는 경향을 보였다. 대부분의 버섯균사체 중 유기산의 함량은 착즙박의 함량과 비슷하거나 감소하는 경향을 보였으나 새송이버섯에서는 착즙박의 2.7배 이상 유기산의 함량이 증가하였다. 버섯균사체 중 fructose는 9.20-11.06%로서 착즙박보다 증가하는 경향을 보였으나, 새송이버섯에서는 2.65%로서 함량이 매우 감소하였으며, glucose의 경우는 모든 버섯균사체에서 그 함량이 착즙박보다 매우 감소하는 경향을 보였는데, 산호침버섯 및 참부채버섯에서 감소하는 현상이 더욱 심하였다. 버섯균사체 중 sucrose는 착즙박의 함량보다 감소하는 경향을 보였는데, 간버섯과 새송이버섯에서 감소현상이 심하였다. 버섯균사체의 narirutin 함량은 448.7-933.0 mg%로서 대부분 착즙박에 비하여 비슷하거나 약간 감소하는 경향을 보였으나, hesperidin의 함량은 3,020-4,981 mg%로서 간버섯 및 영지버섯을 제외하면 착즙박보다 25.89-52.61% 증가하여 농축되는 현상을 나타내었다. 버섯균사체 중 TDF 함량은 38.87-51.49%, NDF 함량은 11.94-17.67%, ADF 함량은 11.00-14.09%로서 대부분 착즙박의 함량과 비슷하거나 증가하는 현상을 보였다. 버섯균사체의  $\beta$ -glucan 함량은 9.43-13.69%로서 착즙박과 비슷하거나 조금 감소하는 경향을 보였다. 총 polyphenol은 모든 버섯균사체에서 8.01-20.28 mg%로서 그 함량이 비슷하거나 대부분 감소하였다. 버섯균사체의 EDA 및 NSA는 새송이버섯균사체를 제외한 모든 버섯균사체에서 착즙박보다 감소하는 경향을 보였다. 통감귤의 ACE 저해율은 27.05-30.20%를 나타내어 비슷한 수준으로 나타났으나, 외피의 경우 41.35%로서 매우 높게 나타났으며, 버섯균사체의 ACE 저해율은 14.47-24.60%로서 착즙박 37.37%보다 감소하는 현상을 나타내었다. 모든 시료를 GC/MS분석 후

NIST 및 PMW Mass Library와 비교하여 정밀분석을 하였으나 잔류 농약 성분은 확인되지 않았다. 감귤 분말에서 휘발성 물질은 29종류이었는데,  $\delta$ -elemene,  $\beta$ -elemene,  $\beta$ -caryophyllene, caryophyllene,  $\gamma$ -elemene, germacrene-D 및  $\delta$ -cadinene은 감귤류의 essence oil 중의 성분들이었으나 8-hydroxy-linalool,  $\beta$ -selinene, tetradecanoic acid 및 pentadecanal은 essence oil 중의 성분들이 변화한 것이었다. 이외에도 tangeretin, nobiletin, 및 stigmasterol이 검출되었다. 버섯균사체 분말에서 검출된 휘발성 성분들은 18종이었으며,  $\beta$ -elemene, germacrene-D 및  $\delta$ -cadinene은 버섯이나 균사체에서 보고되지 않은 것으로 보아 균사체 배지로 사용한 착즙박에서 유래한 것으로 판단된다. Caryophyllene, hexadecanoic acid, decanoic acid 및 tetradecanoic acid는 버섯이나 균사체의 성분들이었으나, limonene-1,2-epoxide, ethyllinoleate, 1,2-benzenedicarboxylic acid, dicyclohexyl ester 및 (3 $\beta$ ,24S)-stigmast-5-en-3-ol( $\gamma$ -sitosterol)은 감귤이나 버섯 균사체에서 보고되지 않은 성분들이 검출되었다.

## 참 고 문 헌

1. Song EY, Choi YH, Kang KH, Koh JS. Free sugar, organic acid, hesperidin, naringin and inorganic elements changes of cheju citrus fruits according to harvest date. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 306-312 (1998)
2. Monforte M, Torvato A, Kirjavainen S, Forestieri AM, Galati EM. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (note II): Hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. Farmaco. 50: 595-599 (1995)
3. Cha JY, Kim SY, Jeong SJ, Cho YS. Effects of hesperidin and naringenin on lipid concentration in orotic acid treated mice. Korean J. Life Science 9: 389-394 (1999)
4. Sohn JS, Kim MK. Effects of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. Korean J. Nutr. Soc. 31: 687-696 (1998)
5. Kim MK, Chung HS. Effect of dietary fibers isolated from tangerine peels on lipid and cadmium metabolism in the rat. Korean J. Nutr. Soc. 30: 229-243 (1997)
6. Kim YK, Hyun SW, Ko YH. Analysis of essential oils from the peel of Mandarine (*Citrus unshiu* Marc. Var. Okitsu). Korean J. Food Sci. Technol. 31: 1178-1183 (1999)
7. Lee HY, Hawer WD, Shin DH, Chung DH. Analysis the aroma constituents of Korean mandarin (*Citrus reticula*) and orange juices by capillary GC and GC/MS. Korean J. Food Sci. Technol. 19: 346-353 (1987)
8. Yoon HS, Oh EH, Joo SJ, Kim KS, Jeong EK, Chang WB, Kim SJ. Aroma characteristics of *Pholita adiposa* (Geumbongi) with different drying methods. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 553-557 (2004)

9. Jung ST, Hong JS. Volatile components of oyster mushrooms (*Pleurotus sp.*) cultivated in Korea. Korean J. Mycol. 19: 299–305 (1991)
10. Jung ST, Hong JS. Changes of volatile components of *Pleurotus sajor-caju* during storage. Korean J. Mycol. 19: 292–298 (1991)
11. Kim JS. MRLs for Pesticides in Foods. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea (2005)
12. Luke M.A., Doose G.M., Masumoto H.T. Improved multiresidue gas chromatographic determination of organophosphorus, organonitrogen, and organohalogen pesticides in produce, using flame photometric and electrolytic conductivity detectors. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64: 1187–1195 (1981)
13. Helen M. Thompson. Esterase as Markers of exposure to organophosphates and carbamates. J. Ecotoxicology 8: 369–384 (1999)
14. Lee CH. A thesis for the degree of master of engineering. Cheju National University. Jeju, Korea (1994)
15. Lee HY, Seog HM, Nam YJ, Chung DY. Physico-chemical properties of Korean mandarin orange juices. Korean J. Food Sci. Technol. 19: 338–345 (1987)
16. Chang HM, Nam KE, Hur JH. Studies on the utilization of Korean citrus peel waste. Korean J. Food Sci. Technol. 9: 251–254 (1977)
17. Chung SK, Kim SH, Choi YH, Song EY, Kim SH. Status of citrus fruit production and view of utilization in Cheju. Food Industry and Nutrition 5: 42–52 (2000)
18. Korea Food and Drug Administration. The Korean pharmacopoeia. 8th ed., 1480–1481 The Yakup Shinmoon, Seoul, Korea (2002)
19. Kang YJ, Yang MH, Ko WJ, Park SR, Lee BG. Studies on the major components and antioxidative properties of whole fruit powder and

- juice prepared from premature mandarin orange. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 783–788 (2005)
20. Ko WJ, Yang MH, Kang YJ. Studies on deacidification of premature citrus juices by electrodialysis. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 202–208 (2006)
21. Kim JW, Jeon YJ, Lee JH, Lee SC. Effect of far-infrared irradiation and heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus pomaces. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 49: 60–64 (2006)
22. Matsubara Y, Kumamoto H, Lizuka Y, Murakami T, Okamoto K, Miyake H, Yokoi K. Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in *Citrus unshiu* peelings. J. Agric. Biol. Chem. 49(4): 909–914 (1985)
23. Iio M, Masaru T, Wanami, Yoshikatsu. Flavonoids as a possible preventive of dental carries. J. Agric. Biol. Chem. 48(8): 2143–2145 (1984)
24. Edward GM, Andrea PG, Anne MC, William HB, Shin H, Luke KT. Citrus limonoids as inhibitors of oral carcinogenesis. J. Food Technol. 48: 110–114 (1994)
25. Satoru K, Yasuhio T, Eriko K, Kazunori O, Masamichi Y. Antiproliferative effects of the readily extractable fractions prepared from various citrus juices on several cancer cell lines. J. Agric. Food Chem. 47: 2509–2512 (1999)
26. Cha JY, Cho YS. Biofunctional activities of citrus flavonoids. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 44: 122–128 (2001)
27. Alessandra B, Cuvelier ME, Richard H, Claudette B. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. J. Agric. Food Chem. 46: 2123–2199 (1998)
28. Nyman M, Schweizer TF, Tyrene S. Fermentation of vegetable fiber in the intestinal tract of rats and effects on fecal bulking and bile

- acid. J. Nutr. 120: 459–466 (1990)
29. Ebihara K, Schneeman O. Interaction of bile acids, phospholipids, cholesterol and triglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats. J. Nutr. 119: 1100–1006 (1989)
  30. Albrink MJ, Newman T, Davidson PC. Effect of high- and low-fiber diets on plasma lipids and insulin. Am, J. Clin. Nutr. 32: 1486–1491 (1974)
  31. Donald BH, Valery TM, John CL, Bruce K, Virgil B, Wm James H, Frank JD, Robert R. Hypocholesterolemic effects of a dietary fiber supplement. Am, J. Clin. Nutr. 59: 1050–1054 (1994)
  32. Kim MY, Chung HS. Effect of dietary fibers from tangerine peels on lipid and cadmium metabolism in the rat. Korean J. Nutrition Sci. 30: 229–243 (1997)
  33. Myrna ON, Philip ES. Comparison of volatile flavor components in fresh and processed orange juices. J. Agric. Food Chem. 38: 1048–1052 (1990)
  34. Lee TS. The full list of recorded mushroom in Korea. Korean J. Mycol. 18: 233–259 (1990)
  35. Lee BW, Kim TJ, Choi SH, Im GH, Yoo MY. Physical properties of the dietary fiber prepared from *Lentinus edodes* mycelia. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 147–150 (1995)
  36. Kim BK, Choi HK. Sterol composition of *Panellus serotinus* (Pers. : Fr.) Kuhn. (Abstract No 2). In Abstracts: Proceedings of the Eleventh Scientific Meeting. November 5, Korea Advanced Institute of Science, Seoul, Korea. The Korean Society of Biochem. Seoul, Korea (1976)
  37. Ryu IL, Kim JE, Lee KS. Ganoderma of spingolipids by submerged culture of *ganoderma lucidum* and cutaneous hydration effect. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 655–661 (2004)

38. Kim MC, Kim MJ, Kim T, Park GT, Son HJ, Kim GY, Choi WB, Oh DC, Heo MS. Comparison of antibacterial and antioxidants activities of mushroom mycelium culture extracts cultivated in the citrus extracts. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 21: 72–78 (2006)
39. Kong WS, Kim SJ, Park JS, Hahn SJ, Chung JM. Evaluation and selection of antioxidative activities of 80 collected and mated mushroom strains. *J. Food Sci. Biotechnol.* 13: 689–693 (2004)
40. Chung IM, Kong WS, Lee OK, Park JS, Ateepue A. Cytotoxic chemical constituents from the mushroom of *Pholiota adiposa*. *J. Food Sci. Biotechnol.* 14: 255–258 (2005)
41. Kwon SK, Kim CN, Kim CY, Kwon ST, Park KM, Hwangbo S. Antitumor activities of protein-bound poly saccharide extracted from mycellia of mushroom. *Korean J. Food Nutr.* 16: 15–21 (2003)
42. Hong JS, Lee KR, Kim YH, Kim HD, Kim MK, Kim YS, Yeo KY. Volatile flavor compounds of Korean *Lentinus edodes*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 20: 606–612 (1988)
43. Picardi SM, Issenberg P. Investigation of some volatile constituents of mushroom (*Agaricus bisporus*): Changes which occur during heating. *J. Agric. Food Chem.* 21: 959–962 (1973)
44. Cronin DA, Ward MK. The characterization of some mushroom volatiles. *J. Sci. Food Agric.* 22: 477–480 (1971)
45. Macleod AJ, Panchasara SD. Volatile aroma contents particularly glucosinolate products of cooked dried mushroom. *Phytochemistry* 22: 705–709 (1983)
46. Bae WC, Kim YS, Lee JW. Bioactive substances from *Ganoderma lucidum*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 33: 75–83 (2005)
47. Ringler RL, Byerrum RU, Steven TA, Clark PP, Stock CC. Studies on the antitumor substances produced by basidiomycetes. *J. Antibiot. Chemother* 7: 1–5 (1957)

48. Sugiura T and Ito H. Toxicological studies of *Ganoderma lucidum* karst. Tokyo Yakka Daigak, Kenkyu Mempo. 27: 722–725
49. Kim YS, Bae WC, Park JM, Lee JW, Baek SJ, Lee SB, Yoon KY. Prospective effects of  $\beta$ -immunan isolated from the mycelium of *Ganoderma lucidum* IY 009 against cisplatin induced nephrotoxicity. Korean J. Microbiol. Sci. Biotechnol. 32: 271–276 (2004)
50. Hirotani M, Furuya T. Changes of the triterpenoid patterns during formation of the fruit body in *Ganoderma lucidum*. Phytochemistry 29: 3767–3771 (1990)
51. Lin SB, Lee Ch, Lee SS, Kan LS. Triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest. Life Sci. 72: 2381–2390 (2003)
52. Park JH, Kang MS, Kim HI, Chung BH, Lee KH, Moon WK. Study on immuno-stimulatin activity of  $\beta$ -glucan isolated from the cell wall of yeast mutant *saccharomyces cerevisiae* IS2. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 448–492 (2003)
53. Song JY, Yoon KJ, Yoon HK, Koo Sj. Effects of  $\beta$ -glucan from *Lentinus edodes* and *Hordeum vulgare* on blood glucose and lipid composition in alloxan-induced diabetic mice. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 802–807 (2001)
54. Lee BW, Im GH, Kim DW, Park KM, Son SH, Shon TH. Cultural characteristics and pilot scale fermentation for the submerged mycelial culture of *Letinus edodes*. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 21: 609–614 (1993)
55. Lee SY, Kang TS. Production conditions and characterization of the exo-biopolymer produced by submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* mycelium. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 24: 111–118 (1996)



56. Chi JH, Ha TM, Kim YH, Rho YD. Studies on the main factors affecting the mycelial growth of *Phellinus linteus*. Korean J. Mycology 24: 214–222 (1996)
57. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 15th ed. Method 934.01 Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA (1990)
58. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 15th ed. Method 984.13 Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA (1990)
59. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 15th ed. Method 954.02 Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA (1990)
60. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 15th ed. Method 940.26 Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA (1990)
61. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426–428 (1959)
62. McAllister JW. Methods for determining the quality of citrus juice. pp. 291–300. In: Citrus Nutrition and Quality. Nagy S, Attaway JA (eds). American Chemical Society, Washington, DC, USA (1980)
63. Kang YJ, Rhee KC. Deacidification of mandarine orange juice by electro dialysis combined with ultrafiltration. Nutraceuticals and Food 7: 411–416 (2002)
64. Prosky L, Asp NG, Furda I, Dervries JW, Schweizer TF, Harland BF. Determination of total dietary fiber in foods and food products. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68: 677–679 (1985)
65. Van Soest PT, Wine RH. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell–wall constituent. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 50: 50–55 (1967)

66. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 15th ed. Method 962.09 Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA (1990)
67. Folin O, Denis W. On phosphotungstic–phosphomolybdic compounds as color reagents. J. Biol. Chem. 12: 239–243 (1912)
68. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. J. Nature 181: 1199–1200 (1958)
69. Gray J, Dugan JR. Inhibition of N–nitrosamine formation in model system. J. Food Sci. 40: 981–985 (1975)
70. Mikaya A, Zaikin V, Little J, Zhu D, Clifton C, Sparkman D. NIST/EPA/NIH Mass spectral library. Ver. 2.0a, U.S. Department of Commerce, Washington DC, USA (2005)
71. Pflieger K, Maurer HH, Weber A. Mass spectral and GC Data of drugs, poisons, pesticides, pollutants, and their metabolites. 2nd ed., VCH verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, Federal Republic of Germany (1992)
72. Fred W, McLafferty. The Wiley registry of mass spectral data. 7th ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA (2000)
73. SPSS. SPSS for Windows Release 10.0.7, 1st ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey (2000)
74. Lee SK, Yoo YJ, Kim CS. Studies on the chemical components in *Ganoderma lucidum*. Korean J. Food Sci. Technol. 21: 890–894 (1989)
75. Ahn MS, Kim HJ, Seo MS. Physicochemical characteristics of ethanol extracts from each part of the *Pleurotus eryngii*. Korean J. Food Culture 21: 297–302 (2006)
76. Choi MA, Park NY, Woo SM, Jeong YJ, Shin SR. Characteristics of *Hericium erinaceus* and its extracts. Korean J. of Food Preservation 10: 560–564 (2003)

77. Kim TY, Hong JS, Kim MK, Oh KC. Changes in the contents of general compositions and free sugars of oyster mushrooms. Korean J. Agric. Chem. Soc. 32: 14–22 (1989)
78. Cha EJ, Hwang YJ, Kim SU. Studies on physiological functionality proposal of *Coriolus versicolor* Quel and *Ganoderma lucidum* Karst. Korean J. of Human Ecology 7: 31–46 (2004)
79. Hong JS, Choi YH, Yun SE. Studies on the cellulolytic enzymes produced by *Ganoderma lucidum* in synthetic media. Korean J. Mycology 14: 121–130 (1986)
80. Kim HK, Park YH, Cha DY, Chung HC. Studies on the artificial cultivation of *Letinus edodes* on sawdust media. Korean J. Mycology 15: 42–47 (1987)
81. Park GL, Avery SM, Byers JL, Nelson DB. Identification of bioflavonoids from citrus. J. Food Technol. 37: 98–105 (1983)
82. Satoru K, Tomono Y, Katase E, Ogawa K, Masamichi Y. Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits. J. Agric. Food Chem. 47: 3565–3571 (1999)
83. Kim YC, Koh KS, Koh JS. Changes of some flavonoids in the peel of satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) harvested during maturation. J. Agric. Chem. Biotechnol. 43: 143–146 (2001)
84. Hong JH, Youn KS, Choi YH. Characteristics of crude protein-bound polysaccharide from *Agaicus baasie* Murill by extraction and precipitation conditions and its antitumor effect. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 586–593 (2004)
85. Chi HY, Kim KY, Kong WS, Kim SL, Kim JA, Chung IM, Kim JT. Antioxidant activity and total phenolic compounds of *P. eryngii* spp. extracts. Korean J. Crop Sci. 50: 216–219 (2005)
86. Yoon SR, Lee MH, Kim HK, Lee GD. Change in functional properties by extraction condition of roasted *Pleurotus eryngii*. Korean J. Soc.

- Food Sci. Nutr. 35: 262–270 (2006)
87. Oh MH, Houghton PJ, Whang WK, Cho JH. Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. J. Phytomedicine 11: 544–548 (2004)
88. Choi HY. Character impact odorants of Citrus Hallabong [(*C. unshiu* Marcov × *C. sinensis* Osbeck) × *C. reticulata* Blanco] cold-pressed oil. J. Agric. Food Chem. 51: 2687–2692 (2003)
89. Choi HY, Sawamura M. Effect of storage conditions on the composition of *Citrus tamurana* Hort. ex Tanaka (*Hyuganatus*) essential oil. J. Biosci. Biotechnol. Biochem. 66: 439–443 (2002)
90. Choi HY, Kondo Y, Sawamura M. Characterization of the odor-active volatiles *Citrus hyuganatsu* (*Citrus tamurana* Hort. ex Tanaka). J. Agric. Food Chem. 49: 2404–2408 (2001)
91. Song HS, Sawamura M, Ito T, Ukeda H. Chemical compositions of the volatile part of yuzu (*Citrus junos* Tanaka) peel cold-pressed oils from Japan and Korea. J. Flavour Fragr. 14: 383–389 (1999)
92. Song HS, Sawamura M, Ito T, Kawashimo K, Ukeda H. Quantitative determination and characteristic flavour of *Citrus junos* (yuzu) peel oil. J. Flavour Fragr. 15: 245–250 (2000)
93. Fedrica V, Pennisi C, Tomaino A, Bonina F, Pasquale A, Saija A, Tita B. Effect of a standardized extract of red orange juice on proliferation of human prostate cells *in vitro*. J. Fitoterapia 77: 151–155 (2006)
94. Penny MK, Kari DH, Andrea B, Stacie MC, Amy EB, Kirsten FH, Amy EG. Bioactive compound in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. American J. Medicine 113: 71S–88S (2002)
95. Storey R, Walker RR. Citrus and salinity. J. Scientia Horticulturae 78: 39–81 (1999)

96. Kim YC. Changes of flavonoid contents in Cheju *Citrus* during maturation. A thesis for the degree of master of science. Cheju National University. Jeju, Korea (2000)
97. Lee MH, Lee HJ, Cho IS. Chemical compositions of *Agaricus blazei* Murill fruiting bodies cultivated in a Korean local farm. Korean J. Food Hyg. Safety 13: 94–98 (1998)



## 감사의 글

다른 학교에서 학부를 마치고 직장생활을 하면서 제주대학교에서 늦게 시작한 학위과정을 하는 동안 석사과정부터 지금까지 부족한 저에게 아낌없는 격려와 논문을 세심하게 바로 잡아주신 강영주 지도교수님께 충심으로 감사드립니다. 바쁘신 일정에도 불구하고 시간을 내어 심사위원장을 맡아주시면서 많은 조언을 아끼지 않으신 김수현 교수님, 훌륭한 논문이 될 수 있도록 도와주신 하진환 교수님, 고영환 교수님께 깊은 감사의 말씀을 드립니다. 아울러 몸이 불편하시고 어려우신 가운데서도 선뜻 심사위원을 승낙하시고, 일일이 논문을 수정하여 주시고 도움을 주신 고정삼 교수님에게 깊은 감사드립니다. 그리고 평소 많은 가르침과 충고를 하여주신 임상빈 교수님, 학위과정 중에 애정어린 충고와 지도를 하여주신 송대진 교수님, 김재하 교수님께 감사드립니다.

이 연구를 수행할 수 있도록 버섯균사체 시료를 제공하여 주신 박승림 선생님, 많은 실험과 자료정리 등 이루 말할 수 없는 노력을 함께 한 양민호 조교에게 특별히 감사드립니다.

본 연구가 이루어지도록 진학 기회를 주시고 지원하여 주신 보건환경연구원 고용구 전 원장님과, 항상 관심을 가지고 같이 해주신 김성홍 원장님, 늦은 밤이나 휴일 일찍 보건환경연구원에 출근하여 논문작업을 하여도 불편한 내색을 보이지 않고 항상 관심을 가지고 용기를 주신 모든 직원 여러분들께 고마운 말씀을 전합니다.

이렇게 많은 분들의 도움으로 이 논문이 무사히 마무리 된 것 같습니다.

지금은 고인이 되셨지만, 오늘의 나를 있게 해주신 아버님, 옆에서 관심을 가지고 지켜봐주신 어머님, 장인어른, 장모님께도 머리 숙여 감사드립니다.

끝으로 늘 옆에서 직장생활에 어려운 집안일을 도맡아 하면서 지성으로 내조해 온 사랑하는 아내 미자, 같이 놀아주지도 못하고 지내다보니 어느덧 수험생이 되어버린 귀여운 딸 소정, 고등학교에 진학하게 되는 멋진 아들 재영에게 부족하지만 이 작은 논문을 바칩니다. 이 작은 결실이 있기까지 도움을 주신

모든 분들께 다시 한번 고마운 말씀을 드리면서 항상 건강하시고 행복하십시오.

