목재공학 32(1): 35~44, 2004
Mokchae Konghak 32(1): 35~44, 2004

일본잎갈나무재의 수용성추출물 첨가가 표고버섯의 톱밥재배에 미치는 영향*1

조 남 석*2† · 정 홍 채*3 · 김 동 훈*3 · 이 상 선*3 · Shoji Ohga*4 · A. Leonowicz*5

Effect of Water Soluble Fraction from Japanese Larch Wood on Sawdust Cultivation of *Lentinula edodes**1

Nam-Seok, Cho*2† · Dong-Hun, Kim*3 · Hung-Chae, Chung*3 · Sang-Sun, Lee*3
Shoji Ohga*4 · A. Leonowicz*5

요 약

표고버섯(*Lentinula edodes*)의 생장이 매우 좋았던 일본잎갈나무재의 수용성 추출물(water-soluble fraction, WSF)을 분리하여 구성당을 분석한 결과, rhamnose 및 mannose는 거의 없고, glucose도 2.2%로 매우 낮았으며, arabinose가 18.3%, galactose가 75.3%로서 가장 많이 함유되어 있었다. 정제된 추출물의 arabinose와 galactose의 함량비는 1 : 3.4였다.

정제된 WSF를 완전메틸화 · 가수분해 · 가스크로마토그래피에 의하여 분석한 결과, β-1,3 결합한 D-galactopyranose가 주쇄를 이루며, 이에 galactose의 C_6위에 측쇄로서 β-1,6 결합한 D-galactose와, β-1,6 결합한 L-arabinose가 존재하며, 전자는 2-3개의 D-galactopyranose가 결합을 하고 있고, 후자는 L-arabinofuranose가 1-2개 중간의 측쇄구조를 이루고, 말단은 L-arabinopyranose로 구성되어 있었다.

PDA배지에 WSF첨가로 표고의 균사 생장이 매우 증진되었으며, 2 - 4% 첨가수준에서 균사 생장이 최대였고, 첨가량이 더 많으면 균사의 생장이 오히려 감소되었다. 톱밥배지에서도 PDA 배지에서의 결과와 마찬가지로 WSF첨가로 균사 생장이 증진되었으며, 산림 6호 및 Mok-H의 경우 모두 4% 첨가에서 균사의 생장이 최대로 나타났다. 톱밥배지에 WSF 첨가가 버섯생산량을 증가시켰는바, Mok-H의 경우 무첨가에 비해 약 1.3배, 산림 6호의 경우 1.2배 증수되었다. 버섯균 세포벽의 주성분인 ergosterol 함량변화를 측정한 결과, WSF첨가로 미첨가에

* 1 접수 2003년 2월 20일, 채택 2003년 4월 11일
본 연구는 1998 농림기술센타의 연구비 〔농특과제 "생육활성물질 첨가에 의한 표고 톱밥재배의 생산성향상 및 재배잔사의 유효이용"〕 지원에 의하여 수행되었음.
* 2 충북대학교 산림과학부, School of Forest Resources, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea
* 3 한국교원대학교 생물학과, Dept. of Biology, Korea National Univ. of Education, Chungbuk 363-791, Korea
* 4 日本 九州大學校 農學部, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 811-2415, Japan
* 5 폴랜드 마리아큐리대학교, Department of Biochemistry, Maria Curie-Sklodowska University, 20-031 Lublin, Poland
† 주저자(corresponding author) : 조남석(e-mail: nscho@chungbuk.ac.kr)

비하여 ergosterol의 함량이 증가하였으며, 균사가 콜로니를 형성하는 초기단계에서는 낮은 ergosterol함량을 나타냈으나 자실체가 형성되는 시기에 급격히 높아지는 결과를 나타냈다. 따라서 배지내의 ergosterol함량이 자실체형성의 주요 예측수단으로 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

ABSTRACT

The water soluble fractions(WSF) from Japanese larch wood were isolated, purified by anion exchange resin and Sephadex gel filtration and identified its chemical structure by means of periodate oxidation and methylation reactions. Its major components are arabinose and galactose (1 : 3.4). Based on the results of periodate oxidation, methylation and gas chromatographic analysis of purified WSF, main chain is composed of β-1,3-glycosidic linkage among D-galactopyranoses, and two different side chains; β-1,6-glycosidic linkage among 2-3 units of D-galactopyranoses and β-1,6-glycosidic linkage between 1-2 units of D-galactopyranose and L-arabinopyranose.

Addition of WSF to culture media of oak mushroom (*Lentinula edodes*) accelerated the mycelial growth. In the case of PDA cultures, 2 percent addition of WSF in Sanlim No. 6 strain and 4 percent of WSF in Mok-H strain mostly enhanced the mycelial growth of the mushroom. In the case of sawdust cultures, 4 percent addition of WSF in two strains showed the best mycelial growth. High percentages addition of WSF inhibited mycelial growth of the mushroom. Mushroom production was increased with addition of WSF. By the addition of WSF, ergosterol contents in the media were quite high at the colonized stage and rapidly increased at the fruiting stage. Therefore the ergosterol content could be utilized as an indicator to evaluate the culture maturity for the mushroom fruiting.

Keywords: Japanese larch wood, Water soluble fraction (WSF), Arabinogalactan, *Lentinula edodes*, Ergosterol

1. 서 론

우리나라의 표고재배는 1955년 표고종균의 인공배양법이 개발됨에 따라 종균에 의한 재배가 활발히 이루어졌으며, 그후 정부의 적극적인 장려시책에 따라 오늘날 7,000여 농가가 표고재배를 하고 있다. 생산량에 있어서는 1998년 건표고 4,049톤에 이르고 있어, 새로운 농가소득원으로 각광을 받고 있으며, 1998년도 생산액이 1,008억 원으로서 1998년 임업총생산액의 6.5%를 차지하였으며, 이 생산액은 우리나라 전체 산림에서 생산되는 용재생산액 922억원보다 많은 수치로서, 특히 수입개방화 시대의 고소득 작목으로 평가받고 있다(이 등, 2000). 국민소득수준의 향상으로 표고버섯의 소비량도 해마다 증가되어, 1983년 국민 1인당 5.3 g에 불과하던 표고버섯 소비량이 1992년에는 무려 62.7 g으로 증가(일본의 경우 국민 1인당 735 g) 되었으며, 2000년에 95 g, 2030년에는 201 g까지 증가될 것으로 예측하고 있다(이 등, 2000).

지금까지의 표고재배는 주로 원목을 사용하여 이루어져 왔으나, 원목의 구입이 어려워지면서 톱밥재배가 널리 보급되고 있으며, 이러한 새로운 재배방법으로 자동화된 재배기술이 널리 활용되고 있다. 이러한 톱밥재배와 관련하여 버섯균의 생육을 촉진시키는 첨가물 연구가 이루어지고 있다. 담자균의 성장촉진제로서 리그닌 및 리그닌전구물질(池谷 · 後藤, 1988), 양파추출물(大賀, 1988), 목초액증류성분(Yoshimura & Hayakawa, 1993; Ohta & Zhang, 1994), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (Tsujiyama *et al.*, 1993), 효모추출물(Mastuo *et al.*, 1992), 각종 담자균류의 추출물(Urayama, 1969) 등의 첨가가 보고되고 있으며, 버섯균사체의 영양생장 및 자실체의 형성

을 해명하고 있다. 그러나 버섯생산 농가가 실제 재배에 사용하기 위해서는 값이 싸고 구입이 용이하여야 하나 아직까지 이러한 요구를 만족시키는 첨가제가 없는 실정이다.

본 연구는 우리나라의 주요조림 수종인 일본잎갈나무재의 수용성추출물의 화학구조를 구명함과 동시에 표고의 톱밥재배시 일본잎갈나무재의 수용성추출물 첨가가 버섯의 생육, 버섯생산량 및 목질배지의 분해에 미치는 효과를 알기 위하여 실시하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 공시재료

충북대학교 구내에 생육하고 있는 35년생 일본잎갈나무 2본을 벌채하여 한국공업규격의 시료채취 및 조제법(박 등, 1993)에따라 시료를 조제하고, 음건후, 알코올-벤젠(1:2)의 혼액으로 8시간 탈지하여 공시하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 수용성추출물의 분리

탈지한 일본잎갈나무재 톱밥에 기건 중량비로 5배량의 물을 가하여 48시간 실온에서 교반하면서 추출을 행하였다. 보통의 여과로는 분리가 되지 않아서 원심분리기를 사용하여 여액을 분리하고, 이를 진공증발기를 사용하여 40℃ 이하에서 감압농축한 다음, 용적의 20배량의 에칠알코올에 떨어트려 침전을 얻고, 에틸알코올, 에틸에테르순으로 세척하고 동결건조시켜 분말상의 수용성추출물(water soluble fraction, WSF)을 얻었다. 톱밥에 대한 추출물의 수율은 약 10% 정도였다.

2.2.2. 화학적 성분의 정량

화학적 조성분의 분석은 탈지시료를 사용하여 한국공업규격의 목재성분 분석법으로 목재의 화학조성분을 분석(박 등, 1993)하였다. 구성당의 분석은 탈지목분을 72% 황산으로 가수분해하여 얻은 가수분해물을 $Ba(OH)_2$의 포화용액으로 중화시키고 그 상등액을 $NaBH_4$로 실온에서 환원시킨 다음, 아세틸화하여 얻은 alditol acetate를 methylene chloride로 추출·농축 후, inositol을 내부표준품으로 하여 가스크로마토그라피에 의하여 구성당을 정량하였다(Borchardt and Piper, 1970; 박 등, 1993).

2.2.3. WSF의 정제 및 화학구조의 구명

분리한 WSF의 구성당을 상기한 alditol acetate법(Borchardt and Piper, 1970; 박 등, 1993)으로 분석하여 arabinose와 galactose로 이루어진 당류임을 확인하고, 이 fraction을 정제하였다. 정제는 Ekman법(Ekman, 1962) 및 Dutton 등(1973)의 방법으로 수행하였는바, 음이온교환수지 컬럼을 통하여 720 nm의 fraction을 분리하였고, 다시 Sephadex G100 G150을 사용하여 480 nm에서의 fraction을 분리시켜 정제하였다. 우론산함량은 정제된 WSF의 가수분해물로부터 이온교환수지를 사용하여 산성당을 분리하고, Folin & Denis법(1915)으로 정량하였다.

정제된 추출물을 메틸화분석(Conrad, 1972) 및 과요드산 산화법(Whistler, 1965)을 이용하여 구성당의 결합위치를 확인, 화학구조를 구명하였다. 즉 시료를 Hakomori법(Conrad, 1972)으로 완전메틸화한 다음, 개미산 및 황산으로 2단 가수분해시키고, 수산화바륨으로 황산을 제거한 다음, tri-O-methyl-pentose류가 농축과정에서 휘발할 염려가 있기때문에 이를 방지하기 위해서 가수분해물을 농축하기 전 $NaBH_4$로 환원(Zinbo & Timell, 1965)시켰다. 이러한 과정을 거쳐 얻은 arabinogalactan의 가수분해물의 alditol acetates를 가스크로마토그래프로 분석(Borchardt and Piper, 1970; 박 등, 1993)하여 결합위치를 확인하였다.

2.2.4. 표고버섯재배에 미치는 WSF의 첨가효과

소정량의 WSF를 첨가후 표고버섯의 균사생장을 PDA 배지(pH 4.5, 24℃, 7일간) 및 참나무류 톱밥배지(톱밥:미강=3:1, 24℃, 함수율 65%, 20일간)에서

Table 1. *Lentinula edodes* strains

Strain	Source	Fruiting temperature	Use
Mok H	Chungbuk University	10 - 22℃	sawdust cultivation
Sanrim No. 6	Korea FRI	15 - 20℃	sawdust cultivation

Table 2. Chemical composition of Japanese larch wood

Compositions	Contents, %
Extractives	
Cold-water	13.5
Hot-water	16.3
1% NaOH	23.5
1% KOH	24.8
Alcohol-benzene	5.4
Lignin	26.3
Ash	0.28

Table 3. Relative composition of carbohydrates of Japanese larch wood

Compositions	Relative contents, %
Rhamnose	trace
Arabinose	2.5
Xylose	8.6
Mannose	2.5
Galactose	18.2
Glucose	68.1

Table 4. Relative composition of WSF of larch wood

Compositions	Relative contents, %
Rhanmose	trace
Arabinose	18.3
Xylose	7.1
Mannose	trace
Galactose	75.3
Glucose	2.2

조사하였다. 균사생장량 조사에는 본 대학에서 보유하는 표고 균주 Mok H와 산림6호 2종을 사용하였는데, 이 균주는 톱밥재배용이며 중온균으로서 그 성상은 Table 1과 같다.

아울러 톱밥배지에서의 버섯생산량을 조사하였으며, 재배후 버섯균 세포벽의 주요성분인 ergosterol 함량을 측정하여 톱밥배지의 분해정도를 측정하였다. Ergosterol 함량은 Seitz 등(1977) 및 Ohga 등(2000)의 방법을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 일본잎갈나무 목재의 화학적 조성분

일본잎갈나무재의 화학적 조성분은 Table 2에서 보는 바와 같이 다른 수종에 비하여 추출물이 많은 특징을 가지고 있다. 일본산 수종과 비교하였을때(半澤, 1968; 右田 등, 1968) 국산 일본잎갈나무의 추출물 함량이 2 - 2.5배 높은 것으로 나타났다.

3.2. 원료목재의 구성당류의 분석

Table 3은 원료목재의 구성당의 조성을 분석한 결과인데, glucose 함량이 68.1%로서 가장 많았으며, galactose가 18.2%로서 소나무류 함량의 약 3배를 보이고 있다(신 등, 1983). 그리고 mannose함량이 2.5%로서 다른 침엽수재의 1/4 - 1/5 정도에 지나지 않았다. arabinose와 galactose 의 함량비는 1 : 7로서 galactose의 함량이 매우 높았다.

3.3. WSF의 분리

분리된 WSF의 수율은 톱밥기준으로 약 10% 정도였다. Table 4 은 WSF의 구성당류를 분석한 결과이다. rhamnose 및 mannose는 거의 존재하지 않았으며, glucose도 2.2%의 매우 낮은 함량을 보여주고 있다. arabinose 및 galactose의 함량은 전체 추출물의

Table 5. Relative composition of purified WSF

Compositions	Relative contents, %
Rhanmose	-
Arabinose	22.1
Xylose	2.1
Mannose	-
Galactose	75.7
Glucose	-

약 92%로 나타났으며, arabinose와 galactose의 비는 1 : 4.1로서 목재의 함량비인 1 : 7보다 매우 낮았다. 이러한 결과는 이들 WSF중의 arabinose 및 galactose가 세포벽에 존재하는 것이 아니고, 세포의 내강에 존재함을 의미하는 것이며, 전체의 합계가 100%을 넘고 있는데, 서로 결합하여 중복으로 정량되었음을 나타내고 있다.

3.4. WSF의 성상

3.4.1. 구성당분석

정제한 WSF의 구성당을 알기 위하여 alditol acetate 법으로 유도체화하여 gas chromatography로 분석한 결과, Table 5에서 보는 바와 같이 rhamnose, mannose 및 glucose는 거의 없었으며, xylose함량도 정제전의 7.1%로부터 2.1%로 감소되었으며, arabinose 함량이 22.1%, galactose가 75.7%로 이루어진 arabinogalactan임을 알 수 있었다. 그리고 arabinose 및 galactose의 함량비가 1 : 3.4로서 정제전의 수용성추출물의 함량비 1 : 4.1에 비해 다소 낮은 결과를 보여주고 있다. 이 값은 일본산 일본잎갈나무의 arabinogalactan 함량비 1 : 6 (館・山森, 1953)보다 매우 낮은 값이다. 추출물을 가수분해하지 아니하고 그대로 alditol acetate로 유도체화하여 분석하였을 때 거의 구성당의 함량이 흔적으로 나타나는 정도였으므로 이 추출성분에 들어 있는 당들은 다당류로서 존재하고 있음을 알 수 있었다.

3.4.2. Arabinogalactan의 화학구조

3.4.2.1. 메틸화분석

Hakomori 법(Conrad, 1972)으로 완전메틸화한 arabinogalactan 가수분해물의 alditol acetates를 가스크로마토그래프로 분석하여 Table 6과 같은 결과를 얻었다. 2,3,4,6-tetra-O-methyl-D-galactopyranose는 arabinogalactan의 주쇄 및 측쇄의 말단구조이고, 2,3,4-tri-O-methyl-D-galactopyranose는 β-1,6 결합한 주쇄의 중간구조이며, 2,4-di-O-methyl-D-galactopyranose는 β-1,3 결합한 주쇄의 중간잔기에 해당한다. 2,3,5-tri-O-methyl-L-arabinopyranose는 측쇄로 존재하는 arabinose의 말단기이며, 2,5-di-O-methyl-L-arabinofuranose는 β-1,3 결합한 측쇄의 중간구조에 해당된다. 따라서 이 결과로부터 WSF중의 arabinogalactan의 구조를 정리하면 β-1,3 결합한 D-galactopyranose기가 주고리를 이루고 있고, 주고리인 galactose의 C_6위 모두가 측쇄를 가지는데, 측쇄에는 2종의 분자, β-1,6 결합한 D-galactose와 β-1,3 결합한 L-arabinos가 결합하고 있는데, 전자는 2 - 3개의 D-galactopyranose가 결합을 하고 있으며, 후자는 L-arabinofuranose가 1 - 2개 중간의 측쇄구조를 이루고, 말단은 L-arabinopyranose로 구성되어 있다. 각각의 당류의 몰비를 말단기인 2,3,4,6-tetra-O-methyl-D-galactopyranose를 기준

Table 6. Composition of hydrolyzates from methylated arabinogalactan

Components	Peak area of gas chromatogram	molar ratio
2,3,4,6-tetra-O-methyl-D-galactopyranose	40.0	1.00
2,3,4-tri-O-methyl-D-galactopyranose	50.1	1.25
2,4-di-O-methyl-D-galactopyranose	66.9	1.67
2,3,5-tri-O-methyl-L-arabinopyranose	11.9	0.30
2,5-di-O-methyl-L-arabinofuranose	22.8	0.57

Table 7. Periodate oxidation analysis of purified arabinogalactan

Compositions	Contents
Periodate consumed, mol	1.19
Formic acid produced, mol	0.50
Degradation products, mol %	
Glycerol	53.0
Threitol	1.1
Arabinose	9.7
Galactose	37.3

으로 산출한 결과, β-1,6 및 β-1,3 결합한 D-galactose의 주쇄 및 측쇄의 비가 각각 1.25, 1.67이었고, arabinose 측쇄의 말단 및 중간구조의 몰비는 0.3, 0.57이었다. 전체적으로 L-arabinose와 D-galactose의 비는 1 : 4.5였으며, 이는 목재구성당의 분석치 및 정제 arabinogalactan의 분석결과와도 매우 유사하였다.

우론산을 정량한 결과, 0.79%의 D-glucuronic acid를 검출할 수 있었으며, 이들 우론산이 주고리인 β-1,3-D-galactopyranose의 C_6위에 말단으로서 결합하고 있는 것으로 보고(Fu & Timell, 1972)되고 있다.

3.4.2.2. Arabinogalactan의 결합양식

정제된 WSF를 과요드산을 사용하여 산화시켜 분석한 결과는 Table 7과 같다. 반응에 사용된 과요드산의 소비량은 1.19 mol이었으며, 이때 생성된 개미산은 0.50 mol로서 Timell(1965)의 결과와 잘 일치하였다. 4탄당의 alditol인 threitol이 1.19 mol이나 생성된 것은 arabinogalactan에 또 다른 galactose분자가 1→6 혹은 1→4 결합이 존재함을 시사하는 것으로서 Table 6의 결과와 잘 일치하고 있다. 그리고 arabinose와 galatose의 함량비도 1 : 3.8로서 전항의 arbinose 및 galactose의 함량비 1 : 3.4와 거의 유사한 값을 보여주고 있다. arabinogalactan의 화학구조를 보다 확실하게 구명하기 위하여 정제한 arabinogalactan을 부분메틸화한 alditols의 TMS유도체를 기 발표된 보고(Dutton, 1974; Freeman et al., 1972)들의 retention time과 비교하여 Table 8과 같은 결과를 얻었다.

Table 8. Partial methylation of arabinogalactan

Methylated sugars	Relative retention time* min.	Molar proportion %
2,3,5-tri-O-Me-araf	0.64	8.0
2,3,5-tri-O-Me-arap	0.69	2.7
2,5-di-O-Me-araf	0.79	3.1
2,4-di-O-Me-arap	0.85	1.0
2,3,4,6-tetra-O-Me-galp	1.00	31.2
2,4,6-tri-O-Me-galp	1.11	3.3
2,3,6-tri-O-Me-galp	1.14	3.9
2,3,4-tri-O-Me-galp	1.20	17.4
2,6-di-O-Me-galp	1.29	1.0
2,4-di-O-Me-galp	1.33	25.6
2-O-Me-galp	1.54	2.8

* relative retention time of 2,3,4,6-tetra-O-Me-galactitol.

2,4,6-tri-O-Me-galactitol과 2,3,6-tri-O-Me-galactitol은 arabinoglactan과 함께 추출된 galactoglucomannan으로부터 유래된 것으로 생각되며, 2-O-Me-galactitol은 일본잎갈나무의 arabinogalactan 구성성분으로서 확인되지 않았던 1→4 결합한 galactopyranose로부터 생성된 것으로 생각된다. 2,3,4,6-tetra-O- Me-galactitol은 말단기로부터 유래된 것으로서 31.2 mol을 함유하고 있으며, 2,3,4-tri-O-Me-galactitol 및 2,4-di-O-Me-galactitol이 약 43 mol을 차지함은 1→6 결합을 이루고 있음을 의미한다. 이상의 분석결과를 종합하면 일본잎갈나무가 포함하는 arabinogalactan의 화학구조는 Fig. 1과 같다.

3.5. WSF의 첨가효과

3.5.1. 균사생장량 조사

PDA배지에 WSF 첨가농도를 달리하여 배양한 표고버섯균의 균환생장량은 Fig. 2에 나타냈다. 1 - 12%의 첨가량에서는 대조구에 비하여 균사 생장이 증진되었다. 특히 산림 6호의 경우에는 2%의 첨가량이, Mok-H의 경우에는 4% 첨가에서 균사 생장이 최

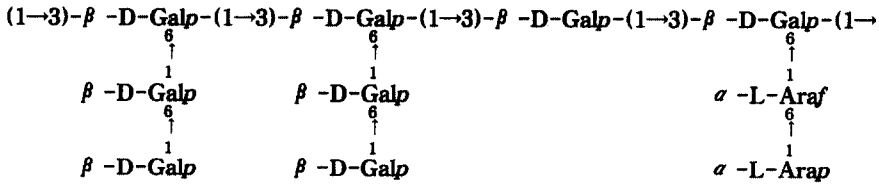

Fig. 1. Proposed structure of arabinogalactan in Japanese larch wood.

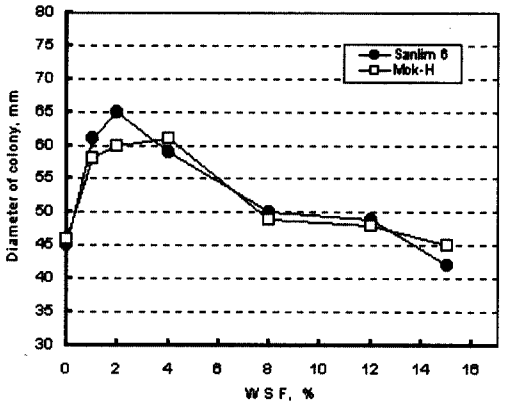

Fig. 2. Effect of WSF of Japanese larch wood on mycelium colony growth of oak mushroom(PDA media).

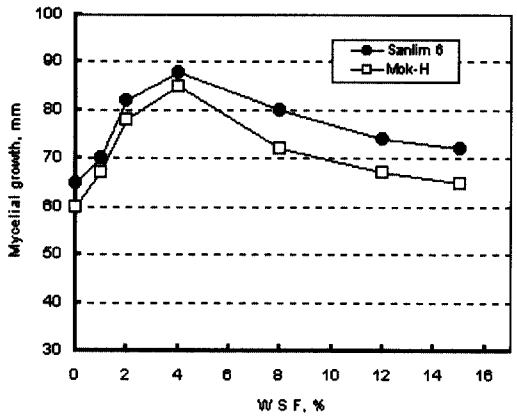

Fig. 3. Effect of WSF of larch wood on mycelial growth of oak mushroom(Sawdust media).

대였고, 첨가량이 더 많으면 생장이 오히려 감소하였다. 그리고 WSF의 첨가량이 이 이상으로 증가되면 어느 표고버섯균에 있어서도 생장의 저해를 가져왔다.

Fig. 3은 톱밥배지에서의 WSF 첨가농도를 달리한 조건에서 배양한 표고버섯균의 균사체의 생장량을 나타낸것이다. Fig. 2의 PDA배지에서의 결과와 마찬가지로 1 - 15%의 첨가량에서 대조구에 비하여 균사 생장이 증진되었다. 특히 산림 6호 및 Mok-H 모두 4% 첨가에서 균사의 생장이 최대였고, 첨가량이 이 이상으로 증가되면 어느 표고버섯균에 있어서도 생장의 저해를 가져왔다.

3.5.2. 균사체의 중량에 미치는 영향

표고 균주 Mok H 와 산림6호 2종에 대하여 WSF 첨가농도를 달리하여 PDA배지에서 배양한 경우 균사체의 중량변화를 Fig. 4에 나타냈다. 그림에서 보

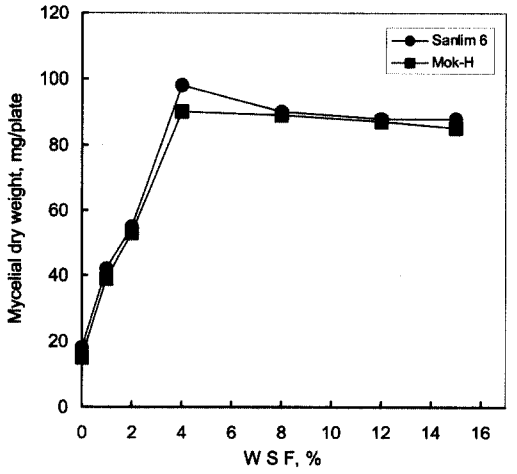

Fig. 4. Effect of WSF of Japanese larch wood on mycelial weight of oak mushroom (PDA).

Table 9. Mushroom production of *Lentinula edodes* by 4% addition of WSF

Strain	Source	Fruiting temperature	Flushing, g		
			1st	2nd	3rd
Control	Mok H Chungbuk Univ.	10 - 22℃	65	127	140
WSF addition			88	149	187
Control	Sanrim No 6 Korean FRI	15 - 20℃	71	139	166
WSF addition			91	168	202

Table 10. Ergosterol contents of sawdust culture media of *Lentinula edodes* by 4% addition of WSF

Strain	Source	Fruiting temperature	Ergosterol contents, μg/g of dry wt.	
			Colonized stage	Fruiting stage
Control	Mok H Chungbuk Univ.	10 - 22℃	850	1090
WSF addition			1100	1550
Control	Sanrim No 6 Korean FRI	15 - 20℃	910	1310
WSF addition			1290	1890

는 바와 같이 균사체의 중량은 대조구에 비하여 매우 높은 증가를 나타내고 있으며 4% 첨가까지는 점차 증가하여 최대의 균체량을 보인 다음, 그 이후는 그다지 효과가 없는 것으로 나타났다. 전체적으로 약 5배 정도의 증가를 나타내고 있다. 따라서 WSF의 첨가가 균사체의 신장생장에는 그다지 크게 영향하지 않았으나 균체의 중량에는 크게 영향함을 알 수 있었다

3.5.3. 톱밥배지에서의 버섯생산량 조사

톱밥배지에 WSF 첨가농도를 달리하여 배양한 표고의 버섯생산량은 Table 9에 나타냈다. 4%의 WSF 첨가에 의하여 버섯의 생산량은 대조구에 비하여 증가되었다. Mok-H의 경우에는 버섯의 생산량이 424 g으로서 무첨가에 비해 약 1.3배 높았으며, 특히 산림 6호의 경우에는 461 g으로서 무첨가에 비해 1.2배 증수를 가져왔다.

3.5.5. 톱밥배지 분해정도 조사

Table 10은 일본잎갈나무의 WSF 첨가가 배지의 ergosterol 함량의 변화에 미치는 영향을 측정한 결과이다. 버섯균사가 콜로니를 형성하는 초기단계에서는 두 균주 모두 낮은 ergosterol함량을 나타냈으나 fruiting이 시작되는 시기에 급격히 ergosterol의 수준이 높아지는 결과를 나타냈다. 이러한 경향은 WSF를 첨가하므로서 더욱 그 함량이 증가되는 것으로 나타났다. 결국 WSF는 배지내에서의 균사의 활동을 도와 배지의 분해를 효과적으로 일으키면서 배지의 성숙도를 높여주는 것으로 생각된다. 그러나 자실체 발생시기의 뚜렷한 단축은 없었다. 버섯의 톱밥재배시 배지의 성숙도는 자실체의 발생시기를 결정하는 매우 중요한 지표로서 균주, 영양생장기간, 효소의 활성에 따라 달라지는데, 배지내에서의 pH의 변화 및 수분포텐셜의 변화등이 일어난다. 이러한 여러가지 인자 가운데 ergosterol의 함량이 자실체 발생직전에 최고에 달한다는 사실로부터 배지내의 ergosterol 함량을 자실체 형성의 주요 예측수단으로 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

4. 결 론

표고버섯의 생장이 매우 좋았던 일본잎갈나무의 구성당류를 분석한 결과, glucose 함량이 68.1%로서 가장 많았으며, galactose가 18.2%로서 소나무류 함량의 약 3배를 보이고 있다. 그리고 mannose함량이 2.5%로서 다른 침엽수재의 1/4 - 1/5 정도에 지나지

않았다. arabinose와 galactose 의 함량비는 1 : 7로서 galactose의 함량이 매우 높았다. 수용성추출물(WSF)의 구성당류를 분석한 결과, rhamnose 및 mannose는 거의 존재하지 않았으며, glucose도 2.2%의 매우 낮은 함량을 보여주고 있다. arabinose 및 galactose의 함량은 전체추출물의 약 92%로 나타났으며, arabinose와 galactose의 비는 1 : 3.4로서 목재의 함량비인 1 : 7보다 매우 낮았다.

WSF를 정제하여, 완전메틸화·가수분해·가스크로마토그래피에 의한 분석결과, β-1,3 결합한 D-galactopyranose가 주고리를 이루며, 이 주고리에 galactose의 C_6위가 분기를 이루면서 측쇄를 가지는 arabinogalactan으로 이루어짐을 알 수 있었다. 이 측쇄에는 2종의 분자, β-1,6 결합한 D-galactose와, β-1,6 결합한 L-arabinose가 결합하고 있는데, 전자는 2-3개의 D-galactopyranose가 결합을 하고 있으며, 후자는 L-arabinofuranose구조가 1-2개 중간의 측쇄구조를 이루고, 말단은 L-arabinopyranose로 구성되어 있었다. L-arabinose와 D-galactose기의 비는 1 : 4.5였다.

PDA배지에 일본잎갈나무의 WSF 첨가로 표고버섯균의 균환생장량 및 균사 생장이 증진되었다. 특히 산림 6호의 경우에는 2%의 첨가량이, Mok-H의 경우 4% 첨가에서 균사 생장이 최대였고, 첨가량이 더 많으면 생장이 오히려 감소하였다. 톱밥배지에서 WSF 첨가농도를 달리한 조건에서 배양한 결과, PDA 배지에서의 결과와 마찬가지로 대조구에 비하여 균사 생장이 증진되었다. 톱밥배지에 WSF 첨가로 인하여 표고의 버섯생산량이 대조구에 비하여 증가되었다. Mok-H의 경우에는 버섯생산량이 424 g으로서 무첨가에 비해 약 1.3배, 산림 6호의 경우에는 461 g으로서 무첨가에 비해 1.2배 증수되었다. WSF 첨가에 의한 ergosterol 함량의 변화를 측정한 결과, 균사가 콜로니를 형성하는 초기단계에서도 대조구에 비해 높은 ergosterol 함량을 나타냈으며, fruiting이 시작되는 시기에 급격히 높아짐을 알 수 있었다. 따라서 배지내의 ergosterol 함량은 자실체형성의 주요 예측수단으로 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. 박상진, 이종윤, 조병묵, 조남석. 1993. 목재과학실험서. 광일문화사. pp. 489~534
2. 신동소, 이화형, 임기표, 조남석, 조병묵. 1983. 임산화학. 향문사. pp. 25~49.
3. 이태수, 윤갑희, 박원철, 김재성, 이지열. 2000. 새로운 표고재배기술. 임업연구원. pp. 358~388.
3. 館 勇, 山森 昇. 1953. 日本産カラマツ材から抽出したarabinogalactanの化學構造. 日本 農化學會誌 27: 139~143.
4. 大賀 祥治. 1988. きのこ栽培に關する資源學的研究(第7報). ネギ煎汁のシイタケ菌絲 生育促進 活性と核酸關聯物質. 木材學會誌 34: 745~752.
5. 半澤道郎. 1968. 落葉松材 化學的成分. 北方林業 20(7): 218~221
6. 寺谷文之, 志水一允, 宮崎鑑吾. 1969. 일본カラマツ材から抽出したarabinogalactanの 精製. *Japan Mokuzai gakkaishi* 15(6): 266~270
7. 寺谷文之, 天野保行. 1982. Effect of heating on chemical structure of arabinogalactan in Japanese larch. *Japan Mokuzai gakkaishi* 28(5): 312~316
8. 右田伸彦, 米澤保正, 近藤民雄. 1968. 木材化學(上). 日本共立出版. pp. 70~80
9. 池谷子, 後藤正夫, 中村嘉. 1988. シイタケ菌の榮養成長および子實體形成に及ぼす リグニン及びリグニン前驅物質の 影響. 日本菌學會報 24: 213~222.
10. Aspinall, G. O., R. M. Fairweather, and T. M. Wood. 1968. Structural study of hemicelluloses by partial methylation. *J. Chem. Soc. (C)* 2174~2178.
11. Borchardt, L. G. and C. V. Piper. 1970. A gas chromatographic method for carbohydrates as alditol-acetates. *Tappi* 53(2): 257~260.
12. Conrad, H. E. 1972. Methylation of carbohydrates with methylsulfinyl anion and methyl iodide in dimethyl sulfoxide. In: Methods in Carbohydrate Chemistry. vol. 6, ed. R.L. Whistler & J.N. BeMiller. Academic Press, N.Y. & London, pp. 361~364.
13. Dutton, G. G. S., B. I. Joseloeu, and P. E. Reid. 1973. The seperation of wood hemicelluloses. *Tappi* 56: 168~173.

14. Dutton, G. G. S. 1974. Alditol acetates of methylated sugars. *Advanced Carbohydrate Chem. Biochem.* 30: 100~103.
15. Ekman, K. E. 1962. Purification of sugars by anionic column chromatography. *J. Chromatography* 1: 419~423.
16. Folin, O. and W. Denis. 1915. A colorimetric method for the determination of phenols and phenol derivatives in urine. *J. Biol. Chem.* 22: 305~308.
17. Freeman, B. H., A. M. Stephen, and P. van der Buil. 1972. Gas liquid chromatography of partially methylated alditols as their acetates. *J. Chromatography* 73: 29~31.
18. Fu, Y. and T. E. Timell. 1972. Polysaccharides in compression wood of tamarack (*Larix laricina*). 5. the constitution of an acidic arabinogalactan. *Svensk Papperstidn.* 75: 680~682.
19. Mastuo, N., A. B. B. Mohamed, S. Meduro, and S. Kawachi. 1992. The effects of yeast extract on the fruiting of *Lentinula edodes* in a liquid medium. *Mokuzai Gakkaishi* 38: 400~402.
20. Ohga, S., D. S. Min, C. D. Koo, T. H. Choi, A. Leonowicz, and Nam-Seok Cho. 2000. culture maturity of *Lentinula edodes* on sawdust-based substrate in relation to fruiting potential. *Mokchae Konghak* 28(1): 55~64.
21. Ohta, A. and L. Zhang. 1994. Acceleration of mycelial growth and fruiting body production of edible mushrooms by wood vinegar fractions. *Mokuzai Gakkaishi* 40: 429~433.
22. Seitz, L. M., H. E. Nohr, R. Burroughs, and D. B. Sauer. 1977. Ergosterol as an indicator of fungal invasion in grain. *Cereal Chem.* 54: 1207~1217.
23. Timell, T. E. 1965. Periodate oxidation of hemicelluloses. *Adv. Carb. Chem.* 20: 409~415.
24. Tsujiyama, S., J. Azunma, and K. Okamura. 1993. Influence of plant hormones on a wood-rotting fungus, *Coriolus versicolor*. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 34: 369~376.
25. Urayama, T. 1969. Stimulative effect of extracts from fruit bodies of *Agaricus bisporus* and some other hymenomycetes on primordium formation in *Marasminum* sp., *Trans. Mycol. Soc. Japan* 10: 73~78.
26. Whistler, R. L. 1965. Methods in Carbohydrate Chemistry vol. 5, Academic Press pp. 287~296.
27. Yoshimura, H. and T. Hayakawa. 1993. Promoting effect of wood vinegar compounds on the mycelial growth of two basidiomycete. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 34: 141~151.
28. Zinbo. M. and T. E. Timell. 1965. Studies on larch arabinogalactan of tamarack arabinogalactan. *Svensk Papperstidn.* 68: 647~650.