

Analysis of Ingredients and biological activities confirm Process for Personalized Diet Offering Service: Basic ingredients Analysis and biological Activities of *Grifola frondosa*

Seok Chan Hong*, You Jin Hwang*, Un Gu Kang**

Abstract

The personalized meal service is being developed to prevent and alleviate illnesses according to the individual's health condition. However, the current meal does not provide a fully customized service to individuals and a diet that meets the consumer's information needs. The cause is the lack of information on the ingredients and the difficulty of comparative analysis between the materials. Therefore, in this study, we propose basic analysis process for basic information acquisition and database construction for food composition before providing personalized food. In this study, we investigated the content of carbohydrate, reducing sugar and protein as basic components of *Grifola frondosa* and investigate the content of polyphenol as a biological active ingredients. Respectively. Studies on the hypoglycemic effect of the diabetic rat model have been carried out in relation to the prevention of diseases. Based on the results of this study, it is also possible to obtain information on the basic ingredients of the food and to analyze the information on the content and activity of the biological active ingredients. Using animal models, information on disease prevention and mitigation was also available. The process introduced in this study is applied to various food materials, accumulating data, and utilizing Database, this results will be an excellent tool for providing more efficient service by providing a proper dietary composition for consumers.

▶ Keyword: Personalized meal service, Ingredient analysis, Biological activities, Food ingredients information, *Grifola frondosa*

1. Introduction

분류학상 고등균류 담자균아강 자낭균아강에 속하는 버섯은 대 사산물이 풍부한 자실체(fruiting body)를 주로 사용하고 있다[1]. 자실체에는 식물성 단백질, 지방, 철분, 미네랄, 비타민 등과 같은 인체에 유용한 성분을 함유하고 있으며 고유의 맛과 향, 식감 때문에 사람들의 주요 식재료로 사용되고 있다[2]. 동양에서는 버섯을 질병치료에 사용해 왔으며 1929년 페니실린(Penicillin)이 Fungi 에서 추출되어 보건분야의 큰 역할을 하게 되었다. 한국, 중국 및

일본에서 질병 치료 목적으로 사용된 대표적인 버섯류는 영지버섯 (*Ganoderma lucidum*), 흰목이버섯(*Tremella fuciformis*), 표고버섯(*Lentinus edodes*), 잎새버섯(*Grifola Frondosa*) 등이 있다[3]. 특히 고기능성의 새로운 식재료에 대한 수요가 증가함에 따라 잎새버섯에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

잎새버섯은 민주름버섯목(*Aphyllphorales*) 구멍장이버섯과 (*Polyporaceae*)에 속하며 식용 담자균류의 일종으로 특유의 향과

• First Author: Seok Chan Hong, Corresponding Author: You Jin Hwang
*Seok Chan Hong (kdhong@korea.ac.kr), Dept. of Health Science and Technology, GAIHST, Gachon University
*You Jin Hwang (gene@gachon.ac.kr), Dept. of Health Science and Technology, GAIHST, Gachon University
**Un Gu Kang (ugkang@gachon.ac.kr), Dept. of Computer Engineering, Gachon University
• Received: 2018. 11. 22, Revised: 2019. 08. 14, Accepted: 2019. 08. 14.
• This work was supported by HyunSol., co. Ltd and Gachon University. (GCU-2017-5197)

맛이 있어 송이버섯과 더불어 고급버섯으로 분류되고 있다. 잎새버섯은 유리아미노산 23종, Vitamin B1, B2, C, D 과 함께 뛰어난 면역활성화 성분인 Beta-glucan 등이 다량 함유되어 있다[4,5]. 잎새버섯은 뛰어난 약리작용을 나타내는 기능성 버섯으로 인체 면역력 증가, 종양 억제 능력의 우수성이 연구를 통해 밝혀졌다. 잎새버섯에서 추출한 β-glucan 을 leukemia 종양 세포를 이식한 생쥐에 투여하여 종양 억제 활성을 확인한 결과 종양 억제 및 NK cell(natural killer cell)와 대식세포(macrophage)의 활성 상승을 유발하여 종양을 저해하는 효과를 확인하였다[6,7]. 이와 같은 연구는 잎새버섯의 활성 물질인 다당류와 함께 암세포에 대한 화학 치료제와 병행하여 사용함으로써 부작용을 줄이는 기능을 하여 현재 미국 FDA 승인을 받아 시판되고 있다[8]. 특히 잎새버섯에서 분리한 D-fraction 이 암 예방 및 치료에 매우 유용하며 면역력 강화를 통한 종양 억제 효과가 있음이 보고되었다[9,10]. 뿐만 아니라 혈압 강하 효능[11], 혈당 강하 효능[12], 콜레스테롤 억제 [13], 항산화 작용[14] 등이 확인되었다.

이러한 잎새버섯과 같이 유용한 식재료를 포함하는 식단 처방과 빅데이터 처리 시스템의 융합을 통해 맞춤형 식단을 제공하여 환자의 질병 예방 및 치료를 하고자 하는 연구가 지속적으로 진행되고 있다. 이러한 시스템의 특징은 신속하고 정확한 처방 근거 수집, 질병 예방 및 완화 등에 효과적으로 사용될 수 있다. 하지만 정보 제공을 위한 충분한 데이터 확보가 어려울 경우 맞춤형 식단 제공은 어렵다는 문제점이 있다[15,16]. 따라서 개인맞춤형 식단 제공 데이터베이스 구축을 위한 식재료의 성분, 기능성 항목 등에 관한 기초 연구 및 프로세스가 구축되어야 한다.

본 연구는 개인맞춤형 식단 제공 데이터 베이스 구축을 위해 식재료로 사용되는 소재의 기초 연구 항목과 데이터 획득 프로세스를 정형화 하여 차후 연구를 통해 식단 제공 플랫폼 개발에 활용하고자 한다.

II. Meterial and method

1. Preparation of *G.fruondosa*

본 연구에 사용한 잎새버섯은 국내산 종균(3.7kg)과 일본산 종균(2.0kg)을 각각 ㈜현솔에서 제공받은 것을 동결건조 후 잘게 파쇄한 후 -80℃ 냉동고에 보관하여 사용하였으며 일부는 건조 처리 없이 추출물 형태로 이용하였다.

2. Component analysis and functional Confirmation of *G.fruondosa*

2.1 Determination of moisture contents of

Domestic and Japanese *G.fruondosa*

(주)현솔에서 제공 받은 국내산 잎새버섯 3.7Kg, 일본산 잎새버섯 2.0Kg을 각각 동결건조(-48℃), 저온 건조(20℃), 냉동(-20℃) 후 동결건조 3가지 방법으로 전 처리를 하였으며 각각

의 방법으로 건조된 잎새버섯을 급속 냉동고(Deep Freezer, -80℃)에서 보관하였다. 이 후 보관된 잎새버섯의 질량을 측정하여 건조 전과 후의 질량 변화를 통해 잎새버섯의 수분함량을 측정하였다. 잎새버섯의 동결건조를 위해 동결건조기를 활용하였으며 동결건조는 vacuum(진공) 조건에서 -48℃, 7일 동안 건조를 진행하였다. 수분함량은 다음 식을 활용하여 측정되었다.

$$\text{수분(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 최종중량(g)}}{\text{시료의 건조후중량(g)}}\right) \times 100$$

2.2 Preparation of *G.fruondosa* Extract

잎새버섯 추출액은 2가지 방법으로 제조하였다. 먼저 생 잎새버섯을 활용하여 추출하는 방법과 건조 파우더를 활용하여 추출하는 2가지 방법을 사용하였다. 생 잎새버섯 추출액을 제조는 생 잎새버섯 100g 과 500mL의 증류수를 혼합하여 분쇄하였다. 분쇄된 혼합용액을 원심분리(5,000RPM, 30min)하여 그 상층액을 실험에 활용하였다. 건조된 파우더를 이용한 추출액은 잎새버섯 건조 파우더 2g 과 100mL의 증류수를 혼합한 후 고온(121℃) 상태에서 15분 동안 추출하였다. 추출한 용액을 50mL 씩 분취하여 원심분리(5,000RPM, 30min)하여 그 상층액을 실험에 활용하였다. 대조군으로 흰목이버섯을 활용하였으며 추출액은 건조 파우더 활용 잎새버섯 추출액과 동일한 과정으로 추출하였다.



Fig. 1. Extracting Process of *G.fruondosa* & *T.fuciformis*

2.3 Total carbohydrate determination

각 추출물의 총 탄수화물 함량 측정을 위해 phenol-sulfuric acid 법을 실시하였다[17]. 일정 농도로 희석한 시료 0.2ml 와 0.2ml 의 증류수를 혼합하고 80%(v/v) phenol solution 20μl 와 H2SO4 용액 1ml을 첨가하여 10초간 교반하고 20분간 실온에서 반응 시켰다. 20분 후, 이 반응액을 분광광도계를 이용하여 490nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 각 시료의 총 탄수화물의 정량은 포도당을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

2.4 Determination of total reducing sugar

각 추출물의 총 환원당 정량을 위해 0.025g/ml 농도의 4-hydroxy-benzhydrazid와 시료를 1 : 2 의 부피비로 혼합한 후 100℃ 에서 5분간 반응시킨 후, 이 반응액을 분광광도계를 이용하여 405nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 각 시

료의 총 환원당 정량은 포도당을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

2.5 Total protein quantification

각 추출물의 총 단백질 정량을 위해 Bradford 법을 시행하였다. 시료 50 μ l 와 Bradford solution 500 μ l 를 혼합한 후, 이 반응액을 분광광도계를 이용하여 595nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 각 시료의 단백질 정량은 bovine serum albumin 을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

2.6 Determination of total polyphenol

잎새버섯 추출물에 대한 폴리페놀 함량을 측정하기 위해 시료 200 μ l 와 50% Folin-ciocalteu's reagent 200 μ l 를 1:1 로 혼합하여 25 $^{\circ}$ C 에서 3분간 반응 시킨다. 이후 2% Na₂CO₃ 500 μ l 를 첨가하여 25 $^{\circ}$ C 에서 30분간 반응 시킨다. 반응이 완료된 시료를 분광광도계를 이용하여 725nm 파장에서 흡광도를 측정하여 폴리페놀의 함량을 확인하였다. 이때, 각 시료의 폴리페놀 정량은 Gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

2.7 Determination of total antioxidant activity

잎새버섯 추출물에 대한 항산화 활성은 ABTS 법으로 측정되었다. ABTS solution 과 7.35mM K₂SO₄ 용액을 2 : 1 (v/v) 비율로 혼합하고 25 $^{\circ}$ C, 빛이 차단된 환경에서 16시간 반응 시킨 후 용액 500 μ l 와 시료 500 μ l 를 혼합하여 6분 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 시료를 분광광도계를 이용하여 734nm 파장에서 흡광도를 측정하여 ABTS 라디칼 소거 활성을 계산하였다.

$$\text{상대활성(\%)} = \left(1 - \frac{A_s - A_n}{A_c}\right) \times 100$$

- A_s = 처리 시료의 흡광도
- A_n = 비처리 시료의 흡광도
- A_c = 대조군의 흡광도

3. Experimental animal models and design

실험 모델 생쥐는 5 주령인 BKS.Cg-m+/+ Leprdb db/db mouse(n=40) 암컷과 수컷을 Doo Yeol Bio (Osan, Korea)로부터 구매하여 일주일 간 적응기간을 가졌다. 생쥐는 플라스틱 마우스용 케이지에 각 5마리씩 수용하였으며 동물실의 사육환경은 온도는 23 $^{\circ}$ C~27 $^{\circ}$ C로, 습도는 50~60%, 광주기는 6시부터 18시로 12시간으로 조절하였다. 잎새버섯을 각각 0 (negative control), 100 mg/kg, 200 mg/kg, 그리고 500 mg/kg를 첨가한 사료 (Doo Yeol Bio, Osan, Korea)를 8 주간 자율 급여하였다. 또한 매주 사료 섭취량, 음수 섭취량, 그리고 혈당 (Accu-Chek Guide, Roche, Mannheim, Germany)을 체크하고 체중변화를 측정하였다. 혈당은 꼬리정맥으로부터 혈액을 채취하여 601 mg/dl이상(HI)이 나올 경우 정확한 혈당 측정이 불가능하므로 601mg/dl로 가정해서 결과 데이터를 처리하였다. 또한 본 실험은 가천대학교 동물실험 윤리 위원회의 승인을 받아 실험동물 관리 및 이용에 관한 지침에 따라 진행되었다. 해부를 한 다음에는 곧바로 HbA1c (glycated

hemoglobin)의 당화 정도를 당화혈색소 측정기 (EASY-A1C, Infopia, Anyang, Korea)사용하였다. 그리하여, 최근 6-8주간 혈색소의 β 사슬의 N-말단에 발린 (valine)에 혈당이 비가역적으로 결합하여 형성된 당화혈색소의 혈당조절 반영값을 얻었다. 혈액시료는 5분 동안 1,500 rpm으로 원심분리 하였다. 혈장은 원심분리 후 채취하여 -80 $^{\circ}$ C에 보관해 두었다.

4. Statistical analysis

모든 실험은 3회 이상 반복하였으며 통계처리는 SPSS 10.0 for Windows 프로그램을 이용하여 평균 및 표준편차를 구하였으며, 각 실험의 평균차에 대한 통계적 유의성 검정은 Duncan의 다중 검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)으로 하였다.

III. Result

1. Determination of moisture contents of Domestic and Japanese *G.frondosa*

국내산 및 일본산 잎새버섯의 수분함량 결과는 Table 1. 에 나타내었다. 국내산 잎새버섯의 경우 동결건조 시료 수분함량은 91.36%로 확인되었다. 또한 저온건조 시료 수분함량은 83.18%로 확인되었다. 국내산 잎새버섯의 경우 전체 질량의 약 87% 가 수분으로 구성되어 있음을 확인하였다. 일본산 잎새버섯의 경우 동결건조 시료, 저온건조 시료의 수분함량은 각각 90.83%, 90.72%로 확인되었다. 전체 질량의 약 90% 가 수분으로 구성되어 있음을 확인하였다. 국내산과 일본산 잎새버섯 사이의 수분함량은 약 3% 차이를 보였다.

Table 1. Comparison of moisture contents according to storage and treatment methods of domestic and Japanese *Grifola frondosa*

Domestic <i>Grifola frondosa</i>			
Drying method	Before drying(g)	After drying(g)	Water content(%)
Freeze drying	3,000	259.29	91.36
Low-temp drying	380	63.92	83.18
Japanese <i>Grifola frondosa</i>			
Drying method	Before drying(g)	After drying(g)	Water content(%)
Freeze drying	1,460	133.82	90.83
Low-temp drying	270	25.06	90.72

2. Total carbohydrates and reducing sugars from *G.frondosa*

본 연구를 통해 잎새버섯 추출물의 생화학적 조성물을 분석하였다. 연구를 위해 생 잎새버섯을 파쇄하여 추출한 추출물과 잎새버섯을 건조하여 파우더 형태로 고온고압조건에서 추출한

추출물에 대한 탄수화물, 환원당, 단백질 함량에 대한 분석을 진행하였으며 대조군으로 흰목이버섯을 건조하여 파우더 형태로 고온고압조건에서 추출한 추출물을 사용하여 다른 버섯과의 성분 함량을 비교하였다. 추출 과정에서 잎새버섯의 중량은 수분 함량을 고려하여 결정하였다.

각각의 추출물에 대한 총 탄수화물 함량은 Table 2. 에 나타내었다. 추출물의 탄수화물 농도는 생 잎새버섯 추출물의 경우 7.34±0.8 mg/ml, 잎새버섯 건조 파우더 고온고압 추출물의 경우 11.97±0.32 mg/ml 로 확인되었다. 추출법 및 잎새버섯의 사용 상태에 따라 추출되는 탄수화물 양의 변화가 있음을 확인하였다. 대조군으로 사용한 흰목이버섯의 경우 건조 파우더 고온고압법으로 추출물을 제조 하였다. 동일한 방법으로 추출한 잎새버섯 추출물과 흰목이버섯 추출물의 탄수화물 함량은 각각 11.97±0.32 mg/ml, 28.91±0.31 mg/ml 로 흰목이버섯 추출물이 잎새버섯 추출물에 비해 높은 탄수화물이 추출됨을 확인하였다 (Table 2).

각 추출물의 환원당(Reducing sugar) 함량은 Table 2. 에 나타내었다. 추출물의 환원당 농도는 생 잎새버섯 추출물, 잎새버섯 건조 파우더 고온고압 추출물 각각 3.53±0.14 mg/ml, 0.49±0.06 mg/ml 로 확인되었다. 고온고압조건에서 추출할 때 환원당의 경우 추출 함량이 7.2배 감소함을 확인하였다. 잎새버섯 고온고압 추출물과 흰목이버섯 추출물의 환원당 농도는 각각 0.49±0.06 mg/ml, 0.24±0.31 mg/ml 로 잎새버섯 추출물이 흰목이버섯 추출물보다 높은 환원당 함량을 나타내었다 (Table 2).

각 추출물의 단백질 함량은 Table 2. 에 나타내었다. 추출물의 단백질 농도는 생 잎새버섯 추출물, 잎새버섯 건조 파우더 고온고압 추출물 각각 0.97±0.04 mg/ml, 0.27±0.03 mg/ml 로 확인되었다. 고온고압조건에서 추출할 때 단백질의 경우 추출 함량이 감소함을 확인하였다. 잎새버섯 고온고압 추출물과 흰목이버섯 추출물의 단백질 농도는 각각 0.27±0.03 mg/ml, 0.15±0.02 mg/ml 로 잎새버섯 추출물이 흰목이버섯 추출물보다 높은 단백질 함량을 나타내었다 (Table 2).

Table 2. Ingredient content level of *Grifola frondosa* and *Tremella fuciformis* extracts

Extract method	<i>G.frondosa</i>		<i>T. fuciformis</i>
	Raw material extract	Dried powder extract	Dried powder extract
Carbohydrate (mg/ml)	7.34±0.08	11.97±0.32	28.91±0.31
Reducing sugar (mg/ml)	3.53±0.14	0.49±0.06	0.24±0.07
Protein (mg/ml)	0.97±0.04	0.27±0.03	0.15±0.02

3. Total polyphenol contents of *G.frondosa*

잎새버섯 추출물에 함유된 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 3 과 fig 2 에 나타내었다. 추출물의 폴리페놀 함량은 생 잎새버섯 추출물의 경우 10.54±0.33 ug/ml, 잎새버섯 건조 파

우더 고온고압 추출물은 20.58±0.28 ug/ml로 확인되었으며 생 잎새버섯 추출물과 비교하여 약 1.95배 높은 농도로 추출되었다. 대조군인 흰목이버섯 추출물의 폴리페놀 함량은 10.36±0.02 ug/ml 로 동일한 방법으로 추출한 잎새버섯 추출물보다 낮은 함량을 나타내었다 (Table 3, Fig 2).

Table 3. Contents of total polyphenols in *Grifola frondosa* and *Tremella fuciformis* extracts

Extract method	<i>G.frondosa</i>		<i>T. fuciformis</i>
	Raw material extract	Dried powder extract	Dried powder extract
Polyphenols (ug/ml)	101.87±1.79	208.91±3.56	107.36±3.84

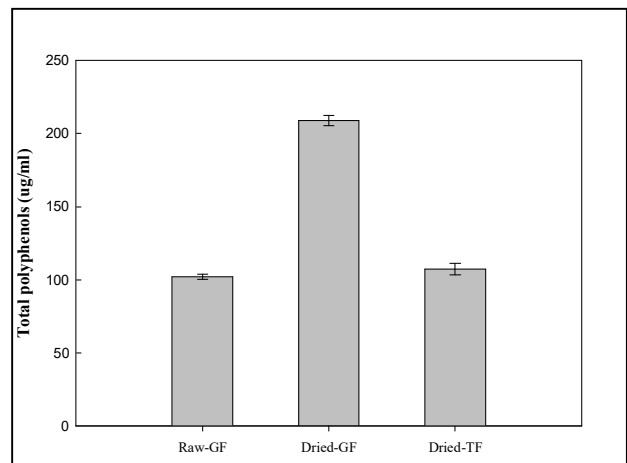


Fig. 2. Contents of total polyphenols in *Grifola frondosa* and *Tremella fuciformis* extracts. Raw-GF : Raw material extract of *Grifola frondosa*, Dried-GF : Dried powder extract of *Grifola frondosa*, Dried-TF : Dried powder extract of *Tremella fuciformis*.

4. Total polyphenol contents of *G.frondosa*

잎새버섯 추출물의 라디칼 소거 활성 측정을 위해 ABTS법을 활용하였으며 결과는 Table 4 와 Fig 3 에 나타내었으며, 기준물질인 0.01% Ascorbic acid 의 라디칼 소거 활성에 대한 비교활성으로 나타내었다. 생 잎새버섯 추출물의 라디칼 소거 활성은 170.02±1.63 %, 잎새버섯 건조 파우더 고온고압 추출물은 78.33±2.86 % 로 확인되었다. 생 잎새버섯 추출물이 더 높은 라디칼 소거 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 대조군 흰목이버섯 추출물의 라디칼 소거 활성은 43.66±3.09 % 로 가장 낮은 활성도를 보였으며 동일한 방법으로 추출한 잎새버섯 추출물의 라디칼 소거 활성도 보다 낮은 활성도를 나타내었다. 이는 잎새버섯이 흰목이버섯보다 높은 항산화 활성을 나타내었다 (Table 4, Fig 3).

Table 4. Radical scavenging activity of *Grifola frondosa* and *Tremella fuciformis* extracts

Extract method	<i>G. frondosa</i>		<i>T. fuciformis</i>
	Raw material extract	Dried powder extract	Dried powder extract
Radical scavenging activity (%)	170.02±1.63	78.33±2.86	43.66±3.09

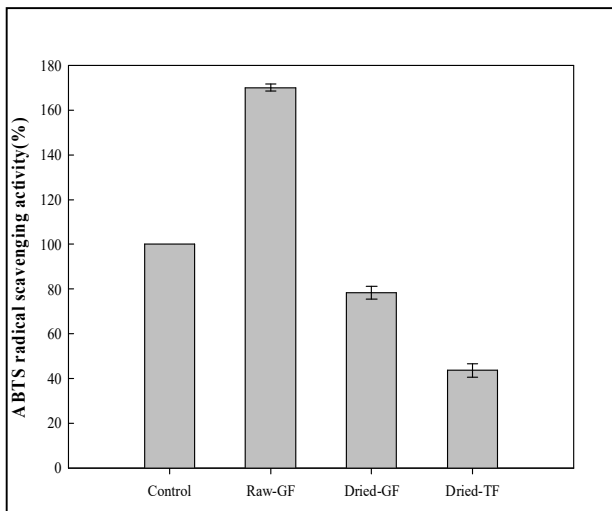


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of *Grifola frondosa* and *Tremella fuciformis* extracts. Control : 0.01% Ascorbic acid, Raw-GF : Raw material extract of *Grifola frondosa*, Dried-GF : Dried powder extract of *Grifola frondosa*, Dried-TF : Dried powder extract of *Tremella fuciformis*.

5. Effects of *G. frondosa* on body weight, feed efficiency, and drinking volume

잎새버섯 추출물 함유 사료가 db/db 마우스의 체중, 사료 효율, 음수량에 미치는 영향은 Table 5. 와 같다. 편의를 위해 수컷에서 잎새버섯을 처리하지 않은 사료를 먹인 쥐 (control)을 M1, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 500 mg/kg을 함유한 사료를 먹인 쥐를 각각 M2, M3, M4로 암컷의 경우도 마찬가지로 F1, F2, F3, F4로 표기하였다. 초기 무게 (7주령)의 경우 그룹마다의 편차는 약 2.5% 정도로 차이가 크지 않은 것을 볼 수 있다. 그러나 최종 무게의 경우 M1과 M2그룹의 경우 사료를 섭취한 마우스와는 거의 9 g, 즉 20%가 넘는 무게 차이를 보였다. 그러나 적은 몸무게에 비해 M2 그룹은 음수량과 사료 섭취량이 압도적으로 많아 사료 효율이 2%도 채 안 되는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 경향은 암컷에서도 유사한 결과를 확인 할 수 있다. F2 그룹의 경우 다른 그룹의 50% 정도도 못 미치는 사료효율을 보였으며 음수량도 F1 그룹 바로 다음으로 많았다. 암컷과 수컷군에서 대조군과 실험군 모두 체중이 증가하는 추세를 보지만 통계적으로 유의적인 체중의 차이를 나타내지 않았다. 그러나 증가율은 양성 대조군인 M1, F1 그룹에서 잎새버섯의 농도가 500 mg/kg으로 가장 높았던 M4, F4 그룹보다 현저히 높았다. M1과 M2, F1과 F2 그룹은 4주차 이후 체중이 감소하는 것이 보이는데 반해, 사료효율이 낮은 것으로 보아 이는 식이변화의 4 주차에 접어든 마우스들이 11주령이 되었음을 보아 일반적인 db/db 마우스가 대개 12 주령까지 혈중 인슐린의 농도가 높고 체중의 증가를 보이다가 이후, 당뇨로 인해 감소하는 경향이 나타나는 것으로 추정된다 (Table 5).

Table 5. Body weight, food intake and feed efficiency ratio of the mouse (Male, Female)

Group (Male)	Control (0mg/kg)	<i>G. frondosa</i> 100mg/kg	<i>G. frondosa</i> 200mg/kg	<i>G. frondosa</i> 500mg/kg
Initial body weight(g)	39.90±1.21	36.92±3.65	40.08±2.08	37.86±2.61
Final body weight(g)	51.53±4.43	42.62±8.68	46.75±3.52	48.4±3.19
Body weight gain(g)	11.63±4.62	5.70±5.38	6.67±4.61	10.54±2.39
Total Food intake(ml/day)	312.58±6.27	288.30±9.44	316.30±10.11	272.60±6.61
Water intake(ml/day)	12.96±3.47	14.22±3.47	10.73±3.29	8.69±5.15
Feed efficiency ratio*(%)	3.72	1.98	2.11	3.87

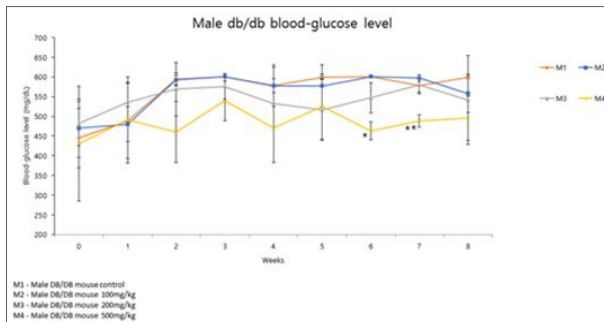
Group (Female)	Control (0mg/kg)	<i>G. frondosa</i> 100mg/kg	<i>G. frondosa</i> 200mg/kg	<i>G. frondosa</i> 500mg/kg
Initial body weight(g)	38.26±1.46	37.96±0.71	38.38±1.87	38.24±1.81
Final body weight(g)	52.88±3.04	45.77±7.25	51.25±1.58	51.28±1.58
Body weight gain(g)	14.62±3.86	7.81±6.65	12.87±0.63	13.04±1.01
Total Food intake(ml/day)	289.68±8.56	305.93±10.87	272.73±8.61	296.73±11.78
Water intake(ml/day)	12.18±2.96	11.55±2.22	8.33±2.76	7.51±3.60
Feed efficiency ratio*(%)	5.05	2.56	4.72	4.39

Values represent mean ±SD(n=5±2)

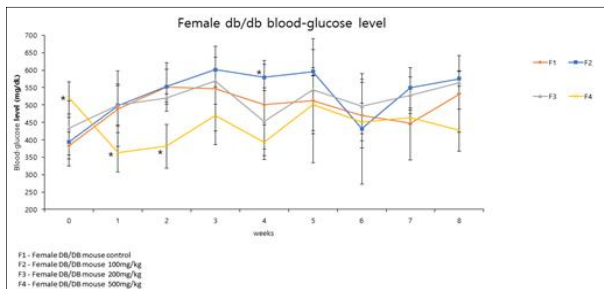
*Feed efficiency ratio(%) = (body weight gain (g) / food intake (g)) x 100

6. Effects of *G.froncosa* on blood sugar level

매주 db/db 마우스의 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 혈당을 측정 한 결과는 Fig 4.과 같다. 수컷(Fig 4-1)과 암컷(Fig 4-2)의 가장 높은 500 mg/kg 농도에서의 그룹이 혈당이 가장 낮았으며 다른 그룹 간의 유의차를 볼 수 있다. 암컷은 실험 시작 초기에 유의한 값을 보였고, 수컷은 실험 시작한 6주차와 7주차에서 통계적으로 유의했다. F2 그룹은 혈당 체크 시 발생한 꼬리의 염증으로 인해 평균 혈당의 수치가 낮아진 것으로 예측된다. 대조군 M1의 혈당은 실험 시작일로부터 끝나는 8주차까지 혈당이 크게 증가하며 높게 유지됨을 관찰할 수 있었다. 특히 수컷 실험군들은 사료에 혼합한 버섯의 농도가 높을수록 혈당이 낮아지는 반비례적 관계를 보였다.



(a) 8 weeks, db/db mouse, *P<0.05, LSD, M1, M2, compared with M4, **Statistically different form M1, M2, M3 and M4, Dunnette's T3



(b) weeks, db/db mouse, *F1, F2, F3 compared with F4, **Statistically different form F3, F4 and F2, LSD, P<0.05

Fig. 4. Effects of *G.froncosa* on Blood Glucose Level

7. Effect of *G.froncosa* on Glycated Hemoglobin

잎새버섯 추출물이 db/db 마우스의 HbA1c에 미치는 결과는 Table 6. 에 나타내었다. M1의 경우 데이터가 없기 때문에 N/A (Not available)로 표시하였다. 암컷과 수컷 간의 결과 값은 매우 유사한 수준이 확인되었다. M2, F1, F2, F3 group은 모두 혈중 포도당이 높은 수준으로 나타났으며 M3의 경우 매우 높은 수준으로 나타났다. 이에 비해 잎새버섯을 500 mg/kg 을 처리한 군의 당화혈색소는 7.8%로 다른 그룹보다 약 25% 정도 낮은 수준을 보였다.

IV. Discussion

본 연구에서는 잎새버섯을 활용한 추출물에 대한 성분 및 기능성을 확인하였다. 버섯이 실제 식재료로 사용되는 방법은 생으로 활용하여 음식에 활용되거나 건조된 분말을 통해 국물의 감칠맛을 우려 내기 위한 용도로 사용될 수 있다. 따라서 본 연구는 생으로 활용하였을 경우와 건조된 파우더 형태를 활용하여 실험을 진행하였으며 실제로 물 이외의 용매는 식재료로 사용되지 않기 때문에 물을 추출 용매로 활용하였다.

위 결과에서 탄수화물의 경우 생 잎새버섯 추출물 보다 건조 상태의 잎새버섯 분말을 고온고압 조건에서 추출한 추출물에서 더 높은 함량으로 추출된 것을 확인할 수 있다 (Table 2). 실제로 잎새버섯의 최적추출법을 확인하기 위한 연구에서도 열수추출법을 이용하였을 때 가장 높은 당 성분 함량을 나타내는 것으로 확인되었다[18]. 환원당의 경우 생 잎새버섯 추출물의 탄수화물 대비 약 48% 를 차지하는 것으로 나타났다. 하지만 고온고압추출법에 의한 추출물에서는 약 4% 를 차지 하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 추출과정에서 열과 압력에 불안정하여 당 성분의 환원말단에 변화가 있었을 것으로 예상된다. 단백질의 경우 고온고압 조건에서 추출되는 양이 생 잎새버섯 추출물 보다 낮은 것으로 확인되었다. 이는 건조 및 분쇄 과정, 고온고압과정을 거치며 단백질 일부가 분해된 것으로 여겨진다. 이와 같이 실제로 식재료가 사용되는 과정에서 조리법에 의해서 성분의 변화가 나타날 수 있음을 확인하였으며 식재료를 사용하여 조리할 때 성분들을 고려하여 선택할 수 있는 유용한 정보를 제공할 것으로 판단된다.

폴리페놀은 phenolic hydroxyl기를 한 분자에 2개 이상 포함하는 방향족 화합물을 가리키며, 농산물의 중요 성분 중 하나로 인체 건강에 유용한 생리활성 물질로 여겨진다. 특히 폴리페놀 성분의 항산화 효과가 높게 평가 되고 있다[19]. 이전 연구에서 팽이버섯, 만가닥 버섯의 열수추출물에 포함된 폴리페놀 함량은 각각 3.17 ~ 3.50 mg/100g (31.7~35.0ug/g), 1.52 ~ 2.92 mg/100g (15.2~29.2ug/g) 으로 보고된 건과 비교하였을 때 잎새버섯 추출물이 더 높은 함량을 나타내고 있음을 확인하였다[19,20]. 또한 본 연구에서 2가지 방법으로 잎새버섯 추출물을 제조하였을 때 고온고압추출물에서 생 잎새버섯 추출물에 비해 약 2배 높은 함량으로 검출 되었다. 이는 폴리페놀 추출에 고온고압추출법이 더 유용하다는 것을 보여준다.

항산화 활성은 식물 소재가 가지는 유용한 기능성 중 하나이다. 인체 내에서 생성되는 자유라디칼을 억제하는 것은 유발될 수 있는 질병에 대한 중요한 대사작용으로 세포에 의한 억제 작용과 항산화 물질을 포함하는 식품 섭취를 통한 억제 작용이 있다[21]. 본 연구를 통해 잎새버섯의 항산화 활성을 확인하기 위해 ABTS 자유라디칼 소거활성을 측정 한 결과 기준 물질인 0.01% ascorbic acid 대비 생 잎새버섯 추출물 170.02±1.63 %, 잎새버섯 고온고압 추출물 78.33±2.86 %로 확인되었다. 항산화 활성을 나타내는 성분의 경우 생 잎새버섯

Table 6. Effect of Grifola frondosa extract supplementation on blood HbA1c level

Group (Male)	Control (0mg/kg)	<i>G. frondosa</i> 100mg/kg	<i>G. frondosa</i> 200mg/kg	<i>G. frondosa</i> 500mg/kg
HbA1c (%)	N/A	9.20±0.28	10.87±1.06	7.85±0.53

Group (Female)	Control (0mg/kg)	<i>G. frondosa</i> 100mg/kg	<i>G. frondosa</i> 200mg/kg	<i>G. frondosa</i> 500mg/kg
HbA1c (%)	9.9	9.27±1.02	10	7.80±0.10

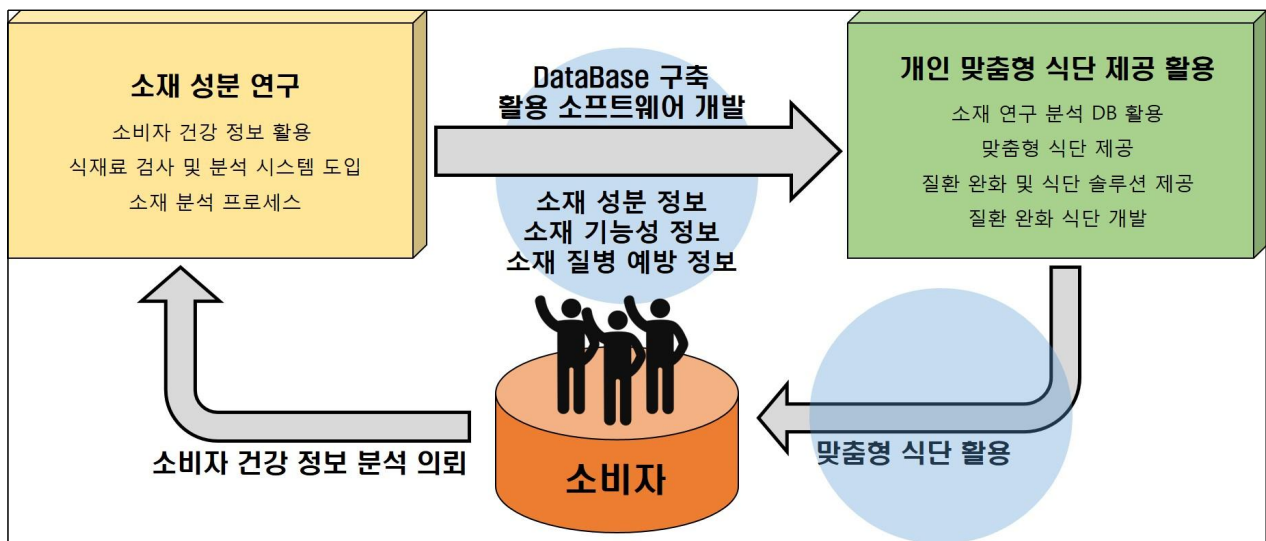


Fig. 5. Personalized meal service utilizing material composition research

추출물에서 더 높은 효율로 추출됨을 확인 할 수 있다. 또한 대조군 흰 목이버섯과 비교하였을 때 잎새버섯이 더 높은 활성도를 나타낸다.

본 연구에서는 잎새버섯의 혈당 강하 효과를 확인을 위한 제2형 당뇨 모델 생쥐를 통한 동물 실험을 실시하였다. 당뇨병은 인슐린의 합성이 저해되어 분비량이 부족하거나 간, 지방, 근육 조직에서 인슐린에 대한 저항성으로 인해 정상적인 기능이 이루어 지지 않아 고혈당을 수반하는 탄수화물 대사 장애이다 [22-24]. 본 실험에서 잎새버섯을 함유하는 사료를 당뇨 생쥐에 8주간 지속적으로 제공하였을 때 암컷과 수컷의 가장 높은 500mg/kg 농도에서 혈당이 가장 낮았으며 다른 그룹간의 유의차를 볼 수 있었다. 특히 수컷 실험군들은 사료에 잎새버섯 함유 농도가 높을수록 혈당이 낮아지는 것을 확인하였다. 이는 잎새버섯의 섭취가 혈당 강하에 영향을 줄 수 있다고 여겨진다. 이는 이전 연구에서 밝혀진 잎새버섯의 혈당 강하 효과와 유의한 결과를 보여준다 [12,25,26].

식물 소재를 통해 질병을 극복하거나 예방하기 위한 연구와 제품들이 지속적으로 증가 하고 있으며 많은 정보들이 축적되고 있다.

또한 맞춤형 식단, 질병 예방 식단과 이를 활용한 헬스케어 서비스 사업이 성장함에 따라 식재료에 대한 기본 영양정보를 포함하여 기능성 성분 함량과 그에 따른 효과, 관련 질병 등에

대한 정확한 정보 축적과 제공이 필수적인 상황이다.

본 연구의 목적은 식재료 및 식품 소재에 대한 기본 영양 성분 분석, 기능성 성분 분석, 기능성 확인 및 질병예방과 관련된 기본 프로세스를 적립하는데 있다. 이와 같은 방법으로 다양한 식재료에 대한 분석을 진행하고 데이터를 축적하여 이를 활용하여 유용하고 정확한 정보를 통한 개인맞춤형 식단을 제공하는데 활용하고자 하였다. 본 연구를 통해 진행된 것은 잎새버섯 한 가지 식재료를 활용하였지만 추 후 다양한 식재료 및 식품 소재에 대해 위와 같은 프로세스를 통해 정확한 정보 제공을 하고자 하며 식단 제공의 필수적이며 기본적인 정보들을 제공할 수 있는 유용한 연구이다.

기존 식재료가 가지는 일반적인 질병예방 효과만으로 식단을 제공하는 것이 아닌 영양성분, 식재료 사용량, 기능성 성분의 함유량, 타 재료와의 기능성 비교 등이 가능한 시스템 구축을 통해 식단을 제공받는 개인에게 맞춤형으로 제공이 가능할 것으로 사료된다.

REFERENCES

- [1] D. Hawksworth, "The Tropical Fungal Biota: Census, Pertinence, Prophylaxis, and Prognosis," British Mycological Society Symposium Series, Cambridge University Press, Vol. 19, pp. 265-265, Jan. 1993.
- [2] K. Park, "Industrialization of Mushroom Functional Substances", Journal of Mushroom Science and Production, Vol. 6, No. 1, pp. 1-12, Mar. 2008.
- [3] S. Wasser, "Medicinal Mushrooms as a Source of Antitumor and Immunomodulating Polysaccharides," Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 60, No. 3, pp. 258-274, Nov. 2002.
- [4] N. Ohno, Y. Egawa, T. Hashimoto, Y. Adachi, and T. Yadomae, "Effect of β -glucans on The Nitric Oxide Synthesis by Peritoneal Macrophage in Mice," Biological and Pharmaceutical Bulletin, Vol. 19, No. 4, pp. 608-612, Apr. 1996.
- [5] M. Okazaki, Y. Adachi, N. Ohno, and T. Yadomae, "Structure-Activity Relationship of (1 \rightarrow 3)- β -D-glucans in The Induction of Cytokine Production from Macrophages, in vitro," Biological and Pharmaceutical Bulletin, Vol. 18, No. 10, pp. 1320-1327, Oct. 1995.
- [6] I. Suzuki, K. Hashimoto, S. Oikawa, K. Sato, M. Osawa, and T. Yadomae, "Antitumor and Immunomodulating Activities of a β -glucan Obtained from Liquid-cultured *Grifola frondosa*," Chemical and Pharmaceutical Bulletin, Vol. 37, No. 2, pp. 410-413, Feb. 1989.
- [7] Li. Zhang, F. Chen, G. Chen, Y. Zhang, W. Mao, and Wu. X, "Purification, Characterization and Immunomodulatory Activity of a Novel Polysaccharide from *Grifola frondosa*." International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 111, No. 1, pp. 1293-1303, May. 2018.
- [8] E. Alonso, N. Ferronato, M. Gandini, N. Fermento, M. Obiol, D. López Romero, and A. Curino, "Antitumoral Effects of D-fraction from *Grifola frondosa* (Maitake) Mushroom in Breast Cancer," Nutrition and Cancer, Vol. 69, No. 1, pp. 29-43, Jan. 2017.
- [9] E. Alonso, N. Ferronato, M. Fermento, M. Gandini, N. Romero, A. Guevara, and A. Curino, "Antitumoral and Antimetastatic Activity of Maitake D-fraction in Triple-Negative Breast Cancer Cells," Oncotarget, Vol. 9, No. 34, pp. 23396-23412, May. 2018.
- [10] G. Mao, Y. Ren, W. Feng, Q. Li, H. Wu, T. Zhao, and X. Wu, "Antitumor and Immunomodulatory Activity of a Water-soluble Polysaccharide from *Grifola frondosa*," Carbohydrate Polymers, Vol. 134, No.1, pp. 406-412. Dec. 2015.
- [11] H. Choi, H. Cho, H. Yang, K. Ra, and H. Suh, "Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitor from *Grifola frondosa*", Food Research International, Vol. 34, No. 2-3, pp. 177-182, Jan. 2001.
- [12] C. Xiao, Q. Wu, Y. Xie, J. Zhang, and J. Tan, "Hypoglycemic Effects of *Grifola frondosa* (Maitake) Polysaccharides F2 and F3 through Improvement of Insulin Resistance in Diabetic Rats. Food & Function, Vol. 6. No. 11, pp. 3567-3575, Aug. 2015.
- [13] Y. Ding, C. Xiao, Q. Wu, Y. Xie, X. Li, H. Hu, and L. Li, "The Mechanisms Underlying The Hypolipidaemic Effects of *Grifola frondosa* in The Liver of Rats," Frontiers in Microbiology, Vol. 7, No. 1186. pp. 1-11. Aug. 2016.
- [14] G. Chen, X. Ma, S. Liu, Y. Liao, and G. Zhao, "Isolation, Purification and Antioxidant Activities of Polysaccharides from *Grifola frondosa*," Carbohydrate Polymers, Vol. 89, No. 1, pp. 61-66, Jun. 2012.
- [15] J. Ahn, and K. Kang, "Implementation of U-Healthcare System using a Body Composition Analysis," Journal of Korean Institute of Information Technology. Vol. 6, No. 1, pp. 41-48, Feb. 2008.
- [16] B. Jeong, "Current Status and Tasks of U-Healthcare Service," Ubiquitous Social Research Series, vol. 10, No. 1, pp. 1-18, 2005.
- [17] M. Dubois, K. Gilles, J. Hamilton, P. Rebers, and F. Smith, "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances", Analytical Chemistry, Vol. 28, No. 3, pp. 350-356, Mar. 1956.
- [18] C. Park, G. Lee, E. Nam, Y. Yu, Y. Kim, H. Kwon, O. Yoon, and M. Han, "Optimum Extraction Conditions and Anticancer Effect of Functional Polysaccharide from Mycelia of *Grifola frondosa*," Korean Journal of Food and Nutrition. Vol. 25, No. 1, pp. 181-187, Mar. 2012.
- [19] H. Kim, Y. Choi, and K. Kim, "Functional Activities of Microwave-Assisted Extracts from *Flammulina velutipes*," Korean Journal of Food Science and Technology, Vol. 34, No. 1, Dec. 2002.
- [20] H. Kim, Y. Choi, S. Jeong, and K. Kim, "Functional Activities of Microwave-assisted Extracts from *Lyophyllum ulmarium*," Korean Journal of Food Preservation, Vol. 9, No. 9, pp. 385-390, Dec. 2002.
- [21] R. Franco, and E. Martinez-Pinilla, "Chemical Rules on The Assessment of Antioxidant Potential in Food and Food Additives Aimed at Reducing Oxidative Stress and Neurodegeneration," Food Chemistry, Vol. 235, pp. 318-323. Nov. 2017.
- [22] X. He, X. Wang, J. Fang, Y. Chang, N. Ning, H. Guo, L. Huang, X. Huang, and Z. Zhao, "Polysaccharides in *Grifola frondosa* Mushroom and Their Health Promoting Properties: A Review," International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 101, No. 1, pp.

910-921, Aug. 2017.

- [23] K. Shen, C. Su, T. Lu, M. Lai, and L. Ng, "Effects of *Grifola frondosa* Non-polar Bioactive Components on High-fat Diet Fed and Streptozotocin-induced Hyperglycemic Mice," *Pharmaceutical Biology*, Vol. 53, No. 5, pp. 705-709, May. 2015.
- [24] D. Atlas, "International diabetes federation", Press Release, Cape Town, South Africa 4, 2006.
- [25] C. Xiao, Q. Wu, J. Tan, W. Cai, X. Yang, and J. Zhang, "Inhibitory Effects On-glucosidase and Hypoglycemic Effects of The Crude Polysaccharides Isolated from 11 Edible Fungi", *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 5, No. 32, pp. 6963-6967, Dec. 2011.
- [26] X. Ma, F. Zhou, Y. Chen, Y. Zhang, L. Hou, X. Cao, and C. Wang, "A Polysaccharide from *Grifola frondosa* Relieves Insulin Resistance of HepG2 Cell by Akt-GSK-3 Pathway", *Glycoconjugate Journal*, Vol. 31, No. 5, pp. 355-363, Jun. 2014.

Authors



Seok Chan Hong received the B.S degrees in Bio Medical Engineering from Nambu University, Korea, in 2016. Hong is currently pursuing a master's degree at Department of Health Sciences and Technology, GAIHST, Gachon University,

Incheon 21999, Korea. He is interested in biological activities and mitochondrial biogenesis.



You Jin Hwang received the B.S., M.S. and Ph.D. degrees in Biochemistry / Molecular Biology from Inha University, Korea, in 1985, 1990 and 1999, respectively. Dr. Hwang joined the faculty of the Department of Biomedical Engineering at Gachon

University, Incheon, Korea, in 2003. He is currently a Professor in the Department of Health Sciences and Technology, GAIHST and Department of Biomedical Engineering, Gachon University. He is interested in Cancer & Micro environment Molecular Imaging and functional natural substances.



Un Gu Kang received Ph.D. degree in Computation Engineering from Inha University in 2001. He is currently a Professor in Department of Computer Engineering at Gachon University. His primary research interests include Mobile

Software, Healthcare Information, U-healthcare.