

발간등록번호

11-1541000-001402-01

과제번호(109071-3)

버섯 병.봉지재배의 배양기 내부 통기성개선과 개선 후 관리 대책

(The aeration an improvement of inner the bottle and
poly prophykene plastic bag culture and a counterplain
after reformation)

(주) 팔오테크

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “버섯 병.봉지재배의 배양기 내부 통기성개선과 개선 후 관리 대책에 관한 연구” 과제 (“농림버섯류 (느타리, 새송이 버섯)의 병, 봉지 배양 중 통기성 뚜껑의 효과 검증, 농림버섯류(팽이버섯)의 병 배양 중 통기성 뚜껑의 효과 검증, 통기성 뚜껑을 이용한 표고 종균 및 봉지 재배 생산성 향상에 관한 연구, 폐 스폰지 교환 자동화 기기 연구”)의 보고서로 제출합니다.

2012년 04월 10일

주관연구기관명 : (주)팔오테크
주관연구책임자 : 김 의 성
세부연구책임자 : 심 규 광
연 구 원 : 김 영 석
협동연구기관명 : 전북농업기술원
협동연구책임자 : 유 영 진
협동연구기관명 : 충북대학교
협동연구책임자 : 구 창 덕

요 약 문

I. 제 목

버섯 병.봉지재배의 배양기 내부 통기성개선과 개선 후 관리 대책

II. 연구개발의 필요성

버섯류는 미국, 유럽, 호주에서 건강식품으로 인식되면서 현지인 수요가 확대되고 중국산에 대한 품질 경쟁력 우위를 바탕으로 중국 및 동남아 수출이 호조를 보여 전년대비 173.0% 증가한 23.2백만불 수출되었으며, 새송이버섯 : 유럽 및 북미에서 버섯이 건강식품으로 인식되고 있으며, 수출이 대폭 증가 추세. 또한 현지대형유통업체 중심으로 고가품 전략을 펼침으로서 현지 소비자 대상 인지도가 점차 확대 되고 있다.

본 연구의 필요성은 시행에 최대한 효과적으로 대응하고 안정적으로 생산된 버섯의 해외수출을 통한 외화 획득과 국내 버섯산업을 한 단계 up grade시켜 버섯재배농가에 기본적인 배양의 원리/기술을 제공하여 국가 간 경쟁력을 높일 수 있는 군사 배양의 영양생장기인 군사배양의 단계에서 호흡을 원활하게 하여 안정적인 버섯 재배를 위한 군사의 효율적인 배양조건을 개발하며, 각각의 품종에 대하여 배양 중의 군사 배양기 내부로 산소공급과 이산화탄소 배출의 통기성을 개선하여 버섯 병. 봉지 재배의 배양기 내부 통기성개선을 통해 버섯의 생산성을 높이고자 본 과제의 연구가 필요하다.

고품질 및 다수확 자실체 생산을 위해서 접종부터 수확까지 긴 시간 동안에 군사 배양의 초기 활착이 빨라야 하며 배양대수기에 왕성한 증식으로 이 시기에 호흡량이 왕성하고 고농도 이산화탄소 영향을 받지 않도록 함이 중요한 핵심요소이므로 본 연구를 통하여 농가 소득 증대 및 버섯 품목이 수출산업으로 활성화 하는 데에 기여하고자 한다.

본 연구의 목적을 달성하기 위하여 뚜껑을 여러 번 사용하더라도 군사가 필터부분에 잘 끼어 들지 않도록 한 뚜껑의 구조를 고안하여야 하며, 오염을 방지하고 병 내부의 적절한 습도를 유지하여 균상표면의 군사를 보호하고 군사가 뚜껑의 필터부위에 끼어드는 것을 차단하여 이산화탄소의 농도를 실시간으로 배출될 수 있도록 폐 필터의 교환이 용이하도록 고안되어야 한다.

통기성 뚜껑의 개발과 아울러 통기성 뚜껑에 사용된 폐 스폰지 교환을 위한 자동화기기를 개발하고 버섯류의 최적 통기 면적을 규명하여 버섯재배의 수익성을 향상시키고, 통기성을 개선하여 생산성을 향상시키고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

국제무역협정 시행에 최대한 효과적으로 대응하고 안정적으로 생산된 버섯의 해외수출을 통한 외화 획득과 국내 버섯산업을 한 단계 up grade시켜 버섯재배농가에 기본적인 배양의 원리/기술을 제공하여 국가간 경쟁력을 높일 수 있는 군사 배양의 영양생장기인 군사배양의 단계에서 호흡을 원활하게 하여 안정적인 버섯 재배를 위한 군사의 효율적인 배양조건을 개발하며, 각각의 품종에 대하여 배양 중의 군사 배양기 내부로 산소공급과 이산화탄소 배출의 통기성을 개선하여 버섯 병. 봉지재배의 배양기 내부 통기성개선을 통해 버섯의 생산성을 높이고자 본 연구과제가 필요하다.

[세부과제]

1. - 물리적 특성을 고려한 통기성 뚜껑의 고안 및 사출
 - 농림버섯류(팽이버섯)의 병 배양 중 통기성 뚜껑의 효과 검증
 - 폐 스폰지 교환 자동화 기기 연구

물리적 특성을 고려한 통기성 뚜껑의 고안 및 사출하여 농림버섯류(팽이버섯)의 병 배양 중 통기성 뚜껑의 효과 검증하기 위하여 배양기내부의 이산화탄소변화 과정분석 및 통기차이에 의한 물리적 변화를 분석하고 군사배양으로 막힌 스폰지 뚜껑을 장기적으로 반복하여 사용할 수 있는 스폰지 교환 자동화기기를 연구 개발하여 버섯농가의 애로사항을 해결하고자 한다.

농림버섯류(느타리버섯, 새송이버섯, 팽이버섯), 산림버섯류(표고버섯) 등의 시료에서 배양 종료시점에 영양생장기인 군사의 배양기간 동안 배양단위체에 축적 또는 함유된 당을 분석한다.

[협동1]

2. - 농림버섯류 (느타리, 새송이 버섯)의 병, 봉지 배양 중 통기성 뚜껑의 효과 검증

버섯류의 병 및 봉지에서 군사 배양기간(영양생장기)인 군사배양 단계에서 배양기 내부로 산소공급과 이산화탄소 배출의 통기성을 개선하면서도 배양기 표면이 건조되지 않도록 하고 호흡을 원활하게 하여 최적의 자실체발생과 생산을 추구함에 있어서 병 및 봉지용 하부용기의 크기에 따른 최적의 뚜껑에 대한 통기구 및 통기량이 되도록 고안/디자인(Cad 작업 협력)한다.

농림버섯류(새송이버섯, 느타리버섯) 배양 중에 배양기 내부의 이산화탄소변화 과정분석, 통기의 물리성 변화 분석하여 배양 병의 종료시점에서의 비통기성과 통기성뚜껑을 사용한 실험구에서의 배양 중의 배양기 내부의 이산화탄소 변화 과정분석, 통기 차이에 의한 물리성 변화를 확인한다.

[협동2]

3. - 통기성 뚜껑을 이용한 표고 종균 및 봉지 재배 생산성 향상

산림버섯류 (표고버섯)의 배양기 내부의 이산화탄소 변화 과정분석, 통기의 물리성 변화 분석하여 배양 병의 종료시점에서의 비통기성과 통기성뚜껑을 사용한 실험구에서의 배양 중의 배양기내부의 이산화탄소변화 과정분석, 통기 차이에 의한 물리성 변화를 확인한다.

IV. 연구개발결과 및 성과활용 계획

현재에도 배양기 내부에서 호흡작용으로 발생된 고농도 이산화탄소를 실시간으로 배출되지 못하는 관계로 배출구인 뚜껑에서 가스장해가 존재한다. 이로 인하여 액체 중균이 고효력으로 배양하여 접종한다 하더라도 효과를 기대할 수 없고, 접종원의 접종량도 제한을 받게 되며, 배지성분을 자유로이 변경할 수도 없는 상태이다. 하지만 위의 병목현상을 제거하면 지금보다도 훨씬 다양한 액체 중균의 활력을 사용할 수 있으며, 배지조성도 최고의 (C/N 비율 조성) 상태로 전환할 수 있는 것으로 최대의 배양상태로 도약(Up grade) 할 수가 있다.

이로 인해 연구개발에 따라 다음과 같은 기대성과를 얻을 수 있다.

- (1) 농립버섯류 및 산림버섯류의 자실체 고품질화
- (2) 버섯 시설인 재배사내 에너지 효율 향상
- (3) 재배사내 오염감소로 비용 절감
- (4) 농립버섯류 및 산림버섯류의 생산성 수익성 향상

농립버섯류 및 산림버섯류의 재배에서는 배양기 내부에 고농도 이산화탄소 장해로 호흡작용이 진행되지 못하여 배양기간 중에 충분하지 못한 균사축적 및 영양원이 부족, 그리고 이후의 진행 단계에서도 다시 배양이 진행되는 이유로 팽이버섯의 경우에 균상박리(먼저 발이된 것이 후차적으로 발이된 것에 떠밀려서 죽은 자실체)가 일반적으로 발생되며, 품질의 저하 및 수량의 감소로 이어지고 있으나, 이번 과제를 통하여 통기성 뚜껑을 사용할 때에 필터교환에 인력 운영의 비효율성으로 고통을 받고 있는 바 다양한 뚜껑의 크기에 관계없이 처리할 수 있는 다용도 기계로 처리하게 된다면 통기성 뚜껑을 사용하여 안정적인 버섯의 생산성 향상에 영향을 줄 것이다.

한편 위의 병목현상을 제거하면 지금보다 훨씬 다양한 액체 중균의 활력을 사용할 수 있으며, 배지조성도 최고의 (C/N 비율 조성) 상태로 전환 할 수 있는 것으로 최대의 배양상태를 유지하게 되어 재배농가의 생산성향상과 비용절감, 고품질의 버섯을 생산할 수 있으므로 농가의 수익성 향상을 기대할 수 있다.

SUMMARY

In the manufacture of liquid spawn, to save time and cost and to secure uniformity of spawn quality, it was found to be effective to measure the relative concentration of carbon dioxide during aeration culture. A method detecting microbiological contamination of liquid spawn was devised with simple staining with Giemsa solution and optical microscopy .

This study carried out measurements of hyphal mass in liquid spawn, carbon dioxide concentration in the medium during cultivation and water content in fully cultured medium, and analysis of total nitrogen (T-N), free sugars and ergosterol.

To select the most appropriate ventilation lid for cultivating mushrooms, four species of mushrooms (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Flammulina velutipes*, *Lentinus edodes*) using liquid spawns were investigated on nine kinds of cultivation capacity bags. That is, appropriate lids for 850ml and 1100ml bottles and 950g bags for *Pleurotus ostreatus*, lids for 850ml and 1200ml bottles for *Pleurotus eryngii*, lids for 850ml and 1100ml bottles from *Flammulina velutipes*, and lids for 1.2kg, 2.5kg and 1.4kg sawdust bags for *Lentinus edodes* were investigated on their ventilation effects on hyphal growth.

The lid ventilating the excessive CO₂ and limited O₂ from the cultivation bottles or bags in real time at the exponential growth period but not much exhausting moisture from the medium was selected.

On the other hand, a machine to replace the old filters or ones clogged with mycelium was also developed. To take advantage of this filter exchanging machine ventilation hole was placed in the center of the lid. Thereby hyphae penetration into the filter was hindered and mechanical filter exchange which is cost effective was possible.

In this study, an appropriate lid ventilating the excessive carbon dioxide and the limited oxygen during the exponential growth period of the hypae was selected to enhance mycelial growth and to produce high-quality and high-yield mushrooms. And a mechanical filter exchanger was developed for cost saving management of lids to encourage the use of sponge filter inserted lids.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	10
Section 1. Necessity of Study	10
Section 2. Scope of Study	11
Chapter 2. Status of Technology Development	12
Chapter 3. Content of Study and Results	14
Section 1. Introduction	14
Section 2. Material and Method	15
1. Material of cap type	15
2. Making of liquid spawn	16
3. Pack of bottle(bag), inoculation and mycelial culture	17
4. Carbon dioxide concentration check of mycelial culture of inner Bottle(bag)	19
5. Moisture check at Upper of culture medium	19
6. Chemical characteristic assay of specimen	19
7. Growth and harvest of of culture medium	20
8. Contamination check before inoculation of liquid spawn	21
Section 3. Liquid spawn result of each variety strain	22
1. Liquid spawn in the <i>Pleurotus ostreatus</i>	22
2. Liquid spawn in the <i>Pleurotus eryngii</i>	31
3. Liquid spawn in the <i>Flammulina velutipes</i>	39
4. Liquid spawn in the <i>Lentinus edodes</i>	47
Section 4. Cap selection of mycelial culture of each variety strain and size	56
1. Cap selection of mycelial culture of <i>Pleurotus ostreatus</i>	56
가. Cap selection of mycelial culture at 850ml bottle of <i>Pleurotus ostreatus</i>	56
나. Cap selection of mycelial culture at 1100ml bottle of <i>Pleurotus ostreatus</i>	63
다. Cap selection of mycelial culture at 950g bag of <i>Pleurotus ostreatus</i>	71
2. Cap selection of mycelial culture of <i>Pleurotus eryngii</i>	81
가. Cap selection of mycelial culture at 850ml bottle of <i>Pleurotus eryngii</i>	81

↳. Cap selection of mycelial culture at 1200ml bottle of <i>Pleurotus eryngii</i> -----	88
3. Cap selection of mycelial culture of <i>Flammulina velutipes</i> -----	96
가. Cap selection of mycelial culture at 850ml bottle of <i>Flammulina velutipes</i> -----	96
↳. Cap selection of mycelial culture at 1100ml bottle of <i>Flammulina velutipes</i> -----	104
4. Cap selection of mycelial culture of <i>Lentinus edodes</i> -----	112
가. Cap selection of mycelial culture at 1.2kg and 2.5kg bag of <i>Lentinus edodes</i> of liquid spawn -----	112
↳. Cap selection of mycelial culture at 1.4kg bag of <i>Lentinus edodes</i> of solid sawdust -----	121
 Section 5. Large scale cultivation at selected cap of each variety strain -----	147
1. Large scale cultivation at selected cap of <i>Pleurotus ostreatus</i> 850ml bottle -----	147
2. Large scale cultivation at selected cap of <i>Pleurotus ostreatus</i> 950g bag -----	149
3. Large scale cultivation at selected cap of <i>Pleurotus eryngii</i> 1100ml bottle -----	157
4. Large scale cultivation at selected cap of <i>Flammulina velutipes</i> 1100ml bottle -----	161
 Section 6. Management of cap(Study for exchange machine of old or waste sponge) —	164
1. Exchange machine development of old or waste sponge in the cap -----	164
2. Process of exchange machine development of old or waste sponge in the cap -----	164
3. Machine development of upper part direction select of cap -----	170
4. Summary of exchange machine development of old or waste sponge in the cap -----	177
 Chapter 4. Degrees of Objective Accomplishment and Area Contribution -----	178
 Chapter 5. Plan of Results Application -----	180
1. Application of Results -----	180
2. Marketing Plan -----	180
 Chapter 6. Reference -----	182

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 -----	10
제 1 절 연구개발의 필요성 -----	10
제 2 절 연구개발 과제의 범위 -----	11
제 2 장 국내·외 기술개발 현황 -----	12
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	14
제 1 절 서론 -----	14
제 2 절 재료 및 방법 -----	15
1. 뚜껑재료 -----	15
2. 액체중균의 제조 -----	16
3. 입병, 접종 및 배양 -----	17
4. 배양 중 병 내부의 이산화탄소 농도 측정 -----	19
5. 균상 상부의 배지수분 측정 -----	19
6. 시료의 화학적 특성 분석 -----	19
7. 배양 후 생육 및 수확 -----	20
8. 접종 전 오염검사 -----	21
제 3 절 각 품종 별 액체중균의 제조 결과 -----	22
1. 느타리버섯 액체중균 -----	22
2. 새송이버섯 액체중균 -----	31
3. 팽이버섯 액체중균 -----	39
4. 표고버섯 액체중균 -----	47
제 4 절 각 품종 별 균사배양에서의 뚜껑의 선발 -----	56
1. 느타리버섯에서의 뚜껑별 실험 -----	56
가. 느타리버섯 850ml 병 재배 -----	56
나. 느타리버섯 1100ml 병 재배 -----	63
다. 느타리버섯 950g 봉지 재배 -----	71
2. 새송이버섯에서의 뚜껑별 실험 -----	81
가. 새송이버섯 850ml병 재배 -----	81
나. 새송이버섯 1200ml병 재배 -----	88
3. 팽이버섯에서의 뚜껑별 실험 -----	96
가. 팽이버섯 850ml 병 재배 -----	96

나. 팽이버섯 1100ml 병 재배 -----	104
4. 표고버섯에서의 뚜껑별 실험 -----	112
가. 표고버섯 액체종균에 의한 1.2kg & 2.5kg 봉지 재배 -----	112
나. 표고버섯 톱밥종균에 의한 1.4kg 봉지 재배 -----	121
제 5 절 각 품종 별 현장 적용 평가 -----	147
1. 느타리버섯의 850ml 병 재배의 농가실증 실험 -----	147
2. 느타리버섯의 950g 봉지 재배의 농가실증 실험 -----	149
3. 새송이버섯의 1100ml 병 재배의 농가실증 실험 -----	157
4. 팽이버섯의 1100ml 병 재배의 농가실증 실험 -----	161
제 6 절 뚜껑관리(폐 스폰지 교환 자동화 기기 연구) -----	164
1. 뚜껑의 필터교환기기 개발 내용 -----	164
2. 폐 스폰지 교환 자동화 기기 개발 공정 개요 -----	164
3. 덮개판 선별 장치 -----	170
4. 뚜껑의 필터교환기기 개발 결과 요약 -----	177
제 4 장 목표달성도 및 관련 분야에의 기여도 -----	178
제 5 장 연구개발 결과의 활용계획 -----	180
1. 연구결과의 활용성 -----	180
2. 기업화 추진방향 -----	180
제 6장 참고문헌 -----	182

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

버섯류는 미국, 유럽, 호주에서 건강식품으로 인식되면서 현지인 수요가 확대되고 중국산에 대한 품질 경쟁력 우위를 바탕으로 중국 및 동남아 수출이 호조를 보여 전년대비 173.0% 증가한 23.2백만불 수출되었으며, 새송이버섯 : 유럽 및 북미에서 버섯이 건강식품으로 인식되고 있으며, 수출이 대폭 증가 추세. 또한 현지대형유통업체 중심으로 고가품 전략을 펼침으로서 현지 소비자 대상 인지도가 점차 확대 되고 있다.

본 연구의 필요성은 시행에 최대한 효과적으로 대응하고 안정적으로 생산된 버섯의 해외수출을 통한 외화 획득과 국내 버섯산업을 한 단계 up grade시켜 버섯재배농가에 기본적인 배양의 원리/기술을 제공하여 국가간 경쟁력을 높일 수 있는 군사 배양의 영양생장기인 군사배양의 단계에서 호흡을 원활하게 하여 안정적인 버섯 재배를 위한 군사의 효율적인 배양조건을 개발하며, 각각의 품종에 대하여 배양 중의 군사 배양기 내부로 산소공급과 이산화탄소 배출의 통기성을 개선하여 버섯 병. 봉지 재배의 배양기 내부 통기성개선을 통해 버섯의 생산성을 높이고자 본 과제의 연구가 필요하다.

고품질 및 다수확 자실체 생산을 위해서 접종부터 수확까지 긴 시간 동안에 군사 배양의 초기 활착이 빨라야 하며 배양대수기에 왕성한 증식으로 이 시기에 호흡량이 왕성하고 고농도 이산화탄소 영향을 받지 않도록 함이 중요한 핵심요소이므로 본 연구를 통하여 농가 소득 증대 및 버섯 품목이 수출산업으로 활성화 하는 데에 기여하고자 한다.

본 연구의 목적을 달성하기 위하여 뚜껑을 여러 번 사용하더라도 군사가 필터부분에 잘 끼어 들지 않도록 한 뚜껑의 구조를 고안하여야 하며, 오염을 방지하고 병 내부의 적절한 습도를 유지하여 균상표면의 군사를 보호하고 군사가 뚜껑의 필터부위에 끼어드는 것을 차단하여 이산화탄소의 농도를 실시간으로 배출될 수 있도록 폐 필터의 교환이 용이하도록 고안되어야 한다.

통기성 뚜껑의 개발과 아울러 통기성 뚜껑에 사용된 폐 스폰지 교환을 위한 자동화기기를 개발하고 버섯류의 최적 통기 면적을 규명하여 버섯재배의 수익성을 향상시키고, 통기성을 개선하여 생산성을 향상시키고자 한다.

제 2 절 연구개발 과제의 범위

국제무역협정 시행에 최대한 효과적으로 대응하고 안정적으로 생산된 버섯의 해외수출을 통한 외화 획득과 국내 버섯산업을 한 단계 up grade시켜 버섯재배농가에 기본적인 배양의 원리/기술을 제공하여 국가간 경쟁력을 높일 수 있는 군사 배양의 영양생장기인 군사배양의 단계에서 호흡을 원활하게 하여 안정적인 버섯 재배를 위한 군사의 효율적인 배양조건을 개발하며, 각각의 품종에 대하여 배양 중의 군사 배양기 내부로 산소공급과 이산화탄소 배출의 통기성을 개선하여 버섯 병, 봉지재배의 배양기 내부 통기성개선을 통해 버섯의 생산성을 높이고자 본 연구과제가 필요하다.

[세부과제] : (주)팔오테크 연구책임자 : 김의성/심규광

1. - 물리적 특성을 고려한 통기성 뚜껑의 고안 및 사출
 - 농립버섯류(팽이버섯)의 병 배양 중 통기성 뚜껑의 효과 검증
 - 폐 스폰지 교환 자동화 기기 연구

물리적 특성을 고려한 통기성 뚜껑의 고안 및 사출하여 농립버섯류(팽이버섯)의 병 배양 중 통기성 뚜껑의 효과 검증하기 위하여 배양기내부의 이산화탄소변화 과정분석 및 통기차이에 의한 물리적 변화를 분석하고 군사배양으로 막힌 스폰지 뚜껑을 장기적으로 반복하여 사용할 수 있는 스폰지 교환 자동화기기를 연구 개발하여 버섯농가의 애로사항을 해결하고자 한다.

농립버섯류(느타리버섯, 새송이버섯, 팽이버섯), 산림버섯류(표고버섯) 등의 시료에서 배양 종료시점에 영양생장기인 군사의 배양기간 동안 배양단위체에 축적 또는 함유된 당 등을 분석한다.

[협동1] : 전북농업기술원 연구책임자 : 유영진

2. 농립버섯류 (느타리, 새송이 버섯)의 병, 봉지 배양 중 통기성 뚜껑의 효과 검증

버섯류의 병 및 봉지에서의 군사 배양기간(영양생장기)인 군사배양 단계에서 배양기 내부로 산소공급과 이산화탄소 배출의 통기성을 개선하면서도 배양기 표면이 건조되지 않도록 하고 호흡을 원활하게 하여 최적의 자실체발생과 생산을 추구함에 있어서 병 및 봉지용 하부용기의 크기에 따른 최적의 뚜껑에 대한 통기구 및 통기량이 되도록 고안/디자인(Cad 작업 협력)한다.

농립버섯류(새송이버섯, 느타리버섯) 배양 중에 배양기 내부의 이산화탄소변화 과정분석, 통기의 물리성 변화 분석하여 배양 병의 종료시점에서의 비통기성과 통기성뚜껑을 사용한 실험구에서의 배양 중의 배양기 내부의 이산화탄소 변화 과정분석, 통기 차이에 의한 물리성 변화를 확인한다.

[협동2] : 충북대학교 : 구창덕

3. 통기성 뚜껑을 이용한 표고 종균 및 봉지 재배 생산성 향상

산림버섯류 (표고버섯)의 배양기 내부의 이산화탄소 변화 과정분석, 통기의 물리성 변화 분석하여 배양 병의 종료시점에서의 비통기성과 통기성뚜껑을 사용한 실험구에서의 배양 중의 배양기 내부의 이산화탄소 변화 과정 분석, 통기 차이에 의한 물리성 변화를 확인한다.

제 2 장 국내·외 기술개발 현황

Zadrazil(1975)은 영양원 배지에서 산소의 감소와 균사 성장사이의 관계를 확인한 바 있으며 공기와 혼합된 전체의 이산화탄소 농도가 16%와 22% 사이에서 3품종의 느타리의 균사 생육에 최적 상태이고, 이산화탄소 농도 37.5%에서는 위 3종 모두 성장이 저해되었다고 하였으며, 이산화탄소에 대한 느타리류의 높은 tolerance(내성)은 이 실험에서 균사 성장은 기질의 가스상이 이산화탄소 농도가 높은 반 혐기성(semi-anaerobic) 조건하에서 영향을 주기 시작한다고 하였다. Miles 등(1997)은 버섯 재배사에서 산소와 이산화탄소는 중요한 인자임을 밝힌 바 있고, Sung 등(1999)은 느타리버섯 균사 성장을 위해 이산화탄소 농도를 15% 이하에서 좋았다고 보고하였다. 木村榮一(1999)는 (図説) 基礎からのエリンギ 栽培(-安定生産技術로의 접근-) 관련 하여 새송이버섯에서의 뚜껑의 종류에 따른 수확량의 차이가 있음을 기술하고 있고, 阿部正範(2006)는 日本(徳島縣)의 菌床표고 栽培 現狀의 슬라이드 자료에서 일부뚜껑과 봉지측면의 필터 영향에 따른 수량에 차이가 있음을 밝힌 바 있었다. 김 등(2008)은 재배 단계별공기제어장치개발에 있어 각 단계에서 호흡율을 측정하여 버섯재배사용 통합 환경측정시스템 개발에 관한연구가 있었다. 하지만 대부분의 연구는 생육과정에서의 중요성을 강조하여 왔으며, 각 품종에 따른 생육단계에서의 연구는 많았다. 지금까지의 연구는 배양병(봉지)내부에서의 이산화탄소 농도의 측정이 있었다 하더라도 버섯학계에서 조차 체계적인 이론이 정립되지 못한 수준이다. 한편 농가에서 일어나는 배양상태에서의 측정방법에 있어서 실시간으로 측정하기에는 문제가 있고 시간과 비용이 많이 소요되므로 배양중의 문제점을 이해하기가 어려웠다. 본 연구에서도 기존의 학술적인 논의를 위하여 다양한 화학분석기법을 적용하여 분석한 자료에 의하면 각각의 분석 패턴 또한 분석의 목적에 따라 약간씩은 다르게 나타났다.

균사 배양에 있어서 지금까지는 다양한 학계의 이론이 넘치고 있었지만 병 재배에서의 3차원적인 공간에서의 통기성이 저하된 뚜껑의 사용으로 인한 배양기 내부에서의 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도의 영향의 평가에 대하여 모두의 인식을 다시 해야할 시점이라고 판단되어진다. 특히 병재배가 앞서있는 일본에서의 재배방법을 변형하여 사용되고 있는 뚜껑(무스폰지형 비통기성)을 사용하고 있는 우리나라의 배양방식에서 이로인한 병목현상으로 재배방법의 개선을 기대할 수 없는 상황인 점을 고려하면 세포호흡 반응식[$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + Energy(kcal/mol)$]과 같이 반응식에 열거된 모든 요인(항목)이 독립적인 변수가 아니라 서로 연관되어 균사의 세포호흡 반응과 자실체의 발이에 영향을 주고 수량으로 이어진다는 것에 대하여 더 많은 이해가 필요하다 .

본 연구개발의 목표인 균사배양 중의 호흡반응을 원활하게 하기 위하여 뚜껑의 통기성으로

인하여 배양기 내부에서의 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도의 실시간적인 해소와 함께 배지 상부의 수분을 유지하여 초발이가 원활하고 고품질 다수확을 위한 최적의 통기성을 갖는 뚜껑의 탐색에 있으며, 뚜껑 속에 삽입된 펠스폰지를 교환하도록 하는 기계장치의 개발과 이 기계장치에 적합한 뚜껑의 개량에 있다. 이러한 연구는 국내·외에서 현재까지 체계적으로 이루어지지 않았던 내용이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 서론

느타리버섯 [*Pleurotus ostreatus*(Kummer)]은 분류학상 담자균류에 송이버섯과 (Trichlomataceae) 느타리속 (*Pleurotus spp.*)에 해당한다. 느타리 버섯은 목재부후균 중의 하나로 셀룰로오스 보다는 리그닌을 우선 분해하는 백색부후균(white rot fungus)의 일종으로서 포플러, 버드나무 등의 고사목을 기주로 하며 재질 내의 cellulous, lignin 등을 분해하여 생장하는 버섯이다.(Kent, 1965)

새송이버섯의 학명은 *Pleurotus eryngii*(De Candolle ex Fries) Quel. 이며, 분류학적으로 담자균아문(Basidiomycotina), 주름버섯목(Agaricales), 느타리버섯과(Pleurotaceae), 느타리버섯속 (*Pleurotus*)에 속하는 사물기생균이다(Zadrazil, 1974). 특히 유럽에서는 대중적인 식용버섯으로서 일반명은 “Boletus of the steppes” 또는 “Koing oyster mushroom”이라고 불리워지기도 하며(Vasilkov, 1955), 우리나라에서는 큰느타리버섯으로 품종등록이 되어 있고 상품명인 새송이버섯으로 정착되어 있다. 주로 아열대 지방의 대초원에서 발생하며 유럽남부 중앙아시아 아프리카북부에 분포되어 있다. 대량생산은 1990년대 초이며, 동양권에 도입은 1990년대 초에 대만에서 시작되었고, 일본, 한국으로 도입되었다(Rajarathnam 등, 1987).

팽나무버섯 [*Flammulina velutipes*(Curt. ex Fr.) Singer]은 담자균류 주름버섯목 (Agaricales) 송이과(Tricholomarataceae)에 속하는 백색목재부후균(Donk, 1971)의 일종으로 자실체는 자연 상태에서 늦가을부터 초겨울까지 활엽수의 그루터기에 발생되어 winter mushroom이라고도 하며(김, 1995; 성 등, 2000), 야생에서 자실체 형태는 대가 짧고 갓이 큰 특징을 가지고 있으나(古川, 1992) 온도가 낮은 곳에서 인공재배를 할 경우 생육에서 이산화탄소 농도를 높이고 광량을 줄여주면 야생종과는 달리 대가 길어지고 갓이 매우 작아지는 분화 특성을 갖고 있다(Stamets, 1993).

표고버섯은 식물 분류학상 진균식물문, 담자균강, 송이버섯목, 느타리과에 속하며, 학명은 *Lentinus edodes* (Berk.) Sing이며 부생균으로 사물기생균류에 속하고 호기성균이며, 목재 부후균이라고 한다(이 등, 1980). 재배지역은 중국, 일본, 대만 및 한국 등 동북아시아에서 주로 많이 재배하고 있다(Chang 등, 1989). 우리나라 표고톱밥재배는 이 등(1991)으로 시작되었고, 민(1991, 1993, 1994)의 연구를 비롯하여 이 등(1993)은 활엽수 톱밥배지에서 생산성이 있다고 하였다.

식용버섯 균사의 액체배양은 Lambert(1938)에 의해 시작되었고, Hunfeid, H.(1948)는 새로운 형태의 종균으로 균사 현탁액인 액체종균(liquid spawn)을 이용하여 버섯을 재배할 수 있음을 제안하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 뚜껑재료

Kenjiro K.(1993)는 균사의 배양에서 배양기 내부의 가스 환경에 대하여 언급한 바 있다. 이를 해결하기 위하여 본 실험에 사용된 뚜껑은 상하, 하 천공의 2종류이고 병 재배에서 850ml 병은 각각 12, 16, 23, 29, 33, 37, 41mm 천공 뚜껑, 1,100ml 병은 각각 14, 19, 26, 33, 38, 42, 47 mm 천공 뚜껑, 1,200ml 병은 각각 15, 20, 28, 35, 40, 45, 50mm 천공 뚜껑, 봉지재배에서 각각 5, 10, 14, 20, 25, 29, 32, 36, 45, 55mm 천공 뚜껑을 사용하였다. 또한 덮개인 상부측과 병과 결합되는 하부측 중간에 필터(스폰지)를 삽입하였다. 뚜껑의 통기구 표식은 상부측과 하부측에 천공한 구는 상하 천공(upper-under perforation hole), 하부측에만 천공한 구는 하 천공(under perforation hole)으로 명명하였다(Fig. 0).





Fig. 0. Upper-Under and Under perforation cap type of polypropylene bottle & Upper-Under and Under perforation cap type of polypropylene bag.

2. 액체종균의 제조

시험에 사용된 품종은 느타리버섯(일명 장안 8호 품종) 균주, 새송이버섯(일명 새송이 3호 품종) 균주, 팽나무버섯(일명 고사 품종) 균주, 표고버섯(일명 산조 701 품종) 균주를 각각 사용하였다. 종균계대에서 petri dish에 PDA(potato dextrose agar) 42g/1ℓ의 비율로 조제하여 고압 살균 후에 사면이나 평면 배지를 만들었다. 삼각플라스크 배양은 1ℓ에 설탕 30g, 탈지대두박 3g, 펩톤 2g, MgSO₄·7H₂O 0.8g, KH₂PO₄·12H₂O 0.8g, peptone 0.8g, 목초액(상품명;유기칼) 농도 1/1,500배액, antiform을 2~3방울 첨가하여 멸균하고 autoclave로 고압살균을 실시하고 살균 시간 60~80분간 유지한 후 방랭하였고 접종원은 petri dish에서 8~9개 조각을 접종하였다. 삼각플라스크의 배양은 진탕기를 이용하여 120rpm으로 8일간 균사를 배양하였다.

대용량 배양은 140ℓ에서 느타리 버섯 액체 종균 제조에는 2.5%설탕(3.5kg), 대두박 0.5kg, 새송이 버섯과 팽이버섯의 액체종균제조에서 설탕 3.45kg, 대두박 0.98kg, 표고버섯 액체종균제조에서 설탕 4.5kg, 대두박 1.5kg(C:N=1 : 1/3X)를 각각 사용하였고 나머지는 다음과 같이 하였다. MgSO₄ 70g, K₂HPO₄ 70g, 목초액 농도(1/1500배액), antiform 5ml를 넣었고 pH는 조정하지 않았다. 밀폐한 다음 고압살균 처리하였고 방랭은 밤새도록 냉각수를 흘려보내면서 실시하였다. 접종원량은 느타리버섯, 새송이버섯, 팽이버섯의 경우 액용량의 1/400인 350ml, 표고버섯의 경우 액용량의 1/233인 600ml를 각각 고속 균질기로 12,000rpm에서 40~60초 동안 파쇄하여 접종하였다. 배양실 온도는 20~22℃, 폭기 압력 2.0kg.f/cm²의 공기압, 직경 50mm×0.2μm의 필터(Pall Co.)를 3개 직렬로 배열하여 공기를 여과하면서 폭기 배양을 실시하였다. 액통의 구조는 밀면*높이의 비율이 1:3 정도의 비율이며, 폭기 구조는 내경 지름 13~15mm에 내경 1mm의 가느다란 관을 10개로 분지시킨(10구로 토출되는 폭기구)를 사용하였다. 이와 같은 폭기 구조는 최종 분지된 구멍이 작고 폭기 압력을 높여서 공기 압력을 분산하였으며 액종균의 균사와

공기(산소)와의 접촉비율이 높아지도록 하고 액의 순환 비율을 높이도록 하였다.

3. 입병, 접종 및 배양

가. 배지조성

(1) 느타리버섯

배지 조제에서 재료로는 미송 발효 톱밥 47.6%, 면실펠렛 35.7%, 비트펄프 7.1%(165kg), 면실박 7.1%(총 N원 함량=42%, 호주산), 조개껍질 가루 2.4%의 중량 비율로 혼합하고 일정시간 후에 물을 첨가하여 배지 수분을 65.0%로 조절한 다음 입병을 하였다.

(2) 새송이버섯

배지 조제에서 재료로는 미송 발효 톱밥 47.6%, 면실펠렛 35.7%, 비트펄프 7.1%(165kg), 면실박 7.1%(총 N원 함량=42%, 호주산), 조개껍질 가루 2.4%의 중량 비율로 혼합하고 일정시간 후에 물을 첨가하여 배지 수분을 64.0%로 조절한 다음 입병을 하였다.

(3) 팽이버섯

팽나무버섯의 배지 조제는 미송 발효 톱밥 36.5%(330kg), 포플러 톱밥36.5%(330kg), 미강 18.2%(165kg), 면실박 6.6%(60kg), 조개껍질 가루 2.5%(23kg)의 중량 비율로 혼합하고, 배지 수분을 65%로 조절한 다음 입병을 하였다.

(4) 표고버섯

배지 조제에서 참나무톱밥은 미리 물과 함께 혼합하여 저속으로 회전되는 통돌이에서 물이 흡수되도록 하룻밤 동안 실시하였고 배지재료는 77.51% 참나무톱밥, 7.18% 면실피, 4.82% 미강, 9.57% 포플러톱밥, 1% 탄산칼슘 등(순 배지량=2090kg),을 혼합하고 배지 수분이 60.1(59.5~60.6)%가 되도록 조절하였고 이를 입병하고 배지 가운데에 직경 25mm의 타공을 실시하여 일부를 실험구로 사용하였다

나. 입병(봉) 량

850ml 병용량에는 느타리버섯, 새송이버섯는 487~502g, 팽이버섯은 508~532g, 1,100ml 병용량에는 느타리버섯은 712~786g, 팽이버섯은 712~786g, 1200ml 병용량에는 새송이버섯은 925±25g, 느타리 봉지재배에서 950g±34g, 표고봉지재배에서 1.2kg과 2.5kg의 습증량의 배지를 각각 충전하였다.

병재배에서는 1바구니에 16병을 담고 봉지재배에서는 1바구니에 9봉지씩을 담아 뚜껑을 닫은 후 이를 적재하여 즉시 병은 고압살균을 그리고 봉지는 상압살균을 실시하였다. 배지 병 방랭은 살균 후 청결한 방랭실에서 하룻밤 동안 유지하여 접종시에 느타리버섯 병 내부의 배지 품온이 15℃ 이하가 되도록 방랭한 후, 상부와 타공한 2곳에 병당 15ml정도 접종하였다. 배양은 통상 재배사에서 행해지는 방법에 따라 느타리버섯, 새송이버섯, 표고버섯의 배양실의 온도는 21~22℃, 팽이버섯 배양실의 온도는 16~17℃였고, 배양실의 이산화탄소 농도는 1,000~1,700ppm 범위이고 별도의 가습은 하지 않았다.

다. 배양기간

(1) 느타리버섯

850ml병은 접종 일부터 17일째까지 배양을 실시하며 접종 후 수확까지는 평균 25일째부터 29일째까지 5일간 자실체를 수확하여 누적량으로 표시하였다.

1100ml병은 접종 일부터 17일째까지 배양을 실시하며 접종 후 수확까지는 평균 25일째부터 28일째까지 4일간 자실체를 수확하여 누적량으로 표시하였다.

봉지 배지는 접종 일부터 17일째까지 배양을 실시하며 접종 후 수확까지는 평균 24일째부터 27일째까지 4일간 자실체를 수확하여 누적량으로 표시하였다.

(2) 새송이버섯

850ml병은 접종 일부터 43일째까지 배양을 실시하며 접종 후 수확까지는 평균 63일째부터 69일째까지 7일간 자실체를 수확하여 누적량으로 표시하였다.

1,200ml병은 접종 일부터 46일째까지 배양을 실시하였고, 생육중간시기에 자실체의 숙기작업을 실시하였고, 접종 후 73일째에 일괄 수확하여 표시하였다.

(3) 팽이버섯

850ml 접종 일부터 26일째까지 배양하였다. 1100ml 접종 일부터 27일째까지 배양하였다.

(4) 표고버섯

봉지 배지는 접종 일부터 48일째까지 배양을 실시하며 이후 뚜껑 결합 셋트를 제거하고 명반응과 가습하면서 갈변을 유도하였다. 고체배지의 배양배지는 배양이 완료되는 48일째에 -4℃에 냉동하여 생리활성을 정지시켜 화학적인 분석에 사용하였다. 접종 후 70여일 째에 봉지를 제거하여 생육을 진행하였다.

4. 배양 중 병 내부의 이산화탄소 농도 측정

배양 중에 각각의 1개 병(봉지)에서 배양이 종료되는 때까지 병 안의 이산화탄소 농도를 검지관으로 매일 측정하였다. 병에서는 방법으로 토치 램프로 코크 보러를 가열하고 뚜껑의 상부 중앙부 천공하였으며, 봉지에서는 검지관을 삽입하여 측정하였다. 측정용 검지관(GASTEC, Carbon Dioxide Detector Tube, Made in Japan)의 흡입 용량과 병 내부의 공기의 공간 용적(예 ; 850ml의 경우 타공의 면적에 따라 100~120ml 공간) 등을 고려하여 주로 1strock의 20% 량을 흡입하여 검지관(1strock=100ml를 흡입하여 측정한 값)의 변색된 값에 희석비(5배)를 곱하여 측정값을 %로 표기하였다. 측정 후에는 삽입관 구멍을 테이프로 밀봉하였다.

배양 중에 각각의 1개 병에서 배양이 종료되는 때까지 병 안의 이산화탄소 농도를 검지관으로 매일 측정하였다. 방법으로 토치 램프로 코크 보러를 가열하고 뚜껑의 상부 중앙부 천공하였으며, 측정용 검지관의 흡입 용량과 병 내부의 공기의 공간 용적(예 ; 850ml의 경우 타공의 면적에 따라 100~120ml 공간) 등을 고려하여 주로 1strock의 20% 량을 흡입하여 검지관(1strock=100ml를 흡입하여 측정한 값)의 변색된 값에 희석비(5배)를 곱하여 측정값을 %로 표기하였다. 측정 후에는 삽입관 구멍을 테이프로 밀봉하였다.

5. 균상 상부의 배지수분 측정

팽이 톱밥재배에서 배지의 통기성 良否가 자실체 수량에 미치는 영향이 크다고 지적된 바(Kent 등, 1965) 있고, 발이 유기 과정부터 버섯 수확시 까지는 물론 전 재배기간 동안 균상의 표면을 건조되지 않도록 관리(차 등, 1989)해야 한다고 발표한 바 있다. 따라서 배지 균상의 상부 수분을 평가하기 위하여 배양이 종료되는 17일의 균긋기시에 일정량을 채취하여 100℃의 dry oven에서 항량이 될 때까지 건조시켰다. 건조 전후의 중량 차이로 상부 배지의 수분량을 측정하였다.

6. 시료의 화학적 특성 분석

총질소(T-N)는 경기도 농업기술원 토양 및 퇴비 분석법(2008)의 시험방법을 준용하여 Kjeldahl 증류법으로 분석하였다. 표고버섯 균사체 0.1g과 conc. H₂SO₄ 25ml, 황산염 촉매제를 가하여 350℃에서 30분간 분해한 시료를 냉각시킨 후, 45% NaOH 60ml, conc. H₂SO₄ 2-3방울을 가하여 증류하였다. 증류한 0.5N-H₂SO₄로 적정하여 총질소 함량을 계산하였다.

유리당은 Im, M. H.(1998), 정(2004)의 시험방법을 준용하여 분석하였다. 느타리버섯 시료를 분쇄한 후 20g을 칭량하여 80% 에탄올 100ml를 넣은 후 85℃ 수욕조에서 30분간 초음파 추출을 실시하였다. 그 후 80% 에탄올 100ml를 가하여 0.45μm membrane filter로 여과한 후

fructose, glucose, maltose, sucrose, lactose를 HPLC로 분석하였다.

에르고스테롤 함량 분석은 Pasanen, A. L.(1999), 구창덕(2000) 등의 방법에 따랐다.

chitin 분석은 현(2006)의 시험방법을 준용하였다. 동결된 시료 0.16g을 칭량하여 6N HCl 5ml를 넣고 100°C wath bath에서 4시간 동안 가수분해 시켰다. 실온에서 30분간 방치 후 110mm filter paper(No2)로 여과한 액을 증류수를 사용하여 50ml로 정용하였다. 5N NaOH을 사용하여 pH 5.75~5.79범위까지 조정된 다음 시험관에 피검물 2ml와 4% acetylacetone 0.5ml를 혼합하였다. 혼합액이 들어있는 시험관을 90°C shaking water bath(110rpm)에서 1시간 반응시켰다. 시험관을 실온에서 10분간 방치 한 후 95% ethanol 4ml, ehrlich reagent 0.5ml와 증류수 3ml를 첨가하여 530nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 배양 후 생육 및 수확

(1) 느타리버섯

배양이 종료된 후에는 균굽기 작업을 실시하였고, 생육은 바구니에 16병을 담아서 느타리버섯 850ml병 그리고 1100(1200)ml의 생육을 실시하였다. 접종부터 첫 수확까지의 생육 과정에서 작업 시간 이외에는 빛을 조사하지는 않았다. 균굽기 작업 후 물을 분무하였고 가슴에 의한 수침을 방지하기 위하여 병을 거꾸로 하여 초발이를 유도하였다. 발이실의 온도는 14°C 전후에서 중앙가슴기(회전 분산형) 수분은 자육한 안개 상으로 하고 시간의 흐름에 따라 발이 단계에 따라서 초기 습도는 95~90%이고, 생육 후기에는 80%가 되도록 하였다. 발이실에서 환기는 어린 버섯의 발생을 유도할 때 이산화탄소의 농도가 1,000ppm 정도로 관리하고, 생육 기간은 850ml에서 9~12일 (접종 후 26~29일) 그리고 1100(1200)ml에서 9~14일 동안 유지하면서 연차적으로 자실체를 수확 하였다.

(2) 새송이버섯

배양이 종료된 후에는 균굽기 작업을 실시하였고, 생육은 바구니에 16병을 담아서 새송이버섯 850ml병 그리고 1,200ml병의 생육을 실시하였다. 접종부터 첫 수확까지의 생육 과정에서 작업 시간 이외에는 빛을 조사하지는 않았다. 균굽기 작업 후 물을 분무하였고 가슴에 의한 수침을 방지하기 위하여 병을 거꾸로 하여 초발이를 유도하였다. 발이실의 온도는 14°C 전후에서 중앙가슴기(회전 분산형) 수분은 자육한 안개 상으로 하고 시간의 흐름에 따라 발이 단계에 따라서 초기 습도는 95~90%이고, 생육 후기에는 80%가 되도록 하였다. 발이실에서 환기는 어린 버섯의 발생을 유도할 때 이산화탄소의 농도가 1,000ppm 정도로 관리하고, 생육 기간은 850ml 및 1,200ml에서 20~27일(접종 후 63~69일) 동안 유지하면서 연차적으로 자실체를 수확 하였다.

(3) 팽이버섯

배양이 종료된 후에는 균굽기 작업을 실시하였고, 생육의 균일성을 위하여 선반이 없는 바닥에 바구니를 전개하여 팽나무버섯 850ml 병 그리고 1,100(1,200)ml 병의 생육을 실시하였다. 접종부터 첫 수확까지의 생육 과정에서 작업 시간 이외에는 빛을 조사하지는 않았다. 발이실의 온도는 14℃ 전후에서 초음파를 사용하여 초기의 수분은 자육한 안개 상으로 하고 시간의 흐름에 따라 발이 단계에 따라서 발이 말기에는 80%가 유지되도록 하였다. 발이실에서 환기는 어린 버섯의 발생을 유도할 때 이산화탄소의 농도가 1,000ppm 정도로 관리하였다. 발이 9일 동안 유지한 후 억제 과정으로는 이산화탄소의 농도 1,000ppm, 습도 78~84%로 유지하면서 자실체가 균일하도록 하였고 종이감기는 자실체가 병목에서 2~5cm일 때 실시하였으며, 생육 후기 과정은 온도 7.5~9.0℃, 습도 70~75RF%, 이산화탄소 농도 2,000~4,000ppm 범위로 관리하였고, 첫 수확은 63일째에 이루어졌다.

수확 생육 중간에 실시한 권지를 빼내고 수량 측정시에는 1병 중의 자실체를 채취하여 떨어져 나온 상태로(하부 톱밥 배지가 있는 상태) 중량을 측정하여 비교하였다. 1,200ml 병의 수확은 1,100ml 병의 시험구 보다는 4일 늦게 수확하여 대조 뚜껑과 하 천공 25mm를 비교하였다.

(4) 표고버섯

배양이 종료된 배지는 생육선반에서 1개씩(독립적) 위치하여 생육을 실시하였다. 생육에서는 주야교대로 낮에만 빛을 조사하였다. 생육실의 온도는 낮에는 14-16℃ 밤에는 10-14℃ 전후로 관리하였고 가습은 중앙가습기(회전 분산형)를 사용하였고 환기는 충분히 실시하여 이산화탄소의 농도가 1,000-1500ppm 으로 관리하고, 수확이 완전히 끝나면, 바닥청소 등의 정리를 하고 온도 20-23℃로 하여 2주 동안 휴지기를 유지하였다. 발생작업은 3-4일 동안 살수하여 실시하였다.

8. 접종 전 오염검사

장 등(2008)은 pH 지시약을 이용한 느타리버섯 액체종균 오염 간이 진단법 개발에서 액체종균 오염진단은 YPLP(yeast extract peptone lactose phenol red) 고체진단배지에서 가장 발색반응이 뚜렷하여 적합한 배지로 판명되었다는 보고도 있지만 이러한 검사는 저농도로 오염이 되었을 경우의 색깔의 판정이 모호할 수도 있으며, 지금까지의 방법은 시간이 많이 소요되어 접종 전의 판정이 어려웠다. 하지만 심 등(2012 a)에 의한 진한 giemsa sol.에 의한 단일 염색액을 40-60초 동안 처리하여 세척하는 등의 단순한 방법에 의한 현미경의 대물렌즈 100X에서 유침하여 슬라이드를 확인하면 미세한 상태로 감염된 세균류(원균, 간균) 등을 짧은 시간에 검색하여 오염 여부를 판정할 수 있었다.

제 3 절 각 품종 별 액체종균의 제조 결과

1. 느타리버섯 액체종균

가. 액체 종균 배양시 이산화탄소의 농도

Fig. 1.과 Fig. 2.는 폭기 배양 중에 배출구(숨통 부위)에서 상대적인 이산화탄소 농도와 1시간 방치한 걸보기 균사량과 비교한 그림이다. 그림에서와 같이 습윤 균사량의 증가에 따라 배출되는 이산화탄소 농도도 증가하였고 초기 투입된 영양원의 감소로 인하여 4일 이후에는 호흡반응에 의한 이산화탄소 농도는 서서히 감소되었다. 이는 홍 등(2003)에 의한 느타리 액체종균의 대량 배양에서 농기(2-1호) 품종의 경우 통기량 0.5vvm과 접종량 5% 조건에서 배양 5일 이후부터는 균체량의 증가가 크게 나타나지 않았다는 것보다는 빠른 균사증식(통기량 2.0kg.f/cm과 접종량 1/400 비율)을 보였는데 이는 개량된 미세관 10구를 갖는 폭기구 사용으로 분사압력을 높여 액의 순환을 도우며 산소와의 접촉을 잘하도록 하였던 이유라고 판단되었다. 한편, 액체종균의 균사증식 속도는 투입되는 영양원량, 배양 온도, 폭기되는 공기량과 온도, 폭기구 구조, 액통의 구조, 접종원의 상태와 투입량 등의 영향을 받는다(성 등, 1999, 홍 등, 2003)는 내용도 고려하여야 할 것이다. 홍 등(2003)은 느타리, 팽나무버섯 재배에서 액체종균 연구에서 느타리 및 팽나무버섯의 대량 액체배양의 조건은 팽나무버섯은 접종량 5-6%, 배양기간 4일 일 때, 그리고 느타리버섯은 접종량 4%, 배양기간 5일에서 최대 균사 생장을 확인할 수가 있었고, 느타리의 자실체 생산은 접종량 6%(15ml)에서, 팽이는 접종량 4-6% (10-15ml)에서 수량이 높았다. 고체 종균보다 느타리는 33.7%, 팽이는 32.8% 증수되었다는 연구에서 느타리 액체종균이 5일째에 좋았다는 것과 유사하였다.

이산화탄소 농도 측정 결과는 등(류 등, 1998)이 팽이 액체 배양시 접종 후 6-7일경에 PDB(potato dextrosebroth), YPD(yeast extract polypeptone dextrose) 액체배지에서 균 총수가 최대치에 달한다고 보고한 팽나무버섯의 균사배양 결과보다는 훨씬 빨랐다. 지금까지 대량 배양시 외관상 균사량 만을 판단하여 액체종균을 제조하는 것보다 균사 세포 호흡량의 부산물인 이산화탄소 농도를 상대적으로 측정함으로써 간단하고 시간과 분석 비용을 절약하면서도 폭기 배양의 기준을 정할 수 있는 방법이 될 것으로 판단된다.

나. 액체 종균 배양시 습윤 균사량

Fig. 2의 사진에서와 같이 액체종균의 폭기 배양 중 상대적인 균사량을 확인 한 바에 의하면 폭기 배양 3일째에 급격한 균사량이 증가되었지만 입자는 비교적 작고 균일하게 분산되어 있었고 현미경 검경에 의하여 확인한 바 첨가된 대두박의 덩어리가 존재하였고 상중액은 뿌옇게

남아 있었다. 폭기량이 적다든지, 대두박 량이 너무 많아서 접종시에 남아있는 경우에는 병에 서의 오염 원인이 되게 되므로 대두박의 잔량이 없어지는 때에 폭기 배양하여 접종하도록 하는 것이 좋다.

특히 대용량의 액체 배양용기를 사용하는 경우 폭기량이 약하거나 폭기 구조가 불량하여 액체 및 균사체가 자체 순환이 되지 못하게 되기도 한다. 현미경 검경에 의하여 불용성 대두박이 액통의 바닥에 남게 되는지를 확인할 수도 있고 톱밥종균과는 달리 액체종균의 제조과정에서 세균 등에 의한 오염 여부를 정확하게 판정하는 것이 반드시 필요하다.

액체종균에서의 오염은 감염 경로나 감염 시기, 감염 밀도 등의 정도에 따라 다르지만 폭기 되는 공기에 의하여 분산이 되고 증식속도가 월등하게 빠르게 때문에 배양이 종료되었을 때에는 이들의 세포를 반드시 확인할 수 있는 세포(량) 농도로 분포하게 된다. 한편 종균의 분석을 위하여 분획물을 원심분리로 침전된 균사량을 확인한 것은 Fig. 2의 하부 그래프와 같이 폭기 배양 6일째에 최고 균사량을 보이고 이후 감소되었다. 균사량의 평가에서는 분획된 겉보기 평가(Fig. 2)에 의한 부유 상태의 것보다는 원심분리에 의한 균사의 습윤 상태의 균사 중량(Fig. 3)에 의한 원심분리에 의한 침전된 습윤 균사량의 평가가 더욱 신뢰성이 있는 것으로 판단되었다.

다. 액체종균의 일별 폭기 배양 중의 균사 활력과 오염 평가

접종 후 배양병의 활착 상태와 수확의 자실체를 위주로 평가할 수 밖에 없는 상황이므로 접종 후 다음날인 1일째에 크린벤치 내에서 뚜껑을 열어 접종균을 육안으로 확인하였다. 고압에 의한 분산 접종이므로 곰팡이류 등의 오염은 보이지 않았고 표면에 고른 접종상태의 (흰색)균사상태를 상대적으로 확인한 바 폭기 배양 5-6일째에 양호한 활착상태와 수량이 양호한 것을 확인할 수 있었다. 4일째는 영양원의 흡수량과 균사량 그리고 입자가 작아서 활착이 느리게 일어나며 폭기 7-8일째에는 입자가 크더라도 세포 내에 흡수된 에너지를 많이 사용하여 역시 활착은 다소 느린 것으로 평가되었다(Table 1).

따라서 액종균의 접종시기는 처음에 제한적으로 투여한 영양원만을 이용할 수 밖에 없는 액체종균의 특성이 있으므로 늦게 사용하면 오히려 좋지 않은 결과를 가져온다. 푸른곰팡이 등의 오염은 보이지 않았으며 액체종균에 미세한 세균 등의 오염이 없다면 기본적으로 액체 종균을 사용하더라도 문제시되는 것은 없었다.

라. 느타리버섯 액체 종균 시료의 분석

느타리버섯 액체종균의 폭기 배양 중 일별 분획의 시료를 원심분리하여 침전물의 균사에서 총질소량을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 초기에 높은량은 액체 종균 제조시에 투입된 량

의 대두박의 침전에 의하여 높게 검출되었고 균사가 증가하면서 점진적으로 증가하는 양상은 Fig. 3의 침전 균사의 습윤 중량의 경향과 거의 일치하였다. 장(1976)은 액체배양에서 peptone, yeast extracts 등의 유기태가 첨가된 배지에서는 균사생장이 촉진된 반면 무기태 질소원이 첨가된 Czapek-dox solution에서는 균사생장이 저조하여 질소원으로 peptone을 사용하기도 하였지만 대형 액체배양에서는 빨리 흡수될 수 있는 peptone과 같은 영양원보다는 대두박과 같이 지속적이고 느리게 분해될 수 있는 지효성 N원의 투입이 필요하다는 것은 Fig. 2와 3과 같이 균사가 급격하게 증가되어 있다. 이러한 결과는 지금까지 탄소원 대비 질소원의 투입비율이 1/20량이라는 것과는 다르다. 아마도 소용량의 무통기 배양에서는 낮은 C/N율이 좋았다 하더라도 대용량의 강제적인 폭기 배양에서는 C/N율의 개념을 달리해야 할 것이다. Fig. 1에서의 호흡반응의 부산물인 이산화탄소 농도가 감소되는 것을 보면 명확히 알 수 있으며, 액체 종균의 접종 시기는 배양병에서 활착은 배양병의 배지의 영향, 방랭부족 등의 잠재 열, 또는 배지 원의 유해 화합물 등의 문제도 있을 수 있으므로 균사는 어느 정도의 입자 크기 형성, 입도의 균일성 유지 등과 함께 액체 균사체 세포 내에 영양원을 많이 유지한 상태에서 접종이 이루어지도록 다양한 조건을 고려해야 한다.

폭기 중의 분획된 일별 액종균의 상증액에서 환원당 변화(Fig. 5)는 배양 5일째에 환원당의 함량은 12.4g/l로 투입된 탄소원(설탕)은 거의 소비되었다. 이 등(1992)은 운지버섯 균사체에서는 폭기 배양 6일째 환원당 함량이 거의 소비되는 것으로 보고된 것과는 다소 차이가 있었다. 이처럼 Fig. 4의 침전 균사체에서 총질소(T-N)량이 최대가 되는 폭기 배양 6일째와는 서로 상보적인 결과를 가지고 있음을 잘 보여주고 있다.

Fig. 6.에서와 같이 느타리 액체종균의 폭기 배양 중에 일별 분획된 chitin 분석에 의하면 왕성한 균사의 증식 대수기인 4일째에서는 균체량이 적어 키틴량이 적었고 폭기 6일째에야 키틴량이 높게 나왔다. 키틴량과 호흡 반응량과는 비례하여 변화되지 않으며 키틴량은 Fig. 3.에서와 같이 키틴량은 균사체의 세포벽에 1% 정도로 존재하기 때문에 균체량의 변화는 키틴량의 변화와 일치하였다. 하지만 최초 투입된 영양원이 고갈되면 폭기 배양이 지속될 경우에 필요한 에너지원의 충당을 위하여 결국에는 세포 호흡도 줄어들며 급기야는 균사량과 키틴량이 감소되는 것으로 보아 자가소화 현상이 일어나는 것으로 판단되었다.

느타리 액체종균의 폭기 배양 중 침전 균사체에서 폭기 배양 2일 이후에는 5종 유리당량은 점진적으로 감소되는 패턴을 보여 균사 세포 내의 생리활성에 의한 단당류 및 이당류의 점진적인 감소는 세포 외부의 액체(상증액)에 투입된 영양원의 감소 원인으로 판단되어졌다.

침전 균사체에서 습중량과 키틴 함량은 6일째에 최고이고 총질소량(T-N)은 5일째에 최고였으며 5종 유리당은 점진적으로 감소되었고, 상증액에서의 환원당량은 점진적으로 감소되어 5일째에 최저치를 나타내었다. 한편 균사의 활착과 수량에서는 5-6일에 양호하여 본 실험의 분석

을 통한 접종 시기는 폭기 배양 5-6일이 적당하였다.

여러 가지 분석에서 얻은 결과는 폭기 배양 5~6일 정도에 접종하는 것이 가장 좋은 것으로 평가되었다. 비록 위의 침전균사체의 습중량, 총질소량, 5종의 유리당류의 분석에서와 같이 일치되지는 않지만 재배 농가에서 액체종균의 제조에 균일성을 위한 수치화된 지표를 설정하기 위하여 균사의 호흡반응량의 간이 측정으로는 비용이 저렴하고 시간 절약적인 방법으로 상대적인 이산화탄소 농도를 측정하는 것도 유용할 것으로 판단되었다.

마. 느타리버섯 액체종균의 적요

액체종균의 작고 균일한 입자의 대량 배양을 위해 전 접종원을 고속균질기로 균질화하여 투입하였다. 일별 1리터의 분취 여액을 원심분리하여 분획된 여액의 부유된 걸보기 균사량 비교, 상중액에서 환원당 검사, 침전 균사체의 습윤 중량, 침전 균사체의 총질소(T-N)량 등의 몇 가지 분석을 병행하였다. 본 연구는 액체종균 제조에 대한 간이 지표로 활용과 효율적인 느타리 액체종균을 생산하기 위하여 폭기 배양 중 일별 상대적인 이산화탄소 농도 등을 측정하였다.

액체종균의 폭기 배양 중 이의 여액을 분획하고 1시간 후에 부유된 균사량을 비교한 바 폭기 3일째에 급격한 균사의 증가가 일어났으며, 이후에는 액층과 균사층과 거의 분리되지 않는 균일성있는 입자의 분산된 균사체가 얻어졌다.

일별 폭기 중에 배출구에서 이산화탄소 농도(CO₂)를 측정한 바 폭기 3일째부터 대수기적으로 급증하였고 폭기 5일째에 정점을 나타내었으며 이후에는 감소하는 양상이었다.

느타리 액체종균의 폭기 배양 중 침전 균사체에서 5종의 유리당량은 점진적으로 감소되는 패턴(Fig. 7)을 보였고 이는 최초 투입된 영양원 고갈의 원인으로 판단되며, 침전 균사체에서 습중량과 키틴 함량은 6일째에 최고이고 총질소량(T-N)은 5일째에 최고였으며 5종 유리당은 점진적으로 감소되었다. 상중액에서의 환원당량은 점진적으로 감소되어 5일째에 최저치를 나타내었다. 한편 균사의 활착과 수량에서는 폭기 배양 5-6일이 적당하였다.

액체종균의 폭기 진행 중에 배출구에서의 상대적인 이산화탄소 농도 측정 방법은 저비용으로 액체종균의 균사배양에 대한 간이 지표로 활용이 가능할 것으로 판단되었다.

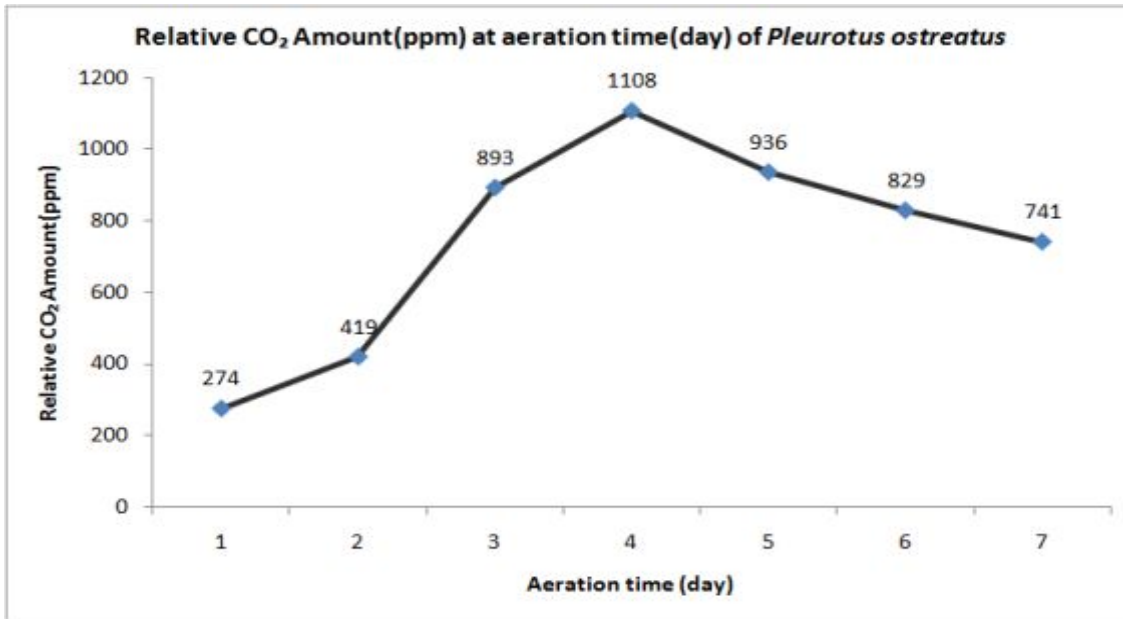


Fig. 1. The measuring of apparent amount of mycelium($\text{ml}/1\ell$) and emissions of concentration carbon dioxide(ppm) during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus ostreatus*.

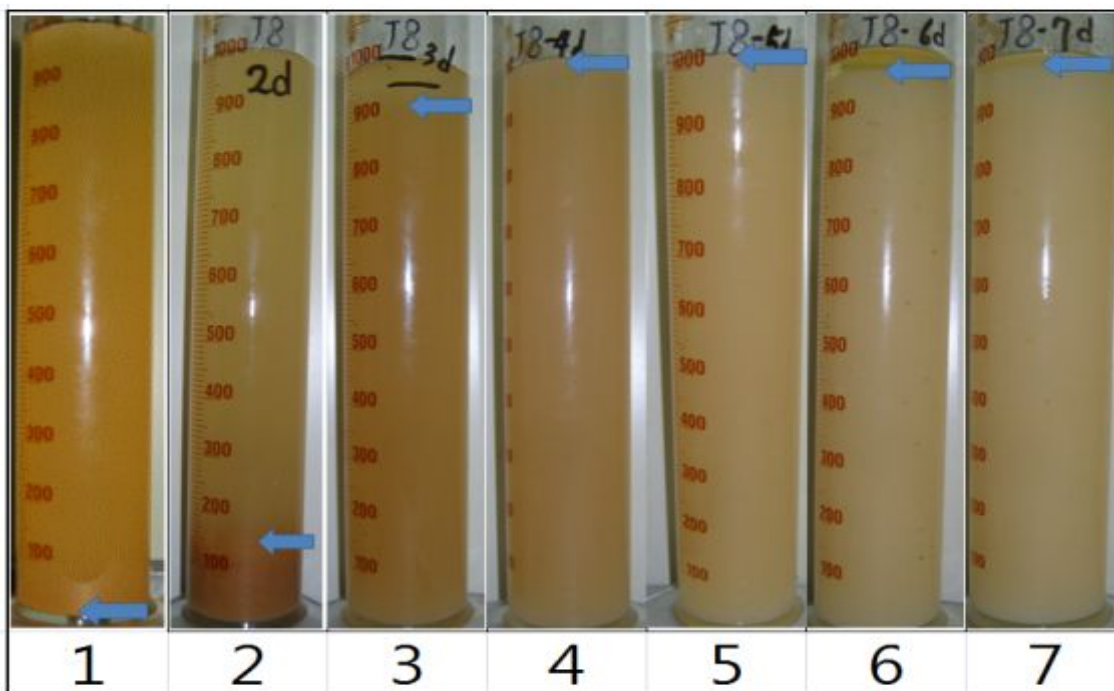


Fig. 2. The measuring of apparent amount of mycelium to leave 1 hour after daily fraction(ml/ℓ) during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus ostreatus*.

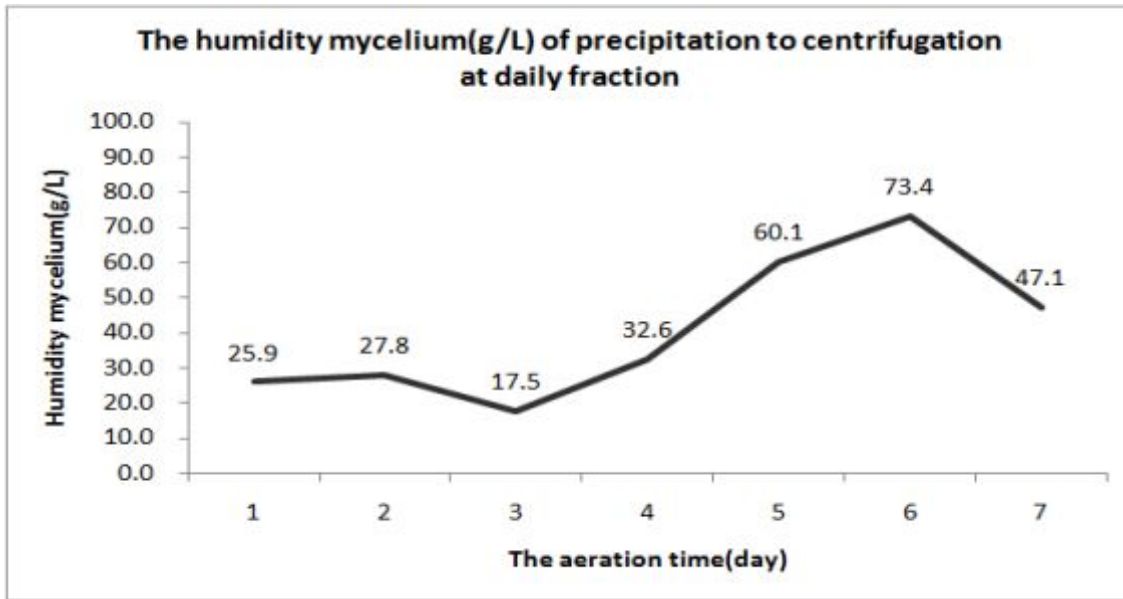


Fig. 3. The moisture amount of precipitation mycelium to centrifugation after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus ostreatus*.

Table 1. The activity of mycelium and mild contamination ratio after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus ostreatus*.

Airratoin days	4th	5th	6th	7th	8th
Relative rooting of 1st next day of inoculation	++	+++	++++	+++	++
Contamination ratio of mold(%)	0	0	0	0	0
Harvest of fruit body mean(g)	120.1	129.7	131.8	123.1	118.2
Harvest ratio of fruit body(%)	91.2	98.4	100.0	93.4	89.7

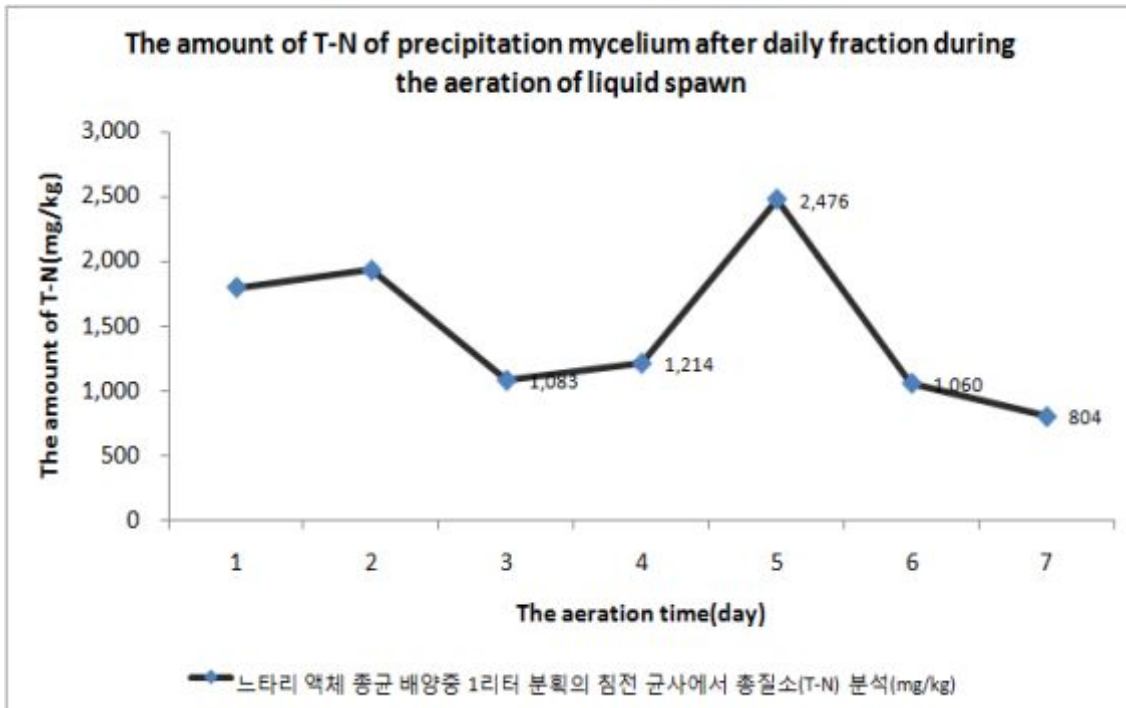


Fig. 4. The amount of T-N of precipitation mycelium after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus ostreatus*.

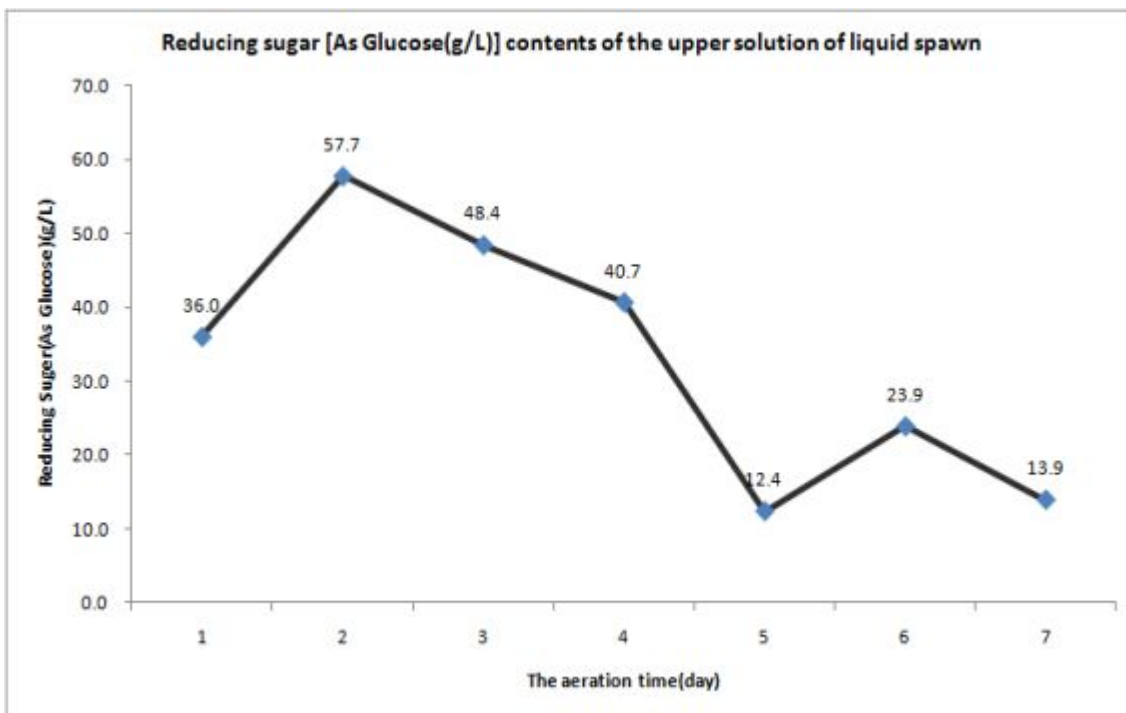


Fig. 5. Changes in reducing sugar contents of the days of aeration of the liquid spawn

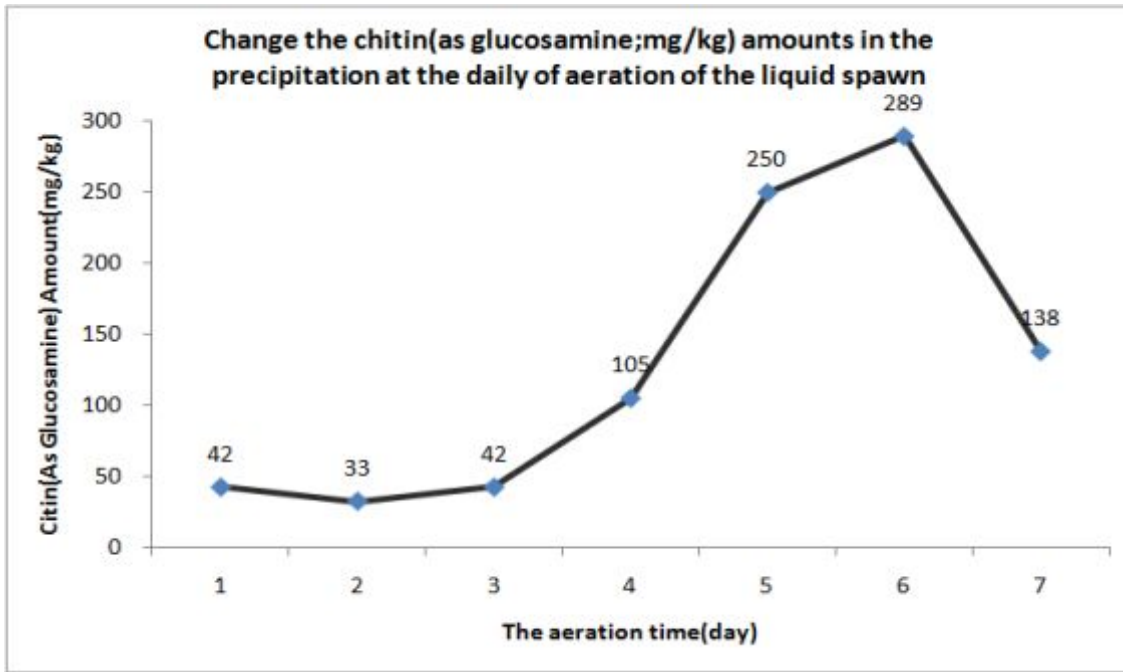


Fig. 6. Change the chitin(as glucosamine) Amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn.

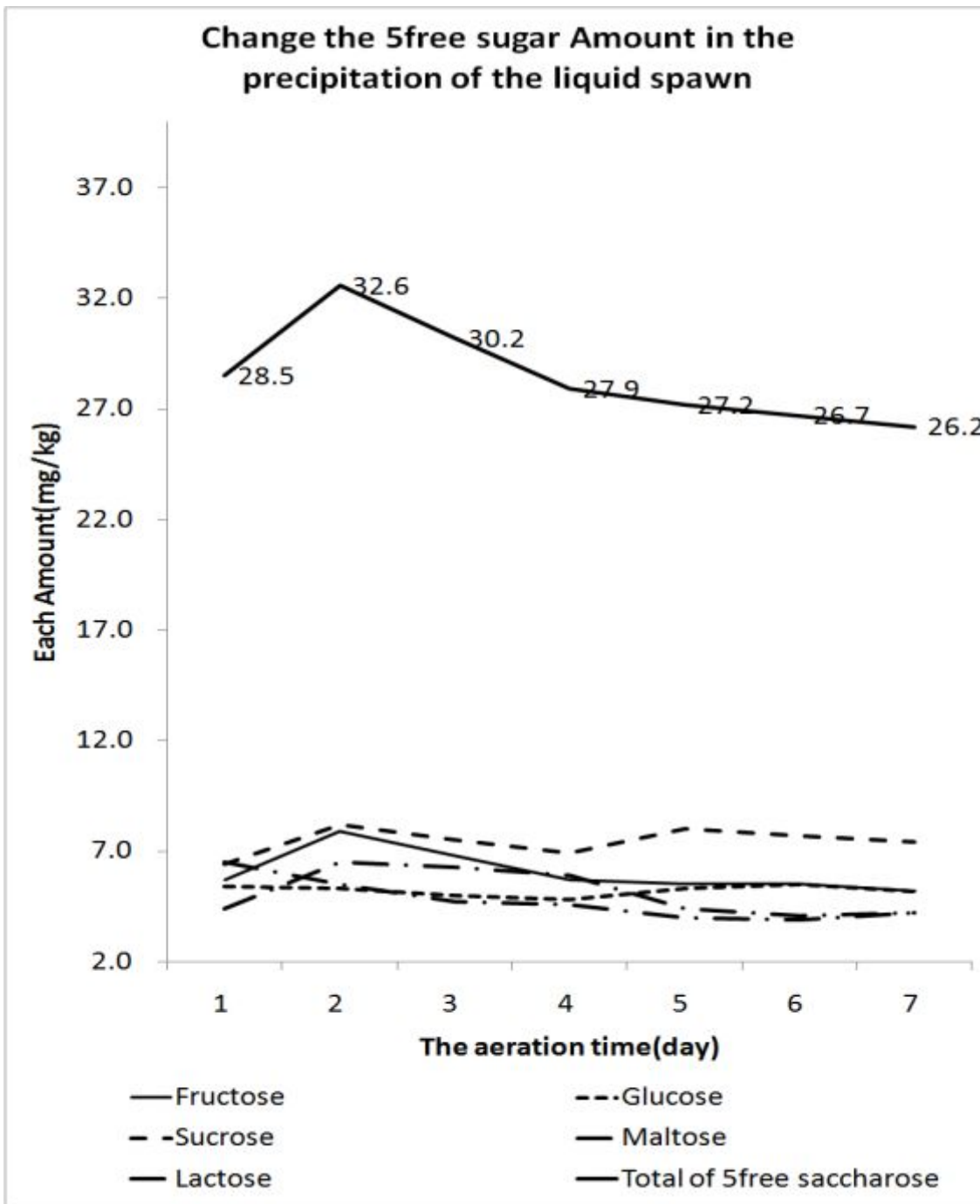


Fig. 7. Change the free sugar Amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn.

2. 새송이버섯 액체종균

가. 액체 종균 배양시 이산화탄소의 농도

Fig. 1.과 Fig. 2.는 폭기 배양 중에 배출구(숨통 부위)에서 상대적인 이산화탄소 농도와 1시간 방치한 걸보기 균사량과 비교한 그림이다. Fig.2와 같이 습윤 균사량의 증가에 따라 배출되는 이산화탄소 농도도 증가하였고 Fig.1과 같이 초기 투입된 영양원의 감소로 인하여 7일 이후에는 호흡반응에 의한 이산화탄소 농도는 서서히 감소되었다. 이는 홍 등(2003)에 의한 느타리 액체 종균의 대량 배양에서 농기(2-1호) 품종의 경우 통기량 0.5vvm과 접종량 5% 조건에서 배양 5일 이후부터는 균체량의 증가가 크게 나타나지 않았다는 것보다는 빠른 균사증식(통기량 2.0kg.f/cm과 접종량 1/400 비율)을 보였는데 이는 개량된 미세관 10구를 갖는 폭기구 사용으로 분사압력을 높여 용액의 순환을 도와 산소와의 접촉을 잘하도록 하였던 이유라고 판단되었다. 한편, 액체종균의 균사증식 속도는 투입되는 영양원량, 배양 온도, 폭기되는 공기량과 온도, 폭기구 구조, 액통의 구조, 접종원의 상태와 투입량 등의 영향을 받는다(성 등, 1999, 홍 등, 2003)는 내용도 고려하여야 할 것이다. 홍 등(2003)은 느타리, 팽나무버섯 재배의 액체종균 연구에서 느타리 및 팽나무버섯의 대량 액체배양의 조건은 팽나무버섯은 접종량 5-6%, 배양 기간 4일 일 때, 그리고 느타리버섯은 접종량 4%, 배양기간 5일에서 최대 균사 성장을 확인할 수가 있었다는 것보다는 균체량이 빨리 형성되었다.

이산화탄소 농도 측정 결과는 등(류 등, 1998)이 팽이 액체 배양시 접종 후 6-7일경에 PDB(potato dextrose broth), YPD(yeast extract peptone dextrose) 액체배지에서 균 총수가 최대치에 달한다고 보고한 팽나무버섯의 균사배양 결과보다는 훨씬 빨랐다. 지금까지 대량 배양시 외관상 균사량 만을 판단하여 액체종균을 제조하는 것보다 균사 세포 호흡량의 부산물인 이산화탄소 농도를 상대적으로 측정함으로써 간단하고 시간과 분석 비용을 절약하면서도 폭기 배양의 기준을 정할 수 있는 방법이 될 것으로 판단된다.

나. 액체 종균 배양시 습윤 균사량

Fig. 2과 같이 액체종균의 폭기 배양 중 상대적인 균사량을 확인 한 바에 의하면 폭기 배양 3일째에 급격하게 걸보기 균사량이 증가되었지만 입자는 비교적 작고 균일하게 분산되어 있으며, 현미경 검경에 의하여 확인한 바 첨가된 대두박의 덩어리가 존재하였고 상층액은 뿌옇게 남아 있었다. 폭기량이 적다든지, 대두박 량이 너무 많아서 접종시에 남아있는 경우에는 병에서의 오염 원인이 되게 되므로 대두박의 잔량이 없어지는 때에 폭기 배양하여 접종하도록 하는 것이 좋다.

특히 대용량의 액체 배양용기를 사용하는 경우 폭기량이 약하거나 폭기 구조가 불량하여 액

체 및 균사체 자체 순환이 되지 못하게 되기도 한다. 현미경 검경에 의하여 불용성 대두박이 액통의 바닥에 남게 되는지를 확인할 수도 있고 톱밥종균과는 달리 액체종균의 제조과정에서 세균 등에 의한 오염 여부를 정확하게 판정하는 것이 반드시 필요하다.

종균의 분석을 위하여 분획물을 원심분리로 침전된 균사량을 확인한 것은 Fig. 3과 같이 4-5 일째에 증가량이 많았지만 폭기 배양이 진행될수록 균사량은 증가되었다. 균사량의 평가에서는 분획된 걸보기 평가인 Fig. 2에 의한 부유 상태의 것보다는 원심분리에 의한 균사의 습윤 상태의 균사 중량은 원심분리의 침전 습윤 균사량(Fig.3)의 평가가 더욱 신뢰성이 있는 것으로 판단되었다.

다. 액체종균의 일별 폭기 배양 중의 균사 활력과 오염 평가

접종 후 배양병의 활착 상태와 수확의 자실체를 위주로 평가하였다. 접종 후 다음날인 1일째에 크린벤치 내에서 뚜껑을 열어 접종균의 활착상태를 육안으로 확인하였다. 배양종료까지도 곰팡이류 등의 오염은 보이지 않았고 표면에 고른 접종상태의 (흰색)균사상태를 상대적으로 확인한 바 폭기 배양 7-9일째에 양호한 활착상태를 보였고 폭기배양 9일째에 접종되었을 때에 수량이 가장 양호하였다. 6일째는 영양원의 흡수량과 균사량 그리고 입자가 작아서 활착이 느리게 일어나며 폭기 10일째에는 입자가 크더라도 세포 내에 흡수된 에너지를 많이 사용하였고 노화현상이 진행되므로 역시 활착은 다소 느린 것으로 평가되었다. 따라서 액체종균의 접종시기는 처음에 제한적으로 투여한 영양원만을 이용할 수 밖에 없는 액체종균의 특성이 있으므로 늦게 사용하면 오히려 좋지 않은 결과를 가져온다.

라. 새송이버섯 액체 종균 시료의 분석

새송이버섯 액체종균의 폭기 배양 중 일별 분획의 시료를 원심분리하여 침전물의 균사에서 총질소량을 조사한 결과는 Fig.4와 같다. 균사가 증가하면서 점진적으로 증가하는 양상은 Fig. 3의 침전 균사의 습윤 중량의 경향과 거의 일치하였다. 장(1976)은 액체배양에서 peptone, yeast extracts 등의 유기태가 첨가된 배지에서는 균사생장이 촉진된 반면 무기태 질소원이 첨가된 Czapek-dox solution에서는 균사생장이 저조하여 질소원으로 peptone을 사용하기도 하였지만 대형 액체배양에서는 빨리 흡수될 수 있는 peptone과 같은 영양원보다는 대두박과 같이 지속적이고 느리게 분해될 수 있는 지효성 N원의 투입이 필요하다는 것은 Fig. 1의 호흡반응량인 이산화탄소 배출량과 Fig. 2의 균사증가량을 보면 알 수 가 있다. 폭기배양 중에 대수기에서는 지효성인 대두박량이 많이 필요하게 되므로 지금까지 소용량에서의 탄소원 대비 질소원의 투입 최적 비율이 1/20량이라는 것과는 영양원 투입량의 개념을 달리해야할 것이다. 이는 기본적으로 강제적인 강력한 폭기 주입량에 크게 영향을 받게 되므로 Fig. 1에서의 호흡반응의

부산물인 이산화탄소 농도가 감소되는 것을 보면 명확히 알 수 있다. 액체 종균의 접종 시기는 배양병에서 활착은 배양병의 배지의 영향, 방랭부족 등의 잠재 열, 또는 배지원의 유해 화합물 등의 문제도 있을 수 있으므로 균사는 어느 정도의 입자 크기 형성, 입도의 균일성 유지 등과 함께 액체 균사체 세포 내에 영양원을 많이 유지한 상태에서 접종이 이루어지도록 다양한 조건을 고려해야 한다.

폭기 중의 분획된 일별 액체종균의 상증액에서 환원당 변화(Fig. 5)는 배양 8일째에 환원당의 함량은 12.7g/l로 투입된 탄소원(설탕)은 거의 소비되었다. 이 등(1992)은 운지버섯 균사체에 서는 폭기 배양 6일째 환원당 함량이 거의 소비되는 것으로 보고된 것과는 다소 차이가 있었다.

Fig. 6에서와 같이 새송이 액체종균의 폭기 배양 중에 일별 분획된 chitin 분석에 의하면 균사의 9일째에 223mg/kg으로 키틴량이 가장 높게 나왔다. 하지만 최초 투입된 영양원이 고갈되고 폭기 배양이 지속될 경우에 필요한 에너지원의 충당을 위하여 결국에는 세포 호흡도 줄어들며 급기야는 키틴량이 감소되는 것으로 보아 자가소화 현상이 일어나는 것으로 판단되었다.

새송이 액체종균의 폭기 배양 중 침전 균사체에서 폭기 배양 5일 이후에는 5종 유리당량은 점진적으로 감소되는 패턴을 보였고 총 유리당류는 sucrose량에 의하여 크게 영향을 받았으며, 5일 이후에서 균사 세포 내의 생리활성에 의한 단당류 및 이당류의 점진적인 감소는 세포 외부의 액체(상증액)에 투입된 영양원의 감소 원인으로 판단되어졌다.

침전 균사체에서 키틴 함량은 9일째에 최고이고 총질소량(T-N)은 10일째에 최고였으며 상증액에서의 환원당량은 점진적으로 감소되어 8일째에 최저치를 나타내었다. 한편 균사의 활착과 수량에서는 7-9일에 양호하여 본 실험의 분석을 통한 접종 시기는 폭기 배양 8-9일(Table 1)이 적당하였다.

비록 앞의 여러 분석에서 폭기배양 중의 상대적인 이산화탄소 농도측정, 침전 균사체의 습중량, 총질소량, chitin 함량, 5종의 유리당류의 분석에서와 같이 서로 완전히 일치되지는 않았지만 재배 농가에서 액체종균의 제조에서 균일성을 확보하기 위한 수치화된 지표로는 균사의 호흡 반응의 간이 측정으로써 비용이 저렴하고 시간 절약적인 방법으로 폭기배양 중의 상대적인 이산화탄소 농도를 측정하는 방법도 유용할 것으로 판단되었다.

마. 새송이버섯 액체종균의 적요

본 연구에서는 효율적으로 새송이버섯 액체종균을 생산할 때에 폭기(공기방울을 매우 작게 하여) 배양의 효과에 대하여 액체 배지 내 이산화탄소 농도와 잔류 유리당 함량 변화 등으로써 측정하였다. 이산화탄소 농도는 폭기 진행 중 배양용기의 배출구에서 측정하였다.

액체종균은 폭기 배양 3일째에 균사생장이 급격히 증가하였으며, 이산화탄소 농도(CO₂)도 급증하였으나 폭기 7일째에는 정점을 나타낸 후 감소하였다. 액체배지 내 환원당은 배양 8일째 까지 일정 속도로 감소되었고 이후에는 검출되지 않았고, 침전 균사체의 중량은 4일째 이후 비슷한 수준으로 유지되었다. chitin량과 총질소(T-N)량은 폭기 9일째와 10일째까지 일정한 수준으로 각각 증가되었다.

유리당의 함량은 폭기 배양 9일째에 가장 낮았으므로 폭기 배양 8-9일째에 접종원으로 사용하는 것이 가장 효과적인 것으로 생각되었다. 그리고 액체종균의 배양 중에 배출구에서의 이산화탄소 농도 측정은 저비용으로 액체종균의 균사배양 정도를 추정하는 간이 지표로 이용할 수 있을 것으로 판단되었다.

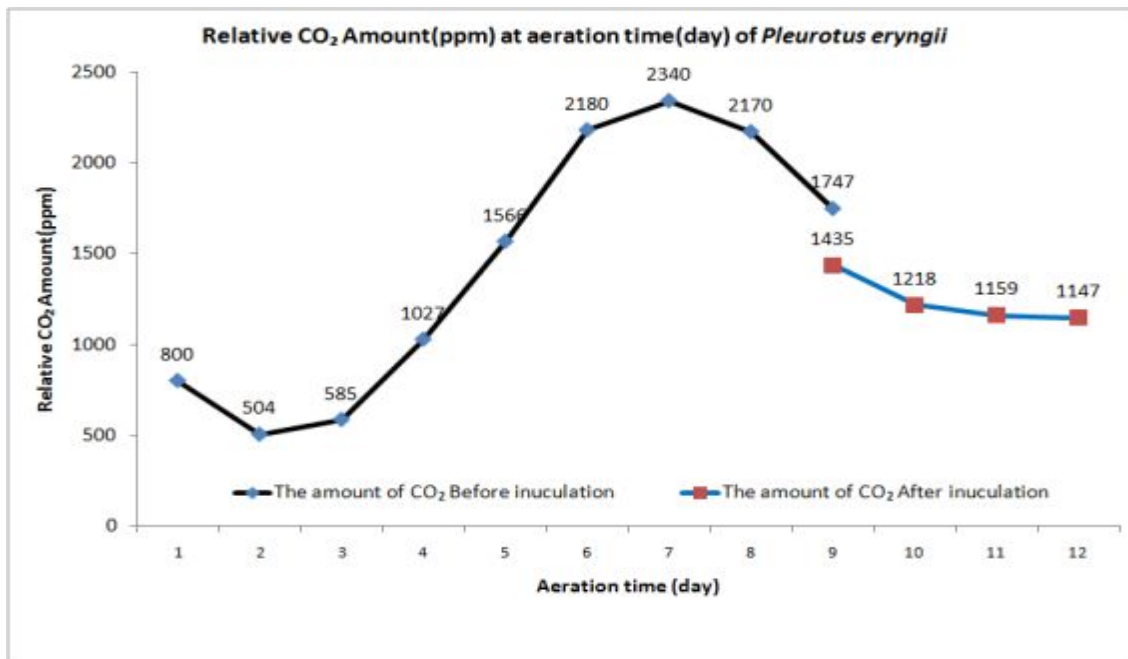


Fig. 1. The measuring of apparent amount of mycelium(ml/1 l) and emissions of concentration carbon dioxide(ppm) during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus eryngii*.

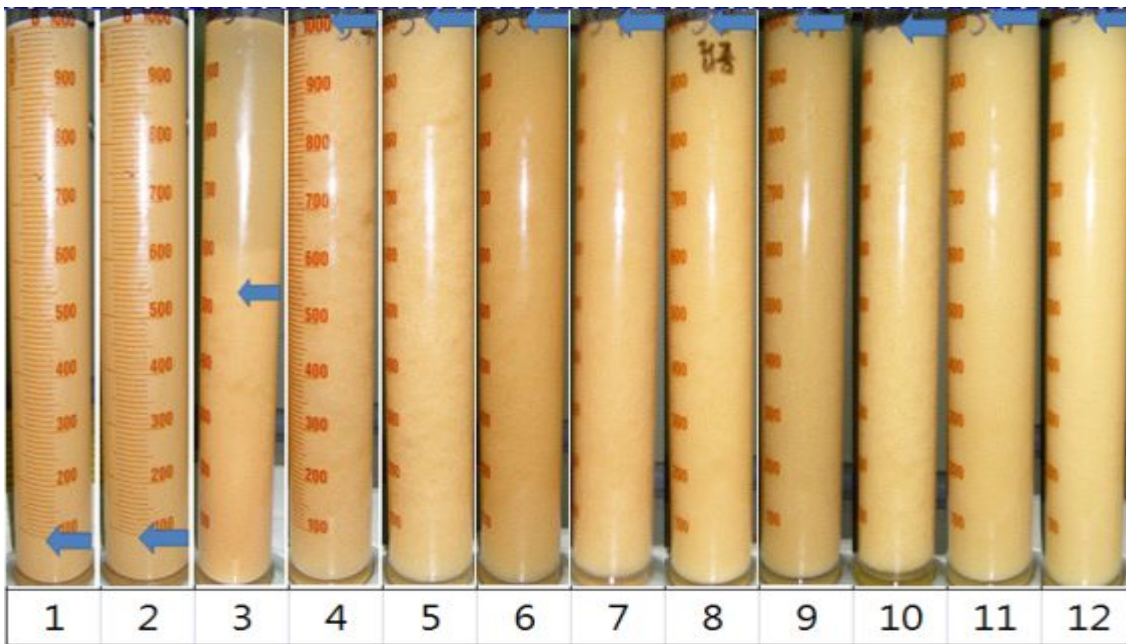


Fig. 2. The measuring of apparent amount of mycelium(ml/ l) to leave 1hour after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus eryngii*.

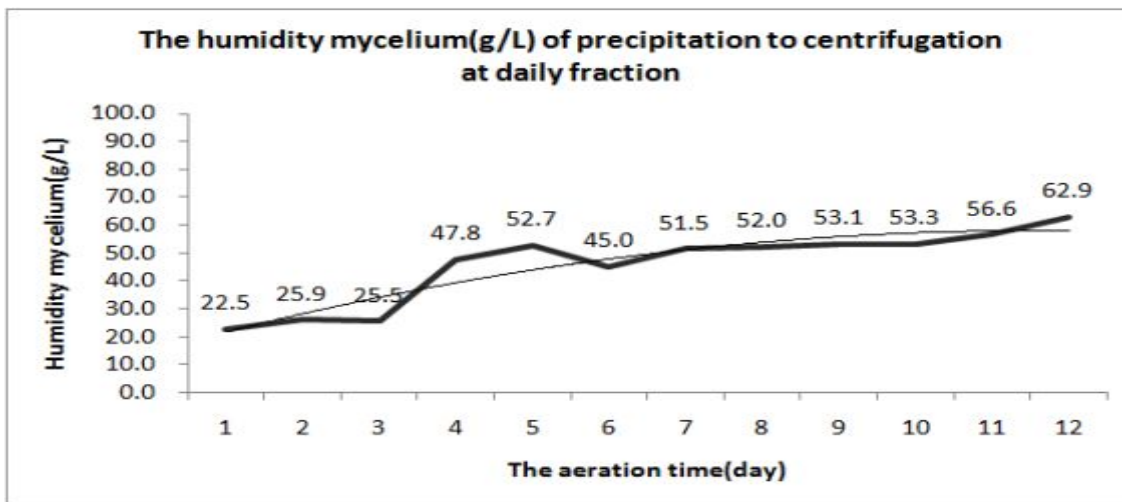


Fig. 3. The moisture amount of precipitation mycelium to centrifugation after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus eryngii*.

Table 1. The activity of mycelium and mild contamination ratio in 850ml bottle after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus eryngii*.

Airratoin days	6th	7th	8th	9th	10th
Relative rooting of 1st next day of inoculation	++	++++	++++	++++	+++
Contamination ratio of mold(%)	0	0	0	0	0
Harvest of fruit body mean(g)	105	107	108	113	107
Harvest ratio of fruit body(%)	93	95	96	100	95

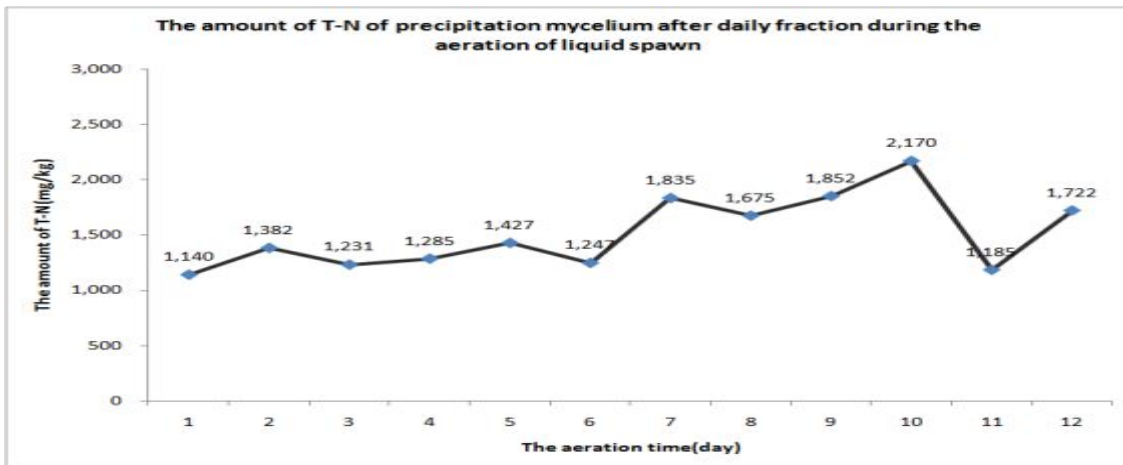


Fig. 4. The amount of T-N of precipitation mycelium after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Pleurotus eryngii*.

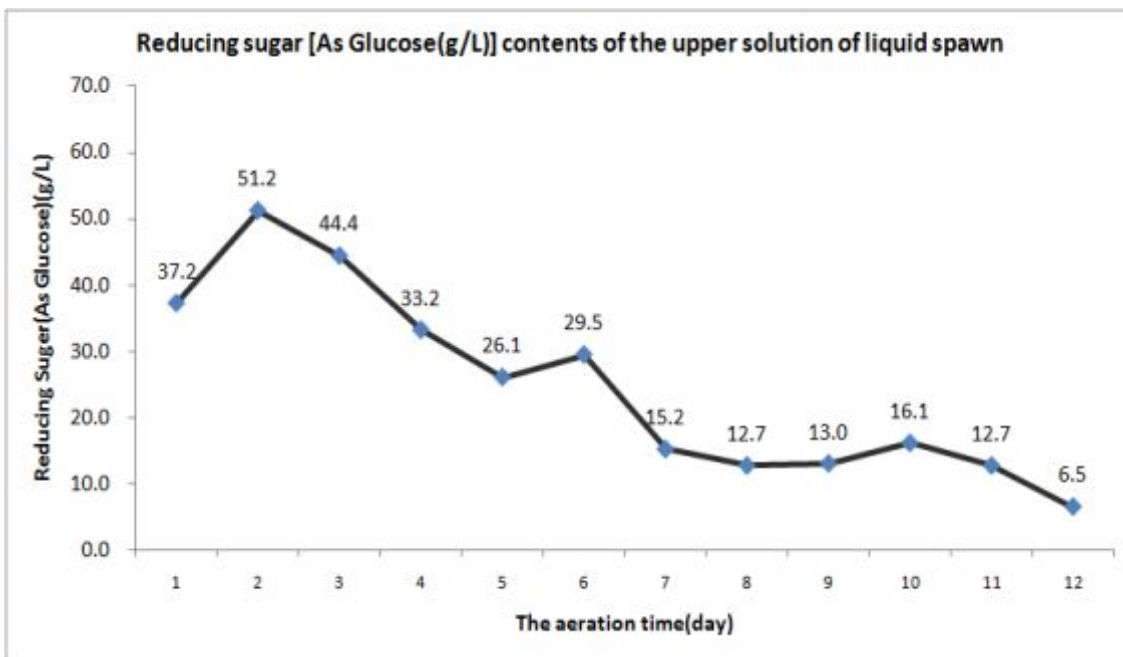


Fig. 5. Changes in reducing sugar contents of the days of aeration of the liquid spawn

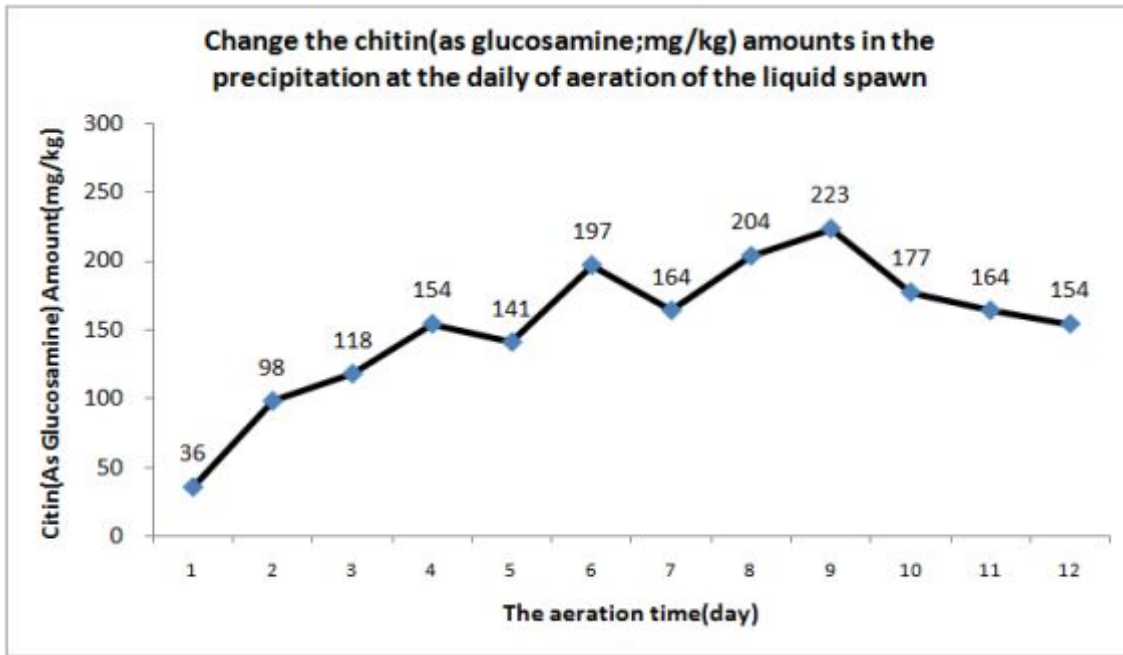


Fig. 6. Change the chitin(as glucosamine) Amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn.

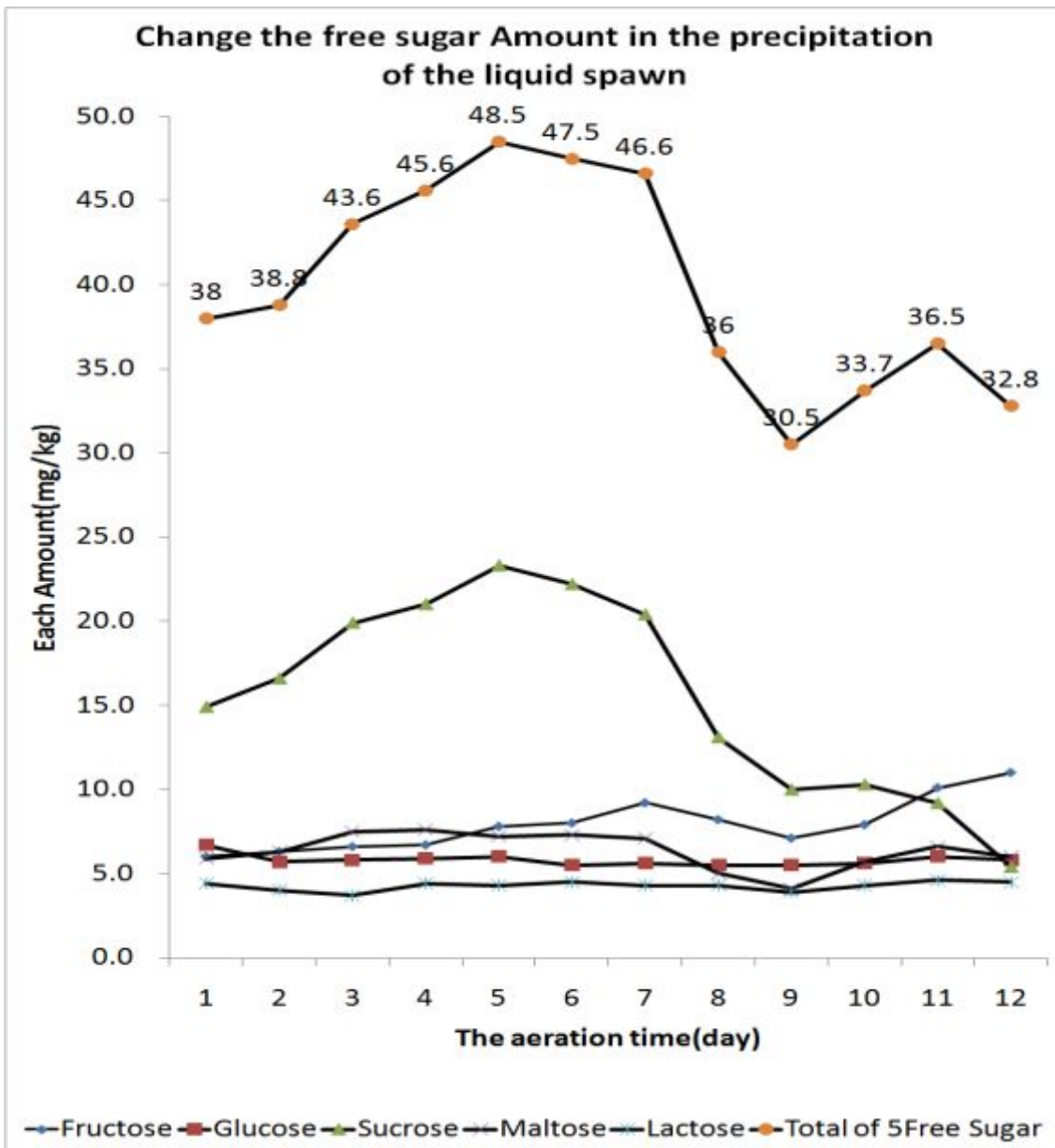


Fig. 7. Change the free sugar Amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn

3. 팽이버섯 액체종균

심 등(2012 b)의 방법에 따라 진행되었다.

가. 액체 종균 배양시 이산화탄소의 농도

Fig. 1.과 Fig. 2.는 폭기 배양 중에 배출구(숨통 부위)에서 상대적인 이산화탄소 농도와 1시간 방치한 겉보기 균사량과 비교한 그림이다. 그림에서와 같이 균사의 증가는 배출되는 이산화탄소 농도와는 완전히 일치하지는 않았다. 폭기 5일째까지는 이산화탄소 농도가 증가하다가 5일 이후부터는 감소하였다. 겉보기 균사량은 폭기 3일부터 큰 변화가 없는 것으로 나타났으나 이는 부유상태의 부력이 존재하기 때문으로 판단되었다. 액체종균의 균사량은 투입되는 영양원량, 배양 온도, 폭기되는 공기량과 온도, 폭기구 구조, 액통의 구조, 접종원의 상태와 투입량 등의 영향을 받는다(성 등, 1999, 홍 등, 2003). 이산화탄소 농도 측정 결과는 유 등(1998)이 액체 배양시 접종 후 6-7일경에 PDB(potato dextrose broth), YPD(yeast extract peptone dextrose) 액체배지에서 균 총수가 최대치에 달한다고 보고한 결과와 유사한 경향을 보였다. 지금까지 대량 배양시 외관상 균사량만을 판단하여 액체종균을 제조하는 것보다는 균사 세포 호흡량의 부산물인 이산화탄소 농도를 상대적으로 측정함으로써 간단하고 시간과 분석 비용을 절약하면서도 폭기 배양의 기준을 정할 수 있는 방법이 될 것으로 판단되었다.

나. 액체종균 배양시 습윤 균사량

액체종균의 분석을 위하여 분획물을 원심분리로 침전된 균사량을 확인한 것은 Fig. 3의 그래프와 같이 폭기 배양 11일째까지의 균사량은 지속적으로 증가하며 겉보기 균사량처럼 급격하게 증가된 양은 아니므로 Fig. 2과 같이 1시간 동안 방치하여 겉보기로 보는 균사는 서로간의 활력에 의한 부유 상태의 것으로 균밀도가 높은 것으로 판단해서는 안된다. Fig. 3에서 첫째 날의 침전물에는 투입된 고형분인 대두박 양이 많이 함유되었기 때문이며, 이후의 균사 평가에서는 겉보기 평가에 의한 것보다는 원심분리에 의한 균사의 습윤 상태의 균사 중량에 의한 평가가 더욱 신뢰성이 있는 것으로 판단되었다.

다. 액체종균의 일별 폭기 배양 중의 균사 활력 평가에 의한 최적 접종일 검사

Fig. 2와 같이 액체종균의 폭기 배양 중 상대적인 균사량을 확인 한 바에 의하면 폭기 배양 3일째에 급격한 균사량이 증가되었지만 입자는 비교적 작고 균일하게 분산되어 있었고 현미경 검경에 의하여 확인한 바 첨가된 대두박의 덩어리가 존재하였고 상층액은 뿌옇게 남아 있었다. 폭기량이 적다든지, 대두박 양이 너무 많아서 접종시에 남아있는 경우에는 병에서의 오염 원인이 되기도 하므로 대두박의 잔량이 없어지는 때까지 폭기 배양하여 접종하도록 하는 것이 좋

다. Fig. 3에서 1일째 량이 다소 많았던 것은 투입된 대두박 양이 침전물로 나타난 것이다. 특히 대용량의 액체 배양용기에서 폭기량이 약하거나 폭기 구조가 불량하여 용액과 균사체 등이 잘 순환 되지 못하는 경우도 있다.

접종 후 배양병의 활착 상태를 위주로 평가할 수 밖에 없는 상황이므로 접종 후 다음날인 1일째에 크린벤치 내에서 뚜껑을 열어 접종균을 육안으로 확인하였다. Table 1에서와 같이 각각의 입자는 표면 접종위치에서 습윤상태에서 벗어나 흰색의 균사 활착상태 상대적으로 확인하였다. 폭기 배양 4-5일째의 접종은 작은 입자 등의 원인으로 활착이 늦어 보였고 폭기 8일째에는 입자가 크더라도 활착은 다소 느려보였으며, 폭기 6-7일째에 접종에서 균사활착은 가장 양호하게 보였다. 또한 16일째까지 폭기가 진행된 종균은 세포내 영양원 고갈과 노화현상 등으로 아주 느린 활착을 보였고 배양 병에서 오염은 없었지만 균사 증식은 거의 진행되지 않았다. 폭기 일별 접종에 의한 수량은 활착이 잘 유지되었던 6-7일째의 접종이 가장 높은 수량을 나타내었다.

라. 팽나무버섯 액체 종균 시료의 분석

팽나무버섯 액체종균의 폭기 배양 중 일별 분획의 시료를 원심분리하여 침전물의 균사에서 전질소량을 조사한 결과는 그림과 같다. 초기에는 투입된 량의 대두박 등에 의하여 높게 검출되다가 균사가 증가하면서 점진적으로 증가하는 양상은 Fig. 4의 균사 습윤 중량의 경향과 거의 일치하였다. 팽나무버섯은 질소요구량이 크고, 질소원으로는 유기태, 무기태의 암모니움염을 이용하지만 대부분 유기태 질소를 분해 이용한다(Block, 1958).

환원당 변화는 배양 5일째 까지 완만하게 감소하다가 6일째부터 급격히 감소하여 배양 8일째 환원당의 함량은 9.3g/L로 거의 소비되었다. 이 등(1992)은 운지버섯 균사체에서는 배양 6일째 환원당 함량이 거의 소비되는 것으로 보고된 것과는 다소 차이가 있었다. 이는 투입되는 영양원과 접종비율 등의 다양한 조건에 따라서 다르게 나타날 수 있으므로 같은 조건에서의 비교가 필요할 것이다. 침전 균사에서 총질소원의 감소와 액체종균의 상층액에서의 환원당은 폭기 진행 중에 균사의 호흡반응 그리고 균사의 증가에 따라 투입된 영양원량은 점점 감소되었다(Fig. 5).

Fig 6.에서와 같이 팽나무버섯 액체종균의 폭기 배양 중에 일별 분획된 chitin 분석에 의하면 왕성한 균사의 증식 대수기(4일째)와 폭기 9일째에 높게 나왔다. 이는 영양분이 많이 존재하고 왕성한 증식기에서 키틴 함량이 높았으며 이후 영양원이 감소함에 따라 줄어들다가 균체 내에 축적된 영양원을 소모시키면서 균체량이 증식되는 현상일 것으로 판단되었으나 추정일 뿐이며 폭기 진행 중의 이산화탄소 농도의 배출 패턴과는 달랐다.

유리당은 Fig.7에서와 같이 폭기 7일째까지 지속적으로 감소하였지만 이후에는 생성된 균사

량이 많아지면서 후기에는 약간 증가하였다. 5종의 당류에서 fructose와 glucose의 량이 총량에 더 많은 영향을 주었다.

여러 가지 분석에서 얻은 결과는 서로가 완전히 일치하는 패턴을 없었으나 환원당 변화량과 균사활착의 결과로 볼 때 폭기 배양 6~7일 정도에 집중하는 것이 가장 좋은 것으로 평가되었다. 하지만 농가에서 균일성을 위한 수치화된 지표를 설정하기 위하여 균사의 호흡 반응량의 간이 측정으로는 비용이 저렴하고 시간 절약적인 방법으로 상대적인 이산화탄소 농도를 측정하는 것도 유용할 것으로 판단되었다.

마. 팽이버섯 액체종균의 적요

본 연구에서는 효율적으로 팽나무버섯 액체종균을 생산할 때에 폭기(공기방울을 매우 작게 하여) 배양의 효과에 대하여 액체 배지 내 이산화탄소 농도와 잔류 유리당 함량 변화로써 측정하였다. 이산화탄소 농도는 폭기 진행 중 배양용기의 배출구에서 측정하였다.

액체종균은 폭기 배양 3일째에 균사생장이 급격히 증가하였으며, 이산화탄소 농도(CO₂)도 급증하였으나 폭기 5일째에는 정점을 나타낸 후 감소하였다. 액체배지 내 환원당은 배양 7일째 까지 일정 속도로 감소되었고 이후에는 검출되지 않았고, 침전 균사체의 중량은 3일째 이후 비슷한 수준으로 유지되었다. 총질소(T-N)량은 폭기 11일째까지 일정한 수준으로 감소되었다.

유리당의 함량은 폭기 배양 7일째에 가장 낮았으므로 폭기 배양 6-7일째에 접종원으로 사용하는 것이 가장 효과적인 것으로 생각되었다. 그리고 액체종균의 배양 중에 배출구에서의 이산화탄소 농도 측정은 저비용으로 액체종균의 균사배양 정도를 추정하는 간이 지표로 이용할 수 있을 것으로 판단되었다.

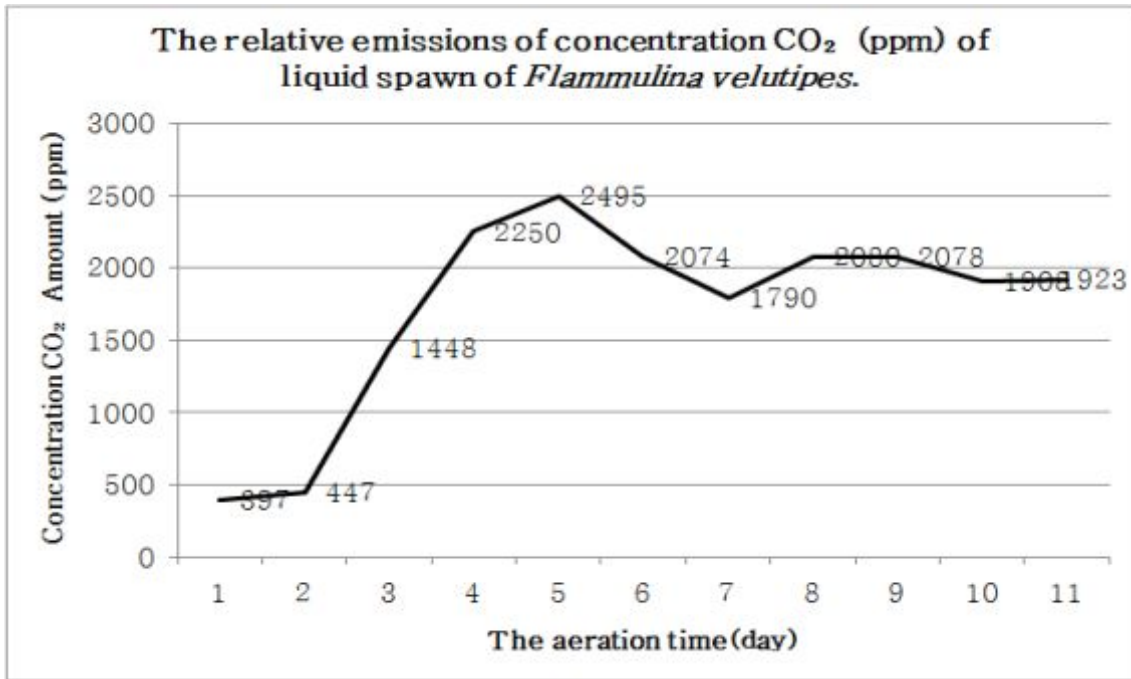


Fig. 1. The measuring of relatively emissions of concentration carbon dioxide(ppm) during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*.

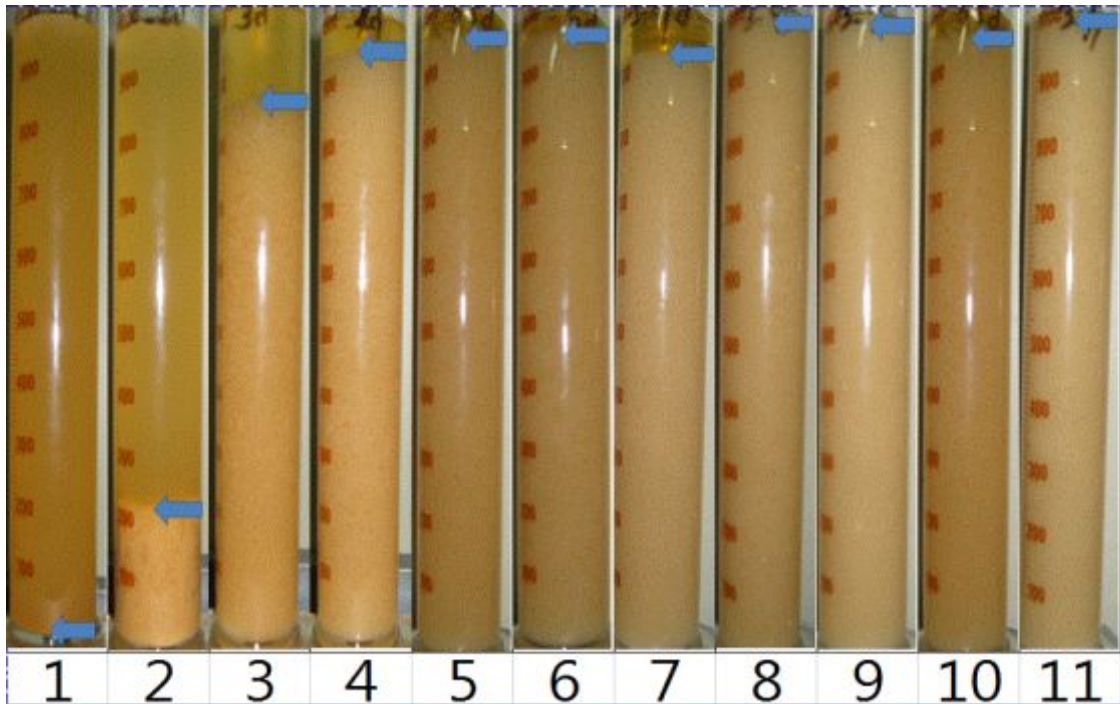


Fig. 2. The measuring of apparent volume(ml/L) of mycelium to leave 1hour stationary after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*.

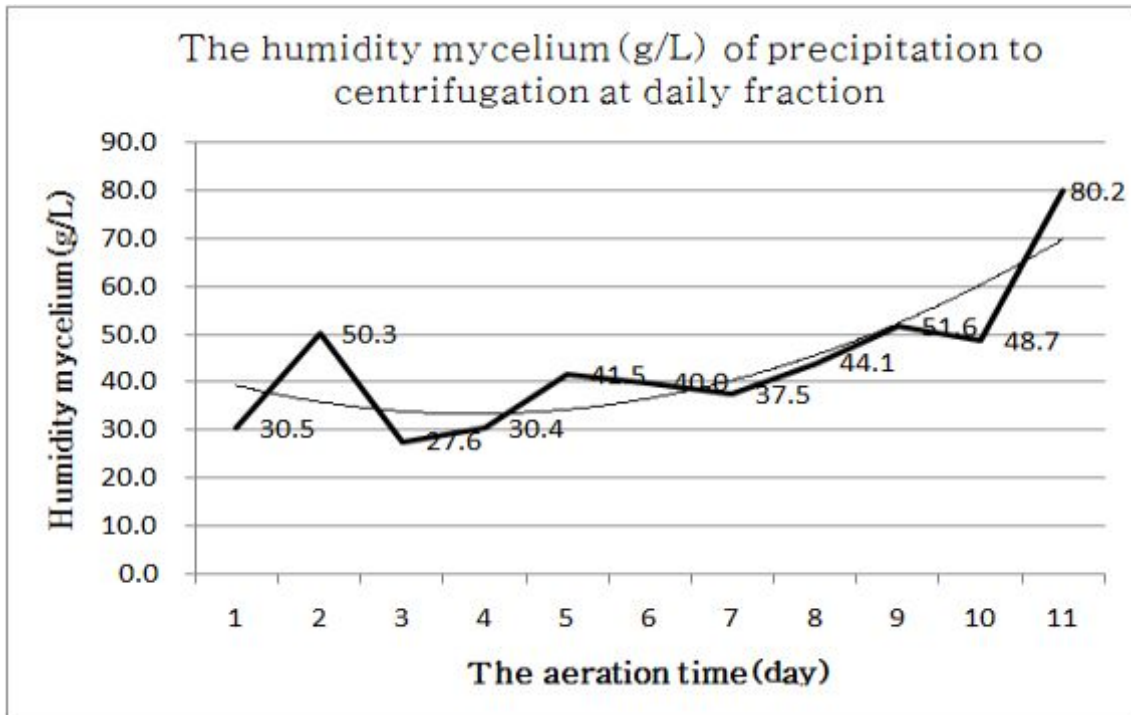


Fig. 3. The humidity mycelium weight(g/L) of precipitation to centrifugation after daily 1L fraction during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*.

Table 1. The activity of mycelium and mild contamination ratio after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*.

Airratoin days of liquid spawn	4th	5th	6th	7th	8th	16th
Relative rooting of after 1st day of inoculation	+	++	++++	++++	+++	+
Contamination ratio of mold(%)	1.6	0	0	0	0	1.6
Harvest of fruit body mean(g)	153	157	165	162	155	0
Harvest ratio of fruit body(%)	92.7	95.2	100.0	98.2	93.9	0

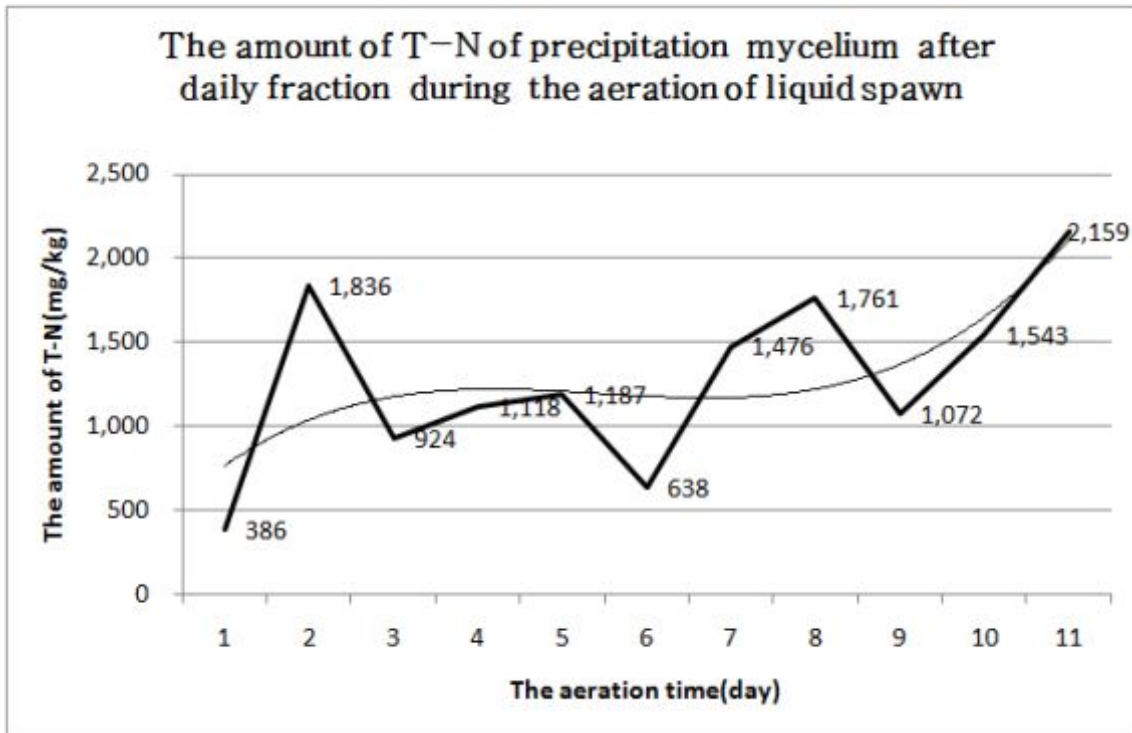


Fig. 4. The amount of T-N of precipitation mycelium after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*.

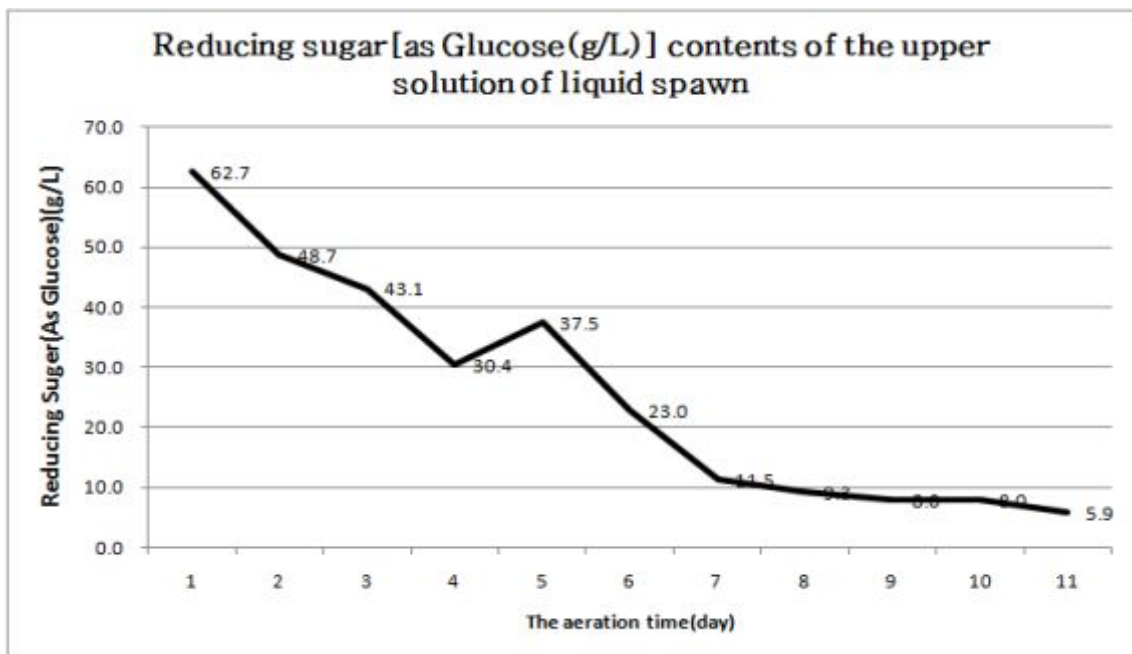


Fig. 5. Changes in reducing sugar contents of upper solution after daily fraction during the aeration of liquid spawn

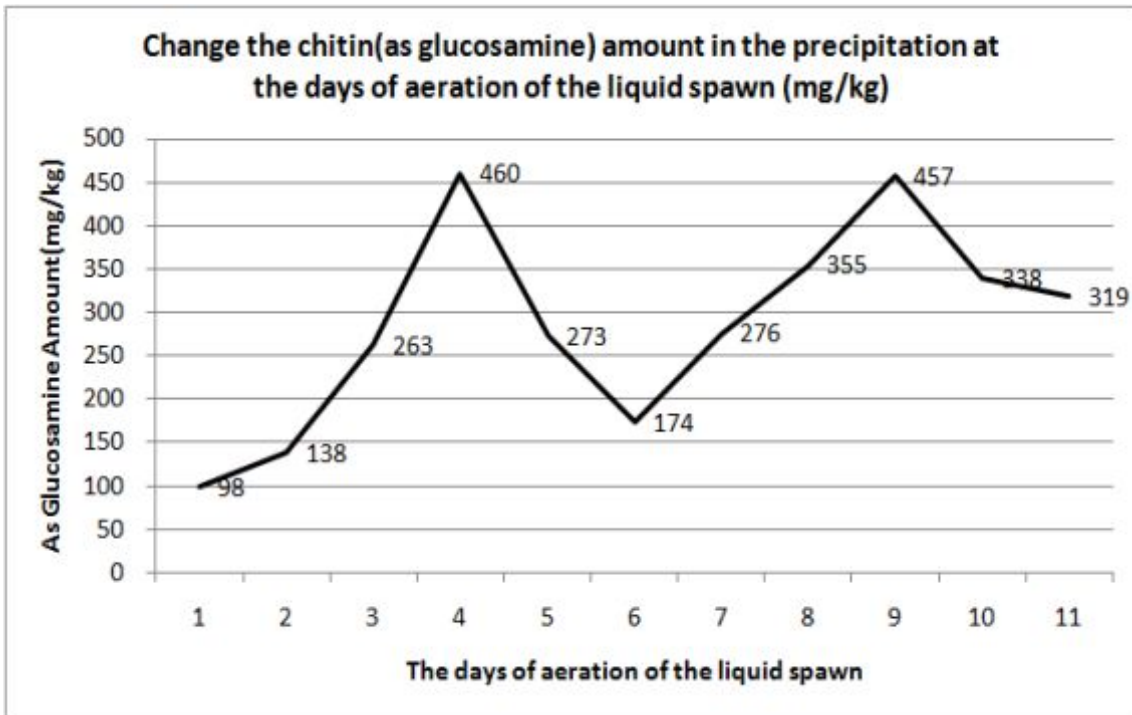


Fig. 6. Change the chitin(as glucosamine) amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn.

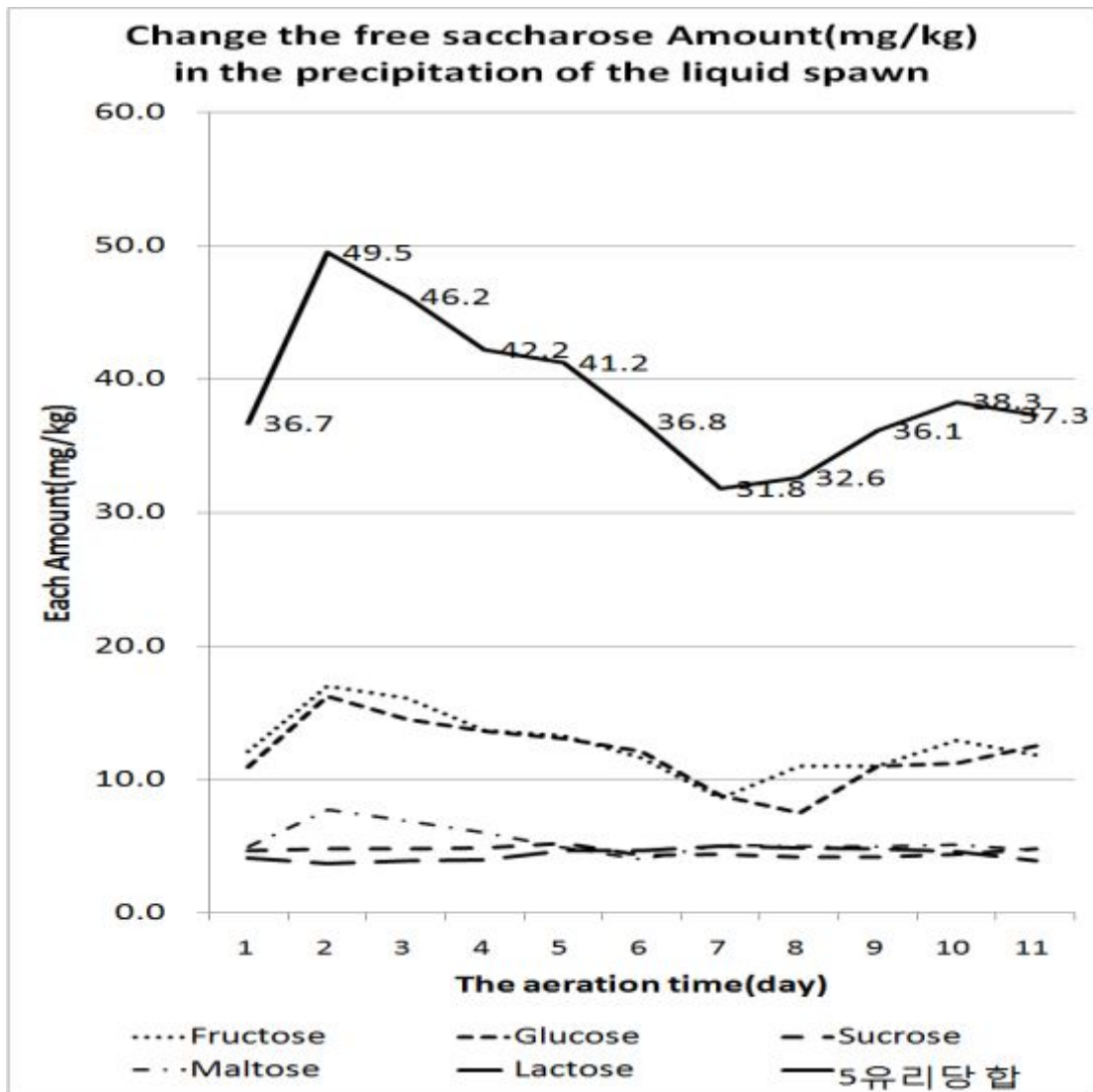


Fig. 7. Change the free saccharose Amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn.

4. 표고버섯 액체종균

가. 액체종균의 균사 수율향상을 위한 대두박 증량에 따른 균사의 밀도 평가

Table 1과 같이 표고의 대용량 액체배양에서 기존의 방법에 의하여 C/N율로 대두박 (soybean meal) 량을 적게 넣은 대조구에서는 폭기 배양 17일째까지도 분획하여 1시간 정치하였을 경우에 68% 정도의 균사체를 얻을 수 있었지만 대조구보다 대두박 량을 3.1배량 더 넣은 경우에 85%의 균사체를 얻었다. 이는 다량의 공기주입과 접종원을 고속균질기로 파쇄하여 접종하였다 하더라도 폭기 중에 각각의 미세한 균체가 독립적으로 커 갈 수 있는 지지체가 필요하기도 하지만 폭기 배양 대수기에서의 탄소원의 영양원 이외의 지속적인 영양원의 공급이 이루어지기 때문으로 판단되었다. 또한 대두박 량을 증량하였을 경우에 습윤 균사량도 대조 실험구에 비하여 폭기 배양 17일째에 대조구 대비 180.7%의 수율이 얻어졌다. 이처럼 폭기 중에 균사가 서로 뭉치지 않고 독립적인 상태에서 자랄 수 있도록 지지체 역할을 하는 것으로는 수용액에 완전히 용해되지 않는 보리나 밀 등의 엇기름 제조(당화효소)에 의해 제조된 oligosaccharide류 및 당화물질이 함유된 부유성 당화 배지를 첨가하는 것이 유용할 것으로 판단되었다.

나. 액체 종균 배양시 이산화탄소의 농도

Fig. 1은 폭기 배양 중에 배출구(숨통 부위)에서 상대적인 이산화탄소 농도를 측정하는 것으로 폭기 시작일 부터 이산화탄소 농도가 증가하다가 13일 이후부터는 감소하였다. Fig. 2는 분획 후 1시간 방치한 겉보기 균사량을 비교한 그림으로 겉보기 균사량은 폭기 7일부터 많아졌으며 지속적인 증가가 이루어졌다. 1L 분취 후 1시간 정치하였음에도 부유상태의 부력이 존재하여 92% 정도의 부유된 균사밀도를 얻었다. Fig.1과 Fig.2에서와 같이 대용량의 액체종균 배양용기에서 겉보기 부유된 균사 밀도의 증가와 배출되는 이산화탄소 농도와는 완전히 일치하지는 않았지만 폭기배양 초기에서는 正의 상관관계가 유지되었는데 이는 균사량은 점점 증가하고 있지만 처음에 투입된 영양원은 점차로 고갈되기 때문으로 판단하였다.

액체종균의 균사량은 투입된 영양원 량, 배양 온도, 폭기되는 공기량과 온도, 폭기구 구조, 액통의 구조, 접종원의 상태와 투입량 등의 영향을 받는다(홍 등, 2003)고 하였으므로 다양한 방법으로서의 액체 종균의 제조가 가능하나 균사의 증식이 느린 표고균사는 쉽게 만연되지 않는다. 한편, 이 등(1998)은 표고액체종균을 17일간 배양하여 만연시킨다는 내용은 있지만 이는 배양액이 8L 용량의 결과이었고, 본 실험에서는 140L 액체배양용기에서도 고밀도의 부유된 표고균사를 얻을 수 있었다.

다. 액체종균 배양시 습윤 균사량

액체종균의 분석을 위하여 분획물을 원심분리로 침전된 균사량을 확인한 것은 Fig. 3의 그래프와 같이 폭기 배양 9일째까지 균사량은 지속적으로 증가하여 13일째에 최대 균사중량을 보였으며 이후에는 오히려 감소하였다. Fig. 2의 겉보기 균사량에서는 폭기배양 23일째까지도 증가되었지만 Fig. 3과 같이 13일 이후의 감소는 수용액의 투명도 및 현미경 검경에 의한 대두박의 감소를 확인한 것을 고려해 볼 때에 각각의 균사입자와 결합되어있는 대두박의 분해로 균사체로의 전환되었기 때문으로 판단되었다. Fig. 2의 겉보기 균사는 서로간의 활력과 호흡반응에 의하여 배출된 이산화탄소 가스에 의한 부유 상태이므로 이를 균밀도가 높은 것으로 판단해서는 않된다. 또한 Fig. 3에서 첫째 날부터 8일째까지는 점진적으로 약간의 중량이 감소되었는데 이는 초기 투입된 고형분인 대두박이 원심분리할 때에 함께 침전된 것이므로 초기의 중량은 모두가 균사량은 아니다. 이는 Fig. 6의 chitin의 결과에서 분명해졌다.

라. 표고버섯 액체 종균 시료의 화학적 특성 분석

표고버섯 액체종균의 폭기 배양 중 일별 분획의 시료를 원심분리하여 침전물의 균사에서의 총질소(T-N)량을 조사한 결과는 Fig.4의 그림과 같다. 균사가 증가하면서 점진적으로 증가하는 양상은 Fig. 3의 균사 습윤 중량의 경향과 거의 일치하였으며 폭기 배양 13일째에 최고치를 보였고, 첨가된 영양원이 고갈되는 후기에는 균사체에 함유된 양이 다시 현저히 감소되었다. 따라서 균사체 중에 최고의 농도를 보인 13일째에서도 균사가 만연되지 못하여 더 많은 폭기 일수가 필요한 점을 고려하면 처음에 첨가되는 대두박 또는 에너지원은 본 연구의 조건보다도 더 많이 투입해야 한다는 것을 의미한다.

환원당 변화(Fig.5)는 배양 11일째까지 완만하게 감소하다가 12일째 환원당의 함량은 6.5g/L로 거의 소비되었다. 이 등(1992)은 운지버섯 균사체에서는 배양 6일째 환원당 함량이 거의 소비되는 것으로 보고된 것보다는 느리게 소모되었지만 이는 품종의 차이와 투입되는 영양원과 접종비율 등의 다양한 조건에 따라서 다르게 나타날 수 있으므로 같은 조건에서의 비교가 필요해 보였다.

Fig 6.에서와 같이 표고버섯 액체종균의 폭기 배양 중에 일별 분획된 chitin 분석에 의하면 왕성한 균사의 호흡이 이루어지는 증식 대수기(Fig.1) 이후이며 균사량이 많았을 때(Fig.2)인 18일째에 가장 높게 나왔다. 이는 Fig.2의 그림에서와 같이 폭기 배양 23일째에 겉보기 균사량에서 더 많이 보일 때에는 오히려 감소하였는데 23일째에는 영양원의 고갈과 함께 균사의 노화현상에 의한 자가소화 현상으로 판단되었다.

에르고스테롤 함량은 Fig. 7에서와 같이 호흡반응(Fig. 1)이 왕성하게 이루어진 때에 높았으며 이는 균체량이 많고(Fig. 3) 총질소(T-N)의 양이 많았을 때와 거의 일치하였으나 이후 균

사체량이 많아지는 시점인 22일에서 120.7mg/L로 가장 높은 양을 보였다. 따라서 투입된 영양원의 소모와 함께 길보기 균체량이 최대로 되는(Fig. 2) 22일까지도 균사의 살아있는 세포가 많았음을 나타내는 것으로 판단하였다.

유리당 함량은 5종의 유리당에서 주로 sucrose의 량에 좌우되었으며 폭기배양 18일에 최대치인 88.0mg/kg의 농도를 보였으며 이후에는 점점 감소되는 양상을 보였다. 유리당 함량은 Fig.6의 그래프와 같이 chitin의 변화와 유사하게 변화되는 양상이었지만 일치하지는 않았다.

여러 가지 분석에서 얻은 결과는 완전히 일치하는 패턴을 없었으나 가장 적당한 접종일의 판단기준은 chitin 함량에 따라 18일 전후가 적합할 것으로 추정되었고 부유된 균사 밀도(Fig.2)도 고려하는 것이 좋을 것으로 판단되었다.

한편 다양한 화학적인 분석기법으로의 방법도 위에서와 같이 완전히 일치하는 것은 없다 따라서 농가에서 균일성을 위한 수치화된 지표를 설정하기 위하여 균사의 호흡 반응량의 간이 측정으로는 균사의 밀도와 함께 비용이 저렴하고 시간 절약적인 방법으로 상대적인 이산화탄소 농도를 측정(Fig.1)하여 영양원 등의 조건에서의 변화양상을 비교하는 것도 유용할 것으로 판단되었다.

마. 톱밥 배지에서 유해물질의 영향에 의한 액체종균의 활착

잘 발효된 톱밥에서 액체종균을 접종하여 1일 후의 활착상태를 확인한 바에 의하면 Fig. 9-1의 그림에서와 같이 균사의 초기 활착이 잘 되었다. 그리고 Fig. 9-2의 그림에서와 같이 오래된 톱밥(벌채 후 2년된 참나무 톱밥)에서는 균사의 배양은 잘 이루어지고 있었지만 벌채 후 6개월 정도의 참나무로 제조된 생톱밥에서 발효 12hr째의 것은 여전히 유해물질이 중화되지 못하여 접종된 균사가 사멸되어 배양이 진행되지 못하였고 24시간 이상의 발효과정을 거치게 되면 표고균사의 배양은 톱밥의 유해물질의 작용이 줄어들지만 어느 정도는 영향을 주게되므로 참나무의 생톱밥은 통돌이 발효조의 숙성과정에 의하여서도 3일 정도는 필요하였다. 하지만 오래된 톱밥보다는 균사의 배양이 다소 느렸다. 이러한 현상은 톱밥종균의 경우에도 거의 유사한 양상을 보였지만 접종원 자체의 지지체인 고형물질(톱밥 등)이 있을 때에는 유해물질에 의한 영향은 약간 완화되었다(자료 미제출). 이들의 결과로 볼 때에 톱밥 종균 뿐만 아니라 특히 액체종균에서는 참나무(류)의 수피 등에 많이 함유되어있는 유해물질의 영향이 크므로 오랜 시간 동안의 야외발효나 통돌이 등을 사용하여 짧은 시간 동안 강압적인 발효기법을 적용하여 생나무의 수피 등에 존재하는 유해물질을 무독화시켜 사용하면 톱밥배지에서의 액체종균의 사용도 문제될 것이 없다고 판단되었다.

마. 표고버섯 액체종균의 적요

본 연구에서는 효율적으로 표고버섯 액체종균을 생산할 때에 폭기(공기방울을 매우 작게하여) 배양의 효과와 대두박의 증량으로 균질화된 균사가 서로 묻치지 않고 독립적으로 증식하도록 하고 대수기 이후의 지효성 영양원의 공급이 가능하게 하여 균체량을 증진하는 효과가 있었다.

폭기 진행 중 침전 균사체의 증량은 13일째에 가장 컸으며, 배양용기의 배출구에서 이산화탄소 농도는 13일째에 가장 높았다. 균사 밀도의 측정과 함께 이산화탄소 농도의 측정은 저비용과 시간을 절약하면서 액체종균의 균사배양 정도를 추정하는 간이 지표로 활용할 수 있을 것으로 판단하였다.

상층 수용액에서 환원당은 폭기 12일째에 거의 소비되었고, 침전 균사체에서 총질소(T-N)량은 폭기 배양 13일째에 최고 수준이며, chitin량과 5종의 유리당은 sucrose량은 폭기 배양 18일째에 가장 높았으며, 에르고스테롤량은 폭기 배양 22일째에 가장 높았다.

별채 후 오래된(2년째) 톱밥은 액체종균에 의해서도 활착이 잘되었다. 하지만 별채 6개월 이내의 톱밥에서는 수피 등에 존재하는 유해물질의 영향으로 통돌이 발효기로 12시간 이내에서는 균사가 사멸 되었으며 발효 24시간 이상에서는 유해물질의 영향이 완화되었지만 통돌이 발효기에서는 72시간 정도의 발효가 필요하였다.

Table 1. The apparent solid volume & humidity mycelium weight at daily 1L fraction during the aeration of liquid spawn of *Lentinus edodes* (Berk.).

Airratoin time(days) of liquid spawn	6th	9th	11th	13th	15th	17th
The apparent volume(ml/L) of mycelium to leave 1hour stationary after of control(%)	11	25	36	48	64	68
The apparent volume(ml/L) of mycelium to leave 1hour stationary after of soybean meal enoughly(%)	18	43	58	61	84	85
The humidity mycelium weight(g/L) of control	10.1	15.6	14.3	30.1	32.4	35.7
The humidity mycelium weight(g/L) of soybean meal enoughly	25.1	38.6	61.9	71.2	56.3	64.5

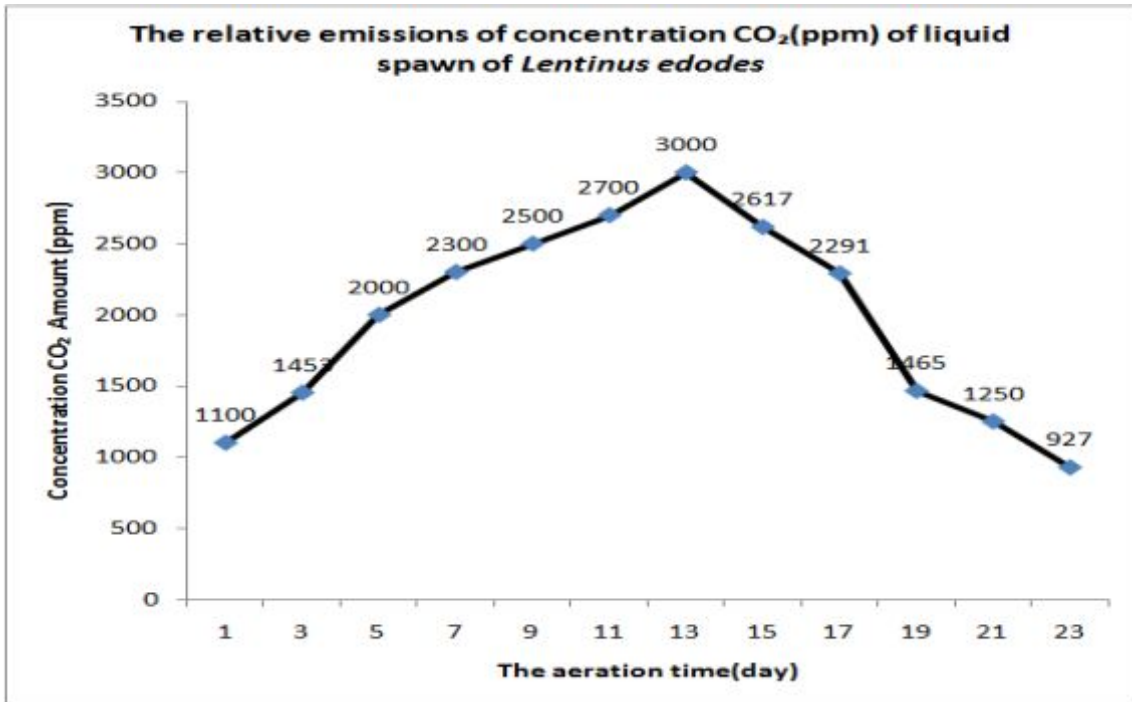


Fig. 1. The measuring of relatively emissions of concentration carbon dioxide(ppm) during the aeration of liquid spawn of *Lentinus edodes* (Berk.).

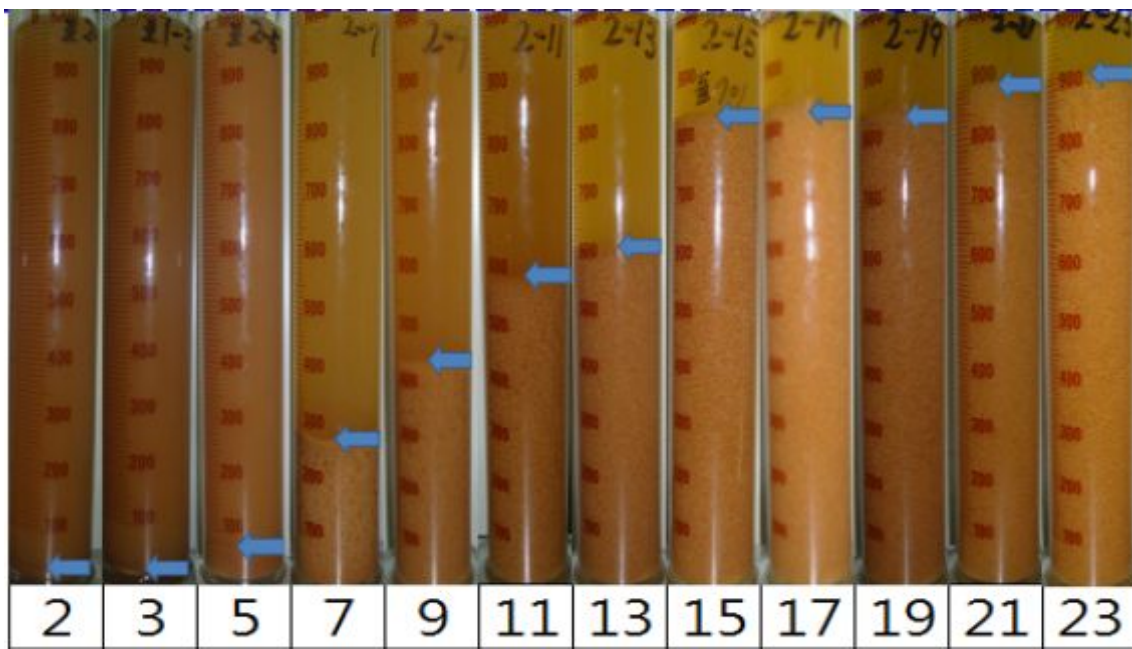


Fig. 2. The measuring of apparent volume(ml/L) of mycelium to leave 1 hour stationary after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Lentinus edodes* (Berk.).

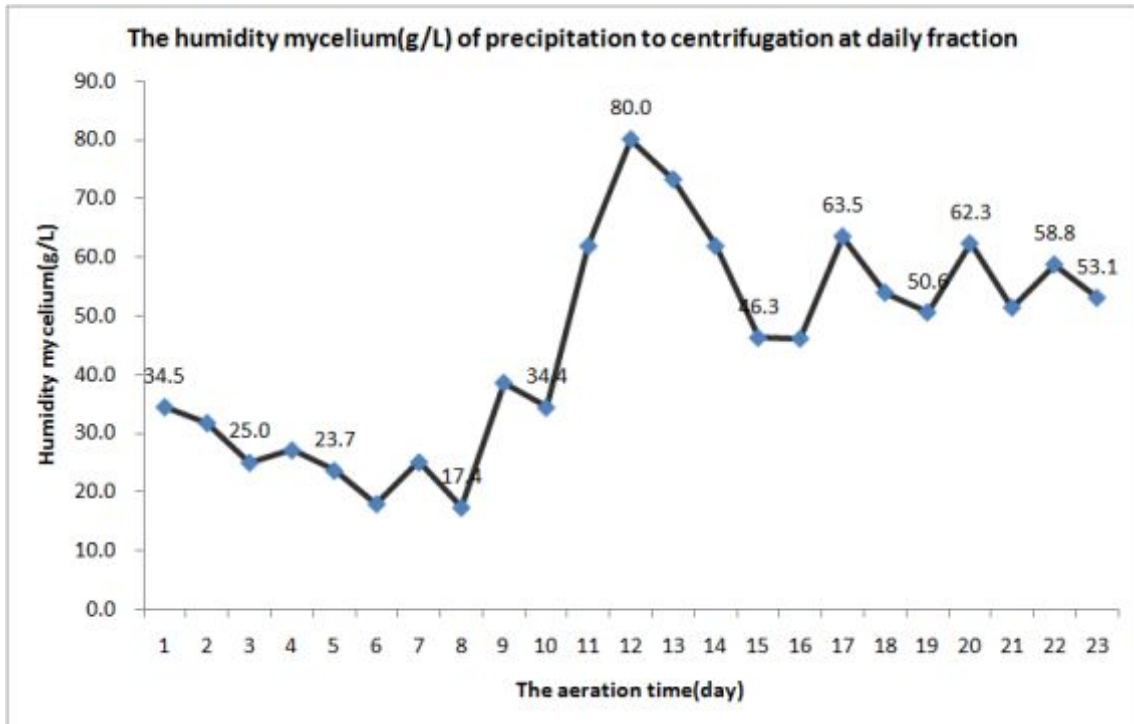


Fig. 3. The humidity mycelium weight(g/L) of precipitation to centrifugation after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Lentinus edodes* (Berk.).

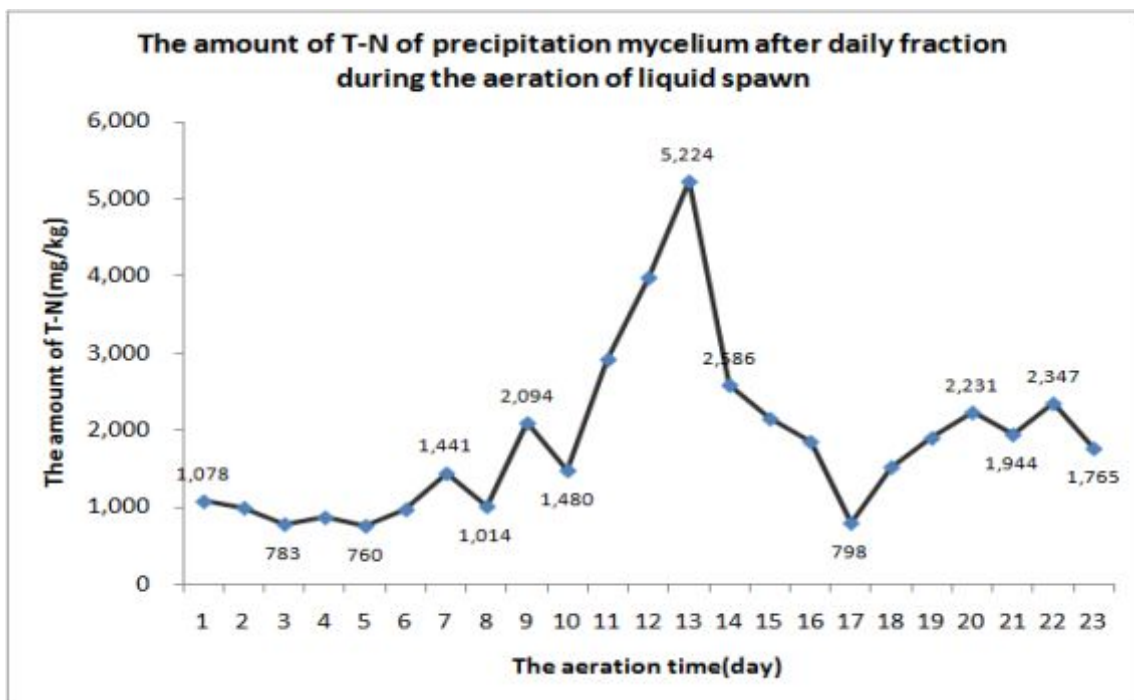


Fig. 4. The amount of T-N of precipitation mycelium after daily 1L fraction during the aeration of liquid spawn of *Lentinus edodes* (Berk.).

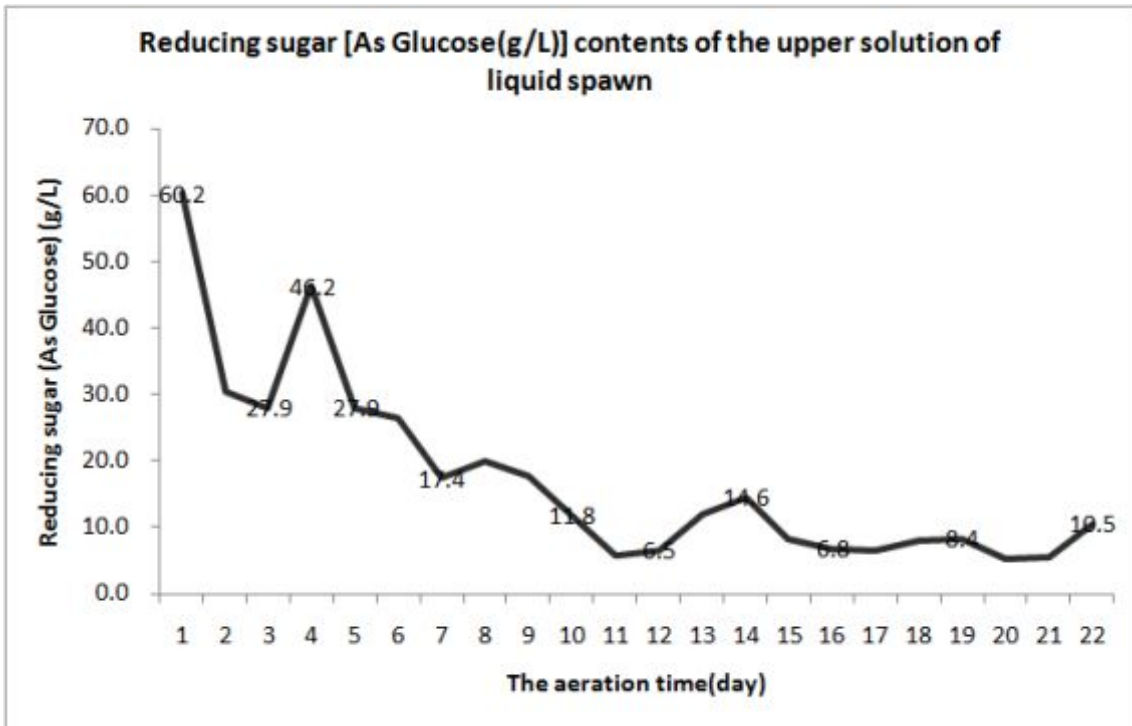


Fig. 5. Changes in reducing sugar contents of upper solution after daily fraction during the aeration of liquid spawn

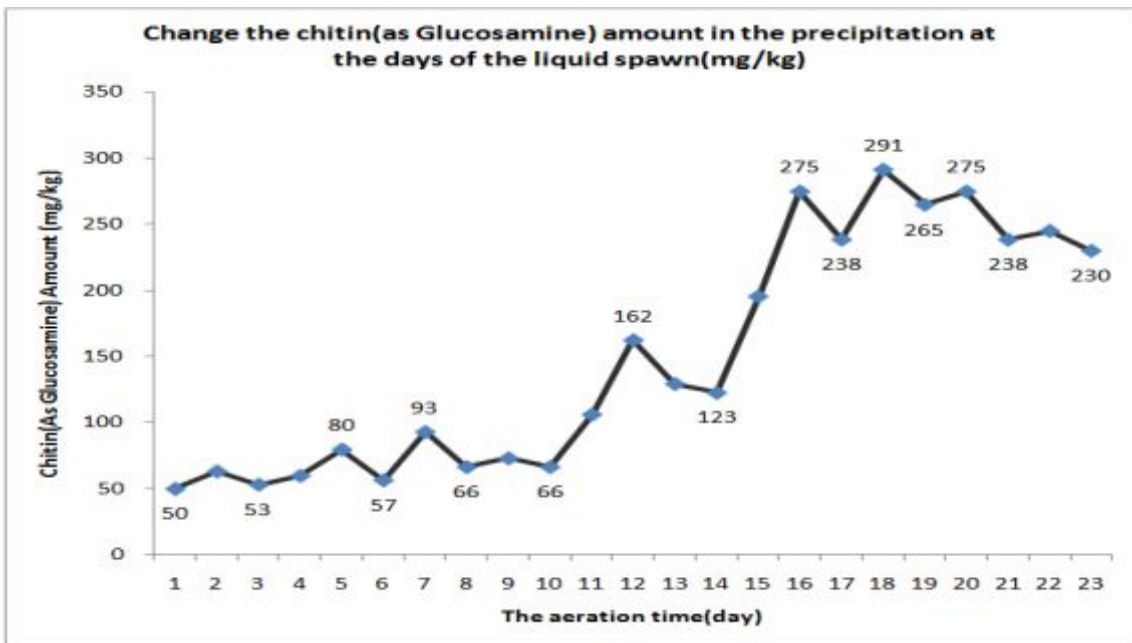


Fig. 6. Change the chitin(as glucosamine) amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn.

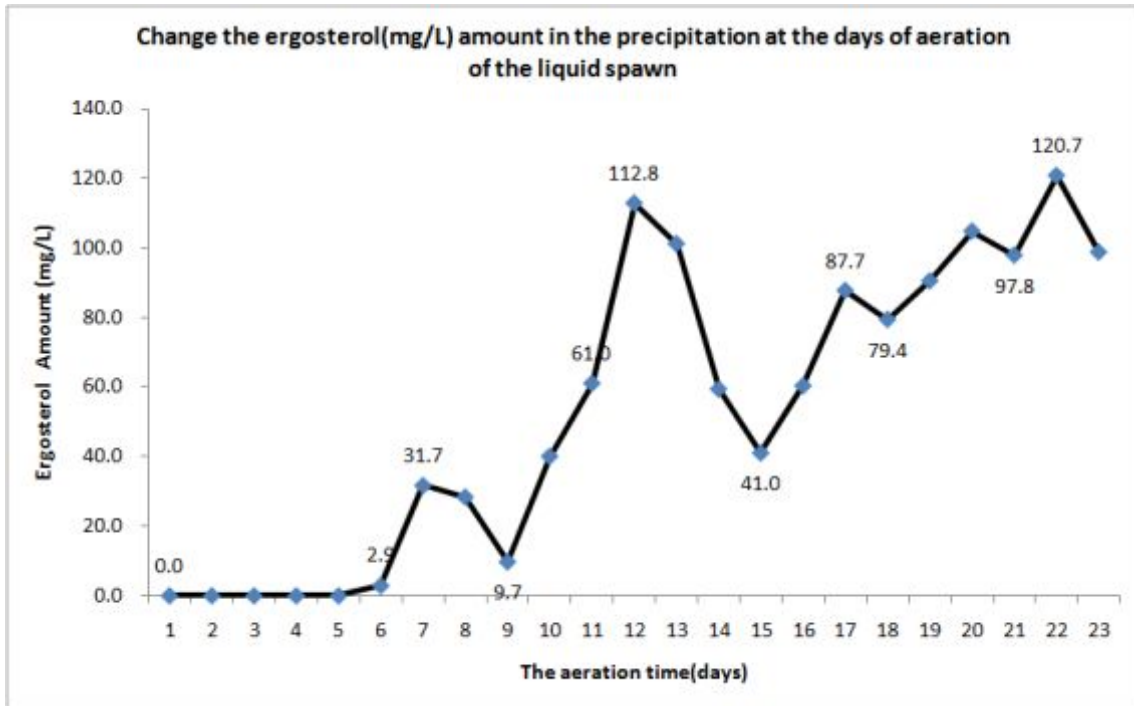


Fig. 7. Change the ergosterol amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn.

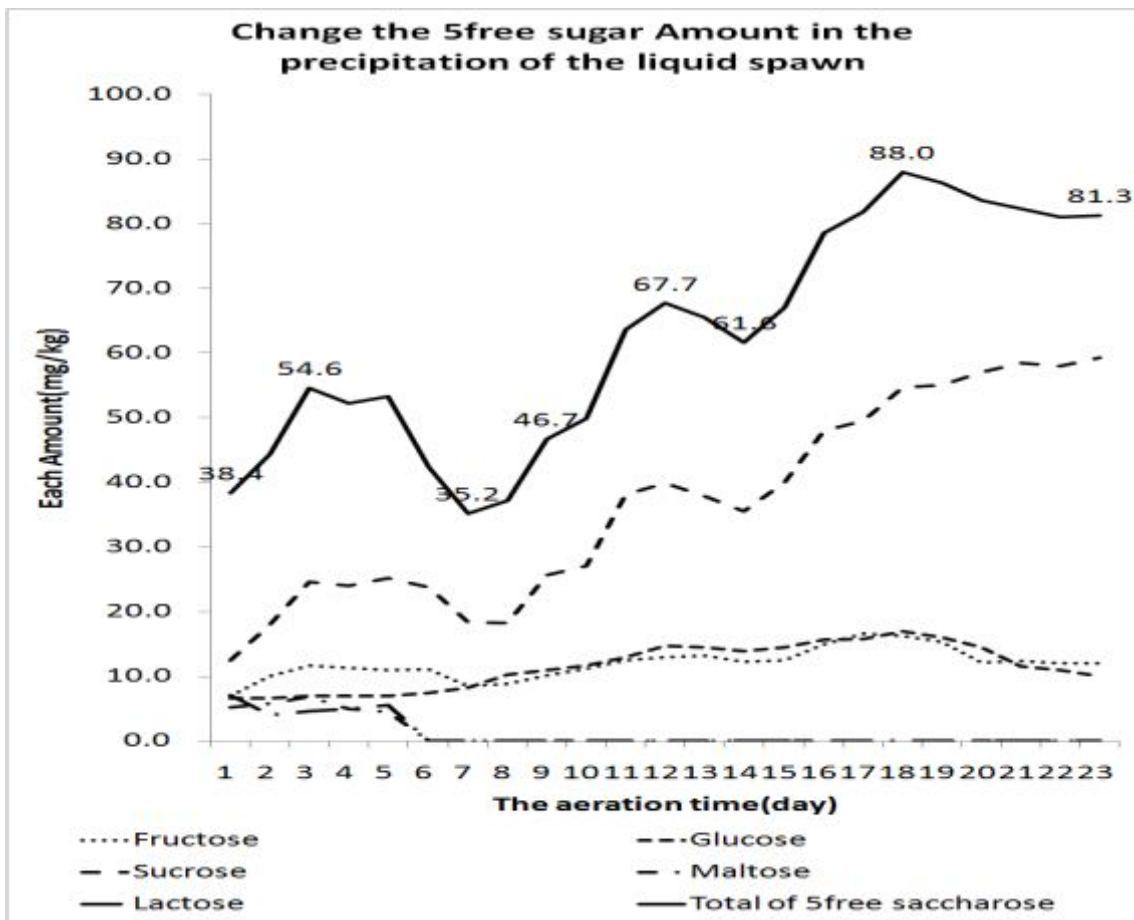


Fig. 8. Change the free saccharose Amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid

spawn.



Rooting at 1st day after inoculation of liquid spawn at old sawdust-1	Rooting at 25th day after inoculation of liquid spawn at formentation time at raw sawdust-2
	

Fig. 9. Old sawdust and effect of formentation of raw sawdust(within 6month after cut down) in liquid spawn of *Lentinus edodes* (*Berk.*).

제 4 절 각 품종 별 군사배양에서의 뚜껑의 선발

1. 느타리버섯에서의 뚜껑별 실험

가. 느타리버섯 850ml 병 재배

(1) 느타리버섯 병 배양 중 이산화탄소 농도 측정

느타리버섯 850ml병의 실험에서 얻어진 Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4와 같이 상하 천공 및 하 천공된 뚜껑을 사용하였을 경우 모두 통기구가 큰 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도는 낮게 검출된 반면 통기구가 작은 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도가 높게 검출되었고 하 천공 뚜껑에서보다는 상하 천공 뚜껑 구에서 전반적으로 검출된 양이 적었다. Fig. 4와 같이 통기구가 적은 뚜껑에서의 최대 이산화탄소 농도는 높은 농도로 검출되었으며 누적된 상대적인 이산화탄소 농도가 높게 검출되었다.

Zadrazil(1975)은 영양원 배지에서 산소의 감소와 군사 생장사이의 관계를 확인한 바, 공기와 혼합된 전체의 이산화탄소 농도가 16%와 22% 사이에서 3품종의 느타리의 군사 생육에 최적 상태라고 하였지만 이들의 실험은 접종 5일 후의 짧은 기간 동안에 군사의 증식된 직경의 비교이고, 공기와 이산화탄소 농도와의 혼합 비율이었으므로 위와 같은 조건의 혼합공기의 조성에는 이산화탄소 농도가 16%와 22%이더라도 이 조성 중에는 실험으로 설정된 배양기의 내부에는 공기와 이산화탄소와의 일정비율 조성이었으므로 유입된 산소가 있었던 결과였으며, 병 재배에서의 3차원적인 공간이 아닌 페트리 디쉬의 단면적에서의 비교를 한 결과였다. 하지만 본 연구는 접종 후 가장 많은 호흡반응이 진행되는 배양 대수기에서 위의 Zadrazil의 경우와는 달리 통기부족으로 인한 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도에 의하여 이루어지는 3차원적인 배양용기 내부에서의 왕성한 호흡반응과는 완전히 다르다고 할 수 있다. Sung 등 (1999)은 느타리버섯 군사 생장을 위해 이산화탄소 농도를 15% 이하가 좋다 하였고 본 연구에서도 군사 배양 중의 이산화탄소 농도는 낮을수록 좋은 것으로 판단되었지만 과도한 이산화탄소 배출로 배지의 수분이 과도한 손실까지도 염두에 두어야 할 것으로 판단하였다. 최대 이산화탄소 농도에 비례하여 배양기간 중의 배양기 내부에 지속적인 영향을 주기 때문에 배양이 진행되면서 군사 배양기간 중에서도 특히 배양 대수기의 정점기간을 지내게 될 때에 배양기의 내부는 제한된 산소량과 과도한 이산화탄소 량에 너무나 큰 영향을 받는다는 것이 입증되었다.

(2) 느타리버섯 재배방법에 의한 배지 수분의 영향

본 실험에서도 배지수분을 65%로 조제하였으며 배양종료 후 배지 상부의 수분량을 측정하여 비교하였다. 상하 천공에서 기존 무스폰지 뚜껑에서는 통기는 부족하였지만 배지상부의 수분의 유지는 양호하였으며 통기구가 적은 실험구 또한 배지상부의 수분유지는 양호하였다. 상하 천공에서는 상하 12mm, 16mm, 23mm천공 뚜껑에서 배지 상부의 수분량이 66.6~68.6%로 살균 전 배지 수분량 보다 높게 유지하였지만 통기구가 큰 상하 29~41mm천공 뚜껑에서는 배지 상부의 수분량이 54.3~62.6%로 수분 증산 량이 호흡반응의 생성량보다 많았다. 상하 천공 실험구에서는 다른 버섯 품종의 배양기간보다 짧았음에도 불구하고 상대적으로 가파른 감소를 보인 반면 하천공 뚜껑구에서 상대적으로 배지 상부의 수분은 잘 유지되었다. 느타리버섯 병재배에서 수분함량이 67~72%일 때 자실체 수량이 가장 높았다(장, 1976)는 내용과 일치하였으나 하 천공 뚜껑류(Fig. 5)에서와 같이 배지의 상부 수분이 높게 유지되었다 하더라도 수량(Fig. 8)이 적게 나온 것은 역시 배양 대수기에서의 이산화탄소 농도의 과도한 량(역비례 관계인 산소량의 부족)이 가장 큰 원인으로 판단되었다.

균상 상부의 영향이 주된 원인 중의 호흡 중의 과도한 이산화탄소 농도와 제한적인 산소 농도와 아울러서 또 하나의 주요 인자로 균상 상부의 수분이 중요하다. 이러한 근거는 세포호흡 반응식[$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy(kcal/mol)}$]과 같이 반응식에 열거된 모든 요인(항목)이 독립적인 변수가 아니라 서로 연관되어 균사의 세포호흡 반응에 영향을 주는 것을 이해해야 한다.

(3) 느타리버섯 시료의 화학적 특성

850ml 병에서 뚜껑별 5종의 유리당 함량은 상하 천공에서는 23mm > 16mm > 29mm > 33mm, 37mm, 41mm천공의 순으로 줄었으며 하 천공에서는 29mm, 33mm > 23mm > 37mm > 16mm > 41mm > 12mm천공 순으로 줄었다. 상하 및 하 12mm천공 그리고 대조구에서 5종의 유리당은 적었다. 기존 뚜껑과 비교시 상하 16~29mm천공에서 비교적 높았고, 하 16mm~37mm천공구 등의 모든 실험구에서 높게 나타났다(Fig. 6). 하지만 통기구가 큰 뚜껑구에서 균사 배양 중의 호흡기작은 양호하여 균사의 생리활성은 높더라도 균상 상부의 건조증상(Fig. 5)으로 발이불량이 되며, 균사 호흡기작으로 축적된 영양원이 많다 하더라도 균상 상부의 건조상태에 따라서 자실체의 생산량은 영향을 받는 것으로 확인되었다.

Chitin 함량은 Fig. 7과 같이 기존 뚜껑과 상하 천공 뚜껑 7개, 하 천공 뚜껑 7개에서 비교하였다. 맥주효모균(*Saccharomyces cerevisiae*)의 세포벽 구성 성분 비율은 각각 글루칸, 만노단백질 그리고 키틴이 약 60%, 40%, 그리고 1%를 차지하고 있다(Cabib *et al.*, 2001). 이 중 키틴은 N-acetylglucosamine이 β -1,4 결합한 고분자 다당류로 세포벽을 구성하는 데 중요한 역할을 수행하고 있다(Smmits *et al.*, 1999).

본 연구에서의 키틴 함량은 850ml의 기존 뚜껑에 대하여 상하 12mm~33mm천공과 하 16mm~37mm천공의 시험구가 높았다. 상하 37mm천공과 하 41mm천공 뚜껑 이상에서는 오히려 기존 뚜껑보다 키틴량이 감소하였는데 이는 통기구가 커지므로써 상부 균상이 건조되어 균사의 생리활성이 감소한 것으로 판단되었다. 키틴 함유량은 상하 23mm~상하 33mm천공과 하 23~하 33mm천공 뚜껑구에서 월등하게 높았다. 대조구에 비하여 상하 26mm천공과 하 26~33mm천공 뚜껑에서 높은 키틴량이 검출되어 이들 실험구가 호흡반응도 양호하고 수분증발도 억제하는 유용한 조건으로 판단되었다. 1200ml에서는 대조구에 비하여 하 25mm천공 뚜껑에서 키틴 함량이 높게 나타나 통기성 배양조건이 균사의 밀도와 생리활성 등이 높아지는 것으로 판단되었다.

(4) 느타리버섯 배양 후 생육 및 수확

생육 중간 시기에서 발이량이 많고 빨리 자란 자실체는 결국 수확 종점에서도 빨리 수확이 이루어질 뿐 만 아니라 품질도 양호하고 자실체 수량도 증가하는 것이 확인되었다. 통기가 불량한 구에서는 세포호흡에 산소의 부족으로 배양이 늦어졌고 이로 인하여 이후의 모든 과정에서 생리활성 저해를 겪었으며 수확이 종료되는 시점에서도 이러한 현상은 동일하게 유지되었다. 또한 통기량이 너무 크게 되면 겉보기 배양은 상대적으로 빨리 이루어졌더라도 이후의 균상상부가 건조되어 자실체의 발이가 현저히 저하되었으며, 수량의 감소로 이어졌다. 통기구가 동일한 크기에서는 상부 천공된 실험군에서는 특히 배양은 빨리 이루어졌다 하더라도 균상 상부의 건조 증상이 심하여 발이 불량으로 이어졌으며 하 천공구에 비하여 발이불량이 많았다.

850ml 병 느타리버섯 수량은 상하 천공 뚜껑에서 33mm > 23mm > 29mm > 37mm > 12mm, 16mm >> 41mm천공 순으로 수량이 적었으며, 하 뚜껑에서는 29mm > 33mm > 23mm, 37mm > 16mm > 12mm > 41mm천공 순으로 수량이 감소되었다. 대조구(100%)에 비하여 가장 양호한 상하 23~33mm천공구와 하 29mm천공구는 각각 15.8~21.2%, 20.1%의 높은 증수효과를 나타내었다(Fig.8). 하지만 상하 및 하 41mm천공 뚜껑에서는 각각 60.7%와 23.6%의 감소를 보였는데 이는 병재배의 특성상 균상 상부의 배지가 건조되었기 때문으로 판단되었다.

자실체 수량의 결과는 균사의 영양생장기 때의 균사배양에서 통기구가 너무 적으면 배양 대수기에서의 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도에의 영향으로 세포의 호흡반응에 영향이 있고 통기구가 너무 크면 균상상부의 수분증발로 인하여 배지의 상부 표면에 존재하는 균사는 활력이 약해지거나 생리활성의 저하가 원인으로 판단되었다.

(5) 느타리 버섯 850ml 병 재배 적요

배양 중 상대적 인 누적 이산화탄소 농도는 기존의 비통기성 무스폰지 뚜껑구(대조)에서 높았으며 상하 천공과 하 천공 모두에서 천공 구멍이 작을수록 이산화탄소 누적량(%)은 높았고 각

각의 크기에서 하 천공구에서 상대적으로 높게 유지되었다. 아울러서 배양 대수기 정점에서의 이산화탄소 농도 또한 기존의 비통기성 무스폰지 뚜껑구(대조)에서 높았으며 상하 천공과 하 천공 모두에서 천공 구멍이 작을수록 누적량은 높았고 각각의 크기에서 하 천공구에서 상대적으로 높게 유지 되었다. 이와 같은 조건에서의 배양 대수기에서의 통기가 필요하며 균상 상부의 배지 수분의 유지가 발이에도 영향을 주는 것을 확인하였다.

실험에 사용된 2종류의 뚜껑구에서 가장 적합한 최적의 뚜껑은 가장 양호한 상하 23~33mm천공구에서 15.8~21.2%의 높은 증수와 하 29mm천공구에서 20.1%의 높은 증수 효과가 있었다.

또한 가장 수량이 양호한 실험구는 상하 33mm천공과 하 29mm천공 뚜껑에서 높은 증수효과를 나타내었다.

하지만 상하 및 하 41mm천공 뚜껑에서는 각각 60.7%와 23.6%의 감소를 보였는데 이는 병재배의 특성상 균상 상부의 배지가 건조되었기 때문에 상부 표면에 존재하는 균사는 활력이 약해지거나 생리활성의 저하가 원인으로 판단되었다.

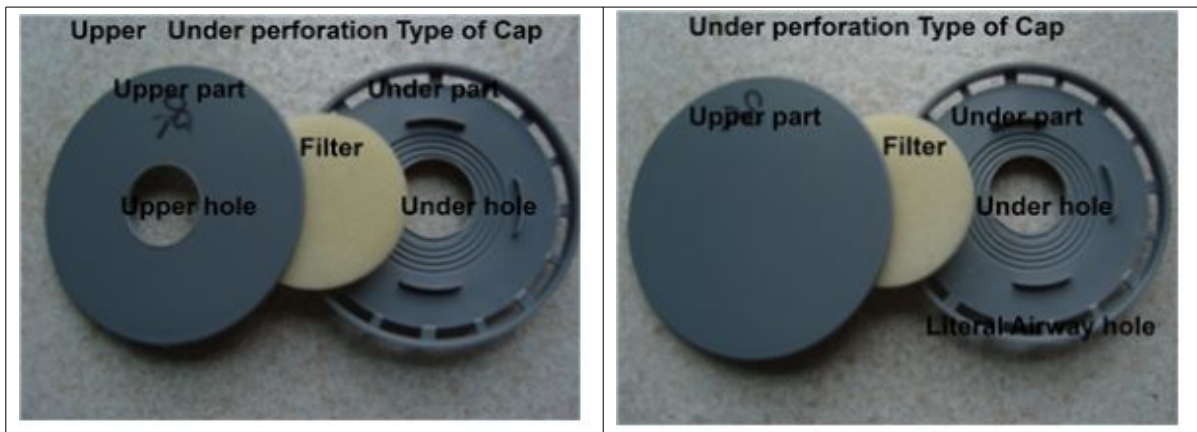


Fig. 1. Upper-Under and Under perforation hole type of cap.

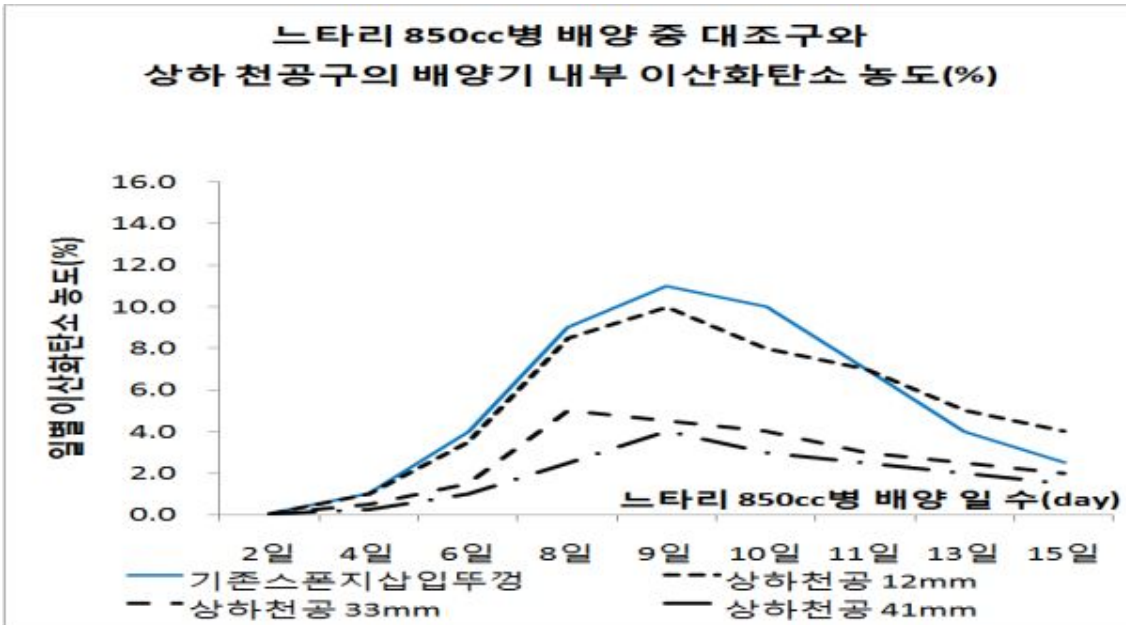


Fig. 2. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of upper-under perforation in the *Pleurotus ostreatus* 850ml bottle.

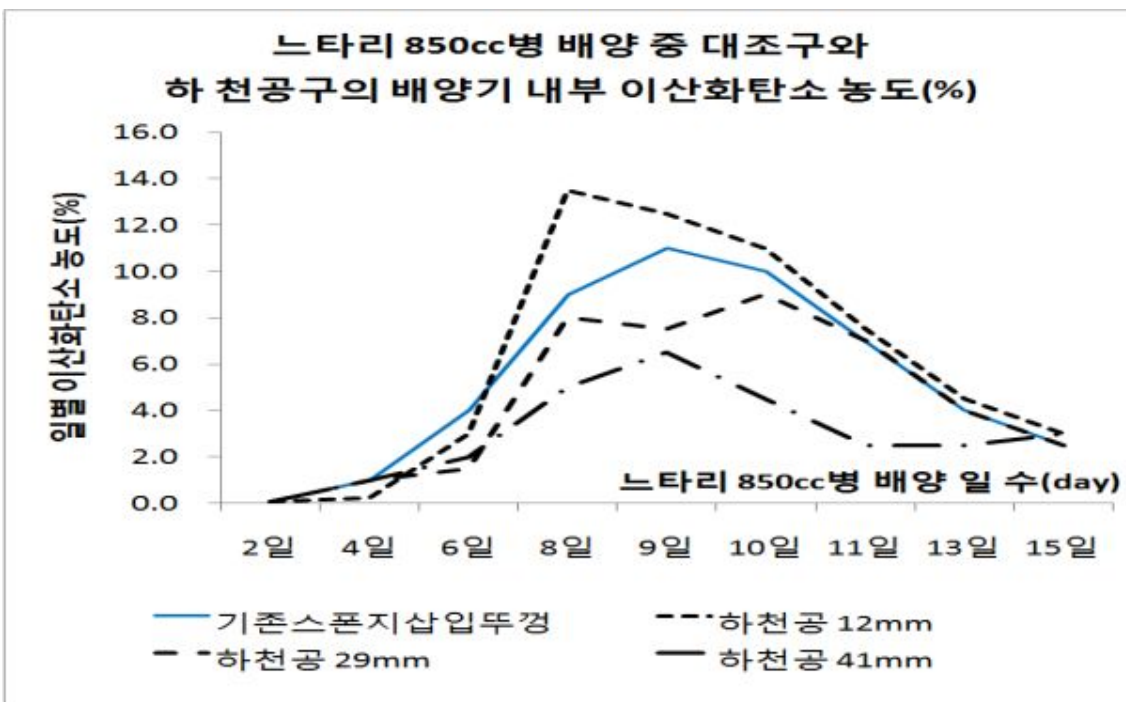


Fig. 3. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of under perforation in the *Pleurotus ostreatus* 850ml bottle.

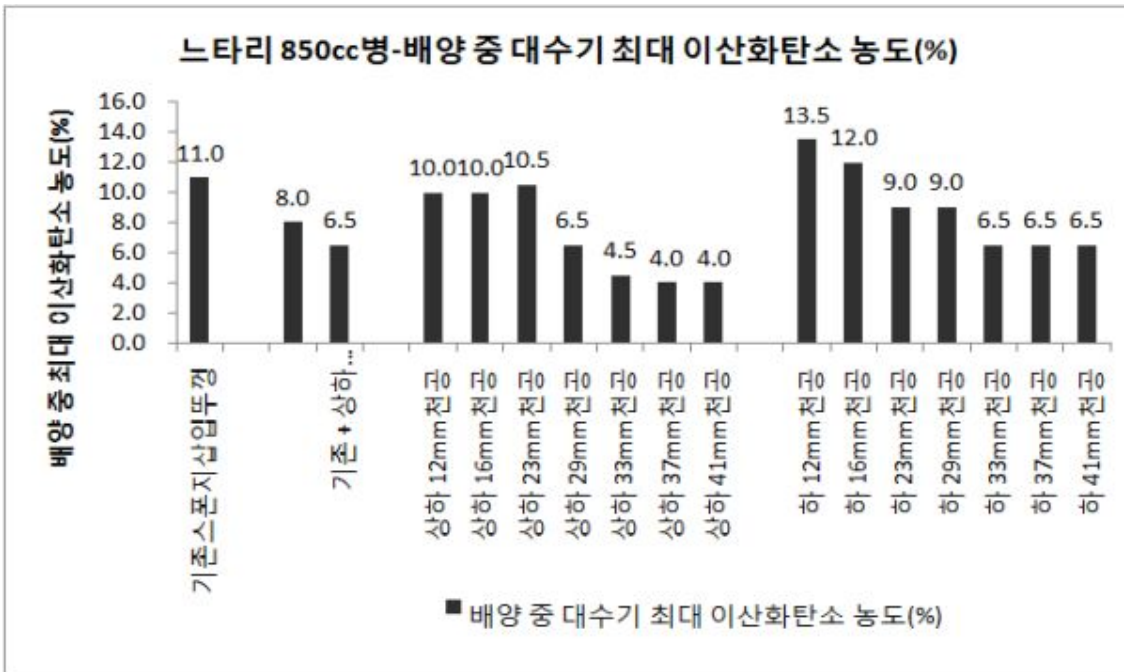


Fig. 4. The concentration of carbon dioxide of maximum peak(%) in the inner the bottle culture in the *Pleurotus ostreatus* 850ml bottle.

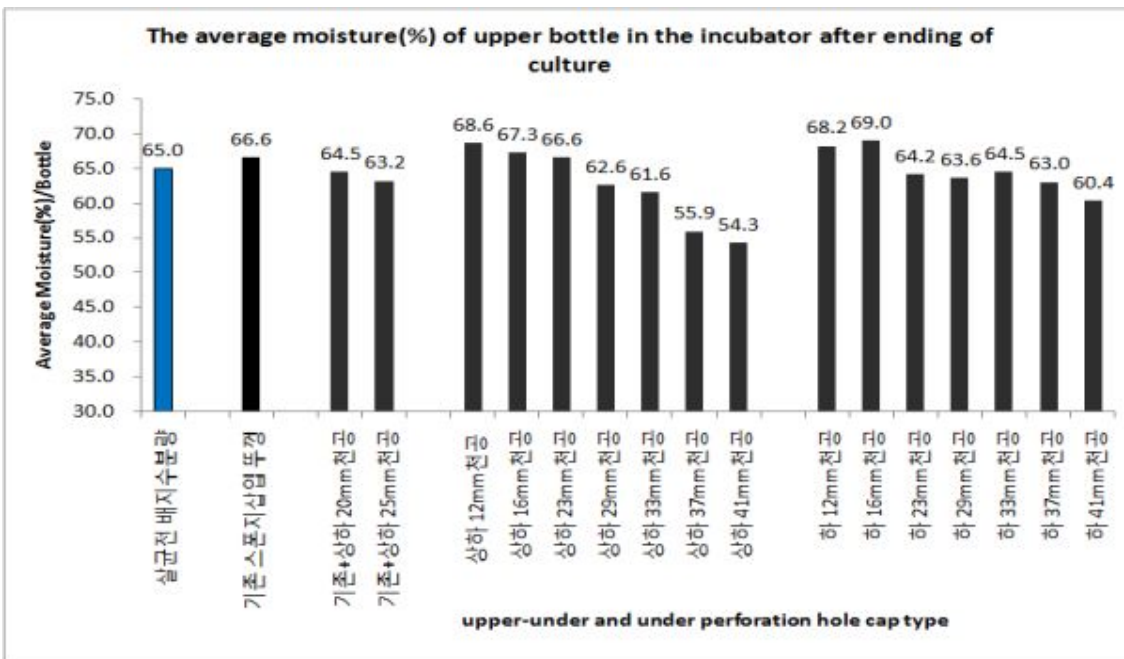


Fig. 5. The average moisture(%) of upper bottle in the incubator after ending of culture of *Pleurotus ostreatus* 850ml bottle.

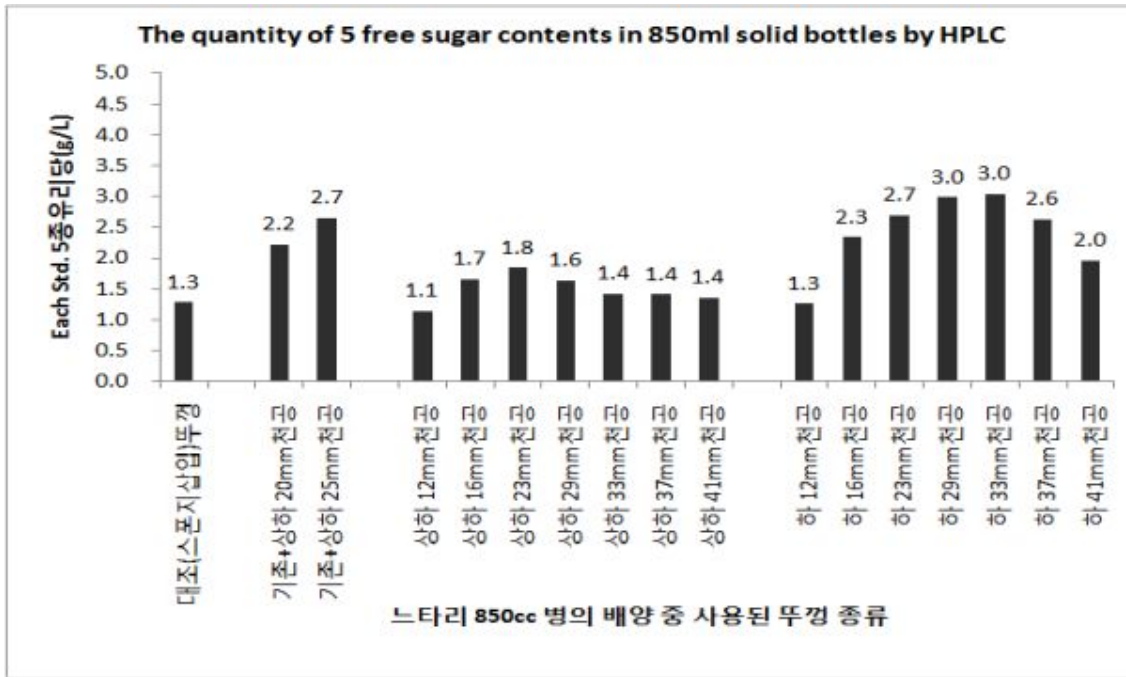


Fig. 6. The quantity of free sugar contents in *Pleurotus ostreatus* 850ml solid bottle by HPLC

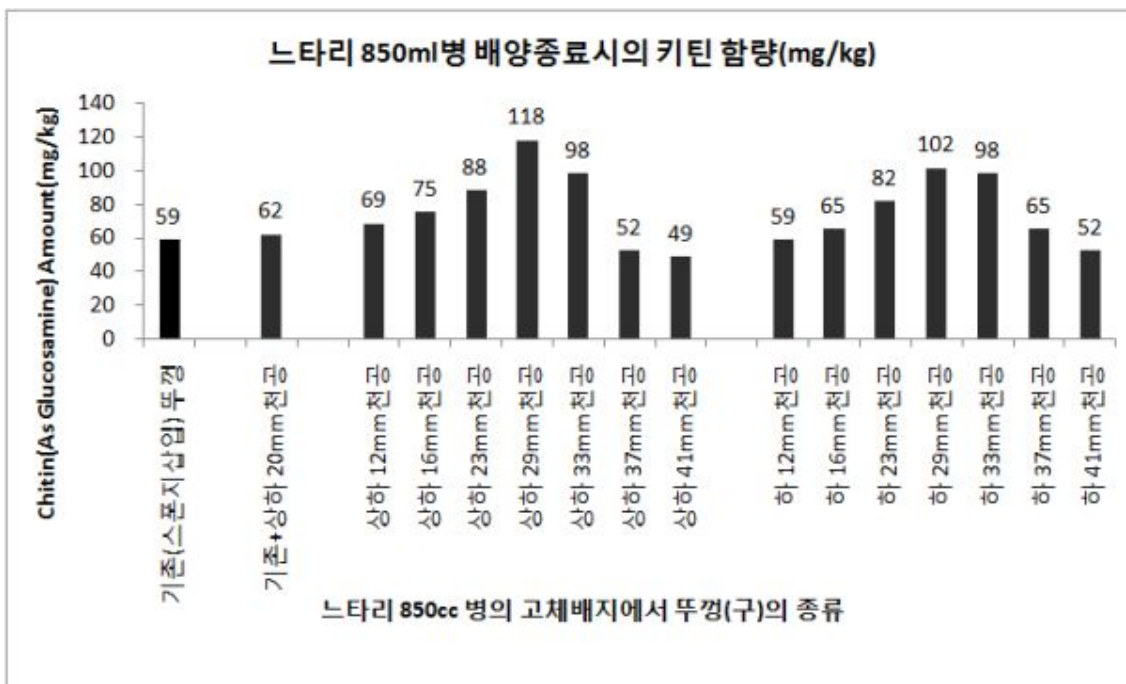


Fig. 7. The chitin(as Glucosamine) amount examination in the each group at the ending culture of *Pleurotus ostreatus* 850ml bottle.

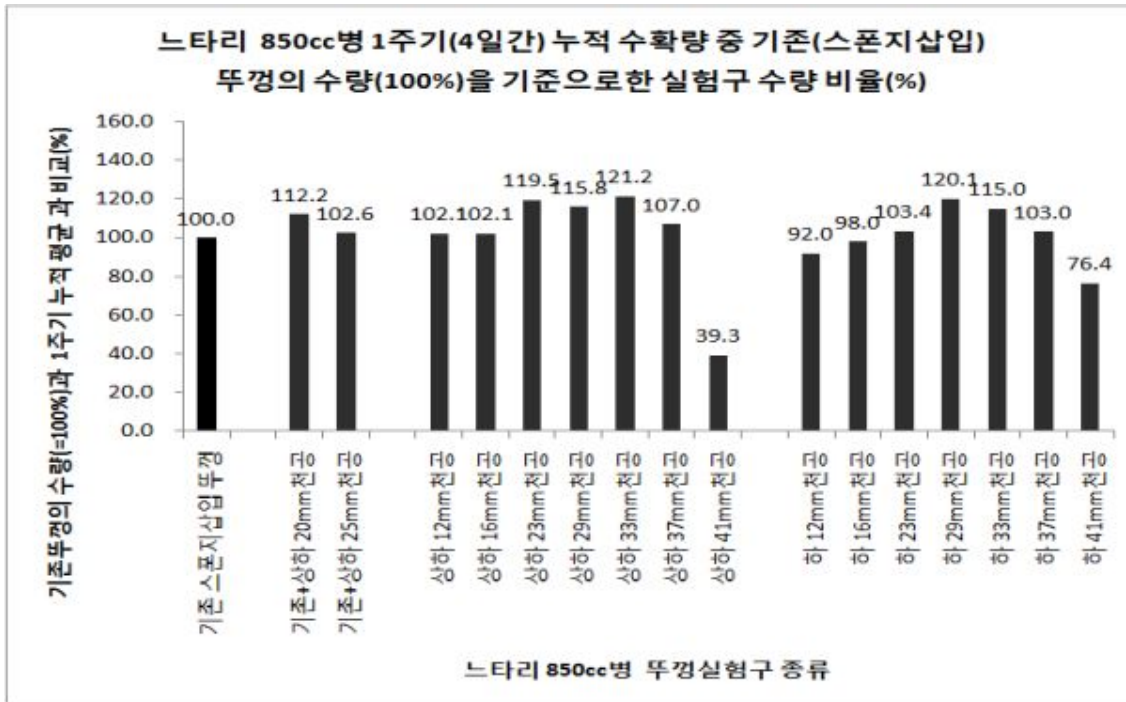


Fig. 8. The comparison of control(100%) based on the average rate in the cumulative harvest of *Pleurotus ostreatus* 850ml bottle yield

나. 느타리버섯 1100ml 병 재배

(1) 느타리버섯 병 배양 중 이산화탄소 농도 측정

느타리버섯 1100(1200)ml병의 실험에서 얻어진 Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4과 같이 상하 천공 및 하 천공된 뚜껑을 사용하였을 경우 모두 통기구가 큰 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도는 낮게 검출된 반면 통기구가 작은 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도가 높게 검출되었고 하 천공 뚜껑에서보다는 상하 천공 뚜껑 구에서 전반적으로 검출된 양이 적었다. 1200ml에서는 무통기성 뚜껑보다는 하25mm천공에서 이산화탄소 농도가 낮게 유지되었다. 이는 균사가 호흡 반응에 의하여 배출된 이산화탄소 농도이기는 하나 그 농도가 적게 검출되었다고 해서 균사의 호흡 반응이 적게 된 것이 아니라 오히려 호흡 반응이 잘 되도록 유도하였다는 것을 의미하게 된다. Fig. 5와 같이 통기구가 적은 뚜껑에서의 최대 이산화탄소 농도는 높은 농도로 검출되었으며 누적된 상대적인 이산화탄소 농도가 높게 검출되었다.

Zadrazil(1975)은 영양원 배지에서 산소의 감소와 균사 성장사이의 관계를 확인한 바, 공기와 혼합된 전체의 이산화탄소 농도가 16%와 22% 사이에서 3품종의 느타리의 균사 생육에 최적 상태라고 하였지만 이들의 실험은 접종 5일 후의 짧은 기간 동안에 균사의 증식된 직경의 비교이고, 공기와 이산화탄소 농도와의 혼합 비율이었으므로 위와 같은 조건의 혼합공기의 조성

에는 이산화탄소 농도가 16%와 22%이더라도 이 조성 중에는 실험으로 설정된 배양기의 내부에는 공기와 이산화탄소와의 일정비율 조성이었으므로 유입된 산소가 있었던 결과였으며, 병재배에서의 3차원적인 공간이 아닌 페트리 디쉬의 단면적에서의 비교를 한 결과였다. 하지만 본 연구는 접종 후 가장 많은 호흡반응이 진행되는 배양 대수기에서 위의 Zadrzil의 경우와는 달리 통기부족으로 인한 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도에 의하여 이루어지는 3차원적인 배양용기 내부에서의 왕성한 호흡반응과는 완전히 다르다고 할 수 있다. Sung 등 (1999)은 느타리버섯 균사 생장을 위해 이산화탄소 농도를 15% 이하가 좋다 하였고 본 연구에서도 균사 배양 중의 이산화탄소 농도는 낮을수록 좋은 것으로 판단되었지만 과도한 이산화탄소 배출로 배지의 수분이 과도한 손실까지도 염두에 두어야 할 것으로 판단하였다. 최대 이산화탄소 농도에 비례하여 배양기간 중의 배양기 내부에 지속적인 영향을 주기 때문에 배양이 진행되면서 균사 배양기간 중에서도 특히 배양 대수기의 정점기간을 지나게 될 때에 배양기의 내부는 제한된 산소량과 과도한 이산화탄소 량에 너무나 큰 영향을 받는다는 것이 입증되었다.

(2) 느타리버섯 재배방법에 의한 배지 수분의 영향

본 실험에서도 배지수분을 66.4%로 조제하였으며 배양종료 후 배지 상부의 수분량을 측정하여 비교하였다. 상하 천공에서 기존 무스폰지 뚜껑에서는 통기는 부족하였지만 배지상부의 수분의 유지는 양호하였으며 통기구가 적은 실험구 또한 배지상부의 수분유지는 양호하였다. 상하 천공에서는 상하 19~26mm천공은 배지 상부의 수분량이 63.2~62.3%로 대조구의 61.5% 보다 높게 유지하였지만 이보다 큰 통기구인 상하 33~47mm천공 뚜껑에서는 배지 상부의 수분량이 60.3~49.4%로 배지수분 감소량이 많았다. 상하 천공 실험구에서는 다른 버섯 품종의 배양기간보다 짧았음에도 불구하고 상대적으로 가파른 감소를 보인 반면 1100ml의 하 천공 및 1200ml 실험구에서는 상대적으로 대조구보다 높게 배지의 상부수분이 잘 유지되었다. 느타리버섯 병재배에서 수분함량이 67~72%일 때 자실체 수량이 가장 높았다(장, 1976)는 내용보다는 다소 낮은 배지수분 값을 보였다. 하 천공 뚜껑류(Fig. 6)에서와 같이 배지의 상부 수분이 높게 유지되었다 하더라도 수량(Fig. 8)이 다소 적게 나온 것은 역시 배양 대수기에서의 이산화탄소 농도의 과도한 량(역비례 관계인 산소량의 부족)이 가장 큰 원인으로 판단되었다.

균상 상부의 영향이 주된 원인 중의 호흡 중의 과도한 이산화탄소 농도와 제한적인 산소 농도와 아울러서 또 하나의 주요 인자로 균상 상부의 수분이 중요하다. 이러한 근거는 세포호흡 반응식[$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + Energy(kcal/mol)$]과 같이 반응식에 열거된 모든 요인(항목)이 독립적인 변수가 아니라 서로 연관되어 균사의 세포호흡 반응에 영향을 주는 것을 이해해야 한다.

(3) 느타리버섯 시료의 화학적 특성

1100ml병에서 뚜껑별 5종의 유리당 함량은 상하 천공에서는 33mm > 38mm > 26mm > 42mm > 47mm > 14mm > 19mm천공의 순으로 줄었으며 하 천공에서는 42mm > 38mm > 33mm > 47mm > 26mm > 19mm > 14mm천공 순으로 줄었다. 하 14mm천공에서 가장 적었다. 기존 뚜껑과 비교시 상하 26~42mm천공에서 높았고, 하 33mm~42mm천공 시험구에서 높게 나타났다(Fig. 7). 하지만 균사 배양 중의 호흡기작은 양호하여 균사의 생리활성은 높더라도 균상 상부의 건조증상(Fig. 6)으로 발이불량이 되며, 균사 호흡기작으로 축적된 영양원이 많다 하더라도 균상 상부의 건조상태에 따라서 자실체의 수량은 영향을 받는 것으로 확인되었다.

(4) 느타리버섯 배양 후 생육 및 수확

생육 중간 시기에서 발이량이 많고 빨리 자란 자실체는 결국 수확 종점에서도 빨리 수확이 이루어질 뿐 만 아니라 품질도 양호하고 자실체 수량도 증가하는 것이 확인되었다. 통기가 불량한 구에서는 세포호흡에 산소의 부족으로 배양이 늦어졌고 이로 인하여 이후의 모든 과정에서 생리활성 저해를 겪었으며 수확이 종료되는 시점에서도 이러한 현상은 동일하게 유지되었다. 또한 통기량이 너무 크게 되면 겉보기 배양은 상대적으로 빨리 이루어졌더라도 이후의 균상상부가 건조되어 자실체의 발이가 현저히 저하되었으며, 수량의 감소로 이어졌다. 통기구가 동일한 크기에서는 상부 천공된 실험군에서는 특히 배양은 빨리 이루어졌다 하더라도 균상 상부의 건조 증상이 심하여 발이 불량으로 이어졌으며 하 천공구에 비하여 발이불량이 많았다.

1100ml병 느타리버섯 수량은 상하 뚜껑에서 19mm > 14mm > 26mm > 33mm > 38mm > 42mm > 47mm천공 순으로 수량이 적었으며, 하 뚜껑에서는 26mm > 33mm > 19mm > 38mm > 42mm > 47mm > 14mm천공 순으로 수량이 적었다.

전반적으로 배양기간이 짧아서 다른 품종인 팽이버섯, 새송이버섯 등의 유사 실험에 비하여 1100ml병 느타리버섯 수량은 상하 뚜껑에서 특히 상하 천공에서 19-38mm천공에서도 11.4-23.8%로 증수되어 폭넓게 수량이 좋았으며, 하 천공에서 26-47mm천공 뚜껑에서 대조구에 비하여 6.5-17.9%가 수량이 증수되었다. 또한 빠른 균사배양속도를 고려하면 상하 33mm천공 뚜껑에서 기존 무스폰지 뚜껑보다도 23.8%의 높은 증수효과를 나타내었는데 이는 대수기 정점시기에서 여타의 다른 품종에 비하여 왕성하며 배양이 빨리 종료된다는 것을 고려해보아야 한다.

상하 14mm천공, 하 14mm, 19mm천공구는 기존 뚜껑과 비교하여 2.8-13.4% 수량이 감소하였는데 이는 통기구가 너무 작아 배양 중 산소부족으로 세포호흡 및 생리활성에 장애를 받았기 때문이며, 상하 47mm에서와 같이 배양기간이 짧았음에도 불구하고 수량이 감소한 것은 외부로 증발되어지는 수분량이 많아지게 되어 배지의 상부 표면에 존재하는 균사는 활력이 약해지거나 생리활성의 저하가 원인으로 판단되었다.

또한 1200ml 병 재배에서도 기존 무스폰지 뚜껑의 수량을 기준으로 할 때보다는 하 25mm 천공구에서 4.2%로 1100ml 병에 비하여 증가량이 많지 않았는데 이는 입병량이 많고 배양온도가 다소 높음에 따른 배지내부의 온도가 영향을 주어 생리활성에 영향을 준 것으로 판단되나 이에 대한 상세한 검토는 배지내부에서의 온도나 생리활성의 효소역가 등을 좀 더 비교해서 판단할 문제로 사료되었다.

(5) 느타리버섯 1100ml 병 재배 적요

실험에 사용된 2종류의 뚜껑구에서 가장 적합한 최적의 뚜껑은 상하 33mm 천공된 뚜껑으로 판단되었다.

배양 중 상대적인 누적 이산화탄소 농도는 기존의 비통기성 무스폰지 뚜껑구(대조)에서 높았으며 상하 천공과 하 천공 모두에서 천공 구멍이 작을수록 이산화탄소 누적량(%)은 높았고 각각의 크기에서 하 천공구에서 상대적으로 높게 유지되었다. 아울러서 배양 대수기 정점에서의 이산화탄소 농도 또한 기존의 비통기성 무스폰지 뚜껑구(대조)에서 높았으며 상하 천공과 하 천공 모두에서 천공 구멍이 작을수록 누적량은 높았고 각각의 크기에서 하 천공구에서 상대적으로 높게 유지 되었다. 이와 같은 조건에서의 배양 대수기에서의 통기가 필요하며 균상 상부의 배지 수분의 유지가 발이에도 영향을 주는 것을 확인하였다.

전반적으로 배양기간이 짧은 느타리버섯(1100ml 병)의 수량은 상하 뚜껑에서 특히 상하 천공에서 19-38mm 천공에서도 11.4-23.8%로 증수되어 폭넓게 수량이 좋았으며, 하 천공에서 26-47mm 천공 뚜껑에서 대조구에 비하여 6.5-17.9%가 수량이 증수되었다. 또한 빠른 균사배양속도를 고려하면 상하 33mm 천공 뚜껑에서 기존 무스폰지 뚜껑보다도 23.8%의 높은 증수효과를 나타내었는데 이는 대수기 정점시기에서 여타의 다른 품종에 비하여 왕성하며 배양이 빨리 종료된다는 것을 고려해보아야 한다.

상하 14mm 천공, 하 14mm, 19mm 천공구는 기존 뚜껑과 비교하여 2.8-13.4% 수량이 감소하였는데 이는 통기구가 너무 작아 배양 중 산소부족으로 세포호흡 및 생리활성에 장애를 받았기 때문이며, 상하 47mm에서와 같이 수량이 감소한 것은 외부로 증발되어지는 수분량이 많아지게 되어 배지의 상부 표면에 존재하는 균사는 활력이 약해지거나 생리활성의 저하가 원인으로 판단되었다.

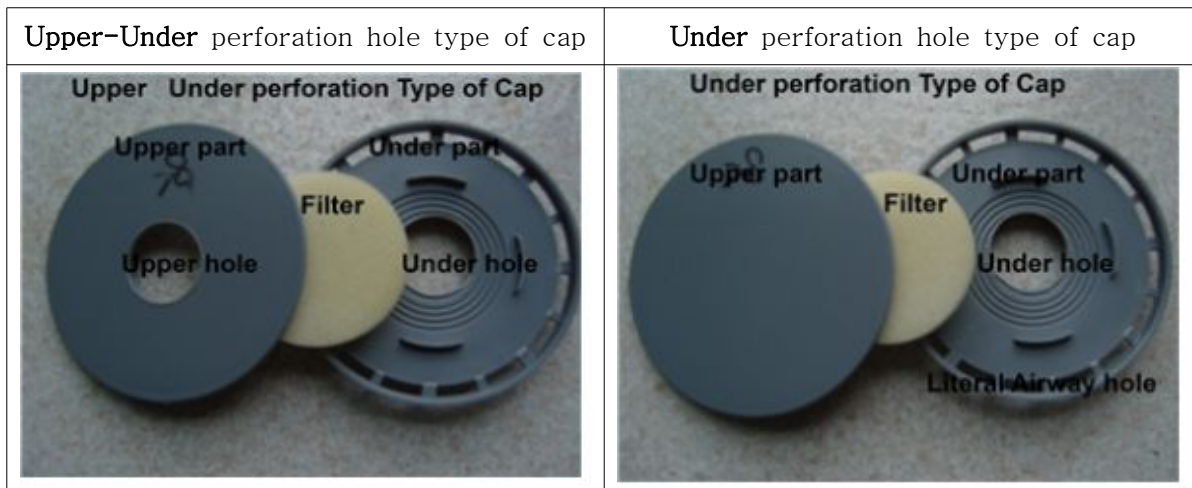


Fig. 1. Upper-Under and Under perforation hole type of cap.

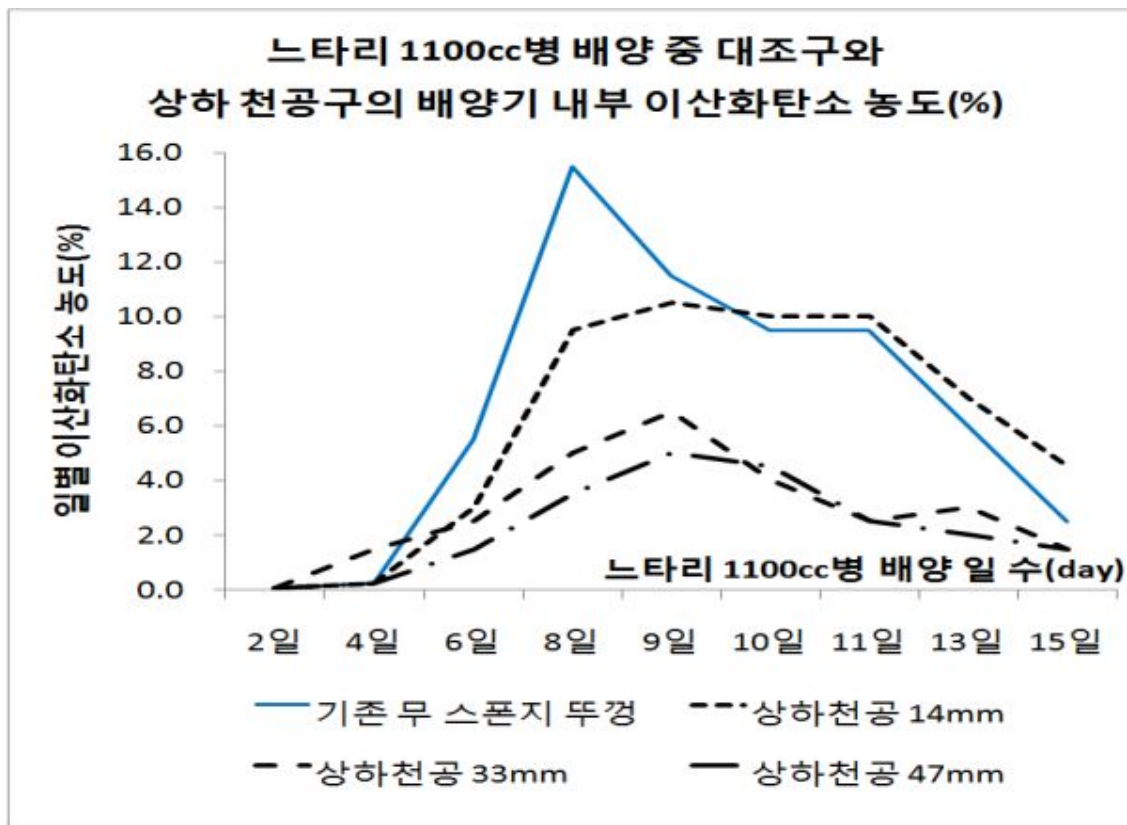


Fig. 2. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of upper-under perforation in the *Pleurotus ostreatus* 1100ml bottle.

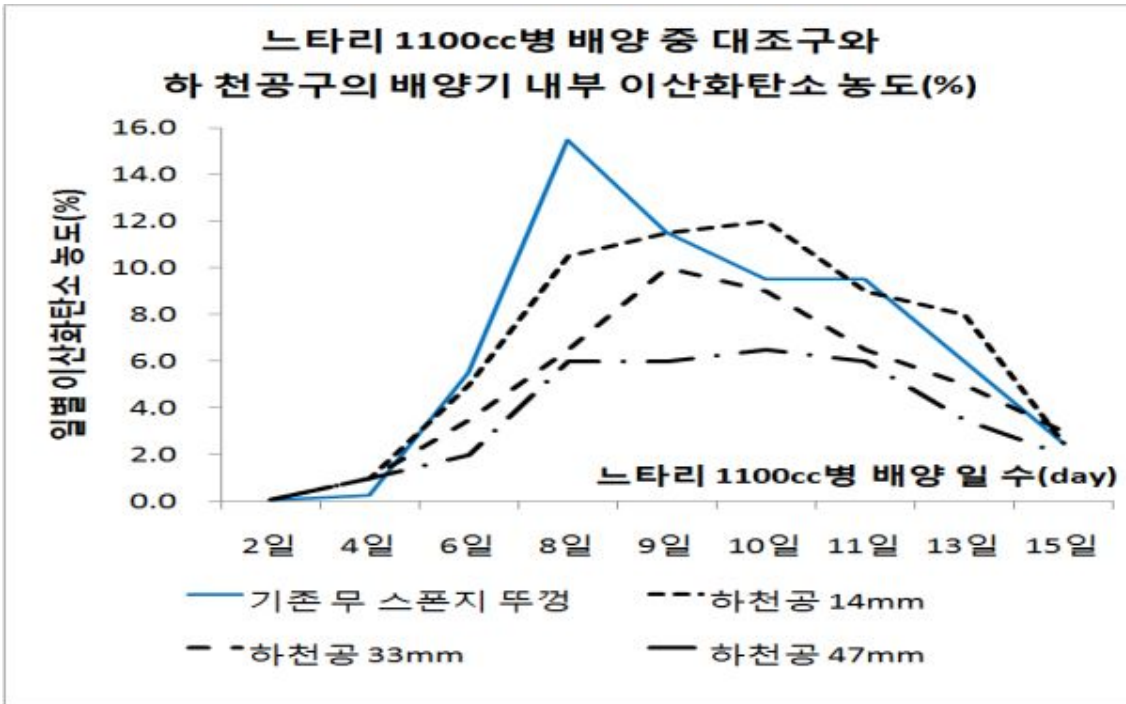


Fig. 3. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of under perforation in the *Pleurotus ostreatus* 1100ml bottle.

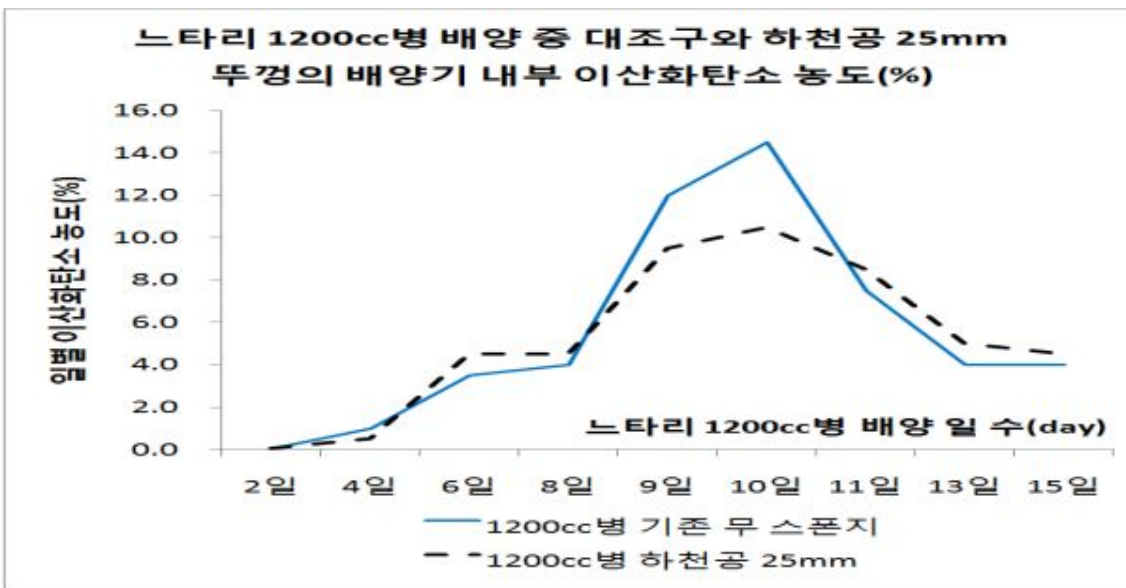


Fig. 4. The concentration of carbon dioxide(%) in the inner the bottle culture during the aeration ,in the existing (non sponge) cap of the *Pleurotus ostreatus* 1200ml bottle and under perforation of 25mm.

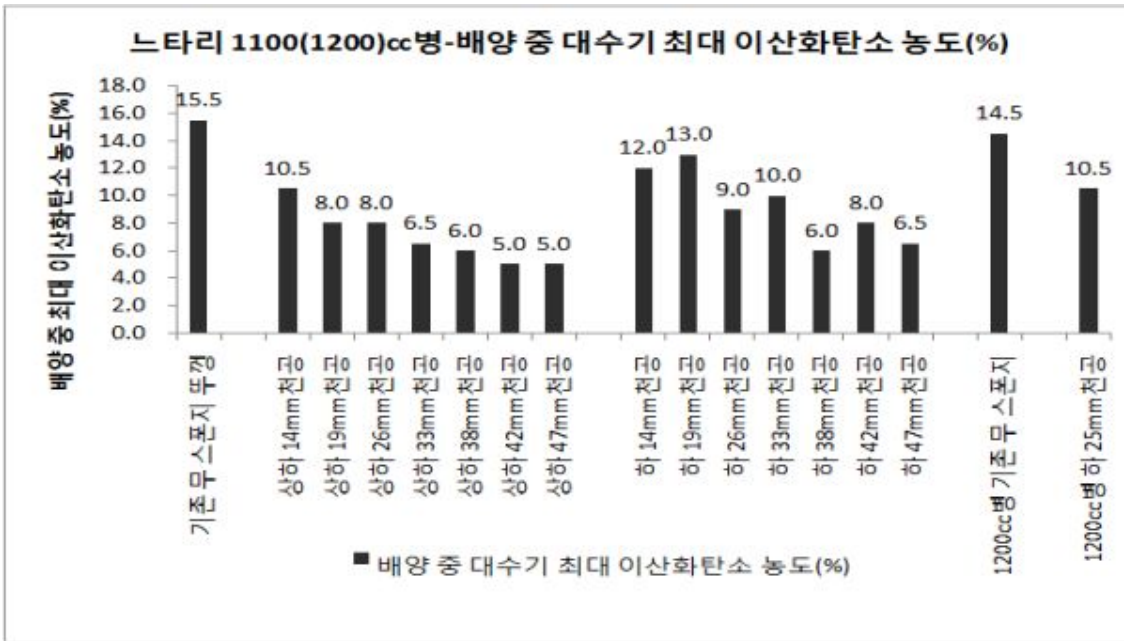


Fig. 5. The concentration of carbon dioxide of maximum peak(%) in the inner the bottle culture during the aeration in the *Pleurotus ostreatus* 1100(1200)ml bottle.

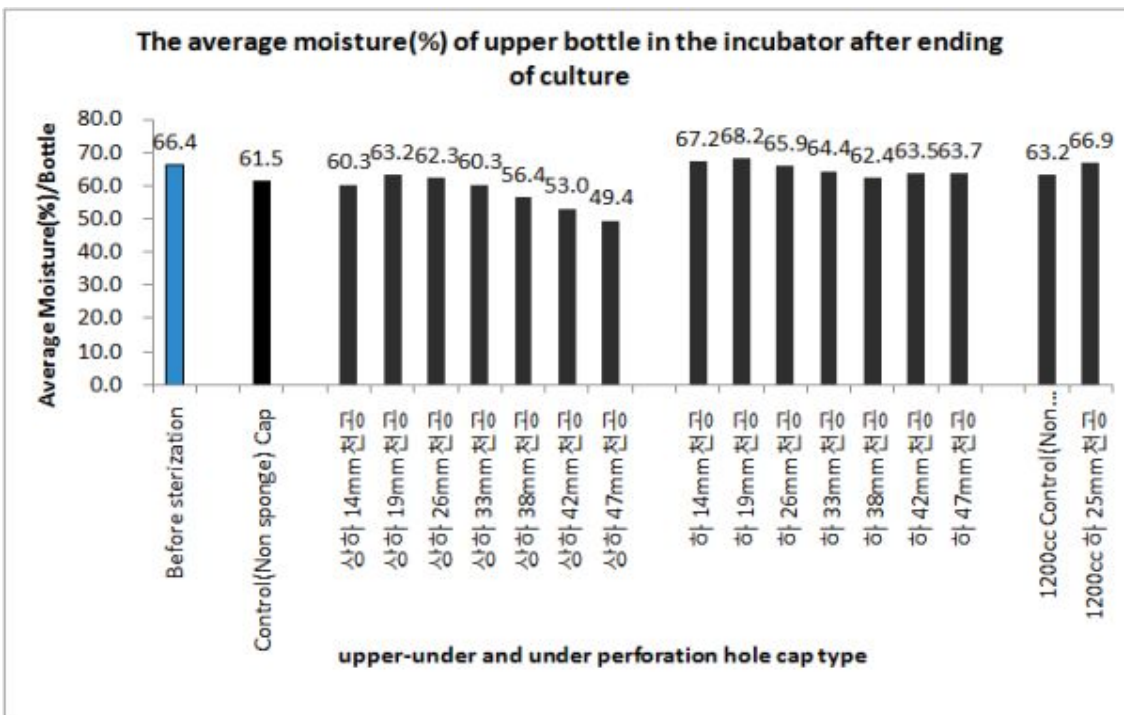


Fig. 6. The average moisture(%) of upper bottle in the incubator after ending of culture of *Pleurotus ostreatus* 1100(1200)ml bottle.

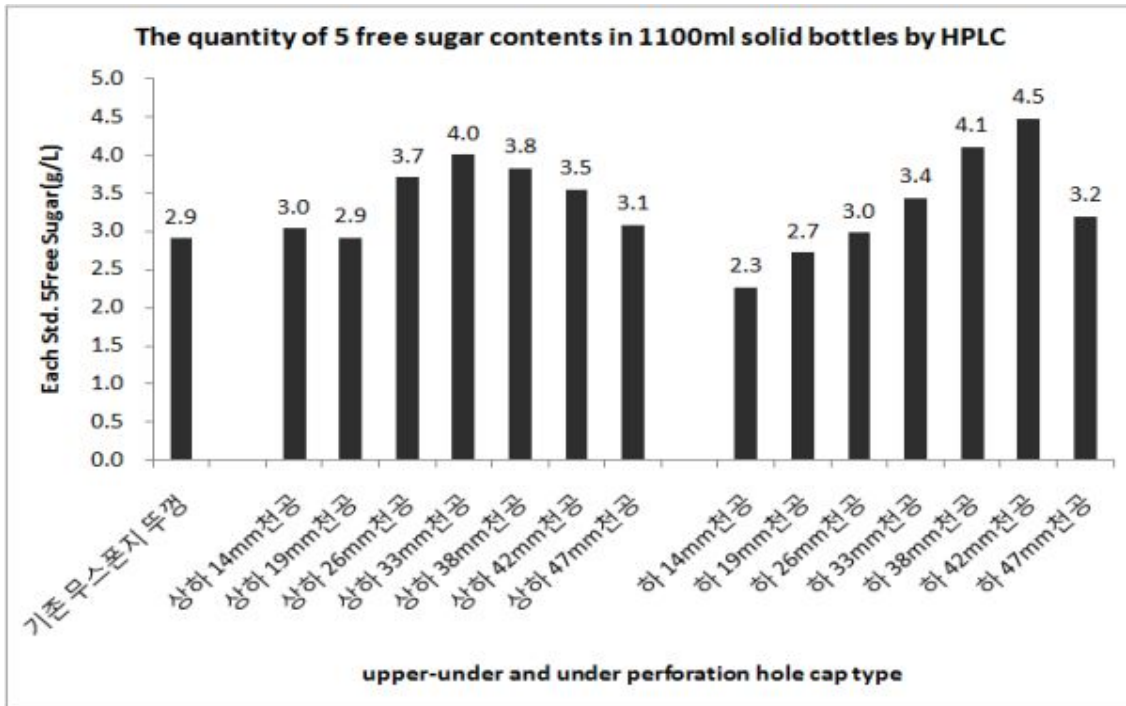


Fig. 7. The quantity of free sugar contents in *Pleurotus ostreatus* 1100ml solid bottle by HPLC

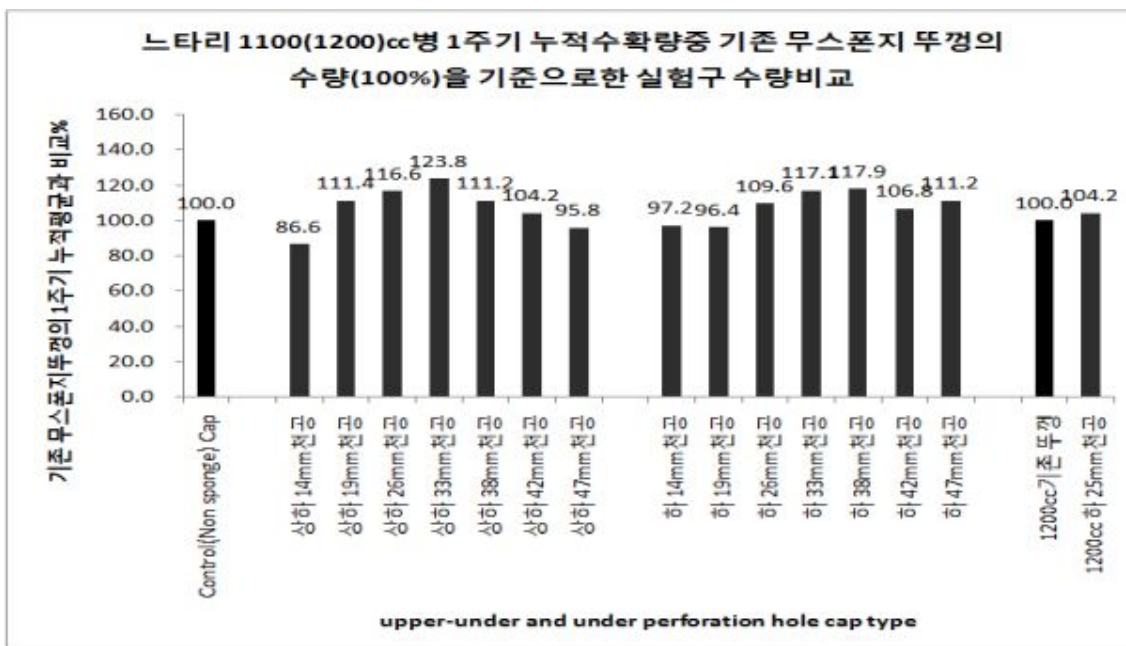


Fig. 8. The comparison of control(100%) based on the average rate in the cumulative harvest of *Pleurotus ostreatus* 1100(1200)ml bottle yield.

다. 느타리버섯 950g 봉지 재배

(1) 느타리버섯 봉지 배양 중 이산화탄소 농도 측정

Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4와 같이 상하 천공 및 하 천공된 뚜껑을 사용하였을 경우 모두 통기구가 큰 구에서는 봉지 안에 존재하는 이산화탄소 농도는 낮게 검출된 반면 통기구가 작은 구에서는 봉지 안에 존재하는 이산화탄소 농도가 높게 검출되었고 하 천공 뚜껑에서보다는 상하 천공 뚜껑 구에서 전반적으로 검출된 양이 적었다. Fig. 5와 같이 통기구가 적은 뚜껑에서의 최대 이산화탄소 농도는 높은 농도였으며 누적된 이산화탄소 농도도 높았다.

Zadrazil(1975)은 영양원 배지에서 산소의 감소와 균사 생장사이의 관계를 확인한 바 있으며 공기와 혼합된 전체의 이산화탄소 농도가 16%와 22% 사이에서 3품종의 느타리의 균사 생육에 최적 상태라고 하였지만 이들의 실험은 접종 5일 후의 짧은 기간 동안에 균사의 증식된 직경의 비교이고, 공기와 이산화탄소 농도와의 혼합 비율이었으므로 위와 같은 조건의 혼합공기의 조성에는 이산화탄소 농도가 16%와 22%이더라도 이 조성 중에는 여전히 산소는 존재하는 상태였으며, 봉지 재배에서의 3차원적인 공간이 아닌 페트리 디쉬의 단면적에서의 비교를 한 결과였다. 하지만 본 연구는 접종 후 가장 많은 호흡반응이 진행되는 배양중간시기이고 3차원적인 배양용기 내부에서의 왕성한 호흡반응 뿐만 아니라 수확까지를 검토한 점에서 차이가 있다. Sung 등(1999)은 느타리버섯 균사 생장을 위해 이산화탄소 농도를 15% 이하가 좋다 하였고 본 연구에서도 균사 배양 중의 이산화탄소 농도는 낮을수록 좋은 것으로 판단되었지만 과도한 이산화탄소 배출될 때 배지의 수분이 과도한 손실까지도 염두에 두어야 할 것으로 판단하였다.

이처럼 호흡에 의하여 배출된 이산화탄소가 높다는 것은 상대적으로 호흡에 필요한 산소가 부족하다는 것이므로 호흡의 반응은 상대적으로 제약을 받게 되는 것을 의미하게 된다. 배양이 진행되면서 균사 배양기간 중에서도 특히 배양 대수기의 정점기간을 지나게 될 때에는 배양기의 내부는 제한된 산소량과 과도한 이산화탄소 량에 너무나 큰 영향을 받는다는 것이 입증되었다.

(2) 느타리버섯 950g 봉지 재배방법에 의한 배지 수분의 영향

상하 천공구 뚜껑에서 통기구가 커짐에 따라 가파르게 수분이 감소되었고 하 천공구 뚜껑에서 통기구가 커짐에 따라 완만하게 감소되었다.

기존 뚜껑과 상하 및 하 5mm천공 뚜껑에서는 통기가 부족하여 배양이 현저히 지연되었고 끝까지 생육도 부진하였다. 봉지측면을 -로 절개하면 배지상부의 과도한 수분 증발로 인한 발이 불량을 피하면서 발이가 양호하였다. 이러한 봉지의 측면 절개방법은 배양 중의 배지상부의 영

향을 최소화하면서도 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도를 쉽게 해소할 수 있는 좋은 방법으로 생각되었다.

상하 천공 뚜껑에서 상하 14~23mm천공까지는 배지 상부의 수분량이 61.4~48.5%로 급격한 감소로 나타났고, 모든 하 천공 뚜껑에서도 62.4~57.7%로 적었지만 감소율은 상대적으로 적었다. 이처럼 상부배지에서의 낮은 배지수분으로 인하여 상부에서의 발이는 불규칙하거나 불량하였으므로 봉지의 측면을 -자로 절개하는 것이 발이가 잘되는 조건으로 봉지재배의 장점으로 부각되었다.

한편 계절에 따른 발이위치를 살펴 본 바 겨울철에 배양실의 상대습도가 적었을 경우에 통기가 많았던 상대적으로 상부측에서의 발이 및 생육이 더 좋은 비율은 10.1~15.0%이었고, 수분증발이 적었던 하부측에서의 발이 및 생육이 더 좋았던 비율은 36.3~39.6%로 높았다(Fig. 11). 이와 반대로 여름철에 배양된 실험구에서는 배양실의 상대습도가 비교적 높았던 이유로 뚜껑 부위의 상부측에서 발이 및 생육이 겨울철과는 반대로 더 좋았다. 이러한 현상은 배양중의 통기가 잘되면서 부가하여 배지상부의 수분도 잘 발산되어 배지 상부에서의 자실체 발이에 영향을 주기 때문이었다.

봉지의 측면절개방법은 균사의 건조에 의한 발이불량을 해소할 수 있기는 하지만 기본적으로는 호흡 반응식[C₆H₁₂O₆ + 6O₂ → 6CO₂ + 6H₂O + Energy(kcal/mol)]과 같이 각각의 열거된 항목이 독립적인 변수가 아니라 서로 연관되어 균사의 세포호흡 반응에 영향을 받는 것을 인식해야 한다.

(3) 배양 후기에서의 균사의 겉보기 진행상태 평가

배양 후기에서 상하천공과 하천공 실험구에서 겉보기 배양상태를 사진으로 비교하였다. 그림에서와 같이 대조구를 비롯하여 통기구의 지름이 적은 실험구에서 배양이 확연히 느렸으며 상하 및 하 천공 통기에서는 하천공 뚜껑구에서 배양이 상대적으로 느렸다. 이는 호흡반응에 필요한 산소의 양이 부족한 원인일 것이다. 한편 통기구가 큰 실험구에서는 겉보기 배양은 확연히 빨리 진행되었지만 배지상부에서의 과도한 수분증발은 오히려 수량이 감소되었다.

(4) 느타리버섯 시료의 화학적 특성

뚜껑별 5종류 유리당 함량은 상하 천공에서는 15mm > 10mm > 20mm > 29 > 25mm > 5mm >> 32mm, 36mm, 45mm, 55mm천공의 순으로 줄었으며 0.5~3.1g/L 로 비교적 큰 차이를 나타내었고, 하천공에서는 변화량이 1.3~1.9g/L로 적었다. 상하 10~29mm천공에서 높았고, 가장 높은 유리당량은 3.1g/L이고 상하 15mm천공구 이었다. 통기구의 동일 크기에서 하 천공보다는 상하 천공에서 훨씬 높게 나왔으며 수량도 역시 상하 천공에서 높게 나왔지만 수량이 가장 많은 실험구와 5

종의 유리당이 많은 구와는 차이가 있었다(Fig. 7, Fig. 9).

맥주효모균(*Saccharomyces cerevisiae*)의 세포벽 구성 성분 비율은 각각 글루칸, 만노단백질 그리고 키틴이 약 60%, 40%, 그리고 1%를 차지하고 있다(Cabib *et al.*, 2001). 이 중 키틴은 N^{acetyl}glucosamine이 β^{1,4} 결합한 고분자 다당류로 세포벽을 구성하는 데 중요한 역할을 수행(Smits *et al.*, 1999)하고 있으며, 균사체량의 많고 적음은 버섯배양에서의 지표가 될 수 있다. 키틴 함량은 상하 20~36mm천공과 하 32mm천공에서 높았다. 상하 및 하 천공구에서는 상하 및 하 32mm천공에서 223mg/kg과 184mg/kg으로 각각 가장 높았다. 상하 및 하 45mm천공 이상에서는 오히려 기존 뚜껑보다 키틴량이 감소하였는데 이는 통기구가 커지면 상대적으로 상부 균상이 건조되어 균사의 생리활성이 감소한 영향으로 판단되었다.

(5) 느타리버섯 배양 후 생육 및 수확

이 등(2002)은 효율적인 봉지 직경이 10~14cm, 배지량 800~1200g/봉지 내외로 추정된 바 있어 이를 기준으로 한 본 연구는 봉지 직경 13cm와 습배지 중량을 950g으로 하였다.

생육 중간 시기에서 발이량이 많고 빨리 자란 자실체는 결국 수확 종점에서도 빨리 수확이 이루어질 뿐 만 아니라 품질도 양호하고 자실체 수량도 증가하는 것이 확인되었다. 통기량이 너무 크게 되면 겉보기 배양은 상대적으로 빨리 이루어졌더라도 이후의 균상상부가 건조되어 자실체의 발이가 현저히 저하되었으며, 수량의 감소로 이어졌다.

수량은 상하 천공 뚜껑에서는 점진적으로 증가하다가 감소하였고 하천공 뚜껑에서는 점진적으로 증가하였다. 증가량은 상하천공 뚜껑구에서 많이 증가되었으며 대조구에 비하여 상하 32mm와 상하 36mm천공 뚜껑구에서 62.1~63.3%로 가장 큰 증가를 보였다. 하지만 기존 코튼볼 뚜껑구는 이 조건에 맞지 않았으므로 정확한 평가를 위해서는 각각의 조건에 맞는 배양조건으로의 비교가 필요하였다. 상하 5~10mm천공, 하 5~15mm천공구는 기존 뚜껑과 비교하여 수량이 감소하였는데 이는 통기구가 너무 작아 배양 중 산소부족으로 세포호흡 및 생리활성에 장애를 받았기 때문이었다. 봉지재배에서의 특징은 Fig. 5에서 보는 바와 같이 상부수분감소량이 많았음에도 불구하고 측면을 절개하여 발이를 유도할 경우에 배양의 효과가 아주 크다는 것을 알 수 있었다. 한편 Fig. 10과 Fig. 11.에서와 같이 봉지재배에서 모든 실험구에서 공히 통기구가 커질수록 자실체의 수량에는 영향이 있을지라도 자실체의 품질은 지속적으로 증가되는 것을 확인하였다.

(6) 느타리버섯 950g 봉지 재배 적요

상하 천공 및 하 천공된 뚜껑을 사용하였을 경우 모두 통기구가 큰 구에서는 봉지 안에 존재하는 이산화탄소 농도는 낮게 검출된 반면 통기구가 작은 구에서는 봉지 안에 존재하는 이

산화탄소 농도가 높게 검출되었고 하 천공 뚜껑에서보다는 상하 천공 뚜껑 구에서 전반적으로 검출된 양이 적었다. 통기구가 적은 뚜껑에서의 최대 이산화탄소 농도는 높게 검출되었으며 누적된 이산화탄소 농도가 높았다. 기존 코튼볼 뚜껑과 상하 및 하 5mm천공 뚜껑에서는 통기가 부족하여 배양이 현저히 지연되어 끝까지 생육도 부진하였다.

배양 종료 후 배지 상부의 수분은 상하 천공구 뚜껑에서는 통기구가 커짐에 따라 급격히 감소되었고, 하 천공구 뚜껑에서는 통기구가 커짐에 따라 완만하게 감소되었다. 상하 14~23mm천공까지는 배지 상부의 수분량이 61.4~48.5%로 급격한 감소였고, 하 천공구도 살균 전의 배지수분보다 훨씬 낮았지만 감소율은 62.4~57.7%로 적었다. 상부배지의 낮은 배지수분은 발이 불규칙과 불량하므로 측면을 -자로 절개하는 것이 배지상부의 수분증발과 관계없이 발이가 가능하며 배양을 극대화를 할 수 있었다. 대조구와 작은 통기구에서 배양이 확연히 느렸으며 같은 천공 통기에서는 하 천공구에서 배양과 생육이 느렸다. 이는 배양 중의 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도의 원인이다.

950g 봉지에서 뚜껑별 5종의 유리당 함량은 상하 천공에서는 15mm > 10mm > 20mm > 29 > 25mm > 5mm >> 32mm, 36mm, 45mm, 55mm천공의 순으로 줄었으며 0.5~3.1 g/L 로 비교적 큰 차이를 나타내었고, 하 천공에서는 변화량이 1.3~1.9g/L로 적었다. 유리당 확인에서 상하 10~29mm천공에서 높았으며, 3.1g/L로 가장 높은 값은 상하 15mm천공 뚜껑이었다. 같은 크기의 통기구에서는 하 천공보다 상하 천공에서 훨씬 높게 나왔으며 수량도 역시 상하 천공에서 높게 나왔다.

키틴 함량은 상하 20~36mm천공과 하 32mm천공에서 높았다. 상하 및 하 32mm천공에서 223mg/kg과 184mg/kg으로 각각 가장 높았다. 상하 및 하 45mm천공 이상에서는 오히려 기존 뚜껑보다 키틴량이 감소하였다.

수량은 통기가 상대적으로 잘되는 상하 천공 뚜껑에서 점진적으로 증가하다가 감소하였고, 하천공에서 지속적으로 증가하였다. 증가량은 상하 천공 뚜껑에서 많이 증가되었으며 대조구에 비하여 상하 32mm와 상하 36mm천공 뚜껑구에서 62.1~63.3%로 가장 큰 증가를 보여 실험구에서 가장 적합한 뚜껑이었다. 하지만 기존 코튼볼 뚜껑은 각각의 배양 및 생육 조건이 맞지 않는 비교이었으므로 정확한 평가를 위해서는 각각의 조건에 맞는 배양조건으로의 비교가 필요하였다. 상하 5~10mm천공, 하 5~15mm천공구는 수량이 급감하였다. 한편 봉지재배에서 모든 실험구에서 공히 통기구가 커질수록 자실체의 수량에는 영향이 있을지라도 상품성은 지속적으로 증가되는 것을 확인하였다.

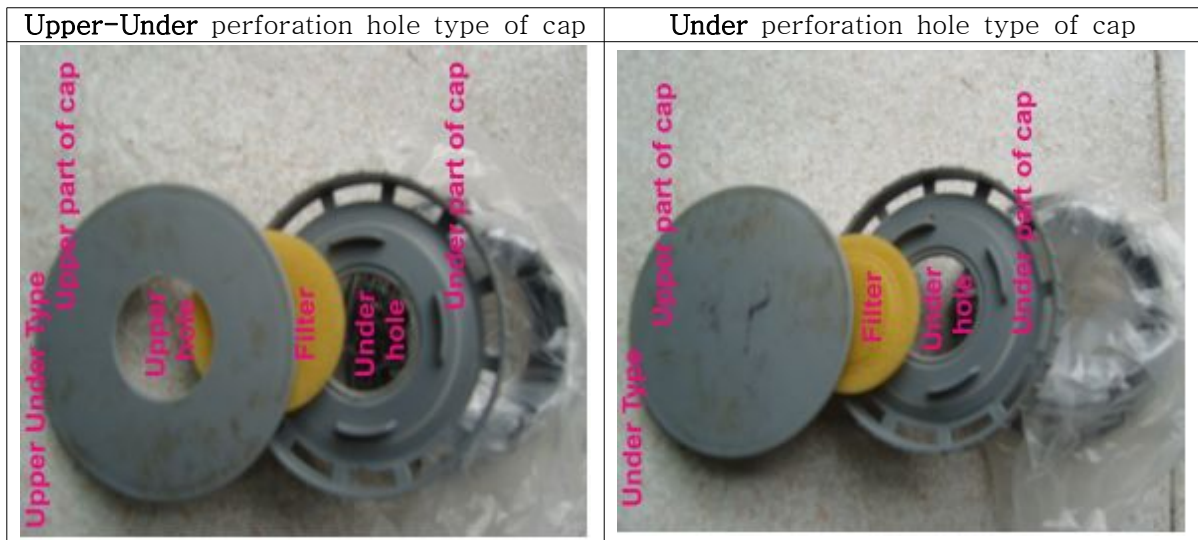


Fig. 1. Upper-Under and Under perforation hole type of cap.

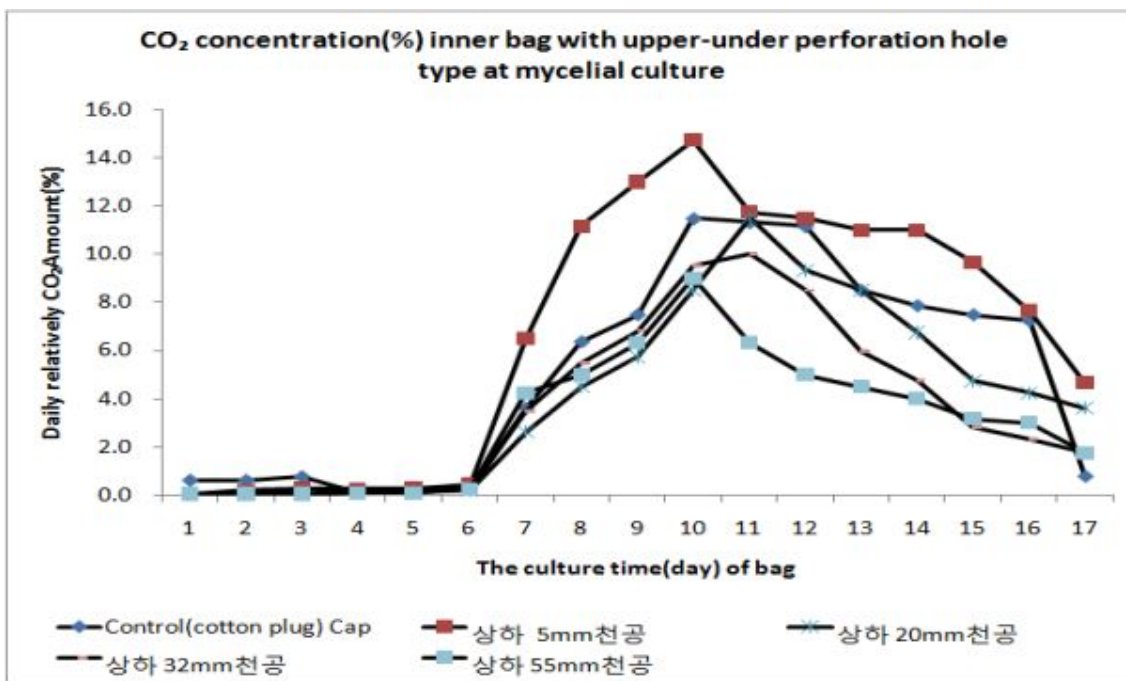


Fig. 2. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bag culture of upper-under perforation hole in the Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus* 950g bag.

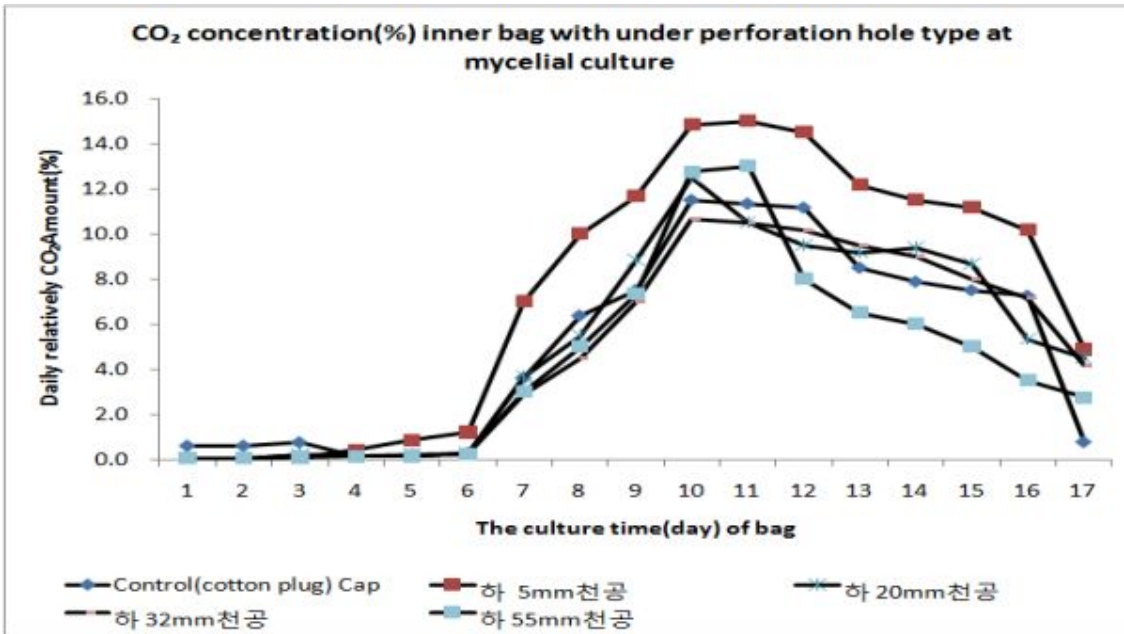


Fig. 3. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bag culture of under perforation hole in the Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus* 950g bag.

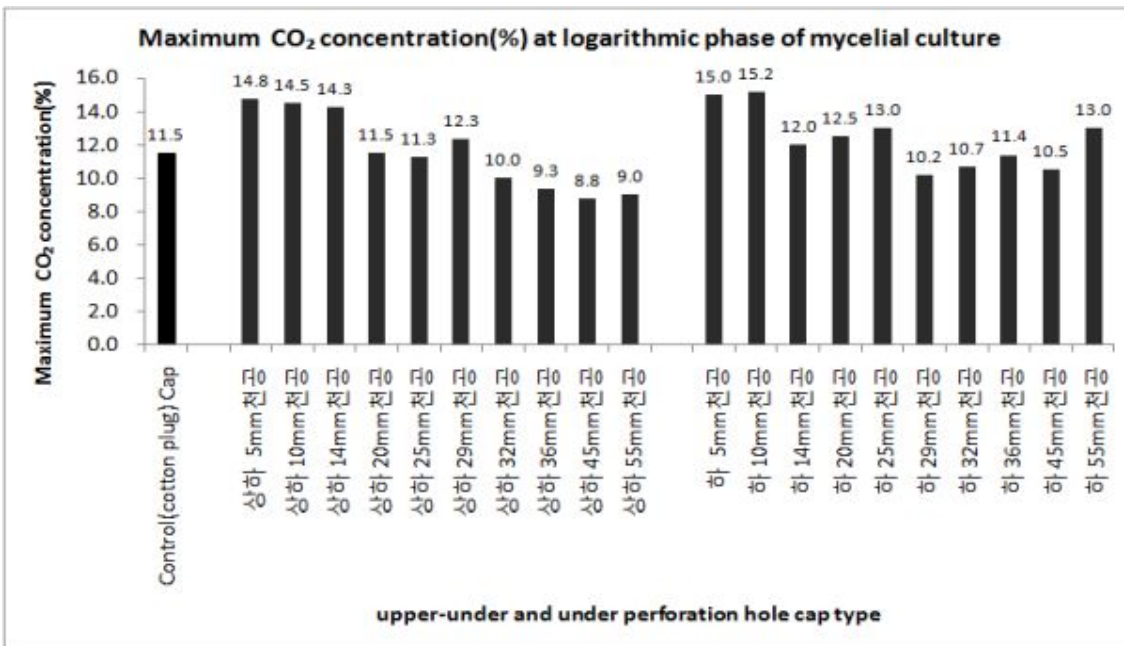


Fig. 4. The concentration of carbon dioxide of maximum peak in the inner the bag culture during the aeration in the Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus* 950g bag(%).

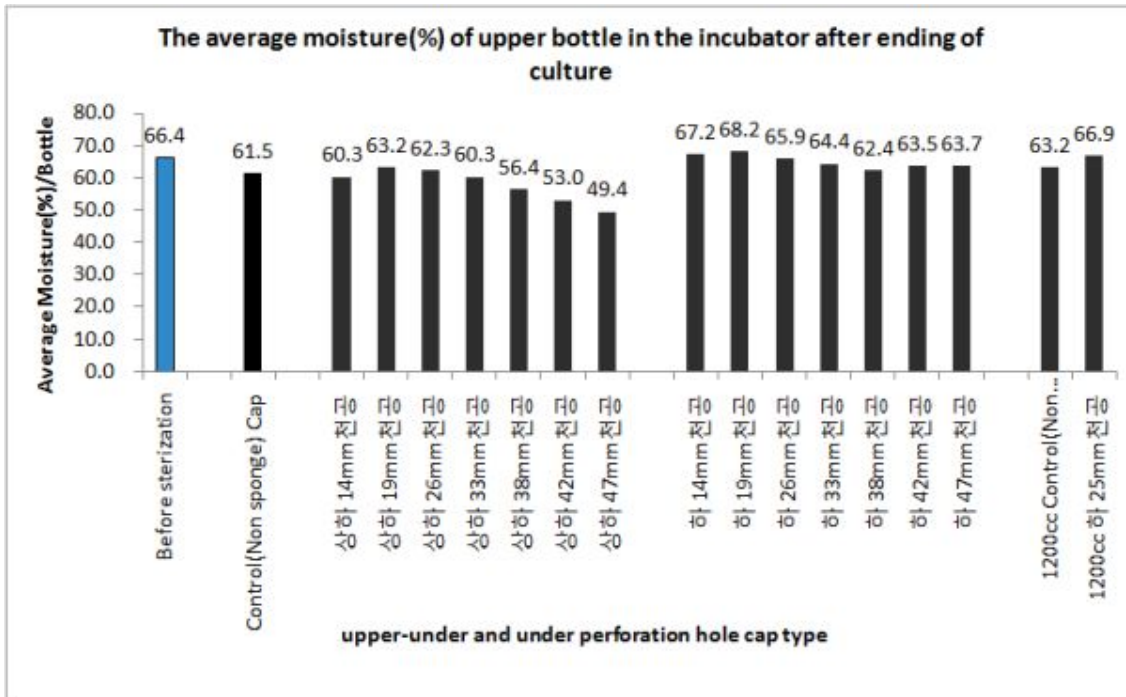


Fig. 5. The average moisture of upper bag in the incubator after ending of culture of Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus* 950g bag(%).



Fig. 6. In both upper-under perforation and under perforation hole of cap, The photograph was the midium culture 950g bag at the 16th day

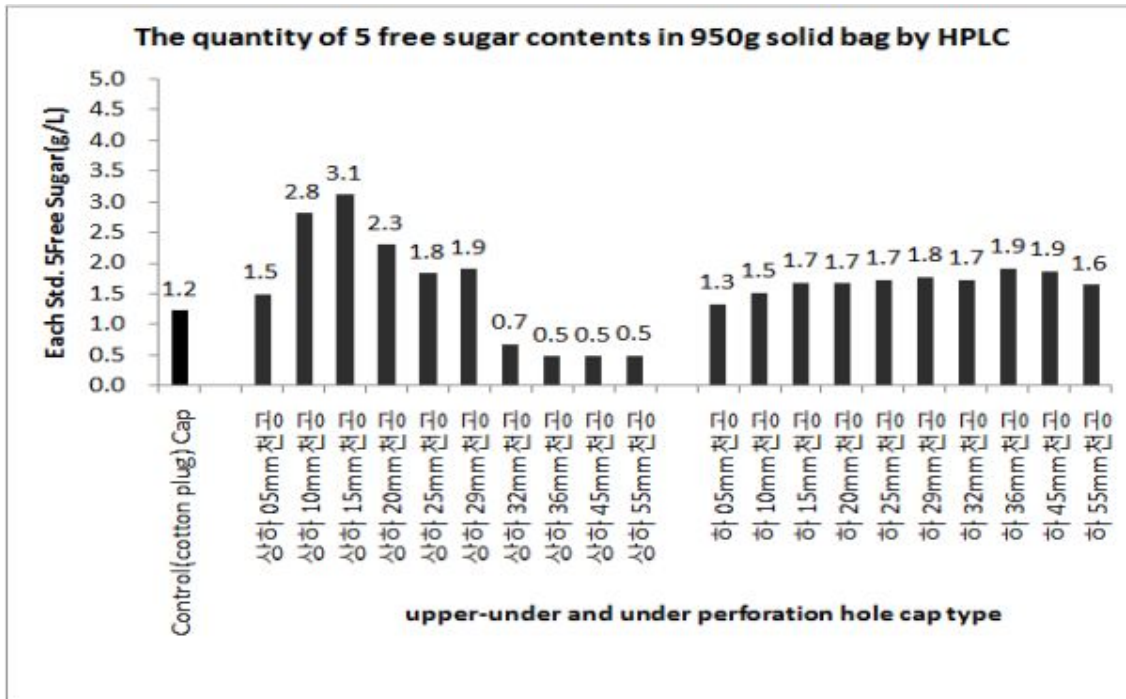


Fig. 7. The quantity of free sugar contents in Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus* 950g solid bag by HPLC

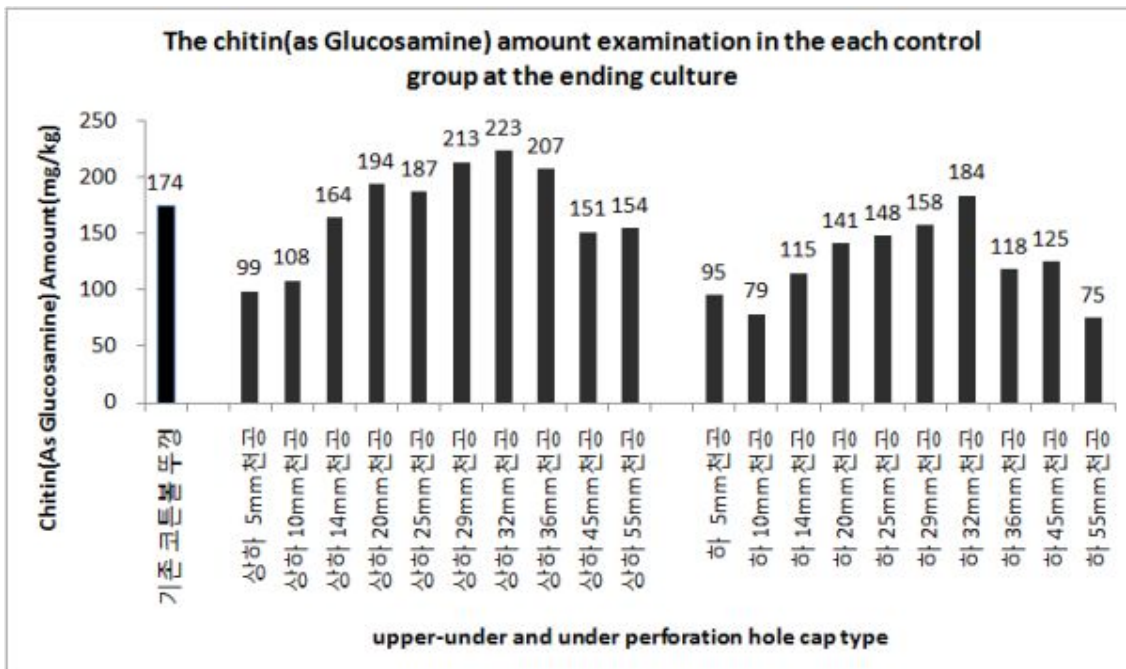


Fig. 8. The chitin(as Glucosamine) amount examination in the each control group at the ending culture of Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus* 950g bag.

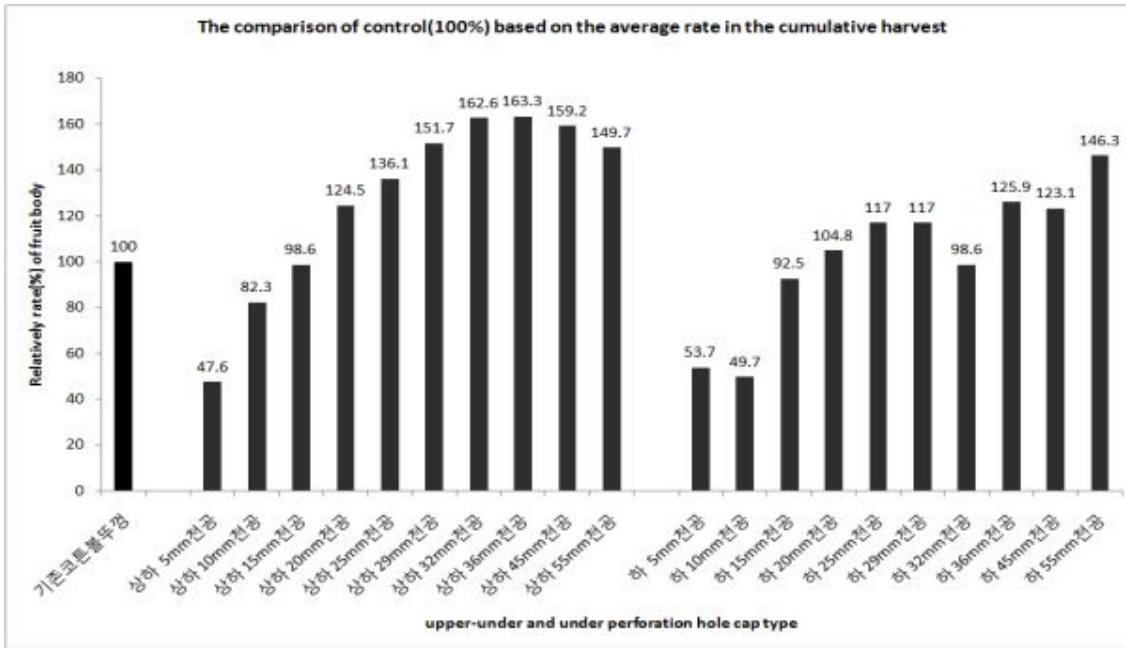


Fig. 9. The comparison of control(100%) based on the average rate in the cumulative harvest of Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus* 950g bag yield.

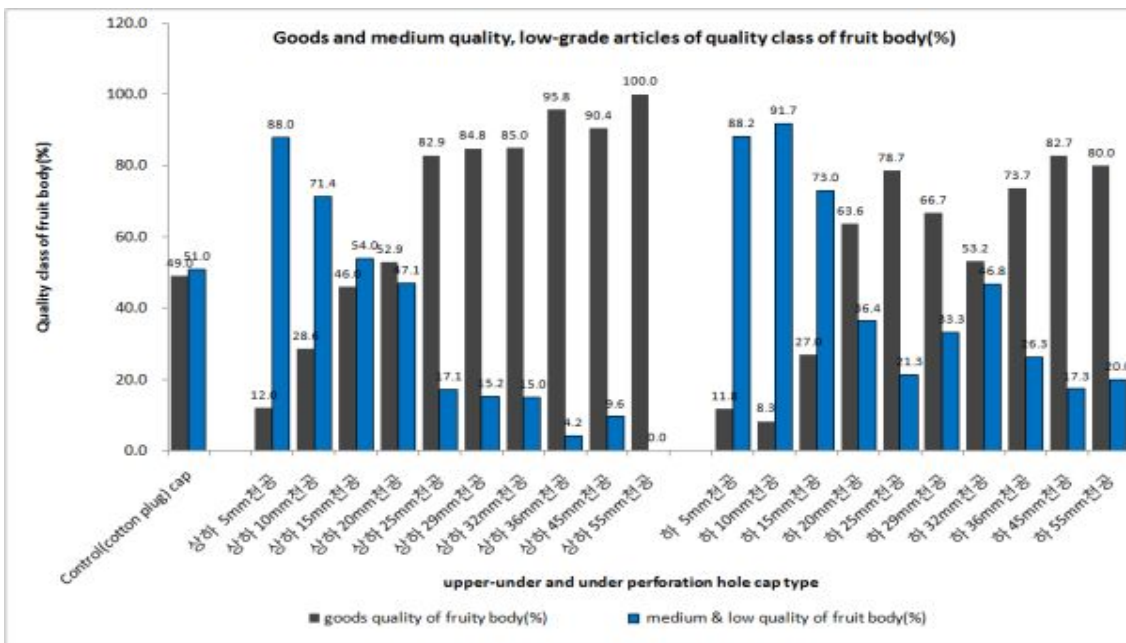


Fig. 10. The comparison of the 1st grade and the 2nd or 3rd grade group of fruit body upper-under perforation and under perforation hole of cap of *Pleurotus ostreatus* 950g bag yield.

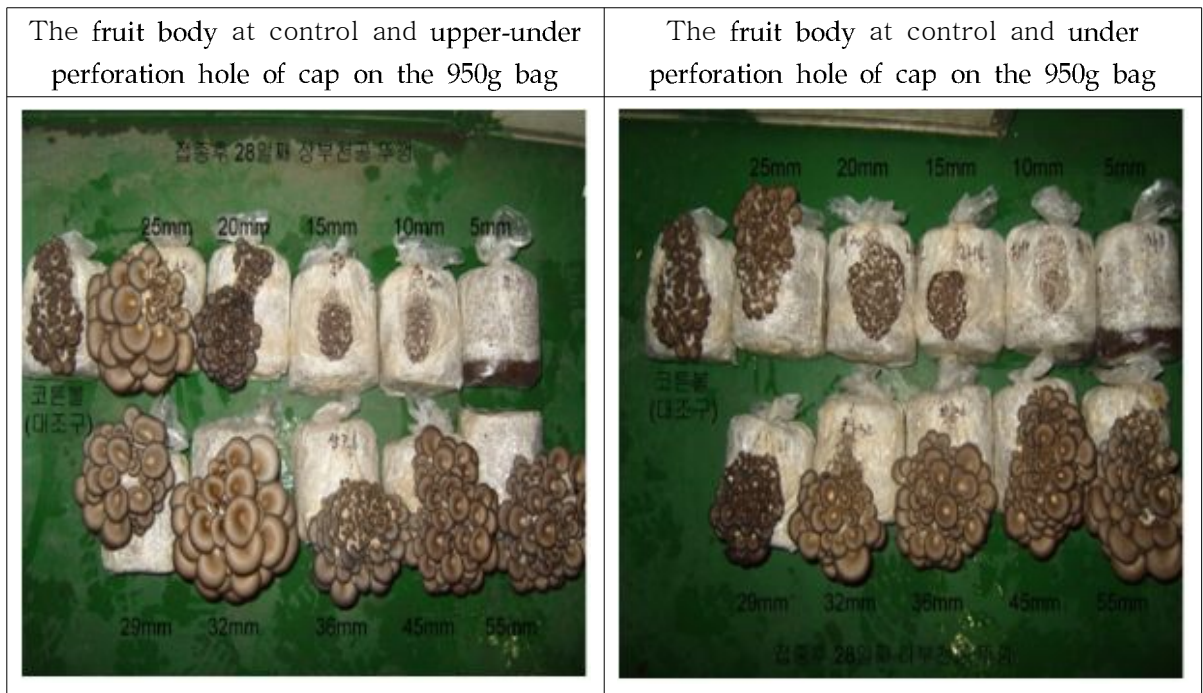


Fig. 11. The fruit body yield at control and upper-under & under perforation hole of cap of Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus* 950g bag.

2. 새송이버섯에서의 뚜껑별 실험

가. 새송이버섯 850ml 병 재배

(1) 새송이버섯 병 배양 중 이산화탄소 농도 측정

새송이버섯 850ml 병의 실험에서 얻어진 Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4와 같이 상하 천공 및 하 천공된 뚜껑을 사용하였을 경우 모두 통기구가 큰 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도는 낮게 검출된 반면 통기구가 작은 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도가 높게 검출되었고 하 천공 뚜껑에서보다는 상하 천공 뚜껑 구에서 전반적으로 검출된 양이 약간 적은 편이었다. Fig. 4와 같이 통기구가 적은 뚜껑에서의 최대 이산화탄소 농도는 높은 농도로 검출되었으며 누적된 상대적인 이산화탄소 농도 역시 높게 검출되었다.

Zadrazil(1975)은 영양원 배지에서 산소의 감소와 균사 성장사이의 관계를 확인한 바, 공기와 혼합된 전체의 이산화탄소 농도가 16%와 22% 사이에서 3품종의 느타리의 균사 생육에 최적 상태라고 하였지만 이들의 실험은 접종 5일 후의 짧은 기간 동안에 균사의 증식된 직경의 비교이고, 공기와 이산화탄소 농도와의 혼합 비율이었으므로 위와 같은 조건의 혼합공기의 조성에는 이산화탄소 농도가 16%와 22%이더라도 이 조성 중 배양기의 내부는 유입된 공기 중의 산소가 존재하였기 때문이고, 병 재배에서의 3차원적인 공간이 아닌 페트리 디쉬(작은 공간)인 단면적에서의 비교 결과였다. 하지만 본 연구는 접종 후 가장 많은 호흡반응이 진행되는 배양 대수기에서 위의 Zadrazil의 경우와는 달리 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도(Excess CO₂ and limited O₂)에 의하여 이루어지는 3차원적인 배양용기 내부에서의 진행되는 호흡반응량과는 완전히 다름 차원인 것이다. Sung 등(1999)은 느타리버섯 균사 성장을 위해 이산화탄소 농도를 15% 이하가 좋다 하였지만 본 연구에서는 균사 배양 중의 배양기 내부에서의 이산화탄소 농도는 낮을수록 좋은 것으로 판단되었다. 하지만 과도한 이산화탄소 배출과 함께 배지 수분이 과도한 손실까지도 염두에 두어야 할 것으로 판단하였다. 최대 이산화탄소 농도에 비례하여 배양기간 중의 배양기 내부에 지속적인 영향을 주기 때문에 배양이 진행되면서 특히 배양 대수기의 정점기간을 지나게 될 때에 배양기의 내부는 제한된 산소량과 과도한 이산화탄소 량에 너무나 큰 영향을 받는다는 것이 Fig. 8에서와 같이 최종적으로는 수량의 차이로 입증되었다.

(2) 새송이버섯 재배방법에 의한 배지 수분의 영향

본 실험에서 살균 전 배지혼합에서 배지수분을 64%로 조제하였고 배양종료 후 배지 상부의

수분량을 측정하여 비교하였다. 상하 천공과 기존 스폰지삽입 뚜껑에서 통기는 약간 부족하였지만 배지상부의 수분의 유지는 양호하였으며 통기구가 적은 실험구 또한 배지상부의 수분유지는 양호하였다. 상하 천공에서는 각각의 천공구의 지름에 따라 얇은 6mm의 스폰지(필터)만을 직접 통과하게 됨에 따라 통기가 양호하여 적체되는 이산화탄소 농도가 적었으며 상대적으로 배지에서의 수분 감소량은 많았다. 하 천공에서는 스폰지의 직경 50mm의 측면으로 통과되어야 하므로 수분 감소량이 상대적으로 적었다. 각각 유형의 천공구에서 수량이 최대로 증수되었던 상하 33mm천공과 하 33mm에서 각각 배지상부의 수분은 47.7%와 48.0%였던 실험구는 대조구의 55.6% 보다도 낮은 배지상부의 수분을 보였음에도 수량은 높았는데 이는 발이량을 제한해야 하는 새송이의 경우에는 적당한 수분의 감소와 함께 배양 중의 통기의 영향이다. 느타리버섯 병재배에서 수분함량이 67~72%일 때 자실체 수량이 가장 높았다(장, 1976)는 내용보다는 낮은 배지수분량이었다. 하지만 세포호흡반응식[$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy(kcal/mol)}$]과 같이 반응식에 열거된 모든 요인(항목)이 독립적인 변수가 아니라 서로 연관되어 균사의 세포호흡 반응과 자실체의 발이에 영향을 주고 수량으로 이어진다는 것을 이해해야 한다.

(3) 새송이버섯 시료의 화학적 특성

850ml 병에서 뚜껑별 5종의 유리당 함량은 상하 천공에서는 29mm > 37mm > 33mm > 23mm > 16mm, 41mm > 12mm 천공의 순으로 줄었으며 하 천공에서는 33mm > 29mm > 37mm > 41mm > 16mm > 23mm > 12mm천공 순으로 줄었다. 상하 및 하 12mm천공에서 5종의 유리당은 각각의 유형에서 적었으며, 특히 기존 대조구에서 5종의 유리당은 가장 적었다. 5종 유리당 함량은 상하 29mm천공에서 비교적 높았고, 하 33mm천공구에서 높게 나타났다(Fig. 6). 하지만 통기구가 큰 뚜껑구에서 균사 배양 중의 호흡기작은 양호하여 균사의 생리활성은 높더라도 균상 상부의 건조증상(Fig. 5)으로 5종의 유당 함량도 감소하는 경향이 나타났다.

맥주효모균(*Saccharomyces cerevisiae*)의 세포벽 구성 성분 비율은 각각 글루칸, 만노단백질 그리고 키틴이 약 60%, 40%, 그리고 1%를 차지하고 있다(Cabib *et al.*, 2001). 이 중 키틴은 N-acetylglucosamine이 β -1,4 결합한 고분자 다당류로 세포벽을 구성하는 데 중요한 역할을 수행하고 있다(Smmits *et al.*, 1999). 본 연구에서의 키틴 함량은 850ml의 기존 스폰지 삽입 뚜껑에 대하여 상하 16mm~23mm천공과 하 12mm~23mm천공의 실험구에서 대조구보다 높았다. 상하 33mm과 상하 41mm천공 그리고 하 29mm, 하 37mm, 하 41mm천공 뚜껑에서는 오히려 기존 뚜껑보다 키틴량이 감소하였는데 이는 통기구가 커지면서 상부 균상이 건조되어 균사의 생리활성이 감소한 것으로 판단되었다.

(4) 새송이버섯 배양 후 생육 및 수확

통기가 불량한 구에서는 세포호흡에 산소의 부족으로 배양이 늦어졌고 이로 인하여 이후의 모든 과정에서 생리활성 저해를 겪었으며 수확이 종료되는 시점에서 이러한 현상은 동일하게 유지되었다. 또한 상하 41mm와 같이 통기량이 너무 크게 되면 겉보기 배양은 상대적으로 빨리 이루어졌더라도 이후의 균상상부가 건조되어 자실체 수량의 감소로 이어질 수도 있다.

850ml 병 새송이버섯 수량은 상하 천공 뚜껑에서 33mm > 29mm > 37mm > 23mm > 16mm > 41mm > 12mm 천공 순으로 수량이 적었으며, 하 뚜껑에서는 33mm > 41mm > 37mm > 37mm > 29mm > 23mm > 16mm > 12mm 천공 순으로 수량이 감소되었다. 대조구(100%)에 비하여 가장 양호한 상하 33mm 천공구와 하 33mm 천공구는 각각 33%, 28%의 높은 증수효과를 나타내었다(Fig. 8). 하지만 상하 41mm 천공 뚜껑에서는 오히려 감소를 보였는데 이는 병재배의 특성상 균상 상부의 배지 건조 때문으로 판단되었다. 한편 기존의 스폰지 삽입의 뚜껑에 상하 20mm(기존+상하 20mm 천공)과 상하 25mm(기존+상하 25mm 천공) 천공의 실험에서도 적절한 통기와 함께 균상의 적절한 수분이 유지됨으로 인하여 대조구에 비하여 28~37%의 수량이 증가되었다.

자실체 수량의 결과는 균사의 영양생장기간의 균사배양에서 통기구가 너무 적으면 배양 대수기에서의 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도에의 영향으로 세포의 호흡반응에 영향이 있고 통기구가 너무 크면 균상상부의 수분증발로 인하여 배양되는 균사는 활력이나 생리활성에 영향을 주는 것이 확인되었다.

(5) 새송이버섯 850ml 병 재배 적요

새송이버섯 병재배(850ml)에서 배양기 내 통기성이 새송이버섯의 균사생장과 버섯발생에 미치는 영향을 조사하였다. 배양병 내의 통기성은 배양병 뚜껑에서 천공의 상하 위치와 구멍 크기로 조절하였고, 통기성 처리의 효과로는 배양병 내 이산화탄소 농도, 배지 수분 함량 변화, 키틴 함량, 유리당 함량, 자실체 수량을 조사하였다.

새송이버섯 균사배양 중 대수기 정점에서의 배양병 내 이산화탄소 농도는 대조구인 스폰지 삽입 뚜껑과, 천공 크기가 작은 뚜껑일수록 상대적으로 높았다. 새송이버섯 균사 배양체 내 유리당 함량은 구멍 크기가 상하 29mm 천공된 뚜껑을 가진 병에서, 그리고 구멍 크기가 33mm로 하부만 천공 뚜껑을 가진 병에서 가장 많았다. 키틴 함량은 상하 23mm 천공한 뚜껑을 가진 병에서 가장 많았다. 한편 뚜껑에서 천공의 위치가 상하 양쪽이고 천공크기가 41mm인 배양병에서는 수분 감소가 많아 발이가 불량하고 자실체 생산량도 적었다.

결론적으로 새송이버섯 병재배 용기 850ml 병에서 최고의 수량을 나타낸 배양병에서의 뚜껑은 상하 천공으로 상하 33mm 구멍과 하부만의 천공은 하 33mm 구멍을 내고 통기성 스폰지를 넣은 것으로, 이 때 자실체 생산량은 대조구보다 33~28% 증가하였다.

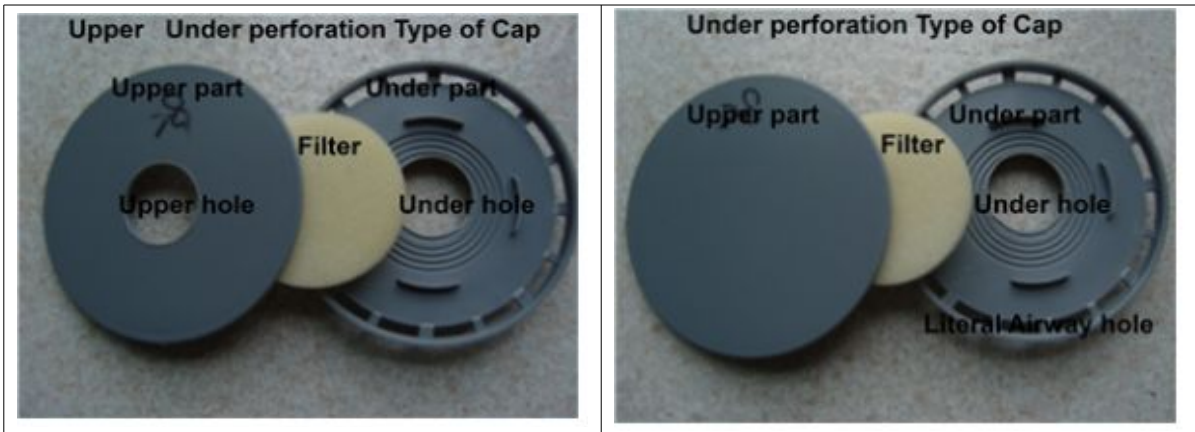


Fig. 1. Upper-Under and Under perforation hole type of cap.

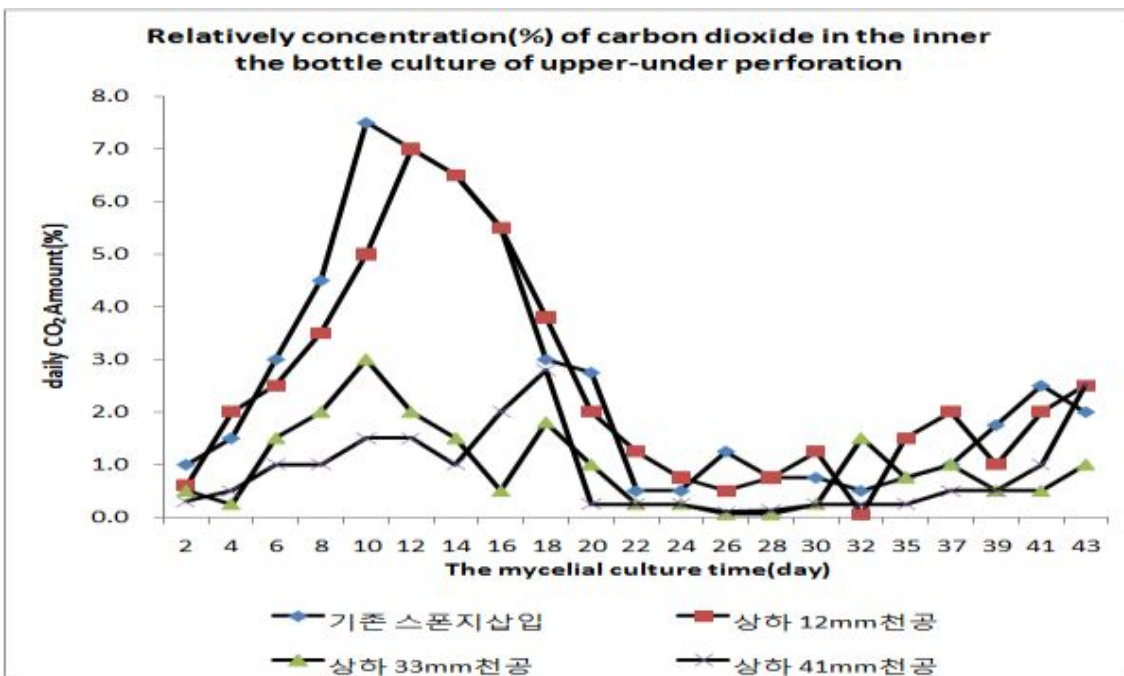


Fig. 2. The summary that some of control group about that relatively concentration(%) of carbon dioxide in the inner the bottle culture of upper-under perforation in the *Pleurotus eryngii* 850ml bottle.

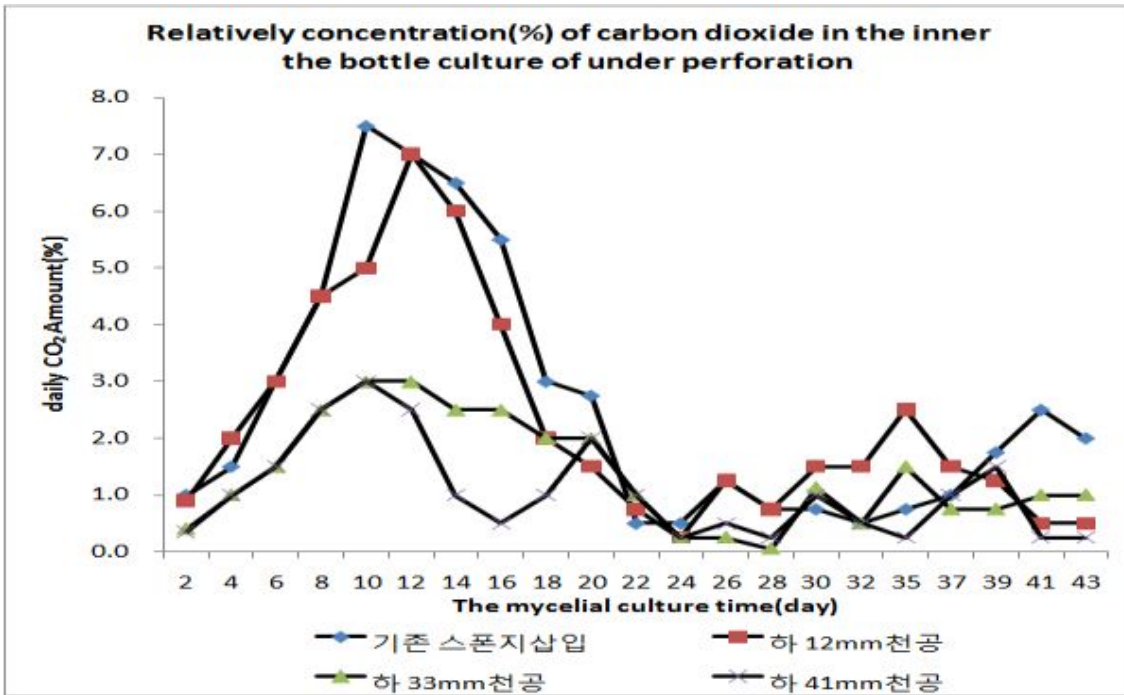


Fig. 3. The summary that some of control group about that relatively concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of under perforation in the *Pleurotus eryngii* 850ml bottle.

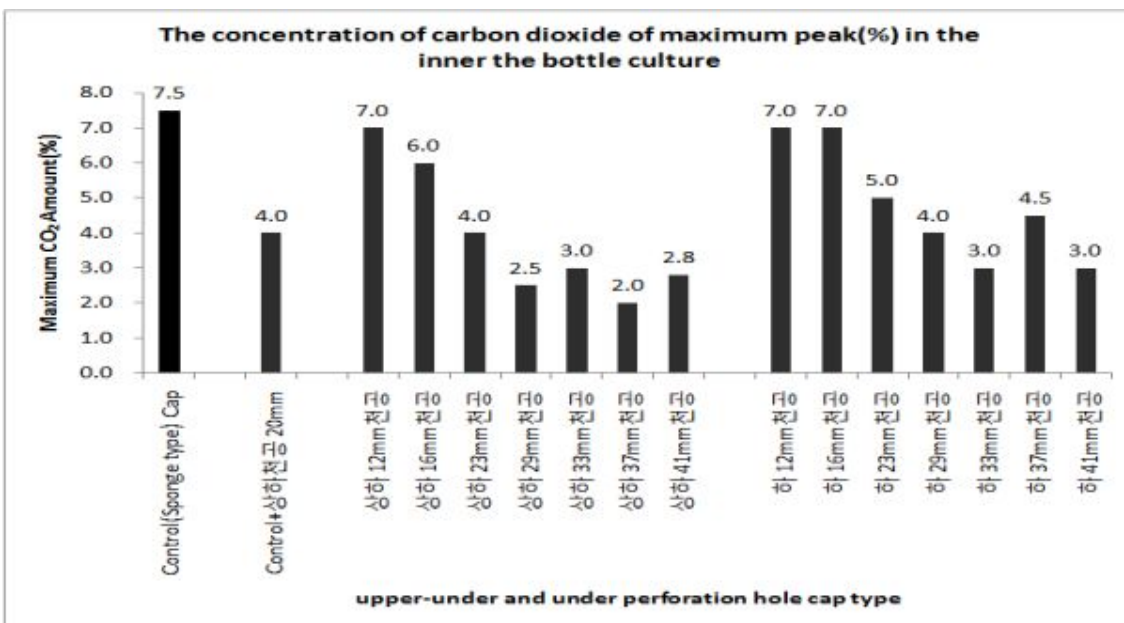


Fig. 4. The concentration of carbon dioxide of maximum peak(%) in the inner the bottle culture in the *Pleurotus eryngii* 850ml bottle.

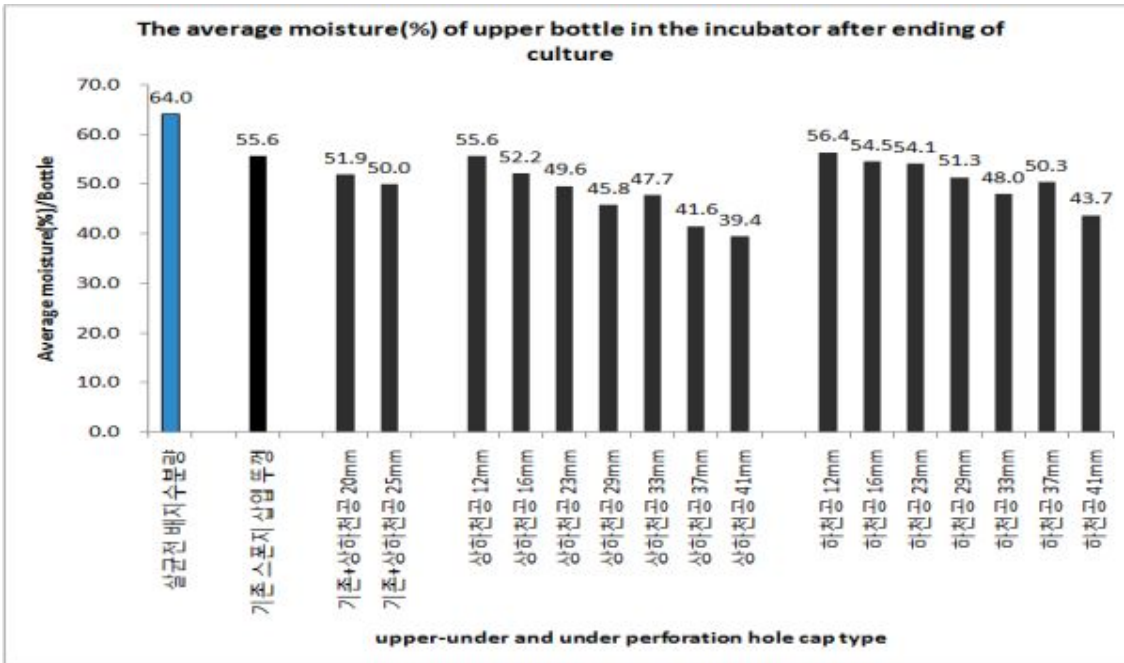


Fig. 5. The average moisture(%) of upper bottle in the incubator after ending of culture of *Pleurotus eryngii* 850ml bottle.

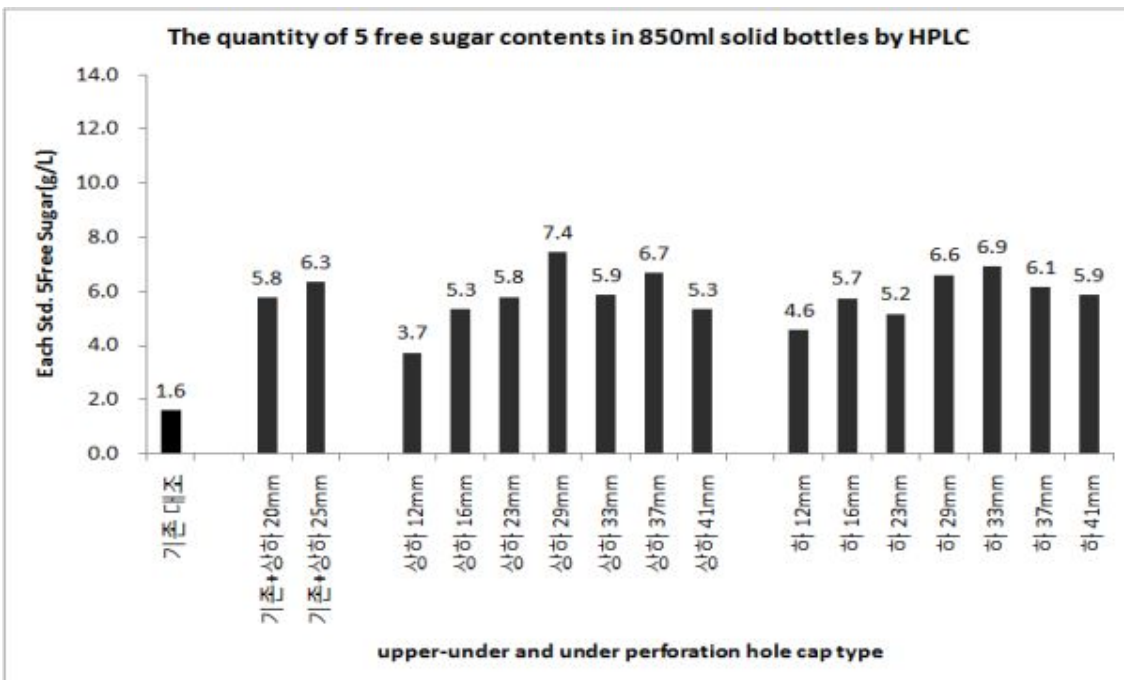


Fig. 6. The quantity of 5 free sugar contents in *Pleurotus eryngii* 850ml solid bottle by HPLC.

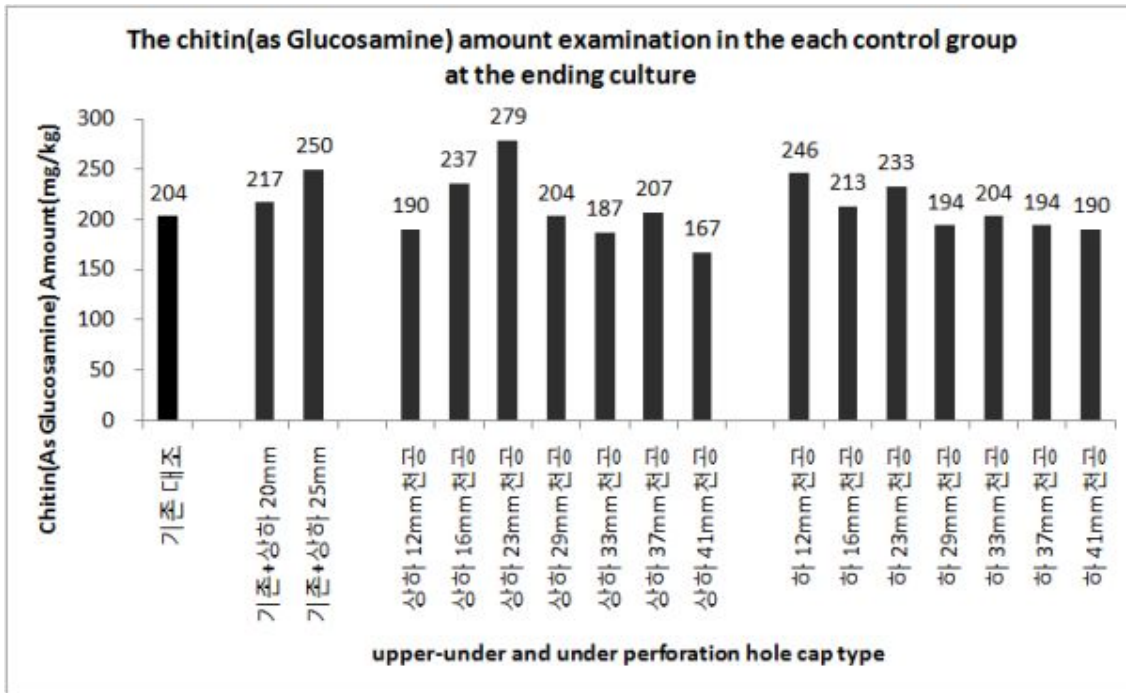


Fig. 7. The chitin(as Glucosamine) amount examination in the each group at the ending culture of *Pleurotus eryngii* 850ml bottle.

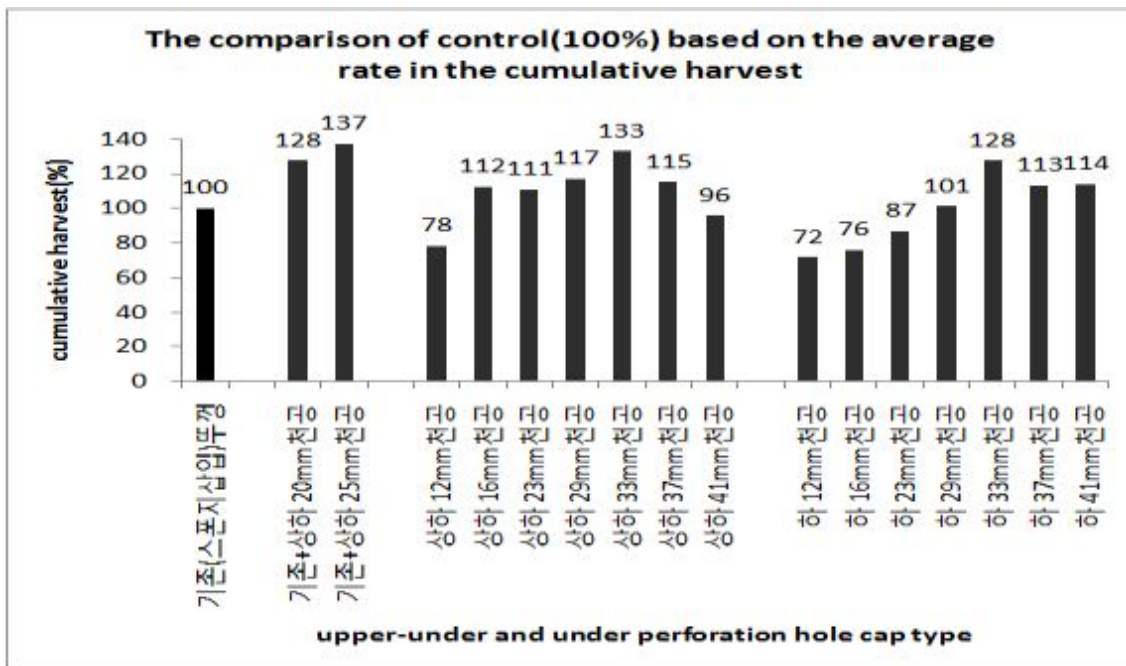


Fig. 8. The comparison of control(100%) based on the average rate in the cumulative harvest of *Pleurotus eryngii* 850ml bottle yield.

나. 새송이버섯 1200ml병 재배

(1) 새송이버섯 병 배양 중 이산화탄소 농도 측정

새송이버섯 1,200ml병의 실험에서 얻어진 Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4와 같이 상하 천공 및 하 천공된 뚜껑을 사용하였을 경우 모두 통기구가 큰 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도는 낮게 검출된 반면 통기구가 작은 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도가 높게 검출되었다. Fig. 4와 같이 통기구가 적은 뚜껑에서의 최대 이산화탄소 농도는 높은 농도로 검출되었으며 누적된 상대적인 이산화탄소 농도 역시 높게 검출되었다.

Zadrazil(1975)은 영양원 배지에서 산소의 감소와 균사 성장사이의 관계를 확인한 바, 공기와 혼합된 전체의 이산화탄소 농도가 16%와 22% 사이에서 3품종의 느타리의 균사 생육에 최적 상태라고 하였지만 이들의 실험은 접종 5일 후의 짧은 기간 동안에 균사의 증식된 직경의 비교이고, 공기와 이산화탄소 농도와의 혼합 비율이었으므로 위와 같은 조건의 혼합공기의 조성에는 이산화탄소 농도가 16%와 22%이더라도 이 조성 중 배양기의 내부는 유입된 공기 중의 산소가 존재하였기 때문이고, 병 재배에서의 3차원적인 공간이 아닌 페트리 디쉬(작은 공간)인 단면적에서의 비교 결과였다. 하지만 본 연구는 접종 후 가장 많은 호흡반응이 진행되는 배양 대수기에서 위의 Zadrazil의 경우와는 달리 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도(Excess CO₂ and limited O₂)에 의하여 이루어지는 3차원적인 배양용기 내부에서의 진행되는 호흡반응량과는 완전히 다른 차원인 것이다. Sung 등(1999)은 느타리버섯 균사 성장을 위해 이산화탄소 농도를 15% 이하가 좋다 하였지만 본 연구에서는 균사 배양 중의 배양기 내부에서의 이산화탄소 농도는 낮을수록 좋은 것으로 판단되었다. 하지만 과도한 이산화탄소 배출과 함께 배지 수분이 과도한 손실까지도 염두에 두어야 할 것으로 판단하였다. 최대 이산화탄소 농도에 비례하여 배양기간 중의 배양기 내부에 지속적인 영향을 주기 때문에 배양이 진행되면서 특히 배양 대수기의 정점기간을 지내게 될 때에 배양기의 내부는 제한된 산소량과 과도한 이산화탄소 량에 너무나 큰 영향을 받는다는 것이 Fig. 9에서와 같이 최종적으로는 수량의 차이로 입증되었다.

(2) 새송이버섯 재배방법에 의한 배지 수분의 영향

본 실험에서 살균 전 배지혼합에서 배지수분을 64.5%로 조제하였고 배양종료 후 배지 상부의 수분량을 측정하여 비교하였다. 상하 천공에서 기존 스폰지삽입 뚜껑과 통기구가 적은 뚜껑에서 배지상부의 수분의 유지는 양호하였다. 상하 천공에서는 각각의 천공구의 지름에 따라 얇은 6mm의 스폰지(필터)만을 직접 통과하게 됨에 따라 통기가 양호하여 적체되는 이산화탄소 농도가 적었던 반면 상대적으로 배지에서의 수분 감소량은 많았으며, 하 천공에서는 스폰지의 직

경 50mm의 측면으로 통과되어야 하므로 수분 감소량이 상대적으로 적었다. 특히 Fig. 8에서와 같이 상하 천공 뚜껑구에서는 상대적으로 배지수분의 감소가 크며, 배지상부의 과도한 건조증상으로 발이가 되지 않은 상하 50mm천공 뚜껑구에서는 균상상부에서의 곰팡이 발생 빈도가 70.0%에 달하였고 수확시점에서 균사의 사멸이나 세력이 약화되어 균상에서의 감염율이 상하 35mm~45mm에서도 26.9~33.3% 정도의 곰팡이 발생 빈도로 발생하기도 하였다. 각각 유형의 천공구에서 수량이 최대로 증수되었던 상하 20mm천공과 하 mm에서 각각 배지상부의 수분은 64.5%와 62.2%였던 실험구는 대조구의 68.3% 보다도 낮은 배지상부의 수분을 보였음에도 수량은 높았는데 이는 발이량을 제한해야하는 새송이의 경우에는 적당한 수분의 감소와 함께 배양 중의 통기의 영향이다. 느타리버섯 병재배에서 수분함량이 67~72%일 때 자실체 수량이 가장 높았다(장, 1976)는 내용보다는 낮은 배지 수분량이였다. 하지만 세포호흡반응식[C₆H₁₂O₆ + 6O₂ → 6CO₂ + 6H₂O + Energy(kcal/mol)]과 같이 반응식에 열거된 모든 요인(항목)이 독립적인 변수가 아니라 서로 연관되어 균사의 세포호흡 반응과 자실체의 발이에 영향을 주고 수량으로 이어진다는 것을 이해해야 한다.

(3) 새송이버섯 시료의 화학적 특성

1,200ml병에서 뚜껑별 5종의 유리당 함량은 상하 천공에서는 40mm > 45mm > 35mm > 50mm > 28mm > 20mm > 15mm 천공의 순으로 줄었으며 하 천공에서는 35mm > 40mm > 45mm > 28mm > 20mm > 15mm > 50mm천공 순으로 줄었다. 상하 및 하 12mm천공에서 5종의 유리당은 각각에서 적었으며, 특히 병 용량이 크고 기존 대조구(무스폰지 비통기성) 뚜껑의 영향으로 5종의 유리당은 가장 적었다. 5종 유리당 함량은 상하 천공에서는 상하 40mm천공에서 가장 높았고, 하 천공에서는 하 35mm천공에서 높게 나타났다(Fig. 6). 하지만 통기구가 큰 상하 50mm천공과 하 50mm천공 뚜껑에서 균사 배양 중의 호흡기작은 양호하여 균사의 생리활성은 높았더라도 균상 상부의 건조증상(Fig. 5)으로 5종의 유당 함량은 감소하였다.

맥주효모균(*Saccharomyces cerevisiae*)의 세포벽 구성 성분 비율은 각각 글루칸, 만노단백질 그리고 키틴이 약 60%, 40%, 그리고 1%를 차지하고 있다(Cabib *et al.*, 2001). 이 중 키틴은 N-acetylglucosamine이 β-1,4 결합한 고분자 다당류로 세포벽을 구성하는 데 중요한 역할을 수행하고 있다(Smmits *et al.*, 1999). 본 연구에서의 키틴 함량은 1,200ml의 기존 무스폰지 뚜껑에 대하여 상하 35mm천공과 하 28mm~40mm천공의 시험구에서 대조구보다 약간 높았다. 상하 35mm천공을 제외한 대부분에서 대조구에 비하여 낮은 편이었고 하 15mm와 20mm 그리고 하 45mm와 50mm천공 뚜껑에서는 오히려 키틴량이 감소하였는데 이는 배양병 용량이 크고, 통기구가 커지면서 상부 균상이 건조되어 균사의 생리활성이 감소하였거나 통기구가 적어서 세포호흡반응이 미진한 경우였다.

(4) 새송이버섯 배양 후 생육 및 수확

통기가 불량한 구에서 세포호흡에 산소의 부족으로 배양이 늦어졌고 이로 인하여 이후의 모든 과정에서 생리활성 저해를 겪었으며 수확이 종료되는 시점에서 이러한 현상은 동일하게 유지되었다. 또한 상하 및 하 45mm, 50mm천공 등을 비롯하여 통기구가 너무 크게 되면 겉보기 배양은 상대적으로 빨리 이루어졌더라도 이후의 균상상부의 극심한 건조증상(Fig.5)으로 발이가 되지 않는 구 및 곰팡이의 오염빈도(Fig. 8)가 높아졌으며 자실체 수량 감소로 이어졌다.

1,200ml 병 새송이버섯 수량은 상하 천공 뚜껑에서 20mm > 15mm > 28mm > 35mm > 40mm >> 45mm > 50mm천공 순으로 수량이 적었으며, 하 뚜껑에서는 20mm > 15mm > 25mm > 18mm > 40mm > 35mm >> 50mm > 45mm천공 순으로 수량이 감소되었다. 대조구(100%)에 비하여 가장 양호한 상하 20mm천공구와 하 20mm천공구는 각각 21%, 32%의 높은 증수효과를 나타내었다(Fig. 9). 하지만 상하 35mm천공 보다 큰 뚜껑에서는 오히려 급격한 수량 감소를 보였는데 이는 병재배의 특성상 균상 상부의 배지 건조 때문으로 판단되었고 하 천공에서도 하 35mm천공 보다 큰 뚜껑에서도 상대적으로 완만하였지만 동일한 현상이 나타났다.

자실체 수량의 결과는 균사의 영양성장기간의 균사배양에서 통기구가 너무 적으면 배양 대수기에서의 과도한 이산화탄소 농도와 제한된 산소 농도에의 영향으로 세포의 호흡반응에 영향이 있고 통기구가 너무 크면 균상상부의 수분증발로 인하여 배양되는 균사는 활력이나 생리활성에 영향을 주는 것이 확인되었다.

(5) 새송이버섯 1200ml 병 재배 적요

새송이버섯 병재배(1,200ml)에서 배양기 내 통기성이 새송이버섯의 균사생장과 버섯발생에 미치는 영향을 조사하였다. 배양병 내의 통기성은 배양병 뚜껑에서 천공의 상하 위치와 구경 크기로 조절하였고, 통기성 처리의 효과로는 배양병 내 이산화탄소 농도, 배지 수분 함량 변화, 키틴 함량, 유리당 함량, 자실체 수량을 조사하였다.

새송이버섯 균사배양 중 대수기 정점에서의 배양병 내 이산화탄소 농도는 대조구인 스폰지 삽입 뚜껑과, 천공 크기가 작은 뚜껑일수록 상대적으로 높았다. 새송이버섯 균사 배양체 내 유리당 함량은 구멍 크기가 상하 40mm 천공된 뚜껑을 가진 병에서, 그리고 구멍 크기가 35mm로 하부만 천공 뚜껑을 가진 병에서 가장 많았다. 키틴 함량은 하 40mm천공한 뚜껑을 가진 병에서 가장 많았다. 한편 뚜껑에서 천공의 위치가 상하 양쪽이고 천공크기가 50mm인 배양병에서는 수분 감소가 많아 발이가 불량하고 자실체 생산량도 거의 없었다.

결론적으로 새송이버섯 병재배 용기 1,200ml 병에서 최고의 수량을 나타낸 배양병에서의 뚜껑은 상하 천공으로 상하 20mm 구멍과 하부만의 천공은 하 20mm 구멍을 내고 통기성 스폰지를

넣은 것으로, 이 때 자실체 생산량은 대조구보다 21~32% 증가하였다.

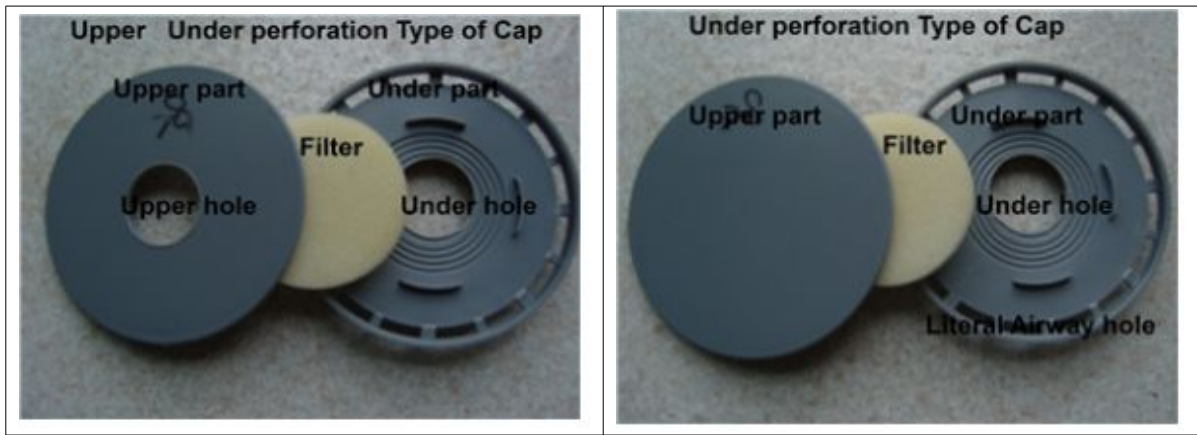


Fig. 1. Upper-Under and Under perforation hole type of cap.

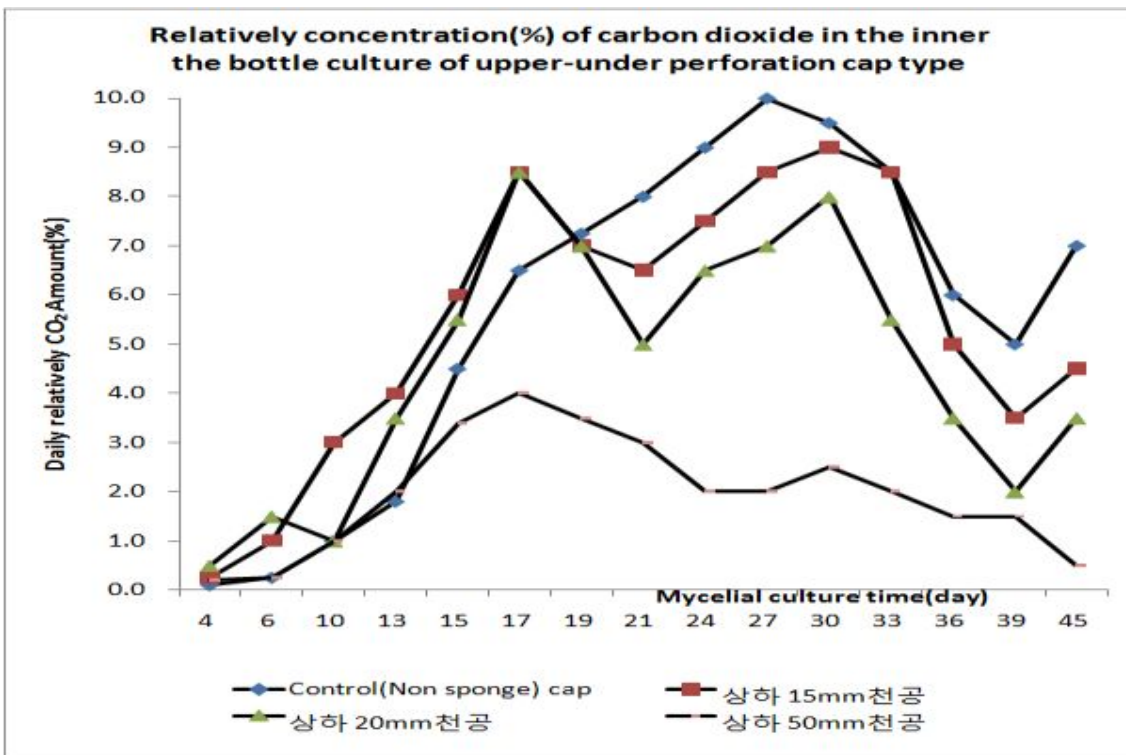


Fig. 2. The summary that some of control group about that relatively concentration(%) of carbon dioxide in the inner the bottle culture of upper-under perforation in the *Pleurotus eryngii* 1,200ml bottle. CO₂

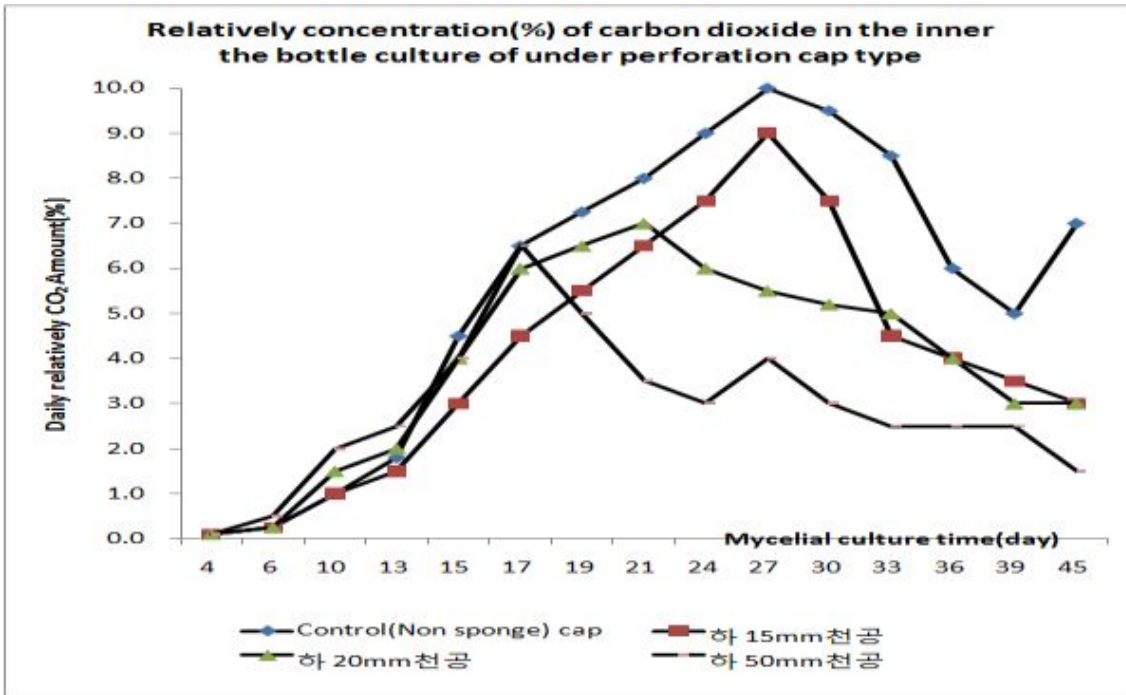


Fig. 3. The summary that some of control group about that relatively concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of under perforation in the *Pleurotus eryngii* 1,200ml bottle.

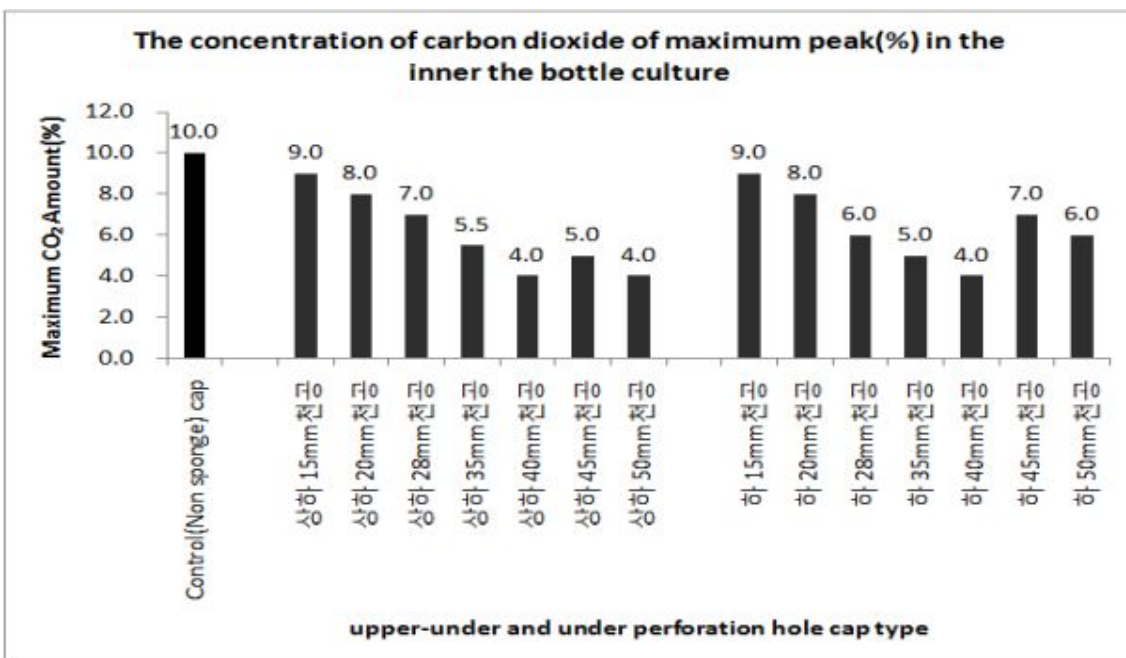


Fig. 4. The concentration of carbon dioxide of maximum peak (%) in the inner the bottle culture in the *Pleurotus eryngii* 1,200ml bottle.

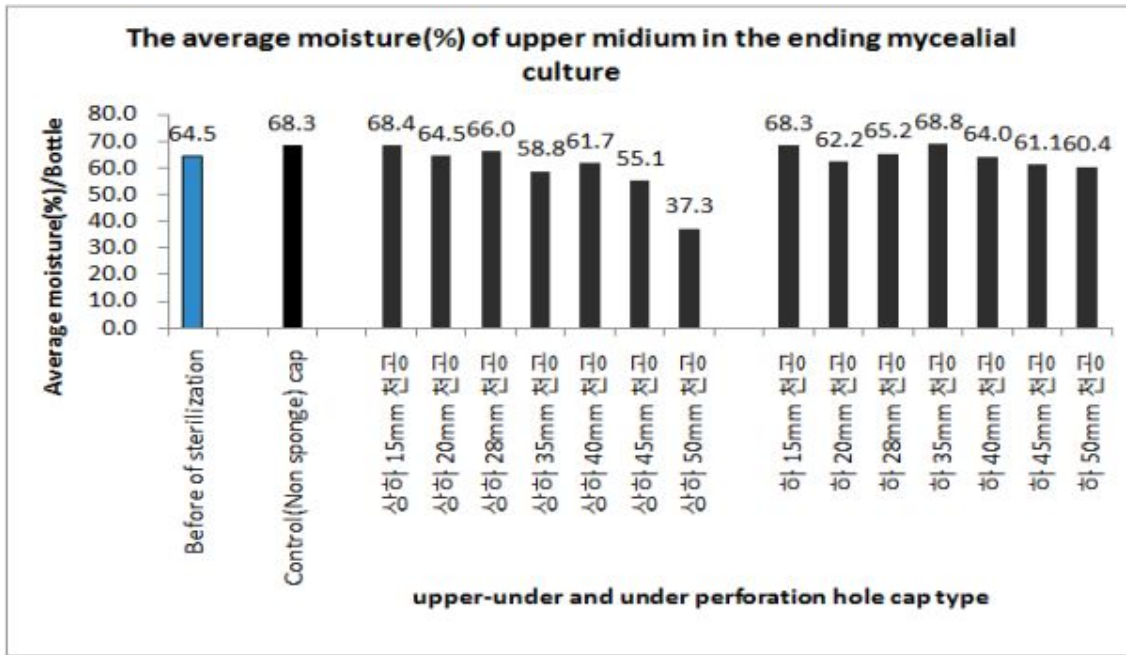


Fig. 5. The average moisture(%) of upper bottle in the incubator after ending of culture of *Pleurotus eryngii* 1,200ml bottle.

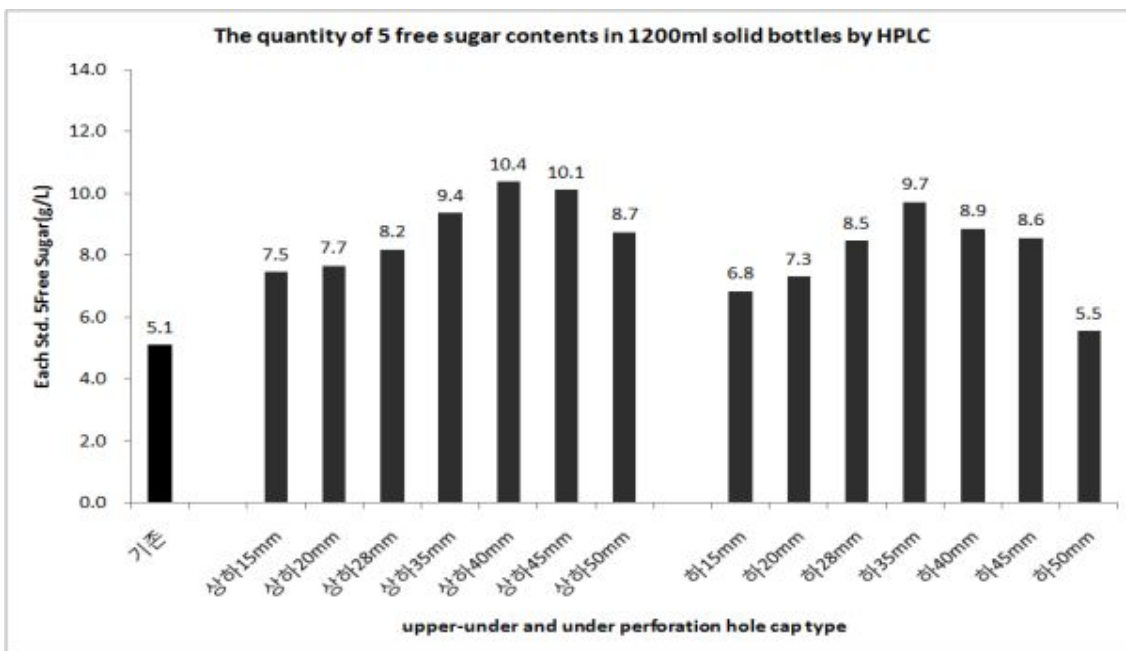


Fig. 6. The quantity of 5 free sugar contents in *Pleurotus eryngii* 1,200ml solid bottle by HPLC.

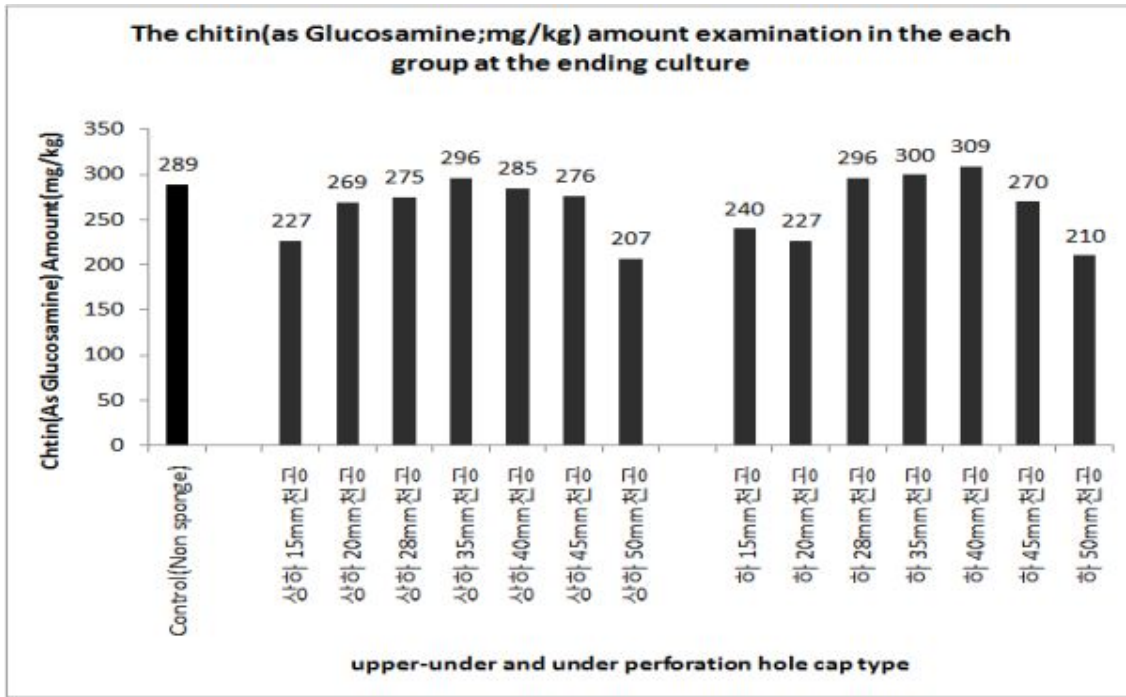


Fig. 7. The chitin(as Glucosamine) amount examination in the each group at the ending culture of *Pleurotus eryngii* 1,200ml bottle.

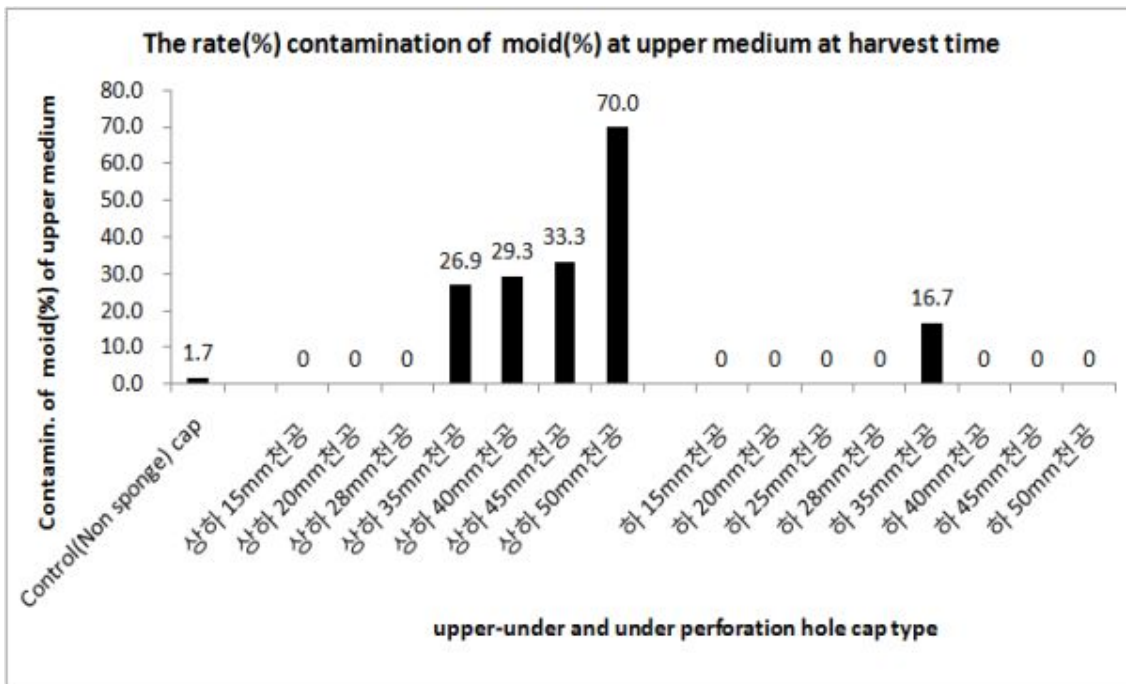


Fig. 8. The rate(%) Contamination of mold at upper medium at harvest time of *Pleurotus eryngii* 1,200ml bottle.

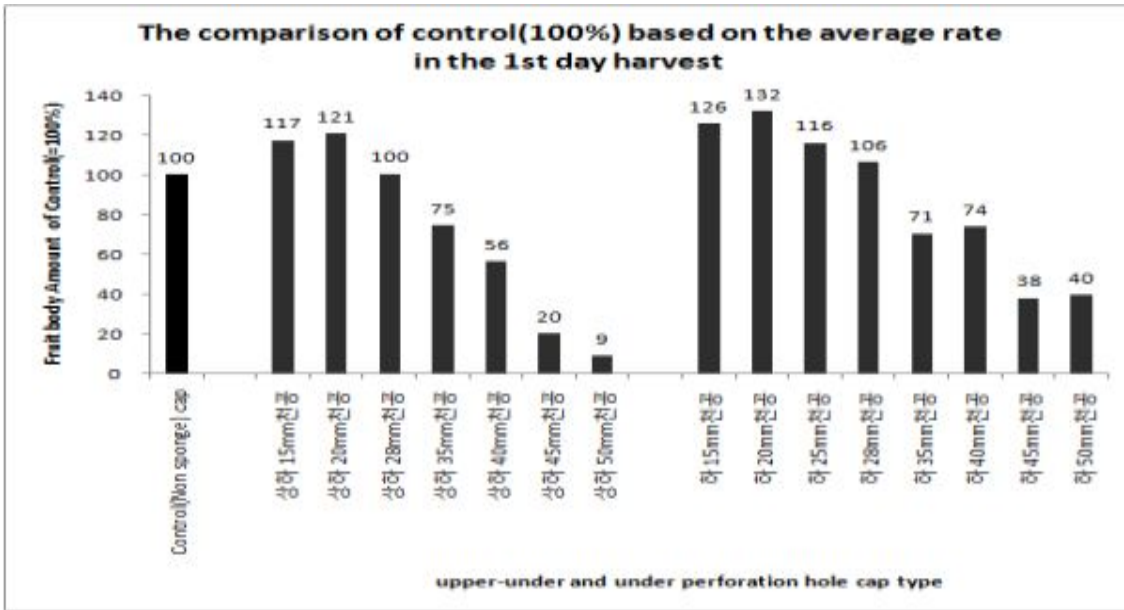


Fig. 9. The comparison of control(100%) based on the average rate in the cumulative harvest of *Pleurotus eryngii* 1,200ml bottle yield.

3. 팽이버섯에서의 뚜껑별 실험

가. 팽이버섯 850ml 병 재배

(1) 팽나무버섯 병 배양 중 이산화탄소 농도 측정

심 등(2012 c)의 방법에 따라 팽나무버섯 850cc병의 실험에서 얻어진 Fig. 2, Fig. 3에서와 같이 상하 천공 및 하 천공된 뚜껑을 사용하였을 경우 모두 통기구가 큰 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도는 낮게 검출된 반면 통기구가 작은 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도가 높게 검출되었고 하 천공 뚜껑에서보다는 상하 천공 뚜껑구에서 전반적으로 통기가 많이 이루어져 이산화탄소 농도의 검출량이 적었다. 이는 균사가 호흡 반응에 의하여 배출된 이산화탄소 농도이기는 하나 그 농도가 적게 검출되었다고 해서 균사의 호흡 반응이 적게 이루어진 것이 아니라 오히려 호흡 반응은 잘 이루어졌고, 통기구에서의 통기량이 양호하여 배양병 외부로의 배출이 잘 되었음을 의미하게 된다.

Fig. 4와 같이 통기구가 적은 뚜껑에서의 최대 이산화탄소 농도는 높은 농도로 검출되고 있었으며 누적된 이산화탄소 농도 또한 높게 검출되었다. 이는 호흡에 의하여 배출된 이산화탄소가 높다는 것은 상대적으로 호흡에 필요한 산소가 부족하다는 것이므로 호흡의 반응은 상대적으로 제약을 받게 되는 것을 의미하게 된다.

배양이 진행되면서 균사 배양기간 중에서도 특히 배양 대수기의 정점기간을 지나게 될 때에는 배양기의 내부는 제한된 산소량과 과도한 이산화탄소 량에 너무나 큰 영향을 받는다는 사실을 명심해야 한다.

(2) 팽나무버섯 재배방법에 의한 배지 수분의 영향

Fig. 5에서와 같이 상하 및 하 12mm천공, 16mm천공에서는 기존 무스폰지 뚜껑과 수분함량이 비슷하였고, 상하 및 하 23mm천공부터는 상부의 배지 수분량이 감소하였으며 상하 천공구에서 상대적으로 급격한 감소를 보였다. 이는 상하 천공구의 뚜껑은 얇은 스폰지(6-8mm)의 두께 만을 통과하게 되므로 수분이 통과할 때에 부하가 적었기 때문이다. 하 천공 뚜껑과 대조구 뚜껑에서는 비교적 수분의 감소량이 상대적으로 적게 감소하는 경향이였다. 상하 37mm, 41mm 와 같이 통기구가 과도하게 큰 천공구에서는 자실체의 초기 발이 불량인 문제가 되었다.

균사의 배양에서는 배양대수기에서의 호흡에 필요한 산소량의 부족문제와 배양기간(특히 배양후기) 동안에 배지상부에서의 과도한 수분 증발이 문제가 되는 것은 예비실험에서도 명백히

증명된 바 있다. 따라서 호흡에 필요한 산소의 공급과 상부배지에서의 과도한 수분 감소는 독립적인 변수가 아닌 복합적인 측면에서 항상 고려해 두어야 할 사항이었다.

(3) 팽나무버섯 시료의 화학적 특성

850cc병에서 뚜껑별 5종의 유리당 함량은 상하 천공에서는 33mm > 37mm > 29mm > 23mm > 16mm > 41mm > 14mm천공의 순으로 줄었으며 하 천공에서는 23mm > 29mm, 37mm > 41mm > 33mm, 16mm > 14mm천공의 순으로 줄었다. 상하 천공 뚜껑구에서 상대적으로 많은 양의 유리당이 검출되었는 바 이는 호흡기작에서 산소의 통기량이 많았다는 것과 맥락을 같이 하고 있다.

기존(스폰지 삽입) 뚜껑에 비하여 수분의 과도한 증발이 되지 않는다면 세포 내외(배지 및 균사체의 혼합체)에 축적되거나 효소작용으로 유리된 당이 많음을 의미하며 이는 균사의 밀도, 균사의 생리활성과 밀접한 관련이 있음을 의미하게 된다.

기존 뚜껑과 비교시 5종의 유리당의 함량은 상하 29~37mm천공에서 각각 15.8~19.9g/L로 높았고(Fig. 6). 상하 및 하 14mm천공에서 가장 적었다. 한편 균사배양 중의 호흡 기작이 양호하여 균사의 생리활성은 높았더라도 균상상부의 건조증상에 의하여 상부층의 균사세력이 약화되어 발이불량으로 이어지는 것에도 관심이 필요하다. 즉, 생육의 초발이는 균상의 배지 상부의 건조 상태에 따라서 자실체의 발이가 불량하였다.

상하 뚜껑 및 하 뚜껑별 Chitin 함량은 Fig. 7과 같이 상하 천공에서는 기존 뚜껑보다 상하 23mm천공에서 921mg/kg으로 가장 높고, 상하 29mm천공에서 815mg/kg으로 높았고, 하 천공에서는 하 16mm천공, 하 23mm천공, 하 29mm천공, 하 33mm천공에서 높게 나타났다. 키틴량 또한 호흡반응이 저조한 뚜껑인 통기구가 작은 곳에서 상대적으로 적었고 특히 통기구가 큰 상하 및 하 37mm천공, 상하 41mm천공에서 오히려 대조구에 비하여 저하되었는데 이는 균상상부의 극심한 건조증상에 의하여 산소공급을 제대로 하지 못한 결과라고 판단되었다. 특히 배지 깊숙한 곳에 있는 선단의 균사는 연쇄적으로 결합된 균사들의 세포를 통하여 산소를 공급 받아야 하지만 키틴량이 저하된 구에서는 이러한 생리기작이 원활하지 못한 결과로 균사의 밀도가 적었기 때문이다.

맥주효모균(*Saccharomyces cerevisiae*)의 세포벽 구성 성분 비율은 각각 글루칸, 만노단백질 그리고 키틴이 약 60%, 40%, 그리고 1%를 차지하고 있다(Cabib *et al.*, 2001). 이 중 키틴은 N-acetylglucosamine이 β -1,4 결합한 고분자 다당류로 세포벽을 구성하는 데 중요한 역할을 수행하고 있다(Smmits *et al.*, 1999)는 보고 내용에서와 같이 키틴 정량은 균사 세포벽을 이루는 다당류의 구성 성분이므로 이의 많고 적음은 균사의 밀도, 균사의 생리활성과 밀접한 관계에 있음이 입증되었다.

(4) 팽나무버섯 배양 후 생육 및 수확

본 연구의 최종 목적은 결국 자실체의 수량과 품질의 평가에 있다. 즉, 배양 기간 중에 원활한 호흡반응이 이루어지고 균상상부의 건조증상을 겪지 않는 구에서 품질과 수량이 좋은 것으로 판단되었다.

기존 뚜껑에 비하여 상대적으로 많은 차이가 나지 않았던 것은 기존 뚜껑도 통기가 비교적 잘되는 스폰지 삽입 뚜껑을 사용하였기 때문이다. 하지만 현재까지 사용되고 있는 뚜껑은 배양 중에 균사가 기벽을 타고 올라와서 뚜껑 속에 있는 스폰지에 침습되어 통기성이 떨어진 이후의 뚜껑사용에 문제가 된다.

실험에서의 대조구(스폰지 삽입 뚜껑)로 새 뚜껑을 사용하였음에도 불구하고 대조구+상하 20mm천공, 대조구+상하 25mm천공을 비롯하여 실험구의 상하 16mm천공, 상하 23mm천공, 그리고 하 12mm~하 23mm천공 실험구에서 대조구보다도 수량이 높게 나타났다. 이는 기존의 뚜껑보다도 통기 구조 및 스폰지의 종류에 따라서도 통기량은 다르다는 것이 본 실험으로 밝혀졌다.

본 연구(팽나무 850cc병)와 동일 조건이었던 1100cc 용량의 PP병의 분석에서도 균상 상부의 수분함량이 67.8-69.2%로 유지될 때에 발이에도 문제 없고, 수량이나 품질이 양호하였고, 장 (1976)의 결과에서 팽나무버섯 병재배에서 수분함량이 67-72%일 때 자실체 수량이 가장 높았다는 내용을 뒷받침 할 수 있는 결과이다.

균사 배양의 문제는 호흡 중의 과도한 이산화탄소 농도와 제한적인 산소 농도와 아울러서 또 하나의 주요 인자로 균상 상부의 수분이 중요하다. 이는 호흡반응의 화학 반응식[C₆H₁₂O₆ + 6O₂ → 6CO₂ + 6H₂O + Energy(kcal/mol)]에서 알 수 있듯이 반응식에 열거된 모든 인자(항목)의 것들이 독립적인 변수가 아니라 서로 연관되어 세포의 호흡 반응에 영향을 주는 것으로 판단된다.

생육 중간 시기에서 발이량이 많고 빨리 자란 자실체는 결국 수확 종점에서도 빨리 수확이 이루어질 뿐 만 아니라 품질도 양호하고 자실체 수량도 증가하는 것이 확인되었다. 통기가 불량한 구에서는 배양이 늦어졌고 이로 인하여 이후의 모든 과정에서 저해 현상을 겪었으며 수확이 종료되는 시점에서도 이러한 현상은 동일하게 유지되었다. 또한 통기량이 너무 크게 되면 걸보기 배양은 상대적으로 빨리 이루어 졌더라도 이후의 균상상부가 건조되어 자실체의 발이가 현저히 저하되었으며, 특히 자실체의 유효경수가 적게 나타나는 결과를 보였다.

통기구가 같은 상태에서는 상부 천공된 실험구에서는 특히 배양은 빨리 이루어졌다 하더라도 균상 상부의 건조 증상이 심하여 발이 불량으로 이어졌으며 하 천공구에 비하여 심각하였다. 따라서 전반적인 배양 조건상 하 천공구에서 선발된 뚜껑의 사용이 좋은 것을 판단하였으

며, 대조구와 비교하여 상하 16mm천공, 23mm천공 뚜껑구에서 6.1~10.7%의 증수와 하 12mm 천공, 16mm천공, 23mm천공에서 3.0~7.6%의 증가를 보였다. 상하 천공 33mm~41mm천공과 하 천공 37mm~41mm천공은 기존 뚜껑과 비교하여 각각 21.2~27.3%와 13.6%의 수량이 감소하였는데 통기구가 너무 크면 외부로 증발되어지는 수분량이 많아지게 되어 배지의 상부 표면에 존재하는 균사는 활력이 약해지거나 사멸하게 되어 수량이 감소된 것으로 판단되었다(Fig. 8).

분석에 의하여 나타난 바와 같이 생리기작이 원활하고 배지 상부수분의 과도한 증발을 방지하기 위하여 팽나무버섯 850cc 병에서의 뚜껑 통기구의 유형과 크기는 상하와 하 16mm천공, 상하 23mm천공의 통기구가 유용한 것으로 판단되었다.

(5) 팽이버섯 850ml 병 재배 적요

팽나무버섯 병재배(850ml)에서 배양기 내 통기성이 팽나무버섯의 균사생장과 버섯발생에 미치는 영향을 조사하였다. 배양병 내의 통기성은 배양병 뚜껑에서 천공의 상하 위치와 구경 크기로 조절하였고, 통기성 처리의 효과로는 배양병 내 이산화탄소 농도, 수분함량 변화, 키틴 함량, 유리당 함량, 자실체 발생량을 조사하였다. 팽나무버섯 균사배양 중 대수기 정점에서의 배양병 내 이산화탄소 농도는 대조구인 기존 스폰지삽입 뚜껑과, 천공 크기가 작은 뚜껑일수록 상대적으로 높았다. 팽나무버섯 균사 배양체 내 유리당 함량은 구멍 크기가 상하 33mm 천공된 뚜껑을 가진 병에서 가장 많았다. 키틴 함량은 상하 23mm천공한 뚜껑을 가진 병에서 가장 많았다. 한편 뚜껑에서 천공의 위치가 상하 양쪽이고 천공크기가 37mm~41mm인 배양병에서는 수분 감소가 많아 발이가 불량하고 자실체 생산량도 적었다.

결론적으로 팽나무버섯 병재배 용기 850ml pp병에서 최고의 수량을 나타낸 배양병에서의 뚜껑은 상하 천공으로 23mm 구멍과 하부만의 천공은 16mm 구멍을 내고 통기성 스폰지를 넣은 것으로, 이 때 자실체 생산량은 대조구보다 7.6~10.7% 증가하였다. 균사 배양의 문제는 세포 호흡 중의 과도한 이산화탄소 농도 및 제한적인 산소 농도의 실시간 해소와 균상 상부의 적절한 수분유지에 대하여 고려해야한다.

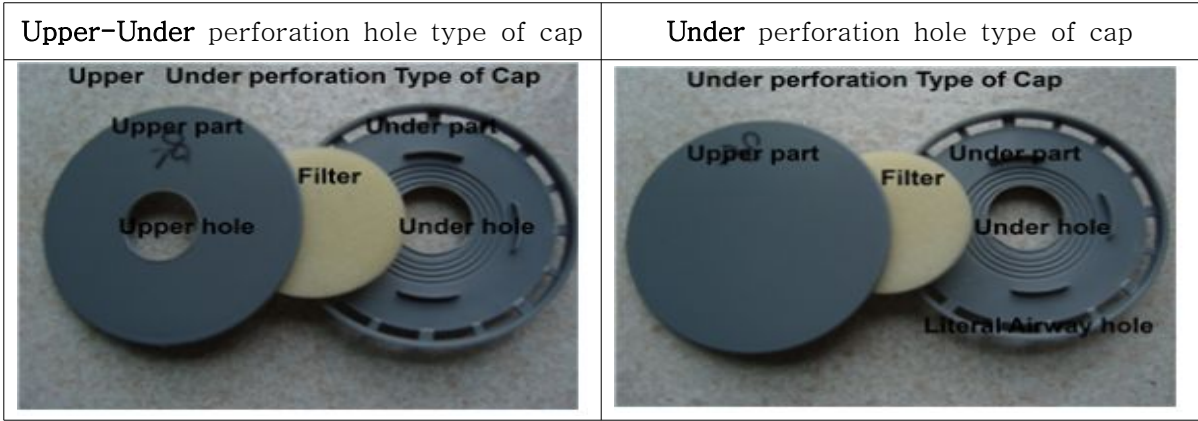


Fig. 1. Upper-Under and Under perforation hole type of cap.

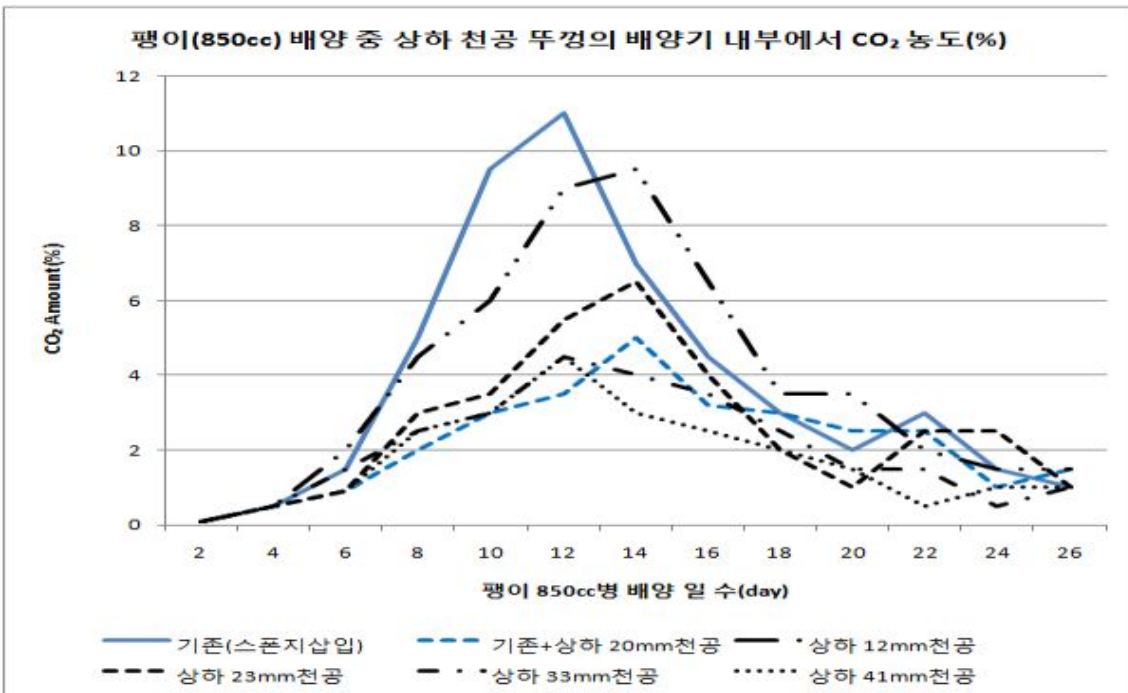


Fig. 2. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of upper-under perforation in the *Flammulina velutipes* 850ml bottle.

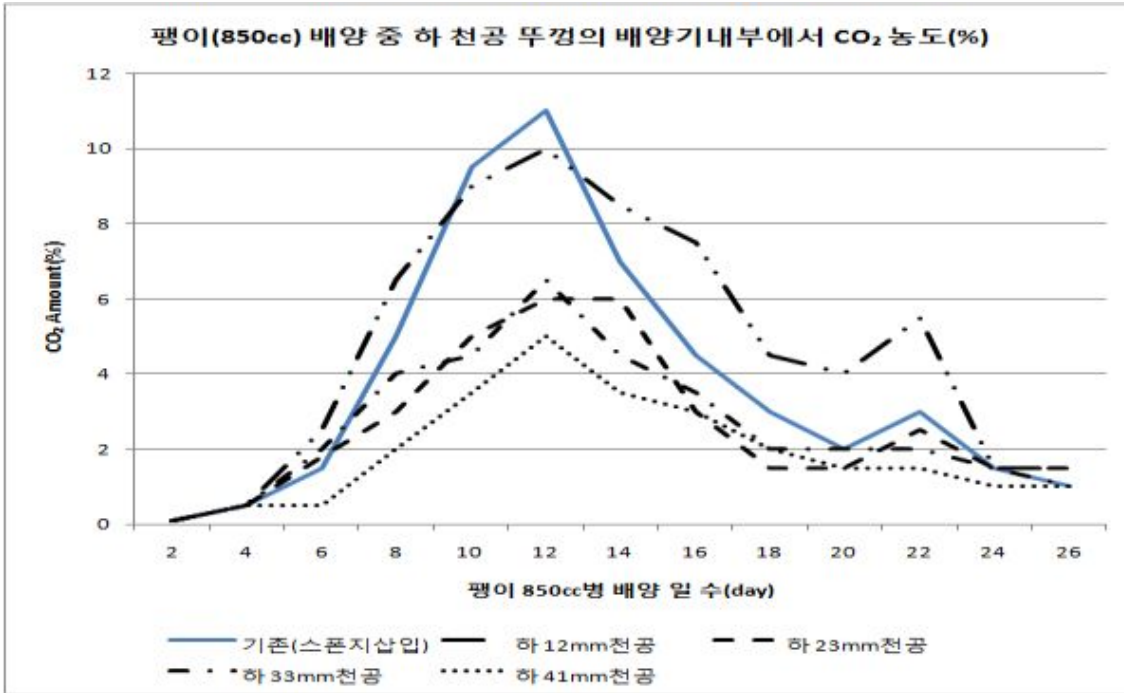


Fig. 3. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of under perforation in the *Flammulina velutipes* 850ml bottle.

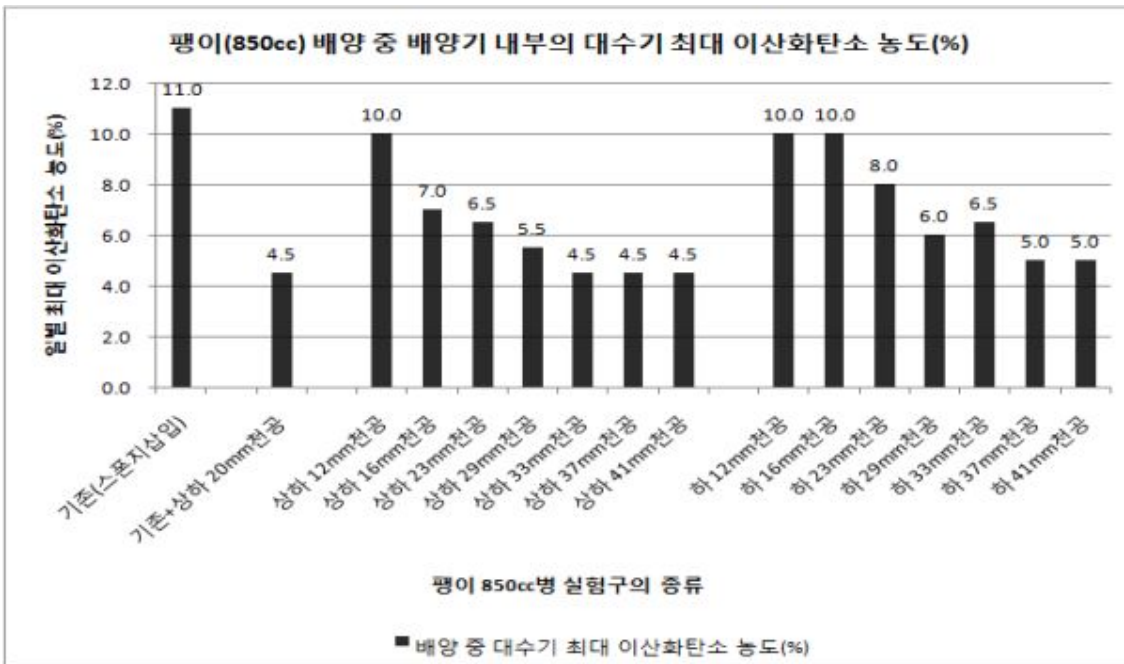


Fig. 4. The concentration of carbon dioxide of maximum peak in the inner the bottle culture during the aeration in the *Flammulina velutipes* 850ml bottle(%).

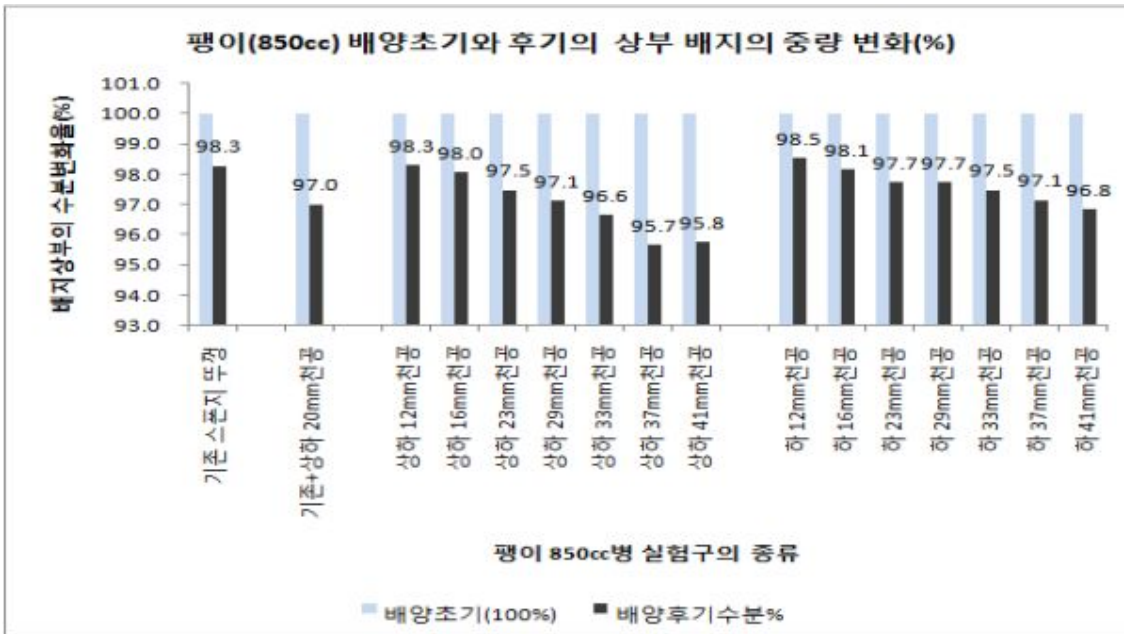


Fig. 5. The variation of culture medium weight per bottle of ending culture in the compared to the beginning culture of *Flammulina velutipes* 850ml bottle(%).

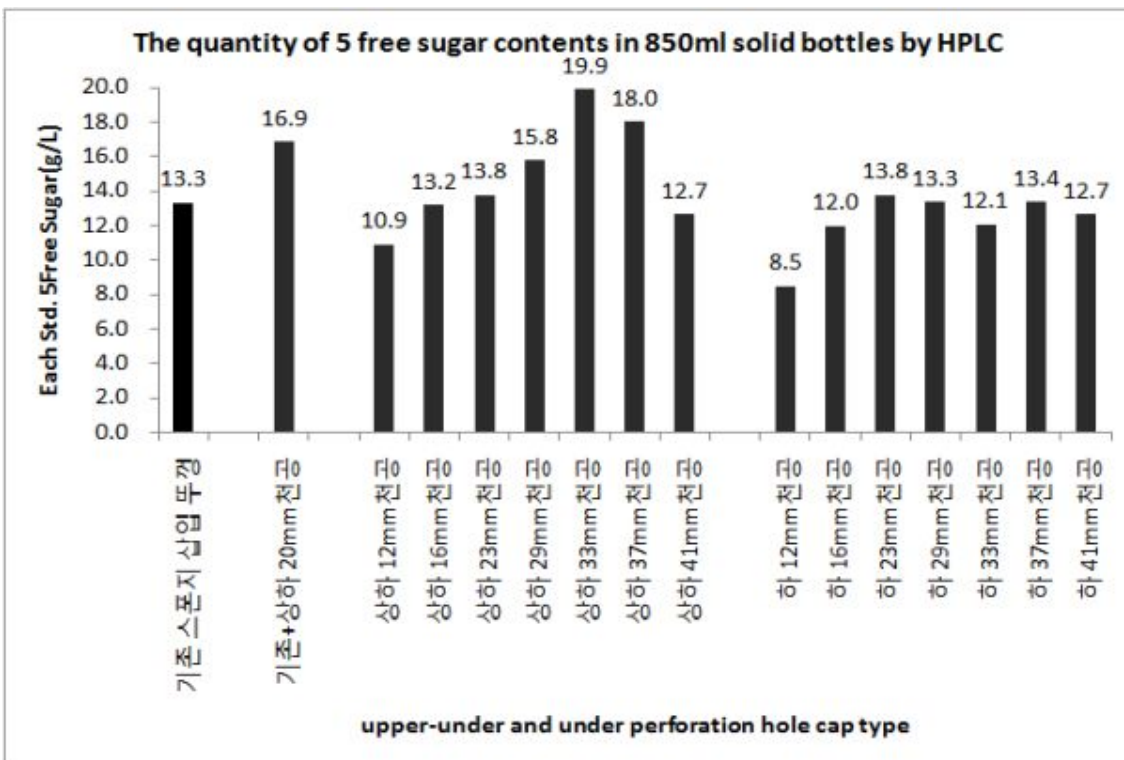


Fig. 6. The quantity of free sugar contents in *Flammulina velutipes* 850ml solid bottle by HPLC.

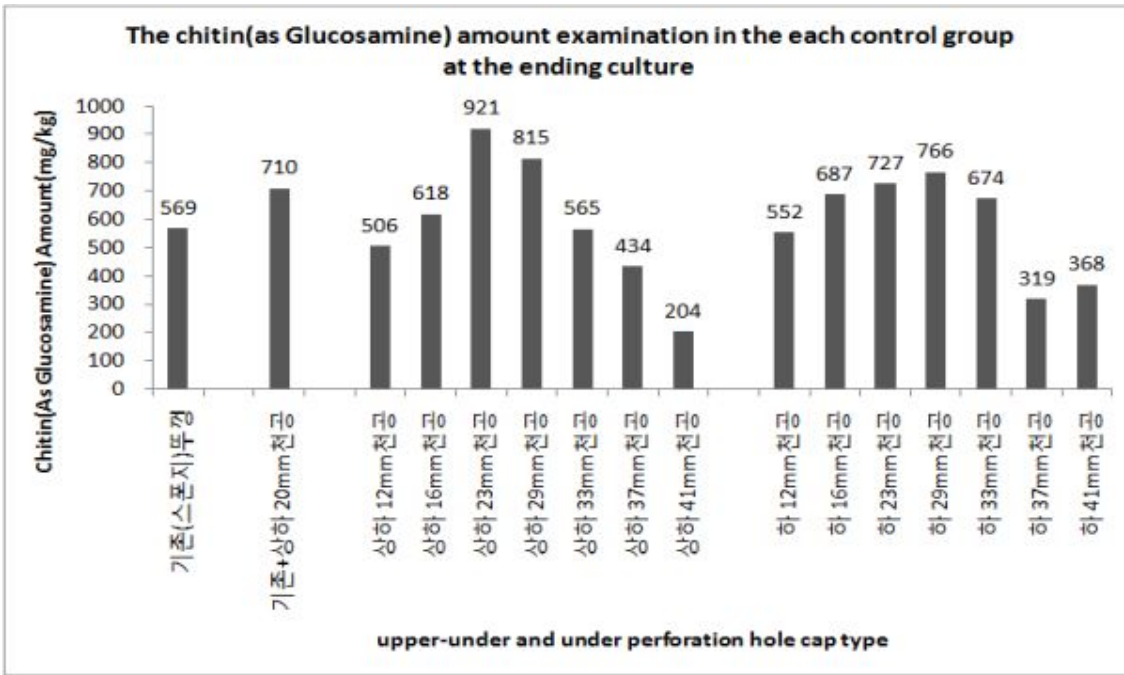


Fig. 7. The chitin amount examination in the each control group at the ending culture of *Flammulina velutipes* 850ml bottle.

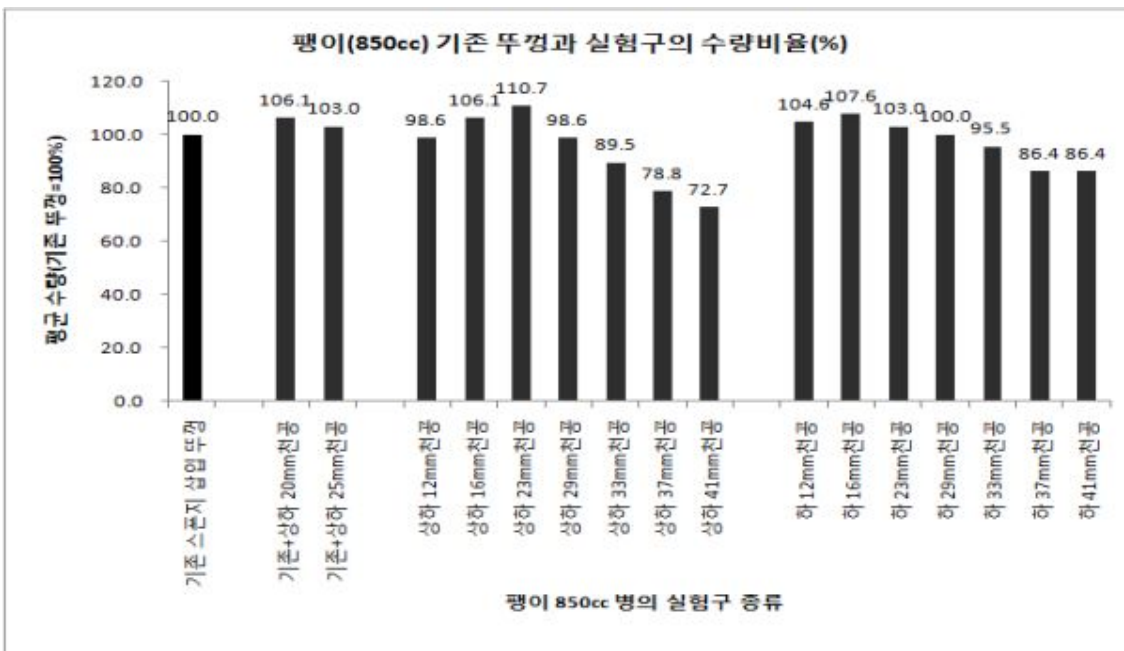


Fig. 8. The comparison of control group quantity based on quantity(100%) of existing cap of containing sponge of *Flammulina velutipes* 850cc bottle yield(The average rate in the first harvest).

나. 팽이버섯 1100ml 병 재배

(1) 팽나무버섯 병 배양 중 이산화탄소 농도 측정

팽나무버섯 1,100ml 병의 실험에서 얻어진 Fig. 2, Fig 3, 그리고 1,200ml 병의 Fig. 4에서와 같이 상하 천공 및 하 천공된 뚜껑을 사용하였을 경우 모두 통기구가 큰 구에서는 병 안에 존재하는 이산화탄소 농도는 낮게 검출된 반면 통기구가 작은 구에서는 농도가 높게 검출되었고 하 천공 뚜껑에서보다는 상하 천공 뚜껑 구에서 전반적으로 검출된 양이 적었다. Fig.9의 수량 결과에서와 같이 균사가 호흡 반응에 의하여 배출된 이산화탄소 농도이기는 하나 그 농도가 적게 검출되었다고 해서 균사의 호흡 반응이 적게 된 것이 아니라 오히려 호흡 반응이 잘 이루어졌으며 통기구에서의 통기량이 양호하여 배양병 외부로의 배출이 잘 되었음을 의미하게 된다. Fig. 5와 같이 통기구가 적은 뚜껑에서의 최대 이산화탄소는 높은 농도로 검출되고 있었으며 누적된 이산화탄소 농도는 높았다. 호흡에 의하여 배출된 이산화탄소가 높다는 것은 상대적으로 호흡에 필요한 산소가 부족하여 호흡의 반응은 상대적으로 제약을 받게 되는 것을 의미하게 된다. 배양이 진행되면서 균사 배양기간 중 특히 대수기 정점을 지날 때에 배양기 내부는 제한된 산소량과 과도한 이산화탄소 량에 큰 영향을 받게 된다.

(2) 팽나무버섯 재배방법에 의한 배지 수분의 영향

Fig. 6에서와 같이 상하 14mm, 19mm, 26mm 천공구 등에서 균상 상부의 수분 함량은 67.8~69.2%였고, 상하 천공 구에서 통기구가 커짐에 따라 급격한 감소를 보였으며, 상하 47mm 천공은 배지 상부 수분이 60.4% 현저히 감소되어 극심한 발이불량으로 이어졌다. 1,100ml의 하 천공과 1,200ml의 실험구에서는 대조구 뚜껑의 69.7% 보다는 낮았지만 통기구가 커지더라도 68.1~69.5%로 완만한 감소를 보였다. 팽나무버섯 병재배에서 수분함량이 67~72%일 때 자실체 수량이 높다는 장(1976)의 내용에서 배지수분의 내용은 거의 일치하였으나 특히 하 14mm 천공에서는 자실체 수량이 대조구에 비하여 84.0%로 낮았다(Fig.10). 이는 배지 상부 수분이 적정하더라도 균사 배양 중의 산소 부족에 의한 영향으로 수량이 16%나 감소되었는데 균상 상부의 수분 유지도 중요하지만 배양병 내부의 과도한 이산화탄소 농도와 제한적인 산소 농도가 중요함을 의미한다. 이는 호흡 반응식 $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{energy(kcal/mol)}$ 에서 알 수 있듯이 반응식에 열거된 모든 요인이 독립적인 변수가 아니라 서로 연관되어 반응 속도에 영향을 주는 것으로 판단되었다.

(3) 팽나무버섯 시료의 화학적 특성

1,100ml 병에서 5종의 유리당 함량은 상하 천공에서는 47mm > 42mm > 38mm > 33mm > 26mm

> 19mm > 14mm천공의 순으로 줄었으며 하 천공에서는 26mm > 33mm > 42mm, 38mm > 47mm, 19mm > 14mm천공 순으로 줄었다. 상하 및 하 14mm천공에서 가장 적었다. 기존 뚜껑과 비교시 상하 38~47mm천공에서 높았고, 하 26mm, 33mm천공구에서 높게 나타났다(Fig. 7) 하지만 균사 배양 중의 호흡기작은 양호하여 균사의 생리활성은 높더라도 균상 상부가 건조하여 발이가 불량하며, 균사 호흡기작으로 축적된 영양원이 많다 하더라도 초기 어린버섯발생은 균상 상부의 건조상태에 따라 발이에 영향이 있었다.

키틴은 균사의 세포막 구성성분으로 톱밥이나 첨가물 등 배지의 구성 성분에는 존재하지 않기 때문에 균체량의 개산치(概算値)를 알기 위하여 실제로 가장 넓게 사용하는 일반적인 방법이다(Matcham 등, 1985). chitin 함량은 맥주효모균(*Saccharomyces cerevisiae*)의 세포벽 구성 성분 비율은 각각 글루칸, 만노단백질 그리고 키틴이 약 60%, 40%, 그리고 1%를 차지하고 있다(Cabib *et al.*, 2001). 이 중 키틴은 N-acetylglucosamine이 β -1,4 결합한 고분자 다당류로 세포벽을 구성하는 데 중요한 역할을 수행한다(Smmits *et al.*, 1999)고 하였다. 본 연구에 의한 Fig. 8과 같이 키틴 함량은 1,100ml의 기존 뚜껑에 대하여 상하 26mm천공과 하 26mm천공 그리고 하 33mm천공에서 높았고, 상하 26mm천공구에서 가장 높았다. 상하 및 하 38mm천공구 이상에서는 오히려 기존 뚜껑보다 키틴량이 감소하였는데 이는 통기구가 커질수록 상부 균상이 건조되어 균사의 생리활성 등이 감소한 것으로 판단되었다. 하지만 상하 26mm천공과 하 26mm, 하 33mm천공 뚜껑에서는 대조구에 비하여 키틴량이 높아 배양 중의 호흡반응도 양호하고 수분증발도 억제하는 유용한 천공크기였다. 1,200ml는 대조구에 비하여 하 25mm천공 뚜껑에서 키틴 함량이 높게 나타나 통기성 배양조건이 균사세포의 밀도와 생리활성 등이 높아지는 것으로 판단되었다.

(4) 팽나무버섯 배양 후 생육 및 수확

생육 중간 시점에서 발이량이 많고 빨리 자란 자실체는 결국 수확 종점에서도 빨리 수확이 이루어질 뿐 만 아니라 품질도 양호하고 자실체 수량도 증가하는 것이 확인되었으며 자실체 수량은 상하 천공뚜껑에서 상하 14mm, 상하 19mm, 상하 26mm천공구에서 좋았고 하천공 뚜껑에서 하 19mm, 하 26mm, 하 33mm천공구에서 좋았다.(Fig.9)

1,100ml병 팽나무버섯 수량은 상하 천공 뚜껑에서 19mm > 14mm > 26mm > 33mm > 38mm >> 42mm > 47mm천공 순으로 수량이 적었으며, 하 천공 뚜껑에서 26mm > 33mm > 19mm > 38mm > 42mm > 47 >> 14mm천공 순으로 수량이 적었다. 1,100ml병 채배에서 기존 무스폰지 뚜껑의 수량과 비교하여 상하 14mm~26mm천공구에서 수량이 6~9% 증가하였고, 하 19mm~33mm천공구에서 수량이 6~8% 증가하였다. 상하 42mm, 47mm천공구는 기존 뚜껑과 비교하여 24~26%의 큰 수량 감소는 통기구가 너무 크게되어 외부로 증발되는 수분량이 많아 배지의 상부 표면에 존재하는

균사는 활력이 약해지거나 균사의 생리활성이 저하된 원인으로 판단되었다. 한편 하 14mm천공구에서는 23%로 높은 수량의 감소를 보였는데 이는 상부수분이 유지(Fig.6)되었음에도 불구하고 배양대수기에 통기부족에 의한 호흡반응의 저하 문제로 판단되었다.

1,200ml병 재배에서도 기존 무스폰지 뚜껍의 수량을 기준으로 할 때보다는 하부 25mm천공구에서 12% 수량이 높게 나와 배지상부수분의 적절한 유지와 통기개선의 효과가 있었다(Fig. 9).

본 실험에 최적인 통기구의 뚜껍 선발 결과는 1,100ml병에서 상하 14mm~26mm천공 뚜껍과 하 19mm~33mm천공 뚜껍으로 나타났고 1,200ml의 하 25mm천공구는 유용하였다.

(5) 팽이버섯 1100ml 병 재배 적요

팽나무버섯 병재배(1,100ml)에서 배양기 내 통기성이 팽나무버섯의 균사생장과 버섯발생에 미치는 영향을 조사하였다. 배양병 내의 통기성은 배양병 뚜껍에서 천공의 상하 위치와 구경 크기로 조절하였고, 통기성 처리의 효과로는 배양병 내 이산화탄소 농도, 배지 수분함량 변화, 키틴 함량, 유리당 함량, 자실체 수량을 조사하였다.

팽나무버섯 균사배양 중 대수기 정점에서의 배양병 내 이산화탄소 농도는 대조구인 비통기성 무스폰지 뚜껍과, 천공 크기가 작은 뚜껍일수록 상대적으로 높았다. 팽나무버섯 균사 배양체 내 유리당 함량은 구멍 크기가 상하 47mm천공된 뚜껍을 가진 병에서, 그리고 구멍 크기가 하 26~33mm 천공 뚜껍을 가진 병에서 가장 많았다. 키틴 함량은 26mm 크기의 구멍을 하부에만 천공한 뚜껍을 가진 병에서 가장 많았다. 한편 뚜껍에서 천공의 위치가 상하 양쪽이고 천공크기가 42mm~47mm인 배양병에서는 수분 감소가 많아 발이가 불량하고 자실체 생산량도 적었다.

결론적으로 팽나무버섯 병재배 용기 1,100ml 병에서 최고의 수량을 나타낸 배양병에서의 뚜껍은 상하 19mm천공 구멍과 하 26mm천공과 통기성 스폰지를 넣은 것으로, 이 때 자실체 생산량은 대조구보다 6~9% 증가하였다.

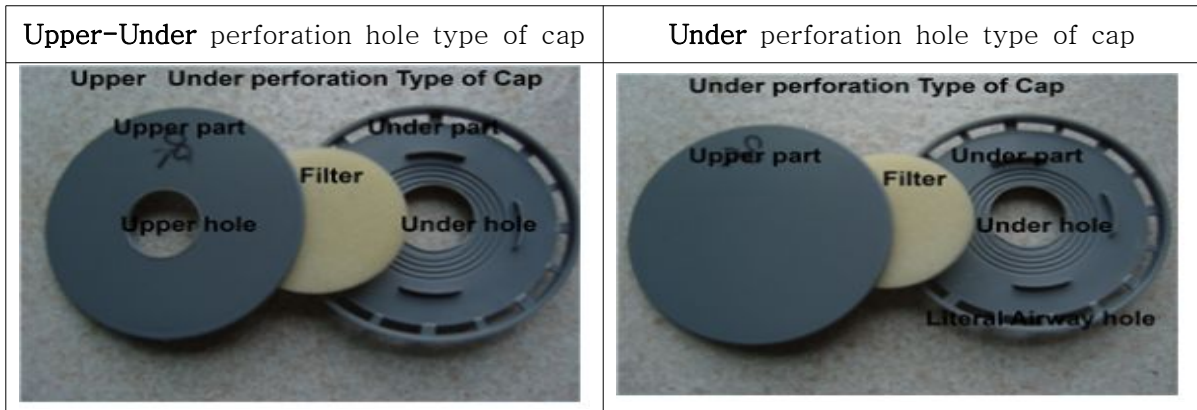


Fig. 1. Upper-Under and Under perforation hole type of cap.

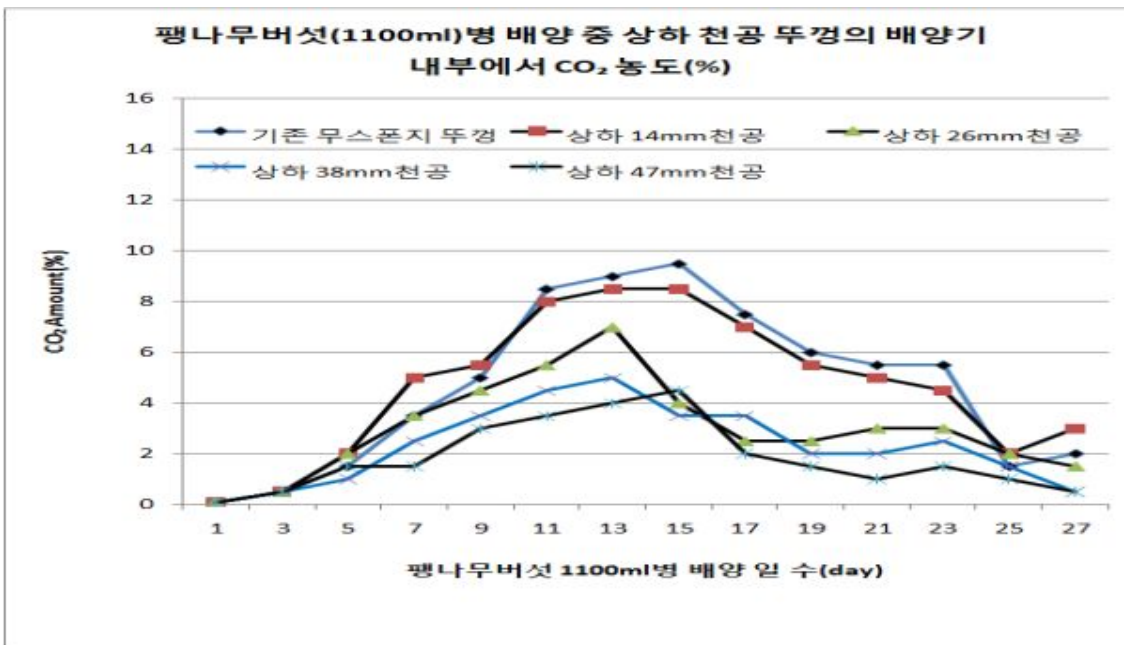


Fig. 2. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of upper-under perforation hole in the *Flammulina velutipes* 1,100 ml bottle.

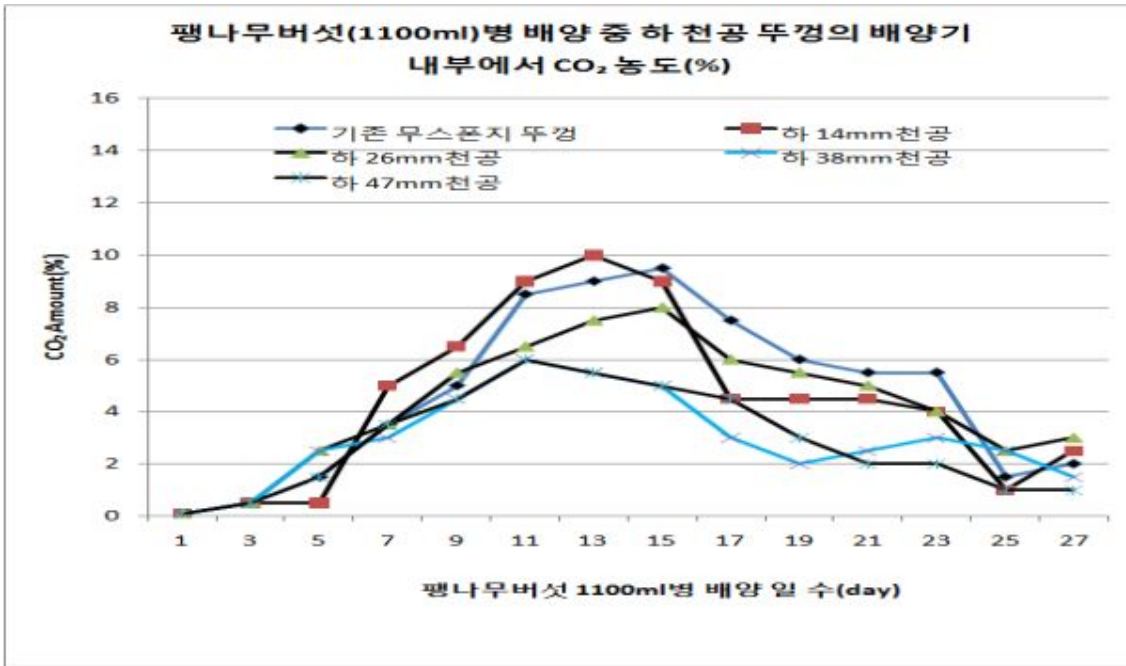


Fig. 3. The summary that some of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture of under perforation hole in the *Flammulina velutipes* 1,100ml bottle.

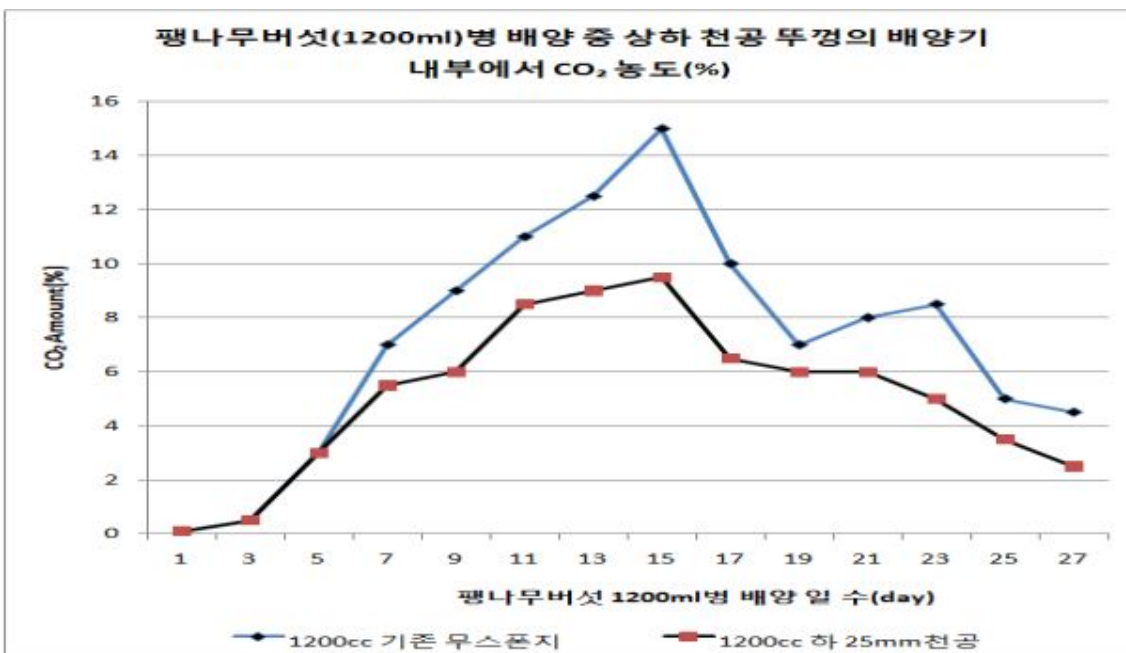


Fig. 4. The concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture during the aeration, in the existing (non sponge) cap of the *Flammulina velutipes* 1,200ml bottle and under perforation hole of 25mm(%). CO₂

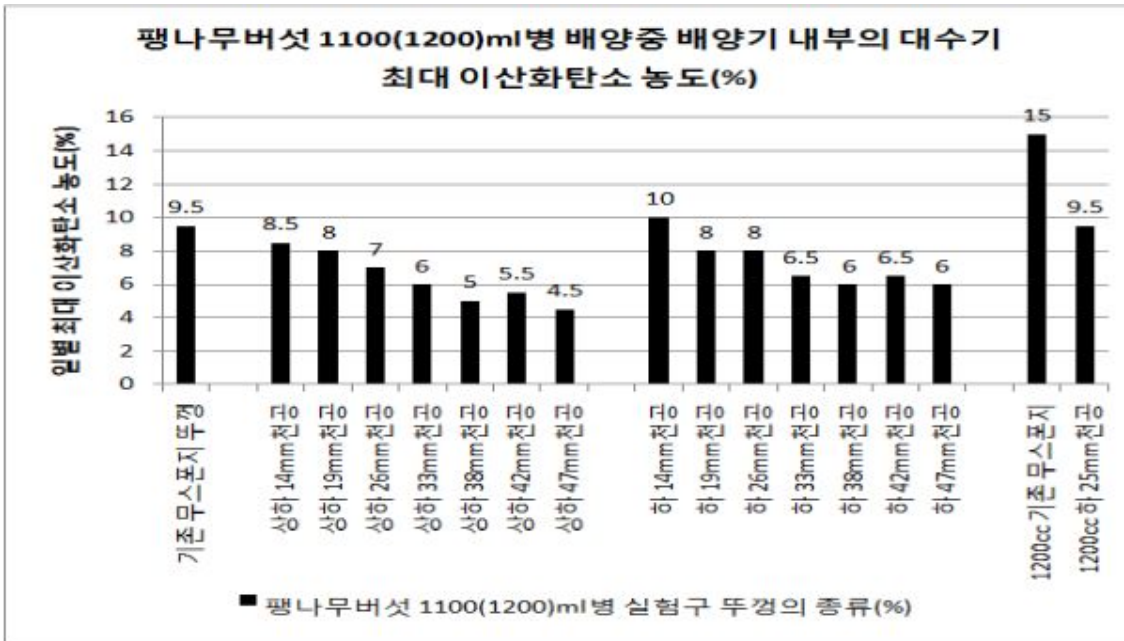


Fig. 5. The concentration of carbon dioxide of maximum peak in the inner the bottle culture during the aeration in the *Flammulina velutipes* 1,100(1,200)ml bottle(%).

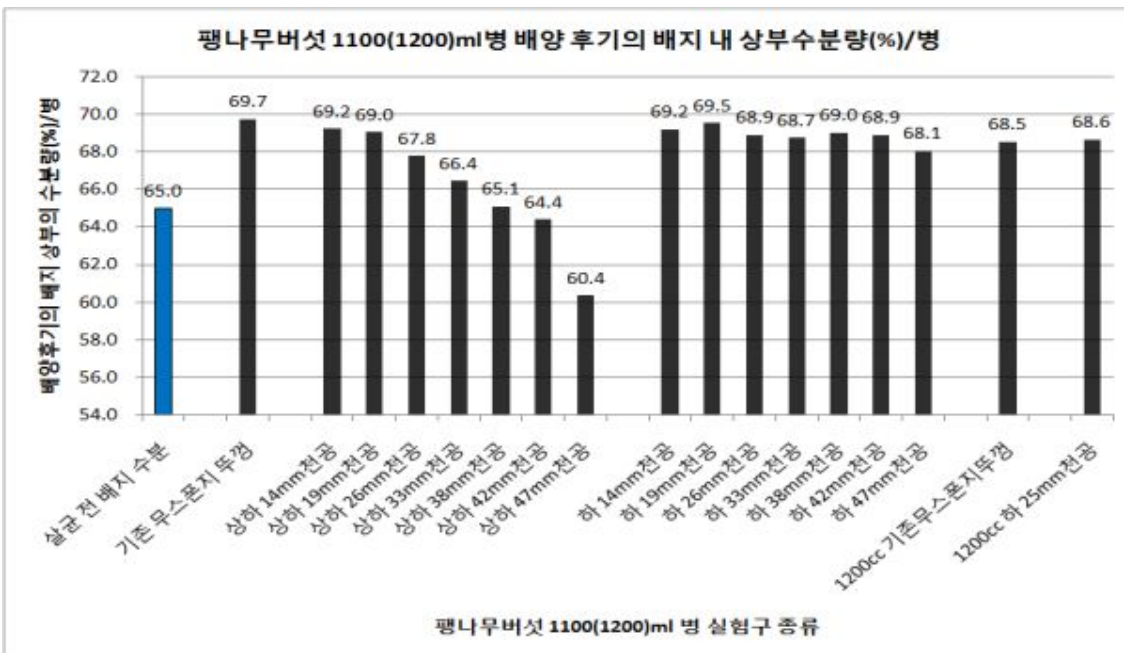


Fig. 6. The average moisture of upper medium bottle in the incubator after ending of culture of *Flammulina velutipes* 1,100(1,200)ml bottle(%).

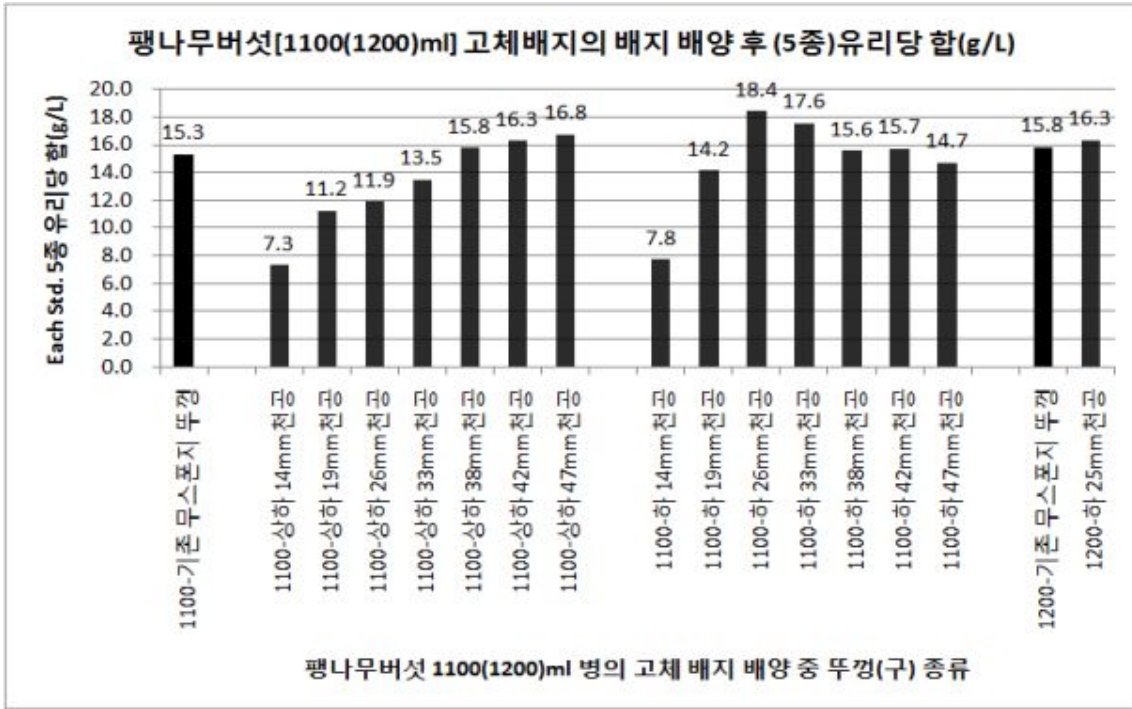


Fig. 7. The quantity of free sugar contents in *Flammulina velutipes* 1,100(1,200)ml, solid bottle by HPLC.

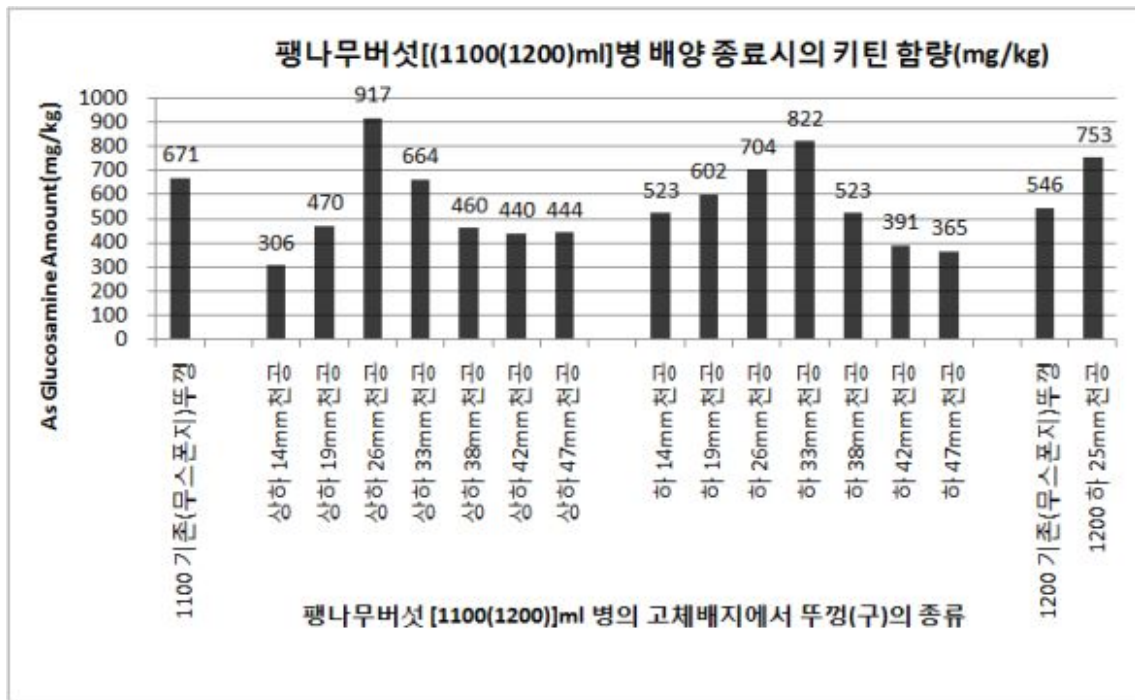


Fig. 8. The chitin(as Glucosamine) amount examination in the each group at the ending culture of *Flammulina velutipes* 1,100(1,200)ml bottle.

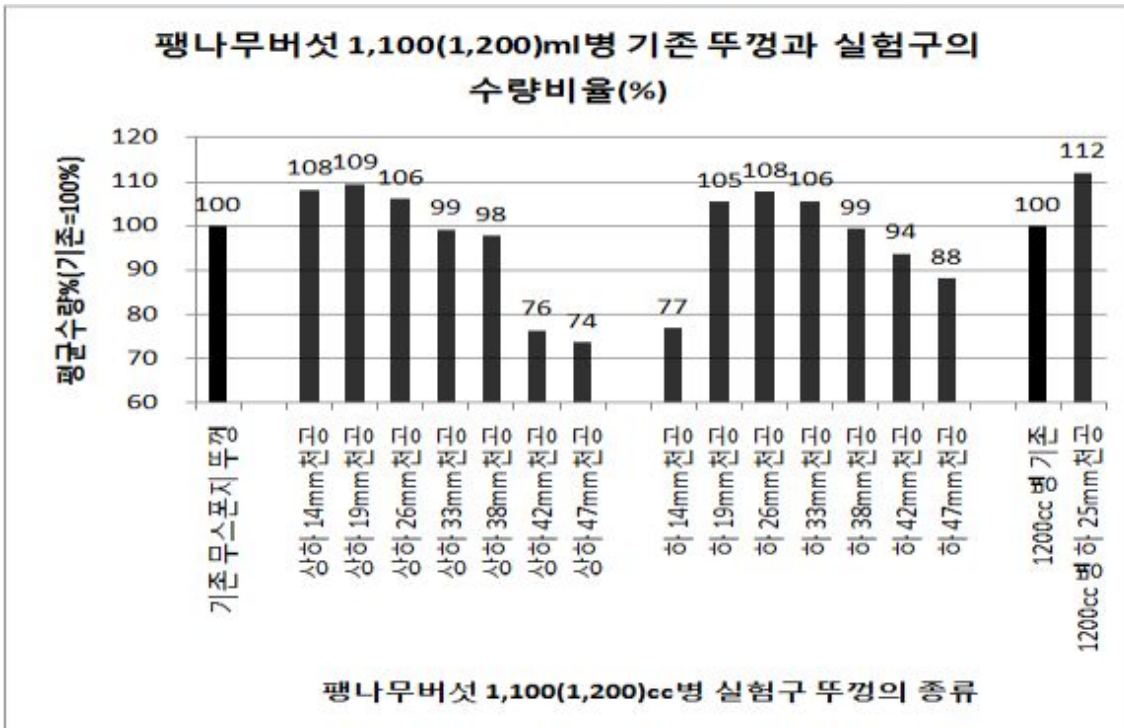


Fig. 9. The comparison of control(100%) based on the average rate in the cumulative harvest of *Flammulina velutipes* 1,100(1,200)ml bottle yield.

4. 표고버섯에서의 뚜껑별 실험

가. 표고버섯 액체종균에 의한 표고버섯 1.2kg & 2.5kg 봉지 재배

(1) 표고버섯 봉지 배양 중 이산화탄소 농도 측정

Fig. 7-1에서 보는 바와 같이 오래된 톱밥(별채 후 2년째의 원목)에서의 활착을 확인한 바에 의하면 액체종균을 사용하여 접종하였다 하더라도 다음날의 활착은 잘 되었으므로 표고에서의 액체종균의 사용은 문제가 없었다.

본 연구에 사용된 뚜껑의 종류는 Fig. 1과 같이 기존의 영지용(코튼볼 삽입, 직경 15mm*깊이 15mm) 뚜껑과 기존 깎지형(숨마개 삽입, 직경 27mm* 깊이 30mm)의 것과 봉지 중간에 직경 50mm의 필터가 2장부착된 유형의 것을 사용하였고 상하 또는 하 천공된 유형의 뚜껑을 사용하였다.

표고봉지 1.2kg 봉지배지에서 Fig. 2, Fig. 3과 2.5kg 봉지배지에서 Fig. 4과 같이 상하 천공 및 하 천공된 뚜껑을 사용하였을 경우 모두 통기구가 큰 구에서는 봉지 안에 존재하는 이산화탄소 농도는 낮게 검출된 반면 통기구가 작은 구에서는 이산화탄소 농도가 높게 검출되었다. Fig. 4와 같이 통기구가 적은 뚜껑에서의 누적된 상대적인 이산화탄소 농도는 높았다. 한편 1.2kg 봉지의 대조구로 기존 영지용 뚜껑과 기존 숨마개(직경 27mm*깊이 30mm)에서는 상대적으로 누적량도 낮았는데 이는 기본적으로 배양봉지 내에 생성된 이산화탄소 농도 영향과 뚜껑에서의 통기부족에 의한 산소 부족으로 균사의 호흡반응이 지연된 경우라고 판단되었다.

Zadrazil(1975)은 영양원 배지에서 산소의 감소와 균사 성장사이의 관계를 확인한 바 있으며 공기와 혼합된 전체의 이산화탄소 농도가 16%와 22% 사이에서 3품종의 표고의 균사 생육에 최적 상태라고 하였지만 이들의 실험은 접종 5일 후의 짧은 기간 동안에 균사의 증식된 직경의 비교이고, 공기와 이산화탄소 농도와의 혼합 비율이었으므로 위와 같은 조건의 호흡공기의 조성에는 이산화탄소 농도가 16%와 22%이더라도 이 조성 중에는 여전히 산소는 존재하는 상태였으며, 봉지 재배에서의 3차원적인 공간이 아닌 페트리 디쉬의 단면적에서의 비교를 한 결과였다. 하지만 본 연구는 접종 후 가장 많은 호흡반응이 진행되는 배양 중간 시기에서의 관점이고 3차원적인 배양용기 내부에서의 왕성한 호흡반응 뿐만 아니라 수확까지를 검토한 점에서 차이가 있다. Sung 등(1999)은 느타리버섯 균사 성장을 위해 이산화탄소 농도를 15% 이하가 좋다 하였고 본 연구에서도 균사 배양 중의 이산화탄소 농도는 낮을수록 좋은 것으로 판단되었지만 과도한 이산화탄소 배출될 때에 배지의 수분이 과도한 손실까지도 염두에 두어야 할 것으로 판단하였다.

이처럼 호흡에 의하여 배출된 이산화탄소가 높다는 것은 상대적으로 호흡에 필요한 산소가 부족하다는 것이므로 호흡의 반응은 상대적으로 제약을 받게 되는 것을 의미하게 된다. 배양이

진행되면서 균사 배양기간 중에서도 특히 배양 대수기의 정점기간을 지나게 될 때에는 배양기의 내부는 제한된 산소량과 과도한 이산화탄소 량에 너무나 큰 영향을 받는다는 것이 입증되었다.

(2) 표고버섯 1.2kg 봉지 재배에서 배지 수분 측정 및 배양 후기에서의 균사의 겉보기 평가

상하 천공구 뚜껑에서 통기구가 커짐에 따라 수분 감소량이 많았고 하 천공구 뚜껑에서 통기구가 커짐에 따라 완만하게 감소되었다(Fig. 6). Fig.7에서와 같이 또 통기구가 작은 실험구와 기존의 대조구에서는 배양대수기에서의 호흡에 필요한 산소부족으로 균사의 축적량은 적게 나타났다. 상하천공 실험구에서 통기구가 작아도 배양이 느렸으며, 통기구가 과도하게 커도 균사의 축적량은 적었다. 이는 배지 깊숙이 진행되는 균사의 호흡반응은 결국 표면의 균사로부터 산소를 공급받아야 하는데 수분의 과도한 증산으로 균사의 세력이 약화된 원인으로 판단되었다. 1.2kg에서의 겉보기 균사의 배양은 상하 20mm~상하 32mm천공에서 균사밀도가 높았고, 하 25mm~하 45mm천공 뚜껑구에서 균사밀도가 각각 높았다(Fig. 7-2).

세포호흡은 기본적으로 호흡 반응[$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy(kcal/mol)}$]과 같이 각각의 열거된 항목이 독립적인 변수가 아니라 서로 연관되어 균사의 배양에 영향을 주는 것을 인식해야 한다.

(3) 표고버섯 시료의 화학적 특성

1.2kg배지에서 뚜껑별 5종류 유리당 함량은 상하 천공에서는 32mm > 29mm > 36mm, 25mm > 20 > 45mm, 15mm > 55mm, 10mm >> 5mm천공의 순으로 줄었으며 1.4~2.9 g/L 로 비교적 큰 차이를 나타내었고, 하 천공에서는 통기구가 커질수록 지속적으로 많아졌으며 변화량이 2.1~3.1g/L 로 비교적 적었다. 2.5kg배지에서는 상하 20mm에서 가장 높은 2.9g/L였고 1.2kg에 비하여 상대적으로 유리당의 함량이 낮았다. 이는 배지량이 2배량이고 접종량도 2배로 하였다 하더라도 통기량에서의 호흡반응에 필요한 산소의 부족이 원인일 것으로 판단되었다. 대조구의 모든 구에서 중간정도의 유리당이 분석되어 역시 통기부족의 원인으로 대사에 영향을 준 것으로 판단되었다(Fig.8).

맥주효모균(*Saccharomyces cerevisiae*)의 세포벽 구성 성분 비율은 각각 글루칸, 만노단백질 그리고 키틴이 약 60%, 40%, 그리고 1%를 차지하고 있다(Cabib *et al.*, 2001). 이 중 키틴은 N~acetylglucosamine이 β ~1,4 결합한 고분자 다당류로 세포벽을 구성하는 데 중요한 역할을 수행(Smmits *et al.*, 1999)하고 있으며, 균사체량의 많고 적음은 버섯배양에서의 지표가 될 수 있다. 키틴 함량은 상하 32mm천공에서 245mg/L, 하 32mm천공에서 305mg/L로 가장 높았다. 유리당 함량에서와 같이 2.5kg배지에서는 상대적으로 키틴의 함량이 낮았고 상하 45mm에서 가장 높

은 190mg/L을 나타내었다. 이 또한 배양기간 동안에 배지가 커지면 배양효율이 떨어지는 것으로 판단되었다. 통기가 부족하거나 과도한 통기구에서는 오히려 키틴량이 감소하였는데 배지가 건조되어 균사의 생리활성이 감소한 영향으로 판단되었다. 비록 느타리버섯의 경우에서의 비교이기는 하나 이 등(2002)은 1.5kg의 배지 중량이 최적이었다는 것은 균사 배양의 입장에서는 같은 유형을 나타내었다. 하지만 배양기간이 길고 갈변 등의 절차를 거쳐서 이루게 되고 여러 주기에서 수확이 가능한 표고의 특성에서는 생육관리에서의 문제점 등으로 인한 수확량의 문제와 함께 결부되어 배지의 적절한 크기에 대하여는 아직도 논의할 가치가 있다.

(4) 표고버섯 배양 후 생육 및 수확

이 등(2002)은 느타리 버섯의 효율적인 봉지 직경이 10~14cm, 배지량 800~1200g/봉지 내외로 추정된 바 있어 이를 기준으로 한 본 연구는 봉지 직경 13cm와 습배지 중량을 1.2kg 과 2.5kg으로 설정하였다.

수량은 상하 천공 뚜껑에서는 점진적으로 증가하다가 감소하였고 하 천공 뚜껑에서도 점진적으로 증가하였다. 배양기간이 비교적 긴 품종이므로 수분의 유지가 좋았던 하 천공 뚜껑구에서 많이 증가되었으며 1.2kg배지에서 대조구에 비하여 상하 32mm천공에서 111%, 하 36mm천공 뚜껑구에서 134%로 가장 많은 수량을 보였고, 2.5kg에서는 대조구에 비하여 상하 32mm, 36mm에서 166%로 수량이 가장 높았다. 배양시점까지는 2.5kg의 배지에서 배양 효율이 떨어졌었지만 여러 주기에서 수확할 때에 비닐을 벗겨서 생육을 하였으므로 생육의 기간 동안에 산소와의 충분한 접촉으로 인하여 2.5kg배지에서의 수율이 높았던 것으로 판단되었다. 따라서 균사 배양에서는 배양 대수기에서의 효율성으로는 배지가 작아야하지만 생육관리 차원에서는 배지의 1.2kg보다는 2.5kg 중량으로 큰 것이 유리할 것으로 판단되었다. 2.5kg의 대조구 중의 하나인 봉지 중간에 50mm의 필터 2장을 사용한 구에서는 비교적 수량이 좋았지만 상하 32mm와 상하 36mm에는 미치지 못하였다.

(5) 액체종균에 의한 표고버섯 1.2kg & 2.5kg 봉지 재배 적요

표고버섯 봉지재배 1.2kg와 2.5kg에서 배양기 내 통기성이 표고버섯의 균사생장과 버섯발생에 미치는 영향을 조사하였다. 배양봉지 내의 통기성은 배양봉지 뚜껑에서 천공의 상하 위치와 구경 크기로 조절하였고, 통기성 처리의 효과로는 배양봉지 내 이산화탄소 농도, 수분함량 변화, 총질소(T-N), 키틴 함량, 유리당 함량, 자실체 발생량을 조사하였다.

표고버섯 균사배양 중 대수기 정점에서의 배양봉지 내 이산화탄소 농도는 대조구인 비통기성 무스폰지 뚜껑과, 천공 크기가 작은 뚜껑일수록 상대적으로 높았다. 표고버섯 균사 배양체 내 유리당 함량은 구멍 크기가 47mm로 상하로 천공된 뚜껑을 가진 봉지에서, 그리고 구멍 크기

가 26~33mm로 하부만 천공 뚫경을 가진 봉지에서 가장 많았다. 키틴 함량은 26mm 크기의 구멍을 하부에만 천공한 뚫경을 가진 봉지에서 가장 많았다. 한편 뚫경에서 천공의 위치가 상하 양 쪽이고 천공크기가 42mm~47mm인 배양봉지에서는 수분 감소가 많아 발이가 불량하고 자실체 생산량도 적었다.

결론적으로 표고버섯 봉지재배 용기 1.2(2.5)kg pp봉지에서 최고의 수량을 나타낸 배양봉지에서의 뚫경은 상하 천공으로 19mm 구멍과 하부만의 천공은 26mm 구멍을 내고 통기성 스폰지를 넣은 것으로, 이 때 자실체 생산량은 대조구보다 6~9% 증가하였다.



Fig. 1. Existing cap type and New experimental cap type & Upper-Under and Under perforation hole type of cap.

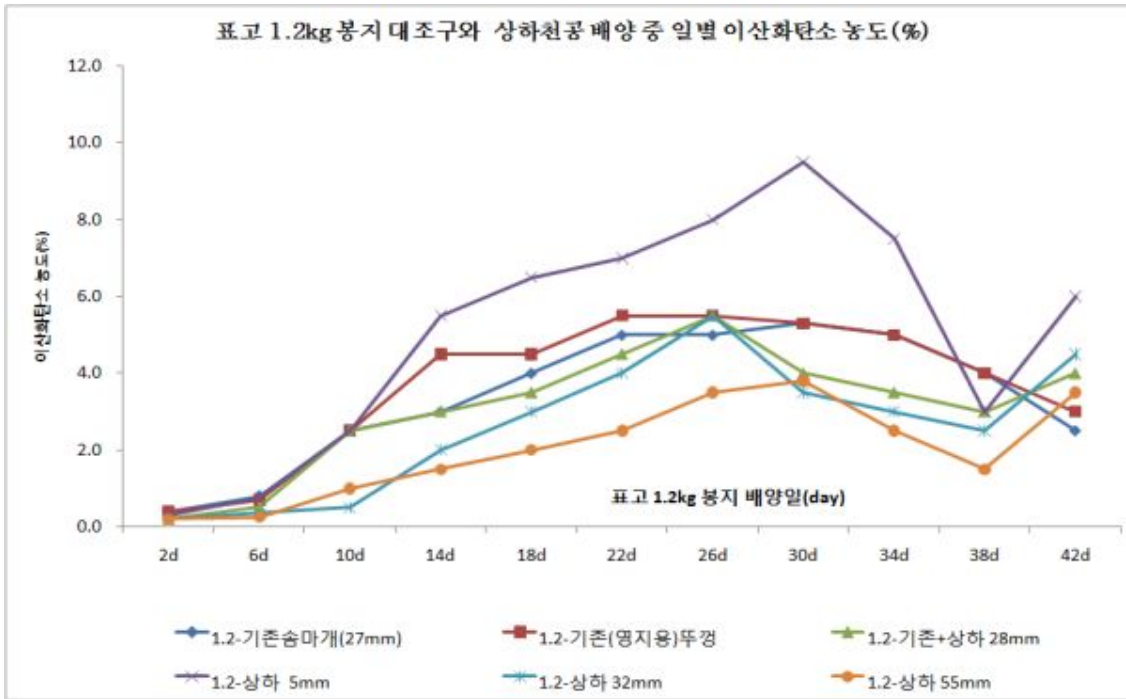


Fig. 2. The summary that 3type of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bag culture of upper-under perforation hole in the *Lentinus edodes* (Berk.) 1.2kg bag.

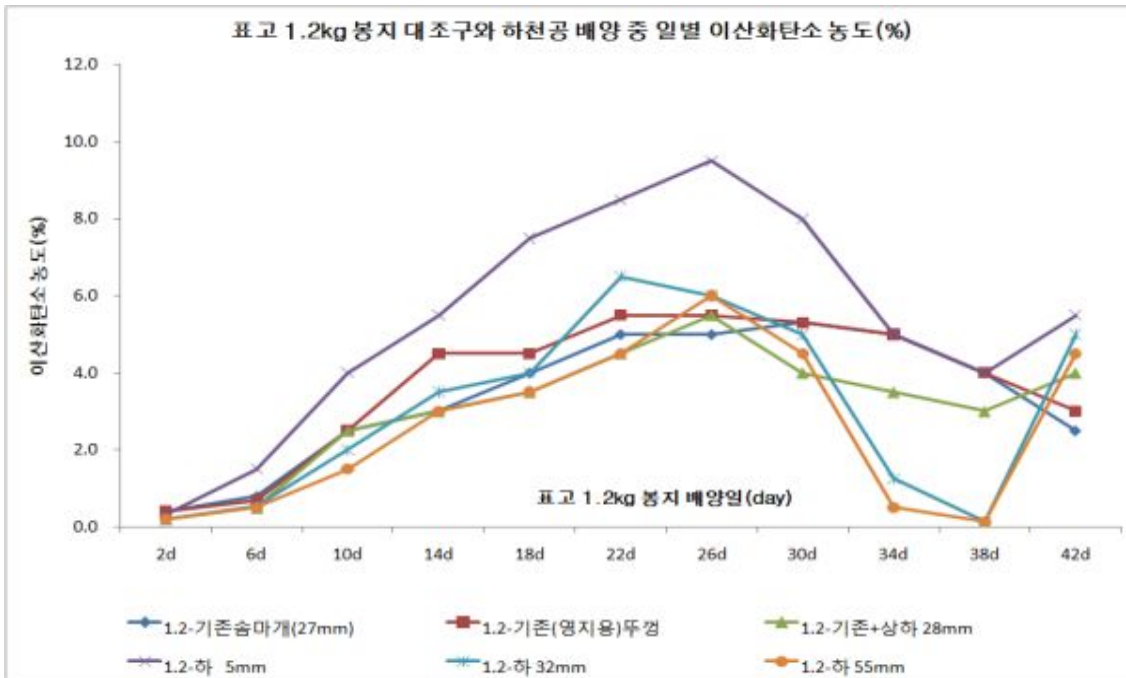


Fig. 3. The summary that 3type of control group about that concentration of carbon dioxide in the inner the bag culture of under perforation hole in the *Lentinus edodes* (Berk.) 1.2kg bag.

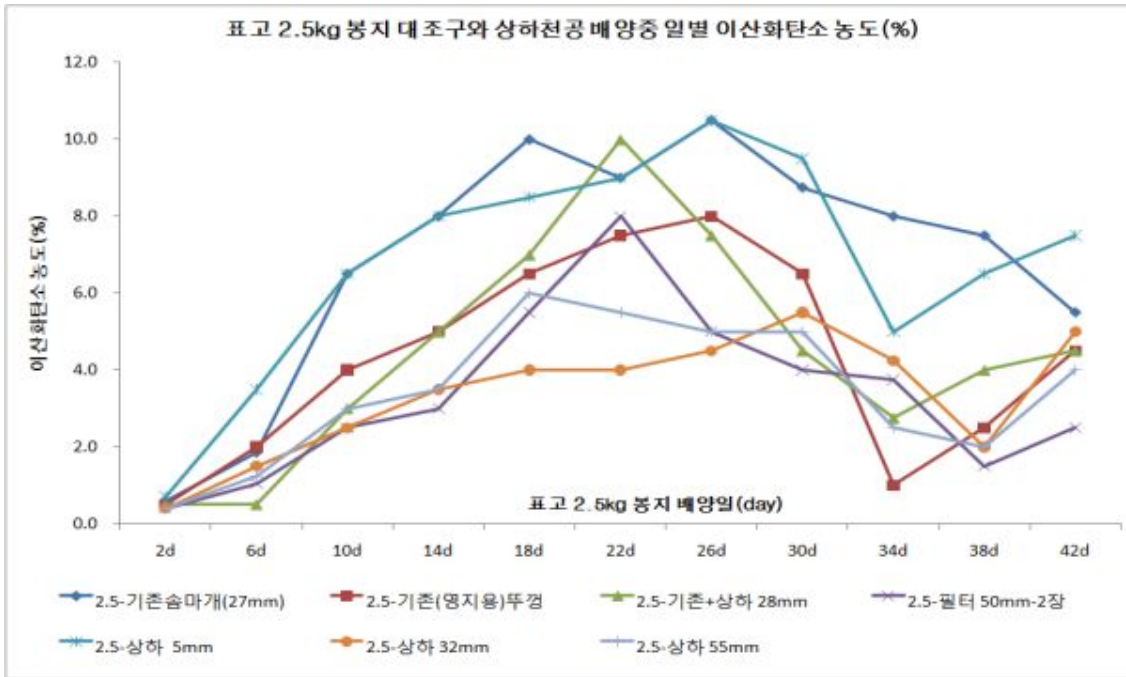


Fig. 4. The concentration of carbon dioxide in the inner the bottle culture during in the existing 3cap of the *Lentinus edodes* (Berk.) 2.5kg bag.

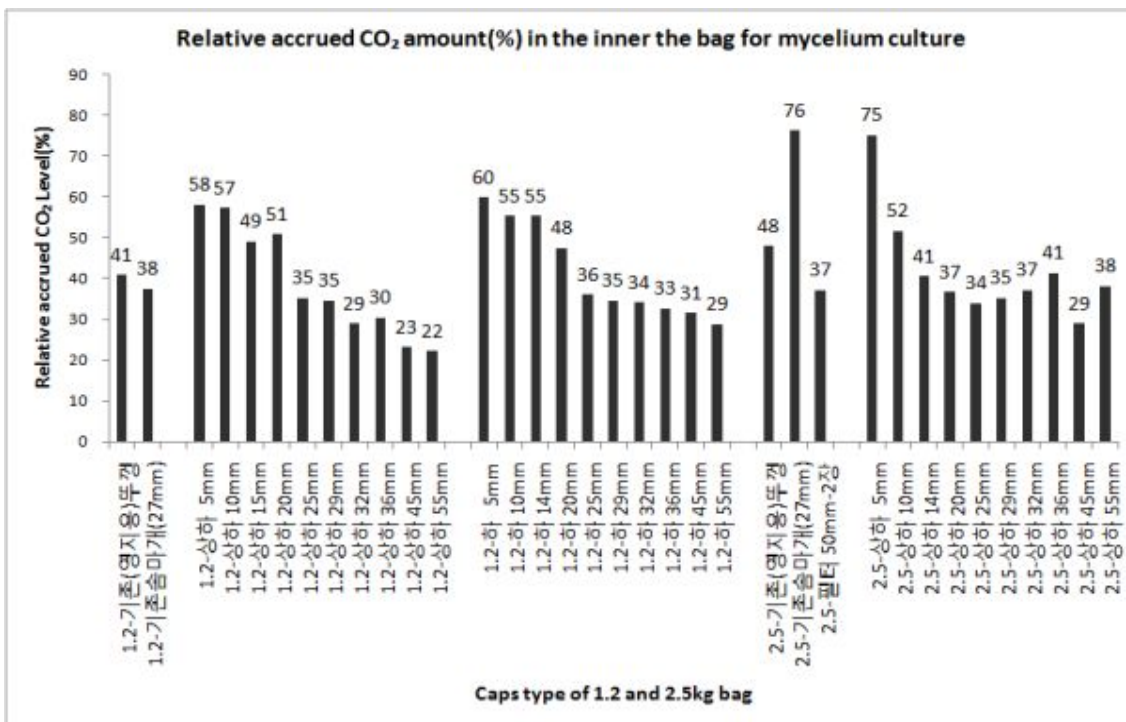


Fig. 5. The concentration of carbon dioxide of relative accrued in the inner the bag culture during in the *Lentinus edodes* (Berk.) 1.2kg and 2.5kg bag(%).

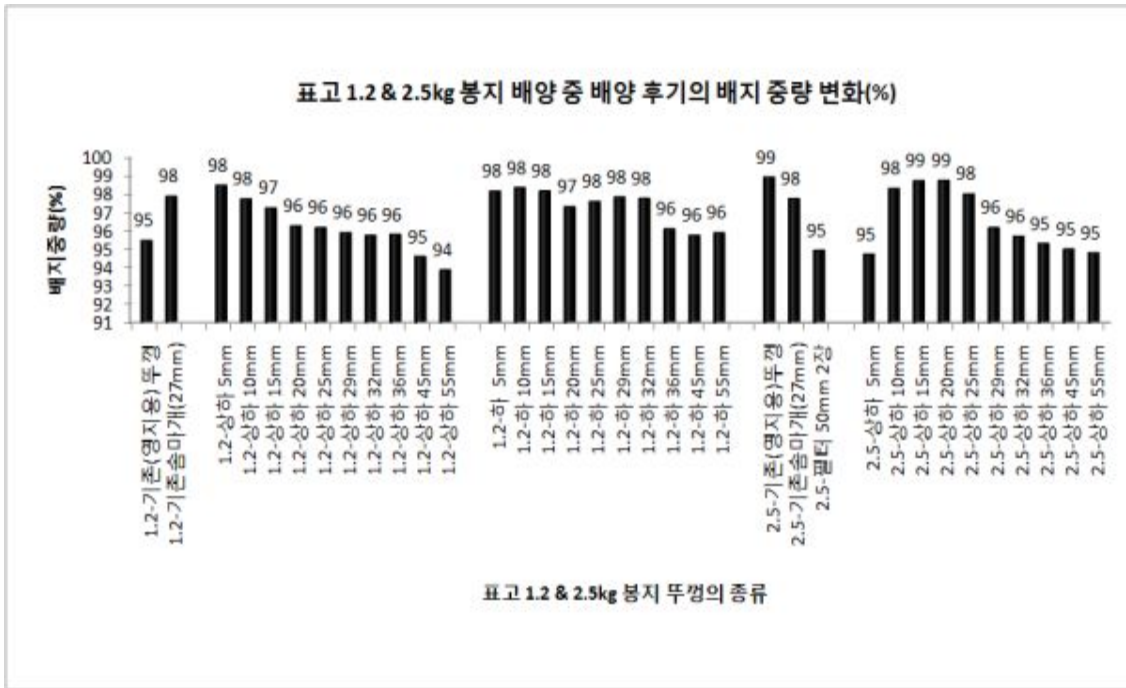


Fig. 6. The average moisture of upper bag in the incubator after ending of culture of *Lentinus edodes* (Berk.) 1.2kg and 2.5kg bag(%).

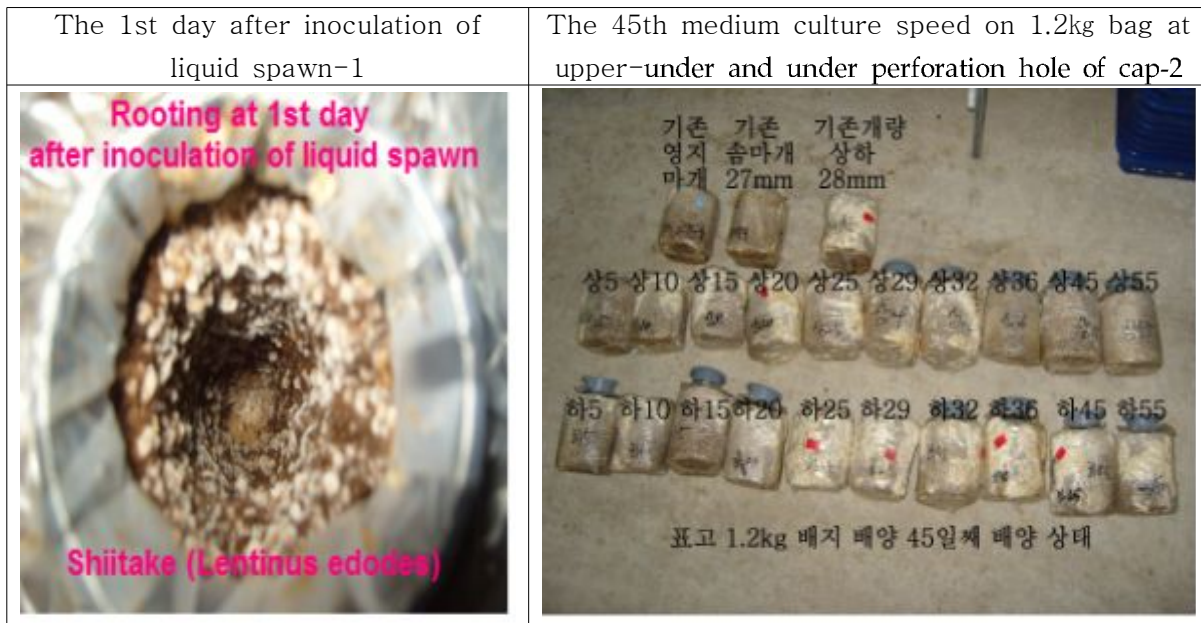


Fig. 7. The 1st day after inoculation of liquid spawn, and in both upper-under perforation and under perforation hole of cap. The photograph was the medium culture 1.2kg bag at the 45th day.

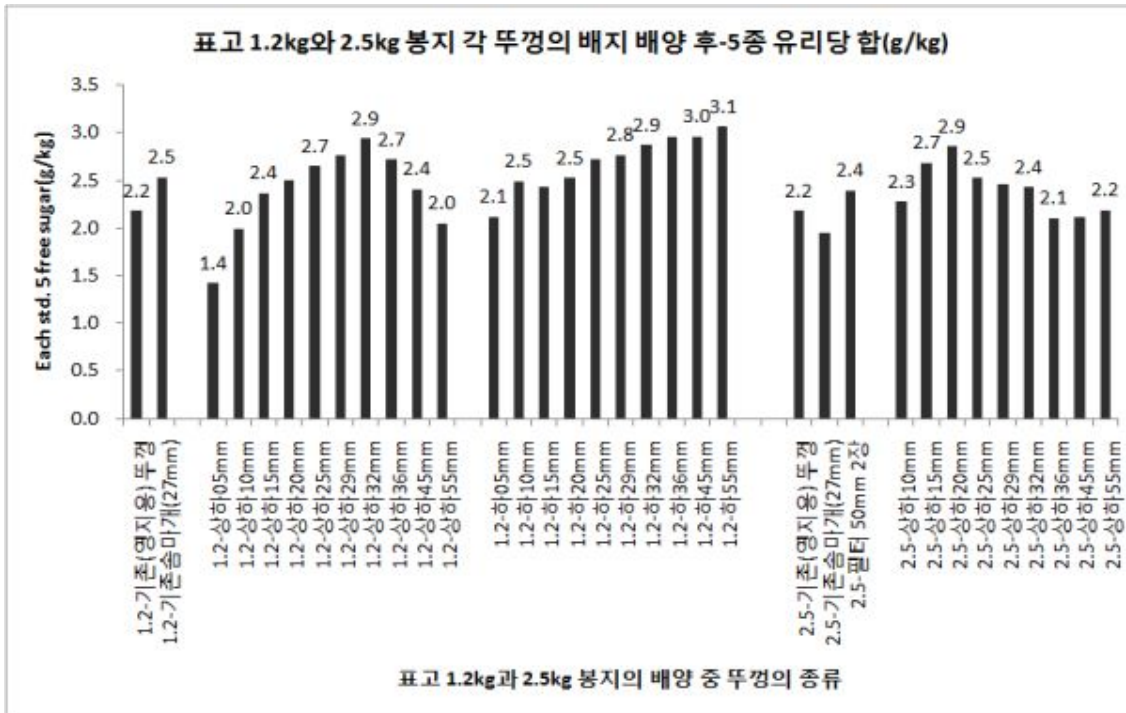


Fig. 8. The quantity of 5 free sugar contents in *Lentinus edodes* (Berk.) 1.2kg and 2.5kg solid bag by HPLC

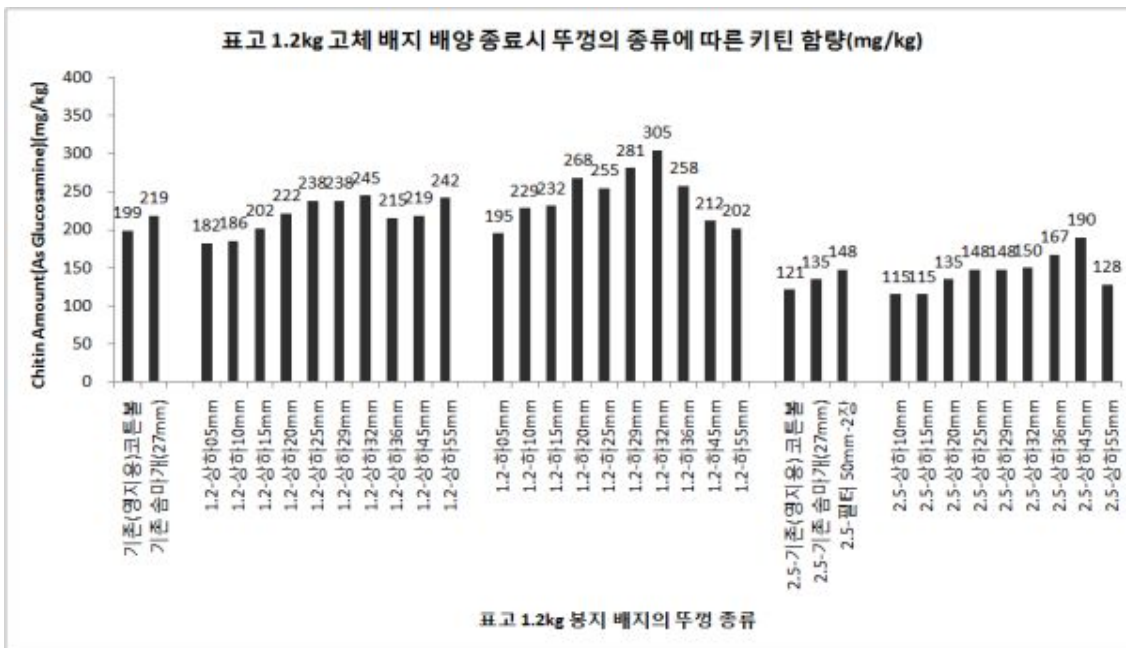


Fig. 9. The chitin(as Glucosamine) amount examination in the each control group at the ending culture of *Lentinus edodes* (Berk.) 1.2kg and 2.5kg bag.

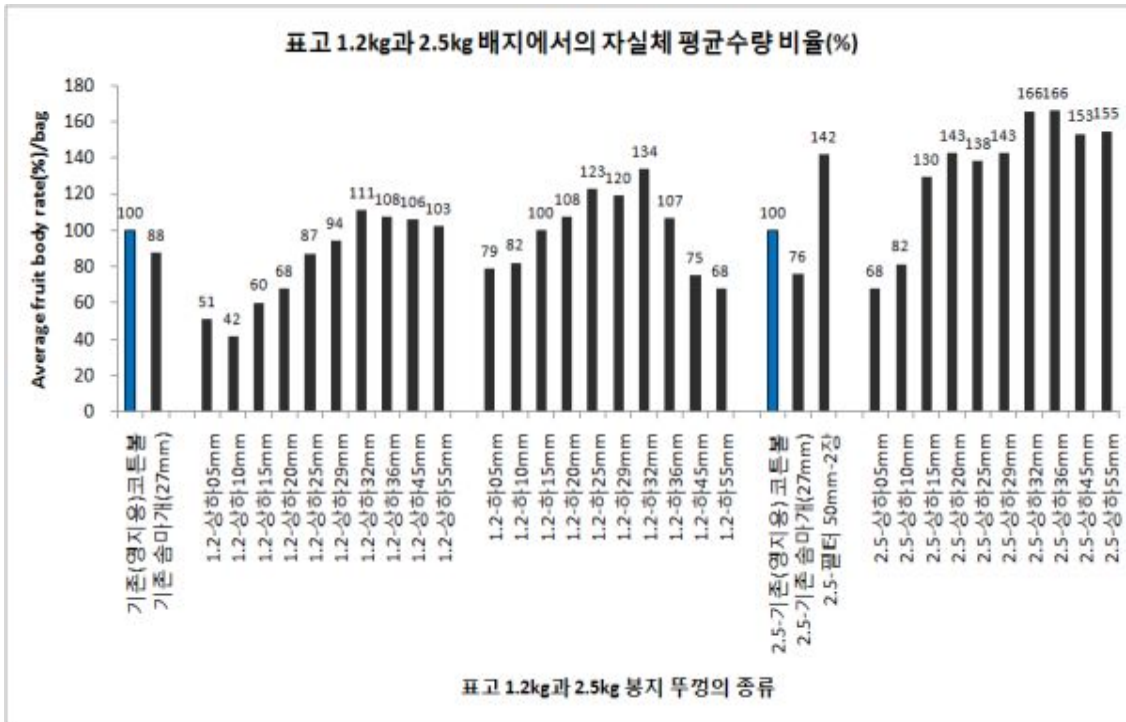


Fig. 10. The comparison of control group quantity based on quantity(100%) of existing cap of containing sponge of *Lentinus edodes* (Berk.) 1.2kg and 2.5kg bag yield [The average rate in the cumulative harvest]

나. 표고버섯 톱밥종균에 의한 표고버섯 1.4kg 봉지 재배

(1). 재료 및 방법

(가). 표고 종균 봉지내 산소와 이산화탄소 변화 구명

1) 표고 종균 봉지내 산소 및 이산화탄소 공급 상황 조사

표고 종균 생장온도에 따른 종균 봉지내 산소농도변화를 측정하기 위하여, 충남 청양의 표고 봉지재배농가에서 분양받은 균사가 완전히 자란 표고버섯 종균을 15℃, 20℃, 25℃, 30℃에 보관한 후 종균 기체채취기(GV-110S, Gasteko, Japan)와 산소검지관(31B, Gasteko, Japan)을 이용하여 산소농도를 측정하였다. 그리고 균사 생장 상태에 따른 이산화탄소의 농도 변화를 측정하기 위해 충북 증평의 이근희씨 농장에서 분양받은 4가지 균사 생장 상태의 표고 종균비닐의 1/2지점에 이산화탄소검지관(2HH, Gasteko, Japan)을 찢어 넣어 이산화탄소의 농도를 측정하였으며(그림 1) 종균 전체의 2/3을 균사가 점유한 종균비닐은 균사가 있는 부분과 균사가 없는 부분을 구분하여 측정하였다(표-1).



그림 1. 배지 내부 가스 측정(좌), 기체채취기와 검지관(우)

표 1. 균사 생장 상태

상태	균사 생장 상태
1기	종균 전체의 2/3 균사 점유
2기	종균 전체에 균사 점유
3기	갈변시작
4기	자실체 발생

또한 종균 뚜껑 구멍 크기에 따른 산소농도의 차이를 알기 위해 기존의 솜마개와, 뚜껑의 상하부에 직경 36.4mm와 55.0mm 크기로 구멍을 뚫은 종균뚜껑을 처리하여 뚜껑 교체 후 7일 경과 하였을 때 산소의 농도를 측정하여 비교 하였다(그림 2).

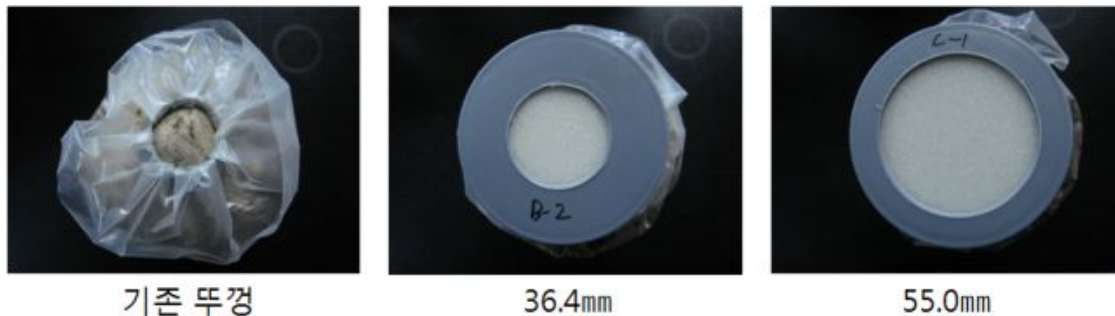


그림 2. 각 처리별 종균 뚜껑

(나). 표고톱밥 봉지재배시 균사배양 과정에서 통기성이 표고 균사생장에 미치는 영향

1) 공시재료

표고 톱밥 봉지 균사배양 과정에서 통기성이 표고 균사생장에 미치는 영향을 알아보기 위해 사용된 표고버섯 봉지재배용 톱밥배지는 균사가 2달 정도 자라 배지의 반 정도(약 10cm)를 점유한 것을 괴산 채택기씨 농장에서 분양받아 사용하였다. 921종균을 사용하였으며, 배지는 톱밥과 미강을 8:2의 비율로 혼합하여 만든 것이다. 배지형태는 둥근기둥형으로 직경 약 10cm, 높이 약 20cm, 무게 약 1.4kg이다. 마개의 종류는 구멍크기 27mm에 면전을 한 기존솜마개(27mm), 구멍크기 23mm의 영지마개, 구멍크기 5~ 45mm에 솜 대신 스펀지를 사용하고 구멍의 위치가 하부에만 있는 것, 상하부 모두 있는 것으로 총 16종류(표-2)의 통기마개를 사용하였다(그림 3).

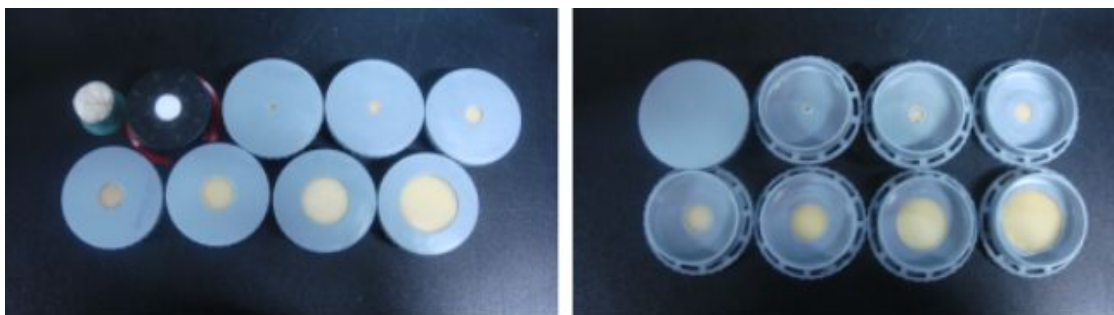


그림 3. 기존솜마개(27mm), 영지마개, 상하천공 5~45mm의 통기마개(좌), 구멍크기 하천공 5~45mm의 통기마개(우)

표 2. 배지마개 종류와 통기구멍 직경

마개종류	통기구멍직경
기존습마개(각지형)	27mm
영지마개(코튼볼)	상하 23mm
하천공 스펀지	5mm
	10mm
	15mm
	20mm
	25mm
	36mm
	45mm
상하천공 스펀지	5mm
	10mm
	15mm
	20mm
	25mm
	36mm
	45mm

2) 통기성 처리

표고균사가 활착되기 전에 마개를 교환하면 교환 중 오염균에 노출되어 표고균사가 자라지 못할 확률이 높아지기 때문에 2개월 정도 배양하여 배지 상면에서부터 약 10cm 가량을 점유한 배지를 사용하였다. 통기마개는 121℃에서 15분간 습윤멸균 후 클린벤치내에서 교체 하였다. 통기마개 교체 후 배지는 배양기에서 25℃로 암배양 하였으며, 기온이 높아지는 5월 말부터는 배양기 내의 온도가 상승하여 7월에는 최고 30℃까지 상승하였다.

3) 이산화탄소 농도, 균사생장 길이, 배지무게변화 측정

통기성 처리 후 다음날부터 이산화탄소농도, 균사생장길이, 배지무게변화를 측정했으며, 1주차부터 11주차까지는 6일, 13주차부터 15주차까지는 15일 간격으로 측정하였다. 이산화탄소 농도는 기체채취기(GV-110S, Gasteko, Japan)와 이산화탄소검지관(2H, 2HH, Gasteko, Japan)을 이용하여 배지의 중간 부분에 5.5cm 정도 검지관을 찢러 넣었다가 1.5cm정도 빼준 후 측정하였다. 측정시 생긴 구멍은 배지 내 기체유출과 오염균의 유입을 방지하기 위해 테이프로 막아주었다. 검지관 2H의 측정범위는 0~10%, 2HH의 측정범위는 0~40%이다. 균사생장길이는 디지털캘리퍼스(CD-15CPX, Mitutoyou, Japan)를 이용하였으며, 배지무게는 전자저울(LP4200S, Sartorius, Germany)을 이용하여 측정하였다

(다). 개선된 뚜껑을 이용한 표고 봉지재배 모니터링

1) 톱밥봉지배지의 통기성 차이가 표고 균사의 성장과 갈변 및 발생량에 미치는 영향

가) 공시재료

본 연구에 사용된 배지는 참나무 톱밥과 미강을 8:2비율로 혼합한 직경 약 10cm, 높이 20cm, 무게 1.4kg의 원형봉지배지로 괴산 농민 채택기씨에게 분양 받은 것을 사용했다. 집종 균주는 산조 701호이고, 분양 전까지 27mm크기의 기존 솜마개로 배양 되어있었다.

나) 통기성 처리

통기성 처리는 솜 대신 스펀지 재질을 사용하고 직경 10mm, 15mm, 20mm, 25mm, 29mm, 30mm, 32mm, 36mm, 45mm, 55mm의 통기구멍을 가진 플라스틱 재질의 하천공 마개와 상하천공마개를 Auto Clave에서 121℃로 30분간 살균한 후 Clean bench에서 기존 솜 마개와 교체해주었으며, 기존 솜마개를 포함하여 마개 종류 별로 3반복씩 총 57개의 배지를 충북대학교 재배사에서 배양하여 실험하였다(그림 4).



그림 4. 통기 구멍이 다른 마개 종류별로 교체되어 재배사에서 배양중인 표고 톱밥봉지배지

다) 결과 조사 방법

(1) 표고균사 성장량과 갈변량 측정

재배사에 배양중인 표고 톱밥봉지배지들을 4월 중순 ~ 5월 하순까지 약 9일 간격으로 총 4회에 걸쳐 배지 표면에 나타나는 균사 성장량을 측정하였고, 배지의 갈변이 시작된 후 5월 중순~6월 하순까지 2주 간격으로 총 3회에 걸쳐 갈변된 양을 측정하였다. 이때 측정값은 가장 적게 성장된 부분과 가장 많이 성장된 부분의 평균값으로 하였으며, 마개 종류 별로 3반복하여 측정하였다.

(2) 배지 내 에로고스테롤 함량 측정

톱밥배지내 표고균사의 균체량을 추정하기 위하여 갈변화가 완료된 에로고스테롤 함량을 분석하였다. 배지내 시료는 마개 종류별 1개씩 총 19개를 파이프를 이용하여 중앙을 관통시켜 채취하고 냉동보관하여 사용하였다. 에로고스테롤 추출은 Pasanen et al.(1999)와 Nylund & Wallander(1992)의 방법을 변형하여 생중량 1g의 시료를 20ml 시험관에 넣고 Ethanol 95% 10ml 와 KOH 40% 5ml를 넣어 1분간 강하게 Vortexing 하고 시험관의 입구를 알루미늄 호일로 막은 뒤 80℃ Waterbath에서 45분간 중탕시켜 비누화한 후 Hexane 3ml를 첨가하여 Vortexing 하고 분리된 층의 상등액을 새 시험관에 옮겨 질소가스로 휘발 시킨 뒤 시험관 벽에 묻은 엷고 하얀 결정을 Methanol에 녹이고 0.2 μ m필터로 여과하여 바이엘에 넣고 냉장 보관 하였다.

추출된 에로고스테롤은 충북대학교 공동실험실습관의 GC-MS(Agilent6890-5973i GC/MSD, Agilent, USA, Gas chromatography-mass spectrometry)를 이용하여 분석하였고 분석조건은 주입량 1ml, 주입구 온도는 250℃, 고정상으로는 Helium을 사용하였고 오븐온도는 200℃였으며 시료당 반복은 3회였다. 에로고스테롤 정량을 위한 Standard용액은 Sigma사의 Ergosterol시약을 이용하여 0.1 μ g/g, 0.2 μ g/g, 1 μ g/g, 5 μ g/g의 농도로 만들어 검량선을 구하였다.

(3) 배지별 표고 발생량 측정

마개 교체 6개월 후 톱밥봉지배지의 갈변화가 완료되어 표고 자실체 발생을 유도하기 위해 배지의 마개와 상면의 봉지를 제거해 준 뒤 3일간 배지를 뒤집어 배지의 윗부분을 침수시켜 쇼크를 주고, 다시 뒤집어 스프링쿨러를 이용하여 매일 관수하고 버섯발생 후 4일 간격으로 총 8회에 걸쳐 마개종류별 표고발생량을 전자저울을(BP6100)을 이용하여 측정하고 결과의 유의성은 Microsoft Office Excel 2007의 T검정을 사용하였다.

2) 통기 구멍 크기가 톱밥봉지 배지내 산소와 이산화탄소 농도 변화 및 균사의 생장과 표고버섯 발생에 미치는 영향

가) 공시재료

본 실험에 사용된 배지는 괴산 농민 채택기씨에게 분양받은 것으로 참나무 톱밥과 미강의 비가 8:2이고 접종 균주는 산조 701호이며, 분양 전까지 27mm크기의 기존 솜마개로 배양 되어 있었다.

나) 통기성 처리

통기성 처리는 스펀지 재질을 사용하고 직경 20mm, 25mm, 32mm, 36mm의 통기구멍을 가진 플라스틱 재질의 하천공마개 만을 사용하였다. 대조군으로 기존 솜마개 방식을 사용하였으며 처리가 끝난 배지들은 충북대학교 재배사에서 배양하여 실험하였다.

다) 결과 조사 방법

(1) 균사 생장량과 배지 무게 및 배지내 산소와 이산화탄소 농도 측정

통기성 처리가 배지는 일주일 마다 균사생장량, 배지무게변화를 측정하였고, 기체채취기를 이용하여 배지내 산소와 이산화탄소 농도의 변화를 측정하였으며, 측정 방법은 위의 연구들과 동일한 방법으로 하였다.

(2) 배지별 표고 발생량 측정

갈변이 끝난 배지는 상면을 개봉하고 자실체 발생을 유도하기 위해 관수하고 뒤집기 작업을 한후 원기의 발생수와 발생된 버섯의 생중량을 측정하고 배지별 차이는 spss12k를 이용하여 ANOVA분석을 실시하고 사후검정은 Duncan의 방법을 사용하였다.

(3) 배지내 균사층에서의 C/N률과 Ergosterol 함량 비교

발생이 끝난 배지중 생산량의 차이가 큰 배지를 대상으로 균사층과 균사층 하부의 C/N률과 Ergosterol 함량을 구하여 비교하였다. 배지내 C/N률은 각 층별로 채집한 시료를 65℃ 건조기에 넣어 약 3일간 완전건조 시킨 후 막자사발을 이용하여 곱게 갈고 충북대학교 환경자원분석실에 의뢰하여 탄소와 질소를 정량하여 C/N율을 산정하였고, Ergosterol의 함량 차이를 분석하기 위해 각 층별 시료를 Pasanen et al.(1999)와 Nylund & Wallander(1992)의 방법을 변형한 Methanol 추출법으로 Ergosterol을 추출한뒤 HPLC(HP U3000)를 이용하여 정량하였다. HPLC 분석조건은 Methanol을 이동상으로 C18 컬럼을 이용하였고 컬럼 온도는 40℃, UV파장은 280nm를 이용하였다.

3) 표고톱밥붕지 배지 내부 단면 모습과 재배과정중 발생한 오염균 관찰

갈변이 끝난 배지는 균사생장모습을 확인하기 위하여 커터칼을 이용하여 종·횡단으로 잘라 단면을 관찰하고 재배과정 중 발생한 오염균은 광학현미경(E200, Nikon, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

(2). 결과 및 고찰

(가). 표고 평균 봉지내 산소와 이산화탄소 변화 구명

1) 배양 온도에 따른 종균 내 산소 농도 변화

종균 내 산소 농도는 모든 처리에서 대기 중 산소농도보다 낮았다. 처리별로 15℃에서는 약 12%, 20℃에서는 약 8.5%, 25℃에서는 약 9%, 30℃에서는 약 6%로 배양온도가 높을수록 산소의 농도가 낮았다(그림 5). 표고균은 백색부후를 일으키는 부후균으로 산소호흡을 영위한다(박원철 등, 2008). 균사가 성장하면서 산소를 소모하기 때문에 균사생장이 활발할수록 산소의 소모는 많아진다고 할 수 있다. 특히, 표고 균사의 경우 성장 가능한 온도 범위는 품종 계통에 관계없이 약 5~32℃인데 적온은 약 25℃로 22 ~ 26℃이 적당하다. 또한 그 적온을 넘어, 높은 온도가 되면 생장이 급격히 쇠퇴하여지는데 그 경향은 높은 온도로 갈수록 현저하다(박원철 등, 2008). 따라서 15℃에서 산소농도가 높은 것은 다른 온도에 비하여 균사생장이 느렸기 때문이며 25℃를 넘어서는 30℃에서도 산소농도가 낮은 것은 적어도 종균내에서는 30℃ 온도 까지 균사생장이 활발하게 일어난다고 할 수 있다 .

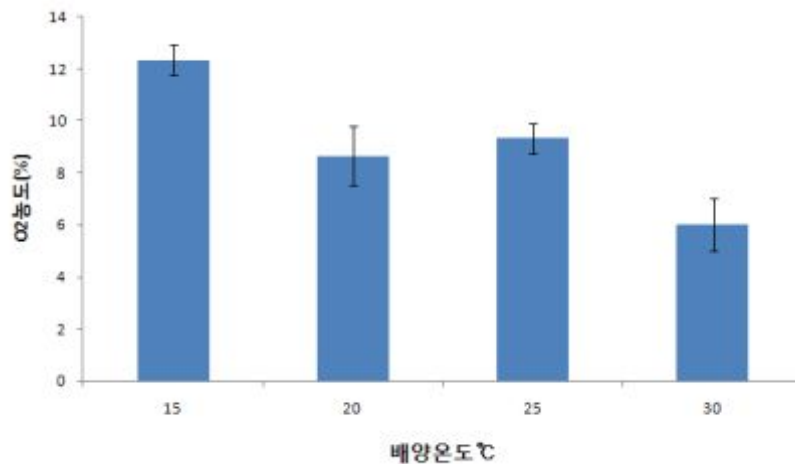


그림 5. 배양온도에 따른 종균내 산소 농도의 변화

2) 균사생장에 따른 종균 내 이산화탄소 농도 변화

(가) 균사 배양 상태에 따른 종균 내 이산화탄소 농도 변화

균사 배양 상태에 따른 종균 내 이산화탄소농도는 전체의 2/3 균사 점유 상태에서 약 8%, 종균 전체에 균사 점유 상태에서 약 9%, 갈변시작 상태에서 약 6%, 자실체 발생 상태에서 약 7%로 각 상태별로 약간의 차이는 있으나 통계적인 유의성은 없었다(그림 6). 표고 균사 배양시 생성되는 CO₂의 농도는 갈변 직전까지 상승하였으나 갈변상태에서 감소하다가 자실체 발생단계에서 다시 증가한 것을 볼 수 있다. 윤갑희(2003)는 톱밥배지로 부터의 이산화탄소 방출량은 배양과정 초기에 최고치를 나타내고, 이후 자실체생장기에 두 번째의 최고치를 나타낸다고 하였는데 본 연구의 결과에서도 이와 비슷한 경향을 보여 주었다.

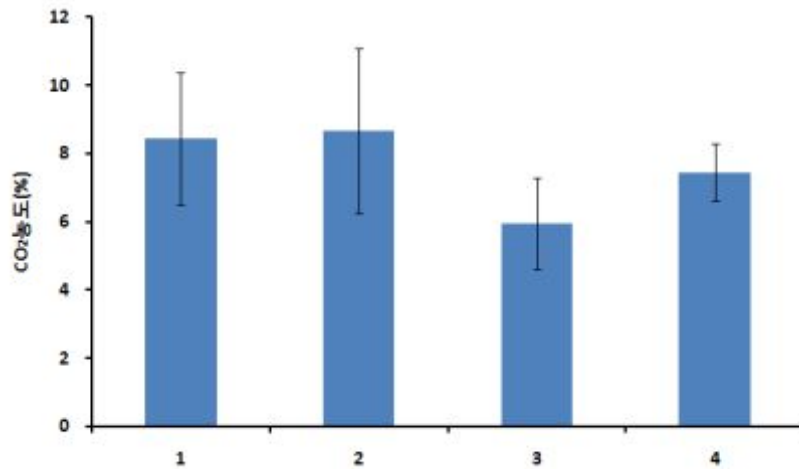


그림 6. 배양상태에 따른 종균 내 이산화탄소 농도

(1: 종균 전체의 2/3 균사 점유, 2: 종균 전체에 균사 점유, 3: 갈변시작, 4: 자실체 발생)

(나) 종균 내 균사부분과 비균사부분의 이산화탄소농도 비교

종균 내 균사부분의 이산화탄소농도는 약 8%이고, 비균사 부분의 이산화탄소농도는 약 5%였다(그림 7). 산소를 소비하여 이산화탄소를 생성하는 표고균의 특성상 균사부분의 이산화탄소 농도가 높은 것은 균사의 생장에 따라 산소를 소비하고 이산화탄소를 생성한 결과라 생각된다. 비균사부분의 이산화탄소농도가 대기 중의 이산화탄소 농도 보다 높은 것은 종균비닐 내 CO₂의 확산에 의한 결과라고 생각된다. 따라서 종균 비닐 내 균사의 생장은 균사가 자라고 있는 부분뿐만 아니라 균사가 자랄 부분의 CO₂ 농도에 영향을 미친다고 생각된다.

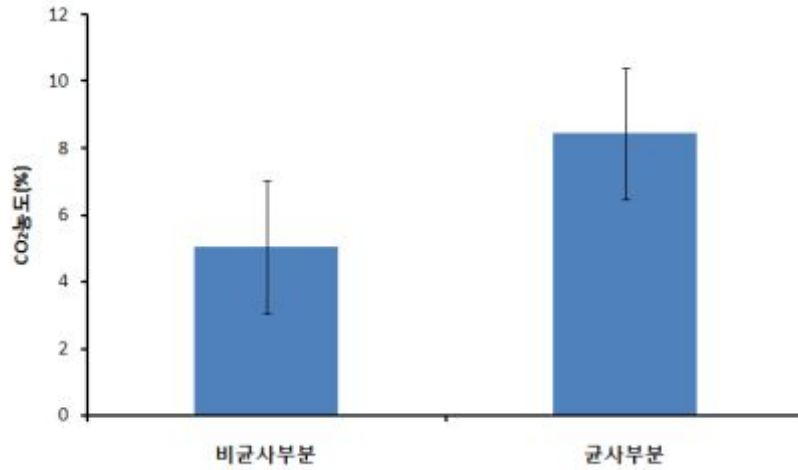


그림 7. 종군내 군사부분과 비군사부분의 이산화탄소 차이

3) 통기 구멍 크기에 따른 종군 내 산소농도 비교

통기 구멍의 크기를 달리한 종군 뚜껑에 따른 산소 농도는 기존 숨마개에서 약 3%, 36.4mm 직경구멍의 뚜껑에서 약 6.5%, 55mm 직경구멍의 뚜껑에서 약 5%였다(그림 8). 기존의 숨 마개를 뚜껑으로 사용하는 종군보다 뚜껑의 크기를 크게 한 종군에서 산소농도가 높게 나온 것으로 보아 기존 뚜껑이 종군 내 공기의 확산에 불리하다고 생각된다. 55mm의 통기구멍에서 산소의 양이 36.40mm 보다 적은 것은 배지에서 외부로 확산되는 양이 더 많거나 개선된 산소 환경으로 인한 활발한 군사성장 활동이라 생각되나 향후 이에 대한 연구가 더 이루어져야 할 것이다.

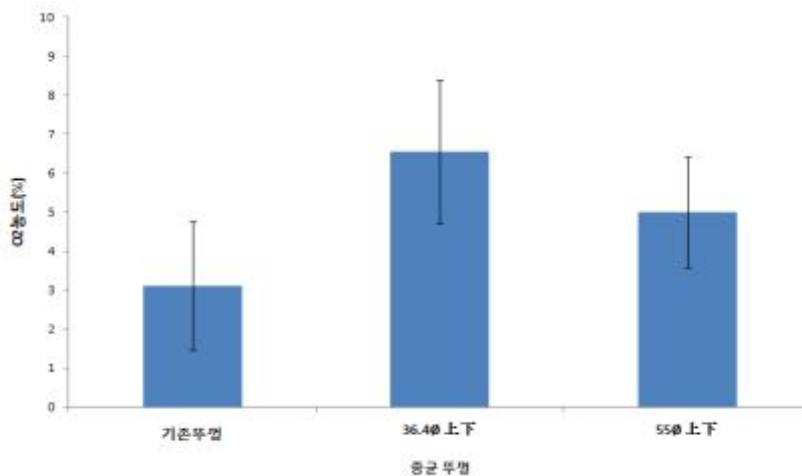


그림 8. 통기구멍크기에 따른 종군 내 산소농도

(나). 표고톱밥봉지재배시 군사 배양 과정에서 통기성 차이가 군사생장에 미치는 영향

1) 통기성차이에 따른 이산화탄소농도의 변화

마개 교체 후 군사배양 중 평균 이산화탄소 농도는 기존숨마개에서 약 3.83%, 영지마개에서 약 3.76%였다. 하 15mm천공에서 평균 이산화탄소농도가 약 6.05%로 가장 높았다, 상하천공 5mm에서 약 3.64%로 가장 낮았다. 천공의 위치별로는 10mm를 제외한 나머지 처리구에서는 통기구멍이 하부에만 있는 것이 상하부에 모두 있는 것보다 이산화탄소 농도가 약 0.06~1.17% 정도 높았다(그림 9).

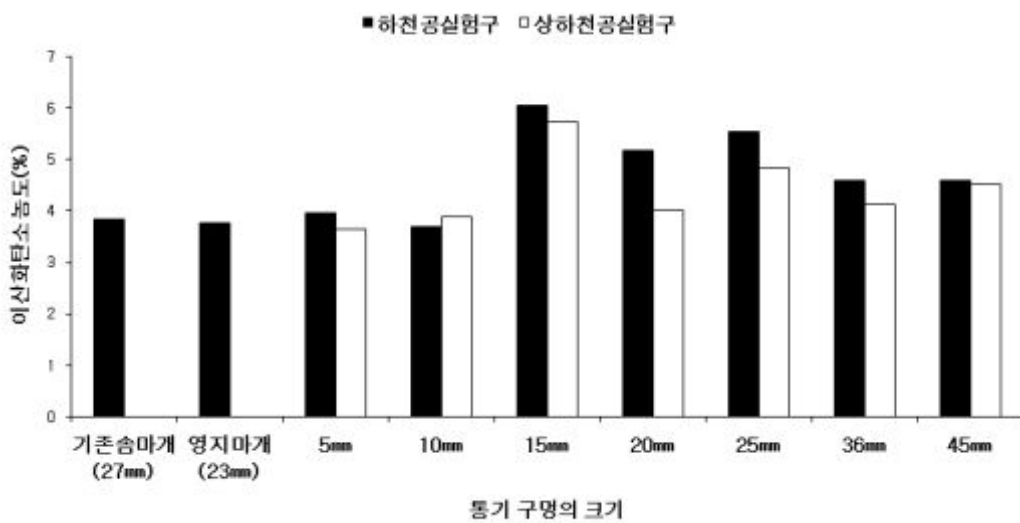


그림 9. 통기성 차이에 따른 표고 톱밥 배지내 군사 배양기간 중 평균 이산화탄소 농도(%)

군사배양 중 배지 내 이산화탄소농도변화는 1주차부터 15주차까지 기존숨마개는 1.73%~7.00% 였고, 5mm와 10mm는 1.50%~7.28%범위로 비슷한 경향을 보였다. 상하 20mm천공은 10주차에 7.03%로 기존숨마개보다 3.98%으나 이후 거의 비슷한 경향을 보였다. 8주차에는 7주차에 비해 하 15mm천공의 이산화탄소농도가 약 6.35%, 상하 15mm천공은 약 4.13%가 높아졌다. 12주차에 하 15mm천공은 최대 약 13.13%, 상하 15mm천공은 최대 약 11.35%까지 측정되었다. 10주차에는 9주차에 비해 하 20mm천공의 이산화탄소농도가 약 5.33%, 상하 20mm천공은 약 5.03%가 높아졌다. 45mm는 7주차부터, 15mm, 25mm, 36mm는 8주차부터 이산화탄소 농도가 상승하였다(그림 10).

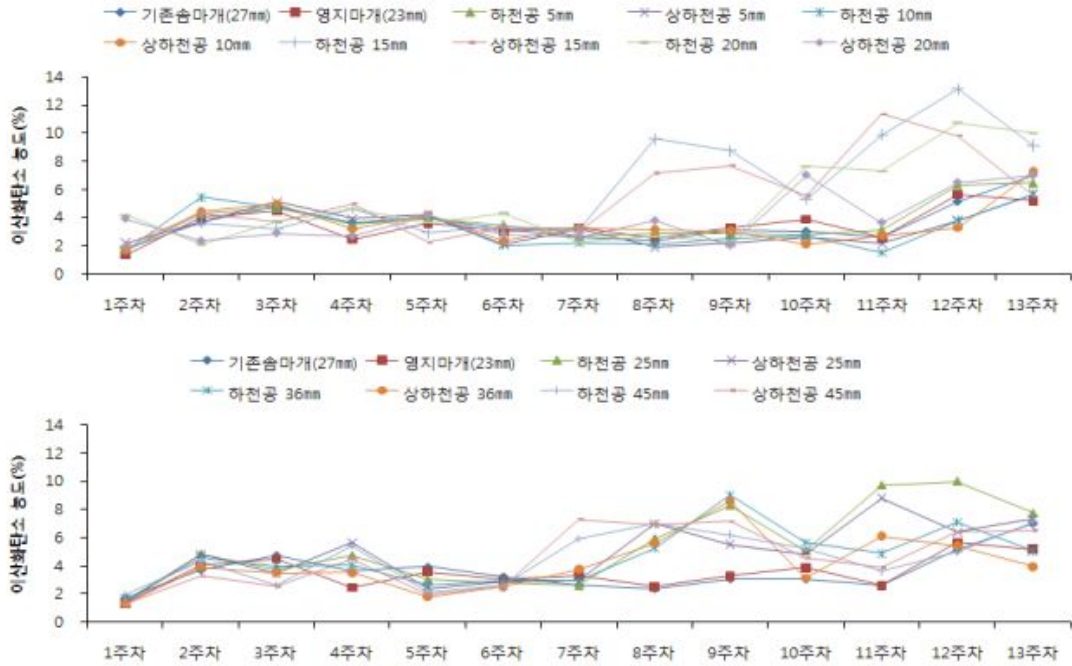


그림 10. 통기성 차이에 따른 표고톱밥 배지내 균사 배양기간 중 이산화탄소 농도 변화

2) 통기성차이에 따른 균사생장길이의 변화

평균 균사생장길이는 기존숨마개에서 약 $2.35 \pm 0.64 \text{mm/day}$, 영지마개에서 약 $2.44 \pm 0.56 \text{mm/day}$ 였다. 하천공 36mm에서 평균 균사생장길이가 약 $3.05 \pm 0.17 \text{mm/day}$ 로 가장 높게 나왔고, 상하 5mm천공에서 약 $2.06 \pm 0.53 \text{mm/day}$ 로 가장 낮게 나왔다. 5mm와 36mm를 제외한 나머지 처리구에서는 통기구멍이 상하부에 모두 있는 것이 균사생장이 좋았다(그림 11).

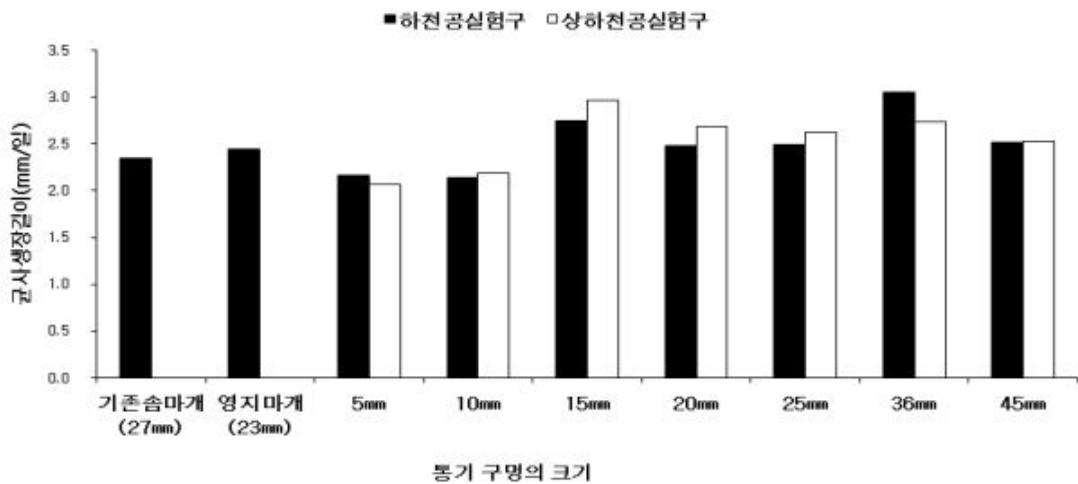


그림 11. 통기성 차이에 따른 표고톱밥 배지의 균사 배양기간 중 균사생장길이(mm/day)

기존숨마개의 균사생장길이는 1주차에는 약 1.64mm/day , 2주차에는 약 3.30mm/day , 3주차에

는 약 2.63mm/day로 군사성장속도가 증가하다 다시 감소하는 경향을 보였다. 5mm와 10mm도 기존숨마개와 비슷한 경향을 보였다. 15mm~45mm는 군사성장길이가 약 2.15mm/day~3.22mm/day로 1주차부터 5주차까지 군사성장속도가 거의 일정하여 기존숨마개와 다른 경향을 보였다(그림 12).

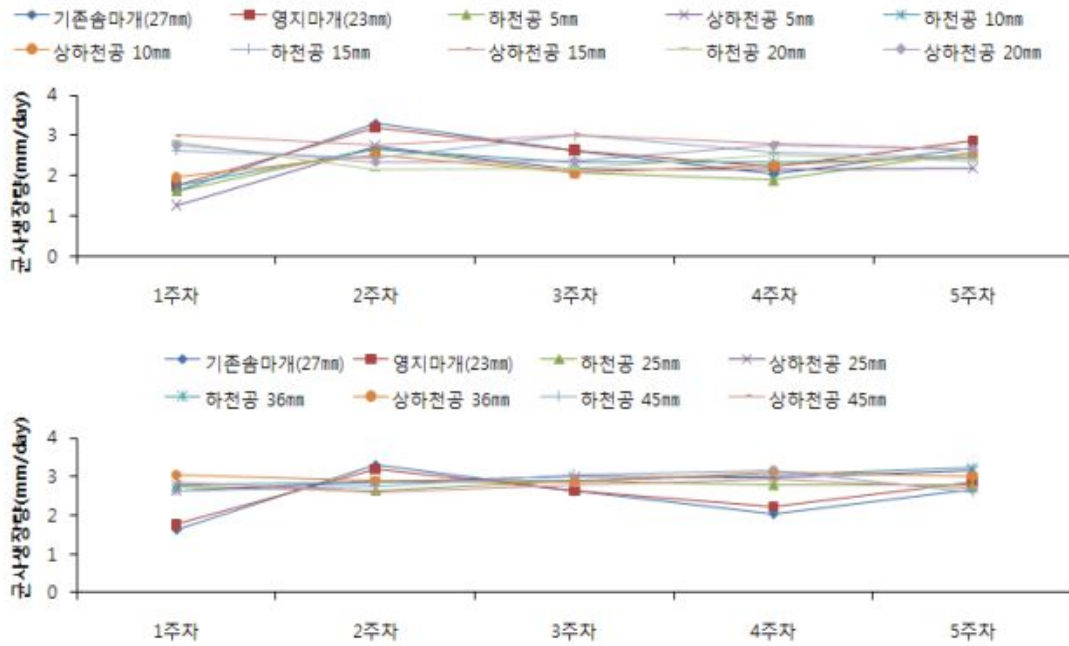


그림 12. 통기성 차이에 따른 표고톱밥 배지에서 군사 배양기간 중 군사성장 길이 변화(mm/day)

3) 통기성차이에 따른 배지무게의 변화

평균 배지무게감소량은 기존숨마개에서 약 $0.84 \pm 0.26 \text{g/day}$, 영지마개에서 약 $0.75 \pm 0.22 \text{g/day}$ 였다. 상하 45mm천공에서 평균 배지무게감소량이 약 $1.76 \pm 0.54 \text{g/day}$ 로 가장 높게 나왔고, 상하 5mm천공에서 약 $0.55 \pm 0.20 \text{g/day}$ 로 가장 낮게 나왔다. 상하 45mm천공의 경우 기존 숨마개보다 2배 이상, 5mm보다 3배 이상 무게 감소량이 많았다. 천공 위치별로는 5mm를 제외한 모든 처리구에서 상하천공방식이 배지무게가 많이 감소하였다(그림 13). 배지무게는 통기구멍의 크기가 커질수록 많이 줄어들었지만 군사생장은 통기구멍의 크기와 비례하지 않았다. 따라서 군사가 톱밥을 분해하는 것보다 수분증발이 배지 무게감소에 더 큰 영향을 미친다고 생각된다.

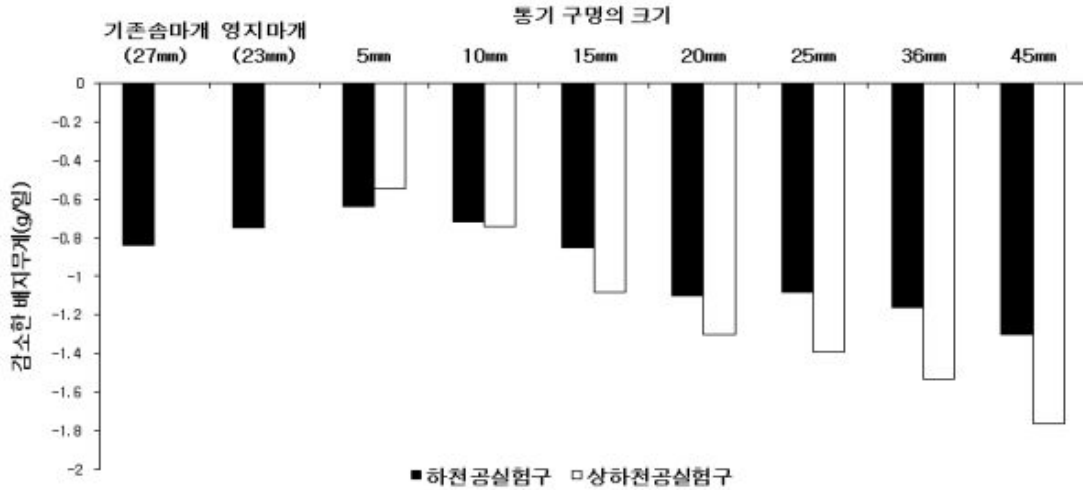


그림 13. 통기성 차이에 따른 표고톱밥 배지에서 균사 배양기간 중 평균 배지 무게감소량 (g/day)

기존솜마개, 영지마개, 5mm, 10mm는 15주차, 20mm는 11주차에 배지무게가 가장 많이 감소하였다. 25mm~45mm는 7주차에 평균 0.93g/day감소하다가 10주차에는 평균 2.03g/day감소하여 2배 이상 무게가 감소하였다. 상하 45mm천공은 10주차에 일 평균 무게감소량이 2.69g/day나 되었다(그림 14).

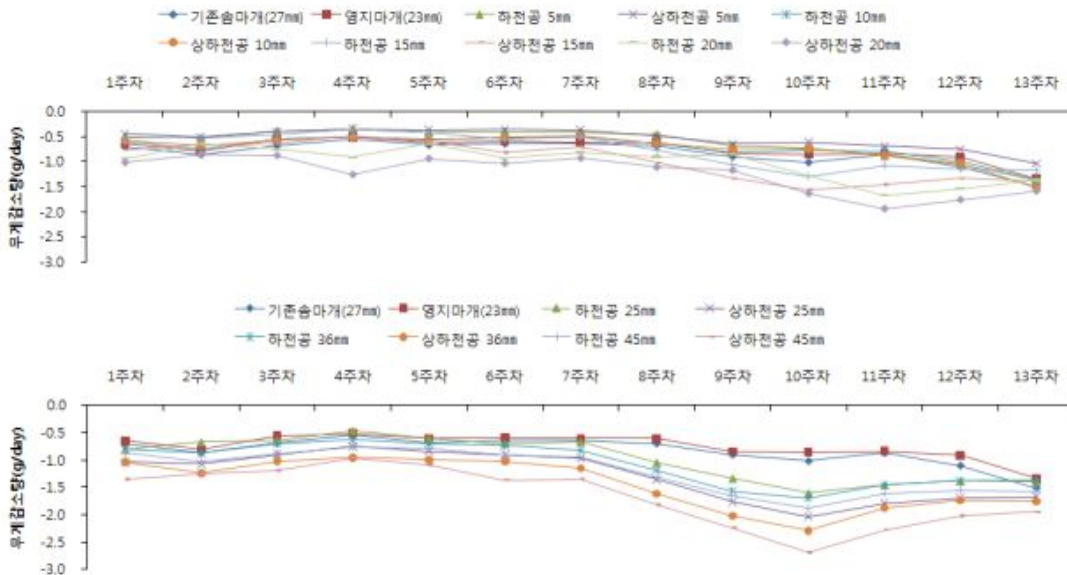


그림 14. 통기성 차이에 따른 표고톱밥배지에서 균사 배양기간 중 배지무게감소량변화(g/day)

4) 이산화탄소농도와 균사생장길이의 상관관계

하 5mm ~ 20mm천공의 이산화탄소농도와 균사생장길이의 상관관계수가 0.996, 상하 5mm~20mm

천공의 상관계수가 0.852였다. 상관계수가 0.7~1.0일 때 강한 정적 상관관계가 있기 때문에 (김석우, 2007) 5mm ~ 20mm까지의 통기구멍의 크기가 클수록 균사생장이 많아진다고 할 수 있다. 그러나 45mm 통기구멍의 크기에서는 위와 같은 강한 상관관계가 나타나지 않았는데 이는 통기구멍을 통한 산소의 증가가 균사생장을 무조건적으로 활성화 시키는 것은 아니라는 결과를 나타낸다. 이병우(1993)는 표고버섯 균사체를 대량 생산 하기 위한 균사체 배양조건 최적화 검토 실험에서 TGY 배지에서 균사체 배양시 공기량을 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 v/v/m으로 공급한 결과 공기량이 1.0 v/v/m일때까지 공기량이 증가할수록 균사체 생성량이 증가하였으나 그 이상에서는 균사체의 증가는 둔화되고 배양중 거품의 발생이 심하여 소포제의 사용이 많아져 공기량이 1.0v/v/m 일때가 균사체 생성에 가장 좋았다고 하였다. 즉, 균사생장을 위한 산소공급의 최적크기가 있으며 본 연구에서는 기존 솜마개에 비하여 15 ~ 36mm의 크기의 통기 마개가 배지 배양 단계에서 가장 효과적이라 할 수 있다.

한편 통기성 차이에 따라 이산화탄소의 농도와 균사생장량이 크게 증가하거나 감소하는 시기가 각각 달랐는데 구멍의 크기가 가장 큰 45mm에서 이산화탄소가 크게 증가하는 시기가 7주차로 가장 빨랐으나 이 후에 점점 감소되는 것은 균사의 산소흡수의 특징과 관련이 있을 것이다. Cho(2002)는 눈꽃동충하초과의 *Paecilomyces sinclairii*의 액체배양에서 산소농도를 0.5 v/v/m, 1.5 v/v/m, 2.5 v/v/m, 3.5 v/v/m 으로 공급해준 결과 산소의 농도가 증가할수록 균사 세포가 더 많은 양의 산소를 흡수하지만 시간이 지남에 따라 1.5v/v/m에서 가장 많은 생물량이 나타났다고 하였다. 즉, 균사가 초기에 많은 산소를 이용하다가 시간이 지나면서 제공되는 산소를 모두 사용하지 못하는 것으로 생각된다. 따라서 톱밥배지 배양단계에서 빠른 균사배양을 위해 45mm 통기마개를 사용하는 것은 장기간으로 보았을 때 적합하지 않으며 빠르고 지속적인 균사배양을 위해서는 15 ~ 25mm 구멍크기의 통기마개가 효과적일 것이다.

(다). 개선된 뚜껑을 이용한 표고톱밥 봉지재배 모니터링

1) 톱밥봉지배지의 통기성 차이가 표고 균사의 성장과 갈변 및 발생량에 미치는 영향

가) 표고 톱밥봉지배지 마개종류에 따른 균사생장량 비교

일평균 균사 성장량이 가장 많은 마개는 성장속도가 0.274cm/일인 상하 32mm천공이고 가장 적은 마개는 성장속도가 0.228cm/일인 하 10mm천공이었다. 두 결과는 10% 유의수준에서 $t=2.92$, $P=0.056$ 으로 유의적 차이가 있었다.

표 3. 표고톱밥 봉지배지 마개의 종류에 따른 일평균 군사성장량, 갈변량과 표고 발생량

마개종 류	통기구멍 크기(mm)	일 평균 군사성장량(cm)	일 평균 갈변량(cm)	표고 발생량(g)	
기존	27	0.238±0.016 ¹	0.336±0.029	93.6	
	10	0.236±0.012	0.380±0.029	64.4	
	15	0.250±0.017	0.407±0.008	34.2	
	20	0.264±0.007	0.458±0.077	76.6	
	상하 천공	25	0.271±0.014	0.431±0.037	135.5
		29	0.270±0.012	0.417±0.028	101.2
		32	0.274±0.005	0.454±0.032	144.3
		36	0.264±0.007	0.451±0.053	41.8
		45	0.252±0.008	0.458±0.037	135.6
하 천공	55	0.264±0.007	0.472±0.073	67.8	
	10	0.228±0.016	0.375±0.014	34.2	
	15	0.230±0.021	0.426±0.032	14.4	
	20	0.250±0.012	0.412±0.021	60	
	25	0.255±0.003	0.407±0.021	76.3	
	29	0.255±0.012	0.458±0.014	115.4	
	32	0.257±0.000	0.412±0.040	132.6	
	36	0.262±0.008	0.419±0.003	104.6	
	45	0.264±0.007	0.403±0.014	115.2	
55	0.262±0.016	0.435±0.016	117.9		

¹: 평균±표준편차

일평균 군사 생장은 상대적으로 통기구멍이 큰 배지들에서 높았다(표 3). 이는 기본적으로는 버섯 봉지재배에서 통기구멍이 크고 수가 많은 것이 좋다는 윤갑희(1996)의 연구와 같은 양상을 나타내었지만, 32mm의 처리에 비하여 36mm, 45mm, 55mm 처리에서는 0.01~0.02cm만큼 표고 군사의 생장이 더뎠기 때문에 통기 구멍이 클수록 군사 성장량이 높을 것이라는 가설과는 다른 양상을 보였다. 천공위치별로는 45mm를 제외하고 하천공처리보다 상하천공처리에서 일평균 군사성장량이 높게 나타났다(그림 15).

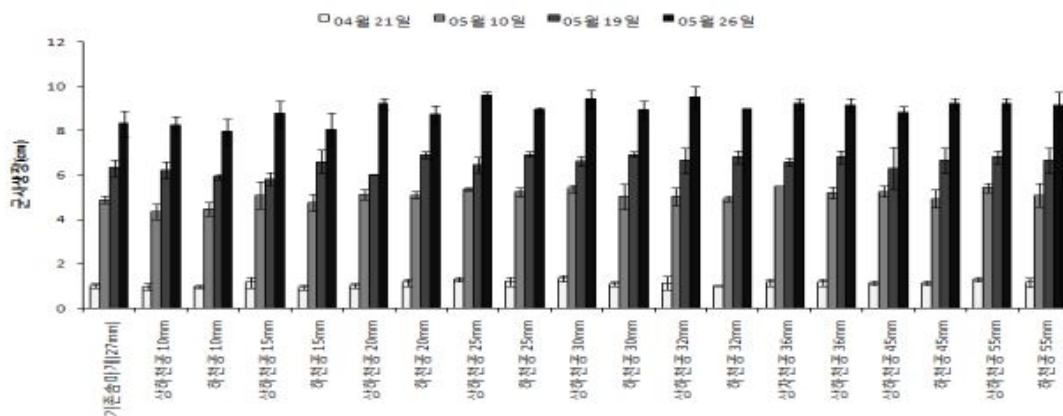


그림 15. 표고톱밥 봉지배지 마개의 종류에 따른 군사 성장량변화

공조시설이 아닌 일반 재배사 내부는 외부 환경에 의해 시공간적으로 변화하는데 특히, 온습도의 변화가 매우ダイナミック하게 일어난다. 류성렬 등(2005)은 표고시설재배사내에서 시공간적인 온습도 변화를 목적으로 원목재배사의 온습도를 측정 한 결과 재배사내 수평적인 온습도 차이는 외곽부가 중앙부보다 온습도 변동이 컸고 습도는 중앙부가 외곽부위에 비해 3%정도 높았으며 수직적 온도차이는 기온상승시 100cm ~ 10cm까지 아래로 갈수록 온도가 낮았고 기온이 하강할때는 반대의 경우를 보여주었으며 상대습도변화는 온도변화와 반대였다. 계절에 따른 온도차는 겨울이 약 30℃차이로 가장 컸으며, 일중온습도변화는 저녁부터 새벽까지는 온도가 내려가면서 상대습도가 올라가지만 온도가 상승하면 상대습도는 내려가 온도와 상대습도가 반대의 경향이 나타났다고 하였다. 따라서 일정한 온도에서 배양되는 표고톱밥배지와 재배사내에서 배양되는 배지의 성장에는 차이가 있을 것이라 할 수 있다. 본 연구에서 32mm의 통기마개에서 가장 많은 군사생장을 보여주었으며 이는 앞서 배양과정에서 가장 효과가 좋았던 15~25mm 통기마개와 다소 다른 결과로 향후 재배사 내부 환경에 따른 통기마개별 연구가 더 필요 할 것이라 생각 된다.

나) 표고 톱밥봉지배지 마개의 종류에 따른 갈변량 비교

일평균 갈변량이 가장 높은 마개는 0.472cm/일인 상하천공 55mm이고, 가장 낮은 마개는 0.336cm/일 인 기존숨마개였다.

일평균 갈변량은 상대적으로 통기구멍이 큰 배지에서 높은 수치가 나타나 갈변화 기간은 배지의 양이 적을수록 사용한 용기의 통기량이 많을수록 빠르며 보통 2~3개월이 소요된다는 유창현(2006)의 연구와 같은 양상을 보였지만 20mm와 32mm 크기의 배지에서 상대적으로 높은 수치를 나타냈다는 점에서 달랐다. 하지만 25mm와 32mm에서 일평균 군사성장량이 높았으므로 군사성장량과 통기량이 많은 배지에서 갈변화의 진행이 빠르다는 것을 알 수 있었다.

같은 통기 구멍을 가진 배지끼리 비교한 경우엔 15mm와 30mm 크기의 배지를 제외하곤 하천공보다 상하천공 종류의 마개에서 일 평균 갈변량이 높게 나타난 것으로 나타났다(그림 16).

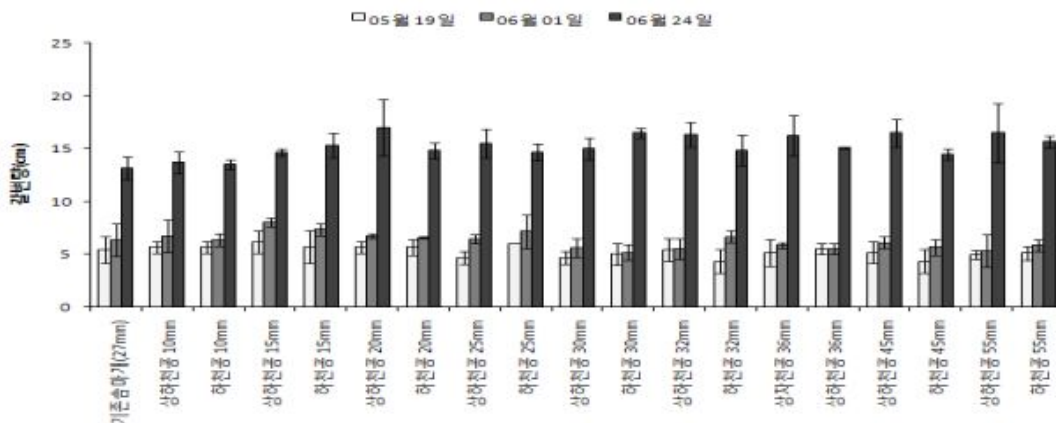


그림 16. 표고톱밥 봉지배지 마개의 통기구멍크기에 따른 측정 일자별 갈변량

톱밥배지는 원목과 달리 보호 조직이 없어 균 자신이 피막으로 보호해야하고, 잠균침입이 쉬워 청정시설과 치밀한 관리계획이 필요하다(윤갑희, 2006). 그리고 배지 전체에 갈변이 고루 잘 될수록 버섯의 품질이 좋아지고 배지의 수명도 늘어나게 된다(박동명, 2008). 따라서 갈변은 표고 톱밥 재배 시 매우 중요한 요인이다. 또한 갈변화 기간 중에는 많은 양의 산소가 필요하다(유창현, 2006). 따라서 배지 내 통기량은 갈변화에 중요한 영향을 미친다.

다) 배지내 에로고스테롤 함량 분석

표고톱밥배지에서 마개종류에 따른 배지 내 균체량 추정을 위한 톱밥 내 에로고스테롤 분석결과 $y = 942100x - 245030$ ($R^2 = 0.9925$)의 검량선을 구하였고 이를 통해 각 시료 1g당 상하 32mm천공가 0.4162 $\mu\text{g/g}$ 으로 최고치를, 상하 15mm천공가 0.3034 $\mu\text{g/g}$ 로 최저치를 나타냈으며, 5% 유의수준에서 $t=2.92$, $P=0.018$ 으로 유의한 차이가 있었다. 처리별 에로고스테롤의 함량은 일평균 균사 성장량과 비슷한 결과를 보여주었다(표 5).

표 5. 표고 톱밥봉지배지 마개종류에 따른 배지 내 에로고스테롤함량

마개종류	통기구멍크기(mm)	에로고스테롤 함량($\mu\text{g/g}$)
상하 천공	15	0.3034 \pm 0.0078 ¹
	25	0.4107 \pm 0.4624
	32	0.4162 \pm 0.0344
	55	0.3294 \pm 0.0033
하 천공	15	0.3156 \pm 0.0152
	25	0.3129 \pm 0.3656
	32	0.4001 \pm 0.0324
	55	0.3704 \pm 0.0168

¹: 평균 \pm 표준편차

에로고스테롤(ergosterol)은 고등균류 균사세포막의 중요한 구성성분으로 이들의 특징물질이고, 균의 성장에 중요한 기능을 한다. 그러므로 균사 배양체에서 이 물질의 함량을 분석함으로써 고체 배지 속에 있는 곰팡이의 생체량을 추정할 수 있다(구창덕 등, 2000). 즉, 표고톱밥배지는 종균접종전 이미 멸균상태이기 때문에 여기서 나온 에로고스테롤은 표고균사에서 나온 것이라 할 수 있으며 이 물질의 함량변화는 표고균의 성장변화를 정량적으로 보여주는 것이다. 일평균 균사성장길이와 에로고스테롤 함량이 비슷한 경향을 보이는 것은 배지내의 균사생장이 양적으로 비슷한 경향으로 변한다는 것을 의미하므로 32mm 통기마개에서 표고균사의 균체량이 많아 졌다고 할 수 있다.

라) 표고 톱밥봉지배지 마개의 종류에 따른 버섯 발생량 비교

표고 자실체 발생기간(10월 14일~11월 11일)동안 배지 별 발생량은 상하 32mm천공에서 144.3g으로 가장 많았고, 하 15mm천공에서 14.4g으로 가장 적었다. 또한 상하 32mm천공에서 원기형성이 가장 빨랐다.

10mm, 15mm 같이 통기구멍이 작은 배지에서 상대적으로 발생량이 적었고, 45mm, 55mm 같이 통기구멍이 큰 배지에서 상대적으로 발생량이 많았는데 이는 마개 종류에 따른 갈변량과 같은 양상을 보였다. 또한 25mm와 32mm의 배지에서 발생량이 상대적으로 많았는데 마개 종류에 따른 일평균 군사성장량과 같은 양상 보였다. 이러한 결과 배지의 군사 성장과 갈변속도가 빠를수록 버섯 발생량 또한 많아진다고 할 수 있다. 이는 통기구멍이 클수록 통기가 잘 되고 산소의 공급이 원활하여 군사의 성장을 빠르게 해주며 공기중의 산소는 phenoloxidase와 같이 갈변화에 영향을 주는 효소들의 산화반응을 촉진시켜 갈변화를 빠르게 진행시키고(김영호, 1999)이에 따라 발생량도 증가한 것으로 생각된다. 하지만 이와 달리 상하 36mm천공과 상하 55mm천공은 41.8g과 67.8g으로 상대적으로 낮은 발생량을 보였는데, 이 배지들은 갈변화 또는 배양 도중 오염이 발생했던 배지들로 상하 55mm천공의 경우 갈변화 중 푸른곰팡이균에 의해 배지 바닥에 오염이 발생했었다.

2) 통기 구멍 크기가 톱밥봉지 배지내 산소와 이산화탄소 농도 변화 및 군사의 성장과 표고버섯발생에 미치는 영향

가) 군사 성장량과 배지 무게 및 배지내 산소와 이산화탄소 농도 변화

통기마개 교체 후 49일간 각 처리구별 표고군사의 생장은 하 32mm천공 마개에서 약 165.68mm, 하 36mm천공에서 약 163.68mm 성장하였으며, 하 20mm천공 마개에서 약 148.66mm로 가장 적게 자랐다(그림 17). 배지의 무게는 통기구멍의 크기순으로 하 36mm천공에서 약 90.27g, 하 32mm천공에서 약 80.94g, 하 25mm천공에서 약 70.19g, 하 20mm천공에서 약 61.90g, 그리고 기존 솜마개에서 53.59g 줄었다(그림 18). 표고군사의 생장은 하 32mm천공 처리에서 가장 좋았으며, 배지무게의 감소는 하 36mm천공 처리에서 80g이상 가장 많이 줄었다(그림 18). 이는 배지가 머물고 있는 수분이 통기구멍이 큰 하 36mm천공 처리에서 많이 소실되어서 그렇다고 생각된다.

배지내 산소 농도의 범위는 9~13%정도로 처리구 별로 유의적인 차이를 보이지 않았다(그림 19). 배지내 이산화탄소의 농도는 통기구멍의 크기가 가장 작았던 하 20mm천공 처리에서 높았다(그림 20). 따라서 통기구멍의 크기는 표고 군사가 성장하는데 산소의 공급역할 보다는 이산화탄소의 배출에 큰 영향을 준다고 생각된다.

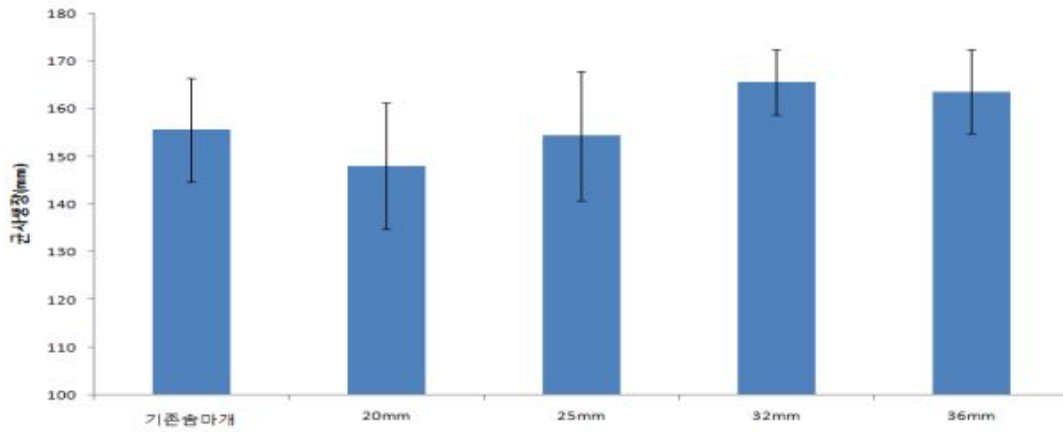


그림 17. 2011년 3월 10일~2011년 4월 28일 까지 표고톱밥봉지내 통기구멍크기별 표고균사 생장

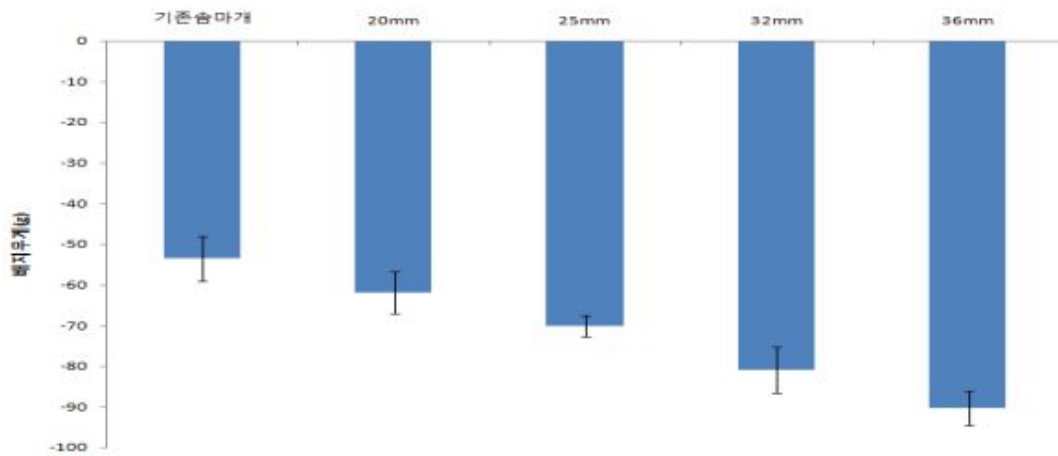


그림 18. 2011년 3월 10일 ~ 2011년 5월 19일 까지 통기구멍크기별 배지무게의 변화량

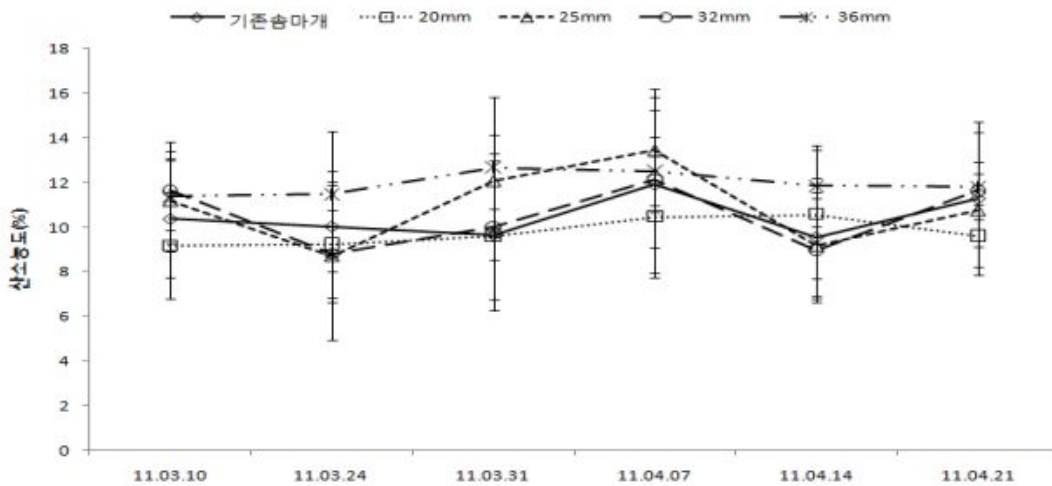


그림 19. 통기구멍크기별 표고톱밥봉지배지 내 산소농도의 변화

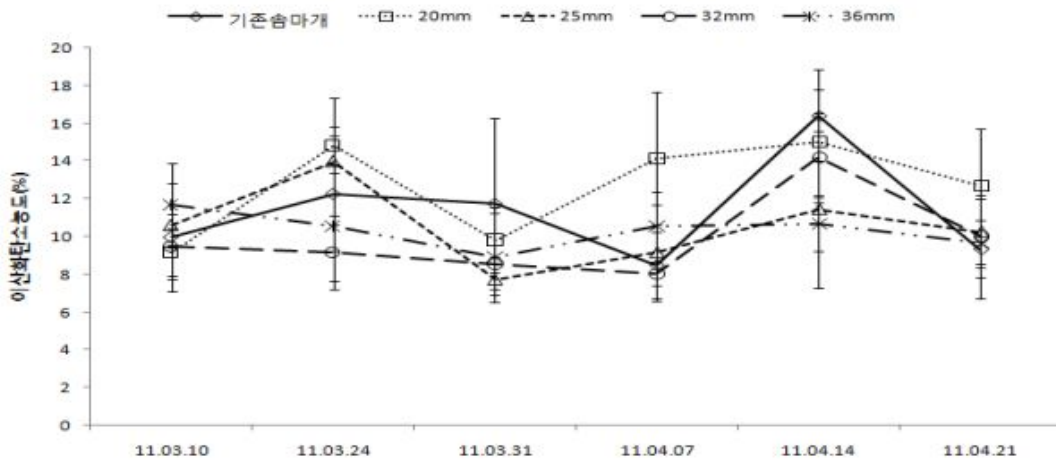


그림 20. 통기구멍크기별 표고톱밥봉지배지 내 이산화탄소농도의 변화

나) 배지별 표고 발생 특징

갈변 후 자실체 유도 결과 모든 처리구에서 원기가 발생 하였으며(그림 21), 상면 개봉일 이후 원기 발생시기가 가장 빠른 처리구는 하 32mm천공으로 개봉 후 약 14일이 소요되었다. 가장 느린 처리구는 기존숨마개와 하 20mm천공으로 개봉 후 약 34일이 소요되었다. 하 25mm천공과 하 36mm천공은 약 28일 후 원기가 발생하여 하천공의 크기가 하 25mm천공 이상인 처리구에서 원기 형성이 빠른 것을 알 수 있었다(표 6).

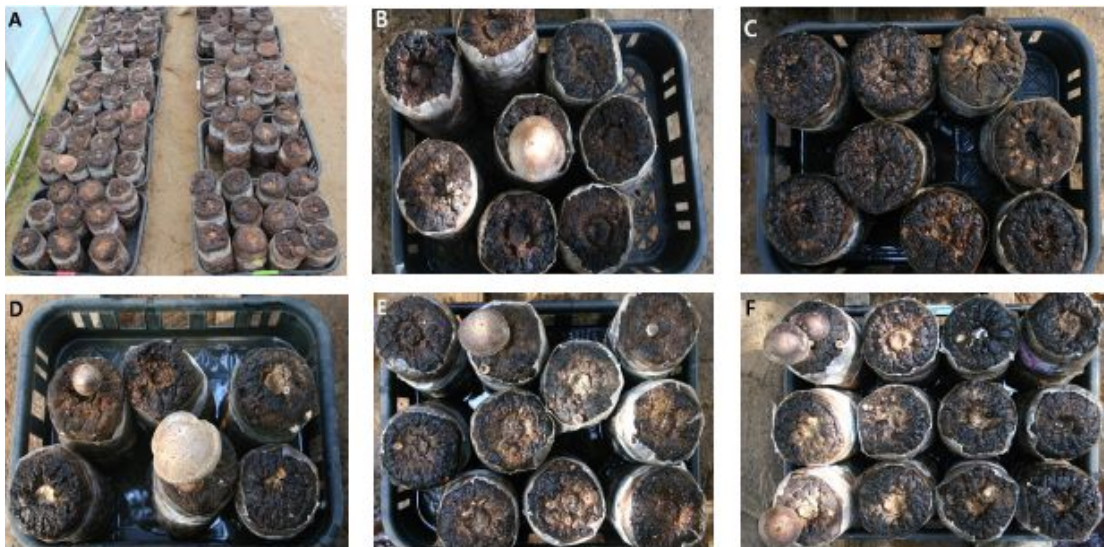


그림 21. 각 처리구별 발생된 자실체. A: 처리구 전체, B: 기존숨마개 처리구, C: 하 20mm천공 처리구, D: 하 25mm천공 처리구, E: 하 32mm천공 처리구, F: 하 36mm천공 처리구

표 6. 통기구멍크기별 비닐 개봉이후 원기 발생 시작 시기

처리	상면 개봉일	원기 발생일
기존숨마개		10월 4일
하 20mm천공		10월 4일
하 25mm천공	08월31일	9월 28일
하 32mm천공		9월 14일
하 36mm천공		9월 28일

각 처리구별 배지당 원기 발생 수는 하 25mm천공과 하 32mm천공에서 각각 약 3.07개와 약 3.0개로 가장 많았으며, 기존숨마개에서는 가장 낮은 약 1.53개가 발생되었다(그림 22).

각 처리구별 배지당 평균수확량은 하 32mm천공이 약 90g으로 가장 많았고 기존숨마개가 가장 적은 약 30g이었다(그림 23). 통계분석결과 평균 원기 발생수와 평균생산량에서 각각 2개의 집단군으로 분류가 되었으며 평균 원기수에서는 기존숨마개 와 하 32mm에서 가장 큰 차이를 보였고 평균생산량은 하 25mm와 하 32mm가 하나의 그룹으로 묶였고 기존숨마개와 하 20mm, 하 36mm가 나머지 그룹으로 묶였다(표 7).

표 7. 처리별 평균 원기발생수와 평균 생산량

처리	평균 원기수	평균 생산량(g)
control	1.53 ^A	30 ^a
하 20mm	2.69 ^{A,B}	18.46 ^a
하 25mm	3.07 ^B	88.61 ^b
하 32mm	3.0 ^B	90 ^b
하 36mm	2.28 ^{A,B}	48 ^a

* Duncan 평균원기수 : A,B , 평균생산량 : a, b

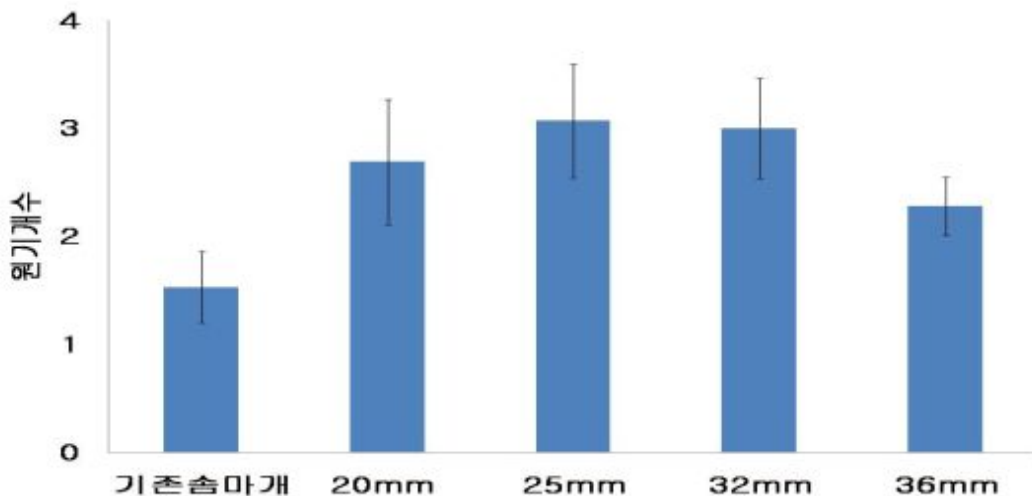


그림 22. 통기구멍크기별 배지당 평균 원기 발생 수

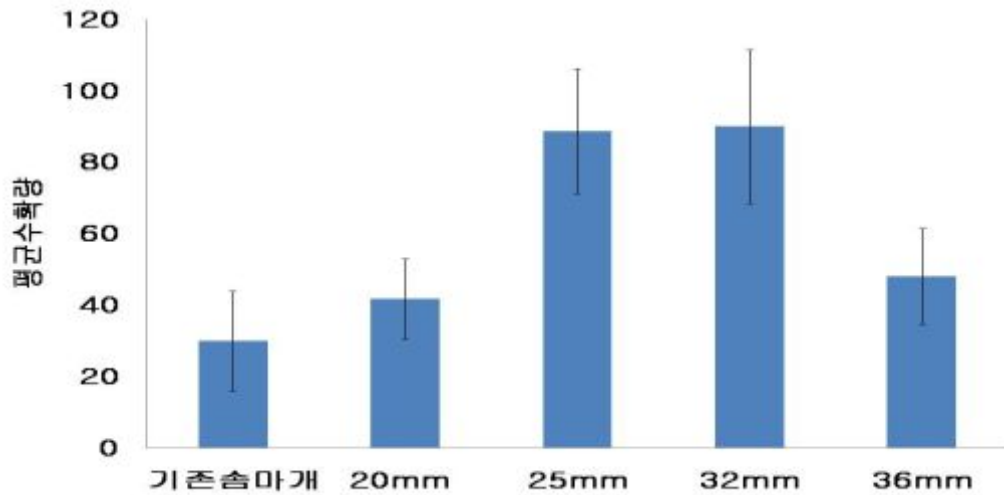


그림 23. 통기구멍크기별 배지당 평균 수확량

표고 톱밥 봉지 재배에서 하천공 마개 사용시 구멍이 하 20mm이하로 작으면 균사 생장 과정에서 이산화탄소의 농도가 너무 높아져 균사생장에 불리하고 하 36mm이상 크면 수분 증발이 많아 불리한 것으로 생각된다. 따라서 균사생장과 원기형성시기가 빠르고 발생수가 많은 하 25mm~32mm의 크기가 가장 효과적이라 할 수 있다. 재배 버섯중 팽이버섯과 큰느타리 버섯의 경우 재배에 적합한 용기로 병용량과 병구직경이 큰 것이 수확량 및 품질도 우수하여 (이대진 등, 2003 ; 山本, 1998) 본 연구와 결과와 유사하였다.

다) 배지내 균사층에서의 탄소와 질소함량과 Ergosterol 함량 비교

표고 원기 발생과 생산량이 가장 많았던 하 32mm 통기 마개 처리 배지와 원기 발생과 생산량이 가장 적었던 기존 숨마개 처리 배지의 배지 상면 균사층과 균사층 바로 아래 부분(그림 24)의 탄질율을 비교한 결과 탄소의 함량은 하 32mm 통기마개 처리 균사층에서 86.65%로 기존숨마개의 83.27%에 비하여 약 2.6%정도 많았으나 균사층 아래 부분의 경우 32mm 통기마개 처리에서 85.66%에 비하여 기존숨마개에서 86.47%로 약 0.8%정도 많았다. 질소량의 경우 두 처리 모두 균사층에서의 질소량이 균사층 아래 부분의 질소량보다 약 0.1%이상 많았다. 질소량이 가장 적은 부분은 균사층 아래 부분으로 약 0.12%이고 가장 많은 부분은 하 32mm 통기마개 처리의 균사층으로 0.25% 였다(표 8). 탄소대사와 질소대사를 통해 이용될 탄소원과 질소원의 비율은 버섯균의 생장과 발달 그리고 자실체 형성에 있어서 가장 기초가 된다. 양송이의 경우 많은 질소원을 요구하며 최적 C:N 비율은 17:1로 알려져있고 풀버섯은 75~80:1 이나 32~150:1에서도 비슷하게 자라며 표고나 느타리의 경우에는 원래 질소 함량이

0.03~1.0%정도로 아주 적은 나무재질에서 자라던 균이므로 350~500:1 정도 되는 기질을 선호한다(유영복 등, 2010). 본 연구결과 하 32mm통기 마개의 경우 균사층에서 탄소량이 균사층 아래 부분의 탄소량 보다 약 1%정도 적어 균사층 아래 부분에서 탄소분해 작용이 일어나고 있음을 알 수 있었고, 기존 솜마개의 경우 균사층의 탄소 양보다 균사층아래 부분의 탄소량이 적어 균사층에 비해 탄소분해작용이 덜 일어나는 것으로 나타났다. 질소량은 두 배지 모두 균사층에서의 양이 균사층 아래 부분에서의 양보다 많았다. 백색부후균은 부족한 경향인 질소원을 목재를 구성하는 세포중에서 획득하기 때문에 탄소원으로 필요로하는 양보다 상회해야만이 목재를 분해하고 있다고 생각하고 있다. 톱밥에 미강 등 질소함량이 높은 물질을 혼합함으로써 균사의 성장량이 증대함에도 불구하고 톱밥의 분해가 억제되는 것은 버섯의 생존전략이 원인일 수 있다(박용환, 1997)

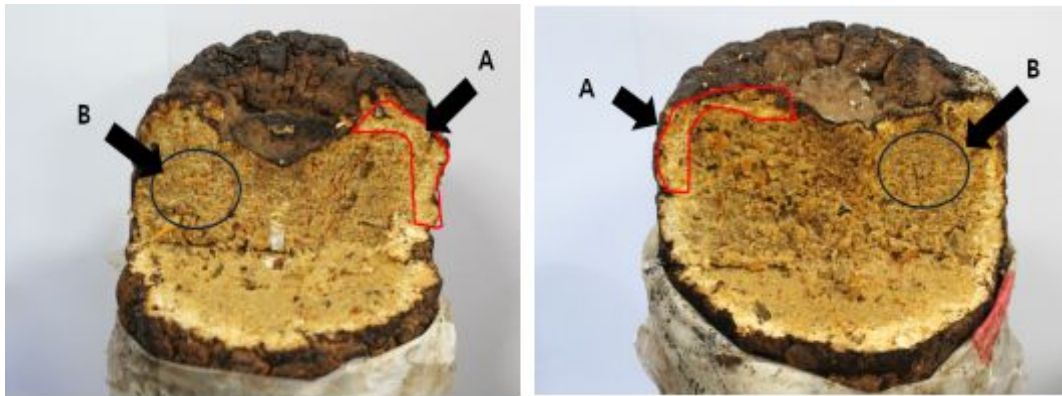


그림 24. 기존 솜마개 처리 배지의 단면(좌)과 하 32mm 통기 마개 처리 배지의 단면
A: 균사층 부분, B: 균사층 아래부분

표 8. 32mm 통기 마개 처리 배지와 기존 솜마개 처리 배지의 위치별 탄소, 질소 함량

시료명	C(탄소)	N(질소)	시료 채집위치	특징
하 32mm통기마개	86.65 %	0.25 %	균사층	원기와 자실체 모두 형성됨
하 32mm통기마개	85.66 %	0.15 %	균사층 아래	원기와 자실체 모두 형성 되지 않음
기존솜마개	83.27 %	0.24 %	균사층	원기와 자실체 모두 형성 되지 않음
기존솜마개	86.47 %	0.12 %	균사층 아래	원기와 자실체 모두 형성 되지 않음

두 배지의 위치별 에르고스테롤 함량 분석결과 하 32mm 통기 마개 처리배지에서는 균사층 부분과 균사층 아래부분의 에르고스테롤 함량은 약 100 μ g/g으로 큰 차이가 없었으나 기존 솜마개 처리배지에서는 균사층 부분이 약 50 μ g/g인 반면 균사층 아래 부분은 약 400 μ g/g으로

균사층에 비해 약 $350\mu\text{g/g}$ 가량 많았다(그림 25). 에로고스테롤은 살아있는 곰팡이의 균사 물질(Nylund and Wallander, 1992)이기 때문에 함량이 높을수록 균사의 활력이 높다고 할 수 있다. 따라서 하 32mm 통기 마개에서는 균사층과 균사층 아래 부분의 균사가 비슷한 활력을 가지고 있어 원기형성 활동이 왕성할 것이며 기존 솜마개의 경우 균사층에서의 에로고스테롤은 매우 적은 반면 균사층 아래는 매우 많아 원기가 형성되어야 할 균사층의 활력이 떨어져 원기형성 활동에 불리하고 이로 인하여 자실체 발생이 저조한 것으로 생각되나 자실체 발생의 근원이 되는 원기형성에 어떤 인자들이 관계되어 있는지는 향후 추가적인 연구가 더 필요할 것이다.

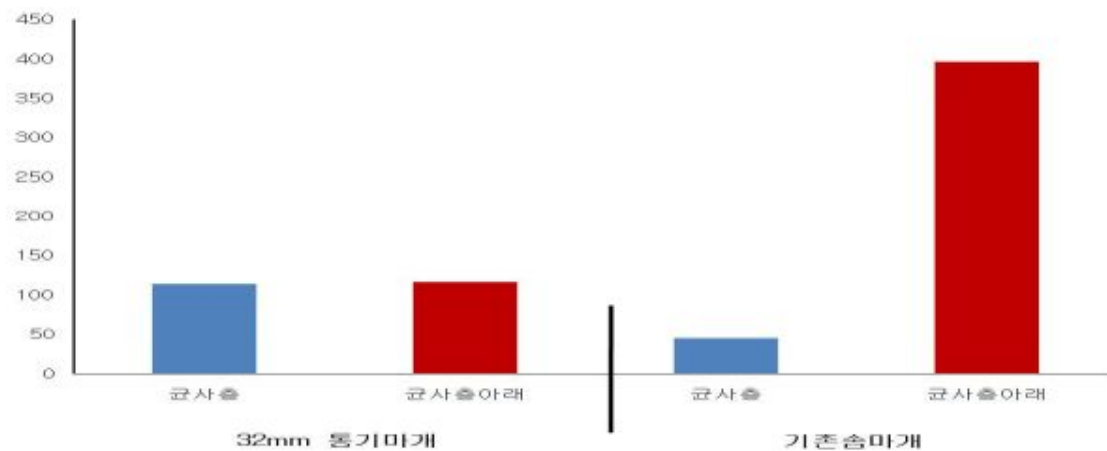


그림 25. 하 32mm 통기 마개 처리 배지와 기존 솜마개 처리 배지의 위치별 에로고스테롤 함량

3) 배지단면 관찰

갈변이 끝난 배지의 종·횡단면에서 모두 가장자리에 표고균사가 약 1~1.5cm 정도 하얗게 밀집되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 커터 칼을 이용하여 배지를 잘라보았을 때 갈변화된 부분, 용기 부분, 균사가 퍼지고 있는 부분 순으로 잘 잘라진다는 것을 알 수 있었다. 또한 배지의 용기 부분은 손으로 쉽게 떼어내 분리할 수 있었지만, 갈변화된 부분의 경우 손으로는 잘 부서지지 않았다. 원기는 표고균 밀도가 높은 곳에서 생성되었다(그림 26). 표고 균사는 산소를 많이 요구하는 호기성균으로(박동명 등, 2009). 배지 내부는 외부보다 상대적으로 산소와의 접촉이 어렵기 때문에 배지의 가장자리에 균사가 밀집되는 것으로 생각된다. 이것은 표고톱밥재배시 버섯이 배지의 측면에서도 발생하는 원인이라 생각된다.

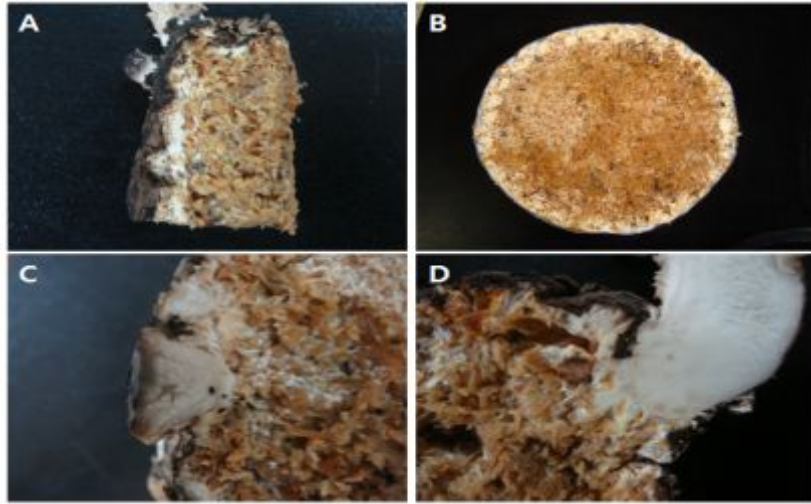


그림 26. A: 표고톱밥배지 종단면에서 표고균사, B: 표고톱밥배지 횡단면에서의 표고균사, C: 표고톱밥배지 가장자리 균사층에서 형성된 원기 단면, D: 표고톱밥배지 가장자리 균사층에서 형성된 자실체

4) 표고톱밥배지 배양 중 발생한 오염균

우리나라에서 표고 톱밥재배시, 가장 많이 문제가 되는 것은 *Trichoderma*와 *Penicillium*이며, *Trichoderma*는 전 재배기간에 걸쳐서 빈번하게 나타나는 반면에 *Penicillium*은 버섯발생 작업에 들어간 후 10°C이하의 저온에 노출되었을 때 주로 발생한다(박원철 등, 2006). 본 연구에서도 표고균사 배양 중에는 *Trichoderma*가, 저온처리 중에는 *Penicillium*이 발생하였다(그림 27). *Trichoderma*는 배양기 내의 온도가 30°C까지 올라간 7월에 급격히 발생하였으며, 이산화탄소 농도 측정을 위해 검지관을 찢어 넣었던 자리에서 주로 발생하였다. *Penicillium*은 자실체 발생을 위해 저온처리를 하는 중에 발생된 것으로 생각된다.

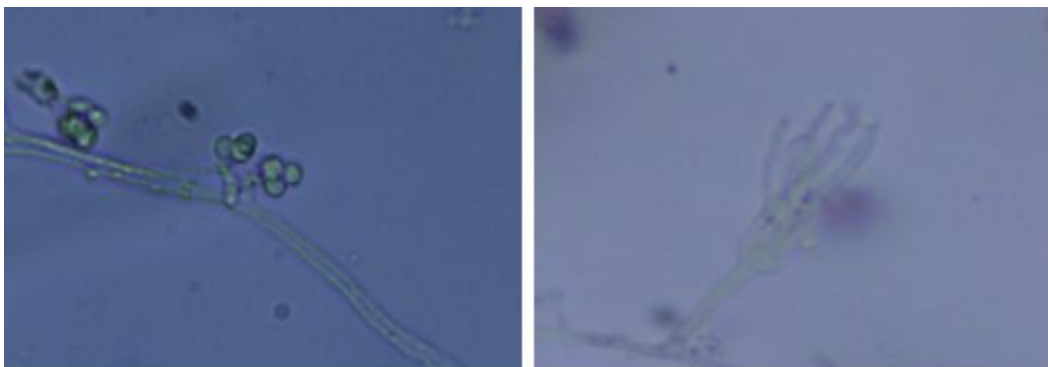


그림 27. *Trichoderma* 균사와 포자(좌), *Penicillium* 균사(우). ×400

(라) 표고버섯 톱밥종균에 의한 표고버섯 1.4kg 봉지 재배 요약

표고 톱밥 봉지 재배에서 종균배양시 배양온도에 따른 종균내 산소농도는 15℃에서 12%로 가장 높았으며 30℃에서 가장 낮은 9%로 배양온도가 낮을수록 산소농도가 줄어들었다. 또한 산소농도는 통기 구멍에 따라 기존 솜마개의 3%에 비하여 하 36mm와 하55mm에서 각각 6.5%, 5%로 증가하였다. 25℃ 항온기에서 배지 배양시 통기 구멍 크기에 따른 배양기간 중 평균 이산화탄소의 농도는 기존솜마개(27mm)에서 약 3.85%, 하 15mm천공에서 약 6.05%로 가장 높았고, 상하 5mm천공에서 약 3.64%로 가장 낮았다. 균사 생장은 기존솜마개(27mm)에서 약 2.35mm/day, 하 36mm천공에서 3.05mm/day로 가장 높았고, 상하 5mm천공에서 2.06mm/day로 가장 낮았다. 배지무게의 변화는 기존솜마개(27mm)에서 0.84g/day, 상하 45mm천공에서 1.76g/day로 가장 많이 감소하였으며 상하 5mm천공에서 0.55g/day로 가장 적게 감소하였다. 균사생장과 이산화탄소의 농도는 상관계수가 0.85이상의 강한 정적상관 관계가 나타났고 빠르고 지속적인 균사배양을 위해서는 15~25mm가 가장 효과적일 것이라 생각된다. 개선된 뚜껑을 이용한 재배사내 배지배양 및 발생에서 균사생장량은 32mm가 0.274/day로 가장 많았고 하 10mm천공에서 0.228/day로 가장 적었으며 36mm이상의 크기에서는 32mm에 비하여 생장이 느렸다. 갈변량은 55mm에서 0.472/day로 가장 높았고 기존 솜마개에서 0.336으로 가장 낮았다. 배지내 에르고스테롤 농도는 상하 32mm천공에서 약 0.4163 μ g/g으로 가장 높았다. 통기 처리에 따른 배지별 버섯 수확은 상하 32mm천공에서 144.3g으로 가장 많은 수확을 하였다. 하 천공 마개에 통기구멍의 크기만 다른 배지에서의 균사생장은 32mm에서 가장 많은 165.68mm이고 20mm에서 148.66mm으로 가장 적었다. 배지내 산소농도는 9~13%로 처리구별 유의성은 없었으나 CO₂ 농도는 20mm에서 가장 높았다. 원기발생일은 32mm가 발생처리후 14일로 가장 빨랐고 기존 솜마개와 20일가량 차이가 났다. 생산량도 배지당 평균 90g으로 30g인 기존 솜마개에 비해 3배가량 많았다. 따라서 표고 톱밥 봉지재배에서 배양기간 중 이산화탄소, 균사생장, 무게변화, 에르고스테롤의 농도 변화를 볼 때 최적의 통기구멍은 하 32mm천공 크기라고 생각된다.

제 5 절 각 품종 별 현장 적용 평가

1. 느타리버섯의 850ml 병 재배의 농가 실증 실험

가. 기존(Control)과 기존+상하 20mm천공 뚜껑의 실험

느타리 봉지재배의 농가실증 실험의 현장은 전북 김제시 금구면 용복리 710-2의 선인촌에서 실시하였다. 각각의 실험구는 60바구니(960병)의 규모이며 대조구인 기존 뚜껑에서는 관행적으로 재배해 온 방법에 따랐다. 개량 뚜껑에서는 배지원의 혼합에서도 양질의 질소원인 면실박을 사용하였고 접종위치도 상부와 중앙 타공 하부의 2곳에 접종하였다. 기존의 재배에서는 상부에만 접종하여 배양을 진행하였으며 배양이 완료되면 균상의 상부를 균긋기 하고 생육을 진행하였다. 특히 느타리는 배양진행 및 생육의 과정이 빠르게 진행하게 되고 다른 품종에 비하여 재배환경에 민감하게 반응하게 되므로 생육의 진행에서도 세심한 주의가 필요한 품종이다.

기존 뚜껑에서의 배지조성은 포플러 톱밥 23.0%, 비트펄프 28.7%, 면실박(중국산)11.5%, 면실피 36.8%이고 배지수분은 63%이었다. 접종에서 기존 뚜껑에서는 상부에만 16ml을 접종하였다.

기존+상하 20mm천공 뚜껑에서의 배지조성은 포플러 톱밥 24.4%, 비트펄프 30.5%, 면실박(호주산, 총 N 함량=42%) 6.1%, 면실피 39.0%이고 배지수분은 63%이었다. 개량 뚜껑에서는 상부와 중앙 타공 하부의 2곳에 16ml을 접종하였다.

느타리 배양 중의 배양실의 온도는 21~22℃를 유지하였고, 상대습도는 75~55rF%로 유지하였다. 배양 중의 배지내부에서의 최고 온도는 32~34℃를 나타내었다. 표기하지 않은 내용은 전술의 실험내용과 같다.

나. 기존+상하 20mm 천공 뚜껑에서의 상하 2곳 접종 효과



Fig. 1. 기존+상하 20mm천공 뚜껑에서 상부 표면과 중앙 타공 하단에 접종 효과

Fig. 1. 사진에서와 같이 통기성을 개선한 뚜껑구에서는 접종 위치를 상부 뿐만 아니라 중앙

타공 하부에도 접종하여 기존 뚜껑에서의 상부에만 접종하였을 경우 보다도 특히 하부에서의 균사배양이 빨리 진행되는 효과를 얻을 수 있었다.

다. 느타리 850ml 병 재배에서의 수량의 요약

느타리 850ml병 재배에서 1주기와 2주기 동안의 자실체 평균 수량을 비교해 보면 기존 (Control=100%) 뚜껑구에서는 평균 145g/병이었고, 기존+상하 20mm천공 뚜껑에서는 배양기간도 1-2일은 단출할 수 있었을 뿐만 아니라 수량에서도 평균 171g/병을 수확하여 기존 뚜껑 대비 기존+상하 20mm천공 뚜껑에서 118%로 자실체가 증가되었다.

2. 느타리버섯의 950g 봉지 재배의 농가 실증 실험

가. 1차 겨울철 배양된 느타리 봉지 재배 실험

느타리 봉지재배의 농가실증 실험의 현장은 전북 김제시 봉남면 행촌리 550-3의 으뜸농산에서 실시하였다. 1차의 겨울철 배양의 농가 실증에서 대조구(6바구니의 49개 봉지)와 상하 28mm 천공구(467개 봉지)에서의 평균 수량을 비교하였다. 평균 습중량이 봉지당 $960 \pm 42g$ 이다. 면실박은 중국산으로 총 N원 함량이 36%이고, 1바구니에 9봉지씩을 담아서 상압살균(100℃)을 실시하였다. 접종은 돼지 꼬리형 분사 노즐(Spiral spray nozzle)로 상부 표면과 가운데 타공 중앙부의 2부위에 동시 접종하였다. 본 내용에서 별도의 언급이 없는 것은 이전의 서술과 같다. 1차 실험의 접종일 1월 26일이었다. 수확은 접종 이후부터 26일째~29일째이었다. 사용된 뚜껑은 Fig. 2에서와 같이 뚜껑의 선발실험에서는 -1형과 같으며, 농가 실증실험에서는 개량 뚜껑-2형으로 진행하였다.



Fig. 2. 기존 코튼볼 삽입된 뚜껑과 개량된 뚜껑의 도식



Fig. 3. 1차 농가 실증 실험으로 겨울철 배양된 느타리 봉지 재배에서의 자실체 발이 및 생육 실

Fig. 3과 같이 겨울철의 배양실에 유입되는 공기의 상대 습도가 낮음과 상대적으로 배지 상

부에서의 배지 수분이 많이 증발되어, 봉지의 하부측에서 자실체가 많이 발생하는 현상이었고, 여름철에 배양된 실험에서는 위와는 반대로 입구 쪽에서 상대적으로 많이 배양체가 많았다.



Fig. 4. 기존 코튼볼 삽입된 대조구와 개량 상하 28mm 실험구에서의 자실체 형태

접종 후 소요 일 수 (일)	26일째	27일째	28일째	29일째	수확량 백 분율 (%)
수확 일 수(일)	1일째 누 적 수확 중량	2일째 누 적 수확 중량	3일째 누 적 수확 중량	4일째 누 적 수확 중량	
기존 코튼볼 삽입된 대 조구의 평균 수량(g)	188	193	182	147	100.0
상하 28mm 천공구의 평균 수량(g)	260	237	220	195	132.7

Fig. 5. 1차 겨울철 배양 농가 실증 실험에서 기존 코튼볼 삽입된 대조구와 상하 28mm 천공구의 누적된 평균 수량(g)/봉지

Fig. 5의 자료는 기존 코튼볼 삽입된 대조구와 개량된 상하 28mm 천공구에서의 누적 수량은 첫 수확 일에 대하여 점진적으로 감소하는 경향이였다. 각각의 실험에 사용된 봉지 수량은 기존 코튼볼 삽입된 대조구의 수량이 49개 봉지, 상하 28mm 천공구의 수량이 467개 봉지에서 평가하였다.

Fig. 6 표에서와 같이 기존 코튼볼 삽입에 의한 배양은 배양 중의 세포내 영양원의 축적이 약하므로 생육이 늦어져 격일로 자실체를 수확해야하는 양상으로 자실체의 생육이 느린 반면, 상하 28mm 천공구에 의한 배양은 배양 중의 세포내 영양원의 축적이 원활하였으므로 매일매일 자실체를 수확하고 정(正)의 정규분포곡선 양상으로 수확이 이루어졌다.

	1일째 수확	2일째 수확	3일째 수확	4일째 수확
기존 코튼볼 대조구의 일별 수확봉지 비율(%)	12.2 %	30.6 %	18.4 %	38.8 %
상하 28mm 천공구의 일별 수확봉지 비율(%)	17.3 %	29.8 %	33.4 %	19.5 %

Fig. 6. 1차 겨울철 배양 농가 실증실험에서 기존 코튼볼 삽입된 뚜껑의 대조구와 상하 28mm 천공구에서의 수확 일 별 수확 비율(%)

	1일째 수 확 비율	2일째 수 확 비율	3일째 수 확 비율	4일째 수 확 비율
기존 코튼볼 대조구의 누적 수확 비율(%)	30.6 %	42.9 %	61.2 %	100.0 %
상하 28mm 천공구의 누적 수확 비율(%)	29.8 %	47.1 %	80.5 %	100.0 %

Fig. 7. 1차 겨울철 배양 농가 실증실험에서 기존 대조구와 개량 상하 28mm 천공구에서의 일 별 누적된 수확 봉지 비율(%)

	1일째 수확		2일째 수확		3일째 수확		4일째 수확		수확 평균 품질	
비율(%)	상품	중. 하품	상품	중. 하품	상품	중. 하품	상품	중. 하품	상품	중. 하품
상품 비율	80.0		93.3		33.3		10.5		49.0	
중하품 비율		20.0		6.7		66.7		89.5		51.0

Fig. 8. 1차 겨울철 배양 농가 실증 실험에서 기존 코튼볼 삽입된 대조구의 수확 일 별 평균 적인 품질 평가 및 전체적인 평균 품질 평가

Fig. 7에서 기존 코튼볼 삽입된 대조구에서는 3일째의 누적된 수확된 병의 수가 상대적으로 떨어져 개량형 실험구보다는 자실체 생육이 느렸다. Fig. 8에서 기존 코튼볼 삽입 뚜껑구의 상품성은 수확 초기에 기형 및 수량이 적었으나 시간이 지연되면서 점차로 상품성이 높은 비율로 수확이 되었고 1주기에서의 상품과 중하품의 비율 = 49(%) : 51(%)의 비율로 상품성이 저하되었다. 이는 배양 중의 통기 부족으로 인하여 특히 배양 대수기 정점을 지날 때에 배양기 내부의 산소 부족으로 인하여 세포 내의 생리 대사 활성이 정지 또는 지연되었기 때문이다.

Fig. 9에서 상하 28mm 천공구에서의 수확량은 기존 코튼볼 삽입된 뚜껑에 비하여 월등히 많았을 뿐만 아니라 수확 첫 날부터 상품성의 비율이 현저히 높았고 수확 후기에 중하품의 비율이 상대적으로 높아졌다. 이는 배양 중의 배양실의 건조나 배지 가운데 타공의 무너짐 등의 영향으로 판단되었으며 전체 품질의 상품과 중하품의 비율 = 73.2(%) : 26.8(%) 비율로 상품성이 현저히 좋은 것으로 나타났다.

	1일째 수확		2일째 수확		3일째 수확		4일째 수확		수확 평균 품질	
	상품	중. 하품	상품	중. 하품	상품	중. 하품	상품	중. 하품	상품	중. 하품
상품 비율	97.5		96.4		77.6		12.1		73.2	
중하품 비율		2.5		3.6		22.4		87.9		26.8

Fig. 9. 1차 겨울철 배양 농가 상하 28mm 천공구에서의 수확 일 별 평균적인 품질평가 및 전체적인 평균 품질 평가

	코튼볼 삽입된 대조구의 상품과 중하품의 비율(%)	상하 28mm 천공구인 실험구의 상품과 중하품의 비율(%)
수확평균 상품비율	49.0	73.2
수확평균 중하품비율	51.0	26.8

Fig. 10. 1차 겨울철 배양 농가 실증실험에서 코튼볼 삽입된 대조구와 상하 28mm 천공구에서의 (1주기) 상품과 중하품의 자실체 비율(%)

Fig. 10에서 기존 코튼볼 삽입된 대조구의 4일간 수확에 의한 전체의 상품성 : 중하품의 비율 = 49(%) : 51(%)의 비율로 대조구에서 현저히 낮게 나왔으며 상하 28mm 천공구에서의 4일간 수확에 의한 전체의 상품성 : 중하품의 비율 = 73(%) : 26.8(%)로 상품성이 현저히 양호하게 나타났다.

나. 2차 여름철 배양된 느타리 봉지 재배 실험

2차 실험의 여름철에 배양에서 봉지의 수량은 17,000봉지에 대하여 평가하였다. 배지 중에서 면실박은 호주산 총 N원 함량은 42%를 사용하였다. 접종일은 2011년 7월 28일부터 8월 3일까지이다. 배지의 평균 습중량이 평균 990±34g/봉지, 수확은 접종 이후부터 22일째~30일째였다. 개선된 실험구의 배양은 21~22℃에서 16~17일 동안 배양하였고 접종 후 수확기간은 22~30일(최대 30일)이 걸렸다. 대조구는 1차 실험의 조건과는 달리 대조구(54개 봉지/6바구니)를 기존의 저온 배양 방식에 의하여 17℃의 낮은 배양 온도이며, 배양 기간은 21~23일 동안 배양하고 생육 기간은 12일간 진행하여 접종 후 수확 기간은 31~35일째(최대 35일)이 걸렸다.

실험구에서의 수량은 대조구에 비하여 단순 비교상으로도 15.7% 이상 증수 되었다. 특히 코튼볼 삽입된 대조구는 수확 이후의 선별에서는 수량 감소가 확연하게 많아져 품질의 저하가 확연하였다. 2차에서 각각의 실험(기존 코튼볼 삽입된 뚜껑과 개량된 상하 28mm 천공구)에서 자실체가 잘 나올 수 있는 배양 조건의 온도에서 배양된 재배사 효율성은 접종 후 수확 완료 시점까지의 총 재배 일 수를 고려할 때에 총 재배 효율 생산성의 향상은 14.3%이고, 배양 기간만을 고려할 때 배양실 효율 생산성은 26.1%에 달하였다.(총 재배 기간의 단축에 따른 재배사의 효율 향상율 (%) = {100 - [(30일/35일)*100%]} = 14.3%}. 배양 기간의 단축에 따른 배양

실의 효율 향상율 (%) = {100 - [(17일/23일)*100%]} = 26.1%



Fig. 11. 2차 농가 실증 실험으로 여름철 배양된 느타리 봉지 재배에서의 자실체 발이 및 생육 실

Fig. 11.에서 극단의 겨울철/여름철의 특이한 점에서 물론 측면 중간에서도 고르게 생육되는 자실체도 있었지만 자실체의 발이 및 생육 위치에 있어서 상대적이기는 하나 1차 겨울철 배양에는 건조 증상이 심하여 배지의 하부 측면에서 발이가 왕성한 경향이었고, 2차의 여름철 배양에는 비교적 공기 중의 상대 습도가 많은 상태로 유지하여 배양이 진행된 관계로 인하여 상부 측면에서 발이 및 생육이 좋았다(사진 참조). 또한 1차 겨울철 실험의 개량구에서는 배양 온도 22~23℃에서도 호흡 반응에 지장이 없이 버섯을 생산할 수 있었지만 기존의 코튼볼 삽입(직경 15mm * 깊이 15mm)된 구에서는 동일 배양 조건에서도 배양의 속도가 지연되었을 뿐 만 아니라 초발이의 상태가 아주 불균일하였고 생육 중에 자실체가 자라더라도 갖의 기형 현상이 극심하였으며 자실체의 수량도 적었고 품질도 중.하품의 비율이 상대적으로 많았다. 이에 반하여 실험구인 상하 28mm 천공구에서는 배양실의 배양 온도를 21~22℃를 유지하여 냉동기의 가동을 줄일 수 있었고 고품질 및 다수확을 하면서도 접종부터 수확까지의 기간(특히 배양기간 단축)을 월등하게 줄일 수 있었다. 또한 영양 생장기인 배양 온도(21~22℃)와 생식 생장기인 생육 온도(14~16℃)의 온도 차이를 크게하여 초발이의 균일성도 확보할 수 있었다. 평균적으로 배양실의 온도를 같게 설정한다 하더라도 외기의 온도 및 습도의 영향으로 (본 겨울철 서술 내용에서와 같이) 겨울철에 배양될 경우에는 접종 후 26~29일 사이에 수확이 이루어지고 있었고 (추후의 여름철 재배 서술 내용에서와 같이) 여름철에 배양될 경우에는 접종 후 23~27일 사이에 수확이 이루어지는 등의 효과를 확인할 수 있었다.

농가 실증 실험에서는 그림에서와 같이 개량뚜껑-2형이며 통기구의 지름은 28mm에서 실시되었다. 기존 코튼볼 삽입된 뚜껑과 개량된 상하 28mm 천공된 실험구의 수확일 수와 총 참여 봉지 수에 대한 총 출하 박스의 생산량에 대한 평균수량(g)/봉지) 요약 (배양 조건은 각각 다름, 즉 대조구는 배양 온도 17~18℃, 실험구는 배양 온도 21~22℃, 생육 조건은 실험구와 동일함)

봉지배지에 중균 접종 후 소요일수(일)	23 일 째	24 일 째	25 일 째	26 일 째	27 일 째	28 일 째	29 일 째	30 일 째	31 일 째	32 일 째	33 일 째	34 일 째	35 일 째	평균수량 (g)/봉지
대조구 수확 일 수(일)									1 일 째	2 일 째	3 일 째	4 일 째	5 일 째	대조구 평균수량 (g)/봉지 (비율%)
기존 코튼볼 삽입 대조구 의 평균수량 (g)/1봉지	특히 뚜껍의 통기불량으로 배양 온도를 낮게 설정해서 호흡반응 속도를 완화시키고 배양기간을 길게 유지해야 자실체 수확이 가능								<----->					252.6g (100.0%)
1단위 접종된 실험구 수확 일 수(일)	1 일 째	2 일 째	3 일 째	4 일 째	5 일 째	6 일 째	7 일 째	8 일 째	17846봉지/실험구					실험구 평균수량 (g)/봉지 (비율%)
상하 28mm 천공구의 평 균수량(g)/1 봉지	<----->								2609박스/2kg					292.4g (115.7%)

Fig. 12. 2차 여름철 배양된 기존 코튼볼 삽입된 뚜껍과 개량된 상하 28mm 천공된 실험구의 수확일 수와 총 참여 봉지 수에 대한 총 출하 박스의 생산량에 대한 평균 수량(g)/봉지 요약

Fig. 12.에서 대규모 농가 실험에서는 개별적인 봉지의 평균 수량을 구할 수 없었으므로 총 매출된 박스를 기준으로 작성하였다. 본 표에서와 같이 농가 실증 대규모 실험구에서 소규모의 실험과 크게 다르지 않았으나 수확 기간은 다소 늘어난 경향이였다. 기존 코튼볼 삽입 대조구의 평균 수량이 252.6g(100%)/봉지였으며, 상하 28mm 천공구의 평균 수량이 292.4g(115.7%)/봉지로 자실체 증수 효과는 15.7%를 보였다. 전년도의 동일한 배양 조건에서의 코튼볼 삽입 대조구와 각각의 실험군 사이의 결과는 대조구의 100% 기준 대비 증수 효과가 무려 163%로 나타났다.

5일 동안 수확된 전체 평균 수량은 대조구와 상하 28mm 천공구에서의 평균 수량은 봉지당 각각 평균 252.6g와 292.4g의 중량을 나타내었다. 대조구 및 실험구 모두에서 처음에 수확되는 봉지의 평균 수량이 높았으며 늦게 수확이 이루어지는 봉지는 전반적으로 평균 수량이 저하되었다.

출하 일	출하 횟수	일별 출하 박스(2kg) 수량	일별 매출액 (단위/천원)
8월23일	1st	43	312.0
8월24일	2nd	87	580.6
8월25일	3rd	122	806.4

8월26일	4th	278	1,769.7
8월27일	5th	96	595.2
8월28일	6th	358	2,360.3
8월29일	7th	506	2,966.6
8월30일	8th	271	1,561.0
8월31일	9th	303	1,899.0
9월01일	10th	269	1,560.4
9월02일	11th	116	826.5
9월03일	12th	160	740.0
총 박스 수량과 매출 총계		2,609 개/박스(2kg)	15977.7(천원)

Fig. 13. 2차 여름철 배양 농가 실증 실험에서 개량구인 상하 28mm 천공구를 사용하여 생산된 매출 박스(2kg)

Fig. 13.에서 2차 여름철 배양 농가 실증 실험에서 개량구인 상하 28mm 천공구를 사용하여 생산된 매출 박스(2kg)는 총 2609박스이며, 이의 매출로 인한 총 매출 금액은 15,977,000원 이었다. 본 연구에서는 기존 코튼볼 삽입 뚜껑을 기준으로 개량 뚜껑의 실험구에 대한 수량 증수를 기준으로 작성하였다. 버섯을 출하할 때에 날개의 자실체 작업을 하지 않아도 되는 균일한 품질을 유지하는 것이 관점이며, 본 결과에서와 같이 봉지의 측면 절개에 의한 자실체의 생산 방법에서 발이된 유효 개체수 모두를 생육할 배양이 이루어진다면 자실체의 탈락 현상이 거의 발생되지 않으므로 꽃송이 작업(덩어리 작업)으로 수확할 때에 작업 효율성이 아주 높게 되어 생산 중의 인건비를 줄일 수 있었다.

다. 느타리 봉지 재배의 농가 실증 실험 결과의 요약

겨울철에 배양되었을 때와 여름철에 배양되었을 때에 봉지 측면 발이를 유도할 경우 겨울철 배양에는 하부 측의 밑둥에서 상대적으로 많이 발이되고, 여름철 배양에는 뚜껑 부위 쪽의 상부 측에서 상대적으로 많이 발이되고 있었다.

기존 코튼볼 삽입된 대조구 뚜껑에서는 기형 자실체의 비율이 많았고 개량 상하 28mm 실험구에서는 비교적 상품성의 정상 자실체의 비율이 많았다.

1차 실험에서는 배양조건을 동일하게 진행하여 봉지당 평균 자실체 중량이 기존 대조구에 비하여 실험구에서는 147g(100.0%)과 195g(132.7%)으로 단순 비교에서도 32.7%의 수량의 증수 효과가 있었다. 또한 기존 코튼볼 삽입 뚜껑구의 평균적인 상품과 중하품의 비율 = 49(%) : 51(%)의 비율로 상품성이 낮았지만, 상하 28mm 천공구에서의 수확량에서 전체 평균적인 품질은 상품과 중하품의 비율 = 73.2(%) : 26.8(%) 비율로 상품성이 현저히 좋은 것으로 나타났다.

2차 실험에서는 배양조건을 각각 다른 조건(대조구는 배양 온도 17~18℃에서 배양 기간은 21~23일 동안 배양, 실험구는 배양 온도 21~22℃에서 배양기간은 16~17일 동안 배양을 실시하여 봉지당 평균 자실체 중량이 252.6g(100.0%) 과 292.4g(115.7%)으로 15.7%가 증수되었다. 또

한 2차 실험에서는 대조구와 실험구에서 자실체가 잘 나올 수 있는 배양 조건의 온도에서 배양된 재배사 효율성은 접종 후 수확 완료 시점까지의 총 재배 일 수를 고려할 때에 총 재배 효율 생산성의 향상은 14.3%이었다. 따라서 총 재배 기간을 고려한 재배사의 효율 향상율과 자실체 증수 효과를 합하면 30%(증수 효과 15.7% + 총 재배사 효율 14.3%) 정도의 생산 효과와 함께 품질의 증가도 확인되었다. 이와는 별도로 배양 중의 냉동기의 가동을 줄임으로 발생한 에너지 절감 효과는 19% 이상이고, 에너지 절감 측면에서의 배양기간의 단축의 효과는 22.7~26.1%에 달하고 있다. 또한 수확시의 자실체의 날개 작업을 하지 않고 자실체 송이(덩어리째 포장)작업으로 인건비를 절감할 수 있었다.

3. 새송이버섯의 1100ml 병 재배의 농가 실증 실험

새송이버섯 1,100ml병 재배의 농가실증 실험의 현장은 전북 김제시 금구면 용복리 710-2의 선인촌에서 실시하였다. 실험구의 수량은 대조구 뚜껑 사용은 11바구니(176병)이고 하 29mm천공 뚜껑 사용은 26바구니(416병)으로 진행하였다. 통상의 액체중균으로 상부에만 16ml씩 접종하였고 배양실의 이산화탄소농도는 1000ppm이하로 관리하였다. 배양기간 중의 배양온도는 접종 후 17일까지는 22℃, 18일부터 21일까지는 19℃, 22일부터 36일까지는 22℃로 유지하였고 상대습도는 75~55rF%로 유지하였다. 배양기간은 36일이었다. 생육 중의 자실체의 속기 작업은 실시하지 않았다.

가. 새송이버섯 1100ml 병의 배양 중의 일별 이산화탄소 농도

배양기간 중의 배양병 내부에서의 일별 이산화탄소 농도의 형태는 Fig. 14.와 같다. 그림에서와 같이 비통기성 무스폰지 뚜껑인 대조구에서는 최대 12%의 이산화탄소 농도를 보인 반면 하 29mm천공 뚜껑을 사용한 실험구에서는 9%의 낮은 농도를 보여 개량구에서는 대조구에 비해 산소의 공급이 원활하였다.

나. 접종 후 19일째 겉보기 배양 진행 상황

상부만의 접종으로 병 내부의 이산화탄소 농도가 차이가 있었지만 병 외측에서의 배양 진행 상태는 특이 사항이 없었고 겉보기 배양 상태만으로는 개량 뚜껑의 효과를 평가할 수는 없었다.



Fig. 14. 새송이버섯 배양 19일째의 겉보기 배양 진행 상태

새송이 1100cc병의 35일간 배양 중의 병 내부의 이산화탄소 농도 측정

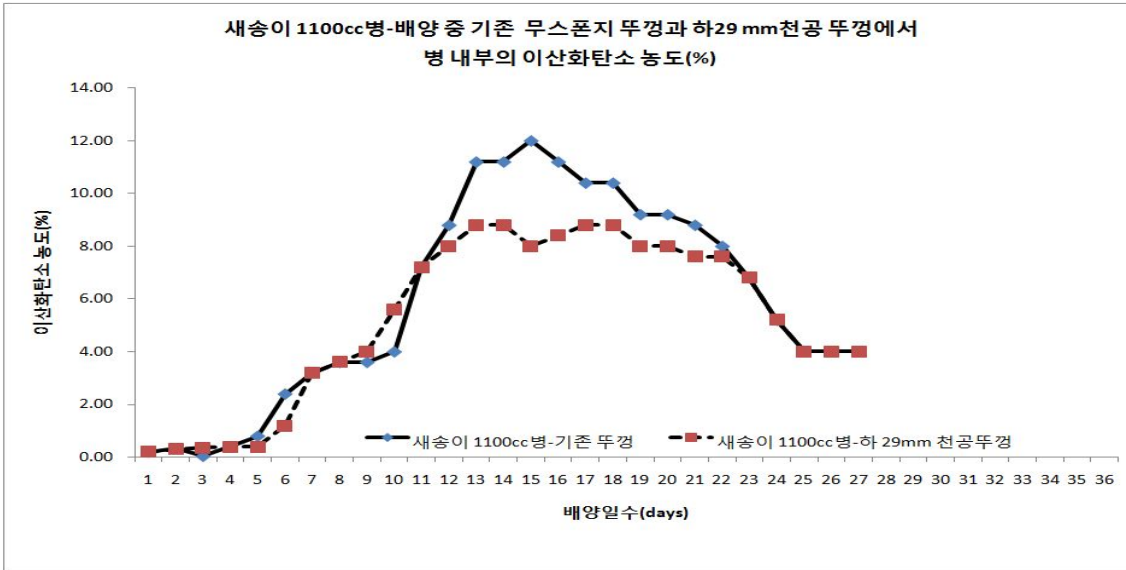


Fig. 15. 새송이 버섯의 배양 중 일별 이산화탄소 농도 기록

겉보기 배양상태는 특이할 만한 배양 차이를 보이지 않았지만 기존 무스폰지 뚜껑과 하 29mm 천공 뚜껑에서 확연한 차이를 나타내었다. 기존 무스폰지 뚜껑은 배지 상부의 수분을 잘 유지하지만 이산화탄소를 실시간을 배출하고 산소의 유입을 하는 데에 장애를 주고 있음을 확인할 수 있었다.

다. 배양 종료 후의 병 내부의 배지 상부의 수분 측정

배양 종료시에 병 내부의 배지 상부의 수분량은 별다른 차이가 없는 정도로 미미하여 발이에는 영향을 주지 않는 상태였다.

라. 수확 시점에서의 수확병의 정상과 비정상 자실체의 비율(%)

기존 무스폰지 뚜껑구에서는 정상적으로 수확한 비율이 31.3%로 낮았고 속기 작업을 하지 않아 발이량이 많아서 전반적으로 상품가치가 유지되지 못하는 비정상 수확 병의 비율이 68.8%로 높았다. 하지만 하 29mm 천공 뚜껑구에서는 정상적으로 수확한 비율이 81.3%로 훨씬 높은 비율을 나타내었다. 배지상부의 수분량의 차이와 배양상태에 따라 적절한 배양조건에 따라 다발이 어린 자실체의 속기 작업을 실시하지 않더라도 생육이 가능할 수도 있음을 확인하였다.

	배양종료 후의 배지 상부의 수분량(%)	배양종료 후의 배지 상부 수분의 비율(%)
기존 무스폰지 뚜껑	67.2	100.0
하29mm 천공 뚜껑	65.6	97.6

Fig. 16. 배양종료 후의 배지상부의 수분량 측정

	정상 수확 병(%)	비정상 수확 병(%)

기존 무스폰지 뚜껑	31.3	68.8
하29mm 천공 뚜껑	81.3	18.8

Fig. 17. 새송이버섯 자실체의 수확시점에서의 평가 비율(%)

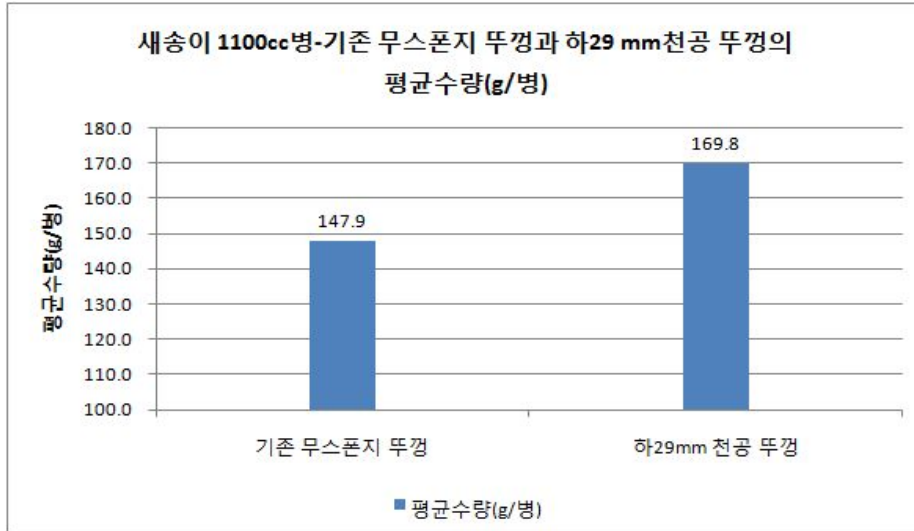


Fig. 18. 새송이버섯 수확 후 평균 자실체 수량(g/병)

마. 접종 후 50일째에 배양기간 중 병 내부 이산화탄소 농도 측정한 병의 자실체 크기

전반적으로 기존 무스폰지 뚜껑구에서는 자실체가 많이 발이되어 모두 생육시키기 때문에 자실체의 줄기가 작았고 시간이 지남에 따라 갓이 상대적으로 많이 커지게 되어 비정상적인 수확이 이루어졌고 평균 수량 또한 낮았다.

바. 1바구니의 접종 후 49일째 자실체 크기

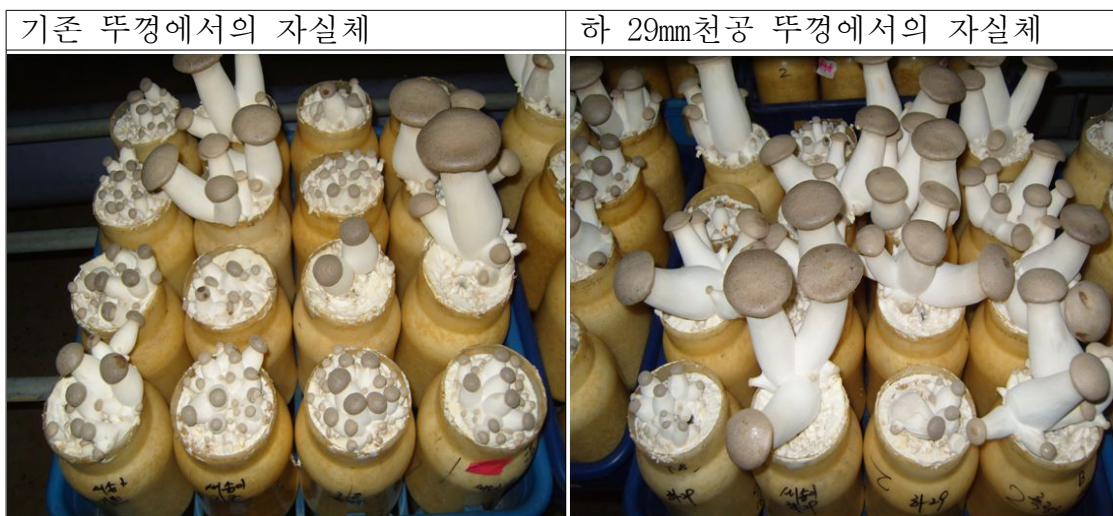


Fig. 19. 접종 후 49일째의 대조구와 하 29mm천공 뚜껑에서 자실체 비교

사. 새송이버섯 농가 실증 평가 요약

배양실은 상대적으로 입병 수량이 적은 상태에서 진행되었고, 배양 중간 시기에 배양 온도를 낮게 관리하여 배양 대수기를 완화시켜 진행하였고 배양 병 내부의 최대 이산화탄소 농도는 기존 무스폰지 뚜껑과 하 29mm천공 뚜껑에서 각각 12%, 9% 정도로 차이를 나타내었지만 배양 종료시에 배지 상부의 수분은 거의 같은 수준으로 유지되어 발이에는 영향이 없을 것으로 판단되었다.

통상적인 새송이 자실체 숙기 작업을 실시하지 않은 상태에서 자실체의 수량은 대조 뚜껑에 비하여 하 29mm천공 뚜껑에서 일찍 수확이 이루어졌으며 정상적인 수확 병의 비율은 대조 뚜껑에서 31.3%이고 하29mm 천공 뚜껑에서 81.3%로 훨씬 더 많았고, 생육 초기에 자실체의 숙기 작업이 없이 진행된 실험에서 수량의 상대적인 비율은 대조구(100%)에 비하여 114.8%로 수량이 증가되었고 정상적인 자실체의 수확이 가능하였다.

4. 팽이버섯의 1100ml 병 재배의 농가 실증 실험

팽이 1100ml 병 재배의 농가실증 실험의 현장은 전북 김제시 금구면 용복리 710-2의 선인촌에서 실시하였다. 각각의 실험구는 30바구니(480병)의 규모로 실시하였으며, 기존 뚜껑은 무스폰지 비통기성 뚜껑을 사용하고 실험구는 하 29mm천공 뚜껑을 각각 사용하였다. 배지 조성은 포플러 톱밥 24.4%, 비트펄프 30.5%, 면실박(호주산, 총 N 함량=42%) 6.1%, 면실피 39.0%이고 배지수분은 63%이었다. 개량 뚜껑에서는 상부와 중앙 타공 하부의 2곳에 16ml를 접종하였다.

배양기간 중의 배양온도는 접종 후 9일까지는 22℃, 10일부터 18일까지는 19℃, 19일부터 33일까지는 22℃로 유지하였고 상대습도는 75~55rF%로 유지하였다. 배양기간은 34일이었다. 표기하지 않은 내용은 전술의 실험내용과 같다.

가. 팽이버섯 1100ml 병의 배양 중의 일별 이산화탄소 농도

배양기간 중의 배양병 내부에서의 일별 이산화탄소 농도의 형태는 Fig. 20.와 같다. 그림에서와 같이 비통기성 무스폰지 뚜껑인 대조구에서는 최대 11.2%의 이산화탄소 농도를 보인 반면 하 29mm천공 뚜껑을 사용한 실험구에서는 6.5%의 낮은 농도를 보여 배양중의 산소의 공급이 대조구에 비하여 원활하였다. Fig. 21.에서와 같이 배양기간 중에 배양병 내부에서 일별 측정된 이산화탄소 농도의 누적량은 대조구에 비하여 하 29mm천공 뚜껑에서 낮게 나타나 개량구에서의 통기는 대조구에 비하여 훨씬 잘 되었음을 알 수 있다.

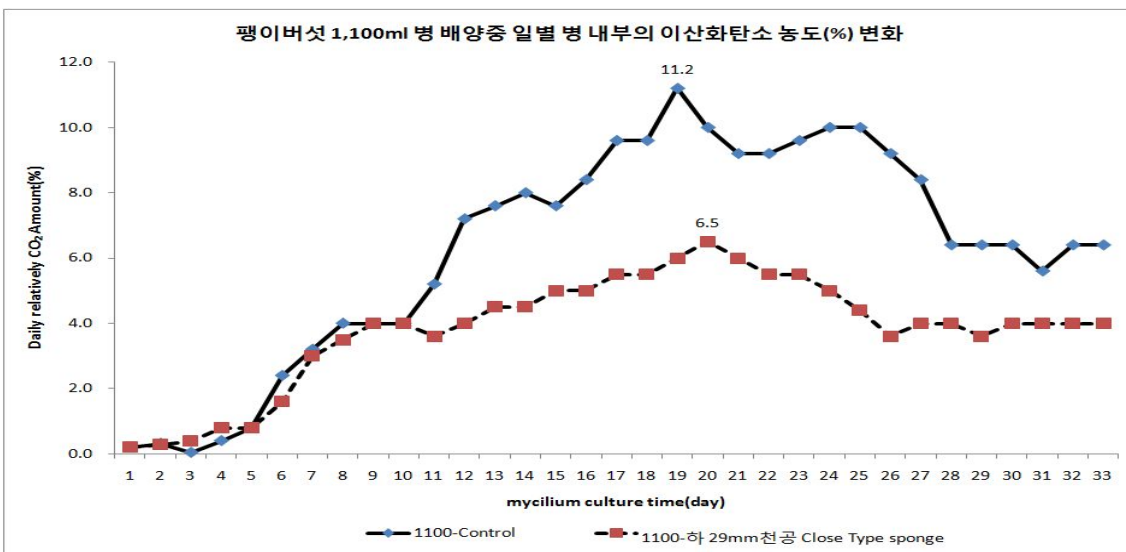


Fig. 20. 팽이버섯 1100ml 병 배양 중 일별 병 내부의 이산화탄소 농도변화(%)

	1100-대조	1100-하 29mm천공 Close Type 스폰지
배양 중 병 내부의 누적 이산화탄소 농도(%)	207.00	109.10

Fig. 21. 팽이 1100ml병의 배양중 배양병 내부의 누적 이산화탄소 농도(%)

나. 배양종료 후의 병 내부의 배지 상부의 수분 측정

배양 종료시에 병 내부의 배지 상부의 수분량은 무스폰지 비통기형 뚜껑인 대조구에서 68.0%이고 하 29mm Close 스폰지 삽입 뚜껑에서 68.1%로 별다른 차이가 없는 정도로 미미하여 발이에는 영향을 주지 않는 상태였다.

	1100-대조	1100-하 29mm천공 Close Type 스폰지
배양 종료 후 병 내부의 배지 상부의 평균 수분(%)	68.0	68.1

Fig. 22. 팡이버섯 1100ml 병 배양 종료시 균상 상부의 배지수분(%)

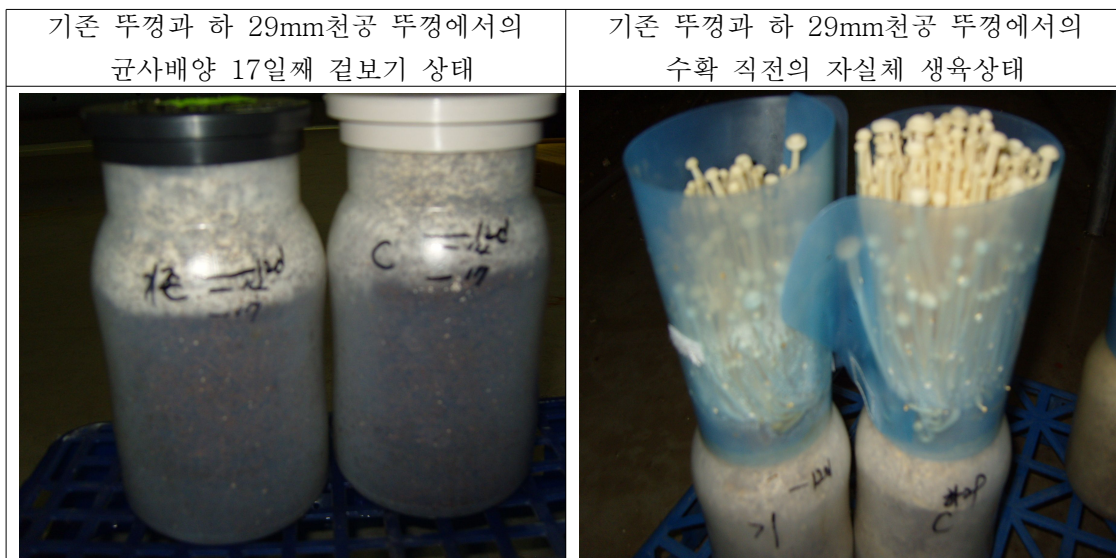


Fig. 23. 팡이버섯 배양 17일째 기존 뚜껑과 하 29mm천공 뚜껑에서의 겉보기 배양상태와 수확 직전의 자실체 생육상태

다. 팡이 1100ml의 평균수량(g/병)과 평균 수량의 비율(%)

팡이버섯 자실체의 수확에 있어서 대조구는 226.5 ± 6.9 (g/병)의 평균 수량이었고, 하 29mm 천공 뚜껑에서는 270.2 ± 2.7 (g/병)의 평균 수량을 수확하였다. 이는 대조구의 수량에 대하여 19%의 증수효과를 확인하였다.

	평균수량(g)/병	평균수량의 비율(%)
1100cc-Control	226.5 ± 6.9	100
1100cc-하 29mm천공 Close Tpye 8mm sponge	270.2 ± 2.7	119

Fig. 24. 팡이 1100ml의 평균수량(g/병)과 평균 수량의 비율(%)

라. 팽이버섯 농가 실증 평가 요약

대규모 농가실증 실험에서 대조구에 비하여 하 29mm천공 뚜껑 실험구에서 배양기간 동안의 이산화탄소 농도의 원활한 배출에도 불구하고 배양 종료시의 균상 상부의 수분은 대조구와 비슷한 상태를 유지하여 발이에 영향을 주지 않으면서도 배양중의 산소공급은 실험구에서 원활하였다. 최종적으로 자실체의 수량에 있어서도 대조구에 비하여 개량 하 29mm천공 뚜껑에서 19%의 증수 효과를 확인하였다.

제 6 절 뚜껑관리(폐 스폰지 교환 자동화 기기 연구)

1. 뚜껑의 필터교환기기 개발 내용

뚜껑의 설계 및 도안을 함에 있어서 사용 중 필터의 교환이 인력으로는 감당할 수 없는 작업량이 문제가 되어 농가 현장에서 기피하게 된 결정적인 사항이다. 필터삽입의 뚜껑이 오염을 방지하기에 용이하나 뚜껑의 중간에 삽입된 필터의 교환이 어려우므로 현재는 대부분의 농가에서 무필터 뚜껑을 사용하면서 균사 배양 온도를 최대한 억제하여 배양에 임하고 있다. 기본적으로는 기존의 사용 중인 뚜껑은 구조적인 결함으로 인하여 기계적인 적용이 어려운 구조이다. 뚜껑의 역할은 오염이 되지 않고, 통기는 원활하며, 배지상부의 수분은 가급적 배출하지 않음으로써 영양생장기에서의 호흡작용을 왕성하게 유지하는 구조가 좋다. 기존에 사용하고 있는 병 크기에서 병입구의 크기에 따라 지름이 65mm, 70mm, 75mm, 80mm, 85mm의 뚜껑을 사용하고 있었으며 뚜껑을 생산하는 회사마다 약간의 구조적인 차이가 있으므로 본 실험의 설계상 어려움이 있었다.

한편 기계적인 필터교환이 가능하면서도 배양 중의 호흡반응이 원활하도록 하기 위하여 다양한 변수 등에 대하여 고려되어야 한다. 이 중에서 가장 중요한 것으로는 기계적으로 폐 필터를 교환하기 위하여 천공 통기구를 뚜껑 지름의 가운데에 형성함으로써 드럼에 설치된 갈고리로 뚜껑의 상부덮개와 하부를 분리하는 회전형 방식이 가장 적합하게 고려되었다. 따라서 폐 스폰지 교환 자동화 기기 개발, 덮개 분리 장치로 세분된 도면을 작성하게 되었고 이의 도면을 기반으로 기계장치를 제작하여 부분적인 핵심부의 기능을 확인하고 운전 작동에 성공하였다. 인력에 의한 폐 필터의 교환에서 가장 많은 시간을 요하는 것으로는 뚜껑의 상부덮개와 하부결합체를 분리하는 것이었으므로 통기성 뚜껑의 구조를 변경하여 적절한 동작이 되도록 설계하였다. 하지만 폐 스폰지 교환 자동화 기기 개발에는 다음과 같은 일련의 연속적인 과정이 필요하며 시간에 적합하도록 광 센서 등을 통하여 지연된 시간과 통과되는 물체를 감지한 연동적인 작업이 되도록 통제 시스템의 완성과 새로운 필터의 주입방식과 제단 그리고 제단된 필터가 하부의 결합체에 안착하도록 하고 뚜껑의 상부덮개가 하부 결합체와 정 위치에 오도록 하는 자리매김 방식선정 등, 결합 전의 분리된 쌍이 다시 함께 결합되도록 하는 등의 문제를 포함하여 결합되어야 할 부분이 각각 제 위치에 자리를 잡아서 압착에 의한 부서짐을 방지하도록 고안해야 하는 연구가 필요하였다.

2. 폐 스폰지 교환 자동화 기기 개발 공정 개요

가. 폐 스폰지 교환의 일련의 순서도

- (세척 : 치화화수소)
 ↓
- 정열 및 탈착 : (4-8만개/일)
 ↓
- 폐 스폰지 제거 및 분류(뚜껑 상 하)

정열기로 뚜껑 상. 하 폐 스펀지 분리 기능 자동화

다음 항의 [도면 1-11]의 그림은 폐 스펀지 교환 중 뚜껑의 상하분리 장치인 덮개 분리 장치에 대하여 CAD 작업의 도면을 나타내었다.



○ 스펀지 투입 및 압착 공정 자동화

ㄱ) 뚜껑 상.정열+뚜껑 하.정열=>콘베어

ㄴ) 스펀지 원단 재단과 동시 압착



○ 병 뚜껑 속의 부드러운 속지 끼우는 기계 설비로 가능



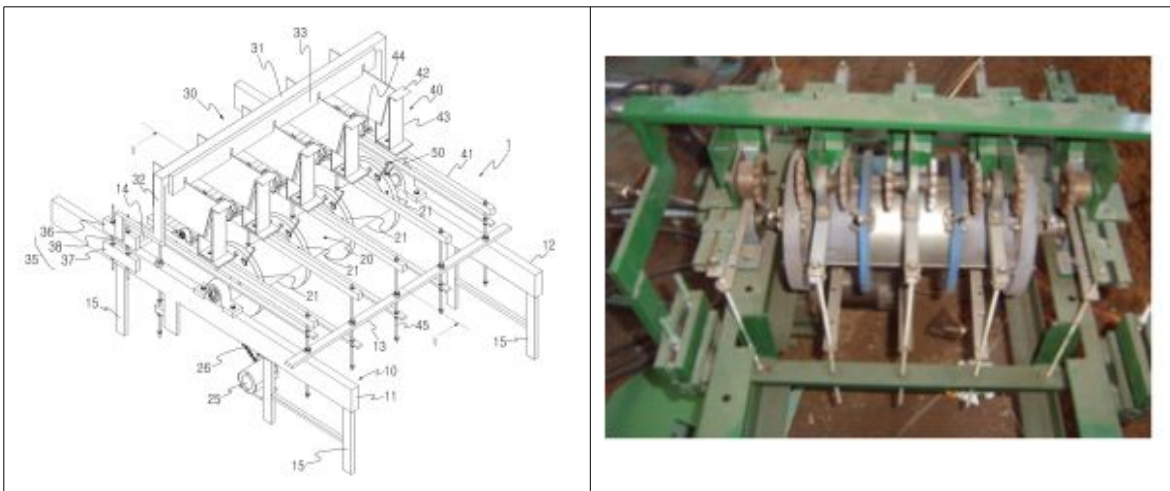
○ (카운트 중량 표준화)

나. 덮개 분리 장치 도면(대한민국 특허 제 10-1052724 호)

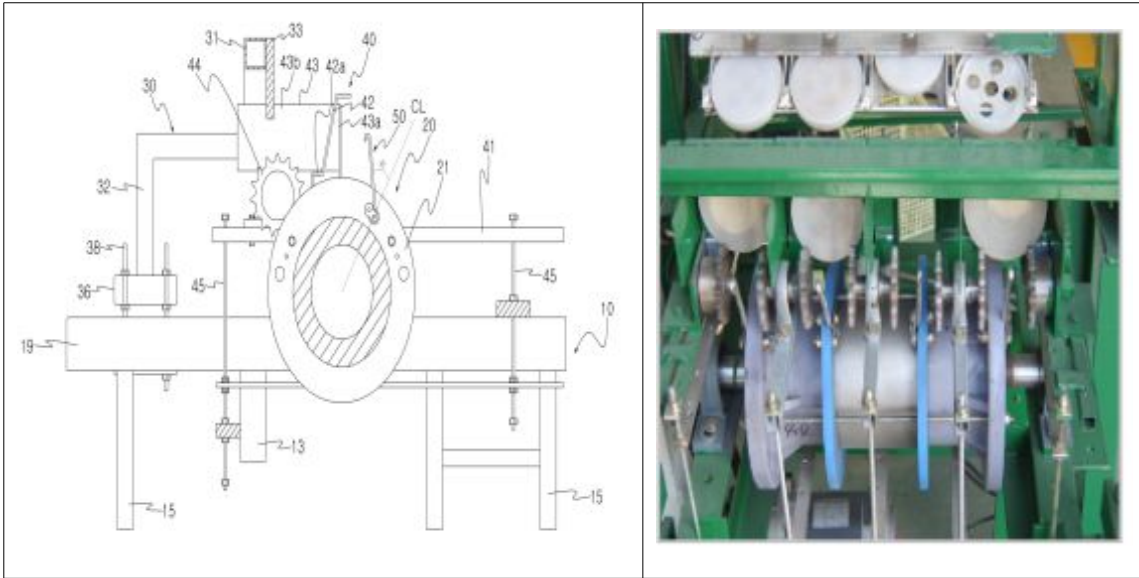
위 스펀지 교환공정의 6단계 중의 일부인 폐 스펀지 제거 및 분류 장치에 대한 도면이며 이를 토대로 덮개분리장치를 완성하였다.

다음 항의 [도면 1-11]의 도면과 도면을 바탕으로 한 관련 부품의 사진으로 정열기로 뚜껑 상 하 폐 스펀지 분리 기능 자동화기기 관련하여 CAD 작업의 도면이다.

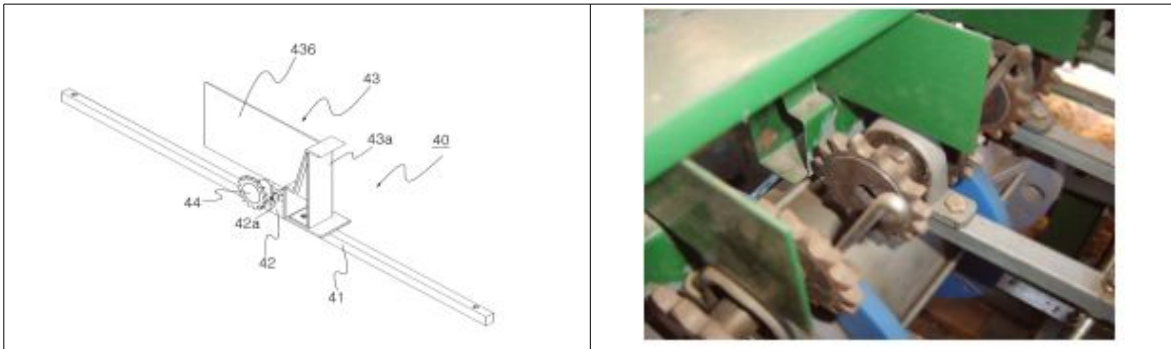
[도면1]



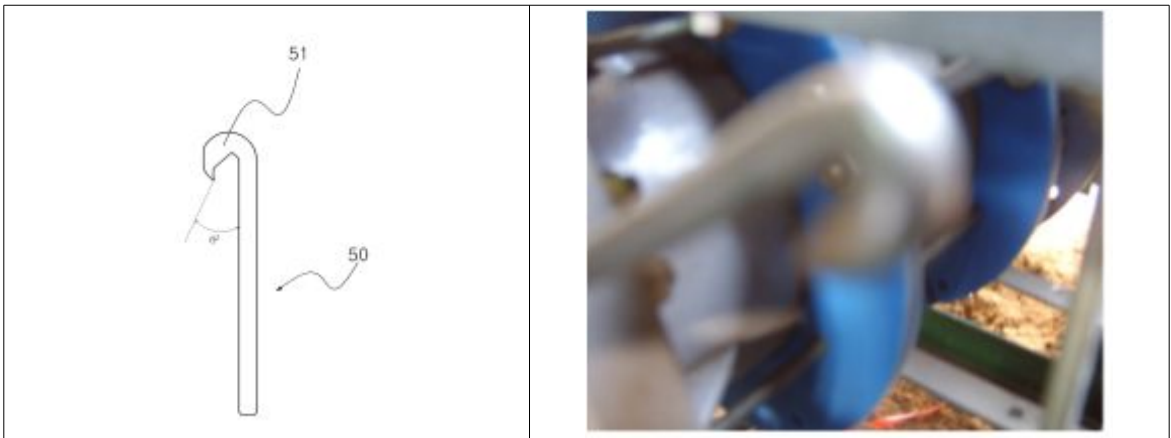
[도면2]



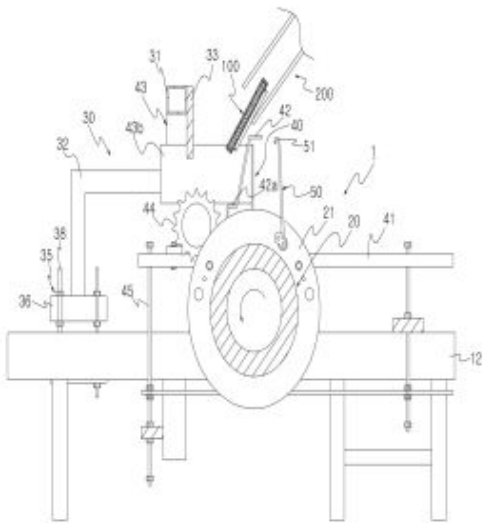
[도면3]



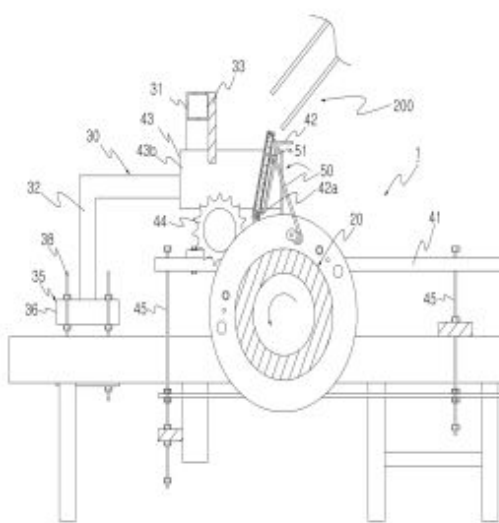
[도면4]



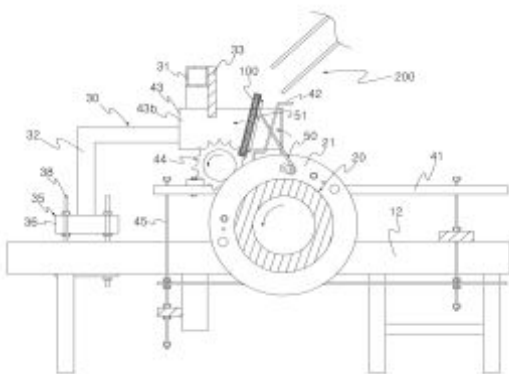
[도면5]



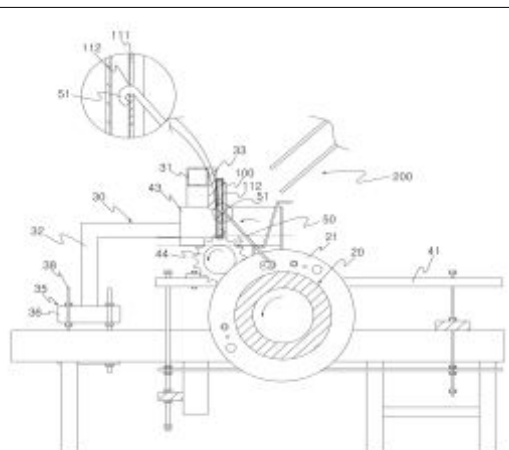
[도면6]

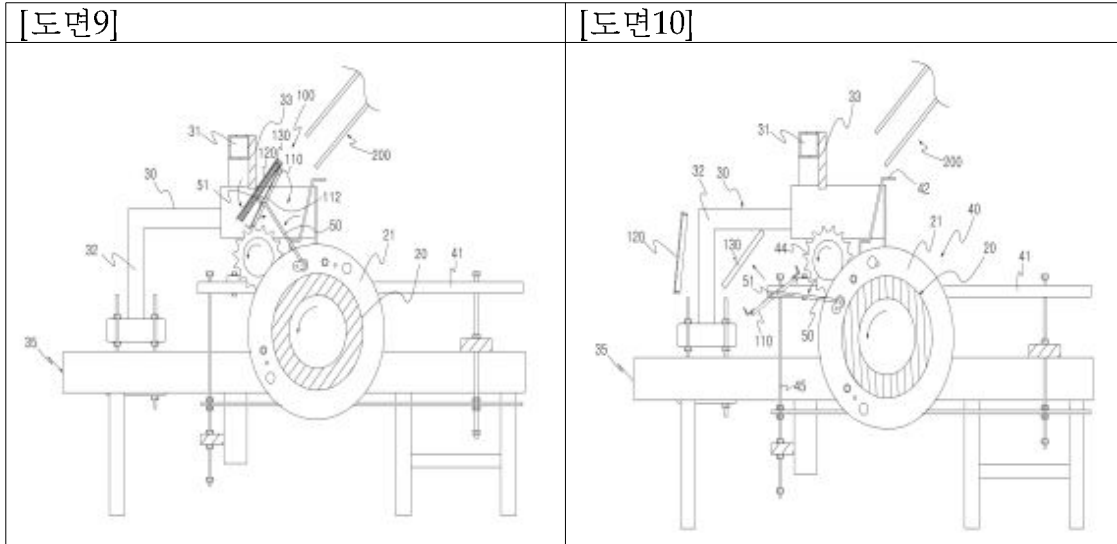


[도면7]

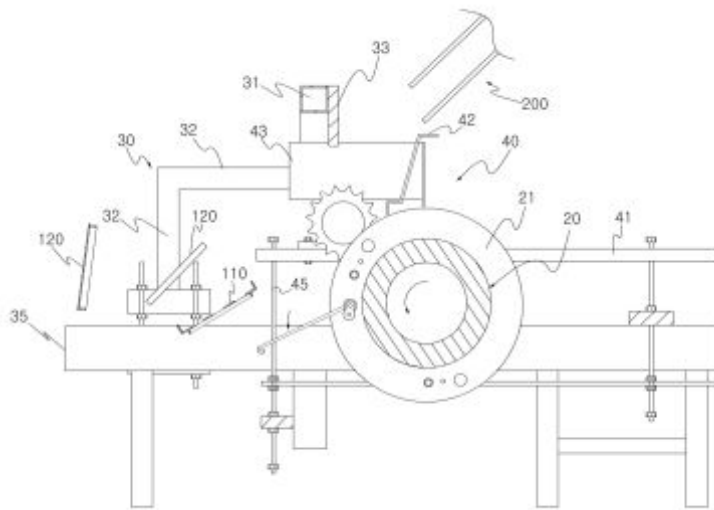


[도면8]





[도면11]



다. 폐스폰지 교환공정의 각 단계에서의 개선

1. 정열 : 정열기를 제작하여 해결이 가능하며 정열과정 전에 세척시스템의 도입이 가능하지를 연구하였다.
2. 탈착 : 규격별 뚜껍의 크기가 여러 종류이므로 표준화를 요하며, 그 동안 14가지 실험 결과에 따라 살균 중의 소독액이 뚜껍으로 들어가지 않도록 설계하고, 필터삽입으로 오염을 차단하고, 최적의 통기를 유지하고, 배지수분은 과도하게 증발이 되지 않도록 하는 등의 조건을 충족하면서도 기존의 기계화 시스템에 적합하고도 통기성이 적절하고 또한 사용 중에 침습된 필터의 교환작업에 적합하도록 하는 뚜껍으로 사출 제작되어야 한다. 특히 한번 결합된 상부덮개와 하부결합체가 다시 결합되도록 하는 것으로 재사용에서의 분리되는 불량을 줄인다.
3. 분리 : 현재 제작된 상부의 덮개와 하부결합체의 분리는 원활하나 그 사이에 존재하는 폐스폰지의 분리 작업에서 20-25%의 재작업을 처리해야하는 문제가 발생되었다. 따라서 이와 같이 재 작업율을 줄이기 위하여 폐스폰지 분리 방법에서 진공처리방법과 풍압방법에

대하여 비교 연구를 진행하였다.

4. 재정열 : 뚜껑은 현재 개발된 장치를 이용한 정열 기계로 작업이 가능하나, 상부 덮개는 당분간 수작업으로 진행해야하는 수준으로 개발되었다.
5. 스폰지 투입 : 스폰지의 자체 탄력(팽창 등)의 원인에 의하여 기계적인 개발보다는 수작업으로 해결하는 것이 원가절감요소로 사료되었다.
6. 압착 : 뚜껑을 이루는 3개 부분을 결합하는 단계로 뚜껑+스폰지+덮개는 매우 중요한 마무리 공정이다. 압착시 정 위치에서 벗어난 불량 압착으로 정상품과 섞일 경우 농가의 작업능률에 많은 지장을 초래하므로 확실한 압착 방법이 필요하므로 개선책을 강구하였다.

라. 폐 스폰지 교환 자동화 기기 개발의 요약

스폰지 교환 공정 (폐 스폰지 교환)의 순서는 (세척) -> 정열 및 탈착 -> 폐 스폰지 제거 및 분류(뚜껑 상 하) 정열기로 뚜껑 상. 하 .폐 스폰지 분리 기능 자동화 -> 스폰지 투입 및 압착 공정 자동화. ㄱ) 뚜껑 상.정열+뚜껑 하.정열=>콘베어 ㄴ) 스폰지 원단 재단과 동시 압착 -> 병뚜껑 속의 부드러운 속지 끼우는 기계 설비로 가능 -> (카운트 중량 표준화) 과정을 통하여 구현할 것으로 설계되었다.

인력에 의한 폐 필터의 교환에서 가장 많은 시간을 요하는 것으로는 뚜껑의 상부덮개와 하부를 분리하는 것이었으므로 가장 어려운 기계장치에 대하여 그리고 통기성 뚜껑의 구조를 변경하면서까지 적절한 동작이 되도록 설계하였다. 하지만 폐 스폰지 교환 자동화 기기 개발에는 다음과 같은 일련의 연속적인 과정이 필요하며 시간에 적합하도록 광 센서 등을 통하여 지연된 시간과 통과되는 물체를 감지한 연동적인 작업이 되도록 통제 시스템의 완성과 새로운 필터의 주입 방식과 제단 그리고 제단된 필터가 하부의 결합체에 안착하도록 하고 뚜껑의 상부덮개가 하부 결합체와 정 위치에 오도록 하는 자리매김 방식선정 등, 결합전의 분리된 쌍이 다시 함께 결합되도록 하는 등의 문제를 포함하여 결합되어야할 부분이 각각 제 위치에 자리를 잡아서 압착에 의한 부서짐을 방지하도록 고안해야 하는 연구가 필요하였다.

3. 덮개판 선별 장치

가. 본 장치 개발의 필요성 및 의의

버섯재배에 사용되는 뚜껑은 [도 26], [도 27]과 같이 결합체 사이에 오염을 방지하기 위하여 필터가 들어가는 공간이 필요하며 삽입과 탈착을 위하여 덮개부위-필터-하부결합체로 이루어져 있다. 덮개는 장기간 사용시 내부 수납된 필터의 투과성이 저하되어 용기 내부의 온도 및 습도 조절이 곤란하게 되며, 세균 서식이 용이해 오히려 필터가 용기 내부를 오염시키는 주 오염원이 될 수 있기 때문에 필터를 주기적으로 교체하는 것이 요구된다.

본 발명은 덮개판 선별 장치에 관한 것으로서, 좀 더 상세하게는 덮개를 이루는 제1 덮개판과 제2 덮개판을 서로 분리시킨 후, 혼합된 상태로 분리된 제1 덮개판과 제2 덮개판을 자동 선별할 수 있도록 하는 덮개판 선별 장치에 관한 것이다.

덮개는, 도 26 및 도 27에 도시한 바와 같이, 제1 덮개판에 제2 덮개판이 끼워져 서로 결합되고, 제1 덮개판과 제2 덮개판 사이에 다공질성의 필터를 수납하기 위한 수납 공간을 갖도록 구성된다. 더욱이, 덮개를 이루는 제1 덮개판과 제2 덮개판은 간단히 해체 및 조립할 수 있는 결합 구조로 이루어지는 것이 아니라, 상기한 통기성, 온도 및 습도 유지, 및 잡균 유입 방지를 위해 매우 정교하고 확실하게 압착되며 끼워져 결합되는 구조를 갖는다.

덮개의 필터를 교체하기 위해서는 제1 덮개판과 제2 덮개판을 서로 분리하는 분리 공정, 제1 덮개판과 제2 덮개판을 선별하는 공정, 제1 덮개판과 제2 덮개판 사이에 새 필터를 삽입하여 결합하는 공정들을 거치게 된다. 그러나, 덮개의 필터 교환시 대부분의 공정들이 수작업으로 이루어져 작업의 곤란성으로 인해 덮개 자체를 전량 새것으로 교체하는 비용적 부담을 가지게 되거나, 덮개 사용 자체를 회피하여 재배 버섯의 품질을 저하시키게 되는 문제점을 가지게 된다.

이와 같은 문제점을 해결하기 위한 일환으로, 동일 발명자에 의해 개발되어 특허 등록된 대한민국 특허 제 10-1052724 호에서는 덮개의 제1 덮개판과 제2 덮개판을 연속적으로 분리할 수 있도록 하는 "덮개 분리 장치"를 개시하고 있다. 그러나, 상기한 "덮개 분리 장치"에 의해 덮개의 제1 덮개판과 제2 덮개판을 서로 혼합된 상태로 분리시킨 이후, 새 필터를 교체하기 위해서는 혼합된 제1 덮개판과 제2 덮개판을 선별하는 과정이 필요하였다.

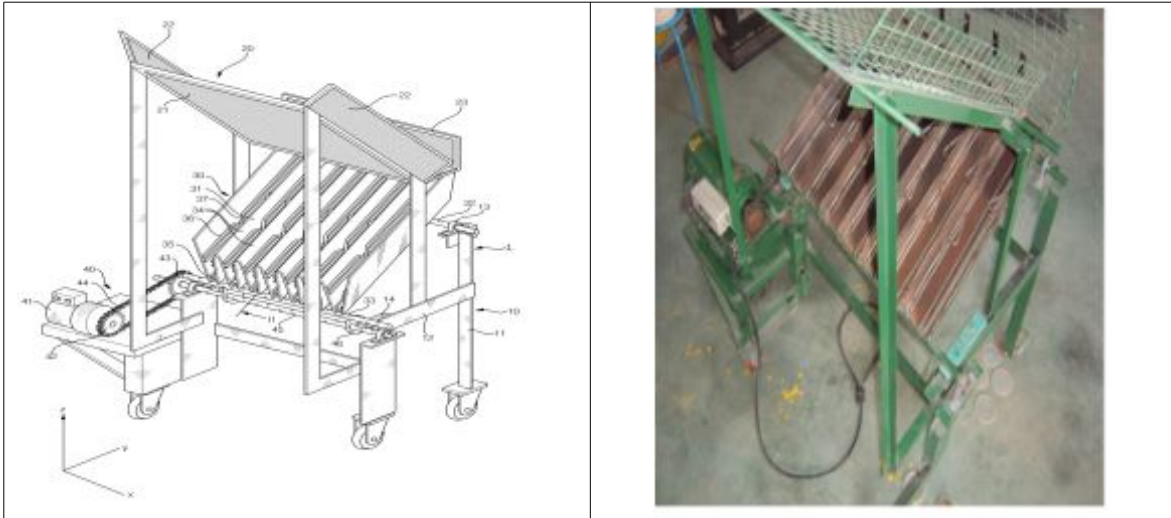
따라서, 혼합된 제1 덮개판과 제2 덮개판을 연속적으로 자동 선별하여 제1 덮개판과 제2 덮개판을 서로 분류할 수 있는 "덮개판 선별 장치"로 등록된 대한민국 특허 제 10-1078196 호의 설계 도면이 작성되었다.

나. 덮개판 선별장치의 도면(대한민국 특허 제 10-1078196 호)

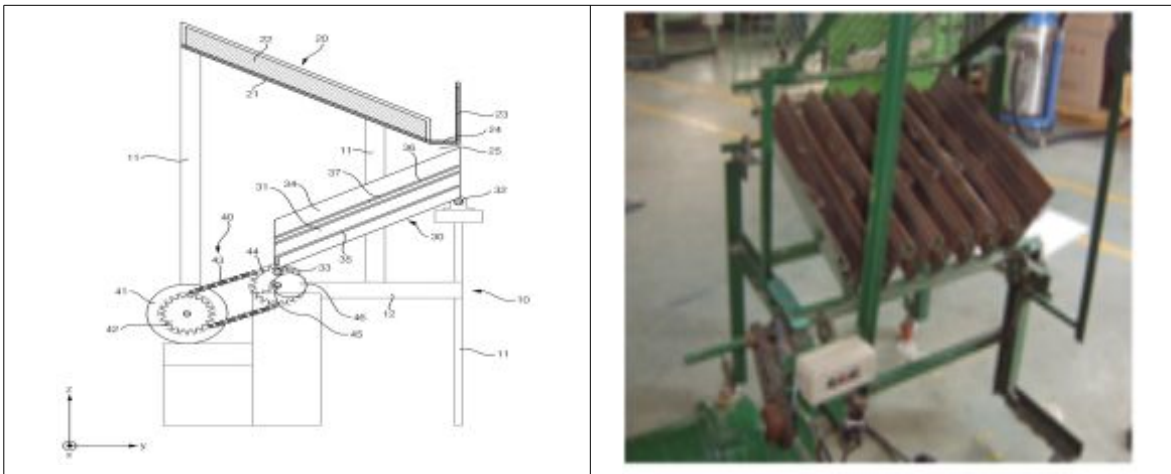
다음의 일련의 그림은 덮개판 선별 장치를 구성하기 위한 도면 내용이며, 이해를 돕기 위하여 필요한 사진 자료를 첨부하였다.

【도면 12-27】

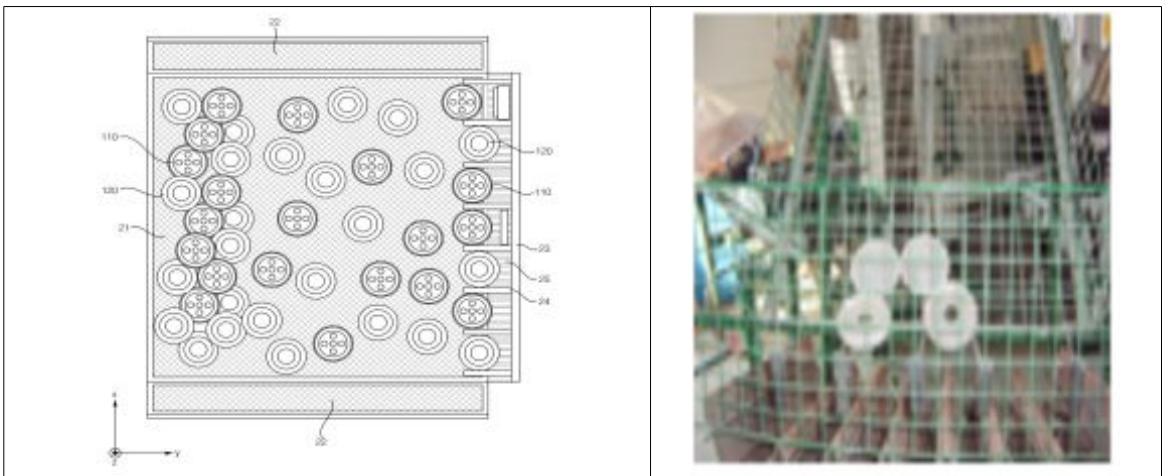
【도면 12】



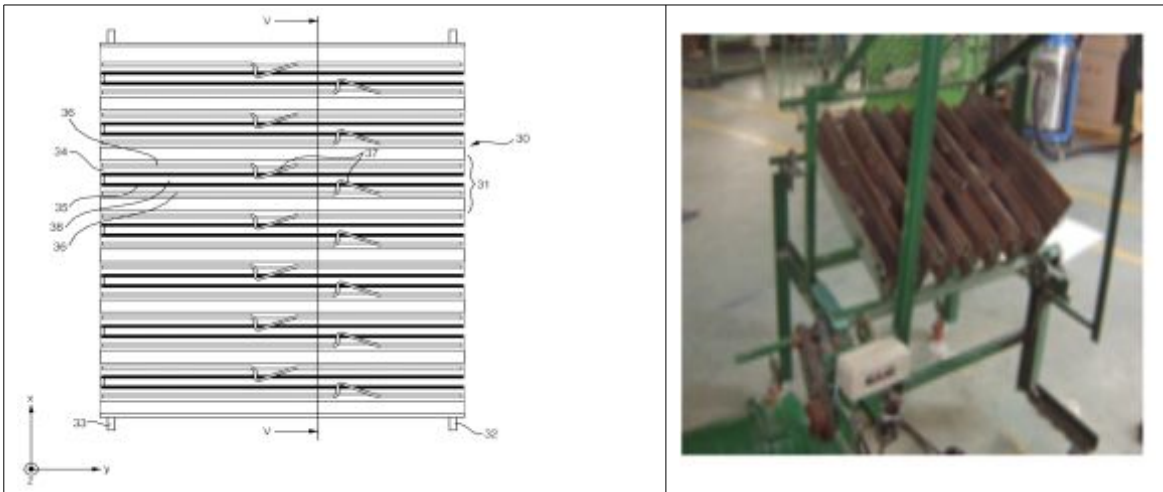
【도면 13】



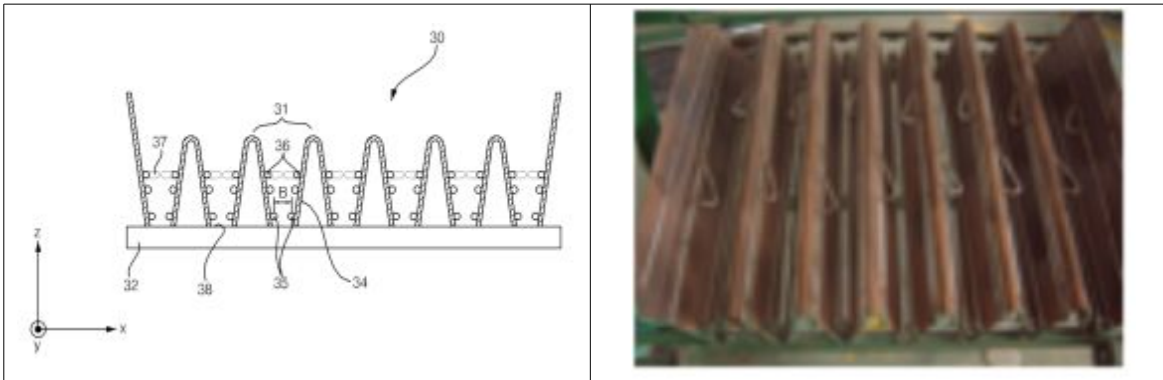
【도면 14】



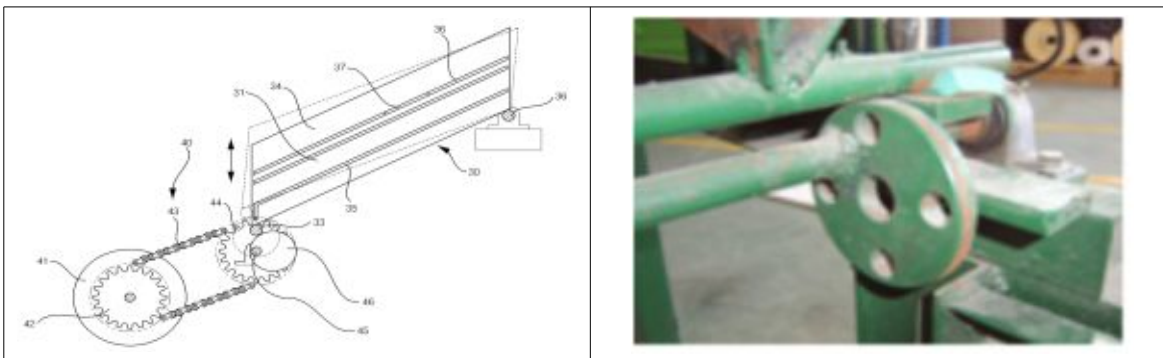
【도면 15】



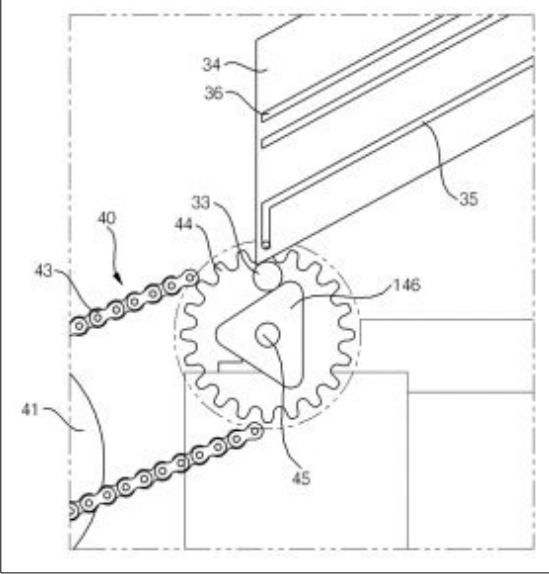
【도면 16】



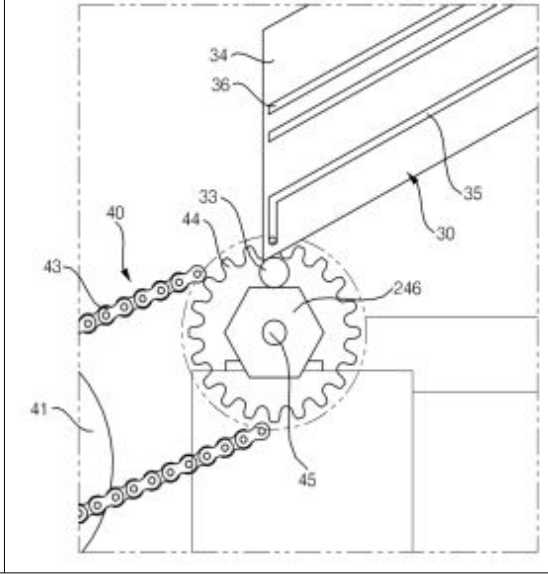
【도면 17】



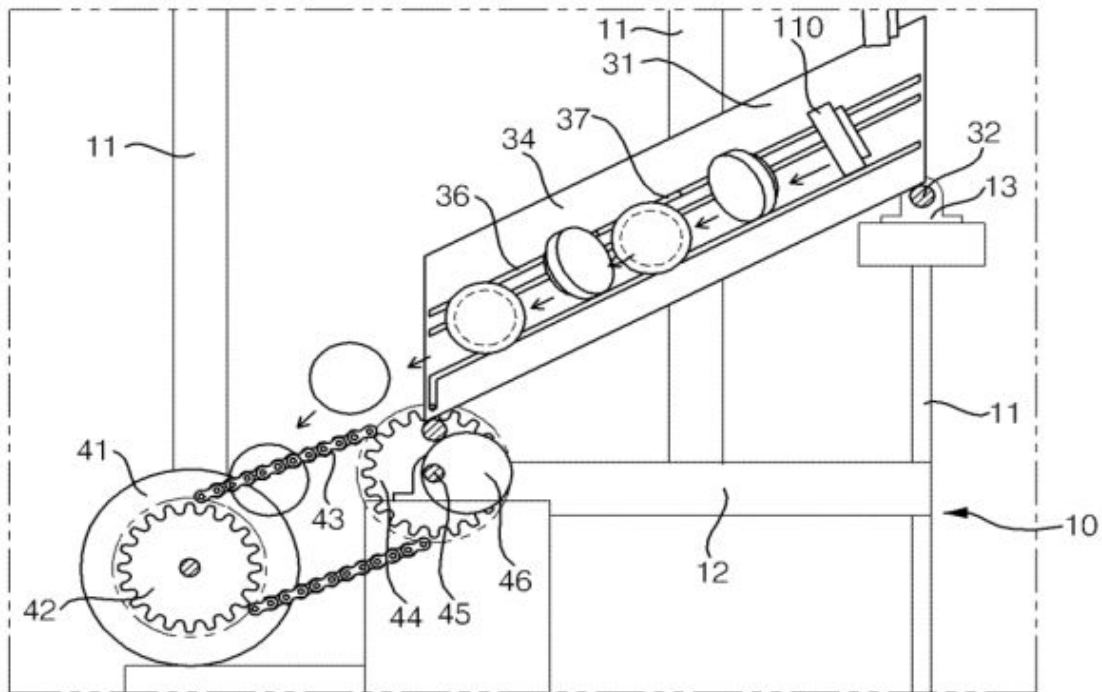
【도면 18】



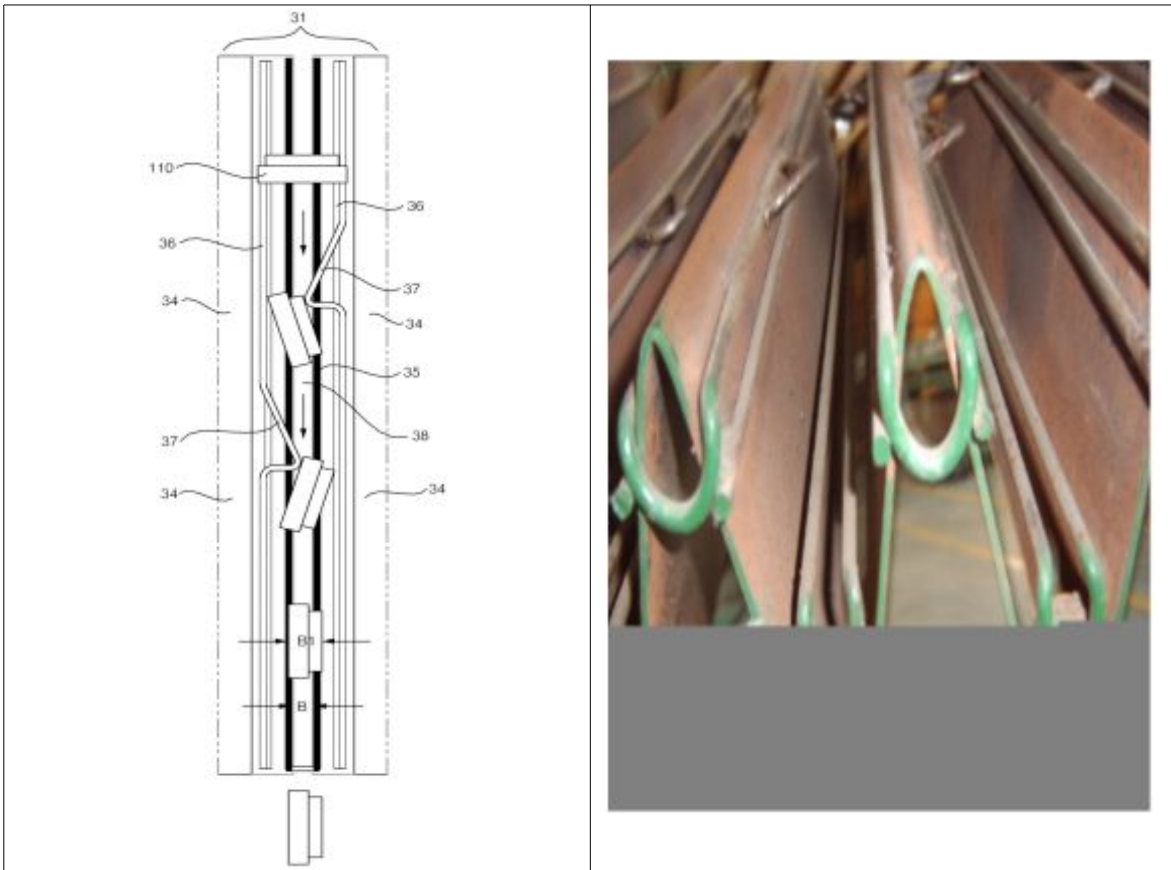
【도면 19】



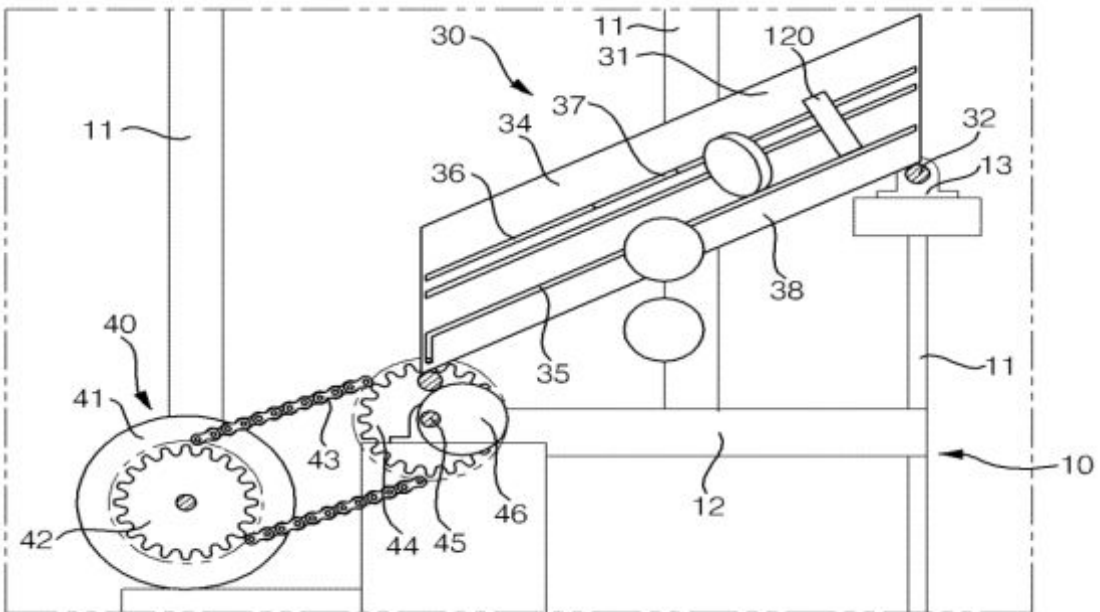
【도면 20】



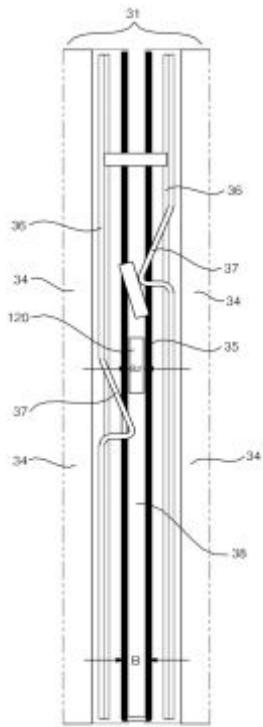
【도면 21】



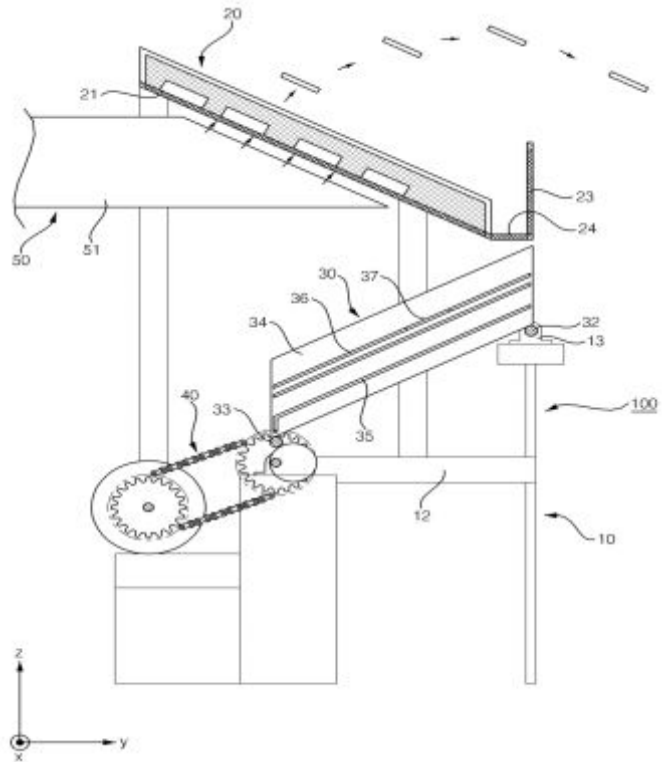
【도면 22】



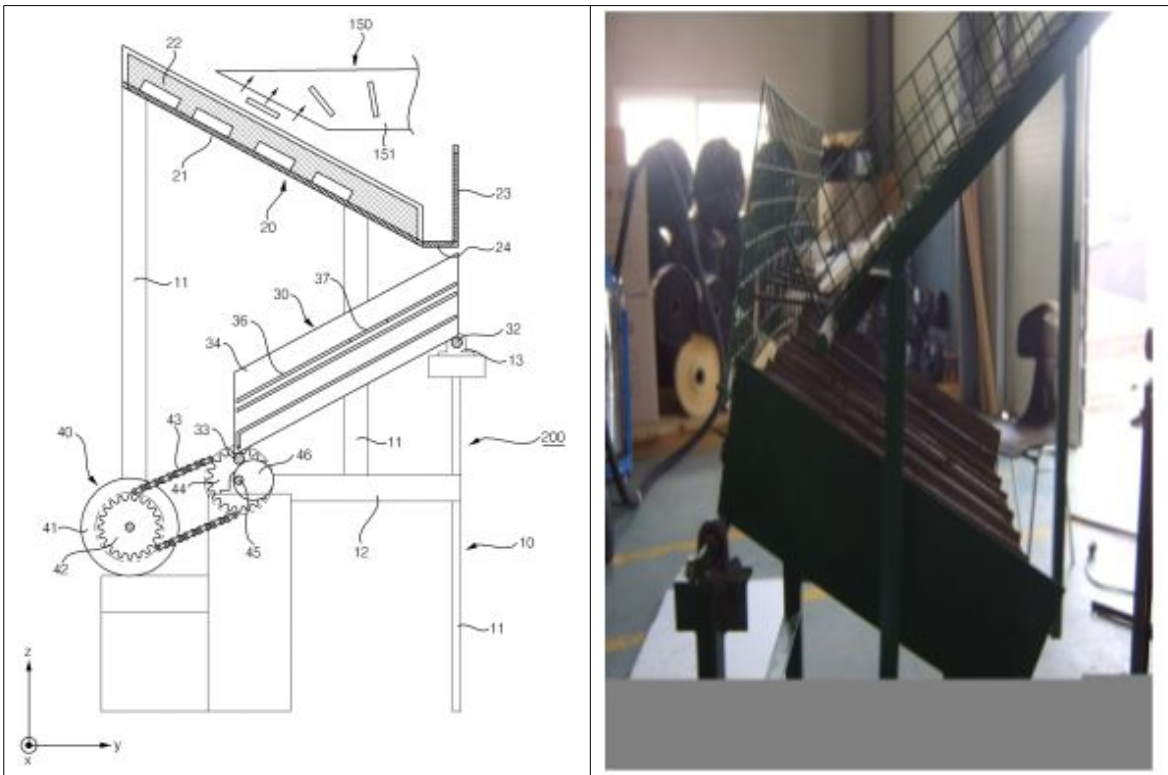
【도면 23】

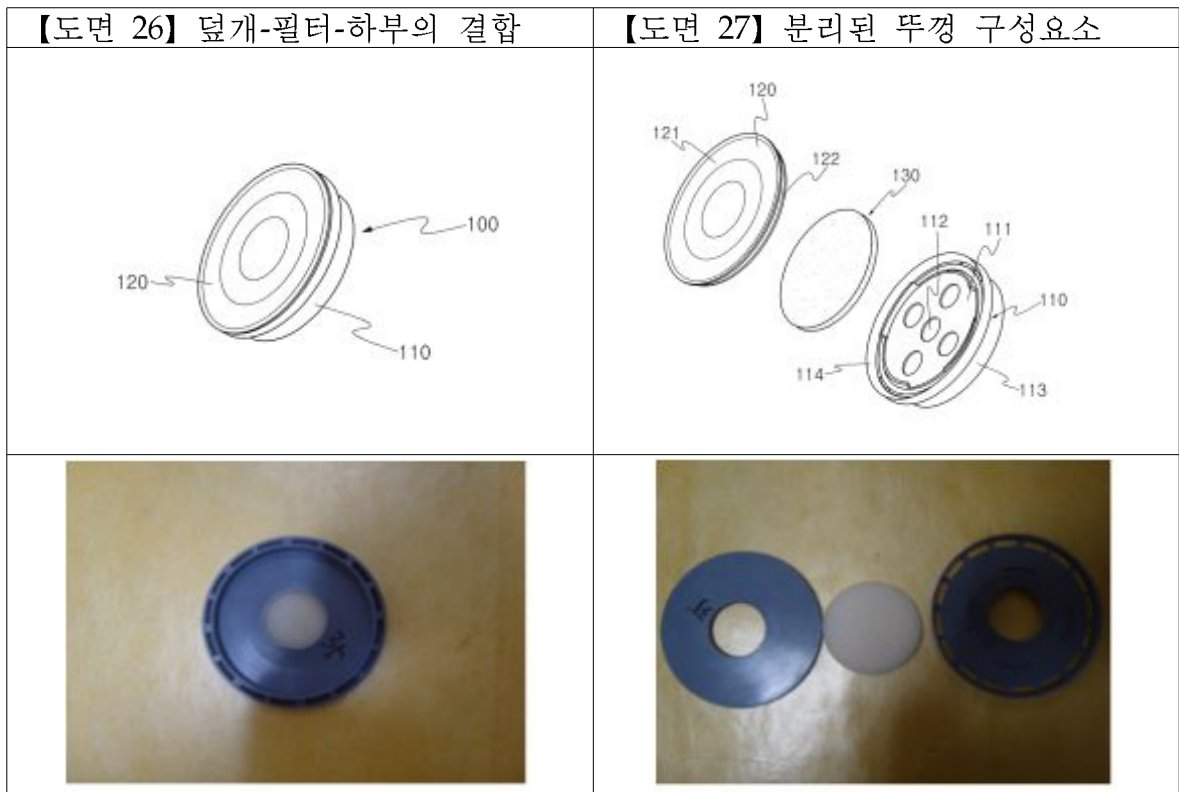


【도면 24】



【도면 25】





다. 덮개판 선별 장치 요약

본 발명은 덮개판 선별 장치에 관한 것으로서, 덮개를 이루는 제1 덮개판과 제2 덮개판을 서로 분리시킨 후, 혼합된 상태로 분리된 제1 덮개판과 제2 덮개판을 덮개판 공급부로 투입하여 정렬시킨 상태로 덮개판 선별부로 공급하고, 가진부에 의해 가진되는 상태로 양측 구획판의 사이에 구획된 선별 라인을 따라 하향 이송되는 과정에서 제1 덮개판과 제2 덮개판의 두께 차에 의해 서로 다른 낙하 지점을 가지며 연속적으로 자동 선별될 수 있도록 하는 효과를 갖는다.

라. 폐 스폰지 교환 자동화 기기 중 덮개판 선별 장치의 요약

물리적 특성을 고려한 통기성 뚜껑의 고안 및 사출하여 농림버섯류, 산림버섯류의 병 배양 중 통기성 뚜껑의 효과 검증 실험에 필요한 뚜껑을 도면을 작성하고 금형작업을 수행하여 다양한 뚜껑류를 사출하였다.

아울러서 사용 중에 균사 등으로 막힌 스폰지 뚜껑을 반복하여 사용할 수 있도록 폐 스폰지를 새 스폰지로 교환할 수 있는 스폰지 교환장치 중의 일부로서 뚜껑의 상부구조와 하부구조 및 폐 스폰지를 탈착시킬 수 있는 덮개분리장치를 완성하였다.

또한, 덮개판 선별 장치에 관한 것으로서, 덮개를 이루는 제1 덮개판과 제2 덮개판을 서로 분리시킨 후, 혼합된 상태로 분리된 제1 덮개판과 제2 덮개판을 덮개판 공급부로 투입하여 정렬시킨 상태로 덮개판 선별부로 공급하고, 가진부에 의해 가진되는 상태로 양측 구획판들 사이에 구획된 선별 라인을 따라 하향 이송되는 과정에서 제1 덮개판과 제2 덮개판의 두께 차에 의해 서로 다른 낙하지점을 가지며 연속적으로 자동 선별될 수 있도록 하는 효과를 갖는다.

폐스폰지 교환기기의 개발에 있어서는 폐 스폰지를 정렬-탈착-분리-재 정렬-새 스폰지 투입-압착의 순서로 연결되어야하는 복잡한 공정으로 폐 스폰지를 새 스폰지로 교환하게 된다. 따라

서 연속된 일련의 기계장치에 대하여 설계 및 도면작성 등을 통하여 인력으로는 비효율적인 교환작업을 기계적인 장치의 완성으로 폐 스폰지 교환 자동화 기기가 필요하다.

4. 뚜껑의 필터교환기기 개발 결과 요약

병용/봉지용의 실험용 뚜껑을 사출하고자 각각의 용량에 대하여 도면을 작성하여 각각의 통기구를 제작하였다.

폐 스폰지 교환기기의 개발에 있어서는 폐 스폰지를 정렬 - 탈착 - 분리 - 재 정렬 - 새 스폰지 투입 - 압착의 순서로 연결되어야하는 복잡한 공정으로 폐 스폰지를 새 스폰지로 교환하게 된다. 이 공정 중의 일부인 뚜껑모체와 뚜껑 덮개 및 폐 스폰지를 분리하는 기기장치를 완성하였다.

본 기계장치를 이용하였을 경우의 효율성은 다음과 같다. 폐스폰지 교환에 필요한 인력으로의 작업량은 1일 2,000~2,500여개의 처리능력이었다. 하지만 본 연구에서 개발된 기계를 적용할 경우에 1시간당 8,000여개의 폐 스폰지 교환이 가능할 정도의 효율성이 확인되었다.

따라서 오염예방에도 효율적이고 배양중의 이산화탄소 농도를 실시간으로 배출하여 호흡에 필요한 산소 공급을 원활하게 할 수 있는 뚜껑이면서도 배지상부의 수분의 유지는 잘 할 수 있는 뚜껑의 개발과 함께 이를 장기간 사용시 내구성이 떨어지거나 균사의 침습으로 인한 통기성이 저하되었을 경우에는 폐 필터의 교환이 필요하게 된다. 이러한 폐 필터의 교환작업에서 규모가 작은 농가의 경우에는 여러 농가를 통합적으로 관리하여 뚜껑 속의 폐 필터를 교환할 수 있도록 통합 처리 센터를 구축하여 운영하면 될 것이고 필요에 따라 규모가 큰 농장에서는 자체적으로 폐 필터를 처리하는 것이 효율적이라고 판단되었다.

제 4 장 목표달성도 및 관련 분야에의 기여도

본 연구의 최종 목표는, 버섯 재배에서 자실체의 고품질 다수확을 위하여 버섯균사의 배양에 사용되는 뚜껑의 통기량을 최대한으로 유지하면서도 배지 상부의 수분을 유지하여 자실체의 발이에 영향을 주지 않는 최적의 통기성을 갖는 뚜껑의 선발에 있었다. 한편, 개량된 뚜껑의 구조는 기본적으로 통기구를 정 중앙에 설계하여 균사의 삽입을 최소화하였지만 사용 중에 균사가 삽입될 경우와 사용 중에 필터의 내구성이 약화되어 필터를 교체하게 될 때에 뚜껑의 상부측과 하부측 사이에 들어있는 필터(통상은 우레탄 스폰지)를 교환하게 될 경우를 함께 고려하였다. 기계적으로 폐필터를 교환하게 될 때에 기계장치에 의하여 뚜껑의 상부파트와 하부파트를 분리하여 사이에 들어있는 폐필터를 제거할 수 있는 기계장치를 고안 하였다. 이러한 작업이 기계적으로 가능하게 됨에 따라 현재 사용 중인 비통기성 무스폰지 뚜껑의 사용을 줄이게 되어 동일한 재배환경에서 균사의 영양생장기인 대수기에서도 원활한 세포호흡을 유지하여 왕성한 세포활성이 이루어져 수량의 증수와 함께 배양실의 온도를 높여도 되는 등의 에너지를 절감하면서도 재배사의 효율성을 높이는 결과가 기대되었다.

총 3년간 진행된 본 연구개발은 1차년도와 2차년도를 통하여 각각의 인공재배되는 느타리버섯, 새송이버섯, 팽이버섯, 표고버섯 등의 품종에서 각각의 배양 용량이나 배양 용기에 따른 실험 데이터를 확보하는데 주력하였다.

특히 액체종균에서는 저비용이 소요되면서도 쉽게 액체종균 배양상의 지표로 삼을 수 있도록 폭기 진행 중에 이산화탄소 농도를 측정하였으며 이러한 기법으로 종균제조 상의 수치화된 지표 값을 활용할 수 있을 것으로 판단되었다.

한편, 액체종균의 제조에 있어서 미세한 오염원의 동정이 어려웠었지만 본 연구에서는 giemasa sol.의 단일염색액에 의한 짧은 시간 내에 액체종균의 접종 전 오염을 확인할 수 있는 방법을 개발하였다. 이 방법은 각각의 생산현장에서 광학현미경만 있으면 액체종균의 접종 전 오염여부를 쉽게 판정할 수 있는 유용한 방법을 제시하였다.

최종 3차년도 연구에서는 각각의 품종에 따른 선발 뚜껑을 사용하여 대량으로 생산하고 있는 농장의 협조를 받아 선발된 뚜껑으로의 현장 평가를 실시하였다. 이를 통하여 현장적용을 위한 대규모 실험에서도 기존의 뚜껑보다도 선발된 뚜껑에서의 증수효과를 입증하였고 이에 대한 자료를 확보하였다. 이러한 연구는 학술적으로도 의견이 분분한 상태였으나 본 연구를 통하여 배양 중의 이산화탄소 농도의 영향에 대한 학술적인 정립이 될 것으로 판단되었다. 지금까지는 균사의 배양에 있어서 어느 정도의 이산화탄소 농도가 존재하는 것이 균사의 내성도 유지되면서 균사의 증식에 유용한 것으로 알려져 왔으나 본 연구에서 밝혀진 내용은 이와는 달

랐다. 즉, 균사의 배양 중에 이산화탄소 농도는 낮을수록 좋은 결과를 가져왔지만 한편으로는 통기가 너무 잘 될 경우에 특히 배지상부의 수분도 감소됨으로 인한 균사의 생리활성에 영향을 주는 것으로 확인되었다.

따라서 본 연구개발의 결과로 인하여 균사배양에서의 통기의 중요성을 확인함과 동시에 배양 대수기에서의 제한된 산소 농도와 과도한 이산화탄소 농도를 실시간으로 해소하는 것이 본 연구의 핵심이며 버섯재배에서의 수량 증수와 품질향상을 위한 가장 중요한 호흡과정의 병목 현상을 제거하는 것으로 균사배양에 좋은 작용을 주는 것을 확인하는 계기가 되었다.

제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

1. 연구결과의 활용성

본 연구개발의 결과를 통하여 배양 중의 호흡반응에 필요한 산소의 공급과 이의 결과로 발생한 이산화탄소 농도를 실시간으로 배출하면서도 배지 상부의 수분의 유지는 적절하게 유지할 수 있는 최적의 통기구를 갖는 뚜껑을 사용함으로써 배양 중의 오염율도 줄일 수 있고 농가에서의 자실체 생산성을 올릴 수 있었다.

한편, 뚜껑의 관리에 있어서 인건비용 등의 문제로 사용하지 않게 된 스폰지 삽입 뚜껑의 사용에 있어서 이를 관리할 때에 기계적으로 처리할 수 있는 기계장치의 개발로 농가의 규모에 따라서 이의 폐 스폰지 교환기계를 활용할 수 있게 됨으로 인하여 버섯재배에서의 균사의 영양생장기 때에 호흡병목현상을 제거하여 수량도 증수하고 재배사의 효율성도 올릴 수 있고, 더 나아가서는 배지원의 C/N을 개량, 접종원량의 증량, 접종 위치의 다양화, 배양 온도를 높여서 배양하는 등의 연구나 실용적인 개선이 가능하여 본 연구에서의 결과를 활용함은 버섯재배의 농가 현장에서 경제적 효과는 크리라 예상된다.

2. 기업화 추진방향

본 연구개발의 결과는 버섯 생산현장에서 이론적인 내용과 규모에 따른 실무를 총괄하여 존재하는 부조화를 개선할 수 있는 유용한 결과내용이다. 다만 사용되는 하부의 병의 크기와 형태가 다양하므로 이에 맞는 크기에 따라 뚜껑의 보급이 이루어져야 할 것이다. 배양용기가 다양하고 입구의 크기와 형태가 다양함에 따라 다양한 금형사출기를 갖추어야하는 어려운 점이 있다. 하지만 균사배양의 문제점을 이해하고 고품질 다수확의 핵심이 균사배양시기에 이미 좌우된다는 인식을 갖게 된다면 투자 금액 대비 소득의 산출은 쉽게 계산이 될 것이다.

그 동안 배양의 중요성을 무시하고 편리성으로 접근하여 사용하고 있는 무스폰지형의 비통기성 뚜껑을 사용하는 농가를 대상으로 개량형 뚜껑의 사용이 전제되어야 할 것이며, 이미 사용하고 있는 뚜껑은 폐스폰지교환의 기계와는 호환이 되지 못한다. 따라서 정 중앙에 설계된 뚜껑의 사용(한국특허출원 : 버섯 균사 배양기용 뚜껑; 출원번호: 10-2009-0055156)은 균사의 침습이 잘 되지 않도록 뚜껑의 하부 표면에는 균사삽입 방지턱이 설계되어 있으므로 이의 뚜껑을 사용하면 반

영구적으로 사용이 가능할 것으로 판단되었다. 균사의 침습이 적게 되도록 설계되었지만 부득이하게 균사로 인하여 침습되어 통기성이 저하될 경우에 뚜껑의 관리가 이루어져야 한다. 이러한 뚜껑을 관리하기 위하여 덮개분리장치(특허번호 : 제 10-1052724 호)와 덮개관선편장치(특허번호 : 제 10-1078196 호)가 도안되고 기계장치가 개발되어있으므로 버섯생산농가에 보급이 가능하다. 이에 따라 본 연구기간 동안 소규모로 운영할 정도의 기계장치를 개발하였고, 아울러 대규모로 처리할 수 있는 기계장치도 개발 완료하였으므로 뚜껑관리에 필요한 비용을 줄일 수 있으므로 스폰지 삽입된 뚜껑의 사용이 유용함을 적극적인 홍보 및 인식의 전환도 필요하며, 농가 소득에 직접적인 이득이 되는 개량형의 뚜껑에 대한 인식과 적극적인 관심이 필요하다고 본다.

개량형 뚜껑의 사용으로 우선 수량이 증수되는 등의 가시적인 결과가 발생되고 더 나아가서는 배양의 충실도를 높일 수 있는 다양한 방법의 개선이 가능할 것이므로 뚜껑에 대한 투자비용은 곧 농가의 소득향상으로 이어질 것이다. 다만 소규모농가에서의 뚜껑의 관리는 여러 농가를 한 곳에서 관리하도록 하는 센터 통합형으로 뚜껑의 교체가 이루어지는 방향이 좋을 것이며, 중대형(대규모)농가에서는 자체적으로 교환기계를 설치하여 활용하는 것이 현실적일 것이다.

제 6장 참고문헌

- 구창덕, 조남석, 김재수, 박재인, 최태호, 민두식, 2000, Variation of Ergosterol Content in *Lentinula edodes* Culture. *Mokchae Konghak* 28(1) : pp65-70.
- 김석우, 김정섭, 김명선, 정혜영, 조영기, 박경미, 정성아, 백영옥, 박동성. 2007. 사회과학 연구를 위한 SPSS WIN 12.0 활용의 실제. *교육과학사*. pp.79-88.
- 김영호. 1999. 표고(*Lentinus edodes* Sing.)의 갈변과 관련된 생리·생화학적 특성 및 유전자 탐색에 관한연구. 강원대학교 대학원 박사학위논문. pp 52-53
- 류성렬, 구창덕. 2005. 표고시설재배사내 시·공간적인 온·습도변화. *한국임학회지* 제 94권 6호 pp.468-475.
- 류영현, 윤영석, 조우식, 박선도, 최부술, 김종국. 1998. 팽이버섯 재배시 액체종균 사용 효과, *한국균학회지*, v.26, no.1, pp. 20-24
- 박동명, 고한규, 최선규, 김선철, 노종현, 이병석, 홍기성. 2009. 표고재배기술. *산림조합중앙회*. p.133-182.
- 박용환. 1997. 최신버섯학. *한국버섯원균영농조합*. p. 301.
- 박원철, 윤갑희, 가강현, 박현, 이봉훈. 2006. 표고재배 및 병해충 방제기술. *국립산림과학원*. p.189-192.
- 박원철, 윤갑희, 김선철, 홍기성. 2008. 표고재배신기술, *국립산림과학원*, pp 18-25.
- 山中勝次. 1996.きのこ年鑑. 第3章きのこ栽培の最新技術. p.130
- 심규광, 유영진, 구창덕, 김명곤. 2012 a. 팽나무버섯 액체종균의 접종 전 오염검사. *Journal of Mushroom Science and Production*. Vol. 10, No.1, p44~48.
- 심규광, 유영진, 구창덕, 김영석, 김명곤. 2012 b. 팽나무버섯 액체 종균 배양시 이산화탄소 농도와 균사 성장량 변화. *Journal of Mushroom Science and Production*. Vol. 10, No.1, p3~8.
- 심규광, 유영진, 구창덕, 김영석, 김명곤. 2012 c. 팽나무버섯(1,100ml병)의 균사배양 중 배양기

- 내부 통기성 개선. Journal of Mushroom Science and Production. Vol. 10, No.1, p15~20.
- 유영복, 구창덕, 김성환, 서건식, 신현동, 이준우, 이창수, 장현유 . 2010. 버섯학. 자연과 사람. p. 131.
- 윤갑희, 변병호. 1996. 표고톱밥재배기술 및 재배시스템. 버섯재배개발심포지움. 한국균학회. pp. 16-33
- 윤갑희. 2003. 표고 톱밥배지의 자연배양. 임산버섯 재배의 이론과 실제. 한국임산버섯연구회 • 임업연구원 2003세미나 자료. pp 19-38
- 윤갑희, 박원필, 박현, 김명길, 이진실, 박광선. 2006. 자연재배형 표고톱밥재배 시스템. pp14-51
- 이대진, 김광포, 이병의. 2003. 큰느타리(*Pleurotus eryngii*)의 인공재배에 관한 연구. 한국균학회. Vol.31, No.3. pp 192-199.
- 이병우, 이명섭, 박기문, 김창한, 안창욱, 최춘언. 1992. 운지버섯 균사체 추출물의 항암효과에 관한 연구. 한국산업미생물학회지 20 : pp311-315.
- 이병우, 임근형, 김동욱, 박기문, 손세형, 손태화. 1993. 표고버섯 균사체의 배양특성 및 pilot scale 생산. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol, Vol.21, No.6, p609-614.
- 이윤희, 조운정, 김희동, 2002, 느타리버섯 봉지재배시 봉지직경 및 배지량에 따른 생육특성비교, The Korean J. of Mycology, Vol.30, No.1, pp 18~22.
- 이용래, 이준삼, 황계성. 1980. 표고의 각 계통별 발생량과 생태적 및 형태적 특징에 관한 연구. 한국균학회지 제8권 제1호 pp33-43.
- 이태수, 조남석, 민두식. 1998. 액체종균 접종에 의한 표고 톱밥재배 효과. 목재공학 26(1);19-28.
- 장명준, 이윤희, 주영철. 2008. pH지시약을 이용한 느타리 버섯 액체종균 오염 간이진단법 개발. 한국균학회지,36(1): 9-15.
- 장학길. 1976. 톱밥 培地에 對한 營養添加가 팽이버섯의 生長 및 培地의 化學的 成分 變化에 미치는 影響. 한국균학회지. 4(1):31~44.

- 정민욱. 2004. *Fomitella fraxinea* 균사체의 대량생산과 기능성 연구. 영남대학교 식품가공학과 석사
- 현국현. 2006. Mode of expression of cell wall-related genes under cell wall stress condition in *Saccharomyces cerevisiae*. 충남대학교대학원 미생물학과 석사학위논문.
- 홍성준, 이원호, 신범수, 성재모. 2003. 팽이·팽나무버섯 재배에서 액체종균 배양 및 접종시스템 적용방법의 구명. 한국균학회지. 31(1):22~27.
- Block, S. S., Tsao, G. and Han, L. 1958. Production of mushroom from sawdust. J. Agric. Food. Chem. 6(12):923-927.
- Cabib, E., Roh, D. H., Schmidt, M., Crotti, L. B. and Varma, A. 2001. The yeast cell wall and septum as paradigms of cell growth and morphogenesis. *J Biol Chem* 276, 19679-19682.
- Chang, S. T. and Miles, P. G., 1989, Edible Mushrooms and Their Cultivation. CRC press. pp 27-30?.pp 189-223.
- Cho Y., J. H., J., Hwang, S., W., Kim, C., H., Song and J., W., Yun. 2002. Effect of carbon source and aeration rate on broth rheology and fungal morphology during red pigment production by *Paecilomyces sinclairii* in a batch bioreactor. Journal of Biotechnology. 95 pp 13-23.
- Donk, M. A. 1971. Progress in the study of classificant of the higher Basidiomycetes. An international Symposium:3-25.
- Im, M. H., Choi, J. D., Chung, H. C., Lee, S. H., Lee, C. W., Choi, C. and Choi, K. S. 1998. Improvement of *Meju* Preparation Method for the Production of Korea Traditional *Kanjang*(Soy Sauce), Korean J. Food Sci Technol. Vol. 30, No. 3, p.608~614.
- Kenjiro Kinugawa. 1993. CHAPTER 5 Physiology and the Breeding of *Flammulina velutipes*. pp.87~109(Genetics and Breeding of Edible Mushrooms, Edited by SHU-TING CHANG JOHN A. BUSWELL, Department of Biology The Chinese University of Hong Kong Shatinm New Territories and PHILIP G. MILES. Department of Biological

Sciences State University of New York at Buffalo USA, Gordon and Breach Science Publishers.

Kent, K. T. and A. Kelman. 1965. Lignin degradation as related to the phenoloxidases of selected wood-decaying Basidiomycetes. *Phytopath.* 55:739-744.

Matcham, S. E., Jordan, B. R. and Wood, D. A. 1985. Method for assessment of fungal growth on solid substrates. pg 5-19.

Nelson, N. 1944. A photimetric adaption of the somogy method for determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 153:375.

Nylund, J.-E. and H. Wallander. 1992. Ergosterol analysis as a means of quantifying mycorrhizal biomass. *In* method in Microbiology Vol 24, Technique for the Study of Mycorrhiza, Ed J.R. Norris, D.J. Rad, and A.K. Varma. Academic Press, London. pp77-88.

Pasanen, A.-L., K. Yli-Pietila, P. Pasanen, P. Kalliokoski, and J. Tarhanen. 1999. Ergosterol content in various fungal species and biocontaminated building materials. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 138-142.

Paul Stamets. 1993. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms, Ten speed press, pp146-150

Smmits, G. J., Kapteyn, J. C., van den Ende, H. and Klis, F. M. 1999. Cell wall dynamics in yeast. *Curr Opin Microbiol* 2, 348-352.

Sung, Jae-Mo, Moon, Hee-Woo and Park, Dong-Soo. 1999. Growth condition of liquid culture by *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* 27(1);pp1-9.

Zadrazil, F. 1974. The Ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae*, and *Pleurotus eryngii*. *Mush. Sci.* IX(PartI):621-652.

Zadrazil, F. 1975. Influence of CO₂ concentration on the mycelium growth of three *Pleurotus species*. *European J. Appl. Microbiol.* 1, 327-335.

