

화학합성배지 및 곡물을 이용한 *Phellinus igniarius*의 균사체 배양조건

정인창 · 김선희 · 권옹일 · 김소연 · 이종숙 · 박 신¹ · 박경숙² · 이재성*

영남대학교 자연자원대학 식품가공학과,

¹대구대학교 농화학과, ²대구공업전문대학 식품영양학과

Cultural Condition for the Mycelial Growth of *Phellinus igniarius* on Chemically Defined Medium and Grains

In-Chang Jung, Seon-Hee Kim, Yong-II Kwon, So-Yeun Kim,
Jong-Suk Lee, Shin Park¹, Kyung-Sook Park² and Jae-Sung Lee*

Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Kyungsan 712-749

¹Department of Agricultural Chemistry, Taegu University, Kyungsan 713-714

²Department of Food Science and Nutrition, Taegu Technical Junior College,
Taegu 704-350, Korea

ABSTRACT: The chemical media composition and culture conditions were optimized for mycelial growth of *Phellinus igniarius* 26005. The method of solid-state fermentation, cultivation of basidiomycetal strains in various grains, was developed. Media composition for optimal growth of *Phellinus igniarius* 26005 was made of 7.0% malt extract, 0.3% bacto soytone, and 0.2% yeast extract. The optimum condition for mycelial growth was 28°C and pH 7.0, respectively. For the mass cultivation of mycelia, the hydrated grains with cold water were put into the plastic bottle. The mycelial growth rate in the bottled grains was high in the early stage with inoculation of homogenized mycelium. The activity of mycelium was maintained by adding sterilized water in the middle of cultivation. The glucosamine content which determines the mycelial growth rate in solid material was in the order of job's tears>barley>black soybean>wheat>malt soybean>brown rice>sorghum>glutinous rice.

KEYWORDS: Glucosamine, Mycelial growth, Media composition Solid-state fermentation, *Phellinus igniarius*

Phellinus igniarius(말똥진흙버섯)는 민주름버섯목(Aphyllorales), 진흙버섯과(Phellinaceae)에 속하는 백색부후균으로 백양나무와 버드나무 등의 활엽수 나무 몸통 위에서 자라며 상황버섯으로 잘 알려져 있는데, 자실체는 목질로 대가 없다. 최근 *Phellinus igniarius*가 항암, 대하증, 장출혈, 이질 등에 효과가 있는 것으로 알려져(中國本草圖鑑, 1994) 의약품 개발의 자원으로서 그 가능성이 시사되어져 왔으나, 다른 버섯류와는 달리 다년생으로 자연계에서 분포 및 발생수가 극히 적어 자실체를 얻기 어려우며 인공배양 역시 어려운 것으로 알려

져 있다(유 등, 1995). 이러한 담자균의 균사체는 자실체와 마찬가지로 생리적 기능을 가지는 것으로 밝혀지고 있으며(Toth 등, 1983; 이 등, 1991), 식용이나 의료용으로 장기간 복용하여도 부작용이 거의 나타나지 않는 이점이 있으므로(이, 1996), 자실체 형성을 필요로 하지 않을 경우 산업적으로 많이 이용되고 있고 건강식품 및 의약품의 개발 소재로서 많은 주목을 받고 있다(Chihara 등, 1970; Hirase 등, 1976; Komatsu 등, 1969). 또한 이의 이용을 위하여 액체배양 방법 및 산업폐자원이나 부산물을 이용한 담자균 생산에 관한 연구도 이루어지고 있다(Lee 등, 1991; Hong 등, 1992).

한편 이들 담자균은 생장속도가 느려 배양기간이

*Corresponding author

길고 생장조건이 까다로우며, 균주에 따라서도 배양 조건이 상이하여 그 이용에 제약점이 되고 있다. 그리고 식용가능한 버섯의 경우는 식품으로서의 이용 가치가 매우 크지만, 식용이 불가능한 버섯은 추출물을 이용하는 등의 방법으로만 사용되어져 왔다 (Khawala와 Sengupta, 1984; Ghosh와 Sengupta, 1982). 따라서 본 연구에서는 *Phellinus igniarius*의 배양 최적조건을 구명하여 균사의 활력을 유지시킴으로써 균사체 및 자실체를 인공재배하기 위한 기초자료로서 이용하고자 하였으며, 자실체의 식용이 불가능한 약용버섯의 균사체를 식품으로 섭취할 수 있도록, 곡류와 같은 고체재료에 균사를 접종하는 고체재료 발효방법을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 본 연구에 사용된 균주는 농업과학기술원
응용미생물과에서 분양받은 *Phellinus igniarius*
26005로써 본 연구실에서 계대배양하면서 사용하-
였다.

균사배양 균의 보존용 배지로는 MYG배지(malt yeast glucose medium)를 사용하였고, 균사의 생장속도를 비교하기 위한 배지로는 ACM(Agrocybe cylindracea medium), CVM(Coriolus versicolor medium), HAM(Hamada medium), LEM(Lentinus edodes medium), MCM(mushroom complete medium), MYG(malt yeast glu-

ose medium), PDM(potato dextrose medium)과 본 연구에서 구명된 PIM(*Phellinus igniarius* medium)을 사용하였다(Table 1). 각 배지는 121°C에서 15분간 고압살균하여 직경 9 cm의 평판 배양접시에 25 ml씩 분주하였다. 평판배양은 배지 종류별로 제조된 평판배지의 중앙에 MYG 평판배지에서 10일간 배양된 균사의 가장자리 일정부위를 5 mm cork borer로 절단하여 접종원으로 사용하였으며, 28°C에서 배양하였다. 액체배양을 위한 접종원은 MYG 액체배지에서 진탕 배양된 균사체를 균질기(Nissei AM-11)에 넣고 10,000 rpm으로 30초간 균질화하여 사용하였다. 액체배양은 100 ml 삼각플라스크에 MYG액체배지 50 ml를 분주한 후 접종원 1 ml를 접종하여 28°C에서 진탕배양(125 rpm) 하였다.

화학합성배지

탄소원 균사의 생장속도에 미치는 탄소원의 영향을 조사하기 위하여 glucose, fructose, sucrose, malt extract, sorbitol, starch의 6종류를 탄소원으로 사용하였다. 그 농도는 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0%로 하였으며, 평판배지에 탄소원과 agar만을 첨가하여 12일간 배양한 후 colony의 직경을 측정하였고, 균사체의 밀도는 육안으로 판정하였다.

질소원 6종류의 질소원(peptone, tryptone, bacto soytone, ammonium tartrate, ammon-

Table 1. Composition of various media

unit: g/100 mL

ium nitrate, potassium nitrate) 농도를 0.1~0.5%로 달리하면서 평판배지에 질소원과 agar만을 첨가하여 12일간 배양한 후 탄소원에 관한 실험과 동일한 방법으로 질소원의 종류에 따른 균사생장 속도를 비교하였다.

교호작용 균사체 생장을 위한 탄소원과 질소원의 교호작용을 검정하기 위해 탄소원과 질소원 각 3종류(탄소원으로 glucose 2%, malt extract 7%, sorbitol 3%를, 질소원으로 peptone 0.1%, tryptone 0.1%, bacto soytone 0.3%)를 선별하여 2원 배치 실험을 3회 반복하였다. 균사의 생장속도는 10일간 28°C 항온기에서 배양한 후 상기 방법에 준하여 측정하였다.

Yeast extract의 영향 생장속도가 가장 빠르고 균사의 밀도가 양호한 탄소원 및 질소원을 적정 농도로 혼합하여 최적 배지(malt extract 7%+bacto soytone 0.3%)를 만들었다. 여기에 비타민 및 기타 생장 요인으로서 yeast extract를 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0% 농도로 첨가한 평판배지를 제조하여 균사의 생장속도를 비교하였다.

무기염류의 영향 대부분의 버섯 영양배지에 공통으로 첨가되는 무기염류인 KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가한 배지와 첨가하지 않은 배지에서 균사의 생장을 상호 비교하였다. 균사의 생장속도는 10일간, 28°C에서 배양한 후 상기 방법에 준하여 측정하였다. 또한 균사체량을 측정하기 위한 액체배양은 13일간, 28°C로 진탕 배양(125 rpm)한 후 균사체를 회수하여, 전물량을 측정하였다. 액체 배양된 균사체는 항량을 구한 여지(Whatman No. 2)에 여과하였으며, 이것을 80°C에서 전조시켜 건조 균체로 하였다.

균사생장 비교 최적 배지를 검정하기 위해 기존의 버섯 영양배지로 많이 사용되고 있는 ACM, CVM, HAM, LEM, MCM, MYG, PDM과의 균사생장 속도를 상호 비교하였다.

최적 배양온도 균사생장에 적합한 온도를 조사하기 위하여, *Phellinus igniarius*의 최적배지인 PIM에 균사를 접종한 후 15, 20, 25, 28, 30, 35°C의 항온기에서 균사를 11일간 배양한 후 colony의 직경을 측정하였다.

최적 pH 배지 조성 실험에서 확인된 최적 액체

배지의 pH를 0.1 N HCl과 NaOH로 pH 4.0~8.0까지 조절한 후 최적 배양온도에서 7일간 진탕 배양(125 rpm)하고 균사체의 건물량을 측정하였다.

곡물에서의 배양

재료 담자균 배양용 고체재료로는 시판 메주콩, 검정콩, 보리, 수수, 율무, 밀, 현미, 찹쌀 등의 8종류였으며, 4°C에 보관하면서 사용하였다.

수분함량 곡물을 이용한 담자균의 대량배양을 위하여, 곡물을 10배 무게량의 냉수(18°C)에 침지시키면서 시간의 경과에 따른 곡물의 수분함량 변화를 측정하여, 각 곡물이 최대수화에 도달하였을 때 곡물의 표면수를 완전히 제거하지 않고 흐르는 물기만 제거하였다. 한편 상기와 같이 수분함량을 조절한 곡물을 톱밥종균 배양병(1000 ml)에 500g 씩 담고 121°C에서 30분간 고압살균하여 살균전 후의 수분함량 변화를 측정하였다.

균사체 배양 냉침에 의하여 곡물의 수분함량을 조절하였을 때는 균사생장에 적합한 수분함량에 도달하지 못하였다. 곡물배지의 수분함량이 적을 때는 담자균사의 초기 활착이 늦어져서 균사의 생장이 어렵게 되므로 고체재료의 수분함량 조절 방법을 개선하고 담자균의 접종방법을 보완함으로써 담자균사 배양의 효율을 증대시키고자 하였다.

Glucosamine 함량 담자균의 세포벽에 함유되어 있는 glucosamine을 정량함으로써 시료중의 균체량을 측정하고자 하였다. 냉침에 의하여 최대수화에 도달한 곡물을 톱밥종균 배양용 플라스틱 통에 담고 121°C, 30분간 고압살균 후, MYG 액체배지에서 28°C, 15일간 진탕배양한 접종원을 곡물배지 무게량의 5%되게 접종하였다. 28°C, 20일 동안 담자균사체가 대량 배양된 곡물 배지의 glucosamine 함량은 Fig. 1과 같이 Bishop 등(1982)의 방법을 변형하여 측정하였다.

결과 및 고찰

화학합성배지

탄소원 *Phellinus igniarius*의 균사 생장속도에 영향을 미치는 탄소원의 종류별, 농도별 실험을 실시한 결과, malt extract를 첨가한 배지에서 균

사의 생장속도와 밀도가 가장 우수하여 성(1995)이 *Phellinus igniarius*의 탄소원 조사에서 malt extract가 가장 우수하였다는 보고와 일치하는 것이었다. Glucose, fructose, sorbitol 배지에서는 균사의 밀도가 비교적 양호하였으나, malt extract를 첨가한 배지에 비하여 생장속도가 떨어졌다. 한편, sucrose와 starch를 첨가한 배지에서는 균사의 밀도가 다른 탄소원에 비하여 크게 떨어졌다. 본 실험

결과 *Phellinus igniarius*의 최적 탄소원으로는 7.0% malt extract였으며, 이는 다른 군주의 탄소원 요구량과 비교해볼 때 다소 높은 함량이었다.

질소원 질소원의 종류별, 농도별 영향을 조사한 결과, bacto soytone을 첨가한 배지에서 균사의 생장속도와 밀도가 가장 우수하였으며, peptone 배지에서의 균사생장이 그 다음으로 우수하였다. 그러나 ammonium tartrate, ammonium nitrate, potassium nitrate 배지에서의 균사 밀도는 매우 낮은 것으로 나타났다. 이것은 성(1995)이 *Phellinus igniarius*의 질소원 조사에서, 사용한 질소원 중 peptone 배지에서의 균사생장이 가장 우수하였으며, 질소원의 첨가수준의 차이는 0.1%가 0.2% 보다 양호하였다는 보고와 유사한 것이었다. 본 실험 결과 *Phellinus igniarius*의 질소원으로는 0.3% bacto soytone이 가장 우수한 것으로 나타났다.

교호작용 균사체 생장을 위한 탄소원과 질소원의 교호작용을 검정하기 위해, 탄소원 및 질소원의 최적화 실험에서 균사생장이 양호한 것으로 나타난 영양원 각 3종류를 선발하여 2원배치 실험을 실시하였다.

*Phellinus igniarius*의 경우 탄소원으로 malt extract 7.0%에 질소원을 조합한 것이 62~70 mm/10 days의 균사생장을 보여, glucose 2.0% 또는 sorbitol 3.0%의 탄소원에 질소원을 조합한 다른 배지에서의 균사생장(15~35 mm/10 days) 보다 매우 우수한 균사의 생장속도와 밀도를 보였다 (Table 4). 따라서 *Phellinus igniarius*의 균사생장을 위해서는 malt extract를 탄소원으로 이용하여 배지를 조제하는 것이 필수적이었으며, 본 실험

Fig. 1. Procedure of glucosamine analysis from *Phellinus igniarius* grown in solid grain media.

Table 2. Effect of carbon sources and concentrations on the mycelial growth of *Phellinus igniarius*

Carbon source	Colony diameter (mm) ¹⁾ at indicated carbon conc. (%)								Mycelial density ²⁾
	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	
Glucose	38±1.0 ³⁾	52±1.7	48±1.0	45±1.5	45±1.0	43±0.5	42±0.8	40±0.5	++
Fructose	45±1.5	38±1.0	38±0.5	35±1.0	35±0.7	32±0.5	30±1.0	30±0.8	++
Sucrose	46±1.8	50±2.4	47±0.8	47±1.0	47±0.5	44±0.8	42±1.0	42±0.9	+
Malt extract	54±0.5	57±1.7	60±1.4	62±0.5	67±0.8	70±0.4	75±1.5	75±0.5	+++
Sorbitol	37±0.7	43±1.8	54±1.0	51±0.9	50±1.4	50±0.8	48±0.5	48±1.0	++
Starch	44±0.8	50±2.3	41±0.5	36±1.0	36±0.5	34±0.5	34±1.1	32±0.4	+

¹⁾Colony diameter was measured after 12 days of incubation at 28°C in the solid medium containing each carbon source without nitrogen source.

Table 3. Effect of nitrogen sources and concentrations on the mycelial growth of *Phellinus igniarius*

Nitrogen source	Colony diameter (mm) ^{a)} at indicated nitrogen conc. (%)					Mycelial density ^{c)}
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	
Peptone	62±1.5 ^{b)}	58±0.9	53±0.5	50±2.4	50±0.9	++
Tryptone	48±1.0	45±0.8	42±1.8	35±0.5	35±0.5	++
Bacto soytone	58±1.5	60±0.5	65±0.9	65±1.0	65±0.5	+++
Ammonium tartrate	48±0.5	36±0.8	35±1.0	33±0.9	30±1.0	+
Ammonium nitrate	36±1.0	37±1.0	34±1.7	32±0.5	30±0.9	+
Potassium nitrate	45±1.7	53±2.0	45±1.0	45±0.5	45±0.5	+

^{a)} Colony diameter was measured after 12 days of incubation at 28°C in the solid medium containing each nitrogen source without carbon source.

^{b)} Values are mean ± SD.

^{c)} The number of + indicates the degree of mycelial density.

Table 4. Effect of carbon and nitrogen sources on the mycelial growth of *Phellinus igniarius*

Nitrogen source and conc.	Colony diameter (mm) ^{a)} at indicated carbon source and conc.		
	Glucose 2.0%	Malt extract 7.0%	Sorbitol 3.0%
Peptone 0.1%	15±0.5 ^{b)(+)} ^{c)}	62±1.8(++)	20±1.0(+)
Tryptone 0.1%	18±0.8(+)	66±0.5(++)	25±0.5(+)
Bacto soytone 0.3%	15±0.0(+)	70±1.0(++)	35±0.9(+)

^{a)} Colony diameter was measured after 10 days of incubation at 28°C.

^{b)} Values are mean ± SD.

^{c)} The number of + indicates the degree of mycelial density.

에서는 malt extract 7.0%와 bacto soytone 0.3%를 조합한 것이 가장 빠른 균사 생장속도(70 mm/10 days)와 우수한 밀도를 나타내었다.

Yeast extract의 영향 *Phellinus igniarius*에 대한 탄소원 및 질소원의 최적조합 배지에 yeast extract를 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0% 농도로 조절하여 균사생장에 미치는 yeast extract의 효과를 조사하였다. Table 5와 같이, *Phellinus igniarius*의 경우는 탄소원으로 malt extract 7.0%와 질소원으로 bacto soytone 0.3%를 조합한 배지에 yeast extract를 0.2% 첨가한 것(77 mm/10 days)이 균사생장에 가장 유리하였다. 일반적으로 균사생장에 영향을 미치는 yeast extract의 최적 농도는 Table 1에서와 같이 0.2~0.6%인데, 본 실험에서도 *Phellinus igniarius*^{c)} 0.2%의 yeast extract를 요구하였다.

무기염류의 영향 균사 생장에 미치는 무기염류의 영향은 Table 6과 같다. 즉, 버섯 영양배지에 일반적으로 첨가되는 무기염류(KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%)를 탄소원,

Table 5. Effect of yeast extract concentrations on the mycelial growth of *Phellinus igniarius* on the optimum carbon and nitrogen sources

Yeast extract(%)	Colony diameter (mm/10 days)
0.0	70±0.5 ^{a)}
0.2	77±1.5
0.4	72±0.5
0.6	72±0.0
0.8	70±1.0
1.0	70±0.5

Table 6. Effect of mineral salts on the mycelial growth of *Phellinus igniarius* in PIM

Mycelial growth	Without mineral salts	With mineral salts ^{a)}
Colony diameter (mm/10 days)	75±1.5 ^{b)}	72±1.0
Dry weight of mycelia (mg/50 ml/13 days)	42±1.4	43±1.8

^{a)} Mineral salts: KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%

^{b)} Values are mean ± SD.

질소원 및 yeast extract의 최적조합 배지에 첨가하고, 무기염류를 첨가하지 않은 배지에서의 균사 생장과 상호 비교하였다. *Phellinus igniarius*는 무기염류를 첨가하였을 경우의 균사 생장이 다소 부진하였으나, 액체배양에 의한 균사의 건물량을 측정해 본 결과, 무기염류의 첨가 여부가 균사 생장에 별 영향을 미치지 않은 것으로 사료되었다.

생장속도 비교 실험을 통하여 구명된 PIM의 적합도를 검정하기 위하여, 기존의 버섯 영양배지로 많이 이용되는 ACM, CVM, HAM, LEM, MCM, MYG, PDM과의 균사생장 속도를 상호 비교 하였다(Fig. 2). *Phellinus igniarius*의 경우는 PIM에서 78 mm/11 days의 균사생장 속도를 나타내어 MYG에서의 균사생장 속도인 63 mm/11 days 보다 양호하였다. 따라서 본 실험에서 구명된 배지인 PIM이 *Phellinus igniarius*의 생장에 최적배지임을 확인하였다.

배양온도 균사체 생장에 적합한 최적 온도를 구명하기 위하여, 본 실험에서 최적배지로 선발된 PIM에 균사를 접종한 후 15~35°C의 항온기에서 균사를 배양하고 길이를 측정하였다(Fig. 3). *Phellinus igniarius*는 25~28°C가 최적 균사 생장의 온도 범위였으며, 35°C 이상에서는 균사의 생장이 극히 저조하였다. 이는 유 등(1995)이 *Phellinus igniarius*의 온도 실험 결과와는 비슷한 양상이었다. 또한 성(1995)이 한천 배지상에서 *Phellinus*

igniarius 균사를 배양하였을 때 30°C에서의 균사 생장이 가장 우수하여, 25°C에서의 균사생장 보다 양호하였다는 보고와는 다소 다른 양상이었다. 정(1995)은 PDB배지에서 *Phellinus igniarius*의 최적 온도 범위를 조사하였을 때 35°C에서 균사 생산량이 가장 양호하였다고 보고하였는데, 이는 본 실험에서 *Phellinus igniarius*의 생장 최적 온도가 다른 균주에 비하여 약간 낮았으며, 35°C 이상에서는 균사가 거의 생장하지 않았음을 감안할 때에 극히 다른 양상이었다. 이와같이 실험에 따라 버섯의 생장 최적온도에 차이가 나는 것은 기본배지 조성 및 균주계통간의 차이에 기인한 것으로 사료되었다.

최적 pH 최적배지 및 최적온도 선발 후 각 pH 별로 조절된 액체배지 50 mL에 접종원을 1 mL씩

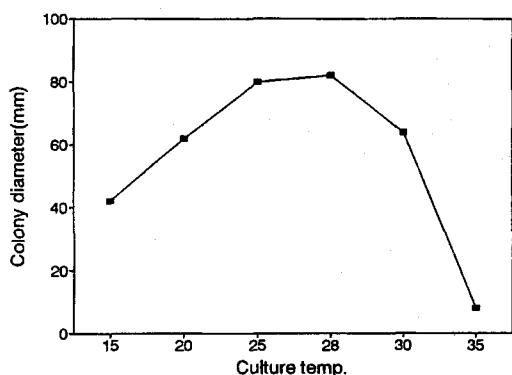


Fig. 3. Effect of temperature on the mycelial growth of *Phellinus igniarius*

*: Colony diameter was measured after 11 days of incubation.

Table 7. Effect of pH on the mycelial dry weight of *Phellinus igniarius*

pH	Dry weight of mycelia (mg/50 mL/7 days)
4.0	12.6±0.8 ^a
4.5	18.9±1.3
5.0	23.3±1.0
5.5	24.4±0.5
6.0	24.6±0.3
6.5	25.7±0.7
7.0	27.0±1.0
7.5	25.3±0.4
8.0	20.6±1.2

^aValues are mean ± SD.

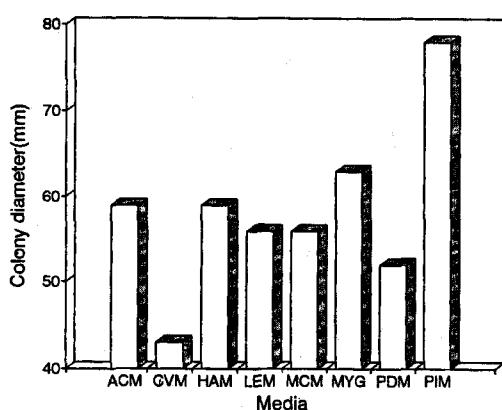


Fig. 2. Mycelial growth of *Phellinus igniarius* on the various media

*: Colony diameter was measured after 11 days of incubation at 28°C.

Table 8. Moisture content of hydrated grains in 18°C cold water before and after autoclaving unit: %

Treatment	Malt soybean	Black soybean	Barley	Sorghum	Job's tears	Wheat	Brown rice	Glutinous rice
Before(A)	66.5	65.4	55.8	46.8	45.3	43.5	37.4	37.9
After(B)	62.6	61.3	52.7	42.7	41.0	39.8	32.9	32.2
A-B	3.9	4.1	3.1	4.1	4.3	3.7	4.5	5.7

접종하였으며, 최적 배양온도에서 배양(125 rpm) 한 후 균사체의 건물량을 측정하였다(Table 7). *Phellinus igniarius*은 pH 4.0에서 균사생장이 가장 저조하였고, pH 7.0에서 균사생장이 가장 양호하였으나, pH 5.0~8.0의 범위에서는 균사생장이 거의 비슷하였다. 이는 정(1995)이 *Phellinus igniarius*의 최적 배지 pH가 7.0이었다고 한 보고와 일치하는 것이었다.

곡물에서의 배양

수분함량 담자균의 대량배양을 위해서는 배양재료의 간편한 전처리 조작이 요구되며 균사 생장기간이 긴 담자균의 배양을 위해서는 초기 균사활착속도를 향상시키는 것이 무엇보다 중요하다. 본 실험에서는 온첨으로 수분함량을 조절할 때 필요한 시설투자와 노동력의 소모, 조리 과정에서 발생되는 수용성 영양분의 손실과 과다한 가열의 경우 영양성분이 파괴되는 등의 부작용, 대량배양시에 문제가 될 수 있는 배양기 아랫부분 곡물의 엉겨붙음 현상에 의한 균사생장의 장애요인 해결을 위하여 냉침에 의한 수분함량 조절조건을 보완하여 실험하였다. Table 8에서와 같이 각 곡물은 고압살균 후 수분함량이 조금씩 감소하여 찹쌀이 5.7%, 현미 4.5%, 율무 4.3%, 검정콩 4.1%, 수수 4.1%, 메주콩 3.9%, 밀 3.7%, 보리가 3.1%의 순으로 수분함량 감소를 나타내었다. 따라서 수분함량이 조절된 곡물을 이용하여 담자균을 배양할 때에는 고압살균 후 감소되는 수분량을 고려한 배양방법이 수행되어져야 할 것으로 사료되었다.

균사체 배양 곡물을 기질로 한 담자균의 균사배양에서, 고체재료의 수분함량을 조절하기 위한 침지방법은 담자균의 균사를 배양하는 방법에 따라 달라져야 할 것으로 사료되며, 무균 시설이 충분히 갖추어 지지 않은 일반 배양실 조건에서는 배양병에

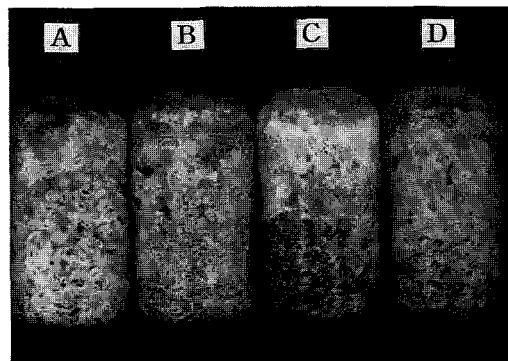


Fig. 4. Mycelial growth of *Phellinus igniarius* in plastic bottle filled with various grains

A: Black soybean, B: Job's tears, C: Sorghum, D: Barley

*: Solid substrate were cultured at 28°C for 20 days.

담긴 곡물에 담자균사를 배양하는 방법이 적합할 것으로 사료되었다. 본 연구에서는 미리 배양해 놓은 액체 접종원을 균질화하여 곡물에 접종함으로써 접종 초기 짧은 시간에 균사가 완전히 활착되도록 하였다. 또한 균사배양 중기에 멸균 중류수를 곡물배지에 침가하고 골고루 섞어 줌으로써 곡물배지의 수분함량을 증대시켜 균사의 생장에 활력을 주어 균사의 활착을 촉진시켰다. 톱밥종균 배양병을 이용한 고체재료에서의 균사배양을 실시한 결과, 각 곡물의 표면이 담자균사에 애워싸여 있는 모습(Fig. 4, 5)을 볼 수 있었으며, 이를 통하여 냉침한 곡물을 이용한 담자균의 대량배양 가능성을 확인하였다.

Glucosamine 함량 톱밥종균 배양병에서 담자균사체가 배양된 곡물의 glucosamine 함량을 측정하였다. Table 9와 같이 *Phellinus igniarius*가 배양된 곡물에서의 glucosamine 함량은 율무에서 가장 높게 나타났고, 그 다음으로는 보리, 검정콩의 순으로서 율무가 *Phellinus igniarius*의 균사성장

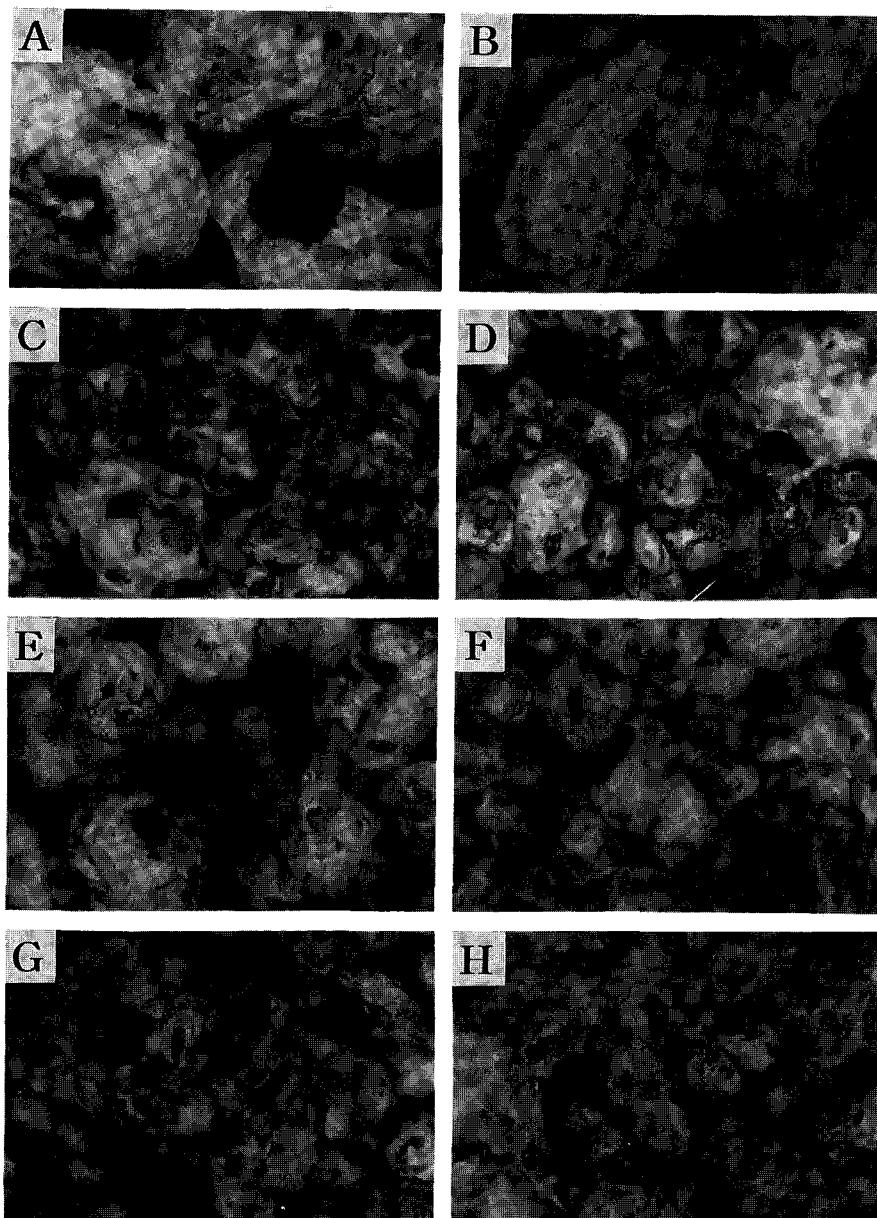


Fig. 5. Enlarged photographs of *Phellinus igniarius* mycelia cultured in the various grains

A: Malt soybean, B: Black soybean, C: Barley, D: Sorghum, E: Job's tears, F: Wheat, G: Brown rice, H: Glutinous rice

*: Solid substrate were cultured at 28°C for 20 days.

에는 가장 유리한 것으로 나타났다. 이와같이 glucosamine의 함량이 담자균사체가 배양된 곡물에 따라 달리 나타나는 것은 각 고체재료의 특이성 및 대량배양을 위한 냉침처리에서 곡물에 따라 수분함

량의 차이가 있었고, 배양 중기에 균사의 활력을 촉진시키기 위하여 멸균증류수를 첨가함에 따라 곡물에서 균사의 생장정도가 달라진 때문으로 사료되었다.

Table 9. Glucosamine content of *Phellinus igniarius* mycelial grains after incubation at 28°C

Grains	Glucosamine content (μg/1.0 g/20 days)
Malt soybean	76.0
Black soybean	104.0
Barley	118.2
Sorghum	70.8
Job's tears	236.4
Wheat	78.4
Brown rice	73.4
Glutinous rice	69.8

적  요

*Phellinus igniarius*의 화학합성배지 조성 및 배양조건의 최적화 실험을 실시하였다. 또한 곡물에서 담자균사체를 배양하는 고체재료 발효방법을 개발함으로써, 기능성식품의 이용 가능성을 검토한 결과는 다음과 같다.

*Phellinus igniarius*의 최적 영양배지로는 malt extract 7.0%, bacto soytone 0.3%, yeast extract 0.2%의 조합이었다. 그러나 대부분의 버섯 영양배지에 공통으로 첨가되는 무기염류(KH₂PO₄ 0.046%, K₂HPO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.05%)의 첨가는 균사생장에 별 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 균사생장의 최적 배양온도는 28°C였으며, 균사생장 최적 pH는 7.0으로 나타났다. 담자균사체의 대량배양 조건 실험을 실시한 결과, 냉침에 의해 최대수화에 도달한 곡물을 배양용기에 담고, 액체배양 후 균질화한 담자균사체를 곡물에 접종함으로써 접종초기 짧은 시간에 균사가 완전히 활착되도록 할 수 있었다. 또한 균사 배양중기에 멀균증류수를 첨가함으로써 균사의 활력을 유지시킬수 있었다. *Phellinus igniarius*가 배양된 곡물에서 균사체량을 나타내는 glucosamine의 함량은 올무>보리>흑태>밀>메주콩>현미>수수>찹쌀의 순이었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술처 선도기술개발사업비의 지

원에 의하여 수행된 결과의 일부로서 이를 수행할 수 있도록 지원하여 주신 것에 감사드립니다.

참고문헌

- 성재모. 1995. 다기능 버섯의 교배육종 연구. 선도기술 개발사업과제 연차보고서. 과학기술처 95-105.
- 유영복, 김경수, 공원식, 김영호, 조인선, 백길현, 김동현, 김순자. 1995. 다기능 버섯 우량 품종 육성. 선도기술개발사업과제 연차보고서, 과학기술처 39-45.
- 이권행, 정훈, 김영일, 김병각. 1991. 산업폐자원을 이용한 발효에 의한 영지의 항고혈압 성분의 생산. 한국균학회지 19: 79-84.
- 이신영. 1996. 버섯 유래 항암 다당류의 특성과 생산. Biotechnology News 3: 95-109.
- 정덕균. 1995. 고등균류의 유전자원 탐색 및 보존연구. 선도기술개발사업과제 연차보고서, 과학기술처 22-24.
- 中國本草圖鑑. 1994. 第一卷. 驪江出版社 274.
- Adaskaveg, J.E. and Gilbertson, R.L. 1986. Cultural studies and genetics of sexuality of *Ganoderma lucidum* and *G. tsuage* in relation to taxonomy of the *G. lucidum* complex. Mycologia 78: 694-755.
- Bishop, R.H., Duncan, C.L., Evancho, G.M. and Young, H. 1982. Estimation of Fungal Contamination in Tomato Products by a Chemical Assay for Chitin. J. Food Sci. 47: 437-440.
- Bose, S.R. 1933. Abnormal spores of *Ganoderma*. Mycologia 25: 431-434.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Arai, Y. and Fukuoka, F. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially Lentinan from *Lentinus edodes*(Berk) Sing(an edible mushroom). Cancer Res. 30: 2776-2781.
- Ghosh, A.K. and Sengupta, S. 1982. Extracellular production of folic acid factor by the mooshroom *Coprinus lagopus*. J. Food Sci. Technol. 18: 133-135.
- Hirase, S., Nakai, S. and Akatsu, T. 1976. Structure studies on the antitumor active polysaccharides from *Coriolus versicolor*(Basidiomycetes). I. Fractionation with barium Hydroxide. Yakugaku Zasshi 96: 413-418.
- Hong, B.S., Kim, S.J., Song, C.H., Hwang, S.Y. and Yang, H.C. 1992. Development of substrate and Cultural method for the cultivation of *Pleurotus sajor-caju*. Kor. J. Mycol.

- 20: 354-359.
- Jorge, O., Toth, Luu, B. and Ourisson, G. 1983. Triterpenes cytotoxiques from *Ganoderma lucidum*(Polyporaceae). *Tetrahedron Letters* **24**: 1081-1084.
- Khowala, S. and Sengupta, S. 1984. The production of extracellular endo-alpha-mannosidase by the mushroom *Volvariella volvacea*. *Can. J. Microbiol.* **30**: 657-662.
- Komatsu, N., Olubo, S., Kikumoto, S., Kikmuro..
- Saito, G. and Skai, S. 1969. Host mediated antitumor action of Schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann.* **60**: 137-144.
- Lee, K.H., Jeong, H., Kim, Y.I. and Kim, B.K. 1991. Production of Antihypertensive constituents from *Ganoderma lucidum* IY005 by fermentation using industrial wastes. *Kor. J. Mycol.* **19**: 79-84.