

셀레늄 강화 팽이버섯과 폐배지의 셀레늄 형태 및 팽이버섯내 셀레늄 축적대사에 관한 연구

이성훈* · 곽완섭** · 김완영*

한국농업전문학교 축산학과*, 건국대학교 축산학과**

Studies on the Selenium Type and Metabolism of Selenium Accumulation in the Selenium-Enriched Mushroom, *Flammulina Velutipes*, and Its Spent Mushroom Composts

S. H. Lee*, W. S. Kwak** and W. Y. Kim*

Department of Animal Science, Korea National Agricultural College, RDA, Suwon, Korea*,

Department of Animal Science, Konkuk University, Chungju, Korea**

ABSTRACT

This study was conducted to determine the total amount and type of selenium (Se) in the Se-enriched mushroom and its spent mushroom composts (SMC), and to investigate the metabolism in relation to Se accumulation in the mushroom. Mushrooms, *Flammulina velutipes*, used in this study were grown for 60 days by adding 2 mg of inorganic Se (Na_2SeO_3) per kg of mushroom composts (MC) on as-fed basis and were compared with normal mushrooms grown on the non Se-supplemented MC.

Total Se contents for Se-treated mushrooms were significantly increased ($P < 0.0001$) by 20-fold ($4.51 \mu\text{g/g}$ of dry) compared to Se-untreated ($0.23 \mu\text{g/g}$ of dry). On the contrary, organic Se ratio was significantly lower ($P < 0.0001$) in the Se-treated mushroom (72.3 %) than the Se-untreated one (100 %, not analytically detected of inorganic Se). Se distribution upon a length in the Se-treated mushrooms was the highest in the bottom part ($6.86 \mu\text{g/g}$ of dry) near to MC, and top and middle parts were significantly lower (3.71 and $3.01 \mu\text{g/g}$ of dry, respectively; $P < 0.001$) than the bottom. In the SMC from Se-treated mushrooms, the significant amount of Se ($5.04 \mu\text{g/g}$ of dry) was remained, but that from the Se-untreated mushrooms was significantly low ($P < 0.0001$) as $0.08 \mu\text{g/g}$ of dry. Se-treated SMC showed a high ratio of organic Se (65.67 %), suggesting that the significant amount of inorganic Se in the SMC was converted to organic Se by mushroom mycelia. Prior to mycelia inoculation in the mushroom culture, the sterilization of MC brought approximately 18 % of Se loss in the MC. Apparent and net accumulation rates (%) for Se into mushrooms were 14.81 and 10.14 %, respectively, resulting from the Se volatilization into the air via metabolic process of mushroom itself.

The result of this study shows that inorganic Se addition to MC for mushroom improved the organic Se contents in the mushroom and SMC. This study showed the possibility that Se in Se-enriched mushroom and SMC could be utilized as Se sources of food for human as well as feed for livestock.

(Key words : Selenium, Mushrooms, Spent mushroom composts, Selenium type, Metabolism)

Corresponding author : W. Y. Kim, Department of Animal Science, Korea National Agricultural College, Suwon 445-893, Korea. Tel : +82-31-229-5032, Fax : +82-31-229-5055. E-mail : wykim@rda.go.kr

I. 서 론

셀레늄(Se)은 생체 내 필수미량원소(Schwarz와 Foltz, 1957)로서 항산화작용 뿐만 아니라 갑상선호르몬의 활성화 및 세포의 산화환원에 관여하는 여러 가지 셀레늄함유단백질의 구성성분이다(Rayman, 2000). 셀레늄은 세포 내에서 stop codon인 UGA를 SeCys으로 특이하게 해독하는 과정에서 삽입되고, seryl-tRNA에 의해 생물학적 기능을 가지는 셀레늄함유단백질(selenoprotein)이 합성된다(Berry 등, 1993; Stadtman, 1996). 최근 셀레늄은 노화, 암, 바이러스성 감염 등과 같은 각종 질병의 예방 및 치료에 효과가 있는 것으로 밝혀지면서(Rayman, 2000) 현대인들의 셀레늄에 대한 관심이 증가하게 되었다. 하지만, 셀레늄은 지리적인 영향으로 세계 대다수의 인구가 식품을 통한 충분한 량의 셀레늄을 섭취하지 못하는 것으로 알려져 있다. 또한, Combs (2001)는 약 5~10억의 인구가 1일 셀레늄권장량(50~200 µg)을 섭취하지 못하는 것으로 추정하였다.

식품 중 셀레늄의 화학적 형태는 다양하고, 일반적으로 황아미노산의 황의 위치에 셀레늄이 치환되어서 합성되는 무기태셀레늄(SeMet, SeCys, SeCys₂ 등)이 체내 축적 및 이용률에 효과적인 것으로 보고되고 있다(Patterson 등, 1989; Swanson 등, 1991). 대부분의 식물성 및 동물성 식품에 존재하는 셀레늄은 단백질과 결합된 유기형태로 존재하고, 셀레늄함유배지에서 배양한 미생물체 내에서도 여러 가지의 셀레늄함유아미노산이 합성된다(Schrauzer, 1998a; Schrauzer, 1998b). 기존의 식품에 셀레늄을 강화하기 위한 시도는 여러 연구자들에 의해 제시된 바 있고, 이들 식품 내에 존재하는 셀레늄의 화학적 형태 및 주요 셀레늄함유아미노산은 식품 소재별로 다양하다(Combs, 2001).

한편, 본 연구에서는 팽이버섯을 대상으로 셀레늄강화버섯을 시도하였는데, 버섯은 대형 곰팡이에 속하는 미생물로서, 버섯을 재배하는 배지에 무기태셀레늄을 첨가한 후, 버섯균사

가 자실체로 성장하는 동안, 배지 내 셀레늄은 버섯 자실체로 전이가 일어나 셀레늄강화버섯이 만들어지는 것으로 알려져 있다(Van Elteren 등, 1998; Stefánka 등, 2001). 버섯에는 다량의 단백질이 함유되어 있어서 이들 단백질의 황아미노산에 셀레늄이 치환되어 유기태셀레늄으로 전환된다. 그러나, 셀레늄강화버섯의 셀레늄조성에 대하여, 생물학적 이용률이 높은 무기태셀레늄비율과 셀레늄함유아미노산에 대한 정보가 지금까지 명확하게 알려져 있지 않다. 최근 버섯산업의 성장과 더불어 버섯이 대량 생산됨에 따라, 버섯재배 부산물로서 파생하는 폐배지(spent mushroom compost, SMC)가 다량으로 발생하고 있다. 버섯 폐배지는 버섯 1 kg을 생산하는데 5 kg정도 발생하고(Semple 등, 2001), 그대로 폐기하면 심각한 환경오염의 문제가 생길 수 있으므로 이들의 재활용방안의 모색이 필요하다(Chiu 등, 2000; Williams, 2001). 여러 연구자들은 폐배지를 농업용 퇴비 및 산업용 유해물질 분해효소로 재활용하여 그 유용성을 보고한 바 있다(Wuest와 Fahy, 1992; Murray와 Jenkins, 1997; Lau 등, 2003). 또한, Steinkraus (1983)가 버섯 폐배지는 섬유질이 풍부하고 버섯균사 및 다양한 효소들이 존재하여 가축사료로서의 잠재적인 가능성을 보고하였다. 더욱이, Lee 등(2004)은 셀레늄강화버섯 폐배지에는 버섯으로 전이하지 못한 상당량의 셀레늄이 잔여 버섯 균사(70%의 균사잔류)에 의해 무기태셀레늄으로의 전환이 일어나고, 가축의 사료로 이용될 경우 체내 이용률이 우수한 셀레늄 급원이 될 수 있는 것으로 보고하였다.

따라서 본 연구는 버섯을 키우는 배지에 무기태셀레늄을 첨가하여 셀레늄강화버섯을 생산하고, 인체 및 가축의 셀레늄급원으로서 버섯과 폐배지에 대한 각각의 셀레늄함량 및 유·무기형태 그리고 버섯 내에서 일어나는 셀레늄축적대사를 구명하기 위하여 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 버섯 재배

셀레늄강화버섯과 일반버섯을 재배하기 위해 경기도 안성소재 팽이버섯 농장 2곳을 선정하였다. 셀레늄강화버섯은 본 실험 실시 전 배지 내 무기태셀레늄 수준별 검정을 통한 버섯의 셀레늄 축적능력과 버섯 내 유효수준의 셀레늄함량을 토대로 하여, 버섯배지의 2 ppm (2 mg Se/배지 kg)에 해당하는 무기태셀레늄 [sodium selenite (Na_2SeO_3), Sigma Chemicals, Co., Inc.]을 첨가하여 팽이버섯(*Flammulina velutipes*)을 재배하였고, 일반버섯은 무기태셀레늄을 처리하지 않았다. 버섯을 키우는 배지의 원료 성분 및 배지 내 셀레늄함량은 Table 1에 나타내었다.

두 농장의 1일 제조 배지량은 각각 8.64톤 (원물기준)이었고, 배지의 원료를 교반기에 투입한 후, 4시간 동안 교반하였다. 그리고 배지의 수분함량을 65%로 조절하고, 배지에 처리되는 셀레늄급원으로는 Na_2SeO_3 를 사용하였으며, 이를 초순수증류수에 녹여 수돗물과 함께 배지에 고르게 섞이도록 분사하였다. 배지의

제조가 완성되면, 720 mL 용량의 polypropylene bottle에 자동입병기를 사용하여 약 570 g씩 충전하고, 배지 중앙에 직경 15 mm의 구멍을 뚫은 후 뚜껑을 닫아, 121 °C에서 90분간 가압 멸균하였다. 그 다음날 팽이버섯종균 10~12 g을 접종하여 20 °C에서 배양하고, 배양이 끝나면 균근기를 하여 12 °C, 습도 90%로 조절된 발이실(發枳室)에서 초발이(初發枳)를 유도하였다. 버섯이 5~10 mm 정도 자랐을 때 3~4 °C에서 7~8일간 생육을 억제시키면서 버섯의 고른 발생을 유도하였다. 그 후 생육실로 옮겨 버섯이 병위로 2~3 cm 정도 자랐을 때 종이봉지를 씌워서 7~8 °C에서 수확기까지 생육시켰다.

2. 시료 채취 및 조사항목

배지의 셀레늄함량을 분석하기 위해 원료가 배합된 배지는 버섯종균 접종을 위한 멸균 전후로 각각 시료를 채취하여 총 셀레늄함량을 분석하였다. 버섯의 수확은 자실체의 성장이 완성되는 시기로서 버섯재배시작 후 60일이 경과되면 수확하였다. 수확한 후 얻어지는 팽이버섯과 폐배지 시료는 3명(3반복)의 버섯과 폐

Table 1. Ingredients and Se contents of mushroom composts

Items	Treatments	
	Se-untreated composts	Se-treated composts
Ingredients, as-fed basis		
Sawdust, %	20	20
Rice bran, %	12	12
Corn cob, %	6	6
Dried soybean curd residue, %	2	2
Se, mg / kg ¹⁾	-	2
Tap water, %	60	60
Se content, DM basis		
Se, mg / kg ²⁾	0.13	5.84

¹⁾ While all ingredients of the mushroom composts are mixed in the formulator, Se was added as Na_2SeO_3 solution corresponding to 2 mg of Se per mushroom compost (kg) with tap water.

²⁾ After the formulation of all ingredients, Se contents in mushroom composts were analyzed prior to the sterilization to inoculate mushroom mycelia.

배지를 각각 무게를 측정한 후, 일정량씩 채취하여 셀레늄분석을 위해 동결건조하였고, 셀레늄처리버섯은 부위별 셀레늄분포도를 알아보기 위하여, 팽이버섯체의 길이 기준(버섯의 총 길이: 약 15 cm)으로 3등분(상단부, 중간부, 하단부: 각 5 cm)하여 각각 동결건조한 후, 총 셀레늄함량을 분석하였다. 균질화 된 버섯개체와 폐배지는 총 셀레늄함량과 무기태 셀레늄을 분석하여 유기태셀레늄비율을 조사하였다.

또한, 상기의 분석을 통해 얻어진 실험결과를 토대로 버섯체내로 전이되는 셀레늄의 축적율을 조사하였으며, 셀레늄축적율은 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{외관상 셀레늄축적율 (\%)} = \frac{(\text{멸균후 배지내 셀레늄함량} - \text{폐배지내 셀레늄함량})}{\text{멸균후 배지내 셀레늄함량}} \times 100$$

$$\text{순수 셀레늄축적율 (\%)} = \frac{\text{버섯내 셀레늄함량}}{\text{멸균후 배지내 셀레늄함량}} \times 100$$

3. 분석 방법

(1) 분석 준비

시료로 채취한 버섯과 폐배지는 총 셀레늄과 유기 및 무기태셀레늄 정량을 위해 -75 °C에서 24시간 동결 후, 동결건조기(Labconco, Model 74070; Kansas City, MO)에서 3일간 건조하여 수분을 완전히 제거하였다. 건조된 팽이버섯과 폐배지는 분쇄기(Woonam, Ltd., Korea)를 이용하여 0.25 mm 이하로 미세하게 분쇄하여 셀레늄 정량에 사용하였다.

총 셀레늄정량은 Stijve(1977)의 방법에 따라 산소플라스크를 이용하여 산소플라스크연소법(oxygen flask combustion method)으로 연소시킨 후, AOAC방법(1995)으로 분석하였고, 무기태셀레늄정량은 3,3'-diaminobenzidine법(Ariyoshi 등, 1960)으로 분석하였다.

(2) 총 셀레늄 분석

총 셀레늄 함량은 백금 holder가 부착된 산소 플라스크(주문제작, 500 mL Pyrex제질, 엘지이화학기제작소, Korea)를 이용하여 정량하였고, 플라스크에 70% 질산(nitric acid, Sigma Chemicals, Co., Inc.)을 초순수증류수(DDW: doubled distilled water, 18.3 MΩ·cm)로 30배(v/v) 희석시킨 용액 25 mL를 넣고, O₂로 3분간 과도하게 포화시킨 다음, 백금 holder에 시료를 투입한 후 점화하였다. 시료의 연소로 플라스크에 생성되는 연기가 외부로 누출되지 않고 모두 포집되도록 플라스크 stopper로 점화 후 즉시 밀폐시켰다. 이때 시료 내 유기태셀레늄(selenoamino acids)과 무기태셀레늄(selenite 및 selenate) 모두 원소상 셀레늄(elemental Se)으로 전환되었고, 플라스크 내 연기가 없어질 때 까지 실온에서 30분간 방치하였다. 플라스크 내부가 맑아지면, 셀레늄이 포집된 질산용액을 10 mL의 DDW로 세척하여 100 mL 비이커로 옮겼다. 비이커로 옮겨진 용액은 hot plate에서 끓기 시작한 후 10분 동안 가열하였다. 가열이 끝나면 실온에서 냉각하고, 용액을 NH₄OH(NH₄OH : DDW = 1 : 1(v/v))로 희석, Sigma Chemicals, Co., Inc.)로 pH를 2 ± 0.2로 조절한 후, 250 mL 분액깔때기로 옮겼다. 옮겨진 시료용액에 2,3-diaminonaphthalene (0.1N HCl 1 mL당 1 mg, Sigma Chemicals, Co., Inc.)과 hydroxylamine HCl(0.1N HCl 1 mL당 5 mg, Sigma Chemicals, Co., Inc.)용액 5 mL를 넣어, 잘 흔들어 섞은 후, 100분 동안 실온에서 발색반응을 위해 방치하였다. 발색반응이 끝나면, cyclohexane(Aldrich Chemicals, Co., Inc.) 5 mL를 넣어 심하게 5분간 흔든 후, 5분간 층분리를 위해 실온에서 방치하였다. 층이 분리되면 상부의 cyclohexane층만을 취하여 12,000 rpm에서 3분간 원심분리하였다. 원심분리가 끝나면, 순수 cyclohexane시료만을 취하여 quartz cell(10 mm, Hellma[®])로 옮겨 spectrophotometer (Shimadzu, Japan) 380 nm에서 시료와 표준용액의 OD(optical density)값을 측정하여 총 셀레늄을 정량하였다.

(3) 무기태셀레늄 분석

무기태셀레늄은 다양한 형태로 존재하나 본 실험에서는 selenite(IV)와 selenate(VI)만 선택적으로 정량하는 방법으로 채택하였으며(Ariyoshi 등, 1960), 이 방법을 이용하여 CTAB(cetyl trimethyl ammonium bromide buffer, Table 2) 추출 동결 시료 내 존재하는 무기태셀레늄 즉, selenite와 selenate를 20% NH₄Cl(Sigma Chemicals, Co., Inc.) 30 mL와 2.5 M formic acid 2 mL를 넣어 selenite로 환원시켰다. 이후 0.1N HCl에 녹인 3,3'-diaminobenzidine(0.5%, Sigma Chemicals, Co., Inc.) 2mL와 3시간 동안 실온에서 방치하여 강렬한 황색반응물인 piaselelol을 형성시켰다. 여기에 DDW로 2배 희석한 NH₄OH(Sigma Chemicals, Co., Inc.)를 이용하여 pH를 6~7로 조정하였고, toluene(Aldrich Chemicals, Co., Inc.) 10 mL를 넣은 후 심하게 흔들었다. 형성된 piaselelol은 toluene 층으로 이동하게 되고, 상부의 toluene층만을 취하여 12,000 rpm에서 3분간 원심분리하였다. 원심분리가 끝나면, toluene시료만을 취하여 quartz cell(10 mm, Hellma®)로 옮겨 spectrophotometer (Shimadzu, Japan) 420 nm에서 시료와 표준용액의 OD 값을 측정하여 무기태셀레늄을 정량하였다.

Table 2. Cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) buffer composition

Reagents	Amounts
 L ⁻¹
CTAB (w/v)	20.000 g
Tris-HCl, pH 8	15.759 g
EDTA, pH 8	5.844 g
NaCl	81.816 g
2-mercaptoethanol (v/v)	20.000 mL

All chemicals except 2-mercaptoethanol are dissolved in DDW and then adjust pH to 8. After adjusting pH, it was autoclaved at 121°C for 15 min. 2-mercaptoethanol was finally added and then made up to 1 L volume with DDW.

(4) 유기태셀레늄비율 측정

유기태셀레늄은 동결 건조시킨 시료에 CTAB

detergent가 포함된 용액을 가하여 65 °C에서 1 시간 배양하여 세포 내용물을 용출시켰고, 추출과정과 실험절치는 Fig. 1에 나타내었다.

Fig. 1에 나타난 바와 같이, 용출된 세포 내용물을 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액만 취하고, 이를 -75 °C에 냉동한 후 동결 건조기에서 5일간 건조하였다. 유기태셀레늄비율(%)은 동결 건조시킨 CTAB 용출물 내 존재하는 무기태셀레늄과 총 셀레늄을 정량한 후, 다음식을 이용하여 구하였다.

유기태셀레늄비율 (%) =

$$\frac{(\text{CTAB용출물내 총 셀레늄} - \text{CTAB용출물내 무기태셀레늄})}{\text{CTAB용출물내 총 셀레늄}} \times 100$$

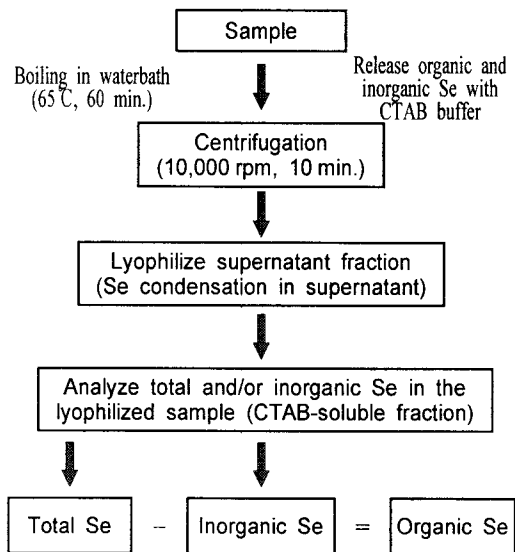


Fig. 1. Sequential procedure for the organic Se analysis in the sample.

4. 통계 분석

본 실험에서 얻어진 결과는 두 처리구(셀레늄처리구 vs 무처리구)간 비교를 위해 각 처리구에 대한 평균값과 표준오차를 토대로 SAS package program(2000, release. 8.1 ver.)의 T-test를 이용하여 통계 분석하였다. 그리고 셀레늄 처리버섯의 부위별 셀레늄함량의 비교(상단부, 중간부, 하단부)는 GLM(general linear model)

procedure의 Duncan's multiple range test를 이용하여 5% 수준에서 유의성을 검정하였다(Steel과 Torrie, 1980).

III. 결과 및 고찰

1. 버섯과 폐배지 내 셀레늄형태

팽이버섯 배지량의 2 ppm에 해당하는 무기태셀레늄(Na_2SeO_2) 첨가로 인한 셀레늄처리버섯 및 무처리버섯 그리고 각각의 폐배지내 총셀레늄 및 유기태셀레늄함량은 Table 3에 나타내었다. 셀레늄함량이 무처리버섯에 비하여 셀레늄처리버섯에서 유의하게 증가하였다($P < 0.0001$). 무처리버섯에서는 건조 g당 약 0.23 μg 의 셀레늄이 검출되었고, 셀레늄처리버섯에서는 건조 g당 4.51 μg 의 셀레늄이 검출되어 셀레늄무처리버섯에 비하여 셀레늄함량이 20배 정도 증가하였고, 유기태셀레늄비율은 셀레늄처리버섯에서 72.3%로 나타났으나, 셀레늄무처리버섯의 경우에는 무기함량이 거의 검출되지 않았으므로 대부분의 셀레늄이 유기형태로 존재하는 것으로 판단된다. 그리고, 양적인 면에서 셀레늄처리버섯이 건조버섯 g당 유기태셀레늄 함량은 3.26 μg 으로 무처리버섯의 0.23 μg 보다 현저하게 높은 것으로 나타났고($P < 0.0001$), 이러한 결과는 무기태셀레늄의 첨가로 버섯체내에서 상당량의 무기태셀레늄이 유기태셀레늄으로 전환되었음을 시사한다.

버섯은 근본적으로 토양과 공기 중 금속성 원소를 버섯 자실체로 축적하는 능력이 우수한 것으로 알려져 있고(Vetter, 1989), 그 축적 능력은 버섯의 종(species), 토양 중 원소의 함량 및 기타 원소의 상호작용에 의해 지대한 영향을 받는다(Stijve와 Besson, 1976). 버섯의 셀레늄 축적은 버섯의 종에 따라 다양하고, 그 범위는 건조버섯 kg당 0.012 ~ 20.0 mg 까지 축적되는 것으로 나타나 있으며 가장 축적 능력이 우수한 버섯은 *Boletus edulis*로 보고되었다(Stijve,

1977).

본 연구에서 무기태셀레늄의 첨가로 버섯의 셀레늄함량이 무처리버섯에 비하여 증가하였는데, Stijve와 Besson(1976)은 버섯의 축적능력면에 있어 기타 중금속성 원소(수은, 카드뮴, 납)에 비하여 셀레늄이 보다 용이하게 축적되고, 축적된 셀레늄은 버섯 체내에서 유무기형태의 셀레늄으로 존재하는 것으로 보고되고 있으며, 본 연구결과는 이러한 사실들을 뒷받침해 준다. 또한, 버섯은 무기태셀레늄을 흡수하여 생물학적 변형과정을 거쳐 셀레늄을 함유하는 단백질을 포함한 유·무기 형태의 화합물로 존재한다(Byrne와 Tu ek-Žnidarič, 1990; Lasota와 Florczak, 1991). 셀레늄은 황과 비슷한 성질을 가지고 있어서, 특히 황아미노산의 황의 위치에 셀레늄이 치환되어 셀레늄함유아미노산으로 존재하는 것으로 알려져 있고(Patterson 등, 1989; Swanson 등, 1991), 대다수의 버섯 내에는 황아미노산 중 cystine이 다량 함유되어 있다(Slejkevce 등, 2000). Stefánka 등(2001)은 양송이(*Agaricus bisporus*) 버섯 배지에 무기태셀레늄 10 ppm을 첨가한 후 생산된 버섯의 셀레늄의 조성을 평가해본 결과, 유기태셀레늄이 주로 selenocystine (SeCys_2)로 존재한다고 보고하였고, 그 함량이 37%로 비교적 낮은 유기태셀레늄비율을 보고하였다. 본 실험에서는 유기태셀레늄이 72.3%로 나타났고, Stefánka 등(2001)의 결과와는 상당한 차이를 나타내었다. 버섯 내 유기태셀레늄은 시료의 추출방법과 유기셀레늄의 형태에 따라 연구자들 간에 상당한 차이를 나타낼 뿐만 아니라, 버섯의 종과 배지 내 셀레늄의 농도에 따라서도 버섯체내 축적되는 셀레늄의 형태는 다양해진다.

따라서, 본 실험에서는 배지량의 2 ppm에 해당하는 무기태셀레늄을 첨가하여 생산된 팽이버섯으로, 다른 연구자들의 유사한 연구에서 배지에 처리한 셀레늄 농도에 비해 본 연구의 셀레늄 농도는 상대적으로 상당히 낮았고, 이에 따라 버섯 균사 및 자실체에 의한 셀레늄 유기화가 배지 내 셀레늄 농도가 높을 때 보다

는 낮은 농도에서 효율적으로 일어날 가능성이 높기 때문에 이와 같은 결과가 나타난 것으로 판단된다.

한편, 셀레늄함유아미노산의 유기태셀레늄은 인체 내 축적 및 이용률 면에 있어서 효과적인 것으로 알려져 있고, 셀레늄강화버섯의 인체 내 효과에 대해서 Mutanen(1986)은 핀란드의 젊은 여성에게 1일 150 μg 의 셀레늄을 버섯으로부터 섭취하도록 하여 4주 동안 실시한 결과, 체내 셀레늄상태를 나타내는 혈중 GSH-Px 활성도가 크게 향상되지 않았다고 보고를 하였으나, Spolar 등(1999)은 화학적으로 유도된 종양세포의 성장을 지연시켜 항암작용에 유용하게 이용될 수 있다고 보고함에 따라, 두 연구 기간에 다소 상이한 결과를 보여주었다. 이에 따라 버섯 내 셀레늄의 인체 내 효용면에 있어서 섭취하는 소비자들에게 보다 확실한 신뢰감을 주기 위해서는 더 많은 임상연구가 이루어져야 하겠다.

하지만, 본 연구에서 생산된 셀레늄강화팽이버섯을 식품으로서 세계보건기구(WHO, 1996)에서 제시한 최소 셀레늄권장량 45 μg 을 감안하여 섭취한다면, 셀레늄강화버섯 원물기준(건물 함량: 9.1%) 100 g 이상을 섭취하면 최소 일일 권장량을 충족시킬 수 있을 것으로 사료된다.

한편, 대부분의 식물체는 토양이나 비료내 존재하는 매우 낮은 농도의 셀레늄에 의해서도 생육이 억제되는 것으로 알려져 있다(Gunnar 등, 1985). 본 실험에 사용된 버섯에서는 생산 수량이 셀레늄처리구와 무처리구에서 병배지 당 각각 234.86과 235.25 g으로 나타나 유의한 차이는 나타나지 않았다. 본 결과로 미루어 볼 때, 본 실험에서 처리한 무기태셀레늄의 처리 수준은 버섯의 성장저해수준이 아니었던 것으로 판단되고, 또한, 버섯을 포함한 미생물이 식물체보다 셀레늄에 대한 내성이 강한 것으로 보인다.

셀레늄처리버섯 폐배지의 총 셀레늄함량은 Table 3에서 나타난 바와 같이 건조 g 당 5.04 μg 을 나타내어 무처리버섯 폐배지의 0.08 μg

보다 유의하게 높았다($P < 0.0001$). 그리고 무처리 버섯 폐배지의 무기태셀레늄 함량은 버섯에서와 마찬가지로 검출되지 않아, 폐배지 내 존재하는 셀레늄이 모두 유기태셀레늄인 것으로 평가되었다. 반면, 셀레늄처리 버섯 폐배지는 버섯 체내로 이행하지 못한 잔여 셀레늄이 상당량 존재하였으며, 셀레늄처리버섯 폐배지의 무기태셀레늄과 유기태셀레늄은 각각 건조 g 당 각각 1.73과 3.31 μg 으로 무처리 버섯 폐배지 보다 유의하게 높은 값을 나타내었다($P < 0.0001$).

셀레늄처리버섯 폐배지의 총 셀레늄 중 유기태셀레늄의 비율은 65.67%로 높게 나타났기에, 폐배지 내 존재하는 상당량의 무기태셀레늄이 버섯근사에 의해서도 유기태셀레늄으로 전환이 일어난 것으로 사료된다. 이상과 같이 셀레늄처리 폐배지에서 유기태셀레늄이 상당량 존재하여, 가축의 사료로 이용할 시, 체내 이용률 및 축적률이 우수한 유기태셀레늄 급원으로서의 충분한 가치가 있을 것으로 생각된다. 특히 Lee 등(2004)의 연구보고에 의하면, 셀레늄강화버섯 폐배지를 이용하여 셀레늄수준별(사료 중 0.1, 0.3, 0.6 및 0.9 ppm의 셀레늄)로 사료를 배합하여 비육후기 거세한우에 급여하였을 때, 한우의 혈중 셀레늄농도 및 혈중 GSH-Px 활성이 수준별로 유의하게 증가할 뿐만 아니라 근육 및 간내 셀레늄 함량이 유의하게 증가하여 셀레늄강화버섯 폐배지내 존재하는 셀레늄이 동물체내 이용률에 있어 우수한 것으로 보고하였다.

2. 버섯부위별 총 셀레늄함량

수확한 셀레늄처리버섯의 부위별 셀레늄함량은 Fig. 2에 나타난 바와 같다. 셀레늄처리버섯의 부위별 총 셀레늄 함량은 하단부가 상단부와 중간부보다 유의하게 높았다($P < 0.001$). 즉, 배지의 영양분을 흡수하여 직접적으로 전이되는 하단부는 건조시료 g 당 6.86 μg 으로 상단부와 중간부의 3.71 및 3.01 μg 보다 약 2

Table 3. Total Se and organic Se contents in mushrooms and spent mushroom composts

Item	Treatments ¹⁾		SED ²⁾	P < ³⁾
	Se-untreated	Se-treated		
..... Mushrooms				
Total Se, $\mu\text{g/g}$	0.23 \pm 0.02	4.51 \pm 0.21	0.21	< 0.0001
Organic Se, %	100.00 \pm 0.00	72.30 \pm 0.86	0.58	< 0.0001
Inorganic Se, $\mu\text{g/g}$	ND ⁴⁾	1.25 \pm 0.06	0.06	< 0.0001
Organic Se, $\mu\text{g/g}$	0.23 \pm 0.02	3.26 \pm 0.15	0.15	< 0.0001
Net increment of organic Se, $\mu\text{g/g}$	-	3.04 \pm 0.13	-	-
..... Spent mushroom composts				
Total Se, $\mu\text{g/g}$	0.08 \pm 0.01	5.04 \pm 0.09	0.09	< 0.0001
Organic Se, %	100.00 \pm 0.00	65.67 \pm 0.92	0.86	< 0.0001
Inorganic Se, $\mu\text{g/g}$	ND	1.73 \pm 0.03	0.06	< 0.0001
Organic Se, $\mu\text{g/g}$	0.08 \pm 0.01	3.31 \pm 0.06	0.03	< 0.0001
Net increment of organic Se, $\mu\text{g/g}$	-	3.23 \pm 0.06	-	-

¹⁾ All values represent mean \pm standard error (3 replicates) and were expressed on a dry weight basis.

²⁾ Standard error of the difference.

³⁾ P-value is significantly different between treatments at a level of < 0.05.

⁴⁾ Not detected of inorganic Se, less than 2 ng / g.

배 가까이 높았고(P < 0.001), 상단부와 중간부 간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다(P > 0.05). Van Elteren 등(1998)은 radiotracer를 이용하여 양송이(*Agaricus bisporus*)의 셀레늄축적 실험을 실시한 결과, 줄기 부분 보다는 갓부위(cap)에서 셀레늄함량이 높았고, 여기에는 저분자 셀레늄화합물과 무기태셀레늄이 존재한다고 하였으며, 이러한 결과는 포자형성을 위한 갓부위의 높은 대사적 활력에 기인한다고 설명하였다.

Stijve(1977)도 Van Elteren 등(1998)과 동일한 결과를 보고하여, 본 실험결과와는 상이한 결과를 나타내었다. 본 실험에서 나타난 결과는 버섯 중에 따른 차이, 하단부의 직접적인 셀레늄 흡수용이 및 폐배지에 의한 버섯으로의 셀레늄 혼입 가능성 등으로 추론이 가능하나, 팽이버섯의 셀레늄 분포도에 대한 보고는 알려진 바가 없어 이에 대한 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

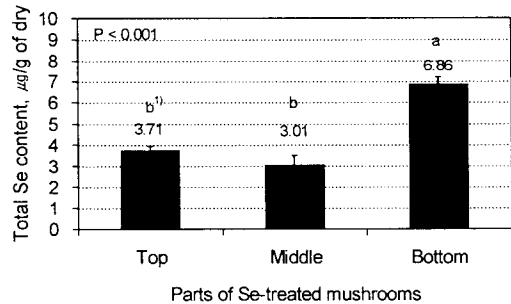


Fig. 2. Total Se content of each part by division of Se-treated mushrooms upon a length.

^{1) ab} Bars bearing different letters are significantly different(P < 0.05); vertical bars represent the standard error.

3. 셀레늄처리버섯의 셀레늄 축적대사

배지 내 2 ppm에 해당하는 무기태셀레늄을 첨가한 후 버섯종균을 접종하기 전 배지의 멸균처리로 휘발되는 셀레늄의 손실율과 버섯

내 셀레늄축적을 및 버섯체내 대사로 인한 손실율은 Table 4에 나타내었다. 배지의 고온 멸균처리로 인하여 배지 내 셀레늄은 멸균전 건조 g당 5.84 μg 이었던 것이 멸균후 4.76 μg 으로 그 손실수준은 18.43 %로 나타났다. 일반적으로 셀레늄은 열에 매우 약한 휘발성 원소로서(Aleixo와 Nóbrega, 2003), 실제 배지 내 처리한 셀레늄보다 멸균처리로 상당량의 셀레늄이 감소되었다는 것을 알 수 있다. 셀레늄원소의 열처리로 인한 손실은 온도와 가열시간에 따라 그 손실정도가 달라지는 것으로 보고되고 있으나(Foster 등, 1998), 이에 민감한 온도 범위는 정확히 알려져 있지 않다. 하지만, Foster 등(1998)은 셀레늄강화우유를 71.7 $^{\circ}\text{C}$ 에서 15초간 저온살균함으로써 우유내 셀레늄함량이 약 6.2~7.9 %로 유의하게 감소하였고, 분무건조기(inlet온도: 280 $^{\circ}\text{C}$, outlet온도: 110 $^{\circ}\text{C}$)로 19분간 건조할 경우에는 원유에 비하여 최대 44.8 %까지 감소한다고 보고하였다. 또한 Piepponen 등(1983)은 버섯을 섭취하기 전, 끓는물(100 $^{\circ}\text{C}$ 이상)에 살짝 데치면 버섯내 셀레늄 함량의 약 32 %가 손실되는 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서 버섯배지의 멸균으로 셀레늄의 손실은 상기의 연구자와 일치된 현상을 나타내었고, 기타 셀레늄강화축산물의 조

리나 사료원료의 가공에 따른 손실정도는 알려진 바가 없다. 하지만, 셀레늄은 열처리에 민감하므로 과도한 온도나 장시간의 가열은 셀레늄의 손실이 기대되므로 각별한 주의가 요구된다.

셀레늄의 버섯 내 축적율은 멸균 후 배지 내 셀레늄함량에서 폐배지 내 남아 있는 셀레늄 함량을 감하여 차지하는 비율과 멸균 후 배지의 셀레늄 함량에서 버섯 내 셀레늄이 차지하는 비율의 두 가지 방법으로 계산하였고, 두 계산에 의한 축적율은 차이가 나타났으며, 그 차이는 버섯에 의해 흡수된 셀레늄이 대사과정을 거치면서 공기 중으로 휘발되었음을 나타낸다. 즉, 본 연구에서는 버섯체내 외관상 및 순수 축적율이 각각 14.81 및 10.14 %로 평가되었고, 외관상으로 축적된 셀레늄의 4.67 %가 버섯체내 대사에 의해 공기 중으로 휘발되는 것으로 나타났다.

버섯의 축적율은 예상했던 것보다 낮았고, Stijve와 Besson(1976)은 축적율이 버섯의 생장기간과 밀접한 관계가 있다고 보고하였고, 일반적으로 야생에서 수년간에 걸쳐서 자생하는 버섯에 비해 재배버섯은 재배기간이 불과 2~3개월로 짧아서 축적이 적었던 것으로 사료된다. 또한 버섯체내 대사로 인하여 공기 중으로

Table 4. Se loss (%) in the mushroom composts after sterilization, Se accumulation rate (%) and metabolic loss in Se-treated mushrooms

Items	Se-treated ¹⁾
..... Mushroom composts	
Se content before sterilization, $\mu\text{g} / \text{g}$ of dry	5.84 \pm 0.36
Se content after sterilization, $\mu\text{g} / \text{g}$ of dry	4.76 \pm 0.23
Se loss by sterilization ²⁾ , %	18.43 \pm 0.52
..... Mushrooms	
Apparent Se accumulation, %	14.81 \pm 0.65
Net Se accumulation, %	10.14 \pm 0.18
Metabolic Se loss ³⁾ , %	4.67 \pm 0.48

¹⁾ All values represent mean \pm standard error (3 replicates).

²⁾ Se loss (%) was calculated by difference of Se content before and after sterilization of mushroom compost.

³⁾ Metabolic Se loss was calculated by difference between apparent and net accumulation rates.

회발되는 셀레늄에 대한 광범위한 연구는 실시된 바 없으나, Van Elteren 등(1998)이 최초로 셀레늄처리 양송이버섯은 성장하는 동안 약 5% 이하의 셀레늄이 회발되었다고 보고하였고, Ridley 등(1977)은 버섯균사에 의한 methylation 작용으로 SeH_2 , $\text{Se}(\text{CH}_3)_2$ 및 기타 셀레늄함유화합물이 생성되어 공기 중으로 방출될 가능성이 있다고 보고하였다. 하지만, 그 대사과정에 대해서는 상세하게 알려진 바가 없어 이에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

IV. 요약

본 연구는 버섯을 키우는 배지에 무기태셀레늄을 배지 kg 당 2mg을 첨가하여 셀레늄강화 팽이버섯을 생산하고, 인체 또는 가축의 셀레늄급원으로서 버섯과 폐배지 각각의 셀레늄함량 및 형태 그리고 버섯내에서 일어나는 셀레늄축적대사를 조사하였다.

셀레늄무처리버섯과 셀레늄처리버섯의 총 셀레늄함량은 셀레늄처리버섯이 건조 g 당 4.51 μg 의 셀레늄을 나타내어 셀레늄무처리버섯의 0.23 μg 에 비하여 약 20배 정도 증가하였다($P < 0.0001$). 그리고 유기태셀레늄비율은 셀레늄처리버섯에서 72.3%를 나타내었고, 무처리버섯은 무기태셀레늄이 검출되지 않아, 총 셀레늄 중 유기태셀레늄의 비율이 100%로 평가되었다($P < 0.0001$). 셀레늄처리버섯의 부위별 셀레늄분포는 상단부와 중간부가 각각 건조 g 당 3.71 및 3.01 μg 을 나타내었고, 배지와 가까운 하단부가 6.86 μg 으로 가장 높았다($P < 0.001$).

한편, 폐배지 내 셀레늄 함량은 셀레늄처리버섯 폐배지에서 건조 g 당 5.04 μg 으로 상당량의 셀레늄이 폐배지에 존재하였고, 무처리 폐배지에서는 0.08 μg 으로 유의하게 낮았다($P < 0.0001$). 셀레늄처리버섯 폐배지의 유기태셀레늄비율은 65.67%로 높게 나타났고, 이는 버섯재배시 첨가한 무기태셀레늄이 폐배지 내 잔여 버섯균사에 의해 상당량 유기태셀레늄으로 전환되었음을 시사한다. 버섯균 접종전 버

섯배지의 평균치리는 약 18%의 셀레늄손실을 가져왔다. 버섯체내 외관상 및 순수 셀레늄축적율은 각각 14.81 및 10.14%로 나타났다. 또한, 외관상 축적된 셀레늄의 4.67%가 버섯체내 대사에 의해 공기 중으로 회발되는 것으로 나타났다.

이상의 결과로부터 배지 내 무기태셀레늄의 첨가는 버섯 및 폐배지 내 유기태셀레늄 함량을 증가시켰다. 따라서 셀레늄강화 팽이버섯과 폐배지는 각각 인체 및 가축에 대한 셀레늄급원으로서 가치가 있을 것으로 판단된다.

V. 사 사

본 연구는 2002년 농림부 농림기술관리센터(ARPC)의 지원(과제번호: 202115-03-2-SB010)에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

VI. 인용문헌

1. Aleixo, P. C. and Nóbrega, J. A. 2003 Direct determination of iron and selenium in bovine milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 83:457-462.
2. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
3. Ariyoshi, H., Kuniwa, M. and Toei, K. 1960. UV spectrophotometric determination of trace amounts of selenium with o-phenylenediamine. *Talanta* 5: 112-118.
4. Berry, M. J., Bannu L., Harney, J. W. and Larsen, P. R. 1993. Functional characterization of the eukaryotic SECIS elements which direct selenocysteine insertion at UGA codons. *EMBO Journal* 12:3315-3322.
5. Byrne, A. R. and Tu ek-Žnidarič, M. 1990. Studies of the uptake and binding of trace metals in fungi. Part I: Accumulation and characterization of mercury and silver in the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Appl. Organomet. Chem.* 4:43-48.
6. Chiu, S. W., Law, S. C., Ching, M. L., Cheung, K. W. and Chen, M. J. 2000. Themes for mushroom exploitation in the 21st century: sustainability, waste management, and conservation. *J. Gen. Appl.*

- Microbiol. 46(6):269-282.
7. Combs, G. F. 2001. Selenium in global food systems. *Br. J. Nutr.* 85:517-547.
 8. Foster, L. H., Chaplin, M. F. and Sumar, S. 1998. The effect of heat treatment on intrinsic and fortified selenium levels in cow's milk. *Food Chem.* 62(1): 21-25.
 9. Gunnar, G. N., Umesh, C. G., Michel, L. and Tuomas, W. 1985. Selenium in soil and plant and its importance in livestock and human nutrition. *Advanced in Agronomy* 37:397-460.
 10. Lasota, W. and Florczak, J. 1991. Effect of growing conditions on accumulation of some toxic substances in mushrooms. Part II. Absorption and binding of mercury-203 by *Agaricus bisporus* Lange and *Pleurotus ostreatus* Jacq fr. *Kumm, Bromatol. Chem. Toksykol.* 24:67-71.
 11. Lau, K. L., Tsang, Y. Y. and Chiu, S. W. 2003. Use of spent mushroom compost to bioremediate PAH-contaminated samples. *Chemosphere* 52:1539-1546.
 12. Lee, S. H., Park, B. Y. and Kim, W. Y. 2004. Effects of spent composts of Se-enriched mushrooms on carcass characteristics, plasma GSH-Px activity, and Se deposition in finishing Hanwoo steers. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 46(5):799-810.
 13. Murray, I. and Jenkins, D. 1997. Assessment of spent mushroom compost resource and potential processing options for the generation of renewable energy. Final Report, Dungannon District and Monaghan County Councils.
 14. Mutanen, M. 1986. Bioavailability of selenium in mushrooms, *Boletus edulis*, to young women. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 56(3):297-301.
 15. Patterson, B., Levander, O., Helzsouer, K., McAdam, P., Lewis, S., Taylor, P., Veillon, C. and Zech, L. A. 1989. Human selenite metabolism. A kinetic model. *Am. J. Physiol.* 257:R556-R567.
 16. Piepponen, S., Liukkonen-Lilja, H., Kuusi, T. 1983. The selenium content of edible mushrooms in Finland. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 177(4):257-260.
 17. Rayman, M. P. 2000. The importance of selenium to human health. *The Lancet* 356:233-241.
 18. Ridley, W. P., Dizikis, L. J. and Wood, J. M. 1977. Biomethylation of toxic elements in the environment. *Science* 197:329-332.
 19. SAS. 2000. SAS/STAT[®] User's guide (Release 8.1 ed.). Statistics, SAS Inst, Inc., Cary, NC.
 20. Schrauzer, G. N. 1998a. Selenomethionine and selenium yeast: appropriate forms of selenium for use in infant formulas and nutritional supplements. *J. Med. Foods.* 1:201-206.
 21. Schrauzer, G. N. 1998b. Characterization of selenium yeasts for nutritional selenium supplementation. In: *Proceedings of the 6th International Symposium on the Uses of Selenium and Tellurium* (Palmieri, Y., ed.), pp. 77-79. Scottsdale, AZ.
 22. Schwarz, K. and Foltz, C. M. 1957. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.* 79:3292-3293.
 23. Semple, K. T., Reid, B. J. and Fermor, T. R. 2001. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants: a review. *Environmental Pollution* 112:269-283.
 24. Slejkovec, Z., van Elteren, J. T., Woroniecka, U. D., Kroon, K. J., Falnoga, I. and Byrne, A. R. 2000. Preliminary study on the determination of selenium compounds in some selenium-accumulating mushrooms. *Biol. Trace Elem. Res.* 75(1-3):139-155.
 25. Spolar, M. R., Schaffer, E. M., Beelman, R. B. and Milner, J. A. 1999. Selenium-enriched *Agaricus bisporus* mushrooms suppress 7,12-dimethylbenz[a]anthracene bioactivation in mammary tissue. *Cancer letters* 138:145-150.
 26. Stadtman, T. C. 1996. Selenocysteine. *Annual Review of Biochemistry* 65:83-100.
 27. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach (2nd Ed.). McGraw-Hill Book Co., New York.
 28. Stefánka, Z., Ipolyi, I., Demovics, M. and Fodor, P. 2001. Comparison of sample preparation methods based on proteolytic enzymatic processes for Se-speciation of edible mushroom (*Agaricus bisporus*) samples. *Talanta* 55:437-447.
 29. Steinkraus, K. H. 1983. Fermented foods, feeds and beverages. *Biotech. Adv.* 1:31-46.
 30. Stijve, T. 1977. Selenium content of mushrooms. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 164(3):201-203.
 31. Stijve, T. and Besson, R. 1976. Mercury, cadmium, lead and selenium content of mushroom species belonging to the genus *agaricus*. *Chemosphere* 2: 151-158.
 32. Swanson, C. A., Patterson, B. H., Levander, O. A., Veillon, C., Taylor, P., Helzsouer, K., McAdam, P. A. and Zech, L. A. 1991. Human (⁷⁴Se)selenomethionine

- metabolism: a kinetic model. Am. J. Clin. Nutr. 54:917-926.
33. Van Elteren, J. T., Woroniecka, U. D. and Kroon, K. J. 1998. Accumulation and distribution of selenium and cesium in the cultivated mushroom *agaricus bisporus* - A radiotracer - aided study. Chemosphere 36(8):1787-1798.
34. Vetter, J. 1989. Comparison of mineral elements in *agaricus* and *pleurotus* fruiting bodies. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 189:346-350.
35. Williams, B. C., McMullan, J. T. and McCahey, S. 2001. An initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock. Bioresources Tech. 79:227-230.
36. WHO (World Health Organization). 1996. Selenium. In Trace Elements in Human Nutrition and Health. pp. 105-122. Geneva WHO.
37. Wuest, P. J. and Fahy, H. K. 1992. Spent mushroom compost. Its origin, components and impact on water quality. Mushroom News, January 27-33.
- (접수일자 : 2004. 12. 1. / 채택일자 : 2005. 4. 22.)