

친환경 버섯배지에 녹차 잔류물의 처리가 새송이버섯의 생장 및 Catechin류 함량에 미치는 영향

천상욱*, 김영민¹, 윤대령²

광주시 북구 오룡동 1번지 광주과학기술원 창업기술지원센터 (주)캐러스

¹전남 나주시 노안면 동신대학교 생물자원산업화지원센터 (주)동의나라

²전남 함평군 해보면 금계리 함평버섯연구소

Effects of Green Tea Residue Treatment in Eco-Friendly Medium on Growth and Catechin Content of *Pleurotus eryngii*

Sang-Uk Chon*, Young-Min Kim¹ and Dae-Ryung Yun²

Call us Co. Ltd., TBI Center, Gwangju Institute of Science and Technology, Gwangju 500-712, Korea

¹Donguinara Co. Ltd., Biotechnology Industrialization Center, Dongshin University, Noan-Myun, Naju-Si,

Jeonnam 520-811, Korea

²Hampyung Mushroom Research Institute, Geumgye-Ri, Haebo-Myun, Hampyung-Gun, Jeonnam 525-871, Korea

Abstract - The present study was conducted to investigate the translocation of polyphenols, especially catechin derivatives, from mushroom medium mixed with green tea residues into fruiting body of *Pleurotus eryngii*. *Pleurotus eryngii* was grown on the media incorporated by mixing or surface-treated with dry materials including leaf petioles and young stems or leaves of green tea. The dry materials treated in medium did not affect plant height and fresh weight of *Pleurotus eryngii* body. From the samples of *Pleurotus eryngii*, the eight main catechin derivatives (-)-gallocatechin (GC), (+)-catechin (C), (-)-epicatechin (EC), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-gallocatechin gallate (GCG), (-)-epicatechin gallate (ECG), and (-)-catechin gallate (EGCG), and caffeine were analyzed quantitatively by HPLC. The results showed that EGC in *Pleurotus eryngii* was 45% more detected, when incorporated with the dry materials, than untreated control. Especially, content of EGCG was increased in surface-treated *Pleurotus eryngii* up to 3.2 ppm, while it was not detected or reduced in control and other treatments. Caffeine content was greatly increased regardless of treatment method, compared with control (0.1ppm), showing 44 fold-amount in *Pleurotus eryngii* at early growth stage when incorporated with the dry materials into medium. The results indicates that functional catechin derivatives of green tea would be partly translocated into *Pleurotus eryngii* through incorporation and surface treatment with residues of green tea plants.

Key words - *Pleurotus eryngii*, Green tea, HPLC, Catechin derivatives, Caffeine

서 언

생체방어, 신체리듬의 조절 등에 관계되는 기능을 생체에 대해 충분히 발현할 수 있도록 설계되며 일상적으로 섭취 가능한 식품인 기능성식품이 상품화되고 있다. 이것은 국민들의 건강에 대한 관심이 꾸준히 증가함에 따라 건강 지향적인 식품의 개발 및 판매가 활발히 진행되고 있기 때문이다. 산업사회로의 전환에 따른 환경오염이 심각해지고 현대인에게 있어서 질병이 식생

활습관 및 식품성분과 밀접한 관련이 있다고 알려지면서 질병예방과 안전성 확보는 가장 중요한 관심이 되고 있다. 실제로 우리나라의 성인병 중 당뇨병은 동물성 식품 및 지방질 섭취의 증가와 신체 활동량의 감소, 노령인구의 증가, 생활양식의 서구화 등으로 인해 크게 증가하고 있는 추세이다.

새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 분류학적으로 느타리버섯과(*Pleurotaceae*) 느타리버섯속(*Pleurotus*)에 속하며 썩은 나무 그루터기나 줄기에 부착하여 자연 서식하는 대부분의 느타리버섯과는 달리 아열대지방의 목초지 토양에서 단생 또는 다발을 이루면서 군생한다고 보고되고 있다(Jo et al., 1999). 새송이버

*교신저자(E-mail) : chonsu4100@yahoo.co.kr

섯은 육질이 치밀하고 맛이 좋고 향과 품질이 우수하므로 소비가 늘어나고 있는 실정이다(Cho et al., 2001). 국내에서 인공재배로서(Kim et al., 1997; Kang et al., 2000) 생력기계화 재배 형인 톱밥을 배지로 이용한 병재배 버섯의 생산량이 급증하였고, 생산량의 증가로 인해 과잉생산에 따른 수급 불균등이 발생하여 재배농가에서는 재정적 어려움에 직면하고 있는 실정이다.

새송이버섯의 기능성은 생체조절기능으로 질병예방, 노화억제, 항암작용 등의 약리효과가 보고되었으며(Guillen et al., 2000), 영양가치(Hong et al., 2004)는 물론 당뇨 쥐의 혈당 및 혈중콜레스테롤에 미치는 영향(Kang et al., 2001), 대장암 세포증식 및 세포사멸에 미치는 영향(Hwang et al., 2003), ACE (angiotensin converting enzyme) 저해활성(Kang et al., 2003), 항산화활성(Hui et al., 2002) 등의 보고가 있었다. 고와 이(2005)는 고지방식이를 섭취한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향에 관한 연구에서 새송이버섯 분말 첨가 급여시 흰쥐 간의 중성지질 농도, 혈청의 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수를 낮추고, 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율을 증가시키는 것으로 보고한 바 있다. 또한 김 등(2005)은 새송이버섯의 갓과 대를 분리하고 추출하여 전자공여 작용(DPPH), SOD 유사활성, Tyrosinase 저해활성, ACE 저해작용, 총페놀함량, 아질산소거작용을 측정한 결과 이들의 생리활성이 높은 것으로 평가하였다.

한편, 녹차의 기능성은 많은 연구에서 알려진 바대로 생체의 다양한 조절기능에 미치는 영향에 대한 연구가 발표되었으며 그 중 항암(Huh et al., 2004, Kei et al., 1995, Nobuyuki et al., 1993) 및 항돌연변이 작용(Kimie, 1999), 항바이러스 작용, 항균작용(Joe et al., 1997, Okuda et al., 1981, Kim and Jung 2005), 항충치균 작용(Senji et al., 1990, Simonetti et al., 2004), 항당뇨 및 심장질환 예방 효과 (Rhee 1999) 그리고 환경호르몬에 대한 효과 (Kang and Lee 1999) 등이 보고된 바 있다.

따라서 본 연구는 새송이버섯에 녹차의 기능성을 접목하여 새송이버섯의 고부가가치 증진을 위한 최적의 재배조건을 제시하고자 버섯배지에 녹차잎(엽병)과 줄기 잔류물 처리하여 새송이버섯의 생장 및 catechin류 흡수량에 미치는 영향을 검토하고자 한다. 본 연구를 통해 다양한 가공식품을 개발하여 새송이버섯의 새로운 수요 창출에 크게 기여할 것으로 기대 된다.

재료 및 방법

버섯 재배용 배지조제 및 녹차 부산물의 처리

배지의 재료로 톱밥 : 쌀겨 : 소맥피를 혼합한 배지에 건조된 잎자루(엽병)와 어린 줄기의 부산물을 분말화하여 여러 가지 조합(Table 1)으로 혼화 또는 표면 처리하였다. 제1처리는 무처리로서 녹차의 부산물이 전혀 첨가되지 않는 관행적인 배지, 제2처리는 잎자루(엽병)와 어린 줄기의 부산물을 배지에 혼화처리를 하여 제1성장기인 버섯의 발아기에 수확하여 분석하였고, 제3처리는 잎자루(엽병)와 어린 줄기의 부산물을 배지에 혼화처리를 하여 제2성장기인 생육기에 수확하여 분석하였고, 제4처리는 수확된 녹차잎을 배지에 표면처리하여 제1성장기인 발아기에 수확하여 분석하였다. 대조를 위해 건조된 녹차잎의 분말을 분석을 위해 사용하였다. 처리 및 조제된 배지에 수분을 60~70%가 되도록 균질화하여 혼합배지의 조성을 완료하였다. 조성된 혼합배지를 재배용 병에 용기의 70%인 700~800g의 혼합배지를 충진한(입병) 후 살균기에 넣어 121℃ 온도에서 4시간 동안 살균하고 20~25℃로 냉각시켰다(예냉).

균사체 배양

냉각된 혼합배지는 접종실로 옮겨서 그 동안 6~7일 정도 배양해 온 액체종균을 오염 여부를 확인한 후 접종량을 병당 13~18ml로 하고 배지표면이 완전히 피복되도록 접종하였다. 접종된 재배용 병은 균사배양단계로 접어들기 위해 실내 환경이 온도 18~20℃, 상대습도 65~68%, CO₂농도 1,500ppm으로 조절된 암실로 옮겨져 균사를 배양하였다.

버섯 병재배

균사배양이 완료되면, 균굵기와 물축이기를 거친 다음 균굵기에 의해 제거된 새로운 배지표면에 균사를 재생시켜 어린자실체의 원기를 형성시키기 위해 발아유기단계를 거친다. 발아 유기 최적조건은 온도 14~15℃, 상대습도 90% 이상, CO₂농도 1,000ppm 이하, 조도 100~200Lux로서 배양시기의 환경조건과는 달리 저온, 과습, 광조사 등 환경의 변화를 줌으로써 자극을 유도해 생식생장으로 전환시키고자 하였다. 그 후 자실체 생육에 가장 좋은 최적 환경조건으로 온도 13~14℃, 상대습도

Table 1. Treatment method used for the study

Code	Treatment
Control	No treatment
Incorp./St. I	Incorporated with petioles and stems of green tea in medium, and harvested at growth stage I
Incorp./St. II	Incorporated with petioles and stems of green tea in medium, and harvested at growth stage II
Surface/St. I	Surface-treated with green tea leaves on medium, and harvested at growth stage I
Greentea leaf	Ground green tea leaves

85% 전후, CO₂농도 800ppm 이하, 조도 150Lux로 유지해 주었으며 10일 후 수확하였다. 수확된 버섯은 각 처리에서 20개씩 취하여 자실체의 길이, 최대 줄기 직경, 그리고 개체 당 생체중을 조사하였다.

카테킨류 및 카페인 함량 분석

병재배기술 방법으로 재배된 새송이버섯은 수확하여 시료를 얻었다. Matsuzaki *et al.*(1985)의 방법에 따라 Counter-current chromatography를 행하여 crude catechin을 얻은 후 HPLC로 분석하였다. 즉, 얻어진 시료(녹차버섯)를 60°C에서 24시간 견조, 분쇄시킨 후 각 시료 1g에 80°C 증류수 100ml를 넣고 80°C에서 30분간 증탕하여 침출하였다. 침출한 일정액을 분액깔대기에 취해 동량의 CHCl₃을 넣고 3회 반복으로 세정하여 카페인을 제거하였다. 카페인이 제거된 물총에 동량의 ethylacetate로 3회 반복 추출한 후 갑암농축기(N-1000V-W, Eyela, Japan)로 농축하였다. 이를 소량의 CH₃CN-H₂O(1:1, v/v)용액으로 녹이고 0.45μm membrane filter로 여과하여 분석하였다. 표준시약 catechin류 및 caffeine은 정량분석을 위해 Sigma Chemical사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. HPLC 시스템은 JASCO(JASCO Co., Japan) HPLC pump (PU 2089), column oven(CO-965), autoinjector(AS950-10) 및 UV/VIS detecter (UV-975)로 구성되었으며, 컬럼은 Sentri™ μ-Bandapak C₁₈ guard column(125 Å, 3.9×20mm, Waters, USA)을 장착한 μ-Bandapak C₁₈ column (125 Å, 3.9×300mm, Waters, USA)으로 사용하였다. 이동상

의 용매는 A (H₂O : CH₃CN : 85% H₃PO₄ = 94.95 : 5 : 0.05, v/v/v)와 B (H₂O : CH₃CN : 85% H₃PO₄ = 49.95 : 50 : 0.05, v/v/v)를 사용하였으며 column 온도는 40°C에서 이동상의 유속은 1.0mL/min으로 280nm에서 검출하였다.

한편 카페인의 정량은 차의 분석법(Ikegawa *et al.*, 1990)에 따라 시료 여액에 PVPP(polyvinylpolypyrrolidone)를 가해 진탕하여 30분간 정치 한 후 여과한 여액을 0.45μm membrane filter로 통과시켜 위에 언급한 카테친류 HPLC분석방법과 동일하게 실시하였다.

결과 및 고찰

병재배 새송이 버섯의 생육

녹차 부산물이 첨가된 새송이버섯의 초장, 줄기의 직경과 생체중을 근거로 한 생육은 무처리에 비해 유의적인 차이가 인정되지 않았다(Table 2). 이는 녹차로부터 생리활성물질이 새송이버섯의 생육을 저해할 정도의 량이 전이되지 않는 것으로 해석되었다. 한편 김 등(2005)은 녹차 물추출물로 처리된 콩나물의 생육에 있어서 초기 발아율은 0.03%농도 처리에서 높게 나타났고, 생육 후기에 0.03과 0.05% 농도 처리에서 세균형성을 억제하였으나 콩나물의 전체적인 생장량은 무처리에 비해 유의적인 차이가 없는 것으로 보고된 바 있다.

카테킨류 및 카페인 함량 분석

크로마토그래피를 비교한 결과 녹차잎에 함유되어 있는 폴리

Table 2. Effect of treatment with petioles and stems of green tea on plant height, stem diameter, and fresh weight of *Pleurotus eryngii*

Code	Control	Incorp./St. I*	Incorp./St. II	Surface/ St. I
Plant height (cm)	11.7±0.8	11.8±0.7	11.6±1.0	11.8±0.8
Stem diameter (cm)	8.4±0.4	8.5±0.5	8.2±0.4	8.3±0.4
Fresh weight (g plant ⁻¹)	84.3±6.4	85.2±8.2	82.9±6.5	84.6±6.7

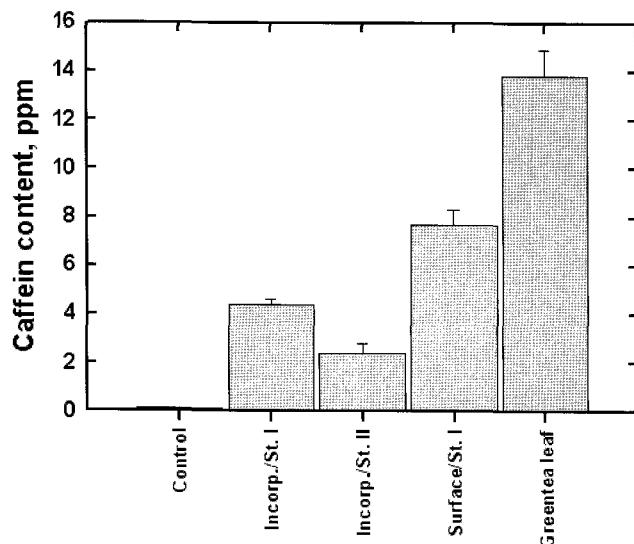
Table 3. Effect of treatments with dry materials including petioles and stems or leaves of green tea in medium on contents of catechin derivatives in *Pleurotus eryngii*

Code	Control	Incorp./St. I*	Incorp./St. II	Surface/ St. I	Green tea leaf	unit : ppm
GC**	20.6	23.3	17.5	14.7	3.1	
C	6.2	6.1	2.2	5.3	0.0	
EC	0.0	0.0	0.0	1.5	5.1	
EGC	15.0	11.3	21.8	6.4	34.8	
EGCG	0.0	0.0	0.0	3.2	21.1	
GCG	0.0	0.0	1.7	0.0	0.7	
ECG	2.9	2.9	0.3	1.3	4.3	
CG	2.7	0.9	0.5	0.9	0.6	
Total	47.4	48.8	46.4	41.2	83.5	

* Refer to Table 1.

** GC : (-)-galocatechin, C : (+)-catechin, EC : (-)-epicatechin, EGC : (-)-epigallocatechin, EGCG : (-)-epigallocatechin gallate, GCG : (-)-galocatechin gallate, ECG : (-)-epicatechin gallate, and CG : (-)-catechin gallate.

페놀의 카테킨류가 부산물 처리에 의해 부분적으로 전이가 이루어졌음을 확인하였다(자료 생략). 녹차잎 자체에서는 8가지 catechin류가 균일하게 함유되어 있었으며 그 중 EGC와 EGCG가 각각 34.8과 21.1ppm으로 가장 높은 함량으로 존재하였다(Table 3). 배지에 부산물 엽병과 어린 줄기를 처리한 발아기의 버섯에서 GC와 ECG 함량은 무처리에 비해 유사하거나 다소 증가하였으나 성장기 때는 감소하는 경향을 보였다. C와 CG 함량은 무처리에 비해 발아기와 성장기에 모두 감소하는 경향을 보였다. EGC는 무처리(15ppm)에 비해 발아기에 다소 감소하였으나 성장기에 45% 증가하였다. GCG는 무처리에는 없었으나 처리한 새송이버섯의 성장기(1.7ppm)에 검출되었다. 표면처리의 녹차잎에서만 검출된 각각 1.5와 3.2ppm의 EC와 EGCG는 모든 혼화처리에서는 탐지되지 않았다. 그러나 녹차잎을 배지표면에 처리할 경우 EGCG는 3.2ppm으로 검출되었고 그 외의 catechin류는 감소되거나 검출되지 않았다(Table 3). 한편, Caffein 함량은 무처리(0.1ppm)에 비해 배지혼화처리에서 발아기에 44배와 성장기에 24배로 증가한 각각 4.4와 2.4ppm이었고 반면 녹차잎으로 표면처리된 배지로부터 자란 버섯에서 7.7ppm으로 크게 증가하였다. 녹차잎 자체에서는 13.8ppm의 caffeine이 검출되었다(Fig. 1).



Treatment with petioles and stems of green tea leaf

Fig. 1. Effect of treatments with dry materials including petioles and stems or leaves of green tea in medium on contents of caffeine content in *Pleurotus eryngii*.

결과적으로 녹차의 잎자루나 어린 줄기를 이용한 녹차부산물을 새송이버섯 재배용 배지에 첨가한 결과 새송이버섯의 초장과 생체중에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 특히 항산화, 항암 및 항균작용 등의 기타 기능성(Kim, 1996; Nakabayashi et

al., 1994) 작용이 두드러진 것으로 알려진 일부 EGC 경우는 45% 정도 증가하였으며 무처리에서 불검출되었던 EGCG가 녹차잎 표면처리를 할 경우 3.2ppm이 검출되었다. 한편 caffeine의 경우 녹차잎 자체에서 13.8ppm 보다는 낮은 함량을 보였지만 배지혼화처리나 배지표면처리에서 높은 수준으로 함량이 증가되었다. 따라서 녹차잎 자체가 아닌 엽병과 어린 줄기가 포함하는 녹차부산물의 사용이 잠재적 기능성이 새송이버섯에 전이가 되어 기능성 녹차버섯의 생산을 가능하게 할 것으로 판단된다. 하지만 본 연구결과를 근거로 용매 분획별정밀한 분석 등을 수반한 연구를 통해 구체적인 결과를 얻어야 할 것으로 사료된다.

사사

본 연구는 농림부 2006 지역농업클러스터사업 지원으로 수행된 연구 결과의 일부이며, 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

- Cho, S.H., S.D. Lee, J.S. Ryu, N.G. Kim and D.S. Lee. 2001. Changes in quality of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) during modified atmosphere storage. Korean J. Postharvest Sci. Tech. 8: 367-373.
- Guillen, F., C. Munoz, V. Gomez-Toribio, A.T. Martinez and M.J. Martinez. 2000. Oxygen activation during oxidation of methoxyhydroquinones by laccase from *Pleurotus eryngii*. Applied Environ. Microbiology 8: 367-373.
- Hong, K.J., B.Y. Kim and H.K. Kim. 2004. Analysis of nutritional components in *Pleurotus ferulae*. Korean J. Mycol. 25: 311-319.
- Huh, S.W., S.M. Bae, C.H. Han, J.H. Choi, C.K. Kim, E.K. Park, D.Y. Ro and J.M. Lee. Namgoong S.E., Ahn W.S. 2004. Anti-tumor effects of epigallocatechin-3-gallate extracted from green tea on ovarian cancer cell lines. Korean J. Obstet. Gynecol. 47: 634-649.
- Hui, Y.F., E.S. Den and T.H. Chi. 2002. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. J. Food Lipids 9: 35-46.
- Hwang, Y.J., H.K. Nam, M.J. Chang, G.W. Noh and S.H. Kim. 2003. Effect of Lentinus edodes and *Pleurotus eryngii* extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 217-222.
- Ikegaya, K., H. Takayanagi and T. 1990. Anan. Quantitative analysis of tea constituents. Bull. Natl. Res. Tea 71: 43-74.
- Jo, W.S., Y.H. Rew, S.H. Kim, J.T. Yun and B.S. Choi. 1999. Occurrence of bluish green mold of *Pleurotus eryngii* by *Penicillium*

- coryophilum. Korean J. Mycol. 27: 412-414.
- Joe, Y.S., Y.S. Kim, S.K. Kim, O.C. Kwon, S.J. Chung and Y.M. Lee. 1997. Antibacterial and bacterial activity of green tea extracts. J. Korean Tea Soc. 3: 89-103.
- Kang, K.S. and Y.S. Lee. 1999. Effect of green tea after exposure of adult male rat to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the reproductive accessory organs and sperm motility and number. Proc. 5th Internat. Sympo. Green Tea pp. 57-63.
- Kang, M.S., T.S. Kang, A.S. Kang, H.R. Shon and J.M. Sung. 2000. Studies on mycelial growth and artificial cultivation of *Pleurotus eryngii* (II). Morphological characteristics of fruit body and cultural conditions. Korean J. Mycol. 28: 73-80.
- Kang, T.S., H.S. Jeong, M.Y. Lee, H.J. Park, T.S. Jho, S.T. Ji and M.K. Shin. 2003. Mycelial growth using the natural product and angiotension converting enzyme inhibition activity of *Pleurotus eryngii*. Korean J. Mycol. 31: 439-445.
- Kang, T.S., M.S. Kang, J.M. Sung, A.S. Kang, H.R. Shon and S.Y. Lee. 2001. Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rats. Korean J. Mycol. 29: 86-90.
- Kei, N., Sugar K., Imai K. 1995. Preventive effects of drinking green tea on cardiovascular disease and cancer. Proc. 3th Internat. Sympo. Green Tea pp. 13-20.
- Kim, H.K., J.C. Cheong, H.Y. Chang, G.P. Kim, D.Y. Cha and B.J. Moon. 1997. The artificial cultivation of *Pleurotus eryngii* (II). Morphological characteristics of fruit body and cultural conditions. Korean J. Mycol. 25: 311-319.
- Kim, J.T. 1996. Science and culture of tea. Borimsa Publishing Co., Seoul Korea.
- Kim, H.Y. and S.M. Jung. 2005. Inhibitory effect of partial pathogen growth in virtue of green tea extracts in cold storage conditions of products for cook-chill system. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 21: 47-52.
- Kimie, S. 1999. Green tea : Its biologically suppressing effects during the heptacarcinogenesis induced by pentachlorophenol, A possible implication for interaction of green tea components with endocrine disruptors. Proc. 5th Internat. Sympo. Green Tea pp. 41-54.
- Matsuzaki, T.L. and Y. Hara. 1985. Antioxidative activity of the leaf catechins. J. Agric. Chem. Soc. Japan 59: 129-134.
- Nakabayashi, T., K. Ina, and K. Sakata. 1994. Chemistry and function of green, black and oolong tea. Kogaku press, Japan.
- Nobuyuki, I., I. Masao, H. Toru, T. Satoru and H. Yukihiko. 1993. Chemoprevention of chemical carcinogenesis by green tea components. Proc. 2th International Sympo. Green Tea pp. 8-12.
- Okuda, T., T. Yoshida and M. Ashida. 1981. Tannins of medicinal plants and drugs. Hetero-cycles 16: 1618.
- Rhee, S.J. 1999. Preventive effects of green tea catechins on cardiac disease in diabetic rats. Proc. 5th Internat. Sympo. Green Tea pp. 3-22.
- Senji, S. 1990. The inhibitory effect of green tea. Polyphenol on the synthesis of glucan and adherence of Streptococcus mutants. Agri. & Biol. Chem. 54: 23-27
- Simonetti, G., N. Simonetti and A. Villa. 2004. Increased microbicidal activity of green tea (*Camellia sinensis*) in combination with butylated hydroxyanisole. J. Chemother 16: 122-127.
- 고진복, 이충언. 2005. 새송이버섯 고지방 식이를 급여한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 34: 626-631.
- 김금숙, 정수영, 정종갑, 신미경. 2005. 녹차물로 쟈배한 콩나물의 생육 특성. 동아시아식생활학회지 15: 752-758.
- 김현구, 한호석, 이기동, 김공환. 2005. 새송이버섯 추출물의 생리활성 효과. 한국식품영양과학회지 34: 439-445.

(접수일 2006. 8. 24 ; 수락일 2006. 12. 1)