

과제구분	Code : LS0505	수행시기	전반기	연구기간	1999(1년차 완결)
연구과제명	버섯의 생리활성물질 탐색 및 기능성 식품 개발			과제책임자	홍정기
세부과제명	큰느타리버섯을 이용한 액체배양 및 기능성 검토				
색인용어	큰느타리버섯, 액체배양, 과채즙배지, 성분분석				
연구원별임무					
구분	소속	성명	전화번호	담당임무	
연구책임자	특화작목개발시험장	손형락	(0361) 243-1822	연구계획, 수행, 총괄	
	"	박영학	"	연구대행 및 조사	
공동연구자	충북옥천전문대학	강태수	(0475) 730-6380	액체배양, 생리활성탐색	
	특화작목개발시험장	홍정기	(0361) 258-5725	연구방향 설정	

ABSTRACT

This study was carried out to research physiological activity and materials of Large Oyster Mushroom (*Pleurotus eryngii* DC. ex Fr. Quel). Optimal liquid culture media from fruit and vegetable juice was Tomato juice that sucrose grade was 5.0 °Brix, Vitamin C and proteins ratio were 17.18mg% and 0.40%. Cherry flavor produced first after 6 days in liquid culture and stringiest after 13 days. Optimal sucrose ratio(g/v) and air flow volume for liquid culture of *P. eryngii* was non-treated sucrose and 1.0 ~ 1.5 vvm.

연구배경

큰느타리버섯(*Pleurotus eryngii*(DC. ex Fr.)Quel.)은 주로 아열대 지방의 대초원에서 발생하는 사물기생균(Saprophytic fungi)으로 분류학적으로 담자균아문(Basidiomycotina), 주름버섯목(Agaricales), 느타리버섯과(Pleurotaceae), 느타리버섯속(*Pleurotus*)에 속하는 식용버섯이다.

이 버섯은 남유럽, 남아프리카, 중앙아시아, 남러시아 등지에서 자생하며, 유럽에서 초원의 버섯 ("*Boletus of the steppes*" ; Eger, 1978)이라고 불리워지고 있으며, King oyster mushroom(Vasilkov, 1955)으로도 알려져 있는 대중적 인기가 많은 버섯(김한경, 1997)이나, 우리나라에서는 아직 야생에서 채집된 바 없으며, 일부에서 인공재배와 관련된 연구가 근래에 진행되고 있는 실정이다.

느타리 버섯은 다른 버섯류에 비하여 단백질, 탄수화물, 지방, 무기물, 섬유소 및 비타민 등이 풍부한 영양적 가치 (Chang 등, 1993; Ganeshan 등, 1989; Levoci 등.

1989)와 함께 항암작용, 혈액순환, 성인병 예방 등의 의학적 가치(Chang 등, 1989; Mori 등, 1989; Yang 등, 1989;)가 높은 기능성 버섯으로 세계적으로 생산과 소비가 증가하고 있다. 특히, 우리 나라에서는 벗짚이나 폐면을 이용한 재배기술이 보급되면서 생산이 급격히 신장되어 농가의 소득작목으로 꾸준히 성장하여 왔다. 현재 농가에 보급되어 재배되고 있는 느타리버섯 품종으로는 저온성으로 2-1호, 농기201호, 중고온성으로 여름느타리1호, 2호, 원형질 융합에 의해 신품종으로 육종된 원형느타리 1호, 2호, 3호가 있고(강 등, 1989; 농촌진흥청, 1997) 병 재배용인 애느타리버섯 1호를 비롯하여 10여 품종이 등록되어 있다. 그러나, 다품종 소량재배가 요구되는 현 시점에서 기존의 느타리버섯에 비해 줄기부분이 굵고, 육질이 치밀하며, 맛이 좋고, 향과 품질면에서 기존의 느타리버섯(김한경, 1997)보다 우수한 큰느타리 버섯에 대한 수요는 앞으로 크게 증가할 것으로 예측된다. 따라서 본 연구에서는 큰느타리버섯균을 과채즙 배지에서 액체배양하는 기술을 개발하고, 이때 생산된 균사체와 배양여액의 생리활성을 탐색하여 기능성식품의 소재로 개발하고자 수행하였다.

재 료 및 방 법

1. 공시균주 준비

본 실험에 사용한 큰느타리버섯 균주는 농촌진흥청 농업과학기술원에서 NIAST 2302를 분양받아 사용하였다. PDA배지를 이용하여 계대배양하면서 사용하였으며, 접종원은 보관균주를 평판배지의 중앙에 접종하여 25±1℃의 항온기에서 배양한 후 실험에 사용하였다.

2. 액체배양을 위한 최적배지 선발

공시재료로 사과(후지), 포도(거봉), 배(신고), 토마토(다니엘)를 사용하여 각각의 과채즙을 그림 1과 같이 처리하여 배지로 사용하였으며 이때의 재료별 일반성분 및 특성을 조사하고 배양기간에 따른 향성능, 균사체 생산량, 산도의 변화 등을 조사하였다.

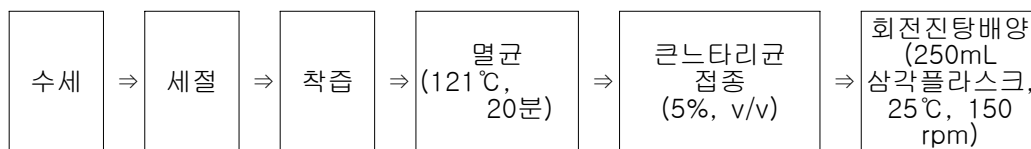


그림 1. 과채즙 액체배양 방법

3. 액체배양을 위한 최적 sucrose첨가량 구명

Sucrose 첨가농도를 0, 1, 3, 5, 7 %로 최적 과즙배지에 부피대 질량비로 녹여서 삼각플라스크 250mL에서 고압살균한 후 큰느타리버섯을 접종원으로 PDA 평판배지에 배양된 것을 3번 코르크보러로 배양된 균을 3개씩 접종한 후 회전 진탕배양(Vision, 25°C, 150rpm)하여 향기의 생성정도를 후각으로 판단하여 그 수치를 4 단계로 구분하였으며, 최적 sucrose 농도를 구명한 후 통기량을 결정하기 위한 시험은 3L 바이오투어터를 자체 제작하여 통기 배양하면서 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 vvm(통기량/배지량/분)으로 발생하는 향기의 정도를 후각으로 판단 구분하였다.

결 과 및 고 찰

<시험 1> 큰느타리버섯의 액체배양을 위한 최적배지 선발

공시한 4종(사과, 배, 포도, 토마토)의 과일을 착즙하여 일반성분을 분석한 결과 표 1-1과 같았다. 토마토는 회분, 단백질, 비타민이 각각 0.34, 0.40, 17.18mg/%로 특히 많이 함유되어 있었으며 당도는 5.0 °Brix로 다른 3종의 과즙에 비해 낮은 경향이었다.

과즙의 종류별 배양기간에 따른 향 생성능은 포도 과즙을 제외하고 대차가 없이 배양 6일 이후부터 향기가 형성되었으며 특히 토마토 과즙에서는 배양 13일부터 향기가 매우 강하게 생성되었다(표 1-2). 따라서 이러한 결과를 바탕으로 이하의 모든 실험은 토마토즙 배지를 사용하였으며 토마토 과즙은 과즙의 산화 및 미생물에 의한 변질을 예방하기 위해 착즙 즉시 살균하여 곧이어 시험을 수행하였는데 과일의 종류별 품종은 무시하여 시험하였으며 과일 품목간 성분의 차이가 있는 것으로 생각된다. 과일 종류별 일반성분의 차이로 인하여 큰느타리버섯의 액체배양에 미치는 영향은 고려하지 않았으며 실험 목적상 최적의 과일즙을 선발하고 이에 대한 최적 당 농도와 통기량에 대한 결과만을 조사하였다.

표 1-1. 과채즙배지의 일반성분 및 특성

과채즙 종 류	수분 (%)	회분 (%)	단백질 (%)	비타민C (mg%)	pH	당도 (°Brix)	색도		
							L ^J	a	b
사 과	88.3	0.18	0.22	3.09	4.48	12.3	13.29	9.38	20.62
배	89.0	0.42	0.24	5.01	4.69	10.8	19.49	5.55	19.73
포 도	81.6	0.26	0.22	2.38	3.78	15.2	4.58	4.34	6.09
토마토	94.5	0.34	0.40	17.18	4.50	5.0	0.84	1.93	1.43

J L: lightness, a: redness, b: yellowness

표 1-2. 과채즙 배지종류와 배양기간에 따른 향 생성능

과채즙 종 류	배 양 기 간 (일)					
	0	2	6	10	13	15
사 과	- [↓]	-	+	+	++	++
배	-	-	+	+	++	++
포 도	-	-	-	-	-	-
토마토	-	-	+	++	+++	+++

↓ -: 없음, +: 약함, ++: 강함, +++: 매우강함

<시험 2> 큰느타리버섯 액체배양을 위한 토마토즙 배지의 최적 sucrose 첨가량 및 통기량 구명

상기의 결과 최적의 과즙 배지로 토마토 과즙 배지를 공시하여 최적의 당농도와 통기량 구명 시험을 한 결과 아래 표 2-1 및 2-2와 같다.

표 2-1. 토마토즙 배지의 sucrose 첨가에 따른 향 생성능

Sucrose 농도 (%)	배 양 기 간(일)					
	0	2	6	10	13	15
0	- [↓]	-	+	++	+++	+++
1	-	-	+	+	++	++
3	-	-	+	+	++	++
5	-	-	+	+	+	+
7	-	-	-	+	+	+

↓ -: 없음, +: 약함, ++: 강함, +++: 매우강함

회전진탕배양에 의해 생성되는 향기의 정도는 당을 첨가하지 않은 것이 배양 6일째부터 향기가 발생하였으며 배양 13일 때는 매우 강한 향기가 생성되어 당을 첨가한 처리보다 우수하였다. 이러한 결과는 토마토 과즙에 당을 첨가할 필요가 없음을 나타내는 것으로 일반적으로 느타리버섯 배양시 당 농도를 2%로 조절하여 사용하는 것과 다른 결과였다.

표 2-2. 토마토즙 배지의 sucrose 첨가에 따른 pH 변화

Sucrose 농도 (%)	배 양 기 간(일)					
	0	2	6	10	13	15
0	4.50	4.49	4.64	4.62	4.64	6.00
1	4.50	4.21	4.61	4.72	5.41	5.97
3	4.50	4.05	4.51	4.62	5.25	5.73
5	4.50	4.48	4.53	4.69	5.05	5.47
7	4.50	4.36	4.50	4.63	5.30	5.79

당의 첨가에 따른 배양기간별 산도의 변화는 일정한 경향이 없었으나 배양기간이 길수록 산도가 점차 높아지는 경향이였다.

표 2-3. 토마토즙 배지의 sucrose 첨가에 따른 당도변화

(°Brix)

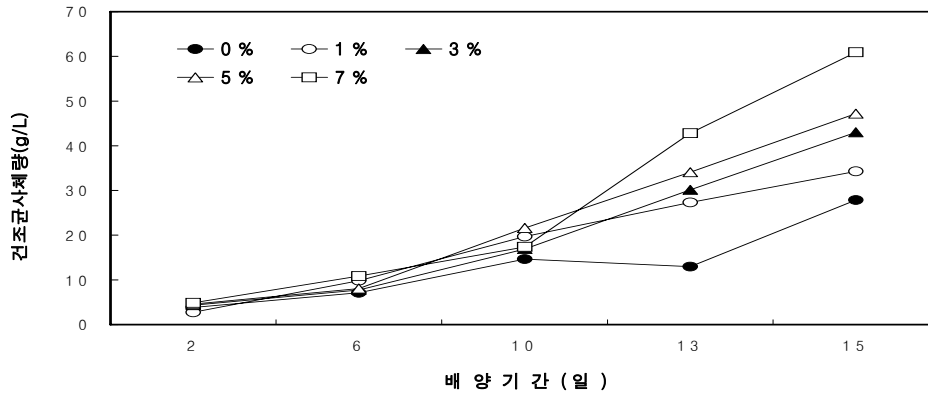
Sucrose 농도 (%)	배 양 기 간(일)					
	0	2	6	10	13	15
0	5.0	4.8	4.9	4.0	3.5	2.2
1	5.7	5.5	5.2	4.3	3.2	1.9
3	7.5	6.8	6.6	6.2	5.2	4.9
5	9.5	8.2	8.4	8.0	7.8	7.1
7	10.9	9.1	10.0	9.1	8.9	7.3

초기의 당농도를 일정하게 유지하면서 배양일수가 경과하면서 당도의 변화를 측정한 결과 표 2-3과 같았다. 대체적으로 초기의 당농도에 비해 배양기간이 경과하면 농도가 낮아졌으며 이러한 경향은 큰타리버섯이 배양초기 당을 영양원으로 사용하는 것으로 추측되며 상기한 당의 농도에 따른 배양성과는 무관한 결과를 나타낸다.

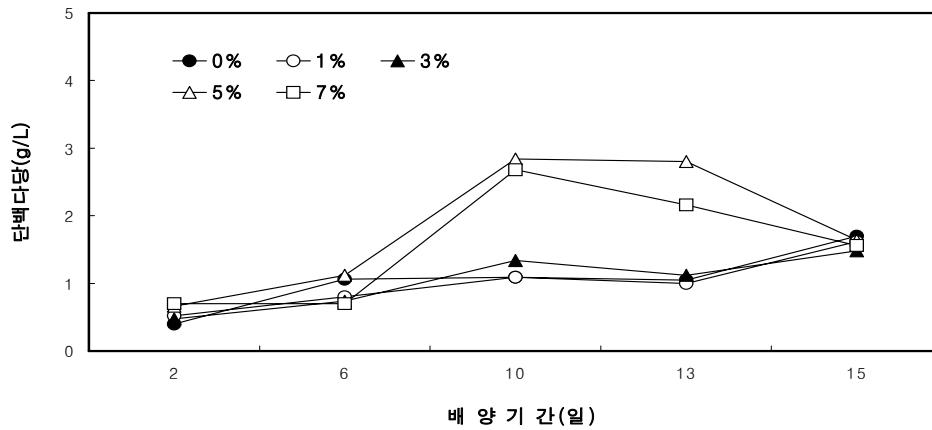
동일한 결과를 예상하고 진탕배양에 의한 단백질당류의 생산량을 측정하는 시험을 수행한 결과 그림 2-1과 같은 결과를 보였는데 이는 당 농도를 5~7%로 조절하여 배지를 만들 경우 균사체 및 단백질당의 생산이 현저하게 높아지는 경향임을 나타낸다. 그러나 배양일수가 10일을 경과하면 발생된 단백질당을 생체 대사를 위해 자체 분해하여 사용되는 것으로 추측되며 이러한 결과는 느타리버섯의 경우와 동일한 양상을 나타내는 것으로 판단된다.

따라서 단백질당류의 생산에 당의 농도가 중요한 변수임을 확인하였으나 향기의

생산과는 상반되는 결과를 보여서 이에 대한 보다 세부적인 연구가 필요하리라 생각된다.



<그림 2-1> 토마토즙 배지의 sucrose첨가에 따른 건조균사체 생산량



<그림 2-2> 토마토즙 배지의 sucrose첨가에 따른 단백질 생산

통기량에 따른 향 생성능은 통기배양시 발생하는 향기가 배양기 밖으로 발산됨에 따라 배양 일수가 경과하고 통기량이 상대적으로 많을수록 향기의 생성능이 떨어지는 경향임을 알 수 있었다.

표 2-4. 토마토즙 배지의 통기량에 따른 향 생성능

통기량 (vvm)	배양기간(일)					
	0	2	6	10	13	15
0.5	- ¹	-	+	+	+	+
1.0	-	-	++	++	+	+
1.5	-	-	++	++	+	+
2.0	-	-	-	-	-	-

¹ -: 없음, +: 약함, ++: 강함

표 2-5. 토마토즙 배지의 통기량에 따른 pH 변화

통기량 (vvm)	배양기간(일)					
	0	2	6	10	13	15
0.5	4.50	4.48	4.38	4.34	4.47	4.15
1.0	4.50	4.48	4.32	4.27	4.55	4.36
1.5	4.50	4.47	4.32	4.28	4.41	4.28
2.0	4.50	4.47	4.34	4.31	4.39	4.29

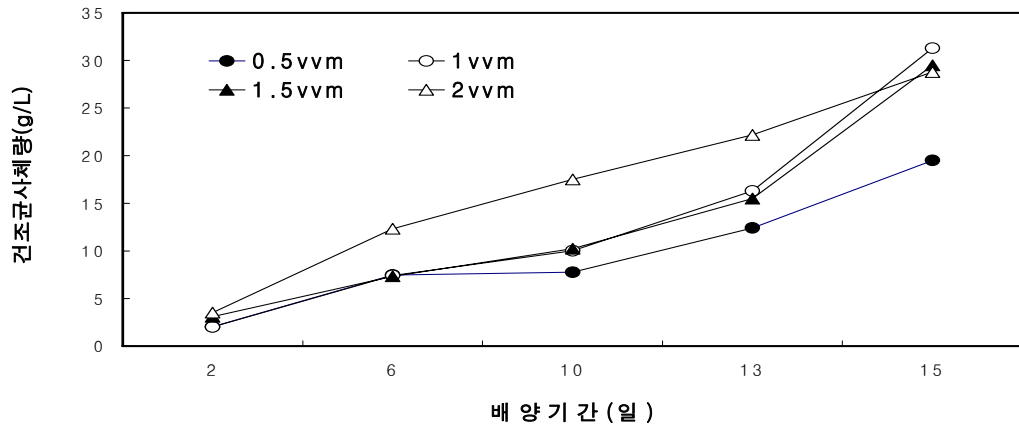
통기량에 따른 배양일수별 산도의 변화는 표 2-5와 같은 결과를 보였는데 대체적으로 산도가 배양 일수를 경과할수록 점차 낮아지는 경향을 보였다.

표 2-6. 토마토즙 배지의 통기량에 따른 당도변화

(°Brix)

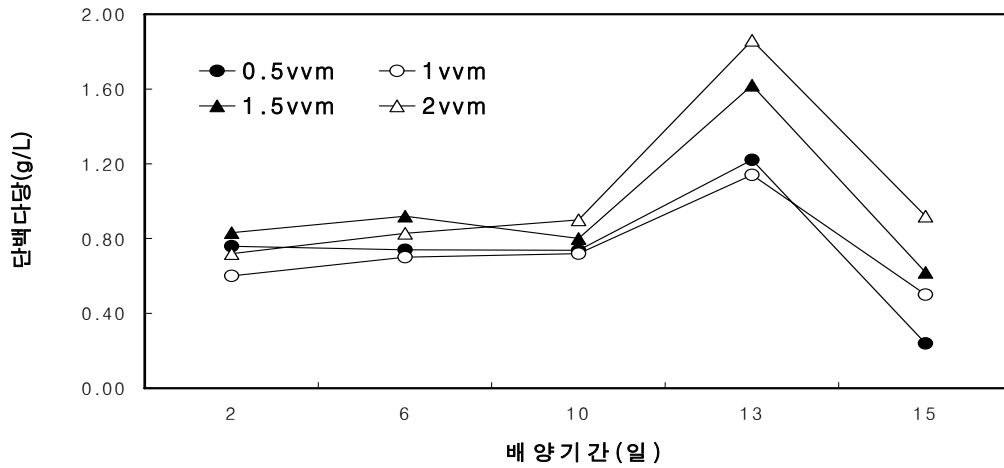
통기량 (vvm)	배양기간(일)					
	0	2	6	10	13	15
0.5	5.0	5.0	5.3	4.5	4.2	2.9
1.0	5.0	4.3	5.1	4.5	4.7	4.4
1.5	5.0	4.5	5.0	4.9	5.3	4.9
2.0	5.0	4.4	4.7	4.9	5.4	5.3

향기의 주성분이 통기량에 따라 당도에 지대한 영향을 미치는 결과를 보인 것이 표 2-6에 나타난 바와 같다. 표 2-6의 결과로 통기량이 부족할 경우 상대적으로 배양일수가 경과할수록 산도가 급격히 떨어지는 경향을 보인다. 이러한 결과는 통기량이 적을수록 향기가 강하게 발생되는 것과 유사한 결과였다.



<그림 2-3> 토마토즙 배지의 통기량에 따른 균사체 생산량 변화

통기량에 따른 건조균사체 중량은 통기량이 많아질수록 균사체 생산량도 같이 증가하는 경향이었으며 적정 통기량은 1~2 vvm 정도였다.



<그림 2-4> 토마토즙 배지의 통기량에 따른 단백다당 생산량 변화

통기량에 따른 단백다당 생산량은 배양일수가 크게 작용하였으며 균사체 생산량과 동일하게 통기량이 많아질수록 단백다당 생산량도 같이 증가하는 경향이었다.

적 요

<시험 1> 큰느타리버섯의 액체배양을 위한 최적배지 선발

1. 과채즙의 일반성분분석 결과, 토마토는 당도가 5.0 °Brix로 가장 낮았으나 비타민 C와 단백질함량은 각각 17.18mg%와 0.40%로 가장 높았으며
2. 토마토 과즙배지에서 배양 6일째부터 체리향이 생성되었으며, 배양 13일 이후부터 강한 체리향을 생성하였다.

<시험 2> 큰느타리버섯 액체배양을 위한 토마토즙 배지의 최적 sucrose 첨가량 및 통기량 구명 시험

1. 토마토즙 배지에 액체배양시 sucrose 무첨가구에서 향 생성능은 가장 좋았으며, 배양액의 pH는 sucrose 첨가에 관계없이 증가하였으나 당도는 감소하였으며
2. Sucrose첨가량과 통기량이 증가함에 따라 배양기간이 경과할수록 건조균사체량과 단백다당은 증가하는 경향이였다.
3. 통기배양시 향생성을 위한 최적 통기량은 1.0 ~ 1.5vvm이었고, 배양 6일째부터 10일까지 강한 향이 생성되었으나 그 이후부터 감소하였으며
4. 플라스크 회전진탕배양이 바이오리액터에 의한 통기배양보다 향, 균사체 및 단백다당 생산성이 양호하였다.

인 용 문 헌

- Khan, S. M. and Qadir, M. A. 1989. Some studies on oyster mushroom (*Pleurotus spp.*) fungus in liquid media in Pakistan. *Mushroom Sci.* 12(2) : 73-79.
- Khan, S. M., Kausar, A. G. and Ali, M. A. 1981. Yield performance of different strains of oyster mushrooms(*Pleurotus spp.*) on paddy straw in Pakistan. *Mushroom Sci.* 11(1):675-678.
- Khan, S. M. and Ali, M. A. 1981. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus spp.*) on cotton boll locules. *Mushroom Sci.* 11(1) : 691-696.
- Khan, S. M. and Chaudhary, I. A. 1989. Some on oyster mushroom (*Pleurotus spp.*) on the waste material of corn industry in Pakistan *Mushroom Sci.* 12(2) : 23-39.

Khan, S. M. and Siddiqui, M. A. 1989. Some studies on the cultivation of oyster mushroom(*Pleurotus* spp.) on ligno-cellulose by-products of textile industry. *Mushroom Sci.* 12(2) : 121-128.

강태수, 박승의, 이정숙, 이학수, 김선영, 이신영. 1998. 건강식품 소재를 이용한 당뇨환자용 기능성식품 소재의 개발, II. 건강식품 소재가 당뇨쥐의 혈당 및 지질성분에 미치는 영향. 농업과학논문집. 40 : 199~206.

Khanna, P. and Garcha, H. S. 1981. Introducing the cultivation of *Pleurotus florida* in the plains of India *Mushroom Sci.* 11(1) : 655-666.

연구결과활용

◦큰느타리버섯의 과채즙을 이용한 액체배양에 의한 천연 체리향 생산기술 산업재산권 (특허)출원 및 체리향 이용 가공식품 개발.