

최 중
연구보고서

비늘버섯류의 안정적 생산기술 및 실용화 연구
Studies on Stable Production Techniques and
Application of the Mushroom, *Pholiota* spp.

연구기관
배재대학교 생명유전공학과

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “비늘버섯류의 안정적 생산기술 및 실용화 연구” 과제 (세부과제 “생리기능성 비늘버섯의 선발 및 산업화”, 협동과제 “비늘버섯류의 분류 및 인공재배법 개발”, 위탁과제 “비늘버섯 및 버섯 가공제품의 영양 및 생리기능성 성분 분석”)의 최종 보고서로 제출합니다.

2007 년 5 월 24 일

주관연구기관명 : 배재대학교
총괄연구책임자 : 이종수
세부연구책임자 : 이종수
연구원 : 이대형
연구원 : 이은나
연구원 : 서동수
협동연구기관명 : 한국농업대학
협동연구책임자 : 서건식
위탁연구기관명 : 농업과학기술원
위탁연구책임자 : 조수목

요 약 문

I. 제목

비늘버섯류의 안정적 생산기술 및 실용화 연구
세부 : 생리기능성 비늘버섯의 선발 및 산업화
협동 : 비늘버섯류의 분류 및 인공재배법 개발
위탁 : 비늘버섯의 식품영양성분 분석 및 안전성 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

새로운 기능성 비늘버섯의 대량 재배법을 개발하고 생리기능성을 가진 비늘버섯을 선발하여 물질 특성을 규명하며 새로운 기능성 버섯제품을 개발함. 이를 통하여 우리나라 고유 브랜드의 버섯을 확보하고 비늘버섯 재배기술의 농가보급과 기능성물질의 산업화를 통해 궁극적으로 농가소득증대에 기여함.

2. 연구 개발의 필요성

1) 기술적 측면

- 비늘버섯의 기능성 물질 대량생산을 위한 인공재배와 균사체 대량생산에 관한 연구는 국내에서 실시된 바 없음.
- 비늘버섯의 수량성이 현재까지의 기술로는 농가소득에 기여할 수 있는 정도로 높지 않기 때문에 수량성 증가와 기능성물질 대량생산을 목적으로 한 배지와 재배법 개발이 절실함.
- 유용한 비늘버섯의 다양한 재배기술의 개발 및 보급을 위하여 정확히 분류 동정된 종을 확보하는 것이 시급함.
- 약리기능성이 우수한 비늘버섯의 선발과 이들의 대량배양 기술이 개발되어 있지 않았고 비늘버섯의 약리 효능 특성이 규명되어 있지 않아 이들 기술을 개발하여 고부가가치의 식품의약이나 건강 식품개발에 응용해야 할 필요성이 있음.

2) 경제·산업적 측면

- 국내에서 자생하고 있는 1,500여 종의 버섯 중 약 1% 정도만 식용 또는 건강 음료로 이용되고 있는 실정이기 때문에 새로운 기능성 버섯의 발굴, 보급과 이용성 검토가 절실히 필요함.
- 많은 버섯들이 주로 제한된 요리와 간식식품 및 차, 통조림, 과자류 등으로 극히 일부만이 이용되고 있으므로 고부가가치의 다양한 버섯 기능성 제품 개발이 조속히 필요함.

3) 사회·문화적 측면

- 약리효과가 탁월하다고 알려진 일부 버섯류는 가격이 너무 비싸고, 생산에 한계성이 있으므로 다양한 기능성 버섯류의 개발 보급이 절실함.
- 경제적인 배양방법의 연구 개발은 재배농가에서 생산비 절감으로 이어져 농민들의 고통을 덜 수 있는 계기가 될 것임.
- 비늘버섯류의 품목 다양화로 노동집약적인 균상재배에서 탈피하고 고품화된 유희노동력의 활용이 가능.

III. 연구 개발 내용 및 범위

구 분	연구개발목표	연구개발내용
1차년도 (2004-2005)	○ 비늘버섯의 생리 기능성 검색 및 우수 버섯 선정	<ul style="list-style-type: none"> - 추출 및 수율 측정 <ul style="list-style-type: none"> • 물, 메탄올 추출물 제조 • 각 추출물들의 수율조사 - 심혈관 질환 관련 성인병 예방 (치료)을 위한 생리 기능성 조사 <ul style="list-style-type: none"> • 혈소판 응집저해 활성과 혈전용해 활성 (혈전증 예방/치료) • HMG-coA reductase inhibitory activity (콜레스테롤 생합성 저해) - 노화/피부 미백관련 생리기능성 <ul style="list-style-type: none"> • Elastase 저해활성(피부 주름 생성억제) • Tyrosinase 저해활성 (피부 미백) • SOD 유사활성과 항산화 활성 (노화억제) - 생리기능성 우수버섯 최종선정 - 생리기능성 물질의 추출최적 조건 검토

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 비늘버섯류 버섯균주의 수집 및 DNA marker을 이용한 분류동정·유연관계조사 	<ul style="list-style-type: none"> - 검은비늘버섯(<i>P. adiposa</i>), 땅비늘버섯(<i>P. terrestris</i>), 금빛그물버섯(<i>P. aurivella</i>), 맛버섯(<i>P. nameko</i>) 등 형태적으로 유사한 비늘버섯속(<i>Pholiota</i> spp.) 균주를 국내외 균주 보존기관에 분양의뢰하고 국내 야생 균주를 수집함. - 야생채집 균주의 형태학적, 발생 생태학적 특징조사. - 종간, 균주간 유연관계 및 종 동정을 위한 분자 marker의 선발 : genomic DNA의 RAPD-PCR 등
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수집균주의 배양적 특성 조사 및 우량 균주 선발 	<ul style="list-style-type: none"> - PDA, MEA, MCM 등 버섯균의 배양에 일반적으로 사용하는 배지를 공시하여 배양적 특성을 구명 하고 유망 균주를 선발 - 탄소원, 질소원 등 배지 조성이 균사생장에 미치는 영향 구명 - 배양온도 및 배양방법이 균사생장에 미치는 영향 구명
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 비늘버섯의 식품영양성분 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - 비늘버섯 중의 조단백, 조지방, 탄수화물, 조회분 등의 일반성분 분석 - 칼슘, 인, 철, 나트륨, 칼륨 등의 무기질 및 비타민류 분석 - 아미노산, 지방산, 콜레스테롤, 식이섬유 함량 등 분석
<p>2차년도 (2005-2006)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 선정된 비늘버섯 생리 기능성 물질의 특성 조사 	<ul style="list-style-type: none"> - 선정된 비늘버섯의 생리기능성물질을 유기용매 계통 분획법, TLC법, 한외여과, gel 여과 및 HPLC(pre용/분석용) 등으로 정제함 - 정제된 기능성물질의 특성을 GC, LC-MS, NMR -Spectro 등의 기기분석을 통해 구조와 분자량 등을 조사 - 기타 성상, 용해성 등의 기본적인 물리화학적 특성을 상법에 따라조사
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 비늘버섯류 버섯균주의 수집 및 DNA marker을 이용한 분류동정 및 유연관계조사 	<ul style="list-style-type: none"> - 야생채집 균주의 형태학적, 발생 생태학적 특징조사. - 종간, 균주간 유연관계 및 종 동정을 위한 분자 marker의 선발 : genomic DNA의 RAPD-PCR 등

	○ 자실체 대량생산을 위한 인공재배조건 구명	<ul style="list-style-type: none"> - 균사체 대량생산을 위한 종균용 염가배지 개발 - 병 및 봉지재배 : 최적 톱밥배지 선발(톱밥의 종류, 보조영양제의 종류 및 첨가비율, 수분함량 등) - 원목재배 : 최적 수종 선발
	○ 비늘버섯 기능성물질의 기능성 발현기작 규명(동물실험)	<ul style="list-style-type: none"> - 동물실험을 통한 정제된 생리 기능성 물질의 기능성 발현 조사 및 그의 기작해석 (<i>In vivo</i>) • dosage, 처리시간 등에 의한 실험동물에서의 기능성 재현정도 • 생리 및 조직학적 특성조사
3차년도 (2006-2007)	○ 기능성 비늘버섯 가공제품의 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 제품의 컨셉 결정 - 시장 및 통계자료조사, 분석 <li style="padding-left: 20px;">- 개발 방향 설정 <li style="padding-left: 20px;">- 형태(Drink, Tablet, 파우치등), 용량, 포장결정 - 제조공정의 확립 - 제품조성의 결정 및 1차 시제품 제조와 특성 조사 • 물리화학적 특성, 색도와 기호도 등 - 제품의 보완 및 최종제품 제조(제품조성 확정) • 최적 제품의 특성조사
	○ 기능성 및 수량성 우량균주 선발	<ul style="list-style-type: none"> - 생산력 검정에 의한 품종 선발 - 기능성 우수균주 선발 및 등록 - 생산력 검정
	○ 자실체 대량생산을 위한 인공재배조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> - 병 및 봉지재배 - 원목재배 - 농가 확대재배 시험
	○ 비늘버섯가공제품의 품질 특성 및 중간 stigmasterol 함량 비교 조사	<ul style="list-style-type: none"> - 비늘버섯 가공제품의 품질특성조사 - 제품의 생리기능성 조사 - 제품의 영양성분 분석 - 제품의 독성, 안정성 및 안전성 검토 - 경제성 분석 - 버섯 중간 stigmasterol 함량 비교조사

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

가. 세부과제 : 생리 기능성 비늘버섯의 선발 및 산업화

1. 비늘버섯 추출물의 제조 및 생리 기능성 측정
 - 협동과제 연구팀에서 확보된 총 116균주의 비늘버섯을 시료로 각각의 물 추출물과 메탄올 추출물을 제조한 후 이들의 수율과 생리 기능성을 조사하여 최종적으로 항고지혈성 HMG-CoA reductase 저해활성이 우수한 *Pholiota adiposa* PAD-022을 선발함.
2. 선발된 비늘버섯 *Pholiota adiposa* PAD-022의 생리 기능성물질의 특성 조사
 - *Pholiota adiposa* PAD-022 자실체에 함유되어있는 항고지혈성 HMG-CoA reductase 저해물질을 유기용매 계통추출법, TLC와 HPLC 등으로 정제함.
 - 정제된 물질의 특성을 GC, LC-MS, NMR-Spectro 등으로 물질을 동정한 결과 stigmasterol로 최종 동정되었고 분자량, 용해성 등의 특성을 조사하였음.
3. 기능성 비늘버섯 가공 제품의 개발
 - 제품의 컨셉등을 설문조사와 시장조사 등을 통하여 결정 한 후 파우치 형태(50ml 용량)의 제품 공정을 확립함.
 - 시료버섯 *Pholiota adiposa* PAD-022의 추출 최적조건을 조사한 후 추출물과 항고지혈성이 있는 것으로 알려진 복분자와 구기자 추출물 등을 이용하여 항고지혈성 음료를 제조(조성확립)하고 일반특성과 안정성 등을 조사하였음.
 - 문제점 보완 및 시제품 제조
4. 활용에 대한 건의
 - 최종 선발된 비늘버섯의 항고지혈성 HMG-CoA reductase 저해물질의 동정과 특성결과는 학술적으로 처음 규명된 것으로 많은 활용이 예상되어 외국저명학술지에 투고하였음.
 - 비늘버섯에 함유되어 있는 항고지혈성 물질의 정제방법과 특성내용을 특허출원 한 후 기업체에 기술 이전할 예정임.

나. 협동과제 : 비늘버섯류의 분류 및 인공재배법 개발

1. 비늘버섯류의 수집 및 배양적 특성 구명

- 농촌진흥청 농업과학기술원과 인천대학 버섯종균은행 등의 국내 기관(67균주)과 일본 후쿠오카 임업 시험장(1균주) 등에서 68주를 분양받고 국내에서 48주를 수집하여 총 116주의 비늘버섯을 공시비늘버섯으로 확보하였음.
- PDB 등의 배지를 이용하여 최적 배지를 선발하고 온도와 배양방법 등에 따른 공시버섯들의 배양적 특성을 조사하였음.

2. 형태적, 발생·생태학적 특성과 DNA 유연관계분석

- 톱밥 병재배를 실시하여 형태학적 특징을 조사하였고 버섯 발생조건에 따른 형태 등을 관찰하였음.
- 공시비늘버섯 균사체들의 genomic DNA를 추출하여 PCR한 다음 전기영동하여 각 시료 버섯들의 DNA 유연성을 분석하였음.

3. 균사체 및 자실체의 미세구조를 광학현미경으로 관찰하였고 자실체 대량생산을 위한 인공재배조건을 다양한 배지를 이용하여 실시하였음. 또한 농가 보급을 위한 병 및 봉지재배법, 원목 재배법 등의 최적조건을 조사하였음.

4. 활용에 대한 건의

- 본 과제를 수행하여 얻은 결과들은 비늘버섯의 정확한 분류에 크게 활용될 것이고 일부는 한국 버섯학회지 등에 게재(2006)하였으며 자실체 인공재배 방법들을 연구 종료 직후 농가에 보급할 예정임.

다. 위탁과제 : 비늘버섯의 식품영양성분 분석 및 안전성 연구

1. 비늘버섯의 식품영양성분 분석

- 공시버섯들과 기능성 우수 비늘버섯의 일반성분과 무기질 함량을 분석하였고 비타민과 β -glucan, 아미노산 조성과 지방산 함량 및 당조성 등을 분석하였음.

2. 선발된 비늘버섯의 HMG-CoA reductase 저해물질의 기능성 발현(동물)실험

- 항고지혈성 HMG-CoA reductase 저해활성이 가장 우수하여 1차 년도에 최종 선발된 *Pholiota adiposa* PAD-022의 부분정제물을 이용하여 고지방 식이섭취 실험동물에서 콜레스테롤 합성 억제 유무를 확인 하였음.

3. 비늘버섯 가공 제품의 품질 특성 조사

- 항고지혈성 시제품의 영양성분과 생리 기능성 등을 조사하였음.
- 2년차 심사결과의 보완으로 주요 시료 버섯들의 stigmasterol 함량을 분석하였음

4. 활용에 대한 건의

- 기능성 버섯 추출물의 in vivo 실험 결과의 많은 활용을 위해 한국 균 학 회지에 게재(2006)하였음.

SUMMARY

I. Title

Studies on Stable Production Techninges and Application of the Mushroom, *Pholiota* spp.

Item : Screening of Functional *Pholiota* spp. and its Industrialization

Cooperative Item : Taxanomy of *Pholiota* spp. and Development of its Artificial Cultivation Method

Consigned Item : Analysis of Nutrition and Physiological Functionality of *Pholiota* spp. and its Product

II. Objectives and Significance

1. Objective

The objective of this project is to develop new mass cultivation methods of functional *Pholiota* spp. and also to illustrate characteristics of bioactive compound from functional *Pholiota* spp., and further, to develop a new high valuable mushroom product by using the bioactive compound. From this project, our native *Pholiota* spp. was secured and these results will go far toward contributing to increase farmer's income by transference of cultivation method into mushroom farm.

2. Importance of Research

1) Technical Aspect

- Studies on artificial cultivation and mycelium mass production of *Pholiota* spp. for mass production of bioactive compounds were not yet performed.
- It is necessary to develop optimal medium and cultivation method of *Pholiota* spp. for increase of yield and mass production of bioactive

compounds because still yield of *Pholiota* spp. was not higher to satisfy in farmer.

- It is urgent to secure more exact *Pholiota* spp. for development of various cultivation techniques and supply of useful *Pholiota* spp.
- It is necessary to apply screening of functional *Pholiota* spp. and mass production technique into development of high-valuable medicinal food or healthy foods.

2) Economic and Industrial Aspect

- It is necessary to study on search, screening and application of new functional *Pholiota* spp.
- It is urgent development of high-valuable functional mushroom products

3) Social and Cultural Aspect

- It is necessary to develop and supply various functional mushrooms because some medicinal mushrooms are expensive and its yield are low.
- Development of economic cultivation methods will be help to decrease cultivation cost of mushroom in mushroom farm.
- It is possible to use unemployed labor in cultivation through development of various *Pholiota* spp.

III. Scope and Contents

Item : Screening of functional *Pholiota* spp. and its industrialization

1. Determination of physiological functionalities of *Pholiota* spp. and screening of functional *Pholiota* spp.
 - Preparation of water and methanol extracts, and determination of its yields.
 - Determination of cardiovascular functionalities such as fibrinolytic activity, HMG-Co A reductase inhibitory activity, antioxidant activity, elastase and tyrosinase inhibitory activity, etc.

- Screening of functional *Pholiota* spp. and optimization of extraction condition of bioactive compound.
2. Characterization of bioactive compound from functional *Pholiota* spp.
 - Purification of bioactive compound by ultrafiltration, systematic organic solvent extraction, gel filtration and HPLC.
 - Determination of physicochemical properties including molecular weight by instrumental analysis.
 3. Development of functional *Pholiota* spp. product
 - Establishment of manufacture process
 - Preparation and characterization of preliminary *Pholiota* spp. product
 - Preparation and characterization of final product

Cooperative Item : Taxonomy of *Pholiota* spp. and development of its artificial cultivation methods.

1. Collection of *Pholiota* spp. and investigation on its taxonomy and similarity by DNA marker
 - Collection of various *Pholiota* spp. including *Pholiota adiposa*, *Pholiota terrestris*, *Pholiota aurivella* and *Pholiota nameko*, etc.
 - Development of molecular marker for identification of strain and species by RAPD-PCR, AFLP and RFLP of genomic DNA, and establishment of taxonomic system of *Pholiota* spp.
2. Cultural characteristics of *Pholiota* spp. and taxonomy using morphological characteristics and molecular markers
 - Investigation of cultural characteristics using some fungal medium such as PDA, MEA and MCM.
 - Selection of optimum carbon and nitrogen sources for mycelial growth
 - Identification of further collected *Pholiota* spp. and investigation of its similarity

3. Establishment of culture conditions of *Pholiota* isolates for mass production of bioactive compound
 - Investigation the effect of medium composition and cultivation condition on the production of bioactive compounds
 - Development of cheap media by using agricultural by products for industrialization
4. Establishment of artificial cultivation condition for mass production of fruiting body
 - Investigation optimal condition of bottle, vinyl bag, and log cultivation methods for farm supply of fruiting body cultivation method of the selected *Pholiota* spp.
 - Investigation of problems from farm enlargement cultivation of *Pholiota* spp.

Consigned Item : Analysis of Nutrition and Physiological functionality of *Pholiota* spp. and its Products.

1. Analysis of food nutrition components of *Pholiota* spp.
 - Proximate analysis of *Pholiota* spp. such as crude protein and lipid, etc.
 - Determination of its minerals, vitamins, composition of amino acid and fatty acids, cholesterol and edible fibers, etc.
2. In vivo test of bioactive compound from *Pholiota* spp. for understand of functionality expression mechanism.
 - Investigation effect of treatment time and dosage, etc.
 - Determination of physiological and histological characteristics.
3. Determination of quality characteristics of *Pholiota* spp. product
 - Determination of quality, functionality, nutritions, toxicity and stability.
 - Analysis of economic aspects.

IV. Major Results and the Suggestion for Application

Item : Screening of functional *Pholiota* spp. and its industrialization

1. Preparation of *Pholiota* spp. extracts and determination of its functionalities
 - Prepared water and methanol extracts of 116 species of *Pholiota* spp. which were collected by cooperative research group
 - Determined its functionalities and selected finally *Pholiota adiposa* PAD-022, showing the highest HMG-CoA reductase inhibitory activity among several functionalities
2. Purification and characterization of functional HMG-CoA reductase inhibitor from *Pholiota adiposa* PAD-022
 - HMG-CoA reductase inhibitor from *Pholiota adiposa* PAD-022 was purified by solvent extraction method, TLC and HPLC.
 - The HMG-CoA reductase inhibitor was identified as stigmasterol by instrumental analysis and illustrated its molecular mass and solubility, etc.
3. Development of functional *Pholiota* spp. product
 - After established manufacture process, manufactured anticholesteromial drink by using *Pholiota* spp. extracts and Gugija, etc.
 - Investigated its quality and stability
4. A suggestion for application
 - The manuscript containing major results was submitted in famous academic journal.
 - After obtain Patent on purification methods and characteristics of bioactive compound from *Pholiota* spp. product, it will be transfer into industry.

Cooperative Item : Taxonomy of *Pholiota* spp. and Development of its Artificial Cultivation Method

1. Collection of *Pholiota* spp. and investigation of culture characteristics
 - Collected 116 species of *Pholiota* spp. from domestic and foreign mushroom institutes
 - Selected optimal media and investigated its cultural characteristics
2. Analysis of morphological and embryological characteristics of *Pholiota* spp. and its DNA similarity
 - Investigated morphological characteristics through sawdust bottle cultivation and growth conditions
 - Analyzed DNA similarity of *Pholiota* spp. after extracted genomic DNA from *Pholiota* spp. mycelium and performed PCR and electrophoresis
3. Inspected substructure of mycelium and fruiting body by microscope and investigated artificial cultivation condition for mass production of fruiting body. Further, investigated optimal methods of bottle, vinyl bag and log cultivation for farm supply
4. A suggestion for application
 - Above results will be use in taxonomy of *Pholiota* spp. and supply the fruiting body artificial cultivation methods into farm

Consigned Item : Analysis of Nutrition and Physiological Functionality of *Pholiota* spp. and its Product

1. Analysis of food nutrition components of *Pholiota* spp.
 - Analyzed general components and minerals, vitamins and β -glucan contents, composition of amino acids, fatty acids and sugars of *Pholiota* spp. and bioactive *Pholiota* spp.

2. In vivo test of HMG-CoA reductase inhibitor from *Pholiota adiposa* PAD-022
 - Identified repression of cholesterol biosynthesis in high fat-dieted mouse by using HMG-CoA reductase inhibitor from *Pholiota* spp. extracts
3. Investigation quality characteristics of *Pholiota* spp. product
 - Determined nutritional components and functionality of *Pholiota* spp. test-product
 - Analyzed stigmasterol contents of *Pholiota* spp.
4. A suggestion for application
 - The manuscript containing above results published in the J. of Mycology, etc.

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	29
제 2 장	국내외 기술개발 현황	33
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	35
세부 :	생리 기능성 비늘버섯의 선발 및 산업화	35
협동 :	비늘버섯의 분류 및 인공 재배법 개발	12
위탁 :	비늘버섯의 식품영양성분 분석 및 안전성 연구	12
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	12
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	12
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	14

제 1 장 연구개발 과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

새로운 기능성 비늘버섯의 대량 재배법을 개발하고 생리기능성을 가진 비늘버섯을 선발하여 물질 특성을 규명하며 새로운 기능성 버섯제품을 개발함. 이를 통하여 우리나라 고유 브랜드의 버섯을 확보하고 비늘버섯 재배기술의 농가보급과 기능성물질의 산업화를 통해 궁극적으로 농가소득증대에 기여함.

제 2 절 연구개발의 필요성

1) 기술적 측면

- 비늘버섯의 기능성 물질 대량생산을 위한 인공재배와 균사체 대량생산에 관한 연구는 국내에서 실시된 바 없음.
- 비늘버섯의 수량성이 현재까지의 기술로는 농가소득에 기여할 수 있는 정도로 높지 않기 때문에 수량성 증가와 기능성물질 대량생산을 목적으로 한 배지와 재배법 개발이 절실함.
- 유용한 비늘버섯의 다양한 재배기술의 개발 및 보급을 위하여 정확히 분류 동정된 종을 확보하는 것이 시급함.
- 약리기능성이 우수한 비늘버섯의 선발과 이들의 대량배양 기술이 개발되어 있지 않았고 비늘버섯의 약리 효능 특성이 규명되어 있지 않아 이들 기술을 개발하여 고부가가치의 식품의약이나 건강 식품개발에 응용해야 할 필요성이 있음.

2) 경제·산업적 측면

- 국내에서 자생하고 있는 1,500여 종의 버섯 중 약 1% 정도만 식용 또는 건강 음료로 이용되고 있는 실정이기 때문에 새로운 기능성 버섯의 발굴, 보급과 이용성 검토가 절실히 필요함.

- 많은 버섯들이 주로 제한된 요리와 간식식품 및 차, 통조림, 과자류 등으로 극히 일부만이 이용되고 있으므로 고부가가치의 다양한 버섯 기능성 제품 개발이 조속히 필요함.

3) 사회·문화적 측면

- 약리효과가 탁월하다고 알려진 일부 버섯류는 가격이 너무 비싸고, 생산에 한계성이 있으므로 다양한 기능성 버섯류의 개발 보급이 절실함.
- 경제적인 배양방법의 연구 개발은 재배농가에서 생산비 절감으로 이어져 농민들의 고통을 덜 수 있는 계기가 될 것임.
- 비늘버섯류의 품목 다양화로 노동집약적인 균상재배에서 탈피하고 고품화된 유희노동력의 활용이 가능

제 3 절 연구개발의 범위

구 분	연구개발목표	연구개발내용
1차년도 (2004-2005)	○ 비늘버섯의 생리 기능성 검색 및 우수 버섯 선정	<ul style="list-style-type: none"> - 추출 및 수율 측정 <ul style="list-style-type: none"> • 물, 메탄올 추출물 제조 • 각 추출물들의 수율조사 - 심혈관 질환 관련 성인병 예방 (치료)을 위한 생리 기능성 조사 <ul style="list-style-type: none"> • 혈소판 응집저해 활성과 혈전용해 활성 (혈전증 예방/치료) • HMG-coA reductase inhibitory activity (콜레스테롤 생합성 저해) - 노화/피부 미백관련 생리기능성 <ul style="list-style-type: none"> • Elastase 저해활성(피부 주름 생성억제) • Tyrosinase 저해활성 (피부 미백) • SOD 유사활성과 항산화 활성 (노화억제) - 생리기능성 우수버섯 최종선정 - 생리기능성 물질의 추출최적 조건 검토

	<p>○ 비늘버섯류 버섯균주의 수집 및 DNA marker을 이용한 분류동정·유연관계조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 검은비늘버섯(<i>P. adiposa</i>), 땅비늘버섯(<i>P. terrestris</i>), 금빛그물버섯(<i>P. aurivella</i>), 맛버섯(<i>P. nameko</i>) 등 형태적으로 유사한 비늘버섯속(<i>Pholiota</i> spp.) 균주를 국내외 균주 보존기관에 분양의뢰하고 국내 야생 균주를 수집함. - 야생채집 균주의 형태학적, 발생 생태학적 특징조사. - 종간, 균주간 유연관계 및 종 동정을 위한 분자 marker의 선발 : genomic DNA의 RAPD-PCR 등
	<p>○ 수집균주의 배양적 특성 조사 및 우량 균주 선발</p>	<ul style="list-style-type: none"> - PDA, MEA, MCM 등 버섯균의 배양에 일반적으로 사용하는 배지를 공시하여 배양적 특성을 구명 하고 유망 균주를 선발 - 탄소원, 질소원 등 배지 조성이 균사생장에 미치는 영향 구명 - 배양온도 및 배양방법이 균사생장에 미치는 영향 구명
	<p>○ 비늘버섯의 식품영양성분 분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 비늘버섯 중의 조단백, 조지방, 탄수화물, 조회분 등의 일반성분 분석 - 칼슘, 인, 철, 나트륨, 칼륨 등의 무기질 및 비타민류 분석 - 아미노산, 지방산, 콜레스테롤, 식이섬유 함량 등 분석
<p>2차년도 (2005- 2006)</p>	<p>○ 선정된 비늘버섯 생리 기능성 물질의 특성 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 선정된 비늘버섯의 생리기능성물질을 유기용매 계통 분획법, TLC법, 한외여과, gel 여과 및 HPLC(prep용/분석용) 등으로 정제함 - 정제된 기능성물질의 특성을 GC, LC-MS, NMR -Spectro 등의 기기분석을 통해 구조와 분자량 등을 조사 - 기타 성장, 용해성 등의 기본적인 물리화학적 특성을 상법에 따라조사
	<p>○ 비늘버섯류 버섯균주의 수집 및 DNA marker을 이용한 분류동정 및 유연관계조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 야생채집 균주의 형태학적, 발생 생태학적 특징조사. - 종간, 균주간 유연관계 및 종 동정을 위한 분자 marker의 선발 : genomic DNA의 RAPD-PCR 등

	○ 자실체 대량생산을 위한 인공재배조건 구명	<ul style="list-style-type: none"> - 균사체 대량생산을 위한 종균용 염가배지 개발 - 병 및 봉지재배 : 최적 톱밥배지 선발(톱밥의 종류, 보조영양제의 종류 및 첨가비율, 수분함량 등) - 원목재배 : 최적 수종 선발
	○ 비늘버섯 기능성물질의 기능성 발현 기작 규명(동물실험)	<ul style="list-style-type: none"> - 동물실험을 통한 정제된 생리 기능성 물질의 기능성 발현 조사 및 그의 기작해석 (<i>In vivo</i>) • dosage, 처리시간 등에 의한 실험동물에서의 기능성 재현정도 • 생리 및 조직학적 특성조사
3차년도 (2006-2007)	○ 기능성 비늘버섯 가공제품의 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 제품의 컨셉 결정 - 시장 및 통계자료조사, 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 개발 방향 설정 - 형태(Drink, Tablet, 파우치등), 용량, 포장결정 - 제조공정의 확립 - 제품조성의 결정 및 1차 시제품 제조와 특성 조사 <ul style="list-style-type: none"> • 물리화학적 특성, 색도와 기호도 등 - 제품의 보완 및 최종제품 제조(제품조성 확정) <ul style="list-style-type: none"> • 최종 제품의 특성조사
	○ 기능성 및 수량성 우량균주 선발	<ul style="list-style-type: none"> - 생산력 검정에 의한 품종 선발 - 기능성 우수균주 선발 및 등록 - 생산력 검정
	○ 자실체 대량생산을 위한 인공재배조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> - 병 및 봉지재배 - 원목재배 - 농가 확대재배 시험
	○ 비늘버섯가공제품의 품질 특성 및 중간 stigmasterol 함량 비교 조사	<ul style="list-style-type: none"> - 비늘버섯 가공제품의 품질특성조사 - 제품의 생리기능성 조사 - 제품의 영양성분 분석 - 제품의 독성, 안정성 및 안전성 검토 - 경제성 분석 - 버섯 중간 stigmasterol 함량 비교조사

제 2 장 국내외 기술 개발 현황

- 비늘버섯류의 인공재배에 관한 연구는 일부 수행되었으나 안정적인 균주 확보 및 보급이 이루어지지 않고 있으며, 기능성물질 대량생산을 위한 배지 및 배양법 개발은 수행된 바 없음.
- 영지버섯과 상황버섯 등 몇 종의 약용버섯으로부터 면역효과 등에 관한 연구가 이루어졌으며 이들의 유효성분 및 이화학적 특성에 관한 연구가 진행되고 있으나 비늘버섯류의 기능성물질 탐색은 초보 수준임.
- 비늘버섯의 인공재배는 일본에서도 일부 수행되었음.
- 최근 미국의 국립암센터에서는 버섯류의 다당체에 대한 D/B화를 통해 그들의 생물활성에 대하여 체계적인 연구를 진행하고 있음.
- 본 연구진에 의한 암전이 억제효과, 고혈압 예방효과 및 혈전용해 효과, 버섯류의 항염증작용, 간보호 작용, 항산화 작용, 정력증강작용 등이 알려져 있고 *Tricholoma* (송이 버섯속)에 속하는 버섯의 일종인 *Tricholoma giganteum*에서 추출한 polysaccharides가 항암작용이 있음이 보고되어있음. 또한 본 연구진에 의해서 비늘버섯 중의 항고혈압성 ACE 저해물질이 정제되어 특성이 조사 되어있음. 그러나 이러한 항고혈압성 외에 비늘 버섯이 갖고 있는 다양한 약리 기능성은 전혀 보고된바 없고 이들의 가공 기술 개발 연구도 이루어지지 않았음.
- 버섯 가공 제품들의 품질 규격화와 표준화가 이루어지지 않았음.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

세부 : 생리 기능성 비늘버섯의 선발 및 산업화

제 1 절 비늘버섯의 생리 기능성 검색 및 우수 버섯 선정

1. 연구수행 방법

가. 자실체 추출물의 제조 및 생리 기능성 측정

물과 메탄올 추출물을 제조하고 아래와 같이 생리기능성을 조사하여 우수 비늘버섯과 생리기능성을 선발하였음.

- 혈소판 응집저해 활성 : PRP (platelet rich plasma) 응집 유도법
- 혈전용해활성 : fibrin을 이용한 tyrosine 정량법
- HMG-coA reductase 저해활성 : β -NADPH와 HMG-CoA reductase을 이용한 비색법
- Elastase 저해활성 : NSPN (N-succinyl-Ala-Ala-Ala p-nitroanilide)와 elastase을 이용한 비색법
- Tyrosinase 저해활성 : tyrosine와 tyrosinase을 이용한 비색법
- SOD-유사활성 : pyrogallol (1,2,3-Benzotriol, 1,2,3-trihydroxybenzene)을 이용한 비색법
- 항산화활성 : DPPH (α - α -diphenyl- β -picryhydrazyl)을 이용한 525 nm 흡광도 측정법

2. 연구내용 및 결과

가. 비늘버섯 추출물들의 각종 생리 기능성

1) 비늘버섯의 혈전용해 활성과 HMG-CoA reductase 저해활성

수집 및 분양 받아 본 연구에 공시한 비늘버섯 중 인공 재배를 통하여 생산된 63균주의 자실체에 대한 물과 메탄올 추출물들의 생리 기능성을 조사 한 결과 혈전용해 활성은 *P. adiposa* PAD-030균주의 메탄올 추출물이 11.5 U로 제일 높은 활성을 보였고 *P. adiposa* PAD-021 균주와 *P. malicola* PMA-001균주의 메탄올 추출물 등에서 활성을 나타내었으나 종간 또는 종내 균주간에 큰 차이 없이 대체로 미약하거나 활성을 보이지 않았다 (Table 1).

Table 1. Physiological functionality of various extract from *Pholiota* spp.

Species/ Origin	No.	Fibrinolytic activity (U)	HMG CoA-reductase inhibitory activity(%)	SOD- like activity (%)	Antioxidant activity (%)	Elastase inhibitory activity (%)	Tyrosinase inhibitory activity (%)
		D.W. ^a / MeOH	D.W. / MeOH	D.W. / MeOH	D.W. / MeOH	D.W. / MeOH	D.W. / MeOH
<i>Pholiota adiposa</i>							
PAD-001	04-0531(Odaesan)	n.d ^b / n.d	n.d / 5.6	5.4 / n.d	63.6 / 17.3	6.1 / n.d ²⁾	12.5 / 6.4
PAD-002	IUM 00132	n.d / n.d	n.d / n.d	n.d / n.d	23.9 / 1.3	3.9 / n.d	13.8 / n.d
PAD-003	IUM 00260	n.d / n.d	4.6 / n.d	n.d / 0.1	29.1 / 13.6	6.4 / n.d	9.1 / n.d
PAD-004	IUM 00437	n.d / n.d	n.d / n.d	6.4 / n.d	24.9 / 4.7	5.9 / n.d	7.6 / 57.7
PAD-005	IUM 00613	n.d / n.d	7.4 / n.d	22.1 / n.d	64.6 / 18.9	2.3 / n.d	n.d / 22.4
PAD-006	IUM 00815	n.d / n.d	37.8 / 43.5	n.d / n.d	61.6 / 44	10.3 / n.d	0.2 / 16.4
PAD-007	IUM 00819	n.d / n.d	42.5 / n.d	4.1 / n.d	68.1 / 7.7	6.2 / n.d	4.5 / 14.3
PAD-008	IUM 00820	n.d / n.d	n.d / 18.2	23.4 / 17.6	35.5 / 8.5	n.d / n.d	18.2 / 21.3
PAD-009	IUM 00909	n.d / n.d	n.d / n.d	n.d / 2.4	16.1 / 7.4	9.0 / n.d	5.0 / 14.8
PAD-011	04-0614(Chiaksan)	n.d / n.d	n.d / n.d	9.0 / n.d	20.4 / 24.1	9.5 / n.d	1.8 / 3.1
PAD-013	G1674	n.d / n.d	n.d / n.d	6.6 / 8.4	62.5 / 5.2	6.8 / n.d	54.0 / n.d
PAD-014	G1861	n.d / n.d	n.d / 35.8	n.d / n.d	24.2 / 7.4	15.8 / n.d	44.4 / 38.6
PAD-015	G2362	n.d / n.d	25.9 / n.d	18.0 / n.d	54.7 / 66.7	34.2 / n.d	42.7 / 33.1
PAD-016	G3101	n.d / n.d	n.d / n.d	37.2 / n.d	71.1 / 20	46.7 / n.d	42.8 / 20.1
PAD-017	A6734	n.d / n.d	n.d / n.d	0.4 / n.d	20.2 / 31.6	4.5 / n.d	46.0 / 11.0
PAD-018	ASI24004	1.3 / n.d	n.d / 10.5	n.d / n.d	7.0 / 7.5	n.d / 5.2	n.d / 7.8
PAD-019	ASI24010	1.8 / n.d	9.0 / n.d	n.d / n.d	66.1 / 10.2	n.d / n.d	8.0 / 7.1
PAD-020	ASI24012	1.1 / n.d	n.d / n.d	n.d / 10.2	4.7 / 21.4	n.d / 8.4	4.2 / 6.5
PAD-021	ASI24013	n.d / 6.5	42.8 / n.d	0.9 / 2.5	42.7 / 10	n.d / n.d	11.5 / 14.5
PAD-022	ASI24018	1.2 / n.d	n.d / 76.8	n.d / n.d	20.1 / n.d	n.d / 16.2	5.3 / 26.5
PAD-023	ASI24022	1.0 / n.d	n.d / 15.5	n.d / 5.1	7.0 / 3.1	n.d / 5.6	12.7 / 11.3
PAD-024	ASI24024	0.9 / n.d	3.1 / 18.1	n.d / n.d	23.3 / 9.6	n.d / 7.8	8.5 / 20.2
PAD-025	A7365	n.d / n.d	n.d / n.d	3.2 / 1.6	24.5 / 65	44.1 / n.d	45.3 / 24.4
PAD-026	A7380	n.d / n.d	n.d / n.d	n.d / n.d	23.6 / 6.4	8.6 / n.d	9.1 / 28.9
PAD-027	A7439	n.d / n.d	n.d / n.d	2.1 / n.d	55.2 / 12	8.2 / n.d	1.3 / 7.4
PAD-028	A7969	n.d / n.d	n.d / n.d	n.d / 3.7	16.1 / 8.4	2.8 / n.d	19.4 / 9.2
PAD-029	A9520	n.d / n.d	n.d / n.d	n.d / 3.9	36.3 / 13.2	3.6 / n.d	69.4 / 18.7
PAD-030	Yen-2	n.d / 11.5	n.d / n.d	28.8 / 4.9	36.9 / 33	9.8 / n.d	42.4 / 11.2
PAD-031	ASI24001	0.6 / n.d	n.d / 25.5	n.d / n.d	28.1 / 30	n.d / 20.1	n.d / 8.2
PAD-032	ASI24029	n.d / n.d	19.2 / n.d	n.d / 0.9	28.6 / 68	17.4 / n.d	25.2 / 24.6
PAD-033	ASI24030	n.d / n.d	n.d / n.d	n.d / n.d	31.9 / 7.4	3.2 / n.d	15.4 / 14.8
PAD-034	ASI24003	n.d / n.d	n.d / n.d	15.9 / 14.5	14.3 / 10.3	n.d / n.d	15.7 / 10.1
PAD-035	ASI24027	0.8 / n.d	24.1 / 51.5	n.d / n.d	42.3 / 16.1	n.d / 7.5	9.3 / 5.3
PAD-036	04-1010(Shitake log)	n.d / n.d	25.7 / n.d	35.7 / n.d	69.4 / 38	n.d / n.d	18.2 / 22.3
PAD-037	04-1029(Shitake log)	n.d / n.d	n.d / 25.4	6.3 / n.d	18.7 / 6.8	n.d / n.d	17.4 / 20.6
<i>Pholiota nameko</i>							
PNA-002	G2041&A5008	n.d / 1.1	5.8 / 18.8	42.6 / 12.4	12.3 / n.d	n.d / n.d	17.3 / 19.8
PNA-008	A7529	n.d / n.d	26.5 / n.d	n.d / 4.0	31.4 / 6.2	n.d / n.d	13.3 / 11.0
PNA-009	A7539	n.d / n.d	n.d / 26.4	n.d / 0.7	15.1 / 8.4	n.d / n.d	14.2 / 37.9
PNA-010	ASI24037	n.d / n.d	17.7 / 51.3	21.4 / 10.7	14.7 / 27.9	0.5 / n.d	5.1 / 9.1
PNA-014	ASI5007	n.d / n.d	n.d / 22.5	n.d / n.d	18.3 / 5.6	n.d / n.d	14.1 / 11.9
PNA-015	ASI5012	n.d / 2.5	n.d / 21.1	20.9 / 14.6	27.6 / 18	n.d / n.d	8.4 / 18.1
PNA-019	ASI5020	n.d / 1.8	n.d / 46.2	29.5 / 13.3	45.5 / 20.8	n.d / 0.5	35.5 / 5.2
PNA-024	ASI5011	n.d / n.d	n.d / n.d	n.d / n.d	17.1 / 23	n.d / n.d	11.0 / 69.5
PNA-025	ASI5017	0.9 / n.d	n.d / n.d	9.4 / 4.0	6.1 / 1.6	n.d / 1.7	n.d / n.d

Continued

Species/ Origin	No.	Fibrinolytic activity (U)	HMG CoA-reductase inhibitory activity(%)		SOD- like activity (%)	Antioxidant activity (%)	Elastase inhibitory activity (%)	Tyrosinase inhibitory activity (%)
			D.W. / MeOH	D.W. / MeOH				
			D.W. / MeOH	D.W. / MeOH				
<i>Pholiota</i> sp.								
PSP-001	A6874	n.d / n.d	26.2 / 28.8	1.6 / 6.1	11.5 / 4.6	n.d / 0.2	63.9 / 42.8	
PSP-004	A6874	n.d / n.d	24.1 / n.d	n.d / 3.6	9.8 / 6.3	n.d / n.d	n.d / 9.8	
PSP-010	A9818	n.d / n.d	18.7 / n.d	n.d / n.d	14.6 / 30	21.8 / n.d	60.9 / 1.8	
PSP-014	Joyang-19	n.d / 1.9	n.d / 26.3	22.2 / 7.3	4.1 / 6.9	n.d / n.d	16.4 / 15.9	
PSP-015	Joyang-20	n.d / 3.2	19.9 / n.d	9.3 / n.d	72.7 / 4.49	1.0 / n.d	43.1 / n.d	
PSP-019	ASI24008	n.d / n.d	n.d / n.d	32.4 / 2.3	61.5 / 15.1	2.4 / n.d	10.1 / 19.3	
<i>Pholiota squarrosa</i>								
PSQ-001	ASI24006	n.d / n.d	n.d / n.d	0.9 / n.d	48.4 / 15.8	n.d / n.d	50.8 / n.d	
PSQ-002	ASI24002	2.4 / n.d	11.2 / n.d	3.6 / n.d	24.2 / n.d	n.d / 9.8	n.d / 19.3	
PSQ-003	ASI24005	n.d / n.d	10.5 / n.d	n.d / n.d	13.1 / n.d	n.d / 10.2	3.0 / 16.3	
PSQ-004	ASI24007	n.d / 1.6	14.5 / n.d	n.d / n.d	22 / 6.8	n.d / 16.1	12.2 / 13.2	
PSQ-005	ASI24009	n.d / n.d	n.d / 41.1	32.2 / 13.4	71.1 / 44.4	1.1 / 8.7	7.5 / n.d	
PSQ-006	ASI24025	n.d / n.d	n.d / n.d	0.9 / n.d	41.1 / 11.6	n.d / n.d	18.7 / 3.3	
PSQ-008	A11855	n.d / n.d	15.2 / 19.9	19.1 / 10.6	42 / 7.2	n.d / n.d	8.1 / 12.0	
<i>Pholiota flammans</i>								
PFL-001	A5993	n.d / n.d	23.5 / n.d	9.3 / 10.3	44.2 / 70.8	0.8 / 0.3	11.1 / 23.9	
<i>Pholiota highlandensis</i>								
PHI-001	ASI24011	n.d / n.d	29.5 / n.d	3.7 / 7.9	38.9 / 10.6	7.3 / n.d	7.7 / n.d	
PHI-002	ASI24020	n.d / n.d	18.8 / n.d	9.3 / 7.1	71.8 / 20.1	n.d / n.d	9.2 / n.d	
<i>Pholiota malicola</i>								
PMA-001	ASI24015	n.d / 4.8	n.d / 24.5	15.2 / 2.9	41.4 / 10.6	n.d / n.d	2.2 / 18.0	
<i>Pholiota squarrosoides</i>								
PSP-001	G0723	n.d / n.d	n.d / 11.3	23.5 / 9.4	71.8 / 61.7	2.5 / n.d	4.9 / 13.6	
<i>Pholiota terrestris</i>								
PTE-002	ASI24017	n.d / n.d	37.5 / n.d	n.d / n.d	12.2 / 14.5	n.d / 3.8	12.5 / 8.6	

^aD.W. extract, MeOH extract

^bn.d : not detected

이 결과들은 잎새버섯이나 차가버섯 등의 혈전용해 활성(박 등, 2003)보다 높은 결과 이었고 버섯의 혈전용해 활성에 관한 연구로 김 등 (2005)은 종이꽃낙엽 버섯이 plasmin 0.75 units의 112%에 해당하는 피부린 분해 활성을 보였고 긴대안장버섯은 60%, 장수버섯은 40%, 돌여우버섯은 39%, 자주방망이버섯아재비,

Oudemansiella sp.와 *Psathyrella* sp. 등이 각각 41%, 26%, 49%의 피부린 분해 활성을 보였다고 보고 하였다. 또한 최 등(2005)도 뽕나무버섯 균사체 배양시 옻 피, 가시오가피 가지, 홍삼박 등을 첨가 하였을 때 혈전 분해 활성이 59-65% 증가 되었다고 보고 한바 있다. 그 밖에도 할미송이 버섯(김, 2000)과 뽕나무 버섯(김·김, 1998)중의 혈전용해 효소의 정제 및 특성 연구, 최 등(1999)의 혈전용해 능을 갖는 버섯류의 탐색, 김 등(1998)의 치약산버섯 추출물로부터 피부린 분해 활성의 검색 등이 있다. 이상의 연구보고들을 종합하여 볼 때 비늘버섯을 포함하는 많은 버섯들이 혈전용해물질을 갖고 있으며 따라서 새로운 기능성 식품의 중요한 재료로 버섯이 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

한편, 본 연구 결과를 버섯 이외의 천연물과 비교 하였을 때 김치 발효 중에 생성된 젖산(Hwang, 1991; Jeong *et al.*, 1995)과 마늘과 양파 생체대사 중에 생성하는 ajoene(Srivastava *et al.*, 1995) 및 고춧가루, 무, 미나리, 부추, 파(Kim *et al.*, 1998) 등이 나타내는 혈전용해 활성보다 낮은 활성 이었다.

각종 비늘버섯 추출물들의 콜레스테롤 합성 경로에서 제일 중요한 반응 조절 효소인 HMG-CoA reductase에 대한 저해활성을 조사한 결과 *P. adiposa* PAD-022균주의 메탄올 추출물이 76.8%로 가장 높은 활성을 보였고 *P. adiposa* PAD-035균주와 *P. nameko* PNA-010균주의 메탄올 추출물도 50% 이상의 비교적 높은 활성을 보였다. 또한, *P. adiposa*에서는 PDA-006, 007과 014와 021 균주들이 30% 이상의 활성을 보였고 *P. nameko*에서는 PNA-019의 메탄올추출물에서 46.2%의 비교적 높은 활성을 보였으나 여타의 종에서는 없거나 20% 미만의 낮은 활성을 보여 본 생리 기능성 물질의 생성에 종간의 뚜렷한 특이성을 보였다. 이들 중, HMG-CoA reductase 저해활성이 우수한 *P. adiposa* PAD-022와 *P. nameko* PNA-010 등의 추출물들은 고지혈증 예방을 위한 대체 의약이나 건강식품의 신소재로 충분히 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

2) SOD 유사활성과 항산화 활성

노화 억제에 관련된 생리기능성으로는 항산화활성과 SOD 유사활성을 들 수 있다 (김 등, 2003). 지금까지 알려진 항산화물로는 SOD, catalase, peroxidase 등의 항산화 효소와 vitamin E, vitamin C, glutathione, ubiquinone, 요산 등이 있는데 현재 사용되고 있는 항산화제로는 단지 tert-butylhydroxytoluene(BHT), tertbutylhydro-xyanisol(BHA) 등과 같은 합성 항산화효소들뿐이다(Kim *et al.*; 1999, Lee *et al.*, 2001). 따라서 보다 안전하면서 강한 항산화력을 갖고 있는 비

늘버섯을 선별하고자 이들 비늘버섯에 대한 각 추출물들의 SOD 유사활성과 항산화 활성을 조사하였다 (Table 1).

먼저 SOD 유사활성은 *P. adiposa*에서는 PAD-016균주의 물 추출물에서 37.2%를 보여 비교적 높았고 *P. nameko*에서는 PNA-002의 물 추출물이 42.6%로 시료버섯 추출물중 제일 높았으며 *Pholiota* sp.에서는 PSP-019, *P. squarrosa*에서는 PSQ-005의 물 추출물에서 각각 32.4%, 32.2%로 높았다. 그러나 여타의 시료버섯에서는 대체로 활성이 미약하여 종간에 차이가 뚜렷하였고 다른 노화관련 생리기능성인 항산화 활성에 비하여 매우 낮은 활성이었다. 또한, 대체로 메탄올 추출물 보다는 물 추출물에서 비교적 높은 활성을 보여 비늘버섯에 함유되어 있는 SOD 유사 활성물질은 대부분 수용성인 것으로 추정된다.

항산화 활성은 *Pholita* spp. PSP-015균주와 *P. squarrosa* PSQ-005, *P. squarrosoides* PSP-001의 물 추출물에서 각각 72.7%, 71.1%, 71.8%의 비교적 높은 활성을 보였고 *P. flammans* PFL-001균주의 메탄올 추출물에서도 70.8%의 높은 활성을 보였으며 종간에 큰 차이 없이 대부분의 비늘버섯 추출물에서 활성을 보였다. 따라서 대부분의 식물에 함유되어 있으면서 항산화 활성을 나타내는 것으로 알려진 알칼로이드나 사포닌 계통의 물질(현 등, 2003)들이 비늘버섯에도 함유되어 있는 것으로 추정된다.

3) Elastase 저해활성과 tyrosinase 저해활성

피부 노화 방지 특히 주름살 생성 억제에 관련된 elastase 저해활성을 조사한 결과 *P. adiposa* PAD-016과 PAD-025균주의 물 추출물에서 각각 46.7%와 44.1%를 보였고 *Pholiota* sp. PSP-010의 물 추출물에서 21.8%의 활성을 보였을 뿐 대체로 모든 비늘버섯의 추출물에서 elastase 저해활성이 없거나 10%미만으로 낮았다.

또한, 피부 미백 즉 melanin 합성 억제에 관련된 tyrosinase 저해활성은 *P. nameko* PNA-024균주의 메탄올 추출물과 *P. adiposa* PAD-029균주의 물 추출물에서 각각 69.5%와 69.4%로 비교적 높은 활성을 보였고, *Pholiota* sp. PSP-001와 PSP-010균주의 물 추출물에서도 63.9%와 60.9%의 비교적 높은 활성을 보였다. 대체로 *P. adiposa* 균주들의 추출물들이 나머지 균주들의 추출물보다 높은 활성을 보였고 메탄올 추출물 보다는 물 추출물에서 활성이 대부분 높았다.

나. 기능성 우수 비늘 버섯의 선발

위의 생리 기능성을 종합하였을 때 혈전용해활성은 *P. adiposa* PAD-030의 메탄올 추출물이 11.5U로 제일 높았고 HMG-CoA reductase 저해활성은 *P. adiposa* PAD-022의 메탄올추출물이 76.8%로 제일 높았다. 또한 SOD 유사활성은 *P. nameko* PNA-002의 물추출물이 42.6%로, 항산화 활성은 *Pholiota* spp PSP-015의 물추출물이 72.7%로 각각 제일 높았으며 elastase 저해활성은 *P. adiposa* PAD-016의 물추출물이 46.7%, tyrosinase 저해활성은 *P. nameko* PNA-024의 메탄올추출물이 69.5%로 제일 높았다. 이들 생리 기능성 가운데 고지혈증 예방효과를 나타내는 HMG-CoA reductase 저해활성이 비늘버섯(*P. adiposa* PAD-022)에서 제일 높았으므로 이들을 최종 우수 생리 기능성 균주로 선발하였다.

제 2 절 비늘버섯 *Pholiota adiposa* PAD-022의 HMG-CoA reductase 저해물질의 정제 및 특성조사

1. 연구 수행 방법

- *Pholiota adiposa* PAD-022의 메탄올 추출물을 hexane, 클로로포름, ethyl acetate, 부탄올, 물 등으로 계통 추출하여 HMG CoA reductase 저해물질을 1차 정제 한 후 TLC와 Silica gel 컬럼 크로마토그래피, Sephadex LH-20으로 겔 여과를 실시하였고 Table 2의 조건으로 역상 HPLC(Prep 용, 분석용)로 최종 정제 하였다.

Table 2. Operating condition of RP-HPLC

Instrument	: Young In M-730
Column	: Water μ Bondapak C18(125Å, 3.9×150 mm)
Mobile phase	: A: Water B: Acetonitrile
Flow rate	: 0.8 ml/min
Detector	: UV absorbance(260 nm)

- 분자량 등의 구조특성은 LC/Mass spectrometry와 FT-IR spectrometry 등으로 분석 하였다.

2. 연구 내용 및 결과

가. 비늘버섯 *Pholiota adiposa* PAD-022의 HMG CoA reductase 저해물질의 정제

- *Pholiota adiposa* PAD-022의 메탄올 추출물을 몇가지 유기용매로 계통 추출한 결과 hexane 추출층에서 65.3%(IC₅₀:83 µg)의 높은 활성을 보였다.(Table 3)

Table 3. HMG-CoA reductase inhibitory activity of solvent extracts.

(%)				
Hexane extract	Chloroform extract	Ethyl acetate extract	Butanol extract	Aqueous extract
65.3 (IC ₅₀ : 83µg)	23.8	18.0	19.2	11.5

- 유기용매 계통추출에서 활성이 강하였던 hexane 층을 TLC와 silica gel chromatography를 실시한 결과 Table 4와 같이 분획된 4개 group중 S-III group이 75.6%(IC₅₀:49 µg)로 S-I group(11.8%), S-II group(15.5%) S-IV group의 8.3% 등보다 높았다.

Table 4. HMG-CoA reductase inhibitory activity of groups from silica gel column chromatography

(%)				
S- I	S- II	S- III	S- IV	S- V
11.8	15.5	75.6 (IC ₅₀ : 49µg)	8.3	N.D ¹⁾

N.D¹⁾ ; Not determined

- S-III활성 분획 group을 LH-20 column chromatography 실시하여 LH II 활성 group(81.2%)을 얻은 후 역상-HPLC로 연속 HPLC를 실시하여 최종 적으로 Fig. 1과 같이 고순도로 정제된 HMG CoA reductase 저해물질을 얻었다.

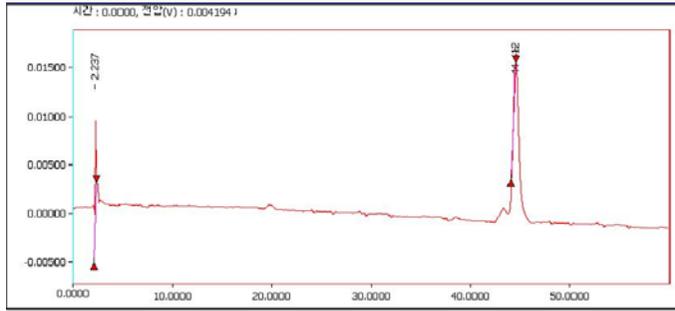


Fig. 1. Reverse phase-HPLC chromatogram of active fraction HG3

나. 정제된 HMG CoA reductase 저해물질의 특성

- 정제된 HMG-Co A reductase 저해물질의 분자량은 LC/Mass spectrometry에 의하여 약 412.7Da으로 추정되었고(Fig. 2) 일련의 기기 분석을 통해 정제된 HMG-CoA reductase 저해물질이 stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$)로 최종 동정 되었다.

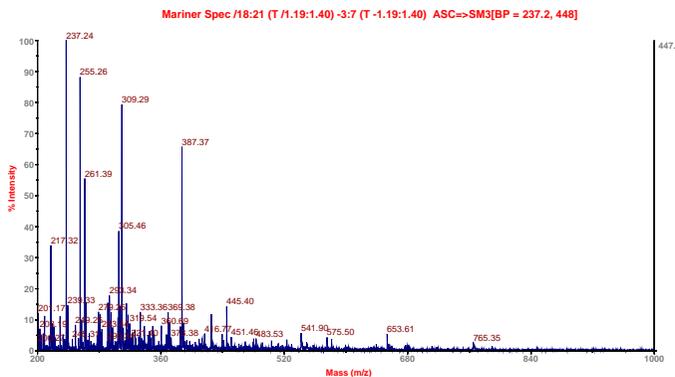


Fig. 2. LC/Mass spectrum of the purified HMG-CoA reductase inhibitor.

- HMG CoA reductase 저해물질의 물리 화학적 특성을 조사한 결과 정제된 HMG CoA reductase 저해물질은 백색 분말로 hexane, DMSO 등에 녹았고 274 nm의 자외선 영역에서 최대 흡수 파장을 갖고 있었다.

제 3 절 기능성 비늘버섯 가공제품의 개발

1. 연구 수행 방법

- 기능성 우수 버섯으로 선발 된 *Pholiota adiposa* PAD-022을 이용한 가공제품을 개발하기 위하여 우선 시장조사와 각종 통계 자료를 분석하여 제품의 컨셉(형태, 용량 등)을 결정하였다.
- 시료버섯 추출물 등을 이용하여 1차 시제품을 제조한 후 기호도를 패널들을 이용하여 맛과 향을 기준으로 측정하였다.
- 1차 시제품의 문제점을 보완하여 2차 시제품을 제조한 후 기호도와 안정성(상온/40℃)을 상법으로 조사하였다.

2. 연구 내용 및 결과

가. 제품의 컨셉과 제조공정 확립

- 시장조사와 건강제품의 소비통계 등을 분석하여 최종 제품의 형태를 파우치 형태, 용량은 50ml로 결정하였다.
- 제조공정은 일반 드링크 제조공정과 유사하게 ①원료혼합 및 용해 ②봉입 및 포장 ③살균으로 하였다.

나. 시제품의 제조 및 보완

- 기호도 : 단맛과 쓴맛은 적으나 신맛이 강하고 한약냄새가 있었다. 색상은 짙은 녹색이었고 반투명하였다.
- HMG-CoA reductase활성은 25.5%이었다.
- 보완 : 신맛을 줄이고 색상을 개선하며 기능성을 강화시키기위해 구기자 와 복분자 추출물을 일정 농도 첨가하여 2차 시제품을 제조하였다.(제품조성, 최종 제조공정 및 제품의 품질규격 : Table 5, 6).

Table 5. 비늘버섯 제품 조성

성분	함량(mg)	비고
비늘버섯추출물	500	
복분자 엑기스 분말	15	
구기자 엑기스	15	
비타민 B2	0.3	
비타민 B6	0.5	
니코틴산아미드	1.4	
엽산	0.1	
GMT-SOD	50	
타우린	25	
구연산	15	
구연산소다	0.1	
액상과당	1250	
저당	1750	
알긴산나트륨	5	
고순도 β -CD	60	두산CPK
Masking Flavor	2.5	HF-30066
Coolmint	4.0	HF-33478
정제수		
총량	50 ml	

Table 6. 원료 및 시제품 제조 방법

공정	제조방법
1. 비늘버섯 엑기스 제조	<ul style="list-style-type: none"> - 비늘버섯(PAD-022)을 평량하여 세척한 후 정제수를 10배량 가하고 50℃에서 24시간씩 1회 추출한다 - 추출액을 면포로 걸러서 여과한다 - 여과액을 60℃이하의 온도에서 감압농축하여 36°BX의 엑기스를 제조한다
2. 복분자 엑기스 제조	<ul style="list-style-type: none"> - 복분자를 평량하여 세척한 후 정제수를 10배량 가하고 85℃에서 4시간 추출한다 - 추출액을 원심분리여과(5000rpm, 20분, 실온) 한다 - 상정액을 60℃이하의 온도에서 감압농축하여 48°BX의 엑기스를 제조한다
3. 구기자 엑기스 제조	<ul style="list-style-type: none"> - 구기자를 평량하여 세척한 후 정제수를 10배량 가하고 85℃에서 4시간 추출한다 - 추출액을 원심분리여과(5000rpm, 20분, 실온) 한다 - 상정액을 60℃이하의 온도에서 감압농축하여 48°BX의 엑기스를 제조한다
4. 엑기스의 전처리	<ul style="list-style-type: none"> - 비늘버섯과 복분자와 구기자 엑기스를 평량하고 중량대비 2배량의 정제수를 가하여 용해한 다음 원심분리여과(5000rpm, 20분, 실온)하여 침전물을 제거한다
5. 쓴맛성분의 포접화합물 제조	<ul style="list-style-type: none"> - β-cyclodextrine에 정제수를 가하여 20%용액을 제조한 다음 50-60℃로 가온한다 - 비늘버섯과 산사자 엑기스, GMT-SOD를 β-cyclodextrine 가온용액에 첨가하고 200rpm으로 30분간 교반하여 포접화합물을 제조한다
6. 알긴산나트륨 용액 제조	<ul style="list-style-type: none"> - 알긴산나트륨은 2% 농도가 되도록 정제수를 가하고 서서히 교반하여 용해시킨다
7. 첨가제 및 당류 용해	<ul style="list-style-type: none"> - 비타민류, 타우린, 구연산 등의 첨가제와 당류는 각각 용해한 후 혼합한다
8. 음료용액의 제조	<ul style="list-style-type: none"> - 각각의 용해액을 혼합하여 전체 용량이 50ml가 되도록 용량을 조정한다
9. 전살균 및 부항	<ul style="list-style-type: none"> - 음료용액을 85℃에서 30분간 가온하여 살균한 다음 향료를 첨가하여 균질화한다
10. 충전 및 후살균	<ul style="list-style-type: none"> - 전살균한 음료용액을 Al.Foil팩에 50ml씩 충전한 다음 85℃에서 20분간 가온하여 후살균한다
11. 제품검사	<ul style="list-style-type: none"> - 기밀상태 등을 검사하여 적합한 것을 선별하여 제품화한다

다. 시제품의 안정성 조사

- 시제품을 상온과 40℃에 저장하면서 2주 간격으로 제품의 기호도와 pH, 당도, 생균수 및 HMG-CoA reductase 저해활성 등의 변화를 조사하였다 (Table 7). 상온에서 3개월까지 품질에 변화가 없었으나 40℃ 저장에서도 생균수가 약간 증가하였으나 다른 품질 변화는 없었다. 따라서 본 시제품은 비교적 안정한 것으로 추정되었다.

Table 7. 시제품의 저장중 품질 특성의 변화

	0	실온				40℃			
		2주	4주	6주	8주	2주	4주	6주	8주
pH	4.5	4.5	4.5	4.5	4.6	4.5	4.5	4.6	4.6
당도 (brix°)	31.2	30.9	31.0	31.0	30.8	30.9	30.9	31.0	31.0
세균수 (CFU/ml)	0	6.0	6.0	6.5	7.1	10.0	9.5	9.8	11.2
HMG-CoA reductase 저해활성 (%)	84.3	87.6	86.5	85.5	84.2	84.6	85.5	85.0	83.9
기호도	제조 직후 시제품은 단맛과 쓴맛이 없고 신맛이 약간 느껴지면서 한약(버섯)향이 조금 있고 담백하여 음용하기 좋음. 실온이나 40℃에서 저장기간이 길어짐에 따라 신맛과 버섯향이 조금 더 느껴질 뿐 관능적 변화는 거의 없었음.								

품질규격 : 50ml 용량, Al.foil 포장, 파우치 형태, 당도:31.2°, pH:4.5

라. 기능성물질을 대량생산하기 위해 *P. adiposa* PAD-022 자실체의 추출 최적조건을 검토한 결과 30℃에서 12시간 추출하였을 때 기능성 물질인 HMG-CoA reductase 저해제가 가장 많이 용출되었다(Fig. 3).

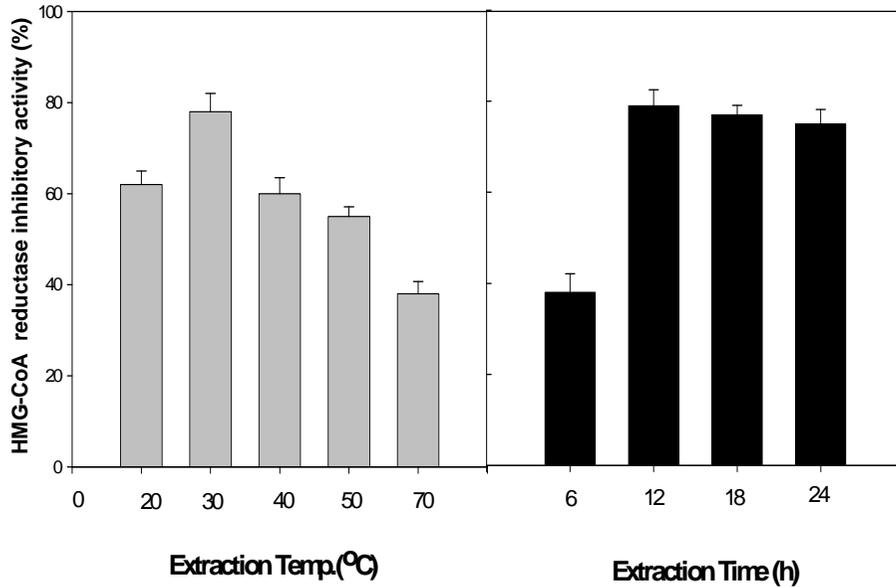


Fig. 3. Effects of extraction temperature and time on the HMG-CoA reductase inhibitory activity of methanol extracts from *Pholiota adiposa* PAD-022

협동 과제 : 비늘버섯류(*Pholiota* spp.)의 분류 및 인공재배법 개발

1. 수집 비늘버섯 균주의 분류 · 동정

가. DNA marker를 이용한 분류 동정 및 유연관계 분석

1) 재료 및 방법

가) 공시 균주

본 연구에 사용한 공시균주는 검은비늘버섯(*P. adiposa*)과 형태적으로 유사한 땅비늘버섯(*P. terrestris*) 등 비늘버섯속(*Pholiota* spp.) 균주를 균주 보존기관에 분양의뢰하고 야생버섯 발생시기에 국내 야생균주를 채집, 수집하고 국내와 외국 균주 보관 기관 등을 통하여 확보하여 공시하였다.

본 연구를 통하여 농촌진흥청 농업과학기술원(MKACC)과 인천대학교 버섯균주은행(IUM) 등에서 *Pholiota*속균 균주를 총 67균주, 일본의 福岡임업시험장에서 1균주를 분양받았고 국내에서 48균주를 수집하여 본 연구에 총 116균주를 공시하였다(Table 8).

Table 8. List of *Pholiota* spp. used in this study

Isolate No.	Origin	Scientific Name	Korean Name
PAD-001	Wild type, Mt Odaesan, (04.05.31)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘버섯
PAD-002	IUM00132 Incheon Univ.,(04.05.28)		
PAD-003	IUM00235 Incheon Univ.,(04.05.28)		
PAD-004	IUM00260 Incheon Univ.,(04.05.28)		
PAD-005	IUM00437 Incheon Univ.,(04.05.28)		
PAD-006	IUM00613 Incheon Univ.,(04.05.28)		

PAD-007	IUM00815 Incheon Univ.,(04.05.28)		
PAD-008	IUM00819 Incheon Univ.,(04.05.28)		
PAD-009	IUM00820 Incheon Univ.,(04.05.28)		
PAD-010	IUM00909 Incheon Univ.,(04.05.28)		
PAD-011	Wild type, Mt. Chiak (04.06.14)	<i>P. adiposa</i>	
PAD-012	MKACC 50007 (G0312)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-013	MKACC 50055 (G1674)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-014	MKACC 50062 (G1861)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-015	MKACC 50110 (G2362)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-016	MKACC 50138 (G3101)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-017	MKACC 50234 (A6734)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-018	MKACC 50455 (ASI 24004)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-019	MKACC 50456 (ASI 24010)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-020	MKACC 50458 (ASI 24012)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-021	MKACC 50459 (ASI 24013)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-022	MKACC 50461 (ASI 24018)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-023	MKACC 50464 (ASI 24022)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-024	MKACC 50465 (ASI 24024)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-025	MKACC 50553 (A7365)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-026	MKACC 50562 (A7380)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-027	MKACC 50573 (A7439)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-028	MKACC 50808 (A7969)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-029	MKACC 51085 (A9520)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-030	MKACC 52540 (Yen-2)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-031	MKACC 52580 (ASI 24001)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-032	MKACC 52591 (ASI 24029)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-033	MKACC 52592 (ASI 24030)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯
PAD-034	MKACC 53456 (ASI 24003)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘머섯

PAD-035	MKACC 52589 (ASI 24027)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘버섯
PAD-036	Wild type, Shiitake log(04. 10. 10)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘버섯
PAD-037	Wild type, Shiitake log(04. 10. 29)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘버섯
PAD-038	Wild type, Shiitake log(05. 5. 13)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘버섯
PAD-039	Hukuoka, Japan(04.12.28)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘버섯
PAD-040	IUM00154 Incheon Univ.,(05.05.24)		
PAD-041	IUM00155 Incheon Univ.,(05.05.24)		
PAD-042	IUM00170 Incheon Univ.,(05.05.24)		
PAD-043	IUM00523 Incheon Univ.,(05.05.24)		
PAD-044	Commercila strain(Mush Mania)		
PAD-045	Commercila strain(Mush Mania)		
PAD-046	Wild type, Shiitake log(05.10.24)		
PAD-047	Wild type, Shiitake log(06.2.18)		
PAD-048	Commercila strain(Jintae farm)		
PAD-049	Commercila strain(Paltan farm)		
PAD-050	MKACC 50640 (A6203)	<i>P. adiposa</i>	검은비늘버섯
PAG-001	MKACC 50468 (ASI 24016)	<i>P. aggericola</i>	
PAR-001	MKACC 52590 (ASI 24028)	<i>P. aurivella</i>	금빛비늘버섯
PAR-002	MKACC 52593 (ASI 24031)	<i>P. aurivella</i>	금빛비늘버섯
PAU-001	MKACC 50538 (A7127)	<i>P. auriflammans</i>	
PCA-001	MKACC 52594 (ASI 24033)	<i>P. carbonaria</i>	재비늘버섯
PFL-001	MKACC 50216 (A5993)	<i>P. flammans</i>	노랑비늘버섯
PFL-002	MKACC 51056 (A9082)	<i>P. flammans</i>	노랑비늘버섯
PHI-001	MKACC 50457 (ASI 24011)	<i>P. highlandensis</i>	재비늘버섯
PHI-002	MKACC 50462 (ASI 24020)	<i>P. highlandensis</i>	재비늘버섯
PHI-003	MKACC 50032 (G1012)	<i>P. highlandensis</i>	재비늘버섯
PLU-001	MKACC 52595 (ASI 24034)	<i>P. lucifera</i>	
PLU-002	MKACC 52596 (ASI 24035)	<i>P. lucifera</i>	
PMA-001	MKACC 50460 (ASI 24015)	<i>P. malicola</i>	
PMA-002	MKACC 50469 (ASI 24014)	<i>P. malicola</i>	
PNA-001	MKACC 50012 (G0563)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-002	MKACC 50182 (G2041, A5008)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-003	MKACC 50450 (ASI 5001)	<i>P. nameko</i>	맛버섯

PNA-004	MKACC 50451 (ASI 5002)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-005	MKACC 50453 (ASI 5008)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-006	MKACC 50466 (IFO 60163)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-007	MKACC 50467 (C-290)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-008	MKACC 50738 (A7529)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-009	MKACC 50776 (A7529)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-010	MKACC 52597 (ASI 24037)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-011	MKACC 52600 (ASI 5004)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-012	MKACC 52601 (ASI 5005)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-013	MKACC 52602 (ASI 5006)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-014	MKACC 52603 (ASI 5007)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-015	MKACC 52604 (ASI 5012)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-016	MKACC 52605 (ASI 5013)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-017	MKACC 52606 (ASI 5014)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-018	MKACC 52607 (ASI 5019)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-019	MKACC 52608 (ASI 5020)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-020	MKACC 52609 (ASI 5021)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-021	MKACC 53448 (ASI 5003)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-022	MKACC 53451 (ASI 5009)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-023	MKACC 53452 (ASI 5010)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-024	MKACC 53453 (ASI 5011)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-025	MKACC 53454 (ASI 5017)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-026	MKACC 50452 (ASI 5003)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-027	MKACC 50454 (ASI 5016)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PNA-028	MKACC 53449 (ASI 5016)	<i>P. nameko</i>	맛버섯
PSA-001	MKACC 52599 (ASI 24040)	<i>P. squarrosa-adiposa</i>	
PSP-001	MKACC 50285 (A6874)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-002	MKACC 50308 (G2055)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-003	MKACC 50357 (G2936)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-004	MKACC 50392 (A6874)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-005	MKACC 50463 (ASI 24021)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-006	MKACC 50723 (A6626)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-007	MKACC 50730 (A6649)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-008	MKACC 51025 (G1190)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-009	MKACC 51097 (A9205)	<i>Pholiota sp.</i>	

PSP-010	MKACC 51237 (A9818)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-011	MKACC 51313 (A10672)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-012	MKACC 52573 (조양-2)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-013	MKACC 52577 (조양-18)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-014	MKACC 52578 (조양-19)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-015	MKACC 52579 (조양-20)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-016	MKACC 52586 (ASI 24019)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-017	MKACC 52587 (ASI 24023)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-018	MKACC 53387 (A11643)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-019	MKACC 53458 (ASI 24008)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-020	MKACC 50253 (A6627)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSP-021	MKACC 50327 (A6624)	<i>Pholiota sp.</i>	
PSQ-001	MKACC 53457 (ASI 24006)	<i>P. squarrosa</i>	비늘버섯
PSQ-002	MKACC 52581 (ASI 24002)	<i>P. squarrosa</i>	비늘버섯
PSQ-003	MKACC 52582 (ASI 24005)	<i>P. squarrosa</i>	비늘버섯
PSQ-004	MKACC 52583 (ASI 24007)	<i>P. squarrosa</i>	비늘버섯
PSQ-005	MKACC 52584 (ASI 24009)	<i>P. squarrosa</i>	비늘버섯
PSQ-006	MKACC 52588 (ASI 24025)	<i>P. squarrosa</i>	비늘버섯
PSQ-007	MKACC 52598 (ASI 24038)	<i>P. squarrosa</i>	비늘버섯
PSQ-008	MKACC 53425 (A11855)	<i>P. squarrosa</i>	비늘버섯
PSQ-009	MKACC 53459 (ASI 24039)	<i>P. squarrosa</i>	비늘버섯
PSS-001	MKACC 50017 (G0723)	<i>P. squarrosoides</i>	침비늘버섯
PSU-001	MKACC 50558 (A7375)	<i>P. spumosa</i>	노란갓비늘버섯
PTE-001	MKACC 50578 (A7452)	<i>P. terrestris</i>	땅비늘버섯
PTE-002	MKACC 52585 (ASI 24017)	<i>P. terrestris</i>	땅비늘버섯

나) DNA marker을 이용한 분류동정 및 유전적 유연관계 분석

(1) 공시균주의 배양 및 genomic DNA 추출

DNA marker을 이용한 분류동정 및 유전적 유연관계 분석을 위하여 MCM 배지를 250ml 삼각플라스크에 50ml 씩 분주하여 2주간 배양한 뒤 균사체를

수거하여 DNA를 분리하였다. Genomic DNA의 분리는 Graham(Graham, 1994)의 방식을 변형하여 사용하였다. 동결 건조된 균사체는 유발에서 마쇄한 후 각 균주별로 균사체 50mg을 1.5ml tube에 넣고 400 μ l의 Lysis buffer(100mM NaCl, 0.5M Tris-HCl pH8.0, 10% SDS), 1 μ l의 proteinase K, 400 μ l의 CTAB buffer(2% CTAB(w/v), 10mM Tris-Cl pH 8.0, 20mM EDTA pH 8.0, 1.4M NaCl, 1% PVP Mr 40000)를 첨가한 후 vortexing하여 완전히 섞는다. 65 $^{\circ}$ C에서 1시간 heating시킨다. 이어서 500 μ l의 Phenol/CHCl₃/Isoamyl alcohol(25:24:1)을 첨가하여 vortexing한 뒤 이것을 원심분리(12,000rpm, 10min, 4 $^{\circ}$ C)를 실시하고 상등액을 새로운 tube로 옮긴 후 0.7volume으로 Isoprophenol을 넣고 천천히 섞어준 다음 상온에서 10분간 방치한다. 다시 원심분리(12,000rpm, 10min, 4 $^{\circ}$ C)를 실시하고 상등액을 버리고 DNA 침전물을 70% Ethyl alcohol로 500 μ l첨가하여 pellet이 떨어질 정도로 tapping을 한 후 원심분리(12,000rpm, 5min, 4 $^{\circ}$ C)을 한다. 상등액을 걸어내 버리고 vacuum drying(10min)을 실시한 후 50 μ l의 TE beffer로 녹여 1 μ l의 Rnase를 첨가한 후 효소반응(37 $^{\circ}$ C, 30min)을 시킨 뒤 DNA량을 측정하고 RAPD-PCR에 사용하였다.

(2) RAPD-PCR을 이용한 유연관계 분석

Genomic DNA extraction은 Graham(Graham, 1994)의 방법을 간단하게 변형하여 사용하였다. PCR을 위해 사용된 primer는 OPA-primer(10mer)와 URP primer Kit(20mer)를 구입하여 사용하였고, DNA증폭을 위한 PCR stock은 반응액 총량을 50 μ l 기준으로 하여 template DNA 5 μ l과 PCR-buffer 5 μ l(10X :100mM Tris-HCl pH8.0, 500mM KCl, 15mM MgCl₂, 0.1% gelatin(sigma)), URP-primer(100ng/ μ l) 1 μ l, dNTP 2.5mM 4 μ l, Taq DNA polymerase 2.5unit 0.7 μ l로 맞추어 멸균수(34.3 μ l)를 첨가하였다.

PCR 조건은 94℃에서 4분간 preheating시킨 다음, 94℃에서 1분간 denaturation, 55℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분 동안 extension을 1 cycle로 하여 총 35cycle을 돌린 후 72℃에서 7분 간 post extension 후 4℃로 유지하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 50v로 전개한 후 ethidium bromide에서 1시간30분정도 염색하고, 증류수에 30분정도 침지하여 UV transilluminator lamp 상에서 증폭 밴드를 기준으로 Ntsys 프로그램상에서 UPGMA 분석을 실시하여 유연관계를 조사하였다.

2) 결과 및 고찰

가) OPA-primer을 이용한 분류동정 및 유전적 유연관계 분석

수집된 비늘버섯류의 유전적 유연관계를 분석하기 위하여 공시균주 중 *Pholiota adiposa* PAD-012외 9균주, *P. aggericola* PAG-001, *P. highlendensis* PHI-001과 PHI-002, *P. malicola* PMA-001과 PMA-002 *P. nameko* PNA-003외 6균주, *P. squarrosoides* PSS-001 그리고 치악산에서 채집한 PSP-005 균주 등 총 23균주를 공시하여 RAPD-PCR을 실시하였으며 결과는 그림4-1 및 4-2와 같다.

5개의 random primer를 사용하여 RAPD를 실시하고 증폭된 밴드로 비늘버섯속 균의 유전적 유사성 분석을 실시한 결과, Fig. 4-2와 같았다. 증폭된 산물의 크기는 300bp에서 2kbp사이에서 증폭되었으며, 10~22개의 밴드가 증폭되었다. Random primer 중에서, 중간에 가장 많은 다양성을 보이는 primer는 OPA-06번이었으며, 나머지는 단순한 밴드양상을 보였다. 비늘버섯속 중에서 밴드양상을 보면 PAG-001, PHI-001, PHI-002 및 PMA-002 균주가 특이적인 밴드양상을 보였고, 특히 primer OPA-06번에서는 이러한 양상을 뚜렷하게 볼 수 있었다. 그리고 *P. nameko*는 primer OPA-02번에서 PNA-004와 PNA-007균주에서 특이적인 밴드를 보였고,

전체적으로 PNA-005균주가 약간 다른 양상을 보였다.

비늘버섯속 균주에 대한 유연관계를 분석하기 위하여 RAPD밴드의 유무에 따라 1과 0의 점수를 주어 UPGMA cluster분석을 한 결과는 Fig. 4-2와 같았다. 공시한 비늘버섯속 균주는 전체적으로 67%의 유사도를 보였으며, 90%의 유사도에는 여섯 개의 균으로 구분할 수 있었다.

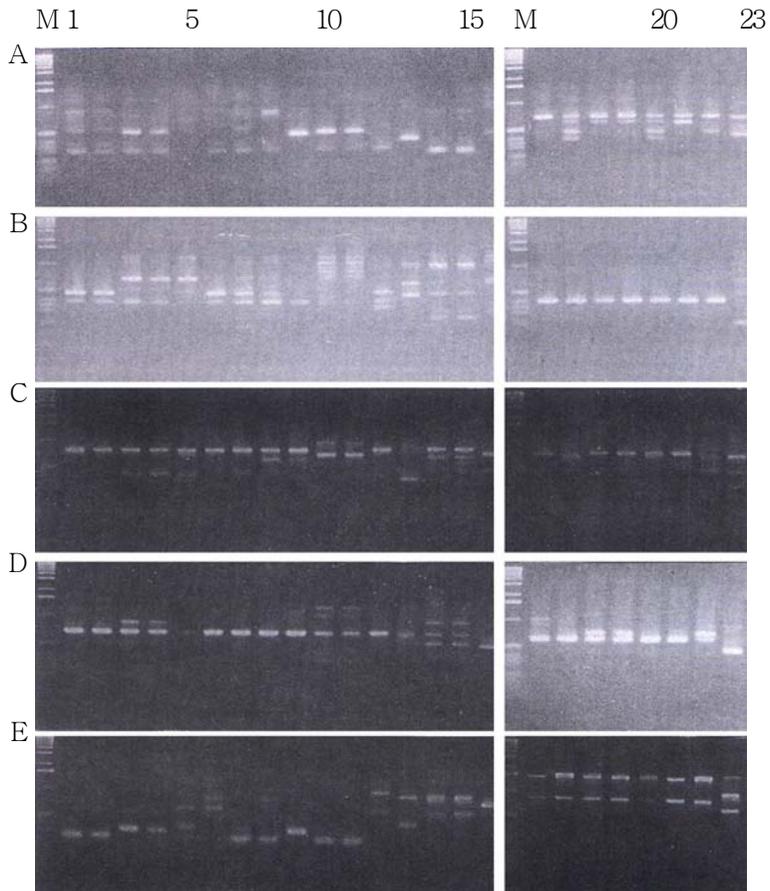


Fig. 4-1. Random amplified polymorphic DNA profile of *Pholiota* spp. produced by OPA primers. A: primer OPA-02, B: primer OPA-06, C: primer OPA-08, D: primer OPA-10, E: primer OPA-13.

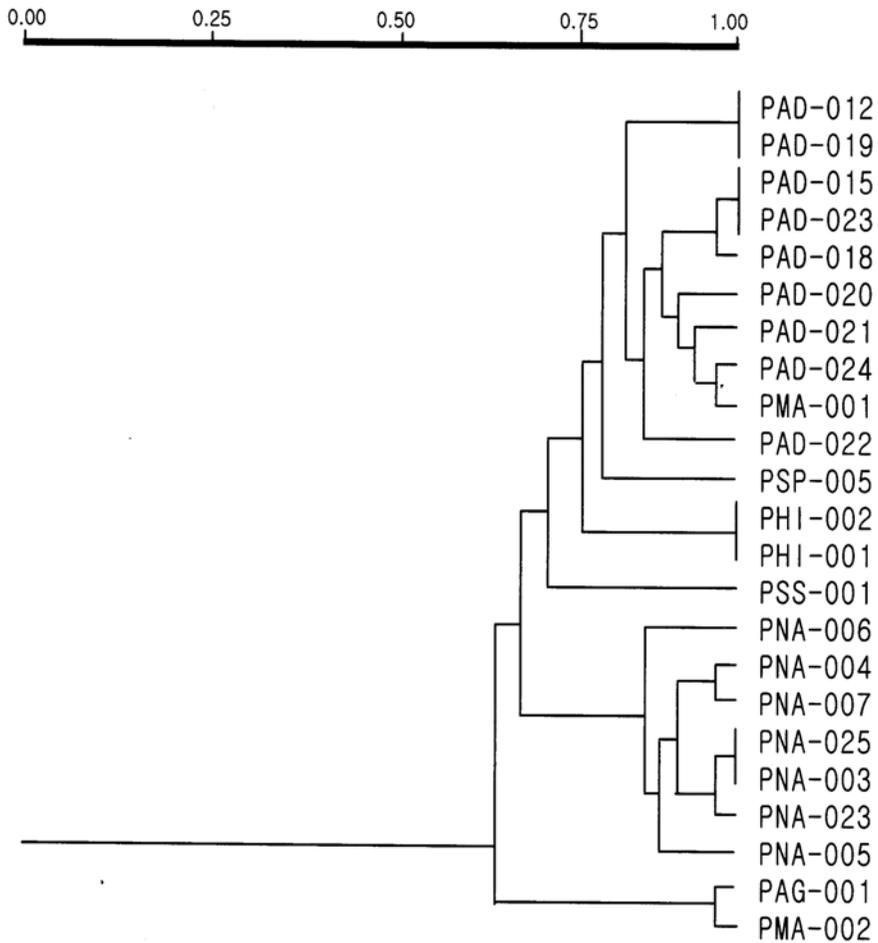


Fig. 4-2. Dendrogram derived from random amplified polymorphic DNA analysis of *Pholiota* spp. with OPA primers by unweighted paired group methods with arithmetic average(UPGMA) methods. Top scale is the percentage of coefficient similarity.

첫 번째 군에서는 PAD-012균주와 PAD-019균주, PAD-015균주와 PAD-023균주는 *P. adiposa*로 100%의 유사도가 보였고, 나머지 *P. adiposa*는 90%이상의 유사도가 보였는데, 특히 PMA-001균주는 *P. malicola*로, *P. adiposa*와 95%의 유사도가 보였다. 그리고 PAD-022균주는 *P. adiposa*로 첫 번째 군에서 가장 유사도가 먼 것으로 나타났다.

두 번째 군은 *Pholiota* sp.로 PSP-005균주이며, 세 번째 군은 *P. highlandensis*로 PHI-001균주와 PHI-002균주가 100%의 유사도를 보였다. 네 번째 군은 *P. nameko* 집단으로 이들간은 87%이상의 유사도를 보여 같은 집단임이 확인되었는데, 100%의 유사도를 보이는 것은 PNA-003균주와 PNA-025균주이며, PNA-023균주와 연관되어 있고, 95%수준에서 볼때 PNA-004균주와 PNA-007균주는 연관이 있는 것으로 보이며, *P. nameko* 집단에서는 PNA-006균주가 가장 유전적 유사도가 먼 것으로 나타났다. 다섯 번째 군은 PAG-001균주와 PMA-002 균주로 *P. aggericola* 와 *P. malicola*로 이들간에는 95%이상의 유사도를 보였다. RAPD에서 분석한 결과로는 *Pholiota* spp.에서는 *P. aggericola*와 *P. malicola* 균주가 가장 유연관계가 먼 것으로 확인되었다.

나) URP-PCR을 이용한 분류동정 및 유전적 유연관계 분석

한편 수집된 모든 비늘버섯류의 유전적 유연관계와 미동정된 비늘버섯류를 분자마커(URP-Primer)를 이용하여 재분류를 실시한 결과 OPA-primer을 이용하여 증폭한 경우보다 더 많은 분자마커(그림 4-3)를 얻을 수 있었고 NtSys 프로그램을 이용한 UPGMA 분석 결과 미동정 비늘버섯류의 분류동정이 가능하였다(그림 4-4).

공시한 비늘버섯류는 크게 6그룹으로 나뉘어졌는데 제 I 그룹에는 비늘버섯(*P. squarrosa*)을 중심으로 16균주, 제 II 그룹에는 검은비늘버섯을 중심으로(*P. adiposa*) 중심으로 52균주, 제 III 그룹에는 맛버섯을 중심으로(*P.*

nameko) 22균주, 제Ⅳ그룹도 맛버섯을 중심으로(*P. nameko*) 6균주, 제Ⅴ에는 미동정 균주인(PSP-)와 PAG, PAU 균주 등 10균주, 제Ⅵ그룹에는 PSP-010과 PSP-011균주가 포함되는 그룹으로 나뉘어졌다.

제Ⅰ그룹에 속하는 균주는 다시 2개의 소그룹으로 나뉘어졌는데 Ⅰ-1그룹은 *P. adiposa*로 동정되었던 균주가 2균주(PAD-015, 009), *P. aurivella*(PAR-001, 002)가 2균주, *P. squarrosa*(PSQ-)가 7균주, *P. squarrosoides*(PSS-001), 미동정균주인 PSP-(017, 016, 018, 019 균주가 4균주 속하였다. 따라서 제Ⅰ그룹에 속하는 균주는 *P. squarrosa*균주로 판단되었고 *P. squarrosa*이외의 균주는 분류의 오류가 있었던 것으로 판단된다. 제Ⅱ그룹에는 검은비늘버섯을 중심으로(*P. adiposa*) 중심으로 52균주가 속하는데 이는 다시 3개의 그룹으로 나뉘었다. Ⅱ-1그룹은 29균주 중 미동정균주인 PSP-001과 004균주를 제외하면 모두 *P. adiposa* 균주로 유전적 다양성을 보이기는 하나 모두 *P. adiposa*로 판단된다. Ⅱ-2 그룹은 PMA-022, PTE-001, PTE-002 균주 이외에는 모두 *P. adiposa* 균주로 이 그룹 역시 모두 *P. adiposa*로 판단된다. Ⅱ-3 그룹은 PAD-026, 028, 029rvs주와 PSA-001, PHI-002, PLU-001 균주를 포함 하는 균으로 이들은 Ⅱ-1그룹, Ⅱ-2그룹과 유연관계가 떨어져 있어 분류학적 위치는 재검토할 필요가 있는 것으로 판단된다.

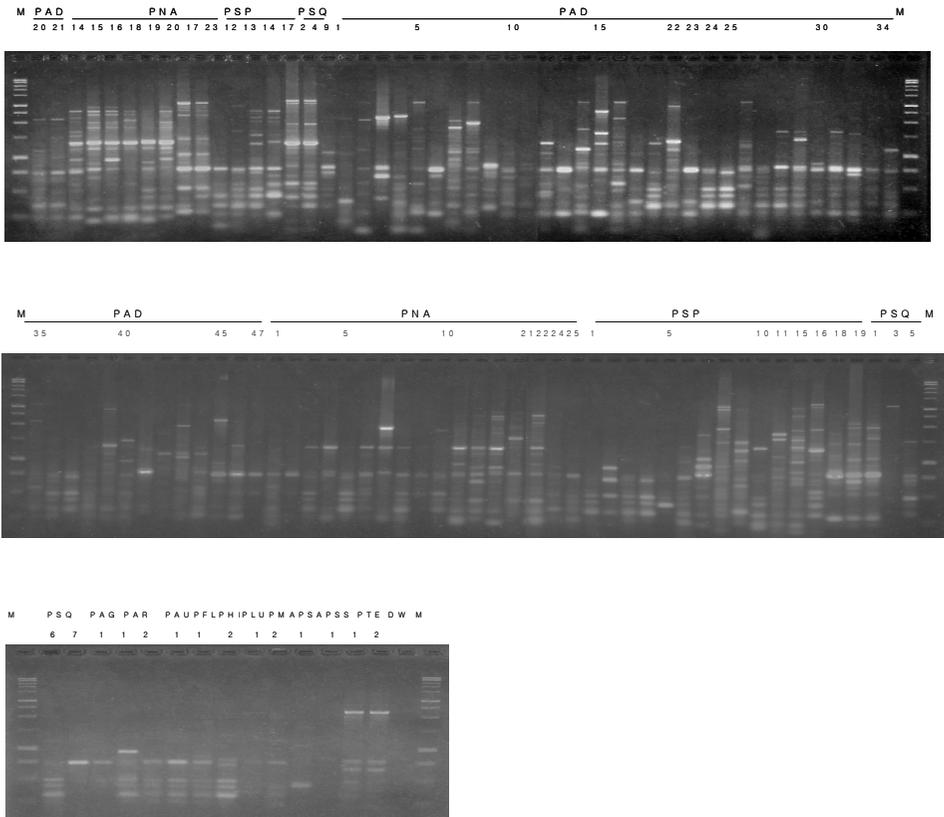


Fig. 4-3. Random amplified polymorphic DNA profile of *Pholiota* spp. produced by primer URP-2R.

제Ⅲ그룹에는 맛버섯을 중심으로(*P. nameko*) 22균주가 분류되었는데 PAD-012 균주는 이들 그룹에 속하고 있어 맛버섯균주의 분류 오류로 판단되고 미동정 균주인 PSP-006과 검은비늘버섯으로 분류 동정되었던 PAD-019 균주는 유전적으로 약간 거리는 있으나 맛버섯의 클러스터와 하나의 균을 이루고 있어 분류의 오류로 판단된다.

제Ⅳ그룹도 맛버섯을 중심으로(*P. nameko*) 6균주가 속하고 있었는데 이는 제Ⅲ그룹과는 유전적으로 거리가 있는 것으로 판단되고 미동정 균주인 PSP-014와 015 균주도 이 클러스터에 포함되어 있었다.

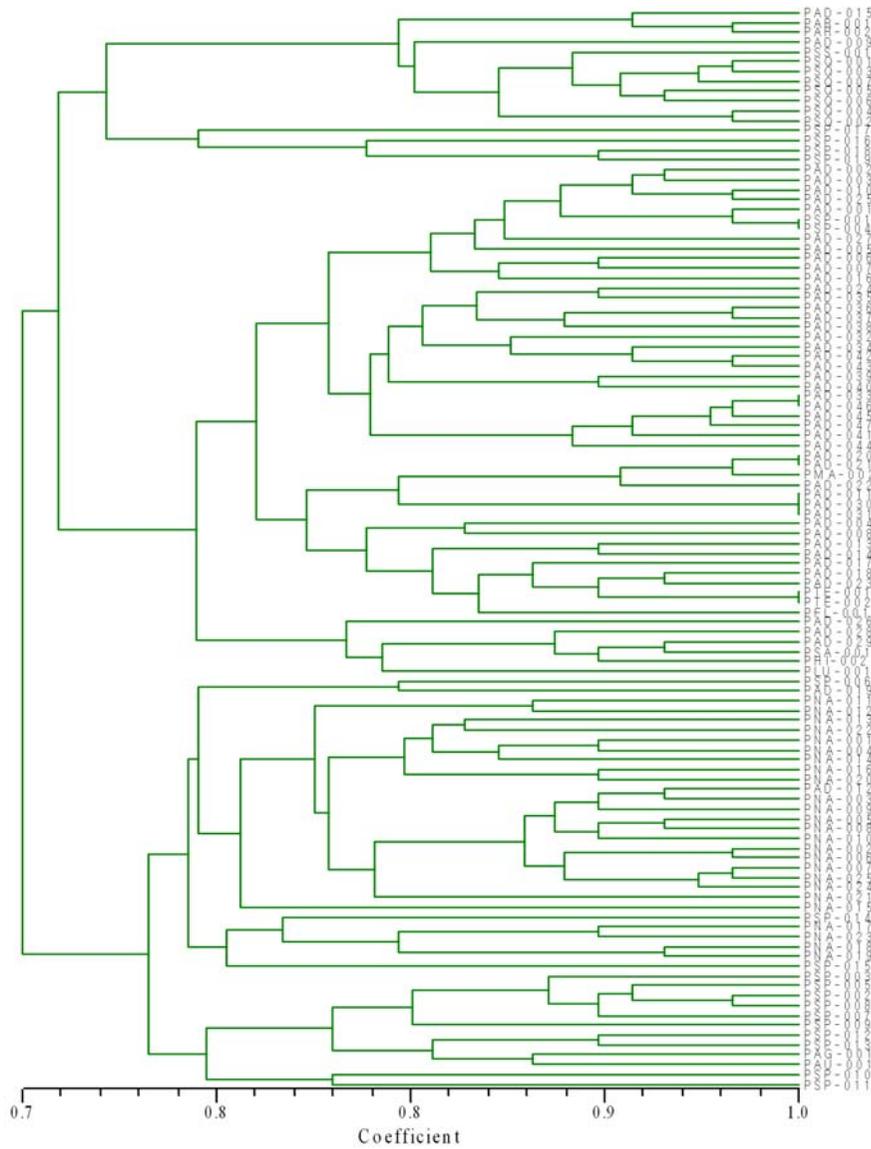


Fig. 4-4. Dendrogram derived from random amplified polymorphic DNA analysis of *Pholiota* spp. with primer URP-2R by unweighted paired group method with arithmetic averages(UPGMA) methods.

제V 그룹에는 미동정 균주인(PSP-)와 PAG, PAU 균주 등 10균주가 포함되어 있는데 PAG-001과 PAU-001이 근연관계를 보이고 있고 이들과 약간 유전적으로 차이가 나는 미동정 균주인 PSP- 8균주가 하나의 클러스터를 형성하였다.

마지막으로 제VI 그룹에는 PSP-010과 PSP-011균주가 포함되는 그룹으로 이균주들은 제V 그룹과 약간 떨어진 유연관계를 보이고 있어 형태 분류학적인 재검토가 필요하다.

본 연구에서 공시한 116균주의 유전적 다양성이 본 연구를 통해서 확연히 밝혀졌으며 특히 검은비늘버섯은 3개의 그룹으로 나뉘어져 유전적으로 매우 다양한 유전형질을 보유하고 있는 것으로 밝혀졌다. 또 형태학적인 분류로 인한 분류동정의 오류 가능성도 제기되었는데 *P. aurivella* 2균주(PAR-001, 002와 *P. squrosoides* 1균주(PSS-001)는 *P. squarrosa*의 오류 가능성이 제기되었다. 또 *P. malicola*(PMA-002), *P. flammans*(PFL-001), 그리고 *P. terrestris*(PTE-001과 002균주)는 *P. adiposa*와 하나의 클러스터를 이루고 있어 재분류가 필요한 균주이다. 또 *P. nameko*(맛버섯)이 중심이 되는 클러스터에 *P. adiposa*로 분류 동정된 PAD-012 균주가 포함되어 있어 이 균주 역시 분류 오류로 판단된다. 또 PSP-006과 PAD-019 균주도 유전적으로 약간 거리가 있기는 하지만 *P. nameko*(맛버섯)이 중심이 되는 클러스터에 포함되어 있어 이들 역시 분류의 오류가 있었을 가능성이 높다. 한편, 제V 그룹과 VI 그룹에는 종명이 알려져 있는 균주는 PAG-001과 PAU-001 균주 뿐으로 이 그룹은 전체적으로 재검토가 필요하다. 기타 미동정 균주(*Pholiota* spp.)들에 대한 동정은 현재 동정을 위한 다양한 실험이 진행 중에 있으므로 추후 동정 완료하여 발표할 예정이다.

3) 적요

본 연구를 위하여 공시균주는 검은비늘버섯(*P. adiposa*)과 형태적으로 유사

한 땅비늘버섯(*P. terrestris*) 등 비늘버섯속(*Pholiota* spp.) 균주를 농촌진흥청 농업과학기술원(MKACC)과 인천대학교 버섯균주은행(IUM) 등에서 *Pholiota*속균 균주를 총 67균주, 일본의 福岡임업시험장에서 1균주를 분양 받았고 국내에서 48균주를 수집하여 본 연구에 총 116균주를 공시하였다. 수집된 비늘버섯류의 유전적 유연관계는 OPA-primer과 URP 프라이머를 이용하여 분석하였으며, 5개의 random primer를 사용하여 RAPD를 실시한 결과 증폭된 산물의 크기는 300bp에서 2kbp사이에서 증폭되었으며, 10~22개의 밴드가 증폭되었다. Random primer 중에서, 중간에 가장 많은 다양성을 보인 primer는 OPA-06번이었고 공시균주는 6개의 그룹으로 분류 가능하였다.

한편 URP 프라이머를 이용한 RAPD-PCR 분석에서 공시한 비늘버섯류는 크게 6그룹으로 나뉘어졌는데 제 I 그룹에는 비늘버섯(*P. squarrosa*)을 중심으로 16균주, 제 II 그룹에는 검은비늘버섯을 중심으로(*P. adiposa*) 중심으로 52균주, 제 III 그룹에는 맛버섯을 중심으로(*P. nameko*) 22균주, 제 IV 그룹도 맛버섯을 중심으로(*P. nameko*) 6균주, 제 V에는 미동정 균주인(PSP-)와 PAG, PAU 균주 등 10균주, 제 VI 그룹에는 PSP-010과 PSP-011균주가 포함되는 그룹으로 나뉘어졌다.

본 연구에서 공시한 116균주의 유전적 다양성이 본 연구를 통해서 확연히 밝혀졌으며 특히 검은비늘버섯은 3개의 그룹으로 나뉘어져 유전적으로 매우 다양한 유전형질을 보유하고 있는 것으로 밝혀졌다. 또 형태학적인 분류로 인한 분류동정의 오류 가능성이 T는 균주도 발견되어 이들 균주는 재분류가 필요할 것으로 판단된다.

나. 수집비늘버섯 인공재배 자실체의 형태학적 특징

1) 재료 및 방법

가) 공시균주 자실체의 형태학적 특징 관찰

공시균주 자실체의 형태학적 특징을 관찰하여 분류 동정하기 위하여 그림 4-5와 같은 과정으로 톱밥배지를 실시하였으며 발생한 자실체의 갓의 모양 및 색택, 인피의 모양, 턱반이의 모양 등을 관찰하여 형태분류에 참고하였다.

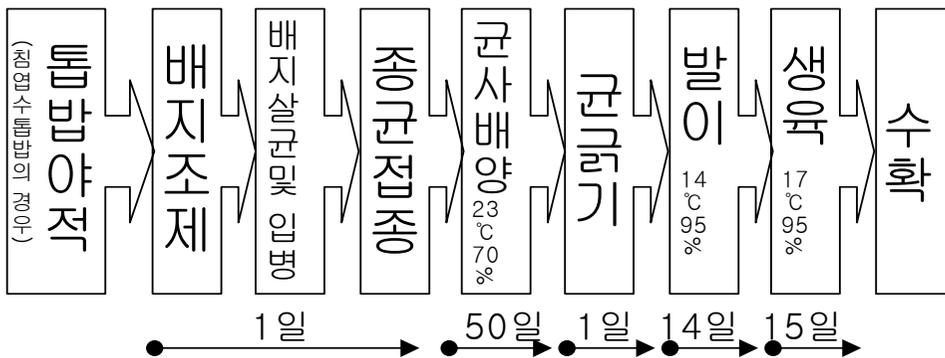


Fig. 4-5. Progress for artificial cultivation of *Pholiota* spp.

나) 공시균주 균사체와 자실체의 미세구조 관찰

공시균주의 미세구조를 관찰하기 위하여 한천배지에 배양한 균사체와 그림 4-5와 같은 방법으로 톱밥배지에서 생산한 자실체의 조직을 1% congo red 용액으로 염색한 후 3% KOH 용액으로 세척하여 광학 현미경으로 관찰하였다. 자실체의 미세구조는 인공재배한 자실체를 18°C에서 열풍 건조한 후 보존한 시편을 균사체와 동일한 방법으로 염색, 세척 후 관찰하였다.

2) 결과 및 고찰

가) 공시균주 자실체의 형태학적 특징

툽밥배지에서 형성된 공시균주 자실체의 형태는 균주에 따라 매우 다양하게 형성되었다(그림 4-6). 검은비늘버섯 자실체의 형태학적 특징은 갓은 반구형이나 후에는 반반구형~편평형으로 되며, 표면은 중앙부가 황갈색이고, 주변부는 옅은 황갈색을 띠며, 낙성의 인피가 부착 되어 있고, 습할 때는 점성이 있다. 주름살은 완전불은 주름살이고, 다소 뺨뺨하며, 옅은 황백색이나 포자가 성숙하면 점차 갈색으로 변한다. 또 대는 上下의 굵기가 같으며, 속이 차 있거나 비어 있는 것도 있고, 표면은 황갈색의 인피가 턱받이 부분까지 덮혀 있으며, 담황색의 막질 턱받이는 조기탈락성이다.

그러나 본 연구를 위하여 수집된 *P. adiposa* 균주의 자실체는 매우 다양한 형태로 형성되어 유전적으로 매우 다양하거나 종의 분류 동정이 잘 못된 경우로 추정된다. PAD-001 균주의 경우 인피를 형성하지만 그 수가 매우 적고 갓과 대의 색택도 연노란색으로 전형적인 검은비늘버섯(*P. adiposa*)와는 약간 다른 형태로 형성되었다. 한편, PAD-003균주의 자실체는 갓과 대의 표면에 흰색의 인피를 형성하고 갓은 암황색을 띄나 점성이 약한 특징을 가지고 있으나 검은비늘버섯(*P. adiposa*)의 특징을 잘나타내고 있다. PAD-009와 PSQ-009 균주의 자실체는 특징이 비슷하였으나 PAD-009균주의 자실체가 검은색의 인피를 형성하고 자실체의 색택은 연노란색으로 형성되었다. PAD-011 균주의 자실체는 갓과 대의 색택이 동일하고 인피가 드겁게 형성되는 것이 주요한 특징이었으며 PAD-015 균주의 자실체는 생육조건에 따라 많은 차이를 보였다. PAD-019 균주의 자실체는 맛버섯(*P. nameko*) 자실체와 거의 비슷하게 형성되어 분류상의 오류가 있었던 것으로 판단된다. 또 PAD-021 균주는 인피가 거의 형성되지 않고 갓의 중앙부가 갈라지는 특징을 보였는데 이는 PMA-001 균주의 특징과도 일치하였다. PAD-029 균주와 PHI-001 균주는 자실체의 형태가 아주 유사하여 동일종의 버섯으로 판단되며 PAD-030과 PAD-031 균주의 자실체는 갓은 진한 갈색이고 대의 조직은 연노란색으로 형성되었으나 대의 표면은 수 많은 인피가 형성되었다.



<PAD-001>



<PAD-003>



<PAD-009>



<PAD-011>



<PAD-015>



<PAD-015>



<PAD-019>



<PAD-021>



<PAD-001>



<PAD-029>



<PAD-030>



<PAD-031>



<PAD-033>



<PAD-046>



<PAR-001>

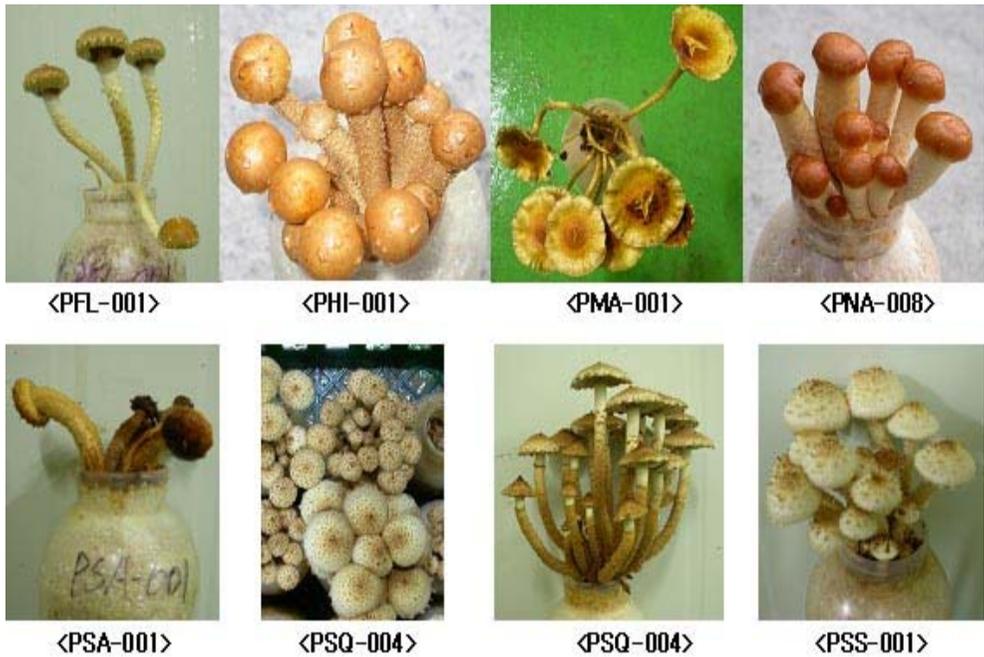


Fig. 4-6. Fruit bodies of *Pholiota* spp. generated by sawdust bottle cultivation

PAD-033과 PAD-046 균주의 자실체는 갓이 발달이 매우 늦고 갓과 대가 모두 잘 발달한 인피를 가지고 있었으며 PAR-001 균주의 자실체는 밝은 노란색의 갓을 형성하는 것이 특징이다.

Pholiota 속균의 자실체의 형태는 같은 검은비늘버섯(*P. adiposa*)로 수집된 균주가 매우 다른 형태학적 특징을 보이고 있어 매우 다양한 유전형질을 가지고 있는 것으로 판단된다. 또 한편으로 몇몇 균주는 분류상의 오류가 있는 것으로 판단된다.

나) 공시균주 균사체와 자실체의 미세구조

비늘버섯류의 균사체 및 자실체의 미세구조를 관찰하여 정확한 분류 동정

의 기준을 제공하기 위하여 *Pholiota adiposa*, *P. aggericola*, *P. highlandensis*, *P. malicola*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. brunnescense*, *P. squarrosoides*, 그리고 *P. tuberculosa*의 균사체 구조와 자실층의 담자기, 담자포자, 시스티디아 등을 관찰하였다(그림 4-7~4-16).

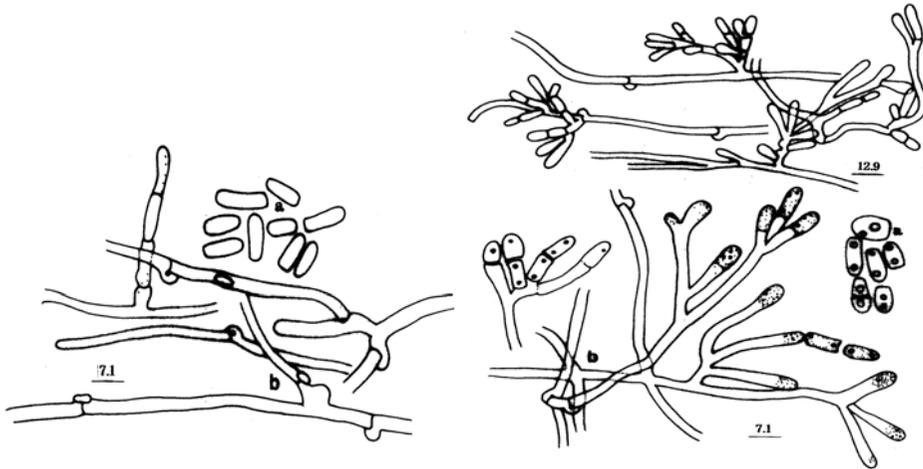


Fig 4-7. Microscopic structures of *Pholiota adiposa* mycelia cultured on the agar media. Left: Isolate PAD-020 and PAD-021, Right: Isolate PAD-012 and PAD-019. a, arthroconidia; b, hypha.

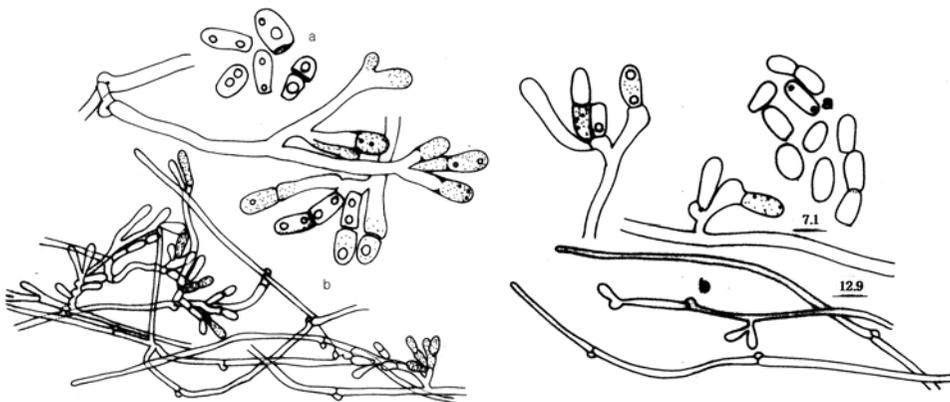


Fig 4-8. Microscopic structures of *Pholiota adiposa* mycelia cultured on the agar media. Left: Isolate PAD-012 and PAD-019. Right: Isolate PAD-015 and PAD-023, a, arthroconidia; b, hypha.

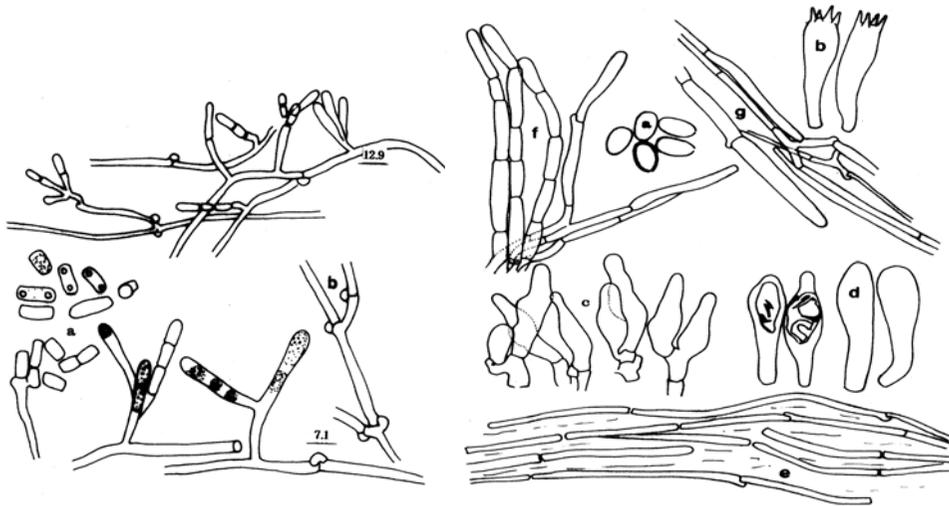


Fig 4-9. Left: Microscopic structures of *Pholiota adiposa* mycelia cultured on the agar media. Isolate PAD-018, PAD-024 and PAD-022, a, arthroconidia; b, hypha. Right: Microscopic structures of *Pholiota adiposa* fruit body. Isolate PAD-018, a, spores; b, basidia; c, cheilocystidia; d, pleurocystidia; e, pileipellis; g, mycelia of inner veil.

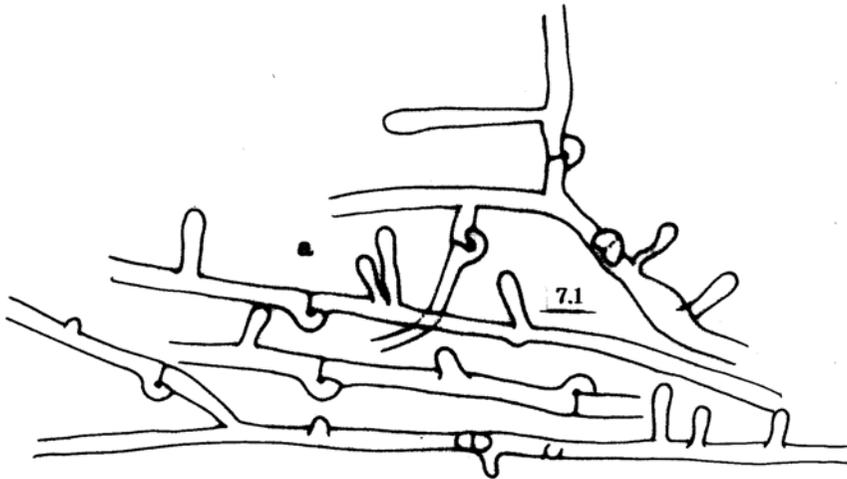


Fig 4-10. Microscopic structures of *Pholiota aggericolor* hypha of isolate PAG-001 cultured on the agar media.

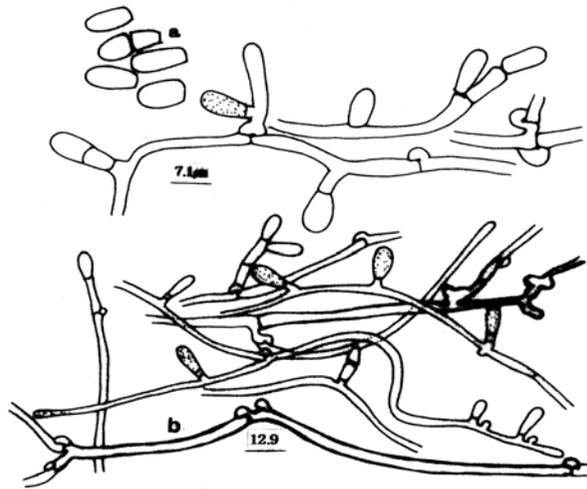


Fig 4-11. Microscopic structures of *Pholiota malicola* of isolate PMA-001 cultured on the agar media. a, arthroconidia; b, hypha; c, chlamydospores.

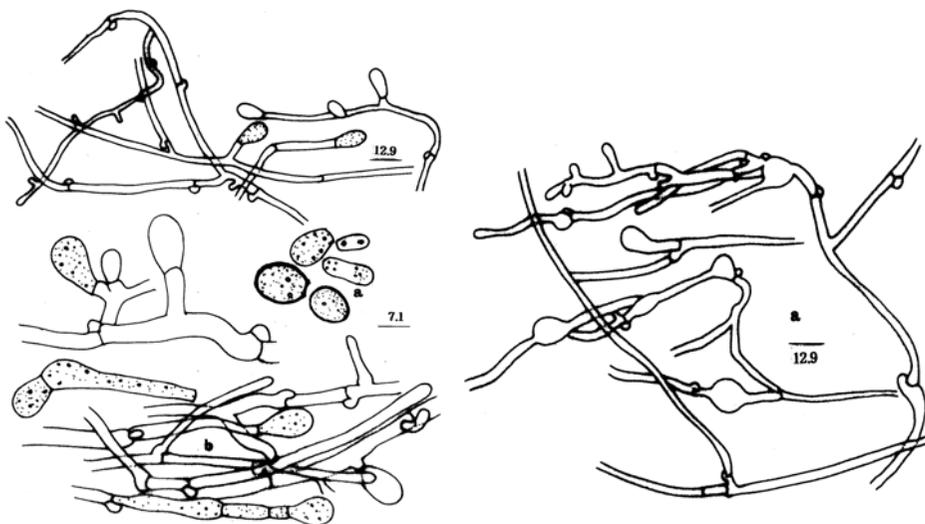


Fig 4-12. Microscopic structures of *Pholiota highlandensis* of isolate PHI-001 and PHI-002 cultured on the agar media. Left, chlamydospores(a) and hypha(b); Right, hypha.

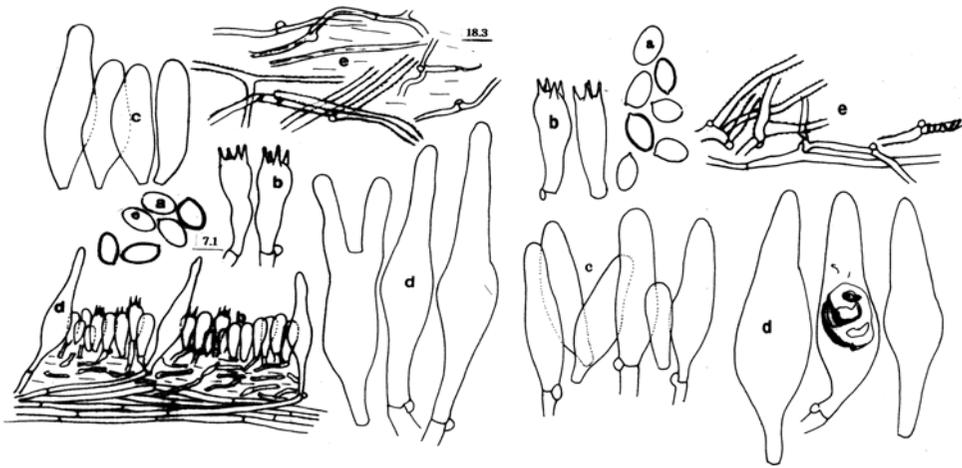


Fig 4-13. Microscopic structures of *Pholiota highlandensis* fruit bodies of isolate PHI-001(left) and PHI-002(Right). a, spores; b, basidia; c, chelocystidia; d, pleurocystidia; e, pileipellis.

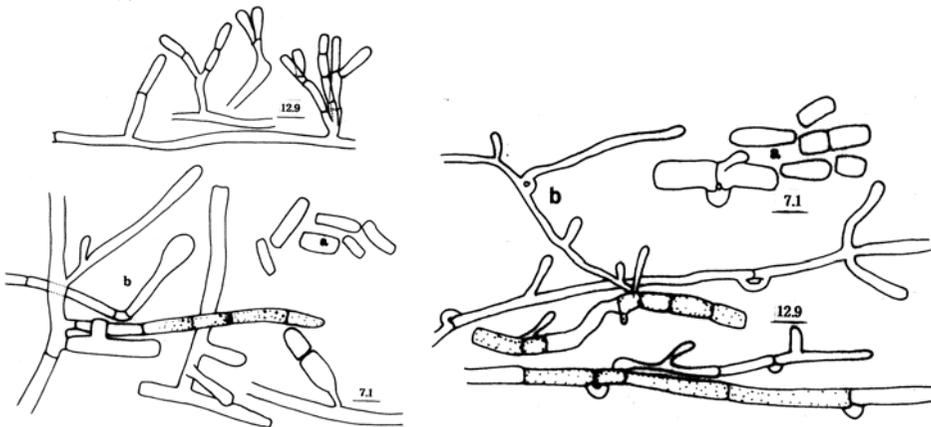


Fig 4-14. Microscopic structures of *Pholiota nameko* of isolate PNA-003(L), PNA-004(L), PNA-006(L), PNA-005(R) and PNA-007(R) cultured on the agar media. a, arthroconidia; b, hypha.

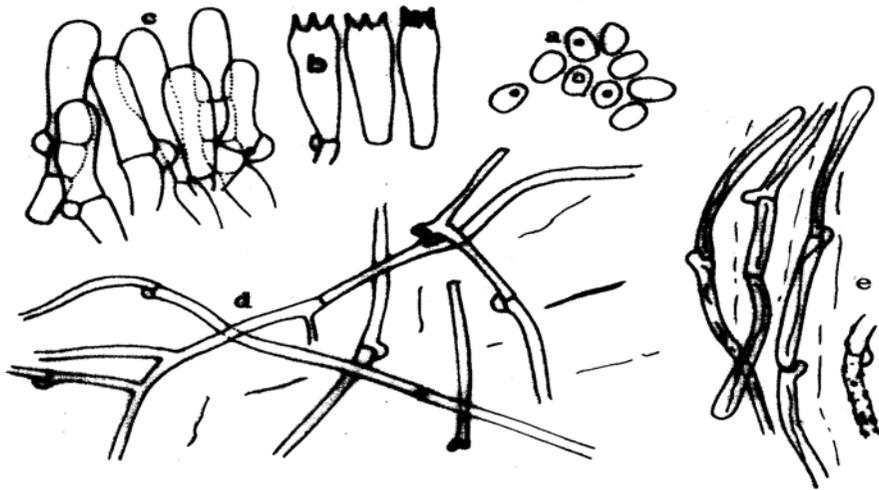


Fig 4-15. Microscopic structures of *Pholiota nameko* fruit bodies of isolate PNA-007. a, spores; b, basidia; c, chelocystidia; d, pleurocystidia; e, pileipellis.

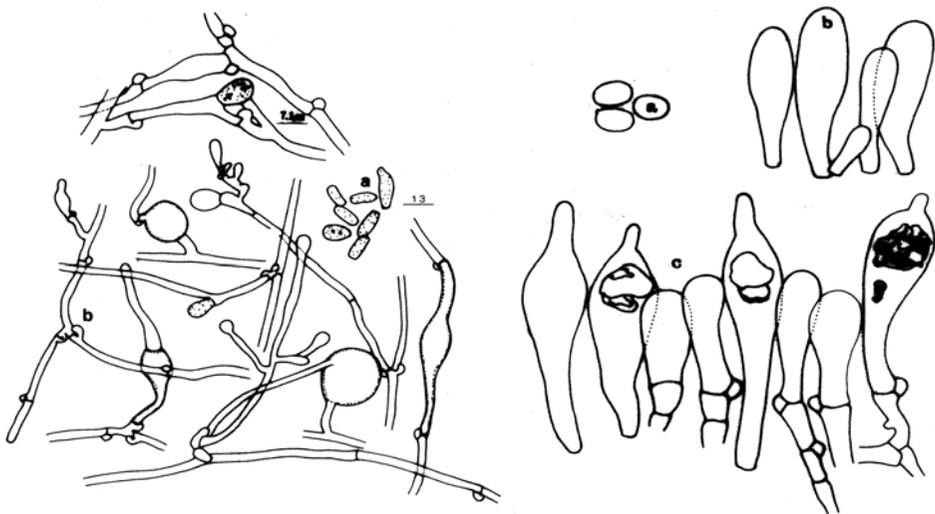


Fig 4-16. Microscopic structures of *Pholiota squarrosoides* of isolate PSS-001 cultured on the agar media(L). a, conidia; b, hypha; c, chlamydospores. Microscopic structures of *Pholiota squarrosa* of isolate PSS-001. a, spores; b, chelocystidia; c, pleurocystidia.

(1) *Pholiota adiposa* (Fr.) Kummer (검은비늘버섯)의 균사 및 자실층의 형태 - 그림 4-7, 4-8, 4-9

PAD-012, PAD-019 균주의 균사 직경은 $2 \times 2.5 \mu\text{m}$ 이며, 대부분의 격막에 격쇄연결이 존재한다. 분절포자(arthrospores)의 직경은 $7 \times 10 \sim 3.5 \times 6 \mu\text{m}$ 이고 분절포자 내에 1~2개의 기름방울(oil drop)이 보였다. Melzer 용액에서 반응하지 않고, KOH에서는 흰색(hyline) 반응을 나타냈다. PAD-015, PAD-023 균주는 일반적으로 PAD-012, PAD-019등과 동일하였으며, 균사의 직경은 $1.5 \sim 2 \mu\text{m}$ 이고, 격막에 격쇄연결이 존재한다. 분절포자는 $5.5 \times 10 \sim 4 \times 5 \mu\text{m}$ 이고 분절포자 내에 1~2개의 기름방울이 보였는데, 분절포자는 늦게 형성되었다. Melzer 용액에서 반응하지 않고 KOH에서는 흰색(hyline) 반응을 나타내었다. PAD-020, PAD-021 균주 역시 육안적 관찰은 동일한데, 집중 부위에 갈변한 모습이 보였다. 균사의 직경은 $3.2 \mu\text{m}$ 이며, 격막에 격쇄연결이 존재한다. 분절포자가 관찰되었고, 그 직경은 $7 \times 13 \sim 3 \times 4 \mu\text{m}$ 이었다. Melzer 용액에서 반응하지 않고, KOH에서는 흰색(hyline) 반응을 나타내었다. PAD-018, PAD-022, PAD-024 균주의 육안적 관찰은 대부분 동일하나 중앙부에 연갈색의 환이 보였다. Hyphae의 직경은 $1 \sim 2 \mu\text{m}$ 이고, 분절포자가 있는데 직경이 $4 \times 9 \sim 3 \times 7.5 \mu\text{m}$ 이고, Melzer 용액에서 반응하지 않고 KOH에서는 흰색(hyline)반응을 나타내었다.

자실체에서 형성된 포자의 크기는 $5 \sim 6 \times 3 \sim 4 \mu\text{m}$, 매끈하며 작은 정단 세공(細孔)을 가지며 정면에서 보면 난형에서 타원형, 모양은 유타원형에서 콩모양이며 KOH에서의 색택은 희미한 황갈색에서 점토색, Melzer 용액에서는 연한 황토색이며, 세포벽은 $0.25 \mu\text{m}$ 이하이다. 담자기는 $16 \sim 20 \times 3.5 \sim 5 \mu\text{m}$, 4-포자이고, 좁은 곤봉형이며, KOH에서는 투명하고 Melzer 용액에서는 약한 노란색이다. 측낭상체는 두 형태가 있는데 1) $25 \sim 40 \times 5 \sim 10 \mu\text{m}$ 의 유방추형으로, 세포벽은 얇고 밋밋하며 투명하고 내용물은 응고되어 있고 주름은 세포벽으로부터 멀리 떨어져 있고, KOH와 Melzer 용액에서 암갈색을 띠는

형태와, 2) 18~28(33)×6~9 μ m이며, 방추형에서는 때로는 방추 편복형, 세포 벽은 얇고 밋밋하며, 투명하고 조금 포섭되어 있고, KOH와 Melzer 용액에서는 투명하며 보통 윤곽이 명확한 노란낭상체이다. 대낭상체는 대의 정단에 대자실층에서는 관찰되지 않고 강실 낭상체의 흔적이 있다.

(2) *Pholiota aggericola* (Fr.) Kummer 균사의 형태 - 그림 4-10

PAG-001 균주의 생리적 특성은 균사생장이 매우 빨랐고, 1주일 내에 샬레 전체로 성장하였고 윤문은 평활하며, 솜털-양털모양의 공중균사가 잘 발달한다. 처음 균사의 색은 흰색이며, 시간이 경과해도 색의 변화는 없었다. 샬레의 이면은 군데군데 갈색 색소가 나타났다. 균사의 직경은 2~5 μ m이고 격막에 격쇄연결이 존재한다. Melzer 용액에서 반응하지 않고 KOH에서는 흰색(hyline)반응을 나타내었다. 분절포자는 관찰되지 않았다.

(3) *Pholiota malicola* (Kauff) A. H. Smith Ann 균사의 형태 - 그림 4-11

PMA-002균주의 생리적 특성에서 균사생장은 매우 빨랐고, 샬레 전체로 성장하였고 윤문은 평활하며, 솜털-양털모양의 공중균사가 잘 발달한다. 균사의 직경은 2~4 μ m이고, 격막에 격쇄연결이 존재하며, Melzer 용액과 KOH 용액에서 흰색(hyline)반응이 나타났다. 분절포자가 관찰되었고, 직경은 10×12~6×7 μ m이며, PAG-001균주와 매우 유사하였다. PMA-001 균주는 균사 성장 및 균사의 형태적 특성도 *P. adiposa* PAD-018, PAD-022, PAD-024 균주와 유사하였다.

(4) *Pholiota highlandensis* (Pk.) Smith and Hesler (재비늘버섯)의 균사 및 자실층의 형태 - 그림 4-12, 4-13

PHI-001, PHI-002의 균사 생장속도는 일반적으로 중간정도이며, 솜털같은 공중균사가 형성되고 처음에는 균사의 색깔은 흰색이나 오래된 균사는 연한 노랑색을 띠고 3주 이상 경과하면 갈색을 띤다. 균사의 굵이는 1~3 μ m이며 정상적인 branch를 가지고 있다. 균사들이 약간 부풀어 오름 세포가 보이며, 분절포자는 관찰되지 않았다.

자실체에서 형성된 포자는 퇴적물에서 황토색-갈색이며, 크기는 6~8 \times 4~4.5 μ m, 밧밧하고 정단관공이 뚜렷하며, 대부분 타원형이나, 정면에서는 약간 난형이고, 모양은 유타원형에서 부등형이 관찰된다. 세포벽은 약 0.3 μ m이고, KOH에서는 어두운 녹색, Melzer 용액에서는 희미하나 거의 황토색이다. 담자기는 25~32 \times 7~8 μ m의 유원추형에서 곤봉형이며, 4-포자이다. KOH에서는 투명~노란색, Melzer 용액에서는 노란색을 띤다. 측낭상체는 38~65(70) \times 7~15 μ m, 방추 편복형, 정단은 무디며, 밧밧하고 세포벽은 얇다. KOH에서 종종 황토색의 내용물이 있다. 측낭상체와 같은 날낭상체가 있지만 30~50 \times 7~12 μ m로 작고, 다양하여 유방추형에서 거의 곤봉형이며 내용물은 노란색에서 투명하다. 대낭상체는 45~88 \times 7~12(16) μ m, 원통형, 곤봉형 혹은 원추-편복형이다.

(5) *Pholiota nameko* (T. Ito). S. Ito. et. Imai (나도팽나무버섯)의 균사 및 자실체의 형태 - 그림 4-14, 4-15

나도팽나무버섯의 생리적 특성은 일반적으로 균사생장율이 보통이며, 운문은 평활하다. 공중균사는 거의 없는 편이지만 표면에 약간의 흔적이 있고, 흰색을 띠며 오래된 균사에서는 약간의 노란색이 보였다.

PNA-004, PNA-006 균주의 균사의 직경이 3~4 μ m이고 격막에 격쇄가 관찰되지 않고, 분절포자가 관찰되었다. 분절포자의 직경은 9 \times 15~2 \times 5 μ m였다. Melzer 용액에서는 반응이 없었고, KOH 용액에서 흰색(hyline)반응이 나타났다. PNA-005와 PNA-007균주의 hyphae 직경은 2~3 μ m이고 앞의

PNA-004와 PNA-006균주와는 다르게 격막에 격쇄연결이 관찰되었다. 하지만 분절포자는 균사가 어린 세포나 혹은 노화된 세포에서 관찰되지 않았고, Melzer 용액에서는 반응이 없었고, KOH 용액에서는 흰색(hyline)반응이 나타났다. PNA-003균주는 hyphae 직경이 1.5~2.5 μm 이고, septa에 clamp가 관찰되었으며 분절포자도 관찰되었다. 분절포자의 직경은 5.5 \times 12~2.5 \times 4.5 μm 였다. Melzer 용액에서는 반응이 없었고, KOH 용액에서는 흰색(hyline)반응이 나타났다.

자실체에서 형성된 포자는 담자기의 4개 담자뿔에서 형성되어지며, 포자는 타원형에서 유난형이며 정단 부분은 절두형이 아니고, 크기는 5~6 \times 2.5~3 μm 이다. 현미경하에서 색깔이 황갈색 혹은 황토 황갈색이며 균집시 무딘 갈색이다. 날낭상체는 곤봉형-원추형이고, 크기는 25~33 \times 5~7 μm , 액포형이다. 측낭상체 혹은 노란낭상체는 없다. 포자의 세포벽은 두층으로 구성되어 있으며 밋밋한 표면을 가지고 있고, 외벽은 두꺼운 점액질로 덮혀 있다.

(6) *Pholiota squarrosides* (Pers. ex Fr.)Kummer(띠비늘버섯) - 그림 4-16

자실체에서 형성된 포자의 크기는 4~5.5(6) \times (2.5)3~3.5 μm , 매끈하며 정단 부분의 세공(細孔)은 뚜렷하지 않고, 표면에서 보이는 모양은 난형에서 넓은 원추형이며, 윤곽은 유원추형에서 흐린 부등형이다. KOH와 Melzer용액 반응에서 희미한 황갈색을 띠고 세포벽의 두께는 0.25 μm 이하이다. 담자기의 크기는 17~22(27) \times 4~6 μm , 4-포자이며 좁은 곤봉형, KOH에서는 투명하고 Melzer용액에서는 거의 색깔이 없다. 측낭상체가 풍부하고, (25)30~50(65) \times 6(8)~15(18) μm 의 곤봉형이나 곤봉-짧은 돌기 반추-편봉형 같은 정단부위가 신장되어 있고, 밑의 모양에서 위로 갈수록 윤곽이 과상형이다. 세포벽은 얇고 매끈하며, KOH에서는 투명하고, 크기는 불투명한 동형이지만 거의 투명하다. 드물게 이중 격벽이 있고 때로는 약한 황갈색이 보이기도 한다. 날낭상체의 크기는 26~40(50) \times 5~10(13) μm 로 곤봉형-방추 편복

형이며 굴절 부정형은 보이지 않는다. 측낭상체는 낱낭상체와 비슷한 모양과 크기를 하고 있다. 흐트러진 cluster에서는 대낭상체이며 사상형에서 좁은 곤봉형으로 $26\sim55\times5\sim8\mu\text{m}$, 세포벽은 얇고 매끈하며 KOH에서는 투명하고 동질이다.

3) 적요

Pholiota 속균의 자실체의 형태는 같은 검은비늘버섯(*P. adiposa*)로 수집된 균주가 매우 다른 형태학적 특징을 보이고 있어 매우 다양한 유전형질을 가지고 있는 것으로 판단되며 몇몇 균주는 분류상의 오류가 있는 것으로 판단되었다. 정확한 분류 동정의 기준을 제공하기 위하여 *Pholiota adiposa*, *P. aggericola*, *P. highlandensis*, *P. malicola*, *P. nameko*, *P. squarrosa*, *P. brunnescense*, *P. squarrosoides*, 그리고 *P. tuberculosa*의 균사체 구조와 자실층의 담자기, 담자포자, 시스티디아 등을 관찰하여 그 특징을 기술하였다.

2. 수집 비늘버섯 균주의 배양적 특징

가. 배지의 종류가 공시균주의 균사생장에 미치는 영향

1) 재료 및 방법

검은비늘버섯 균의 균사 생장에 가장 적합한 배지를 조사하기 위하여 PDB, MCM 그리고 톱밥추출액배지(SEM)에 공시 균주(PAD-022와 PAD-031)를 접종하여 $25\pm1^\circ\text{C}$ 에서 20일간 암배양하면서 균사생장을 조사하였다. 한편 비늘버섯 균의 균사체 대량생산을 위한 액체 종균용 염가배지를 개발하기 위하여 하여 표 9와 같이 담자균류의 배양에 흔히 사용하는 배지인 PD, MG,

CM, MYP, SY, YPMG배지와 곡물배지인 SB(Soybean), RB(Rice bran), WB(Wheat bran), LY(Lycine) 등을 사용하여 배지를 조제하고 공시 균주 (PAD-015, PAD-022, PAD-039)를 배양하여 균사생장을 조사하였다.

2) 결과 및 고찰

(가) 배지의 종류가 비늘버섯균의 균사생장에 미치는 영향

검은비늘버섯균의 균사생장에 가장 좋은 배지를 선발하기 위하여 PDB, MCM 그리고 톱밥추출액배지(SEM)에 공시 균주를 접종하여 각각의 균사생장을 조사한 결과는 표 10과 같다.

공시균주인 검은비늘버섯 균주 PAD-031과 PAD-022을 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 20일간 배양한 결과 두 공시균주 모두 MCM배지에서 각각 0.68g, 0.35g의 균사 성장량을 보여 균사 생장이 가장 좋은 것으로 나타났고, PDB배지의 경우 MCM배지보다 낮은 0.23g과 0.14g의 균체량을 보였다. 톱밥추출액배지에서는 0.05g과 0.02g으로 가장 낮았다. 톱밥추출액 배지에서 균사의 생장이 저조했던 이유로는 톱밥의 열수추출물로는 균사생장을 위한 충분한 영양원을 공급하지 못하는 것으로 사료되었다.

Table 9. Composition of culture media for *Pholiota* spp.

Composition (Won/g)	PD (Potato dextrose)	MG (Malt-Glucose)	CM (Complete)	MYP (Malt-Yeast-Peptone)	SY (Sucrose-Yeast)	YPMG (Yeast-Peptone-Malt-Glucose)	SB (Soybean)	RB (Rice bran)	WB (Wheat bran)	LY (Lycine)
Glucose (20)		20g	20g			10g				
K ₂ HPO ₄ (20)			1g							
KH ₂ PO ₄ (14)			0.46g		1g		1g	1g	1g	1g
Malt extract (114)		5g		30g						
Meat extract (180)						3g				
MgSO ₄ · 7H ₂ O (170)			0.5g		1g		0.5g	0.5g	0.5g	0.5g
PD broth (210)	24g									
Peptone (158)			2g	1g		5g				
Sucrose (16)					30g					
Yeast extract (198)			2g	2g	3g	3g				
Soybean (12)							3g			
Rice bran (0.13)								3g		
Wheat bran (0.25)									3g	
Lycine										3g
Sucrose (1)							3g	3g	3g	3g
Cost(Won/1 ℓ)	5,040	970	1,223	3,974	1,258	2,324	138	102.4	102.8	108
Agar	2%									

Table 10. Effect of culture media on the mycelial growth of *Pholiota adiposa*

Isolate	PDB	MCM	SEM
PAD-031	0.23±0.06 ¹⁾	0.68±0.12	0.05±0.03
PAD-022	0.14±0.03	0.35±0.01	0.02±0.01

¹⁾ All cultures were grown with replicated three times at 25±1°C for 20days. Each value shows the mean with standard deviation.

본 연구의 결과는 유 등(2004)이 보고한 결과와 큰 차이를 보이는데 유 등의 결과에 의하면 PDA(potato dextrose agar)와 MCM에서의 비늘버섯의 균사생장은 균주에 따라 약간의 차이는 있지만 거의 동등한 균사 성장량을 보이고, 또 본 연구에서 공시한 PAD-031균주와 PAD-022균주의 경우 MCM보다는 PDA에서의 균사생장이 양호하였다. 그러나 본 연구에서는 PDB배지 보다 MCM배지에서의 균사생장량이 약 3배에서 4배까지 증가하는 것으로 밝혀졌다. 이는 고체배양을 하여 단순히 균사생장 길이만을 측정하여 비교한 유 등의 결과에 비하여 본 연구에서는 액체배양을 실시하여 총 균사량을 측정하였기 때문에 차이가 있는 것으로 사료된다. 따라서 검은 비늘버섯 균주의 배양을 위한 최적배지로는 공시균주 모두 가장 균사생장이 양호한 MCM배지를 선발하였다.

균사체 대량 생산을 위한 액체 종균용 엽가배지를 개발하기 위하여 하여 표 4-2와 같이 담자균류의 배양에 흔히 사용하는 배지인 PD (Potato dextrose), MG (Malt- Glucose), CM (Complete), YPMG (Yeast-Peptone-Malt-Glucose), MYP (Malt-Yeast-Peptone), SY (Sucrose-Yeast) 배지와 곡물배지인 SB (Soybean), RB (Rice bran), WB (Wheat bran), LY (Lycine) 등을 사용하여 배지를 조제하고 25±1℃에서 공시 균주를 배양하여 균사생장을 조사한 결과 표 11, 그림 4-17과 같다.

Table 11. Mycelial growth of *P. adiposa* isolats on the various media

	PAD-015 ¹⁾	PAD-022	PAD-039
CM	46.3 ± 0.94	43.7 ± 1.89	54.7 ± 1.89
LY	62.0 ± 1.41	70.3 ± 0.47	77.0 ± 1.41
MG	49.7 ± 0.47	45.0 ± 0.82	67.3 ± 1.25
MYP	54.3 ± 0.47	63.0 ± 0.82	64.0 ± 1.41
PD	44.0 ± 0.82	45.3 ± 0.47	51.7 ± 0.47
RB	66.0 ± 1.41	73.7 ± 1.25	74.3 ± 1.89
SB	62.0 ± 0.00	65.7 ± 1.70	79.3 ± 1.25
SY	56.3 ± 0.94	62.3 ± 0.47	66.7 ± 0.94
WB	58.7 ± 1.25	67.3 ± 1.70	78.0 ± 2.16
YPMG	51.3 ± 0.47	62.3 ± 0.47	69.3 ± 1.70

¹⁾ All cultures were grown with replicated five times at 25±1°C for 10days. Each value shows the mean with standard deviation.

공시한 검은비늘버섯 균주는 모든 배지에서 PAD-039 균주가 가장 균사 생장이 양호하였고 LY배지와 RB, SB, WB 등의 곡물 추출 배지에서 균사 생장이 양호하였다. PAD-015균주와 PAD-022 균주도 곡물 추출 배지에서 균사 생장이 양호하여 균사체 배양용으로 화학합성배지보다는 곡물추출액 배지가 적합한 것으로 밝혀졌다. 그러나 균사체의 밀도는 MYP, YPMG 배지 등 yeast extract와 peptone 등 질소원이 함유된 배지에서 모든 균주의 균사의 밀도가 높아(그림 4-17) 균사체 대량생산을 위해서는 이들의 첨가도 요구되었다.

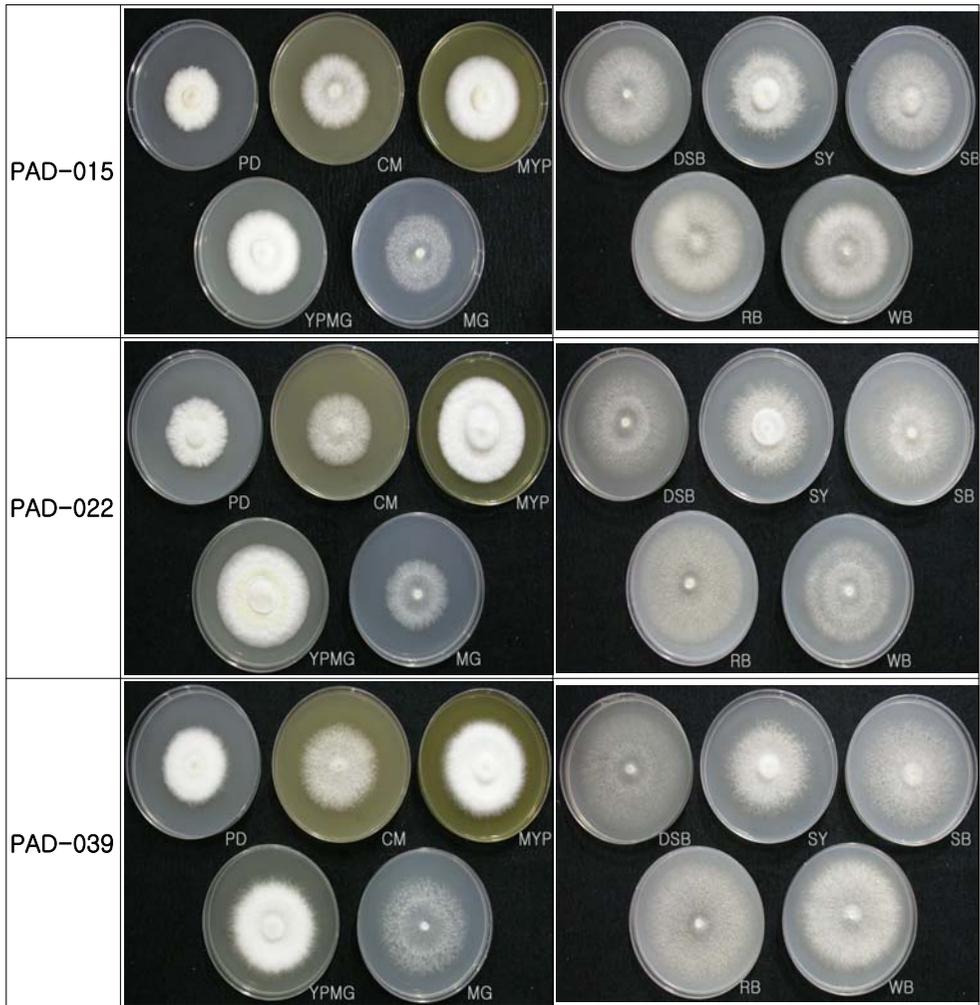


Fig. 4-17. Mycelial growth of *P. adiposa* isolats on the various agar media at 25°C for 10 days

한편, 이들 배지를 이용하여 균사체 대량생산을 위한 액체배지를 조성하여 공시균주의 균사 생장을 측정된 결과는 표 12, 그림 4-18과 같다. 액체배지에서 균사 생장은 한천배지에서의 균사생장과는 다른 결과를 보였는데 공시한 공시균주 모두에서 버섯완전배지인 CM에서 균체량이 가장 우수하

였다. 고체배지에서 균사생장 속도가 빨랐던 곡물추출배지에서는 의외로 균사 성장량이 저조하였고 균사의 밀도가 높았던 화학합성배지에서 균사생장량이 많았다.

Table 12. Mycelial growth of *P. adiposa* isolats on the various liquid media at 25°C for 30 days.

	PAD-015 ¹⁾	PAD-022	PAD-039
CM	455.33 ± 20.42	574.67 ± 9.98	671.33 ± 68.05
LY	187.67 ± 5.79	225.00 ± 3.74	204.00 ± 2.16
MG	280.33 ± 36.01	241.67 ± 8.26	267.00 ± 14.35
MYP	278.00 ± 92.09	280.00 ± 2.45	654.33 ± 31.26
PD	370.33 ± 53.42	316.67 ± 33.77	383.67 ± 20.42
RB	275.67 ± 26.04	330.33 ± 25.38	346.00 ± 6.98
SB	160.67 ± 14.84	171.33 ± 2.87	192.00 ± 6.98
SY	252.67 ± 67.89	223.00 ± 14.85	184.67 ± 0.94
WB	242.67 ± 10.50	234.67 ± 7.93	258.33 ± 22.48
YPMG	220.00 ± 13.59	220.33 ± 6.24	234.33 ± 13.02

¹⁾ All cultures were grown with replicated five times at 25±1°C for 10days. Each value shows the mean with standard deviation.

염가배지 선발을 위한 공시한 배지를 제조하는데 소요되는 비용은 배지 가격만 계산 하였으며 인공합성배지인 PD, MYP, YPMG, SY, CM, MG 배지가 1ℓ 제조하는데 970원에서 5,040까지 비용이 매우 높았으며 SB, RB, WB 등은 100원대로 매우 저렴하게 배지를 조제할 수 있었다(표 9).

공시한 배지에서 균사 생장은 표 4-4에서와 같이 고체배지일 경우에는 MYP와 YPMG, CM에서 균사생장이 양호하였으며 RB와 WB도 비교적 양호하였으나 PD, MG, SY와 LY는 상대적으로 저조하였다. 액체배지의 경우

에는 YPMG에서 가장 좋은 균사생장을 보였고 RB와 MYP도 비교적 양호한 균사 생장을 보였으나 MG는 매우 저조하였다. 이상의 결과로 검은비늘버섯의 배양용 배지로는 YPMG가 가장 양호한 것으로 밝혀졌으나 배지 제조에 소요되는 비용을 고려하면 미강추출배지인 RB가 가장 효율적인 것으로 밝혀졌다.

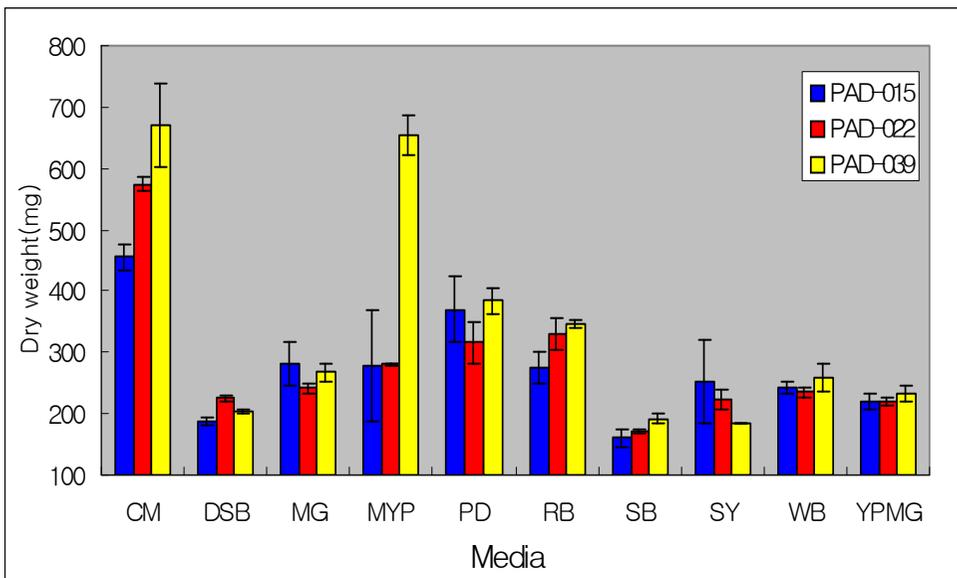


Fig. 4-18. Mycelial growth of *P. adiposa* isolats on the various liquid media at 25°C for 30 days.

3) 적요

검은비늘버섯 균주의 배양을 위한 최적배지로는 공시한 검은비늘버섯 균주는 모든 배지에서 PAD-039 균주가 가장 균사 생장이 양호하였고 LY배지와 RB, SB, WB 등의 곡물 추출 배지에서 균사 생장이 양호하였다. PAD-015균주와 PAD-022 균주도 곡물 추출 배지에서 균사 생장이 양호하

여 균사체 배양용으로 화학합성배지보다는 곡물추출액 배지가 적합한 것으로 밝혀졌다. 그러나 균사체의 밀도는 MYP, YPMG 배지 등 yeast extract 와 peptone 등 질소원이 함유된 배지에서 모든 균주의 균사의 밀도가 높아 균사체 대량생산을 위해서는 이들의 첨가도 요구되었다.

액체배지에서의 균사 생장은 한천배지에서의 균사생장과는 다른 결과를 보였는데 공시한 공시균주 모두에서 버섯완전배지인 CM에서 균체량이 가장 우수하였다. 검은비늘버섯의 배양용 배지로는 YPMG가 가장 양호한 것으로 밝혀졌으나 배지 제조에 소용되는 비용을 고려하면 미강추출배지인 미강추출배지(RB)가 가장 효율적인 것으로 밝혀졌다.

나. 배양온도가 균사생장에 미치는 영향

1) 재료 및 방법

검은비늘버섯균의 최적 배양 온도를 구명하기 위하여 균사생장에 가장 적합한 배지로 선정된 MCM 배지에 공시균주를 접종하여 15℃, 20℃, 25℃ 그리고 30℃에서 20일간 정치배양하였다.

2) 결과 및 고찰

검은비늘버섯균의 최적 배양 온도를 구명하기 위하여 균사생장에 가장 적합한 배지로 선정된 MCM 배지에 공시균주를 접종하여 15℃, 20℃, 25℃ 그리고 30℃에서 20일간 정치배양한 결과 표 13과 같다. 공시균주 모두 15℃에서 30℃까지 모두 균사 생장이 가능하였고 그 중 25℃에서 가장 높은 균사생장을 보였다. 그러나 25℃ 이외의 온도 범위에서는 균사생장이 급격히 떨어지는 경향을 보였으며 35℃에서는 아주 미약하게 균사생장을 하였다. 치마버섯(*Schizophyllum commune*)등 일부를 제외한 대부분의 목재부

후균은 25℃ 부근에서 가장 좋은 균사 성장을 보이는데 본 연구에 공시한 검은비늘버섯 균주도 다른 목재부후균과 비슷한 온도범위에서 성장하는 것이 확인되었다.

Table 13. Effect of temperature on the mycelial growth of *Pholiota adiposa*

Temperature (℃)	PAD-031	PAD-022
15	0.03±0.01	0.14±0.03
20	0.15±0.03	0.20±0.01
25	0.45±0.01	0.32±0.01
30	0.17±0.02	0.16±0.01

¹⁾ All cultures were grown in MCM with replicated three times under darkness condition for 20days. Each value shows the mean with standard deviation.

金子(2003)의 연구 결과에 의하면 검은비늘버섯 균주는 5℃에서 30℃에서 균사생장이 가능하나 5℃에서는 하루 1mm 정도의 균사생장이 가능하고 35℃에서는 일부 균주가 거의 성장하지 못하고 28일간 35℃에서 배양하면 대부분의 균주가 사멸하는 것으로 보고하였다. 또 40℃에서는 모든 균주가 전혀 균사생장을 하지 못하였고 배양 5일만에 거의 모든 균주가 사멸하는 것으로 보고한바 있다. 따라서 진균류의 저온 보존 온도인 4~5℃에서 비늘버섯균은 생장이 가능하기 때문에 저온 보존은 장기간 균주를 보관하기에는 적합하지 않고, 재배시 종균이 고온에 장시간 노출되면 피해를 입을 수 있는 것으로 사료된다.

3) 적요

공시균주 모두 15℃에서 30℃까지 모두 균사 생장이 가능하였고 그 중 25℃에서 가장 높은 균사생장을 보였다. 그러나 25℃ 이외의 온도 범위에서는 균사생장이 급격히 떨어지는 경향을 보였으며 35℃에서는 아주 미약하게 균사가 성장하였다.

다. 배지의 pH가 공시균주의 균사생장에 미치는 영향

1) 재료 및 방법

배지의 pH가 검은비늘버섯 균주의 균사생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 250ml 삼각플라스크에 PD배지를 50ml씩 분주하여 살균한 후 냉각하여 초기 pH를 측정하고 여기에 살균된 HCl과 NaOH를 첨가하여 배지의 pH를 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 그리고 8.0으로 조절한 후에 공시균주를 접종하여 25±1℃에서 20일간 배양한 후 여과하여 105℃ 건조법으로 건조한 균체를 측정하였다

2) 결과 및 고찰

검은비늘버섯 균주는 pH 4에서 8까지 모든 배지에서 균사 생장이 양호하였으나 배양을 위한 최적 배지 pH는 6.0으로 밝혀졌다(그림 4-19). 현재 버섯 재배에 통상적으로 사용하고 있는 톱밥배지의 pH는 통상적으로 pH5.0~6.0 범위에 있기 때문에 재배용 배지를 조제하기 위해서 별도로 pH를 조절할 필요는 없는 것으로 판단되고 현재 재배되고 있는 식용버섯 균의 pH 범위와 크게 벗어나지 않는 범위에 있었다.

검은비늘버섯균을 각각의 pH로 조절된 배지에 20일간 배양한 후 배지의 최

중 pH는 3.5~5.5 정도로 산성화되었는데 초기 pH가 알카리성일 수록 pH의 저하가 두드러졌다. 초기 pH가 산성인 경우에는 배양후에는 알카리성으로 바뀌고 알카리성일 경우에는 산성으로 변하는 경우가 만가닥의 경우에서 보고되어 있으나 검은 비늘버섯의 경우에는 pH 4 배지에서만 일부 균주를 배양한 후의 pH가 4.5정도까지 알카리화되었으나 pH 5.0 이상의 배지는 모두 산성화되었다(그림 4-20). 이러한 현상은 균체외로 분비되는 유기산 등의 대사물질에 의한 것으로 알려져 있다.

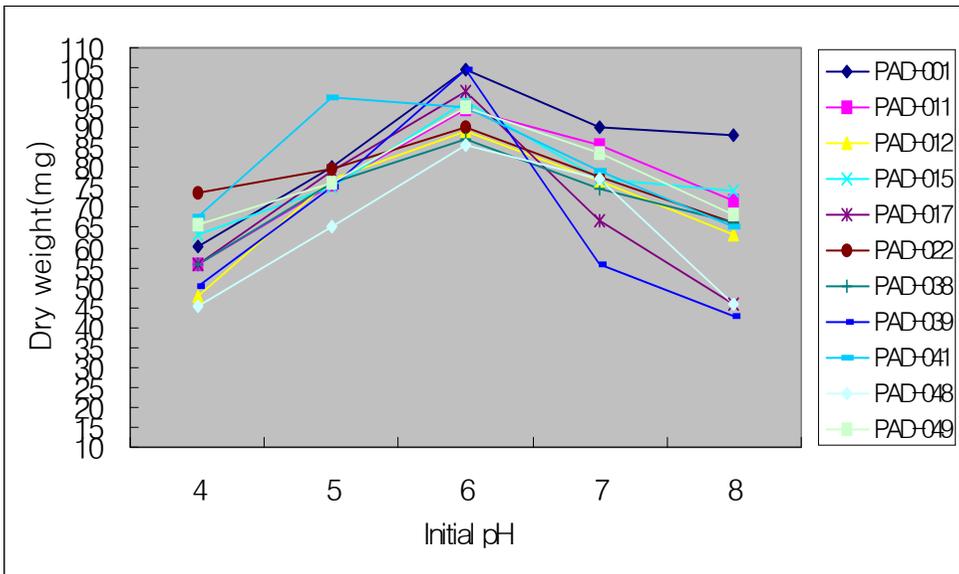


Fig. 4-19. Effect of initial pH on mycelial growth of *P. adiposa* isolates

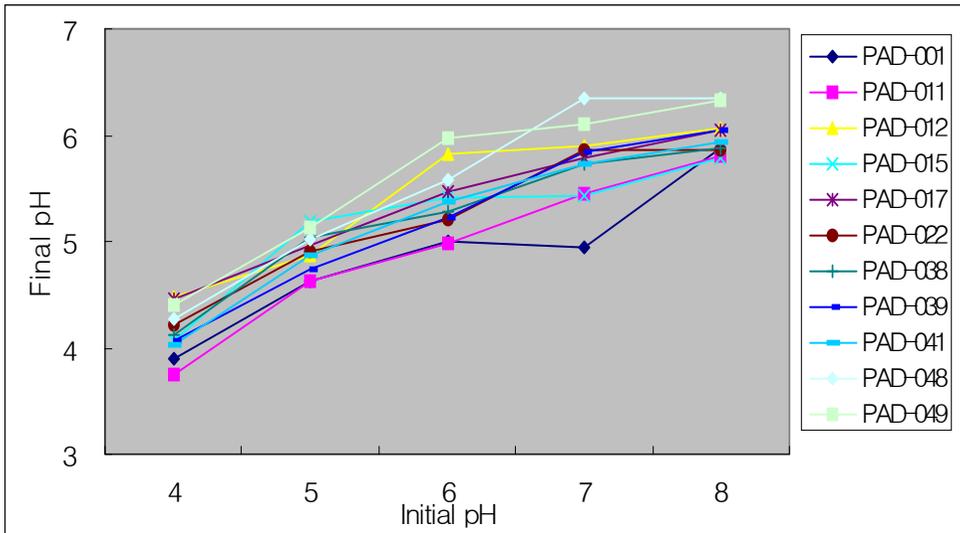


Fig. 4-20. Changes of media pH during the incubation of *P. adiposa* isolates

3) 적요

검은비늘버섯 균주는 pH 4에서 8까지 모든 배지에서 균사 생장이 양호하였으나 배양을 위한 최적 배지 pH는 6.0으로 밝혀졌다. 검은비늘버섯균을 각각의 pH로 조절된 배지에 20일간 배양한 후 배지의 최종 pH는 3.5~5.5 정도로 산성화되었는데 이러한 현상은 균체외로 분비되는 유기산 등의 대사물질에 의한 것으로 판단된다.

라. 배양방법이 균사생장에 미치는 영향

1) 재료 및 방법

검은비늘버섯에서 유용물질의 대량생산과 대량배양체계를 확립하기 위하여 공시균주를 액체배지에 접종하여 산소를 공급해주고 성장 중인 균사에 충

격을 주기 위하여 진탕배양을 실시하였다. 250ml 삼각플라스크에 50ml의 PDB와 MCM 배지를 넣고 공시균주를 접종한 후에 정치배양은 25±1℃의 암상태로, 그리고 진탕배양은 reciprocal shaker에 120rpm/분 속도로 진탕을 해 주면서 20일간 배양하였다.

2) 결과 및 고찰

(3) 진탕배양이 검은비늘버섯균의 균사생장에 미치는 영향

검은비늘버섯에서 유용물질의 대량생산과 대량배양체계를 확립하기 위하여 공시균주를 액체배지에 접종하여 산소를 공급해주고 성장 중인 균사에 충격을 주기 위하여 진탕배양을 실시하였으며 정치배양과 비교한 결과는 표 14와 같다.

Table 14. Effect of shaking culture on the mycelial growth of *Pholiota adiposa*

Strains	PDB ¹⁾		MCM	
	Stationary ²⁾	Shaking	Stationary	Shaking
PAD-031	0.23±0.06 ³⁾	0.66±0.19	0.68±0.12	0.93±0.07
PAD-022	0.14±0.03	0.38±0.03	0.35±0.01	0.73±0.02

¹⁾ PDB, potato dextrose broth; MCM, mushroom complete medium.

²⁾ All cultures were grown under darkness condition. Shaking cultures were carried out 120rpm per min, reciprocally.

³⁾ All cultures were grown with replicated three times at 25±1℃ for 20days. Each value shows the mean with standard deviation.

표 14에서 보는바와 같이 검은비늘버섯 균주는 배지의 종류와 관계없이 진탕배양한 경우가 정지배양한 경우보다 월등히 좋은 균사 성장을 보였으며 표 4-3과 4-4에서와 마찬가지로 MCM배지에서 좋은 균사생장을 보였다. 이 결과는 진탕배양의 경우 배양중에 균사가 잘라지기 쉽고 상대적으로 산소의 공급이 원활하였기 때문에 균사생장이 증가하는 것으로 사료된다. 그러나 검은비늘버섯 균주를 120rpm/min의 속도로 진탕배양하였을 경우 그림 4-21과 같이 직경 5mm 이하의 작은 펠렛(pellet)이 형성되는데 이 결과가 유용물질의 생산성과 어떠한 관계가 있는지는 추후 검토되어야 할 것이다. 또 최근에는 팽이, 큰느타리버섯 등의 병재배시에 액체종균을 많이 사용하는데 펠렛이 형성되어 접종하기 전에 마쇄하는 등의 작업공정이 추가로 필요하여 오염의 가능성이 높아지고 작업이 불편하기 때문에 이를 단축시키기 위하여 배지의 조성 과 산소의 공급량, 진탕 속도 등에 관한 연구도 추후 검토 되어야 할 것으로 사료되었다.



Fig. 4-21. Mycelial pellet formation of *Pholiota adiposa* by reciprocal shaking culture.

Left : PDB, Right : MCM.

3) 적요

검은비늘버섯 균주는 배지의 종류와 관계없이 진탕배양한 경우가 정치배양한 경우보다 월등히 좋은 균사 생장을 보였으며 MCM배지에서 좋은 균사 생장을 보였다.

3. 비늘버섯 균주의 인공재배법 개발

가. 인공재배용 우량 균주선발

1) 재료 및 방법

인공재배용 우량 균주 선발을 위하여 수집된 모든 균주를 대상으로 톱밥병 재배를 실시하였으며 톱밥병재배는 버섯재배용 850ml P.P.병에 참나무톱밥 80%와 미강 20%를 혼합하여 수분을 65%로 조절하고 고압멸균 후 공시균주를 접종하여 균사생장과 초발이일 수 자실체의 형태 및 발생을 조사하였다.

2) 결과 및 고찰

검은비늘버섯 인공재배용 우량균주를 선발하기 위하여 참나무톱밥배지에 미강을 20% 첨가한 톱밥배지에 공시균주를 접종하여 20일간 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 배양하면서 균사생장을 조사한 결과는 표 15과 같다.

Table 15. Mycelial growth of *Pholiota* spp. on the sawdust medium

Isolate No.	Mycelial Growth						
PAD-001	150.0± 7.0	PAD-031	152.5±33.3	PNA-003	165.5±22.2	PSP-005	119.3± 5.0
PAD-002	160.7±13.6	PAD-032	165.0±10.4	PNA-004	172.4± 3.9	PSP-006	—
PAD-003	129.9±12.1	PAD-033	139.5±21.6	PNA-005	154.4±12.1	PSP-007	—
PAD-004	165.0± 9.3	PAD-034	168.7±15.5	PNA-006	149.9±27.4	PSP-008	141.2±30.1
PAD-005	177.0± 7.6	PAD-035	131.8±23.2	PNA-007	132.8± 4.5	PSP-009	—
PAD-006	155.6±20.4	PAD-036	164.0± 9.5	PNA-008	148.3±10.7	PSP-010	133.9±26.0
PAD-007	176.3± 5.0	PAD-037	142.6±24.0	PNA-009	160.2±11.4	PSP-011	155.6±20.4
PAD-008	171.6±10.7			PNA-010	129.5± 2.5	PSP-012	135.4±21.7
PAD-009	143.4±29.2	PAG-001	117.3± 6.2	PNA-011	132.5± 9.5	PSP-013	126.3±12.1
PAD-010	167.0±14.1			PNA-012	114.5± 2.5	PSP-014	110.2±19.4
PAD-011	141.4±25.0	PAR-001	159.5± 7.5	PNA-013	128.2±13.5	PSP-015	125.3± 6.2
PAD-012	117.0±6.75	PAR-002	143.4± 6.1	PNA-014	160.7± 8.4	PSP-016	146.2±24.2
PAD-013	149.9±23.4			PNA-015	158.3±11.4	PSP-017	130.7±17.3
PAD-014	172.6± 9.8	PAU-001	—	PNA-016	130.3±10.3	PSP-018	—
PAD-015	165.8±11.4			PNA-017	133.6±12.0	PSP-019	125.1± 7.5
PAD-016	141.3±31.8	PCA-001	123.3±20.6	PNA-018	165.6±22.6		
PAD-017	169.5± 7.5			PNA-019	123.7± 2.4	PSQ-001	159.7±13.0
PAD-018	146.2±19.5	PFL-001	158.1±23.1	PNA-020	132.1±18.7	PSQ-002	163.3± 7.4
PAD-019	157.8± 7.7			PNA-021	135.5±11.3	PSQ-003	168.7± 9.4
PAD-020	168.7± 8.0	PHI-001	149.7±29.4	PNA-022	136.3±20.1	PSQ-004	164.5±14.1
PAD-021	165.3± 8.5	PHI-002	160.3±15.7	PNA-023	139.8±17.9	PSQ-005	161.5± 9.6
PAD-022	165.0±10.9			PNA-024	133.7± 9.4	PSQ-006	169.5± 4.3
PAD-023	149.5±17.4	PLU-001	132.1± 8.0	PNA-025	168.7±10.3	PSQ-007	145.7± 9.1
PAD-024	169.5±12.5	PLU-002	151.5±21.7			PSQ-008	154.4±17.1
PAD-025	148.0±28.0			PSA-001	154.7±23.8	PSQ-009	160.3±11.8
PAD-026	149.2±26.0	PMA-001	169.5± 2.5				
PAD-027	133.6±30.9	PMA-002	166.1± 9.2	PSP-001	100.3± 3.6	PSS-001	159.1±23.4
PAD-028	155.2±29.7			PSP-002	129.4± 1.7		
PAD-029	147.5±19.6	PNA-001	171.0± 7.9	PSP-003	119.5± 8.4	PTE-001	119.1± 5.4
PAD-030	151.7±23.3	PNA-002	150.7± 7.1	PSP-004	114.1±28.1	PTE-002	177.0± 5.0

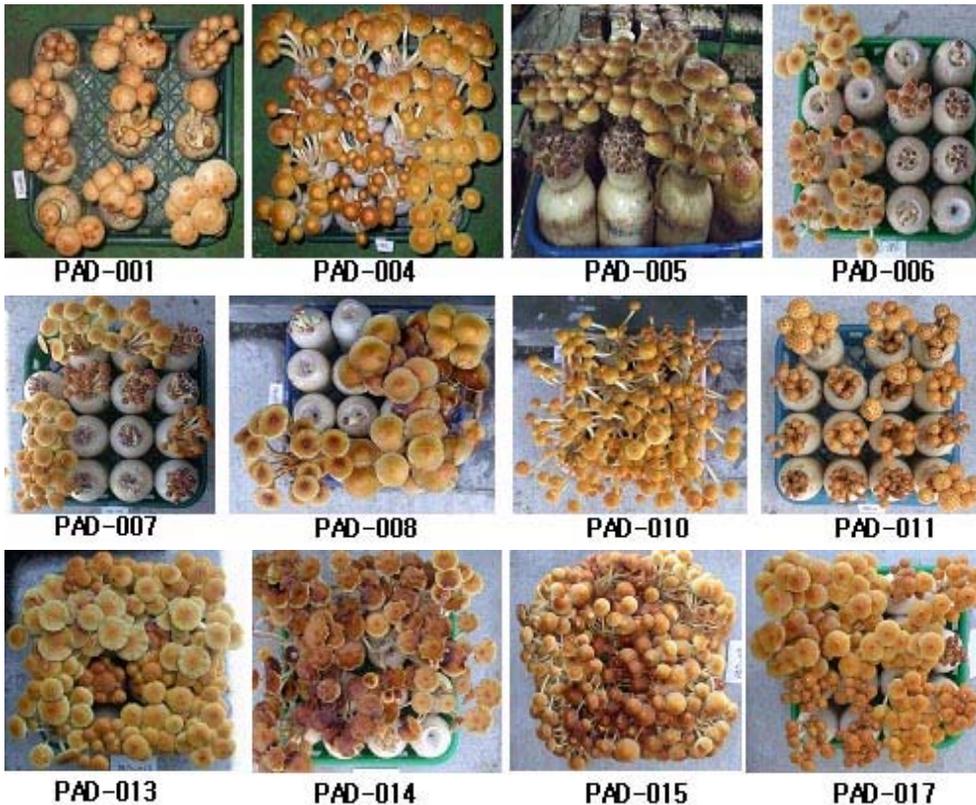
Table 16. Formation of fruit body primordium *Pholiota* spp. and required period for fruiting on sawdust media

Required period for fruiting	Isolate				
10 days	PAD-001, PAD-021, PAR-001,	PAD-004, PAD-029, PMA-001,	PAD-008, PAD-030, PSP-010	PAD-017, PAD-031,	PAD-020, PAD-034,
13 days	PAD-007, PAD-018, PAD-027, PAD-037, PNA-009,	PAD-010, PAD-022, PAD-028, PAD-039, PSP-015	PAD-011, PAD-023, PAD-032, PAD-048,	PAD-014, PAD-025, PAD-033, PAD-049,	PAD-015, PAD-026, PAD-035, PLU-002,
18 days	PAD-005, PAD-016, PNA-008, PSP-009, PSS-001,	PAD-006, PAD-024, PNA-014, PSQ-001, PTE-002	PAD-007, PFL-001, PNA-015, PAQ-005,	PAD-009, PHI-001, PNA-019, PSQ-006,	PAD-015, PHI-002, PNA-024, PSQ-007,
20 days	PAD-002, PAG-001, PMA-002, PNA-006, PNA-013, PNA-021, PSP-001, PSP-006, PSP-013, PSP-019, PSQ-009,	PAD-003, PAR-002, PNA-001, PNA-007, PNA-016, PNA-022, PSP-002, PSP-007, PSP-014, PSQ-002, PTE-001	PAD-012, PAU-001, PNA-002, PNA-010, PNA-017, PNA-023, PSP-003, PSP-008, PSP-016, PSQ-003,	PAD-019, PCA-001, PNA-003, PNA-011, PNA-018, PNA-025, PSP-004, PSP-011, PSP-017, PSQ-004,	PAD-036, PLU-001, PNA-005, PNA-012, PNA-020, PSA-001, PSP-005, PSP-012, PSP-018, PSQ-008,

자실체 원기 발생 후 17±1℃의 생육실에서 약 2주일간 생육시키면서 자실체 형태와 자실체의 수량을 조사한 결과 검은비늘버섯 균주 중에서 수량성이 우수하고 형태가 비교적 균일한 PAD-015, PAD-022, PAD-039, PAD-048, PAD-049균주를 재배 가능성이 있는 균주로 선발하였다(표 16, 17, 그림 4-22).

Table 17. Yields of fruit body *Pholiota adiposa* on *Quercus* sawdust media

Yields (g/850ml bottle)	Isolate
Upper 120g	PAD-013, PAD-015, PAD-039, PAD-049, PAD-022, PAD-048
100~119g	PAD-004, PAD-005, PAD-017, PAD-030, PAD-038
80~99g	PAD-001, PAD-011, PAD-014, PAD-029, PAD-031, PAD-034
60~79g	PAD-010, PAD-018, PAD-025, PAD-027, PAD-035
Below 59g	PAD-006, PAD-007, PAD-008, PAD-028



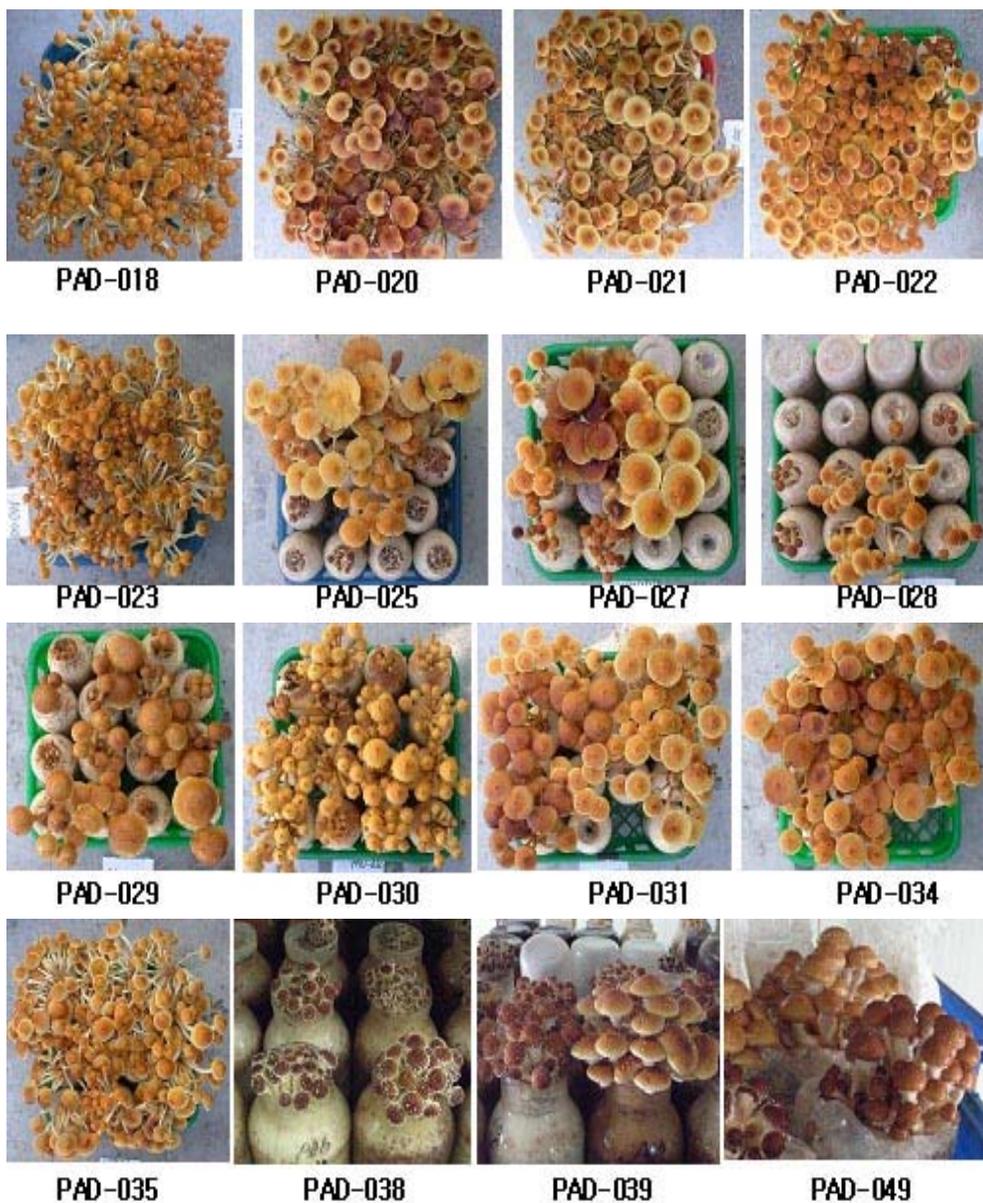


Fig. 4-22. Production of fruit bodies of *Pholiota adiposa* by sawdust bottle cultivation.

톱밥병재배에 의해서 생산된 검은비늘버섯 자실체는 균주에 따라 수량성, 형태 등에 많은 변이를 나타내었다. 병당 120g 이상 생산되어 인공재배 가능성이 있는 균주는 PAD-013, PAD-015, PAD-039, PAD-049, PAD-022, PAD-048 등 6균주가 선발되었고 PAD-013 균주는 갓이 일찍 전개되는 특징이 있어 재배 환경조절에 어려움이 있을 것으로 사료된다. 한편 일본 후쿠오카에서 도입한 PAD-039균주와 표고재배사에서 발생한 자실체에서 조직분리한 PAD-038균주, 그리고 농가에서 재배하고 있는 품종인 PAD-049균주는 비교적 형태가 균일한 자실체를 형성하였고 자실체의 수량도 120g 이상으로 우수한 편이었다.

한편, PAD-006, PAD-007, PAD-008, PAD-025, PAD-027, PAD-028 균주는 발이가 불균일하여 재배용 품종으로 부적합하였고, PAD-004, PAD-006, PAD-007, PAD-013, PAD-015, PAD-017, PAD-020, PAD-021, PAD-025, PAD-027, PAD-031, PAD-034 균주는 발생량은 많았으나 대가 가늘고 갓이 일찍 전개되고 일부 균주는 갓이 수침상으로 변하여 저장성에 문제가 있을 것으로 판단되었다. 또 PAD-010, PAD-015, PAD-018, PAD-023, PAD-035 균주는 병당 10개 이상의 자실체를 발생하였으나 대가 길고 가늘었고 수량성이 저조하였다.

3) 적요

검은비늘버섯 인공재배용 우량균주를 선발하기 위하여 참나무톱밥배지에 배양하면서 균사생장을 조사한 결과 공시균주의 톱밥배지에서의 균사생장은 종에 따라 약간의 차이를 보였으나 큰 차이는 없었다. 검은비늘버섯은 37개 균주의 평균이 154.7mm 성장하였고 PAD-005, 007, 008, 014 균주 등은 170mm 이상 성장하여 균사생장이 빠른 균주로 선발할 수 있었고 PAD-003, 012, 033, 035, 027 균주 등은 균사생장이 비교적 저조하였다.

균균기 후 자실체 발생은 PAD-001균주 등 13균주는 초발이일수가 10일,

PAD-007균주 등 19균주는 초발이일수가 13일, 그리고 PAD-005균주 등 22균주는 초발이일수가 18일 소요되었다. 자실체 형태와 자실체의 수량을 조사한 결과 검은비늘버섯 균주 중에서 수량성이 우수하고 형태가 비교적 균일한 PAD-015, PAD-022, PAD-039, PAD-048, PAD-049균주를 재배 가능성이 있는 균주로 선발되었다.

나. 인공재배용 최적배지 선발

1) 재료 및 방법

인공재배용 최적배지를 선발하기 위하여 공시버섯균주의 톱밥배지에서의 균사생장을 구명하였다. 농가에서 보편적으로 사용하고 있는 배지 재료인 참나무, 미루나무, 미송, 면실박, 폐송, 콘코브, 표고폐골목톱밥, 532배지(미송50%, 비트펄프30%, 면실박20%), 농가에서 현재 사용하고 있는 배지 및 볏짚배지 등을 각각 물에 침지하여 수분 65%로 조절한 후 미강을 톱밥대비 20%(V/V)로 첨가하여 고르게 혼합한 후 직경 3cm, 길이 20cm의 시험관에 약100g씩 충전한 후 고압증기멸균(121℃, 30분간)하여 사용하였다. 볏짚배지의 경우 미강을 첨가하지 않고 볏짚만 사용하였다. 고압멸균한 배지가 완전히 식은 후에 공시균주를 접종하여 25±1℃에서 30일간 균사배양을 실시하여 균사생장을 조사하였다.

한편 농가에서 쉽게 재배할 수 있는 배지를 선발하기 위하여 일반적으로 버섯재배에 이용하고 있는 참나무톱밥, 미송톱밥, 소나무톱밥 등을 이용하여 검은비늘버섯 균주의 생산성을 검토하였으며 배지의 수분함량을 60, 65, 70%로 조절한 배지에서의 균사생장과 버섯의 수량성을 검토하였다. 영양원의 첨가량에 따른 수량성을 검토하기 위하여 톱밥배지에 미강을 각각 10, 20, 30, 40% 첨가하여 균사배양을 실시한 후에 자실체의 발생과 수량성을 검토하였다.

2) 결과 및 고찰

검은 비늘버섯 균주는 표 18과 그림 4-23에서 보는 바와 같이 벗짚배지에서 균사생장이 가장 양호하였고 그 다음이 활엽수 톱밥배지, 콘코브, 폐면 등의 순으로 균사 생장이 양호하였다. 따라서 모든 배지에서 균사생장이 양호하였기 때문에 현재 농가에서 사용하고 있는 느타리, 팽이 등의 배지에서도 큰 문제없이 재배가 가능한 것으로 판단된다. 그러나 공시한 공시균주에 따라 균사생장 최적 배지가 다르게 선발 되어 영양요구성이 균주에 따라 다른 것으로 추정되었다.

Table 18. Effect of various sawdust on the mycelial growth of *P. adiposa*.

	PAD-015	PAD-022	PAD-039	PAD-048	PAD-049
Chamnamu+Rice bran ¹⁾	107.0±0.0	71.7±29.3	43.0±2.0	106.0±8.7	89.7±13.3
Mirunamu+Rice bran	108.0±0.0	111.3±10.3	49.0±1.7	120.3±4.5	122.7±10.1
Misong+Rice bran	96.0±0.0	97.0±13.7	54.7±6.4	108.0±1.0	114.7±2.1
Cottonseed meal+Rice bran	73.0±10.1	-	-	57.0±16.5	-
Cotton waste+Rice bran	67.0±0.0	72.5±0.7	64.0±3.6	84.0±17.0	40.7±6.4
Corncoobs+Rice bran	87.5±6.4	114.0±1.4	114.3±2.5	102.7±2.5	103.3±2.9
Kangchamnamu+Rice bran	97.0±7.1	125.7±3.2	71.7±9.1	107.7±3.8	121.3±4.7
532 medium	83.5±2.1	95.7±2.5	63.3±31.9	76.0±1.7	93.0±2.6
Farm medium(Hwasung 1)	-	63.5±38.9	32.0±0.0	68.0±0.0	60.0±0.0
Farm medium(Hwasung 2)	30.5±0.7	62.0±7.0	64.7±14.2	29.0±3.6	59.0±3.6
Rice straw medium	121.0±4.4	125.3± 6.1	129.7±4.5	121.0±1.0	124.7±4.2

¹⁾ Major substrate(sawdust *et al.*) and nutritional agent(Rice and wheat bran) were mixed to 8:2 in volume.

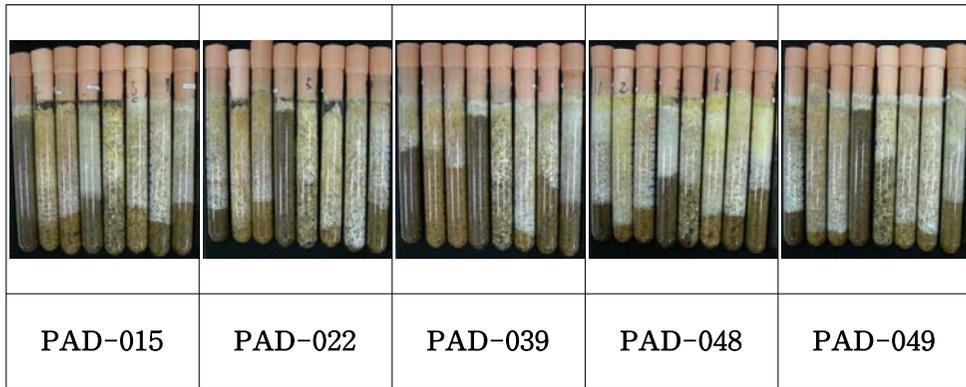


Fig. 4-23. Mycelial growth of *P. adiposa* on the various sawdust and agricultural wastes media.

벗짚배지를 제외하면 PAD-015 균주는 참나무와 미루나무배지에서 균사생장이 양호하였던 반면에 PAD-022 균주는 미루나무, 콘톱, 표고 폐골목배지에서, PAD-039 균주는 콘톱, PDA-048 균주는 미루나무, PAD-049 균주는 미루나무와 표고 폐골목에서 균사생장이 양호하였다. 이는 자연계에서 버섯 발생이 주로 참나무류 그루터기에서 발생하는 것으로 미루어 참나무 톱밥에서 균사생장이 좋을 것으로 판단하였으나 의외로 조직이 연한 미루나무에서의 균사생장이 양호하였다.

최적의 인공재배용 톱밥배지를 선발하기 위하여 버섯재배에 일반적으로 사용하고 있는 532배지와 참나무톱밥, 미송톱밥, 소나무톱밥을 단일 혹은 혼합한 톱밥과 콘톱에 미강을 8:2(v/v)의 비율로 혼합하여 수분을 65%로 조절한 후 121℃에서 고압멸균한 후 공시균주 PDA-015를 접종하여 25℃, 암조건에서 배양하여 균사생장을 조사하였고 균사생장이 완료된 후에 17℃의 생육실로 옮겨 인공재배를 실시하여 각각의 배지에서의 수확량을 조사하였다(표 19).

Table 19. Mycelial growth and fruit body yields of isolate PAD-015 on the various sawdust media at 25°C for 20 days.

Medium ¹⁾	Mycelial growth ²⁾	Mycelial density ³⁾	Yield(g/850ml bottle)
Oak sawdust	67.4 b ⁴	+++	91.4 a
Douglas-fir sawdust	61.2 c	++	58.6 c
Pine tree sawdust	49.6 d	+	51.1 d
Mixture of sawdust ⁵⁾	69.3 a	+++	84.5 b
Corncoobs	61.3 b	+++	65.3 c
532 medium	67.2 b	++	89.3 a

¹⁾ All media were consisted of sawdust (80%) and rice bran (20%).

²⁾ Isolate were grow in test tube (length × diameter: 200 × 28 mm) packed with different medium at 25°C.

³⁾ Mycelial density was rated as +: low, ++: medium, +++: high.

⁴⁾ The different letters are significantly different at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

⁵⁾ Equal volume of three different sawdusts, oak, douglas-fir, and pine sawdust were mixed.

톱밥배지에서의 균사생장은 참나무톱밥, 미송톱밥, 소나무톱밥을 동일비율로 혼합한 배지에서 가장 균사생장이 빨랐고 균사의 밀도도 좋았으나 소나무톱밥은 균사생장이 매우 저조하였다. 톱밥배지에서 자실체 수량도 역시 균사생장과 밀접한 관계가 있어 참나무톱밥과 3종의 톱밥을 혼합한 처리구에서 수확량이 좋았고 소나무 톱밥은 매우 저조하였다. 한편 팽이버섯 재배에 가장 많이 이용하고 있는 콘톱을 재료로한 배지에서는 균사생장은 비교적 양호하였으나 자실체 수량은 그다지 높지 않았고, 느타리버섯 재배에 가장 많이 이용하고 있는 532배지(미송50%, 비트펠프30%, 면실박20%)는 참나무 톱밥배지에서의 균사생장과 수량성이 비슷하여 경제성이 있을 것으로 판단되었다.

톱밥배지의 미강과 수분함량이 검은 비늘버섯의 균사생장과 자실체 수량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 참나무톱밥과 미강을 각각 9:1, 8:2, 7:3, 6:4(v/v)로 혼합하고 이 배지의 수분을 65%로 조절한 배지를 시험관에 동일량을 넣고 121℃에서 25분간 멸균하여 사용하였다. 공시균주를 접종하여 25℃의 암배양 조건에서 배양하면서 균사밀도와 균사생장량을 조사하였다. 한편 버섯의 수량성을 조사하기 위하여 850ml P.P.병에서 균사 생장이 완료된 배지를 15℃의 생육실로 옮겨 버섯을 발생시키고 수확량을 조사하였다(표 20).

Table 20. Effect of sawdust and rice bran ratio on the mycelial growth of *P. adiposa*

Mixing ratio sawdust : rice bran	Mycelial density ¹	Mycelial growth (mm/day) ²	Yields(g/bottle) ²
9 : 1	+	59.8 a	85.6 a
8 : 2	++	57.7 b	91.4 a
7 : 3	+++	55.5 c	62.3 d
6 : 4	+++	50.6 d	55.3 b

¹ Mycelial density was rated as +: low, ++: medium, +++: high.

² Isolate was grown for 20days at 25℃ in darkness.

³ The different letters are significantly different at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

검은 비늘버섯 균의 균사생장에 가장 적합한 톱밥과 미강의 비율은 9:1(v/v)로 나타났으나 미강의 비율이 높아짐에 따라 균사의 밀도가 증가하여 정확한 균사의 양은 측정할 수 없었다. 그러나 자실체의 수량은 미강의 농도가 높아짐에 따라 급격히 감소하고 품질도 그다지 좋지 않아 미강의 첨가량이 20%를 넘지 않아야 할 것으로 판단되었다. 한편 미강의 첨가량은 가장 이상적인 비율

이 10~20%로 나타났고 첨가 비율이 증가하면 자실체의 품질과 수량이 나빠지는 것으로 밝혀졌다.

배지의 수분 함량이 균사생장 및 자실체 발생에 미치는 영향을 조사하기 위하여 톱밥 80%와 쌀겨 20% 고르게 혼합한 후 수분을 60±2%, 65±2%, 70±2%로 각각 조절하여 배지를 조제하여 25℃의 암배양 조건에서 배양하면서 균사밀도와 균사 성장량 그리고 자실체 수확량을 조사한경과는 (표 21).

Table 21. Effect of sawdust and rice bran ratio on the mycelial growth of *P. adiposa*

Moisture content (%)	Mycelial density ¹	Mycelial growth (mm/day) ²	Yields(g/bottle) ²
60	++	103.3 a	72.3 a
65	+++	92.7 b	103.7 a
70	+++	52.4 c	53.2 d
75	++	32.4 c	56.3 d

¹ Mycelial density was rated as +: low, ++: medium, +++: high.

² Isolate was grown for 20days at 25℃ in darkness.

³ The different letters are significantly different at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

톱밥배지의 수분함량을 60~75%까지 조절한 배지에서는 수분함량이 적을수록 균사생장이 양호하였으나 균사의 밀도는 65%와 70%에서 양호하였다. 그러나 자실체 수량은 수분함량 65%의 배지에서 가장 양호하여 최적의 수분함량은 65%로 밝혀졌다. 한편 75%의 수분함량을 가진 배지에서는 일부에서 균사가 끝까지 성장하지 않는 스톱현상도 발생하였다. 균사생장은 수분함량 60%에서 가장 빠른 균사생장을 보였으나 자실체의 수량은 65%에서 가장 많은 자실체가 생산되어 최적의 수분함량은 65%로 밝혀졌다.

3) 적요

톱밥배지의 미강과 수분함량이 검은 비늘버섯의 균사생장과 자실체 수량에 미치는 영향을 조사한 결과 검은 비늘버섯 균의 균사생장에 가장 적합한 톱밥과 미강의 비율은 9:1(v/v)로 나타났으나 자실체의 수량은 미강의 농도가 높아짐에 따라 급격히 감소하고 품질도 그다지 좋지 않았다. 한편 미강의 첨가량은 가장 이상적인 비율이 10~20%로 나타났다. 배지의 수분 함량에 따른 균사생장은 수분함량이 적을수록 균사생장이 양호하였으나 균사의 밀도는 65%와 70%에서 양호하였다. 자실체 수량은 수분함량 65%의 배지에서 가장 양호하여 최적의 수분함량은 65%로 밝혀졌다.

다. 검은비늘버섯의 최적재배법 구명

1) 재료 및 방법

검은 비늘버섯의 최적의 재배법을 구명하기 위하여 우선 재배환경으로는 배양 및 재배온도를 검토하였다. 배양 및 생육 온도가 검은 비늘버섯의 균사생장과 자실체 수량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 참나무 톱밥과 미강을 8:2(v/v)로 혼합한 톱밥배지에 공시균을 접종하여 각각의 온도(10, 12, 20, 25, 30, 35℃)에서 배양한 후 자실체를 발생시켰으며 균사생장과 자실체의 수량을 조사하였다.

한편 재배형태에 따른 자실체의 생산성을 검토하기 위하여 532배지를 850ml P.P. 버섯배양병과 봉지에 각각 충전하여 병 및 봉지재배를 실시하여 자실체의 품질과 수량성을 검토하였다. 한편 균상재배의 가능성을 검토하기 위하여 느타리버섯 재배에 이용하는 폐면발효배지에 공시균을 접종하여 느타리폐면재배법과 동일한 방법으로 균상재배를 실시하였다. 또 원목재배의 가능성을 검토하기 위하여 상수리나무 원목 등 9종의 원목을 길이 20cm로 잘라(그림

4-24) 95℃, 15시간 상압살균 후 검은비늘버섯 균주의 톱밥종균을 접종하여 3개월간 균사배양을 실시하였으며 15℃의 재배사에서 자실체 발생을 유도하였다.

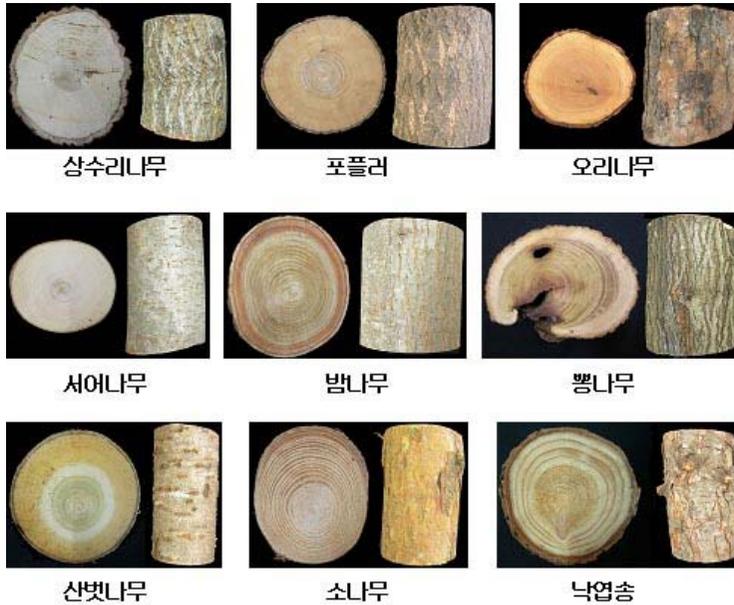


Fig. 4-24. Timbers for artificial log cultivation of *P. adiposa*.

2) 결과 및 고찰

(가) 온도가 검은비늘버섯의 균사생장과 자실체 수량에 미치는 영향

배양 및 생육 온도가 검은 비늘버섯의 균사 생장과 자실체 수량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 참나무 톱밥과 미강을 8:2(v/v)로 혼합한 톱밥배지에 공시균을 접종하여 각각의 온도에서 배양한 후 자실체를 발생시켰으며 생육 온도에 따른 균사생장과 자실체 수량은 표 22와 같다.

Table 22. Effect of temperature on the mycelial growth and yields of *P. adiposa* isolate PAD-015

	Temperature (°C)					
	10	15	20	25	30	35
Mycelial growth (mm/20 days) ¹	23.2 e	70.2 c	83.3 a	88.2 a	71.6 b	32.1 d
Mycelial density ²	+	+	++	+++	++	+
Yields(g/bottle)	-	103.6	73.5	-	-	-

¹ Isolate was incubated in test tube (length × diameter: 200 × 28 mm) packed with oak sawdust medium at each temperature. The different letters are significantly different at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

² Mycelial density was rated as +: low, ++: medium, +++: high.

³ Yields of fruit bodies at each temperature.-: no fruiting

톱밥배지에서 검은비늘버섯의 균사생장은 20°C와 25°C에서 가장 양호하였으나 10°C와 35°C에서는 균사생장이 매우 저조하였을 뿐 아니라 균사의 밀도도 아주 미약하였다. 자실체 발생온도는 15°C에서 가장 좋았고 10, 25, 30, 35°C에서는 자실체가 발생하지 않았다. 20°C에서는 자실체가 발생하였으나 발생 개체수도 적었고 갓이 일찍 전개 되는 등 품질이 매우 좋지 않았다. 따라서 검은비늘버섯의 균사배양은 25°C가 가장 적합하며 자실체 유도 및 생육은 15°C가 가장 적당한 것으로 밝혀졌다(표 23).

(나) 재배방법에 따른 검은비늘버섯의 균사생장과 자실체 수량

최적의 검은비늘버섯 재배법을 구명하기 위하여 532배지를 이용한 병(그림 4-25) 및 봉지(그림 4-26)재배, 폐면을 이용한 균상 및 상자재배(그림 4-27), 원목재배(그림 4-28)를 실시하였다. 검은 비늘버섯 균주는 PAD-015

와 PAD-049를 이용하였으며 모든 재배방법에서 성공적으로 자실체를 수확할 수 있었다.

각 재배방법별 자실체 수확까지의 소요기간은 병재배, 봉지재배, 균상 및 상자재배 순으로 빠르게 수확할 수 있었고, 품질은 병재배의 경우가 가장 균일하였다. 그러나 병재배의 경우에는 대가 신장하여 자실체가 옆으로 넘어지는 현상이 많아 팽이버섯 재배시에 권지로 지탱해주는 것과 같은 방법으로 자실체를 보호할 필요가 있을 것으로 사료된다. 봉지재배의 경우에는 자실체의 크기와 모양, 품질은 우수하였으나 발이가 고르지 못하고 자실체의 대가 구부러지는 단점이 있다.

한편, 배지 1kg당 수확량은 상자재배 혹은 균상재배에서 평균 200g 이상을 수확하여 가장 많은 버섯을 수확할 수 있었으나 자실체의 발생이 균일하지 못하여 수확을 일정한 시기에 할 수 없었고 품질이 균일하지 못한 단점이 있었다. 또한 균상재배와 상자재배의 경우에는 균사배양기에 오염율이 매우 높아 효율적이지 못한 단점이 있었다.

원목재배의 경우에는 배양기간이 3개월 이상으로 매우 길고 자실체의 발생도 좋지 않아 원목재배는 부적합한 것으로 판명되었다. 본 실험에 공시한 9종의 원목 중 산벗나무와 상수리나무를 제외하고는 자실체가 원목 당 3~5개 정도만이 발생하여 자실체 생산에 부적합하였다.

Table 23. Comparisons of fruit body formation of *P. adiposa* according to cultivation method

	Required period (day)	Yield (g/1kg medium)	Mushroom quality
Bottle cultivation	40~50	120~150	Excellent
Vinyl bag cultivation	40~70	100~170	Excellent
Mycelial bed cultivation	50~80	200~250	Good
Log cultivation	120~150	20~50	Poor



Fig. 4-25. Fruit body formation of *P. adiposa* using bottle cultivation with 532 medium..



Fig. 4-26. Fruit body formation of *P. adiposa* using vinyl-bag cultivation with 532 medium.



Fig. 4-27. Fruit body formation of *P. adiposa* on the mycelial beds cultivation with waste cotton medium.



Fig. 4-28. Mycelial growth and fruit body formation of *P. adiposa* on the various timber logs.

3) 적요

배양 및 생육 온도가 검은 비늘버섯의 균사 성장과 자실체 수량에 미치는 영향을 조사한 결과 톱밥배지에서 검은비늘버섯의 균사생장은 20℃와 25℃에서 가장 양호하였으나 10℃와 35℃에서는 균사생장이 매우 저조하였을

뿐 아니라 균사의 밀도도 아주 미약하였다. 자실체 발생온도는 15℃에서 가장 좋았고 10, 25, 30, 35℃에서는 자실체가 발생하지 않았다.

재배방법별 자실체 수확까지의 소요기간은 병재배, 봉지재배, 균상 및 상자재배 순으로 빠르게 수확할 수 있었고, 품질은 병재배의 경우가 가장 균일하였다. 배지 1kg당 수확량은 상자재배 혹은 균상재배에서 평균 200g 이상을 수확하여 가장 많은 버섯을 수확할 수 있었다.

라. 농가실증재배

1) 재료 및 방법

검은비늘버섯의 농가실증재배는 PAD-049균주를 공시하여 경기도 화성시 장안면의 머쉬매니아와 화성시 팔탄면의 박상팔 농가에서 각각 병재배와 봉지재배법으로 병재배의 경우에는 1,000병씩 2회, 봉지재배의 경우에는 200봉지씩 2회를 실시하였다.

실증재배를 위한 종균은 PD broth에 배양한 액체종균을 각 병 및 봉지에 15ml씩 접종하였다. 실증재배를 실시한 두 농가는 각각 느타리 병재배와 봉지재배를 실시하는 농가로 재배 환경은 느타리 관행재배에 준하여 관리하였다.

2) 결과 및 고찰

검은비늘버섯을 농가에서 실증 인공재배하기 위하여 공시배지는 최적 배지 선발 시험에서 참나무 톱밥배지와 함께 수량성이 우수한 것으로 밝혀졌고 (표 19) 농가에서 느타리 재배를 위하여 사용하고 있는 532배지를 이용하였다. 균사체 배양을 위한 종균으로는 톱밥종균과 액체종균을 사용하였는데 톱밥종균의 경우에는 배양기간이 40일 이상 소요되고 액체 종균의 경우에

는 20일 배양으로 종균으로 사용하는데 충분하였다. 또한 톱밥종균으로 접종한 경우에는 오염율이 40% 이상으로 농가에서 사용하기에는 부적합하였으며 액체 종균의 경우에는 오염율이 5%이하로 자동접종기를 사용하지 않고 분주하여 접종하였지만 매우 안정적이었다.

병재배의 경우에는 종균접종 후 23℃의 배양실에서 35일간 배양한 후 균굽기를 실시하고 15℃의 발이실에서 공중습도를 90% 이상으로 유지하면서 약 7일간 역상으로 발이를 유도하였다. 자실체가 발이한 후에 역상으로 뒤집어 발이를 유도한 병을 뒤집어 정위치 시키고 재배사의 온도를 17℃로 관리하면서 5~7일간 재배하였다. 병재배에서는 850ml 병당 90~110g을 수확할 수 있었다.



Fig. 4-29. Bottle cultivation of *P. adiposa* in the mushroom farm



Fig. 4-30. Vinyl-bag cultivation and fruit bodies of *P. adiposa* in the mushroom farm

봉지재배의 경우에는 중간접종 후 23℃의 배양실에서 40일간 배양한 후 15℃에서 발이를 유도하였다. 발이유도기에는 봉지를 개봉하지 않고 온도 충격만으로 발이를 유도하였으며 발이 후에 봉지를 개봉하여 자실체를 생육시켰다. 자실체 생육은 15℃에서 공중습도를 90% 이상으로 유지하였으나 재배사구조가 간이재배사기 때문에 공중습도와 환기가 일정치 않았다. 봉지재배에서는 봉지당 80~100g을 수확할 수 있었다. 발이 후 봉지를 완전히 아래까지 개봉(그림 4-30의 좌)하면 자실체의 대 길이가 짧아지고 균일하지 않으나 비닐을 완전히 제거하지 않고 위쪽으로 열어 두는 것으로 권지를 말은 것과 같은 효과를 가져와 그림 4-30에서 보는바와 같이 대가 길고 갓이 작은 자실체를 수확할 수 있었다.

이상과 같이 검은비늘버섯은 느타리재배농가에서 시설 및 재배환경의 변동 없이 느타리와 함께 재배가 가능하였고 느타리의 생육에 미치는 영향도 없는 것으로 판단되었다.

3) 적요

농가실증재배는 농가에서 느타리 재배를 위하여 사용하고 있는 532배지를 이용하여 병 및 봉지재배를 실시하였으며 종균으로는 톱밥종균보다 액체 종균의 사용이 유리한 것으로 밝혀졌다. 병재배에서는 850ml 병당 90~110g을 수확하였고 봉지재배에서는 봉지당 80~100g을 수확할 수 있었다. 검은비늘버섯은 느타리재배농가에서 시설 및 재배환경의 변동 없이 느타리와 함께 재배가 가능하였고 느타리의 생육에 미치는 영향도 없는 것으로 판단되었다.

위탁과제 : 비늘버섯의 식품영양성분 분석 및 안정성 연구

1. 비늘버섯의 식품 영양 성분 분석

가. 연구수행 방법

식품영양성분 분석은 일반성분, 무기질류 및 비타민류를 다음과 같이 분석하였다.

1) 단백질 함량

조단백은 AOAC법(AOAC 2002)에 따라 Kjeldahl법으로 측정하여 산출하였다.

2) 무기질류

시료를 microwave digestion system(Mile-stone, MLS1200, USA)으로 습식 분해한 다음, K와 Na는 원자흡광광도계(Hitachi Z6100, Japan)로, Ca, P, Fe, Mg, Zn은 ICP-OES(GBC Integra XL)를 사용하여 분석하였다.

3) 비타민류

비타민류는 Vitamin B1, B2 및 niacin 함량을 분석하였는데, 각각 Thiochrom 형광법, Lumiflavin 형광법, Konig반응에 의한 비색법(AOAC 2001)으로 측정하였다.

4) 지방산 및 아미노산류

지방산은 Folch법에 의하여 추출한 다음 BF₃-methanol로 유도체화한 다음

gas chromatography(GC)로 분석하였다(Hamilton, 1992). GC 조건은 분석 컬럼은 supelco sp-2560(100m, 0.25mm ID., 0.2 μ m film)을, 검출은 FID로, 검출 온도는 260 $^{\circ}$ C로, 주입기 온도는 260 $^{\circ}$ C로 조정하였다. 컬럼온도는 초기 5분간 140 $^{\circ}$ C로 유지하다가 분당 4 $^{\circ}$ C씩 증가시켜 최종 240 $^{\circ}$ C에 도달한 다음 15 분간 유지하였다. 이때 split 비율은 100:1로 조정하고 gas는 He을 20cm/sec 유속으로 흘리고 시료 주입량은 1 μ l하였다. 아미노산 분석은 AccQ·Tag 방법(Waters co.)으로 실시하였다.

나. 연구 결과

1) 비늘버섯류의 단백질, 무기질류 및 비타민류 함량

일반적으로 버섯류는 지질 함량이 낮으며 단백질과 탄수화물의 함량이 둘중 하나가 풍부한 부류 혹은 둘다 풍부한 부류로 구별된다. 공시된 비늘버섯류의 식품 영양성분을 조사한 결과, 단백질 함량은 표 24과 같다. 버섯류에 함유된 단백질의 경우 대부분이 인체내에서 필요로 하는 아미노산으로 구성되어 있으며 비단백 부분 보다 순단백의 함량이 높은 고단백성이다. 비늘버섯의 경우 단백질 함량이 PAD-031, 35와 PAD-024 균주를 제외하고 약 20% 내외 함유된 고단백 식품이었다. 이러한 결과는 양송이, 표고, 느타리버섯 등 식용으로 주로 이용되는 버섯류와 함량이 비슷한 양상을 보여 비늘버섯이 새로운 식용버섯으로 개발 가능성이 있음을 나타낸다.

Table 24. Content of protein of *Pholiota* spp.

Sample	Content of Protein (%)	Sample	Content of protein (%)
<i>Pholiota</i> spp. PAD-018	21.4	<i>Pholiota</i> spp. PAD-035	2.1
PAD-019	18.9	PSQ-002	20.5
PAD-020	23.1	PSQ-003	19.7
PAD-021	17.2	PSQ-004	16.4
PAD-022	23.0	PSP-019	18.7
PAD-023	22.0	PMA-001	25.0
PAD-024	1.2	PTE-002	20.4
PAD-031	0.2		

버섯류는 고단백 식품으로서의 가치뿐만 아니라 생리조절기능성이 잘 알려진 무기질류의 함량이 풍부하였다(Table 25). 특히 생체내에서 glycogen 단백질합성 촉매, 삼투압조절 및 산·알칼리 평형유지에 중요한 역할을 담당하는 칼륨(K)의 함량이 높았다. 이러한 결과는 2006년에 발간된 국가 표준 『식품성분표』에 분석된 다른 버섯류(200~3,000 mg/100g)에 비하여 높은 결과를 보였으며, 다른 무기질류 중 칼슘(Ca)를 제외하고 모두 높게 나타났다. 또한, 비교군으로 사용한 느타리버섯에 비해 칼륨의 함량이 높게 나타났고 특히 아연의 함량이 5배 정도이었으며 마그네슘과 철의 함량은 유사한 반면 인의 함량은 대체로 낮게 나타났다. 따라서, 비늘버섯류가 생체내 미량 필수원소를 공급원으로 좋은 식품류임을 알 수 있다.

Table 25. Mineral contents of *Pholiota* spp.

Sample	Mineral(mg/100g)							
	Ca	K	Na	Zn	Mg	Fe	P	
<i>Pholiota</i> spp.	PAD-018	6	3649	149	5.5	138	3.2	743.3
	PAD-019	5	3545	144	4.8	95	5.4	725.8
	PAD-020	2	2581	199	6.1	98	7.9	561.3
	PAD-021	8	2686	204	4.8	118	5.9	610.8
	PAD-022	13	3197	321	5.4	127	5.1	817.6
	PAD-023	1	3307	476	6.3	122	6.4	699
	PAD-024	2	3194	191	4.7	126	19.6	682.6
	PAD-031	4	2956	145	6.4	87	5.9	607.2
	PAD-035	1	3555	116	6.3	125	3	665.8
	PMA-001	4	3592	288	3.1	122	6.8	859.1
	PTE-002	2	2669	253	5.4	109	4.4	666.7
	PSQ-002	4	2991	103	4.6	109	5.2	691.5
	PSQ-003	4	3174	279	4.4	112	7.9	732.5
	PSQ-004	3	3167	239	3.7	111	7.1	691.3
	PSP-019	6	3308	332	5.4	104	8.7	698.1
<i>P. ostreatus</i>	1	2497	642	1.0	118	6.3	927.0	

비늘버섯류의 B1, B2, niacin 등의 비타민 함량은 종간에 유의적 차이는 보이지 않았으나 비타민 B1의 경우 PMA-001 균주가 가장 높게 나타났고 niacin은 PSQ 균주들이 다른 종에 비해 비교적 높게 나타났다. 비타민 B1은 종간에 유사한 함량을 보였다(Table 26).

Table 26. Contents of Vitamin B1, B2, and niacin of *Pholiota* spp.

Sample		Vitamin(mg/100g)		
		B1	B2	niacin
<i>Pholiota</i> spp.	PAD-018	1.37	2.24	2.06
	PAD-019	1.17	1.25	2.00
	PAD-020	1.33	2.18	1.49
	PAD-021	1.17	1.60	1.49
	PAD-022	1.24	2.64	1.65
	PAD-023	1.32	1.81	1.69
	PAD-024	-	-	-
	PAD-031	-	-	-
	PAD-035	-	-	-
	PMA-001	1.33	3.82	1.90
	PTE-002	1.52	2.53	2.10
	PSQ-002	1.64	1.52	2.97
	PSQ-003	1.78	1.68	2.60
	PSQ-004	1.74	1.81	2.69
	PSP-019	1.25	1.30	2.20

* - : Not measure because of lack of sample amount.

Table 27. β -Glucan content of *Pholiota* spp.

(%w/w)

Sample		Mean \pm s.d	Sample	Mean \pm s.d
<i>Pholiota</i> spp.	PAD-018	0.59 \pm 0.08	<i>P. adiposa</i> PAD-031	0.63 \pm 0.05
	PAD-019	0.55 \pm 0.02	PAD-035	0.35 \pm 0.08
	PAD-020	0.53 \pm 0.07	PMA-001	-
	PAD-21	-	PTE-002	0.38 \pm 0.03
	PAD-022	0.37 \pm 0.04	PSQ-002	0.43 \pm 0.04
	PAD-023	0.38 \pm 0.04	PSQ-003	0.66 \pm 0.05
	PAD-024	0.32 \pm 0.07	PSP-019	0.44 \pm 0.07
	PSQ-004	0.35 \pm 0.07	<i>P. ostreatus</i>	0.25 \pm 0.09

* - : Not measure because of lack of sample amount.

버섯류의 β -glucan은 항암성분으로 잘 알려진 물질이다. 비늘버섯류의 식품학적 가치뿐만 아니라 약리적 가치를 조사하기 위하여 β -glucan의 함량을 조사하였다(Table 27). 그 결과 대조구로 사용한 느타리버섯에 비해 실험에 사용된 비늘버섯류 모두 유의성은 없으나 함량이 높았으며 *Pholiota adiposa*에 속하는 균주들이 비교적 높게 나타났다. 이러한 결과는 *P. adiposa* 뿐 만 아니라 비늘버섯류 모두 약리적 효능이 우수함을 보여준다.

Table 28. Amino acid contents of *Pholiota* spp.

(mg/100g)

Sample	Amino acids	Asp	Ser	Glu	Gly	His	Arg	Thr	Ala
<i>Pholiota</i> spp.	PAD-018	311.9±2.3	245.9±15.2	541.1±2.8	102.1±8.2	230.6±4.2	3.2±0.4	204.2±13.9	63.8±10.1
	PAD-019	157.0±5.2	233.9±7.4	292.2±11.2	148.8±6.7	340.2±15.3	520.0±2.4	225.3±2.9	28.7±0.7
	PAD-021	214.7±6.1	145.0±1.6	270.7±3.7	25.7±0.2	200.2±1.5	275.0±2.8	100.1±2.3	19.6±0.8
	PAD-022	171.8±7.1	192.5±4.6	311.1±3.2	97.9±5.1	203.7±6.6	420.3±5.4	189.2±10.3	7.8±0.5
	PAD-023	246.4±15.2	143.3±9.6	403.2±8.1	61.3±10.7	180.0±10.4	342.7±8.5	126.1±9.0	6.2±1.4
	PAD-024	219.8±7.0	145.2±8.6	367.0±4.2	44.6±10.9	115.7±8.2	351.9±14.2	153.9±15.3	6.2±0.8
	PAD-031	239.1±14.0	172.7±16.5	356.7±9.0	68.0±6.3	185.2±4.4	203.8±7.7	158.3±9.1	13.6±2.8
	PAD-035	171.0±0.8	205.0±19.2	326.9±0.6	94.3±12.3	194.5±10.7	448.4±12.4	185.3±8.8	8.4±1.2
	PMA-001	171.1±17.4	187.8±7.6	235.1±9.6	90.3±11.7	171.2±2.7	5.0±0.7	147.1±3.6	4.3±2.9
	PTE-002	209.2±2.9	171.5±0.5	357.7±13.3	83.6±3.4	194.5±0.4	421.2±3.4	180.4±1.5	6.9±0.1
	PSQ-002	214.2±18.0	188.1±9.3	348.7±11.2	110.4±3.5	154.4±10.8	273.1±6.3	282.4±11.3	6.8±0.2
	PSQ-003	396.8±1.2	330.4±5.8	657.7±5.6	89.1±1.6	316.8±9.8	2.7±0.2	283.5±8.8	14.1±0.8
	PSQ-004	157.3±0.4	212.5±0.5	274.9±8.8	133.5±5.7	238.5±4.2	456.9±7.6	183.0±5.7	9.7±0.2
	PSP-019	175.4±18.7	206.6±7.0	306.6±4.0	234.0±5.8	223.8±6.6	6.6±0.4	186.9±16.2	8.3±0.4
<i>P. ostreatus</i>	241.1±12.0	180.1±1.3	335.9±8.5	55.3±7.5	207.5±4.1	4.3±0.4	224.3±2.5	0.5±0.2	

Table 28. continued

(mg/100g)

Sample	Amino acids	Pro	Tyr	Val	Met	Lys	Ile	Leu	Phe
<i>Pholiota</i> spp.	PAD-018	155.3±5.2	168.9±7.9	24.7±3.4	21.1±3.3	17.5±2.1	99.7±3.4	92.4±2.8	346.3±12.2
	PAD-019	439.6±13.4	27.0±2.4	119.4±1.1	24.5±2.5	14.9±1.1	54.1±2.4	41.0±0.3	265.6±2.8
	PAD-021	300.4±8.1	19.0±1.4	59.5±8.9	5.6±0.4	44.8±7.5	59.4±14.6	54.6±6.1	229.5±17.1
	PAD-022	137.9±12.1	234.6±4.7	13.5±0.3	11.4±0.2	47.9±8.4	50.3±1.1	41.9±4.9	246.9±11.2
	PAD-023	59.9±9.8	128.6±0.1	9.3±1.4	7.5±1.7	22.4±2.2	42.4±6.6	54.3±10.9	210.8±14.8
	PAD-024	102.9±4.2	195.5±3.9	5.4±0.9	2.9±1.9	27.6±3.5	40.0±1.9	51.8±1.7	196.7±8.2
	PAD-031	124.0±8.2	173.2±15.6	7.7±1.9	2.5±1.6	9.7±1.8	29.9±2.9	61.3±6.7	193.3±15.2
	PAD-035	108.7±9.4	202.0±5.2	12.6±0.1	13.2±0.3	37.1±5.4	55.8±1.3	40.0±7.2	220.4±0.9
	PMA-001	146.1±10.5	184.5±6.9	13.1±0.1	7.5±0.4	35.3±1.4	49.4±0.3	48.4±5.2	217.0±14.1
	PTE-002	97.7±1.1	211.3±8.9	8.6±0.1	5.6±0.3	29.5±1.3	42.9±0.8	48.7±0.4	225.1±11.7
	PSQ-002	131.8±2.5	195.2±0.1	14.2±0.6	9.8±0.1	11.5±1.6	43.1±3.7	52.8±5.9	219.4±2.8
	PSQ-003	197.0±8.3	252.2±6.9	19.7±1.1	16.8±0.4	13.2±0.7	74.7±6.2	133.9±10.9	439.2±0.4
	PSQ-004	207.4±14.4	305.1±10.8	21.0±1.7	16.5±1.0	56.6±8.8	49.1±1.1	42.5±0.5	247.8±2.4
	PSP-019	186.4±1.8	245.5±14.9	17.0±0.8	15.8±0.4	12.5±3.0	54.0±0.6	48.5±9.5	259.4±4.9
<i>P. ostreatus</i>		71.0±4.3	176.9±12.0	7.3±0.4	3.8±0.1	32.6±2.2	30.0±0.8	57.3±4.5	215.6±5.8

비늘버섯류의 아미노산 함량은 종간에 유의적 차이는 없었으며 대부분이 aspartic acid를 비롯한 16종의 아미노산을 함유하고 있다. 특히 아미노산중 맛과 관련된 정미성분인 glutamic acid의 함량이 비교적 높게 나타났으며 느타리버섯류와 비슷한 함량을 지니고 있었다. 비늘버섯류의 아미노산 함량은 일본의 寺下등(1979년)이 식용버섯류를 분석한 결과와 비교 시 대부분이 높은 함량을 보였는데, 이는 맛과 질에 있어서 보다 우수함을 알 수 있게 한다. 비늘버섯류는 사람이 필요로 하는 필수 아미노산을 함유하고 있으며 특히 식물체로부터 적은 양이 섭취되는 lysine을 함유하고 있어 좋은 영양 공급원이라 할 수 있다.(Table 28).

비늘버섯류의 지방산 함량은 종간에 차이는 있으나 조성은 주성분으로 불포

화 지방산인 리놀린산 (linoleic acid, C_{18:2})이 다량 함유되어 있었다(Table 29). 이러한 결과는 버섯류가 지방산중 불포화지방산이 함유되어 있다는 많은 연구자의 결과와 일치하고 대조구로 사용된 느타리버섯과도 유사한 경향을 보였다.

Table 29. Fatty acid contents of *Pholiota* spp.

Samples	% of total fatty acid content					
	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2
<i>Pholiota</i>						
spp. PAD-018	0.4±0.0	9.8±0.0	0.1±0.2	2.9±0.2	15.6±0.1	71.2±0.4
PAD-019	0.5±0.0	9.0±0.1	0.3±0.0	1.6±0.1	15.2±0.3	73.4±0.1
PAD-020	0.7±0.0	10.8±0.2	0.1±0.1	1.8±0.1	7.8±0.1	78.8±0.3
PAD-021	1.0±0.0	16.9±0.1	0.0±0.0	3.0±0.1	12.3±0.0	66.9±0.2
PAD-023	0.3±0.0	10.2±0.1	0.0±0.0	2.9±0.1	8.6±0.1	78.0±0.3
PAD-024	0.4±0.0	10.0±0.0	0.4±0.0	2.2±0.1	13.4±0.0	73.7±0.0
PAD-031	-	-	-	-	-	-
PAD-035	0.2±0.2	9.0±0.7	0.1±0.2	1.2±1.7	16.1±0.2	73.5±3.0
PMA-001	1.2±0.0	15.0±0.1	0.0±0.0	3.0±0.0	13.0±0.3	67.9±0.2
PTE-002	0.2±0.3	10.2±0.1	0.1±0.2	2.0±0.0	10.0±0.0	77.5±0.4
PSQ-002	0.5±0.0	8.7±0.0	0.4±0.0	1.6±0.0	18.6±0.2	70.2±0.2
PSQ-003	0.5±0.0	8.9±0.1	0.4±0.0	1.6±0.1	19.2±0.1	69.4±0.4
PSQ-004	0.4±0.0	9.3±0.3	0.3±0.0	1.8±0.1	14.9±0.6	73.0±0.6
PSP-019	0.5±0.0	8.8±0.0	0.4±0.0	1.5±0.0	19.5±0.1	69.3±0.2
<i>P. ostreatus</i>	1.1	11.8	0.4	1	5.7	79.9

* - : Not measure because of lack of sample amount.

2. 비늘버섯 기능성물질의 기능성 발현 기작 규명을 위한 *in vivo* test 및 비늘버섯류의 영양성분과 미량성분 추가조사

가. 연구수행 방법

1) 비늘버섯 기능성물질의 기능성 발현기작 규명

선정된 비늘버섯류 PAD-022 균주가 생산하는 HMG-CoA reductase 저해 물질의 *in vivo* 시험용 고지혈증 동물 모델을 이용하여 기능성 발현 여부를 조사하여 생리 기작을 해석하였다. 이때 사용된 식이 조성은 표 30과 같다. 사용한 동물은 4주령된 ICR mice를 1~2주간 실험실에서 순화시킨 다음 사용하였다.

Table 30. Ingredient composition of several *Pholiota adiposa* diets used in this study

Ingredient (g/kg diet)	NF*	HF	HF1	HF2	HF3
Corn starch	529.5	389.5	388.5	384.5	379.5
Casein	200	200	200	200	200
Sucrose	100	100	100	100	100
Soybean oil	70	70	70	70	70
Lard		130	130	130	130
Cholesterol		10	10	10	10
α -cellulose	50	50	50	50	50
Mineral mix(AIN-93M-MX)	35	35	35	35	35
Vitamin mix(AIN-93-VX)	10	10	10	10	10
DL-methionine	3	3	3	3	3
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
<i>Pholiota adiposa</i>			1	5	10

*NF; normal fat diet, HF; high fat diet, HF1; high fat diet supplemented with 0.1% *Pholiota adiposa* extract, HF2; high fat diet supplemented with 0.5% *Pholiota adiposa* extract, HF3; high fat diet supplemented with 1.0% *Pholiota adiposa* extract.

2) 추가 수집 비늘버섯과 기능성 우수 비늘 버섯류(4종)의 식품 영양성분과 미량성분분석

가) 일반영양성분

수분 함량은 105℃ 건조기에서 상압가열 건조방법(식품공전 2001)으로, 조단백, 조지방 및 조섬유는 AOAC법(AOAC 2002)에 따라 각각 Kjeldahl법, Soxhlet 추출법, Hennenberg-stohmann법을 개량한 방법으로 측정하여 산출하였으며, 회분은 600℃ 건식회화법으로 측정하였다. 에너지 산출은 WHO/FAO의 버섯류의 에너지 환산계수인 단백질 2.62 kcal, 지방 8.37 kcal, 탄수화물 3.48 kcal를 사용하여 산출하였다.

나) 무기질류

상기의 방법과 동일하게 실시하였다.

다) 비타민류

비타민류는 β -carotene의 경우 $SbCl_2$ 에 의한 비색법(이중화 등 1967), Vitamin C의 경우 2,4-DNP법(AOAC 2001)으로 측정하였다. 나머지 비타민류는 상기의 방법에 준하여(AOAC 2001)으로 측정하였다.

라) 지방산, 아미노산류 및 탄수화물

지방산과 아미노산류는 상기의 방법에 따라 분석하였으며, 탄수화물은 85% 알코올로 상온에서 시료 1g을 12시간 추출한 다음 0.45 μ m membrane filter로 여과하고 이를 HPLC로 분석하였다. HPLC 분석조건은 용매로 75% acetonitrile을, 유속은 분당 0.8ml로 흘렸으며 컬럼은 Waters carbohydrate column(7.5x300mm, Waters co.)을 사용하였다. 검출기는 refractive index를, 컬럼 온도는 35℃로 조정하였으며 이때 사용한 기기는 autosampler가 장착된 HP 1100을 사용하였다. 시료 주입량은 20 μ l로 하였다.

나. 연구 결과

- 1) *Pholiota adiposa* (PAD-022)이 생산하는 HMG-CoA reductase 저해물질의 in vivo test

가) 체중과 장기의 무게에 미치는 *P. adiposa* 추출물의 영향

P. adiposa PAD-022의 HMG-CoA reductase 저해제 함유 추출물을 농도별로 첨가하여 식이한 결과, 0.5%로 첨가하여 식이한 고지방 식이섭취 실험쥐에서 $0.27\text{g/day} \pm 0.02\text{g/day}$ 로 가장 높은 체중 증가를 보았다(Table 31). 간에서는 *P. adiposa* 추출물의 공급량 증가시켰을 때 오히려 무게는 감소하는 경향이었고 신장은 첨가량에 관계없이 일정하였다(Table 32).

나) Triglyceride 함량에 미치는 *P. adiposa* 추출물의 영향

P. adiposa 추출물을 0.5% 공급하였을 때 고지방식이쥐의 간의 triglyceride 함량이 다소 증가하였을 뿐 처리구간에 차이가 없었고(Fig. 5) 간과 분변 중의 총 triglyceride 함량도 처리구간에 차이가 없었다(Fig. 6).

다) 지방 조직(adipose tissue)무게

P. adiposa PAD-022 추출물의 첨가량을 증가시킴에 복막 지방량과 체중 당 복막 지방 함량이 고지방식이 실험동물(쥐)에서 정상쥐보다 감소되었고 특히 1% 첨가 시 약 60%의 감소효과를 나타내었다(Fig. 7, 8).

Table 31. Changes of body weight and diet intake during feeding of *Pholiota adiposa* (PAD-022) extracts

	Weight gain(g/day)	Intake (g/day)	FER
NF	0.21±0.02	4.88±0.18	0.04±0.00
HF	0.23±0.04	4.21±0.17	0.05±0.01
HF1	0.21±0.02	4.63±0.25	0.04±0.01
HF2	0.27±0.02	4.65±0.31	0.06±0.00
HF3	0.23±0.03	4.41±0.16	0.05±0.01

* NF, HF, HF1, HF2 and HF3 were same as Table 23.

** Food efficiency ratio = Body weight gain(g/day)/Food intake(g/day)

Table 32. Changes of organs weight in body during feeding of *Pholiota adiposa* extracts

	Liver(g)	Kidney(g)
NF	1.56±0.03 ^b	0.53±0.02 ^{NS}
HF	2.24±0.33 ^a	0.52±0.02
HF1	2.29±0.17 ^a	0.50±0.02
HF2	2.33±0.15 ^a	0.50±0.02
HF3	2.17±0.11 ^a	0.52±0.01

* NF, HF, HF1, HF2 and HF3 were same as Table 23.

¹ Data are expressed as Mean S.E. (n=S:7. S+G:7. OVX:8, OVX+G:8)

² NS : Not significant

³ Values with different alphabet within the same column are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

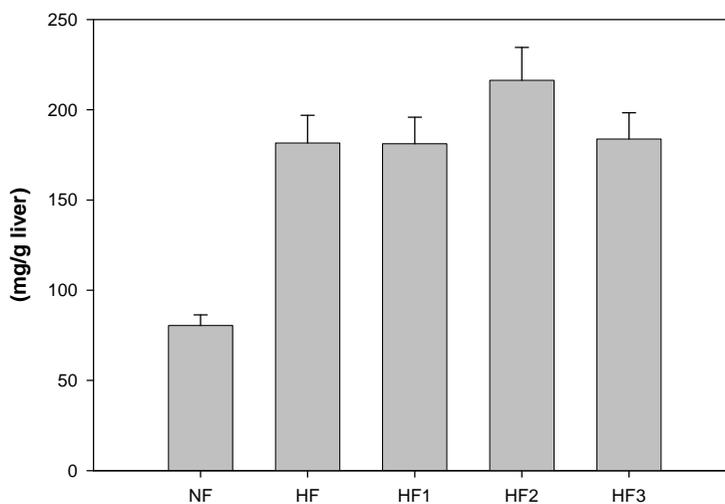


Fig. 5. Changes of total triglyceride contents in the liver during feeding of *Pholiota adiposa* extracts

* NF, HF, HF1, HF2 and HF3 were same as Table 23.

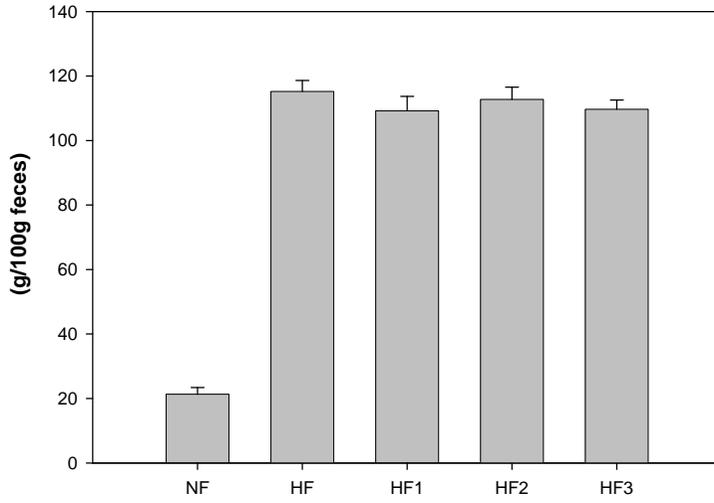


Fig. 6. Changes of total triglyceride contents in the feces during feeding of *Pholiota adiposa* extracts

* NF, HF, HF1, HF2 and HF3 were same as Table 23.

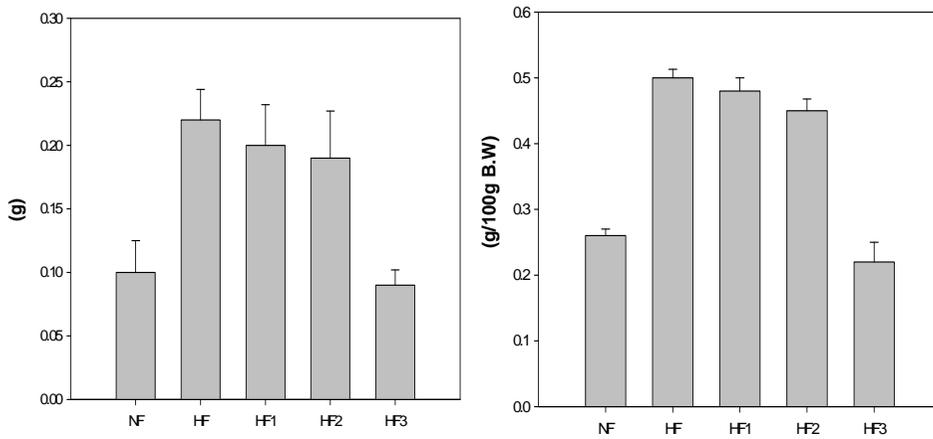


Fig. 7. Changes of fat contents in the kidney periphery during feeding of *Pholiota adiposa* extracts

* NF, HF, HF1, HF2 and HF3 were same as Table 23.

A : Fat of kidney periphery B : Fat of kidney periphery per body weight

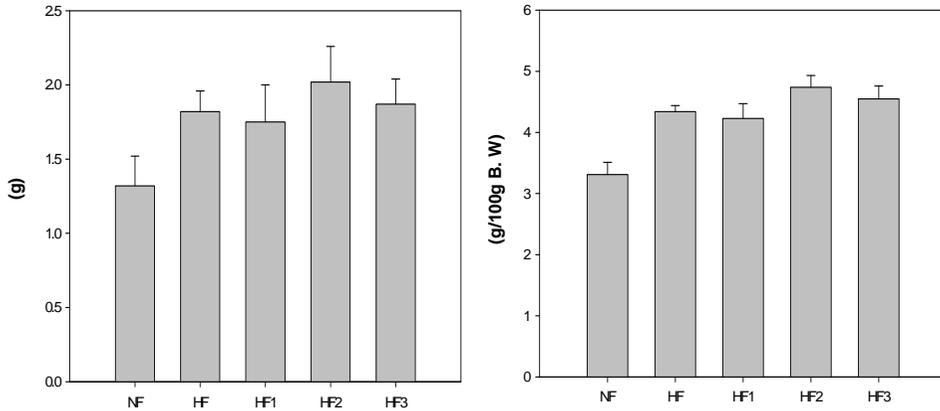


Fig. 8. Changes of fat contents in the epididymis during feeding of *Pholiota adiposa* extracts

* NF, HF, HF1, HF2 and HF3 were same as Table 23.

A: Fat of epididymis

B: Fat of epididymis per body weight

2) 기능성 우수 버섯류의 식품 영양 성분 분석

기능성이 비교적 우수하다고 1차 선별된 버섯들의 영양성분을 분석한 결과로 Table 26~28과 같다. 본 실험 결과는 1차 선별 과정에서 실험한 시료와 달리 생시료를 사용 실험하였다. 그 결과 1차 선별 과정에서 얻은 결과와 같이 단백질 함량이 높고 칼로리가 낮은 결과를 얻었다. 이러한 결과는 버섯이 일반적으로 알려진 저칼로리 고단백 식품과 유사한 경향을 보임으로 선별된 버섯들이 식품으로써의 가치가 높다고 판단된다(Table 33). 또한 1차 선별 과정과 마찬가지로 생체내에서 필수 무기성분으로 작용하는 칼륨, 철, 마그네슘, 인 등이 풍부하였으며(Table 34) 이러한 결과는 생체내에 함유된 무기질류가 1차 선별 과정과 같이 건조된 버섯류에서와 마찬가지로 동일한 경향을 보임을 알 수 있었다.

또한, 비타민류 역시 생체내에서 중요한 역할을 담당하는 B1과 B2 등이 많은 양이 함유되어 있었으며 niacin 등이 풍부하게 함유되어 있었다(Table 35).

이러한 결과를 종합할 때, 선별된 버섯류 뿐 만 아니라 실험에 사용된 비늘

버섯류 모두가 식품적 영양 가치가 뛰어난 버섯류임을 알 수 있었다.

Table 33. Proximate composition of the selected *Pholiota* spp.

Samples	Energy kcal	Moisture %	Protein %	Fat %	Carbohydrate		Ash %
					Non-fibrous %	Fiber %	
PAD-016	19	93.2	1.8	0.1	3.8	0.7	0.4
PAD-030	16	93.4	2.3	0.0	2.9	0.7	0.7
PNA-015	24	91.5	2.1	0.0	5.2	0.6	0.6
PNA-024	27	90.3	2.1	0.0	6.3	0.6	0.6

Table 34. Mineral contents of the selected *Pholiota* spp.

Samples	Mineral (mg%)						
	Ca	P	Fe	Na	K	Zn	Mg
PAD-016	2	64	1.0	3	215	0.3	10
PAD-030	2	82	1.0	3	316	0.3	12
PNA-015	2	66	1.6	4	253	0.4	10
PNA-024	1	72	1.4	1	310	0.5	11

Table 35. Vitamin contents of the selected *Pholiota* spp.

Samples	Vitamin						
	A			B1	B2	Niacin	C
	A R.E	Retinol μg	β -carotene μg				
PAD-016	1	0	8	0.17	0.21	1.03	5
PAD-030	0	0	1	0.18	0.19	1.11	6
PNA-015	1	0	5	0.21	0.22	1.52	13
PNA-024	1	0	7	0.22	0.22	1.17	12

Vit A -R.E = 6 β -carotene

1차 선별된 비늘버섯류의 지방산은 상기에 실험된 비늘버섯류들과 동일한 양상을 보였다. 대부분 불포화 지방산인 리놀렌산이 풍부하게 함유되어 있었

다(Table 36). 또한 아미노산류도 aspartic acid를 비롯한 17종의 아미노산이 골고루 분포하고 인체내 필수 아미노산을 모두 함유하고 있었다(Table 37). 이러한 결과 모두 비늘버섯류가 좋은 식품 급원으로 사용될 수 있음을 나타내고 있다

Table 36. Fatty acid constituents of the selected *Pholiota* spp.

Samples	% of total FA content					
	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3
PAD-016	9.9±0.8	0.8±0.0	3.5±0.8	12.2±0.6	75.2±2.8	0.3±0.0
PAD-030	9.8±1.1	0.5±0.1	3.6±1.2	2.8±0.0	80.0±3.4	0.2±0.1
PNA-015	9.2±0.0	0.4±0.0	2.3±0.1	13.2±0.1	74.4±0.0	0.5±0.2
PNA-024	8.2±0.4	0.5±0.0	1.5±0.3	5.9±3.2	83.6±2.8	0.3±0.1

* Fatty acid C 16:0 Palmitic Acid Methyl Ester, C 16:1 Palmitoleic Acid Methyl Ester, C 18:0 Stearic Acid Methyl Ester, C 18:1 Oleic Acid Methyl Ester, C 18:2 Linoleic Acid Methyl Ester, C 18:3 Linolenic Acid Methyl Ester

Table 37. Amino acid contents of the selected *Pholiota* spp.

(mg/100g)

Amino acid	PAD-016	PAD-030	PNA-015	PNA-024
ASP	7.5±1.0	8.3±1.1	10.9±1.1	10.5±0.5
SER	6.0±1.6	5.8±1.4	6.3±0.5	6.2±0.8
GLU	12.6±3.7	12.7±1.2	17.6±1.7	16.4±0.4
GLY	4.7±1.2	4.8±1.0	4.7±0.4	5.0±0.4
HIS	3.3±0.7	3.2±0.6	3.7±0.3	3.6±0.2
ARG	7.0±1.9	7.2±1.5	7.0±0.6	6.4±0.6
THR	5.7±1.4	5.8±1.3	5.9±0.5	5.9±0.5
ALA	6.0±1.8	6.1±1.6	6.3±0.6	6.9±1.1
PRO	3.0±1.2	4.7±0.3	5.5±0.6	5.5±0.6
TYR	2.6±0.5	3.1±0.6	2.1±0.2	3.1±0.2
VAL	5.3±1.8	5.1±1.2	5.2±0.2	5.1±0.7
MET	1.6±0.3	1.8±0.4	1.9±0.2	1.9±0.2
LYS	5.5±0.5	6.3±2.1	5.6±0.5	5.9±1.5
ILE	4.2±0.9	4.7±1.1	4.8±0.5	4.8±0.6
LEU	6.4±1.1	6.5±0.4	7.9±0.7	7.9±1.0
PHE	4.7±0.9	5.3±1.0	4.5±0.4	5.2±0.2
Total	86.0	91.4	99.9	100.3

비늘버섯류의 주로 함유된 유리당류는 과당인 trehalose와 당알코올류인 mannitol 및 inositol이었다. 대체적으로 비늘버섯류는 종간 구별 없이 trehalose의 함량이 높았다(Table 38). 이와 같은 결과는 일본의 버섯 성분 분석 결과와 유사하나 일부 당류의 함량에 있어 약간의 차이를 보였는데, 이는 버섯 재배시 사용되는 기질 종류의 차에 기인된다고 사료된다. 우리나라의 주요 식용버섯류에 함유된 유리당류는 다양한 기능성을 지니는데, 특히 다량 함유된 trehalose의 경우 버섯 자체의 생리적 기능을 조절할 뿐만 아니라 감미도가 설탕의 약 45% 정도로 흡습성이 매우 낮은 특성을 지닌다. 특히 단백질의 변성방지, 식품 조직의 신선도 유지 효과, 비충치성 및 DNA 보호효과 등의 다양한 기능성을 가지고 있어 과자, 음료, 면류, 냉동식품등에의 수요가 급증되고 있다. 또한, mannitol의 경우는 감미도가 60 ~ 70% 정도로 비충치성, 인슐린 분비 촉진등의 기능성을 지녀 당뇨병환자용 감미료로 사용이 적합하다. 이와 같이 비늘버섯류는 다양한 기능성 당류를 다량 함유하고 있어 식품 자체로서 인류의 건강을 유지할 수 있는 좋은 건강보조식품이라 할 수 있다.

또한, 전술한 바와 같이 버섯류의 항암성분 잘 알려진 β -glucan의 함량이 높아 (Table 39), 비늘버섯류는 훌륭한 건강기능성 식품 소재라 할 수 있다.

Table 38. Carbohydrate contents the selected *Pholiota* spp.

(mg/100g)

Carbohydrate	PAD-016	PAD-030	PNA-015	PNA-024
glycerol	3.1±0.2	3.3±0.8	2.8±0.3	2.4±0.1
ribose	6.8±2.5	6.8±3.5	11.1±0.5	9.9±0.8
arabinose	6.2±1.1	-	5.5±0.4	5.3±0.4
fructose	12.6±2.1	5.2±2.2	7.0±2.0	2.7±0.1
glucose	46.4±5.7	43.3±9.5	57.2±4.2	47.0±2.2
sucrose	3.2±0.4	-	4.6±0.6	3.1±0.2
inositol	15.7±2.4	14.6±3.3	14.7±1.1	10.4±0.5
trehalose	344.7±80.7	41.3±34.4	339.1±53.5	519.8±35.4
stachyose	11.0±1.8	12.0±1.9	25.6±2.8	19.8±0.7

Table 39. β -glucan contents of the selected *Pholiota* spp.

(%w/w)

	PAD-016	PAD-030	PNA-015	PNA-024
β -glucan	1.48±0.07	2.23±0.74	0.72±0.30	0.53±0.11

3. 기능성 비늘버섯 제품의 품질특성 조사 및 비늘버섯 중의 stigmasterol 함량 분석

가. 연구수행 방법

1) 비늘버섯 가공 제품의 영양성분

비늘버섯 가공제품은 상기에 전술한 바와 같이 일반 영양성분, 무기질류, 비타민류 및 열량을 분석하였다.

2) Phytosterol(stigmasterol) 분석

비늘버섯류에 함유된 기능성 성분 stigmasterol의 함량 분석은 Quilez 등의 방법(2006)에 따라 실시하였다. 즉, 버섯류의 지방을 Folch의 방법(1957)에 따라 동결건조된 시료 3g에 Chloroform과 methanol을 2:1 비율로 만든 시약을 100ml 가한 다음 homogenizing하고 상온에서 2시간 동안 추출하고, whatman No. 1 여과지로 분액깔대기에 여과한 다음 2% NaCl 용액을 35ml 을 가하여 유기용매층을 250ml round bottom flask에 whatman No. 1로 여과한 다음 농축하였다. 이와 같은 과정을 거쳐 얻은 지방은 10ml의 chloroform에 녹여 -20℃에 보관 사용하였다. 추출된 지방 용액은 완전히 농축한 다음 0.5M ethanolic KOH 5ml을 가하여 녹인 다음 80℃에서 20분간 reflux 상태로 saponification을 하였다. Saponification된 용액에 Cyclohexane 5ml과 물 5ml을 가하여 non-saponification 분획을 얻었으며 이 과정은 3회 실시하였다. 모아진 cyclohexane 층을 완전히 농축하고 chloroform 5ml을 가하여 녹였다. 이때 첨가하는 chloroform 2ml에 내부표준물질(betulin)을 1mg 첨가하였다. Chloroform에 녹아진 시료를 6M HCl 수방울을 가하여 pH 2~5

정도로 조정하고 solid-phase extraction cartridge(500 mg·5m⁻¹, J.T. Baker)에 적정한 다음 5% methanol과 95% chloroform 혼합 용액을 15ml 흘려 모아 purified sterol 분획을 농축하여 얻는다. 농축액은 50ul pyridine을 가하여 녹인 다음 50ul 1%의 trimethyl chlorosilane (chlorotrimethylsilane, TMCS)가 첨가된 bis-trimethylsilyl-trifluoro acetamide(BSTFA) 50ul를 가하여 상온에서 overnight로 유도체화 하였다. 이와 같은 과정을 거쳐 얻어진 유도체는 가스 크로마토그래피(HP 5680, Agilent co.)로 phytosterol(stigmasterol)을 표준품에 대비하여 정량 분석하였다.

가스크로마토그래피의 분석 조건은 컬럼으로 30m capillary column 사용하였으며(SAC-5, Supelco co.), 기기조건은 컬럼 온도를 285℃로 유지하고 분석시간은 30분으로 하였다.. 분석가스는 He을, 이때 유속은 25cm/sec으로 조정하고, 주입기 온도는 300℃로 조정하고 split mode 100:1로, 검출기(FID)는 300℃로 조정하였다.

나. 연구 결과

1) 비늘버섯 PAD-022 균주를 이용한 가공제품의 식품학적 특성

비늘버섯 PAD-022 균주를 배양하여 얻은 자실체로부터 제조한 파우치 제품의 식품 영양학적 특성을 조사한 결과, 표 40과 표 41와 같다. 열량은 101 kcal 이었으며 대부분 당질로 구성이 되어있고 단백질 함량이 1.2%, 식이섬유가 0.01%로 미량 함유되어 있었다(Table 40).

Table 40. General composition of the product using *Pholiota* sp.(PAD-022)

Food item	Energy kcal	Water*	Protein	Lipid	Carbohydrate		Ash
					CHO	Fibre	
Product (liquid)	101	70.5	1.2	0.01	30.0	0.01	0.3

* Unit : g/100g basis on fresh weigh.

Table 40. Mineral and vitamin contents of the product using *Pholiota* sp.(PAD-022)

Food item	Minerals(mg/100g)							Vitamin*						
	Ca	P	Fe	Na	K	Zn	Mg	A			B ₁ mg	B ₂ mg	Niacin mg	C mg
								A (R.E)	Retinol μg	β-Carotene μg				
Product (liquid)	10	23	143	33	63	11	4	1	0	4.5	0.10	0.15	0.7	4

* Unit : per 100g

또한, 파우치 제품의 무기질류와 비타민류를 분석한 결과 대부분의 무기질이 함유되어 있었으며 특히 철과 칼륨의 함량이 비교적 높았다. 비타민류는 비타민 B1과 B2, niacine이 각각 0.10, 0.15, 0.7 mg/100g이 함유되어 있었으며 프로비타민 A의 경우 매우 극미량이 함유되어 있었다. 이상의 결과로, 비늘버섯을 이용한 제품의 경우 무기질류와 비타민류가 적당량 함유되어 있고 탄수화물 함량이 높은 영양성 기능성 식품임을 알 수 있었다.

2) 비늘버섯류의 phytosterol(stigmasterol) 함량 비교

본 연구의 비늘버섯류의 기능성 성분으로 밝혀진 phytosterol의 일종인 stigmasterol의 국내 수집종과 외국 도입종 간의 함량을 비교 분석하였다. 그림 24는 실험에 사용에 표준품의 가스 크로마토그램을 보여주는 그림으로, 표준품의 농도별 및 피크의 모양이 대칭형임에 따라 본 실험에 사용된 분석방법의 validation이 확립되었다(그림 9). 따라서 연구방법에 따라 비늘버섯류의 종간 phytosterol의 함량을 비교 분석한 결과 표 41와 같다.

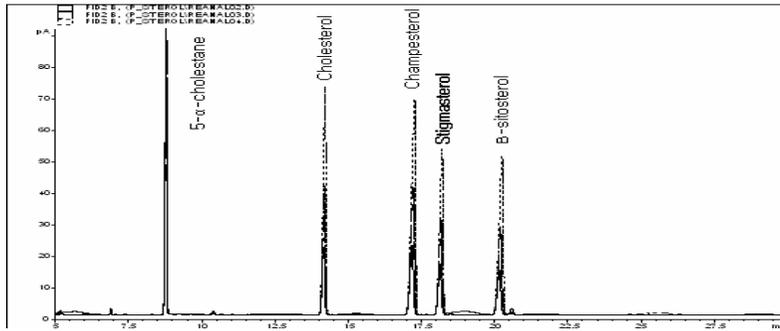


Fig. 9. Standard chromatograms of phytosterol by gsa chromatography.

공시한 비늘버섯류 모두 campesterol, stigmasterol, 베타-stigmasterol과 같은 phytosterols를 함유하고 있었다. 특히 국내에서 채집된 PAD- 균주들의 경우 campesterol이 다른 phytosterol에 비해 함량이 비교적 높았다. 특히 본 연구 결과에서 기능성 버섯으로 선별된 PAD-022 균주의 경우 세부연구팀에서 HMG-CoA reductase 저해물질의 주기능성 물질로 동정된 stigmasterol의 함량이 23.1 ug/g으로 다른 PAD 균주와 일본에서 도입한 PNA 균주 보다 낮은 함량을 나타냈다. 따라서 비늘버섯의 HMG-CoA reductase 저해활성에는 stigmasterol외에 또 다른 물질이 관여하는 것으로 추정되어 이의 추가 연구가 필요한 것으로 사료된다.

Table 41. Phytosterol contents of *Pholiota* spp.

Sample	Phytosterol (ug/g)			
	Campesterol	Stigmasterol	β-sitosterol	
<i>Pholiota adiposa</i> .	PAD-001	81.3	29.1	16.9
	PAD-015	92.7	94.0	14.5
	PAD-017	54.5	58.4	14.3
	PAD-022	76.0	23.1	18.7
	PAD-038	90.0	86.1	18.0
	PAD-039	97.2	97.3	11.4
<i>P. aurivella</i>	PAR-001	109.2	79.4	45.5
	PDA-030	55.6	50.6	25.0
<i>P. highlandensis</i>	PHI-001	46.2	16.5	17.9
	PHI-002	337.1	7.0	13.0
<i>P. nameko</i>	PNA-014	63.2	51.5	7.2
	PNA-024	60.5	56.3	8.7
<i>Pholiota</i> sp.	PSP-010	25.6	34.8	15.4
<i>P. squarrosa</i>	PSQ-001	40.7	9.7	17.1
	PSQ-002	78.6	91.7	15.4

제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

세부 : 생리 기능성 비늘버섯의 선발 및 산업화

1. 연구개발의 목표의 달성도

구분	연구개발 목표	연구개발 목표 달성도
1차년도 (2005)	<ul style="list-style-type: none"> 비늘버섯의 생리 기능성 검색 및 우수 버섯 선정 	<ul style="list-style-type: none"> 시료 비늘버섯 116종의 물추출물과 메탄올 추출물을 제조하여 심혈관질환과 노화억제관련 생리기능성을 측정하여 최종적으로 항고지혈성 HMG-CoA reductase 저해활성이 우수한 <i>Pholiota adiposa</i> PAD-022 등의 우수 비늘버섯을 선발하였음.
2차년도 (2006)	<ul style="list-style-type: none"> 선정된 비늘버섯 생리 기능성물질의 특성조사 	<ul style="list-style-type: none"> 최종 선정된 <i>Pholiota adiposa</i> PAD-022 이 생산하는 HMG-CoA reductase 저해물질을 한외여과와 HPLC등으로 고순도로 정제하였음. 정제된 HMDG-CoA reductase 저해물질의 특성을 GC, LC-MS, NMR-Spect. 등의 기기분석을 통하여 조사하였음. 또한 기본적인 물리화학적 특성을 조사하였음.
3차년도 (2007)	<ul style="list-style-type: none"> 기능성 비늘버섯 가공제품의 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 시장조사와 통계자료분석 등을 통하여 제품의 컨셉을 50ml용량의 파우치형태로 결정하고 제조공정을 확립하였음. 시제품을 제조하여 기호도를 보완한 후 최종제품의 조성을 결정하였고 상온과 40℃에서 안정성을 조사하였으며 제품의 대량생산을 위한 비늘버섯 추출의 최적조건을 조사하였음.

2. 관련분야의 기술발전예의 기여도

- 기능성이 우수한 비늘버섯의 선발과 가공제품의 개발을 통한 버섯재배농가와 농업 기업체의 소득 증대에 크게 기여할 것임.
- 기능성이 우수하며 가공적성이 좋은 비늘버섯의 개발에 의한 새로운 소득 작용 창출
- 기능성 비늘버섯 제품 개발로 국민 건강 증진에 크게 기여할 것이고 나아가 외국산 관련제품의 수입대체효과가 기대됨

3. 산업적 기여도(특허출원) : 출원번호 : 10-2007-0048145(2007)

- ※ 제목 : 비늘버섯에 함유되어 있는 항고지혈성 에이치 엠 지 코 에이 환원효소 저해물질의 정제 방법 및 물질특성

4. 학문적 기여도

- 1) Screening of Bioactive Compounds from Mushroom *Pholiota* sp. Korean J. Mycology. 34(1) : 15-21 (2006)
- 2) Effects of *Lycii fructus* and Edible Mushroom, *Pholiota adiposa*, on the Quality and ACE Inhibitory Activity of Korean Traditional Rice wine. Food Biotechnol. 20 : 183-191 (2006)
- 3) Production and Characterization of Antihypertensive Angiotensin I -Converting Enzyme Inhibitor from *Pholiota adiposa*. J. Microbiol. Biotechnol. 16(5) : 757-763 (2006)
- 4) 학회 발표 내용
 - 버섯으로부터 심혈관 질환 관련 생리기능성 물질의 생산 및 특성. 한국버섯학회. (2005).
 - 비늘버섯의 노화 억제 생리기능성 물질의 탐색. 한국버섯학회. (2005).
 - Isolation and Characterization of Novel Cardiovascular Agents from Mushrooms. 한국균학회. (2006).
 - HMG-CoA Reductase Inhibitor from *Pholiota adiposa*. 한국버섯학회. (2006).
 - Isolation and characterization of a anticholesterolemic β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A(HMG-CoA) reductase inhibitor from

Pholiota adiposa. International Mycological Congress. (2006).

- Effect of *Pholiota adiposa* extract in hyperlipidemic mice. International Mycological Congress. (2006).
- Manufacture and characterization of Functional Foods by Using *Pholiota adiposa*, 한국버섯학회. (2007)

협동 : 비늘버섯류의 분류 및 인공재배법 개발

1. 연구개발 목표의 달성도

구분	연구개발 목표	목표 달성도
1차년도 (2005)	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 국내외 비늘버섯 균주의 수집 및 DNA marker를 이용한 분류, 동정과 유연관계조사 ◦ 비늘버섯 균주의 자실체 생산 	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 국내외 버섯 관련 연구소와 대학 버섯은행 등에서 83종의 비늘버섯을 분양받고 33종은 수집하여 총 116종의 비늘버섯 균주를 확보하였음. ◦ 수집균주의 배양적 특성을 PDB 배지 등을 이용하여 조사하였고 형태학적, 발생생태학적 등을 조사하였음. ◦ RAPD를 이용하여 genomic DNA의 유연성을 분석하였음.
2차년도 (2006)	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 기능성 물질 대량생산을 위한 비늘버섯 자실체 배양 최적 조건 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 자실체 대량생산을 위한 인공재배 조건을 최적화시켰고 추가로 수집된 비늘버섯의 분류 동정과 유연성을 조사 하였음.
3차년도 (2007)	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 자실체 대량생산을 위한 인공재배조건 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 선정된 비늘버섯의 자실체 재배법의 농가보급을 위한 다양한 재배방법과 재배 조건을 조사하였음.

2. 기여도

- 비늘버섯의 분류 동정과 유연성 분석기술은 여타 버섯의 정확한 분류에 크게 활용 될 것임.
- 자실체 인공 재배법은 버섯재배농가의 경제적 버섯생산에 크게 기여할 것임.
- 학문적 기여도
 - 배지와 배양조건이 검은 비늘 버섯의 균사 생장에 미치는 영향, 한국 농업 대학 현장농업연구지 7(1) : 74-80 (2005)

위탁 : 비늘버섯 및 버섯가공제품의 영양 및 생리기능성 성분 분석

1. 연구개발 목표의 달성도

구분	연구개발 목표	목표 달성도
1차년도 (2005)	◦ 비늘버섯의 식품영양성분 분석	◦ 시료 비늘버섯의 일반성분으로 조단백질, 조지방, 탄수화물, 조회분함량 등을 조사하였고 칼슘 등의 무기질과 비타민류를 분석하였음. ◦ 아미노산과 지방산조성, β -glucan함량 등을 측정하였음.
2차년도 (2006)	◦ 비늘버섯 기능성 물질의 기능성 발현 기작 규명 - 동물실험	◦ 항고지혈성 HMG-CoA reductase 저해활성이 우수한 <i>Pholiota adiposa</i> PAD-022의 추출물을 이용하여 고지방식이 실험동물에서의 지방합성억제효과 등을 조사하여 시료 비늘버섯의 생리 기능성을 확인하였음.
3차년도 (2007)	◦ 비늘버섯 가공제품의 품질 특성조사	◦ 비늘버섯 가공제품의 품질 특성을 조사하였음. ◦ 2년차 연구 결과 심사에서의 보완 요구사항인 시료 비늘버섯의 stigmasterol 함량을 측정하였음.

2. 기여도

- 비늘버섯 기능성 물질의 효능 확인을 위한 동물실험기법은 다른 버섯이나 기능성 신소재의 효능 확인에 매우 유용하게 활용될 것임.
- 시제품의 품질 특성과 기능성 측정 실험기법은 품질관리와 소재의 표준화에 크게 활용될 것임.
- 학문적 기여도
 - Extraction yield and nutraceuticals of mushroom *Pholiota* species. J. Mushroom Science and Production. 4(2) : 57-61 (2006)
 - Effect of a *Pholita adiposa* Extract on Fat Mass in Hyperlipidemic Mice. Mycology. 34(4) : 236-239 (2006)

제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

1. 추가 연구의 필요성 및 계획

- 기능성이 우수한 여타의 비늘버섯에 대한 기능성 물질의 특성 규명과 산업화를 위한 연구가 추가로 요구됨.
- 시제품이 실제 제품화 될 수 있도록 특허등록과 더불어 개별 인정형으로 식약청 승인이 이루어져야 함.
- 새로운 기능성 버섯 대량 재배기술과 연중 안전 생산체계를 농가에 보급할 계획임.
- 개발된 다양한 기술들을 영농 교육자료로 활용할 계획임.
- 다른 종류 버섯들의 기능성 탐색과 물질특성규명 및 산업화에 크게 활용될 것임.

2. 기업화 추진 계획

- 연구 종료 후 특허등록과 식약청 개별 인정형으로 승인을 얻은 후(1년) 기업체에 기술이전하여 산업화 시킬 계획임.

제 6 장 연구 개발 과정 중 해외 과학기술 정보 수집

1. 제 5차 세계 버섯 및 버섯 제품 학술 회의

(2005년 4월 8일 ~ 2005년 4월 12일, 중국 상해, 총 참여인원 : 12개국 680명)

1) 주요 내용

- Keynote lectures : 2편, Plenary lectures : 29편, Panel lectures : 7편, Oral presentation : 61편, Poster presentation : 93편 (총 192편)
 - ※ 버섯의 유전육종, 분류, 재배 및 병충해 방제, 가공 및 약리효능, 판매 및 유통 등에 관한 최근의 연구내용들이 소개되었음.
- 버섯재배농가(The Shanghai Pudong Tian Chu Mushroom Co.)와 버섯 가공 기업체 (Jiangsu Danyan Mushroom Co., Jiangsu Anhui Biological Technol. Co. Ltd.) 방문
- 버섯제품과 기구류 전시회

2) 발표 및 수집 내용

- “Characterization of Novel Antihypertensive Angiotensin I- Converting Enzyme Inhibitors from Mushrooms” 구두발표
- “Production of a New Elastase Inhibitor from Mushrooms” 포스터 발표
- 제 5차 세계버섯 및 버섯 제품 학술회의 proceedings, Shiitake Cultivation 외 다수의 단행본과 문헌 수집
- 영지버섯 과자 외 18종의 버섯 가공품 수집

2. 제 8차 국제 균학회 학술회의

(2006년 8월 20일 ~ 8월 24일, 호주 케언즈)

1) 주요 내용

- 심포지움 : 55편, Plenary lecture : 5편, Honorary lecture : 1편, Poster

presentation : 발표

Section : 1 - Phylogeny, systematics and evolution

2 - From Genomics to proteomics

3 - Plant and fungal pathogens

4 - Cell biology and physiology

5 - Biodiversity and conservation

6 - Food mycology and mycotoxins

7 - Industrial mycology

8 - Population genetics

9 - Mycorrhizae

10 - Animal pathogens

- 제품(식용균) 및 기기 전시회
- 참가인원 : 25개국 약 900명

2) 발표 및 수집내용

- Isolation and characterization of a anticholesterolemic HMG-CoA reductase inhibitor from *Pholiota adiposa* :포스터 발표
- Isolation and characterization of a novel antithrombotic compound from mushrooms : 포스터 발표
- ※ 야생 식물원의 고목에서 열대 버섯류를 관찰할 수 있었고 야채시장에서 식용으로 판매되고 있는 송이버섯 등을 조사 할 수 있었음. 그러나 버섯 가공품들은 과자 외 거의 없었음.

제 7 장 참고 문헌

- Alberts, A. W., Chen, J.,G., Hunt, V., Hoffman, C., Rothrock, J., Lopez, M.,Hoshua, H., Harris, E., Patchett, A., Monaghan, R., Currie, S., Stapley, E., Albers-Schonberg, G., Hensens, O., Hirshfield, J., Hoogsteen, K., Liesch, J., & Springer, J. (1980). Mevinolin: A highly potent competitive inhibitor of hydroxy methylglutaryl coenzyme A reductase and cholesterol lowering agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77, 3957-3961.
- AOAC(2002) *Official method of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. 17th ed. Arlington, Virginia.
- Beck, G., Kessler, K., Baader, E., Bartmann, W., Bergmann, A., Granzer, E., Jendralla, H., Von kerekjarto, B., Krause, R., Paulus, E., Schubert, W., & Wess, G. (1990). Synthesis and biological activity of new HMG-CoA reductase inhibitors. 1. Lactones of pyridine- and pyrimidine-substituted dihydroxy-6-heptenoic (-heptanoic) acids. *Journal of Medicinal Chemistry*, 33, 52-60.
- Biggs, H. G., Erikson, T. A., & Moonrehead, W. R. (1975). A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clin. Chem*, 21, 437-441.
- Bischoff K. M., & Rodwell, V. W. (1992). Biosynthesis and isolation of (S) and (R)-3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A. *Biochem. Med. Metab. Biol*, 48, 149-158.
- Bochar, D. A., Stauffacher, C. V., & Rodwell, V. W. (1999). Investigation of the conserved lysine of Syrian hamster 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *Biochemistry*, 38, 15848-15852.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive methods for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 7, 248-254.
- Cho, S. M., Lee, Y. M., Lee, D. H., Chun, H. K., & Lee, J. S. (2006). Effect of a *Pholiota adiposa* extract on fat mass in hyperlipidemic mice. *Mycobiology*, 34, 236-239.
- Daniel, A. B., Lydia, T., Stauffacher, C. V., & Rodwell, V. W. (1999).

- Investigation of the conserved lysines of Syrian hamster 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *Biochem*, 38, 15848-15852.
- Daniel, A. B., Lydia, T., Stauffacher, C. V., & Rodwell, V. W. (1999). Aminoethylcysteine can replace the active site lysine of *Pseudomonas mevalonii* 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *Biochem*, 38, 8879-8883.
- Duncan, D. B. (1957). Multiple range test for correlated and heteroscedastic means. *Biometrics*, 13, 164-176.
- Endo, A. (1993). HMG-CoA reductase inhibitors. *Natural Products Reports*, 10, 541-550.
- Endo, A., Hasumi, K., Nakamura, T., Kunishima, M., & Masuda, M. (1985). DihydromonacolinL and monacolin X, new metabolites those inhibit cholesterol biosynthesis. *Journal of Antibiotics*, 38, 321-327.
- Endo, A., Kuroda, M., & Tsujita, Y. (1976). ML-236A, ML-236B, and ML-236C, New inhibitorscholesterogenesis produced by *Penicillium Citrinum*. *Journal of Antibiotics*, 29, 1346-1348.
- Folch, J., Less, M., & Sloanestanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues, *J. Biol. Chem*, 226, 497-597.
- Frimpong, K., & Rodwell, V. W. (1994). The active site of hamster 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase resides at the subunit interface and incorporates catalytically essential acidic residues from separate polypeptides. *J. Biol. Chem*, 269, 1217-1221.
- Frimpong, K., & Rodwell, V.W. (1994). Catalysis by Syrian hamster 3-hydroxy-3-methylreductase. Proposed roles of histidine 865, glutamate 558, and aspartate 766. *Journal of Biological Chemistry*, 269, 11478-11483.
- Hargis P. S. (1988). Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a review. *World's Poultry Sci. J*, 44, 17.
- Istvan, E. S., & Deisenhofer, J. (2001). Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA *Science*, 292, 1160-1164.
- Jeon, B. S., Park, J. W., Shin, G. G., Kim, B. K., Kim, H. K., Cho, Y. S., & Cho, J. Y. 2004. Effect of fermented mushroom milk on hyperlipidemia

- and hepatic injury in streptozotocin-induced diabetic and Zucker diabetic fatty rats. *Food Sci. Biotechnol*, 13, 567-580.
- Joan Quilez, Joan A. Ruiz, Gemma Brufau, Magda Rafecas. 2006. Bakery products enriched with phytosterols, α -tocopherol and β -carotene. Sensory evaluation and chemical comparison with market products. *Food Chemistry*, 94:399-405.
- J. Tivo, V. Piironen, P. Kalo, P. Varo. 1998. Gas chromatographic determination of major sterols in edible oils and fats using solid-phase extraction in sample preparation. *Chromatographia*, 48(11/12):745-750.
- Kim, H. H., Na, J. G., Chang, Y. K., Chun, G. T., Lee, S. J., & Jeong, Y. H. (2004). Optimization of submerged culture conditions for mycelial growth and exopolysaccharides production by *Agaricus blazei*. *Journal of Microbiology Biotechnology*, 14, 944-951.
- Kim, H. J., Lee, D. H., Hwang, Y. Y., Lee, K. S., & Lee, J. S. (2005). Characterization of β -Hydroxy- β -methylglutaryl Coenzyme A reductase inhibitor from *Pueraria thunbergiana*. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 53, 5882-5888.
- Kim, Y. S., Jung, E. A., Shin, J. E., Chang, J. C., Yang, H. K., Kim, N. J., Cho, K. H., Bae, H. S., Moon, S. K., & Kim, D. H. (2002). Daio-Orengedokuto inhibits HMG-CoA reductase and pancreatic lipase. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25, 1442-1445.
- Kleinsek, D. A., Dugan, R. E., Baker, T. A., & Porter J. W. (1981). 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase from rat liver. *Method in enzymology*, 71, 462-479.
- Koo, K. C., Lee, D. H., Kim, J. H., Yu, H. E., Park, J. S., & Lee, J. S. (2006). Production and characterization of antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Pholiota adiposa*. *Journal of Microbiology Biotechnology*, 16, 757-763.
- Kunio Torii. 1997. Taste and Nutrition-Central mechanism of preference change under nutritional disorders-. *J. Appl. Glycosci.* 44(1):105-113.
- Lee, D. H., Kim, J. H., Cheang, J. C., Gong, W. S., Yoo, Y. B., Park, J. J., Yoo, C. H., & Lee, J. S. (2003). Screening of mushrooms having antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitor. *Korea Journal*

- of Mycology*, 3, 148-154.
- Lee, H. J., & Choi, M. S. (1999). Measurement of inhibitory activities on 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and Acyl-CoA:Cholesterol acyltransferase by various plant extracts in vitro. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition*, 28, 958-962.
- Lee, J. S., Cho, S. P., Yang, B. K., Jeong, Y. T., Ra, K. S., & Song, C. H. (2004). Immunomodulating activity of the exopolymer from submerged mycelial culture of *Phellinus pini*. *Journal of Microbiology Biotechnology*, 14, 15-21.
- Lee, S. H., Park, H. J., Chun, H. K., Rhie, S. G., & Lee, Y. S. (2003). Supplementary effect of the rice germ oil on lipid metabolism in diabetic KK mice, *Korean J. Community Living Science*, 14, 59 - 65.
- Lee., S. Y. (1990). Cholesterol. *Shinkwang Publish Co. Seoul. South Korea*.
- Mizuno, T. 1989. Development and utilization of bioactive substances from medicinal and edible mushroom fungi (1). *The chemical times* 1:12-21.
- Mizuno, T. 1993. Food function and medicinal effect of mushroom fungi. *Foods & Food Ingredients Journal* 158:8-23.
- Oh. S. W., Lee, C. U., & Koh, J. B. (2004). Effects of *Agaricus blazei* Murill on Lipid Metabolism in Eats Fed High Fat Diet. *J. Korean Soc Food Sci Nutr*, 33, 821-826.
- Park, J. S., Hyun, K. W., Seo, S.B., Cho, S. M., Yoo, C. H., & Lee, J. S. (2003). Detection of platelet aggregation inhibitors and fibrinolytic substances from mushrooms. *Korean Journal of Mycology*, 31, 114-116.
- Siperstein, M. D. (1970). Regulation of cholesterol biosynthesis in normal and malignant tissues. *Current Topics in Cellular Regulation*, 2, 65-100.
- Siperstein, M. D., & Fagan, V. M. (1966). Feedback control of mevalonate synthesis by dietary cholesterol. *Journal of Biological Chemistry*, 241, 602-609.
- Sung, J. H., Choi, S. J., Lee, S.W., Park, K. H., & Moon, T. W. (2004). Isoflavones found in Korean soybean paste as 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase inhibitors. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68, 1051-1058.
- Tobert, J. A. (1987). New developments in lipid-lowering therapy: the role

- of inhibitors of hydroxymethyl glutaryl-coenzyme A reductase. *Circulation*, 76, 534-538.
- Wess, G., Kessler, K., Baader, W., Bartmann, W., Beck, G., Bergmann, A., Jendralla, H., Dolzstein, G., Kleine, H., & Schnierer, M. (1990). Stereoselective synthesis of HR 780new highly potent HMG-CoA reductase inhibitor. *Tetrahedron Letters*, 31, 2545-2548.
- Yang, B. K., Wilson, M. A., Cho, K. Y., & Song, C. H. (2004). Hypoglycemic effect of exo- and endo-biopolymers produced by submerged mycelial culture of *Ganoderma lucidum* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Microbiology Biotechnology*, 14, 972-977.
- Yu, H. E., Cho, S. M., Seo, G. S., Lee, B. S., Lee, D. H., & Lee, J. S. (2006). Screening of bioactive compounds from mushroom *Pholiota* sp. *Korea J. Mycol*, 34, 15-21.
- Yuarn, J., Tsai, M. Y., Hegland, J., & Hunninghake, D. B. (1991). Effects of fluvastatin(XU62320), an HMG-CoA reductase inhibitor, on the distribution and of low density lipoprotein subspecies in humans. *Atherosclerosis*, 87, 147-157.
- Zlatkis, A., Zak, B., & Boyle, A. J. (1953). A new method for the direct determination of serum cholesterol. *J. Lab. Clin. Med*, 41, 486 - 492.
- 유창현, 박정식, 유영복, 전창성, 공원식, 정종천, 장갑열, 조용현, 석순자, 이찬복, 이재성, 황태익, 이종수, 정일민. (2004). 고부가가치 창출을 위한 기능성 버섯의 개발 및 이용 연구. 농림부 농림특정과제 최종 연구보고서. 329 pp.
- 강미선, 강태수, 강안석, 손형락, 성재모. (2000). 큰느타리버섯(*Pleurotus eryngii*)의 균사배양 및 인공재배에 관한 연구. *한국균학회지*, 28, 73.-80.
- 강안석, 강태수, 조수목, 유창현. (2001). 개암버섯균의 액체배양과 균사체의 성분에 관한 연구. *한국균학회지*, 29, 22-27.
- 김명곤, 최한석, 박효숙, 김성준. (2003). 뽕나무버섯(*Armillaria mellea*)균사체 생산의 최적화. *한국균학회지*, 31, 187-191.
- 김한경, 박정식, 차동열, 김양섭, 문병주. (1994). 잣버섯 인공재배에 관한 연구 (I)-균사체 배양조건에 관하여- *한국균학회지*, 22, 145-152.
- 노일협, 박완희, 김병각. (1983). 비늘버섯의 성분에 관한연구 (제2보). *한국균학*

- 회지, 11, 35-37.
- 박동수, 이재근, 성재모. (1997). 강원도에 분포하는 고등균류의 조사와 검은비늘버섯균(*Pholiota adiposa*)의 자실체형성에 관한 연구. *농업과학연구*, 8, 37-46.
- 박동수, 이재근, 성재모. (1998). 비늘버섯속균(*Pholiota* sp.)의 특징과 자실체형성. *한국균학회지*, 26, 194-199.
- 박정식, 장갑열, 차동열, 전창선. 1996. 신령버섯 재배 생리 연구. 농촌진흥청 시험연구사업보고서 pp. 645-650
- 박정식, 조수목, 정종철, 홍인표, 김양섭. 1999. 버섯류로부터 기능성물질 탐색. 농촌진흥청 시험연구사업보고서
- 성재모, 문희우, 박동수. (1999). 액체배양에서 느타리버섯균의 적합한 생장조건 구명. *한국균학회지*, 27, 1-9.
- 식품공전(2001) 식품의약품안전청
- 농촌진흥청 농촌자원개발연구소 (20061) : 식품성분표 , 제 7개정판
- 이중화, 오대섭, 홍영석, 윤익섭(1966) 식품분석. 진로사.
- 장갑열, 전창성, 신철우, 박정식, 정종천, 최선규, 성재모. (2003). 전북느타리버섯(*Pleurotus cystidiosus* O.K.Miller)의 형태적 및 생리적 특성에 관한 연구. *한국균학회지*, 31, 141-147.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.