

발 간 등 록 번 호

11-1543000-002586-01

버섯의 액체종균 생산을 위한 배양조건의 최적화 및 유효성분 분석 최종보고서

2019. 03. 25.

주관연구기관 / 경상대학교 산학협력단
협동연구기관 / 농업회사법인 귀담버섯(주)

농 립 축 산 식 품 부
농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “버섯의 액체종균 생산을 위한 배양조건의 최적화 및 유효성분 분석”(개발
기간 : 2017. 04. 21. ~ 2018. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 03. 25.

주관연구기관명 : 경상대학교 산학협력단 (대표자) 정 종 일 (인)

참여기관명 : 농업회사법인 귀담버섯(주) (대표자) 김 선 호 (인)

주관연구책임자 : 성 낙 주

참여기관책임자 : 김 선 호

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	117013-2	해 당 단 계 연 구 기 간	2018.01.01.~ 2018.12.31	단 계 구 분	(2단계)/ (2단계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 연구사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	버섯의 액체종균생산을 위한 배양조건의 최적화 및 유효성분 분석			
연구책임자	성낙주 김선호	해당단계 참여연구원 수	총: 8명 내부: 6명 외부: 2명	해당단계 연구개발비	정부:58,000천원 민간:15,000천원 계:73,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 17명 내부: 12명 외부: 5명	총 연구개발비	정부:116,000천원 민간:30,000천원 계:146,000천원
연구기관명 및 소속부서명	경상대학교 산학협력단			참여기업명: 농업회사법인 귀담버섯(주)	
국제공동연구	상대국명: -			상대국 연구기관명: -	
위탁연구	연구기관명: -			연구책임자: -	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
----------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명정 보	생물자 원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장 비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

- 액체종균의 배양조건으로 느타리버섯은 pH 6, 포도당 20 g이 첨가된 대두박 배지, 표고버섯은 pH 5~6, 포도당 20 g 또는 설탕 15~20 g이 첨가된 대두박 배지, 꽃송이버섯은 pH 4~5.6, 포도당 20~30 g이 첨가된 옛기름 배지로 선정하였음.
- 느타리버섯의 액체 및 고체종균을 동일한 조건에서 재배한 결과 액체종균을 이용한 버섯에서 생장이 빨랐으며, 생산량도 많았음. β-Glucan 함량은 종균에 따른 차이가 없었음. 필수아미노산과 총 페놀 함량 및 항산화 활성은 액체종균으로 생산된 버섯에서 유의적으로 높았음.
- 표고버섯은 수확주기가 경과됨에 따라 아미노산, β-glucan과 총 페놀 함량 및 항산화 활성이 감소되는 경향이었음.
- 액체종균에 의한 표고버섯의 무기물 및 아미노산 함량은 종균에 따른 차이가 없었음. 액체종균에 의한 버섯의 β-glucan, 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 시판 버섯과 비슷한 수준이었음. 라디칼 소거활성은 액체종균에 의한 버섯과 시판 버섯이 유사한 경향이었음.
- 액체종균에 의한 꽃송이버섯의 무기물, 구성아미노산 및 유리아미노산 함량은 액체종균에 의한 버섯과 시판 버섯과 유사하였으며, β-glucan 함량 및 항산화 활성은 액체종균에 의한 버섯이 시판 버섯에 비해 유의적으로 높았음.

보고서 면수

p. 152

SUMMARY

- The cultivation conditions of liquid spawn for oyster mushroom(*Pleurotus ostreatus*), shiitake mushroom(*Lentinula edodes*) and cauliflower mushroom(*Sparassis crispa*) were soybean meal medium supplemented with pH 6 and 20 g of glucose, soybean meal medium supplemented with pH 5~6, 20 g glucose, or 15~20 g of sugar, and malt medium supplemented with pH 4~5.6 and 20~30 g of glucose.
- In comparison of the cultivated mushroom with the liquid and solid spawn under the same conditions, the growth of mushroom using liquid spawn was fast and the yield was higher. β -Glucan content was not different according to the spawn. Essential amino acids, total phenol content and antioxidant activities were significantly higher in mushrooms cultivated by liquid spawn.
- In the *Lentinula edodes* mushroom, amino acid, β -glucan, total phenol content and antioxidant activities tended to decrease according to harvest interval.
- The contents of minerals and amino acids in the *Lentinula edodes* mushroom by liquid spawn were not different according to the spawn. The contents of β -glucan, total phenol and flavonoid in mushroom by liquid spawn were similar to those of commercial mushroom. The radical scavenging activities were similar to those of liquid spawn and commercial mushroom.
- The contents of minerals, constituent amino acids and free amino acids of *Sparassis crispa* mushroom by liquid spawn were similar to those of commercial mushroom, and the content of β -glucan and antioxidant activities were significantly higher than those of commercial mushroom.

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 연구목적 <ul style="list-style-type: none"> ■ 현재 우리나라 느타리버섯 농가의 99% 이상이 톱밥고체종균을 사용하고 있는데, 고체종균은 액체종균에 비해 생산기간이 길고 인건비 소요가 많아 시판 버섯의 가격 상승에 주된 요인이 되고 있음. ■ 액체종균을 이용하는 기술은 이미 1990년경에 개발되었으나 지금까지 농가에서 실질적으로 적용하지 못하고 있는데, 이는 세균 오염을 방지하는 시스템이 구축되지 않았기 때문임. 실례로 팽이버섯과 새송이버섯에서 세균에 오염된 액체종균으로 재배한 한국산 버섯에서 '리스테리아'균의 검출로 인해 유럽의 유통업체로부터 리콜사태가 발생한 바 있으며, 이 사건으로 인해 버섯재배 농가에 막대한 피해를 초래한 바 있음. ■ 고체종균에 비해 액체종균은 재배기간이나 인건비 등을 획기적으로 줄일 수 있고, 생산성을 높일 수 있음에도 불구하고 농가에서 고체종균을 이용하고 있는 이유는 액체종균을 대량으로 생산하는 업체가 없고, 또 세균오염을 방지할 수 있는 시스템의 부재로 어쩔수 없이 생산비가 높은 고체종균을 사용하고 있는 실정임. ■ 따라서, 본 연구에서는 세균오염을 배제시킨 최적의 액체종균을 생산하고, 고체종균과 액체종균 버섯의 기능성 성분을 분석하여 궁극적으로 안전성이 확보되고 기능성이 높은 값싼 액체종균을 개발하고자 함. ● 연구내용 <ul style="list-style-type: none"> ■ 느타리버섯의 영양성분 및 생리활성 평가 <ul style="list-style-type: none"> ■ 실험실 규모의 느타리버섯 최적 액체종균 개발 <ul style="list-style-type: none"> ▶ 접종원의 배양 ▶ 액체배지의 조제 ▶ 종균의 배양 ■ 영양성분 분석 <ul style="list-style-type: none"> ▶ 버섯의 일반성분(수분, 회분, 조단백질) 분석 : ▶ 버섯의 조직감 측정 ▶ 버섯의 색도 측정 ▶ 버섯의 pH 측정 ▶ 총당 및 환원당 정량 ▶ 버섯의 무기물 정량 ▶ 구성 아미노산 및 유리 아미노산 정량 ▶ β-glucan 정량 ▶ 총 페놀 및 플라보노이드 정량 ■ 생리활성 평가 <ul style="list-style-type: none"> ▶ 총 페놀 및 플라보노이드 함량 정량 ▶ 항산화 활성 측정(DPPH, ABTS 라디칼 소거능 및 환원력) ■ 버섯 분말 가공소재 개발(멀티비타민 소재, 조미료 대용 및 영양강화 첨가물 소재로 활용가능한 느타리버섯의 분말 가공)
------------------------	--

<p style="text-align: center;">연구의 목적 및 내용</p>	<p>■ 액체종균의 개발과 이를 이용한 느타리버섯의 생산</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ 접종원의 배양 ▶ 액체배지의 조제 ▶ 액체종균의 배양 ▶ 액체종균의 검증 ▶ 액체종균의 이용 ▶ 액체종균 배양에 의한 배지조성별 균사 배양, 균사 밀도 및 자실체 생육 특성 관찰 ▶ 자실체의 형태적 변화 비교 ▶ 버섯 재배 기간 및 수율 비교 ▶ 버섯 생육에 따른 오염도 평가 <p>■ 표고 · 꽃송이버섯의 영양성분 및 생리활성 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 실험실 규모의 표고 · 꽃송이 버섯의 최적 액체종균 개발 ■ 영양성분 분석: 버섯의 일반성분(수분, 회분, 조단백질) 분석, 버섯의 조직감, 색도 및 pH 측정, 총당 및 환원당 정량, 무기물 정량, 구성 아미노산 및 유리 아미노산 정량 및 β-glucan 정량, 총 페놀 및 플라보노이드 정량 ▶ 생리활성 평가 : 항산화 활성 측정(DPPH, ABTS 라디칼 소거능 및 환원력 측정) ■ 버섯 분말 가공소재 개발 : 표고 및 꽃송이버섯 분말 가공(멀티비타민 소재, 조미료 대용 및 영양강화 첨가물 소재로 활용) <p>■ 액체종균의 개발과 이를 이용한 표고 · 꽃송이버섯 생산</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ 접종원의 배양 : 삼각플라스크, 진탕배양, 배지량, 회전속도, 균질기 이용 ▶ 액체배지의 조제 <ul style="list-style-type: none"> - 액체배지의 종류와 산도 조절 - 액체배지의 살균 ▶ 액체종균의 배양 ▶ 액체종균의 검증 ▶ 액체종균의 이용 ▶ 액체종균 배양에 의한 배지조성별 균사 배양, 균사 밀도 및 자실체 생육 특성 관찰 ▶ 자실체의 형태적 변화 비교 ▶ 버섯 재배 기간 및 재배 수율 비교 ▶ 버섯 생육에 따른 오염도 평가
<p style="text-align: center;">연구개발성과</p>	<p>■ 사업화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 액체종균으로 생육된 느타리버섯의 동결건조분말, 표고버섯의 열풍 및 동결건조분말의 제조 - 고용창출 1명 - 매출 발생 : 느타리버섯 액체종균 배양액의 농가 보급(10,000,000원) 느타리버섯 액체종균 배양액의 보급, 배양 및 재배 기술의 교육 수행(70,000,000원)

<p>연구개발성과</p>	<p>■ 인력 양성 - 석사과정 1명, 학사과정 3명</p> <p>■ 학술 성과 - 국내 논문 1편 투고 (2017. Journal of Mushrooms): “느타리버섯의 액체종균 배양 조건과 생육 특성” - 국내 논문 1편 게재예정 (2019. Journal of Mushrooms): “액체종균으로 배양된 느타리버섯(<i>Pleurotus ostreatus</i>)의 이화학적 특성 및 항산화 활성” - 한국식품영양과학회 정기학술대회(2017.11.8.~11.10.) 포스터 발표 1편 - 한국식품영양학회 정기학술대회(2017.12.14.) 포스터 발표 1편 - 한국식품영양과학회 정기학술대회(2018.10.31.~11.2.) 포스터 발표 2편</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>○ 액체종균의 개발로 버섯 재배기간 단축, 인건비 절감 및 작업 효율성 향상 ○ 고체종균에 비해 액체종균의 오염여부를 신속 진단함으로써 안전한 종균의 보급 및 재배 농가의 피해 최소화 ○ 기존 고체종균에 비해 균질화된 양질의 액체종균의 연중 보급 시스템 구축 ○ 액체종균의 사용으로 재배 농가의 종균 구입비용 절감 및 농가 소득 증대 ○ 버섯종균의 생산 비용 절감에 따른 버섯가격 및 버섯 가공품의 원재료 수급 안정화 ○ 액체종균은 고체종균에 비해 기능성이 향상된 상품의 버섯 생산이 가능하고, 또 이를 가공하여 2차 가공소재로 활용함으로써 버섯 소비를 조장함 ○ 액체종균의 사용으로 재배 농가의 종균 구입비용 절감 및 농가 소득 증대 ○ 액체종균의 생산을 위한 무균상태의 설비와 숙련된 기술이 요구되나, 활력이 높은 버섯균의 생산이 가능하여 버섯의 낮은 저장성 문제의 해결 및 농가의 경제적 이익 창출.</p>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>버섯 액체종균</p>	<p>느타리버섯</p>	<p>표고버섯</p>	<p>꽃송이버섯</p>	<p>버섯 가공품</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Mushroom liquid spawn</p>	<p><i>Pleurotus ostreatus</i></p>	<p><i>Lentinula edodes</i></p>	<p><i>Sparassis crispa</i></p>	<p>Mushroom product</p>

< CONTENTS >

Chapter 1. Introduction	1
Chapter 2. Content of study and results	13
Chapter 3. Degree of objective accomplishment and area contribution	138
Chapter 4. Plan of results application	142
References	144
Research achievement	152

< 목 차 >

1장. 연구개발과제의 개요	1
2장. 연구수행 내용 및 결과	13
3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	138
4장. 연구결과의 활용 계획 등	142
참고 문헌	144
연구 성과	152

제 1 장. 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발 목적

- 현재 우리나라 느타리버섯 농가의 99% 이상이 톱밥 고체종균을 사용하고 있는데, 고체종균은 액체종균에 비해 생산기간이 길고 인건비 소요가 많아 시판 버섯의 가격 상승에 주된 요인이 되고 있음.
- 액체종균을 이용하는 기술은 이미 1990년경에 개발되었으나 지금까지 농가에서 실질적으로 적용하지 못하고 있는데, 이는 세균 오염을 방지하는 시스템이 구축되지 않았기 때문임. 실제로 팽이버섯과 새송이버섯에서 세균에 오염된 액체종균으로 재배한 한국산 버섯에서 ‘리스테리아’균의 검출로 인해 유럽의 유통업체로부터 리콜사태가 발생한 바 있으며, 이 사건으로 인해 버섯재배 농가에 막대한 피해를 초래한 바 있음.
- 고체종균에 비해 액체종균은 재배기간이나 인건비 등을 획기적으로 줄일 수 있고, 생산성을 높일 수 있음에도 불구하고 농가에서 고체종균을 이용하고 있는 이유는 액체종균을 대량으로 생산하는 업체가 없고, 또 세균오염을 방지할 수 있는 시스템의 부재로 어쩔수 없이 생산비가 높은 고체종균을 사용하고 있는 실정임.
- 따라서, 본 연구에서는 세균오염을 배제시킨 최적의 액체종균을 생산하고, 고체종균과 액체종균 버섯의 기능성 성분을 분석하여 궁극적으로 안전성이 확보되고 기능성이 높은 값싼 액체종균을 개발하고자 함.

제 2절 연구개발의 필요성

1. 연구개발 개요

- 국내 버섯산업은 느타리버섯, 새송이버섯, 팽이버섯, 양송이버섯, 표고버섯 등 5대 식용버섯을 중심으로 약 1조원 규모의 시장을 형성하고 있으며, 농산 버섯으로 분류되는 느타리버섯, 새송이버섯, 팽이버섯, 양송이버섯은 연 15만톤 이상으로 전체 농업생산의 2%정도를 차지하고 있는 고소득 작물임.
- 느타리버섯[*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm]은 우리나라에서 가장 많이 재배되고 있는 버섯의 하나로 우리나라 농산버섯의 총 생산량 183천톤 중 76천톤으로 총 생산량의 42%

를 차지하고 있어 경제적으로 비중이 높은 품목임(농림수산식품부, 2014). 특히 2013년의 국내 생산면적과 생산량은 각각 201 ha, 66,039 M/T으로 전년도에 비해 각각 5.38%, 27.02%씩 증가하였음(특용작물생산실적, 2014).

- 현재 우리나라 느타리버섯 농가의 99% 이상이 톱밥고체종균을 사용하고 있는데, 고체종균은 액체종균에 비해 생산기간이 길고 인건비가 많아 시판 버섯의 가격 상승의 주된 요인이 되고 있음. 더욱이 느타리버섯은 배지의 종류에 따라 수확량과 품질에 큰 차이가 있는바 고체종균에 비해 액체종균을 사용할 경우 종균 비용의 절감과 품질 향상으로 버섯의 가격 안정화, 국제 경쟁력 및 농가소득 증대에 유리함. 현재 우리나라 느타리버섯 등록품종은 52종(국립종자원, 2015)으로, 이 중 병재배되고 있는 것은 ‘수한1호’, ‘흑타리’, ‘곤지7호’, ‘춘추2호’ 등이 있으며, 고체종균을 이용하는 병재배는 주로 톱밥, 비트펄프 및 면실박을 혼합하여 사용되고 있으나, 최적 배지 조성은 확립돼 있지 않은 실정임. 이에 비해 액체종균은 톱밥배지에 부착이 용이하며, 사용이 편리하여 농가에서 쉽게 이용할 수 있는 장점을 갖고 있음.
- 표고버섯(*Lentinula edodes*)은 원목을 이용한 생산방식에서 원목 자원의 구입 및 노동력 부족으로 참나무 톱밥을 이용한 봉지재배 방식으로 전환되고 있으며, 이에 따른 표고버섯 생산 비율이 30~40%에 달하고 있음. 표고버섯의 톱밥 재배는 원목 재배에 비하여 재배기간이 단축되고 생산량도 증가되는 장점이 있으나, 톱밥배지에 의한 생산량 급증으로 값싼 중국산 톱밥배지의 수입으로 균주 및 배지에 대한 안정성 문제가 야기되고 있음. 특히 바이러스, 세균 및 곰팡이의 감염이 톱밥배지에서는 육안으로 확인이 불가능하며, 또한 수입 배지의 특성에 대한 정보 부재로 농가 피해가 심각한 수준임. 특히 톱밥봉지 재배는 톱밥종균을 사용하고 있으나, 액체종균의 사용 시 접종방식이 효율적일 것으로 예상됨
- 꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)은 β -1,3-D-glucan 함량이 가장 높은 버섯으로 면역활성 및 항암효과가 높은 것으로 알려져 있음. 꽃송이버섯의 β -1,3-D-glucan 추출물은 주사뿐만 아니라 경구투여에서도 동일한 효과를 보이며, 가열 추출한 경우에도 활성이 높아 이를 이용한 의약품 및 건강기능성 식품으로서의 개발 가능성이 큰 것으로 시사되고 있으며, 성인병 치료와 예방을 위한 제약과 기능성 식품의 개발에 폭넓게 활용될 가능성이 높은 작물임. 하지만 균사배양 및 자실체 생육속도가 느리고 다른 식용버섯에 비해 재배가 까다로운 편이라 일반 농가에서 재배에 어려움이 많음. 특히 인공재배 시 초기 활착이 늦고 푸른곰팡이에 약해 배양에 어려움이 많을 뿐만 아니라 평균 70~80일의 배양기간과 35~45일의 자실체 생육기간이 소요되므로 이를 보완할 연구가 절실히 요구됨.
- 버섯류 중 수용성 β -glucan의 함량을 보면 표고버섯 46%, 느타리버섯 27~38%, 큰느타리버섯 17%, 꽃송이버섯에 43.5%라는 보고가 있음. 표고버섯 및 꽃송이버섯은 배지조건에 따라

β -glucan의 함량에 차이를 보이는데, 표고버섯은 콩비지와 CaCl_2 첨가 배지(한국균학회지, 2016, 44, 296-299), 꽃송이 버섯은 미송+옥수수분말+소맥분+이스트(300 ppm) 혼합배지에서 재배할 경우 β -glucan 함량이 증가되는 것으로 보고된 바 있음(목재공학, 2014, 42, p. 428-438).

- 버섯 종균은 버섯균을 곡립이나 톱밥 또는 액체배지에서 순수 배양한 증식체로 작물에서 종자와 같은 역할에 해당됨. 통상적으로 버섯의 인공 재배는 버섯 재배용 나무나 고형 배지에 종균을 접종하고 배양 및 생육 등의 공정을 거쳐 자실체를 수확하게 되는데, 버섯 종균에는 톱밥 등의 배지를 사용하는 고체종균과 액체 배지를 사용하는 액체종균으로 대별됨. 특히 액체종균은 접종 능률이 뛰어나고 균사체량이 많은 장점이 있음.
- 표고버섯 재배 시 종균의 종류에 따른 버섯의 생산성 조사결과, 재배 1대의 버섯 생산량은 톱밥종균과 성형종균의 생산성이 양호하였으며, 액체종균은 배지당 버섯 생산량은 다소 낮으나, 개체중량(g/버섯)이 타 종균에 비해 높았음[국립산림과학원 연구보고(06-12호), “자연재배형 표고 톱밥재배 시스템”]. 톱밥종균은 버섯의 생산 수율을 높일 수 있으나, 액체종균은 종균 제조기간이 약 10일로써 타 종균에 비하여 배양기간이 월등히 단축될 뿐만 아니라 생산성이 톱밥종균에 비해 약 13% 이상 증가되었다고 보고됨(특허 제10-0591446-0000호).
- 최근 버섯의 인공 재배는 대형설비의 공장 시스템에서 실시되는 등 기계화가 추진되고 있으나, 상업적인 대량생산 및 안정적인 버섯 자실체의 제조를 위해서는 안전성이 확보된 종균의 대량 배양이 필요함. 이와 같이 액체종균은 종균 제조기간의 단축, 접종의 용이성, 생산성 증대, 균체량 증대, 균사 성장속도가 단축되는 등의 장점이 있으나, 균사가 자랄 수 있는 최적의 조건 확립 및 잡균에 오염되지 않는 철저한 관리가 요구됨.
- 국내의 버섯 재배기술은 상당한 발전을 거듭해온 결과, 최근에는 재배 기술과 품질에서 국제적 경쟁력을 확보함에 따라 수출 시장 개척과 수출 확대가 예상되고 있으나, 아직까지 버섯 재배의 원천기술인 품종 및 종균의 국산화는 미흡한 실정임. 특히 수출을 위해서는 가격 경쟁력이 있고 안전성이 확보된 종균의 생산과 관리 시스템의 구축이 절실히 요구됨.

2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

- 우리나라에서 종균배양과 재배 기술 지도는 1956년에 경기도 임업시험장에서 시작되었으며, 서울 정릉에 대한산림조합연합회 특수임산사업소를 설립하여 표고버섯 종균이 전문적으로 배양되기 시작하였으나, 1980년대까지는 주로 일본의 톱밥 종균을 수입하여 보급하였으며, 1990년대에 임업연구원과 산림조합(임협) 미생물사업소를 중심으로 우량품종을 육성하여 산림

4호 등 6개 품종을 등록한 후 보급되었음.

- 국내에서 종균에 관한 연구는 주로 품종개발에 관한 연구가 다수를 이루고 있으며, 1970년대 이후 버섯 재배 초기에는 배지의 재료 및 배합, 배양, 종균 검사 등에 관한 연구가 있었으나 그 이후 종균에 관한 연구는 미미한 실정이었음. 1989년 농촌진흥청에서 팽이버섯 재배와 관련하여 버섯액체종균 제조법이 개발 보급되면서 현재는 큰느타리와 팽이버섯을 중심으로 액체종균에 대한 세계 최고의 기술을 보유하고 있음.
- 반면, 종균 및 저장에 관한 연구는 1999년 경기도 농업기술원 버섯연구소에서 느타리버섯 종균의 저장에 관한 연구가 수행되었을 뿐 이외의 기초 연구가 거의 수행된 바 없으며, 2010년 이후 충남농업기술원에서 양송이버섯 배지재료의 검토, 액체 종균의 활용 가능성 등에 관한 연구가 진행된 바 있음.
- 강원도농업기술원에서 톱밥종균과 액체종균으로 잎새버섯의 균사 생성 속도를 비교한 결과, 톱밥종균에 비해 액체종균의 균사 성장속도가 증가되었다는 연구결과가 있음(그림 1).

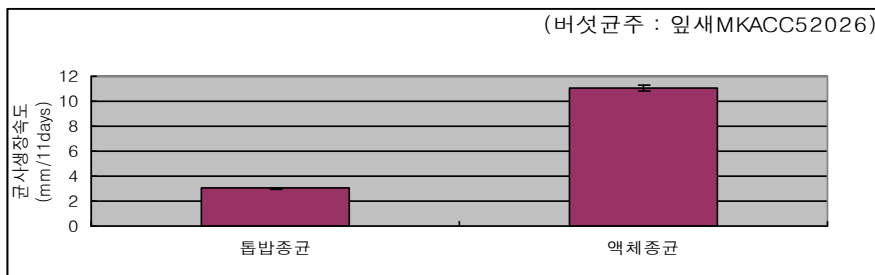


그림 1. 잎새버섯의 종균 종류에 따른 균사생장 속도비교(출처: 강원도농업기술원 04~06년).

- 강원도농업기술원에서 수행한 잎새버섯 봉지재배 시 톱밥고체종균에 비해 액체종균 사용 시 수확량이 더 많았다는 연구 결과가 있음(표 1).

표 1. 잎새버섯 봉지재배 시 종균의 종류별 수량특성

(버섯균주 : 잎새MKACC52026)

수량 지수	100	116
	215g/2.0kg 봉지	249g/2.0kg 봉지
구 분	톱밥종균	액체종균
균사배양기간 (일)	30	27
균사배양완성율(%)	100	94
초발이소요일수(일)	32	21
수확소요일수 (일)	43	42

※ 봉지배지량 : 2 kg/내열성 PP봉지, 생육온도 : 16.5±1°C,

액체종균의 조성비율 : 황설탕(540 g)+효모추출물(20)+콩식용유(15L/18수도수)
 (출처 : 강원도농업기술원 04~06년)

- 강원도농업기술원에서 수행한 잎새버섯의 봉지재배 시 톱밥고체종균과 액체종균의 예상되는 원가를 비교한 결과 액체종균의 접종비용 지수가 30%정도 절감되는 효과가 예상되었음(표 2).

표 2. 잎새버섯 재배시 톱밥종균과 액체종균의 사용에 따른 예상 원가 비교
 (접종비용 : 원/100봉지, 2kg봉지)

종균 종류	종균 재료비 및 접종비용	종균재료비 및 접종비용 지수
톱밥 종균	○ 종균재료 및 접종비용 : 144,650원 - 재료비(50병) : 50병(배지량 700g/병)×550원 = 27,500원 - 인건비 : 남자 : 5,000원×6.6시간×2인 = 66,000원 여자 : 3,875원×6.6시간×2인 = 51,150원	100
액체 종균	○ 종균재료 및 접종비용 : 51,368원 - 재료비(54 L) : 효모추출물(10,320원)+황설탕(1,890원)+ 콩식용유(108원) = 12,318원 - 인건비 : 남자 : 5,000원×2.2시간×2인 = 22,000원 여자 : 3,875원×2.2시간×2인 = 17,050원	36

(출처 : 강원도농업기술원 2004~2006)

- 경남농업기술원에서 수행한 연구에 의하면, 오염된 액체종균이 큰느타리버섯의 갈반현상 및 수량 감소 등의 피해가 수반된다는 보고가 있음(표 3).

표 3. *Bacillus* sp. 종별 오염 액체종균 이용에 따른 배양 및 생육 특성

균주명	^a 배양저해	^b 발이여부	^c 버섯수확여부	비고
<i>Bacillus subtilis</i>	+	-	-	
<i>Bacillus axarquiensis</i>	+	-	-	
<i>Bacillus</i> sp.	+	-	-	
<i>Bacillus safensis</i>	+	-	-	
<i>Bacillus licheniformis</i>	-	+	+	갈반증상
<i>Bacillus acidicola</i>	-	+	+	갈반증상
<i>Bacillus atrophaeus</i>	+	+	+	갈반증상
<i>Bacillus cereus</i>	-	+	+	갈반증상
<i>Bacillus pumilus</i>	-	+	+	수량감소
<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	+	수량감소
<i>Bacillus arsenicus</i>	+	+	+	수량감소
<i>Bacillus thuringiensis</i>	-	+	+	수량감소

^a +, 군사생육저해; - 군사생육 비저해. ^b +, 버섯발이; -, 버섯미발이 ^c. + 버섯수확; - 버섯미수확

- 충남농업기술원에서 표고버섯의 종균 종류별 톱밥재배 효과에 관한 연구 결과, 액체종균의 사용시 군사 활력이 강해 종균배양기간이 13일로 가장 짧으며, 종균접종작업도 편리할 뿐만 아니라 배지비용도 저렴했음. 반면에 액체종균 사용을 위해서는 초기설비 투자와 숙련된 기술이 요구되며, 대량 사용에 따른 잡균 오염시 피해규모가 큼(표고종균 종류별 톱밥재배 효과연구, 충남농업기술원, 2016).

표 4. 표고버섯 종균별 형태 및 균배양 기간

구 분	균배양기간	종균 종류별 형태
액체종균	13	
곡립종균	30	
톱밥종균	30	

○ 시장현황

- 국내 버섯 생산농가는 급격히 감소하고 있으나, 생산성 증가와 재배의 대형화 및 전문화로 생산량은 증가되고 있음. 일부 버섯의 경우 과잉 생산으로 가격 하락현상을 보이고 있어 수출

이나 가공을 통하여 새로운 소비패턴이 요구됨. 특히 양송이를 제외한 느타리, 팽이 및 큰느타리버섯의 가격은 계속 하락 추세임.

- 국내 종균 시장 규모는 균상재배용이 약 100억~120억 원, 병·봉지재배용이 약 200~300억 원 등 총 400여 억원에 이르고 있으나, 국산 종균 비중은 40%정도에 불과함. 양송이 등 일부 종균은 외국으로부터 수입하고 있으며, 'Sylvan' 등의 다국적 종균 기업은 양송이 종균을 국내보다 2~3배 비싼 가격에 판매하여 종균 시장 독점이 우려되고 있는 실정임. 그리고 버섯 종균은 민간 종균생산시설에서 주로 생산·보급되고 있으며, 수요에 비해 공급이 부족함(사)한 국종균생산협회, 산림조합중앙회 산림버섯연구소).
- 특히 표고버섯은 원목형태로 재배되었으나 톱밥봉지재배의 증가로 재배농가가 급속히 늘고 있는 추세이나 생산되는 톱밥봉지의 공급 부족 및 중국산 배지의 수입이 매년 증가되고 있으며, 게다가 수입산 버섯으로 인한 국내버섯 가격 하락, 종균의 로얄티 부담 증가, 중국산과의 가격경쟁력 부족 등으로 인해 국내 버섯 산업을 위협하고 있음.
- 현재 국내에서 육성되고 있는 버섯 품종은 15작물 50품종으로 비교적 다양한 편이나 국내 육성품종의 보급·확산 속도가 느린데, 그 원인은 1990년대 이후 느타리 등 균상재배가 감소하고 병 재배 위주의 자가 배양시설이 증가되면서 기존의 버섯 종균 배양소를 통한 종균공급 체계가 약화되었기 때문임(종균 및 버섯 수출입 대응 연구, 농림축산식품부 보고서, 2017).
- 국내의 버섯 유통은 생산농가, 도매시장, 중간도매상, 소매상을 기본 구조로 하며, 농가의 규모화에 따른 할인점 등 대형 유통업체와의 직거래 방식이 확대되는 추세임.
- 버섯 종균 수입은 2013년 기준, 470만불(약 51억 원)로 표고버섯 종균이 91.5%(주로 톱밥배지 형태로 수입), 양송이버섯 1.5%(87톤), 목이버섯 1.2%, 느타리버섯이 0.1%순이며, 주요 수입국은 중국(98%), 이탈리아(1.6%), 일본(0.05%)이며, 종균 수입은 2000년 2,580톤, 2006년 6,264톤, 2013년 13,942톤으로 지속적으로 증가 추세에 있음(한국무역협회, www.kita.net).

○ 경쟁기관현황

- 우리나라의 양송이 종균생산시스템은 낙후된 실정인데(그림 2), 예로써 충남 부여 소재 종균 회사(A사)에서 종균을 생산하는 과정을 보면, 버섯 배지로 이용되는 곡물의 보관 또는 정선 등에 오염원을 차단하는 별도의 시설이 없고, 살균기에서 살균한 후 클린벤치에서 수작업으로 접종한 다음 배양실에서 배양하며, 배양실의 실내온도는 $20.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$, 습도는 40% 수준으로 유지되며, 보관 후에도 주기적으로 흔들기 작업을 하는데 이 때 진동기계는 일부의 업체에서만 사용되고 있음. 또한 최종 생산 종균은 비닐봉지에 싸서 농가로 보급되며 이 과정에서 별

도의 냉방차량에 의한 운반시설은 사실상 전무한 실정인 바 종균의 오염은 불가피함.



그림 2. 우리나라 종균업체(A사)의 양송이 종균 생산시스템
(출처: 종균 및 버섯 수출입 대응 연구, 농림축산식품부 보고서, 2017).

○ 표준화현황

- 현재까지 버섯 액체종균에 대한 배지의 표준화는 확립되어 있지 않음.

○ 기타현황

■ 국내 버섯 및 종균산업의 문제점

- 1995년 ‘종자산업법’이 제정되었으나, 버섯 종균에 대한 정확한 정의에 대한 명시 부족으로 법적관리 및 유통 문제에 혼란을 초래하고 있음. 버섯 종균 산업 육성을 위한 체계적 법제도가 필요함.
- 국내의 버섯 종균은 외국 도입품종에 비해 품질 및 생산성이 낮으며, 신품종 육성 및 관리시스템 미흡과 연구인력, 자금력, 연구시설 등이 열악하고, 또 국내 종균생산 시설이 영세하여 육종이 어렵고, 육종된 품종의 활용성도 낮은 실정임.
- 공인된 종균의 안정적 생산 및 공급시스템의 부재와 더불어 생산 시설마다 각기 다른 기준으로 종균을 생산하고 보관 관리되고 있음.

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

- 일본, 미국 등에서 종균 관리는 종균 생산 판매 회사에서 자체적으로 연구 인력을 채용하여

관리하고 있으며, 일본의 경우 주요 버섯 품종의 등록 현황은 2016년 3월까지 표고버섯 194품종, 느티만가닥버섯 51품종, 팡이버섯, 39품종, 큰느타리버섯 31품종, 맛버섯 23품종, 잣빛만가닥버섯 27품종, 느타리버섯 14품종, 잎새버섯 42품종 등 총 468품종이 등록되어 있음.

- 일본의 버섯 종균에 관한 연구는 전통적으로 톱밥종균을 사용하고 있음, 액체종균의 도입은 우리나라보다 늦은 2000년대 중반이며, 일부의 팡이버섯 재배 농장에서 배지 자가 생산용으로만 사용하기 때문에 정보는 극히 부족한 실정임. 배지 재료 및 제조법에 대한 연구는 우리나라와 마찬가지로 1980년대 이전에 이미 수행되어 현재는 거의 수행되지 않고 있으며, 유럽에서 사용하는 곡립 종균도 양송이의 경우 100% 수입하여 사용하기 때문에 연구가 거의 이루어지지 않고 있음. 또한 종균의 유해균, 종균의 저장, 종균의 품질 검사 등에 관한 연구는 지속적으로 수행되고 있으며 최근에는 안전 안심 버섯 및 종균생산을 위한 환경 관리 등에 관한 연구가 수행되고 있음.
- 미국과 유럽 등은 최근까지 상업용으로는 주로 양송이버섯을 취급하였기 때문에 종균에 관한 연구는 그다지 많지 않음. 최근 exotic mushroom(양송이 이외의 재배식용버섯)에 관한 관심 증가로 느타리와 양송이의 곡립 종균 제조에 관한 연구는 극히 제한적임.

○ 시장현황

- 일본 : 버섯의 재배 시설이 기계화 되어 있고, 주요 생산 품종도 표고, 느타리, 큰느타리, 팡이, 만가닥, 맛버섯, 잎새버섯 등 가장 다양함.
- 미국 : 유럽과 함께 양송이버섯 시장이 가장 큼. 점차적으로 표고, 느타리버섯 등이 생산되고 있지만 대부분이 소규모 시설임. 표고버섯은 단목재배 등으로 생버섯이 소포장단위로 유통되고 있으며, 점차 양송이 이외의 버섯 생산량이 증가되면서 가공시설 투자도 이루어지고 있음.
- 유럽 : 주요 버섯 생산국은 프랑스, 네덜란드, 독일 등이며, 양송이가 가장 큰 시장을 형성하고 있음, 그러나 동양에서 재배하고 있는 표고, 느타리류 등은 소규모로 재배되고 있으며 소비시장도 작음.
- 기타 아시아 : 고온성 버섯(풀버섯, 털목이) 위주로 생산되고 있는데, 최근에는 중국의 영향으로 표고버섯의 소비가 증가추세임.

○ 경쟁기관현황

- 일본의 원균 및 종균 관리는 원균보존이나 종균제조 과정에서 엄격한 품질관리를 통하여 오염, 변이 등의 위험을 예방하고 있음. 대부분의 종균회사에서 자체적으로 액화질소 혹은 초저온 냉동고를 이용하여 냉동보존법으로 원균을 관리하고 있음.
- 일본의 경우 종균 회사에서는 자체적으로 품종을 개발하고 이를 보존 관리하기 위한 원균센터를 운영. 원균센터에서는 농가에 보급할 품종을 액화질소 또는 초저온 냉동고에 보존하면서 원균을 재생 배양하여 농가에 보급할 원균을 확보하고, 원균을 농가에 보급하기 전에 품질검정 및 형질검정을 통하여 변이가 없는 균을 보급함(그림 3).

- 종균 생산을 위해서는 잡균의 오염이 없는 청결한 시설이 가장 중요하며 일본의 배양시설은 대부분 배지 살균 이후 배양완료까지 거의 동일한 공기 조건을 갖출 수 있도록 각 실마다 HEPA필터를 사용하고 있음. 거의 무균 상태를 유지 하고 있는 clean room에서 작업이 이루어 지기 때문에 2차 오염이 거의 발생하지 않음. 특히 종균 접종실은 공기 1L중 미생물 0.0035 개 미만으로 거의 무균실 수준으로 관리되고 있음.

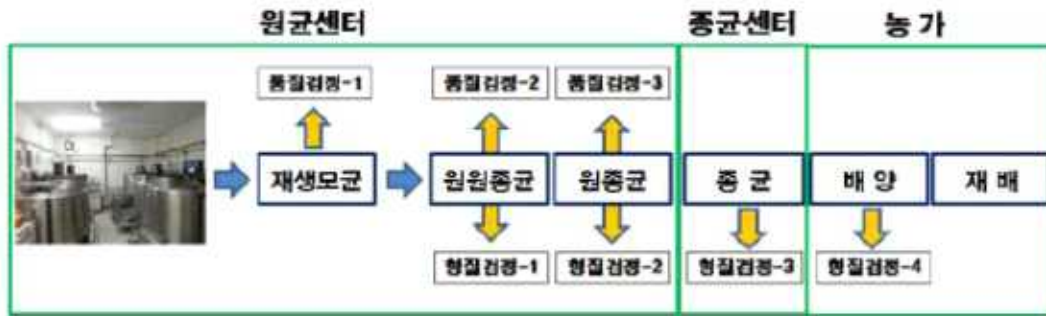


그림 3. 일본 나가노현 팽이버섯원종센터의 종균 공급 및 관리 시스템.

○ 표준화현황

- 버섯의 액체종균 적용은 일부의 버섯에 국한되어져 있으며, 느타리, 표고 및 꽃송이버섯에 대한 액체종균의 적용 기술은 미미한 실정이며, 액체종균 배양 조건에 대한 표준화 기술은 확립되지 않은 실정임.

제 3절 연구개발 범위

○ 느타리버섯의 영양성분 및 생리활성 평가

- 실험실 규모의 느타리버섯 최적 액체종균 개발
 - ▶ 접종원의 배양
 - ▶ 액체배지의 조제
 - ▶ 종균의 배양
- 영양성분 분석
 - ▶ 버섯의 일반성분(수분, 회분, 조단백질) 분석 :
 - ▶ 버섯의 조직감 측정
 - ▶ 버섯의 색도 측정
 - ▶ 버섯의 pH 측정
 - ▶ 총당 및 환원당 정량
 - ▶ 버섯의 무기물 정량

- ▶ 구성 아미노산 및 유리 아미노산 정량
- ▶ β-glucan 정량
- ▶ 총 페놀 및 플라보노이드 정량
- 생리활성 평가
 - ▶ 총 페놀 및 플라보노이드 함량 정량
 - ▶ 항산화 활성 측정(DPPH, ABTS 라디칼 소거능 및 환원력)
- 버섯 분말 가공소재 개발(멀티비타민 소재, 조미료 대용 및 영양강화 첨가물 소재로 활용가능한 느타리버섯의 분말 가공)

○ 액체종균의 개발과 이를 이용한 느타리버섯의 생산

- ▶ 접종원의 배양
- ▶ 액체배지의 조제
- ▶ 액체종균의 배양
- ▶ 액체종균의 검증
- ▶ 액체종균의 이용
- ▶ 액체종균 배양에 의한 배지조성별 균사 배양, 균사 밀도 및 자실체 생육 특성 관찰
- ▶ 자실체의 형태적 변화 비교
- ▶ 버섯 재배 기간 및 수율 비교
- ▶ 버섯 생육에 따른 오염도 평가

○ 표고 · 꽃송이버섯의 영양성분 및 생리활성 평가

- 실험실 규모의 표고 · 꽃송이 버섯의 최적 액체종균 개발
- 영양성분 분석: 버섯의 일반성분(수분, 회분, 조단백질) 분석, 버섯의 조직감, 색도 및 pH 측정, 총당 및 환원당 정량, 무기물 정량, 구성 아미노산 및 유리 아미노산 정량 및 β-glucan 정량, 총 페놀 및 플라보노이드 정량
 - ▶ 생리활성 평가 : 항산화 활성 측정(DPPH, ABTS 라디칼 소거능 및 환원력 측정)
- 버섯 분말 가공소재 개발 : 표고 및 꽃송이버섯 분말 가공(멀티비타민 소재, 조미료 대용 및 영양강화 첨가물 소재로 활용)

○ 액체종균의 개발과 이를 이용한 표고 · 꽃송이버섯 생산

- ▶ 접종원의 배양 : 삼각플라스크, 진탕배양, 배지량, 회전속도, 균질기 이용
- ▶ 액체배지의 조제
 - 액체배지의 종류와 산도 조절
 - 액체배지의 살균
- ▶ 액체종균의 배양

- ▶액체종균의 검증
- ▶액체종균의 이용
- ▶액체종균 배양에 의한 배지조성별 균사 배양, 균사 밀도 및 자실체 생육 특성 관찰
- ▶자실체의 형태적 변화 비교
- ▶버섯 재배 기간 및 재배 수율 비교
- ▶버섯 생육에 따른 오염도 평가

제 2 장. 연구수행 내용 및 결과

제 1절 느타리버섯 액체종균 개발 및 느타리버섯의 생산

1. 주요 결과

- Potato dextrose broth (PDB) 액체배지를 이용하여 느타리버섯 액체종균을 pH 4~8의 범위에서 배양하여 건조 균체량 및 액체배지의 흡광도를 측정하여 결과 액체배지의 최적 조건은 pH 6으로 확인되었음.
- 설탕과 포도당 함량을 달리한 15가지 대두박 배지에서 느타리버섯 액체종균을 배양한 결과 설탕 첨가량이 많은 배지에서 균체량이 많았으며, 설탕과 포도당이 혼합된 배지에서도 설탕의 첨가비율이 높을수록 건조 균체량이 증가되었음. 배양 10~14일 경에 건조 균체량은 배지 'B 및 F'에서 배양기간의 경과에 따른 감소폭이 가장 컸기 때문에 액체종균의 배양기간은 10일 정도가 적절할 것으로 판단됨. 설탕만 5~20 g 첨가시킨 배지의 흡광도는 배양 6~10일 경부터 배양 기간이 길어질수록 흡광도가 유의적으로 감소되는 경향이었으나, 반면에 포도당만 첨가된 배지는 오히려 흡광도가 증가되는 경향이었음. 또한 10일간 액체종균을 배양하는 동안 흡광도가 높았던 배지를 사용하여 균체 생산량을 확인한 결과 포도당 20 g이 첨가된 배지에서 균체의 생성량이 다소 많은 것으로 평가되었음.
- 톱밥배지에 대한 액체종균의 접종량을 측정하여 결과 900 mL의 톱밥배지에 15~20 mL의 액체종균을 접종할 때 균체 생성이 가장 왕성한 것으로 확인되었음.
- 개발된 액체종균과 기존의 고체종균 및 '춘후2호' 버섯을 동일한 조건으로 톱밥배지에 병재배한 결과 액체종균으로 재배할 경우 버섯의 생장이 가장 빠른 것으로 확인되었음. 버섯의 생산량을 비교한 결과는 액체종균으로 생산된 흑타리 품종이 고체종균으로 생산된 품종에 비해 유의적으로 높았음.
- 액체종균 배양에 따른 접종 전 오염도는 ×1000 배율에서 현미경 관찰을 통해 확인하였음. 실험실, 배양실 및 저장고 등의 오염도 측정은 PDA 및 NA 배지를 사용하여 공중낙하균의 오염도를 측정하였음.
- 느타리버섯의 건조는 열풍건조 시 갈변이 심하게 발생하는 바 천일건조 및 동결건조 방법이 적절할 것으로 확인됨.

2. 재료 및 방법

(1) 실험재료 및 공시배지

본 연구에 사용된 버섯 균주는 경기도농업기술원 버섯연구소에서 분양받은 느타리버섯 '흑타리' 균주를 사용하였다. 흑타리 균주는 실험실에서 PDA(potato dextrose agar) 평판배지에 배양한 후 실험에 사용하였다.

느타리버섯 액체종균의 최적 배양 조건을 설정하기 위하여 배지는 시판 PDB (potato dextrose broth) 배지와 대두박 배지를 사용하였다. 이때 대두박 배지는 대두박 3 g에 magnesium sulfate 0.5g 및 potassium dihydrogen phosphate 0.5 g을 혼합한 후 설탕 및 포도당을 일정량씩 첨가한 다음 증류수로 1 L로 만들어 사용하였으며, 배양액의 설탕과 포도당의 첨가량은 Table 1과 같이 15가지 조건으로 달리하여 배지를 제조하였다.

Table 1. Sugar and glucose contents for soybean broth

Condition of media	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
Sugar (g)	30	0	0	0	0	0	5	10	15	20	25	5	10	15	20
Glucose (g)	0	30	5	10	15	20	25	20	15	10	5	0	0	0	0

(2) 실험 방법

1) 액체종균의 배양

PDB 및 대두박 배지를 사용한 액체종균 배양액은 500 mL용 삼각플라스크에 250 mL씩 분주하여 121°C에서 15분간 autoclave에서 살균하였으며, 이를 실온으로 냉각한 후 직경이 4 mm인 코크보러(No. 2)를 사용하여 얻은 균사 절편을 1개씩 접종하고 22°C에서 3일간 정치배양한 후 배양 최종일까지 진탕배양(120 rpm)하였다. 배양 중 3, 6 10 및 14일째에 배양액의 pH 및 균체량을 측정하였다.

2) pH 측정

액체배지의 pH는 배양액을 충분히 블렌딩하여 균체를 여과한 후 여과액의 pH를 pH meter(410, Thermo Orion, Waltham, USA)로 측정하였다.

3) 균체량 측정

액체종균의 배양기간 동안 균사 성장량을 알아보기 위하여 건조법 및 흡광도법으로써 균체량을 각각 측정하였다. 건조법은 종균이 성장된 액체배지를 잘 혼합한 직후 배양액 2 mL를 알루미늄 접시에 정확하게 취하여 85°C의 건조기에서 2시간 이상 건조시킨 후 남은 중량을 측정하였다. 이를 총 배지량으로 환산하여 균체량을 산출하였다. 흡광도법은 상기의 액체배지 1 mL를 취하여 600 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값으로 나타내었다.

4) 액체종균의 접종효과 평가

느타리버섯 액체종균을 이용하여 병재배를 위한 최적 접종량을 알아보기 위하여 톱밥이 함유된 병재배용 배지에 액체종균의 함량을 달리하여 균사 생성정도를 알아보고자 하였다. 이때 배지는 미송톱밥, 미강, 소맥피, 비트, 대두박 등을 혼합기에서 함수율이 60%이상으로 될 때까지 총

분히 혼합하여 사용하였다.

5) 종균실, 실험실 및 배양실의 오염도 측정

종균실, 실험실 및 배양실의 오염도 측정은 패트리디쉬에 PDA 및 NA (Nutrient agar) 배지를 만든 후 뚜껑을 열고 실험실에 12시간씩 둔 후 이를 37°C의 배양기에서 36시간 배양하여 공중낙하균에 의한 오염도를 측정하였다.

6) 액체종균의 오염도 측정

액체종균의 배양이 완료된 시점에서 배양액을 현미경 관찰하여 배양액의 오염도를 확인하였다.

저온배양기(22°C)에서 배양 버섯균 이외에 타 미생물의 혼입여부를 관찰하기 위하여 배양액을 일정량 채취하여 현미경으로 오염여부를 관찰하였다. 또한 곰팡이 및 세균의 오염여부를 확인하기 위하여 배양액의 일부를 취하여 PDA 배지를 사용하여 30°C의 배양기에서 오염여부를 관찰하였다.

3. 연구 결과

가. PDB 배지를 이용한 느타리버섯 액체종균의 최적 배양조건 설정

Potato dextrose broth (PDB) 액체배지를 사용하여 느타리버섯 액체종균의 최적 배양 조건을 설정하고자 하였다.

(1) 액체종균 배양액의 최적 pH 설정

느타리버섯 액체종균 배양액의 최적 pH를 설정하기 위하여 PDB 배지의 pH를 염산으로 pH 4~8의 범위로 조절한 후 버섯 종균을 접종하여 22°C의 incubator에서 14일동안 배양하였다. 이때 3, 6, 10 및 14일째에 배지의 pH를 측정한 결과는 Table 2와 같다.

배양 3일 경과 후 모든 배양액의 pH는 초기 pH에 비해 산성화되는 경향이었는데, 초기 pH가 pH 6~8인 배양액에서는 오히려 pH 5.49~5.95의 범위로 비슷한 경향을 보였다. 또한 배양기간이 경과됨에 배양액의 pH는 유의적으로 산성화되는 경향이었으며, 초기 배양액의 pH가 pH 7~8이었던 배양액에서는 배양 6~10일경에 유의차를 보이지 않았다.

병재배 버섯의 액체종균 제조기술개발 과정에서 밝혀진 액체종균 배양병의 살균 전 배지 pH 수준에 따른 버섯종류별 균사생장 특성을 살펴본 연구에서 팽이버섯, 버들송이버섯, 만가닥버섯은 삼각플라스크 정치배양 및 통기식 액체배양 시 액체배지의 균사생장 최적 pH가 5.5~6.5 범위로 같았으나, 느타리버섯과 큰느타리버섯의 경우는 삼각플라스크 정치배양 시 액체배지의 균사생장 최적 pH가 6.0이었으나, 통기식 액체배양에서는 pH 4.0으로 배양방법에 따라 차이가 있었는데, 이러한 현상이 버섯 종류에 따른 고유의 생리적 특성이라고 추정된 보고가 있다(정종천 등, 2007).

Table 2. Changes of pH in the potato dextrose broth media for liquid spawn growth from *Pleurotus ostreatus* during its incubation periods at the different pH condition

pH media	Incubation periods (days)			
	3	6	10	14
4	3.91±0.03 ^{bA}	3.96±0.02 ^{cA}	3.90±0.01 ^{bA}	3.81±0.00 ^{aA}
5	4.85±0.05 ^{bB}	4.82±0.05 ^{abB}	4.79±0.07 ^{abB}	4.73±0.08 ^{aB}
6	5.49±0.03 ^{dC}	5.42±0.02 ^{cC}	5.34±0.03 ^{bC}	5.27±0.03 ^{aC}
7	5.76±0.05 ^{cD}	5.70±0.02 ^{cD}	5.60±0.08 ^{bD}	5.48±0.01 ^{aD}
8	5.95±0.12 ^{dE}	5.73±0.05 ^{cD}	5.56±0.03 ^{bD}	5.41±0.05 ^{aE}

All values are mean±SD ($n=5$)

Means with different superscripts in the same column(A-E) and same row(a-d) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

(2) 액체종균 배양에 따른 건조 균체량

느타리버섯 액체종균 배양액의 pH를 달리한 조건에서 균체 성장 정도를 건조 균체량으로 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 250 mL의 PDA배지에서 14일 동안 배양하는 동안 균체 성장정도는 배양 3일 경과 후 6.15~6.34 g/250 mL로 배양액의 초기 pH에 따른 유의차가 적었으며, 이는 배양 6일 경과 후 처리구간에 유의차가 없는 것으로 볼 때 배양액의 초기 pH가 버섯 균체의 생 장 정도에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 더욱이 배양 6일까지는 건조균체량이 배양기 간의 경과에 따라 증가되는 경향이었으나, 배양 10일 이후에는 건조 균체량이 감소되는 경향이였 다.

특히 배양 10일 경과후에는 배양액의 초기 pH가 5~7이었던 처리구에서 건조 균체량이 6.45~6.50 g/250 mL의 범위로 pH 4 및 pH 8이었던 배양액보다 건조 균체량이 유의적으로 높 았으며, 배양 14일 경과 후에는 오히려 10일 배양된 처리구에 비해 건조 균체량이 유의적으로 감소된 경향이였다. 따라서 느타리버섯의 액체종균 배양을 위한 적정 pH 범위는 pH 5~7의 범위 인 것으로 판단된다.

Table 3. Mycelial growth of liquid spawn from *Pleurotus ostreatus* on potato dextrose broth during its incubation periods at different pH condition

pH of media	Incubation periods (days)			
	3	6	10	14
4	6.27±0.06 ^{bAB}	6.55±0.19 ^{cNS}	5.72±0.14 ^{aA}	5.69±0.22 ^{aB}
5	6.24±0.11 ^{bAB}	6.54±0.12 ^b	6.45±0.46 ^{bB}	5.92±0.05 ^{aB}
6	6.34±0.19 ^{bB}	6.47±0.11 ^b	6.49±0.44 ^{bB}	5.93±0.06 ^{aB}
7	6.15±0.06 ^{bA}	6.38±0.09 ^b	6.50±0.40 ^{bB}	5.80±0.04 ^{aB}
8	6.25±0.07 ^{cAB}	6.39±0.09 ^d	5.72±0.11 ^{bA}	5.39±0.05 ^{aA}

All values are mean±SD (n=5)

Means with different superscripts in the same column(A-B) and same row(a-d) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

NS: not significant

(3) 액체종균의 배양에 따른 흡광도 변화

느타리버섯 액체종균 배양액의 pH를 달리한 조건에서 균체 성장 정도를 배양액의 흡광도로 측정한 결과는 Table 4와 같다. 배양이 종료된 시점에서 배양액의 균체를 균질화하여 600 nm에서 흡광도를 측정한 결과, 배양 기간이 경과됨에 따라 흡광도는 증가되는 경향이었는데, 초기 배양액에서 pH 4인 경우에는 배양 14일 경과 후에 유의적인 증가경향을 보였다. pH 5의 조건에서는 배양 6일경에 배양 3일경보다 오히려 유의적인 감소를 보였다가 배양 10일 경과후부터 다시 증가되는 경향이었으며, pH 6~8의 배양에서는 배양 10일경 이후부터 유의적으로 증가되었다.

한편 배양 3일 경과 후에는 배양액의 pH에 따른 흡광도의 유의적인 차이가 없었으며, 배양 6일 경과후에는 초기 배양액의 pH가 5~7인 경우에 처리구간에 유의차를 보이지 않았으나, pH 4 및 pH 8 처리구에서는 유의적으로 높은 흡광도값을 보였다. 특히 pH 6의 배양액에서는 배양 10일 경과 후에 타 처리구에 비해 가장 높은 흡광도(0.058)를 보인 것으로 볼 때 느타리버섯 액체종균의 초기 배양액을 pH 6으로 설정하는 것이 적절하다고 판단된다.

Table 4. Mycelial growth of liquid spawn from *Pleurotus ostreatus* on potato dextrose broth during its incubation periods at different pH condition

(Absorbance in 600 nm)

pH of media	Incubation periods (days)			
	3	6	10	14
4	0.015±0.010 ^{aNS}	0.020±0.003 ^{ab}	0.022±0.005 ^{aA}	0.035±0.003 ^{bA}
5	0.021±0.002 ^b	0.014±0.002 ^{aA}	0.020±0.004 ^{bA}	0.067±0.001 ^{cC}
6	0.021±0.003 ^a	0.017±0.002 ^{aAB}	0.058±0.008 ^{bC}	0.074±0.005 ^{cC}
7	0.014±0.004 ^a	0.017±0.004 ^{aAB}	0.033±0.003 ^{bB}	0.071±0.004 ^{cC}
8	0.021±0.001 ^a	0.026±0.001 ^{abC}	0.032±0.005 ^{bB}	0.051±0.009 ^{cB}

All values are mean±SD ($n=5$)

Means with different superscripts in the same column(A-C) and same row(a-c) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

NS: not significant

나. 대두박배지에서 당 첨가량에 따른 느타리버섯 액체종균의 최적 배양조건

PDB 배지를 이용한 느타리버섯 액체종균 배양액의 최적 pH 설정은 상기 결과에 따라 배양액의 pH를 pH 6으로 설정하였다. 따라서 대두박이 0.3% 첨가된 배지에 설탕과 포도당의 첨가량을 달리하였을 때 액체종균의 생장에 미치는 영향을 실험하였다.

(1) 대두박배지를 이용한 액체종균 배양액의 pH

대두박배지에 설탕과 포도당의 함량을 달리한 15가지의 배양액 조건에서 초기 배양액의 pH를 6으로 조절하여 10 및 14일간 배양한 후 배양액의 pH를 비교한 결과는 Fig. 1과 같다. 배양 10일 경과 후 배양액의 pH는 배양액 'L'과 'O' 이외에서 모두 pH 6 이하로 산성화되는 경향을 보였다. 특히 배양액 'G'가 pH 3.48로 산성도가 가장 높았으며, 다음으로 배양액 'A'가 pH 4.7이었으며, 그 외 배양액은 pH 5의 수준이었다.

배양 14일 경과 후에는 10일간 배양된 처리구에 비해 배양액 'A', 'C' 및 'G'에서 pH가 다소간 높아진 경향을 보였으나, 그 외 처리구에서는 산성화된 경향이었다. 특히 배양액 'A'(설탕 30 g 첨가구)는 배양 기간이 경과됨에 따라 pH가 증가되었으며, 'B'(포도당 30 g 첨가구)는 배양 기간이 경과됨에 따라 pH가 감소되었다. 반면에 배양액 'D'(포도당 10 g 첨가구)와 'F'(포도당 20 g 첨가구)는 배양 10일째에 처리구간에 유의차가 없었으나, 배양 14일 경과시에는 배양액 'F'에서 유의적으로 높았으나 대차는 없었다.

설탕과 포도당을 첨가한 배양액('G'~'K') 중 배양액 'H', 'I', 'J', 'K'는 배양 10일 경과 후 pH 5.18~5.31의 범위였으며, 이는 배양 14일 경과 후 pH 4.75~4.93의 범위로 처리구간에 유의적인 차이는 있으나 대차는 아니었다.

설탕과 포도당 중 1가지만 첨가된 배양액에서, 설탕이 5~20 g 첨가된 배양액은 포도당이 5~20 g 첨가된 배양액에 비해 배양 10일 경과 후 배양액의 산성도가 다소 낮아 pH 5.2이상을 나타내었다.

따라서 대두박 배지에 설탕과 포도당의 함량을 달리하여 첨가한 경우 배양 10~14일 경과 후 대부분의 처리구에서 pH 5~6의 범위로 나타나 초기 배양액의 pH에 비해 대차를 보이지 않았다.

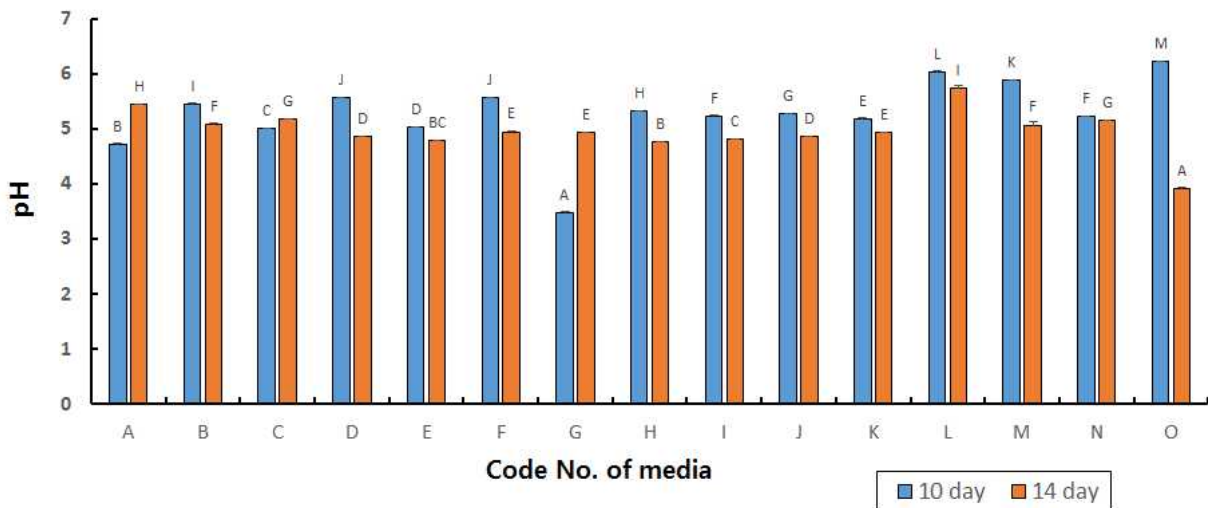


Fig. 1. Changes of pH in the soybean broth with different content of glucose and sugar after 10 days incubation of liquid spawn from *Pleurotus ostreatus*.

All values are mean±SD (n=5)

^{A-M}Means with different superscripts in the same incubation period are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

(2) 대두박배지를 이용한 액체종균 배양액에 따른 건조 균체량

대두박배지에 설탕과 포도당의 함량을 달리한 15가지의 배양액에서 초기 배양액의 pH를 pH 6으로 조절하여 14일간 배양하는 동안 건조 균체량을 측정된 결과는 Table 5와 같다.

배양액 중 설탕 및 포도당의 첨가량이 많을수록 건조 균체량은 유의적으로 증가되는 경향이였다. 설탕 및 포도당의 첨가량이 각각 30 g인 배양액('A', 'B')에서 건조 균체량은 배양 3일째에 비해 배양 6일경과 시 다소 감소된 경향을 보였으나, 배양 10일 짜 가장 높은 수준이었으며, 배양 14일 경과 후에는 오히려 유의적으로 감소되었다. 포도당과 설탕의 첨가량이 5~20 g인 배양액('C'~'F', 'L'~'O')에서는 설탕 첨가량이 많은 배양액에서 건조 균체량이 다소 높은 것으로 확인되었으나, 포도당의 첨가량이 20 g인 배양액 'F'에서는 배양 6~10일 경과 후 설탕 20 g 첨가구

에 비해 건조 균체량이 유의적으로 높았다. 더욱이 설탕과 포도당이 혼합된 배양액에서도 설탕의 첨가비율이 높을수록 건조 균체량이 증가됨을 알 수 있었다.

Table 5. Mycelial growth of liquid spawn from *Pleurotus ostreatus* on soybean broth with different content of glucose and sugar

Code No. of media	Incubation periods (days)			
	3	6	10	14
A	8.354±0.078 ^{bcL}	8.100±0.360 ^{abK}	8.646±0.180 ^{cJ}	7.799±0.178 ^{aJ}
B	7.887±0.007 ^{cIJ}	7.143±0.149 ^{bHI}	8.049±0.071 ^{cI}	5.974±0.131 ^{aG}
C	1.983±0.026 ^{dA}	1.449±0.007 ^{cA}	1.223±0.038 ^{aA}	1.315±0.025 ^{bA}
D	3.198±0.088 ^{bb}	3.165±0.032 ^{bc}	3.520±0.043 ^{cd}	2.313±0.059 ^{aC}
E	4.087±0.077 ^{cC}	3.791±0.038 ^{bd}	3.336±0.069 ^{aD}	3.219±0.148 ^{aD}
F	5.607±0.051 ^{bE}	6.004±0.026 ^{cG}	6.713±0.070 ^{dG}	3.933±0.065 ^{aE}
G	7.194±0.178 ^{aG}	7.248±0.112 ^{aHI}	7.214±0.235 ^{aH}	6.847±0.301 ^{aH}
H	7.640±0.135 ^{bH}	7.390±0.022 ^{bIJ}	7.039±0.181 ^{aH}	6.985±0.239 ^{aHI}
I	7.828±0.045 ^{bHI}	7.565±0.121 ^{bJ}	7.010±0.151 ^{aH}	7.089±0.251 ^{aHI}
J	8.179±0.088 ^{ckL}	7.920±0.135 ^{bK}	7.064±0.045 ^{aH}	7.185±0.193 ^{aI}
K	8.066±0.148 ^{cJK}	7.937±0.160 ^{ck}	7.214±0.152 ^{aH}	7.548±0.186 ^{bJ}
L	2.184±0.069 ^{cA}	1.854±0.057 ^{bb}	1.683±0.007 ^{aB}	1.708±0.112 ^{aB}
M	3.248±0.116 ^{bb}	3.307±0.022 ^{bc}	2.931±0.088 ^{aC}	3.064±0.081 ^{aD}
N	4.567±0.278 ^{bd}	4.442±0.150 ^{abE}	4.179±0.125 ^{aE}	4.183±0.055 ^{aE}
O	5.870±0.157 ^{bF}	5.653±0.072 ^{aF}	5.482±0.044 ^{aF}	5.457±0.128 ^{aF}

All values are mean±SD ($n=5$)

Means with different superscripts in the same column(A-L) and same row (a-d) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

배양 10~14일경에 건조 균체량을 비교해 보면 'A', 'B', 'D', 'F', 'G' 에서 배양기간의 경과에 따라 유의적으로 감소되었는데, 특히 배양액 'F'에서 감소폭이 가장 컸다. 반면에 배양액 'C' 및 'K'는 배양 14일 경과 시 오히려 건조 균체량이 유의적으로 증가되었는데, 그 차이는 미미하였다.

따라서 설탕 및 포도당의 함량을 달리한 대두박 배지를 사용한 느타리버섯 액체종균의 배양

시 배양 기간은 10일이 적정한 것으로 판단된다.

(3) 대두박배지를 이용한 액체종균 배양액의 흡광도 변화

대두박배지에 설탕과 포도당의 함량을 달리한 15가지의 배양액 조건에서 초기 배양액의 pH를 6으로 조절하여 14일간 배양하는 동안 균체 성장 정도를 배양액의 흡광도로 측정한 결과는 Table 6과 같다.

Table 6. Mycelial growth of liquid spawn from *Pleurotus ostreatus* on soybean broth with different content of glucose and sugar

(Absorbance in 600 nm)

Code No. of media	Incubation periods (days)			
	3	6	10	14
A	1.382±0.018 ^{bc}	1.324±0.029 ^{aGH}	1.583±0.013 ^{cH}	1.585±0.017 ^{cEF}
B	1.384±0.019 ^{bcCD}	1.304±0.028 ^{bFG}	1.418±0.005 ^{cFG}	1.119±0.083 ^{aB}
C	1.472±0.015 ^{cGH}	1.150±0.025 ^{aD}	1.496±0.029 ^{cG}	1.288±0.033 ^{bc}
D	1.402±0.014 ^{bDE}	1.100±0.021 ^{aC}	1.371±0.057 ^{cF}	1.249±0.019 ^{cC}
E	1.469±0.028 ^{bGH}	1.391±0.010 ^{aI}	1.692±0.014 ^{cI}	1.686±0.044 ^{cHI}
F	1.442±0.044 ^{abFG}	1.396±0.029 ^{aI}	1.476±0.025 ^{bG}	1.631±0.052 ^{cFGH}
G	1.282±0.010 ^{cB}	0.977±0.002 ^{aA}	1.219±0.004 ^{bE}	1.677±0.013 ^{dHI}
H	1.151±0.008 ^{bA}	0.970±0.010 ^{aA}	1.289±0.018 ^{cE}	1.688±0.015 ^{dHI}
I	1.419±0.009 ^{bEF}	1.050±0.013 ^{aB}	1.593±0.013 ^{cH}	1.709±0.020 ^{dI}
J	1.419±0.004 ^{bEF}	1.274±0.017 ^{aF}	1.393±0.046 ^{bF}	1.712±0.016 ^{cI}
K	1.445±0.010 ^{bFG}	1.322±0.038 ^{aGH}	1.585±0.019 ^{cH}	1.654±0.025 ^{dGHI}
L	1.416±0.010 ^{dEF}	1.213±0.026 ^{cE}	0.507±0.034 ^{aB}	0.724±0.042 ^{bA}
M	1.486±0.013 ^{cH}	1.349±0.023 ^{bH}	0.775±0.136 ^{aC}	1.595±0.011 ^{cEFG}
N	1.448±0.015 ^{cFG}	0.951±0.008 ^{bA}	0.379±0.014 ^{aA}	1.563±0.018 ^{dDE}
O	1.453±0.013 ^{cG}	1.134±0.026 ^{bCD}	0.861±0.049 ^{aD}	1.511±0.021 ^{dD}

All values are mean±SD (n=5)

Means with different superscripts in the same column(A-I) and same row(a-d) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

설탕의 첨가량이 30 g인 배양액('A')에서 흡광도는 배양 6일째에 배양 3일에 비해 감소되었으나, 배양 10일 후에는 유의적으로 증가되어 배양 14일까지 유지되는 경향이였다. 포도당의 첨가량이 30 g인 배양액('B')에서는 배양 10일까지 흡광도가 증가되는 경향이였으나, 배양 14일 이후 유의적인 감소를 보였다.

포도당의 첨가량이 5~20 g인 배양액('C'~'F')에서는 포도당의 함량이 증가됨에 따라 흡광도는 증감이 반복되는 경향이였으며, 특히 포도당 함량이 15 g 첨가된 배양액 ('E')에서 유의적으로 높은 함량이었는데, 이는 포도당 30 g이 첨가된 배양액 'B'보다 유의적으로 높은 수준이였다.

설탕의 첨가량이 5~20 g인 배양액('L'~'O')에서도 설탕의 함량이 증가됨에 따라 흡광도의 증감이 반복되는 경향을 보였으며, 특히 설탕 15 g이 첨가된 배양액 ('N')에서 유의적으로 낮은 함량이었는데, 이는 포도당 첨가구와는 상반된 경향이였으며, 설탕이 20 g 첨가된 배양액 ('O')에서 배양 10일경과 후 흡광도가 가장 높았다.

한편 설탕만 5~20 g 첨가된 배양액은 배양 6~10일 이후부터 배양 기간이 길어짐에 따라 흡광도가 유의적으로 감소되었으나, 포도당만 첨가된 배양액은 오히려 흡광도가 증가되는 경향이였다.

설탕과 포도당이 혼합된 배양액('G'~'K')에서는 동량으로 혼합된 배양액 'I'에서 배양 10일 경과 후 1.593으로 가장 높은 흡광도를 보였다.

상기의 실험에서 배양액의 건조 균체량을 측정한 결과 액체종균의 배양 기간을 10일이 적절한 것으로 판단해 볼 때 10일간 배양된 배양액의 흡광도는 배양액 'A', 'B', 'C', 'E', 'F', 'I', 'K'에서 1.4 이상으로 이들 배양액으로 느타리버섯을 재배할 경우 생산성이 높을 것으로 판단된다.

따라서 상기의 대두박 배지를 사용하여 느타리버섯 액체종균을 22°C에서 10일간 배양하였을 때 균사의 성장 정도를 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. 삼각플라스크 내 투명한 부분은 배지이며 혼탁도를 비교하면 균체의 성장 정도를 짐작할 수 있다. 배양액 'E'에서 가장 혼탁한 것으로 보이며 이는 느타리버섯의 생육 정도와 관련성이 높을 것으로 추정된다.

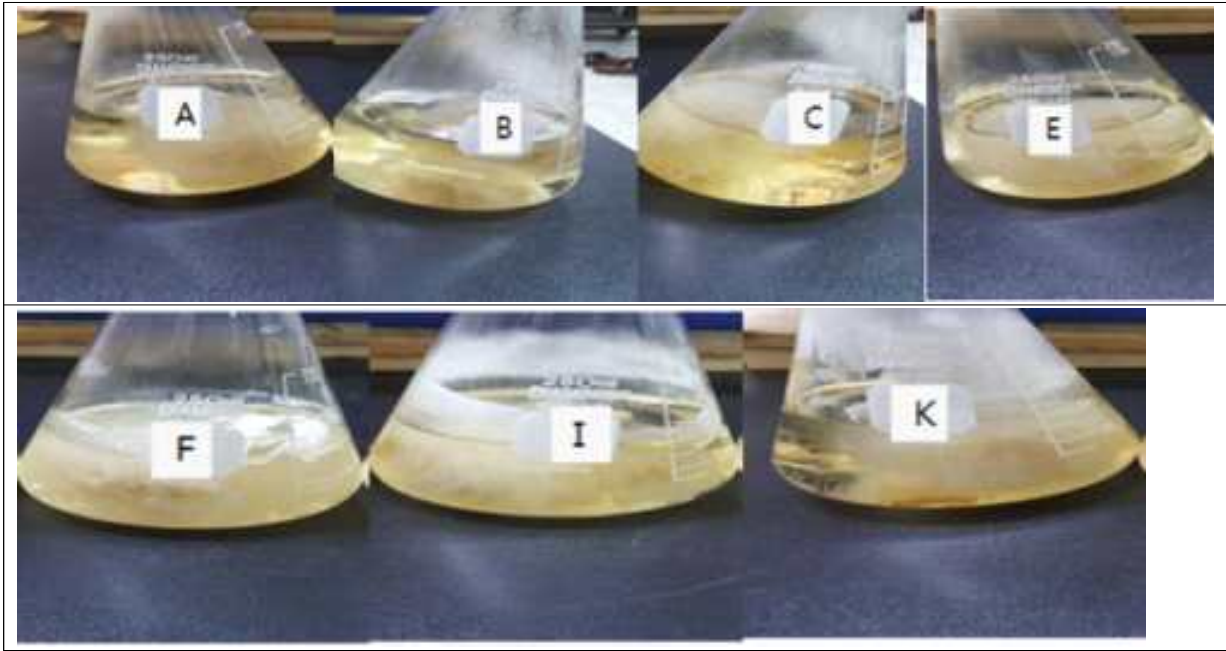


Fig. 2. Culture solution of liquid spawn for *Pleurotus ostreatus*.

다. 느타리버섯 병재배를 위한 톱밥배지의 수분 함량

개발된 액체종균으로 느타리버섯을 병재배 하기위해 톱밥배지를 제조하고자 하였다. 이때 톱밥 배지의 수분함량을 60% 이상으로 유지하기 위해 톱밥의 수침 시간을 시험하였다. 톱밥의 수침 시간에 따른 수분 함량을 측정한 결과는 Table 7과 같다. 수침하기 전의 톱밥의 수분 함량은 16.98%였는데, 톱밥 중량에 대해 2배의 물을 가하여 2시간 수침한 결과 톱밥의 수분 함량은 56.80%, 12시간 수침한 경우에는 61.49%, 24시간 수침한 경우에는 63.88%로써 12시간이상 수 침하면 톱밥의 수분함량이 60% 이상으로 유지됨을 알 수 있었다. 반면 톱밥을 수침할때 진탕기 로써 혼합할 경우에는 2시간 수침으로 60% 이상의 수분 함량에 도달하였다.

따라서 느타리버섯의 병재배용 톱밥배지에 물을 가하여 2시간정도 혼합기로 혼합하는 것이 톱 밥배지 제조기간의 단축에 효과적이었다.

버섯 병재배의 경우 배지재료의 흡수성 및 팽윤 특성은 매우 중요하다. 배지제조 시 팽윤계수 가 높은 재료의 다량 사용은 버섯의 발생 및 생육 과정에서 배지의 수축과 건조로 인하여 버섯 의 수량과 품질이 낮아지기 때문이다. 더욱이 배지 재료는 각각 비중이 차이가 있으므로 배지를 제조하여 입병한 후에는 재료의 종류 및 혼합비율에 따라서 병 내부의 공극량이 차이를 보이게 된다. 따라서 배지제조 시 수분 함량을 조절하게 되면 수분 첨가량만큼 공기량이 빠져나가는 것 이지만, 수분 흡수에 따른 재료의 팽윤 정도만큼 공기는 더 빠져나가게 된다. 또한 버섯균의 배 양으로 배지가 분해되는 과정에서 배지의 수축이 일어난다. 이는 병뚜껑을 제거한 후 버섯의 발 생 및 생육기간 동안에도 배지의 수분이 증발되면서 배지의 수축이 초래된다. 이때 팽윤 및 수축 계수가 높은 재료를 다량으로 사용하게 되면 병 내부에 공극이 많아서 배지의 건조를 촉진하게

되므로 버섯의 발생이 순조롭지 않게 되고 수확량 감소를 초래하게 된다(정종천 등, 2009).

Table 7. Moisture content of sawdust according to soaking

	Moisture content (%)	
	Soaking into state	Soaking into shaking state
Raw material	16.98±1.25 ^a	
Soaking for 2 hr	56.80±1.56 ^b	62.23±0.94 ^b
Soaking for 12 hr	61.49±0.57 ^c	64.69±0.49 ^c
Soaking for 24 hr	63.88±2.48 ^c	66.42±1.22 ^c

^{a-c}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

라. 액체종균의 접종량 설정

본 연구에서 개발된 느타리버섯 액체종균을 톱밥배지에 대한 최적 접종량을 설정하고자 하였다.

동일조건인 톱밥배지에 액체종균의 접종량을 5~30 mL로 달리하여 접종한 후 10일간 배양하였을 때 균체의 성장 정도를 나타낸 결과는 Fig. 3과 같다. 균체가 많아짐에 따라 톱밥 배지의 색깔이 연해짐을 알 수 있었으며, 접종량이 많아짐에 따라 균체의 성장이 왕성해 짐을 볼 수 있었으나, 톱밥 배지(900 mL×70 Φ)에 25 mL이상의 액체종균의 접종 시 오히려 균체 생장은 감소되는 것을 발견할 수 있었다. 따라서 톱밥배지 1병당 접종량은 15~20 mL가 적절할 것으로 판단된다.

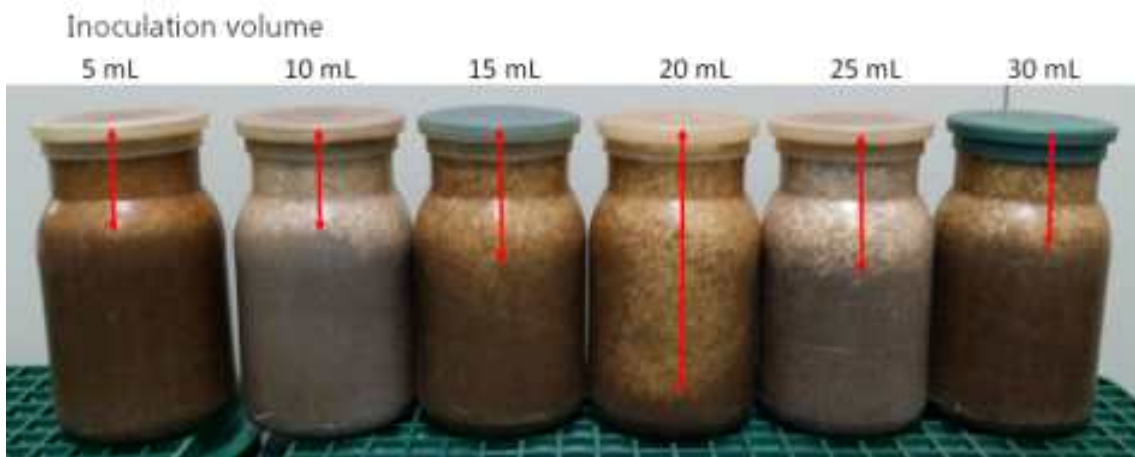


Fig. 3. Mycelial growth according to inoculation volume of liquid spawn from *Pleurotus ostreatus*.

고체종균을 접종할 경우에는 17~18일 정도 소요되므로 액체종균의 사용이 더 효율적일 것으로 여겨진다. 더욱이 종균의 접종에 소요되는 시간은 액체종균은 10,000병/hr, 고체종균은 5,000병/hr이 소요되므로 단위시간당 접종시간의 단축을 위해 액체종균의 사용이 더 효율적일 것으로 판단된다.

마. 종균의 종류에 따른 느타리버섯의 병재배 특성 비교

본 연구에서 개발된 느타리버섯 ‘흑타리’ 품종의 액체종균과 기존에 사용되고 있는 고체종균 및 느타리버섯 ‘춘추2’ 품종의 고체종균을 동일조건에서 병재배 할 때의 생육특성을 비교하였다.

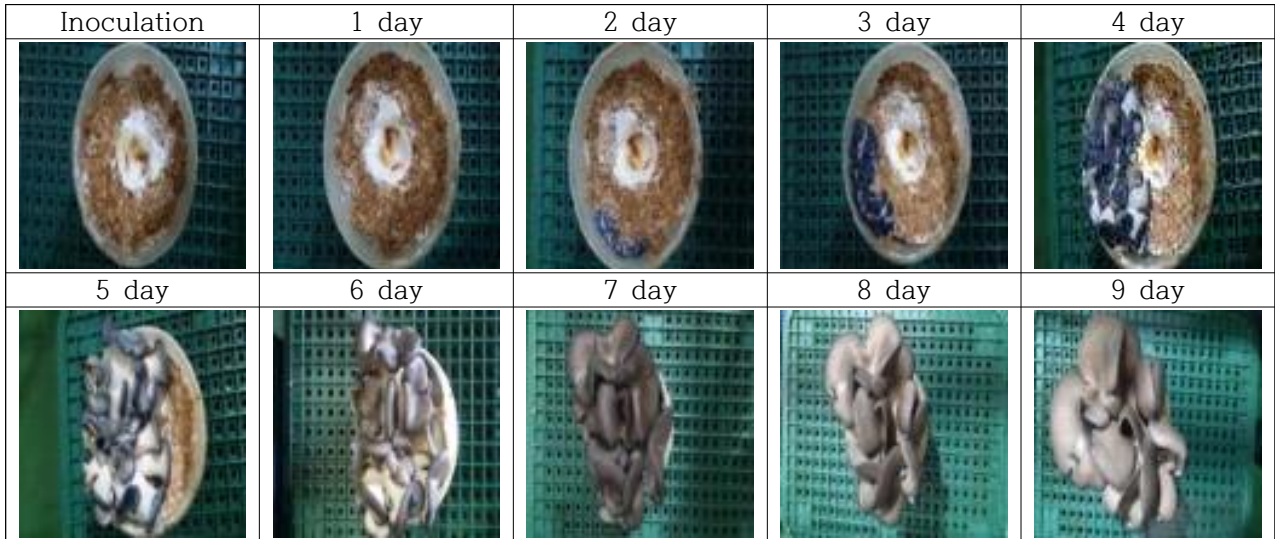
톱밥 배지에 각각의 종균을 접종한 후 버섯의 생육기간동안 느타리버섯의 생육정도를 비교한 결과는 Fig. 4와 같다. 종균의 배양기간은 고체종균은 40~45일이었으며, 액체종균의 경우에는 28~30일 정도 배양한 후 생육을 시작하였다.

액체종균을 톱밥배지에 접종하였을 때(Fig. 4-A) 버섯의 생육정도가 빠른 것으로 나타났는데, 액체종균의 접종 시 배양 4일경에 버섯의 갓 부위 형태를 확인할 수 있었으며, 배양 5일 후부터 버섯의 대 부위가 확인되었다. 흑타리 고체종균을 접종한 경우에는(Fig. 4-B) 배양 9일경에 비로소 버섯의 갓 부위 형태 확인이 가능하였다. 춘추 2호의 고체종균을 접종한 경우에는(Fig. 4-C) 배양 7일 경에 버섯의 갓 부위의 확인이 가능하였으며, 배양 9일 경과 후에 버섯의 형태가 완성되는 것으로 확인되었다.

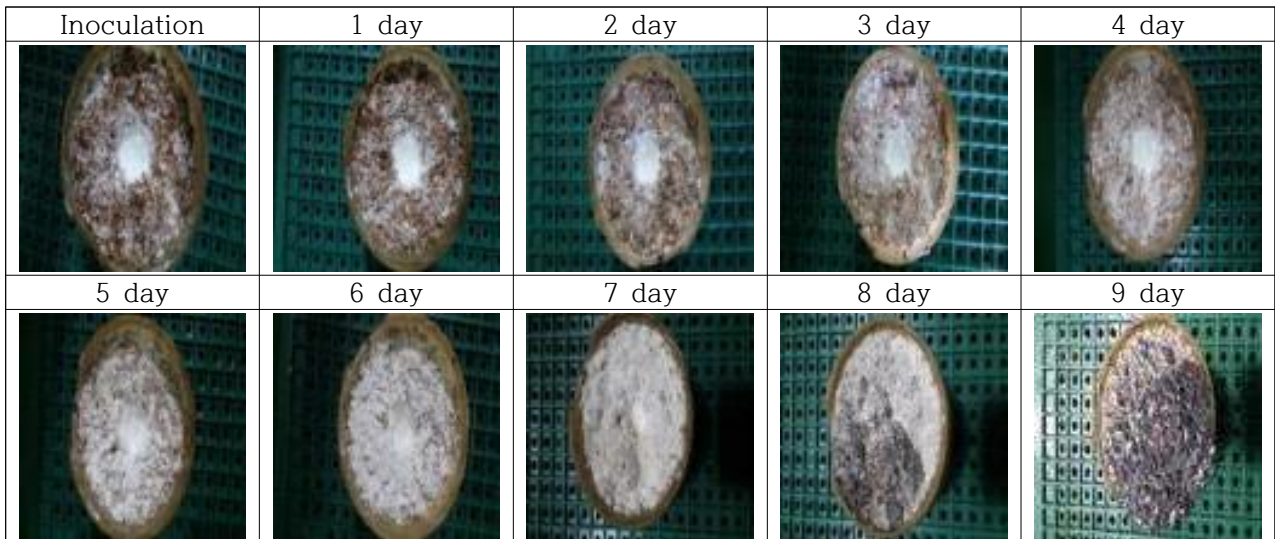
따라서 흑타리 액체종균과 춘추2호의 고체종균은 생산량이 비슷한 것으로 나타났는데, ‘춘추2호’는 빨리 성장되는 품종으로 일반적으로 고체종균의 접종 후 9~10일경 버섯의 수확이 가능하나 노화가 빨라 저장성이 낮은 단점이 있다. 반면에 흑타리 품종은 풍미와 저장성이 우수하여 ‘춘추2호’에 비해 상품성이 우수한 느타리버섯으로 개발된 품종이다. 그러므로 액체종균으로 흑타리 버섯을 생산하는 것이 재배기간을 단축시켜 생산성을 높이는데 효율적인 것으로 판단된다.

이는 톱밥종균의 경우 PP병의 내부공간을 접종된 균이 메우게 되는데, 병내의 기상(氣相) 조건이 양호하지 않음에 비해 액체종균의 접종 시에는 병내의 공간이 입병 후 타공된 상태로 남겨되어 호흡열의 방냉 효과가 우수하며, 미세기상이 버섯균의 성장에 유리한 조건으로 작용하기 때문이라고 보고된 바 있다(Cheong JC et al., 2003). 또한 톱밥배지의 고압살균 시 표면의 수분은 2~4% 정도 증발되는데, 적절한 양의 액체종균 주입은 배지 표면의 수분 보충효과가 뒤따른다. 그러나 850 mL의 배지병당 20 mL 이상의 액체 주입 시에는 오히려 배지 표층 및 병 하단의 과습에 의한 통기 불량으로 배양 후기의 균 생육 지연 내지는 노화의 원인이 된다는 보고도 있다(Cheong JC et al., 2003).

► Liquid spawn for *Pleurotus ostreatus* (Fig. 4-A)



► Solid spawn for *Pleurotus ostreatus* (Fig. 4-B)



► Solid spawn for 'Chunchu 2' (Fig. 4-C)



Fig. 4. Comparison of growth of mushroom during their inoculation of 10 days.

바. 느타리버섯 병재배 시 종균의 종류에 따른 자실체의 생산량 비교

개발된 액체종균과 기존의 고체종균 및 춘추2호 버섯의 고체종균으로 톱밥배지에서 병재배된 느타리버섯의 자실체 생산량을 분석한 결과는 Table 8과 같다.

액체종균을 접종한 경우 자실체 생산량이 유의적으로 많았으며, 흑타리 고체종균 및 춘추2호의 고체종균으로 재배한 경우에는 유의차가 없었다.

각각의 종균의 생산된 버섯은 Fig. 5에 나타낸 바와 같다.

Table 8. Yield of fruit body in mushroom cultivated from different spawn

	Yield of fruit body of mushroom (g/ 900 mL)
<i>Pleurotus ostreatus</i> liquid spawn	247.80±19.90 ^B
<i>Pleurotus ostreatus</i> solid spawn	177.20±25.90 ^A
'Chunchu No.2' solid spawn	179.70±8.65 ^A

All values are mean±SD (n=20)

^{A-B}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

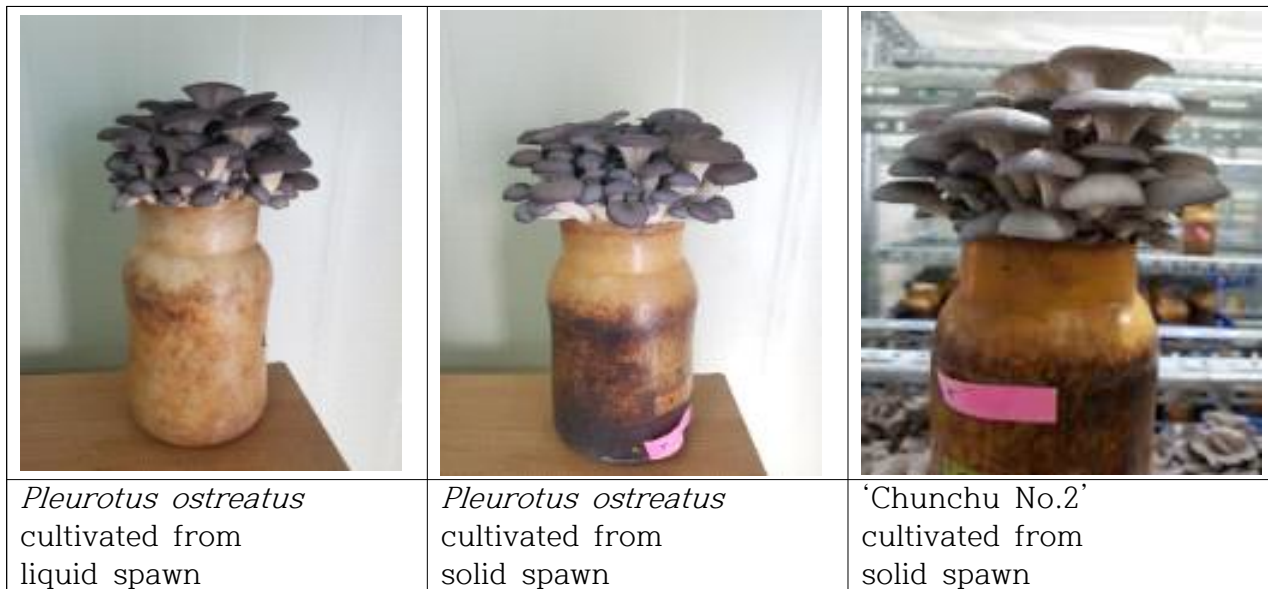


Fig. 5. Mushroom cultivated from different spawn

사. 액체종균 배양에 따른 오염도 측정

개발된 액체종균의 접종 전 오염도를 현미경으로 확인한 결과는 Fig. 6과 같다. ×1000 배율로 확인한 바 균사의 형태를 잘 관찰할 수 있었으며, 균사 내 clamp connection이 깨끗하게 보이는 것으로 보아 오염되지 않았음을 확인할 수 있었다. 따라서 종균의 오염도를 현미경으로 검경한 후 안전성을 확보한 후 배양하여 버섯 재배 농가에 분양하였다.

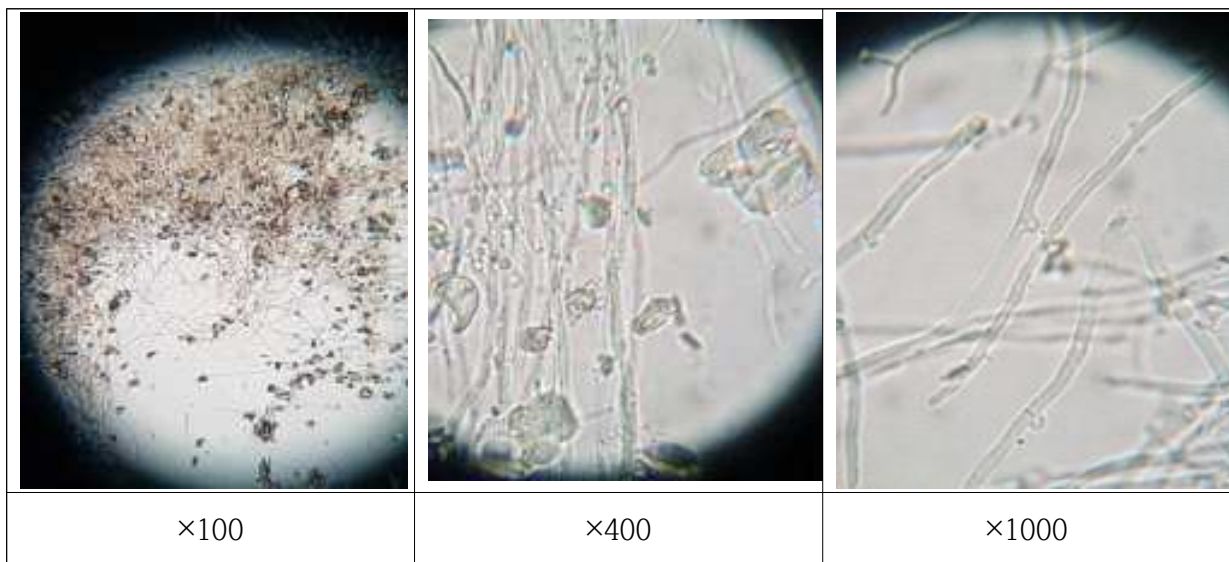


Fig. 6. Check of contamination level before inoculation of liquid spawn by microscopic test.

지금까지의 버섯 종균의 오염검사는 육안에 의한 액의 혼탁상태나 거품의 발생여부, 후각을 이용한 냄새의 유무, BPB(bromophenol blue) 첨가 배지에서의 재배양 등을 이용하고는 있으나 이러한 방법이 오류를 일으킬 수 있으며, 시간이 많이 걸리는 문제점이 있다. 또한 실험상으로 2개 이상의 primers를 갖는 염기쌍 등의 PCR(polymerase chain reaction) 기법에 의한 일정한 크기의 염기(base pair) 쌍으로 확인하는 방법, ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) 면역기법 등의 비교적 유용한 방법도 있으나, 이들 방법은 시간과 비용이 들며, 전문적인 실험기구 및 기술의 요구가 따르며, 버섯 재배 농가에서 통상적인 재배에 적용하는 것은 쉬운일이 아니다. 염색방법인 gram stain 염색 등을 이용한 검사도 가능하나, 버섯 균사의 경우 균사 크기가 일반 미생물에 비해 상대적으로 너무 커서 2~3종류의 염색액을 반복처리하는 가운데 slideglass에서 피검체의 대부분이 떨어져 나가거나 일부가 탈착된 후 균사 선단이 다시 부착되는 균사 겹침 현상(folding) 등의 문제점 등이 있다.

버섯 액체종균의 접종에 따른 오염을 배제하기 위해 액체종균의 액탱크에서 라인을 통해 접종함으로써 종균에 대한 세균 및 곰팡이의 감염은 거의 발생되지 않으며, 배지에 접종된 후 정상적인 배양 및 생육이 가능하다고 알려져 있다. 또한 라인 접종법에 의한 액체종균 제조는 작업의 편리성과 함께 안정적인 종균 제조는 가능하지만 버섯 재배농가에 액탱크 상태로 분양하거나, 라

인 설치 등의 문제가 발생되고 있다.

버섯 액체종균의 오염도를 평가하기 위한 방법으로 느타리버섯 액체종균의 오염에 대한 간이 진단법으로 YPL(yeast extract, peptone, lactose), PDA, NA배지 등의 기본배지에 pH 지시약을 첨가한 진단배지에서 균주의 생장에 따른 발색정도를 분광광도계로 측정하는 방법이 있다 (Jang MJ et al., 2008). 이는 간편한 방법이지만, 농가에서 진단배지의 제조와 분광광도계의 구비 등의 단점이 있다.

최근 팽나무버섯 액체종균의 배양 병(봉지)에 접종하기 전 오염도 검사방법으로 Giemsa's Sol.의 단일 염색기법을 통한 광학 현미경 검경법에 대해 보고된 바 있는데(Shim KK et al., 2012), 즉, 팽이버섯 액체종균의 배양액을 분취하여 슬라이드에 올리고 Gimesa 용액으로 염색한 후 광학 현미경으로 검사하는 방법으로 이는 염색 및 검경방법이 빠르고 간편하며 정확하므로 액체종균을 사용하는 버섯재배 농가에서도 세균 오염을 효과적으로 확인하는데 이용할 수 있는 것으로 보고되어 있다.

본 연구과제에서는 액체종균의 오염을 평가하기 위해 기존의 PDA배지, NA배지에 액체종균을 접종하여 배양기간에 따른 오염도 평가와 함께 최종적으로 액체종균의 배양과정 중 정기적인 현미경 검경을 통해 버섯 균사의 기형, 활력 및 성장정도를 측정하므로써 종균 접종에 따른 버섯의 생육정도를 예측하는 것이다. 따라서 본 과제에서 오염도 평가 기술은 상기의 오염도 평가방법에서 단지 타 미생물의 오염 유무 확인 이외에 전문적인 기술에 의한 현미경 검경에 의한 오염도 평가로, 이를 통해 안정성이 확보된 액체종균을 농가에 보급하거나, 병(봉지)재배 배지에 접종 후 농가에 분양하므로써 버섯 생산 안정화 증대에 기여할 수 있을 것으로 예상된다.

아. 액체종균의 배양 및 버섯 생산과정 중 오염도 평가

액체종균의 개발 및 버섯의 생산과정에서 실험실, 입봉실, 생육실 및 저장고 등의 안전성 확보를 위하여 타 미생물의 오염정도를 측정하였다. 패트리디쉬에 PDA배지, Nutrient agar (NA) 배지를 제조하여 액체종균의 배양에 따른 오염도 평가, 현미경 검경을 통해 종균의 오염도를 확인하였다. 실험 전 기간 동안 배양실, 실험실, 입봉실, 생육실 및 저장고 등의 오염도 평가는 상기 배지의 디쉬에서 뚜껑을 열어둔 채로 12시간 이상 정지시켜 공중 낙하균에 의한 오염도를 평가하였다.

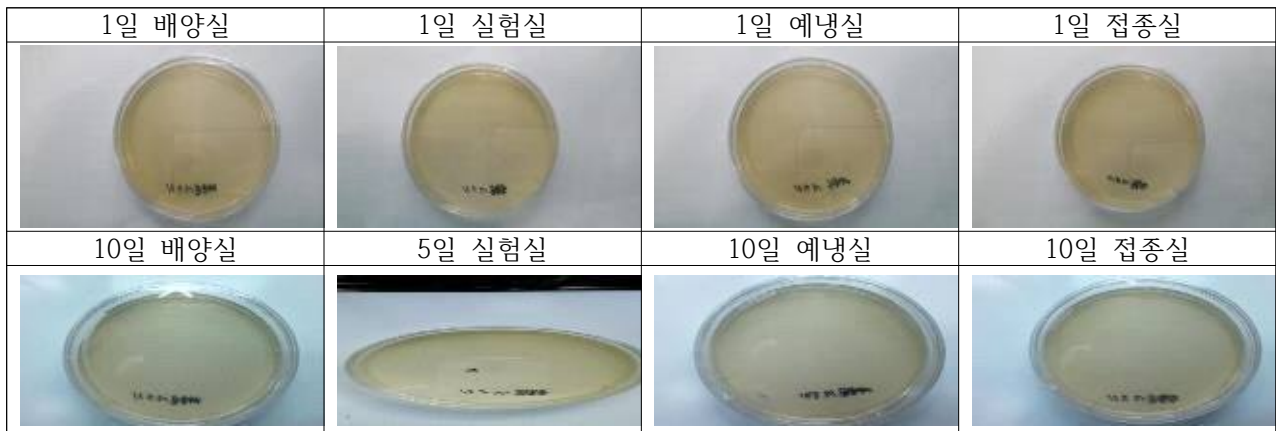
느타리버섯 액체종균의 오염도는 Table 9에 나타난 바와 같이, PDA배지 및 NA배지 상에서 어떠한 오염도 발생되지 않았다. 배양 기간동안 공기 오염정도로는 초기 실험이 시작되는 동안(1차실험) 액체종균의 배양 및 실험이 진행되기 전후와 진행되는 기간 중 실험실, 배양실, 예냉실 및 접종실의 오염도를 측정하였다. 그 결과 배양 5일 후에 실험실 1곳에서만 오염이 확인되었다. 이후 실험실의 살균처리 후 재차 실험을 진행한 바 2차 실험에서는 모든 장소에서 오염이 발견되지 않았다. 3차 실험에서는 실험 시작 4일 경과 후 예냉실에서 오염이 발견되었는데, 이는 여름철 날씨에 기인된 것으로 여겨지며, 액체종균의 배양과정에서 추가적인 오염은 없었다. 4차 및 5차 실험과정에서 개발된 액체종균에 의한 버섯 생산 과정에서 오염은 더 이상 발견되지 않았다.

Table 9. Assessment of microbiological contamination at different sites due to liquid spawn cultivation for *Pleurotus ostreatus*

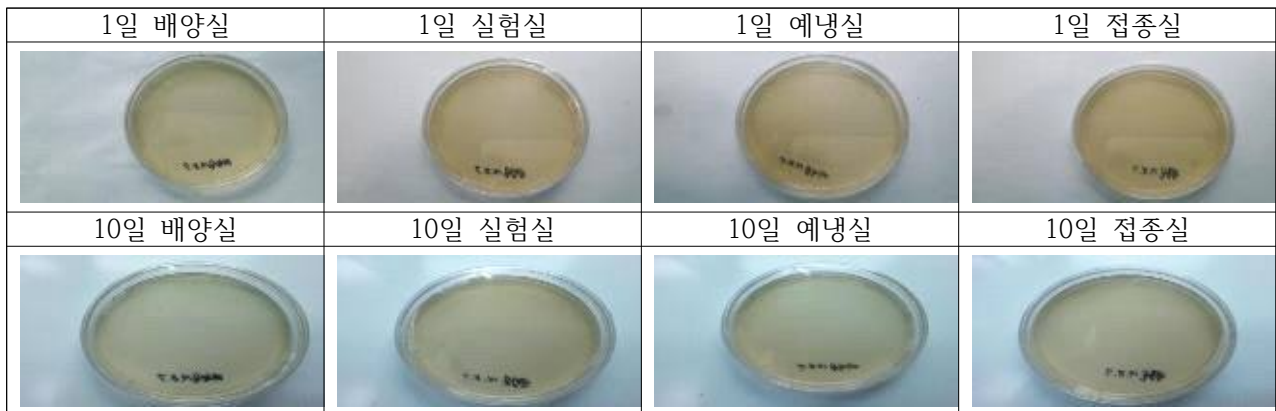
	Culture room	Laboratory	Pre-cooling room	Inoculation room
PDA medium	ND	ND	ND	ND
NA medium	ND	ND	ND	ND
Confirmation by microscopy	ND	ND	ND	ND

All values are mean±SD (n=10)

▶ 1차 실험 : 2017.7.31. ~ 2017.8.9. (5일차 실험실에서 오염발생)



▶ 2차 실험 : 2017.8.7. ~ 2017.8.17. (오염 없음)



▶ 3차 실험 : 2017.8.21. ~ 2017.8.31. (4일차 예냉실 오염 발생)

1일 배양실	1일 실험실	1일 예냉실	1일 접종실
10일 배양실	10일 실험실	4일 예냉실	10일 접종실

▶ 4차 실험 : 2017.11.3. ~ 2017.11.13. (오염 없음)

1일 배양실	1일 실험실	1일 예냉실	1일 접종실
10일 배양실	10일 실험실	10일 예냉실	10일 접종실

▶ 5차 실험 : 2017.11.7. ~ 2017.11.17. (오염 없음)

1일 배양실	1일 실험실	1일 예냉실	1일 접종실
10일 배양실	10일 실험실	10일 예냉실	10일 접종실

자. 느타리버섯(‘흑타리’) 건조제품의 제조

개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯을 천일건조, 열풍건조 및 동결건조한 결과는 Fig. 7과 같다. 동결건조 시료가 버섯 고유의 색택이 가장 잘 유지되었으며, 다음으로 천일건조 시료였다. 그러나 열풍건조 시료는 열에 의해 버섯의 색택이 심하게 갈변됨을 알 수 있었다. 따라서 느타리버섯의 건조는 천일건조나 동결건조방법이 적절할 것으로 판단되었다.



Fig. 7. Dried products of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid spawn.

차. 느타리버섯 재배 시 액체종균 대체에 대한 생산비용 절감

본 연구에서 개발된 액체종균과 고체종균으로 느타리버섯을 재배할 경우 소요되는 경비를 비교 평가하였다.

액체종균의 원가는 1 L당 600원이며, 이 용량으로 약 66병(병당 15 mL)의 느타리버섯 생산이 가능하다. 따라서 액체종균의 병당 원가는 약 9원이다. 그러나 고체종균의 원가는 병당 560원이다. 1일 사용량을 기준으로 살펴보면, 고체종균은 500병 생산을 기준으로 280,000원이 소요되고, 액체종균은 2만병 생산을 기준으로 180,000원이 소요된다. 이를 월 20일 기준으로 환산하면 고체종균은 1개월에 1만병 기준으로 5,600,000원이 소요되고, 액체종균은 40만병 기준으로 3,600,000원이 소요된다. 또한 고체종균에 비해 액체종균의 접종이 편하여 고체종균에 비해 1개월에 1인 기준 2,200,000원의 인건비 절감이 발생한다. 하지만 액체종균의 경우에는 초기시설 투자비가 발생한다. 오일리스컴프 3마력, 냉동식 드라이어, 접종기 및 액탱크 7개가 필요하며, 총 비용은 24,600,000원이다. 따라서, 초기에는 액체종균을 접종하기 위한 시설 투자비용이 들지만, 한달 기준으로 보면 고체종균에 비해 4,200,000원의 생산비용이 절감된다. 그러므로 약 5.8개월이 지나면 초기시설 투자비용을 회수할 수 있고, 또 고체종균에 비해 대량생산이 가능하여 농가 소득증대에 기여할 것으로 판단된다.

< 고체종균과 액체종균을 이용한 느타리버섯 생산비의 비교 >

(원)

	고체 종균	액체 종균	절감비용
원가 (병당)	560	약 9	약 551
1일 사용액	280,000 (500병 기준)	180,000 (2만병 기준)	100,000
월 사용액 (20일 기준)	5,600,000 (1만병 기준)	3,600,000 (40만병 기준)	2,000,000
월 인건비 (1인 절감 효과)	2,200,000	-	2,200,000
초기설비 투자 비용	-	오일리스컴프 3마력 및 냉동식 드라이어 접종기 액탱크 7개	5,000,000 7,000,000 12,600,000
			-24,600,000

타. 느타리버섯 액체종균의 대량생산 공정

느타리버섯('흑타리')의 자실체 조직을 절편하여 PDA 배지에 접종하여 22°C에서 10일 이상 배양한다. 이때 검경을 통해 오염 여부를 확인한 후 코로브러를 사용하여 1개의 절편을 본 연구에서 개발된 포도당 20 g이 함유된 대두박 배지에 첨가하여 3일간 정치배양 시킨다. 이후 이를 7일간 추가적으로 진탕배양하면서 균체의 성장을 관찰한다.

삼각플라스크에서 배양이 완료되면 검경을 통해 오염 여부를 확인한 후 대형 액체종균 탱크로 옮겨 대량으로 배양한다. 배양기간은 배양액의 양에 따라 달라지며 대략 6~15일 정도 소요된다.

이후 배양액은 잘 균질화한 후 자동접종 시스템을 사용하여 톱밥배지가 충전된 병에 15~20 mL씩 접종한다. 이를 배양실에서 배양한다.



▶ 느타리버섯 '쪽타리'의 자실체 내부에서 조직을 절편하여 디쉬에 접종



▶ 평판배지를 사용하여 10일 이상 incubator에서 배양 (22°C)



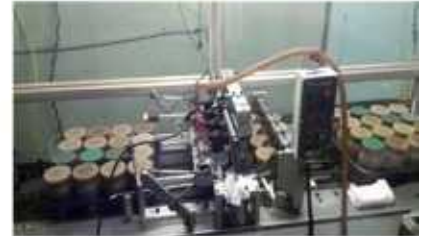
▶ 삼각플라스크에 1코르브러 첨가



▶ 3일간 정지배양 및 7일간 진탕배양



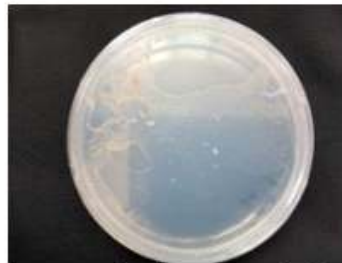
▶ 50~1000 L의 액체종균 배양탱크에서 6~15일간 배양



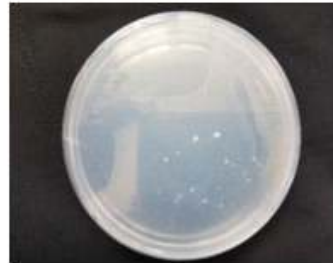
▶ 자동접종시스템에 의한 액체종균의 접종

<액체종균의 대량 생산 모식도>

➤ 배양 후 오염도 측정



• NA배지 (40°C 배양)



• PDA배지 (22°C 배양)

<현미경 검경을 통한 액체종균의 오염 검사>

제 2절 액체종균과 고체종균에 의한 느타리버섯의 품질특성 및 생리활성 비교

1. 주요 결과

- ◆ 본 연구에서 개발된 액체종균으로부터 재배한 느타리버섯(‘흑타리’)과 시판 버섯의 품질특성 및 생리활성을 비교하였다.
- 느타리버섯의 대 부위에서 전체적인 색차는 액체종균으로 생산된 버섯(액체종균 버섯)이 93.79로 유의적으로 가장 높은 값을 보인 반면, 시판 버섯은 74.25~91.59의 범위였음. 조직감은 시판 버섯에 비해 액체종균 버섯에서 유의적으로 높았음.
- 버섯의 수분함량은 액체종균 버섯이 86.80%, 시판 버섯은 90.44~92.08%였고, 조단백질 함량은 액체종균 버섯이 5.07%로 시판 버섯(3.06~3.48%)에 비해 유의적으로 높았음. 무기물의 총량은 액체종균 버섯(421.17 mg/100 g)이 시판 버섯(333.26~362.78 mg/100 g)에 비해 높은 수준이었음. 구성 아미노산은 총 18종이 검출되었으며, 액체종균 버섯(4211.67 mg/100 g)이 시판 버섯에 비해 높은 함량이었음.
- 총당 및 환원당 함량은 액체종균 버섯이 각각 724.27 mg/100 g 및 272.73 mg/100 g이었으나 시판 버섯은 각각 441.27~607.93 mg/100 g, 252.03~258.67 mg/100 g으로써 액체종균 버섯에서 유의적으로 높은 수준이었음.
- Total glucan 함량은 액체종균 버섯이 55.9 mg/100 g으로 시판 버섯 24.4~48.6 mg/100 g 보다 많았으며, α -glucan 및 β -glucan 역시 액체종균 버섯에서 월등히 많았음.
- 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 액체종균 버섯에서 각각 65.95 mg/100 g, 28.88 mg/100 g으로 시판 버섯 40.97~60.82 mg/100 g 및 16.02~23.12 mg/100 g보다 유의적으로 높은 함량이었음.
- DPPH 라디칼 소거활성은 느타리버섯 추출물의 농도가 0.1 g/mL일 때 액체종균 버섯이 51.85%로 가장 높았으나, 이 외 농도에서는 시판 버섯에서 오히려 높은 활성이었음. ABTS 라디칼 소거활성은 0.02~0.05 g/mL의 농도에서 액체종균 버섯이 높은 활성을 보였으며, 0.1 g/mL의 농도에서는 시판 버섯 C에서 활성이 높았음. 환원력은 액체종균 버섯보다는 시판 버섯에서 다소 높은 경향이었음.

- ◆ 본 연구에서 개발된 액체종균 느타리버섯(‘흑타리’)과 기존의 고체종균 및 ‘춘추2호’ 느타리버섯을 동일한 조건에서 병재배하여 이들 3종 느타리버섯의 품질특성 및 생리활성을 비교하였다.
- 3종의 느타리버섯에서 수분 함량은 89.59~90.11%의 범위로 대차는 없었고, 회분과 조단백질은 액체종균 버섯에서 가장 많았으며, 무기물 함량은 액체종균 버섯에서 가장 적었으나, 총 무기물 함량에 대한 칼륨 및 칼슘의 함량이 많았으며, 인의 함량이 낮았음.
- 구성아미노산은 총 18종 검출되었으며, 액체종균 버섯이 고체종균 흑타리버섯에 비해 낮은 수

준이었으나 액체종균 버섯의 필수아미노산 함량은 885.80 mg/100 g으로 고체종균 흑타리버섯에 비해 다소 높은 함량이었음. 유리아미노산은 총 29종이 검출되었으며, 총 함량은 액체종균 버섯이 2종의 고체종균 버섯에 비해 약 1.5배 정도 높은 수준이었음.

- 액체종균 버섯의 총당 함량은 2158.55 mg/100 g으로 고체종균 흑타리버섯에 비해서는 유의적으로 낮은 함량이었으나, 춘추2호 버섯보다는 유의적으로 높았음. 환원당 함량은 액체종균 버섯에서 가장 낮은 수준이었음.
- Total glucan 함량은 춘추2호 버섯에서 45.1 mg/100 g으로 가장 많았으며, β-glucan 함량은 춘추2호 버섯(35.2 mg/100 g)과 고체종균 흑타리버섯(32.5 mg/100 g)간에 유의차가 없었으나, 액체종균 버섯은 27.3 mg/100 g으로 가장 낮은 수준이었음.
- 액체종균 버섯의 갈색도는 고체종균 흑타리버섯에 비해서는 높은 수준이었으나, 춘추2호 버섯보다는 낮은 경향이었음.
- 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 액체종균 버섯에서 타 시료에 비해 유의적으로 높은 수준이었음.
- 항산화 활성으로 DPPH 라디칼 소거활성은 0.02~0.15 g/mL의 농도 범위에서는 액체종균 버섯의 라디칼 소거활성이 다소 높았으며, ABTS 라디칼 소거활성은 0.1g/ mL농도에서 유의적으로 높은 소거활성을 보였음. 환원력은 고체종균 버섯에서 액체종균 버섯에서 다소 낮은 경향이었음.

2. 재료 및 방법

(1) 실험재료

개발된 액체종균을 사용하여 재배된 느타리버섯과 시판 버섯의 품질특성을 비교하기 위하여 액체종균 버섯은 (주)귀담버섯에서 시험재배한 것을 사용하였으며, 시판 버섯은 고체종균으로 배양된 것을 지역 내 시장에서 구입하였다(Fig. 9).

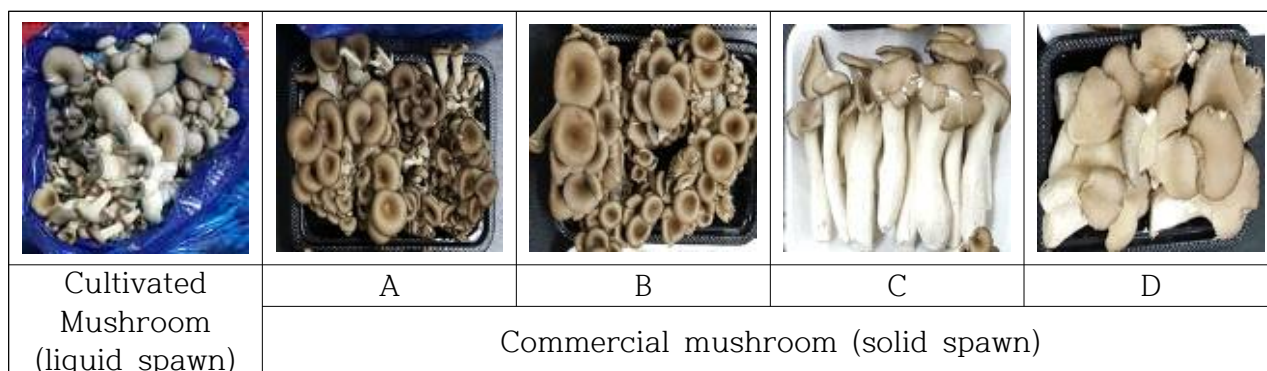


Fig. 9. Mushroom cultivated from liquid spawn and commercial mushroom.

종균의 종류에 따른 버섯의 품질특성을 비교하기 위하여 개발된 액체종균과 고체종균의 “흑타리” 품종과 고체종균의 “춘추2호” 품종을 동일조건에서 병재배한 것을 실험 재료로 사용하였다 (Fig. 10).

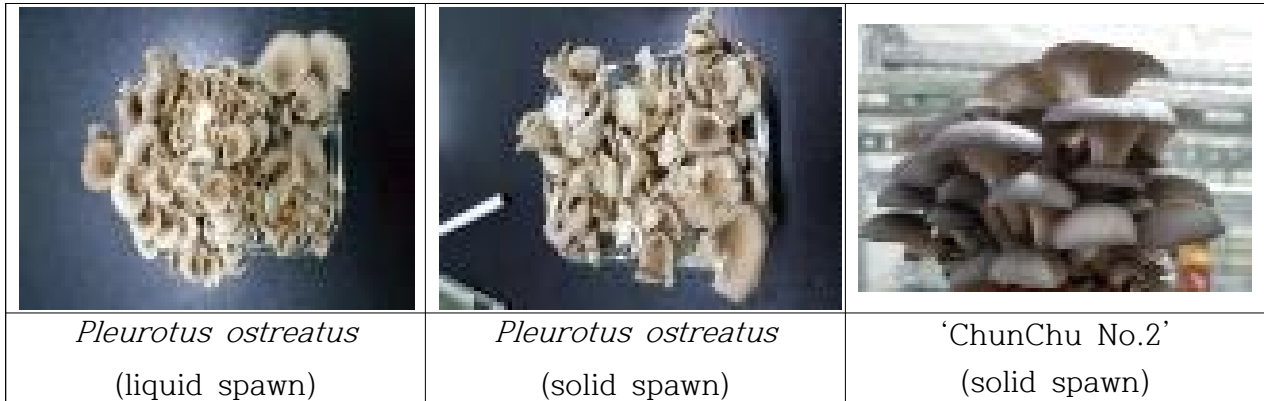


Fig. 10. Mushroom cultivated from liquid and solid spawn.

1) 시료의 처리 및 추출

느타리버섯은 마쇄하여 -40°C 에 보관해 두고 실험에 사용하였다. 버섯 추출물은 마쇄된 시료 20 g에 80% 메탄올을 가하여 100 mL로 만들어 초음파 추출기를 사용하여 10분간 2회 연속 추출한 다음 실온에서 6시간 추출하여 여과한 것을 일정 농도로 조정하여 항산화 활성 측정용 시료로 사용하였다.

2) 색도 측정

시료의 색도는 느타리버섯을 갓과 대를 구분하여 색차계(CR 301, Minolta Co., Osaka, Japan)로 측정하였다. 이때 표준색판의 L값은 96.94, a값은 0.66, b값은 0.51이었다.

3) 조직감 측정

느타리버섯의 대 부위를 사용하여 일정한 크기($1 \times 1 \times 1$ cm)로 자른 후 texture meter(TA-XT2, Stable Micro Systems Ltd., England)로 측정하였다. 경도(hardness), 점착성(adhesiveness), 탄력성(springiness), 검성(gumminess), 씹힘성(cohesiveness), 복원성(resilience)을 10회 이상 측정하여 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 분석 조건으로 probe는 50 mm stainless cylinder를 사용하였으며, pre-test speed 1.0 mm/s, test speed 1.0 mm/s, post-test speed 1.0 mm/s, trigger force 5.0 g, test distance 5.0 mm로 하였다.

4) 일반성분 분석

느타리버섯의 일반성분으로 수분 함량은 105°C 상압가열 건조법, 회분은 550°C 직접회화법, 조지방은 soxhlet법 및 조단백질 함량은 semimicro-Kjeldahl법으로 분석하였다. 탄수화물의 함

량은 100에서 수분, 회분, 조지방 및 조단백질 함량을 뺀 값으로 계산하였다.

5) 무기물 정량

느타리버섯의 무기물은 시료 1 g에 진한 황산과 질산을 각각 10 mL씩 가하여 hot plate상에서 완전 분해시킨 다음 증류수로 희석하여 Inductively Coupled Plasma (ICP, Optima 3300 DV, Perkin-Elmer Co., Melville, NY, USA)로 분석하였다.

6) 구성아미노산 및 유리아미노산 정량

느타리버섯의 구성아미노산은 분해용 시험관에 0.5 g을 취하고 6 N HCl 3 mL를 혼합한 다음 7분간 질소가스를 충전시킨 후 110°C heating block에서 24시간 분해한 후 여과하여 농축하였으며, 이를 pH 2.2 sodium citrate 완충용액으로 10 mL로 정용한 후 0.2 µm membrane filter와 sep-pak C₁₈ cartridge에 여과시켜 아미노산 자동분석기(Amino acid analyzer 835, Hitachi, Tokyo, Japan)로 분석하였다.

유리아미노산은 시료 2 g에 에탄올 50 mL를 가하여 균질화하여 여과한 후 잔사에 다시 에탄올 50 mL를 가한 다음 여과한 후 남은 잔사에 80% 에탄올 50 mL를 가하여 동일하게 처리한 후 여과하였다. 여액을 모두 모아 농축시킨 다음 pH 2.2 lithium citrate 완충용액으로 10 mL로 정용하여 0.2 µm membrane filter와 sep-pak C₁₈ cartridge에 여과시켜 아미노산 자동분석기(Amino acid analyzer 835)로 분석하였다.

7) 총당 및 환원당 정량

느타리버섯의 총당 및 환원당 정량을 위해 시료를 증류수로 1% 농도로 추출한 여과액을 사용하였다. 총당은 phenol-H₂SO₄법(Dubois et al., 1956)에 따라 여과액 1 mL에 5% phenol 시약 1 mL와 H₂SO₄ 5 mL를 각각 첨가하여 실온에서 30분간 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원당은 DNS법(Miller, 1959)에 따라 여과액 1 mL에 DNS시약 3 mL를 가하여 100°C의 끓는 물에서 10분간 가열하고 냉각한 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 glucose(Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA)를 이용하여 동일하게 수행하여 얻은 표준 검량선에 의하여 시료의 총당 및 환원당 함량을 계산하였다.

8) β-Glucan 함량 측정

느타리버섯의 β-glucan 함량은 Megazyme kit (Mushroom and Yeast β-glucan Assay Procedure K-TBGL, Co. Wicklow, Bray, Ireland)을 이용하여 시료 100 mg에 37% HCl 1.5 mL를 넣고 30°C water bath에서 45분간 교반한 후 3차 증류수 10 mL를 가하고 100°C water bath에서 다시 2시간 교반하였다. 이 반응액을 상온에서 식힌 후 2N KOH 10 mL를 가하여 혼합하였다. 이 혼합물에 0.2M sodium acetate buffer (pH 5.0)를 가하여 100 mL로 정량한 후 원심분리(1,500 × g, 10분)하여 상등액을 얻었다. 상등액 0.1 mL에 exo-1,3-β-glucan (20

U/mL)+ β -glu-cosidase (4 U/mL) 용액 0.1 mL를 가하고 40°C water bath에서 60분간 반응시켰다. 이 반응액에 GOPOD (glucose oxi-dase/peroxidase, Megazyme) 시약 3 mL를 넣고 40°C에서 20분간 반응시킨 후 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 total glucan 함량의 계산에 사용하였다. 또한 시료 100 mg에 2N KOH 2 mL를 넣고 ice water bath에서 20분간 교반하였다. 이 반응액에 1.2 M sodium acetate buffer (pH 3.8) 8 mL와 amyloglucosidase 용액 0.2 mL를 가하고 40°C water bath에서 30분간 교반한 후 원심분리 (1,500 × g, 10분)하여 상등액을 얻었다. 상등액 0.1 mL에 0.2 M sodium acetate buffer (pH 5.0) 0.1 mL와 GOPOD 시약 3 mL를 넣고 40°C에서 20분간 반응시킨 후 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 α -glucan 함량의 계산에 사용하였다. 측정된 total glucan과 α -glucan의 흡광도는 표준물질인 glucose 용액 (1 mg/mL)을 GOPOD 시약과 반응시킨 반응액의 흡광도를 이용하여 각각 함량(% , w/w)값으로 계산하였다. β -Glucan 함량은 total glucan 함량에서 α -glucan 함량을 뺀 값으로 계산하였다.

9) 갈색물질 함량 측정

느타리버섯의 80% 메탄올 추출액 중 갈색물질 함량은 UV-visible spectrophotometer (U-2900, HITACHI, Tokyo, Japan)로 280 nm 및 420 nm에서 80% 메탄올을 대조로 하여 각각 측정하여 흡광도 값으로 나타내었다.

10) 총 페놀 및 플라보노이드 함량 측정

총 페놀 함량은 느타리버섯의 80% 추출액 1 mL에 동량의 Folin-ciocalteau 시약 및 10% Na₂CO₃용액을 차례로 가한 다음 실온의 암실에서 1시간 반응시킨 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다(Gutfinger T, 1981). 플라보노이드 함량은 상기의 추출액 1 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가한 후 실온의 암실에서 40분간 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다(Moreno MIN et al, 2000). 총 페놀 및 플라보노이드 정량은 표준물질로 각각 gallic acid 및 quercetin (Sigma-Aldrich Co.)을 사용하여 얻은 표준검량선으로부터 산출하였다.

11) 항산화 활성 측정

항산화 활성은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] 라디칼 소거활성 및 환원력으로 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 5 mg/100 mL 메탄올에 용해한 DPPH 용액에 동량의 시료를 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다(Blois MS, 1958). ABTS 라디칼 소거활성은 7 mM ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시켜 냉암소에서 12~16시간 반응시킨 다음 414 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 희석한 것을 ABTS 기질용액으로 사용하였으며, 이 용액 100 μ L에 시료 추출물을 50 μ L 가하여 실온에서 5분간 반응시켜

414 nm에서 흡광도를 측정하였다(Re R et al, 1999). 각 라디칼의 소거활성(%)은 $[1 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$ 으로 계산하였다. 환원력은 FRAP (ferric-reducing antioxidant potential ability)에 따라 시료 추출액 40 μL , 증류수 40 μL , FRAP 기질용액 100 μL 를 차례로 혼합하여 37°C에서 4분간 반응시켜 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 표준물질로 하여 작성한 검량선에 의해 계산하였다. 이때 FRAP 기질용액은 pH 3.6의 300 mM acetate 완충용액, 10 mM TPTZ-40 mM HCl 용액, 20 mM ferric chloride를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합한 후 37°C water bath에서 5분간 반응시킨 것을 사용하였다 (Benzie IFF & Strain JJ, 1996). 또한 흡광도법에 따라 시료액 1 mL에 인산 완충액(200 mM, pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide용액 각 1 mL를 차례로 가한 다음 50°C의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA용액 1 mL를 가하여 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었으며, 여기에 동량의 증류수 및 ferric chloride 용액을 차례로 가하여 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 환원력은 700 nm에서 흡광도 값으로 나타내었다(Oyaizu, 1986).

3. 연구 결과

가. 액체종균 배양 버섯과 시판 느타리버섯의 품질특성 및 생리활성 비교

본 연구과제를 통해 개발된 느타리버섯 액체종균으로 생산된 버섯 ‘흑타리’ 품종과 시판되는 느타리버섯(고체종균으로 배양된 버섯)의 품질특성 및 생리활성을 비교하였다.

1) 느타리버섯의 색도

본 연구에서 개발된 액체종균으로 재배된 느타리버섯(‘흑타리’)과 시판 느타리버섯 4종의 색도를 비교한 결과는 Table 10과 같다. 버섯의 갓 부위에서 명도(L값)는 액체종균 버섯에서 64.25였는데, 시판 버섯은 38.20~65.50의 범위로 시료 간에 유의적인 차이를 보였다. 반면에 시판 버섯 D는 액체종균 버섯과 유의차를 보이지 않았다. 적색도(a값)는 액체종균 버섯이 유의적으로 낮은 값이었으며(3.37), 시판 버섯은 3.96~5.80의 범위로 액체종균 버섯에 비해 유의적으로 높은 경향이였다. 황색도(b값)는 적색도와 유사한 경향으로 액체종균 버섯에서 11.45인 반면에 시판 버섯에서는 13.65~19.08의 범위로 유의적으로 높은 경향이였다. 전체적인 색차는 액체종균 버섯에서 65.39으로 시판버섯 A~C보다는 유의적으로 높았지만, 시판 버섯 D(68.36)보다는 유의적으로 낮은 수준이였다.

버섯 대 부위에서 명도(L값)는 액체종균 버섯이 93.64로 시판 버섯의 72.75~91.38보다 유의적으로 높아 밝은 것으로 나타났다. 적색도(a값)는 갓 부위와는 다른 경향으로 액체종균 버섯과 시판 버섯 A 및 B와 유의차를 보이지 않았으며, 시판 버섯 C와 D보다는 유의적인 차이를 보였다. 황색도(b값)는 액체종균 버섯이 가장 낮았으며, 시판 버섯 B와는 유의차가 없었으나, 그 외의 시판 버섯보다는 유의적으로 낮은 수준이였다. 버섯 대 부위의 전체적인 색차는 액체종균 버섯이

93.79로 시판 버섯에 비해 유의적으로 높은 경향이였다.

현재 시판되고 있는 느타리버섯은 고체종균으로 재배되고 있는 실정인데, 이와같이 시판 버섯 간에 색도 차이는 버섯의 품종, 배양환경 뿐 아니라 시중에 유통되는 기간동안 품질 변화가 발생되었기 때문이라 짐작된다.

Table 10. Hunter color values of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Kinds of mushroom	L	a	b	ΔE
Pileus				
Cultivated sample ¹⁾	64.25±3.55 ^D	3.37±0.61 ^A	11.45±2.27 ^A	65.39±3.57 ^D
Commercial sample ²⁾				
A	38.20±3.95 ^A	5.44±0.24 ^C	13.65±1.57 ^B	40.94±4.11 ^A
B	60.13±2.09 ^C	3.96±0.14 ^B	15.17±0.58 ^C	62.14±2.05 ^C
C	42.83±1.15 ^B	5.80±0.16 ^D	15.30±0.53 ^C	45.85±1.20 ^B
D	65.50±2.45 ^D	4.24±0.34 ^B	19.05±0.77 ^D	68.36±2.34 ^E
Stipe				
Cultivated sample ¹⁾	93.64±0.25 ^D	0.54±0.08 ^B	5.25±0.28 ^A	93.79±0.24 ^D
Commercial sample ²⁾				
A	84.47±2.16 ^B	0.55±0.34 ^B	11.57±1.03 ^C	85.27±2.04 ^B
B	91.38±1.45 ^C	0.37±0.27 ^{AB}	6.03±1.23 ^A	91.59±1.39 ^C
C	72.75±3.13 ^A	1.72±0.28 ^C	14.57±2.41 ^D	74.25±2.99 ^A
D	90.73±0.61 ^C	0.16±0.27 ^A	9.84±1.47 ^B	91.27±0.51 ^C

All values are mean±SD (n=10)

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾Cultivated sample was cultivated from liquid spawn

²⁾Commercial sample was cultivated from solid spawn

2) 느타리버섯의 조직감

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯('흑타리')과 시판 느타리버섯의 조직감을 비교한 결과는 Table 11과 같다.

경도(hardness)는 시판 버섯이 280.29~391.85 g/cm³의 범위로 액체종균 버섯(453.93 g/cm³)에 비해 유의적으로 낮아 액체종균 버섯의 조직이 더 치밀하였다. 씹힘성(chewiness)은 액체종균 버섯이 317.33 g으로 시판 버섯보다 유의적으로 높았다. 검성(gumminess)에서도 액체종균 버섯에 비하여 시판 버섯이 유의적으로 낮은 결과를 보였다. 복원성(resilience)은 액체종균 버섯과 시판 버섯 B간에 유의차가 없었다. 부착성(adhesiveness), 탄성(springiness) 및 응집성(cohesiveness)은 모든 시료간에 유의차를 보이지 않았다.

이로써 액체종균으로 배양된 느타리버섯 '흑타리'는 경도(hardness), 씹힘성(chewiness), 검성(gumminess), 회복성(resilience)에서 고체종균으로 생산된 시판 버섯보다 유의적으로 높아 버섯의 식감이 우수하여 소비자의 기호도에 적합할 것으로 여겨진다.

Table 11. Textural characteristics of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

	Kinds of mushroom ¹⁾				
	Cultivated sample	Commercial sample			
		A	B	C	D
Hardness (g/cm ³)	453.93±27.3 ^D	391.85±27.8 ^C	312.66±11.5 ^B	280.29±28.7 ^A	330.81±48.5 ^B
Adhesiveness (g·s)	0.14±0.1 ^{NS}	0.14±0.1	0.14±0.1	0.12±0.0	1.12±0.0
Chewiness (g)	317.33±42.6 ^C	268.33±24.3 ^B	249.47±23.2 ^{AB}	237.29±39.6 ^A	273.19±38.3 ^B
Springness (%)	0.92±0.0 ^B	0.88±0.0 ^B	0.93±0.0 ^B	0.83±0.1 ^A	0.89±0.0 ^B
Gumminess (g)	346.24±49.1 ^B	305.70±38.4 ^A	276.62±38.1 ^A	271.45±41.5 ^A	307.70±45.0 ^A
Cohesiveness (%)	0.78±0.04 ^{BC}	0.74±0.09 ^A	0.80±0.03 ^C	0.74±0.05 ^{AB}	0.78±0.04 ^{BC}
Resilience	0.494±0.05 ^C	0.438±0.04 ^B	0.505±0.04 ^C	0.342±0.04 ^A	0.496±0.03 ^C

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD (n=8)

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

3) 느타리버섯의 일반성분 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯('흑타리')과 시판 느타리버섯의 일반성분 함량을 비교한 결과는 Table 12와 같다.

수분함량은 액체종균 버섯이 86.80%였는데, 시판 버섯은 90.44~92.08%로 시판 버섯이 액체종균 버섯에 비해 유의적으로 높은 경향이였다. 회분 함량은 액체종균 버섯이 1.46%로 시판 버섯 (0.78~1.14%)에 비해 유의적으로 높았다. 조단백질 함량도 액체종균 버섯이 5.07%로 시판 버섯에 비해 유의적으로 높았으며, 시판 버섯간에는 유의차가 적었다. 조지방은 0.12~0.30%의 범위로 액체종균 버섯에서 높은 함량이였다. 탄수화물 역시 3.60~6.37%의 범위로 액체종균 버섯에서 유의적으로 높은 경향이였다.

아워버섯, 큰느타리버섯 및 느타리버섯의 영양성분에 대한 비교 연구에서 느타리버섯의 수분함량이 91.3%, 회분은 0.6%, 조단백질은 1.2%, 조지방은 0.2%였다는 보고가 있다(Hong KH et al., 2004). 이는 본 연구에서 개발된 액체종균 버섯보다 조단백질의 함량이 훨씬 적었다. 이러한 결과는 단백질의 최종 대사산물인 아미노산이 식품에 있어서 영양적 기능뿐만 아니라 식품의 맛에도 기여한다는 보고(Mau JL et al., 1997)로 볼 때 액체종균 버섯이 고체종균 버섯보다 더 좋은 영양성과 맛을 발휘할 것으로 여겨진다. 또한 액체종균 버섯의 탄수화물 함량이 높은 것으로 볼 때 다당류의 일종으로 면역증강작용이 있는 β -glucan의 함량과도 상관성이 있을 것으로 추정된다.

Table 12. Proximate composition of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Kinds of mushroom ¹⁾	Proximate composition (%)				
	Moisture	Ash	Crude protein	Crude lipids	Carbohydrate
Cultivated sample ¹⁾	86.80±0.18 ^A	1.46±0.20 ^C	5.07±0.23 ^C	0.30±0.00 ^E	6.37±0.22 ^D
Commercial sample ²⁾					
A	92.08±0.38 ^D	1.14±0.08 ^B	3.06±0.11 ^A	0.12±0.01 ^A	3.60±0.19 ^A
B	90.44±0.59 ^B	0.78±0.13 ^A	3.21±0.13 ^{AB}	0.18±0.00 ^D	5.40±0.71 ^C
C	91.35±0.20 ^C	0.86±0.07 ^A	3.28±0.11 ^{AB}	0.13±0.01 ^B	4.38±0.28 ^B
D	91.12±0.37 ^C	0.98±0.04 ^{AB}	3.46±0.06 ^B	0.16±0.00 ^C	4.27±0.43 ^{AB}

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD (n=3)

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

4) 느타리버섯의 무기물 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯(‘흑타리’)과 시판 느타리버섯의 무기물 함량을 비교한 결과는 Table 13과 같다.

무기물은 K(칼륨), Ca(칼슘), Mg(마그네슘), Na(나트륨), Mn(망간), Fe(철), Al(알루미늄), P(인) 등의 총 8종이 검출되었다. 무기질의 총량은 421.17 mg/100 g으로 액체종균 버섯이 가장 많았고, 다음으로 시판 버섯 D(362.78 mg/100 g), C(342.93 mg/100 g), A(339.36 mg/100 g), B(333.26 mg/100 g)의 순이었다. 모든 버섯 시료에서 무기질의 조성은 $K > P > Mg > Na > Ca$ 의 순이었으며, 액체종균 버섯에서 K의 함량은 251.27 mg/100 g, P의 함량은 129.95 mg/100 g으로써 시판 버섯에 비해 높은 수준이었다.

Table 13. Mineral contents of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

		(mg/100 g)			
		Kinds of mushroom ¹⁾			
	Cultivated sample	Commercial sample			
		A	B	C	D
K	251.27±6.05	210.32±1.98	195.25±3.12	205.87±4.03	216.80±3.50
Ca	10.60±0.12	10.62±0.07	10.25±0.08	11.17±0.22	10.95±0.13
Mg	14.25±0.14	13.63±0.15	12.70±0.11	12.52±0.22	13.41±0.19
Na	11.77±0.12	10.47±0.20	12.41±0.11	13.14±0.30	10.96±0.14
Mn	2.21±0.04	1.92±0.04	2.04±0.03	2.18±0.01	4.20±0.04
Fe	0.09±0.00	0.06±0.01	0.06±0.00	0.06±0.00	0.07±0.00
Al	1.04±0.01	0.85±0.02	1.13±0.03	0.88±0.01	0.74±0.06
P	129.95±1.02	91.52±2.58	99.42±2.24	97.13±0.72	105.65±1.36
Total	421.17±4.63 ^D	339.36±2.59 ^{AB}	333.26±4.37 ^A	342.93±3.58 ^B	362.78±4.56 ^C

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD (n=3)

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

무기물은 인체의 약 4% 정도를 차지하고 있으나 체내에서 합성되지 않기 때문에 반드시 식품으로부터 섭취해야 한다(Bea YK et al., 2008). 특히, 칼륨(K)은 이노작용을 촉진시키고(Hwang JB et al., 1997), 철분(Fe)은 유해한 활성산소 저해에 관여하며(Lee SH et al., 2003), 인(P)은 신진대사를 활성화시키고 세포의 노화방지에 영향을 미치는 성분으로 알려져 있다(Lee KJ et al., 2009). 따라서 주요 무기물 함량이 높은 액체종균 버섯은 시판 버섯에 비해 무기질 급원이 풍부한 식품으로 이용가치가 클 것으로 여겨진다.

5) 느타리버섯의 구성 아미노산 조성

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯(‘흑타리’)과 시판 느타리버섯의 구성 아미노산 함량을 비교한 결과는 Table 14와 같다. 총 18종의 아미노산이 검출되었으며, 구성아미노산의 총량은 액체종균 버섯에서 4695.22 mg/100 g으로 가장 높았으며, 시판 버섯은 2338.45~3257.26 mg/100 g의 범위였다. 필수아미노산의 함량도 액체종균 버섯에서 1870.98 mg/100 g으로, 시판 버섯에 비해 1.3~2.1배 높은 수준이었으며, 모든 필수아미노산의 함량이 액체종균 버섯에서 높은 수준이었다. 검출된 아미노산 18종 중 glutamic acid의 함량이 가장 많았는데, 시판 버섯 D의 경우에는 phenylalanine의 함량이 glutamic acid보다 다소 높았다.

또한 액체종균 버섯은 단맛을 나타내는 것으로 알려진 glycine, tyrosine 및 alanine(Solms J., 1969)의 함량이 높았으며, 아미노산의 맛을 변화시키거나 강화시키는데 관여하는 glutamic acid(Lee YS et al., 2006)가 가장 함유되어 있으며, 또 피로회복에 효과가 있는 것으로 알려진 tyrosine(Han HS et al., 2004)이 많이 시판 버섯에 비해 맛 뿐만 아니라 영양적 측면에서도 액체종균에 의한 버섯이 양질의 버섯으로 판단된다.

Table 14. Contents of composition amino acids of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

(mg/100 g)

	Kinds of mushroom ¹⁾				
	Cultivated sample	Commercial sample			
		A	B	C	D
Aspartic acid	357.14	213.18	187.21	172.64	247.85
Threonine*	203.47	130.88	115.83	95.23	143.20
Serine	188.02	115.75	111.25	89.41	138.44
Glutamic acid	714.19	369.38	366.95	366.31	345.47
Proline	158.16	101.90	93.71	0.00	123.26
Glycine	194.80	136.85	125.29	96.00	161.65
Alanine	319.82	237.37	172.38	145.14	256.41
Cystine	13.34	8.59	5.32	4.45	8.61
Valine*	234.42	145.08	138.78	104.12	171.67
Methionine*	53.33	27.06	33.72	27.37	38.28
Isoleucine*	186.87	113.63	102.45	79.08	142.70
Leucine*	279.47	174.17	157.03	118.72	228.22
Tyrosine	141.71	96.97	91.93	57.80	102.21
Phenylalanine*	470.23	375.64	296.53	265.49	355.75
Histidine*	118.00	92.17	59.36	57.57	76.80
Lysine*	325.19	261.33	217.98	152.78	233.03
Ammonium chloride	483.53	403.85	335.53	398.78	342.61
Arginine	253.53	131.36	126.13	107.56	141.10
Essential amino acids*	1870.98	1319.96	1121.68	900.36	1389.65
Essential/Total (%)	39.8	42.1	41.0	38.5	42.7
Total amino acids	4695.22	3135.16	2737.38	2338.45	3257.26

¹⁾Refer to the Table 10

6) 느타리버섯의 총당 및 환원당 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 재배된 느타리버섯(‘흑타리’)과 시판 느타리버섯의 총당 및 환원당을 비교한 결과는 Table 15와 같다.

총당 함량은 액체종균 버섯이 724.27 mg/100 g으로 유의적으로 높았으며, 시판 버섯 D는 607.93 mg/100 g, 시판 버섯 B는 526.27 mg/100 g, 시판 버섯 C는 508.27 mg/100 g, 시판 버섯 A는 441.27 mg/100 g이었다. 환원당은 총당의 함량과 비슷한 경향이었으며, 액체종균 버섯이 272.73 mg/100 g으로 가장 높은 함량이었으며, 시판 버섯은 252.03~266.88 mg/100 g의 범위였다.

Table 15. Content of total and reducing sugar of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Kinds of mushroom ¹⁾	Total sugar	Reducing sugar
	(mg/100 g)	
Cultivated sample	724.27±7.64 ^D	272.73±3.69 ^D
Commercial sample		
A	441.27±25.58 ^A	253.20±2.67 ^A
B	526.27±4.04 ^B	266.88±2.99 ^C
C	508.27±19.14 ^B	252.03±1.28 ^A
D	607.93±30.29 ^C	258.67±5.32 ^B

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD (n=4)

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

7) 느타리버섯의 β-glucan 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯(‘흑타리’)과 시판 느타리버섯의 β-glucan 함량을 비교한 결과는 Table 16과 같다.

Total glucan 함량은 액체종균 버섯이 55.9 mg/100 g으로 유의적으로 높았으며, 시판 버섯 4종에서는 24.4~48.6 mg/100 g의 범위였다. α-Glucan은 total glucan과 비슷한 경향이었으며, 시판 버섯에서는 2.1~4.1 mg/100 g의 범위로 이는 액체종균 버섯에 비해 약 34.4~63.5%에 불과하였다. Total glucan에서 α-glucan을 제외한 β-glucan 함량은 액체종균 버섯에서 49.5 mg/100 g으로 가장 높았으며, 시판 버섯은 22.3~44.5 mg/100 g이었다. 시판 버섯 B, C 및 D를 비교해 볼 때 α-glucan의 함량은 유사하나, β-glucan 함량에 따라 total glucan의 함량에 차이를 보이는 것을 알 수 있었다.

β -Glucan은 버섯류에서 세포벽을 구성하며, 단백질 또는 기타 세포벽 성분과 결합한 형태로 존재한다. 이는 면역활성체의 기능, 항산화능, 생체조직의 재생과 치유, 항생제, 항균, 항바이러스 및 대식세포를 자극하여 돌연변이 세포를 인식하고 공격하는 항종양 효과를 내는 물질로 알려져 있다(Nakajima A et al., 2002; Mizuno M et al., 1998). 미국 FDA는 매일 3 g의 수용성 β -glucan을 섭취하게 되면 심혈관 질환을 줄일 수 있다고 보고한 바 있는데(FDA, 2005), 본 연구를 통해 개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯은 β -glucan의 함량이 시판 버섯에 비해 월등히 높아 이로 인한 이용가치가 높을 것으로 생각된다.

Table 16. Content of β -glucan of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Kinds of mushroom ¹⁾	Total glucan	α -glucan	β -glucan
	mg/100 g		
Cultivated sample	55.9±2.6 ^E	6.3±0.1 ^C	49.5±2.5 ^E
Commercial sample			
A	24.4±0.9 ^A	2.1±0.1 ^A	22.3±0.8 ^A
B	48.6±1.6 ^D	4.1±0.1 ^B	44.5±1.5 ^D
C	34.0±1.3 ^C	4.1±0.1 ^B	30.0±1.2 ^C
D	31.0±1.0 ^B	4.0±0.2 ^B	27.0±0.9 ^B

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD ($n=3$)

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

8) 느타리버섯 추출물의 갈색도

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯(‘흑타리’)과 시판 느타리버섯 추출물의 갈색도를 비교한 결과는 Table 17과 같다.

280 nm에서 느타리버섯 추출물의 흡광도는 액체종균 버섯에서 0.46으로 시판 버섯(0.26~0.41)에 비해 유의적으로 높았다. 420 nm에서 버섯 추출물의 흡광도는 시판 버섯 C에서 0.71로 가장 높았으며, 다음으로 시판 버섯 A(0.70)였으며, 액체종균 버섯은 이보다 다소 낮은 수준이었다.

Table 17. Browning intensity of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Kinds of mushroom ¹⁾	Absorbance	
	280 nm	420 nm
Cultivated sample	0.46±0.002 ^E	0.61±0.002 ^C
Commercial sample		
A	0.27±0.001 ^B	0.70±0.004 ^D
B	0.26±0.002 ^A	0.47±0.001 ^B
C	0.33±0.001 ^C	0.71±0.003 ^E
D	0.41±0.001 ^D	0.41±0.001 ^A

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD ($n=3$)

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

9) 느타리버섯의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯(‘흑타리’)과 시판 느타리버섯의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 비교한 결과는 Table 18과 같다.

총 페놀 함량은 액체종균 버섯에서 65.95 mg/100 g으로 가장 많았으며, 시판 버섯에서는 40.97~60.82 mg/100 g이었다. 플라보노이드 함량은 액체종균 버섯이 28.88 mg/100 g으로 가장 많았으며, 시판 버섯은 16.02~23.12 mg/100 g의 범위로 시판 버섯 중에서도 시료간에 함량 차이가 심하였다.

유리 라디칼의 홀-전자는 불안정하고 매우 반응성이 높은 특성을 가지고 있는데, 이는 산화적인 손상뿐 아니라 DNA의 파괴, 발암작용, 생체 분자의 산화 및 노화를 초래하여 생리 기능을 감소시키게 된다(Willcox et al., 2004; Valko et al., 2006). 대표적인 항산화성 물질인 페놀성 물질들은 식물체에서 중요한 항산화 성분으로 작용하며 이는 자유라디칼 제거인자으로써 항산화 작용에 기여하게 된다(Michalak et al., 2006). 또한 페놀성 화합물은 항염증성에도 관여하게 된다. 따라서 본 연구에서 개발된 액체종균 버섯은 시판 버섯에 비해서 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 높아 이들에 의한 항산화 활성을 기대할 수 있을 것으로 예측된다.

Table 18. Content of total phenols and flavonoids of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Kinds of mushroom ¹⁾	Total phenol	Flavonoid
	(mg/100 g)	
Cultivated sample	65.95±3.14 ^E	28.88±2.82 ^D
Commercial sample		
A	40.97±2.11 ^A	16.02±0.72 ^A
B	45.36±2.93 ^B	17.27±1.05 ^{AB}
C	55.37±1.89 ^C	23.12±2.04 ^C
D	60.82±1.17 ^D	19.56±2.27 ^B

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD (n=4)

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

10) 느타리버섯의 항산화 활성

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 느타리버섯(‘흑타리’)과 시판 느타리버섯의 항산화 활성을 비교한 결과는 Table 19, 20 및 21과 같다.

DPPH 라디칼 소거활성은 Table 19에 나타난 바와 같이 느타리버섯의 80% 메탄올 추출물의 농도가 0.1 g/mL일 때 액체종균 버섯에서 51.85%로 50% 이상의 소거활성을 보였는데, 시판 버섯은 50% 미만의 활성에 불과하였다. 하지만 0.2 g/mL의 농도에서는 모든 시료에서 60% 이상의 소거활성을 보여 시료 간에 대차를 보이지 않았다.

ABTS 라디칼 소거능은 0.02 g/mL의 시료농도에서는 액체종균 버섯이 29.95%의 소거활성으로 시판 버섯에 비해 유의적으로 높은 활성이었으나, 0.05 g/mL이 농도에서는 49.62%로 이는 시판 버섯 C 및 D와 유사한 활성이었다. 반면에 0.1 g/mL의 시료농도에서는 모든 시료에서 65% 이상의 소거활성을 보였으며, 0.15~0.2 g/mL의 농도범위에서는 70.52~92.07%의 소거활성으로 액체종균 버섯과 시판 버섯 C, D와 비슷한 수준이었다(Table 20).

FRAP법에 의한 환원력은 Table 21에 나타난 바와 같이 시료의 첨가량이 많아짐에 따라 환원력은 유의적으로 증가되었다. 시료의 첨가 농도가 0.1 g/mL에서 액체종균 버섯은 28.31 µM의 활성이었으나, 시판 버섯은 34.02~51.28 µM의 활성의 활성을 보였다. 반면에 0.15 g/mL의 시료농도에서는 모든 시료에서 50 µM 이상의 활성을 보였으며, 0.2 g/mL의 농도에서는 액체종균 버섯이 77.14 µM의 활성으로 이는 시판 버섯 B보다는 유의적으로 높은 활성이었으나, 여타의 시료와는 유의차가 적었다.

DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 유리라디칼로써 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 자색이 탈색되는데, 이는 천연물로부터 항산화 물질을 분석하는데 많이 이용되고 있다

(Lee IK & Ahn SY, 1985). ABTS와 potassium persulfate를 암실에 방치하여 생성되는 ABTS anion이 추출액 중의 항산화 물질과 반응하여 ABTS anion이 소거되어 특유의 색인 청록색이 탈색되게 된다. 이처럼 ABTS anion 탈색반응은 생성된 유리라디칼의 제거정도를 흡광도로 나타내는 방법으로 탈색반응이 1분 안에 종료되므로 단시간에 분석이 가능하고, 소수성과 친수성 물질 모두에 적용될 수 있는 장점이 있다(Kim HJ et al., 1998). FRAP법에 의한 환원력은 항산화력을 측정하는 방법 중 하나로 DPPH, ABTS 라디칼 소거활성과는 달리 철이온의 환원력에 의한 항산화활성을 측정할 수 있다(Yu MH et al., 2011). 또한 환원력과 DPPH 라디칼 소거활성의 결과는 높은 상관관계를 나타내는 것으로 보고(Moon GS et al., 2003)된 것과는 다르게 액체종균 버섯은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성과는 달리 FRAP에 의한 환원력 분석에서 두각을 드러내지 못하였는데, 이는 항산화 기작의 차이에서 나온 결과라 사료된다.

Table 19. DPPH radical scavenging activities in 80% methanol extract of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

	Concentration of mushroom extract (g/mL)				
	0.02	0.05	0.1	0.15	0.2
Cultivated sample	7.87±0.79 ^{aC}	32.77±1.91 ^{bC}	51.85±3.28 ^{cC}	60.31±2.49 ^{dCD}	60.94±1.53 ^{dA}
Commercial sample					
A	4.38±0.71 ^{aB}	28.52±2.29 ^{bAB}	32.92±1.65 ^{cA}	44.62±2.01 ^{dA}	62.50±2.22 ^{eA}
B	3.31±0.61 ^{aAB}	25.91±2.34 ^{bA}	33.48±2.71 ^{cA}	57.80±2.47 ^{dC}	68.20±1.63 ^{eB}
C	2.51±0.34 ^{aA}	32.27±0.71 ^{bBC}	42.09±1.36 ^{cB}	63.16±1.70 ^{dD}	67.54±0.69 ^{eB}
D	12.39±1.72 ^{aD}	39.02±4.43 ^{bD}	40.55±2.61 ^{bB}	52.37±1.98 ^{cB}	66.37±1.01 ^{dB}

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD (n=4)

Means with different superscripts in the same column (A-D) and same row (a-e) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

Table 20. ABTS radical scavenging activities in 80% methanol extract of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

(%)

	Concentration of mushroom extract (g/mL)				
	0.02	0.05	0.1	0.15	0.2
Cultivated sample	29.95±2.52 ^{aC}	49.62±3.24 ^{bC}	80.65±0.92 ^{cD}	90.30±0.92 ^{dC}	90.63±0.23 ^{dBC}
Commercial sample					
A	10.48±2.14 ^{aA}	42.48±3.87 ^{bB}	74.12±0.75 ^{cB}	70.52±3.18 ^{cA}	87.50±0.81 ^{dA}
B	10.58±1.97 ^{aA}	34.67±3.83 ^{bA}	69.02±0.66 ^{cA}	75.20±0.46 ^{dB}	92.07±0.27 ^{eD}
C	15.69±3.87 ^{aB}	47.19±2.84 ^{bBC}	83.82±0.69 ^{cE}	90.81±1.35 ^{dC}	91.55±0.31 ^{dCD}
D	12.46±1.51 ^{aAB}	47.23±1.38 ^{bBC}	78.62±1.05 ^{cC}	88.32±0.30 ^{dC}	90.04±1.48 ^{dB}

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD (*n*=4)

Means with different superscripts in the same column (A-E) and same row (a-e) are significantly different at *p*<0.05 by Duncan's multiple range tests.

Table 21. Reducing power by FRAP in 80% methanol extract of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

(μ M, FeSO₄·7H₂O)

	Concentration of mushroom extract (g/mL)				
	0.02	0.05	0.1	0.15	0.2
Cultivated sample	14.72±1.79 ^{aA}	27.69±2.39 ^{bAB}	28.31±3.02 ^{bA}	51.05±0.39 ^{cA}	77.14±1.41 ^{dB}
Commercial sample					
A	15.73±2.52 ^{aAB}	29.41±3.82 ^{bBC}	39.95±2.39 ^{cC}	57.30±2.47 ^{dB}	73.94±3.17 ^{eB}
B	17.22±3.05 ^{aAB}	34.33±4.55 ^{bC}	34.02±0.59 ^{bB}	60.73±2.62 ^{cC}	67.77±1.56 ^{dA}
C	19.09±1.48 ^{aBC}	23.55±1.72 ^{aA}	34.41±5.33 ^{bB}	80.89±2.53 ^{dD}	101.20±3.21 ^{dC}
D	21.59±2.43 ^{aC}	44.31±4.30 ^{bD}	51.28±3.90 ^{cD}	53.23±1.52 ^{cA}	76.59±1.45 ^{dB}

¹⁾Refer to the Table 10

All values are mean±SD (*n*=4)

Means with different superscripts in the same column (A-D) and same row (a-d) are significantly different at *p*<0.05 by Duncan's multiple range tests.

나. 액체종균 및 고체종균에 의한 느타리버섯의 품질특성 및 생리활성 비교

1) 병재배 느타리버섯의 일반성분 함량

본 연구에서 개발된 느타리버섯('흑타리')의 액체종균과 기존의 고체종균 및 '춘추2호' 느타리버섯 품종의 고체종균을 동일조건에서 병재배하였을 때 버섯의 일반성분 함량을 비교한 결과는 Table 22와 같다.

수분 함량은 춘추2호 버섯에서 유의적으로 가장 높았으나, 모든 버섯에서 1% 내외의 차이에 불과하였다. 회분은 0.66~0.76%의 범위로 액체종균으로 생산된 흑타리버섯에서 다소 유의적으로 높았다. 조단백질은 액체종균 버섯이 4.78%로 타 시료에 비해 유의적으로 높았다. 조지방은 0.51~0.55%의 범위로 시료간에 유의차가 없었다. 탄수화물은 액체종균 버섯과 춘추2호 버섯간에 유의차가 없었다.

Table 22. Proximate composition of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Source of mushroom spawn	Moisture	Ash	Crude protein	Crude lipids	Carbohydrate
Liquid spawn	89.59±0.04 ^A	0.76±0.03 ^B	4.78±0.17 ^C	0.55±0.00 ^{NS}	4.33±0.12 ^A
Solid spawn	89.62±0.22 ^A	0.70±0.01 ^A	3.68±0.06 ^A	0.53±0.00	5.46±0.28 ^B
'Chunchu No.2' solid spawn	90.11±0.13 ^B	0.66±0.01 ^A	4.05±0.00 ^B	0.51±0.00	4.67±0.13 ^A

All values are mean±SD ($n=3$)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

차신고 버섯의 일반성분 함량은 조단백질과 조지방의 함량이 각각 2.5%, 0.4%였는데(Lee KJ et al., 2009), 본 연구에서의 액체종균 느타리버섯은 4.78%와 0.55%로 차신고 버섯보다는 다소 높은 함량이었다. 또한 여러 종류의 느타리버섯에서 조단백질은 1.2%, 조지방은 0.2%였다는 결과(Hong et al., 2004)와도 함량차가 큰 것으로 확인되었다. 이와 같이 액체종균 느타리버섯은 고체종균 느타리버섯이나 여타의 버섯에 비해 단백질 함량이 다소 높았는데, 액체 종균의 활력이 우수하여 배지로부터 영양분 흡수가 용이한 결과로 해석된다. 이를 뒷받침 할 수 있는 결과로는 액체종균으로 생산된 흑타리버섯은 동일한 조건에서 재배한 춘추2호 또는 고체종균으로 생산된 느타리버섯에 비해서도 조단백질이나 조지방의 함량이 높았다.

2) 병재배 느타리버섯의 무기물 함량

본 연구에서 개발된 느타리버섯('흑타리')의 액체종균과 기존의 고체종균 및 '춘추2호' 느타리버섯 품종의 고체종균을 동일조건에서 병재배하였을 때 버섯의 무기물 함량은 Table 23과 같다.

무기물은 총 8종이 검출되었으며, 총 무기물 함량은 382.57 mg/100 g으로 고체종균 흑타리버섯에서 유의적으로 높았으며, 춘추2호 버섯은 365.97 mg/100 g, 액체종균 버섯은 358.91 mg/100 g이었다. 무기물 중 칼륨(K)의 함량이 가장 많았으며, 이는 총 무기물 함량의 46.1~48.9%의 범위로 액체종균 버섯에서 가장 높은 비율을 차지하였다. 다음으로 인(P)의 함량이었는데, 인은 총 무기물 함량에 대해 26.7~30.4%로 액체종균 버섯에서 가장 낮았으며, 칼슘(Ca)은 9.4~10.2%의 비율로 액체종균 버섯에서 가장 높은 비율을 차지하였다. 이러한 결과로 볼 때 액체종균 버섯은 무기물의 총 함량에 대해서 칼륨과 칼슘의 함량이 높고 인의 함량이 낮아 체내 대사 조절에 효율적일 것으로 판단된다. 또한 칼륨의 함량이 특히 많아 한국인처럼 소금의 섭취가 높은 식생활에 매우 유익하다고 생각된다. 왜냐하면 칼륨은 체내 과잉의 나트륨 배출을 촉진하기 때문이다.

Table 23. Mineral contents of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

	(mg/100 g)		
	Source of mushroom spawn		
	Liquid spawn	Solid spawn	'Chunchu No.2' solid spawn
K	175.62±1.07	179.85±3.60	168.67±0.50
Ca	36.54±0.91	36.01±0.68	37.13±0.13
Mg	20.53±0.46	24.10±0.35	23.49±0.20
Na	25.42±0.69	22.00±0.34	23.80±0.27
Mn	0.12±0.01	0.12±0.01	0.14±0.00
Fe	3.42±0.06	3.02±0.02	2.52±0.02
Al	1.50±0.05	1.15±0.03	1.30±0.01
P	95.77±1.65	116.33±2.14	108.93±1.71
Total	358.91±0.23 ^A	382.57±5.48 ^C	365.97±1.67 ^B

¹⁾Refer to the Table 22

All values are mean±SD (n=3)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

더욱이 시판 버섯과 액체종균 버섯의 무기물 분석 결과에서도 액체종균 버섯의 무기물 함량이 높았던 것으로 볼 때 버섯의 무기물 조성은 종균의 차이나 재배에 따른 배지의 조성, 배양 환경 등에 따른 차이로 사료된다. 따라서 본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 흑타리버섯은 영양적 성분이 타 시료에 비해 우수한 것으로 판단된다.

3) 병재배 느타리버섯의 구성아미노산 및 유리아미노산 함량

본 연구에서 개발된 느타리버섯(‘흑타리’)의 액체종균과 기존의 고체종균 및 ‘춘추2호’ 느타리버섯 품종의 고체종균을 동일조건에서 병재배하였을 때 버섯의 구성아미노산과 유리아미노산을 분석한 결과는 Table 24 및 25와 같다.

구성아미노산은 총 18종이 검출되었으며, 총 함량은 액체종균 버섯에 2282.24 mg/ 100 g으로 가장 높았으며, 춘추2호 버섯은 3998.47 mg/100 g, 고체종균 흑타리버섯은 1677.15 mg/100 g이었다. 또한 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 고체종균 흑타리버섯이 41.0%로 이는 액체종균 버섯에 비해 다소 높은 수준이었으나, 액체종균 버섯의 필수아미노산 함량은 885.80 mg/100 g으로 고체종균 버섯에 비해 다소 높은 함량이었다.

유리아미노산은 총 29종이 검출되었으며, 총 함량은 액체종균 흑타리 버섯이 2730.94 mg/100 g, 고체종균 흑타리버섯이 1813.30 mg/100 g, 춘추2호 버섯이 1810.96 mg/100 g으로 액체종균 버섯의 함량이 2종의 고체종균 버섯에 비해 약 1.5배 높은 수준이었다.

버섯의 맛성분으로 알려진 감칠맛에 관여하는 아미노산으로 aspartic acid와 glutamic acid의 함량은 춘추2호 버섯이 293.67 mg/100 g으로 가장 많았으며, 액체종균 버섯이 242.83 mg/100 g, 고체종균 흑타리버섯이 190.64 mg/100 g이었는데, 이들 성분은 총 유리아미노산에 대해 8.9~16.2%를 차지하였으며, 특히 춘추2호 버섯에서 가장 높은 비율이었다.

아미노산은 1900년대 초 생화학자들에 의해 다시마의 맛성분으로 분리하여 monosodium glutamate(MSG)를 생산한 이후 1910년에 Ajinomoto사가 단백질을 산으로 가수분해하여 아미노산의 공업적 생산이 시작되었다(Ruffio P, 1987). 1956년에 일본의 Kyowa hakko사가 *Corynebacterium glutamicum*의 야생균주를 이용한 미생물의 발효에 의해 MSG를 생산하는 방법을 개발함으로써 대량생산이 가능하게 되었고, 1958년 L-lysine을 미생물을 이용한 발효법으로 생산할 수 있게 되면서 급속하게 발전하였다(Koinia SS & Shimono M et al., 1957). 우리나라에서도 1956년 동아화학사에서 밀 글루텐을 분해하여 1961년 미원(주)에 의해서 발효적 생산법이 도입되었다. 또한 아미노산은 단백질을 이루는 구성성분으로 세포 기능과 성장을 유지하기 위해 신진대사 과정에서 에너지 생성을 위한 중요한 영양소로 알려져 있다. α -아미노산은 아미노단백질을 구성하는 원료로 총 20여 종이 있다. 이중 류신, 라이신, 메티오닌, 발린, 이소류신, 트레오닌, 트립토판, 페닐알라닌, 히스티딘 등 9종은 생체내에서 합성되지 않아 반드시 음식물로 섭취해야 하는 필수 아미노산이다 아미노산은 근육의 원료물질로 에너지를 발생시키고 활력을 도우며, 신진대사의 촉매역할과 인체조직의 재생과 회복을 돕는 것으로 알려져 있다(Park YA et al., 2017).

Table 24. Contents of composition amino acids of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

(mg/100 g)

	Source of mushroom spawn		
	Liquid spawn	Solid spawn	'Chunchu No.2' solid spawn
Aspartic acid	217.84	153.90	186.63
Threonine*	99.18	70.08	80.30
Serine	93.64	67.87	78.25
Glutamic acid	336.55	232.98	282.02
Proline	68.80	47.46	51.44
Glycine	101.61	76.85	88.58
Alanine	137.28	105.64	118.68
Cystine	4.59	3.17	4.11
Valine*	109.46	80.04	90.15
Methionine*	28.63	22.46	24.51
Isoleucine*	88.78	64.91	72.73
Leucine*	135.09	100.95	113.31
Tyrosine	74.59	46.05	54.41
Phenylalanine*	188.83	169.13	184.92
Histidine*	68.91	48.57	63.11
Lysine*	166.91	131.65	170.69
Ammonium chloride	198.05	154.58	181.74
Arginine	163.49	100.85	152.90
Essential amino acids*	885.80	687.80	799.72
Essential / Total (%)	38.8	41.0	40.0
Total amino acids	2282.24	1677.15	1998.47

Table 25. Contents of free amino acids of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

(mg/100 g)

	Source of mushroom spawn		
	Liquid spawn	Solid spawn	'Chunchu No.2' solid spawn
Phenylserine	1.58	-	1.46
Urea	226.24	27.62	135.38
Aspartic acid	107.37	-	94.18
Threonine	126.11	82.31	63.13
Serine	139.12	102.09	83.82
Asoarragine	93.05	63.82	51.34
Glutamic acid	135.46	190.64	199.49
Proline	67.28	53.42	28.78
Glycine	66.98	56.41	38.58
Alanine	249.35	220.56	188.63
Valine	216.19	97.63	63.76
Cysteine	0.53	0.99	0.61
Methionine	62.42	56.27	40.92
Systathionine-2	14.71	11.13	13.34
Isoleucine	125.18	85.84	54.93
Leucine	231.35	169.37	110.58
Threonine	137.11	103.81	82.64
Phenylalanine	152.79	115.97	79.37
Gaba	13.15	18.75	31.27
Ethanolamine	17.49	15.83	14.60
Ammonium chloride	85.26	27.36	27.54
Hudroxylysine	0.43	0.54	-
Ornithine	39.88	41.07	66.58
Lysin	73.15	51.73	40.44
Methyl L histidine	25.24	1.78	0.99
Histidine	101.03	69.57	84.76
Tryptophane	34.76	38.23	27.38
Arginine	187.74	109.76	185.37
Asp+Glu	242.83	190.64	293.67
Asp+Glu/Total (%)	8.9	10.5	16.2
Total amino acids	2730.94	1812.49	1809.89

그 중에서도 액체종균 버섯에 다량 함유되어 있는 glutamic acid는 해독작용, 뇌 진정효과 및 당과 지질대사를 돕고, aspartic acid(Hong JS et al., 1989)는 체내중금속 제거 효과와 식품의 감칠맛을 부여하며, 그리고 골다공증 예방, 치료 및 피로회복을 돕는 lysine 및 면역기능을 향상시키고 어린아이에게 필수아미노산인 arginine등이 많은 것은 영양학적으로 중요한 의미가 있다고 생각된다(Eghianruwa Q et al., 2011). 또한 유리 아미노산 중 methionine의 함량은 버섯의 강력한 항산화 성분인 ergothioneine 함량과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있는데 (Tepwong P et al., 2012), 액체종균 버섯에 methionine의 함량이 많아 항산화 효과를 기대할 수 있다. 또한 아미노산의 함량이나 성분조성으로 볼 때 액체종균을 이용한 버섯이 타 시료보다 우수한 영양성분과 상품성이 높다는 결론을 얻을 수 있었다.

4) 병재배 느타리버섯의 총당 및 환원당 함량

본 연구에서 개발된 느타리버섯('흑타리')의 액체종균과 기존의 고체종균 및 '춘추2호' 느타리버섯 품종의 고체종균을 동일조건에서 병재배하였을 때 버섯의 총당 및 환원당 함량을 분석한 결과는 Table 26과 같다.

Table 26. Content of total and reducing sugar of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Source of mushroom spawn	Total sugar	Reducing sugar
	(mg/100 g)	
Liquid spawn	2158.55±46.39 ^B	789.19±7.52 ^A
Solid spawn	2596.12±11.69 ^C	934.23±21.47 ^B
'Chunchu No.2' solid spawn	1745.21±11.11 ^A	988.74±9.00 ^C

All values are mean±SD (n=4)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

액체종균 버섯의 총당 함량은 2158.55 mg/100 g으로 고체종균 흑타리버섯 2596.12 mg/100 g에 비해서는 유의적으로 낮은 함량이었으나, 춘추2호 버섯(1745.21 mg/100 g)보다는 유의적으로 높았다. 환원당은 총당의 함량과 상이한 결과로 춘추2호 버섯에서 988.74 mg/100 g으로 가장 높은 함량이었으며, 고체종균 흑타리버섯이 934.23 mg/100 g, 액체종균 버섯에서 789.19 mg/100 g으로 액체종균 버섯의 환원당 함량은 낮은 수준이었다.

5) 병재배 느타리버섯의 β -glucan 함량

본 연구에서 개발된 느타리버섯(‘흑타리’)의 액체종균과 기존의 고체종균 및 ‘춘추2호’ 느타리버섯 품종의 고체종균을 동일조건에서 병재배하였을 때 버섯의 β -glucan 함량을 분석한 결과는 Table 27과 같다.

버섯의 Total glucan 함량은 춘추2호 버섯에서 45.1 mg/100 g으로 가장 많았으며, 액체종균 버섯이 42.2 mg/100 g, 고체종균 버섯에서 34.8 mg/100 g이었다. α -Glucan 함량은 액체종균 흑타리버섯과 춘추2호 버섯에서 각각 9.6 mg/100 g, 9.9 mg/100 g으로 유의차가 없었으나 고체종균 버섯은 7.5 mg/100 g으로 타 시료에 비해 유의적으로 낮은 수준이었다. β -Glucan 함량은 α -glucan 함량과 유사한 경향으로 춘추2호 버섯(35.2 mg/100 g)과 액체종균 흑타리버섯(32.5 mg/100 g)간에 유의차가 없었으나, 고체종균 버섯은 27.3 mg/100 g으로 가장 낮은 수준이었다.

따라서 β -glucan의 함량은 고체종균 버섯에서 타 시료에 비해 낮았으나 total glucan에 대한 β -glucan의 비율은 고체종균 버섯이 78.45%, 액체종균 흑타리버섯이 77.01%, 춘추2호 버섯에서 78.05%로 시료간에 대차를 보이지는 않았다.

Table 27. Content of β -glucan of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Source of mushroom spawn	Total glucan	α -glucan mg/100 g	β -glucan
Liquid spawn	42.2±2.1 ^B	9.6±0.2 ^B	32.5±1.9 ^B
Solid spawn	34.8±1.0 ^A	7.5±0.1 ^A	27.3±0.9 ^A
‘Chunchu No.2’ solid spawn	45.1±1.5 ^B	9.9±0.2 ^B	35.2±1.3 ^B

All values are mean±SD (n=3)

^{A-B}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

β -Glucan은 암세포를 직접 공격하지 않고 비특이적 면역반응으로 인간의 정상 세포의 면역기능을 활성화 시켜 암세포의 증식과 재발을 억제하고 혈당강하 및 혈중 콜레스테롤 감소 효과가 우수하며, 지질대사를 개선하여 체지방 형성과 축적을 억제함으로써 항 비만효과를 가지고 있는 것으로 보고되어 있으며(Cho JH et al., 2013), β -glucan이 Dectin-1에 결합하여 항암작용을 나타내기도 하나 β -glucan을 포식하여 분해된 fragmented β -glucan이 세포외로 분비되어 NK cell 또는 granulocyte의 막에 발현된 CR3에 결합하여 항암작용 또는 항진균 작용을 나타낸다는

보고가 있다(Batbayar S et al., 2012).

따라서 본 연구에서 개발된 액체종균으로 재배된 흑타리버섯은 기존의 고체종균 흑타리버섯에 비해 glucan 함량이 적으나, 그 차이가 10 mg/100 g이내인 것으로 볼 때 기능성 측면에서 큰 손색은 없을 것으로 판단된다.

6) 병재배 느타리버섯 추출물의 갈색도

본 연구에서 개발된 느타리버섯(‘흑타리’)의 액체종균과 기존의 고체종균 및 ‘춘추2호’ 느타리버섯 품종의 고체종균을 동일조건에서 병재배하였을 때 버섯의 추출물에 대한 갈색도를 측정한 결과는 Table 28과 같다.

버섯 추출물을 280 nm에서 흡광도를 측정하여 갈변물질 함량을 비교한 결과 춘추2호 버섯에서 유의적으로 높았으며, 액체종균 버섯과 고체종균 흑타리버섯간에 유의적인 차이는 보였으나 대차는 없었다. 420 nm에서 갈색도도 280 nm의 갈색도와 유사한 경향으로 흑타리버섯은 춘추2호 버섯에 비해 갈변물질의 함량이 낮은 것으로 판단된다.

Table 28. Browning intensity of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Source of mushroom spawn	Absorbance	
	280 nm	420 nm
Liquid spawn	0.81±0.00 ^B	0.30±0.00 ^B
Solid spawn	0.79±0.00 ^A	0.22±0.00 ^A
‘Chunchu No.2’ solid spawn	1.07±0.00 ^C	0.40±0.00 ^C

All values are mean±SD (n=3)

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

7) 병재배 느타리버섯의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

본 연구에서 개발된 느타리버섯(‘흑타리’)의 액체종균과 기존의 고체종균 및 ‘춘추2호’ 느타리버섯 품종의 고체종균을 동일조건에서 병재배하였을 때 버섯의 80% 메탄올 추출물을 이용하여 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 29와 같다.

총 페놀 함량의 경우 액체종균 버섯에서 68.90 mg/100 g으로 가장 높았으며, 춘추2호 버섯은 58.87 mg/100 g, 액체종균 버섯은 48.63 mg/100 g이었다. 플라보노이드 함량도 액체종균 버섯이 25.13 mg/100 g으로 가장 높았으며, 춘추2호 버섯이 21.09 mg/100 g이었으며, 고체종균

버섯이 10.56 mg/100 g으로 가장 낮은 함량이었다.

폴리페놀 화합물은 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가진 방향족 화합물로 식품의 품질 및 사람의 건강에 생물학적·기능적 특성을 지니고 있는 중요한 2차 대사산물로 알려져 있으며, 특히 잠재적인 항산화, 항비만 및 항암 활성을 지니고 있는 것으로 알려져 있다(Lee JH et al., 2013). 따라서 액체종균 버섯은 2종의 고체종균 버섯에 비해 총 페놀 함량과 플라보노이드 함량이 높아 이들 성분에 의한 기능성을 기대해 볼 수 있을 것으로 예상된다.

Table 29. Content in total phenols and flavonoids of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Source of mushroom spawn	Total phenol	Flavonoid
	(mg/100 g)	
Liquid spawn	68.90±0.37 ^C	25.13±1.00 ^C
Solid spawn	48.63±0.51 ^A	10.56±0.78 ^A
'Chunchu No.2' solid spawn	58.87±0.65 ^B	21.09±2.38 ^B

All values are mean±SD (n=4)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

8) 병재배 느타리버섯의 항산화 활성

본 연구에서 개발된 느타리버섯('흑타리')의 액체종균과 기존의 고체종균 및 '춘추2호' 느타리버섯 품종의 고체종균을 동일조건에서 병재배하였을 때 버섯의 80% 메탄올 추출물을 이용하여 항산화 활성을 측정한 결과는 Table 30, 31 및 32와 같다.

종균과 품종에 따른 느타리버섯의 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 Table 30에 나타난 바와 같다. 시료의 첨가량이 많아짐에 따라 라디칼 소거활성은 유의적으로 증가되었으나, 0.2 g/mL의 농도에서 액체종균 버섯 및 춘추2호 버섯에서는 오히려 감소되는 경향을 보였다.

시료의 첨가량이 0.02~0.15 g/mL의 농도 범위에서는 액체종균 버섯의 라디칼 소거활성이 다소 높았으며, 0.15 g/mL의 농도에서 액체종균 버섯은 80%이상의 소거활성을 보였다.

ABTS 라디칼 소거활성은 Table 31에 나타난 바와 같이 시료의 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였는데, 0.1g/ mL농도에서는 46.75~69.59%의 소거활성을 보였으며, 특히 액체종균 버섯에서 69.59%로 유의적으로 높았다. 0.02~0.1g/ mL농도에서도 액체종균 버섯에서 유의적으로 높은 경향을 보였으나, 0.15 g/mL의 농도에서는 춘추2호 버섯에서 가장 높은 활성이었으며, 0.2 g/mL의 농도에서는 유의차가 없었다.

환원력을 흡광도값으로 나타낸 결과는 Table 32에 나타낸 바와 같이 시료의 농도가 많아짐에 따라 유의적으로 증가하였는데, 액체종균 버섯은 0.02 g/mL농도를 제외한 여타의 시료농도에서 고체종균 흑타리버섯보다 다소 낮은 경향을 보였다.

DPPH 라디칼 소거활성은 총 페놀 함량과 높은 상관관계가 있는 것으로 알려져 있으며(Seo YH et al., 1999), 버섯의 주요 항산화 성분은 페놀성 화합물이라는 보고(Lo KM et al., 2005; Mau JL et al., 2002)로 미루어 볼 때, 본 연구에서 DPPH 라디칼 소거활성은 총 페놀 함량과 유사한 패턴을 보인 것으로 생각된다. 또한 ABTS 라디칼 소거활성 및 환원력도 DPPH 라디칼 소거활성과 비슷한 경향을 보였는데, 액체종균 버섯의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 항산화 활성에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 판단된다.

Table 30. DPPH radical scavenging activities in 80% methanol extract of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Source of mushroom spawn	Concentration of mushroom extract (g/mL)				
	0.02	0.05	0.1	0.15	0.2
Liquid spawn	23.77±0.48 ^{aB}	42.99±0.65 ^{bB}	47.45±0.96 ^{cNS}	82.60±1.25 ^{eB}	75.59±0.98 ^{dB}
Solid spawn	24.27±0.82 ^{aB}	32.47±0.79 ^{bA}	47.09±1.28 ^c	63.62±0.69 ^{dA}	72.13±1.59 ^{eA}
'Chunchu No.2' solid spawn	18.30±2.46 ^{aA}	31.03±2.08 ^{bA}	46.65±2.54 ^c	90.98±0.88 ^{eC}	72.37±1.86 ^{dA}

All values are mean±SD (n=4)

Means with different superscripts in the same column (A-B) and same row (a-e) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

NS: not significant.

Table 31. ABTS radical scavenging activities in 80% methanol extract of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

Source of mushroom spawn	Concentration of mushroom extract (g/mL)				
	0.02	0.05	0.1	0.15	0.2
Liquid spawn	11.59±0.37 ^{aNS}	36.17±0.35 ^{bC}	69.59±2.18 ^{cC}	87.38±0.31 ^{dB}	90.78±0.39 ^{eB}
Solid spawn	8.57±3.83 ^a	21.25±0.69 ^{bA}	46.75±2.23 ^{cA}	81.45±2.14 ^{dA}	89.27±1.15 ^{eA}
'Chunchu No.2' solid spawn	10.66±0.73 ^a	34.43±0.83 ^{bB}	64.25±2.71 ^{cB}	90.34±0.34 ^{dC}	90.15±0.78 ^{dAB}

All values are mean±SD ($n=4$)

Means with different superscripts in the same column (A-C) and same row (a-e) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

NS: not significant.

Table 32. Reducing power in 80% methanol extract of *Pleurotus ostreatus* cultivated from liquid and solid spawn

(Absorbance in 700 nm)

Source of mushroom spawn	Concentration of mushroom extract (g/mL)				
	0.02	0.05	0.1	0.15	0.2
Liquid spawn	0.27±0.01 ^{aC}	0.44±0.00 ^{bB}	0.64±0.01 ^{cB}	0.72±0.01 ^{dA}	0.83±0.01 ^{eA}
Solid spawn	0.19±0.00 ^{aA}	0.36±0.00 ^{bA}	0.53±0.02 ^{cA}	0.79±0.01 ^{dB}	0.91±0.01 ^{eC}
'Chunchu No.2' solid spawn	0.22±0.00 ^{aB}	0.45±0.00 ^{bC}	0.63±0.00 ^{cB}	0.79±0.01 ^{dB}	0.87±0.01 ^{eB}

All values are mean±SD ($n=4$)

Means with different superscripts in the same column (A-C) and same row (a-e) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

제 3절 표고버섯 및 꽃송이버섯의 액체종균 개발 및 버섯의 생산

1. 주요 결과

- 표고버섯의 액체종균을 제조하기 위하여 PDB 배지를 이용할 경우 배양 기간은 10~14일이 적정한 것으로 확인되었으며, 배양액의 pH 5.3의 조건에서 건조 균체량이 가장 많았고, pH 5~5.2의 조건에서 배양한 것의 흡광도가 가장 높아 표고버섯 액체종균 배지의 최적 pH는 pH 5~6이 적절할 것으로 판단되었음
- 대두박 0.3%에 설탕 및 포도당을 첨가한 액체배지에서 표고버섯 균체의 증식은 당의 첨가량 및 종류에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았음. 30 g의 당을 첨가한 배지에서는 10일, 30 g 미만인 배지에서는 14일까지 배양 기간을 연장하는 것이 효과적임. 특히 액체배지 'C(포도당 20 g)', 'N(설탕 15 g)' 및 'O(설탕 20 g)'의 경우에는 배양 10~14일에 건조 균체량의 증가폭이 가장 큰 것으로 보아 이 조건을 이용할 경우 표고버섯의 생산이 가장 왕성할 것으로 예상되었음
- 톱밥 봉지 재배(배지 1.7 kg)에 대한 표고버섯 액체종균은 45 mL이상으로 접종할 경우, 15~18일경에 배지 표면 전체에 균사의 성장이 이루어졌으며, 총 배양 기간은 고체종균은 150일, 액체종균은 90일로써 표고버섯의 생산기간 단축과 생산비용의 절감을 위해서는 액체종균의 사용이 효율적이라 판단되었음
- 꽃송이버섯의 액체종균을 제조하기 위한 PDB 배지의 조건은 pH 4~5.6일 때 배양 10~14일경에 pH 5 미만의 산성으로 유지되었음. pH 4.5의 PDB 배지에서 배양 14일 경과 후에 흡광도 값이 0.091로 가장 높았는데, 이는 pH 5.4의 배지에서도 유사한 경향이었음. 엽기름 분말이 첨가된 꽃송이버섯 배양액은 설탕 및 포도당의 함량에 따른 균체량의 유의적인 차이는 보이지 않았음. 배양액 'B(포도당 20 g)' 및 'C(포도당 30 g)'의 경우에 배양 6일까지 흡광도값에서 유의적인 증가현상은 없었으나, 배양 10일경에 유의적으로 증가하여 14일까지 지속되는 것으로 나타났으며, 또 균체의 증식이 일정한 것으로 보아 꽃송이버섯 생육을 위한 최적 조건인 것으로 판단됨
- 톱밥 병재배(배지 1100 g, Φ 75 mm)에 대한 꽃송이버섯 액체종균의 접종량을 20 mL로 하였을 때 접종 후 배양 및 생육 기간이 각각 30일로써 접종 후 60일 경과 후에는 버섯의 수확이 가능하였음

2. 재료 및 방법

(1) 실험재료 및 공시배지

본 연구에 사용된 버섯 균주는 표고버섯 '추제2호'를 표고버섯 재배농가에서 균주를 분양받아 조직배양하여 얻은 것을 사용하였다. 꽃송이버섯은 국립산림과학원에서 배양한 야생 꽃송이버섯 균주를 분양받아, 실험실에 옮긴 후 PDA(potato dextrose agar) 평판배지에 배양시킨 후 실험에 사용하였다.

표고버섯 액체종균의 최적 배양 조건을 설정하기 위하여 배지는 시판 PDB (potato dextrose broth)와 대두박 배양액을 사용하였다. 이때 대두박 배양액은 대두박 3 g에 magnesium sulfate 0.5 g 및 potassium dihydrogen phosphate 0.5 g을 혼합한 후 설탕 및 포도당을 일정량씩 첨가한 다음 증류수로 1 L로 만들어 사용하였으며, 배지 중 설탕과 포도당의 첨가량은 Table 33과 같이 15가지 조건으로 제조하였다.

꽃송이버섯 액체종균의 최적 배양 조건을 설정하기 위하여 배지는 시판 PDB (potato dextrose broth)와 엿기름 분말이 첨가된 배양액을 사용하였다. 이때 엿기름은 분말 3 g에 magnesium sulfate 0.5 g 및 potassium dihydrogen phosphate 0.5 g을 혼합한 후 설탕 및 포도당을 일정량씩 첨가한 다음 증류수로 1 L로 만들어 사용하였으며, 액체배지의 설탕과 포도당의 첨가량은 Table 34와 같이 11가지 조건으로 달리하여 배양액을 제조하였다.

Table 33. Sugar and glucose contents of soybean broth for *Lentinula edodes* liquid spawn

Condition of media	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
Sugar (g)	30	0	0	0	5	10	15	20	25	0	0	5	10	15	20
Glucose (g)	0	10	20	30	25	20	15	10	5	5	15	0	0	0	0

Table 34. Sugar and glucose contents of soybean broth for *Sparassis crispa* liquid spawn

Condition of media	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Sugar (g)	30	0	0	0	10	20	35	40	10	20	10
Glucose (g)	10	20	30	40	0	0	0	0	10	10	20

(2) 실험 방법

1) 액체종균의 배양

PDB 배지와 대두박 및 엿기름이 첨가된 버섯의 액체종균의 배양액은 1 L용 삼각플라스크에 400 mL씩 분주하여 121°C에서 15분간 autoclave에서 살균하였으며, 이를 실온으로 냉각하여 사용하였다.

표고버섯 배양액에는 직경이 4 mm인 코크보러(No. 2)를 사용하여 얻은 균사 절편을 4개씩 접종하고 22°C에서 3일간 정치배양하였으며, 꽃송이버섯 배양액에는 직경이 4 mm인

코크보러(No. 2)를 사용하여 얻은 균사 절편을 2개씩 접종하고 22°C에서 3일간 정치배양한 후 배양 최종일까지 각각 진탕배양(120 rpm)하였다. 배양하는 동안 3, 6, 10 및 14일째에 배양액의 pH 및 균체량을 측정하였다.

2) pH 측정

액체배양액의 pH는 배양액을 충분히 블렌딩하여 균체를 여과한 후 여과액의 pH를 pH meter(410, Thermo Orion, Waltham, USA)로 측정하였다.

3) 균체량 측정

액체종균의 배양 기간동안 균사 생장 정도를 알아보기 위하여 건조법 및 흡광도법으로써 균체량을 각각 측정하였다. 건조법은 종균이 생장된 액체배양액을 잘 혼합한 직후 배양액 2 mL를 알루미늄 접시에 정확하게 취하여 85°C의 건조기에서 2시간 이상 건조시킨 후 남은 중량을 측정하였다. 이를 총 배지량으로 환산하여 균체량을 산출하였다. 흡광도법은 상기의 균질화된 액체배양액 1 mL를 취하여 600 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값으로 나타내었다.

4) 표고버섯 및 꽃송이버섯 액체종균의 접종량 및 생육 기간 설정

액체종균을 이용하여 표고버섯은 봉지재배, 꽃송이버섯은 병재배할 때 최적 접종량을 알아보기 위하여 톱밥이 함유된 각 배지에 액체종균의 함량을 달리하여 접종한 후 배양하는 동안 균사의 생성정도를 측정하였다. 이때 표고버섯 재배를 위한 톱밥 봉지배지는 톱밥(8):소맥피(1):미강(1)의 비율로 혼합한 것을 사용하였으며, 꽃송이버섯 재배를 위한 톱밥 병배지는 미송과 미강을 혼합하여 사용하였으며, 혼합기에서 함수율이 60%이상으로 될 때까지 충분히 수분을 첨가한 후 사용하였다.

5) 종균실, 실험실 및 배양실의 오염도 측정

종균실, 실험실 및 배양실의 오염도 측정은 패트리디쉬에 PDA 및 NA (Nutrient agar) 배지를 만든 후 뚜껑을 열고 실험실에 12시간씩 정치시킨 후 이를 37°C의 배양기에서 36시간 배양하여 공중낙하균에 의한 오염도를 측정하였다.

3. 연구 결과

가. PDB 배지를 이용한 표고버섯 액체종균의 최적 배양조건 설정

Potato dextrose broth (PDB) 액체배지를 사용하여 표고버섯 액체종균의 최적 배양 조건을 설정하고자 하였다.

(1) 표고버섯 액체종균 배양액의 최적 pH 설정

표고버섯 액체종균의 최적 pH를 설정하기 위하여 PDB 배지의 초기 pH를 염산으로 pH 4~8의 범위로 다양하게 조절한 후 표고버섯 종균을 접종한 후 22°C의 incubator에서 14일동안 배양하였다. 이때 배양액의 살균 직후(0일), 3, 6, 10 및 14일 배양 후 pH를 측정된 결과는 Table 35와 같으며, 배양액의 외관은 Fig. 11과 같다.

Table 35. Changes of pH according to the *Lentinula edodes* liquid spawn growth in the different pH of the PDB media during its incubation periods

pH of media	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
4	3.74±0.02 ^{eA}	3.54±0.01 ^{dA}	3.43±0.02 ^{cA}	3.35±0.01 ^{bA}	3.00±0.02 ^{aA}
4.8	4.45±0.02 ^{eB}	4.12±0.01 ^{dB}	3.96±0.01 ^{cC}	3.50±0.01 ^{bB}	3.09±0.01 ^{aB}
5	4.49±0.02 ^d	4.11±0.02 ^{dB}	3.89±0.01 ^{cB}	3.69±0.01 ^{bC}	3.14±0.01 ^{aD}
5.2	4.72±0.02 ^{eD}	4.43±0.02 ^{dC}	4.23±0.01 ^{cD}	3.70±0.02 ^{bC}	3.12±0.01 ^{aC}
5.3	4.81±0.01 ^{eE}	4.42±0.01 ^{bC}	4.53±0.01 ^{dF}	4.45±0.01 ^{cF}	3.88±0.01 ^{aH}
5.4	4.85±0.01 ^{eF}	4.48±0.01 ^{dD}	4.36±0.01 ^{cE}	4.10±0.01 ^{bD}	3.51±0.01 ^{aE}
5.6	4.99±0.01 ^{eG}	4.54±0.01 ^{dE}	4.52±0.01 ^{cF}	4.23±0.01 ^{bE}	3.61±0.00 ^{aG}
6	5.16±0.01 ^{eH}	4.71±0.02 ^{cF}	4.80±0.01 ^{dG}	4.68±0.01 ^{bG}	3.51±0.02 ^{aE}
7	5.38±0.02 ^{eI}	4.95±0.02 ^{cG}	5.03±0.01 ^{dH}	4.80±0.01 ^{bH}	3.59±0.01 ^{aF}
8	5.27±0.02 ^{eI}	4.95±0.02 ^{cG}	5.08±0.01 ^{dI}	4.85±0.01 ^{bI}	4.47±0.01 ^{aI}

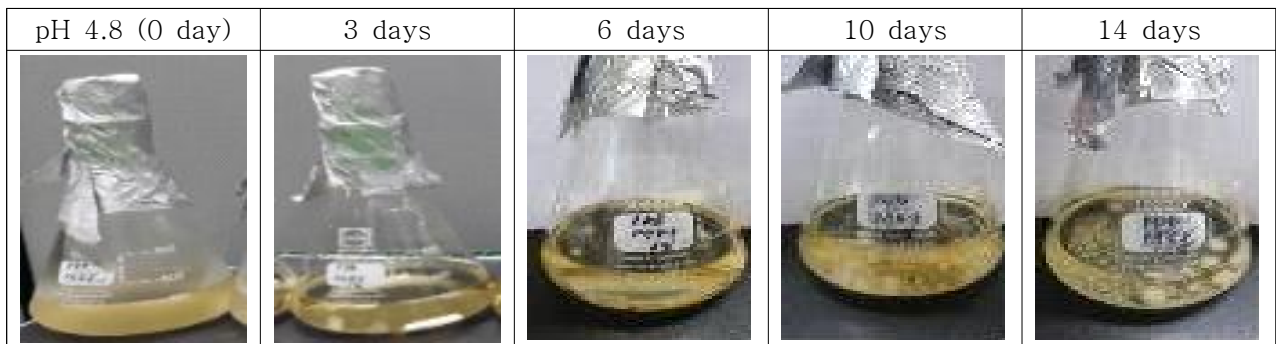
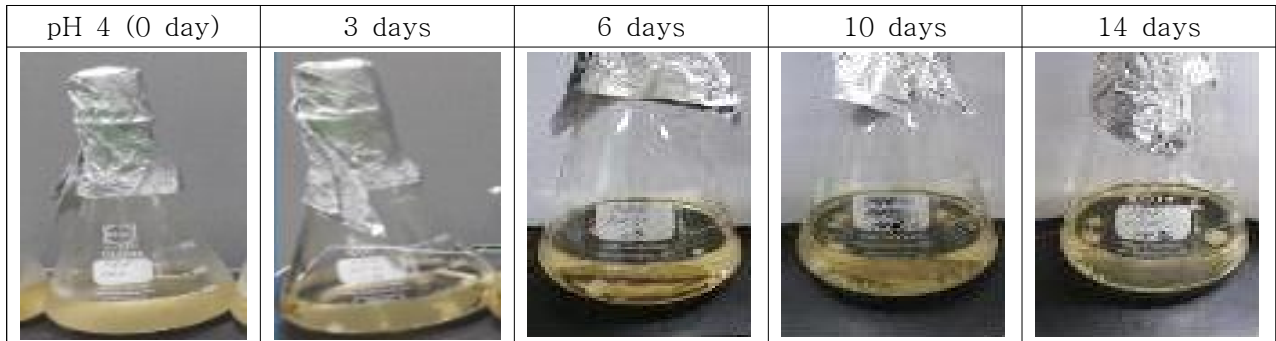
All values are mean±SD (n=10)

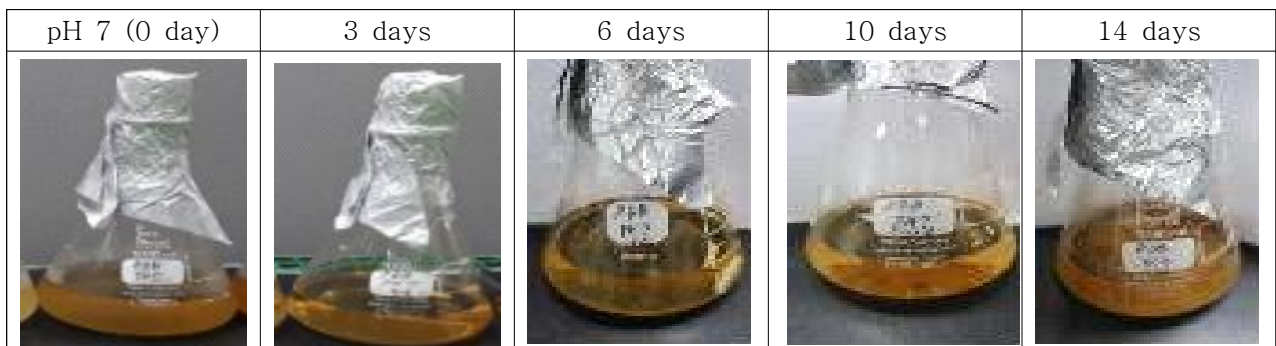
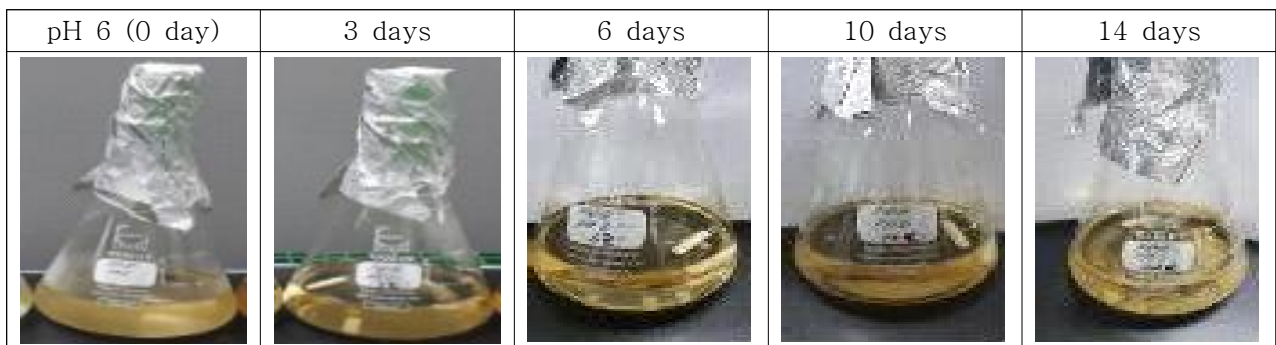
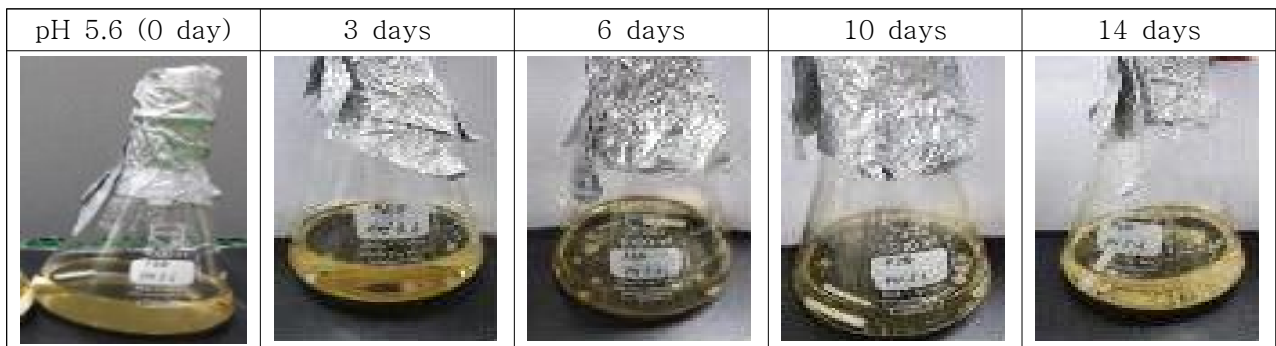
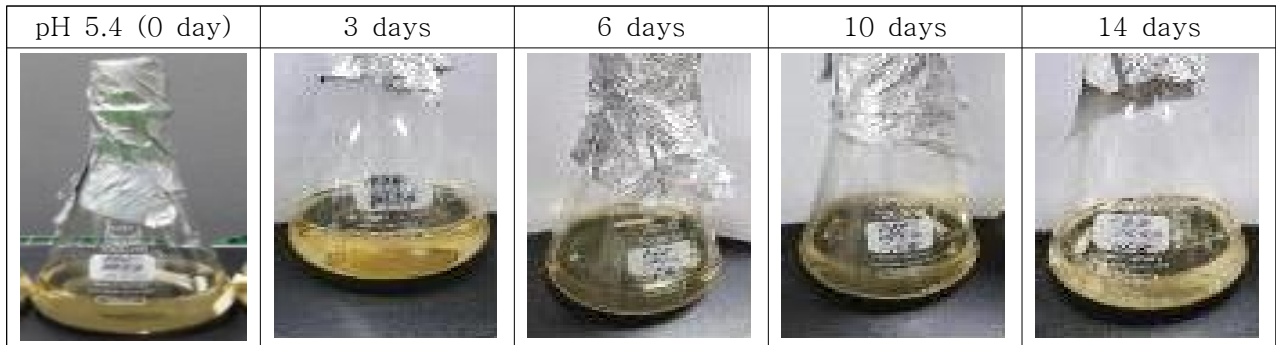
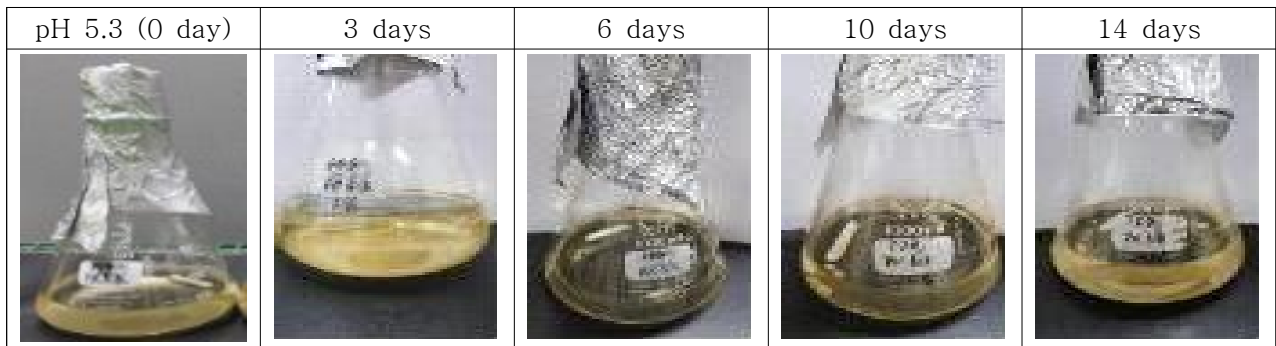
Means with different superscripts in the same column(A-I) and same row(a-d) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

PDB 배지의 멸균처리 후 모든 배지의 pH는 초기 pH에 비해 산성화되는 경향이였다. 또한, 배양 기간이 경과됨에 따라 유의적으로 산성화되는 경향을 보였다. 초기 pH가 4~4.8이었던 배양액에서는 6일 경과 후 3.43~3.96의 범위로 산성화되었고, 초기 pH가 5.0~5.6의 배양액에서는 14일 경과 후에 pH 3.12~3.88의 범위까지 산성화되는 경향이였다. 이러한 현상은 초기 배양액의 pH가 6 및 7인 경우에도 마찬가지였으며, 초기 pH가 8인 배양액에서는 14일 경과 후에 pH 4.47이였다.

느타리버섯의 액체종균을 PDB 배지에서 배양할 때 10~14일이 적정한 배양 기간인 것으로 확인된 바, 표고버섯 액체종균의 배양 기간도 10~14일이 적절할 것으로 예측해 볼 수 있다. 따라

서 표고버섯 액체종균 배양액의 초기 pH를 5.3~7의 범위로 조정할 때 배양 기간 10~14일경에 pH 4에서 pH 3으로 산성화되는 것으로 보아 배양액의 초기 pH는 5.3~7의 범위가 적절할 것으로 예상되었다.





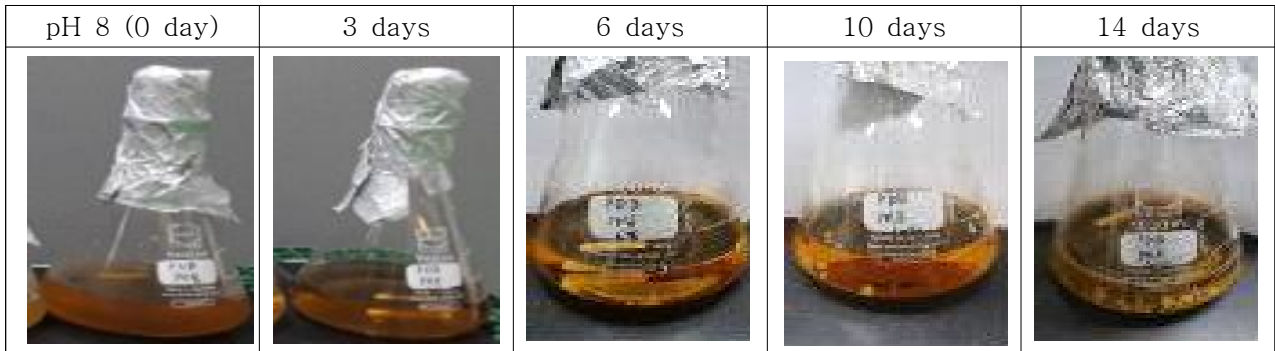


Fig. 11. Culture solution in the PDB media for liquid spawn of *Lentinula edodes*.

(2) 표고버섯 액체종균의 배양에 따른 건조 균체량

표고버섯 '추제 2호' 액체종균의 배양 기간에 따른 균체 성장 정도를 건조 균체량으로 측정한 결과는 Table 36과 같다. PDB 배양액의 pH를 4~8의 범위로 조절하여 22°C의 incubator에서 14일간 배양하는 동안 배양액의 건조 균체량은 배양 기간이 경과됨에 따라 유의적으로 증가되는 경향이였다. 배양 초기(0일)에 배양액의 건조 균체량은 24.00~25.60 g/L의 범위로 pH에 따른 차이를 보였으며, pH 5.3~5.6의 범위에서 타 시료구에 비해 유의적으로 높게 나타났다.

배양 기간에 따른 균체량의 증가는 pH 5.4~5.6인 배양액에서 3일 경과 후에 유의적으로 증가되었는데, 이는 배양 14일까지 지속적으로 증가되는 경향이였으나, 배양 6~14일 동안에 유의적인 차이는 보이지 않았다. 그 외 배양액에서는 배양 3일에 비해 배양 6일 이후에 건조 균체량이 유의적으로 증가되었다.

표고버섯 액체종균 배양액은 배양 10일 경과되었을 때 pH 5.3인 배양액에서 건조 균체량이 가장 많았는데, 이는 배양액의 초기 pH 4~6인 배양액과 유의적인 차이를 보이지는 않았다. 따라서 PDB 배양액에서 표고버섯 균체의 배양에 따른 pH 조건은 pH 6 이하의 산성 조건이 적절할 것으로 판단되었다.

Table 36. Mycelium dry weight of the *Lentinula edodes* liquid spawn in the different pH of the PDB media during its incubation periods

pH of media	Mycelium dry weight (g/1 L)				
	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
4	24.37±0.64 ^{aAB}	24.87±0.49 ^{aA}	25.77±0.23 ^{bA}	26.90±0.17 ^{cBC}	28.23±0.21 ^{dBC}
4.8	24.30±1.20 ^{aAB}	24.33±0.76 ^{aA}	25.80±0.26 ^{bA}	26.33±0.32 ^{bAB}	28.13±0.46 ^{cBC}
5	24.30±0.46 ^{aAB}	23.90±0.17 ^{aA}	24.37±1.60 ^{aA}	25.27±0.76 ^{aA}	28.17±1.53 ^{bBC}
5.2	24.27±0.29 ^{aAB}	24.97±0.06 ^{abA}	25.40±0.36 ^{bA}	25.80±0.70 ^{bAB}	27.93±1.00 ^{cBC}
5.3	25.60±0.44 ^{aC}	27.37±0.76 ^{abB}	28.20±2.01 ^{bB}	28.40±0.92 ^{bD}	29.35±0.65 ^{bC}
5.4	25.10±0.17 ^{aBC}	26.70±0.53 ^{bB}	27.97±0.58 ^{cB}	28.13±0.72 ^{cCD}	28.43±0.76 ^{cBC}
5.6	25.17±0.25 ^{aBC}	27.03±0.25 ^{bB}	28.20±0.44 ^{bcB}	28.32±0.56 ^{cD}	28.83±1.24 ^{cC}
6	23.67±0.78 ^{aA}	24.63±0.85 ^{abA}	25.23±0.68 ^{bA}	25.97±1.02 ^{bAB}	27.90±0.62 ^{cBC}
7	24.00±0.89 ^{aAB}	24.80±0.60 ^{abA}	25.30±0.82 ^{abA}	25.40±1.30 ^{abA}	26.20±0.46 ^{bA}
8	24.07±0.31 ^{aAB}	24.17±0.70 ^{aA}	25.30±0.61 ^{bA}	25.97±0.35 ^{bAB}	27.07±0.38 ^{cAB}

All values are mean±SD ($n=10$)

Means with different superscripts in the same column(A-D) and same row(a-d) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

(3) PDB에서 액체종균의 배양에 따른 흡광도 변화

표고버섯 액체종균 배양액의 pH를 달리한 조건에서 균체 성장 정도를 배양액의 흡광도로 측정 한 결과는 Table 37과 같다. 각 배양 기간별 배양이 종료된 시점에서 배양액을 균질화한 후 600 nm에서 흡광도를 측정한 결과, 배양 기간이 경과됨에 따라 흡광도는 유의적으로 증가되는 경향이 있었다.

배양 초기(0일)에 각 배양액의 흡광도는 0.001~0.028의 범위였으며, pH 4~6의 범위에서는 0.001~0.008의 범위에 불과하였다. 배양 3일 경과 후 pH 4, 4.8, 5 및 5.3인 배양액에서 흡광도는 배양 초기(0일)에 비해 유의적으로 증가되었는데, 특히 pH 5인 배양액에서 가장 높은 값이었으며, pH 5.3의 배양액에서 가장 낮은 값을 보였다.

한편 배양 14일 경과 후에는 pH 5~5.2의 배양액에서 0.216~0.276의 범위로 여타의 배양액에 비해 유의적으로 높은 흡광도를 보였다. 반면에 pH 8의 배양액에서는 배양 초기(0일)에 비해 배양 기간의 경과에 따른 증가폭이 상당히 낮아 알칼리성 배양액에서는 균체의 성장이 미약한 것으로 판단되었다.

이상으로 표고버섯 액체종균 배양액의 최적 조건을 설정하기 위한 PDB 배양액에서 균체 성장을 측정한 결과, pH 6 이상의 알칼리성 배양액에서 균체의 성장은 미약하였으며, pH 6 미만의 산성 pH가 적절한 것으로 확인되었다. 특히 pH 5.3의 배양액에서 건조 균체량이 가장 많았으며, pH 5~5.2의 배양액에서 배양액의 흡광도가 가장 높아 표고버섯 액체종균을 위한 최적 조건은 pH 5~6이 적절할 것으로 판단되었다.

Table 37. Mycelial growth of the *Lentinula edodes* liquid spawn in the different pH of the PDB media during its incubation periods

(Absorbance in 600 nm)

pH of media	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
4	0.008±0.000 ^{aE}	0.027±0.002 ^{bCD}	0.053±0.002 ^{cCD}	0.068±0.002 ^{cCD}	0.167±0.021 ^{dDE}
4.8	0.005±0.001 ^{aC}	0.027±0.003 ^{bCD}	0.032±0.002 ^{bAB}	0.102±0.008 ^{cE}	0.150±0.020 ^{dCD}
5	0.004±0.000 ^{aC}	0.052±0.002 ^{bE}	0.059±0.002 ^{bD}	0.112±0.017 ^{cE}	0.216±0.040 ^{dE}
5.2	0.002±0.000 ^{aB}	0.023±0.004 ^{aBCD}	0.024±0.002 ^{aA}	0.113±0.021 ^{bE}	0.276±0.023 ^{cF}
5.3	0.001±0.000 ^{aA}	0.014±0.002 ^{bA}	0.041±0.008 ^{cABCD}	0.061±0.007 ^{dBC}	0.075±0.007 ^{eAB}
5.4	0.001±0.000 ^{aA}	0.016±0.008 ^{aAB}	0.081±0.021 ^{bE}	0.147±0.014 ^{cF}	0.149±0.033 ^{cCD}
5.6	0.001±0.000 ^{aA}	0.012±0.002 ^{aA}	0.052±0.026 ^{bBCD}	0.081±0.002 ^{cD}	0.099±0.004 ^{cBC}
6	0.006±0.000 ^{aD}	0.019±0.009 ^{aABC}	0.023±0.004 ^{aA}	0.039±0.003 ^{aA}	0.140±0.070 ^{bCD}
7	0.015±0.000 ^{aF}	0.019±0.004 ^{aABC}	0.027±0.003 ^{aA}	0.046±0.005 ^{aAB}	0.126±0.048 ^{bBCD}
8	0.028±0.002 ^{NSG}	0.030±0.002 ^D	0.034±0.003 ^{ABC}	0.036±0.007 ^A	0.038±0.008 ^A

All values are mean±SD ($n=10$)

Means with different superscripts in the same column(A-G) and same row(a-d) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

나. 대두박배지에서 당 첨가량에 따른 표고버섯 액체종균의 최적 배양조건

표고버섯 액체종균 배양액의 최적 pH는 PDB 배양액에서 건조 균체량이 가장 많았던 pH 5.3으로 설정하였다. 따라서 대두박을 0.3%로 첨가하고 설탕과 포도당의 첨가량을 달리한 액체배양액에서 표고버섯 액체종균의 성장에 미치는 영향을 측정하였다.

(1) 당 함량을 달리한 표고버섯 액체종균의 대두박배지의 pH

대두박을 0.3% 함유하고 설탕과 포도당의 함량을 달리하여 첨가한 15가지 조건의 액체배지에서 배양 기간의 경과에 따른 배양액의 pH 변화를 측정한 결과는 Table 38과 같으며, 이때 대두박 배양액의 배양 기간에 따른 외관은 Fig. 12와 같다.

Table 38. Changes of pH according to the *Lentinula edodes* liquid spawn culture in the soybean meal media with different content of glucose and sugar

Code No. of media*	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
A (30:0)	4.97±0.02 ^{eF}	4.36±0.01 ^{dE}	2.88±0.01 ^{cD}	2.66±0.01 ^{bD}	2.53±0.01 ^{aA}
B (0:10)	4.97±0.01 ^{eF}	4.31±0.01 ^{dD}	3.02±0.01 ^{cE}	2.71±0.01 ^{bG}	2.64±0.01 ^{aD}
C (0:20)	4.99±0.01 ^{eG}	4.49±0.01 ^{dF}	3.06±0.01 ^{cF}	2.78±0.01 ^{bJ}	2.68±0.01 ^{aE}
D (0:30)	4.89±0.01 ^{dD}	4.10±0.01 ^{cC}	2.72±0.01 ^{bA}	2.65±0.01 ^{aC}	2.64±0.01 ^{aD}
E (5:25)	4.82±0.01 ^{eA}	4.48±0.01 ^{dF}	2.76±0.01 ^{cC}	2.63±0.01 ^{bB}	2.61±0.02 ^{aC}
F (10:20)	4.85±0.01 ^{eB}	3.95±0.01 ^{dA}	2.74±0.01 ^{cB}	2.69±0.00 ^{bF}	2.54±0.01 ^{aA}
G (15:15)	4.86±0.01 ^{eBC}	4.30±0.01 ^{dD}	3.43±0.01 ^{cK}	2.75±0.01 ^{bI}	2.71±0.01 ^{aF}
H (20:10)	4.83±0.01 ^{eA}	4.02±0.01 ^{dB}	3.71±0.01 ^{cM}	2.73±0.01 ^{bH}	2.71±0.01 ^{aF}
I (25:5)	4.89±0.01 ^{eD}	4.56±0.01 ^{dG}	3.30±0.01 ^{cH}	2.73±0.01 ^{bH}	2.67±0.01 ^{aE}
J (0:5)	4.92±0.01 ^{eE}	4.64±0.01 ^{dH}	3.85±0.01 ^{cO}	2.60±0.01 ^{bA}	2.54±0.01 ^{aA}
K (0:15)	4.87±0.01 ^{dC}	4.67±0.01 ^{cI}	3.35±0.01 ^{bI}	2.65±0.01 ^{aC}	2.64±0.01 ^{aD}
L (5:0)	4.93±0.00 ^{eE}	4.73±0.01 ^{dJ}	3.73±0.01 ^{cN}	2.90±0.01 ^{bK}	2.80±0.01 ^{aG}
M (10:0)	4.85±0.01 ^{dB}	4.77±0.01 ^{cK}	3.63±0.01 ^{bL}	2.68±0.01 ^{aE}	2.68±0.01 ^{aE}
N (15:0)	4.96±0.01 ^{eF}	4.84±0.01 ^{dM}	3.41±0.01 ^{cJ}	2.60±0.01 ^{bA}	2.58±0.01 ^{aB}
O (20:0)	4.97±0.01 ^{eF}	4.81±0.01 ^{dL}	3.18±0.01 ^{cG}	2.72±0.01 ^{bH}	2.59±0.01 ^{aB}

All values are mean±SD (n=5)

Means with different superscripts in the same column(A-O) and same row (a-d) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

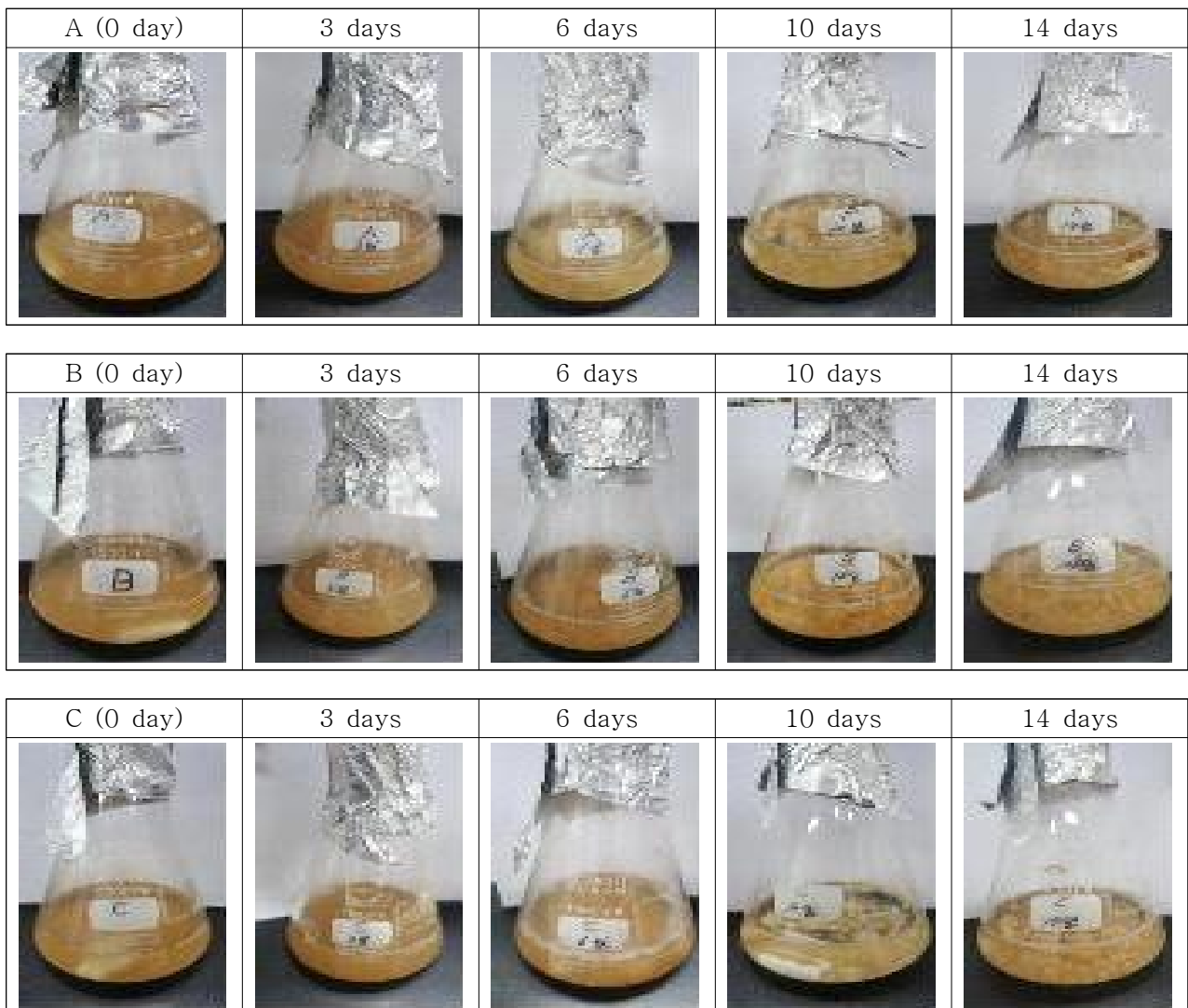
*sugar : glucose = w/w

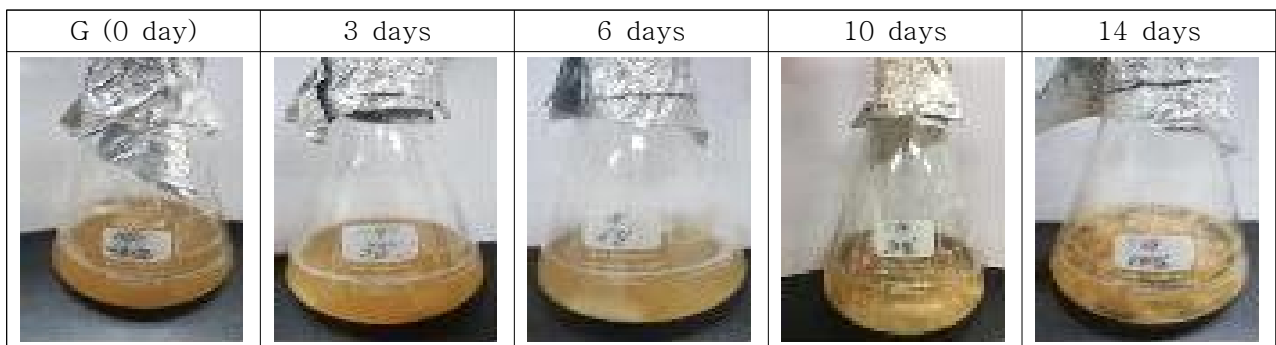
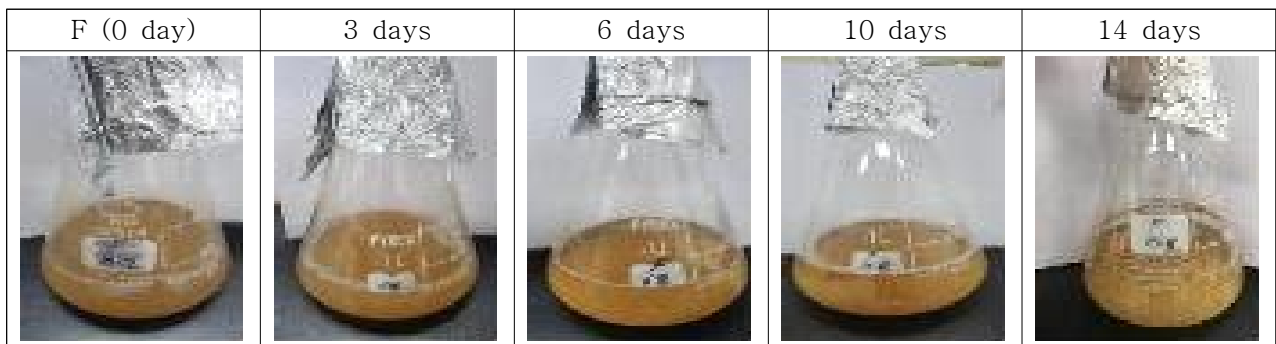
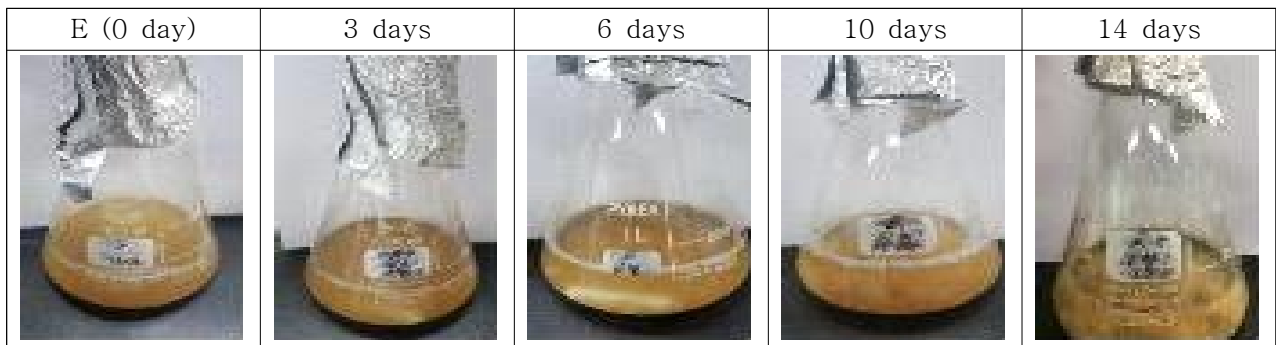
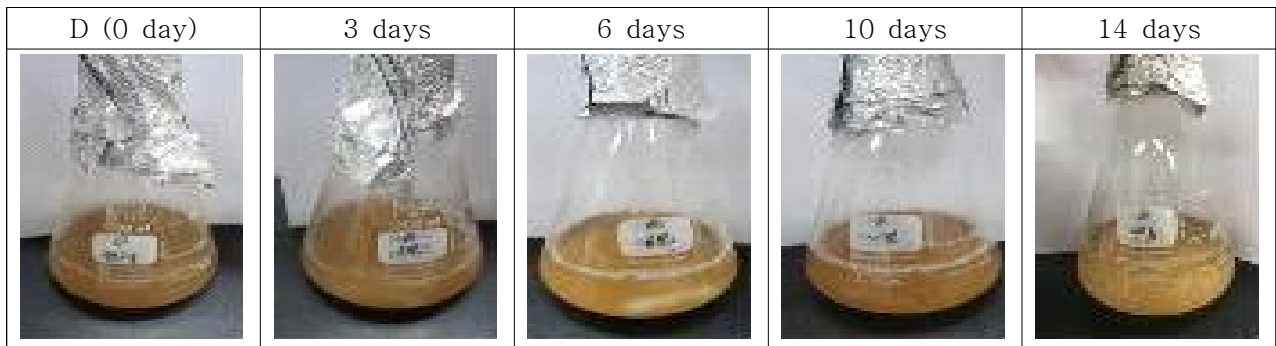
각 배양액의 멸균 전 초기 pH는 5.3이었으나, 멸균 직후(0일)에는 pH 4.82~4.99의 범위로 산성화되었으며, 배양 6일 이후에는 모든 배양액에서 2.72~3.85의 범위로 pH 4 미만까지 산성화됨

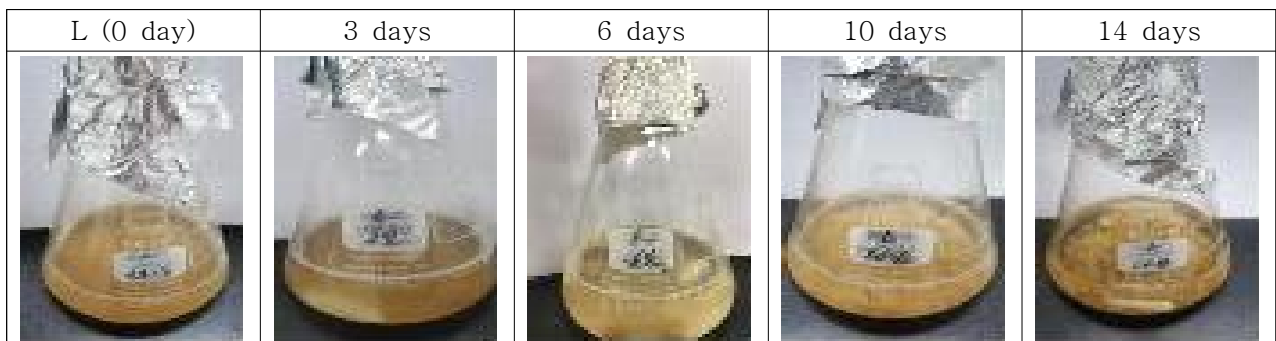
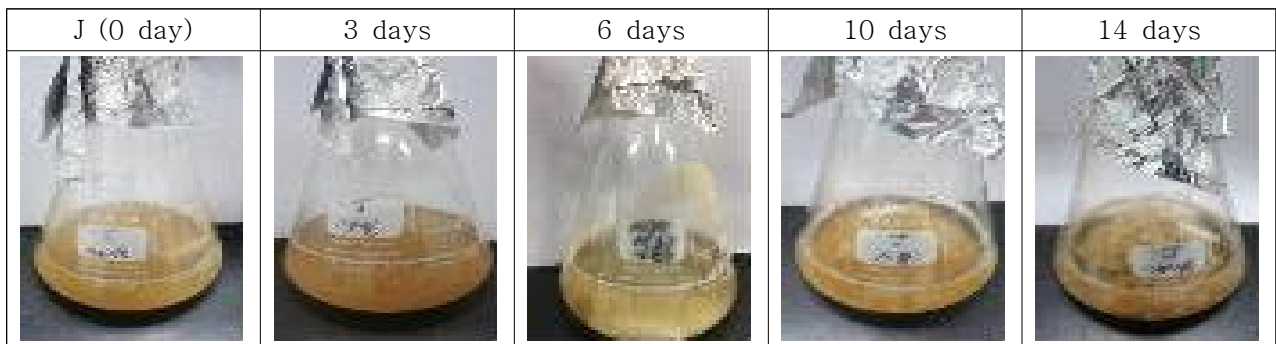
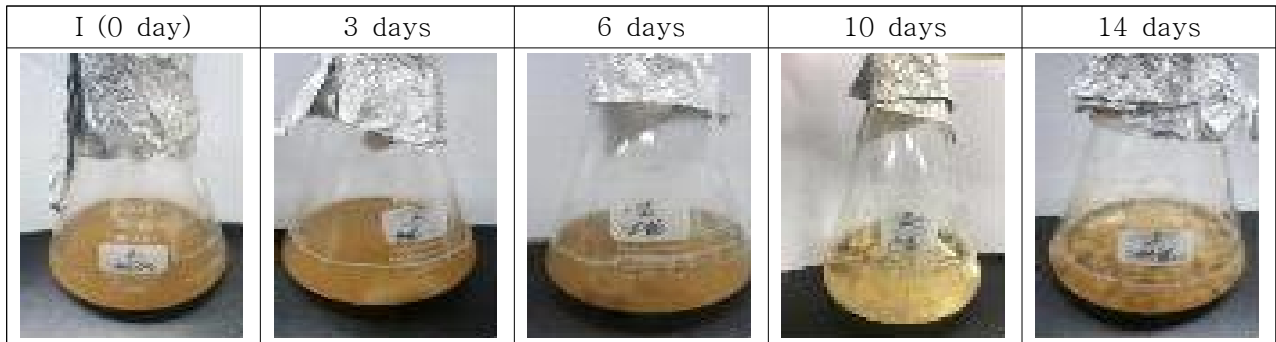
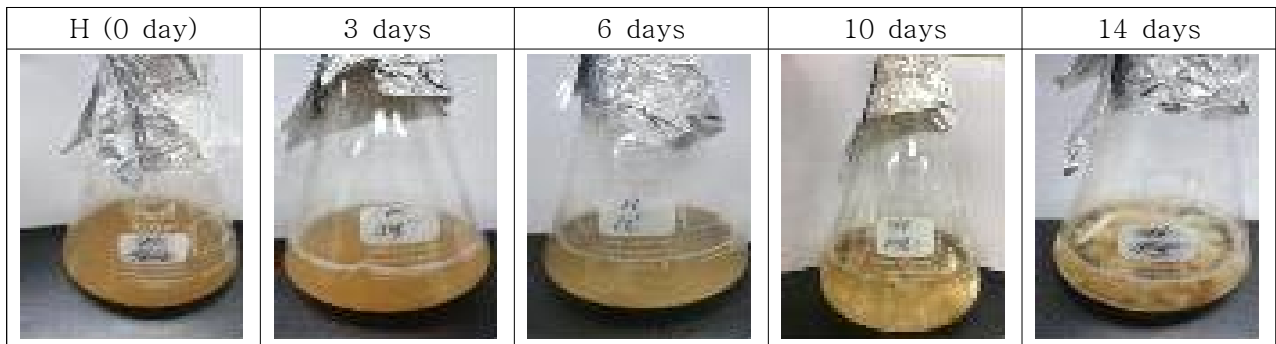
을 보였다. 배양 10일 경과 후에는 pH 3 미만으로 더욱 산성화되었으며, 배양 14일까지 지속적으로 산성화되는 경향이었으며, 설탕과 포도당의 첨가량에 따라 두드러진 차이는 보이지는 않았다.

윤 등(2006)은 표고버섯의 배양을 위한 적정 pH 범위가 4.5~6.0이라고 보고한 바 있는데 이는 본 연구와도 유사한 결과였다.

따라서 대두박 배양액에 설탕과 포도당의 첨가량을 달리하였을 때 배양 기간의 경과에 따라 배양액의 pH가 산성화되는 것으로 볼 때 이들 배양액에서 표고버섯의 균체의 성장은 가능하리라고 판단되었다.







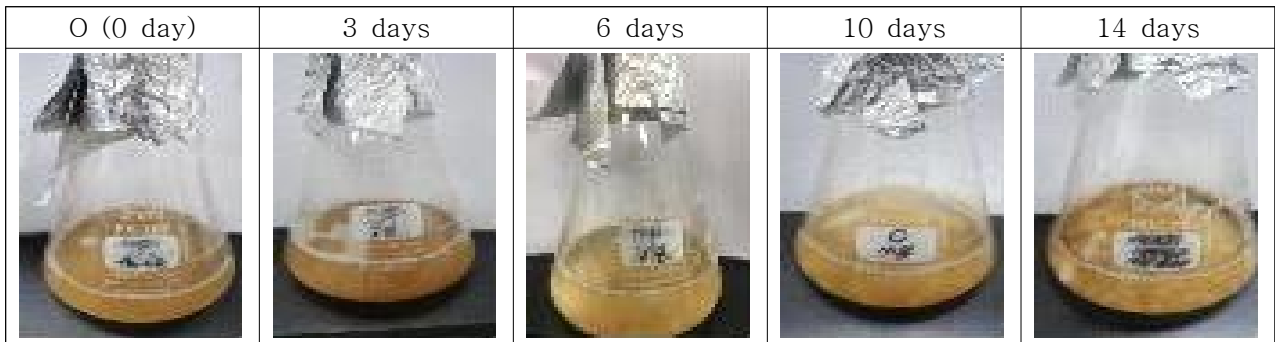
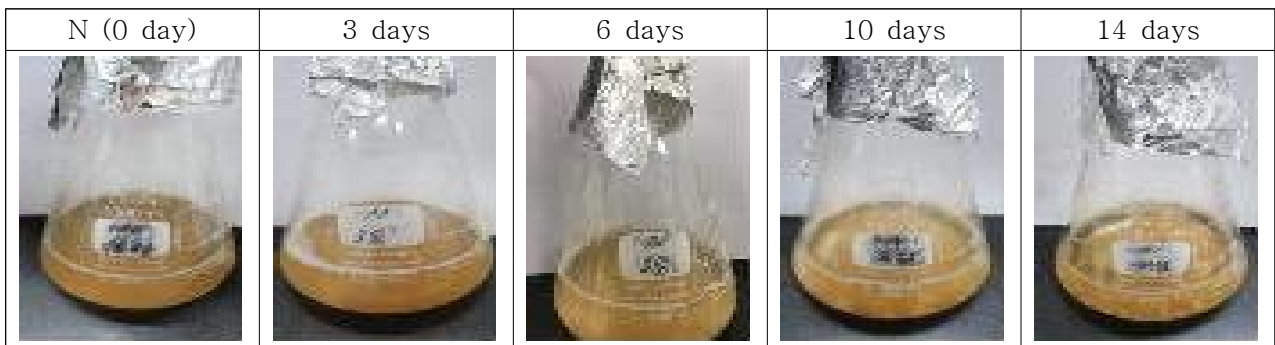
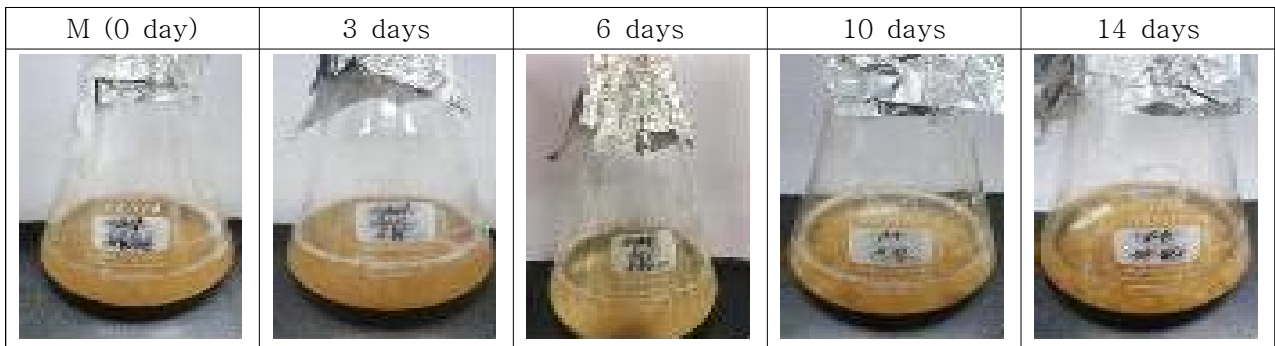


Fig. 12. Culture solution in the soybean media for liquid spawn of *Lentinula edodes*.

(2) 당 함량을 달리한 표고버섯 액체종균의 대두박배지의 건조 균체량

대두박을 0.3%로 함유하고 설탕과 포도당의 함량을 달리하여 첨가한 15가지 조건의 배양액에서 배양 기간의 경과에 따른 배양액의 균체량 변화를 건조 균체량으로 측정된 결과는 Table 39와 같다. 배양액 중 설탕 및 포도당의 첨가량이 많아질수록 건조 균체량은 유의적으로 증가되는 경향이였다. 배양 초기(0일)에서 설탕 및 포도당의 총 함량을 30 g으로 한 액체배지('A', 'D', 'E', 'F', 'G', 'H' 및 'I')에서 건조 균체량은 30 g 이상이였으며, 특히 포도당에 비해 설탕의 첨가량이 많을수록 건조 균체량이 더 많은 것으로 나타났다. 이들 배양액은 배양 10일까지 건조 균체량이 점차적으로 증가되는 경향이였으나, 배양 14일 이후에는 오히려 감소하였다.

반면에 설탕 및 포도당의 첨가량이 30 g 미만인 액체배지에서도 배양 기간이 경과될수록 유의적으로 균체량이 증가되는 경향이였으나, 이들 배지에서는 배양 10~14일경에 증가폭이 가장 컸으며, 배양 10일 이전에는 증가폭이 미미한 것으로 확인되었다.

Table 39. Mycelium dry weight in the soybean meal media for *Lentinula edodes* liquid spawn culture with different content of glucose and sugar

Code No. of media*	Mycelium dry weight (g/1 L)				
	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
A (30:0)	35.13±4.69 ^{aG}	38.27±0.91 ^{aFG}	39.10±4.16 ^{aE}	44.50±1.25 ^{bE}	38.07±0.85 ^{aGH}
B (0:10)	15.03±0.06 ^{NSBC}	15.20±0.35 ^B	15.57±1.63 ^B	16.07±0.40 ^B	16.10±0.52 ^B
C (0:20)	24.80±0.98 ^{aE}	26.33±0.40 ^{bD}	26.50±0.50 ^{bD}	26.97±0.87 ^{bD}	30.03±0.99 ^{cE}
D (0:30)	31.87±4.30 ^{aFG}	35.53±1.51 ^{abE}	36.33±1.42 ^{bE}	44.00±1.39 ^{cE}	37.63±1.00 ^{bFGH}
E (5:25)	31.40±1.45 ^{aF}	36.17±0.76 ^{bE}	36.73±0.50 ^{bE}	45.53±0.64 ^{dE}	38.73±0.98 ^{cGH}
F (10:20)	30.47±0.91 ^{aF}	36.50±1.14 ^{bEF}	36.97±2.18 ^{bcE}	44.33±1.27 ^{cE}	39.20±0.98 ^{dH}
G (15:15)	31.53±0.91 ^{aF}	36.97±2.57 ^{bEFG}	38.97±1.10 ^{bE}	44.30±1.66 ^{cE}	36.03±1.42 ^{bF}
H (20:10)	32.43±1.07 ^{aFG}	38.77±0.93 ^{bG}	38.83±1.55 ^{bE}	45.00±1.48 ^{cE}	37.37±1.02 ^{bFGH}
I (25:5)	33.27±1.27 ^{aFG}	38.63±1.66 ^{bG}	38.90±1.23 ^{bE}	44.23±1.34 ^{cE}	36.90±1.73 ^{bFG}
J (0:5)	7.80±0.17 ^{aA}	9.03±0.51 ^{bA}	9.37±0.21 ^{bcA}	9.97±0.47 ^{cA}	11.00±0.53 ^{dA}
K (0:15)	17.77±0.51 ^{aCD}	19.53±1.05 ^{bC}	20.07±0.64 ^{bC}	21.90±0.95 ^{cC}	23.40±1.25 ^{cC}
L (5:0)	9.03±0.55 ^{aA}	9.33±0.67 ^{aA}	10.27±0.32 ^{aA}	10.47±0.61 ^{aA}	12.13±1.24 ^{bA}
M (10:0)	14.00±0.62 ^{aB}	15.20±0.82 ^{abB}	16.50±0.53 ^{bcB}	15.97±0.95 ^{bcB}	17.20±0.79 ^{cB}
N (15:0)	19.53±0.46 ^{aD}	20.97±1.22 ^{abC}	22.07±0.84 ^{bC}	21.67±1.02 ^{bC}	25.10±0.50 ^{cD}
O (20:0)	24.63±0.93 ^{aE}	24.73±0.76 ^{aD}	27.13±0.57 ^{bD}	27.53±1.10 ^{bD}	31.03±0.55 ^{cE}

All values are mean±SD ($n=5$)

Means with different superscripts in the same column(A-G) and same row (a-c) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

*sugar : glucose = w/w

따라서 대두박 배지에 설탕 및 포도당의 첨가량을 30 g 첨가할 경우 배양 기간은 10일 정도가 적절할 것으로 여겨지며, 30 g 미만으로 첨가할 경우에는 배양 기간을 14일까지 연장시키는 것이 균체량을 증가시키는데 효과적인 것으로 판단되었다. 더욱이 배양액 'C', 'N' 및 'O'의 경우에는 배양 10~14일 동안에 건조 균체량의 증가폭이 가장 큰 것으로 나타나 이들의 배지 조건을 이용한다면 표고버섯의 생육도 왕성할 것으로 예상된다. 반면에 배양액 'N'은 배양기간 동안 균체량의 증가 현상에 증감이 반복되는 경향을 보였으나, 배양액 'C' 및 'O'의 경우에는 균체량의 증가에 일정한 경향을 보여 대두박 배지에 설탕이나 포도당의 첨가량을 20 g으로 조절하는 것이 적절할 것으로 여겨지며, 더욱이 설탕 및 포도당의 시장 가격을 고려해 본다면 배지 'C'가 더 적절할 것으로 판단된다.

(3) 당 함량을 달리한 표고버섯 액체종균의 대두박배지의 흡광도

대두박 0.3%에 설탕과 포도당의 함량을 달리한 15가지 액체 배지에서 배양 기간의 경과에 따른 배지의 균체량 변화를 흡광도로 측정한 결과는 Table 40과 같다.

15조건의 대두박 배지 중 설탕 30 g이 첨가된 배양액('A')에서 흡광도는 배양 6일까지 증가하다가 10일 경과 후 다소 감소되었으나, 배양 14일 후에는 다시 유의적으로 증가되는 경향이였다. 그 외 배양액에서는 배양 기간이 경과됨에 따라 배양액의 흡광도가 유의적으로 증가되었다.

배양 초기(0일)에 대두박 배양액의 흡광도는 0.997~1.402의 범위로 배양액의 당 함량에 따라 유의적인 차이를 보였으나, 설탕 및 포도당의 종류에 따른 흡광도의 차이는 보이지 않았다. 반면 모든 배양액에서 당의 종류에 관계없이 첨가량이 많아짐에 따라 흡광도는 증가하는 경향이었는데, 이러한 현상은 상기의 건조 균체량의 변화와도 유사한 패턴이었다.

특히 10일간 배양된 배양액 중 'A'를 제외한 모든 배양액에서 흡광도가 1.3 이상이었는데, 이들 배양액을 표고버섯 생육에 이용한다면 생산성이 증가될 것으로 예상된다.

Table 40. Mycelial growth in the soybean meal media for *Lentinula edodes* liquid spawn culture with different content of glucose and sugar

(Absorbance in 600 nm)

Code No. of media*	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
A (30:0)	0.997±0.011 ^{aA}	1.308±0.023 ^{cDE}	1.308±0.014 ^{cBC}	1.138±0.017 ^{bA}	1.362±0.028 ^{dA}
B (0:10)	1.023±0.093 ^{aA}	1.062±0.031 ^{aA}	1.251±0.013 ^{bA}	1.352±0.014 ^{cBC}	1.360±0.022 ^{cA}
C (0:20)	1.122±0.012 ^{aB}	1.221±0.089 ^{bBC}	1.326±0.016 ^{cBCD}	1.338±0.013 ^{cB}	1.400±0.025 ^{cAB}
D (0:30)	1.241±0.008 ^{aCD}	1.245±0.009 ^{aCD}	1.370±0.018 ^{bEF}	1.394±0.013 ^{bCDE}	1.468±0.031 ^{cCD}
E (5:25)	1.149±0.028 ^{aB}	1.183±0.004 ^{aB}	1.301±0.047 ^{bB}	1.375±0.017 ^{cBCD}	1.396±0.013 ^{cAB}
F (10:20)	1.211±0.027 ^{aC}	1.307±0.010 ^{bDE}	1.369±0.004 ^{cEF}	1.379±0.017 ^{cBCD}	1.502±0.008 ^{dDE}
G (15:15)	1.136±0.054 ^{aB}	1.304±0.002 ^{bDE}	1.353±0.027 ^{bDE}	1.432±0.062 ^{cEF}	1.598±0.006 ^{dGH}
H (20:10)	1.243±0.005 ^{aCD}	1.388±0.046 ^{bFG}	1.389±0.008 ^{bF}	1.454±0.031 ^{cFG}	1.582±0.007 ^{dFG}
I (25:5)	1.155±0.018 ^{aB}	1.342±0.047 ^{bEF}	1.364±0.008 ^{bcEF}	1.404±0.013 ^{cDE}	1.629±0.011 ^{dH}
J (0:5)	1.286±0.004 ^{aDE}	1.363±0.014 ^{bEFG}	1.394±0.026 ^{bcF}	1.397±0.011 ^{bcCDE}	1.440±0.048 ^{cBC}
K (0:15)	1.288±0.003 ^{aDE}	1.339±0.013 ^{bEF}	1.371±0.008 ^{cEF}	1.414±0.013 ^{dDEF}	1.500±0.006 ^{eDE}
L (5:0)	1.288±0.007 ^{aDE}	1.361±0.018 ^{bEFG}	1.455±0.005 ^{cG}	1.491±0.033 ^{cdG}	1.503±0.027 ^{dDE}
M (10:0)	1.271±0.010 ^{aDE}	1.334±0.001 ^{bEF}	1.349±0.016 ^{bDE}	1.402±0.006 ^{cDE}	1.488±0.056 ^{dD}
N (15:0)	1.323±0.006 ^{aE}	1.399±0.007 ^{bFG}	1.339±0.014 ^{aCDE}	1.441±0.037 ^{bEF}	1.546±0.034 ^{cEF}
O (20:0)	1.402±0.014 ^{nsF}	1.416±0.063 ^G	1.428±0.002 ^G	1.435±0.020 ^{EF}	1.439±0.017 ^{BC}

All values are mean±SD ($n=10$)

Means with different superscripts in the same column(A-H) and same row(a-d) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

*sugar : glucose = w/w

다. 톱밥배지에 대한 표고버섯 액체종균의 접종량 및 생육 기간 설정

개발된 표고버섯의 대두박 액체종균 배양액의 최종 접종량을 설정하기 위하여 톱밥배지에 접종하였다. 즉 1.7 kg의 톱밥배지에 액체종균의 접종량을 달리하여 접종한 한 배양 기간에 따른 균사의 성장정도를 측정한 결과는 Fig. 13과 같다.

각 봉지당 액체종균의 접종량을 10, 20, 30, 40, 45, 50 및 60 mL로 한 후 18일 동안 배양시켰다. 배양 5일까지는 아무런 변화가 관찰되지 않았으며, 배양 6일 경과 후 45, 50 및 60 mL를

접종한 배지에서 균사의 생장이 관찰되었으며, 30 및 40 mL 접종된 배지에서 균사의 생장은 미약하였다. 배양 13~14일 경과 후 45, 50 및 60 mL를 접종한 배지에서 균사의 생장은 봉지 바닥까지 증식된 것으로 확인되었으며, 이들 배지에서 배양 16~17일 경과 후에 배지 표면 전체에서 균사의 성장을 관찰할 수 있었다. 반면에 40 mL 이하로 접종된 배지에서 균사의 생장은 배양 18일까지 톱밥배지의 50% 미만에 불과하였다.

따라서 톱밥배지에 대한 표고버섯 액체종균의 접종량은 45 mL 이상으로 접종하면 15~18일경에 배지 표면 전체에 균사의 생장이 이루어질 것으로 예상된다.

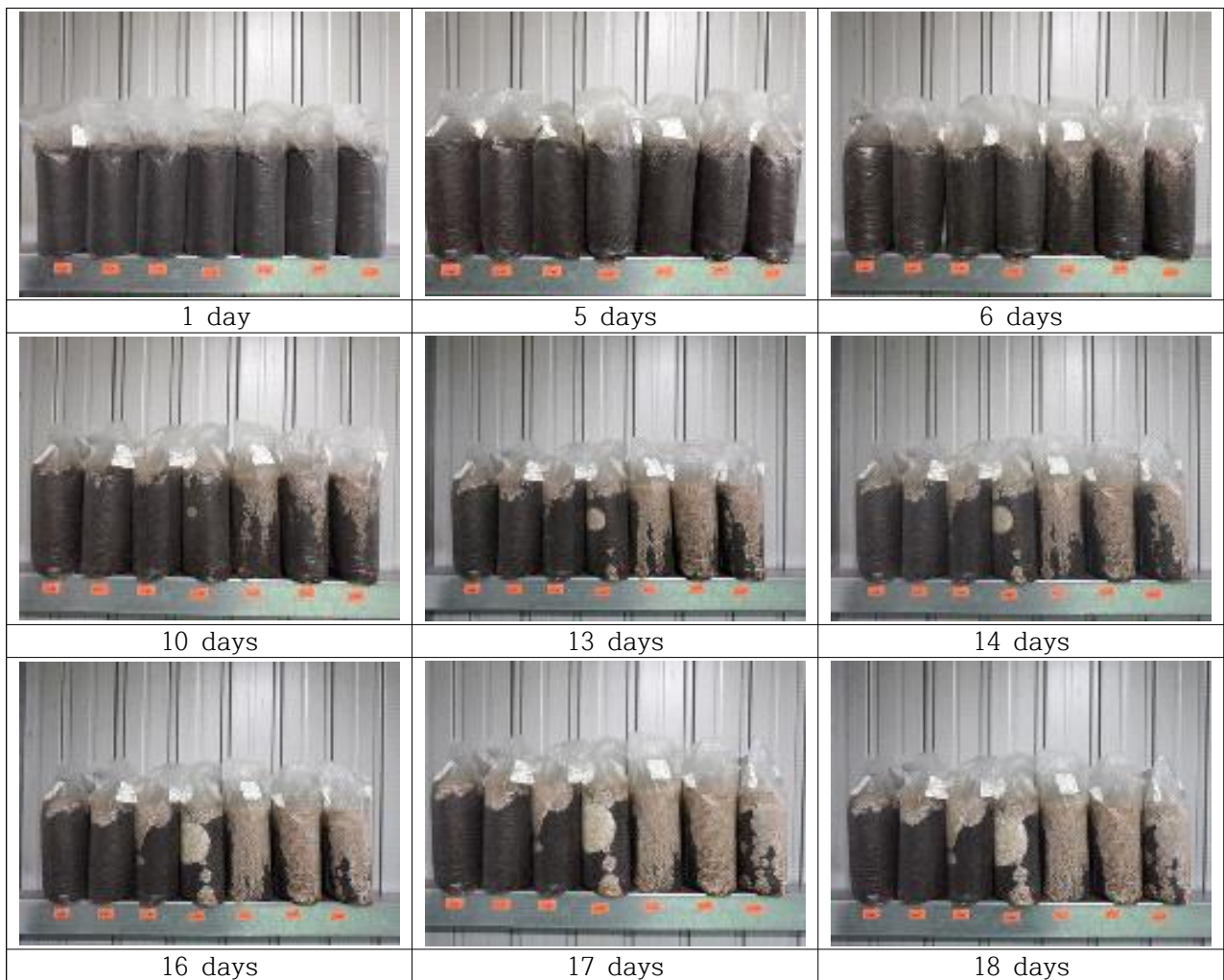


Fig. 13. Mycelial growth according to inoculation volume of liquid spawn from *Lentinula edodes*.

라. 표고버섯의 종균에 따른 버섯의 생육 비교

표고버섯의 고체종균 및 액체종균에 따른 버섯의 생육정도를 비교하여 액체종균의 특성을 평가하고자 하였다.

표고버섯의 고체종균은 톱밥배지에 접종하여 150일간 배양하였으며, 액체종균은 90일간 배양한 후 봉지를 제거한 다음 생육실에서 버섯의 생육 과정을 관찰한 결과는 Fig. 14와 같다. 5회 반복 실험과정에서 생육 1일경에는 버섯 자실체가 관찰되지 않았으나, 5일 후에는 자실체의 형태가 관찰되기 시작하였으며, 생육 10일 경과 후 버섯의 갓과 대의 형태가 뚜렷해졌으며, 수확이 가능한 것으로 판단되었다. 이때 버섯의 생산량은 Table 41에 나타난 바와 같이 각 배지당 7~10 g 범위로 평균 8.4 g이었다.



Fig. 14. Mushroom production from solid spawn of *Lentinula edodes*.

표고버섯의 액체종균을 톱밥배지에 접종하여 90일간 배양한 후 봉지를 제거한 후 생육실에서 버섯의 생육 과정을 관찰한 결과는 Fig. 15와 같다. 5회 반복 실험과정에서 생육 1일경에 톱밥배지 전체에서 균사의 생장이 왕성한 것을 관찰할 수 있었으며, 생육 6일까지 버섯 자실체는 관찰되지 않았다. 하지만 생육 8일 경과 후 버섯의 형태 관찰이 가능하였으며, 모든 톱밥 배지에서 버섯이 생육됨을 확인할 수 있었다. 이는 생육 10일까지 지속적으로 버섯이 생육되었으며, 생산량은 Table 41에 나타난 바와 같이 각 배지당 8~16 g의 범위로 평균 13.2 g이었다. 이는 고체종균에 의한 버섯보다 생산량이 많았다.

윤 등(2006)은 유기 영양원 혼용배지의 버섯 생산량이 톱밥 단용 배지에 비하여 5배 이상의 높은 생산성을 나타낸다고 하였으며, 영양원 첨가가 버섯 생산성에 절대적인 영향이 있음을 보고한 바 있다.

표고버섯 '추제2호'의 고체종균은 배양기간이 150일이며, 액체종균은 90일로서 액체종균을 사용할 경우 고체종균에 비해 배양기간을 30일 정도 단축시킬 수 있다. 따라서 배양기간이 단축됨에 따라 배양실을 효율적으로 운영할 수 있을 것으로 생각된다. 액체종균은 1.7 kg의 톱밥 배지에 45 mL 정도 소요되므로 종균의 비용 절감과 배지 전체에서 일정한 균사의 성장에 따라 버섯 생육도 균일할 것으로 예상된다.

그러므로, 표고버섯의 생산 기간 단축과 생산비용의 절감을 위해 액체종균의 사용은 고체종균에 비해 경제적인 측면에서 효율적이라 사료된다.

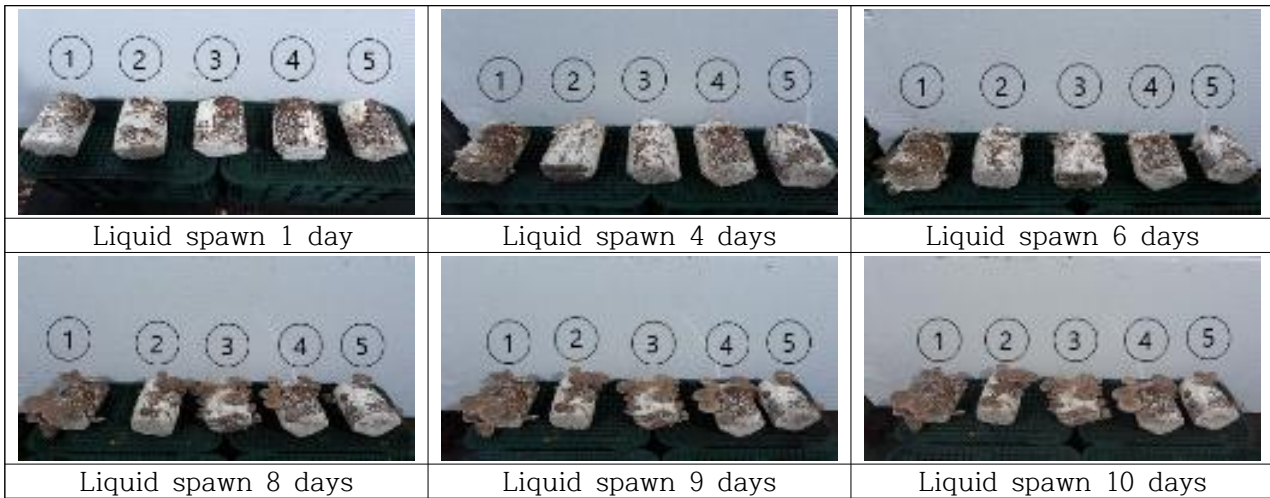


Fig. 15. Mushroom production from liquid spawn of *Lentinula edodes*.

Table 41. Mushroom production from solid and liquid spawn

(g/Wood chip media)

	Mushroom production by	
	Solid spawn (g)	Liquid spawn (g)
Wood chip media 1	10	15
Wood chip media 2	8	13
Wood chip media 3	7	16
Wood chip media 4	8	14
Wood chip media 5	9	8
Average	8.4	13.2

마. PDB배지에서 꽃송이버섯 액체종균의 최적 배양 조건 설정

Potato dextrose broth (PDB) 액체배지를 사용하여 꽃송이버섯 액체종균의 최적 배양 조건을 설정하고자 하였다.

(1) PDB 배지를 이용한 꽃송이버섯 액체종균 배지의 최적 pH 설정

꽃송이버섯 액체종균의 최적 pH를 설정하기 위하여 PDB 배지의 초기 pH를 염산으로 pH 4~8의 범위로 다양하게 조절한 다음 꽃송이버섯 종균을 접종한 후 22°C의 incubator에서 14일동안 배양하였다. 이때 배양액의 멸균 직후(0일), 3, 6, 10 및 14일 배양 후 각 배양액의 pH를 측정된 결과는 Table 42와 같으며, 배양 기간의 경과에 따른 배양액의 외관은 Fig. 16과 같다.

모든 배양액에서 초기 pH에 비해 멸균 직후(0일)에 산성화가 심하였는데, 이는 배양 기간이 경과됨에 따라 동일한 경향을 보였다. 10일 경과 후, 초기 pH 4~4.5인 배양액에서는 pH

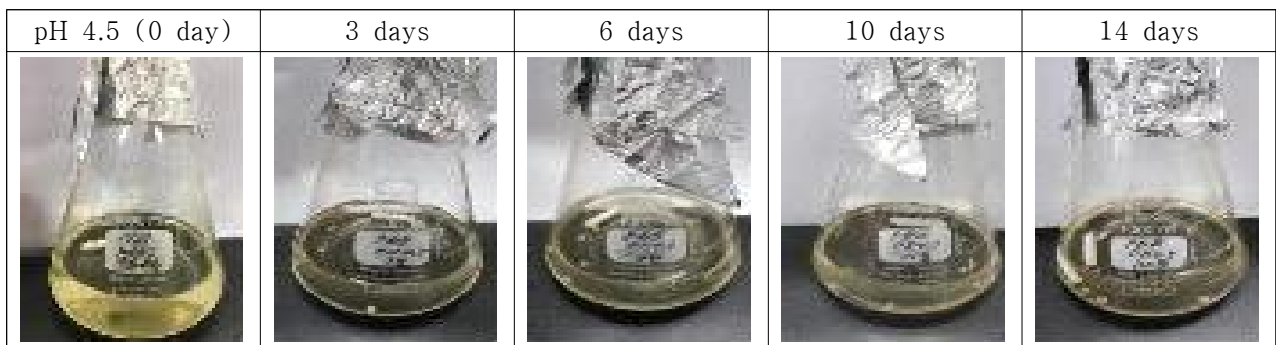
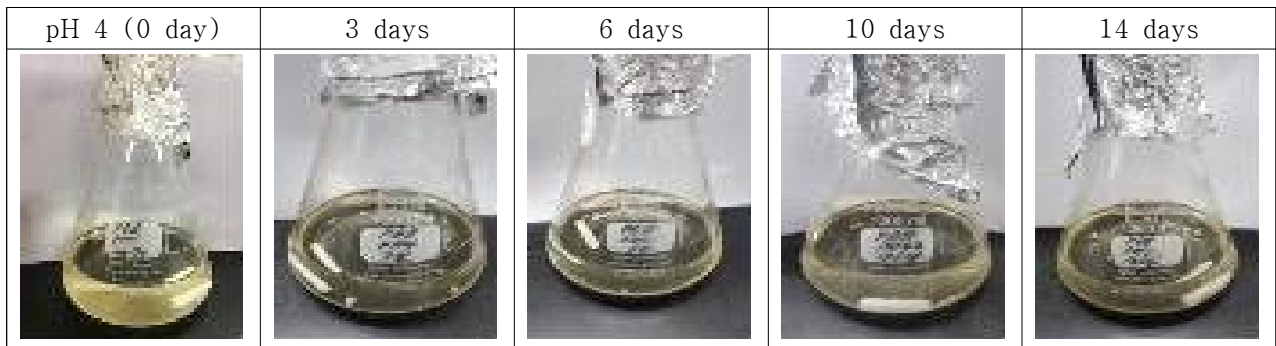
3.34~3.88의 범위였으며, 초기 pH 4.8~6인 배양액에서는 pH 4.12~4.94의 범위로 산성화되었다. 반면에 초기 pH 7~8인 배지에서는 배양 10~14일 경과 후에도 pH 5 이상으로 유지되는 경향이 있었다.

Table 42. Changes of pH in the potato dextrose broth media for liquid spawn growth from *Sparassis crispa* during its incubation periods at the different pH condition

pH of media	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
4	3.50±0.01 ^{eA}	3.32±0.01 ^{cA}	3.24±0.01 ^{bA}	3.34±0.01 ^{dA}	3.20±0.01 ^{aA}
4.2	3.66±0.01 ^{cB}	3.51±0.01 ^{bB}	3.41±0.01 ^{aB}	3.51±0.01 ^{bB}	3.41±0.01 ^{aB}
4.3	3.78±0.01 ^{cC}	3.62±0.01 ^{bC}	3.52±0.01 ^{aC}	3.61±0.01 ^{bC}	3.52±0.01 ^{aC}
4.5	3.98±0.01 ^{dD}	3.85±0.01 ^{bD}	3.78±0.01 ^{aD}	3.88±0.01 ^{cD}	3.78±0.01 ^{aD}
4.8	4.25±0.01 ^{eE}	4.10±0.01 ^{cE}	4.05±0.01 ^{bE}	4.12±0.01 ^{dE}	4.03±0.01 ^{aE}
5	4.43±0.01 ^{dF}	4.28±0.01 ^{bF}	4.22±0.01 ^{aF}	4.35±0.01 ^{cG}	4.21±0.01 ^{aF}
5.2	4.58±0.01 ^{eG}	4.37±0.01 ^{bG}	4.48±0.01 ^{dG}	4.32±0.01 ^{aF}	4.42±0.01 ^{cG}
5.4	4.77±0.01 ^{dH}	4.51±0.01 ^{aH}	4.65±0.01 ^{cI}	4.50±0.01 ^{aH}	4.61±0.01 ^{bH}
5.6	4.68±0.01 ^{bI}	5.06±0.01 ^{dI}	4.59±0.01 ^{aH}	4.76±0.02 ^{cI}	4.72±0.01 ^{bI}
6	4.91±0.01 ^{bJ}	5.11±0.01 ^{dJ}	4.87±0.01 ^{aJ}	4.94±0.02 ^{bJ}	5.04±0.02 ^{cJ}
7	5.24±0.01 ^{bK}	5.39±0.01 ^{dK}	5.15±0.01 ^{aK}	5.29±0.01 ^{cK}	5.23±0.01 ^{bK}
8	5.38±0.01 ^{bL}	5.44±0.01 ^{dL}	5.29±0.01 ^{aL}	5.37±0.01 ^{bL}	5.42±0.01 ^{cL}

All values are mean±SD ($n=10$)

Means with different superscripts in the same column(A-I) and same row(a-d) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.



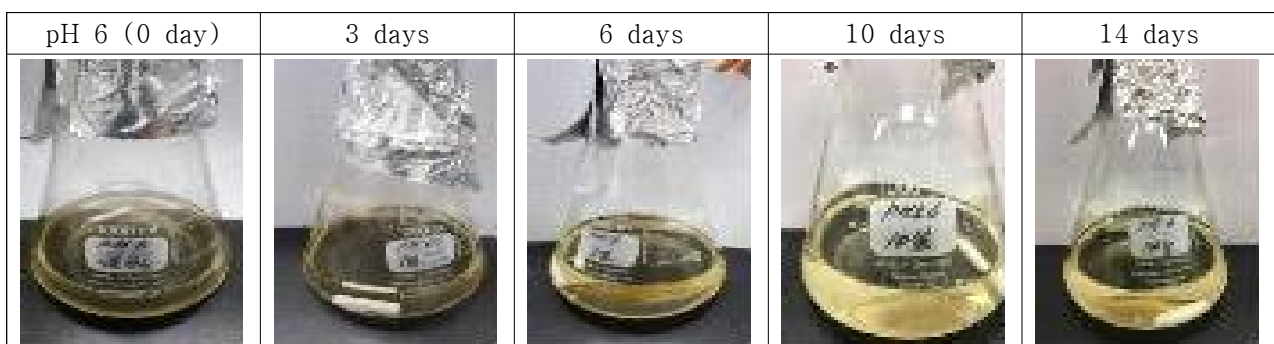
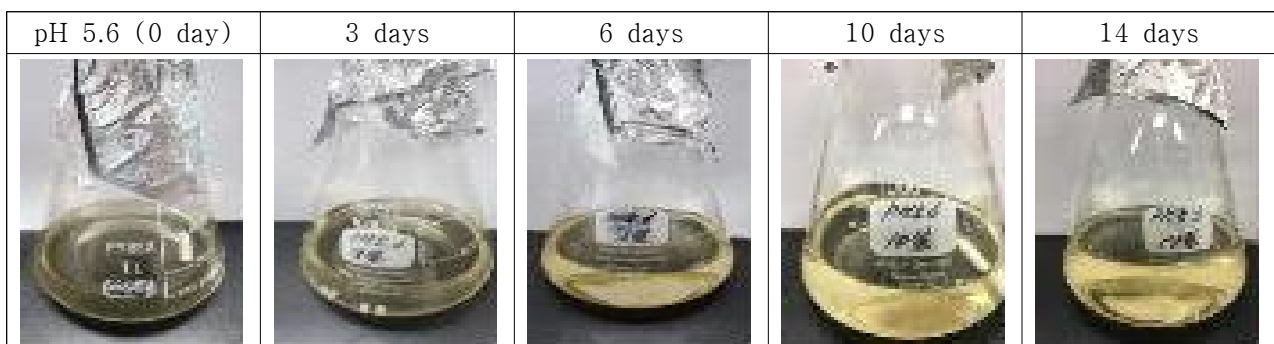
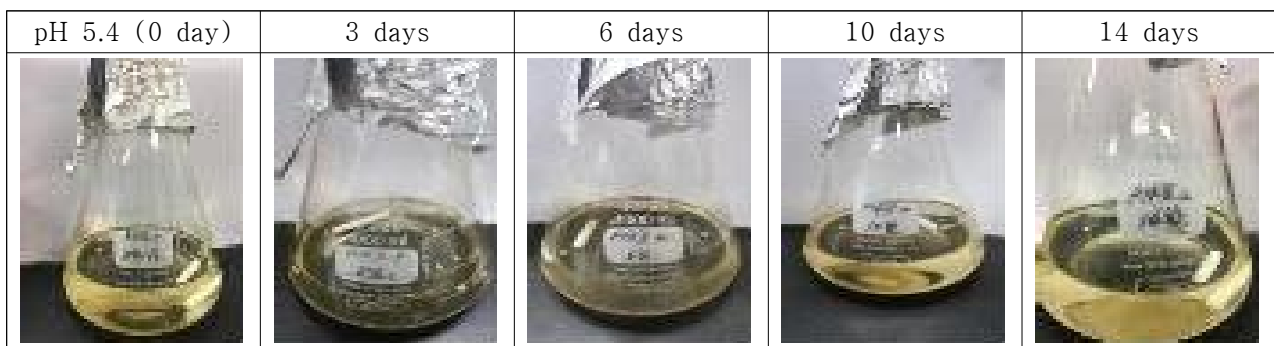
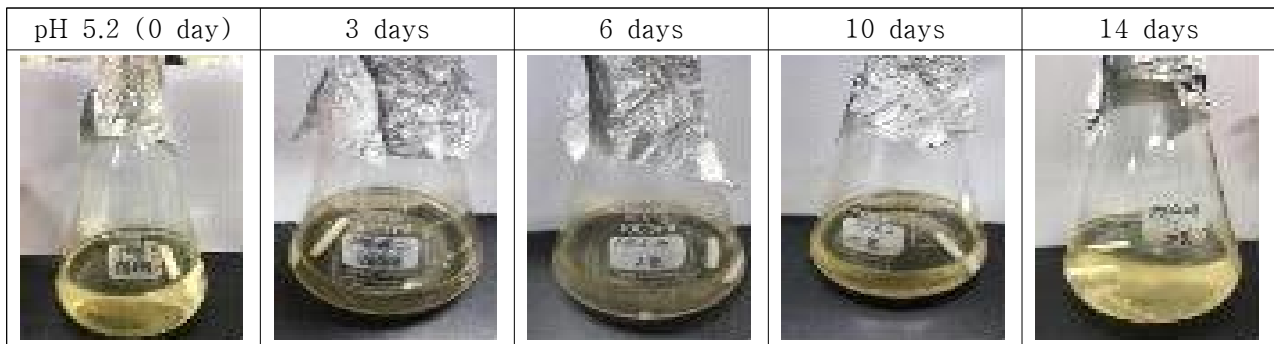
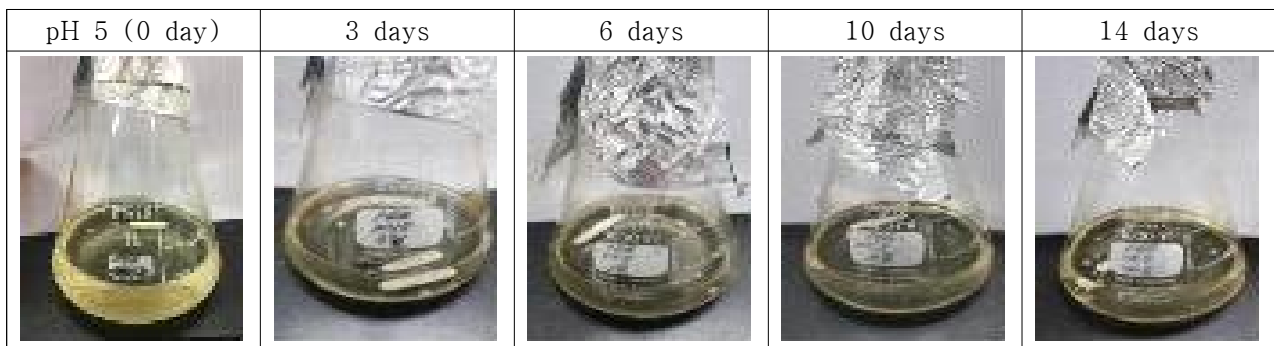




Fig. 16. Culture solution in the PDB media for liquid spawn of *Sparassis crispa*.

(2) PDB 배지를 이용한 꽃송이버섯 액체종균 배양액의 건조 균체량

꽃송이버섯 액체종균의 배양 기간에 따른 균체 성장 정도를 건조 균체량으로 측정한 결과는 Table 43과 같다. pH 4~4.8의 배지에서는 초기 배양액에 비해 배양 3일 경과 후에 균체량이 유의적으로 증가되었으나, 그 외 배지에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한 이들 배지에서는 배양 6~10일 동안 균체량이 감소되는 경향이었으나, 배양 3일에 비해서 유의적인 차이는 아니었으나, 배양 14일 경과 후에는 배양 10일에 비해 유의적으로 증가됨을 보였다.

pH 5~5.6의 배지에서는 배양 14일 경과 후에도 초기 배양액에 비해 유의적인 증가현상을 보이지 않았으며, pH 6~8의 배지에서는 배양 14일 경과 후에 균체량이 감소된 경향이었으나, 유의적인 차이는 아니었다.

따라서 꽃송이버섯 액체종균의 적정 pH는 표고버섯과 마찬가지로 산성인 것으로 판단되며, pH 4~4.8의 범위로 조절하는 것이 적절할 것으로 판단된다.

Table 43. Mycelial growth of liquid spawn from *Sparassis crispa* on potato dextrose broth during its incubation periods at different pH condition

Dry cell weight (g/1 L)

pH of media	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
4	24.00±3.46 ^{aNS}	28.97±0.72 ^{cC}	25.47±0.55 ^{abBCD}	24.90±0.36 ^{aAB}	26.50±0.87 ^{bb}
4.2	26.36±0.12 ^a	28.90±0.70 ^{bc}	26.10±1.30 ^{aCD}	25.87±1.02 ^{aABC}	26.47±0.49 ^{ab}
4.3	26.07±0.21 ^b	28.43±0.32 ^{cBC}	24.70±0.72 ^{aBC}	24.87±0.76 ^{aAB}	26.53±0.23 ^{bb}
4.5	26.43±0.45 ^a	28.57±0.59 ^{bbc}	26.17±1.14 ^{aCD}	25.63±0.45 ^{aAB}	26.63±0.60 ^{ab}
4.8	26.30±0.30 ^a	28.00±0.60 ^{bbc}	26.00±0.87 ^{aCD}	25.77±0.87 ^{aABC}	26.67±0.45 ^{ab}
5	26.00±1.31 ^{abc}	27.37±0.67 ^{bb}	25.77±0.35 ^{aCD}	25.43±0.46 ^{aAB}	26.93±0.68 ^{bb}
5.2	25.40±1.00 ^{ab}	25.47±0.76 ^{abA}	25.63±0.67 ^{abCD}	26.43±1.10 ^{bbc}	24.47±0.85 ^{aA}
5.4	26.30±2.75 ^{ns}	25.90±0.75 ^A	25.20±0.78 ^{BCD}	27.20±1.06 ^C	26.80±0.72 ^B
5.6	24.57±0.68 ^a	25.63±0.25 ^{abA}	27.10±0.85 ^{bd}	24.63±0.90 ^{aA}	25.70±1.06 ^{ab}
6	25.40±0.46 ^{ab}	25.27±0.35 ^{abA}	23.53±1.64 ^{aAB}	25.87±0.97 ^{bABC}	24.57±0.85 ^{abA}
7	25.43±0.75 ^b	25.30±0.98 ^{ba}	22.27±0.93 ^{aA}	25.43±0.64 ^{bAB}	24.37±1.07 ^{ba}
8	24.57±1.15 ^{NS}	25.00±0.92 ^A	23.63±1.70 ^{AB}	24.73±0.81 ^A	24.73±0.72 ^A

All values are mean±SD ($n=10$)

Means with different superscripts in the same column(A-D) and same row(a-d) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

(3) PDB 배지를 이용한 꽃송이버섯 액체종균 배양액의 흡광도 변화

꽃송이버섯 액체종균 배양액의 pH를 달리한 조건에서 균체 생장을 흡광도로 측정된 결과는 Table 44와 같다. pH 4~8의 범위의 PDB배지에서 꽃송이버섯 균체를 14일동안 배양한 결과, 배양 기간이 경과될수록 배양액의 흡광도는 증가되는 경향이였다. 배양 초기(0일)에 비해 배양 3일까지는 흡광도의 변화가 없었으나, 배양 6일 경과 후에는 pH 4.5~7의 배지에서 배양 3일에 비해 유의적으로 증가되었다. 반면 배양 10일 경과 후에는 모든 배지에서 배양 6일에 비해 유의적인 증가현상을 보였으며, 이는 배양 14일까지 지속되었다. pH 4.5의 배지에서 배양 14일 경과 후에 0.091로 가장 높은 흡광도값을 보였는데, pH 5.4의 배양액에서도 이와 유사한 경향이였다.

Table 44. Mycelial growth of liquid spawn from *Sparassis crispa* on potato dextrose broth during its incubation periods at different pH condition

(Absorbance in 600 nm)

pH of media	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
4	0.009±0.003 ^{abE}	0.006±0.001 ^{aB}	0.015±0.001 ^{aC}	0.037±0.006 ^{bBC}	0.065±0.008 ^{cE}
4.2	0.004±0.001 ^{aBCD}	0.015±0.001 ^{aG}	0.012±0.001 ^{aB}	0.031±0.001 ^{bBC}	0.045±0.007 ^{cC}
4.3	0.006±0.003 ^{aCDE}	0.009±0.001 ^{aCD}	0.012±0.001 ^{bB}	0.024±0.002 ^{cAB}	0.025±0.001 ^{cB}
4.5	0.006±0.002 ^{aBCD}	0.010±0.001 ^{aDE}	0.013±0.002 ^{aBC}	0.063±0.014 ^{bD}	0.091±0.006 ^{cF}
4.8	0.003±0.001 ^{aAB}	0.012±0.001 ^{aF}	0.024±0.001 ^{bD}	0.014±0.001 ^{aA}	0.045±0.003 ^{cC}
5	0.004±0.001 ^{aABC}	0.010±0.001 ^{aDE}	0.022±0.001 ^{bD}	0.024±0.002 ^{cAB}	0.029±0.001 ^{dB}
5.2	0.003±0.001 ^{aAB}	0.008±0.001 ^{aC}	0.032±0.001 ^{bG}	0.067±0.018 ^{cD}	0.057±0.003 ^{cD}
5.4	0.007±0.003 ^{aDE}	0.003±0.001 ^{aA}	0.027±0.001 ^{bEF}	0.037±0.011 ^{bBC}	0.090±0.003 ^{cF}
5.6	0.002±0.001 ^{aA}	0.018±0.001 ^{aH}	0.026±0.002 ^{bE}	0.046±0.005 ^{cC}	0.061±0.006 ^{dDE}
6	0.003±0.001 ^{aABC}	0.003±0.001 ^{aA}	0.023±0.001 ^{bD}	0.047±0.013 ^{cC}	0.054±0.003 ^{cD}
7	0.007±0.001 ^{aDE}	0.006±0.001 ^{aB}	0.029±0.003 ^{bF}	0.039±0.004 ^{cBC}	0.033±0.002 ^{bB}
8	0.012±0.001 ^{bF}	0.011±0.001 ^{bE}	0.009±0.001 ^{aA}	0.015±0.002 ^{cA}	0.015±0.002 ^{cA}

All values are mean±SD ($n=10$)

Means with different superscripts in the same column(A-G) and same row(a-d) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

바. 엿기름 분말 첨가 액체배지에서 당의 함량에 따른 꽃송이버섯 액체종균의 최적 배양 조건

꽃송이버섯 액체종균 배양액의 최적 pH는 PDB 배양액에서 산성의 조건 중 건조 균체량 및 흡광도값이 높았던 pH 4.3으로 설정하였다. 따라서 꽃송이버섯의 생육에 필수적인 물질로 엿기름 분말을 배양액에 0.3%로 첨가하고 설탕과 포도당의 첨가량을 달리한 액체배양액에서 꽃송이버섯 액체종균의 생장에 미치는 영향을 측정하였다.

(1) 옛기름 분말 첨가 및 당 함량을 달리한 꽃송이버섯 액체종균 배양액의 pH

옛기름 분말을 0.3%로 함유하고 설탕과 포도당의 함량을 달리하여 첨가한 11가지 조건의 배지에서 배양 기간의 경과에 따른 배양액의 pH 변화를 측정된 결과는 Table 45와 같으며, 배양 기간에 따른 배양액의 외관은 Fig. 17과 같다.

Table 45. Changes of pH in the malt broth with different content of sugar and glucose after incubation of spawn from *Sparassis crispa*

Code No. of media*	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
A (30:10)	4.02±0.01 ^{cd}	4.26±0.25 ^{dE}	4.18±0.01 ^{ch}	3.81±0.01 ^{bc}	3.64±0.01 ^{aE}
B (0:20)	3.91±0.01 ^{cA}	4.25±0.01 ^{cE}	4.24±0.01 ^{cl}	3.87±0.01 ^{bd}	3.83±0.01 ^{al}
C (0:30)	3.94±0.01 ^{bB}	4.19±0.02 ^{dD}	4.14±0.01 ^{cG}	3.97±0.01 ^{bG}	3.53±0.01 ^{aC}
D (0:40)	3.99±0.01 ^{dC}	4.02±0.01 ^{dA}	3.64±0.01 ^{bB}	3.78±0.02 ^{cB}	3.04±0.01 ^{aA}
E (10:0)	4.20±0.02 ^{dE}	4.26±0.01 ^{dE}	3.61±0.01 ^{bA}	3.91±0.01 ^{cE}	3.10±0.01 ^{aB}
F (20:0)	4.18±0.03 ^{dE}	4.17±0.01 ^{dC}	3.77±0.01 ^{aC}	4.11±0.01 ^{cl}	3.80±0.01 ^{bH}
G (35:0)	4.28±0.01 ^{eF}	4.26±0.01 ^{dE}	3.99±0.01 ^{cD}	3.94±0.01 ^{bF}	3.76±0.01 ^{aG}
H (40:0)	4.32±0.02 ^{eG}	4.29±0.01 ^{dF}	4.05±0.01 ^{bE}	4.11±0.01 ^{cl}	3.68±0.01 ^{aF}
I (10:10)	4.33±0.02 ^{eG}	4.14±0.01 ^{dB}	4.08±0.01 ^{cF}	4.00±0.02 ^{bH}	3.79±0.01 ^{aH}
J (20:10)	4.33±0.02 ^{dG}	4.25±0.01 ^{cE}	4.26±0.01 ^{cl}	3.97±0.01 ^{bG}	3.83±0.01 ^{al}
K (10:20)	4.29±0.01 ^{eF}	4.27±0.01 ^{dE}	4.07±0.01 ^{cF}	3.76±0.02 ^{bA}	3.55±0.01 ^{aD}

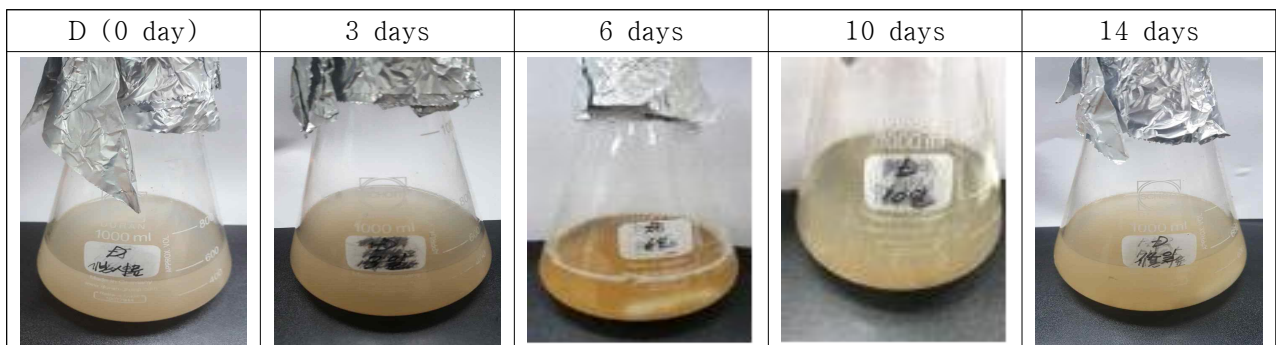
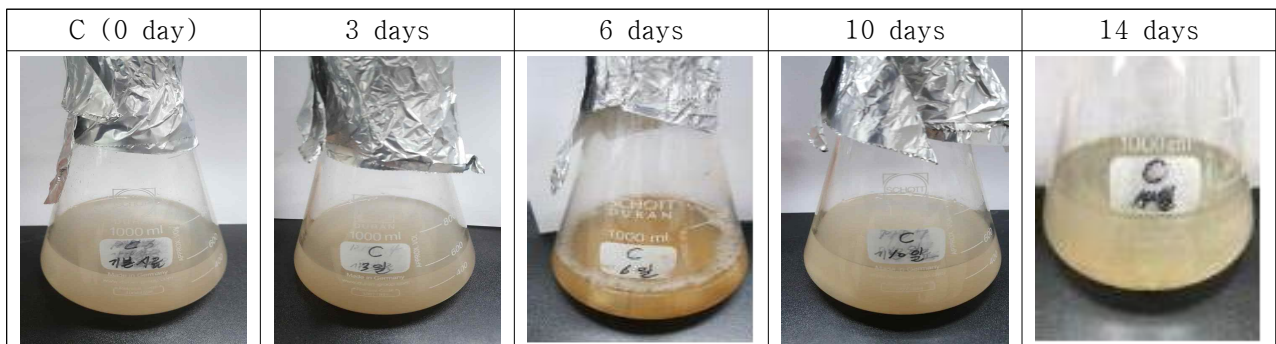
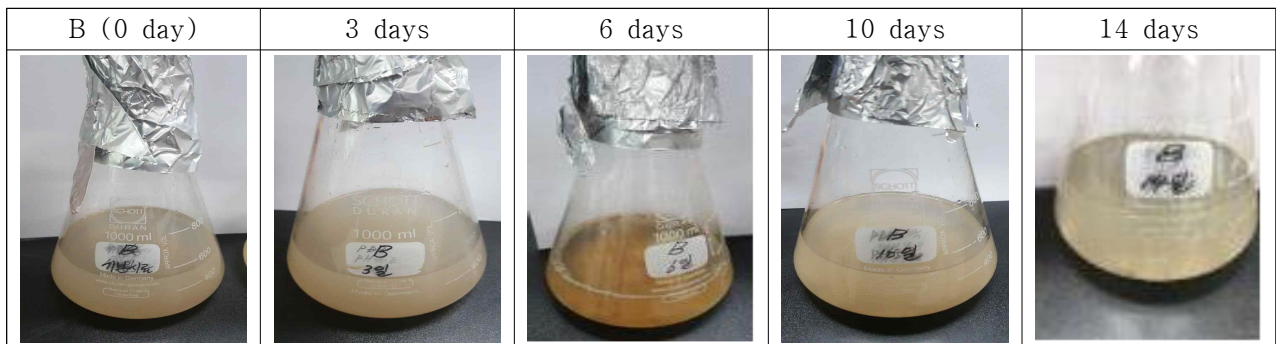
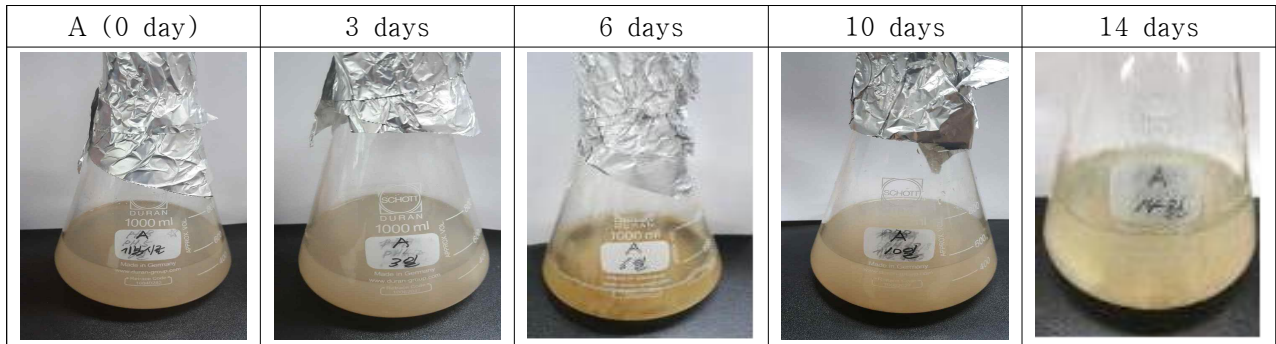
All values are mean±SD (n=5)

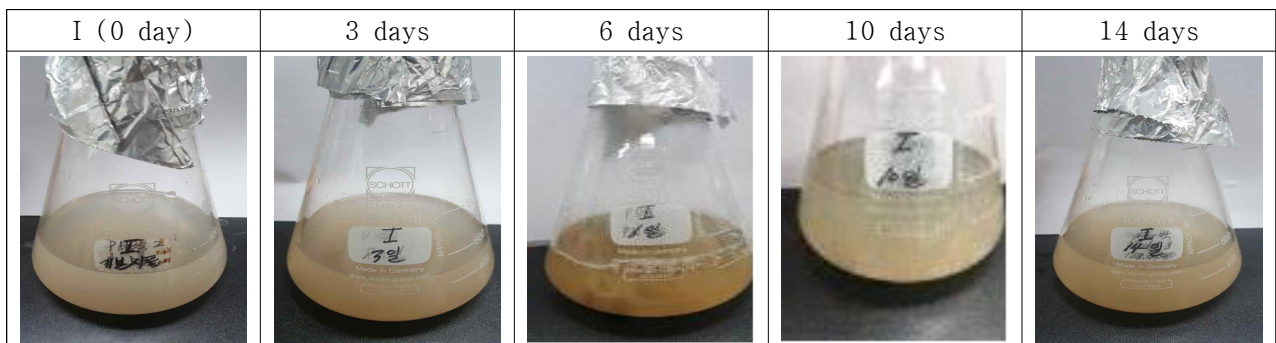
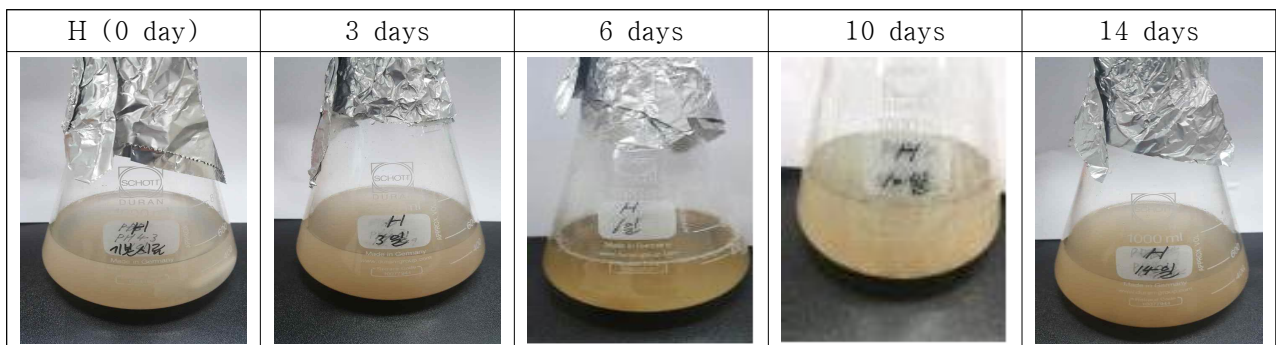
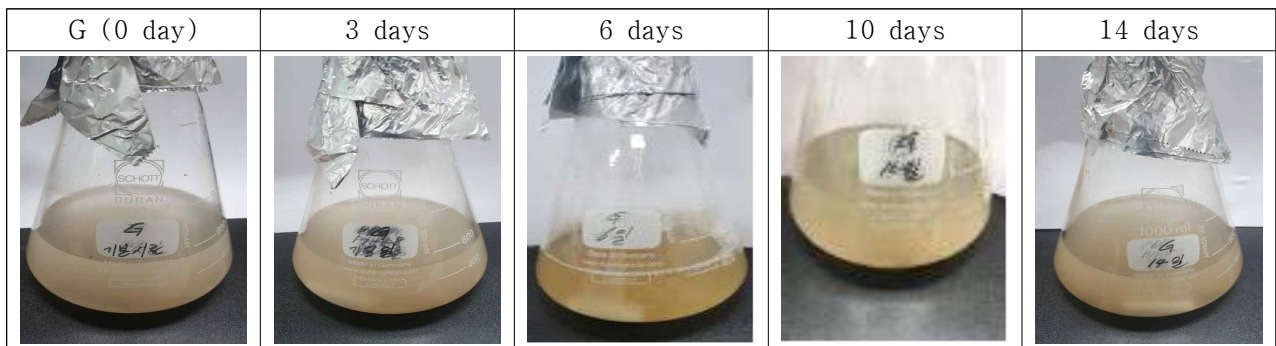
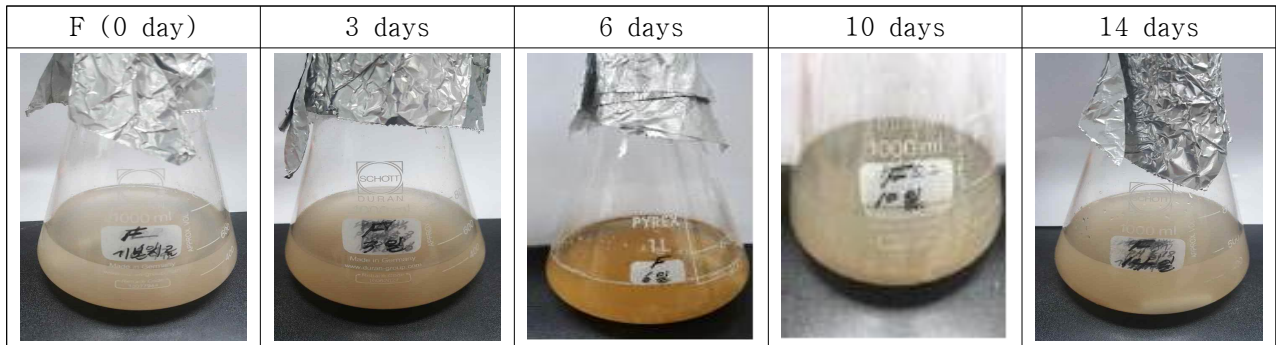
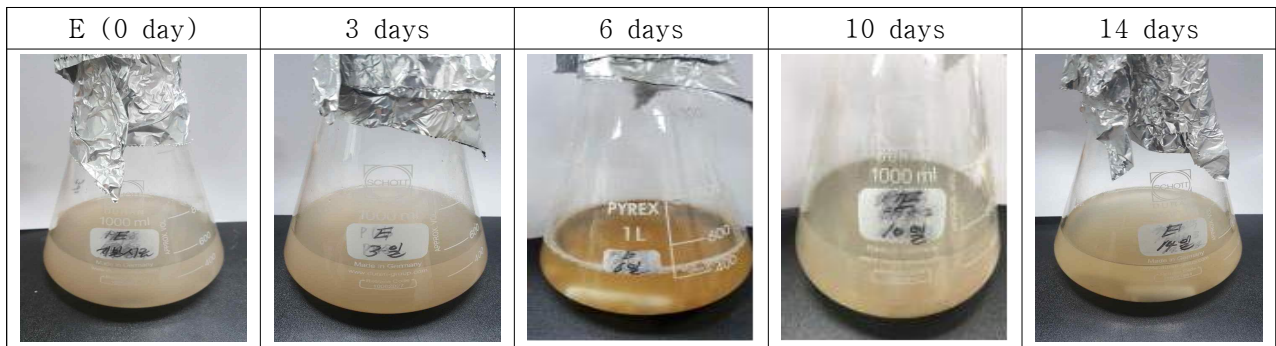
Means with different superscripts in the same column(A-O) and same row (a-d) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

*sugar : glucose = w/w

각 배양액의 초기 pH는 4.5였으나, 멸균 직후(0일)에는 모든 배양액에서 pH 4.5 미만의 산성이었는데, 포도당만 첨가된 배지('B', 'C' 및 'D')에서는 pH 3.91~3.99의 범위였으며, 설탕 또는 설탕과 포도당이 혼합된 배지에서는 pH 4.02~4.33의 범위로 포도당만 첨가된 배지에 비해 다소 높았다. 배양 초기(0일)에 비해 배양 6일 경과 후부터 배양액의 pH는 점차 산성화되는 경향이었는데, 특히 배양 6~10일경에 배지 'A', 'B', 'C', 'J' 및 'K'에서는 pH 4에서 pH 3으로 산성화되는 시점이었다. 반면에 배지 'F', 'H' 및 'I'에서는 배양 10~14일경에 pH 4에서 pH 3으로 산성화되는 경향이였다. 배양 14일 경과 후 모든 배지는 pH 3.04~3.83의 범위였으며, 설탕 및 포도

당의 함량에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다.





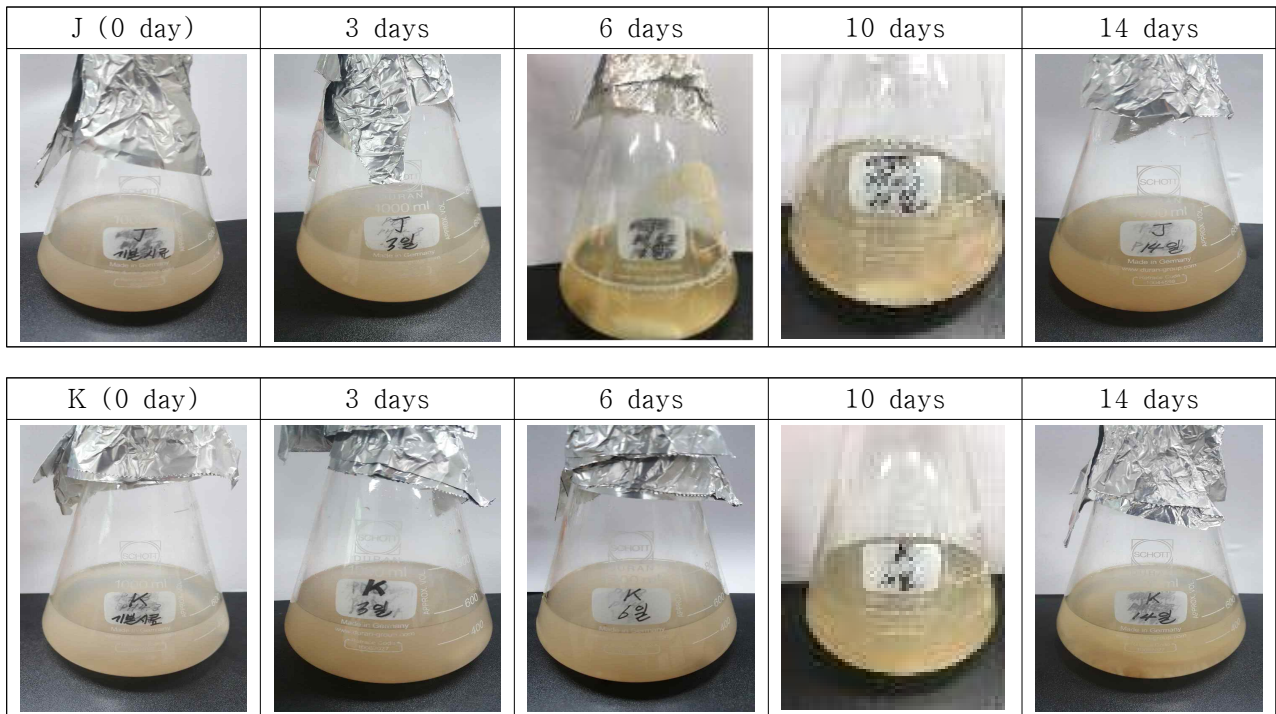


Fig. 17. Culture solution in the malt media for liquid spawn of *Sparassis crispa*.

(2) 옛기름 분말 첨가 및 당 함량을 달리한 꽃송이버섯 액체종균 배지의 건조 균체량

옛기름 분말을 0.3%로 함유하고 설탕과 포도당의 함량을 달리하여 첨가한 11가지 조건의 배지에서 배양 기간의 경과에 따른 배양액의 건조 균체량을 측정한 결과는 Table 46과 같다. 11가지 조건의 배지에서 건조 균체량은 배양 초기(0일)에 18.40~57.17 g/L의 범위로 각 배지에 첨가된 당의 함량에 따라 배양액의 균체량은 비례적으로 많았다. 배양 6일 경과 후 배지 'D', 'F', 'G', 'H', 'I', 'J' 및 'K'에서는 배양 3일에 비해 균체량이 증가되었으나, 배지 'D'를 제외하면 초기 함량과 유의차를 보이지는 않았다. 배지 'C'는 배양 10일 경과 후 배양 6일에 비해 유의적으로 증가되었다가 배양 14일 경과 후 다시 감소되었는데, 이는 배지 'D', 'G', 'H' 및 'J'에서 배양 6~10일에 나타난 현상과 유사한 경향이였다. 배양 14일 경과 후에 각 배양액의 균체량은 16.50~49.40 g/L의 범위로 당의 첨가량에 따른 차이는 보였으나, 당의 종류에 따른 유의차는 보이지 않았다.

Table 46. Mycelial growth of liquid spawn from *Sparassis crispa* on malt broth with different content of sugar and glucose

Code No. of media*	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
A (30:10)	57.17±0.51 ^{cE}	55.67±1.96 ^{cF}	45.33±2.14 ^{bF}	40.43±0.99 ^{aE}	45.20±1.56 ^{bFG}
B (0:20)	30.23±0.83 ^{cB}	30.57±1.71 ^{cC}	23.40±0.44 ^{aB}	27.27±0.55 ^{bC}	23.47±1.07 ^{aB}
C (0:30)	41.07±1.69 ^{bC}	42.53±1.11 ^{bE}	33.53±1.07 ^{aD}	53.53±1.70 ^{cG}	32.83±0.67 ^{aD}
D (0:40)	53.87±2.06 ^{cD}	44.10±1.47 ^{bE}	52.43±1.26 ^{dG}	40.97±1.47 ^{aE}	46.70±0.89 ^{cG}
E (10:0)	18.40±0.72 ^{dA}	15.40±1.15 ^{bA}	17.47±1.37 ^{cA}	13.07±0.65 ^{aA}	16.50±0.89 ^{bCA}
F (20:0)	31.07±0.78 ^{bB}	26.00±0.50 ^{aB}	29.47±1.72 ^{bC}	26.20±1.05 ^{aBC}	27.10±0.72 ^{aC}
G (35:0)	41.60±2.01 ^{bC}	42.13±0.80 ^{aE}	56.57±2.42 ^{bH}	40.93±0.67 ^{aE}	43.10±1.37 ^{aF}
H (40:0)	54.77±1.79 ^{cD}	43.57±0.78 ^{aE}	53.93±1.36 ^{cG}	45.83±3.48 ^{abF}	49.40±2.20 ^{bH}
I (10:10)	30.47±1.36 ^{cB}	25.73±1.11 ^{bB}	30.10±0.50 ^{cC}	23.93±0.06 ^{aB}	26.50±1.30 ^{bC}
J (20:10)	42.80±0.78 ^{dC}	29.97±0.31 ^{aC}	46.17±1.61 ^{dF}	34.03±1.46 ^{bD}	36.57±1.34 ^{cE}
K (10:20)	42.57±0.91 ^{dC}	33.10±0.72 ^{aD}	39.50±0.53 ^{cE}	34.00±1.14 ^{abD}	35.30±1.49 ^{bE}

All values are mean±SD (n=5)

Means with different superscripts in the same column(A-G) and same row (a-c) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

*sugar : glucose = w/w

(3) 옛기름 분말 첨가 및 당 함량을 달리한 꽃송이버섯 액체종균 배지의 흡광도

옛기름 분말 0.3%에 설탕과 포도당의 함량을 달리한 11가지 배지에서 배양 기간의 경과에 따른 배지의 균체량의 변화를 흡광도로 측정된 결과는 Table 47과 같다. 11가지 조건의 꽃송이버섯 액체종균 배지에서의 흡광도는 배양 초기(0일)에 0.68~0.94의 범위였는데, 배양 3일 후에는 당의 함량 및 종류에 따른 흡광도값의 차이가 없었으나, 배양 6일 후에는 모든 배양액에서 흡광도값의 증가현상을 보였다. 배양액 'B', 'C' 및 'K'에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 배양 10일 경과 후부터 배양액의 흡광도값이 증가되는 경향이었으며, 배양 14일 후에는 0.89~1.24의 범위로 배양액 'A'에서 가장 높은 값을 보였다. 배양액 'B' 및 'C'의 경우에는 배양 6일까지 유의적인 증가현상을 보이지 않았으나, 배양 10일경에 유의적으로 증가된 후 배양 14일까지 지속되었다.

Table 47. Mycelial growth of liquid spawn from *Sparassis crispa* on malt broth during its incubation periods at different pH condition

(Absorbance in 600 nm)

Code No. of media*	Incubation periods (days)				
	0	3	6	10	14
A (30:10)	0.92±0.04 ^{aCD}	0.88±0.02 ^{aDEF}	0.92±0.02 ^{ba}	1.25±0.01 ^{cf}	1.24±0.02 ^{ce}
B (0:20)	0.86±0.01 ^{aCD}	0.92±0.02 ^{aEFG}	0.95±0.02 ^{aA}	1.20±0.00 ^{cef}	1.07±0.06 ^{bBC}
C (0:30)	0.88±0.04 ^{aCD}	0.90±0.00 ^{aEF}	0.95±0.02 ^{aA}	1.11±0.01 ^{bd}	1.14±0.04 ^{bCD}
D (0:40)	0.94±0.03 ^{bd}	0.81±0.02 ^{aBC}	0.94±0.00 ^{ba}	0.90±0.06 ^{baB}	1.09±0.05 ^{cBCD}
E (10:0)	0.85±0.03 ^{aBCD}	0.82±0.03 ^{aBCD}	1.32±0.25 ^{bd}	1.19±0.04 ^{bEF}	1.25±0.05 ^{bE}
F (20:0)	0.85±0.04 ^{NSBCD}	0.98±0.11 ^G	0.97±0.04 ^A	1.03±0.03 ^C	1.07±0.01 ^{BC}
G (35:0)	0.75±0.03 ^{aAB}	0.86±0.00 ^{aCDE}	1.15±0.01 ^{bBC}	1.11±0.05 ^{bd}	0.89±0.01 ^{aA}
H (40:0)	0.68±0.15 ^{aA}	0.77±0.02 ^{aB}	0.98±0.01 ^{ba}	1.15±0.02 ^{cDE}	1.05±0.08 ^{bb}
I (10:10)	0.88±0.04 ^{aCD}	0.93±0.01 ^{aFG}	1.04±0.03 ^{ba}	0.96±0.03 ^{aB}	1.05±0.02 ^{bb}
J (20:10)	0.82±0.00 ^{bBC}	0.60±0.01 ^{aA}	1.20±0.01 ^{cCD}	1.11±0.09 ^{cd}	0.90±0.05 ^{ba}
K (10:20)	0.76±0.02 ^{aAB}	0.88±0.03 ^{aDEF}	0.89±0.01 ^{aA}	0.89±0.03 ^{aA}	1.16±0.01 ^{bd}

All values are mean±SD ($n=10$)

Means with different superscripts in the same column(A-H) and same row(a-d) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

*sugar : glucose = w/w

사. 꽃송이버섯의 액체종균 접종에 의한 생육 비교

꽃송이버섯의 액체종균을 톱밥이 함유된 1100 mL의 병에 17±3 mL를 접종한 후 30일간 배양시켰다. 배양이 완료된 후 배지 병의 뚜껑을 연 후 생육실에서 10일동안 생육시켰을 때 자실체가 배지병의 외부로 나오는 것을 관찰할 수 있었다. 15~20일간 생육시킨 후에는 꽃송이버섯 고유의 자실체 형태를 관찰할 수 있었으며, 25~30일간 생육한 후에 꽃송이버섯의 수확이 가능하였다(Fig. 16). 꽃송이버섯은 고체종균을 사용하거나 액체종균을 사용하여 재배되고 있는데, 기존에 액체종균으로 재배되고 있는 꽃송이버섯의 경우에도 배양기간은 40~45일 정도 소요되는 것으로 알려져 있다. 따라서 본연구에서 개발된 엿기름 배양액은 기존의 액체종균에 비해 배양기간의 단축에 효과적인 것으로 판단된다.

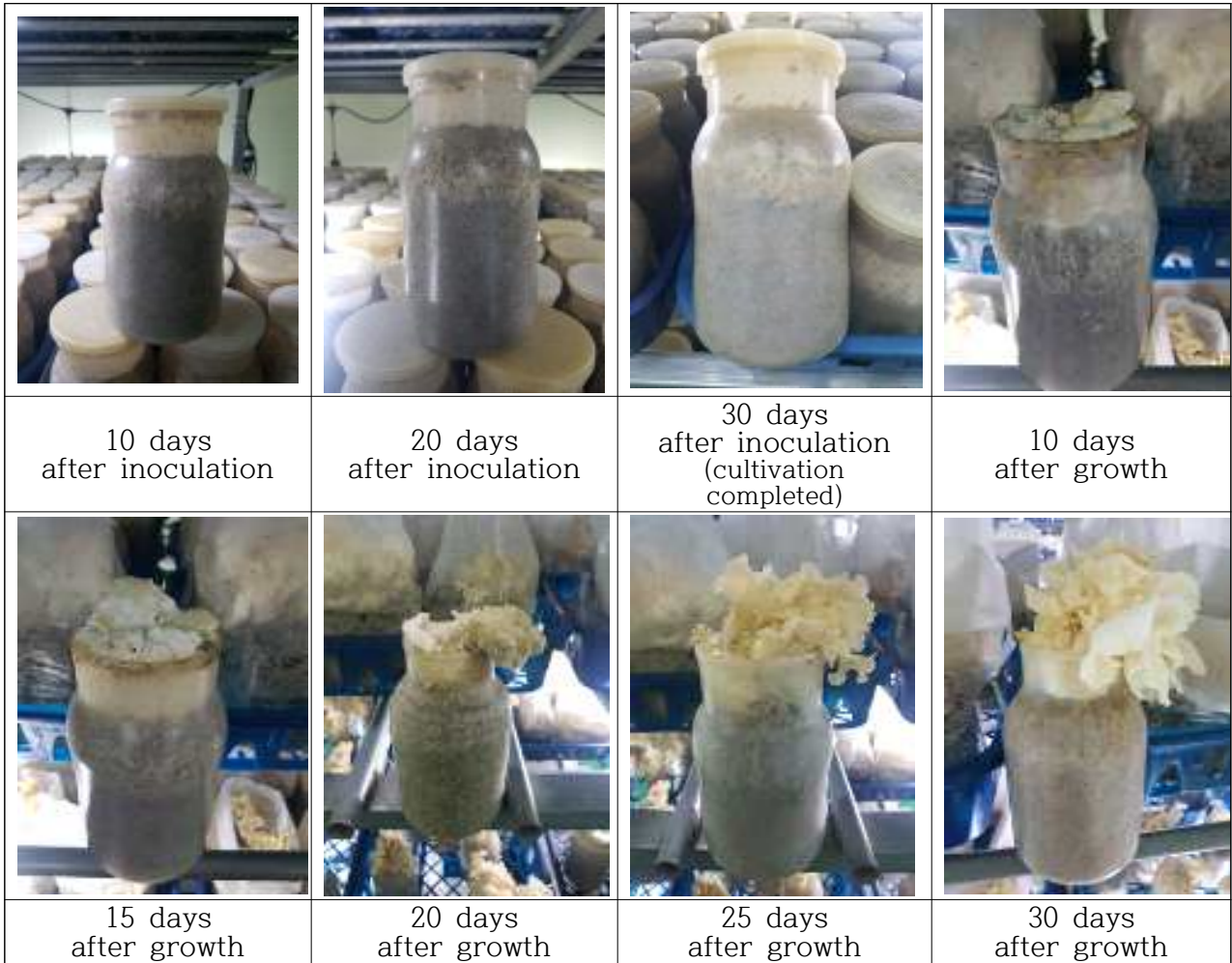


Fig. 16. Comparison of growth of *Sparassis crispa* during cultivation and growth periods.

아. 표고버섯과 꽃송이버섯의 액체종균 배양 및 오염도 평가

표고버섯과 꽃송이버섯 액체종균의 제조 및 버섯 균체의 배양 및 생육 과정에서 실험실, 입봉실, 생육실 및 저장고 등의 안전성 확보를 위하여 타 미생물의 오염정도를 측정하였다. 패트리디쉬를 사용하여 PDA배지, Nutrient agar (NA) 배지를 제조하여 액체종균의 배양에 따른 오염도 평가, 현미경 검경을 통해 종균의 오염도를 확인하였으며, 실험 전 기간동안 배양실, 실험실, 입봉실, 생육실 및 저장고 등의 오염도 평가는 상기 배지의 디쉬에서 뚜껑을 열어둔 채로 12시간 이상 정치시켜 공중 낙하균에 의한 오염도를 평가하였다.

표고버섯과 꽃송이버섯 액체종균 배양액의 오염도는 Table 48에 나타난 바와 같이, PDA배지 및 NA배지 상에서 어떠한 오염도 발생되지 않았다. 배양 기간동안 공기 오염정도는 1차 오염도 측정에서 액체종균의 배양 및 실험이 진행되기 전후와 진행되는 기간 중 배양실, 실험실, 예냉실 및 접종실의 오염도를 측정한 결과 모든 장소에서 오염이 발생되지 않았다. 2차 및 3차 연속 실험에서도 모든 장소에서 오염이 발견되지 않았다. 4차 실험에서는 실험 시작 7일 경과 후 접종실에서 미약한 오염이 발견되었는데, 이는 여름철 날씨로 인한 과도한 습도에 기인된 것으로 추

정된다. 액체종균의 제조 및 배양과정에서 실험실 및 배양실의 추가적인 오염은 없었기 때문에 액체종균의 제조 및 생산에 따른 오염은 문제시 되지 않는 것으로 판단된다. 특히 접종실에서 오염은 톱밥배지의 사용 및 기계화에 의한 액체종균의 접종, 접종 후 배양실로 이동 등 실험실이나 배양실에 비해 작업자의 활동이 많았기 때문이라 추정된다.

최근 보고에 따르면 표고버섯의 재배사 내의 공기 중에는 다양한 미생물이 존재한다고 보고되어져 있다(Ahn HS et al., 2017; Kim JY et al., 2014). 분리된 균류 중에는 인체에 유해한 여러 세균 종들이 동정된 바 있으며, 재배사 내 부유세균 농도는 환경부의 다중이용시설 실내 공기 질의 유지 기준인 800 cfu/m³가 넘는 재배사도 다수인 것으로 알려져 있다. 정부는 국내의 실내 공기질 관리의 선진화를 위해 2018년 부유진균의 오염 농도 또한 세계보건기구 수준인 500 cfu/m³ 수준에서 관리하도록 권고기준을 규정한 바 있다(Ahn GR et al., 2018).

따라서 기온의 상승과 습도를 고려할 때 재배사의 진균 농도도 모니터링되어야 할 것으로 여겨진다. 또한 인체나 버섯재배에 피해를 줄 수 있는 국내에 기록되지 않은 진균 종이 출현하는지에 대한 연구도 병행되어야 기후 변화에 따른 표고버섯 재배환경의 변화에 대응할 수 있을 것으로 생각된다.

우리나라 및 일본에서 종균 및 원균의 관리는 주로 버섯 관련 연구소에서 연구용 균주를 상온 및 저온(4°C), 초저온(-80°C), 및 액체질소 시스템(-196°C) 등으로 균주를 보존할 수 있는 시스템 모두를 적용하고 있으며, 종균회사, 배양센터, 재배농가 등에 균주를 분양하거나 위탁보존은 하고 있지 않는 실정이다(서건식과 김민경, 2015).

또한 일본 대부분의 연구소에서 원균은 -80°C에서 보존되고 있으며, ‘후지종균’, ‘모리산업’, ‘훗켄’ 등의 대형 종균회사에서는 액체질소(-196°C)에 원균을 보존하고 있는 것으로 알려져 있다. 우리나라는 대부분이 버섯관련 연구소, 종균회사, 배양센터 등 버섯균주를 사용하는 기관에서 모두 4°C 저온저장법을 이용하고 있는 실정이며, 일부 연구소에서 -80°C 및 -196°C에서 저장 보존하는 경우도 있다.

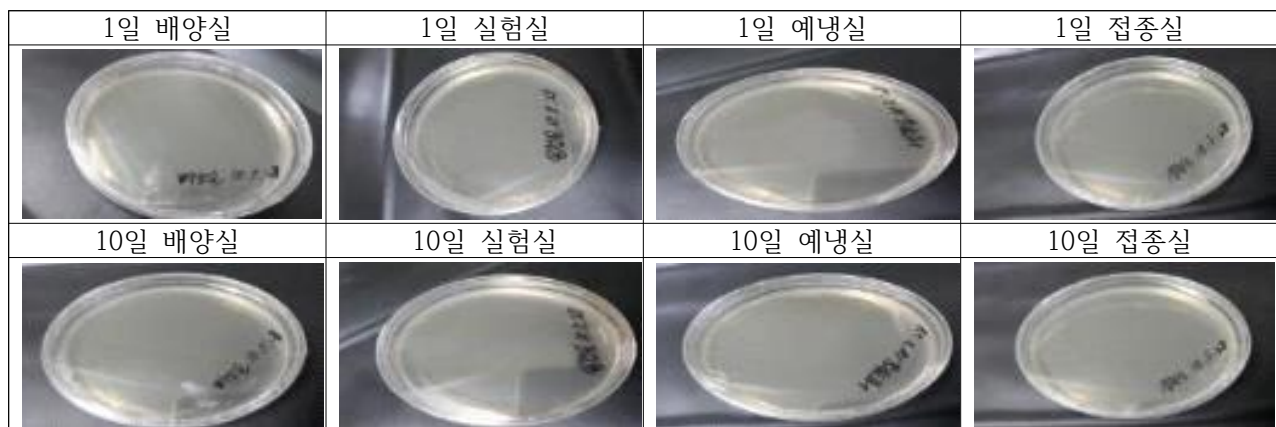
대부분의 종균은 구입되어 최대 1회 확대 배양하여 사용하는 것이 보편적이며, 배양센터 및 재배농가에서는 종균 및 접종원을 자체적으로 배양하는 경우가 없으며, 종균 배양 전문 기관으로부터 종균을 구입하여 확대배양하여 사용하거나, 최근에서 농가에서 종균이 접종된 배지를 구입하여 농가에서 버섯을 재배하는 경우도 증가되고 있는 실정이다.

Table 48. Assessment of microbiological contamination at different sites due to liquid spawn cultivation for *Lentinula edodes* and *Sparassis crispa*

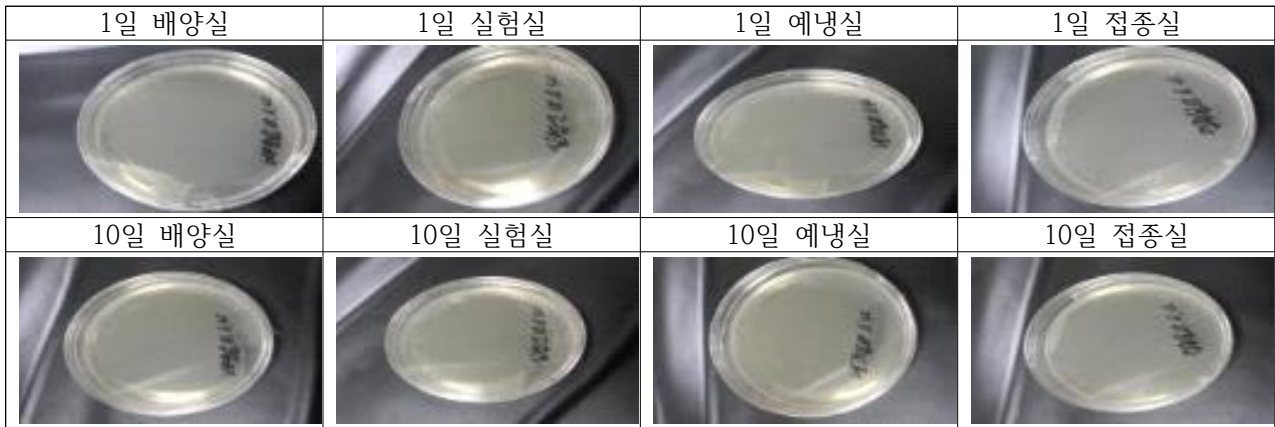
	Culture room	Laboratory	Pre-cooling room	Inoculation room
Liquid spawn for <i>Lentinula edodes</i>				
PDA medium	ND	ND	ND	ND
NA medium	ND	ND	ND	ND
Confirmation by microscopy	ND	ND	ND	ND
Liquid spawn for <i>Sparassis crispa</i>				
PDA medium	ND	ND	ND	ND
NA medium	ND	ND	ND	ND
Confirmation by microscopy	ND	ND	ND	ND

All values are mean±SD (n=10)

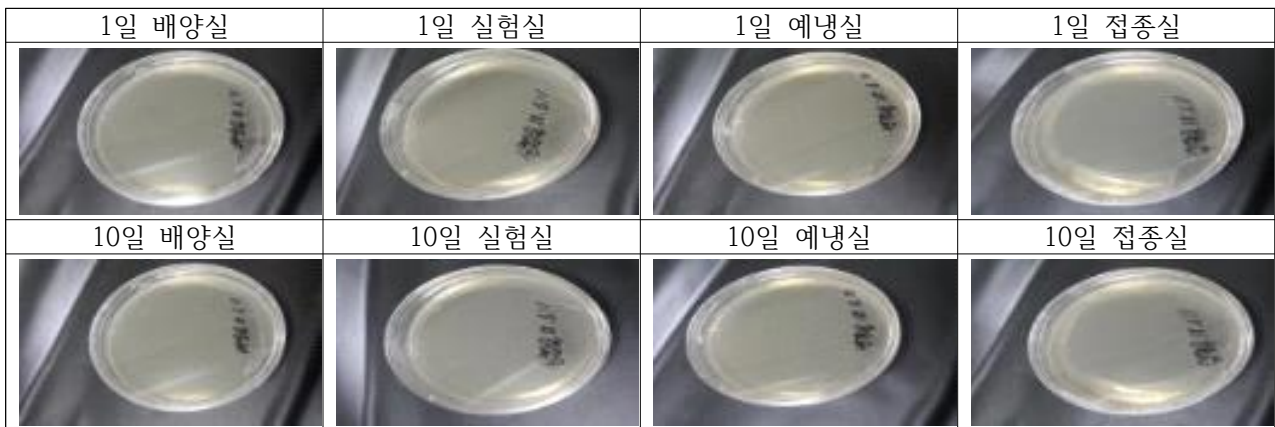
▶ 1차 실험 : 2018. 5. 28. ~ 2018. 6. 6. (오염 없음)



▶ 2차 실험 : 2018. 6. 4. ~ 2018. 6. 13. (오염 없음)



▶ 3차 실험 : 2018. 6. 11. ~ 2018. 6. 20. (오염 없음)



▶ 4차 실험 : 2018. 6. 18. ~ 2018. 6. 27. (접종실에서 7일째에 미약한 오염 발생됨)

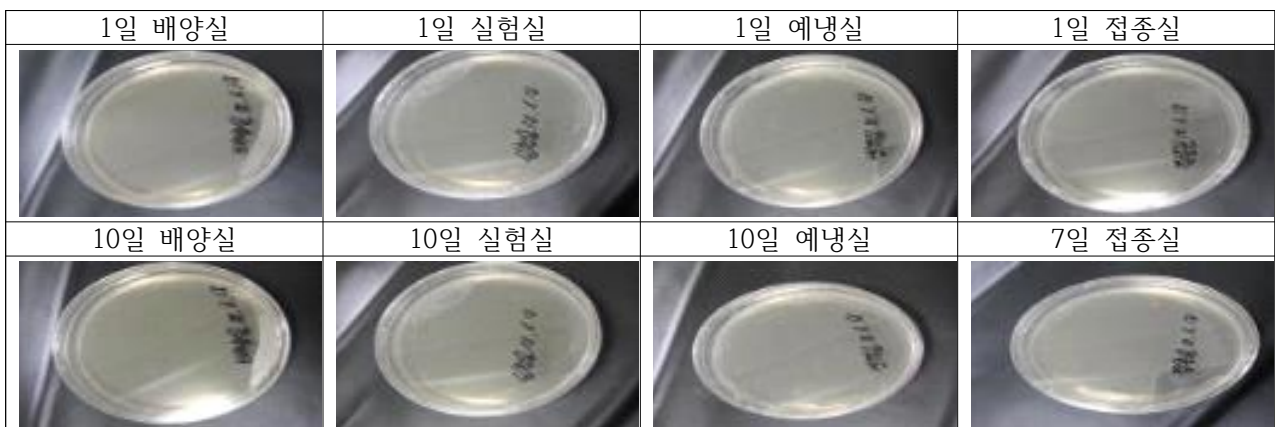


Fig. 17. Evaluation of pollution degree by the production of liquid spawn and mushroom growth.

제 4절 액체종균 및 고체종균에 의한 표고버섯 및 꽃송이버섯의 품질 특성 및 생리활성 비교

1. 주요 결과

- ◆ 본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯(‘추제2호’)을 수확주기에 따라 품질특성 및 생리활성을 비교하였다.
 - 표고버섯의 일반성분은 수확주기에 따라 두드러진 차이를 보이지 않았음. 무기물은 총 8종이 검출되었으며, 무기물의 총량은 갓에서 443.37~505.17 mg/100 g, 대에서 442.17~458.88 mg/100 g으로 비슷한 경향이었으며, 수확주기에 따른 두드러진 차이는 보이지 않았음.
 - 버섯의 수확주기별로 갓과 대에서 구성아미노산 함량은 수확주기가 경과됨에 따라 감소되는 경향이었으나, 부위에 따른 두드러진 차이는 없었음. 필수아미노산 함량도 수확주기가 경과됨에 따라 감소되는 경향이었음. 반면 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 18.36~20.70%의 범위로 수확주기 및 버섯의 부위에 따른 두드러진 차이를 보이지는 않았음. 버섯의 갓과 대에서 유리아미노산 함량은 수확주기가 경과됨에 따라 감소되는 경향이었으며, 갓이 대에 비해 다소 높은 함량이었음.
 - 총당 함량은 수확주기에 따른 유의적인 차이가 없었으며, 환원당 함량은 1주기 버섯에서 가장 낮았으며, 2~3주기 버섯은 유의적으로 증가된 경향이었음. β -Glucan 함량은 1주기 버섯에서 2~3주기 버섯에 비해 유의적으로 높은 함량이었음.
 - 총 페놀 함량은 1주기 버섯에서 유의적으로 높았으며, 수확주기가 길어질수록 감소되는 경향이 있었으며, 플라보노이드 함량은 1~2주기 버섯에서 3주기 버섯에 비해 유의적으로 높은 함량이었음. 항산화 활성은 갓이 대에 비해 다소 높은 활성을 보였으며, 수확주기가 경과될수록 감소되는 경향이었음.
- ◆ 본 연구과제를 통해 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯(‘추제2호’)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯의 품질특성 및 생리활성을 비교하였다.
 - 색도는 액체종균으로 생산된 버섯과 시판 버섯 간에 두드러진 차이를 보이지 않았음.
 - 조직감에서는 경도(hardness), 탄성(springness) 및 검성(gumminess)에서 액체종균으로 생산된 버섯이 시판 버섯에 비해 유의적으로 높았음.
 - 표고버섯의 일반성분 중 회분, 조지방 및 조단백질 함량이 액체종균으로 생산된 버섯에서 유의적으로 높았음. 무기물, 구성아미노산 및 유리아미노산 함량은 액체종균으로 생산된 버섯과 시판 버섯간에 대차를 보이지 않았음. 총 유리아미노산에 대한 aspartic acid와 glutamic acid의 함량비는 시판 버섯에 비해 액체종균으로 생산된 버섯에서 월등히 높았음.
 - β -Glucan 함량은 액체종균으로 생산된 버섯이 12.46%였으며, 시판 버섯은 10.28~15.68%범위였음. 총 페놀 함량은 액체종균으로 생산된 버섯에서 22.06 mg/100 g, 시판 버섯은

19.92~30.77 mg/100 g이었으며, 플라보노이드 함량은 액체종균으로 생산된 버섯이 7.95 mg/100 g, 시판버섯은 6.95~10.39 mg/100 g이었음.

- 항산화 활성은 액체종균으로 생산된 버섯의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 시판 버섯과 유사한 경향이었으며, 환원력은 액체종균으로 생산된 버섯에서 시판 버섯에 비해 유의적으로 높았음.

◆ 본 연구과제를 통해 개발된 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯과 시판 버섯의 품질특성 및 생리활성을 비교하고자 하였다.

- 꽃송이버섯의 일반성분 함량은 시판 버섯과 차이가 없었음. 무기물 함량은 액체종균으로 생산된 버섯에서 205.92 mg/100 g이었으며, 시판 버섯은 188.29~216.65 mg/100 g이었음.
- 구성아미노산 및 유리아미노산 함량은 액체종균으로 생산된 버섯과 시판 꽃송이버섯과 유사한 함량이었으며, 필수아미노산 함량이 액체종균으로 생산된 버섯에서 다소 높았음.
- 총당 및 환원당 함량은 액체종균으로 생산된 버섯에서 각각 163.31 mg/100 g 및 71.13 mg/100 g이었는데, 시판 버섯에서는 각각 115.84~174.51 mg/100 g 및 69.46~74.91 mg/100 g이었음. Total glucan, α - 및 β -glucan 함량은 액체종균으로 생산된 버섯이 시판 버섯에 비해 유의적으로 높았음. 총 페놀 함량은 액체종균으로 생산된 버섯에서 시판 버섯에 비해 유의적으로 낮았으나, 플라보노이드 함량은 시료간에 유의차가 없었음.
- 항산화 활성(DPPH, ABTS 소거활성 및 환원력)은 액체종균으로 생산된 버섯이 시판 버섯에 비해 유의적으로 높은 활성을 보였음.

2. 재료 및 방법

(1) 실험재료

개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯과 꽃송이버섯의 품질특성을 시판 버섯과 비교하고자 하였다. 액체종균으로 생산된 버섯은 (주)귀담버섯에서 시험재배한 것을 사용하였으며, 시판 버섯은 고체종균으로 배양된 것을 지역 내 시장에서 구입하였다.

액체종균으로 생산된 표고버섯의 배지에 대한 수확 주기별로 구분한 시료는 Fig. 18과 같다. 톱밥배지에서 표고버섯 액체종균의 배양이 완료된 후 생육실(온도, 7~17°C; 습도, 60~70%)에서 13~15일간 생육시켜 수확된 것을 1주기 버섯으로 하였으며, 10일간의 휴지기(온도, 15~16°C; 습도, 40~500%)를 유지한 후 배지를 24시간 침수시킨 다음 2차 생육된 버섯을 2주기 버섯으로 하였으며, 이를 반복하여 3주기 버섯을 수확하였다. 5종의 시판 표고버섯은 Fig. 19에 나타낸 바와 같으며, 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯과 시판 꽃송이버섯은 Fig. 20과 같다.

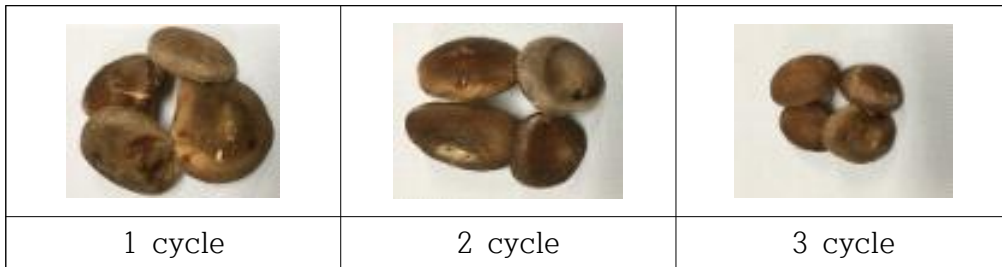


Fig. 18. Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) cultivated with liquid spawn according to the harvest interval.

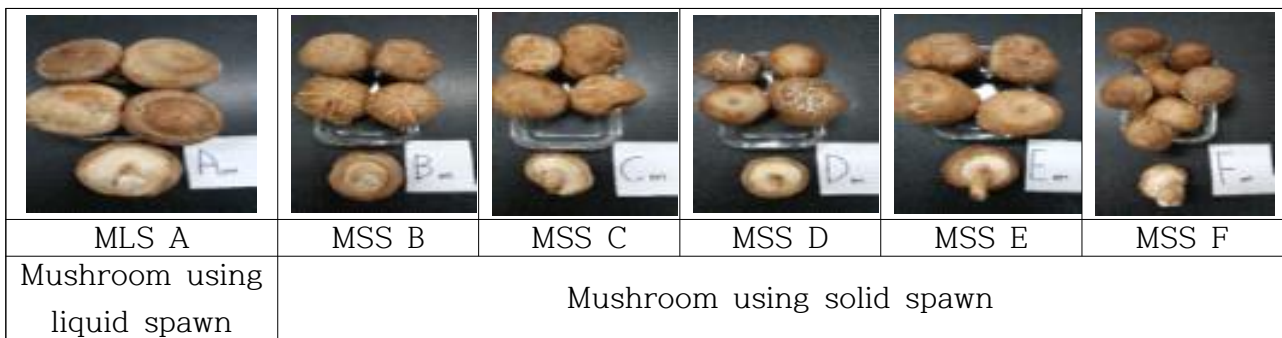


Fig. 19. Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially.

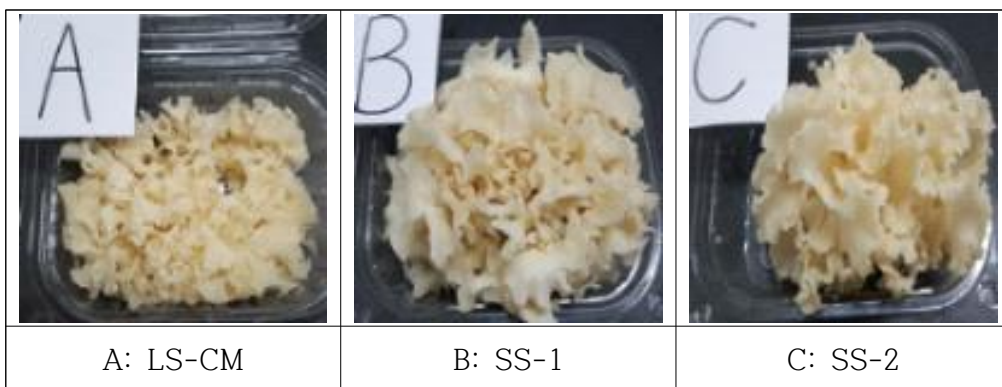


Fig. 20. Cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially.

LS-CM: cauliflower mushroom(*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn

SS-1, SS-2: Marketed cauliflower mushroom cultivated with solid spawn.

(2) 실험방법

1) 시료의 처리 및 추출

표고버섯 및 꽃송이버섯은 신선한 상태에서 마쇄하여 -40°C 에 보관해 두고 실험에 사용하였다. 버섯 추출물은 마쇄된 시료 20 g에 80% 메탄올을 가하여 100 mL로 만들어 초음파 추출기를 사용하여 10분간 2회 연속 추출한 다음 실온에서 6시간 추출하여 여과한 것을 일정농도로 조정하여 항산화 활성 측정용 시료로 사용하였다.

2) 색도 측정

시료의 색도는 표고버섯을 갓과 대를 구분하여 색차계(CR 301, Minolta Co., Osaka, Japan)로 측정하였다. 이때 표준색판의 L값은 96.94, a값은 0.66, b값은 0.51이었다.

3) 조직감 측정

표고버섯의 대 부위를 사용하여 일정한 크기($1\times 1\times 1$ cm)로 자른 후 texture meter(TA-XT2, Stable Micro Systems Ltd., England)로 측정하였다. 경도(hardness), 점착성(adhesiveness), 탄력성(springiness), 겹성(gumminess), 씹힘성(cohesiveness), 복원성(resilience)을 10회 이상 측정하여 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 분석 조건으로 probe는 50 mm stainless cylinder를 사용하였으며, pre-test speed 1.0 mm/s, test speed 1.0 mm/s, post-test speed 1.0 mm/s, trigger force 5.0 g, test distance 5.0 mm로 하였다.

4) 일반성분 분석

표고버섯 및 꽃송이버섯의 일반성분으로 수분 함량은 105°C 상압가열 건조법, 회분은 550°C 직접회화법, 조지방은 soxhlet법 및 조단백질 함량은 semimicro-Kjeldahl법으로 분석하였다. 탄수화물의 함량은 100에서 수분, 회분, 조지방 및 조단백질 함량을 뺀 값으로 계산하였다.

5) 무기물 정량

표고버섯 및 꽃송이버섯의 무기물은 시료 1 g에 진한 황산과 질산을 각각 10 mL씩 가하여 hot plate상에서 완전 분해시킨 다음 증류수로 희석하여 Inductively Coupled Plasma (ICP, Optima 3300 DV, Perkin-Elmer Co., Melville, NY, USA)로 분석하였다.

6) 구성아미노산 및 유리아미노산 정량

표고버섯 및 꽃송이버섯의 구성아미노산은 분해용 시험관에 0.5 g을 취하고 6 N HCl 3 mL를 혼합한 다음 7분간 질소가스를 충전시킨 후 110°C heating block에서 24시간 분해한 후 여과하여 농축하였으며, 이를 pH 2.2 sodium citrate 완충용액으로 10 mL로 정용한 후 0.2 μm membrane filter와 sep-pak C₁₈ cartridge에 여과시켜 아미노산 자동분석기(Amino acid analyzer 835, Hitachi, Tokyo, Japan)로 분석하였다.

유리아미노산은 시료 2 g에 에탄올 50 mL를 가하여 균질화하여 여과한 후 잔사에 다시 에탄올 50 mL를 가한 다음 여과한 후 남은 잔사에 80% 에탄올 50 mL를 가하여 동일하게 처리한

후 여과하였다. 여액을 모두 모아 농축시킨 다음 pH 2.2 lithium citrate 완충용액으로 10 mL로 정용하여 0.2 μ m membrane filter와 sep-pak C18 cartridge 에 여과시켜 아미노산 자동 분석기(Amino acid analyzer 835)로 분석하였다.

7) 총당 및 환원당 정량

표고버섯 및 꽃송이버섯의 총당 및 환원당 정량을 위해 시료를 증류수로 1% 농도로 추출한 여과액을 사용하였다. 총당은 phenol-H₂SO₄법(Dubois et al., 1956)에 따라 여과액 1 mL에 5% phenol 시약 1 mL와 H₂SO₄ 5 mL를 각각 첨가하여 실온에서 30분간 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원당은 DNS법(Miller, 1959)에 따라 여과액 1 mL에 DNS시약 3 mL를 가하여 100°C의 끓는 물에서 10분간 가열하고 냉각한 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 glucose(Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA)를 이용하여 동일하게 수행하여 얻은 표준 검량선에 의하여 시료의 총당 및 환원당 함량을 계산하였다.

8) β -Glucan 함량 측정

표고버섯 및 꽃송이버섯의 β -glucan 함량은 Megazyme kit (Mushroom and Yeast β -glucan Assay Procedure K-TBGL, Co. Wicklow, Bray, Ireland)을 이용하여 시료 100 mg에 37% HCl 1.5 mL를 넣고 30°C water bath에서 45분간 교반한 후 3차 증류수 10 mL를 가하고 100°C water bath에서 다시 2시간 교반하였다. 이 반응액을 상온에서 식힌 후 2N KOH 10 mL를 가하여 혼합하였다. 이 혼합물에 0.2M sodium acetate buffer (pH 5.0)를 가하여 100 mL로 정량한 후 원심분리 (1,500 \times g, 10분)하여 상등액을 얻었다. 상등액 0.1 mL에 exo-1,3- β -glucan (20 U/mL)+ β -glu-cosidase (4 U/mL) 용액 0.1 mL를 가하고 40°C water bath에서 60분간 반응시켰다. 이 반응액에 GOPOD (glucose oxi-dase/peroxidase, Megazyme) 시약 3 mL를 넣고 40°C에서 20분간 반응시킨 후 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 total glucan 함량의 계산에 사용하였다. 또한 시료 100 mg에 2N KOH 2 mL를 넣고 ice water bath에서 20분간 교반하였다. 이 반응액에 1.2 M sodium acetate buffer (pH 3.8) 8 mL와 amyloglucosidase 용액 0.2 mL를 가하고 40°C water bath에서 30분간 교반한 후 원심분리 (1,500 \times g, 10분)하여 상등액을 얻었다. 상등액 0.1 mL에 0.2 M sodium acetate buffer (pH 5.0) 0.1 mL와 GOPOD 시약 3 mL를 넣고 40°C에서 20분간 반응시킨 후 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 α -glucan 함량의 계산에 사용하였다. 측정된 total glucan과 α -glucan의 흡광도는 표준물질인 glucose 용액 (1 mg/mL)을 GOPOD 시약과 반응시킨 반응액의 흡광도를 이용하여 각각 함량(% w/w)값으로 계산하였다. β -Glucan 함량은 total glucan 함량에서 α -glucan 함량을 뺀 값으로 계산하였다.

9) 갈색물질 함량 측정

표고버섯의 80% 메탄올 추출액 중 갈색물질 함량은 UV-visible spectrophotometer

(U-2900, HITACHI, Tokyo, Japan)로 280 nm 및 420 nm에서 80% 메탄올을 대조로 하여 각각 측정하여 흡광도 값으로 나타내었다.

10) 총 페놀 및 플라보노이드 함량 측정

총 페놀 함량은 표고버섯 및 꽃송이버섯의 80% 추출액 1 mL에 동량의 Folin-ciocalteu 시약 및 10% Na₂CO₃용액을 차례로 가한 다음 실온의 암실에서 1시간 반응시킨 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다(Gutfinger T, 1981). 플라보노이드 함량은 상기의 추출액 1 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가한 후 실온의 암실에서 40분간 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다(Moreno MIN et al, 2000). 총 페놀 및 플라보노이드 정량은 표준물질로 각각 gallic acid 및 quercetin (Sigma-Aldrich Co.)을 사용하여 얻은 표준검량선으로부터 산출하였다.

11) 항산화 활성 측정

표고버섯 및 꽃송이버섯의 항산화 활성은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ABTS [2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) 라디칼 소거활성 및 환원력으로 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 5 mg/100 mL 메탄올에 용해한 DPPH 용액에 동량의 시료를 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다(Blois MS, 1958). ABTS 라디칼 소거활성은 7 mM ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시켜 냉암소에서 12~16시간 반응시킨 다음 414 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 희석한 것을 ABTS 기질용액으로 사용하였으며, 이 용액 100 µL에 시료 추출물을 50 µL 가하여 실온에서 5분간 반응시켜 414 nm에서 흡광도를 측정하였다(Re R et al, 1999). 각 라디칼의 소거활성(%)은 $[1 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$ 으로 계산하였다.

환원력은 FRAP (ferric-reducing antioxidant potential ability)에 따라 시료 추출액 40 µL, 증류수 40 µL, FRAP 기질용액 100 µL를 차례로 혼합하여 37°C에서 4분간 반응시켜 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, FeSO₄·7H₂O를 표준물질로 하여 작성한 검량선에 의해 계산하였다. 이때 FRAP 기질용액은 pH 3.6의 300 mM acetate 완충용액, 10 mM TPTZ-40 mM HCl 용액, 20 mM ferric chloride를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합한 후 37°C water bath에서 5분간 반응시킨 것을 사용하였다(Benzie & Strain, 1996). 또한 흡광도법에 따라 시료액 1 mL에 인산 완충액(200 mM, pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide용액 각 1 mL를 차례로 가한 다음 50°C의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA용액 1 mL를 가하여 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었으며, 여기에 동량의 증류수 및 ferric chloride 용액을 차례로 가하여 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 환원력은 700 nm에서 흡광도 값으로 나타내었다(Oyaizu M, 1986).

3. 연구 결과

가. 액체종균으로 생산된 표고버섯의 수확주기에 따른 품질특성 및 생리활성 비교

본 연구과제를 통해 개발된 표고버섯 액체종균으로 생산된 ‘추제2호’ 품종을 대상으로 톱밥배지에서 수확주기에 따라 수확된 버섯의 품질특성 및 생리활성을 비교하였다.

1) 수확주기별 표고버섯의 일반성분

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯(‘추제2호’)을 수확주기별로 구분하여 일반성분의 함량을 비교한 결과는 Table 49와 같다. 각 수확주기에 따른 표고버섯의 수분 함량은 88.05~88.19%로 수확주기에 따른 유의차를 보이지 않았다. 회분 및 탄수화물 함량은 1주기에 비해 2~3주기 버섯에서 유의적으로 많았으며, 조지방 함량은 1주기 버섯에서 유의적으로 많았다. 조단백질 함량은 2주기 버섯에서 유의적으로 낮은 함량이었다. 수분을 제외한 일반성분의 함량은 수확주기에 따라 유의차가 있었으나, 시료간에는 대차가 없었다.

표고버섯 5품종에 대한 일반성분 함량은 수분, 조지방 및 조섬유 함량에서 품종간에 대차를 보이지 않았으나, 가용성 무질소물, 회분 및 조단백질 함량은 시료간에 유의적인 차이가 있었다고 보고되어 있다(Kim KJ et al., 2017).

본 연구에서 표고버섯의 수확주기에 따른 일반성분의 함량에 대차를 보이지 않은 것은 배지가 동일하기 때문인 것으로 해석된다. 또한 1주기 버섯의 수확 후 충분한 휴지기를 거치면서, 배지 중 수분의 보충이 충분하게 이루어진 결과라 사료된다.

Table 49. Proximate composition of *Lentinula edodes* according to harvest interval

	Moisture	Ash	Crude lipids	Crude protein	Carbohydrate
1 cycle	88.19±0.11 ^{NS}	1.21±0.08 ^A	0.37±0.02 ^B	3.92±0.33 ^B	6.32±0.38 ^A
2 cycle	88.05±0.50	1.34±0.04 ^B	0.23±0.02 ^A	3.12±0.06 ^A	7.27±0.44 ^B
3 cycle	88.15±0.51	1.40±0.06 ^B	0.26±0.01 ^A	3.59±0.16 ^B	6.60±0.42 ^{AB}

All values are mean±SD (n=3)

^{A-B}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Carbohydrate=100 - (moisture+ash+crude lipids+crude protein).

NS; not significant

2) 수확주기별 표고버섯의 무기물 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯(‘추제2호’)을 수확주기별로 구분하여 버섯의 갓과 대 부위에서 무기물 함량을 비교한 결과는 Table 50과 같다. 무기물은 총 8종이 검출되었으며, 무기물의 총량은 갓에서 443.37~505.17 mg/100 g, 대에서 442.17~458.88 mg/100 g으로 비슷한 경향이였다.

갓에서는 2주기 버섯이 유의적으로 높은 함량이였으나, 대부위에서는 수확주기에 따른 유의차를 보이지 않았다. 버섯의 무기물은 칼륨(K)의 함량이 가장 많았으며, 다음으로 인(P)이었다. 그 외 무기물은 40 mg/100 g 미만의 함량으로 칼슘(Ca)은 갓에서 34.72~35.04 mg/100 g, 대에서는 32.32~32.81 mg/100 g으로 버섯의 갓부위에서 다소 높은 함량이였으며, 수확주기에 따른 두드러진 차이는 보이지 않았다.

Table 50. Mineral contents of *Lentinula edodes* according to harvest interval

(mg/100 g)

	Pileus			Stipe		
	1 cycle	2 cycle	3 cycle	1 cycle	2 cycle	3 cycle
K	222.30±6.71	256.60±4.20	239.40±5.61	229.37±1.42	213.70±10.14	234.70±3.75
Ca	34.72±0.64	35.03±0.39	35.04±0.41	32.81±0.96	32.57±0.83	32.32±0.49
Mg	22.07±0.33	24.52±0.20	22.31±0.25	24.84±0.60	24.32±0.49	25.41±0.17
Na	24.40±0.15	22.18±0.26	16.55±0.18	19.94±0.39	19.89±0.55	19.12±0.17
Fe	0.30±0.01	0.37±0.04	0.27±0.01	0.25±0.00	0.29±0.01	0.25±0.00
Mn	8.08±0.43	4.88±0.18	4.33±0.07	4.44±0.03	6.27±0.18	4.23±0.04
Al	2.77±0.05	2.42±0.09	2.04±0.07	1.22±0.02	2.50±0.09	1.15±0.03
P	128.63±2.97	159.17±0.23	129.07±1.27	146.00±0.50	142.63±5.26	140.33±1.86
Total	443.37±10.02 ^A	505.17±4.56 ^B	449.00±6.24 ^A	458.88±3.67 ^{NS}	442.17±17.08	457.51±5.51

All values are mean±SD (n=3)

^{A-B}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

NS; not significant

표고버섯을 수확주기에 따라 무기물을 분석한 결과에서 인(P)의 함량이 가장 많았고 다음으로 칼륨(K)의 순이었으며, 무기물의 함량은 배양 초기에 비해 성숙될수록 감소되는 경향이였으며, 칼륨, 나트륨 및 마그네슘 함량이 버섯의 갓에서 대에 비해 더 많았으나, 대차는 아니었다(Cho

DB et al., 2002). 본 연구에서 표고버섯의 무기물은 칼륨(K)이 가장 많아 상기의 보고와 다소 차이를 보였는데, 이는 버섯의 배양 및 생육에 이용된 배지에 의한 영향이라고 생각된다.

3) 수확주기별 표고버섯의 구성아미노산 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯('추제2호')을 수확주기별로 구분하여 버섯의 갓과 대 부위의 구성아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 51과 같다. 총 구성아미노산 함량은 갓에서 3886.73~4568.62 mg/100 g(평균 4161.21 mg/100 g)이었으며, 대에서는 3725.49~4815.46 mg/100 g(평균 4265.60 mg/100 g)으로 버섯의 수확주기별로 갓과 대에서 구성아미노산 함량은 수확주기가 경과됨에 따라 감소되는 경향이었으나, 부위에 따른 두드러진 차이는 없었다. 필수아미노산 함량도 수확주기가 경과됨에 따라 감소되는 경향이었으며, 1~2주기 버섯에서는 갓에 비해 대에서 높은 함량이었으나, 3주기 버섯에서는 갓에서 필수아미노산 함량이 더 많았다. 반면에 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 18.36~20.70%의 범위로 수확주기 및 버섯의 부위에 따른 두드러진 차이를 보이지는 않았다.

표고버섯의 구성아미노산 중 ammonium chloride의 함량이 가장 많았다. 다음으로는 glutamic acid, phenylalanine이었다. 반면에 함황아미노산인 cystine의 함량이 가장 적었으며, 이 또한 수확주기에 따라 감소되는 경향이였다. 버섯의 맛성분과 관련된 주요 아미노산인 aspartic acid 및 glutamic acid는 수확주기에 따라 감소되는 경향이였으며, 갓은 대에 비해서는 다소 많은 함량이었다.

표고버섯은 우리나라뿐만 아니라 중국, 일본에서도 가장 많이 이용되는 버섯 중의 하나로써 탄수화물, 단백질, 무기질, 및 각종 필수아미노산을 비롯한 영양성분을 골고루 함유하고 있으며 독특한 향과 맛을 가지고 있다(Hong JS et al., 1988; Yim SB et al., 1991). 표고버섯의 주요 구성아미노산으로는 해독작용, 뇌 진정효과 및 당과 지질대사에 도움이 되는 glutamic acid, 체내 중금속 제거 효능 및 식품의 감칠맛 성분으로 작용하는 aspartic acid(Hong JS et al., 1989), 골다공증의 예방이나 치료 및 피로회복에 관여하는 lysine과 면역기능 증가에 도움이 되는 arginine 등이 다양하게 함유되어 있다(Eghianruwa Q et al., 2011).

8종의 표고버섯 건조분말 중 구성아미노산 함량은 8318.66~17672.59 mg/100 g이었으며, 총 아미노산에 대한 필수아미노산 비율은 27.92~37.67%로 보고되어 있는데, 이는 본 연구에 사용된 표고버섯에 비해 높은 수준이었다. 또한 아미노산 중 glutamic acid, aspartic acid 및 arginine의 순으로 높았다는 보고(Kim KJ & Seo KS, 2016)와 glutamic acid, isoleucine, aspartic acid, phenylalanine의 순으로 높았다는 보고(Kwon JH et al., 1987)로 볼 때 glutamic acid 함량이 가장 많았다는 것은 본 연구와 일치한 결과였으나, 그 외 성분에서는 다소간의 차이를 보였다. 한편 느타리버섯과 팽이버섯을 갓과 대로 구분하여 구성아미노산을 분석한 결과 일반적으로 대보다는 갓에서 아미노산 함량이 더 높은 경향을 보였다는 보고(Kim JT et al., 2014)가 있는데 본 연구에서 1~2주기의 표고버섯은 다소간 차이를 보이는 결과였다. 또한 버섯 재배 배지 및 수확 시기에 따른 느타리버섯의 아미노산 조성을 분석한 결과 재배 배지에

다른 아미노산 함량 및 조성 변화는 없었으나 수확 시기가 늦어질수록 valine을 제외한 모든 아미노산의 함량이 감소된다는 보고도 있다(Mendez LA et al., 2005).

따라서 본 연구에서 개발된 액체종균을 사용하여 톱밥배지에서 생육시킨 표고버섯은 수확주기가 길어질수록 구성아미노산 함량이 감소되는 경향을 보였으나, 대차는 아닌 것으로 평가되었다.

Table 51. Contents of composition amino acids in *Lentinula edodes* according to harvest interval

(mg/100 g)

	Pileus			Stipe		
	1 cycle	2 cycle	3 cycle	1 cycle	2 cycle	3 cycle
Aspartic acid	179.91	175.61	147.28	178.41	152.11	128.58
Threonine*	92.64	101.54	74.92	92.39	79.77	66.45
Serine	95.82	114.67	77.42	91.02	79.56	66.38
Glutamic acid	333.16	249.42	243.59	325.35	224.22	191.10
Proline	71.31	62.50	57.27	69.52	58.37	48.73
Glycine	105.53	87.26	84.05	104.05	88.92	74.57
Alanine	135.59	111.47	110.17	140.69	114.20	96.77
Cystine	8.25	8.02	6.32	8.29	6.85	5.76
Valine*	112.21	95.99	92.44	110.55	94.72	78.63
Methionine*	32.30	26.34	27.08	28.45	23.61	19.40
Isoleucine*	93.12	76.45	75.80	90.81	75.96	62.56
Leucine*	148.31	127.89	121.32	145.29	123.61	101.32
Tyrosine	43.66	35.78	36.21	40.04	0.00	26.64
Phenylalanine*	220.82	177.85	187.55	236.22	253.81	198.19
Histidine*	52.40	41.43	40.70	51.12	41.36	34.69
Lysine*	159.76	140.96	130.15	187.87	187.99	122.87
Ammonium chloride	2566.69	2301.59	2284.96	2798.06	2561.45	2324.51
Arginine	117.13	93.53	89.49	117.33	89.33	78.33
Essential amino acids*	911.56	788.43	749.96	942.70	880.83	684.12
Essential/Total (%)	19.95	19.57	19.30	19.58	20.70	18.36
Total amino acids	4568.62	4028.28	3886.73	4815.46	4255.84	3725.49

4) 수확주기별 표고버섯의 유리아미노산 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯(‘추제2호’)을 수확주기별로 구분하여 버섯의 갓과 대 부위의 유리아미노산 함량을 비교한 결과는 Table 52와 같다. 총 유리아미노산 함량은 갓에서 245.31~262.55 mg/100 g(평균 254.80 mg/100 g)이었으며, 대에서는 213.55~242.69 mg/100 g(평균 230.75 mg/100 g)으로 버섯의 갓과 대에서 유리아미노산 함량은 수확주기가 경과됨에 따라 감소되는 경향이었으며, 갓이 대에 비해 다소 높은 함량이었다.

버섯의 유리아미노산 중 glutamic acid가 가장 많은 함량으로 갓에서 대에 비해 높은 함량이었으며, 다음으로 ammonium chloride, alanine의 순이었다. 그 외 aspartic acid, leucine, GABA 및 arginine 함량은 갓에서는 수확주기별로 비슷한 함량이었으나, 대부위에서는 1~2주기 버섯에 비해 3주기 버섯에서 감소된 경향을 보였다. 특히 GABA 함량은 갓부위에서 대에 비해 높은 함량이었다.

버섯의 맛성분과 관련된 주요 아미노산인 aspartic acid 및 glutamic acid 함량도 수확주기가 경과됨에 따라 감소되는 경향이였다. 갓은 대에 비해서 다소 높은 함량이었으나, 총 유리아미노산 함량에 대한 이들 아미노산의 함유비율은 수확주기 및 부위에 따라 두드러진 차이를 보이지 않았다.

유리아미노산은 단백질이나 펩티드와 같은 결합형 아미노산에 비해 아미노산이 단독분자로 존재하는 상태로 그 함유비율에 따라 맛과 품질을 결정하는 요인이 될 수 있으며, 또한 신경전달물질과 같은 중요한 생물학적 기능이나 면역기능을 강화하는 역할을 하는 것도 있다(Kim JT et al., 2014).

8종의 표고버섯 중 유리아미노산의 함량은 histidine, glutamic acid 및 arginine의 순으로 많았으며, 특히 표고버섯의 감칠맛 성분으로 알려진 glutamic acid는 톱밥배지에서 재배된 국내산 버섯에서 가장 많았으며, 원목 재배 버섯에서 가장 낮은 함량인 것으로 보고되어 있다(Kim KJ & Seo KS, 2016). 한편 표고버섯의 유리아미노산 중 cystine이 가장 많았다는 보고도 있는데(Park JS & Na HS, 2015), 본 실험에 사용된 표고버섯의 유리아미노산 함량은 glutamic acid가 가장 많았으며, 다음으로 alanine, arginine의 순으로 상기의 보고와는 다소간의 차이를 보였다. 이러한 결과는 표고버섯의 재배에 사용되는 배양액의 종류, 배지의 영양상태, 재배 기간, 수확 시기, 시료의 저장 상태 등에 의한 것으로 추정된다.

따라서 본 연구에서 표고버섯의 수확주기에 따른 유리아미노산 함량은 구성아미노산 함량과 비슷한 패턴으로 수확주기가 경과됨에 따라 감소되는 경향이였으나, 대에 비해 갓에서 맛성분에 관여하는 아미노산의 함량이 더 많았으며, 특히 1주기 버섯의 갓부위가 가장 맛이 우수할 것으로 판단된다. 또한 본 연구에 사용된 표고버섯은 glutamic acid처럼 맛에 관여하는 아미노산의 양이 많아 음식의 부원료로써 감칠맛을 내는데 활용될 수 있을 것으로 생각되며, 이에 따라 1주기 표고버섯은 2~3주기에 비해 아미노산 함량이 많아 고아미노산 함유 버섯으로 활용 가치가 클 것으로 예상된다.

Table 52. Contents of free amino acids in *Lentinula edodes* according to harvest interval

(mg/100 g)

	Pileus			Stipe		
	1 cycle	2 cycle	3 cycle	1 cycle	2 cycle	3 cycle
Aspartic acid	19.526	18.634	14.641	14.641	14.521	13.190
Threonine	9.530	9.339	11.269	11.269	10.792	10.173
Serine	7.735	9.301	8.765	8.765	8.450	7.367
Asoarragine	4.475	4.185	4.215	4.215	4.095	3.284
Glutamic acid	63.619	62.986	59.102	59.102	58.690	56.998
AAAA	7.222	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Glycine	18.320	16.504	13.856	13.856	13.646	12.446
Alanine	26.682	28.776	28.758	28.758	28.607	26.932
Citrulline	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Valine	7.790	7.861	7.790	7.790	7.228	6.057
Cysteine	1.224	1.321	1.224	1.224	1.187	1.054
Methionine	1.626	1.761	1.641	1.791	1.656	1.492
Systathionine	2.134	2.179	1.934	1.956	1.778	1.556
Isoleucine	6.730	6.887	7.097	6.795	6.520	5.536
Leucine	18.877	19.821	19.808	19.506	19.297	17.670
Phenylalanine	9.152	8.937	8.557	9.548	8.243	6.921
GABA	17.455	17.331	17.022	15.032	13.475	11.826
Ammonium chloride	29.361	28.885	27.815	26.841	26.750	23.744
Ornithine	4.601	4.336	4.111	4.032	3.953	2.763
Lysin	6.140	6.008	5.965	5.862	5.760	4.400
Histidine	10.551	9.465	8.999	8.689	8.487	6.687
Arginine	19.162	20.904	20.556	19.859	19.632	17.194
Asp+Glu	83.145	81.620	73.743	73.743	73.211	70.188
Asp+Glu/Total (%)	28.483	28.597	27.000	27.360	27.862	29.579
Total amino acids	291.910	285.420	273.125	269.532	262.768	237.290

5) 수확주기별 표고버섯의 총당 및 환원당 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯(‘추제2호’)을 수확주기별로 구분하여 총당 및 환원당 함량을 비교한 결과는 Fig. 21과 같다. 총당 함량은 824.77~836.24 mg/100 g의 범위로 수확주기에 따른 유의적인 차이가 없었다. 환원당 함량은 1주기 버섯(572.40 mg/100 g)에서 가장 낮았으며, 2~3주기 버섯은 609.73~644.84 mg/100 g의 범위로 수확주기가 길어질수록 유의적으로 증가되는 경향이였다.

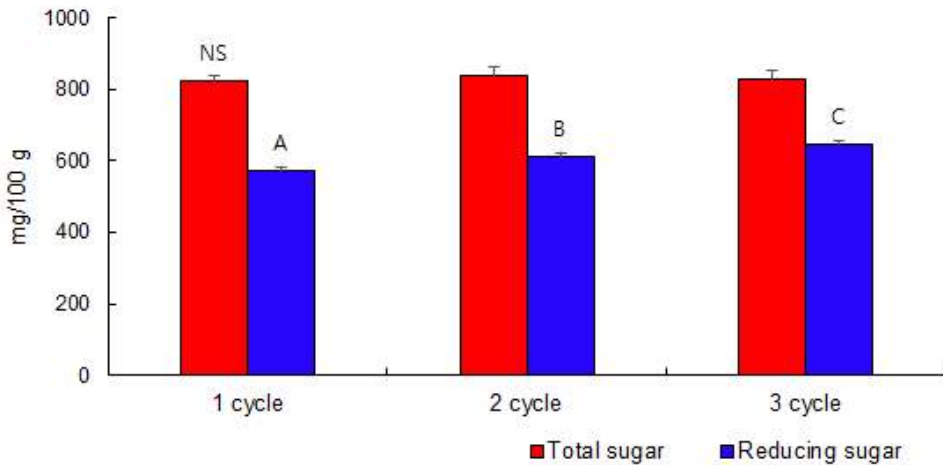


Fig. 21. Content of total and reducing sugar in *Lentinula edodes* according to harvest interval.

All values are mean±SD ($n=4$)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

NS; not significant

6) 수확주기별 표고버섯의 β -glucan 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯('추제2호')을 수확주기별로 구분하여 β -glucan 함량을 분석한 결과는 Fig. 22와 같다. 수확주기에 따른 표고버섯의 total glucan 함량은 1주기 버섯(13.64 g/100 g)에서 유의적으로 높았으며, 수확주기가 길어질수록 유의적인 감소를 보였다. α -Glucan 함량은 1~2주기 버섯에서 동일한 수준이었으며, 3주기 버섯에서는 유의적으로 감소된 수준이었다. β -Glucan 함량은 1주기 버섯에서 12.40 mg/100 g으로 이는 total glucan 함량의 91%에 해당되는 함량이었다. 2~3주기 버섯에서는 각각 7.73 mg/100 g 및 8.49 mg/100 g으로 이는 1주기 버섯의 62.3% 및 68.5%에 해당되는 수준이었다.

β -Glucan은 식물류 중 보리 및 귀리에 많고(Havrlentova M & Kraic J, 2006), 수용성 β -glucan은 표고버섯에 46%, 느타리버섯에 27~38%, 큰느타리버섯에는 17%정도 함유된 것으로 보고되어 있다(Manzi P & Pizzoferrato L, 2000). 국내의 표고버섯에서 β -glucan 함량은 25~44% 정도이며(Bak WC et al., 2014), 특히 표고버섯의 렌티난(lentinan)은 β -1,3-D-glucan으로 표고버섯의 대표적인 β -glucan으로 면역, 항암효과 뿐만아니라 위암 치료제로도 알려져 있다(Oba K et al., 2009).

표고버섯의 발생온도에 따른 β -glucan의 함량을 측정한 연구결과, 저온(13~15°C)에서 생산된 표고버섯에서 42.4%로 가장 많았으며, 고온에서 생산된 표고버섯에서는 30%미만으로 가장 낮았다(Park YA et al., 2016). 따라서 표고버섯의 β -glucan 함량은 생육온도가 중요한 인자이다. 본 연구에서 개발된 액체종균에 의한 표고버섯의 생육 온도는 13~17°C였는데, 이는 표고버섯의

생육 및 β -glucan의 함량 증가에 적절한 것으로 생각된다.

국산 및 수입산 표고버섯의 β -glucan 함량은 국내산 버섯에서 많았으며(Kim KJ & Seo KS, 2016), 또한 주요 식용버섯 중 β -glucan 함량은 표고버섯에서 가장 많았으며, 느타리버섯은 송이, 새송이 및 상황버섯과 비슷한 수준이었다(Choi SJ et al., 2010).

미국 FDA에서는 매일 3 g의 수용성 β -glucan을 섭취할 경우 심혈관 질환의 예방에 도움이 된다는 보고가 있다(FDA, 2005). 본 연구에서 액체종균으로 재배된 표고버섯에서 β -glucan의 함량이 수확주기에 따라 차이를 보이는 바 1주기 표고버섯은 β -glucan이 많아 기능성 버섯으로 활용할 가치가 높을 것으로 예상된다.

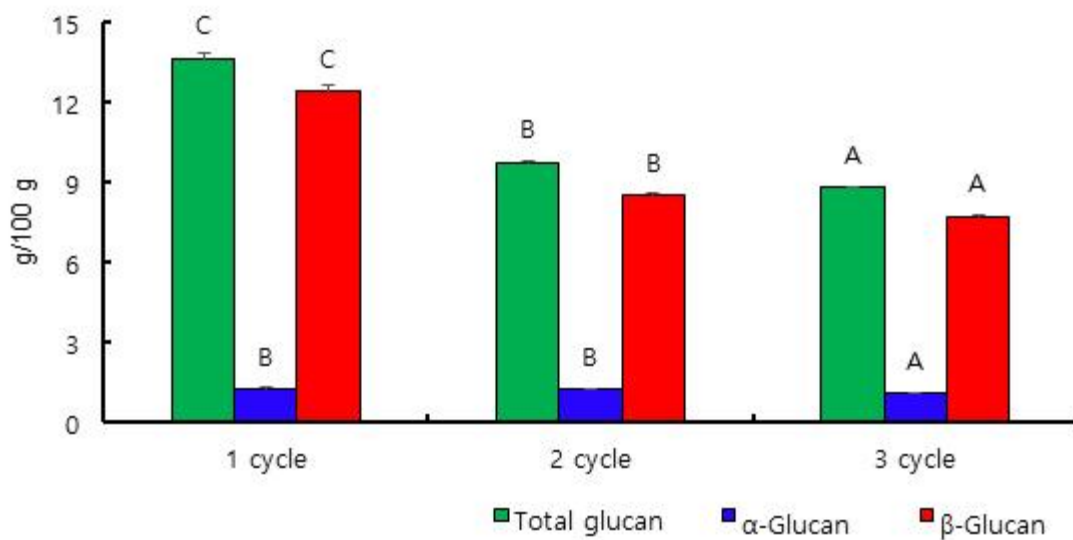


Fig. 22. Content of β -glucan in *Lentinula edodes* according to harvest interval.

All values are mean \pm SD ($n=3$)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

7) 수확주기별 표고버섯의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯('추제2호')을 수확주기별로 구분하여 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Fig. 23과 같다. 총 페놀 함량은 1주기 버섯(31.96 mg/100g)에서 유의적으로 높았으며, 수확주기가 길어질수록 감소되는 경향이였다. 2주기 및 3주기 버섯에서 총 페놀 함량은 222.50~25.59 mg/100 g으로 유의적인 차이는 없었다. 플라보노이드 함량은 1~2주기 버섯에서 21.10~21.43 mg/100 g으로 수확주기에 따른 유의차를 보이지 않았으나, 3주기 버섯(19.70 mg/100 g)에 비해서 유의적으로 높은 함량이였다.

표고버섯 생육 시 광파장의 차이에 따른 버섯 자실체의 총 페놀 함량은 52~64 ppm의 범위로 광파장에 따른 차이를 보이지 않았으며, DPPH 라디칼 소거활성도 32~37%로 버섯 자실체의 항산화 활성이 빛 요인에는 영향을 받지 않는다고 보고되어 있다(Back IS et al., 2013). 참나무

수종을 달리한 톱밥배지 조건에서 재배된 표고버섯에서 총 페놀 함량은 2.37~3.12 mg/g dry base였으며, 플라보노이드 함량은 0.48~0.84 mg/g dry base로 배지에 따라 유의차를 보였으나, 배지 조건 이외의 영양성분, 재배 환경, 추출 방법 및 추출 용매 등도 관여하는 것으로 보고되어 있다(Seo SY et al., 2017).

표고버섯 건조분말을 여러 가지 용매로 추출하여 총 페놀 함량을 비교한 결과 에탄올 추출물에서 2.12 mg GAE/g으로 가장 높았으며, 아세톤 및 에틸아세테이트 추출물에서는 각각 1.81 mg GAE/g, 1.53 mg GAE/g의 함량이었으나 추출 용매에 따른 유의차는 없었다고 보고된 바 있다(Han SR et al., 2015). 반면 극성 용매를 이용한 표고버섯 추출물에서 폴리페놀 성분의 함량이 더 많았다는 보고(Cheung LM et al., 2003)가 있는데, 본 연구에서 표고버섯 추출은 80% 메탄올 추출로써 이는 상기의 보고와 유사한 결과라 사료된다.

한편 표고버섯은 비플라보노이드 계열의 폴리페놀이 더 많은 양으로 존재하고 주요 폴리페놀이 페놀산이라는 보고가 있는데(Ferreira IC et al., 2009), 본 연구에서도 총 페놀 함량에 대한 플라보노이드 함량의 비율이 1주기 버섯에서 66.0%였으며, 2주기 버섯은 82.8%, 3주기 버섯은 87.6%로 1주기 버섯에서 비플라보노이드 계열의 폴리페놀 함량이 많아 상기의 보고와 유사한 결과였다.

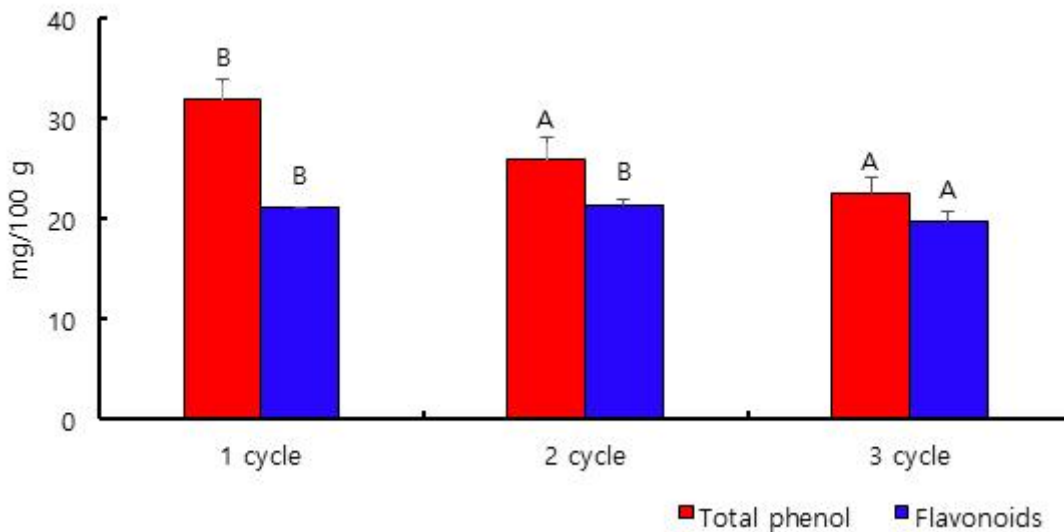


Fig. 23. Content of total phenols and flavonoids in *Lentinula edodes* according to production cycle.

All values are mean±SD (n=4)

^{A-B}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

8) 수확주기별 표고버섯의 항산화 활성

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯(‘추제2호’)을 수확주기별로 구분하여 버섯의 갓과 대 부위에서 항산화 활성을 비교한 결과는 Table 53, 54 및 55와 같다. 수확주기에 따른 표고버섯의 DPPH 라디칼 소거활성은 Table 53에 나타난 바와 같이 시료의 첨가량이 많아질수록 유의적으로 증가되는 경향이였다. 버섯의 갓부위에서 라디칼 소거활성은 10~20 mg/mL농도 범위에서는 수확주기에 따른 유의차가 없었다. 50~100 mg/mL의 농도에서는 1주기 버섯에서 유의적으로 높았으며, 수확주기가 경과될수록 라디칼 소거활성이 감소되는 경향이였다. 200 mg/mL의 농도에서는 1~2주기 버섯에서 71.27~72.71%로 유의차를 보이지 않았으나, 3주기 버섯에서는 유의적으로 낮은 활성이였다.

버섯의 대부위에서 라디칼 소거활성은 10 mg/mL 농도에서 수확주기에 따른 유의차를 보이지 않았으나, 50~100 mg/mL의 농도에서는 1주기 버섯이 2~3주기 버섯에 비해 유의적으로 높았으며, 200 mg/mL의 농도에서는 1~2주기 버섯에서 유의차를 보이지 않았으나, 3주기 버섯에서는 유의적으로 낮은 활성이였다. 버섯의 대부위도 갓과 마찬가지로 수확주기가 경과될수록 라디칼 소거활성이 감소되는 경향이였다. 특히 50~100 mg/mL의 농도범위에서 버섯의 갓은 대에 비해 라디칼 소거활성이 높은 것으로 확인되였다.

수확주기에 따른 표고버섯의 ABTS 라디칼 소거활성은 Table 54에 나타난 바와 같이 시료의 첨가량이 많아질수록 라디칼 소거활성은 유의적으로 증가되는 경향이였다. 버섯의 갓부위에서 라디칼 소거활성은 10~100 mg/mL농도범위에서 수확주기가 길어질수록 라디칼 소거활성이 유의적으로 감소되는 경향이였으며, 200 mg/mL에서는 1~2주기 버섯에서는 라디칼 소거활성이 90% 이상으로 3주기 버섯에 비해 유의적으로 높은 활성이였다. 버섯의 대부위에서 라디칼 소거활성은 1주기 버섯에서 다소 높았으나, 이는 3주기 버섯과 유사한 경향이였으며, 100 mg/mL의 농도에서 1주기 버섯이 2~3주기 버섯에 비해 유의적으로 높은 활성이였다. 한편 버섯의 갓과 대에서 ABTS 라디칼 소거활성은 갓에서 더 높은 것으로 확인되였으나, 200 mg/mL의 농도에서는 버섯의 갓과 대에서 ABTS 라디칼 소거활성이 유사한 것으로 나타났다.

수확주기에 따른 표고버섯의 환원력은 Table 55에 나타난 바와 같다. 시료의 첨가량이 많아질수록 환원력은 유의적으로 증가되는 경향이였다. 버섯의 갓부위에서 환원력은 10~20 mg/mL농도범위에서 1~2주기 버섯간에 유의차가 없었으나, 3주기 버섯에 비해 유의적으로 높은 활성이였다. 50 mg/mL이상의 농도에서는 1주기 버섯에서 유의적으로 활성이 높았으며, 수확주기가 경과됨에 따라 환원력은 유의적으로 감소되는 경향이였다. 버섯의 대부위에서 라디칼 소거활성은 20 mg/mL이상의 농도에서 수확주기가 경과될수록 환원력은 유의적으로 감소되는 경향이였고, 대보다 갓에서 더 높았다.

표고버섯의 항산화 활성에 관한 연구로 열수 추출물과 에탄올 추출물을 이용한 총 폴리페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거활성으로 보아 에탄올이 표고버섯의 추출 용매로 적합하다고 보고된 바 있다(Kim CH & Jeong JG, 2009). 표고버섯을 다양한 용매로 추출하여 DPPH 라디칼 소거활성을 비교한 결과 에틸아세테이트 추출물에서 49.9%로 가장 높았으며, 다음으로 아세톤 및 에탄

올 추출물이 각각 46.5%, 25.0%였는데, 이들 용매 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성은 에탄올 추출물에서 98.5%, 아세톤 추출물에서 97.2%의 소거활성을 보인 것으로 보고된 바 있다(Han SR et al., 2015).

일반적으로 반응속도가 빠른 ABTS 라디칼 소거활성은 극성 및 비극성 물질 모두와 반응하여 라디칼 소거에 관여하는 바 일부의 항산화 물질들과 잘 반응하는 DPPH 라디칼 소거활성보다는 높은 활성을 보인다는 보고(Huang D et al., 2005)와 유사한 패턴으로 본 연구 결과에서도 DPPH 라디칼보다 ABTS 라디칼에서 더 높은 소거 활성을 보였다. 또한 DPPH와 ABTS의 라디칼 종류가 다르고, 여러 항산화 물질이 2종류의 라디칼과 결합하는 정도가 다르기 때문에 DPPH와 ABTS의 라디칼 소거활성에서 차이를 보이는 것으로 사료된다(Jin SY, 2011). 또한 표고버섯의 유용 성분들이 DPPH 라디칼 소거활성보다는 ABTS 라디칼 소거활성에 좀 더 유의적인 영향을 준 것으로 추정된다.

Table 53. DPPH radical scavenging in 80% methanol extract of *Lentinula edodes* according to production cycle

	Concentration of mushroom extract (mg/mL)				
	10	20	50	100	200
(%)					
Pileus					
1 cycle	2.60±1.41 ^{aNS}	11.50±1.17 ^{bNS}	43.88±0.91 ^{cC}	72.31±1.11 ^{dC}	72.74±0.20 ^{dB}
2 cycle	1.82±0.57 ^a	10.42±0.60 ^b	38.93±1.02 ^{cB}	70.23±0.67 ^{dB}	71.27±1.20 ^{dB}
3 cycle	1.40±0.05 ^a	7.81±3.53 ^b	25.82±2.26 ^{cA}	56.86±0.54 ^{dA}	69.01±0.81 ^{eA}
Stipe					
1 cycle	2.07±0.92 ^{aNS}	5.28±0.36 ^{bB}	12.34±0.74 ^{cB}	31.90±1.11 ^{dB}	71.44±0.07 ^{eB}
2 cycle	1.48±0.67 ^a	4.60±0.54 ^{bAB}	10.14±0.22 ^{cA}	29.36±0.82 ^{dA}	71.57±0.07 ^{eB}
3 cycle	0.81±0.16 ^a	3.96±0.49 ^{bA}	10.44±1.06 ^{cA}	27.50±1.21 ^{dA}	69.33±0.34 ^{eA}

All values are mean±SD (n=4)

Means with different superscripts in the same column (A-C) and same row (a-e) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

NS; not significant

한편 버섯은 페놀 화합물, 테르펜, 다당류 및 스테로이드와 같은 항산화 효과를 가진 다양한 생리활성 물질을 포함하고 있다(Islam T et al., 2016; Kües U & Liu Y, 2005). 표고버섯의 항산화 활성에 관한 연구는 열수 추출, 에탄올 추출, 메탄올 추출, 에틸아세테이트 추출과 에테르

추출물에서 총 폴리페놀, 플라보노이드 함량 및 전자공여 활성 등을 이용한 항산화 활성 등이 일부 보고되어 있으며, 추출 용매에 따라 상이한 결과를 보이며(Cheung LM et al., 2003; Kim MJ et al., 2012), 재배 조건, 재배 기질에 따른 항산화 활성에도 차이를 보이는 것으로 보고되어 있다(Woo KS et al., 2012).

따라서 본 연구에서 액체종균으로 생산된 표고버섯의 항산화 활성도 버섯 균주의 배양 조건, 생육 조건 등에 따른 차이일 것으로 추정되며, 수확주기에 따른 버섯의 품질특성에는 두드러진 차이가 적으나, 항산화 활성이 감소되는 것으로 볼 때 생육과정에서 톱밥 배지의 유용성분의 차이때문인 것으로 추정된다.

Table 54. ABTS radical scavenging in 80% methanol extract of *Lentinula edodes* according to production cycle

	Concentration of mushroom extract (mg/mL)				
	10	20	50	100	200
(%)					
<hr/>					
Pileus					
1 cycle	12.51±0.08 ^{aC}	21.59±0.50 ^{bC}	51.41±0.64 ^{cC}	90.88±0.94 ^{dC}	91.54±0.31 ^{dB}
2 cycle	11.20±0.46 ^{aB}	20.40±0.16 ^{bB}	47.30±0.65 ^{cB}	88.33±0.47 ^{dB}	90.81±0.93 ^{eB}
3 cycle	10.23±0.20 ^{aA}	17.80±0.33 ^{bA}	38.81±0.12 ^{cA}	71.54±0.42 ^{dA}	88.62±0.87 ^{eA}
Stipe					
1 cycle	4.86±0.51 ^{aB}	10.01±0.13 ^{bNS}	21.70±0.93 ^{cB}	40.44±0.16 ^{dB}	91.52±0.50 ^{eNS}
2 cycle	3.11±0.71 ^{aA}	8.61±0.64 ⁿ	19.89±0.86 ^{cA}	37.03±0.75 ^{dA}	90.22±1.50 ^e
3 cycle	4.76±0.57 ^{aB}	9.45±1.42 ⁿ	20.88±0.16 ^{cAB}	36.98±0.28 ^{dA}	89.94±1.74 ^e

All values are mean±SD (n=4)

Means with different superscripts in the same column (A-C) and same row (a-e) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

NS; not significant

Table 55. Reducing power in 80% methanol extract of *Lentinula edodes* according to production cycle

	(μM)				
	Concentration of mushroom extract (mg/mL)				
	10	20	50	100	200
Pileus					
1 cycle	28.31±1.65 ^{aB}	53.83±3.21 ^{bB}	128.42±1.78 ^{cC}	199.88±3.17 ^{dC}	276.23±0.48 ^{eC}
2 cycle	25.71±1.26 ^{aB}	47.48±2.80 ^{bAB}	110.29±3.13 ^{cB}	179.88±0.63 ^{dB}	251.85±1.83 ^{eB}
3 cycle	19.98±1.18 ^{aA}	41.13±3.68 ^{bA}	85.60±1.57 ^{cA}	143.10±0.79 ^{dA}	198.63±0.63 ^{eA}
Stipe					
1 cycle	15.73±2.62 ^{aB}	26.88±1.03 ^{bB}	57.98±1.55 ^{cC}	99.15±3.91 ^{dB}	222.06±2.67 ^{eC}
2 cycle	12.58±0.90 ^{aAB}	24.67±1.34 ^{bB}	52.48±1.34 ^{cB}	93.00±2.98 ^{dA}	208.10±2.43 ^{eB}
3 cycle	10.94±0.74 ^{aA}	20.54±1.04 ^{bA}	49.67±0.69 ^{cA}	90.92±0.79 ^{dA}	196.54±1.29 ^{eA}

All values are mean±SD (n=4)

Means with different superscripts in the same column (A-C) and same row (a-e) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

나. 액체종균 및 고체종균(시판품)으로 생산된 표고버섯의 품질특성 및 생리활성 비교

본 연구과제를 통해 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯(‘추제2호’)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯의 품질특성 및 생리활성을 비교하였다.

1) 표고버섯의 색도

본 연구에서 개발된 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)을 대상으로 버섯의 표면색을 비교한 결과는 Table 56과 같다.

버섯의 갓 부위에서 명도(L값)는 MLS-A에서 47.16이었으며, MSS-B(50.83)를 제외한 시판 버섯은 44.09~44.87의 범위로 MLS-A와 유의차를 보이지 않았다. 적색도(a값)는 MLS-A에서 9.77로 MSS-B 및 MSS-D와 유의차를 보이지 않았으나, MSS-C 및 MSS-E와 비해서는 유의적으로 낮은값이었다. 황색도(b값)는 MLS-A가 23.16으로 MSS-C(25.41)에 비해 유의적으로 낮았으나, 그 외 버섯에 비해서는 유의적으로 높은 값이었다. 버섯의 갓에서 전체적인 색차는 50.8~55.68의 범위였으며, MLS-A는 시판 버섯과 두드러진 차이를 보이지 않았다.

버섯의 대 부위에서 명도(L값)는 MSS-E가 66.60으로 타 시료에 비해 유의적으로 높았으며, 그 외 버섯은 56.36~61.65의 범위로 시료 간에 유의차가 적었다. 적색도(a값)는 MLS-A가 8.69이었는데, 이는 MSS-B, C와 유의차를 보이지는 않았으나, MSS-E, F와는 유의적인 차이를 보였

다. 황색도(b값)는 MLS-A에서 23.74였으며, 시판 버섯에서는 23.24~27.06의 범위로 액체종균으로 생산된 표고버섯이 MSS-B, D 및 F에 비해서는 유의적으로 낮은 값이었다. 버섯의 대 부위에서 전체적인 색차는 액체종균으로 생산된 버섯과 시판 버섯간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 액체종균으로 생산된 표고버섯과 시판 버섯간에 표면의 색깔은 두드러진 차이를 보이지 않았다.

Table 56. Color intensity of *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

Kinds of mushroom	L	a	b	ΔE
Pileus				
MLS-A	47.16±3.51 ^A	9.77±0.75 ^B	23.16±0.62 ^C	53.47±3.07 ^{BC}
MSS-B	50.83±3.64 ^B	8.96±0.66 ^A	20.75±1.14 ^A	55.68±3.00 ^C
MSS-C	44.87±2.86 ^A	11.98±0.89 ^D	25.41±1.33 ^D	52.96±2.68 ^{AB}
MSS-D	44.87±1.69 ^A	9.63±0.28 ^B	20.99±0.43 ^A	50.47±1.56 ^A
MSS-E	44.09±3.60 ^A	10.92±0.93 ^C	22.67±1.38 ^{BC}	50.80±3.52 ^{AB}
MSS-F	45.85±2.84 ^A	9.73±0.76 ^B	22.1±0.73 ^B	51.86±2.24 ^{AB}
Stipe				
MLS-A	61.65±6.54 ^B	8.69±1.11 ^B	23.74±1.90 ^A	67.87±6.00 ^{BC}
MSS-B	60.67±2.74 ^B	9.61±1.39 ^{BC}	26.13±2.77 ^C	66.82±2.74 ^{AB}
MSS-C	60.49±5.00 ^{AB}	9.03±0.89 ^B	24.09±1.51 ^{AB}	65.77±4.84 ^{AB}
MSS-D	56.36±3.57 ^A	10.28±1.06 ^{CD}	25.85±1.42 ^{BC}	62.89±3.06 ^A
MSS-E	66.60±4.71 ^C	7.58±1.86 ^A	23.24±2.64 ^A	71.05±3.87 ^C
MSS-F	59.23±2.53 ^{AB}	10.82±0.47 ^D	27.06±1.62 ^C	66.03±2.60 ^{AB}

All values are mean±SD (n=10)

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

NS; not significant.

2) 표고버섯의 조직감

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)에 대한 조직감을 비교한 결과는 Table 57과 같다.

경도(hardness)는 MLS-A가 1804.52 g/cm³로 유의적으로 높았으며, 시판 버섯 중에서는

MSS-B, D 및 F가 664.49~802.97 g/cm³로 유의적인 차이가 없었다. 부착성(adhesiveness)은 MLS-A 및 MSS-F가 각각 -4.34 g·s, -3.54 g·s로 타 시료에 비해 유의적으로 낮은 값이었으며, 그 외 버섯에서는 -0.71~-0.19 g·s의 범위로 시료간에 유의차가 없었다. 씹힘성(chewiness)은 액체종균으로 생산된 MLS-A와 시판 버섯간에 유의차가 없었다. 탄성(springness) 및 검성(gumminess)에서는 MLS-A(1195.26%)가 시판 버섯에 비해 유의적으로 높았으나, 시판 버섯간에 유의차는 보이지 않았다. 응집성(cohesiveness)은 MSS-C, E에서 여타의 시료에 비해 유의적으로 높았으며, MLS-A 및 MSS-F에서 유의적으로 낮은 값이었다. 복원성(resilience)은 MLS-A가 시판 버섯에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였다.

Table 57. Textural characteristics of *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

	Kinds of mushroom					
	MLS-A	MSS-B	MSS-C	MSS-D	MSS-E	MSS-F
Hardness (g/cm ³)	1804.52 ±320.64 ^C	802.97 ±193.12 ^B	637.49 ±127.37 ^A	664.63 ±90.11 ^{AB}	565.04 ±115.30 ^A	785.66 ±139.78 ^B
Adhesiveness (g·s)	-4.34 ±2.71 ^A	-0.48 ±0.62 ^B	-0.71 ±0.55 ^B	-0.39 ±0.35 ^B	-0.19 ±0.15 ^B	-3.54 ±3.15 ^A
Chewiness (g)	0.91 ±0.04 ^{AB}	0.91 ±0.02 ^{AB}	0.90 ±0.05 ^{AB}	0.90±0.02 ^A	0.93±0.02 ^B	0.90±0.04 ^A
Springness (%)	1195.26 ±202.08 ^C	566.41 ±118.75 ^B	468.33 ±89.85 ^A	457.67 ±58.46 ^A	431.55 ±93.07 ^A	514.17 ±112.72 ^{AB}
Gumminess (g)	1320.85 ±241.15 ^C	621.47 ±132.31 ^B	520.56 ±103.31 ^A	511.42 ±64.62 ^A	463.94 ±95.93 ^A	573.83 ±133.43 ^{AB}
Cohesiveness (%)	0.73 ±0.05 ^A	0.78 ±0.03 ^B	0.82 ±0.03 ^C	0.77 ±0.04 ^B	0.82 ±0.03 ^C	0.72 ±0.06 ^A
Resilience	0.42 ±0.02 ^A	0.52 ±0.03 ^C	0.53 ±0.04 ^C	0.50 ±0.03 ^C	0.56 ±0.04 ^D	0.45 ±0.05 ^B

All values are mean±SD (n=8)

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

3) 표고버섯의 일반성분 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)에서 일반성분 함량을 비교한 결과는 Table 58과 같다.

수분 함량은 MLS-A가 86.87%로 가장 높았으며, 시판 버섯은 79.17~82.90%로 MLS-A에 비해 유의적으로 낮은 경향이었다. 회분 함량은 모든 버섯에서 1.29~1.67%로 시료간에 유의차가

적었다. 반면에 건물량으로 계산할 경우 MLS-A에서 10.16%로 가장 많은 함량이었으며, 시판 버섯은 6.52~8.78%의 범위였다. 조지방 함량은 모든 시료에서 0.12~0.50%로 함량차는 적었으나, MLS-A는 MSS-D, E에 비해서는 유의적으로 낮은 값이었다. 건물량으로 계산한 조지방 함량도 시판 버섯에 비해 MLS-A에서 가장 높은 함량이었다. 조단백질 함량은 MLS-A와 MSS-D에서 각각 4.48%, 4.47%로 타 시료에 비해 유의적으로 높았으며, 그 외의 시판 버섯에서 조단백질 함량은 MLS-A에 비해 유의적으로 낮았다. 조단백질 함량을 건물량으로 계산하면 MLS-A에서 34.15%였으며, 시판 버섯(12.12~21.48%)에서 월등히 높은 수준이었다. 탄수화물 함량은 시판 버섯이 12.25~15.602%의 범위였는데, 이는 MLS-A(6.90%)에 비해 유의적으로 높은 함량이었다. 탄수화물 함량의 건물량은 시판 버섯에 비해 MLS-A에서 낮은 수준이었다.

Table 58. Proximate composition of *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

(%)

Kinds of mushroom ¹⁾	Moisture	Ash	Crude lipids	Crude protein	Carbohydrate
MLS-A	86.87±1.06 ^C	1.33±0.05 ^A (10.16) ²⁾	0.42±0.02 ^C (3.17)	4.48±0.33 ^D (34.15)	6.90±0.81 ^A (52.56)
MSS-B	81.96±0.67 ^B	1.54±0.15 ^{AB} (8.56)	0.12±0.01 ^A (0.67)	3.87±0.28 ^C (21.43)	12.51±0.44 ^{BC} (69.35)
MSS-C	79.20±1.79 ^A	1.36±0.28 ^A (6.52)	0.42±0.02 ^C (2.01)	3.43±0.34 ^{BC} (16.47)	15.60±2.27 ^D (75.01)
MSS-D	79.17±0.64 ^A	1.52±0.06 ^{AB} (7.30)	0.50±0.03 ^D (2.38)	4.47±0.40 ^D (21.48)	14.33±0.69 ^{BCD} (68.84)
MSS-E	81.03±0.89 ^{AB}	1.67±0.04 ^B (8.78)	0.49±0.03 ^D (2.55)	2.30±0.11 ^A (12.12)	14.52±0.92 ^{CD} (76.55)
MSS-F	82.90±0.91 ^B	1.29±0.16 ^A (7.55)	0.24±0.00 ^B (1.39)	3.32±0.17 ^B (19.40)	12.25±1.00 ^B (71.66)

¹⁾Refer to the Fig. 19

All values are mean±SD (n=3)

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Carbohydrate=100 - (moisture+ash+crude lipids+crude protein).

²⁾Values are calculated as dry base.

표고버섯을 수확주기에 따라 어린 버섯, 미성숙, 성숙 및 과숙 버섯의 단계로 구분하여 수분 함량을 측정한 결과 수확주기가 경과됨에 따라 수분 함량은 감소되고, 회분 함량은 증가되며, 조 단백질 함량은 성숙 시기에 도달할 때까지는 점차적으로 증가된다고 보고되어 있다(Cho DB et al., 2002).

본 연구의 MLS-A에서 수분 함량이 높으며 시판 버섯에서 수분 함량이 낮았던 것은 버섯의 유통 과정중에 수분이 다소 소실된 것으로 여겨진다.

4) 표고버섯의 무기물 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)의 무기물 함량을 비교한 결과는 Table 59와 같다.

Table 59. Mineral contents of *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

(mg/100 g)

	Kinds of mushroom ¹⁾					
	MLS-A	MSS-B	MSS-C	MSS-D	MSS-E	MSS-F
K	305.50±7.92	292.60±8.75	240.25±2.84	247.55±3.16	232.20±4.41	287.60±2.24
Ca	22.63±0.33	22.77±0.31	21.04±0.53	29.30±0.74	17.91±5.62	22.08±0.14
Mg	16.65±0.19	20.50±0.30	21.91±0.45	26.82±0.61	17.18±0.27	20.97±0.18
Na	17.94±0.34	21.37±0.28	11.56±0.29	21.10±0.51	15.02±0.15	14.19±0.21
Mn	3.62±0.12	2.50±0.03	3.06±0.03	2.61±0.03	2.52±0.03	2.11±0.01
Fe	0.12±0.01	0.19±0.01	0.26±0.01	0.28±0.00	0.23±0.01	0.20±0.00
Al	1.80±0.01	1.82±0.02	1.42±0.02	1.92±0.04	1.57±0.02	1.40±0.01
P	42.11±0.44	104.12±1.05	58.50±0.83	128.57±1.83	87.18±1.50	99.78±1.11
Total	410.37 ±8.64 ^C	465.86 ±8.41 ^E	358.01 ±3.22 ^A	458.14 ±2.21 ^E	373.81 ±3.34 ^B	448.33 ±2.98 ^D

¹⁾Refer to the Fig. 19

All values are mean±SD (n=3)

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

무기물은 K(칼륨), Ca(칼슘), Mg(마그네슘), Na(나트륨), Mn(망간), Fe(철), Al(알루미늄), P(인) 등의 총 8종이 검출되었다. 무기물의 총량은 MLS-A가 410.37 mg/100 g으로 MSS-B(465.86 mg/100 g), MSS-D(458.14 mg/100 g), MSS-F(448.33 mg/100 g)보다 유의적으로 낮았으나, MSS-C(358.01 mg/100 g), MSS-E(373.81 mg/100 g)보다는 유의적으로 높은 함량이었다. 모든 버섯에서 무기질의 조성은 $K > P > Ca > Mg > Na > Mn$ 순으로 칼륨의 함량이 가장 많았는데, MLS-A에서 칼륨(K)의 함량은 305.50 mg/100 g으로 시판 버섯에 비해 높은 함량이었다.

국내산 표고버섯 5품종에서 무기물 함량을 비교한 결과, 칼륨의 함량이 가장 많았으며, 이는 품종간에 유의적인 차이를 보였으나, 칼슘(Ca)은 품종간에 유의차가 없었다는 보고가 있다(Kim KJ et al., 2017).

무기물 함량은 일반성분 중 회분 함량에 따라 차이를 보이는데, 시료 중 무기물과 회분 함량과는 비례하는 경향이 있다(Kim NM et al., 1993). 반면에 본 연구결과에서 액체종균으로 생산된 표고버섯과 시판 버섯에서 무기물 함량은 회분의 함량과는 다소간 차이가 있는 것으로 생각된다.

5) 표고버섯의 구성아미노산 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)에서 아미노산 함량을 비교한 결과는 Table 60과 같다.

총 16종의 아미노산이 검출되었으며, 구성아미노산의 총량은 MLS-A에서 4003.00 mg/100 g으로 MSS-B와 MSS-D보다는 낮았고 MSS-C, MSS-E 및 MSS-F보다는 높은 함량이었다. 필수 아미노산의 함량도 MLS-A에서 718.48 mg/100 g으로 MSS-B, D보다 낮고 MSS-C, E, F보다는 높은 수준으로 구성아미노산의 총량과 동일한 경향이었으나, 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 16.13~19.03%로 시료간에 두드러진 차이를 보이지 않았다.

국내산 표고버섯 5품종과(Kim KJ et al., 2017) 이들의 생육시기에 따른 구성아미노산 조성(Cho DB et al., 2002)을 분석한 결과, glutamic acid 및 aspartic acid의 함량이 여타의 아미노산에 비해 높은 경향이었는데, 이는 본 연구와도 일치하는 결과였다. 반면 생육시기에 따른 표고버섯의 아미노산 함량에서 histidine의 함량은 비교적 적었는데(Cho DB et al., 2002), 이는 버섯 생육 환경이나 품종에 따른 차이인 것으로 생각된다.

Table 60. Contents of composition amino acids in *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

(mg/100 g)

	Kinds of mushroom ¹⁾					
	MLS-A	MSS-B	MSS-C	MSS-D	MSS-E	MSS-F
Aspartic acid	102.26	157.02	104.70	147.34	104.59	117.49
Threonine*	94.08	97.92	64.31	85.55	65.38	72.65
Serine	83.37	82.78	54.98	79.26	61.19	67.26
Glutamic acid	493.83	519.24	413.29	433.77	327.43	267.91
Proline	-	-	-	-	-	-
Glycine	84.35	89.18	65.06	84.99	62.87	72.36
Alanine	50.02	80.65	53.00	76.02	60.48	85.23
Cystine	12.46	22.19	6.12	10.16	5.36	8.53
Valine*	76.98	103.22	62.76	86.02	63.52	69.69
Methionine*	24.27	40.22	13.68	19.08	14.50	15.31
Isoleucine*	63.60	62.51	41.75	57.21	37.26	50.80
Leucine*	97.58	97.28	64.72	91.12	70.48	64.75
Tyrosine	-	-	-	-	-	-
Phenylalanine*	241.12	262.86	214.77	272.34	245.00	214.08
Histidine*	24.24	40.64	28.81	37.46	30.78	33.24
Lysine*	96.61	130.12	81.27	146.17	102.23	92.48
Ammonium chloride	2387.05	2812.24	2223.47	2561.45	2000.63	1947.78
Arginine	71.19	89.35	53.71	97.80	54.06	86.36
Essential amino acids*	718.48	834.76	572.08	794.94	629.15	612.99
Essential/Total (%)	17.95	17.81	16.13	18.55	19.03	18.77
Total amino acids	4003.00	4687.40	3546.42	4285.72	3305.76	3265.93

¹⁾Refer to the Fig. 19.

6) 표고버섯의 유리아미노산 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)의 유리 아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 61과 같다.

유리아미노산은 총 28종이 검출되었으며, 유리아미노산의 총량은 MLS-A가 299.10 mg/100 g 이었는데, 이는 MSS-B, MSS-D 및 MSS-F보다는 낮았으며, MSS-C 및 MSS-E보다는 높은 함량이었다. 버섯의 감칠맛에 관여하는 aspartic acid와 glutamic acid 함량은 MLS-A가 74.63 mg/100 g으로 시판 버섯(18.71~59.81 mg/100 g)에 비해서는 다소 높은 함량이었으며, 유리아미노산의 총량에 대한 aspartic acid와 glutamic acid 함량비도 24.95%로 시판 버섯에 비해 높은 수준이었다.

본 연구에서 glutamic acid는 여타의 유리아미노산에 비해 높은 함량이었는데, 국내산 표고버섯 5품종의 유리아미노산을 비교한 결과에서는 glutamic acid보다 histidine의 함량이 더 많았다고 보고되어 있다(Kim KJ et al., 2017). 또한 수확주기에 따른 표고버섯의 유리아미노산 조성에서 다량으로 함유된 유리아미노산은 threonine, glutamic acid, glycine, alanine, histidine 등이었다고 보고된 바 있다(Cho DB et al., 2002). 이러한 결과는 본 연구와는 다소 상이하였다.

버섯의 재배는 원목 재배 및 톱밥 배지를 이용하는데, 현재 톱밥 배지에 의한 대량생산이 주류를 이루고 있으며, 배지의 조성에 따라 버섯의 영양성분에 차이를 보인다고 알려져 있다. 따라서 버섯의 재배 시 배지 조성 등의 환경 조건에 따라 영양성분에 상당한 차이를 보이는 것으로 추정된다.

Table 61. Contents of free amino acids in *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

(mg/100 g)

	Kinds of mushroom ¹⁾					
	MLS-A	MSS-B	MSS-C	MSS-D	MSS-E	MSS-F
Phenyl ethyl alanine	-	-	-	27.84	18.00	15.39
Urea	-	-	-	-	-	9.83
Aspartic acid	17.09	13.63	7.35	13.49	-	-
Threonine	38.64	36.32	32.82	33.11	33.92	26.17
Serine	16.90	18.25	20.92	21.38	19.02	15.19
Asoarragine	24.03	24.56	19.03	23.27	16.70	11.37
Glutamic acid	57.54	46.18	28.50	34.58	18.71	26.07
AAAA	6.83	6.07	0.00	3.51	2.82	2.08
Glycine	13.58	24.62	18.75	22.00	21.26	23.17
Alanine	5.72	13.34	14.44	14.33	25.60	38.53
Citrulline	-	2.30	-	-	-	-
Valine	4.62	19.31	14.03	17.63	21.44	22.37
Cysteine	1.34	1.38	-	-	-	3.87
Methionine	1.63	2.86	-	-	-	-
Systathionine	2.06	21.10	2.71	6.32	5.37	4.73
Isoleucine	-	3.07	2.32	6.32	6.98	9.13
Leucine	5.06	7.52	6.55	10.63	11.85	16.14
Tyrosine	-	-	-	1.87	-	0.90
β-alanine	-	-	-	-	-	1.86
Phenylalanine	1.67	1.66	-	2.93	1.55	8.50
Amino-butyric acid	6.21	6.03	1.94	9.85	2.71	19.71
Ethanolamine	-	-	-	1.15	-	-
Ammonium chloride	29.65	37.92	33.80	33.05	18.83	16.21
Ornithine	9.94	9.68	4.40	13.17	7.42	37.21
Lysin	15.35	15.36	5.29	16.71	9.64	15.34
Histidine	8.69	8.75	6.49	8.28	11.06	8.98
Tryptophane	-	-	-	-	-	5.44
Arginine	32.58	27.18	9.62	41.86	13.55	25.60
Asp+Glu	74.63	59.81	35.85	48.07	18.71	26.07
Asp+Glu/Total (%)	24.95	17.23	15.66	13.23	7.02	7.17
Total amino acids	299.10	347.09	228.95	363.27	266.45	363.80

¹⁾Refer to the Fig. 19.

7) 표고버섯의 총당 및 환원당 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)의 총당 및 환원당 함량을 비교한 결과는 Fig. 24와 같다.

총당 함량은 MLS-A가 751.93 mg/100 g이었으며, 시판 버섯인 MSS-B(582.93 mg/100 g)에 비해서는 유의적으로 높았으나, 그 외 시판 버섯에 비해서는 유의적으로 낮은 함량이었다. 환원당의 함량도 총당의 함량과 유사한 패턴으로 MLS-A는 대부분의 시판 버섯에 비해 유의적으로 낮은 함량이었다.

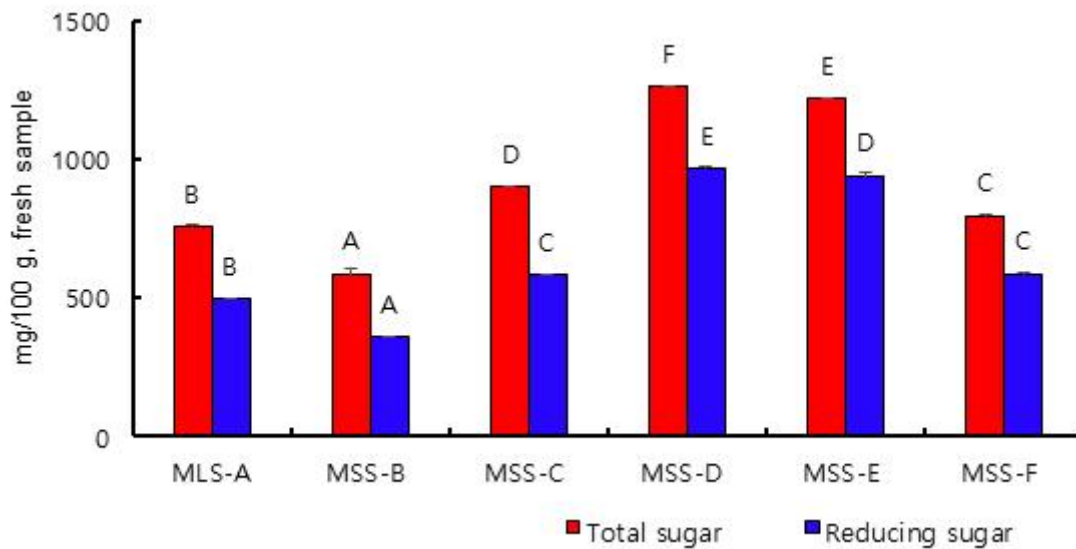


Fig. 24. Content of total and reducing sugar in *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially.

All values are mean±SD (n=4)

^{A-F}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

8) 표고버섯의 β-glucan 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)의 β-glucan 함량을 분석한 결과는 Fig. 25와 같다.

Total glucan 함량은 MLS-A가 13.64 g/100 g이었으며, 시판 버섯에서는 MSS-D(16.61 g/100 g)가 가장 높은 함량이었다. 다음으로 MSS-C(13.08 g/100 g)이었는데, 이는 MLS-A와 유의차를 보이지 않았다. α-Glucan 함량은 모든 버섯에서 0.94~1.40 g/100 g의 범위로 대차는 없었으나, MLS-A(1.18 g/100 g)는 시판 버섯 MSS-B, MSS-C, MSS-D보다 유의적으로 낮은 함량이었다. β-Glucan 함량은 MLS-A가 12.46 g/100 g이었으며, 시판 버섯 중에는 MSS-E(15.68 g/100 g)에서 가장 많은 함량이었으며, 다음으로 MSS-B, MSS-F와 유사한 함량

이였으며, 이는 MLS-A와 유의차가 없었다.

표고버섯이 생성하는 대표적인 β -glucan으로 lentinan(Oka M et al., 1996; Takuma S et al., 2008)은 면역력 증강과 함께 내성이 없는 천연 면역조절제와 항암 및 항산화 효능이 있음이 보고되어져 있다(Chan GCF et al., 2009; Kohan G et al., 2008). 또한 인체의 면역시스템에 작용하여 인체의 면역력을 증강시켜 주는 이른바 BRM(biological response modifiers)으로 잘 알려져 있으며, 특히 β -glucan이 면역계 내의 대식세포의 기능을 활성화시킴으로써 이 대식세포가 다른 림프구나 백혈구의 증식인자인 interferon이나 interleukin 등 cytokine을 분비시켜 면역계의 전반적인 기능을 강화시킨다고 보고한 바 있다(Song HS et al., 2006).

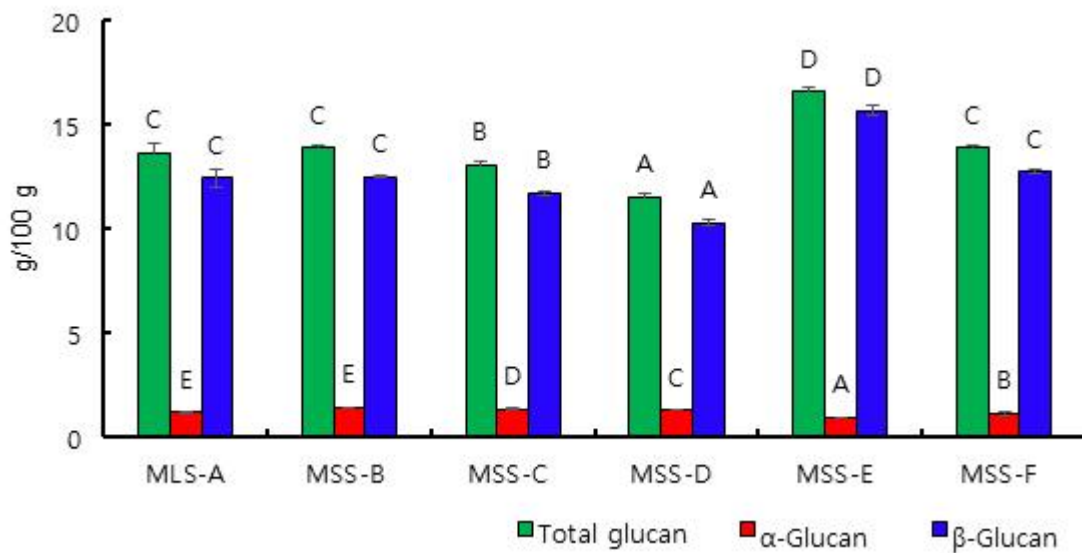


Fig. 25. Content of β -glucan in *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially.

All values are mean \pm SD ($n=3$)

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

9) 표고버섯의 갈색도

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)의 갈색도를 분석한 결과는 Table 62와 같다.

280 nm에서 표고버섯 추출물의 갈색물질 함량은 MSS-D에서 0.291로 가장 높았으며, 다음으로 MSS-B였으며, MLS-A(0.190)는 MSS-D, MSS-B에 비해 유의적으로 낮은 함량이었다. 420 nm에서 갈색물질 함량은 0.006~0.009의 범위였으며, MLS-A는 MSS-C, MSS-D, MSS-F에 비해 유의적으로 낮은 수준이었다.

Table 62. Browning intensity of *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

Kinds of mushroom ¹⁾	Absorbance	
	280 nm	420 nm
MLS-A	0.190±0.001 ^B	0.006±0.001 ^A
MSS-B	0.199±0.001 ^C	0.007±0.001 ^A
MSS-C	0.190±0.001 ^B	0.008±0.001 ^B
MSS-D	0.291±0.002 ^D	0.008±0.001 ^B
MSS-E	0.170±0.001 ^A	0.007±0.001 ^A
MSS-F	0.169±0.001 ^A	0.009±0.001 ^B

¹⁾Refer to the Fig. 19

All values are mean±SD ($n=3$)

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

10) 표고버섯의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Fig. 26과 같다.

총 페놀 함량은 MSS-D에서 30.77 mg/100 g으로 가장 높은 함량이었으며, 다음으로 MSS-B, MSS-C, MSS-E간에는 비슷한 함량이었다. MSS-F는 19.92 mg/100 g으로 시판 버섯 중 가장 낮은 함량이었는데, 액체종균으로 생산된 표고버섯은 이와 유의차를 보이지 않았다.

플라보노이드 함량은 MSS-D가 10.39 mg/100 g로 가장 높은 함량이었으며, 다음으로 MSS-C, MSS-E였다. MLS-A는 7.95 mg/100 g으로 시판 버섯 MSS-C, MSS-D, MSS-E에 비해 유의적으로 낮은 함량이었다.

폴리페놀은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물로서 분자 내 -OH기를 가지고 있기 때문에 전자를 공여할 수 있어 활성산소에 의한 산화를 억제하는 항산화 작용뿐만 아니라 항암 및 항균 작용 등 다양한 생리활성이 알려져 있다(Di CG et al., 1999; Jankun J et al., 1997). 표고버섯 분말을 다양한 용매로 추출하여 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 측정한 결과, 총 페놀 함량은 1.53~2.12 mg/g extract, 플라보노이드 함량은 0.35~1.18 mg/g extract였다는 보고가 있다(Han SR et al., 2015).

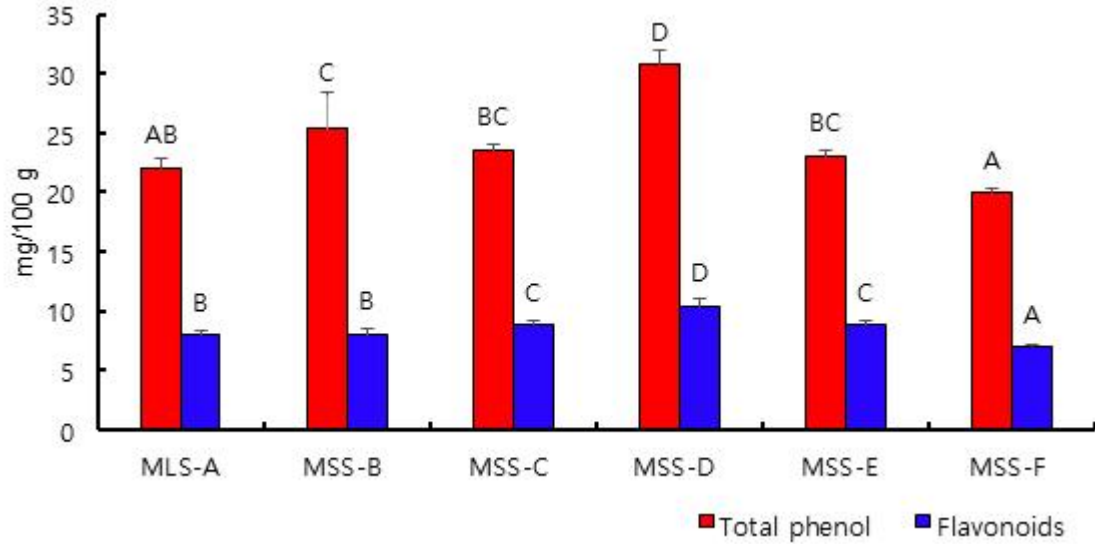


Fig. 26. Content of total phenols and flavonoids in *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially.

All values are mean±SD ($n=4$)

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

11) 표고버섯의 항산화 활성

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 표고버섯(MLS-A)과 고체종균으로 생산된 시판 표고버섯 5종(MSS-B~F)의 색도를 비교한 결과는 Table 63과 같다.

DPPH 라디칼 소거활성에서 MLS-A는 78.01%였으며, 시판 버섯 MSS-B, MSS-D, MSS-E는 78.58~79.04%로 MSS-C, MSS-F보다 유의적으로 높았으며, MLS-A와 유사한 활성이었다. ABTS 라디칼 소거활성은 모든 시료에서 80.47~84.97%의 범위였으며, MLS-A는 84.37%로 이는 MSS-D, MSS-E와 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 여타의 시판 버섯에 비해서 유의적으로 높은 활성이었다. 환원력은 MLS-A가 321.18 μM 로 시판 버섯에 비해 유의적으로 높은 활성이었다. 시판 버섯은 195.23~317.85 μM 의 범위로 시료간에 유의적인 차이를 보였다.

폴리페놀 함량이 많을수록 항산화 활성이 증가한다고 하였으나 이와 달리 본 연구 결과에서는 다소 다른 경향을 보였는데(Knag YH et al., 1996), 이는 폴리페놀 외에도 다양한 항산화 물질이 복합적으로 활성을 보인다는 보고(Choi CW et al., 2002; Vundac VB et al., 2007)를 토대로 볼 때, 총 페놀 및 플라보노이드 외에도 β -glucan과 같은 다양한 물질이 관여한 것으로 판단된다. 또한 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성이 상이한 결과를 보이는 것은 라디칼의 종류가 다르고, 여러 종류의 항산화 물질이 2종류의 라디칼과 결합하는 정도가 다르기 때문이라는 보고가 있다(Jin SY, 2011).

Table 63. Antioxidant activities in 80% methanol extract of *Lentinula edodes* cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

Kinds of mushroom ¹⁾	Antioxidant activities		
	DPPH radical scavenging (%)	ABTS radical scavenging (%)	Reducing power (μM)
MLS-A	78.01±0.56 ^C	84.37±0.68 ^C	321.18±3.19 ^E
MSS-B	78.91±0.29 ^C	82.99±0.23 ^B	248.80±0.74 ^B
MSS-C	76.82±0.80 ^B	83.57±0.15 ^B	276.65±1.49 ^D
MSS-D	78.58±0.74 ^C	84.34±0.28 ^C	259.04±1.43 ^C
MSS-E	79.04±0.71 ^C	84.97±0.18 ^C	317.85±1.42 ^E
MSS-F	74.92±0.63 ^A	80.47±0.41 ^A	195.23±3.04 ^A

¹⁾Refer to the Fig. 19

^{A-E}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

다. 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯과 시판 버섯의 품질특성 및 생리활성 비교

본 연구과제를 통해 개발된 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯과 시판 버섯의 품질특성 및 생리활성을 비교하고자 하였다.

1) 꽃송이버섯의 일반성분

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)과 고체종균으로 생산된 시판 꽃송이버섯 2종(SS-1, 2)의 일반성분 함량을 비교한 결과는 Table 64와 같다.

수분 함량은 95.63~95.83%의 범위로 LS-CM과 시판 버섯간에 유의차가 없었다. 회분 및 조지방 함량 또한 LS-CM과 시판 버섯간에 유의적인 차이가 없었다. 조단백질 함량은 LS-CM이 2.19%로 가장 높았는데, 이는 SS-1보다는 유의적으로 높았으나, SS-2와는 유의차가 없었다. 탄수화물은 LS-CM과 시판 버섯간에 유의차를 보이지 않았다.

꽃송이버섯의 갓과 대의 일반성분을 분석한 결과, 회분은 0.3~0.5%, 조단백질은 0.9~1.5%, 탄수화물은 3.5~4.4%로 보고된 바 있는데(Seo SH et al., 2016), 본 연구에서 회분 및 조단백질 함량과는 유사한 경향이였다.

Table 64. Proximate composition of cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

(%)

Kinds of mushroom	Moisture	Ash	Crude lipids	Crude protein	Carbohydrate
LS-CM	95.63±0.55 ^{NS}	0.66±0.25 ^{NS}	0.18±0.06 ^{NS}	2.19±0.01 ^B	1.34±0.25 ^{NS}
SS-1	95.83±0.66	0.73±0.09	0.19±0.02	1.38±0.06 ^A	1.88±0.62
SS-2	95.70±0.08	0.69±0.03	0.16±0.02	2.18±0.01 ^B	1.26±0.10

LS-CM: cauliflower mushroom(*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn

SS-1, SS-2: Marketed cauliflower mushroom cultivated with solid spawn

All values are mean±SD (n=3)

^{A-B}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Carbohydrate=100 - (moisture+ash+crude lipids+crude protein).

NS: not significant

2) 꽃송이버섯의 무기물 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)과 고체종균으로 생산된 시판 꽃송이버섯 2종(SS-1, 2)의 무기물 함량을 분석한 결과는 Table 65와 같다.

무기물은 K(칼륨), Ca(칼슘), Mg(마그네슘), Na(나트륨), Mn(망간), Fe(철), Al(알루미늄), P(인) 등 총 8종이 검출되었다. 무기물의 총량은 LS-CM이 205.92 mg/100 g으로 SS-2(216.65 mg/100 g)에 비해 유의적으로 낮았으나, SS-1(188.29 mg/100 g)에 비해서는 유의적으로 높은 함량이었다. 무기물 중 칼륨의 함량이 가장 많았으며, 다음으로 인(P), 나트륨(Na), 칼슘(Ca)의 순이었는데, 액체종균으로 생산된 LS-CM에서 Na 및 Ca의 함량이 시판 버섯에 비해 다소 높은 함량이었다.

꽃송이버섯 건조분말의 무기물 함량은 칼륨(K)이 1299.44 mg/100 g으로 가장 많았으며, 다음으로 인(P)이 104.73 mg/100 g, 나트륨(Na)이 98.21 mg/100 g이었다고 보고되어 있는데(Shin HJ et al., 2007), 무기물의 함유량은 본 연구 결과와 비슷한 경향이었다.

Table 65. Mineral contents of cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

(mg/100 g)

	Kinds of mushroom		
	LS-CM	SS-1	SS-2
K	124.32±0.78	131.72±2.56	131.62±2.43
Ca	10.12±0.20	9.72±0.07	9.74±0.07
Mg	6.43±0.11	6.14±0.04	6.78±0.06
Na	12.28±0.10	9.26±0.05	10.07±0.05
Fe	2.32±0.03	3.05±0.13	2.45±0.02
Al	2.02±0.03	1.11±0.01	1.55±0.01
P	48.43±0.89	27.31±0.75	54.45±0.61
Total	205.92±1.69 ^B	188.29±2.75 ^A	216.65±2.94 ^C

LS-CM: cauliflower mushroom(*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn

SS-1, SS-2: Marketed cauliflower mushroom cultivated with solid spawn

All values are mean±SD (n=3)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

3) 꽃송이버섯의 구성아미노산 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)과 고체종균으로 생산된 시판 꽃송이버섯 2종(SS-1, 2)의 구성아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 66과 같다.

총 16종의 구성아미노산이 검출되었으며, 구성아미노산의 총량은 LS-CM에서 1506.76 mg/100 g이었는데, 이는 SS-2(1639.04 mg/100 g)보다는 낮고 SS-1(1344.56 mg/100 g)보다는 높은 함량이었다. 필수아미노산 함량도 구성아미노산의 총량과 유사한 경향으로 LS-CM에서 354.31 mg/100 g으로 SS-1과 SS-2의 함량의 중간값으로 나타났으며, 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 시료간에 비슷한 경향이었다.

건조한 꽃송이 자실체에서 구성아미노산의 함량은 glutamic acid(1960 mg/100 g)와 aspartic acid(968 mg/100 g)가 높은 함량인 반면 필수아미노산인 phenylalanine(253 mg/100 g)은 비교적 낮은 함량인 것으로 보고되어 있는데(Shin HJ et al., 2007), 본 연구에서 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)에서 glutamic acid(112.94 mg/100 g), aspartic acid(80.93 mg/100 g) 및 필수아미노산인 phenylalanine(114.71 mg/100 g)의 함량은 상기 보고에 비해 낮은 수준이었다. 이는 본 연구에서 사용한 시료가 건조되지 않은 자실체로 분석된 바, 시료 중의 수분 함량에 기인된 결과라 사료된다.

Table 66. Contents of composition amino acids in cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

(mg/100 g)

	Kinds of mushroom		
	LS-CM	SS-1	SS-2
Aspartic acid	80.93	69.94	90.63
Threonine*	34.72	30.63	39.90
Serine	38.52	32.80	43.92
Glutamic acid	112.94	87.68	125.60
Glycine	34.83	30.42	39.86
Alanine	45.13	39.82	52.61
Valine*	40.71	36.79	46.85
Methionine*	9.27	8.26	11.35
Isoleucine*	30.15	26.75	34.59
Leucine*	56.45	52.07	64.84
Tyrosine	21.48	20.09	26.08
Phenylalanine*	114.71	109.29	126.17
Histidine*	16.59	14.79	19.03
Lysine*	51.71	43.49	61.33
Ammonium chloride	780.82	707.27	812.49
Arginine	37.79	34.46	43.79
Essential amino acids*	354.31	322.06	354.31
Essential/Total (%)	23.51	23.95	23.51
Total amino acids	1506.76	1344.56	1639.04

LS-CM: cauliflower mushroom(*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn

SS-1, SS-2: Marketed cauliflower mushroom cultivated with solid spawn.

4) 꽃송이버섯의 유리아미노산 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)과 고체종균으로 생산된 시판 꽃송이버섯 2종(SS-1, 2)의 유리아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 67과 같다.

유리 아미노산은 총 12종이 검출되었으며, 유리 아미노산 총량은 LS-CM이 115.46 mg/100 g 이었는데, 이는 SS-2(118.07 mg/100 g)보다는 낮고, SS-1(102.24 mg/100 g)보다는 높은 함량이었다.

본 연구에서 검출되지 않은 aspartic acid 및 glutamic acid가 건조된 꽃송이버섯의 유리아미노산의 측정 시 검출된 바 있는데(Shin HJ et al., 2007), 이는 본 연구에서 건조되지 않은 버섯 자실체를 시료로 사용하였기 때문에 시료 중의 수분 함량에 기인된 결과라 사료된다.

Table 67. Contents of free amino acids in cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

	Kinds of mushroom ¹⁾		
	LS-CM	SS-1	SS-2
Threonine	6.43	4.65	5.85
Serine	9.96	6.98	9.30
Sarcosine	20.46	20.00	20.25
Glycine	2.67	1.74	2.72
Alanine	13.53	9.78	13.69
Cystathionine	18.25	17.43	18.38
Leucine	13.33	14.50	12.17
GABA	-	3.38	-
Ammonium chloride	24.01	17.76	27.66
Ornithine	4.27	1.96	6.00
Lysin	2.54	4.06	2.03
Total amino acids	115.46	102.24	118.067

LS-CM: cauliflower mushroom(*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn

SS-1, SS-2: Marketed cauliflower mushroom cultivated with solid spawn.

5) 꽃송이버섯의 총당 및 환원당 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)과 고체종균으로 생산된 시판 꽃송이버섯 2종(SS-1, 2)의 총당 및 환원당 함량을 비교한 결과는 Fig. 27과 같다.

총당 함량은 LS-CM이 163.31 mg/100 g이었는데, SS-2(174.51 mg/100 g)보다는 낮고, SS-1(115.84 mg/100 g)보다는 높은 함량이었다. 반면 환원당 함량은 SS-1가 74.91 mg/100 g으로 가장 높았고, 다음으로 LS-CM(71.13 mg/100 g), SS-2(69.46 mg/100 g)순이었다.

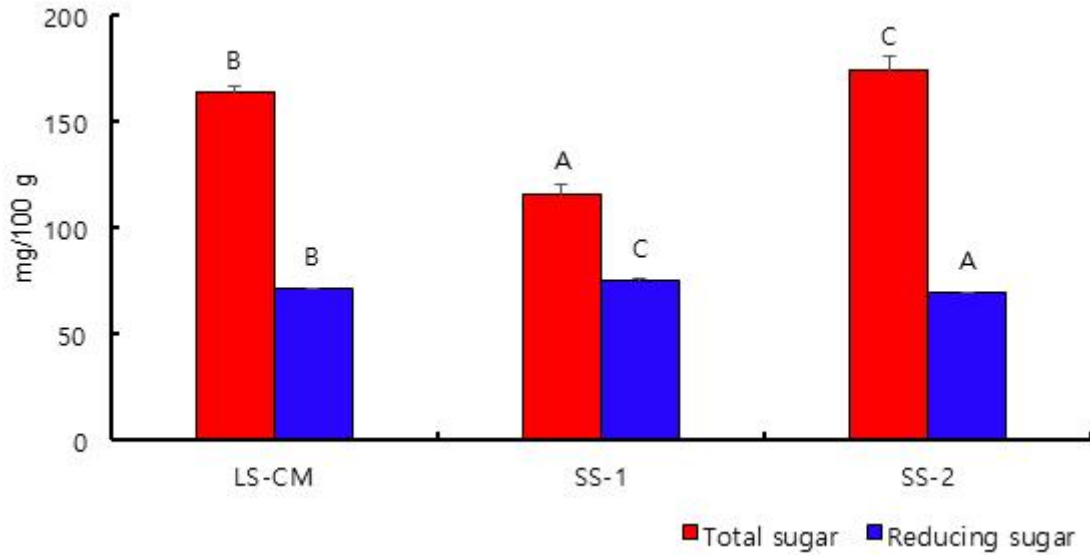


Fig. 27. Content of total and reducing sugar in cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially.

LS-CM: cauliflower mushroom(*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn

SS-1, SS-2: Marketed cauliflower mushroom cultivated with solid spawn

All values are mean±SD ($n=4$)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

6) 꽃송이버섯의 β -glucan 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)과 고체종균으로 생산된 시판 꽃송이버섯 2종(SS-1, 2)의 β -glucan 함량을 분석한 결과는 Fig. 28과 같다.

Total glucan함량은 LS-CM이 55.26 g/100 g으로 가장 많았고, 다음으로 SS-2(53.07 g/100 g), SS-1(41.22 g/100 g)의 순이었다. α -Glucan 함량 또한 total glucan 함량과 일치하는 경향으로 LS-CM이 2.18 g/100 g으로 가장 많았고, SS-2와 SS-1는 각각 2.07, 1.22 g/100 g이었다. β -Glucan 함량은 LS-CM이 여타 시판 버섯보다 유의적으로 높았고(53.09 g/100 g), SS-2는 51.00 g/100 g, SS-1는 40.01 g/100 g이었다.

민주름버섯목(*Aphyllporales*), 꽃송이버섯과(*Sparassidaceae*)에 속하는 꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)은 한국, 일본, 중국, 북아메리카 및 유럽 등지에서 자생하며, 씹는 질감이 부드럽고 맛이 좋아 식용으로서 가치가 높은 식품으로 알려져 있다(Shin HJ et al., 2007).

Harada T et al.(2002)은 백혈병 감소증을 유도한 실험동물에 대해 꽃송이버섯 유래 β -glucan 이 사이토카인 생성을 촉진함으로써 조혈효과를 보임을 입증하였다. 이상과 같이, 꽃송이버섯의 우수한 약리효과는 꽃송이버섯 내 β -glucan 함량(43.6%)이 타 버섯과 비교하여 2배 이상 많기

때문이라는 보고가 있다(Harada T et al., 2002; Lee YT & Kim YS, 2005).

일본에서 재배된 꽃송이버섯에 약 40 g/100 g의 β -glucan이 함유된 것으로 보고된 바 있다 (Ohno N et al., 2000; Yamamoto K et al., 2009). 이는 본 연구에서의 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(53.09 g/100 g)은 상기 보고보다 더 많다는 것이 확인되었다.

한편 Nanoknife를 이용하여 꽃송이버섯으로부터 β -glucan 함량이 70%인 추출물을 얻을 수 있음이 보고된 바 있다(Park HG et al., 2009). 그러나 Nanoknife를 사용한 추출법은 산업화로 적용 시 고가의 시설을 필요로 한다는 한계점이 있다. 더욱이 β -glucan은 버섯 추출물 뿐 아니라 추출 후 침전물에도 존재하기 때문에 버섯 추출액보다는 버섯 자실체 전체를 섭취하는 것이 오히려 효과적일 것으로 사료된다.

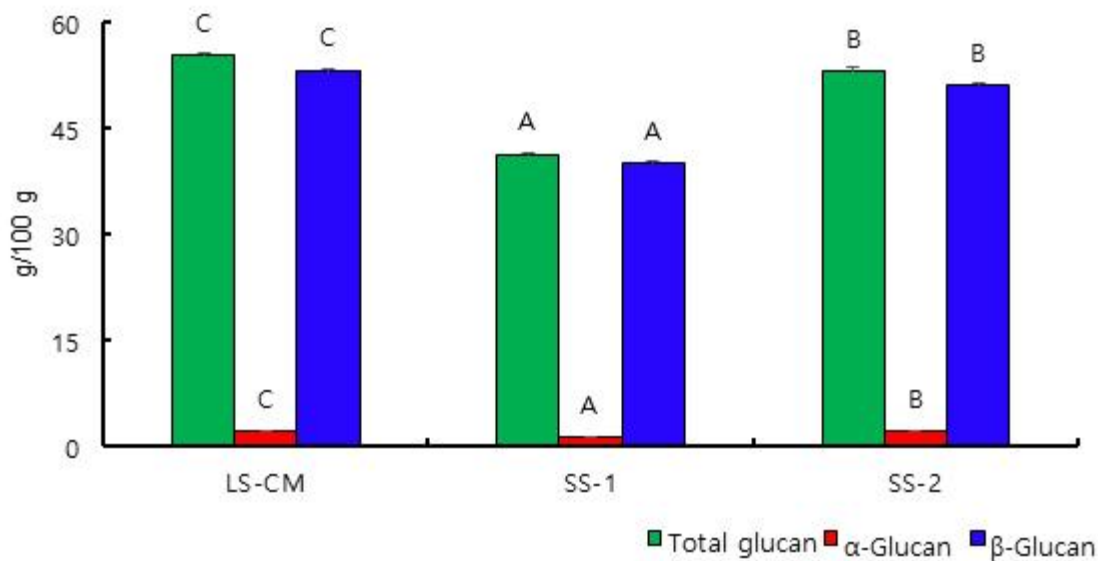


Fig. 28. Content of β -glucan in cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially.

LS-CM: cauliflower mushroom(*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn

SS-1, SS-2: Marketed cauliflower mushroom cultivated with solid spawn

All values are mean \pm SD ($n=3$)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

7) 꽃송이버섯의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)과 고체종균으로 생산된 시판 꽃송이버섯 2종(SS-1, 2)의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Fig. 29와 같다.

총 페놀 함량은 SS-1가 3.18 mg/100 g으로 가장 많았고, 다음으로 SS-2(2.60 mg/100 g), LS-CM(2.60 mg/100 g)순으로 LS-CM이 가장 낮은 함량이었다. 플라보노이드 함량 또한 유사한 경향으로 SS-1와 SS-2가 각각 1.10, 1.02 mg/100 g으로 LS-CM(0.87 mg/100 g)보다 높은 수준이었지만, 시료 간에 유의차는 없었다.

일반적으로 버섯의 성분은 버섯의 품종, 생육 배지, 기질 조성, 수확시기, 재배법 등의 다양한 생육인자에 따라 달라지는 것으로 알려져 있는데(Barros L et al., 2007), 액체종균으로 생산된 꽃송이 버섯(LS-CM)과 시판 버섯(SS-1, 2)의 총 페놀 및 플라보노이드 함량차는 종균에 따른 재배 방법, 그리고 배지의 영양성분 및 재배 환경 등과 밀접한 관련이 있을 것으로 사료된다.

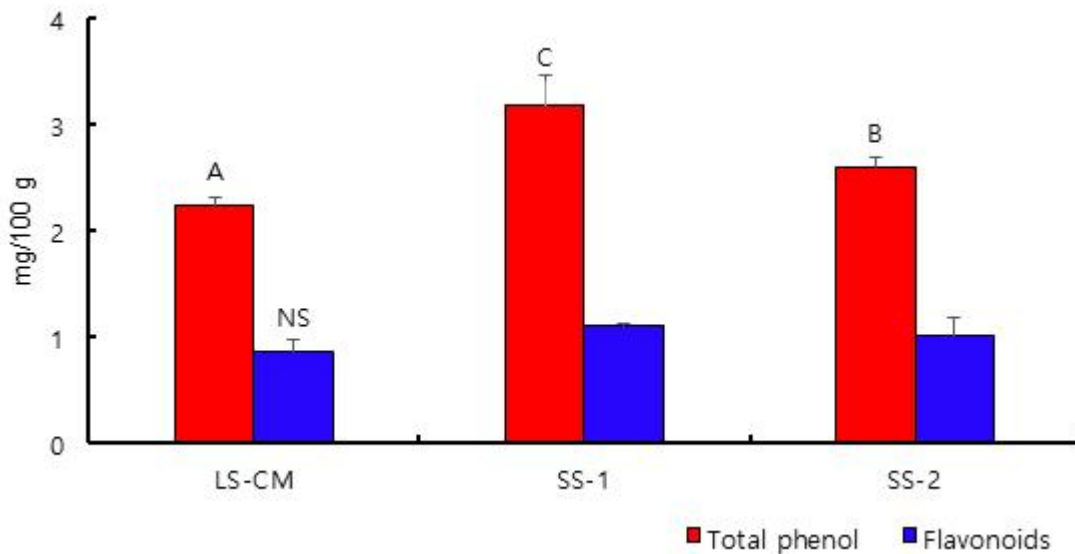


Fig. 29. Content of total phenols and flavonoids in cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially.

LS-CM: cauliflower mushroom(*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn

SS-1, SS-2: Marketed cauliflower mushroom cultivated with solid spawn

All values are mean±SD (n=4)

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

NS; not significant

8) 꽃송이버섯의 항산화 활성

본 연구에서 개발한 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)과 고체종균으로 생산된 시판 꽃송이버섯 2종(SS-1, 2)의 항산화 활성을 분석한 결과는 Table 68과 같다.

DPPH 라디칼 소거활성은 20 mg/mL 농도 이상에서는 LS-CM과 시판 버섯간에 유의차가 없었으나, 2.5~10 mg/mL 농도에서는 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)에서 유의적으로 높은 활성이었다. 특히 5 mg/mL 농도에서는 시판 버섯이 약 40% 미만의 활성인 반면에 LC-CM은 65.58%의 높은 활성을 보였다.

ABTS 라디칼 소거활성은 DPPH 라디칼 소거활성과 유사한 경향으로 20 mg/mL이상의 농도에서 87%이상의 활성으로 시료간에 유의차가 없었으나, 2.5~10 mg/mL 농도에서는 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)이 시판 버섯에 비해 월등히 높은 활성을 보였다. 2.5 mg/mL 농도에서는 시판 버섯에서 20% 미만의 낮은 활성이었으나, LS-CM은 32% 정도의 활성을 보였으며, 5 mg/mL 농도에서는 시판 버섯이 약 45% 정도의 활성이었는데, 액체종균으로 생산된 LS-CM에서는 71%의 높은 활성을 보였다.

환원력은 모든 농도 범위(2.5~40 mg/mL)에서 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯(LS-CM)에서 시판 버섯에 비해 유의적으로 높은 활성이었다.

꽃송이버섯 균사체의 항산화 활성 연구에서 꽃송이버섯에서 기인한 폴리페놀 성분들에 의해 활성산소 소거에 의한 항산화 효과를 보인다(Liang CH et al., 2010). 또한 버섯류에서 총 페놀 함량과 항산화 활성간에 상관관계를 보이는 것으로 알려져 있으나(Hong MH et al., 2012; Gan CH et al., 2013), 본 연구결과에서는 액체종균으로 생산된 버섯과 시판 버섯의 총 페놀 및 플라보노이드 함량에 대차를 보이지 않았음에도 불구하고 항산화 활성에는 큰 차이를 보인 바, 꽃송이버섯의 항산화 활성에 관여하는 다른 물질이 존재하는 것으로 짐작된다.

Table 68. Antioxidant activities in 80% methanol extract of cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn experimentally and cultivated with solid spawn commercially

	Concentration of mushroom extract (mg/mL)				
	2.5	5	10	20	40
DPPH radical scavenging					
LS-CM	36.43±1.30 ^{aB}	65.58±0.34 ^{bC}	78.44±0.47 ^{cC}	77.94±0.21 ^{cNS}	78.26±0.34 ^{cNS}
SS-1	18.37±0.75 ^{aA}	36.83±0.36 ^{bA}	66.35±0.44 ^{cA}	78.13±0.34 ^d	78.81±0.32 ^d
SS-2	19.28±0.28 ^{aA}	40.75±0.34 ^{bB}	67.26±0.27 ^{cB}	78.13±0.39 ^d	78.63±0.42 ^d
ABTS radical scavenging					
LS-CM	32.93±0.64 ^{aC}	71.11±0.51 ^{bC}	90.69±0.18 ^{eC}	89.27±0.15 ^{dNS}	87.67±0.13 ^{cA}
SS-1	14.23±0.42 ^{aA}	38.58±0.33 ^{bA}	75.57±0.48 ^{cA}	89.24±0.69 ^e	87.98±0.20 ^{dA}
SS-2	18.77±0.35 ^{aB}	45.76±0.61 ^{bB}	85.21±0.54 ^{cB}	90.06±0.16 ^e	89.07±0.12 ^{dB}
Reducing power by FRAP					
LS-CM	91.13±3.48 ^{aC}	139.88±1.62 ^{bC}	216.85±0.65 ^{cC}	308.31±1.13 ^{dC}	396.85±1.10 ^{eC}
SS-1	51.54±1.18 ^{aA}	91.13±0.31 ^{bA}	150.19±0.54 ^{cA}	233.21±0.48 ^{dA}	341.96±1.48 ^{eA}
SS-2	58.00±1.43 ^{aB}	96.54±1.54 ^{bB}	156.33±2.30 ^{cB}	251.65±2.03 ^{dB}	359.04±2.53 ^{eB}

LS-CM: cauliflower mushroom (*Sparassis crispa*) cultivated with liquid spawn

SS-1, SS-2: Marketed cauliflower mushroom cultivated with solid spawn

Means with different superscripts in the same column (A-C) and same row (a-e) are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

NS: not significant.

제 3 장. 목표 달성도 및 관련분야 기여도 결과

제 1절 목표

- 느타리, 표고 및 꽃송이버섯의 재배를 위한 액체종균의 대량생산 공정 개발
 - 액체종균의 최적 배지 조성 및 배양조건 확립
 - 액체종균의 안전성 확보
 - 액체종균 배양 기간 단축(툽밥고체종균의 1/2로 단축)
 - 액체종균의 대량생산

- 액체종균의 농가 적용 및 버섯 현장 재배

- 고체종균 및 액체종균 버섯의 이화학적 특성 및 생리활성 비교 검토
 - 액체종균 배지에 의한 버섯의 품질특성 및 기능성 구명

- 액체종균으로 생산된 버섯(느타리버섯, 표고버섯 및 꽃송이버섯)으로부터 2차 가공소재 개발

- 특허출원 1건(액체종균 배지 조성 및 배양 조건 확립),

- 비SCI 논문 2건, 학회 발표 3건(액체종균 배양에 의한 버섯의 품질특성 및 생리활성 비교

- 전문인력 양성 1명(액체종균 배양, 버섯 재배 및 연구 인력)

제 2절 목표 달성여부

- 1차년도(2017년)

세부연구목표	평가 착안점	달성도 (%)	연구개발 수행내용
■ 느타리버섯의 영양성분 및 생리활성 평가	- 느타리버섯 액체종균 배양액의 최적 조건 확립 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 실험실에서 PDB 배지로 느타리버섯 액체종균의 배양 유무를 확인하였으며, 배양액의 최적 조건을 pH 6으로 설정하였음 ▶ 설탕과 포도당 함량을 달리한 대두박 배지에 의한 느타리버섯 액체종균의 최적 배양 조건은 포도당 20 g이 첨가된 대두박 배지에서 균체의 생장이 가장 많은 것으로 확인되었음
	- 액체종균에 의한 느타리버섯의 생육특성 분석 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 톱밥배지에 대한 액체종균의 접종량의 설정과 동일조건에서 느타리버섯('흑타리')의 액체종균과 고체종균을 이용하여 재배된 버섯 자실체의 중량을 시험한 결과 액체종균으로 생산된 느타리버섯에서 유의적으로 높았음 ▶ 느타리버섯 액체종균의 최적 접종량은 900 mL의 병재배 시 15~20 mL가 적절하였음
	- 고체종균과 액체종균으로 생산된 느타리버섯의 영양성분 및 생리활성 비교 여부		<ul style="list-style-type: none"> ▶ 동일조건에서 액체종균과 고체종균으로 재배된 느타리버섯의 품질특성으로 색도, 조직감을 측정하였고, 영양 및 기능성으로는 일반성분, 무기물, 아미노산, 총당, 환원당 및 β-glucan 함량, 항산화활성 및 그 유효성분 함량을 비교 분석하였음 ▶ 액체종균으로 생산된 버섯이 시판 버섯에 비해 조직감이 우수하고 단백질, 아미노산 함량이 높았으나, β-glucan 함량은 대차가 없었음. 항산화활성은 시판 버섯 또는 동일품종의 고체종균으로 생산된 버섯에 비해 유의적으로 활성이 높았음
	- 액체종균으로 재배된 느타리버섯의 분말 가공품 제조 여부		<ul style="list-style-type: none"> ▶ 액체종균으로 재배한 느타리버섯을 천일건조(슬라이스된 버섯을 햇빛에서 5일간 건조), 열풍건조(열풍건조기, 50~70°C, 3일), 동결건조(진공동결건조기 사용) 건조시켰음. 블렌딩하여 80~120 mesh의 분말제품을 얻었음 ▶ 건조분말의 품질특성은 동결·천일 건조품이 열풍건조품보다 우수하였음
■ 액체종균의 대량생산 및 느타리버섯의 재배	- 느타리버섯 액체종균의 대량생산 공정 개발 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 느타리버섯의 액체종균 개발을 위한 대량생산 공정을 설정하였음. 액체종균 배양에 총 30~40일이 소요됨
	- 실험실, 입봉실, 배양실, 생육실 및 저장고의 안전성 확보 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ PDA, NA 평판배지를 제조하여 공중낙하균의 오염도를 측정함: 느타리버섯 재배 실험실, 입봉실, 배양실, 생육실 및 저장고에서 미생물 오염에 의한 안전성이 확보되었음 ▶ 종균 생산 전 과정 중 오염여부를 확인하기 위하여 실험 전 평판배지상에서 공중낙하균의 오염 여부를 시험한 결과 실험초기에 약간 발생하였으나 연구개발 중반 이후부터는 발생되지 않았음
	- 느타리버섯 액체종균의 농가 보급 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 개발된 액체종균을 농가에 판매하여 수익을 창출하였음

- 2차년도(2018년)

세부연구목표	평가 착안점	달성도 (%)	연구개발 수행내용
■ 표고버섯의 영양 성분 및 생리활성 평가	-표고버섯 액체종균 배양액의 최적 조건 확립 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 실험실에서 PDB 배지에 의한 표고버섯 액체종균의 최적 배양 기간은 10~14일이며, pH 5~6이 적절하였음 ▶ 설당과 포도당 함량을 달리한 대두박 배지에 의한 표고버섯 액체종균의 배양 시 당 함량이 많을 경우 배양 기간이 단축되었음
	-액체종균에 의한 표고버섯의 생육특성 분석 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 톱밥 봉지 재배(1.7 kg)시 액체종균의 최적 접종량은 45 mL였으며, 액체종균의 배양 15~18일경에 배지표면의 균사 성장이 완료되었으며, 총 배양기간은 90일이었음
	-고체종균과 액체종균으로 생산된 표고버섯의 영양성분 및 생리활성 비교 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 표고버섯은 수확주기가 경과됨에 따라 일반성분 함량은 변화가 없었으며, 아미노산과 β-glucan 함량 및 항산화 활성이 감소되었음 ▶ 액체종균으로 생산된 표고버섯은 고체종균으로 생산된 시판 버섯의 영양성분 및 생리활성과 유사한 경향이었음. 액체종균으로 생산된 버섯에서 감칠맛 성분 비율 및 환원력이 높았음
■ 꽃송이버섯의 영양 성분 및 생리활성 평가	-꽃송이버섯 액체종균 배양액의 최적 조건 확립 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 실험실에서 PDB 배지로 꽃송이버섯 액체종균의 배양 시 pH 4~5.6일 때 배양 10~14일까지 배지가 산성화로 유지되었음. pH 4.5일 때 배양 14일 경과 후 배지의 균체 성장이 완성되었음 ▶ 설당과 포도당 함량을 달리한 엿기름 배지에서 꽃송이버섯 액체종균의 배양 시 포도당 20~30 g이 첨가된 배지에서 배양 10~14일경에 균사 성장이 일정하게 유지되었음
	-액체종균에 의한 꽃송이버섯의 생육특성 분석 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 톱밥 병재배(1100 mL) 시 액체종균의 최적 접종량은 17 mL였으며, 액체종균의 접종 후 배양 기간은 30일, 버섯의 생육기간은 30일 소요되었음
	-고체종균과 액체종균으로 생산된 꽃송이버섯의 영양성분 및 생리활성 비교 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 액체종균으로 생육된 꽃송이버섯은 고체종균으로 생산된 시판 버섯의 영양성분 및 생리활성과 유사한 경향이었음. 액체종균으로 생산된 버섯에서 β-glucan 함량 및 항산화 활성이 높았음
■ 표고 및 꽃송이버섯 액체종균의 대량생산 및 버섯의 재배	-표고 및 꽃송이버섯 액체종균의 대량생산 공정 개발 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 표고 및 꽃송이버섯의 액체종균 개발을 위한 대량생산 공정을 설정하였음 ▶ 표고버섯의 액체종균 배양기간은 90일, 생육기간은 14일 소요되어 고체종균으로 배양 시(150일 소요)보다 단축됨을 확인하였음 ▶ 꽃송이버섯의 액체종균은 배양기간 30일, 버섯의 생육기간은 30일 소요됨 ▶ 액체종균으로 생산된 표고버섯은 현재 양산되고 있는 중임
	-실험실, 입봉실, 배양실 및 생육실의 안전성 확보 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> ▶ PDA, NA 평판배지를 제조하여 공중낙하균의 오염도를 측정함: 표고 및 꽃송이버섯 재배를 위한 실험실, 입봉실, 배양실 및 생육실에서 미생물 오염에 의한 안전성이 확보되었음 ▶ 액체종균의 생산 전 과정에서 미생물 오염에 대한 안전성은 확보되었음. 반면 꽃송이버섯의 경우 생육과정에서 미약한 오염이 발생하였음

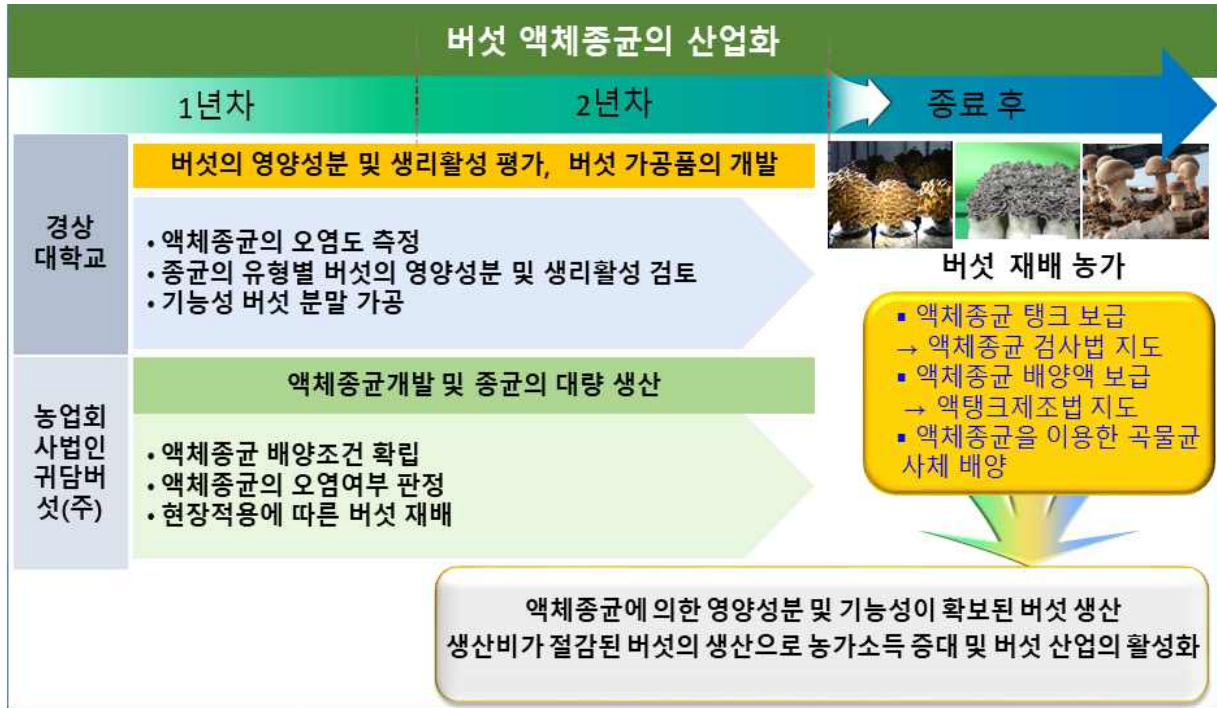
제 3절 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 꽃송이버섯의 액체종균 배양액의 최적 조건 설정은 완료되었음
- 액체종균에 의한 꽃송이버섯의 대량생산 미달성 : 현재 국내 꽃송이버섯 재배농가의 판로 부족, 수익성 감소, 꽃송이버섯의 수요 감소 등의 이유로 생산이 중단된 실정이므로 본 기업에서도 액체종균에 의한 꽃송이버섯의 대량 생산은 중단된 실정임
- 따라서, 차후대책으로 꽃송이버섯의 액체종균 배양액을 이용하여 곡물에 배양하여 꽃송이버섯 균사체를 생산할 예정임. 꽃송이버섯 균사의 배양은 여타의 버섯 균사에 비해 강한 산성도를 요구하므로 곡물배지의 산성도 조절이 주요 문제점으로 대두됨.
- 현재 곡물배지의 산성도 조절 문제를 해결하였으며, 곡물배지에 대한 꽃송이버섯 균사체 생장을 예비실험으로 확인한 바 β -glucan 함량이 증가된 꽃송이버섯보다는 균사 배양액을 이용한 기능성 제품의 개발이 더 효율적일 것으로 사료됨

제 4 장. 연구결과의 활용 계획

- 느타리버섯 액체종균 생산을 위한 배양조건 최적화 및 안전성이 확보된 배양액의 생산으로 느타리버섯 재배 농가에 저렴한 가격으로 보급.
- 안전성이 확보된 액체종균의 보급으로 고품질의 버섯 생산과 작업성 향상으로 농가 소득 증대.
- 단기간의 액체종균 생산으로 저비용의 종균보급
- 버섯의 액체종균 배양 및 품질 관리 시스템 확보.
- 액체종균 배양의 표준화 및 생산 관리 체계화.
- 본 연구과제 결과를 국내 식품 전문 학술지에 게재 및 학회 발표를 통하여 액체종균 버섯의 영양적·기능적 특성 홍보용 자료로 활용.
- 액체종균을 이용한 버섯 생산 관리 매뉴얼 작성을 위한 기초자료 제공.
- 기술적 측면
 - 버섯 액체종균의 이용으로 재배기간 단축, 인건비 절감 및 작업 효율성 향상
 - 액체종균의 오염여부를 신속 진단하므로써 안전한 종균의 보급 및 재배 농가의 피해 최소화
 - 기존 고체종균에 비해 균질화된 양질의 액체배지의 연중 보급 가능
 - 액체종균은 병재배 농가, 종균 배양소, 배양센터 등에서 자가종균의 배양용으로 활용이 가능함.
- 경제 산업적 측면
 - 액체종균의 사용으로 재배 농가의 종균 구입비용 절감 및 농가 소득 증대
 - 버섯종균의 생산 비용 절감에 따른 버섯가격의 안정화
 - 원가 절감된 버섯의 생산으로 버섯 가공품의 원재료 수급 및 가격 안정화
 - 액체종균의 생산을 위한 무균상태의 설비와 숙련된 기술이 요구되나, 활력이 높은 버섯균의 생산이 가능하여 버섯의 낮은 저장성 문제의 해결 및 농가의 경제적 이익 창출.
 - 지속적인 계약 재배 및 농가 소득 상승에 따른 버섯 가격 안정화
 - 액체종균은 고체종균에 비해 기능성이 향상된 상품의 버섯 생산이 가능하고, 이를 가공할 경우 버섯의 소비를 촉진시킬 수 있음.

- 액체종균은 고체종균에 비해 배지에 대한 퍼짐성이 우수함. 따라서 곡물에 액체종균을 접종하여 곡물 균사체 배양에 효율적일 것으로 사료되므로, 가격이 저렴한 액체종균을 이용하여 균사체 배양물을 제조할 경우 수익성이 증가될 수 있음.



<버섯 액체종균의 산업화 추진을 road map >

<붙임>

- 참고문헌

- Ahn GR, Kim JY, Kim S, Lee DH, Kim SH, Son BS, Park MK. 2018. Concentration and diversity of mold in indoor air of the houses located at adjacent and nonadjacent Gwangyang iron works. *J. Odor Indoor Environ.* 17: 191-197.
- Ahn HS, Kim JY, Ko HG, Kim SH. 2017. Investigation of bacterial diversity in the indoor air of greenhouses used for oakwood mushroom cultivation. *J. Odor Indoor Environ.* 16: 287-295.
- Back IS, Lee YH, Jang MJ, Jeoung YK, Lee HB, Chi JH. 2013. Effects of cultural characteristics of *Lentinula edodes* according to LED wavelength with sawdust substrate cultivation. *J. Mushroom Sci. Prod.* 11: 226-229.
- Bae YK, Cho MS. 2008. Analysis of hair tissue mineral contents according to body mass index. *Korean J. Food Nutr.* 21: 256-262.
- Bak WC, Park JH, Park YA, Ka KH. 2014. Determination of glucan contents in the fruiting bodies and mycelia of *Lentinula edodes* cultivars. *Mycobiology* 42: 301-304.
- Barros L, Ferreira MJ, Ferreira ICFR, Baptista P. 2007. Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem.* 103: 413-419.
- Batbayar S, Lee DH, Kim HW. 2012. Immunomodulation of Fungal β -glucan in host defense signaling by dectin-1. *Biomolecules & Therapeutics* 20: 433-445.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 230: 70-79.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Chan GCF, Chan WK, Sze DMY. 2009. The effect of β glucan on human immune and cancer cells. *J. Hematol. Oncol.* 2: 1-11.
- Cheong JC, Hong IP, Jang KY, Park JS. 2003. Culture condition and inoculation volume of liquid spawn on the bottled cultivation of *Agrocybe cylindracea*. *The Korean Journal of Micology* 31: 94-97.
- Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.* 81: 249-255.
- Cho DB, Hyun KH, Choi JH, Na KC, Seo JS, Kang SK, Kim YD. 2002. Chemical compositions of *Lentinula* in growth stage - A study on application plan of *Lentinula* I -. *Korean J. Plant Res.* 15: 128-134.
- Cho JH, Lee JY, Lee MJ, Oh HN, Kang DH, Jhune CS. 2013. Comparative analysis of

- useful β -glucan and polyphenol in the fruiting bodies of *Ganoderma* spp. J. Mushroom Sci. Prod. 11: 164-170.
- Choi CW, Kim SC, Hwang SS, Choi BK, Ahn HJ, Lee MY, Park SH, Kim SK. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant Science 163: 1161-1168.
- Choi SJ, Lee YS, Kim JK, Kim JK, Lim SS. 2010. Physiological activities of extract from edible mushrooms. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 1087-1096.
- Di CG, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F. 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sci. 65: 337-353.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebert PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substance. Anal Chem. 28: 350-352.
- Eghianruwa Q, Odekanyin O, Kuku A. 2011. Physicochemical properties and acute toxicity studies of a lectin from the saline extract of the fruiting bodies of the shiitake mushroom, *Lentinula edodes* (Berk). Int. J. Biochem. Mol. Biol. 2: 309-317.
- FDA (Food and Drug Administration). 21 CFR Part 101. 2005. Food labeling: Health claims: Soluble dietary fiber from certain foods and coronary heart disease. Federal Register 70: 76150-76162.
- Ferreira IC, Barros L, Abreu RM. 2009. Antioxidants in wild mushrooms. Curr. Med. Chem. 16: 1543-1560.
- Gan CH, Nurul Amira B, Asmah R. 2013. Antioxidant analysis of different types of edible mushrooms (*Agaricus bisporous* and *Agaricus brasiliensis*). IFRJ. 20: 1095-1102.
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 58: 966-968.
- Han HS, Park JH, Choi HJ, Son JH. 2004. Biochemical analysis and physiological activity of perilla leaves. Korean J. Food Culture 19: 94-105.
- Han SR, Kim MJ, Oh TJ. 2015. Antioxidant activities and antimicrobial effects of solvent extracts from *Lentinus edodes*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 1144-1149.
- Harada T, Miura N, Adachi Y, Nakajima M, Yadomae T, Ohno N. 2002. Effect of SCG, 1,3- β -D-glucan from *Sparassis crispa* on the hematopoietic response in cyclophosphamide induced leukopenic mice. Biol. Pharm. Bull. 25: 931-939.
- Havrlentova M, Kraic J. 2006. Content of β -D-glucan in cereal grains. J. Food Nutr. Res. 45: 97-103.
- Hong JS, Kim YH, Kim MK, Kim YS, Sohn HS. 1989. Contents of free amino acids and

- total amino acids in *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*. Korean J. Food Sci. Technol. 21: 58-62.
- Hong JS, Lee KR, Kim YH, Kim DH, Kim MK, Kim YS, Yeo KY. 1988. Volatile flavor compounds of Korean shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). Korean J. Food Sci. Technol. 20: 606-612.
- Hong KH, Kim BY, Kim HK. 2004. Analysis of nutritional components in *Pleurotus ferulea*. Korean J. Food SCI. Technol. 36: 563-567.
- Hong MH, Jin YJ, Pyo YH. 2012. Antioxidant properties and ubiquinone contents in different parts of several commercial mushrooms. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 1235-1241.
- Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. J. Agric. Food Chem. 53: 1841-1856.
- Hwang JB, Yang MO, Shin HK. 1997. Survey for approximate composition and mineral content of medicinal herbs. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 671-679.
- Islam T, Yu X, Xu B. 2016. Phenolic profiles, antioxidant capacities and metal chelating ability of edible mushrooms commonly consumed in China. LWT Food Sci Technol. 72: 423-431.
- Jang MJ, Lee YH, Ju YC. 2008. Development of simple colorimetric method for detecting contamination of liquid spawn of oyster mushroom by pH indicator. Kor. J. Mycol. 36:9-15.
- Jankun J, Selman SH, Swiercz R, Skrzypczak JE. 1997. Why drinking green tea could prevent cancer. Nature 387: 561.
- Jin SY. 2011. Study on antioxidant activities of extracts from different parts of Korean and Iranian pomegranates. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 1063-1072.
- Kang YH, Park YK, Lee GD, 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 232-239.
- Kim CH, Jeong JG. 2009. Antioxidant activities and the effect of reducing serum alcohol concentration of *Lentinus edodes*. Kor. J. Herbology 24: 159-164.
- Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY and Cho YS. 1998. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 1217-1222.
- Kim JT, Kim MJ, Jhune CS, Shin PG, Oh YL, Yoo YB, Suh JS, Kong WS. 2014. Comparison of amino acid and free amino acid contents between cap and stipe in *Flammulina velutipes* and *Pleurotus ostreatus*. J. Mushrooms 12: 341-349.
- Kim JY, Kwon HW, Jang SU, Choi MA, Ko HG, Kim SH. 2014. A study of bacterial

- concentration and species in the indoor air of green houses used for shiitake cultivation. *J. Odor Indoor Environ.* 13: 237-242.
- Kim KJ, Im SB, Yun KW, Je HS, Ban SE, Jin SW, Jeong SW, Koh YW, Cho IK, Seo KS. 2017. Content of proximate compositions, free sugars, amino acids, and minerals in five *Lentinula edodes* cultivars collected in Korea. *J. Mushrooms* 15: 216-222.
- Kim KJ, Seo KS. 2016. Free sugar, amino acid, and beta-glucan content in *Lentinula edodes* strains collected from different area. *J. Mushrooms* 14: 27-33.
- Kim MJ, Chu WM, Park EJ. 2012. Antioxidant and antigenotoxic effects of shiitake mushrooms affected by different drying methods. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 1041-1048.
- Kim NM, Yang JW, Kim WJ. 1993. Effect of ethanol concentration on index components and physicochemical characteristics of cinnamon extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 282-287.
- Kohan G, Pajtinka M, Bavincova M, Miadokova E, RaukoP, Slamenova D, Korolenko TA. 2008. Yeast cell wall polysaccharides as antioxidants and antimutagens: Can they fight cancer? *Neoplasma* 55: 387-393.
- Koinia SS, Shimono M. 1957. Amino acid fermentation, Production of L-glutamic acid by various microorganism. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 3: 193-205.
- Kües U, Liu Y. 2000. Fruiting body production in basidiomycetes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54: 141-152.
- Kwon JH, Byun MW, Cho HO, Kim YJ. 1987. Effect of chemical fumigant and γ -rays on the physicochemical properties of dried oak mushrooms. *Korean J. Food Sci. Technol.* 19: 273-278.
- Lee IK, Ahn SY. 1985. The antioxidant activity of gingerol. *Korean J. Food Sci. Technol.* 17: 55-59.
- Lee JH, Lee BW, Kim B, Kim HT, Ko JM, Baek IY, Seo WT, Kang YM, Cho KM. 2013. Changes in phenolic compounds (isoflavones and phenolic acids) and antioxidant properties in high-protein soybean (*Glycine max* L., cv. Saedanbaek) for different roasting conditions. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 56: 605-612.
- Lee KJ, Yun IJ, Kim HY, Park YH, Ham HJ, Park YH, Joo JH, Lim SH, Kim KH. 2009. Analysis of general components and vitamin and mineral contents of the mushroom *Agrocybe chaxingu*. *Korean J. Food Preserv.* 16: 549-553.
- Lee SH, Kim NW, Shin SR. 2003. Studies on the nutritional components of mushroom(*Sarcodon aspratus*). *Korean J. Food Preserv.* 10: 65-69.
- Lee YS, Kim JB, Shin SR, Kim NW. 2006. Analysis of Nutritional components of

- Lepista nuda*. Korean J. Food Preserv. 13: 375-381.
- Lee YT, Kim YS. 2005. Water-solubility of β -glucans in various edible mushrooms. J. Food Sci. Nutr. 10: 294-297.
- Liang CH, Tsai SY, Huang SJ, Liang ZC, Mau JL. 2010. Taste quality and antioxidant properties of medicinal mushrooms *Phellinus linteus* and *Sparassis crispa* mycelia. Int. J. Med. Mushrooms 12: 141-150.
- Lo KM, Cheung PCK. 2005. Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. alba. Food Chem. 89: 533-539.
- Manzi P, Pizzoferrato L. 2000. Beta-glucans in edible mushrooms. Food Chem. 68: 315-318.
- Mau JL, Chyau CC, Li JY, Tseng YH. 1997. Flavor compounds in straw mushrooms *volvariella volvacea* harvested at different stages of maturity. J. Agric. Food Chem. 45: 4726-4729.
- Mau JL, Lin HC, Song SF. 2002. Antioxidant properties of several specialty mushroom. Food Res. Int. 35: 519-526.
- Mendez LA, Sandoval Castro CA, Belmar Casso R, Capetillo Leal CM. 2005. Effect of substrate and harvest on the amino acid profile of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). J. Food Comp. Anal. 18:447-450
- Michalak A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Pol. J. Environ. Stud. 15: 523-530.
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-428.
- Mizuno M, Morimoto M, Minato K, Tsuchida H. 1998. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. Biosci. Biotechnol. Biochem. 62: 434-437.
- Moon GS, Ryu BM and Lee MJ. 2003. Components and antioxidative activities of buchu (Chinese chives) harvested at different times. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 493-498.
- Moreno MIN, Isla MI, Sanpietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. J. Entropharmacol. 71: 109-114.
- Nakajima A, Ishida T, Koga M, Takeuchi M. 2002. Effect of hot water extract from *Agaricus blazei* Murill on antibody producing cells in mice. Int. Immunopharmacol. 2: 1205-1211.
- Oba K, Kobayashi M, Matsui T, Kodera Y, Sakamoto J. 2009. Individual patient based

- meta-analysis of lentinan for unresectable/recurrent gastric cancer. *Anticancer Res.* 29: 2739-2745.
- Ohno N, Miura NN, Nakajima M, Yadomae T. 2000. Antitumor 1,3- β -glucan from cultured fruit body of *Sparassis crispa*. *Biol. Pharm. Bull.* 23: 866-872.
- Oka M, Hazama S, Suzuki M, Wang F, Wadamori K, Iizuka N, Takeda S, Akitomi Y, Ohba Y, Kajiwara K, Suga T, Suzuki T. 1996. *In vitro* and *in vivo* analysis of human leukocyte binding by the antitumor polysaccharide, lentinan. *Int. J. Immunopharmacol.* 18: 211-216.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J. Nutr.* 44: 307-315.
- Park HG, Shim YY, Choi SO, Park WM. 2009. New method development for nanoparticle extraction of water-soluble β -(1 \rightarrow 3)-D-glucan from edible mushrooms, *Sparassis crispa* and *Phellinus linteus*. *J. Agric. Food Chem.* 57 : 2147-2154.
- Park JS, Na HS. 2005. Quality characteristics of Jocheong containing various level of *Lentinula edodes* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 1082-1090.
- Park YA, Bak WC, Ka KH, Koo CD. 2016. Comparison of β -glucan contents of *Lentinula edodes* cultivated on sawdust according to medium composition and fruiting temperature. *Kor. J. Mycol.* 44: 296-299.
- Park YA, Bak WC, Ka KH, Koo CD. 2017. Comparative analysis of amino acid content of *Lentinula edodes*, a new variety of shiitake mushroom, in 'Poongnyunko'. *J. Mushrooms* 15: 31-37.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26: 1231-1237.
- Ruffio P. 1987. Amino acid products and technology, business opportunity report C-056. Business Communication Co., Inc., Norwalk, Connecticut. USA.
- Seo SH, Park SE, Moon YS, Lee YM, Na CS, Son HS. 2016. Component analysis and immuno-stimulating activity of *Sparassis crispa* stipe. *Korean J. Food Sci. Technol.* 48: 512-520.
- Seo SY, Park YA, Jang YS, Ka KH. 2017. Antioxidant properties of *Lentinula edodes* after sawdust bag cultivation with different oak substrates. *Kor. J. Mycol.* 45: 121-131.
- Seo YH, Kim IJ, An SY, Hwang KM. 1999. Electron donating ability and contents of phenolic compounds, tocopherols and carotenoids in waxy corn (*Zeamays L.*).

- Korean J. Food Sci. Technol. 31: 581-585.
- Shim KK, Yoo YJ, Koo CD, Kim MK. 2012. The contamination check before inoculation at the liquid Spawn on *Flammulina velutipes*. J. Mushroom Sci. Prod. 10: 44-48.
- Shin HJ, Oh DS, Lee HD, Kang HB, Lee CW, Cha WS. 2007. Analysis of mineral amino acid and vitamin contents of fruiting body of *Sparassis crispa*. J. Life Sci. 17: 1290-1293.
- Solms J. 1969. The taste of amino acids, peptides and proteins. J. Agr. Food Chem. 17: 686-688.
- Song HS, Moon KY. 2006. *In vitro* antioxidant activity profiles of β -glucan isolated from yeast *Saccharomyces cerevisiae* and mutant *Saccharomyces cerevisiae* IS2. J. Food Sci. Biotechnol. 15: 437-440.
- Takuma S, Nobuo T. 1976. Further study of the structure of lentinan, antitumor polysacchrides from *Lentinus edodes*. Carbohydr. Res. 47: 99-104.
- Tepwong P, Giri A, Sasaki F, Fukui R, Ohshima T. 2012. Mycobial enhancement of ergothioneine by submerged cultivation of edible mushroom mycelia and its application as an antioxidative compound. Food Chem. 131: 247-258.
- Vundac VB, Brantner AH, Plazibat M. 2007. Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys taxa*. Food Chem. 104: 1277-1281.
- Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. Rev. Food Sci. Nutr. 44: 275-295.
- Woo KS, Lee JS, Ko JY, Song SB, Seo HI, Seo MC, Oh BG, Kwak DY, Nam MH, Oh IS, Jeong HS. 2012. Antioxidant compounds and antioxidant activities of different varieties of foxtail millet and proso millet according to cultivation time. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 302-309.
- Yamamoto K, Kimura T, Sugitachi A, Matsuura N. 2009. Anti-angiogenic and anti-metastatic effects of β -1,3-Dglucan purified from Hanabiratake, *Sparassis crispa*. Biol. Pharm. Bull. 32: 259-263.
- Yim SB, Kim MO, Koo SJ. 1991. Determination of dietary fiber contents in mushrooms. Korean J. Soc. Food Sci. 7: 69-76.
- Yu MH, Chae IG, Jung YT, Jeong YS, Kim HI and Lee IS. 2011. Antioxidative and antimicrobial activities of methanol extract from *Rosmarinus officinalis* L. and their fractions. J. Life Sci. 21: 375-384.
- 서건식, 김민경. 2015. 버섯 종균의 안전생산관리. 2015년 한국버섯학회 추계학술대회, Mushroom 19(2): 70-74.
- 윤갑희, 박원철, 박현, 김명길, 이진실, 박광선. 2006. 자연 재배형 표고 톱밥재배 시스템. 국립산

림과학원.

정종천, 이동철, 박정식, 전창성, 이찬중. 2007. 버섯 액체종균 배양시 배지의 살균 전 pH수준에 따른 균사생장 비교. 한국버섯학회지 5: 152-153.

정종천, 전창성, 이찬중. 2009. 버섯 배지재료의 최대흡수량과 팽윤계수. J. Mushroomms 7.

<붙임>

- 연구 성과

■ 느타리버섯 동결건조 분말



■ 표고버섯 열풍 및 동결건조 분말



■ 판매실적

버섯 액체종균 판매 실적	버섯 액체종균 판매 및 기술교육 실적

■ 논문 게재

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	느타리버섯의 액체종균 배양 조건과 생육 특성	Journal of Mushrooms	이수정	16(3)	대한민국	한국버섯학회	비SCI	2018. 9.30	1738-0294
2	액체종균으로 배양된 느타리버섯 (<i>Pleurotus ostreatus</i>)의 이화학적 특성과 항산화 활성	Journal of Mushrooms	이수정	17(1)	대한민국	한국버섯학회	비SCI	2019. 3.31 (게재 예정)	1738-0294

Journal of Mushrooms 한국버섯학회지
Research Article

느타리버섯의 액체종균 배양 조건과 생육 특성

이수정¹ · 김훈환² · 김선호³ · 김만수^{1,2} · 상너주^{2,4*}

¹경상대학교 농업생명과학연구원
²경상대학교 식품영양학과
³(주)귀담버섯
⁴경상대학교 기초과학연구소

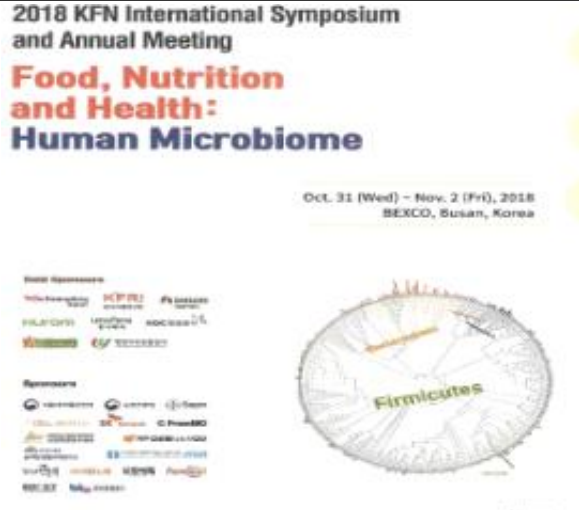
J. Mushrooms 2018 September, 16(3):162-170
<http://dx.doi.org/10.14480/jm.2018.16.3.162>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

■ 학술발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	한국식품영양과학회 정기학술대회	김훈환	2017.11.8. ~ 11.10	경주 화백 컨벤션센터	대한민국
2	한국식품영양학회 정기학술대회	김훈환	2017.12.14.	서울더케이 호텔	대한민국
3	한국식품영양과학회 정기학술대회	김훈환	2018.10.31. ~ 11.2	부산 벅스코	대한민국
4	한국식품영양과학회 정기학술대회	김훈환	2018.10.31. ~ 11.2	부산 벅스코	대한민국



P03-89 Optimum Culture Condition of Liquid Spawn from *Pleurotus ostreatus*
 Hun Hwan Kim¹, Hwi Geom Cheon¹, Soo Jung Lee², Seon Ho Kim³, Ki June Lee², Bo Young Jeong²,
 Nak Ju Sung^{1,5}. ¹Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University,
²Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, ³Goydam mushroom Co.
 Ltd., ⁴Department of Horticulture, Gyeongsang National University, ⁵Research Institute of Natural
 Science, Gyeongsang National University



P02-126 Quality Characteristics and Antioxidant Properties of Shiitake (*Lentinula edodes*) Cultivated with Liquid and Solid Spawn
 Hun Hwan Kim¹, Hae In Kim¹, Soo Jung Lee², Seon Ho Kim³, Nak Ju Sung^{1,4}. ¹Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 53828, ²Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 53828, ³Goydam mushroom Co. Ltd., Hadong-Gun 52314, ⁴Research Institute of Natural Science, Gyeongsang National University, Jinju 53828, Korea

P02-127 Screening of Optimum Culture Condition of Liquid Spawn on Shiitake (*Lentinula edodes*)
 Hun Hwan Kim¹, Hwi Geom Cheon¹, Soo Jung Lee², Seon Ho Kim³, Nak Ju Sung^{1,4}. ¹Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 53828, ²Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 53828, ³Goydam Mushroom Co. Ltd., Hadong-Gun 52314, ⁴Research Institute of Natural Science, Gyeongsang National University, Jinju 53828, Korea

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 연구사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 연구사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.