

최 종  
연구보고서

# 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

Development of Field Cultivation Technology and  
Functional Value of *Sarcodon aspratus*

연구기관

충북대학교

농 립 부

## 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “능이 임지재배 기술 및 기능성 개발” 과제의  
최종보고서로 제출합니다.

2002 년 11 월 12 일

주관연구기관명 : 충북대학교

총괄연구책임자 : 김홍은

세부연구책임자 : 김홍은

세부연구책임자 : 조남석

세부연구책임자 : 민용규

세부연구책임자 : 박종문

연 구 원 : 박재인

연 구 원 : 김재수

연 구 원 : 신원섭

연 구 원 : 구창덕

연 구 원 : 최태호

연 구 원 : 신창섭

연 구 원 : 이영남

연 구 원 : 이상희

연 구 원 : 이은정

연 구 원 : 임선희

연 구 원 : 정선화

연 구 원 : 김태동

연 구 원 : 김상우

# 요 약 문

## I. 제 목

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 목적

우리나라에서는 제 1 능이, 제 2 표고, 제 3 송이라는 말이 있다. 산림에서는 다양한 버섯이 나며 그 중에서 중요한 것이 위의 세가지인데, 능이는 참나무 뿌리와 공생하고, 송이는 소나무 뿌리와 공생하여야만 나는 버섯으로 아직 인공재배를 못한다. 이에 반하여 표고는 참나무류를 썩히면서 나는 목질을 분해하는 버섯으로 인공적으로 재배하고 있다.

능이는 옛부터 향기와 맛이 좋고, 육류의 소화제로서 잘 알려져 있어서 최근 농산물 시장에서는 가을철에 kg당 약 3-5만원에 거래될 정도로 인기가 좋은 버섯이다. 하지만 산림내에서 이 버섯이 나는 곳의 산림상 특징이나 생산량 등은 이번 연구로 인하여 조금씩 알려지게 되었다.

현재 세계적으로는 자연환경내 생물다양성 유지와 농임업에서는 지속가능한 생산이 중요시되면서 이들 자연적으로만 발생하는 균근성 버섯의 개발이 추진되고 있다. 이번 연구는 능이의 임지재배기술 개발, 능이의 생리활성 성분 구명, 능이의 향기성분과 건조 중의 변화 구명, 그리고 능이버섯의 포장기술 개발의 목적을 가지고 다음의 4개 과제를 추진하였다.

- 1 과제: 능이의 임지 재배기술개발
- 2 과제: 능이 생리활성 성분 연구
- 3 과제: 능이의 향기 성분과 건조 중의 변화
- 4 과제: 능이의 포장 기술개발

### 2. 필요성

가. 기술적 측면

산림내 땅에서만 나는 것으로 식용버섯으로 능이(향버섯, *Sarcodon aspratus*)는

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

참나무류 수종의 뿌리와 공생하여 나는 버섯으로 소나무와 공생하는 송이처럼 균근성이며 아직 인공재배법은 알려지지 않고 있다. 인공재배가 불가능한 이들 버섯의 재배를 위해서 기주식물에 균을 접종하여 직접 묘포장이나 임지에서 기르는 것을 시도 중이다. 예를 들면, 균근성 버섯의 일종이면서 향기가 좋아 그 가치가 1kg에 2000\$씩이나 하는 덩이버섯(서양송로, truffles, *Tuber* 속의 버섯)은 이탈리아, 프랑스, 뉴질랜드, 호주 등지에서 개암나무나 참나무류에 접종한 후 농장에 심어서 버섯생산에 성공하고 있다. 그러므로, 현재 우리나라는 참나무 수종이 다양하고 그 산림이 증가일로에 있으므로 능이의 생산 증가와 임지재배 기술 개발이 필요하다.

버섯류에 포함된 미량성분 가운데 구름버섯 으로부터의 Cleistine, Mizofirane, 표고버섯에 들어있는 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 Eritadenine (Suzuki and Oshima, 1976), 암세포를 억제시키는 다당체인 Lentinan (Chihara, 1970) 등 의약품으로서 인가된 성분도 있으며, 기타 버섯으로부터 유래되는 항종양성 다당류의 연구보고가 많고, 항바이러스 효과(Yamamura and Cochrane, 1976)를 나타내는 생리활성 물질에 대한 연구도 진행되고 있는 등, 임산버섯의 식용, 약용 버섯은 신약개발의 중요한 천연자원으로 인정되고 있다. 일본의 경우 특히 기능성식품의 중심을 이루는 표고버섯으로부터 추출·정제된 Eritadenine 성분은 오늘날 특정 보건용 식품과 깊은 관계가 있는 미량성분과 생리기능의 과학적 해명이 이루어지면서 당시 일본의 JSD 식품제도를 발족시키는데 결정적 역할을 하였다.

능이버섯은 일명 향버섯이라 불릴 만큼 향이 우수하며 건조시에 특히 강한 향이 생성되는 등 우수한 향으로 각광받고 있으나 향에 대한 연구는 아주 미흡한 실정이다. 향기는 여러 성분의 복합적인 작용의 결과이며 휘발성 성분의 추출방법 및 분석기술에 따라 동일한 버섯의 경우에도 검출성분에 차이가 있으므로 SDE 추출법, Head-space 분석, 초임계 추출 등과 병행한 최신 GC-MS 분석기법을 이용한 비교분석이 요구된다.

능이 버섯의 포장은 버섯의 신선함을 산지 그대로 유지해주고 소비자에게 전달할 때까지 상품을 보호함은 물론, 거래의 규격화와 기계하역에 의한 하역의 편리성을 도모하기 위한 정량성을 확보하고, 상품에 대한 정확한 정보를 전달할 수 있도록 표시하기가 쉬워진다. 이와 같은 역할을 통하여 능이 버섯의 생산자와 소비자를 보호하고, 유통을 규격화함으로써 물류비 절감과 관련산업의 활성화를 꾀할 수 있게 될 것이다.



#### 나. 경제·산업적 측면

산림벌채로 얻는 소득은 20-100년에 한번이나, 그 산림에서 버섯수확으로 얻는 소득은매년 발생하므로 능이의 생산과 수확은 산촌민의 소득 안정에 기여한다. 최근 능이버섯은 산지에서는 kg당 15,000원, 도시 농산물거래처에서는 35,000원-40,000원의 가치가 있었다. 1999과 2000년 전국 능이생산량은 각각 50톤 규모였으나, 2001년도는 100년만에 맞는 극심한 가뭄으로 능이 생산량이 지역에 따라서는 전혀 없거나, 전년도의 20의 1에도 못 미치는 것으로 추정되고 있다. 그러므로, 능이 생산을 좌우하는 강우량이나 토양수분과 같은 기상적, 물리적 인자의 영향을 연구할 필요가 있다.

소비자 생활 향상에 따른 식품에 대한 기호도 변화는 인위적 합성으로 만들어진 인공향이 아닌천연물로부터 얻어진 자연향에 대하여 관심을 증대시키고 있어 상업적인 용도의 새로운 향소재탐색 및 개발이 활발히 요구된다.

#### 다. 사회·문화적 측면

능이는 가을철에 농산촌에서 중요한 소득원으로 지역의 주민 소득 안정에 기여할 뿐만 아니라, 향기와 맛이 기막히게 좋고 한방과 민간요법에서 육류의 소화제로 알려져 있으므로 한국 고유의 요리와 고급식품 문화발달에 크게 기여할 수 있으므로 이에 대한 연구가 절실하다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

1. 능이의 임지 재배기술개발을 위하여는 (1) 능이자원의 파악 (2) 능이의 생태 구명 (3) 능이 접종묘 생산 (4) 능이산지 관리모델 개발을 시도하였다.
2. 능이 생리활성 성분 연구에서는 (1) 자실체의 용매분해 기술개발 (3) 추출성분의 성상 및 생리활성 특성 구명 (5) 생리활성성분 중 protease의 생산을 위한 최적배지 및 배양조건 구명 (6) 생산 protease의 특성 구명 및 활용을 추진하였다.
3. 능이의 향기 성분과 건조 중의 변화 연구에서는 (1) 능이버섯의 건조과정 중 물성변화 측정 (2) 능이버섯의 건조과정 중 품질의 변화 (3) 최적 건조조건을 구명하고자 하였다.
4. 능이의 포장 기술개발 연구에서는 최종목표는 현재 버섯의 생산, 포장, 유

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

통, 저장 등의 조건을 감안하여, 능이 버섯의 종류에 따라 신선도유지와 함께 저장기간을 3배로 연장시키는 포장재를 개발하고자 하였다.

### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

#### 1. 결과

##### 가. 능이의 임지 재배기술개발

우리나라에서 능이(*Sarcodon aspratus*)는 제일가는 버섯으로 알려져 있고, 민간요법에서는 육류체증의 소화제로 쓰인다. 능이 버섯은 참나무류와 외생균근을 형성하고 산림에서 생산된다. 따라서 능이는 중요한 산림소득원이 되므로 이 연구에서는 능이에 대하여 자원 파악, 생태구명, 접종묘 생산, 산지 관리모델 개발을 시도하였다.

우리나라의 능이 생산량은 1999년부터 2001년 기간 동안 강우량 변동에 의하여 크게 차이가 나지만 연간 50-60톤으로 집계되었다. 이 중에서 충북 지역이 13톤이었다. 능이 버섯의 발생지를 이해하기 위하여 토양내 균환의 생태적 특징을 조사하였다. 능이의 서식지는 비교적 수분이 많은 계곡 부위로 주요 수종은 신갈나무, 굴참나무, 상수리나무, 졸참나무이었다. 능이 자실체의 뿌리부위에는 짙은 갈색인 굵고 단단한 균사다발이 땅속의 흰색균사집단에까지 연결되어 있었다. 땅속의 균사집단은 원형, 난형, 부정형, 또는 띠모양이며, 길이가 0.5-15.0m 폭은 24-108 cm, 깊이 2-33 cm 이다. 능이균환은 부식이 거의 없는 광물질 토양내 33 cm 깊이까지 자란다. 이 균사집단은 토양입자, 균사 그리고 능이와 참나무의 균근으로 매우 단단하게 뭉쳐져 있어서 경도는 2.0-5.1kg/cm<sup>2</sup>로 균근이 없는 토양보다 3배 정도 단단하였으며, 토양수분은 15.7 - 21.1%로 능이균이 없는 토양보다 2.0-3.5% 낮았다. 능이균환내 에르고스테롤 함량은 건조토양 g당 17.3 $\mu$ g으로 능이균이 없는 토양의 약 20배 정도 높았다. 능이균근은 솜털모양의 흰색균사로 덮힌 밝은 갈색이며, 균근의 균투두께는 10-25  $\mu$ m, Hartig 망은 2-3개층의 세포층까지 발달하였다. 능이균사는 무색투명하고 뾰뾰하며 표면은 매끈하고 연결 꺾쇠가 있었다.

능이 접종묘를 생산하기 위한 기본연구로 능이자실체로부터 균사조직을 분리 배양하여 시험관에서 상수리묘목에 접종시험한 결과 균근이 형성되지 않아 분리

된 균은 능이균사임을 확인할 수 없었다. 자실체 조직에는 녹색 광합성 세균 뿐만 아니라 보고되지 않은 판모양의 간상세균이 서식하고 있었다. 접종원으로서 자실체 조직, 포자슬러리, 균환토양을 접종하거나, 현지 균환 위에 참나무 종자를 파종한 바, 능이 균근은 단지 현지 균환에서 자라는 묘목에서만 형성되었다. 즉 능이자실체 조직, 포자, 현지에서 분리된 균환토양은 접종원으로서 효과가 없었다. 능이산지 관리 모델에서는 능이생산을 위하여 능이-참나무-환경의 삼각모델을 고려하였다. 능이 발생과 성장을 위하여는 온도가 영향을 미치며 동시에 토양 수분은 14% 이상이 효과적 것으로 조사되었다. 앞으로 땅속의 능이 균사집단이 어떻게 시작하여 발달하는 지에 관한 연구가 필요하다고 생각한다.

#### 나. 능이 생리활성 성분 구명

본 연구에서는 능이가 포함하고 있는 각종 생리활성 성분을 분석, 화학구조를 구명하기 위하여 실시하였다. 아울러 능이버섯으로부터 분리한 protease의 효소적 특성을 분석하고, 이 효소의 고기연육 및 식품첨가시 색깔변화에 미치는 영향을 알고자 하였다. 마지막으로 버섯균의 액체배양을 통한 protease 효소의 생산최적 조건을 구명코자 하였다.

능이버섯(*Sarcodon aspratus*)의 무기성분 및 아미노산의 조성을 분석하였는바, 능이버섯은 Ca, Mg, Zn, Mn, Fe, Cu 및 Pb를 함유하였으며, 특히 Ca 및 Na 성분이 많이 함유되어 있었다.

온수추출물은 54%의 다당류를 함유하였으며, 32.6%의 단백질을 가지고 있었다. 유리 및 총 아미노산을 분석한 결과, 14종의 유리아미노산이 검출되었고, glutamate, alanine, arginine 등이 많았다. 총아미노산은 15종이었으며, glutamate가 가장 많았고, aspartate, serine, threonine 등이 그 다음이었다.

95% EtOH 추출에 의하여 3.32%의 수율로 Glycoprotein을 얻었으며, 추출에 사용하는 EtOH농도에 따라 당의 함량이 상이한 glycoprotein을 얻을 수 있었는데, EtOH농도가 낮을수록 당의 함량이 높았다.

Glycoprotein 을 정제한 결과, 분자량 30만 이상의 부분이 39.5%나 되는 고분자 당단백질임을 알 수 있었고, 이를 Ion chromatography로 분리하여 얻은 B-1를 gel chromatography로 분획한 B1B가 분자량 700Kda정도의 중성다당류로 밝혀졌다. 한편 중성 다당류로서 분획된 P2 fraction의 경우는 glutamate, alanine

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

이 비교적 다량 함유되었으며, cysteine은 거의 확인되지 않았다.

능이버섯으로부터 추출한 세포외 protease 효소를 정제하였으며, 정제가 진행되어감에 따라 protease의 비활성은 점차증가하였다. 황산암모늄의 탈염만으로도 비활성은 2.62배 증가하였으며, CMC column처리로 17배, DEAE-Sephadex A-50 column처리로 113.8배의 활성증가를 나타냈다. 나아가서 Sephadex G-75 column 처리로 728.3배로 증가됨을 알 수 있었다. Polyacrylamide 겔로 전기영동을 한 결과 단일띠 만을 가진 약 43 kDa의 분자량을 갖는 단백질을 알 수 있었다. Polyacrylamide 겔에 효소활성 저해제인 PMSF 0.1  $\mu$ g 을 첨가로 이 효소는 자가분해능을 가진 효소임을 알 수 있었다.

최적 pH 3.5 부근의 능이버섯의 정제 protease의 초점전기영동을 수행한 결과 pH 4.35 및 pH 4.7의 등전점을 달리하는 protease 가 있음을 확인하였으며, 정제결과 이들의 회수율이 등전점 4.35(a)가 8%, 4.70(b)이 3.5%였으며, 이들 fraction 의 비활성은 각각 3,025배 및 3,257배로 상승하였다. 이들 효소들은 등전점만 다를 뿐, 효소적 특성이 거의 동일하였다.

이 protease는 pH 4에서 최적의 활성을 보였으며, pH 4 - pH 7의 범위에서 안정한 활성을 나타냈다. 이 protease의 최적 온도가 40 - 50 $^{\circ}$ C 범위였으며, 최고의 활성값은 30 $^{\circ}$ C의 그것보다 1.5 - 2 배정도였다. Protease 의 온도안정성을 조사한 결과, 40 $^{\circ}$ C 까지는 90% 가까운 효소활성을 유지하고 있었으며, 온도가 40 $^{\circ}$ C 가 지나면서 급격한 활성저하를 나타내었다. 50 $^{\circ}$ C에서는 80% 정도의 활성이 유지되었으며, 60 $^{\circ}$ C로 온도가 올라가면 45%, 70 $^{\circ}$ C에서는 거의 활성이 나타나지 않을 정도로 미미하였고, 80 $^{\circ}$ C이상에서는 활성이 완전히 없어버리게 됨을 알 수 있었다. 열에대한 안정성을 조사한 결과, 30 $^{\circ}$ C 및 40 $^{\circ}$ C에서는 거의 1시간 열처리에서는 매우 안정한 활성을 보였으며, 50 $^{\circ}$ C에서도 70분간처리로 90% 의 안정성을, 60 $^{\circ}$ C 및 70 $^{\circ}$ C에서는 10분 - 20분처리로도 급격한 효소의 활성저하가 시작되었으며, 70 $^{\circ}$ C처리의 경우는 30분처리로 거의 모든 효소의 활성이 없어짐을 알 수 있었다.

Protease의 활용과 관련하여, 능이버섯 분말과 protease를 첨가하므로써 매우 높은 보수력을 나타냈는바, 능이버섯의 protease는 무처리에 비해 26.8%, 설탕에 비해 13.8% 의 보수력을 증가시켰다. 이러한 보수력 증가는 연육효과에 의하여

단백질의 가수분해가 일어나면서 수용성 성분이 증가되기 때문인 것으로 판단된다.

능이버섯 분말과 protease의 연육효과를 실험한 결과, 소고기의 경도를 감소시키는 것으로 나타났으며, 시판되고 있는 연육제인 papain 과 거의 동일한 연육효과를 가져왔다. 능이버섯의 첨가로 인한 경도감소효과는 능이버섯분말이 51.6%, 능이버섯 protease는 58.5%, 시판의 연육제인 papain은 56.3%의 높은 경도감소를 나타냈다. 그 이유로서는 능이버섯의 protease가 actin, myosin, connectin을 비롯한 근원섬유 단백질을 효과적으로 분해를 시키기 때문으로 사료된다.

능이버섯의 첨가가 식품의 색도 [(명도(Lightness, L), 적색도(Redness, a), 황색도(Yellowness, b),  $\Delta E$  값] 에 미치는 영향을 조사해본 결과, 능이버섯 분말첨가는 명도를 감소시켰으나, 능이버섯 protease의 경우 47.2로 높아졌으며, 설탕 및 papain도 protease와 유사한 명도를 나타냈다. 적색도와 황색도의 경우에는 대조구에 비하여 모든 처리에서 낮은 값을 보여주었다.  $\Delta E$ 값에 있어서 능이버섯 분말을 첨가하면 4.55로서 현저한 색차를 보여주었으며, protease, 설탕 및 papain은 2.07 - 2.74 로서 감지할 수 있을 정도의 색차로 나타났다. 능이버섯 분말이 진한 색차를 결과한 것은 능이버섯이 가지는 색소에 기인하는 것으로서 버섯자체가 요리시 타재료의 색까지도 변하게 하는 자체의 색소때문으로 생각된다.

Protease효소의 대량생산을 위한 공시균으로서 표고버섯균(*Lentinula edodes*)를 사용하였으며, Protease의 최적생산 조건을 구명하기 위하여 생산기질의 조성, 배양조건, 배양기간등을 검토한 결과, 배지의 조성별 protease 생산성에 있어서는 밀기울+옥수수가루+옥수수기름 (WB+CF+CO+W) 조합이 85 U/g으로서 가장 높은 protease 생산성을 보여주었고, 콩가루와 소맥분조합의 protease 생산성이 매우 낮은 것을 알 수 있었다. Protease 생산을 위한 배양 매체로서 acetate buffer에서는 전혀 protease의 생산이 되지 않았으며, pH 6.5의 이온교환수가 80 U/g 의 가장 높은 protease 생산성을 나타냈다. 이 이온교환수를 pH 4.5로 조절하였을 때 생산성은 62 U/g 으로 낮아졌다. 배양기간에 따른 protease 생산성은 배양시간이 경과됨에 따라 증가하였으며, 72시간 배양으로 90 U/g의 최대값에 달하였고, 그 이후 점차 감소하는 경향으로

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

나타났다. Sephadex G-75 chromatography 로 측정된 분자량은 약 45,000 이었다.

*Lentinula edodes*를 이용하여 생산된 protease의 효소특성을 상이한 pH 및 온도의 조건에서 조사한 결과, 최적 pH는 4에서 나타났으며, 최대의 활성은 pH 4 - 6 범위에 있었다. protease의 온도안정성을 조사한 결과로서 최적온도는 55 °C에서 나타났으며, 30 - 60 의 넓은 온도범위에서 안정함을 알 수 있어서 이 효소는 소화용 제제, 식품공업, 맥주제조업 및 가축무두질 등 널리 이용될 수 있을것으로 생각된다.

### 다. 능이의 향기 성분과 건조 중의 변화 구명

능이버섯의 향기성분을 SDE, SFE, headspace 로 추출하고 GC, GC-MS로 동정한 결과 SDE추출물에서는 33개, SFE추출물에서는 26개, headspace추출물에서는 17개의 화합물이 동정되었다. 확인된 화합물의 주성분은 1-octen-3-ol, 1-octen-3-one, 3-octanone, 2-octen-1-ol, 3-octanol, 1-octanol 등의 C<sub>8</sub> 화합물과 benzeneacetaldehyde등이었다. AEDA결과 능이버섯의 주된 향기특성으로는 생능이버섯내(unknown), 생버섯내(1-octen-3-ol), 곰팡이내(1-octen-3-one), 흙냄새(3-octanol), 풀내(1-octanol), 강한 풀내(2-octenal), 단 꽃내(benzeneacetaldehyde), 목재내(L-linalool), 치즈내(3-hydroxy-2-butanone), 상큼한 단내( 2-decanone), 약간의 불쾌한 고기내(3-methyl thiopropanol), 시큼한 우유내(propanoic acid) 등으로 나타났다.

온도 3수준(30 °C, 50 °C, 70 °C)과 풍속 3수준(0.5 m/s, 1.0 m/s, 1.5 m/s)에서 능이버섯의 건조실험을 수행하였으며, 각 조건에서의 향기성분과 건조과정 중 향기 성분의 변화를 조사하였다. 능이버섯의 건조는 상당기간이 감률건조 기간으로 나타났으며, 건조속도는 건조온도가 높아질수록 증가했으나, 풍속은 건조에 미치는 영향이 작게 나타났다. 건조온도 50°C, 풍속 1.5 m/s의 건조조건에서 1-octen-3-ol, 3-octanone, 1-octanol, 3-octanol등의 peak area가 각각 17976, 11570, 1016, 1077로 다른 건조온도 조건에 비해 높게 나타났다. 건조시간에 따른 능이버섯의 주요 향기성분 함량 변화를 보면 1-octen-3-ol을 비롯한 1-octanol, 2-octen-1-ol, 3-octanol등의 C<sub>8</sub> 화합물 peak area가 크게 감소하였고, C<sub>8</sub> 화합물 중 1-octen-3-one, 3-octane등의 상대적 함량비는 증가하였다. 또한 건조과정 중

butyric acid, propanoic acid, 3-methyl thiopropanol 등과 같은 화합물이 생성되었다.

능이버섯을 50℃, 1.5%, Rh=15%의 조건으로 건조하면서 물성을 Rheometer로 측정하였다. 건조시간에 따른 Strength, Compression Distance, Break Down, Deformation Rate, Hardness, Surrender, Distortion, Alleviation Time, Alleviation Rate, Softness, Jelly Strength 등 물성특성 간의 회귀방정식을 구한 결과 응력이 최고로 도달하는데 걸리는 시간은 생능이버섯에서 10.83초, 건조된 능이버섯은 2.91초로 건조시간에 따라 짧아졌다. 능이버섯의 색도는 건조과정 중 L값과 a값은 감소하였고 b값은 증가하여 대체로 검게 변하였다. 구조는 두께의 변형율이 0.728인데 반해 면의 변형율은 0.3805로 두께의 변형이 면의 변형보다 2배정도 큰 것을 보였다. 즉, 건조 중 능이버섯은 갖의 크기가 작아지면서 두께가 상당히 얇아지는 것으로 나타났다. 능이버섯을 건조한 후 재수화시 재수화율은 40.5%정도 회복되었다. 응력이 최고로 도달하는데 걸리는 시간 또한 6.41초로 44.2%정도 회복된 것을 관찰할 수 있었다. 실험을 행한 물성 특성의 회복은 40% 정도로 재수화나 응력의 최고 도달 시간과 비슷한 복원율을 나타냈다.

#### 라. 능이의 포장 기술개발

포장재로 사용하기 위해서는 인쇄적성과 유통시 강도적 특성이 고려되어야 한다. 겉보기밀도와 지합을 통해 종이의 구조적 특성을 분석하였고, 인장, 압축, 파열강도를 측정하여 유통시 강도적 특성을 분석하였다.

고해하중이 낮은 경우 종이의 강도가 증가하였고, 키토산 내첨에 의한 종이의 강도는 고해하중이 높을 때가 고해하중이 낮을 때 보다 강도 증가율이 높았다.

키토산을 첨가하면 종이의 지합이 향상되었고, 종이의 강도는 키토산 2%를 코팅하였을 때가 1%, 3%보다 더욱 높았다. 종이의 건조속도는 키토산 농도가 높을 수록 빠르며, 키토산 수용액의 분자량과 농도에 의해서 종이의 공극구조를 변화시킬 수 있었다. 그리고 키토산 코팅 종이는 *E. coli* O-157 균에 대한 높은 항균성을 가졌다.

강도향상제인 AVA와 VAEC, 식품 보존료인 PS를 내첨하여 초지 하였을 때 종이의 구조적 특성 향상과 강도적 향상 그리고 항균성도 향상되는 긍정적인 효과를 나타내었다. 종이 산업에 사용되는 강도향상제에도 어느 정도 항균성을 나

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

타내는 것이 존재하기 때문에 식품 보존료인 PS와 제지용 강도향상제의 혼합사용으로 종이의 특성 향상과 항균성의 향상을 동시에 가져올 수 있으리라 판단되었다.

그리고 솟 첨가 실험에서는 솟이 고체상 물질이므로 종이의 구조적 측면에서 겉보기 밀도가 낮아져 bulk해 지기 때문에 투기도가 향상된다. 뿐만 아니라 솟이 보유하고 있는 공극으로 기체 흡수를 증가시킨다고 판단되었다. 솟을 첨가한 종이는 강도가 약해지는 경향을 보이므로 이를 극복하기 위해 항균성이 있는 강도향상제(AVA)를 사용하여 강도적 측면을 보완하였다. 종이 포장은 버섯 저장시 결로량을 감소시켜주므로 신선도를 유지할 수 있는 역할을 하기도 한다고 판단되었다.

## 2. 연구결과의 활용에 대한 건의

능이산지의 생태학적인 연구로써 능이산지의 특성과 연간 능이생산의 변동을 이해하게되었다. 하지만 능이의 인공재배를 위한 기술은 능이 균사배양, 접종기술에서 해결해야할 지시과 기술이 매우 부족하다. 그러므로 단기간으로는 능이산지의 토양수분을 관리하고 능이자실체의 저장성을 높이는데 이 연구가 매우 중요하게 활용될 수 있다고 생각한다.

나아가 이 연구에서 밝혀진 능이가 함유하고 있는 단백질 소화제인 프로테아제와 능이 향기 성분은 능이를 이용한 고급 문화적인 식품의 개발에 크게 활용될 수 있을 것이다.

실질적으로는 본 기술을 버섯 포장재를 제조하는데 기술지도할 수 있다. 여기서 생산된 포장재는 산지 포장업체에 공급하여 능이버섯의 포장에 사용하도록 한다. 특수한 기능성을 부여할 수 있는 기술을 제지업체에 전달, 지도함으로써 관련되는 다양한 특수지 생산에 필요한 기술을 주고, 현재 국내에 수입되고 있는 특수지를 국내에서 자체 생산할 수 있도록 하여, 수입을 대체하고 해외에 수출할 수 있다. 또한 포장을 정량화, 규격화함으로써 농가의 수입을 보장하면서 버섯의 물류비용을 최소화하고 신속히 유통하는데 활용할 수 있다.



## SUMMARY

### Project 1. Field Cultivation Technology of *Sarcodon aspratus*

*Sarcodon aspratus* is known as the best mushroom in flavor as well as used as a traditional digestant for meat food in Korea. This fungus is ectomycorrhizal with oak trees. This study investigated about resources of *S. aspratus*, ecology of *S. aspratus* production of *S. aspratus* mycorrhizal seedlings and production site management model. Korea produced this mushroom by 50 to 60 tons per year. The ecological characteristics of the below-ground colony of the fungus were investigated. Its habitat was relatively fertile and moist sites: very often valley with oak trees as main woody species. The oak species were *Quercus mongolica*, *Q. variabilis*, *Q. acutissima* and *Q. serrata*. The base of the fruiting body had a rigid, thick and dark brown mycelial bundle connected to below-ground white fungal colony. The shapes of the colonies were oval to irregular or strip with 0.5 to 15 m long, 24 to 108 cm wide and 2 - 33 cm deep. In soil profile the fungal colonies grew into 30 cm deep mineral soil. The colonies were highly compacted with soil particles, mycelia and oak's ectomycorrhizas. The hardness of the colony soils ranged 2.0 to 5.1 kg/cm<sup>2</sup>, three times as hard as that of non-colony, and the soil moisture was 15.7 to 21.1%, by about 2.0-3.5% lower than that of the non-colony. Ergosterol content in the colony was 17.3 µg/g dry soil, almost twenty times as high as that of the non-colony. Its mycorrhizas were light brown covered with copious white cottony hyphae. The hyphae were hyaline, smooth but stiff with clamp connections. The fungal mantle was 10-25µm thick and Hartig net developed into two or three cell layers.

This mushroom has 85 to 90% water and is a habitat for a variety microorganisms including photosynthetic green bacteria and unreported tubular rod shape one. We were not able to isolated and culture the pure strain of the *S. aspratus*. Thus the mycorrhizal formation was not successful. Inocula

for growing *S. aspratus* mycorrhizal seedlings were not developed. The mushroom tissues, spore slurry and detached mycorrhizal soil colony were not effective as an inoculum. Only planting seedlings on the intact soil colony in the mushroom fruiting stand was effective for growing mycorrhizal seedlings. The process of the initiation and development of the below-ground colony is waiting for our further studies.

### **Project 2. Physiologically Active Materials of *Sarcodon aspratus***

This study was performed to investigate biological substances in Neungi mushroom (*Sarcodon aspratus*). In addition the enzymatic characteristics and its meat tenderizing effect of protease isolated from Neungi mushroom were discussed. Lastly the optimum production condition of protease from submerged culture of oak mushroom (*Lentinula edodes*) and its enzymatic features were studied.

Neungi mushroom contained Ca, Mg, Zn, Mn, Fe, Cu and Pb, in particular high Ca and Na. Hot water extracts consisted of 54% of polysaccharide fraction and 32.6% of protein. In amino acids composition, 14 free amino acids were contained, mainly glutamate, alanine, and arginine. 15 kinds of total amino acids were contained, major component glutamate, aspartate, serine and threonine were also included.

Concerned to Glycoprotein extraction, 95% EtOH was the highest yields, 3.32% glycoprotein. Different EtOH concentration have precipitated different protein contents. lower EtOH concentration gave high sugar fraction. Purification of Glycoprotein showed 39.5% of 300,000 high MW fraction. B-1 fraction from Ion chromatography was fractionated by gel chromatography B1B having 700Kda MW was neutral sugars.

The crude protease extracts from Neungi mushroom (*Sarcodon aspratus*) fruit body were purified. The specific protease activities were increased with the increasing purification steps, 2.62 times by desalting, 17 times by CMC column chromatography, 113.8 times by DEAE- Sephadex

## SUMMARY

A-50 column chromatography, and 728.3 times by Sephadex G-75 column chromatography.

Proteases were identified two different enzymes having different isoelectric points at pH 4.35 (its recovery 8%) and pH 4.7 (its recovery 3.5%). Those proteases were purified 3,023 folds and 3,275 folds in terms of specific activity. These two proteases having different isoelectric points had similar enzymatic properties. This protease was estimated to be 43 kDa molecular weights by SDS-PAGE. Gradual reduction of the band intensity was observed as time proceeded at 65°C on the SDS-PAGE and this suggested that autodigestion occurred.

This protease with optimum pH 4 was almost stable in the pH range of 4 - 7. Optimal temperature of protease activity was 40 - 50°C. and the protease activity was completely inhibited when the protease held at 70 °C for 30 min.

Concerned to protease application, the addition of Neungi mushroom powder and its protease enhanced water retention values (WRV) of meat. The WRV of meat was increased 26.8% by protease addition, compared to 13.8% WRV by sugar addition. This WRV increasing derived from the increase of water soluble fraction in the meat texture by hydrolysis of meat protein and its tenderizing effect.

Concerned to the meat tenderizing effect, the addition of Neungi mushroom powder and its protease have decreased of meat hardness and gave similar tenderizing effect as compared to commercial tenderizer, papain. The decreasing rates of meat hardness were 51.6% of Neungi mushroom powder, 58.5% of Neungi mushroom protease, and 56.3% of commercial tenderizer, papain. This tenderizing effect of protease attributed to degradation of muscle fiber protein, such as actin, myosin and connectin etc. The addition of Neungi mushroom to the other foods resulted in significant changes in food color, mainly decreasing lightness.

Oak mushroom (*Lentinula edodes*) was used to investigate the

optimal condition for the mass production of protease in a submerged culture. Among several combinations of media, the combination of wheat bran, corn flour, corn oil and water (WB+CF+CO+W) yielded maximum protease. This indicated that this combination of ingredients, in spite of not being particularly protein-rich in comparison to the other media tried, allowed for good growth of the fungus and maximal protease production. Comparison of different growth medium liquids indicated that demineralized water afforded the best growth of the fungus and the highest protease yield. Acetate buffer and acidified water affected negatively. The protease production peaked around 72 hr of incubation, and decreased thereafter. The molecular weights were about 45,000 by Sephadex G-75 chromatography.

The pH optimum for protease activity was 4, while maximal activity was observed between pH 4 - 6. The optimum temperature of this protease was 55°C, and the enzyme was active over a broad temperature range (30 - 60°C), indicating that this protease would be suitable for a wide range of applications, such as digestive aids, food industry, beer industry, and tannery where different pH and temperature are necessary.

### **Project 3. Aroma Compounds of *Sarcodon aspratus* and Their Changes during Drying**

Aroma compounds in Neungee(*sarcodon aspratus*) were extracted by simultaneous distillation and extraction(SDE), supercritical fluid extraction(SFE) and headspace method. Flavor compounds obtained by various extraction methods were analyzed with GC and GC-MS. The functionality of flavor compounds were determined by aroma extract dilution analysis(AEDA) of GC-olfactometry methods. Fifty one flavor compounds were totally identified in Neungee mushroom. However, the numbers of flavor extracted SDE, SFE and headspace were 33, 26 and 17 respectively. The major flavor compounds obtained by SDE, SFE and headspace were 1-octen-3-ol, 1-octen-3-one, 3-octanone, 2-octen-1-ol, 3-octanol, 1-octanol and

## SUMMARY

benzenealdehyde. As the results of sniffing test, the major flavor compounds were found to be fresh mushroom flavor, wood flavor, refreshing sweet flavor, mold flavor, bitter-mushroom and metallic-flavor.

The drying curve of mushrooms was consisted of short constant rate period and consecutive falling rate part. The drying rate was increased with increasing drying temperature and air velocity. Considerable changes were found in aroma composition of mushroom during drying period. Results showed that mushrooms dried at the temperature of 50°C and the air velocity of 1.5 m/s had the greatest peak area of aroma compound. The aromatic components of the dried mushrooms were 1-octen-3-one, 1-octen-3-ol, 3-octanone, 1-octanol, 2-octen-1-ol, 3-octanol, 3-octanone, 1-octanol, 2-octen-1-ol, 3-octanol. Mushroom alcohol and aromatic compounds of mushrooms like 1-octen-3-ol, 1-octanol, 2-octen-1-ol, 3-octanol were reduced, but aromatic compounds of mushrooms like 1-octen-3-one, 3-octane were increased during drying period. Also, new unfavorable compounds like butyric acid, propanoic acid, 3-methyl thiopropanol were formed during drying period.

While the drying was performed at the temperature of 50°C and the air velocity of 1.5 m/s, it appeared that the transformational rate of thickness is twice of that of the surface. During drying period, the value of the Strength, the Compression Distance, the Break Down, the Deformation Rate, the Distortion, the Alleviation Rate, the Softness, and Jelly Strength decreased, whereas the value of the Hardness, and the Alleviation Time increased. But the value of the Surrender did not change. It took 10.83 seconds by the stress's arrival at the maximum at the Neungee but it took 2.91 seconds at the dried Neungee. During drying periods, the L value and a value decreased, and the b value increased. The color of the Neungee turned to black. The rate of rehydration was about 40.5%. After 6.41 seconds, the stress was arrived to the maximum and it was recovered about 44.2%. The rate of the recovery about the rheological characteristics was about 40%.

**Project 4. Development of Packaging Materials for *Sarcodon aspratus***

Objectives of the packaging of *Sarcodon aspratus* are to keep a mushroom's freshness, to protect qualities until delivery to customer, to standardize transaction, to ensure convenience of activity of cargo handling, and to give correct information about commodity. By fulfilling those objectives, producer and consumer of *Sarcodon aspratus* will be protected, expenditure of distribution will be reduced, and related industries will be activated further. Recently, regulation of safety of food additives has been fortified and natural preservatives are anticipated for development. Chitosan has been widely used as natural preservatives by antibiosis effect. Chitosan has anti-bacterial and anti-fungus effects. Paper was produced for mushroom packaging by using those effects. In order to be used as packaging material printability and strength properties during transportation and distribution. Should be ensured. Structural properties of paper were analyzed by apparent density and formation, strengths were analyzed by tensile, compression, and burst strengths measurements. When refining load was low, strengths of paper were increased. When chitosan was added internally, increasing ratio of strength was higher with low refining load than high refining load. Formation was improved by adding chitosan, and when 2% concentration chitosan was coated on paper the strengths were higher than 1 and 3%. Drying speed of paper was high as the concentration of chitosan was high. It was possible to control porosity structure of paper by molecular weight and concentration of chitosan solution. Chitosan coated paper had strong antibiosis to *E. coli* O-157. It has been known that sorbate and potassium sorbate among various preservatives are generally recognized as safe (GRAS) and completely decomposed through fatty acid metabolism in human body. Presently various kinds of chemicals are used in paper making process and especially strength additives are used for improving

## SUMMARY

fibers bonding. Strength additives may behave as not only bonding improvement agent but also anti-bacterial agent according to functional groups. Vinyl acetate ethylene copolymer(VAEC), acrylic vinyl acetate(AVA), and potassium sorbate(PS) were added internally during paper making process and strength and anti-bacterial effects were measured. VAEC and AVA have been used as the strength additives. PS is well known food additives. When using VAEC, AVA, and PS structural and strength properties and anti-bacterial effects were confirmed as positively. When using food preservatives PS, and strength additives together, paper properties and anti-bacterial effects were increased.

Factors of mushroom's storage periods are  $CO_2$  and  $O_2$  production during breathing and evaporation of moisture by breathing heat. In order to extend storage periods, the best way is controlling breathing itself. Charcoal has many internal voids which have good absorption capability. Packaging paper was produced after adding oak charcoal. Oak is known as diffuse porous hardwood with many vessel elements. Physical properties of mushroom and paper properties were measured. Charcoal was solid material so apparent density of paper was decreased, became bulkier and increased in air permeability. Voids of charcoal increased gas adsorption. When adding charcoal, strengths of papers were decreased so strength additives AVA was used. Amount of dew produced on wrapping vinyl was reduced and freshness of mushroom was maintained for prolonged periods.

Results of this research will show paper makers basic aspects of producing packaging paper of mushroom. Produced packaging paper should be used for packaging mushroom at packing company around harvesting site. Paper making technologies for specialty papers will be distributed to related paper making companies, so practical knowledge will be shared. Domestic paper makers may apply those technologies to various specialty papers production which have been imported for years.

## 농이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

It will save dollars and even get profits by exporting those items. Standardization of fruits and vegetables packaging will provide profits to producers and save transport and customer and distribution fees with fast and profitable business.



# CONTENTS

CHAPTER 1. INTRODUCTION -----	27
Section 1. Objectives -----	27
Section 2. Justification -----	27
Section 3. Scope -----	29
CHAPTER 2. STATE OF THE ART -----	31
CHAPTER 3. RESEARCH METHODOLOGY AND RESULTS -----	37
Project I. Field Cultivation Technology of <i>Sarcodon aspratus</i> --	37
1. Introduction -----	37
2. Materials and Methods -----	38
1) Resources of <i>S. aspratus</i> -----	38
2) Ecology of <i>S. aspratus</i> -----	38
3) Culture of mycelia -----	39
4) Production of mycorrhizal seedlings -----	40
5) Production site management model -----	42
3. Results and Discussion -----	43
1) Resources of <i>S. aspratus</i> -----	43
2) Ecology of <i>S. aspratus</i> -----	61
3) Culture of mycelia -----	69
4) Production of mycorrhizal seedlings -----	75
5) Production site management model -----	88
4. Conclusion -----	105
Project II. Physiologically Active Material in <i>Sarcodon aspratus</i> -	107
1. Introduction -----	107
2. Materials and Methods -----	109
3. Results and Discussion -----	115

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

1) Analysis of raw compounds -----	115
2) Characteristics of glycoprotein -----	117
3) Activity of protease of <i>S. aspratus</i> -----	120
4) Utilization of protease -----	129
5) Optimum culture condition of protease ----	132
4. Conclusion -----	136
Project III. Aroma Compounds of <i>Sarcodon aspratus</i> and Their	
Changes during Drying -----	140
1. Introduction -----	140
2. Materials and Methods -----	141
3. Results and Discussion -----	145
1) Aroma according to extraction method ----	145
2) Aroma characteristics by GC sniffing -----	146
3) Effect of drying temperature -----	153
4) Effect of drying air velocity -----	155
5) Change in aroma during drying -----	155
6) Change in water contents during drying --	164
7) Change in structure during drying -----	165
8) Change in color during drying -----	168
9) Change in texture during drying -----	169
10) Rehydration characteristics -----	170
11) Changes in texture after rehydration ----	171
4. Conclusion -----	172
Project IV. Package Materials for <i>Sarcodon aspratus</i> -----	
1. Introduction -----	174
2. Materials and Methods -----	175
3. Results and Discussion -----	178
1) Chitosan paper -----	178

## CONTENTS

2) Anti-microorganism paper -----	188
3) Charcoal added strength improved paper --	193
4. Conclusion -----	200
CHAPTER 4. ACHIEVEMENT OF THE PROJECT AND ITS CONTRIBUTION -----	203
CHAPTER 5. APPLICATION PLAN OF PROJECT RESULTS -----	205
CHAPTER 6. TECHNOLOGICAL INFORMATION OBTAINED DURING THE ROJECT PERIOD -----	207
CHAPTER 7. LITERATURE CITED -----	219
APPENDIX -----	231

## 목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 -----	27
	제 1절 연구개발의 목적 -----	27
	제 2절 연구의 필요성 -----	27
	제 3절 연구개발의 범위 -----	29
제 2 장	국내외 기술 개발 현황 -----	31
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과 -----	37
	제 1절 능이의 임지재배 기술 개발 -----	37
	1. 서론 -----	37
	2. 재료 및 방법 -----	38
	가. 능이자원 파악 -----	38
	나. 능이생태 조사 -----	38
	다. 능이군사 배양 -----	39
	라. 능이 접종묘 생산 -----	40
	라. 능이산지 관리모델 -----	42
	3. 결과 및 고찰 -----	43
	가. 능이자원 파악 -----	43
	나. 능이생태 조사 -----	61
	다. 능이 군사배양 -----	69
	라. 능이 접종묘 생산 -----	75
	마. 능이산지 관리모델 -----	88
	4. 결론 -----	105
	제 2절 능이 생리활성 성분 연구 -----	107
	1. 서론 -----	107

2. 재료 및 방법 -----	109
3 결과 및 고찰 -----	115
1) 조성분 분석 -----	115
2) Glycoprotein 정상 -----	117
3) 능이버섯 protease 활성 -----	120
4) protease 활용 -----	129
5) protease의 최적 배양 조건 -----	132
4. 결론 -----	136
제 3절 능이의 향기 성분과 건조 중의 변화 -----	140
1. 서론 -----	140
2. 재료 및 방법 -----	141
3. 결과 및 고찰 -----	145
1) 추출방법에 따른 향기성분 분석 -----	145
2) GC sniffing에 의한 추출물의 향기특성 강도-----	146
3) 건조 온도의 영향 -----	153
4) 건조 풍속의 영향 -----	155
5) 건조시간에 따른 향기성분의 변화 -----	155
6) 건조과정 중 수분함량 변화 -----	164
7) 건조과정 중 구조 변화 -----	165
8) 건조과정 중 색도 변화 -----	168
9) 건조과정 중 물성 변화 -----	169
10) 재수화 특성 -----	170
11) 재수화 후 물성 변화 -----	171
4. 결론 -----	172
제 4절 능이를 위한 포장재 개발 -----	174
1. 서론 -----	174
2. 재료 및 방법 -----	175
3. 결과 및 고찰 -----	178

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

	가. 키토산 종이 -----	178
	나. 향균지 -----	188
	다. 숲, 강도 향상제 종이 -----	193
	4. 결론 -----	200
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	203
제 5 장	연구개발결과의 활용계획 -----	205
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 -----	207
제 7 장	참고문헌 -----	219
부록	-----	231

# 제 1 장 연구개발 과제의 개요

## 제 1절 연구개발의 목적

우리나라에서는 제 1 능이, 제 2 표고, 제 3 송이라는 말이 있다. 산림에서는 다양한 버섯이 나며 그 중에서 중요한 것이 위의 세가지인데, 능이는 참나무 뿌리와 공생하고, 송이는 소나무 뿌리와 공생하여야만 나는 버섯으로 아직 인공재배를 못한다. 이에 반하여 표고는 참나무류를 썩히면서 나는 목질을 분해하는 버섯으로 인공적으로 재배하고 있다.

능이는 옛부터 향기와 맛이 좋고, 육류의 소화제로서 잘 알려져 있어서 최근 농산물 시장에서는 가을철에 kg당 약 3-5만원에 거래될 정도로 인기가 좋은 버섯이다. 하지만 산림내에서 이 버섯이 나는 곳의 산림상 특징이나 생산량 등은 이번 연구로 인하여 조금씩 알려지게 되었다.

현재 세계적으로는 자연환경내 생물다양성 유지와 농임업에서는 지속가능한 생산이 중요시되면서 이들 자연적으로만 발생하는 균근성 버섯의 개발이 추진되고 있다. 이번 연구는 능이의 임지재배기술 개발, 능이의 생리활성 성분 구명, 능이의 향기성분과 건조 중의 변화 구명, 그리고 능이버섯의 포장기술 개발의 목적을 가지고 다음의 4개 과제를 추진하였다.

- 1 과제: 능이의 임지 재배기술개발
- 2 과제: 능이 생리활성 성분 연구
- 3 과제: 능이의 향기 성분과 건조 중의 변화
- 4 과제: 능이의 포장 기술개발

## 제 2절 연구의 필요성

### 1. 기술적 측면

산림내 땅에서만 나는 것으로 식용버섯으로 능이(향버섯, *Sarcodon aspratus*)는 참나무류 수종의 뿌리와 공생하여 나는 버섯으로 소나무와 공생하는 송이처럼 균근

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

성이며 아직 인공재배법은 알려지지 않고 있다. 인공재배가 불가능한 이들 버섯의 재배를 위해서 기주식물에 균을 접종하여 직접 묘포장이나 임지에서 기르는 것을 시도 중이다. 예를 들면, 균근성 버섯의 일종이면서 향기가 좋아 그 가치가 1kg에 2000\$씩이나 하는 덩이버섯(서양송로, truffles, *Tuber* 속의 버섯)은 이탈리아, 프랑스, 뉴질랜드, 호주 등지에서 개암나무나 참나무류에 접종한 후 농장에 심어서 버섯생산에 성공하고 있다. 그러므로, 현재 우리나라는 참나무 수종이 다양하고 그 산림이 증가일로에 있으므로 능이의 생산 증가와 임지재배 기술 개발이 필요하다.

버섯류에 포함된 미량성분 가운데 구름버섯 으로부터의 Cleistine, Mizofirane, 표고버섯에 들어있는 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 Eritadenine (Suzuki and Oshima, 1976), 암세포를 억제시키는 다당체인 Lentinan (Chihara, 1970) 등 의약품으로서 인가된 성분도 있으며, 기타 버섯으로부터 유래되는 항종양성 다당류의 연구보고가 많고, 항바이러스 효과(Yamamura and Cochrane, 1976)를 나타내는 생리활성 물질에 대한 연구도 진행되고 있는 등, 임산버섯의 식용, 약용 버섯은 신약개발의 중요한 천연자원으로 인정되고 있다. 일본의 경우 특히 기능성식품의 중심을 이루는 표고버섯으로부터 추출·정제된 Eritadenine 성분은 오늘날 특정 보건용 식품과 깊은 관계가 있는 미량성분과 생리기능의 과학적 해명이 이루어지면서 당시 일본의 JSD 식품제도를 발족시키는데 결정적 역할을 하였다.

능이버섯은 일명 향버섯이라 불릴 만큼 향이 우수하며 건조시에 특히 강한 향이 생성되는 등 우수한 향으로 각광받고 있으나 향에 대한 연구는 아주 미흡한 실정이다. 향기는 여러 성분의 복합적인 작용의 결과이며 휘발성 성분의 추출방법 및 분석기술에 따라 동일한 버섯의 경우에도 검출성분에 차이가 있으므로 SDE 추출법, Head-space 분석, 초임계 추출 등과 병행한 최신 GC-MS 분석기법을 이용한 비교분석이 요구된다.

능이 버섯의 포장은 버섯의 신선함을 산지 그대로 유지해주고 소비자에게 전달할 때까지 상품을 보호함은 물론, 거래의 규격화와 기계하역에 의한 하역의 편리성을 도모하기 위한 정량성을 확보하고, 상품에 대한 정확한 정보를 전달할 수 있도록 표시하기가 쉬워진다. 이와 같은 역할을 통하여 능이 버섯의 생산자와 소비자를 보호하고, 유통을 규격화함으로써 물류비 절감과 관련산업의 활성화를 꾀할 수 있게 될 것이다.



## 2. 경제·산업적 측면

산림벌채로 얻는 소득은 20-100년에 한번이나, 그 산림에서 버섯수확으로 얻는 소득은매년 발생하므로 능이의 생산과 수확은 산촌민의 소득 안정에 기여한다. 최근 능이버섯은 산지에서는 kg당 15,000원, 도시 농산물거래처에서는 35,000원-40,000원의 가치가 있었다. 1999과 2000년 전국 능이생산량은 각각 50톤 규모였으나, 2001년도는 100년만에 맞는 극심한 가뭄으로 능이 생산량이 지역에 따라서는 전혀 없거나, 전년도에 20의 1에도 못 미치는 것으로 추정되고 있다. 그러므로, 능이 생산을 좌우하는 강수량이나 토양수분과 같은 기상적, 물리적 인자의 영향을 연구할 필요가 있다.

소비자 생활 향상에 따른 식품에 대한 기호도 변화는 인위적 합성으로 만들어진 인공향이 아닌천연물로부터 얻어진 자연향에 대하여 관심을 증대시키고 있어 상업적인 용도의 새로운 향소재탐색 및 개발이 활발히 요구된다.

## 3. 사회·문화적 측면

능이는 가을철에 농산촌에서 중요한 소득원으로 지역의 주민 소득 안정에 기여할 뿐만 아니라, 향기와 맛이 기막히게 좋고 한방과 민간요법에서 육류의 소화제로 알려져 있으므로 한국 고유의 요리와 고급식품 문화발달에 크게 기여할 수 있으므로 이에 대한 연구가 절실하다.

# 제 3 절 연구개발의 범위

## 1. 능이의 임지 재배기술개발

능이의 임지 재배기술개발을 위하여는 (1) 능이자원의 파악 (2) 능이의 생태구명 (3) 능이 접종묘 생산 (4) 능이산지 관리모델 개발을 시도하였다.

## 2. 능이 생리활성 성분 연구

능이 생리활성 성분 연구에서는 (1) 자실체의 용매분해 기술개발 (3) 추출성분의 성장 및 생리활성 특성 구명 (5) 생리활성성분 중 protease의 생산을 위한 최적배지 및 배양조건 구명 (6) 생산 protease의 특성 구명 및 활용을 추진하였다.

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

### 3. 능이의 향기 성분과 건조 중의 변화 연구

능이의 향기 성분과 건조 중의 변화 연구에서는 (1) 능이버섯의 건조과정 중 물질성변화 측정 (2) 능이버섯의 건조과정 중 품질의 변화 (3) 최적 건조조건을 구명하고자 하였다.

### 4. 능이의 포장 기술개발 연구

능이의 포장 기술개발 연구에서는 최종목표는 현재 버섯의 생산, 포장, 유통, 저장 등의 조건을 감안하여, 능이 버섯의 종류에 따라 신선도유지와 함께 저장기간을 3배로 연장시키는 포장재를 개발하고자 하였다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 버섯의 가치

전세계 사람들이 버섯을 즐겨먹는 습성은 전에는 단순한 기호품적 존재이던것이 지금은 인구의 증가와 과학적인 연구에 의하여 영양가치와 약용가치가 인정되어 인간의 구미에 맞고 영양가가 풍부한 보건의식품으로 좋은 평가를 받고 있어 경제발전에 따른 식생활 향상으로 막대한 수량의 버섯이 소비되고 있으면서 버섯의 종류도 다양화 되고있는 실정이다.

우리나라에서는 옛부터 송이버섯, 표고버섯 그리고 느타리버섯을 식용으로 즐겨 왔으며 중국은 표고버섯, 일본은 송이버섯과 팽이버섯, 서구에서는 머슈룸(Mushroom), 그리고 동남아 전역에서는 목이버섯을 애호하고 있는것이 일반적인 습관으로 전래되고 있다. 국내에서 이루어지고 있는 표고버섯을 비롯한 인공재배 이외의 버섯연구로서는 영지 1호 (*Ganoderma lucidum* ASI7004): 농업기술연구소에서 1984~'85년에 기존에 수집된 17개 균주에 대한 계통선발 시험을 실시하여 수량이 가장 많고 편각지인 ASI7004를 선발 명명한 것으로 하여 1986년부터 농가에 보급: 박용환, 차동열, 박동열, 정환채/ 참나무에서 30본당 1,660g; 현재 참나무로 생산되는 영지는 임업 자원 버섯으로 대부분이 농진청 및 산하 기관에서 재배되고 있다. 그리고 목이 1호 (*Auricularia polytricha* ASI6005): 농업 기술연구소에서 수집한 균주의 특성 조사 및 재배법에 관한 연구를 시작하여 '87연도에 생산력 검정을 통해 ASI6005를 선발: 정환채, 유창현, 변명옥, 박용환 등이 의한 연구가 있으며, 노루궁뎅이 (*Hericeum erinacium*): 이 버섯은 우리 나라의 산림에서 주로 생산되는 버섯으로 약용 혹은 식용으로 사용되는 구멍장이 버섯과에 속하며, 고려대학교의 박원목 교수가 주로 연구하고 있다(고한규 등, 1997). 육질이 좀 딱딱한 면이 있지만, 약용으로 유망한 버섯이다.

버섯류는 당류, 단백질 및 식이섬유 등을 함유하고 있으며, 독특한 맛을 가지고 있어 우리나라를 비롯하여 각국에서 식품으로 널리 이용되어 왔다.

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

근년에 와서는 버섯이 가지는 항균효과, 항암효과, 효소의 특성등이 보고되면서 버섯에 대한 관심도도 한층 높아지고 있다.

굴뚝버섯과 (Thelephoraceae)에 속하는 능이버섯(*Sarcodon aspratus*)은 한국과 일본에 자생하며 예로부터 우리 나라 농산 촌에서 식용뿐만 아니라 육류를 먹고 체하였을 때의 단방약이나 육류 요리시 부재료로 일부 이용하고 있다. 또한 능이버섯은 일명 향버섯이라고도 하며 활엽수림의 부식이 많은 산지에서 발생하고 갓은 깔대기 모양이며 얇은 홍색을 띤 갈색인데 노쇠하거나 마르면 흑갈색으로 되어 강한 향기를 풍긴다<sup>(2)</sup>.

## 2. 균근성 버섯 생산기술

산림내 땅에서만 나는 것으로 식용버섯으로 능이(향버섯, *Sarcodon aspratus*)는 참나무류 수종의 뿌리와 공생하여 나는 버섯으로 소나무와 공생하는 송이처럼 균근성이며 아직 인공재배법은 알려지지 않고 있다. 몇몇 버섯은 기주 식물과 공생시켜서 재배가 가능하다. 그 중에서 경제성있는 균근성 버섯으로서 재배에 성공한 예는 덩이버섯(서양송로, truffles, *Tuber* 속의 버섯)이 있고, 송이는 아직 성공하지 못하였다.

덩이는 균근성 버섯의 일종이면서 향기가 좋아 그 가치가 1kg에 2000\$씩이나 하는데 이탈리아, 프랑스, 뉴질랜드, 호주 등지에서 개암나무나 참나무류에 접종한 후 농장에 심어서 버섯생산에 성공하였다. 덩이버섯의 재배에는 그동안 100여년 이상의 경험이 중요하였고 기후와 토양조건이 맞지 않으면 성공률이 매우 낮다. 예로 뉴질랜드에서는 덩이버섯 농원(truffiere)을 40여군데 이상 조성하였서 10여군데에서 성공하고 있다고 한다. 그러나 지속적으로 생산되는 곳은 1곳 뿐이라고 한다.

한편 우리나라의 소나무림은 식생천이하면서 점점 참나무림화하여 송이생산이 감소하고 있는 가운데, 참나무는 수종이 다양하고 그 산림이 증가일로에 있으므로 능이의 생산 증가와 임지재배의 기술 개발이 고려될 수 있다.

## 3. 능이의 성분

능이버섯은 우리나라 및 일본에서 널리 식용되는 버섯으로서 그 향기가 높아 향버섯으로도 불리워지고 있으며, 우리나라에서는 민간약으로서 고기류를 먹고 체한데 매우 좋은 약으로 사용되어 왔다. 최근 연구에서 능이버섯이 많은 단백질가수분해효소 (proteinase, protease)를 함유하고 있음이 보고되어 졌으며(박완희, 1983), 특히 이 버섯에 함유된 protease는 타 버섯류에 비하여 매우 높은 단백질분해활성이 있음을 확인할 수 있었다. 단백질분해효소는 식육의 가공 및 연화, 물고기sauce의 속성발효 등에 이용되고 있으며, 양조산업, 조미료산업 등 식품공업에 널리 이용되고 있다. 특히 국내산으로 연육제로 주로 사용되고 있는 과실로서 키위, 무화과, 배, 파인애플 등이 있으며, 이들의 단백질 분해효과에 관한 연구가 이루어지고 있으나 산업적으로 이용되기에는 체계적인 연구가 미흡한 형편이다. 또한 이들 다양한 용도로 사용되고 있는 식물성 단백질 분해효소류는 거의 전량 수입되고 있으며, 육류 외식산업의 급증으로 인하여 연육제의 수요가 증가하고 있다.

능이버섯의 성분에 대한 연구로는 GLC를 이용한 16종의 아미노산 분석하였고, 일반성분으로 조지방이 6.8%, 조단백질 3.73%, 조회분 8.97%, 탄수화물 80.5% 라고 보고하였으며, 칼슘을 비롯한 8종의 무기원소 및 oleic acid을 비롯한 13종의 지방산을 분석하였고, 맛성분으로 D-mannitol을 정제(정재기 등, 1974 : 고봉경, 1985)되었다. 능이버섯의 혈중 cholesterol 저하효과에 대한 연구가 보고되었음(古川久産).

버섯류에 포함된 미량성분 가운데 구름버섯으로부터의 Clestine, Mizofirane, 표고버섯에 들어있는 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 Eritadenine (Suzuki and Oshima, 1976), 암세포를 억제시키는 다당체인 Lentinan (Chihara, 1970) 등 의약품으로서 인가된 성분도 있으며, 기타 버섯으로부터 유래되는 항종양성 다당류의 연구보고가 많고, 항바이러스 효과(Yamamura and Cochrane, 1976)를 나타내는 생리활성 물질에 대한 연구도 진행되고 있는 등, 임산버섯의 식용, 약용 버섯은 신약개발의 중요한 천연자원으로 인정되고 있다.

일본의 경우 특히 기능성식품의 중심을 이루는 표고버섯으로부터 추출·정제된 Eritadenine 성분은 오늘날 특정 보건용 식품과 깊은 관계가 있는 미량성분과 생리기능의 과학적 해명이 이루어지면서 당시 일본의 JSD 식품제도를 발족시키는데 결정적 역할을 하였다.

#### 4. 능이 향기

능이버섯은 일명 향버섯이라 불릴 만큼 향이 우수하며 건조시에 특히 강한 향이 생성되는 등 우수한 향으로 각광받고 있다. 능이버섯에 관한 연구로는 능이버섯에서 분리한 단백질 가수분해 효소의 특성, 능이 중 알칼리성 단백질 가수분해 효소의 1차구조에 관한 연구, 능이의 성분에 관한 연구, 능이버섯의 약리작용에 관한 연구 등 일반성분이나 약리작용, 단백질 가수분해 효소의 특성에 관한 연구는 있으나 향기 성분에 관한 연구는 없는 실정이다.

버섯의 휘발성 향기성분은 양송이(*A. bisporus*), 황금그물버섯(*Boletus edulis*), 표고버섯(*Lentinus edodes*), 피꼬리버섯(*Cantharellus cibarius*), 젓버섯(*Lactarius rufus*), 송이버섯 (*Tricholoma mastutake*), *A. campestris*, *A. suhrufecene* 등에 대하여 보고된 바 있다.

버섯류의 휘발성 향기성분은 1-octen-3-ol을 주체로하는  $C_8$ 지방족 알코올로 알려졌다, 들버섯속의 버섯에서는 benzyl alcohol, benzaldehyde, N-methyl-N-formyl hydrozone류 등, 표고에서는 황을 함유한 lenthionine, 송이버섯에서는 methyl-cinnamate 등의 성분이 검출되어 보고됨(Maga, 1981). 향기는 여러 성분의 복합적인 작용의 결과이며 휘발성 성분의 추출방법 및 분석 기술에 따라 동일한 버섯의 경우에도 검출성분에 차이가 있으므로 SDE 추출법, Head-space 분석, 초임계 추출 등과 병행한 최신 GC-MS 분석기법을 이용한 비교분석이 요구됨. 능이버섯뿐 아니라 여러가지 버섯종류의 화학성분은 광범위하게 연구되어 왔으나 버섯의 풍미에 중요한 영향을 미치는 휘발성 향기성분에 관한 연구로는 양송이, 송이, 느타리, 표고, 털목이 버섯 등에 대한 보고가 있을 뿐이다. 버섯의 향기성분은 주로 기계적인 분석에 의존하고 있을 뿐 olfactometry를 이용한 관능적인 기준의 자료분석은 미흡함.

또한 버섯은 외피에 납질층이 없는 구조를 가지고 있어 조직에서 공기 중으로 수분증발을 억제할 수 있는 생리구조를 가지고 있지 않아 버섯내부 조직에서 공기 중으로 수분증발이 자유롭게 진행된다. 수분증발 속도는 버섯의 상태, 주위환경과 습도, 공기유동과 대기압 등에 따라 달라지며 버섯으로부터의 수분증발로 맛과 줄기가 수축되고 단단해지며 형태의 변화와 효소활성의 변화에 의하여 향기성분에 미치게 된다. 건조증상은 버섯의 상품적 가치에 영향을 주기 때문에 제

품의 품질향상과 효율적 건조를 위해서는 좀더 과학적인 건조방법이 요구되고 있다.

버섯의 건조와 관련된 연구로는 표고버섯과 영지버섯의 품질변화에 미치는 열풍건조조건에 대한 보고, 마이크로웨이브 및 열풍에 의한 양송이 버섯 건조에 관한 연구, 건조방법에 따른 양송이 버섯의 물리적 특성에 관한 연구, 버섯의 건조특성에 관한 연구 등 일부 버섯의 건조특성에 관한 논문이 일부 보고되었으나, 능이버섯의 건조특성에 관한 연구는 없는 실정이고, 건조과정 중의 향기 성분과 물성변화 변화에 관한 논문도 거의 찾아보기 힘든 실정이다.

## 5. 버섯 포장재

현재 과채류의 선도 유지 방법으로 연구되고 있는 것은 plastic film 자체의 기체에 대한 선택적인 투과성 차이를 이용하여 포장상품 자체의 적정 포장조건을 조절해주는 MA(modified atmosphere) 저장법과 기체 조절장치를 이용하여 저장상품의 최적 gas상태를 조절해주는 CA(controlled atmosphere) 저장법이 있다. CA저장의 경우 저장상태를 조절하기는 쉬우나 gas상태를 조절하기 위한 공기 조절 장치가 따로 필요하기 때문에 경비가 많이 드는 단점을 가지고 있고, 이에 반해 MA저장은 상품 자체의 호흡 특성에 따라 적정 film하는 문제점이 있지만 간편하고, 효과가 좋기 때문에 여러 분야에서 많은 연구가 진행 중이다.

포장재료의 여러 기능성 중 새로운 연구 분야는 포장재 자체가 능동적 기능을 갖는 것으로서 기존의 포장재에 가스포집제, 에틸렌 가스 처리제, 수분 흡착제, 살균제 등을 첨가하여, 포장기간 중에 포장재 자체가 상품의 성능을 보존하기 위해서 능동적으로 성능을 발휘하는 것을 말한다. 현재 가스 포집이나, 에틸렌 가스처리 등에 대한 어느 정도의 연구와 상품화가 진행되고 있지만, 항균성의 측면은 아직 미약한 실정이다.

현재 키토산을 이용한 항균성 실험이 많은 분야에서 연구되고 있지만 키토산이 가진 항균성에 대한 확인 정도에 그치고 있다. 종이 제조시 키토산을 첨가할 경우 키토산 자체의 작용기와 섬유와 결합하여 종이의 강도를 향상시킨다는 연구결과가 있었고, 종이 포장재에 사용할 때 강도적인 측면에서의 향상도 기대할 수 있을 것이다.

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

버섯 포장재 연구는 항균성 종이 포장재를 개발하고 MA포장과 결합하여 수확한 버섯의 신선도를 최고로 유지하려고 하고 있다. 신선도 유지를 위한 포장재의 기능성으로 항균성을 선택하였고, 식품보존료를 사용하여 종이의 기능성을 살펴본바 어느 정도의 균감소율을 가져 왔다. 선도유지에 사용되는 물질들은 매우 다양하다. 가스조절제에는 가스흡착제, 가스흡착필름, 탈산소제, 질소봉입, 탈탄산가스, 가스발생제 등이 있다. 청과물이 익어가면서 특이한 향기를 내는 것은 대체적으로 청과물의 내부로 부터 에틸렌 가스가 발생하는 것이다. 이 에틸렌 가스는 청과물의 성숙을 촉진하므로 이 가스가 많으면 청과물의 신선도가 급격히 떨어지게 된다.

능이 버섯은 대체로 수분이 80-95%로 매우 높은 편이다. 수분이 과도하게 증발하면 버섯의 향, 맛, 영양이 떨어지게 되므로 포장재 내부의 습도를 85-95%로 유지시켜 수분의 급격한 증발을 방지해 주어야 한다. 이때 포장재의 강도적 성질이 많이 떨어지지 않도록 필름을 이용하여 수분의 증발을 억제하고 상자의 강도를 유지하는 방법이 있다. 능이 버섯의 포장은 버섯의 신선함을 산지 그대로 유지해주고 소비자에게 전달할 때까지 상품을 보호함은 물론, 거래의 규격화와 기계하역에 의한 하역의 편리성을 도모하기 위한 정량성을 확보하고, 상품에 대한 정확한 정보를 전달할 수 있도록 표시하기가 쉬워진다. 이와 같은 역할을 통하여 능이 버섯의 생산자와 소비자를 보호하고, 유통을 규격화함으로써 물류비 절감과 관련산업의 활성화를 꾀할 수 있게 될 것이다.



## 제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

### 제 1 절 능이 임지재배 기술 개발

#### 1. 서론

우리나라에서는 1 능이, 2 표고, 3 송이라는 말이 있다 (정대교, 1966). 산림에서는 다양한 버섯이 나며 그 중에서 중요한 것이 위의 세 가지인데, 능이는 참나무류 뿌리와 공생하고, 송이는 소나무 뿌리와 공생하여야만 나는 버섯으로 아직 인공재배를 못한다. 이에 반하여 표고는 참나무류 목질을 분해하는 발생하는 버섯으로 인공 재배된다.

능이는 옛부터 향기와 맛이 좋고, 단백질 소화효소인 프로테아제를 함유하고 (박완희와 이호득, 1999; 김홍은 등, 2001) 있는 것이 잘 알려져 있어서 최근 농산물 시장에서는 가을철에 인기가 좋은 버섯이다 (사진 1). 또한 능이는 일명 향버섯(김삼순과 김양섭, 1990)이라 불릴 만큼 신선한 향이 또한 좋다(今關六也 등, 1988). 그러나 산림내에서 이 버섯이 나는 곳의 생태적 특성은 참나무림에서 난다는 것 이외에는 잘 알려지지 않고 있다.

현재 세계적으로는 자연환경에서 생물다양성을 유지하는 것과 농업에서 지속가능한 생산이 중요시되면서 산림내에서 자연적으로만 발생하는 균근성 식용 버섯의 가치가 중요시되고 있다 (Piliz and Molina, 2002). 현재 우리나라 산림에서는 소나무림이 쇠퇴함에 따라, 상수리나무, 굴참나무, 신갈나무 등의 참나무림이 증가하고 있으므로 참나무 뿌리에 공생하는 능이의 생산이 증가할 가능성이 매우 높다. 그러므로, 이번 연구에서는 우리나라 능이의 자원을 파악하고, 참나무 임분 토양내에서 능이균환의 생태적 특징을 식생, 토양, 능이 발생형태, 토양내 능이균근 집단 분포, 그리고 능이 균근의 형태적 특징으로써 이해하고, 능이 균사배양과 능이균 접종묘 생산을 시도하고, 능이 생산지의 관리 모델을 제시하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 능이 자원파악

능이의 식별은 한국버섯도감(박완희와 이호득, 1991; 김삼순과 김양섭, 1990; 今關六也 등, 1988)을 참고하고, 능이 발생환경은 수종, 우점도, 지피율, 지형, 경사도, 토양수분, 토양유기물층, 토양 pH, N, K, Ca, Mg 등으로 조사하였다.

능이자원 파악에서는 능이 유사종의 분류, 충청도내 능이 산지 3개 지역, 월악산 충북대 연습림 일원, 보은군, 괴산군에서 능이가 발생한 27개 조사구의 특성, 전국 능이생산량, 충북 지역의 능이 생산량 그리고 GIS에 의한 능이산지의 지도화를 포함하였다. 능이생산량은 우선 전국을 지역으로 구분하여 생산량을 1998년부터 2001년까지 조사하였다. 지역적으로는 충북 제천, 괴산, 경북 영천, 전남 장성 등지의 굴참나무, 상수리나무, 졸참나무림에서 능이 발생환경을 조사하였다. 능이버섯의 발생유형은 버섯발생 위치와 토양내 균의 분포조사로써 확인하였고, 시기별 버섯 발생량은 월악산 지역 2개 마을의 주민 협조로 조사하였다.

능이의 유통이나 가격 형성 등 능이 마케팅에 대하여는 국내외적으로 학술적인 연구가 거의 없고 실제 유통되는 양이 많지 않을 뿐만 아니라 자료의 뒷받침이 전무한 상태이기 때문에 우선 능이버섯의 생산량을 1999 - 2002년 까지의 산림청과 충북 도내 각 시·군의 통계자료를 이용하여 구하였다. 그리고 유통물량 및 가격 조사는 능이 생산지로 이름난 충북 보은군, 괴산군 지역의 송이 채취권자와 자연버섯 수집상 200명을 대상으로 전화 인터뷰 조사하였다. 또한 유통부문의 주 역할을 하고 있는 해당지역의 수집·위탁상은 유통경로를 따라 추적 조사하였으며, 도·소매상은 청주시 농협물류센터를 대상으로 조사하였다.

### 나. 능이 생태조사

능이 발생지 환경조사는 2000년부터 2001년까지 충북 제천시 한수면 송계리 월악산과 경북 영천군 임고면 용화리 기룡산에서 능이가 발생한 장소 각 10개 조사구와 전남 장성의 전남대 연습림에서 실시하였다.

능이 발생패턴은 9월과 10월에 능이가 발생하는 시기에 버섯발생 위치와 토양내 균의 분포로써 조사하였다. 토양내 균환의 분포 패턴은 버섯발생이 끝난 11월에 능이가 발생하였던 지점을 중심으로 손칼쿠리와 직경 3cm의 토양시료 채취기로써 조사하였다. 능이 발생지의 토양수분 변동은 CS516 토양 수분 센서를 사용하여 2001년 8월 중순부터 10월 말까지 월악산 충북대 연습림내 능이 발생지내 2개 장소에서 능이 발생지점 3지점, 능이 비발생지 3지점에서 측정하고, CR10X data logger(Campbell Scientific Inc.)에 저장하였다 (사진 7, 8, 9, 10).

균환토양의 견밀도는 균환부위와 균환이 없는 부위에서 토양경도계로써 kg/cm<sup>2</sup> 단위로 측정하였다. 능이균환 토양내 에르고스테롤 함량은 구창덕 등(2000)의 방법을 변형하여 균환토양 생중량 5g을 분석하여 구하고, 토양수분량을 고려하여 토양 건조량에 대한 값으로 환산하였다. 능이 발생지 아래 토양내 능이균근은 Brundrette(1996)의 균근조사 방법에 따라 형태, 색깔, 균투, Hartig망, 균사의 특징 등을 조사하였다. 능이균근의 내부 형태는 균근 횡단면을 약 40  $\mu$ m 두께로 면도날로 잘라서 40~400배 현미경으로 관찰하거나, 서울대 NICEM의 주사전자현미경으로 500~4000배에서 관찰하였다. 능이자실체의 포자는 충북대 공동실습관의 주사전자현미경으로 관찰하였다.

GIS를 이용하여 발생지를 데이터베이스화하였다. 조사지는 월악산 충북대 연습림에서 MGE(Modular GIS Environment), MicroStation, Oracle을 이용하여 수집한 Data를 저장하였다. 수치지형도, 토양도, 지질도 등 관련 주제도 획득하여 이 데이터에 추가하였다. Landsat TM 인공위성 화상을 이용하여 식생을 분류하고 식생도를 제작하였다. 수치지형도를 이용 수치지형모델(DTM) 제작하였고, 수치지형모델로부터는 경사도, 방위도를 분석하였다. 내업으로 제작된 식생도는 현지 확인하여 보완 및 수정하였으며, GPS(Global Positioning System)를 이용하여 능이산지의 위치를 표시(경위도 좌표)하였다.

## 다. 능이 균사배양

능이균사를 배양하기 위하여 먼저 박테리아를 제거하는 방법을 알 필요가 있었다. 이를 위하여 chitosan을 첨가하였다. bacteria배양 배지는 PDA(Potato Dextrose Agar)에 항생제(Penicillin, Streptomycin, neomycin Solution)를 control

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

배지를 포함한 5가지 농도와 같은 PDA배지에 0.3%의 Chitosan을 5가지 농도(10배, 50배, 100배, 500배, 1000배)로 희석한 배지에 능이균사 배양시 생긴 bacteria를 straking하여 실온에서 암배양 하였다. 어린 능이 자실체의 조직을 잘라내어 MMN배지와 PDA 배지에서 능이균을 분리배양하였다 (사진 24, 25).

## 라. 능이 접종묘 생산

상수리나무 기내발근을 유도하기 위하여, 성장조절물질인 IBA를 각각 0.2mg/l와 0.3mg/l 첨가한 배지별로 (사진 26), 치상한 상수리나무를 정아의 유무를 통해 상부와 하부로 구분하였고, 시료의 채취시기를 기록하고 발근날짜를 기록하였다.

### 1) 무균 상수리나무 묘목 기내 배양

오염율을 최소화하기 위하여 온실에 있는 상수리와 자연상태하의 상수리나무의 순을 이용하였다.

- ① 잘라온 신초를 삼각플라스크에 넣고 tween 20으로 세척하였다.
- ② Clean bench내에서 70% alcohol로 1분 30초간 소독한 후, 멸균수로 3회 세척하였다.
- ③ 2% NaClO(차염소산나트륨)로 1분 30초간 소독한 후, 멸균수로 4회 세척하였다.
- ④ 표면소독이 완료된 시료를 배지에 치상하였다.
- ⑤ 배지는 WPM(Lloyd and Mccown)기본배지에 각각 IBA를 0.2mg/l, 0.3mg/l를 처리하였다.
- ⑥ 배지에 절단 부위가 1/3정도 묻히도록 치상하였고 백색형광등에 의한 3,000Lux 내지 5,000Lux강도의 조명하에서 발근을 유도하였다.
- ⑦ 채취한 줄기를 정아의 유무를 통해 상·하로 구분하여 치상하였다.
- ⑧ 치상후 3~5일이면 배지속으로 검은 분비물이 생기는데 이러한 물질은 탄닌이나 페놀성물질로 보이며, 이를 제거하기 위하여 갈색빛을 띄는 신초는 배지에 치상하지 않는 방법을 이용함으로써 그러한 현상을 막았다.
- ⑨ 배지별, 시간별, 치상부위별 발근율을 조사하여 관찰일지에 기록하였다.

2) 능이균 접종

발근된 상수리나무 기내 배양묘 20개를 버미큘라이트와 피트모스를 7:3의 비율로 섞은 시험관으로 이식하였고, 나머지는 기존배지에 직접 균접종을 하였다.

- ① 버미큘라이트와 피트모스 혼합토에는  $(NH_4)_2HPO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , Fe · EDTA를 혼합한 용액을 첨가하였다.
- ② 사용한 균은 능이 자실체에서 분리한 것으로 MMN(Melin-Norkran' Medium) 배지에서 배양한 것을 사용하였다 (표 2).

표 2. MMN 배지 조성표

성분	CaCl <sub>2</sub>	NaCl	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	FeCl <sub>3</sub> (1%)	Thiamine HCl	Malt extract	Glucose	Agar	증류수
합량	50mg	25mg	500mg	250mg	150mg	1.2ml	0.1mg	3g	10g	15g	1000ml

- ③ MMN배지에서 균을 떼어낸 다음 4~6등분하였다.
- ④ 버미큘라이트와 피트모스를 혼합한 시험관에 균조각을 배지당 2~3개씩 가능한 세균 가까이 접종하였다.
- ⑤ WPM배지의 뿌리에도 혼합토의 뿌리와 마찬가지로 세균 가까이 균사를 접종하였다.
- ⑥ 접종후 백색형광등에 의해 3,000Lux 내지 5,000Lux의 광조건으로 매일 16시간씩 조사하고 25±2℃의 온도를 유지하는 배양실에서 배양하였다.
- ⑦ 시간의 경과에 따른 균의 감염여부를 조사하였다.

표 1. 양분용액의 조성

성분	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	Fe · EDTA	증류수
합량	250mg	680mg	245mg	110mg	19mg	1000ml

3) 능이 접종묘 배양

능이균 접종 참나무 실생묘를 얻기 위하여 화분에 상수리나무, 굴참나무, 신갈

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

나무, 졸참나무의 종자를 4℃에서 층적 발아촉진 처리하여 각 수종별로 20개 화분에 5개씩 파종하여 온실과 인공생장실에서 길렀다. 능이균 접종원으로는 능이자실체 조직, 포자 슬러리, 능이균환 토양, 그리고 비접종의 4가지로 하였다. 포자 슬러리는 능이 버섯의 바늘상 자실층을 믹서로 갈아서 모은 것이다. 능이균환 토양 접종원은 월악산 골미 능이산지에서 채집한 것으로 채집한 후 24시간내에 접종하였다 (사진 12). 각 접종원은 소독한 토양+버미큘라이트 혼합체를 담은 16cm x 25cm 화분에서 파종 전에 접종하고 약 2cm를 소독한 토양으로 덮은 후 그 위에 파종하였다. 각 수종별로, 접종 처리별로 4개씩의 화분에 반복하였다. 이 작업을 2000년, 2001년, 2002년도에 3년간 반복하였다.

그리고 발아 처리된 상수리나무와 굴참나무 종자 200여개 씩을 월악산 충북대 연습림내 골미 능이 산지에서 능이균환 위와 균환이 없는 부위 각각 약 6m 길이로 파종하여 (사진 20) 능이균근의 형성여부를 조사하였다. 위 작업을 2001년도와 2002년도에 각각 실시하였다.

## 마. 능이 산지 관리모델

### 1) 능이발생지의 토양수분 및 온도변화 조사

능이가 발생하는 산지의 환경은 수종, 우점도, 지피율, 지형, 경사도, 토양수분, 토양유기물층, 등을 조사하였다. 능이 발생지에 대한 기상환경을 조사하기 위하여 연속 자기 기록 장치를 설치하여 능이 발생지 3 지점, 능이 비발생지 3지점을 선정에서 토양수분과 기온 및 지중 온도를 1시간 간격으로 계측하였다. 조사기간은 2000년 7월 중순부터 10월 말까지 하였다. 조사에 사용된 장비는 CR10X data logger(Campbell Scientific Inc.)로 토양수분은 CS516 토양 수분 센서를, 온도는 열전대를 이용하였다.

능이산지 관리모델은 능이생산량에 직접관련된 능이균, 기주식물, 환경의 삼각관계를 고려하여 구상하였고, 이 생산량과 직결된 능이자실체의 생장은 토양수분과 대기온도 인자를 가지고 구상하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 능이자원 파악

##### 1) 능이버섯의 유사종 분류

능이 (*Sarcodon aspratus*)는 민주름버섯목 굴뚝버섯과 (Thelephoraceae) 노루털버섯속 (*Sarcodon*)에 속한다. 우리나라에서 이 노루털버섯속에 속하는 버섯으로는 능이 (*S. aspratus*)(사진. 1), 노루털버섯 (*S. imbricatus*), 노루털버섯아재비 (*S. murrillii*), 무늬노루털버섯 (*S. scabrosus*) (사진. 2)의 4종이 보고되었다. 전세계적으로는 10여종이 있을 것으로 생각된다. 노루털버섯속 (*Sarcodon*) 속은 턱수염버섯 (Hydnaceae)과의 턱수염버섯 (*Hydnum*)속으로 명명된 것도 있다.

*Sarcodon* 속의 일반적 특성은 자실체 모양이 갓과 줄기로 구분되거나, 트럼펫 모양이고, 버섯은 1개씩 나거나 각각으로 분리될 수 있는 다발로 난다. 갓 아래에서 포자를 맺는 자실층은 긴 바늘모양이고, 토양에서 직접나며, 포자는 갈색이고 돌기가 많은 다각형이다. 균사에는 격막 부위에 연결껍질이 있는 것도 있으며, 없는 것도 있다.

여기서는 우리나라, 일본, 유럽 미국에 분포하는 것을 포함하여 8 개종에 대하여 검색표를 작성하였다.

1. 균사의 격막에 연결껍질이 있으며, 조직은 연하고 두꺼운 육질이다
  2. 갓에는 짙은 갈색의 큰 돌기들이 동심원으로 돌아있고, 조직은 육질이다.
    3. 침엽수림에 난다. ----- 노루털버섯(*S. imbricatus*)
    3. 참나무림에 난다. ----- 능이(*Sarcodon aspratus*)
  2. 갓 표면은 매끈하거나 갈라진 틈이 많고 작은 돌기들이 갓 표면에 납작하게 깔려 있다.
    3. 갓은 갈색~자주갈색이고, 조직은 상처시 줄기의 기부에서 보라 변색한다.
 

----- *S. leucopus*
    3. 갓은 옅은 오렌지 갈색이고, 조직은 상처시 옅은 회색~녹색으로 변한다.
 

----- *S. versipellis*

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

1. 균사의 격막에는 연결쭉새가 없다.

2. 조직은 상처시 곧 밝은 분홍~자색으로 된 다음 보라색으로 변한다.

----- *S. joeides*

2. 조직은 보라색으로 변하지 않고 다른색으로 변한다.

3. 조직은 상처시 줄기의 기부에서 회녹색을 띤다.

4. 갓 중심부의 비늘상 인편은 매우 쓰다. ---- 무늬노루털버섯(*S. scabrosus*)

4. 갓 중심부의 인편은 쓰지 않다 ----- *S. glaucopus*

3. 조직은 상처시 분홍갈색으로 된다. ----- *S. martiflavus*

### 2) 능이 (*Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito )의 특성

능이는 깔때기 또는 나팔 모양으로 갓의 중심부가 줄기의 하단부까지 폭 파여져 있다 (그림 1)(사진 1). 버섯 크기는 지름이 7~40cm, 높이가 7~30cm되는 대형 버섯이다. 어린 것은 옅은 갈색이나 성숙하면서 짙은 갈색으로 된다. 갓 표면에는 2~10mm의 원추형 돌기가 동심원으로 나있으며, 갓 아래는 10mm 길이의 바늘상 자실층이 (그림 2) 줄기의 기부에까지 분포하므로, 줄기와 자실층의 구분이 일정하지 않은 면이 있다. 포자는 갈색이고 돌기가 많은 다각형으로 크기는 5.0-6.5  $\mu\text{m}$ 이다 (그림 3, 4, 5). 줄기의 굵기는 2~7cm이다. 신선한 자실체는 매우 순하게 향기로워서 향버섯이라고도 한다. 생버섯이나 말린 것 모두 애용되는데 육류를 분해하는 프로테아제가 많은 것으로 알려져 있어서 오래 전부터 한방소화제로 사용되었다.





그림 1. 다발로 나는 트럼펫형 능이 자실체

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

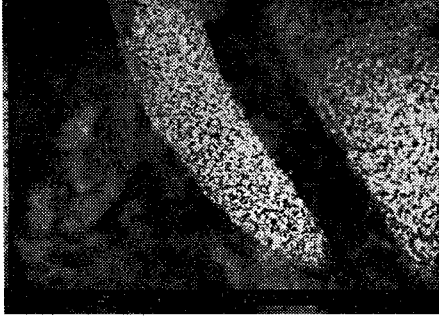


그림 2. 능이의 바늘상 자실층 표면. 주사전자현미경 사진(SEM).

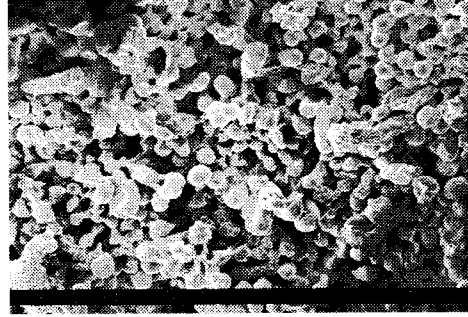


그림 3. 어린 능이 자실체의 미성숙 포자. 돌기가 많음. SEM

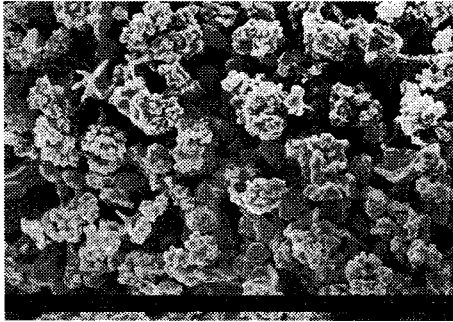


그림 4. 능이의 바늘상 자실층에 있는 다각형 돌기가 있는 포자

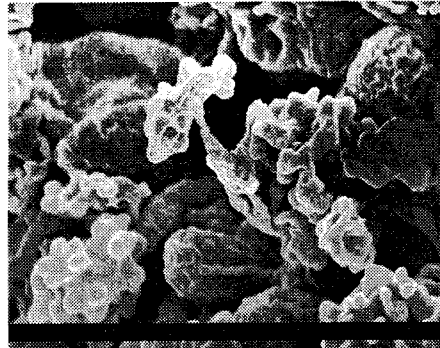


그림 5. 능이 성숙포자. 돌기가 많은 원판형. SEM

### 3) 능이의 생산 및 유통

#### 가) 능이 전국생산량

2000년도의 능이 전국생산량은 63.7톤으로 1999년도에 비하여 약 9톤이 증가하였다. 그러나 2001년도는 100년만의 가뭄에 해당하는 해로 충북과 경북일부 그리고 기타 지역에서는 생산량이 거의 없었다고 한다. 2002년도에는 충북 괴산, 경북 영천 등지에서 2000년도에 준하는 생산이 있었다고 한다.

표 1. 능이 전국 생산량 (산림청, 2001)

행정구역	1999년	2000년
경기	1,370	1,357
강원	24,775	26,570
충북	13,476	13,520
충남	830	682
전북	228	139
전남	2,130	13,862
경북	9,940	7,450
경남	116	144
전국 합계	52,865	63,724

## 나) 충북생산량

능이버섯의 생산량은 1998년부터 각 시·군청에서 집계하고 있는 바 1998년 및 1999년, 2000년도 충청북도의 각 시·군별 능이버섯 생산량은 표-3에서 보는 바와 같다. 약 13톤에 이르며 보은, 괴산, 영동이 주요산지이다. 하지만 2001년도에는 심한 가뭄으로 이들 지역에서 능이 생산이 거의 없었던 것으로 알려졌다. 2002년도에는 충북 제천, 괴산, 보은, 단양 등에서 2000년도에 준하는 생산량이 있었다고 알려졌다.

표-2. 1998-2001년 충청북도 능이버섯 생산량(단위:kg)

구분	청주	제천	충주	단양	청원	진천	영동	옥천	보은	괴산	음성	계
1998	0	242	137	154	324	223	2,947	538	3,884	2,382	0	10,831
1999	0	571	311	126	490	145	1,973	558	5,957	3,335	10	13,476
2000	0	435	320	130	840	235	1,977	0	5,745	3,668	170	13,520

## 능이버섯의 임지재배 기술 및 기능성 개발

#자료: 산림청 및 충북 도청 내부자료

### 다) 유통경로

능이버섯은 고가의 기호식품이기 때문에 지역에 따라 상품의 품질이나 유통체계가 확립되어 있지 않고 수집상의 역할이 지배적인 산지유통이 주요한 부분을 담당하고 있는 것으로 나타났다. 본 연구에서 조사한 유통경로는 그림 2와 같이 A경로와 B경로로 나누어졌다.

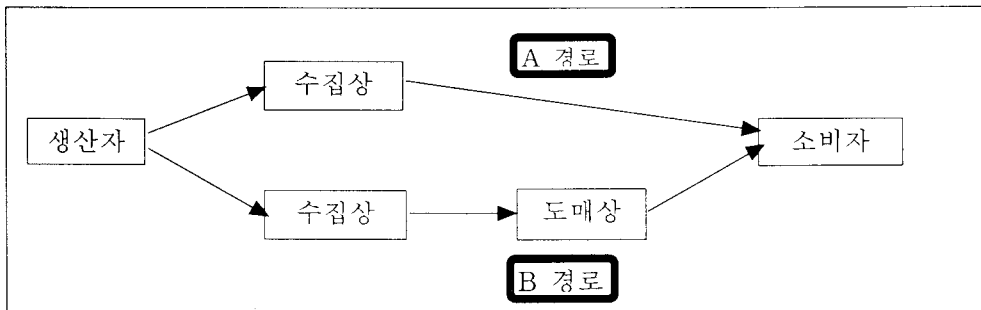


그림 1. 능이버섯의 유통경로

### 라) 유통물량

유통경로별 구매율과 판매율조사에서 생산농가는 보은 및 괴산 지역 송이 채취권자와 자연버섯 수집상 200명을 대상으로 전화인터뷰 조사하였으며 수집·위탁상 및 도매상은 현지조사를 통해 조사하였다. 결과는 표 3와 같다.

표-3. 유통경로별 구매율과 판매율

구 분	생산농가	수집·위탁상		도매상	
	판매율	구매율	판매율	구매율	판매율
1999년	61%	100%	100%	100%	100%

표-4. 산지 수집상 가격동향.

장 소	화양리	쌍곡	덕바위휴게소	송면
가 격	15,000~25,000	15,000~30,000	15,000~30,000	15,000~25,000

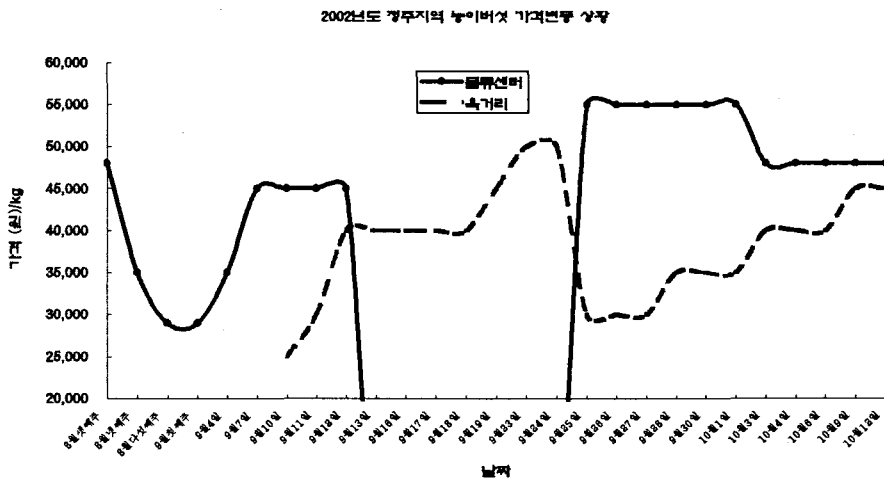


그림 2. 2002년도 청주 육거리 재래시장과 농협물류센터에서 농이 가격동향

마) 가격동향

본 연구에서는 2002년 9월초부터 현재까지 청주 농협 물류센터와 괴산지역의 산지 수집상에서 집계한 자료를 바탕으로 2002년 10월초까지의 가격동향을 분석하였다. 결과는 표-4, 그림 2과 같다. 농이버섯은 재래시장과 유통센터 사이에 큰 가격차이가 있었다. 재래시장은 30,000원 - 45,000원 이었으나, 물류센터는 45,000원 - 55,000원 규모였다. 하지만 재래시장에서는 무게로 거래를 하지않는 경향이 많다. 그 이유는 농이 무게의 약 90%가 수분인데, 이 수분이 하루 동안에 약 22%씩 줄어들기 때문이다 (그림 3).

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

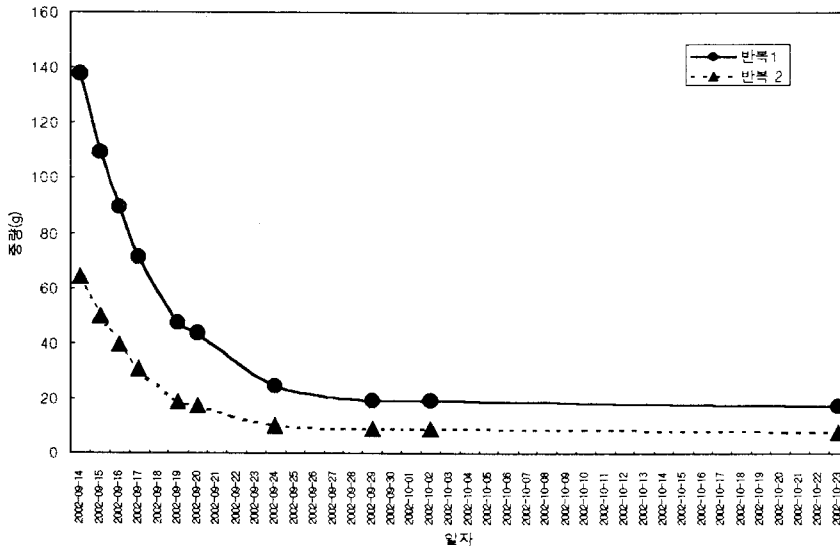


그림 3. 실온에서 능이버섯의 무게 감량 속도

### 4) GIS에 의한 능이산지의 지도화

#### 가) GIS를 이용한 능이발생지 예측모델 제작

월악산 능이발생지 조사구와 경북영천 기룡산과 상주 청화산의 조사(Table 1.)를 통하여 얻어진 능이 발생에 많은 영향을 줄 수 있는 식생, 경사, 방위, 지형지수 자료를 GRID(격자망) 형태의 이미지로 변환 후 중첩분석하여 능이발생지 예측지도를 제작하였다. 중첩분석을 위해 월악산 수치지형도를 이용하여 경사와 방위도를 생성하였고, TOPMODEL의 DTM을 이용하여 지형지수도를 생성하였다.(Fig1.)

Table 1. 현장수집자료

조사구 번호	1	2	3	4	5	6
조사지역	월악산 골미	연습림 앞산	청화산	기룡산(1)	기룡산(6)	기룡산(7)
방 위	SE	S	NE	SW	NW	NW
경 사 도	28 °	33 °	27 °	33 °	36 °	35 °
주요 수종 (교목층)	신갈, 소나무	신갈, 소나무	신갈, 굴참 소나무,	신갈, 굴참 소나무,	신갈	신갈

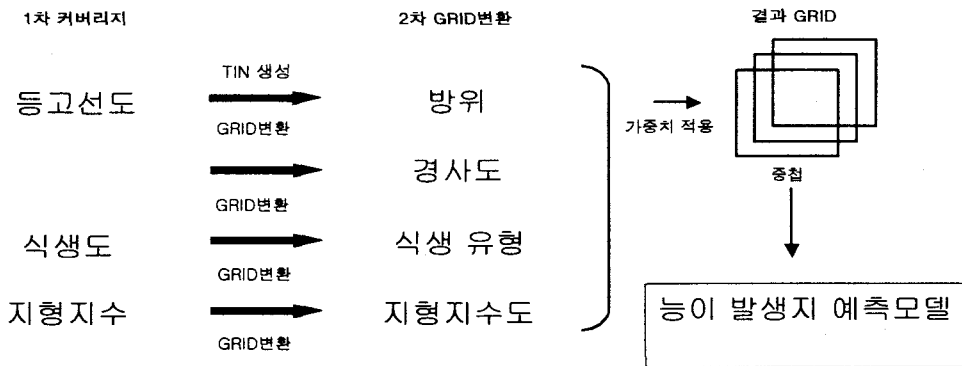


Fig 1. 중첩분석 수행과정

중첩분석 수행과정은 MGE소프트웨어를 사용하여 project를 만들고 Microstation에서 수치지형도를 불러와 연구지인 골피지역을 자르고, 잘라낸 수치지형도를 MTA를 통해서 TIN을 생성하고 GRID로 변환하였다. MTA에서 만들어진 GRID를 분석을 위하여 ASCII파일로 변환하였다. 변환된 ASCII를 DTM, MTA에서 식생유형, 지형지수도, 경사도, 방위도를 구하고 이를 MGA에서 2차GRID변환시켰다. 변환된 2차GRID에 가중치를 적용시키는데, 여기에서 가중치라는 것은 각 요소간의 상대적 중요도를 나타내며, 가중치를 각 요인별 중요도에 따라 부여된 등급에 곱하면 모든 자료간의 상대적인 중요도가 판별된다.

예측지 분석은 위와 같이 4가지의 요인에 대하여 가중치를 부여하고, MGGA 소프트웨어를 통해서 능이가 발생할 수 있는 최적의 조건을 형성하고 예측지를

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

각 요소의 이미지들 간에 중첩을 통하여 분석을 수행하였다. GRID는 1픽셀을 10×10m로 하였다. 가중치 적용은 경사, 방위, 지형지수, 식생의 4가지에 가중치와 등급을 부여하였다 (Table 2). 가중치는 지형지수>식생>방위>경사의 순으로 등급은 일반적인 범위에서 현장조사를 통해 얻어진 자료를 적용하여 등급을 나누었고 숫자가 높을수록 능이가 발생할 가능성이 높다, 가중치는 이들 요소 중에서 차지하는 비중에 따라 부여하였으며 높은 숫자일수록 높은 비중을 차지한다.

Table 2. 가중치 및 등급 부여

구분	요소별 등급												가중치 부여	
	0~5	5~15	15~25	25~35	35~45	45이상								
경사도	1	1	2	4	3	1								1
방위	북	북동	동	남동	남	남서	서	북서						3
식생	침엽수	활엽수	혼효림	초지	나지	미분류								5
지형지수	1~2	2~3	3~4	4~5	5~6	6~7	7~8	8~9	9~10	10~11	11~12	12이상		7

가중치를 부여하여 분석된 능이발생지 예측모델은 다음과 같다.

① 경사도

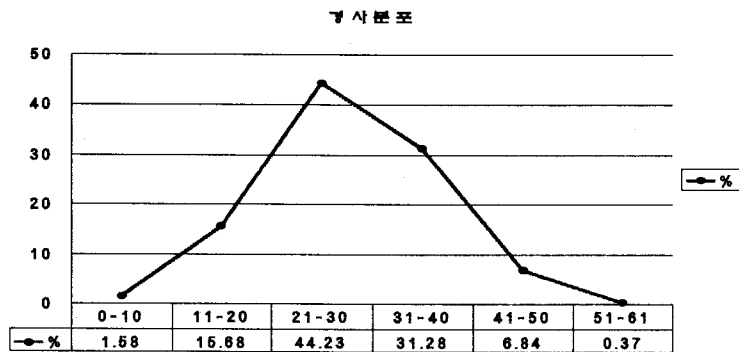


Fig 2. 경사분포



전체 연구지역 759ha에 대한 분포 퍼센트와 면적을 보여주고 있는데 경사도 28 °인 곳이 4.9%인 37ha로 가장 많은 분포를 보였으며, 주로 25-35 °사이에 분포한다. 25~35 °는 경영학상 험지에 속하는 곳이다.

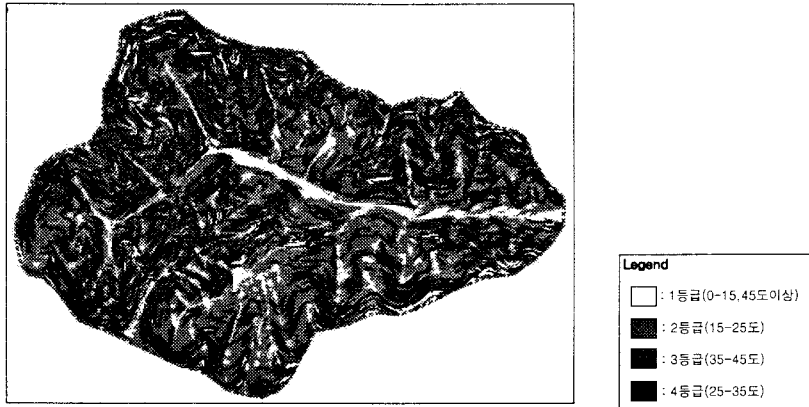


Fig 3. 가중치를 부여한 경사도모델

경사도에 가중치를 부여한 지형모델을 나타낸 것이다. 흰색부위는 등급1(0-15 °, 45 °이상)를 보여주고 있으며 녹색색은 등급2(15-25 °), 옅은 녹색은 등급 3(35-45 °), 진녹색은 등급4(25-35 °)을 나타내준다.

② 방위

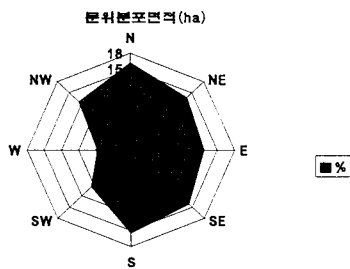


Fig 4. 방위분포

방위는 1 °,115 °,182 °,183 °지역이 0.4%정도, 면적 3ha로 북, 동, 남향이 많은 분포를 차지하고 있으며 272~273 °지역은 0.14%, 면적 1ha로 서쪽은 가장 적은 면적을 차지하고 있는 것으로 분석되었다. 가중치를 부여한 방위모델로 흰색으로

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

표현된 부분이 등급1(북, 북동)이며, 녹색으로 보이는 곳이 등급3(남, 남동, 남서)이고, 자주색이 등급5(북서)지역으로 분석되었다.

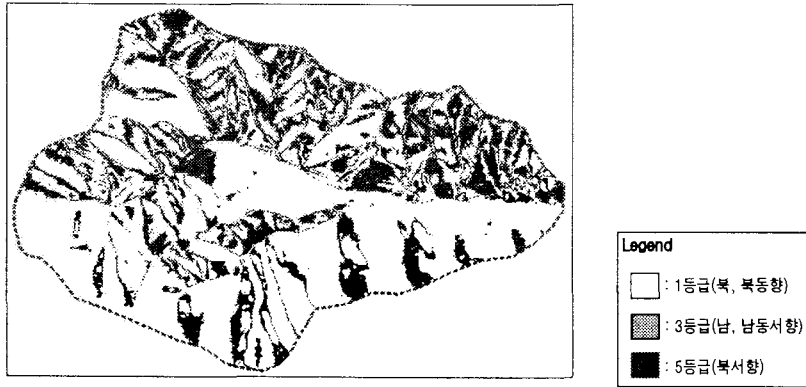


Fig 5. 가중치를 부여한 방위모델

③ 식생

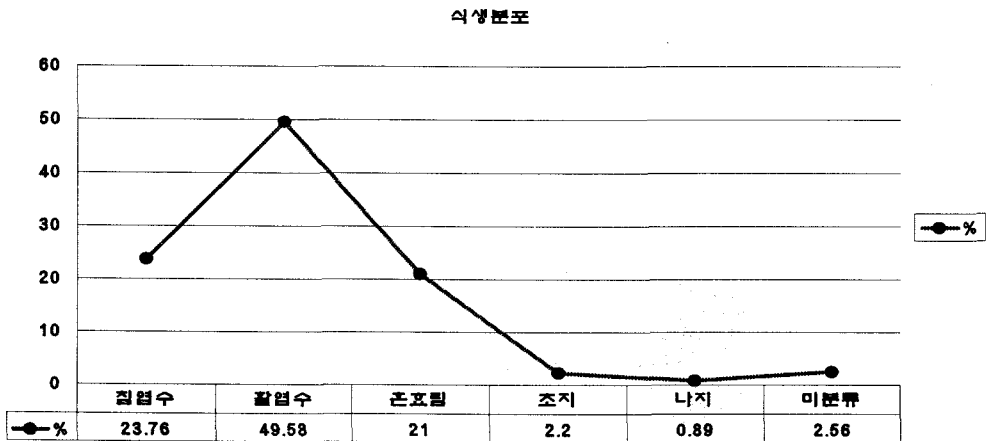


Fig 6. 식생분포

이 지역은 활엽수가 50%로 면적은 367ha를 차지할 정도로 활엽수가 많았고 침엽수와 혼효림은 20%정도로 면적 176ha, 156ha을 나타내 거의 비슷한 분포를 하고 있는 것으로 분석되었다.

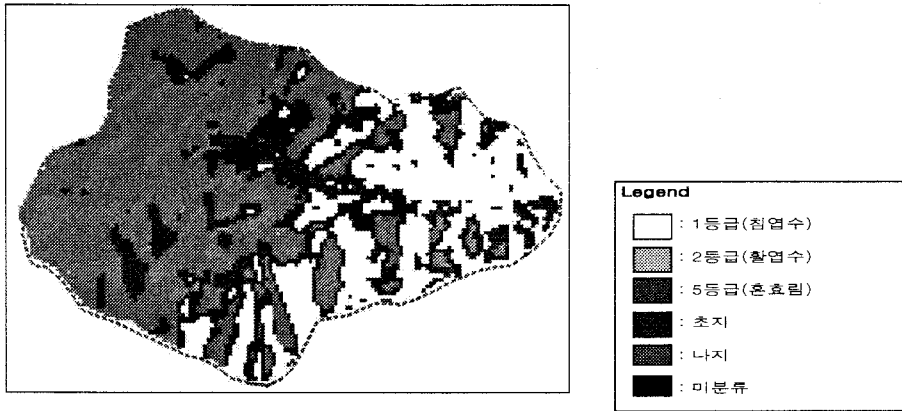


Fig 7. 가중치를 부여한 식생의 모델

가중치를 부여한 식생의 지형모델을 나타낸 것으로 흰색으로 보이는 곳이 1등급인 침엽수지역이고 녹색으로 보이는 곳이 2등급인 활엽수지역 자주색이 5등급 지인 혼효림지역, 담록색은 초지, 옅은담록색은 나지이고 검은색은 미분류 지역으로 분석되었다.

④ 지형지수도

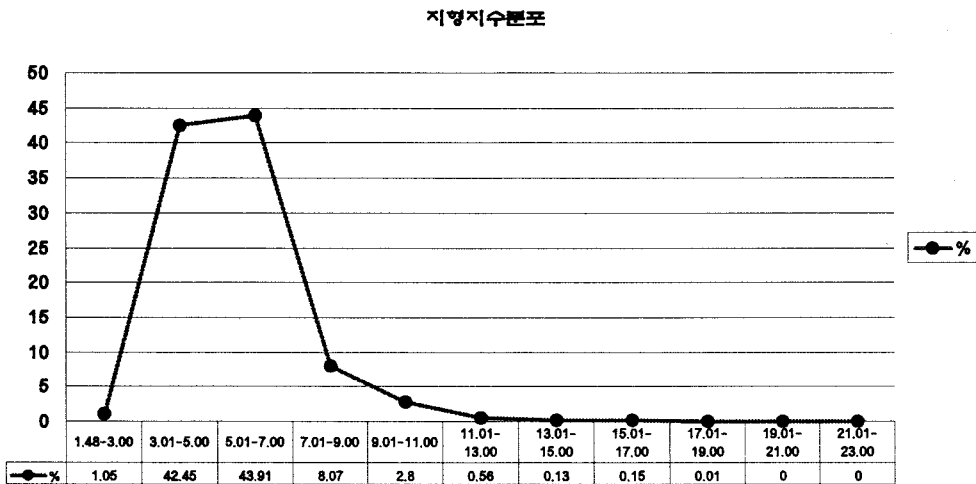


Fig 8. 지형지수분포

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

지형지수는 5.09가 0.45%로 면적은 3ha로 가장 많은 부분을 차지하고 있으며 17-23은 거의 분포하지 않는 것으로 분석되었다. 지형지수가 높을수록 깊은 계곡을 나타낸다.

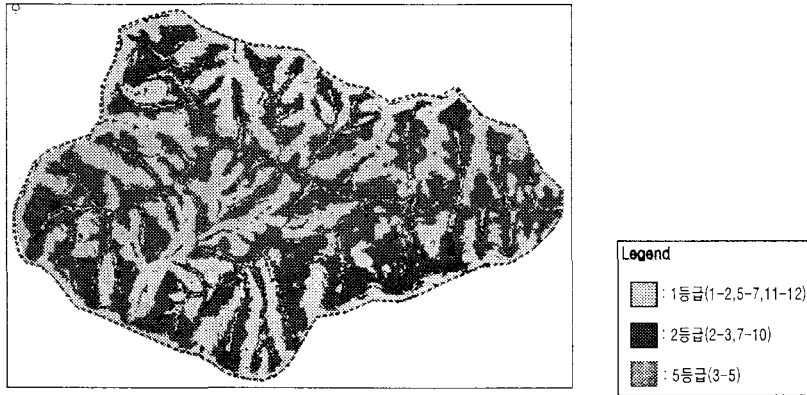


Fig 9. 가중치를 부여한 지형지수 지형모델

가중치를 부여한 지형지수의 지형모델로 녹색으로 보이는 곳이 1등급(1-2, 5-7, 11-12)지역이고, 자주색으로 보이는 곳이 2등급(2-3,7-10)지역이고, 회색으로 보이는 곳이 5등급(3-5)지역으로 분석되었다.

### ⑤ 능이 발생지 예측모델

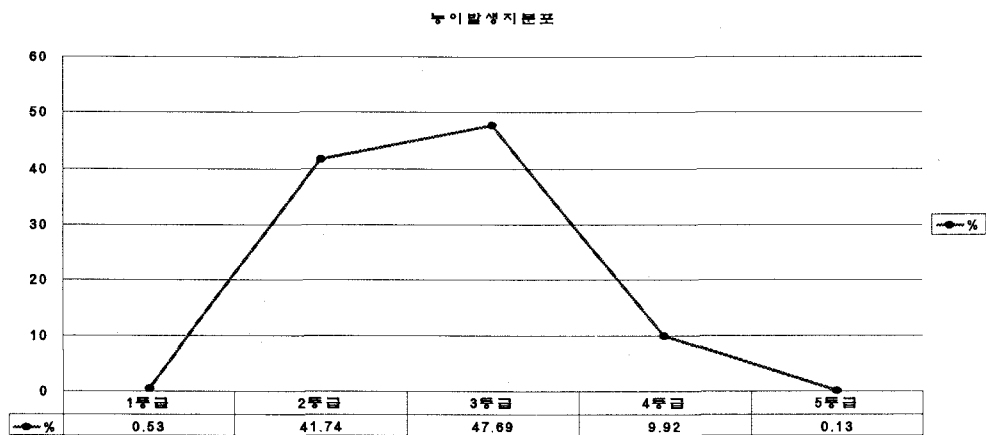


Fig 10. 능이발생지분포

농이발생지의 적지를 나타내는 것으로 그 분포는 2, 3등급이 각각 42, 48%로 면적 308ha와 352ha를 나타내어 가장 많은 분포를 차지하였다는 것을 볼 수 있다. 등급5는 가장 적은 0.13%로 면적 0.9ha를 나타내었다.

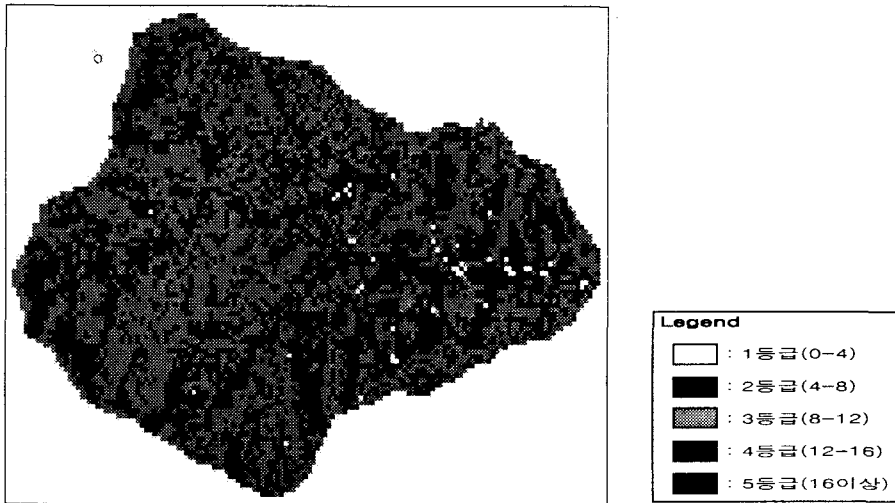


Fig 11. 중첩분석을 수행한 농이발생지 예측모델

가중치를 부여한 4가지 요소의 지형모델을 중첩을 통하여 분석된 농이가 발생할 수 있는 적지를 분석한 모델을 나타내는 것이다. 이는 총 등급이 1-17까지의 등급이 나왔는데 다시 몇 개의 등급을 묶어 5개의 등급으로 분석하였다. 위와 같이 몇 가지의 농이 발생에 큰 영향을 끼치는 몇 가지 요소를 통하여 현장조사 및 GIS소프트웨어를 활용 795ha의 면적에 농이 발생의 적지를 분석하였다. 그 예측모델은 Fig 11.에서 보이는 것 과 같이 5가지의 등급으로 구분하였으며, 등급이 높을수록 농이 발생의 적지임을 알 수 있다.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

Table 4. 능이적지(5등급) 좌표

번 호	경 위 도 좌 표		비 고
001	N 36° 51' 27.48"	E 128° 03' 48.88"	
002	N 36° 51' 41.52"	E 128° 03' 36.07"	
003	N 36° 51' 49.85"	E 128° 03' 50.86"	
004	N 36° 51' 28.27"	E 128° 03' 11.86"	
005	N 36° 51' 29.26"	E 128° 03' 14.26"	
006	N 36° 51' 31.13"	E 128° 03' 22.21"	
007	N 36° 51' 41.39"	E 128° 03' 35.92"	
008	N 36° 51' 31.36"	E 128° 03' 37.25"	
009	N 36° 51' 32.10"	E 128° 03' 37.24"	
010	N 36° 51' 29.42"	E 128° 03' 49.91"	
011	N 36° 51' 28.57"	E 128° 03' 49.92"	
012	N 36° 51' 39.04"	E 128° 04' 30.25"	
013	N 36° 51' 42.65"	E 128° 04' 27.80"	

타지역의 능이 발생지 현장조사자료(Table 4.)를 보면 예측모델의 4, 5등급에 속하는 것으로 보아 능이 발생지 예측모델이 어느 정도 능이 발생지를 나타내고 있는 것을 볼 수 있다.

Table 4. 타지역 능이발생지 현장조사자료

지 역	사 면 의 향	경 사	식 생
장 성	동 향	27°	훈 효
제 천 1	남 동	35°	훈 효
보 은	북 서	29°	훈 효
제 천 1 (앞 산)	북 동	35°	훈 효
제 천 2	북 동	32°	훈 효
제 천 3	북 서	28°	훈 효
제 천 5	남 동	18°	훈 효
제 천 6	남 동	36°	훈 효
제 천 7	북 서	35°	훈 효
제 천 10	북	35°	훈 효
제 천 11	남 동	35°	훈 효
보 은 2	서	34°	훈 효
상 주	북 동	40°	훈 효
영 천 7	북 서	37°	훈 효
영 천 6	북 서	35°	훈 효
보 은 3	서	34°	훈 효

나) GPS를 이용한 능이발생지 도면화

능이의 발생시기에 조사지 인근 마을 주민의 협조를 얻어 능이가 발생한 장소를 GPS로 위치를 기록하고 주변환경을 조사하였다. 능이발생지의 지속적인 관리와 조사를 위해서 GPS에 기록한 능이발생지의 위치를 GIS를 이용하여 경위도좌표를 도면에 입력하여 도면화 하였다. 다음의 그림은 월악산의 능이발생지의 경위도좌표를 표시한 월악산 조사지역내의 지도이다.

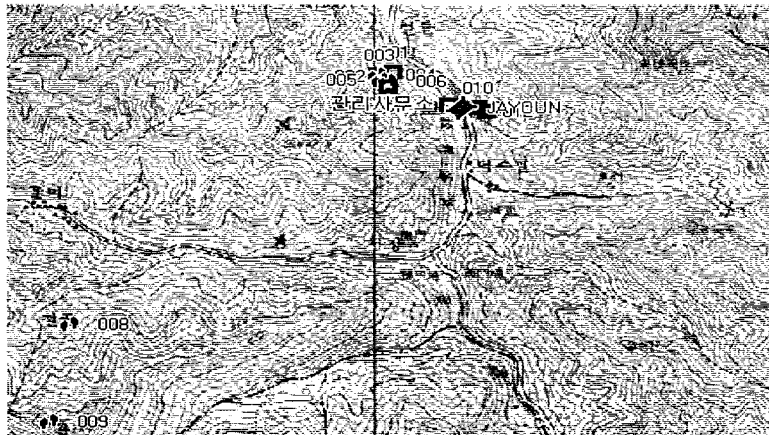


Fig 3. GIS를 이용한 능이발생지의 위치

월악산 지역내의 GPS를 이용한 능이발생지의 경위도좌표는 다음표와 같다.

Table 4. 월악산 지역내의 GPS를 이용한 능이발생지의 경위도좌표

번호	경 위 도 좌 표		비 고
001	N 36° 52' 05.60"	E 128° 05' 04.97"	
002	N 36° 52' 04.98"	E 128° 05' 01.07"	
003	N 36° 52' 05.14"	E 128° 05' 01.05"	
004	N 36° 52' 04.99"	E 128° 05' 00.90"	
005	N 36° 52' 03.36"	E 128° 05' 01.86"	
006	N 36° 52' 03.05"	E 128° 05' 03.72"	
007	N 36° 52' 01.97"	E 128° 05' 04.16"	
008	N 36° 50' 55.14"	E 128° 03' 40.07"	
009	N 36° 52' 28.10"	E 128° 03' 34.56"	
010	N 36° 51' 55.87"	E 128° 05' 27.28"	
011	N 36° 51' 55.79"	E 128° 05' 27.40"	
012	N 36° 51' 55.09"	E 128° 05' 29.58"	

## 능의 임지재배 기술 및 기능성 개발

다음의 그림은 타지역의 능이발생지의 경위도좌표를 표시한 지도이다.

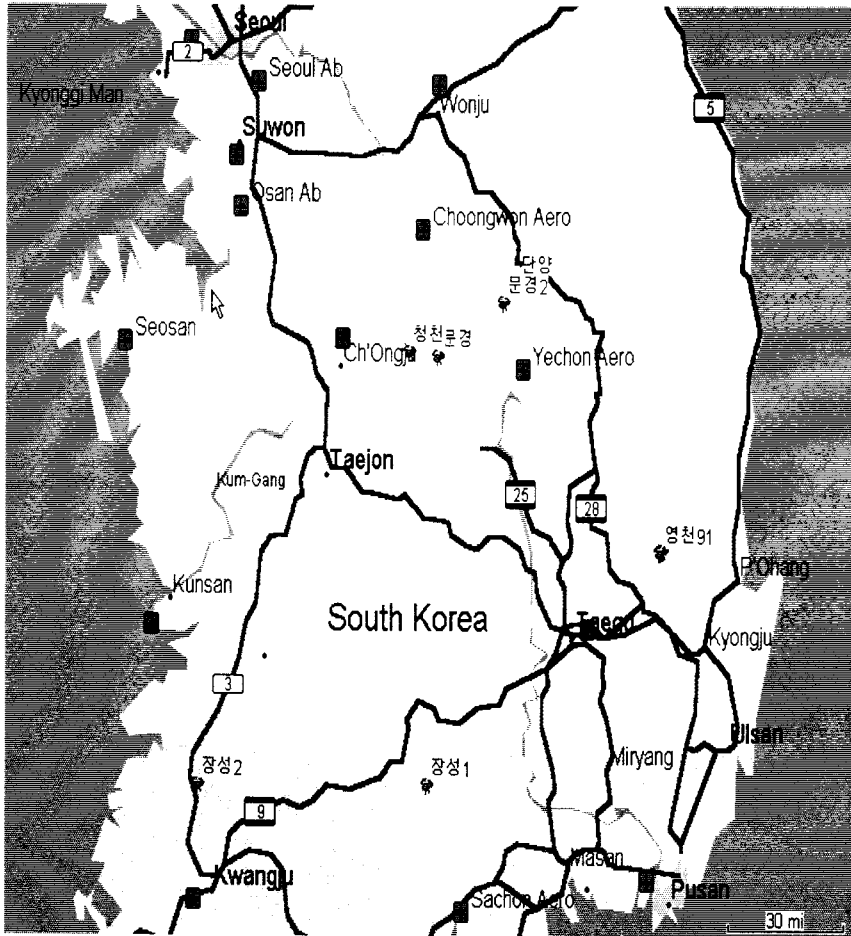


Fig 4. 능이발생지의 위치



타지역내의 GPS를 이용한 능이발생지의 경위도좌표는 다음표와 같다

Table 5. 타지역의 GPS를 이용한 능이발생지의 경위도좌표

번호	경 위 도 좌 표		비 고
장성1	N 35° 26' 44.6"	E 127° 54' 33.3"	
장성2	N 35° 26' 44.7"	E 126° 50' 29.5"	
문경1	N 36° 39' 44.2"	E 127° 57' 35.8"	
문경2	N 36° 48' 41.2"	E 128° 15' 58.4"	
청천	N 36° 40' 22.7"	E 127° 49' 28.2"	
단양	N 36° 52' 06.9"	E 128° 19' 44.2"	
영천1	N 36° 06' 36.9"	E 129° 00' 57.6"	
영천2	N 36° 06' 35.9"	E 129° 00' 57.9"	
영천3	N 36° 06' 35.7"	E 129° 00' 59.6"	
영천4	N 36° 06' 35.5"	E 129° 00' 59.5"	
영천5	N 36° 06' 35.4"	E 129° 01' 00.6"	
영천6	N 36° 06' 35.3"	E 129° 01' 01.3"	
영천7	N 36° 06' 14.9"	E 129° 00' 34.9"	
영천8	N 36° 06' 15.0"	E 129° 00' 34.0"	
영천9	N 36° 06' 15.1"	E 129° 00' 33.9"	
영천10	N 36° 06' 13.5"	E 129° 00' 25.8"	
영천11	N 36° 06' 15.2"	E 129° 00' 34.6"	

## 나. 능이의 생태

### 1) 능이발생 패턴

능이는 장소에 따라 0.1~6m 떨어져서 각각 다발로 나지만, 전체적으로는 길이 15 m 이상되는 직선형으로 나기도 하였다 (그림 1). 그러나 1-12송이의 다발(그림 2)은 최소한 10 cm 이상 서로 떨어져 발생하였다. 때로는 지름 약 40 cm의 원형으로 나기도 하였다. 이 다발은 주위에 단독이나 불규칙하게 또는 대상으로 나오기도 한다.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

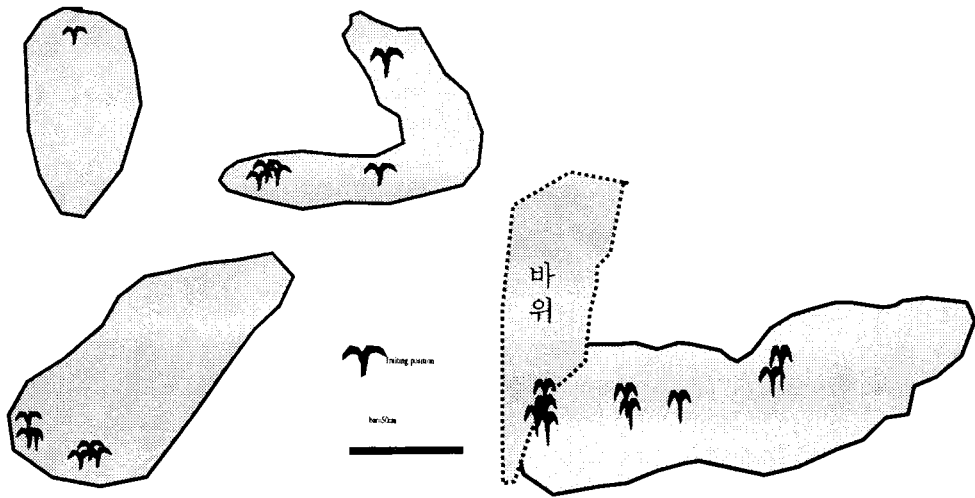


그림 1. 참나무림 내에서 능이 (*Sarcodon aspratus*) 의 발생패턴 .

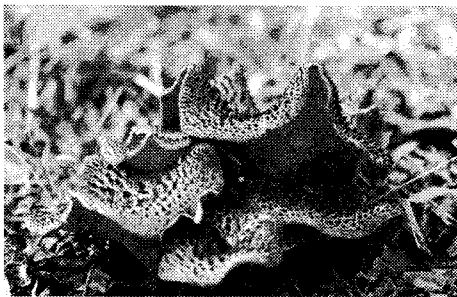


그림 2. 다발로 나는 능이 자실체



그림 3. 좌: 능이균환의 토양.

우: 비균환토양



그림 4. 능이산지. 신갈나무 우점, 바위가 많은 산록계곡부이다.



그림 5. 능이 산지. 상층목은 굴참 우점. 하층목은 산죽 우점.

## 2) 능이 발생지의 환경

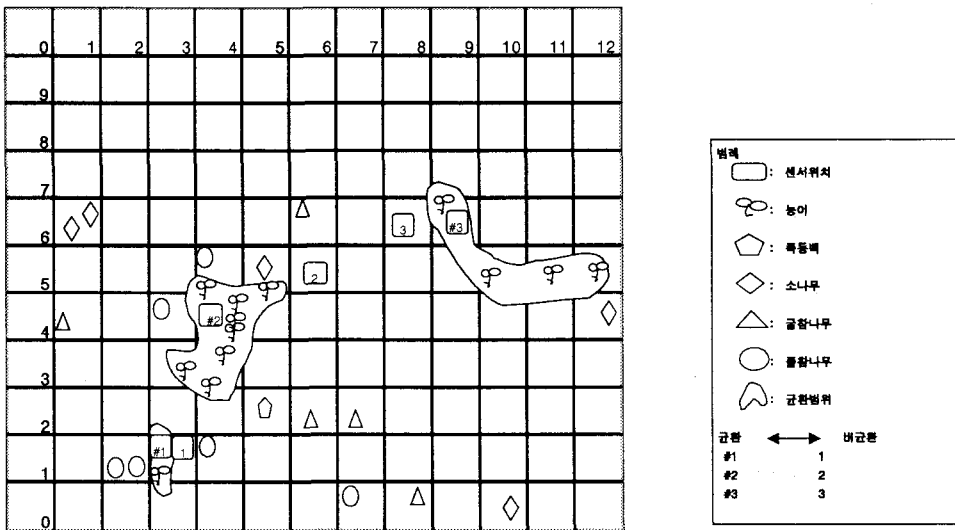


그림 6. 능이 조사구(10m x 10m)에서 능이균환분포와 식생 분포

능이 발생지의 식생에서 핵심이 되는 수종은 참나무류로서 버섯이 나오는 지

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

형에 따라, 산 능선에 가까운 곳에서는 신갈나무, 중간 산복에서는 굴참나무, 그리고 산록 낮은 곳에서는 상수리나무이었다. 위 세 수종은 지형에 관계없이 우점종이 되는 경우가 많다 (그림 4, 5, 6). 그리고 산복 부위에서는 소나무가 함께 상층을 형성하는 경우가 있다. 하층식생으로 우점식생은 진달래, 쇠물푸레, 산철쭉, 쪽동백나무로 거의 예외없이 존재하였고, 기타 개웃나무, 생강나무, 당단풍, 노린재나무, 산죽이 함께 분포하였다.

토양은 바위가 많은 곳으로 능력급수로 II와 III급지에 속하지만, 토심이 대부분 60cm 이상이고, 유기물층이 1-5cm, A층이 20cm, B층이 30cm 이상, 연중 토양수분이 15 - 23%로 적습을 유지하는 비교적 비옥한 산림토양이다.

### 3) 토양내 능이균사 집단의 특징

능이 자실체의 뿌리는 굵기 약 1 cm로 균사가 뭉쳐진 것으로 땅속으로 5~7 cm 정도 뻗어서 토양내 흰색의 능이 균사집단으로 연결되었다 (사진 3, 4). 땅속 균사집단의 크기는 폭 24~108 cm, 길이 50~1500 cm, 깊이 2~33 cm로 토양내 A층과 B층에 걸쳐서 분포하였다 (사진 6). 이 균사집단의 모양은 선형~부정형이나 (그림 1), 지표면에 드러나지는 않으며, 능이균사, 토양, 참나무 균근이 단단히 뭉쳐 있는 것이다 (그림 3). 이것은 균사와 균근이 토양을 강하게 결속한 것으로 견밀도는 능이균이 없는 토양에 비하여 3배 높으며, 토양이 건조한 경우는 10배나 단단하였다 (Table 1). 토양수분은 균환토양이 비균환 토양보다 1.7~3.5% 낮았다. 곰팡이 균사의 원형질막에 특이적으로 존재하는 스테로이드 화합물인 에르고스테롤은 균환토양이 비균환토양보다 약 20배 많았다. 그리고 능이 균사는 부후되고 있는 뿌리에는 전혀 들어가지 않았다.

능이균환 부위의 화학적 성질은 (Table 2), pH가 4.9~5.2인 산성으로 비균환 부위의 pH보다 0.15정도 낮고, 유기물 함량은 적으나, 질소와 칼륨의 함량이 높고, 칼슘함량은 낮았다. 마그네슘 함량은 차이가 없었다.

Table 1. Properties of the below-ground colonies of *Sarcodon aspratus* at Wolak mountain (mean $\pm$ 1 standard deviation).

Colony	Soil hardness (kg/cm <sup>2</sup> )	Water content (%)	Ergosterol content ( $\mu$ g/g dry soil)
Colony ( 5.1 ~ 20.0 in dry colony)	2.0 ~ 5.1	12.5 - 19.9	17.3 $\pm$ 2.3
non-colony	0.7 ~ 2.1	14.2 - 23.4	0.9 $\pm$ 0.1

Table 2. Chemical properties of the below-ground colonies of *Sarcodon aspratus* (mean $\pm$ 1 standard deviation).

Colony	pH	organic matter(%)	T.N (g/kg)	Exchangeable cation (m.e/100g)		
				K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
colony	5.25 $\pm$ 0.18	1.85 $\pm$ 0.16	13.93 $\pm$ 1.51	0.55 $\pm$ 0.13	0.37 $\pm$ 0.07	0.22 $\pm$ 0.01
Wolak non-colony	5.43 $\pm$ 0.01	2.82 $\pm$ 1.06	10.09 $\pm$ 0.40	0.37 $\pm$ 0.08	1.29 $\pm$ 0.33	0.24 $\pm$ 0.06
colony	4.93 $\pm$ 0.04	3.48 $\pm$ 1.07	9.97 $\pm$ 3.83	0.64 $\pm$ 0.26	0.02 $\pm$ 0.03	0.08 $\pm$ 0.01
Kiryong non-colony	5.08 $\pm$ 0.06	4.01 $\pm$ 0.43	5.21 $\pm$ 0.04	0.40 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.03	0.10 $\pm$ 0.01

#### 4) 능이 외생균근

능이 외생균근은 흰색의 균사와 토양이 밀하게 엉켜 있으므로 (사진 13), 각 개 균근을 분리하기가 어렵다. 각 개 균근은 갈색이고 전체 뿌리모양은 밀하게 엉켜있으나 깃털형에 가깝다. 각 균근의 굵기는 200~240  $\mu$ m, 길이가 0.5~10mm이다. 균근의 내부형태는 전형적인 외생균근(그림 7)으로 균투두께가 10~25  $\mu$ m로 잘 벗겨지지 않는다 (그림 8). Hatrig 망은 외피세포에서부터 피층세포층까지 2-3개 층에 걸쳐서 형성되었다 (그림 7, 8, 9).

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

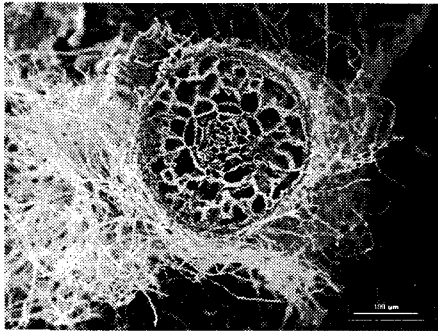


그림 7. 능이 균근 횡단면. 두꺼운 균투, 잘 발달된 Hartig net.

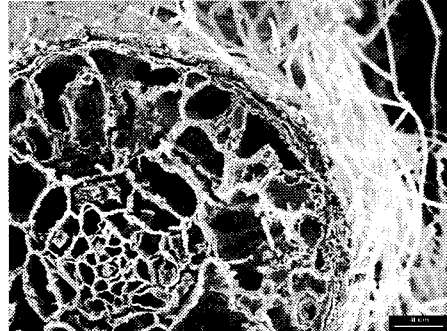


그림 8. 능이균근 횡단면 확대. 내부 통도조직에는 능이균사 없음.

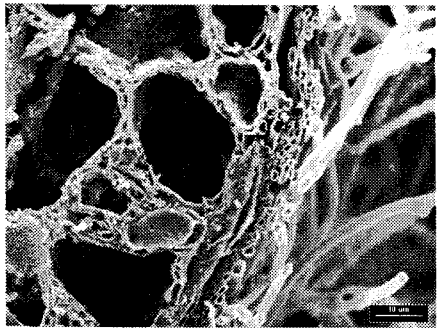


그림 9. 확대된 능이균근의 균투와 Hartig net.

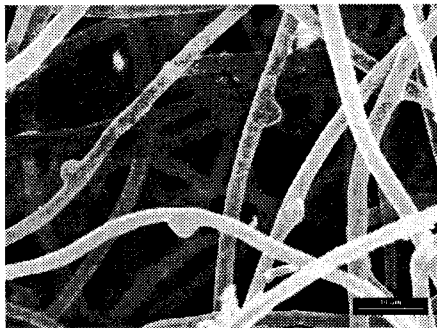


그림 10. 능이 균사. 연결꺾쇠가 있음. 균사 표면은 흰색, 매끈함.

### 5) 능이 균사

능이 균사는 흰색이지만 물속에서는 무색투명하다. 균사굵기는  $2.5\sim 4.0\ \mu\text{m}$ , 표면은 매끈하고, 뺏뺏하여 잘 구부러지지 않으며, 균사벽 두께는 약  $1\ \mu\text{m}$ 으로 다른 종의 균사보다 두꺼운 편이다 (그림 10). 균사에는 연결꺾쇠가 뚜렷하게 형성되어있다 (사진 5). 균사속이 발달해 있으나, 그 속에 형태나 크기가 다른 균사는 없다.

## 6) 고찰

## 가) 능이 외생균근 집단

참나무 임분에서 능이 외생균근 집단은 토양 속 33 cm 깊이까지 점유하였는데, 이 깊이는 유기물이 적은 B층의 광물질 토양이었다. 이것은 외생균근에 대하여 일반적으로 알려져 있는 것과는 크게 다르다. 즉, 90% 이상의 균근은 유기물이 많은 지표면에서 10 cm 이내에 분포하는 것으로 알려져 있다 (Dahlberg, 2001). 따라서 능이균환 또한 송이균환처럼(小川, 1991) 유기물이 적은 무기질 토양을 점유하는 점에서 비슷하다고 생각한다. 토양 속 능이균환은 수십 년을 땅속에서 자라나가면서 매년 버섯을 발생하는 것으로 생각된다. 그리고 능이균사 집단이 부정형인 것은 무늬노루털버섯(*Sarcodon*) 속에 대한 古川久産(1992)의 서술과 일치한다. 하지만 송이처럼 원형의 균환을 형성하는 것은 아니었다.

능이속의 종 중에는 균사가 연결꺾쇠를 형성하는 것과 그렇지 않은 것이 있다. Breitenbach와 Kraenzlin(1986)에 따르면, *S. imbricatus*(노루털버섯), *S. leucopus*, *S. versipellis* 3종만이 연결꺾쇠가 있고, *S. scabrosus*(무늬노루털버섯) 기타 종은 연결꺾쇠가 꺾기로 기록되어 있다. 능이에 대하여는 상세한 기록이 없다.

능이 균환내부의 토양수분은 비균환 토양보다 1.7~3.5% 낮았다. 이 이유는 능이 균사와 참나무 균근이 그 자체의 대사작용과 증산으로 토양수분을 소비하고 있기 때문이라고 생각한다. 그리고 곰팡이 균사의 원형질막에 특이적으로 존재하는 스테롤화합물인 에르고스테롤은 균환토양이 비균환토양보다 약 20배 많았는데 이것은 균환 토양에서 균사의 절대량이 그만큼 많기 때문이다. 능이도 송이균처럼 부후되고 있는 뿌리에는 전혀 들어가지 않았는데 (사진 11), 이 현상은 능이균이 다른 균근균처럼 리그린이나 셀룰로오스 등 복합탄수화물을 분해하지 못함을 뜻한다.

## 나) 능이 발생지의 토양수분 및 온도변화

전국적으로 송이 등 야생 버섯생산이 풍년에 해당되었던 2000년도에는 능이균환 부위의 토양수분은 19.9%, 비균환부위 토양은 23.4%로 균환부위 수분이 약 3.5% 적었다. 이에 비하여 100년만의 가뭄이었다는 2001년도에는 송이 등 야생버

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

섯 생산이 심한 흉년이었다. 2001년도에 능이산지 토양수분은 극히 낮아서, 능이 발생지 토양에서 평균 12.5%, 비발생지에서는 14.2%였다. 여전히 능이 균환부의 토양수분이 비균환부보다 약 1.7% 낮았다. 이것은 능이균환의 수분변화는 결국 능이 자실체 발생에 영향을 미치게 될 것이다. 그리고 능이 균환의 크기 즉 바이오매스 또한 능이 발생량과 관련된다. 그러므로, 균환의 크기, 토양수분에 영향을 미치는 강수량에 대한 조사는 능이 발생량 추정의 중요한 독립변수라고 생각된다.

### 다) 균환의 초기 형성에 대한 가설모델

능이는 참나무에 기주특이성을 가지며, 수분이 충분히 공급되는 입지에 환경특이성을 가진 버섯이라고 생각된다. 현재까지는 산림내에서 능이 균근균 집단이 최초 어떻게 생겨나는 지에 대한 과정이 밝혀진 것이 없다. 그러나 이를 위한 모델로는 2가지를 들 수 있는데 (Dahlberg, 2001), 첫째는 버섯에서 나온 포자가 날아가서 우연한 적당한 장소 즉, 기주식물의 뿌리가 있고, 온도, 토양수분이 적당하고, 경쟁이 되는 균근균 종이 없는 장소에서 번식하기 시작한다는 사건 우발적(stochastic) 모델이다. 이 모델이 적용되는 경우는 산불과 같은 교란이 지상부의 기주식물 뿐만 아니라 토양내 유기물, 뿌리, 미생물 등을 다 태운 경우에 새로운 식물종과 균종이 이입되는 산림에서이다. 이런 환경에서는 이에 적용된 소수의 균종이 그 지역을 우점한다. 이런 균근균 집단은 소규모이나 많은 개체 집단이 전체 산림에 널리 퍼져있어서 가용한 포자의 접근성이 좋다는 것이다. 하지만 이런 종류의 균근집단은 자연환경내에서 그 수명이 길지가 않다. 예로는 졸각버섯, 무우자갈버섯, 무당버섯류 등이다 (Redecker *et al.*, 2001).

두 번째 모델로는 우연한 발생이지만 한번 점유한 적소에서는 보다 커다란 생명력으로 그 곳에서 수십 년에 걸쳐서 생겨나며 한 개의 개체집단이 번져가는 후집단(meta-population)모델이다 (Eriksson, 1996). 이런 경우 개체집단은 소수이지만 연속적이면서 균형을 이루고 영양번식체로 보다 경쟁력이 있기 때문에 대형이 된다 (Jonsson *et al.*, 1999). 송이나 능이가 이런 형태의 모델에 맞는 균근균이라고 생각된다.

결론적으로 능이는 참나무와 공생하여서 나는 균근성 버섯이다. 능이가 나는 곳은 수분이 풍부한 산록이며, 산지 중에서는 비옥한 곳이다. 능이균근은 토양내 깊이



33 cm까지 성장하는 것으로 연중 발생량은 이 균환의 수분상태에 좌우되는 것으로 생각된다. 2000년과 2001년의 예를 볼 때, 능이 발생에 큰 영향을 미치는 것은 발생 시기의 토양 수분량인 것으로 추정된다. 그러므로 이 버섯의 생산을 위하여서는 토양내 능이균이 이용할 수 있는 토양수분량을 증가시키는 방향으로 참나무림을 관리하는 것이 중요할 것이라고 생각한다. 더불어 능이 균환이 최초로 어떻게 시작하여 성장하는 지에 관한 연구가 꼭 필요하다고 생각한다.

## 다. 능이균사 배양

### 1) bacteria 제거: chitosan의 박테리아 성장억제효과

표 1. 박테리아 성장에 대한 항생제 및 키토산 처리 효과

	Control	항생제 2mg/L	항생제 4mg/L	항생제 5mg/L	항생제 6mg/L	Control	Chitosan 10배	Chitosan 50배	Chitosan 100배	Chitosan 500배	Chitosan 1000배
1	오염	오염	오염	오염	오염	오염	비오염	비오염	오염	오염	오염

표 1, 그림 1, 그림 2 에서 보듯이 항생제에서는 모두 bacteria가 자랐지만 Chitosan에서는 100배 희석한 농도에서는 bacteria가 자라지 않았다.

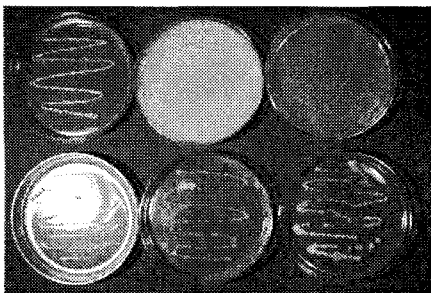


그림 1. 키토산 농도별 처리에 따른 박테리아 성장.

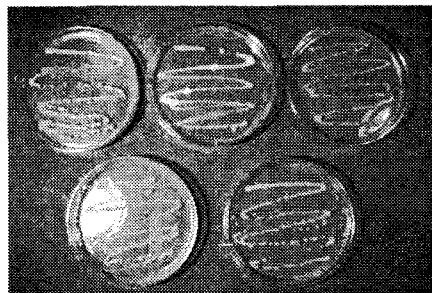


그림 2. 항생제 농도별 처리에 따른 박테리아 생장은 차이 없음.

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

### 2) 능이 자실체내 박테리아의 특성: 능이버섯 무름병 원인

능이 버섯 자실체에 존재하는 박테리아들은 능이를 결국 썩게하는 무름병균이므로 이들에 대한 특성조사는 차후 능이자실체의 품질유지와 저장성 향상에 관련된다. 따라서 자실체에서 분리한 세균들에 대하여 형태학적, 생화학적 및 생리적 특성을 조사하였다.

#### 가) 형태학적 특성

##### (1) gram 염색

PDA (potato dextrose agar) 또는 MMN(Melin-Norkrans' medium)고 배양통의 습도를 유지하면서 실온 또는 37 °C에서 배양하였다. PDA 또는 MMN 고체배지에서 자란 균의 집락은 성장 속도가 빠른 흰색 집락 (white rapid colony, WR), 성장 속도가 느린 흰색 집락(white-slow colony, WS) 과 녹색 집락 (green colony,G)으로 구별되며 이들 집락에서 균을 백금이로 따 초자 슬라이드에 도말하고 약한 열로 고정 후 그람 염색을 하고 (문헌) 광학현미경 (olympus DM-20)으로 균을 관찰하였다.

녹색균 (G): 그람음성 구균으로 보통 보다 큰 세균이다 (그림 1.1)

흰색균 (WS) : 그람 음성 간균으로 매우 작은 세균이다 (그림 1.2)

흰색균 (WR): 그람음성 간균으로 보통 크기의 간균이다 (그림 1.3)

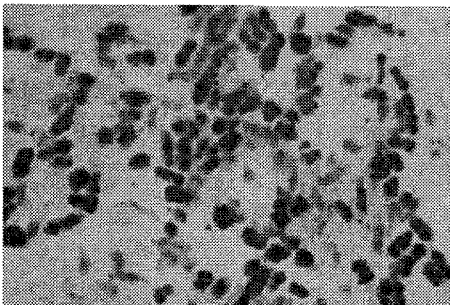


그림 1.1 A. 녹색균 (G)균주 37°C 배양. 그람 염색상

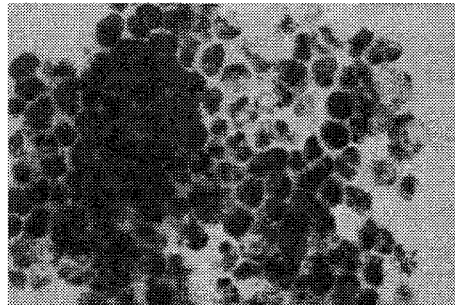


그림 1.1 B. 녹색균 (G)균주. 실온 배양. 그람 염색상

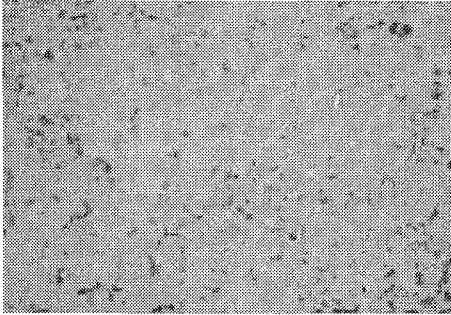


그림 1.2 A. 흰색균 (WS) 균주 37°C 배양. 그람 염색상



그림 1.2 B. 흰색균 (WS) 균주 실온 배양. 그람 염색상

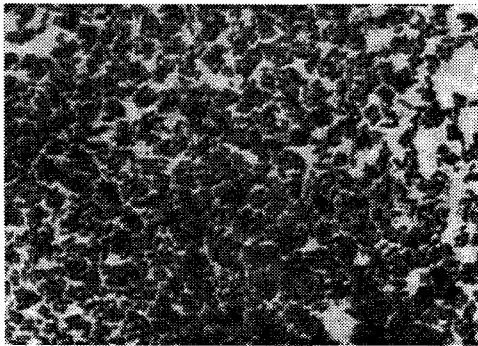


그림 1.3 흰색균 (WR) 균주 실온 배양. 그람 염색상

## (2) 단순염색

상기와 같이 녹색 균 (G)을 초자 슬라이드에 도말하고 약한 열로 고정 후 염기성 methylene blue 용액 (1%)으로 1분간 또는 요도 용액(0.5 %)으로 5분간 단순 염색을 한 후 현미경 (Olympus DM-20)으로 균의 형태를 관찰한바 그림 2와 같다. 녹색균의 내부에 그람 염색법이나 단순 염색으로 진하게 염색되는 알맹이는 전분 과립으로 추정되었다.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발



그림 2. A. G 균주의 단순 염색

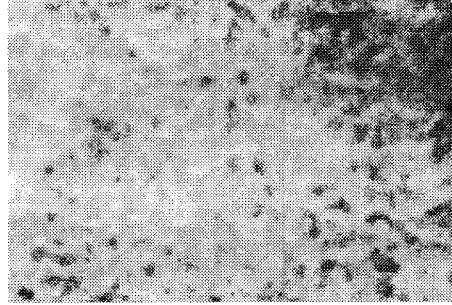
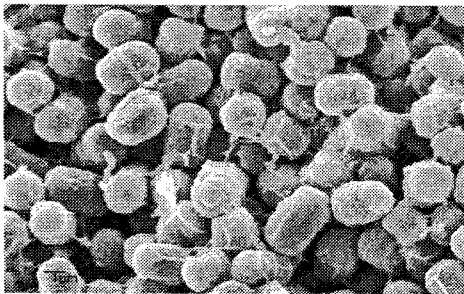


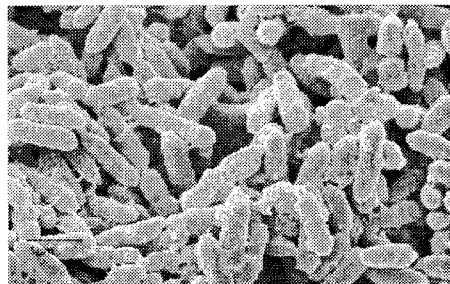
그림 2. B. G균주의 요오드 염색

(3) 전자 현미경 (SEM) 촬영

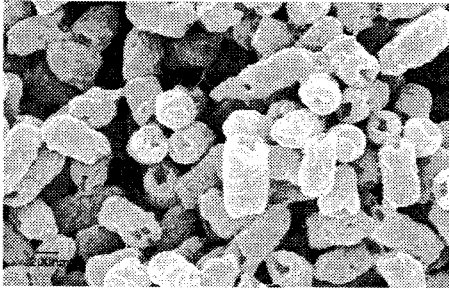
고체배지에 균 집락 부위를 0.5~1cm 크기로 잘라 2.5% glutaraldehyde 액 (in 100mM 인산 완충용액, pH 7.2~7.4)에서 3~4시간 1차 고정 한 후, 100 mM 인산 완충액으로 15~20분씩 2~3회 세척한 후, 1 시간 동안 1% osmium tetroxide 액 (in 100mM 인산 완충용액, pH 7.2~7.4)에서 2차 고정을 하고 100 mM 인산 완충액으로 15~20분 씩 2~3회 세척하였다. 시료를 5~10분 씩 ethanol (30, 50, 60, 70, 80, 90, 95%)로 점진 탈수시키고, 최종으로 100% ethanol로 10~15분 탈수한 후, isoamyl acetate로 30~40분씩 2회 처리하여 ethanol을 치환한 후 자연 건조하여 시료를 준비하였다. 시료를 두께가 300Å가 되도록 gold coating (sputter coater)하여 전자 현미경 (S-2500C Hitachi, 충북대 공동실험실습관)으로 관찰하였다.



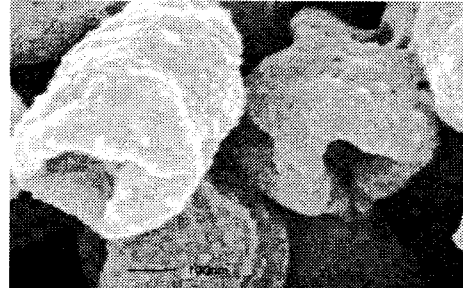
녹색균(G)의 전자 현미경사진



흰색균(WR) 전자 현미경 사진



흰색균 (WS)의 전자 현미경 사진



흰색균 (WS)의 전자현미경 확대사진

#### 나) 생화학적 특성

##### (1) catalase 및 oxidase 보유 여부

초자 슬라이드에 균을 도말 하고 3% 과산화수소를 한 방울을 떨어뜨리고 기포 발생 여부를 관찰한 바 WR 와 G 균주는 catalase 음성, WS는 양성반응을 보여 WS만이 catalase를 보유하고 있다고 사료되었다. 균을 도말한 부위에 oxidase 시약 (1% tetramethyl--phenylenediamine oxalate)을 한 방울 떨어뜨리고 색의 변화를 관찰하여 oxidase 반응 여부를 관찰한 바 WS, WR 및 G 균주 모두 oxidase 음성을 보였다.

##### (2) API 20 시험.

균을 멸균 증류수에 혼탁한 후 균액 적정량 (150-200 $\mu$ l)를 API KIT (bioMerieux)에 분주한 후 API kit를 30 $^{\circ}$ C에 24-48 시간 배양 한 후, API 시험 안내지침에 따라 균의 기질 이용 반응 및 생화학적 성질을 판정하였다.

##### (3) 생리적 성질

녹색 균주 (G)은 암소에서는 자라지 않고 광선이 있는데서만 자라 광합성 생물로 사료되었다. 적절한 생육 온도는 실온이었다. 능이버섯 열탕 추출물을 첨가한 배지에서 녹색 균주(G), 흰색 빠르게 자라는 균주 (WR), 느리게 자라는 균주 (WS)를 생육한바 생육 속도에 큰 변화는 없었다. WR 균주는 PDA나 MMN 배지에서 2-3 일 정도면 충분히 성장하나 집락의 크기는 1mm 정도로 작았다. WS 균주는 생육 속도가 느려 2-3주쯤 배양하여야 겨우 집락을 볼 수 있었다. 녹색 균(G)는 처음 4-5일은 생육이 완만하나 그 후에는 생육속도가 빨라짐을 관찰하였다.

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

결론을 다음과 같다. 능이버섯의 무름 병 병소에는 다종의 세균이 존재하는데 녹색균(G), 흰색균으로 생육이 느린 것(WS), 흰색이며 생육이 빠른 것(WR)의 3종의 세균을 분리하였다. G 균주는 그람 음성 구균 형태의 광합성 세균( $3\mu\text{m}$ )으로 균의 집락 색깔(진초록), 모양 및 균 배열상으로 미루어 보아 Cyanobacteria로 여겨진다. WR 균주는 길이  $1.3\mu\text{m}$  크기의 그람음성 간균으로 API 시험 결과 Providencia로 추정되나 좀더 상세한 연구가 필요하다. WS 균주는 길이 600nm의 아주 미세한 세균이다. 관 모양의 간균으로 모양이 매우 특이하다. 이런 모양의 세균은 아직 보고되지 아니한 바 신종의 세균으로 사료된다.

### 2) 능이 균사배양

능이자실체에서 분리된 조직으로부터 자라나온 균사생장은 매우 느렸으며 약 2주일 후에야 10배율의 해부현미경 하에서 관찰 할 수 있었다 (그림 1). 최초 균사는 흰색 또는 무색투명하였으며, 생장이 매우 느려서 약 6달 후에야 콜로니 지름이 약 1cm에 달하였다. 이것을 재차 배양하였을 때에는 거의 자라지 않았으며, 일부 콜로니에는 흰색과 짙은 갈색의 2가지 이상의 균사형태가 매우 촘촘하게 자라나왔다. 이 콜로니의 생장은 PDA에서보다 MMN에서 약 2배 빨리 자랐으나, 탄수화물로서 포도당 대신에 malate, succinate, fumarate 등의 첨가는 생장에 차이를 나타내지 않았다. 백색과 짙은 갈색 균사 모두에는 능이 균사의 특징인 연결쇄가 발달하지 않아서 의심이 가는 콜로니였다.

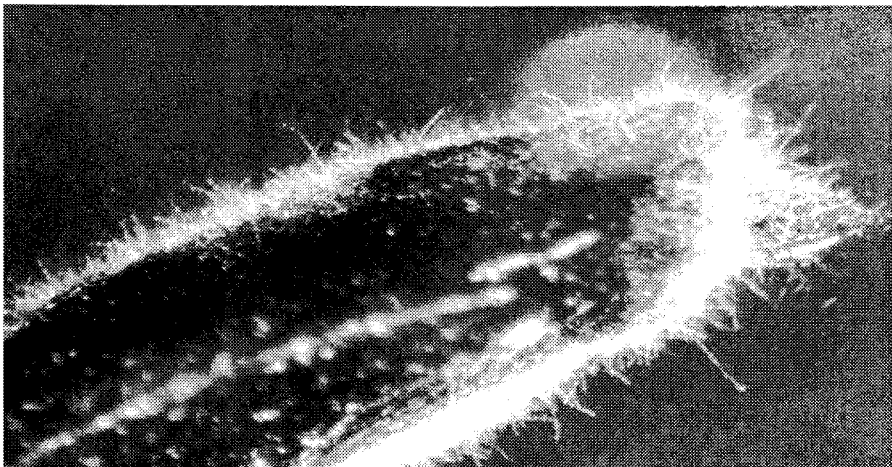


그림 1. 능이 자실체 조직으로부터 균사생장

## 라. 능이집종묘 생산

### 1) 켈러스 배양

상수리나무를 기내 배양하기 위하여 먼저 켈루스를 배양한 결과는 다음 표와 같다. 상수리의 경우 같은 옥신 호르몬인 2,4-D 1.0mg/L가 첨가된 배지에서 켈러스의 형성이 제일 좋았으며 신갈나무의 경우는 2,4-D1.0mg/L+NAA0.1mg/L+BAP0.01mg/L에서 켈러스형성이 제일 좋았으며 상수리의 경우도 NAA보다는 2,4-D에서 켈러스 형성이 더 좋았다.

#### ① 상수리 켈러스 배양 결과

	2,4-D 1.0mg/L	2,4-D 0.5mg/L	2,4-D 0.1mg/L	NAA 1.0mg/L	NAA 0.5mg/L	NAA 0.1mg/L
1	100%	100%	43%	100%	29%	0%
2	85%	71%	43%	71%	29%	0%
3	85%	71%	57%	67%	14%	0%
4	71%	29%	29%	29%	0%	0%
5	100%	14%	29%	14%	0%	0%
계	88%	57%	40%	56%	14%	0%

#### ② 신갈 켈러스 배양 결과

	2,4-D1.0mg/L+ NAA0.1mg/L+ BAP0.01mg/L	2,4-D 1.0mg/L	2,4-D 0.5mg/L	2,4-D 0.1mg/L	NAA 1.0mg/L	NAA 0.5mg/L	NAA 0.1mg/L
계	86%	48%	32%	46%	15%	2%	2%

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

### 2) 액아배양

#### ① 신갈나무

신갈나무와 갈참나무 모두 MS와 WPM모두 액아 형성률은 비슷하지만 MS배지 보다는 WPM배지가 유리화 현상도 덜하고 액아에서 유도된 줄기나 잎의 상태가 더 좋았다.

	MS+BAP1.0mg/ L+NAA0.05mg/L	WPM+BAP1.0mg/ L+NAA0.05mg/L
신갈나무	10%	20%
갈참나무	20%	20%
계	15%	20%

### 3) 상수리나무 기내 발근묘에 능이균 접종

본 연구는 조직배양을 이용한 균접종 시도로서 능이의 기주식물인 상수리의 기내발근묘가 우선 필요하다. 그래서 상수리의 기내발근에 효과적인 방법을 구하기 위하여 생장조절물질인 IBA(indole butyric acid)의 처리 효과, 치상부위별로, 채취시기별로, 발근속도를 조사하였다. 그 다음 기내발근묘에 어린 자실체에서 분리배양된 능이균사를 접종하여 감염여부를 조사하였다. 또한 능이균근과 다른 균근과의 비교를 통하여 능이균의 형태적 특징을 알아보았다.

#### 가) 상수리 발근

##### (1) IBA효과

신초를 절단하여 WPM+IBA0.2mg/l와 WPM+IBA0.3mg/l에 각각 치상한 결과, 줄기는 6~10일 후부터 발근이 시작되었으며, 발근되는 줄기는 대부분 기부에 흰 켈러스가 생기면서 뿌리를 내렸다. 발근 비율은 WPM+IBA0.2mg/l 배지가 20.4%를, WPM+IBA0.3mg/l 배지는 4.7%를 나타내었다. IBA+0.3mg/l 배지에서는 켈러스의 생장은 왕성하였으나 발근은 상대적으로 적은 편이었다. 이 결과는 문홍규 등(1987)이 IBA0.2mg/l를 첨가한 배지에 치상한 상수리가 60%이상의 발근율을 보인 것과 유사하다. IBA의 농도에 따른 발근비율은 다음 그림 1.과 같다.



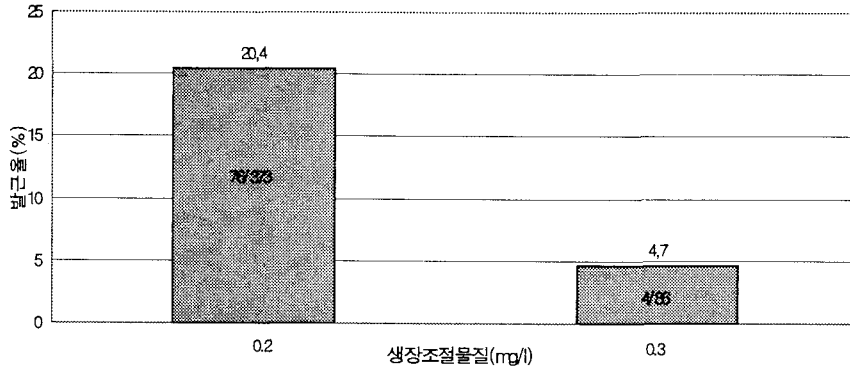


그림 1. IBA 효과에 따른 발근 비율

(2) 치상부위별 발근율

또한 치상부위별로 발근율이 다르게 나타났는데, 정아가 있는 줄기의 상부를 치상한 곳은 28.4%, 정아가 없는 줄기의 하부를 치상한 곳에서는 11.4%의 발근 비율을 나타내었다. 이 실험 결과는 문홍규 등(1987)이 1/2MS 배지에서 치상한 상수리나무의 상부 explant가 100% 발근율을 보인 것과 유사하다. 이는 정아가 있는 곳의 줄기가 성장분열이 더욱 왕성하여 캘러스 발달이 더욱 잘 되는 것으로 생각된다.

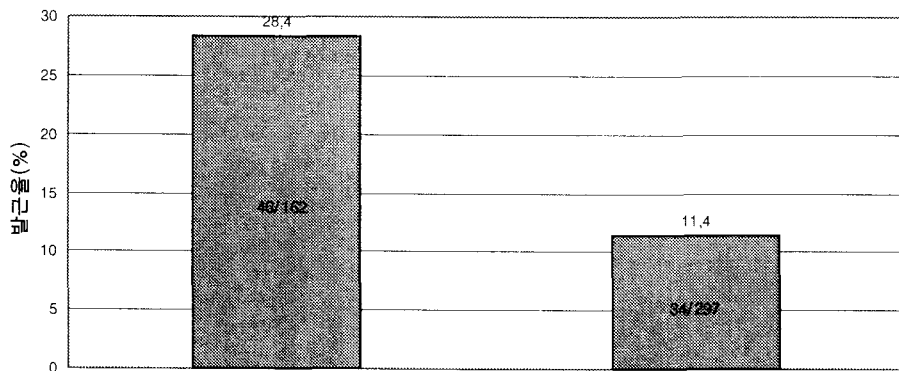


그림 2. 치상부위별 발근율

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

### (3) 채취시기 효과

3~5월까지 상수리발근 실험을 실시하였는데, 재료의 채취시기에 따라서도 발근율이 상대적으로 차이가 있었다. 그 차이는 다음 표와 같다. WPM+IBA0.2mg/l 배지에서는 3월에는 17.8%, 4월에는 19.4%, 5월에는 23.4%의 발근율을 보였고, WPM+IBA0.3mg/l에서는 각각 3.7%, 5.2%, 4.8%의 발근율을 보였다. WPM+IBA0.3mg/l 배지에서 발근된 뿌리가 전체 4개에 지나지 않았고, 대부분의 뿌리가 WPM+IBA0.2mg/l에서 발근된 것이므로, 5월에 재료를 채취하여 배지에 치상한 것이 가장 발근율이 높은 것으로 나타났다.

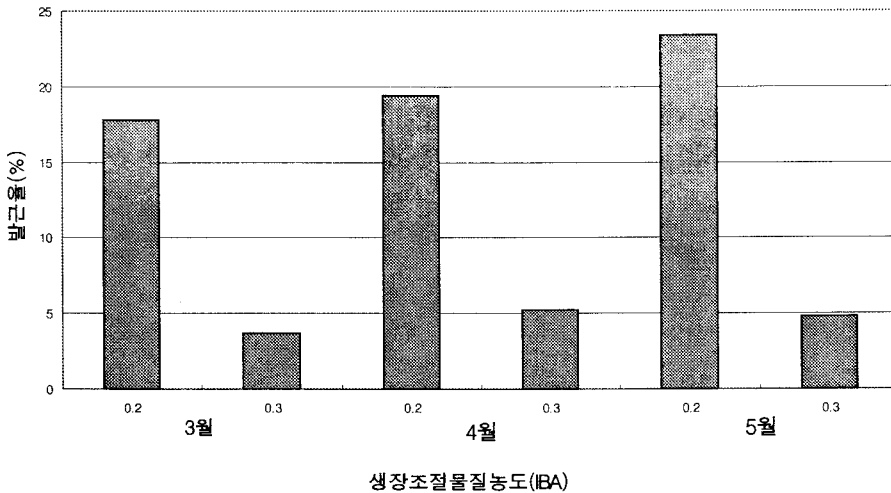


그림 3. 채취시기에 따른 발근율 변화

### (4) 발근속도

줄기를 채취하여 배지에 치상한 후 발근되기까지는 짧게는 6일, 길게는 60일 이상 걸렸다. 아래 도표와 같이 20일이내에 발근된 것이 가장 많았다. 문홍규 등 (1987)은 치상된 줄기는 7~10일후부터 발근이 시작되었으며 발근된 줄기는 대부분 기부에서 흰 켈러스가 생기면서 발근함을 보고하고 있다. 또한

WPM+IBA0.3mg/1배지에서는 발근에 걸린 시간이 WPM+IBA0.2mg/1배지에 치상한 줄기보다 20일 정도 느렸으며, 모두 30일 이후에 발근되었다.

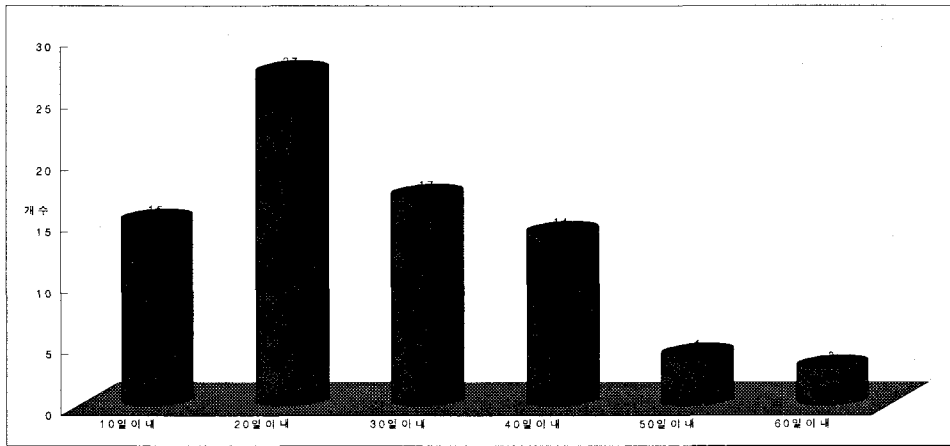


그림 4. 상수리나무 조적배양묘의 발근 속도

WPM+IBA0.3mg/1배지에서는 발근에까지 걸리는 시간이 30일 이후에서부터 야 시작되었으나, 발근이 된 뿌리는 WPM+IBA0.2mg/1배지에서보다 길이가 더욱 길고, 잔뿌리의 개수도 많았다. WPM+IBA0.3mg/1배지에서는 신초의 액아가 자라서 새 잎이 돌아나는 것을 관찰할 수 있는데, 뿌리의 발달이 더욱 잘 되는 것도 새로운 잎의 생성에 기인한 것이라 생각된다(그림 5). 이에 반하여 WPM+IBA0.2mg/1배지에서는 신초의 액아가 자라는 것을 관찰할 수 없었다. 따라서 성장하는 뿌리의 길이와 잔뿌리의 개수도 적었다(그림 6). 또한 WPM+IBA0.3mg/1배지의 평균뿌리수는 1.6개이며, WPM+IBA0.2mg/1배지의 평균뿌리수는 1.3개로 나타났다. 그리고 길게 성장하는 굵은 뿌리에서는 잔뿌리가 산호처럼 엇갈리게 형성되었다. 그리고 WPM+IBA0.3mg/1배지에서는 발근되지 않은 줄기의 캘러스가 상당히 비대해진 것을 관찰할 수 있었으며(그림 8), 또한 액아의 성장도 예외없이 잘 되었다. 치상후 3~5일이면 배지속으로 검은 분비물이 생기는데 이러한 물질은 탄닌이나 페놀성물질로 보이며(문홍규, 1987), 이러한 물질로인해 줄기의 양분흡수를 방해하여 말라죽는 상수리를 관찰할 수 있었다(그림 7)



그림 5. IBA0.3mg/l에서 발근

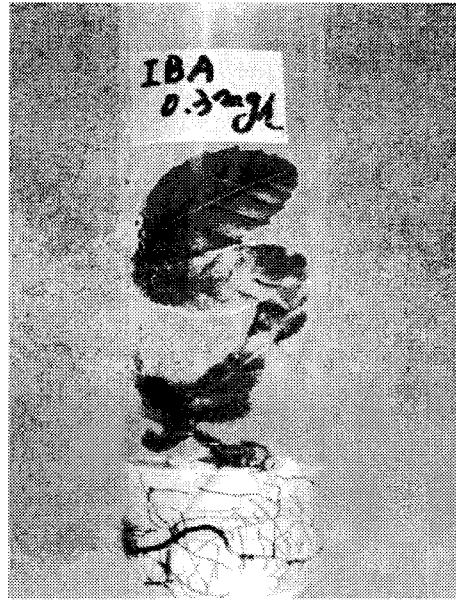


그림 6. IBA0.2mg/l에서 발근

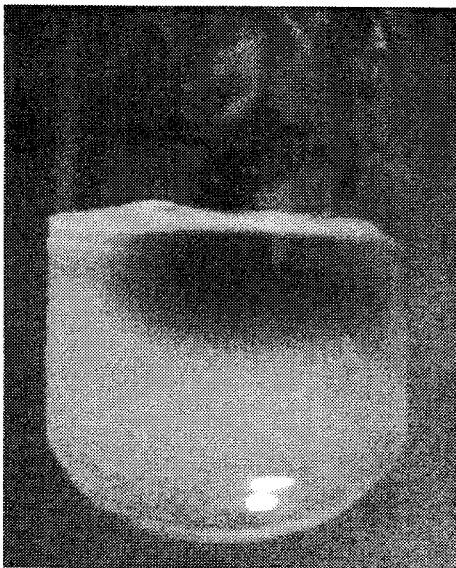


그림 7. 탄닌성분이 흘러나온 배지

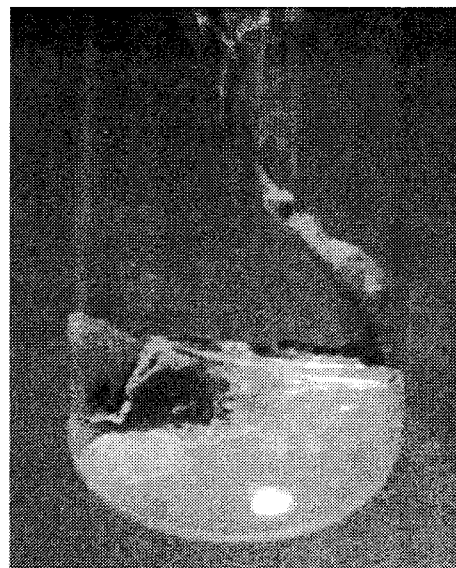


그림 8. 발근되지 않고 캘러스만 형성

2) 능이균 접종결과

기내발근묘를 버미큘라이트와 피트모스를 7:3의 비율로 섞은 시험관으로 이식하여 활착을 유도한 뒤, 균을 접종한 것 20개, WPM+IBA0.2mg/l 배지상에 그대로 있는 발근묘 56개와, WPM+IBA0.3mg/l 배지상에 있는 발근묘 4개에 균 접종을 시도하였다. 그 결과는 다음 표와 같다.

표 3. 기내에서 능이분리균의 접종 후 묘목의 뿌리 변화상태

	균근형성	뿌리사멸	접종후 묘목고사	변화없음
vermiculite+peatmoss	0	0	1	19
WPM배지상태	0	19	9	32

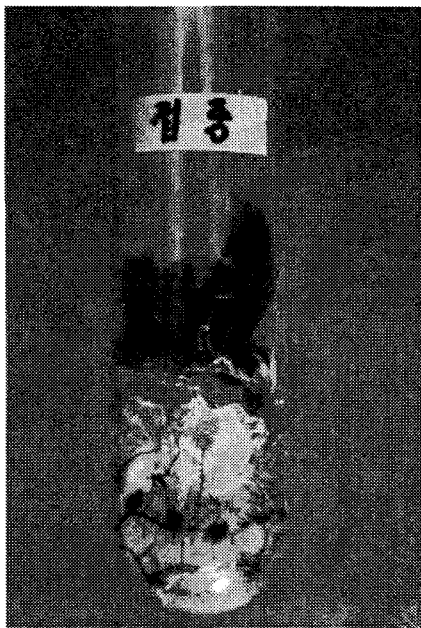


그림 9. 능이균 접종

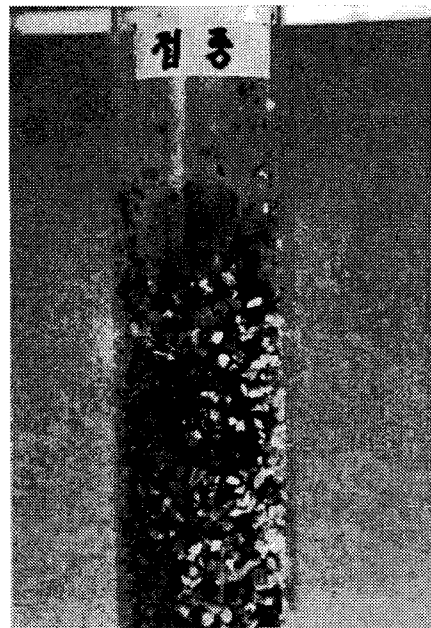


그림 10. 능이균 접종

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

능이 외생균근은 갈색이고 전체 뿌리모양은 밀과계 엉켜있으나 깃털형에 가깝다. 각 균근의 굵기는  $200\sim 240\mu\text{m}$ , 길이가  $0.5\sim 10\text{mm}$ 이다(그림 11). 균근의 내부 형태는 전형적인 외생균근으로 균투두께가  $10\sim 25\mu\text{m}$ 로 잘 벗겨지지 않는다(김홍은 등, 2002). 하지만 본 실험에서는 균근균을 형성한 상수리는 어떠한 곳에서도 찾아볼 수 없었다. 버미큘라이트와 피트모스 혼합토에서는 이식한 발근묘의 활착도 그리 용이하지 않았으며, 균의 성장도 전혀 없었다.

WPM배지상태에서 접종균의 생장은 조금 있었는데, 접종균의 성장상태는 일반적인 오염균처럼 빠르게 배지 전체를 오염시키지 않고, 접종한 균조각 둘레에 흰 균사가 천천히 자라는 것을 관찰할 수 있었다(그림 13). 이에 반하여 검은 색으로 자라는 것도 있었는데, 이러한 균을 접종한 배지의 기주식물은 대개 뿌리가 갈변하거나 고사한 것이 많다(그림 14). 이것은 능이균이 아닌 다른 잡균의 생장으로 인하여 기주식물에 병원균으로 작용하였을 가능성이 높다. 한편 버미큘라이트 + 피트모스 혼합토와 WPM 배지환경은 상수리나무 묘목의 균근형성에 적합한 환경을 만들어주지 못한 것인지도 모른다. 그리고 WPM 배지상에서는 접종한 후 고사하는 묘목도 발생하였는데, 그 이유는 원활한 양분공급을 위한 계대배양을 수행하지 못한 점, 원활한 뿌리의 흡수를 균이 방해한 점, 능이균이 아닌 다른 잡균에 오염되었을 가능성 등을 생각해볼 수 있다. 버미큘라이트와 피트모스 혼합토에서는 균사가 전혀 성장하지 않았으며, 균이 급격한 환경변화로 인하여 죽어버린 것으로 생각된다. 또한 기내에 충분한 균을 접종하지 못한 점, 시험관 속의 양분과 환경등이 균의 생리, 생태와 잘 맞지 않은 것으로 생각한다. 능이균 감염묘목의 생산을 위하여는 정확한 능이분리균의 확인과 함께 균근형성과정에 대한 지속적인 연구가 필요하다고 생각한다.



그림 11. 균환토양에서 채집된 능이균균. 뿔뿔하며 뿌리털이 없음.

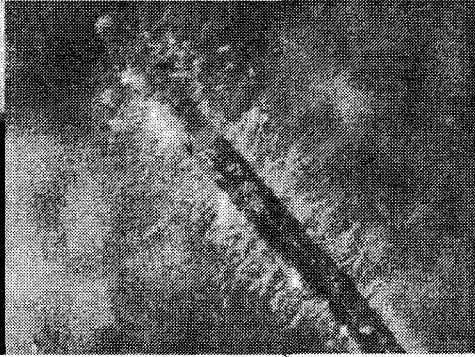


그림 12. 상수리묘목의 비균균 뿌리. 뿌리털 발달함.



그림 13. 능이균사 배양체를 접종하지 않은 뿌리.



그림 14. 능이균사 배양체 접종 후 갈변한 뿌리

### 3) 참나무속의 균근 형태

균근의 외부형태나 균근형의 차이는 균근균마다의 다른 생리작용과 균근활동에 영향을 주는 환경요인들에 의해서 그 특이 형태나 구조가 나타난다 (Castellano and Molina). 이렇게 나타난 특이 형태나 구조가 균근을 식별할 수 있는 요소가 되므로 균근균에 따라 균근의 식별이 가능할 수 있다(오광인 등, 1993). 상수리나무의 외생균근은 정단형(apical type), 선형(linear type), 곤봉형(clavate type), 확산형(diffuse type), 피라미드형(pyramidal type), 산호형

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

(coralloid type), 괴근형(nodular type)으로 구별하며, 이들 균근형의 식별기준은 다음 표 4와 같다(오광인 등, 1993).

그리고 김홍은 등(2002)은 자연 산림에서 관찰되는 능이의 외생균근은 전체 뿌리모양은 밀하게 엉켜있으나 깃털형에 가깝다고 하였다(그림 15). 온실 외부의 화분에서 채취한 상수리나무 묘목에서는 외부 자연상태에서 형성된 균근(그림 16)으로 흰색, 얇은 느낌의 felt질의 균투를 쉽게 관찰할 수 있었다.

표 4. 참나무속의 균근 형태

균근형	특징
선형	측근의 기저부부터 정단까지 균투가 형성되어 있는 것.
곤봉형	측근의 중간부터 정단까지 균투가 형성되어 있는 것.
괴근형	측근이나 측근과 측근사이를 균사들이 둘러싸, 덩어리 모양의 균투를 하고 있는 것.
정단형	측근의 정단에 집중되어 있는 상태로 길이가 두께의 2배 내외가 되는 것.
확산형	측근들이 분지되어 있는 측근계의 전체에 균근이 형성되어 있으며, 가끔씩 정단형, 선형, 곤봉형의 균근도 함께 있고, 계속해서 균근형성이 확산되어 가고 있는 형태.
피라미드형	전체 측근계가 균근으로 형성되어 있으며, 정단부 쪽의 측근의 길이는 짧고 기저부 쪽으로 갈수록 균근의 길이는 길어져 전체적인 모양이 피라미드의 형태를 이룸.
산호형	전체 측근계가 균투모양이 산호와 같은 것.



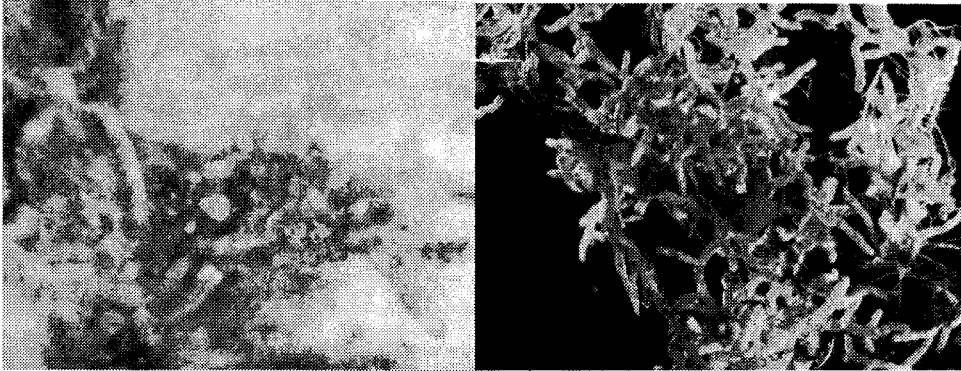


그림 15. 능이균환 토양내 능이  
균근

그림 16. 능이균근이 아닌 상수리나무  
균근

위 실험을 요약하면 다음과 같다. 능이균에 감염된 감염묘를 생산하기 위하여 조직배양을 이용한 접종실험을 실시하였다. 상수리나무의 신초를 채취하여, 발근에 영향을 주는 성장조절물질인 IBA의 농도, 줄기의 치상부위, 채취시기, 발근속도를 조사하였다. IBA의 농도는 IBA0.2mg/l > IBA0.3mg/l의 순으로 발근이 양호하였으며, 줄기의 치상부위는 하부보다 상부의 줄기가 더욱 잘 되었다. 또한 채취시기는 5월 > 4월 > 3월의 순으로 발근이 양호하였다. 발근속도는 주로 20일 이내에 되는 것이 많았다. 이들 발근묘에 능이균을 접종하였지만 감염묘를 확인할 수 없었다. 감염묘 생산을 위하여서는 능이균에 대한 생리, 생태 등 기초연구가 더 필요하다고 생각한다.

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

부록표. 상수리나무 발근유도 상황

배지	성장조절물질	치상수	이식날짜	발근갯수	발근날짜
WPM	IBA 0.2(mg/l)	15	3월11일	6	3월 22일, 4월 2일, 26, 30, 30, 5월 10일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	10	3월14일	3	4월 12, 12, 5월 3일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	10	3월15일	0	
WPM	IBA 0.2(mg/l)	10	3월18일	0	
WPM	IBA 0.2(mg/l)	15	3월19일	0	
WPM	IBA 0.3(mg/l)	15	3월22일	0	
WPM	IBA 0.3(mg/l)	12	3월25일	1	4월 26일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	20	3월26일	5	4월 12일, 12, 14, 30, 5월 14일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	10	3월29일	2	5월 24일, 5월 30일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	15	4월2일	5	4월 12일, 12, 14, 30, 5월 3일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	10	4월11일	2	5월 3일, 28일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	15	4월14일	3	5월 3, 28일, 6월 7일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	20	4월15일	3	5월 3, 7, 20일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	20	4월18일	3	5월 7일, 14, 20일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	30	4월22일	4	5월 23, 24, 28일, 6월 4일
WPM	IBA 0.3(mg/l)	13	4월24일	1	5월 21일
WPM	IBA 0.3(mg/l)	25	4월25일	1	5월 22일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	20	4월26일	4	5월 3일, 28, 30, 6월 2일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	25	4월27일	6	5월 3, 7, 8, 11, 12, 12일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	23	6월6일	7	5월 13,14, 14, 15, 15, 15, 20일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	27	5월10일	5	5월 16, 20, 24, 30, 6월 2일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	15	5월13일	3	5월 20, 24, 6월 3일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	20	5월15일	4	5월25, 6월 5, 8, 13일
WPM	IBA 0.3(mg/l)	21	5월20일	1	6월 3일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	19	5월24일	6	6월 5, 9, 11, 15, 20, 24일
WPM	IBA 0.2(mg/l)	24	5월28일	5	6월 7, 11, 13, 20, 29일

### 4) 능이 접종 실험묘 양성

#### 가) 능이 자실체 조직 접종 결과

능이자실체를 참나무 파종묘에 접종하였으나 능이균근의 특징을 가지는 균근

은 형성된 것이 없었다 (사진 13). 외부 강우 등에 노출된 묘목은 주위 산림에서 온 균근균 포자에 의하여 균근을 형성하였으며, 그 형태는 주로 흰색이었으며, 균사에는 연결격쇄가 없었다 (사진 18, 19). 자실체 조직을 접종한 후 2-3일 후에는 화분에서 버섯이 썩는 냄새가 났으나, 참나무 묘목이 사멸하는 경우는 없었다. 자실층이 있는 자실체 조직은 접종원으로서 역할을 전혀 하지 못하는 것으로 생각된다. 온실 외부에서는 주위에서 오염된 균으로 균근이 형성되었으나, 자연 강우를 직접 맞지 않는 인공 성장상에서는 어떤 균근도 형성되지 않았다.

#### 나) 능이 포자 슬러리 접종결과

능이 자실체 중에서 포자를 맺는 바늘상 자실층만을 모아서 믹스로 갈아서 슬러리로 만든후 이것을 접종원으로 사용하였다. 1년차에는 이 포자 슬러리를 파종된 화분토양 표면에 살포하여 접종하였으나 1년 후에도 능이균근의 특징을 갖는 균근은 형성된 것이 없었다. 2년차에서는 발근한 후 세균이 발달하였고, 잎도 4장 이상 나온 묘목의 뿌리를 포자 슬러리에 담구었다가 화분에 심어서 균근형성여부를 조사하였으나 역시 능이균근의 형성은 없었다 (사진 16, 17). 능이 포자 슬러리 또한 접종원으로서 역할을 하지 못하는 것으로 생각되었다.

#### 다) 능이 균환 토양 접종 결과

1년차, 2년차, 3년차에서 모두 능이발생지에서 채취한 능이균환토양 덩어리를 화분에 접종한 후(사진 12), 그 위에 발아된 묘목을 식재 배양하여 (사진 14) 능이균근의 형성 여부를 조사하였다. 이 방법에서도 능이균근의 특징이나 능이 균환의 특징을 갖는 균근이나 토양 콜로니가 형성되지 않았다 (사진 15). 흰색의 능이균사와 균근으로 밝은 색이던 능이균환 토양은 약 2주일 후에 짙은 갈색으로 변하였고, 균근도 짙은 갈색으로 사멸하였다. 이 균환 덩어리로부터 균사가 뻗어나오는 것은 관찰할 수가 없었다.

능이 균환 토양 또한 접종원으로서 역할을 하지 못하는 것으로 생각되었다.

#### 라) 능이 발생지 균환토양에 식재 결과

능이발생지의 능이 균환부위 위에 파종되어(사진 20) 자란 참나무 묘목 (사진 21)의 뿌리는 능이균환 속으로 뿌리를 뻗쳤고(사진 22), 7개월 후에 굴취하여 확

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

인 한 결과 묘목 뿌리의 일부가 능이균근을 형성한 후 표피부분이 검정색으로 사멸하여 벗겨졌지만 내부 통도조직은 계속 살아있는 것이 확인되었다 (사진 23). 버섯이 발생한 후에 균근 콜로니의 많은 부분에서 뿌리표피가 흑색으로 사멸하는 것은 송이의 경우에서 뚜렷이 볼 수 있듯이 (구창덕 등, 2001) 일반적인 현상으로 생각된다. 그러므로 현재로서는 산지에서 능이균환 위에 참나무를 직접 파종하거나 식재하는 것이 능이 접종묘를 양성할 수 있는 유일한 방법이라고 생각된다. 이 방법은 송이감염묘를 기르기 위하여 균환선단에 소나무 묘목을 식재하는 방법(임업연구원, 1981)과 유사하다고 생각한다.

표 1. 능이 접종원의 접종 효과

접종원	방법	균근 형성여부	비고
능이 자실체 조직	버섯조직을 토양에 접종	불형성	
능이 포자 슬러리	포자를 맺은 자실층을 슬러리화하여 이용	불형성	
능이 균환토양	능이발생지의 능이균환 토양을 접종	불형성	균환 훼손 우려
현지 능이 균환	현지에서 능이균환위에 파종 또는 식재	형성	균환 훼손 우려

## 마. 능이산지 관리 모델

### 1) 능이 발생지의 토양수분 및 온도변화

능이 발생지에 대한 기상환경을 조사하기 위하여 연속 자기기록 장치를 설치하여 능이 발생지 3개 지점, 능이 비발생지 3개지점에서 토양수분과 기온 및 지중온도를 1시간 간격으로 계측하였다. 조사기간은 2000년 7월 중순부터 2002년 11월 초까지 능이가 발생하는 시기 전후의 데이터를 3개년에 걸쳐서 계측하였으

며 상세한 내용은 표 1과 같다.

표 1. 조사항목 및 조사기간

조사항목	기간(2000 - 2002)																																			
	2000												2001												2002											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
토양수분	————												————												————											
지중온도	————												————												————											
대기온도	————												————												————											
강 우 량	————																																			

계측에 사용된 장비는 CR10X data logger(Campbell Scientific Inc.)를 이용하여 토양수분은 CS615 토양수분센서를 이용하였고, 지중온도에는 열전대(Thermocouple)를, 대기온도는 107 Temperature Probe를 이용하였다. 조사지 근처에 강수기록계를 설치하여 지속적으로 강수를 계측하였다.

토양수분과 온도변화에 관련한 데이터의 계측은 2000년 7월 19일 ~ 11월 3일, 2001년 8월 22일 ~ 11월 21일, 2002년 6월 11일 ~ 10월 31일에 걸쳐 3개년 동안 계측을 실시하였으며, 동일 기간의 데이터를 비교하기 위하여 매년도 8월 22일 ~ 10월 31일까지의 1,704 시간의 기록을 비교하였다. 조사지역 및 개소수는 2000년도에 월악산 영봉지역(이후 영봉이라 칭함) 1개소를 선정 기기를 설치하여 계측하였으며, 2001년도에 월악산 영봉지역과 골피지역(이후 골피라 칭함) 2개소를 선정하여 계측하였고, 2002년도에는 선정된 2개소중 1개소(영봉)가 군사시설로 인하여 골피지역 1개소만 계측을 수행하였다. 각 년도별로 기록된 내용을 보면 다음과 같다.

가) 2000년 영봉지역 능이발생지의 토양수분 및 온도변화

조사기간은 2000년 7월 19일부터 11월 3일까지 2,592시간의 기록이다. 조사기간중의 총 강수량은 707.0mm이었다. 조사기간중의 일평균기온은 6 ~ 27℃의 분포를 보였으며 평균기온은 18.2℃였다.

능이발생지의 평균토양수분분포는 10.2 ~ 30.9%이고, 비발생지의 평균토양수

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

분분포는 12.0 ~ 33.1%로써 능이 발생지의 토양수분이 2% 정도 낮게 유지되고 있음을 알 수 있다. 이는 능이발생지에서 균사의 수분 소모에 의하여 균사 주변부의 토양이 건조해진 것을 나타낸다.

능이발생지의 평균지중온도분포는 8.1 ~ 23.4℃이고, 비발생지의 평균지중온도분포는 8.5 ~ 23.0℃로써 경향을 보면 능이 발생지의 지중온도가 높은 것을 알 수 있었다. 발생지와 비발생지의 지중온도에 차이를 보이는 이유로는 균사의 생장을 위한 호흡열에 의하여 발생지의 지온이 높게 유지되는 것으로 생각된다. Fig. 1에 보인 자료는 2000년도 조사지역내의 강수량, 토양수분, 지온, 대기온도의 기록이다.

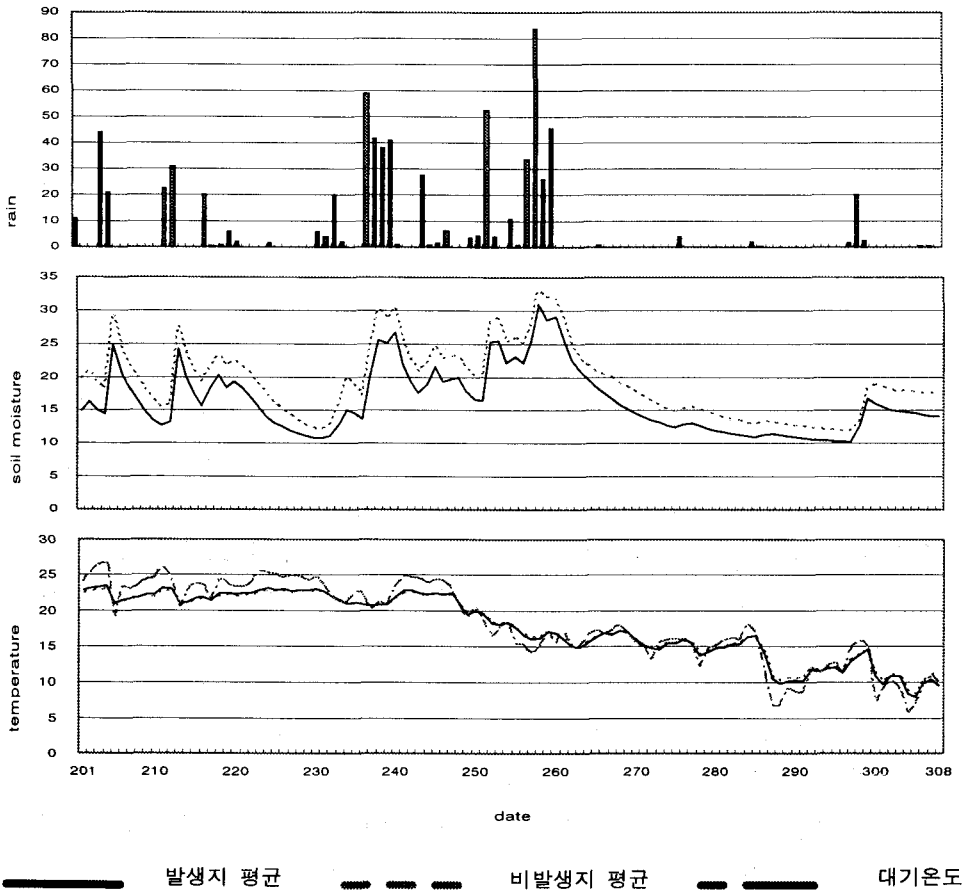


그림 1. 2000년 영봉지역 능이 발생지의 평균 토양수분 및 온도변화

나) 2001년 영봉지역 능이발생지의 토양수분 및 온도변화

조사기간중의 강수량은 194.0mm였다. 조사기간중의 일평균기온은 1.4 ~ 23.1℃의 분포를 보였으며 평균기온은 14.1℃였다.

능이발생지의 평균토양수분분포는 8.1 ~ 28.2%이고, 비발생지의 평균토양수분 분포는 8.2 ~ 27.5%로 나타났으며, 발생지의 평균토양수분은 16.8%이고, 비발생지의 평균토양수분은 17.8%로써 능이 발생지의 토양수분이 1.1% 정도 낮음을 알 수 있었으며 전년도와 같은 경향을 보이고 있다. 능이발생지의 평균지중온도분포는 4.3 ~ 21.5℃이고, 비발생지의 평균지중온도분포는 5.0 ~ 21.2℃로써 차이가 거의 없지만 전체적인 경향을 보면 능이 발생지의 평균지중온도가 0.2℃ 낮게 나타나고 있다.

이와 같이 토양수분과 지중온도의 차이가 2000년도에 비하여 줄어든 이유로는 2001년도에 강수가 매우 적은 이유도 있지만 확인결과 조사지역의 능이 균환이 점차 쇠약해져 점차 소멸해가는 과정에서 그 차이가 줄어들고 있었으며, 2002년도에는 균환이 완전히 소멸되어 조사지에서 제외되었다.

2000년도와 비교시 Fig. 2에 보인 자료는 2001년 8월 22일부터 11월 3일까지 2,184 시간의 영봉지역 강수량, 토양수분, 지온, 대기온도의 기록이다.

다) 2001년 골피지역 능이발생지의 토양수분 및 온도변화

조사기간중의 강수량은 194.0mm 였다. 조사기간중의 기온은 2.6 ~ 22.5℃의 분포를 보였으며 평균기온은 14.2℃이었다.

능이발생지의 평균토양수분분포는 8.5 ~ 17.2%이고, 비발생지의 평균토양수분 분포는 7.1 ~ 13.9%로써 능이 발생지의 토양수분이 1.8% 정도 높게 나타났다. 이는 전년도의 경향이나 2001년도의 영봉지역 계측 자료와는 상반된 결과를 보여주고 있다.

## 논이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

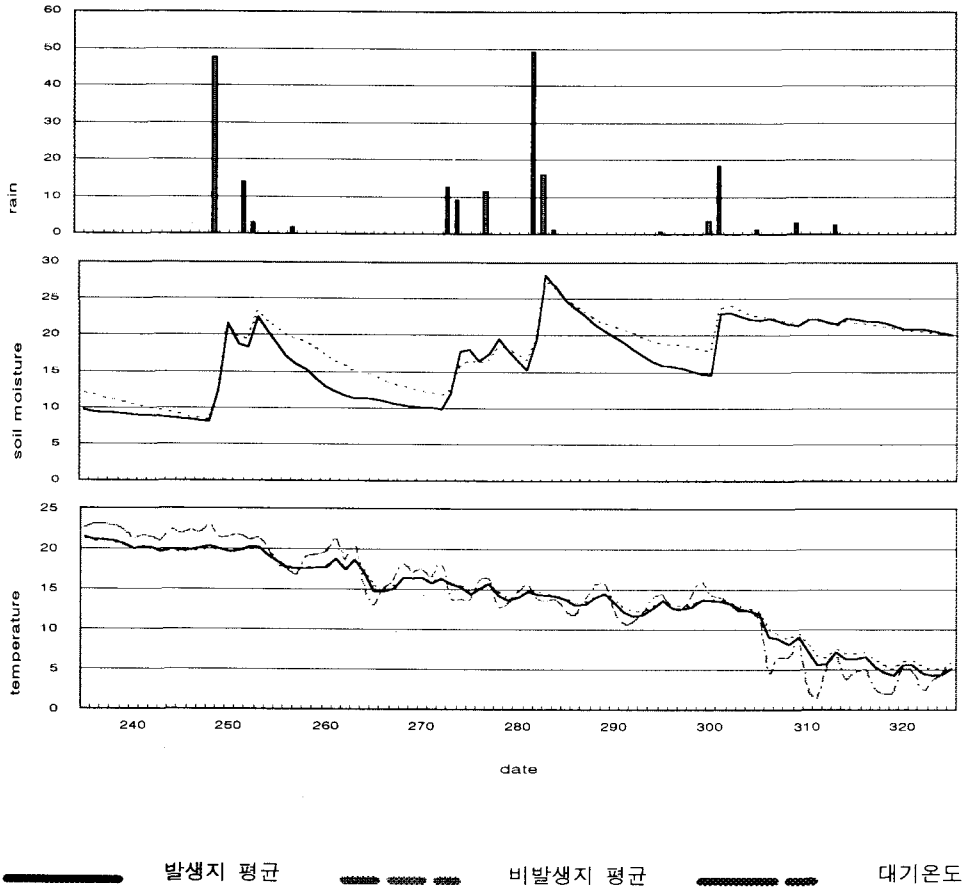


그림 2. 2001년 영봉지역 능이 발생지의 평균 토양수분 및 온도변화

능이발생지의 평균지중온도분포는 7.0 ~ 21.9℃이고, 비발생지의 평균지중온도 분포는 6.8 ~ 21.5℃로써 차이가 미미하지만 전체적인 경향을 보면 능이 발생지의 지온이 0.4℃ 높은 것을 알 수 있었다. Fig. 3에 보인 자료는 2001년 8월 22일부터 11월 21일까지 2,184 시간의 골피지역 강수량, 토양수분, 지온, 대기온도의 기록이다.

라) 2002년 골미지역 능이발생지의 토양수분 및 온도변화



조사기간중의 강수량은 1,019.0mm/hr 이었다. 조사기간중의 기온은 2.2 ~ 26.8℃의 분포를 보였으며 평균기온은 18.2℃였다. 능이발생지의 평균토양수분분포는 10.9 ~ 22.8%이고, 비발생지의 평균토양수분분포는 12.7 ~ 31.7%로 나타났다. 능이 발생지의 토양수분이 5.2% 정도 낮게 나타나고 있다.

능이발생지의 평균지중온도분포는 9.4 ~ 22.6℃이고, 비발생지의 평균지중온도분포는 8.6 ~ 22.2℃로써 평균 능이 발생지의 지온이 0.5℃ 정도 높게 나타나고 있다. 그림 4에 보인 자료는 2002년 6월 11일부터 11월 3일까지 4,645 시간의 골미지역 강수량, 토양수분, 지온, 대기온도의 기록이다.

마) 고찰

송이와 능이 여러 가지면에서 비슷한 점을 가지고 있다. 두가지 모두 살아있는 소나무(송이), 참나무(능이)의 뿌리에 공생하는 균근이다.

능이의 발생에 있어서도 다양한 기상인자들의 복합적인 작용에 의해서 영향을 미친다고 생각된다. 2000년도의 경우 능이 발생 후기인 10월중에는 강수와 토양수분의 영향을 많이 받고 있으며, 2001년도는 극심한 가뭄으로 인하여 전기간에 걸쳐 강수와 토양수분의 영향이 가장 크게 미치고 있으며, 2002년도의 경우에는 적절한 강수로 인하여 토양수분이 거의 일정하게 유지되고 있으므로 오히려 대기온도의 영향이 크게 작용하고 있음을 알 수 있다.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

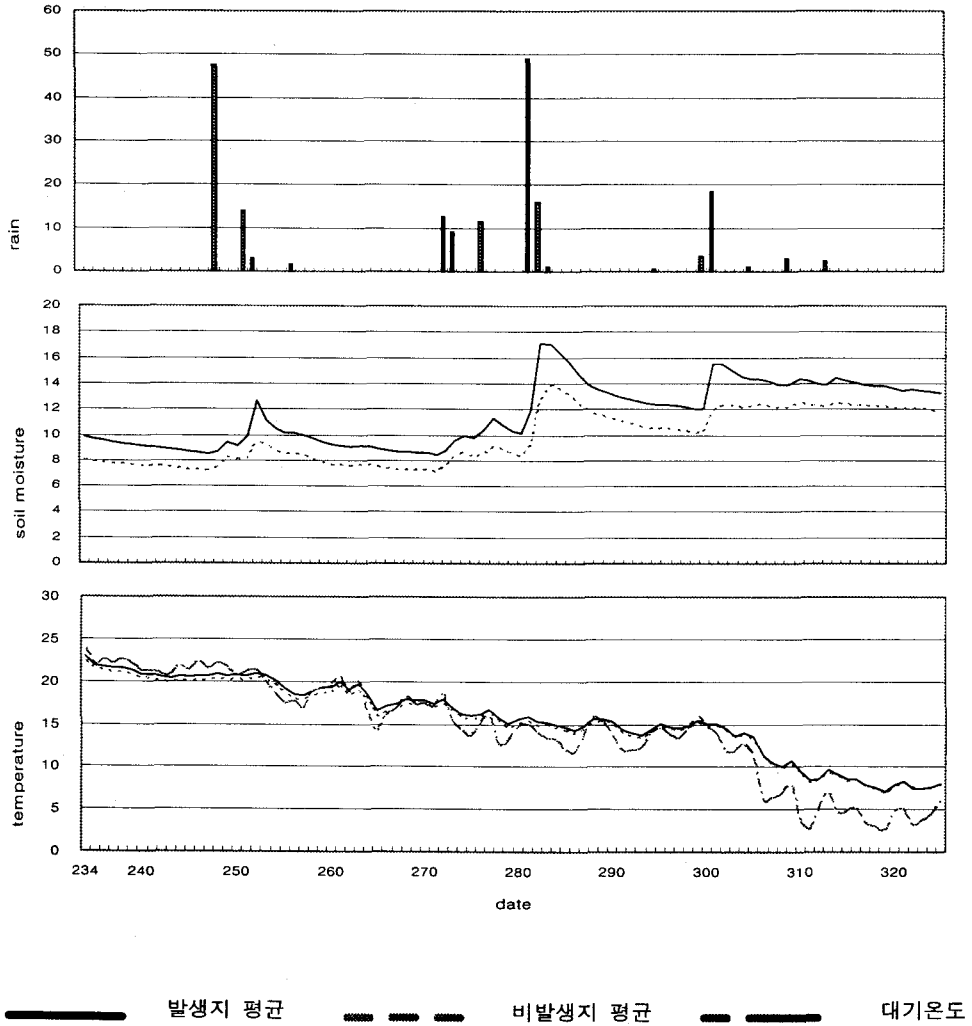


그림 3. 2001년 능이 발생지의 평균 토양수분 및 온도변화

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

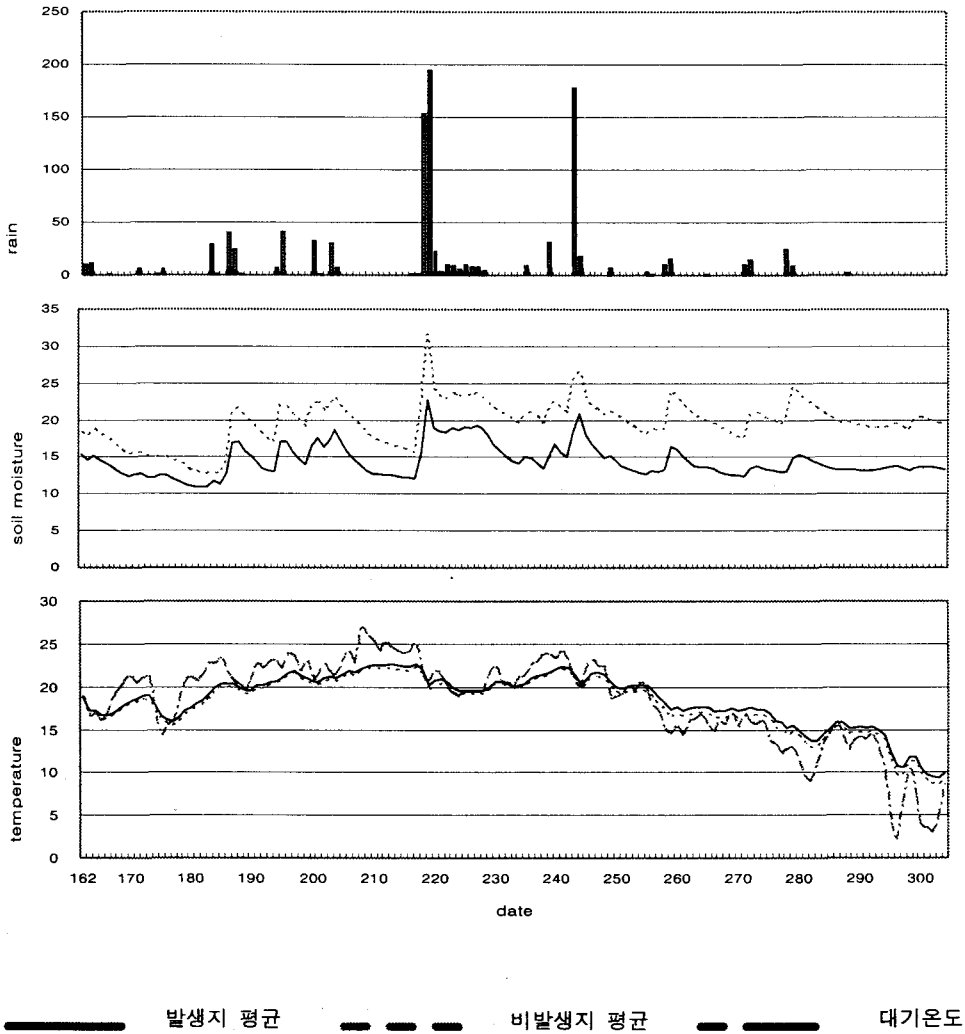


그림 4. 2002년 능이 발생지의 평균 토양수분 및 온도변화

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

### (1) 강수와 토양수분의 영향

강수량의 영향을 보면 송이버섯의 경우 조덕현 등(1995)은 8월에 강수가 많고 기온이 높을수록, 9월에 강수가 많을수록 발생량은 증가한다고 하였다. 능이도 같은 경향을 보이고 있다. 3개년도의 8월 22일부터 10월 31일까지의 데이터를 추출하여 조사지역 월강수량의 합은 표 2와 같다.

표 2. 조사기간중의 년도별 강수량

Month	Year 2000		2001		2002	
	강수량 (mm)	강수일수	강수량 (mm)	강수일수	강수량 (mm)	강수일수
8	271.0	16	25.0	7	647.5	18
9	275.0	14	78.5	5	83.0	11
10	30.5	6	109.0	8	39.5	10
Total(8, 9, 10)	576.5	36	212.5	20	770.0	39
Total(Year)	1130.5	-	776.0	-	1404.0	-

2000년도는 8월(271.0mm), 9월(275.0)의 강수량이 많았고, 2002년도는 8월(647.5mm)의 강수량이 많아 이해에 능이의 발생량이 많았다. 2001년도는 대가뭄으로 8월과 9월에 총 103.5mm 강수가 있어 토양수분도 평균 10.9%(골미지역), 15.3%(영봉지역)로 낮아 능이 발생량이 거의 없었다(표 3).

또한 2000년도는 8월 24일부터 9월 15일까지 23일중 18일동안 연속으로 강수가 있어 능이 발생량에 많은 영향을 미쳤으리라 생각된다. 오히려 2002년도는 8월에 강수가 집중되고 8월 말에서 9월말까지 3 ~ 4일의 간격으로 소량의 강수가 지속되는 경향(그림 5)을 보이고 있으며 이는 조사지역내의 토양수분을 일정하게 유지(그림 4)하고 있어 능이발생에 많은 도움이 되었을것으로 생각된다. 2002년도에는 능이가 발생하기 전인 8월경에 강우가 집중되고 능이 발생시기인 9월 이후에는 적당한 간격으로 소량의 강수가 지속되는 경향(그림 5)을 보이고 있으며 이는 조사지역내에 토양수분을 일정하게 유지(그림 4)하고 있어 대기온도 및 지중온도의 영향에 따라 생산량에 많은 영향을 미칠것으로 생각된다.

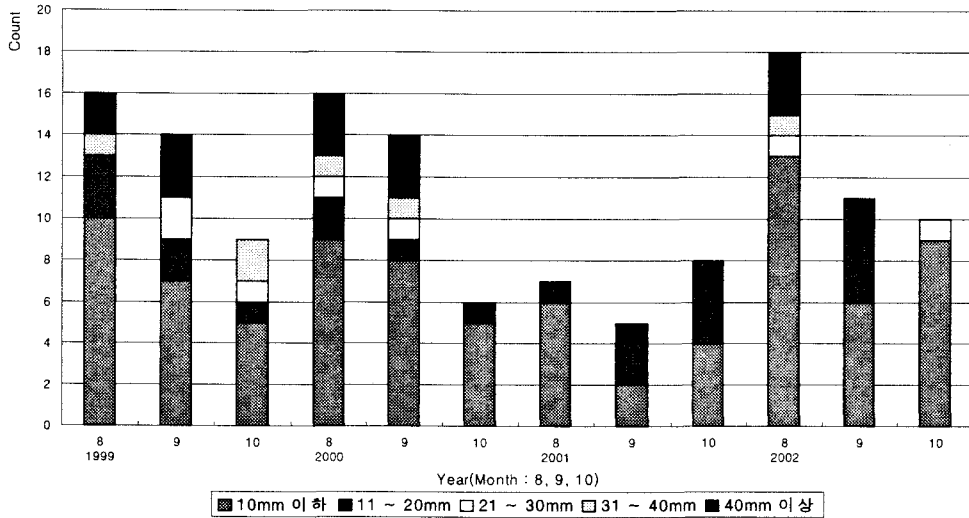


그림 5. 강수량에 따른 월별 강수빈도

토양수분의 영향은 능이 균환의 생장 및 자실체의 생장에 있어서 가장 중요한 인자중의 하나이며 강수에 영향을 받는다.

조사지역의 평균 토양수분은 표 3과 같다. 능이 발생량이 많았던 2000년(영봉)과 2002년(골미) 토양수분은 발생지 평균토양수분은 16.8%(2000년), 14.2%(2002년) 이고, 비발생지 평균토양수분은 19.5%(2000년), 20.4%(2002년)으로 14% 이상의 토양수분을 유지하고 있다. 2001년 영봉지역의 평균토양수분은 15.3% 였으나 경사가 33° 로 급하고 주변에 암석이 많이 분포하는 지형으로 강수에 따른 유입과 유출의 변화가 빠르게 진행되는 현상을 보여주고 있다(그림 2). 박창서 등도(농업기술연구소) 강수후 토양수분의 변화양상을 구명하기 위한 연구에서 토양수분 함량은 경사가 심할수록 작은 경향이 있으나 그 변화의 폭은 컸다고 밝히고 있다. 2001년 골미지역은 가뭄으로 인하여 10% 이하로 낮게 유지되고 있었으며 강수가 능이 발생에 중요한 영향을 미치는 8월과 9월에 거의 없어 능이 발생이 없었다(그림 3).

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

표 3. 조사지역의 평균 토양수분

	2000년(영봉)		2001년(영봉)		2001년(골뫼)		2002년(골뫼)	
	발생지	비발생지	발생지	비발생지	발생지	비발생지	발생지	비발생지
Max.	30.9	33.5	28.2	27.5	17.2	13.9	20.9	26.6
Min.	10.2	12.0	8.1	8.2	8.5	7.1	12.4	17.6
Avr.	16.8	19.5	15.3	16.7	10.9	9.1	14.2	20.4

(2) 대기온도와 지중온도의 영향

2002년 8월 4일(216일) 이후 약 15일간의 지속적인 강수로 인하여 8월 6일(218일)부터 8월 22일(234일)까지 17일간 일최고온도가 25℃ 이하로 유지되었으며 일평균기온은 약 20℃ 전후로 유지되는 기간이었다. 이기간에 능이의 원기가 생성되고 능이의 발생이 시작되었을 것으로 예측되며, 실제로 8월하순부터 활발한 능이의 거래가 이루어지고 있음을 능이 유통조사를 통하여 확인할 수 있었다.

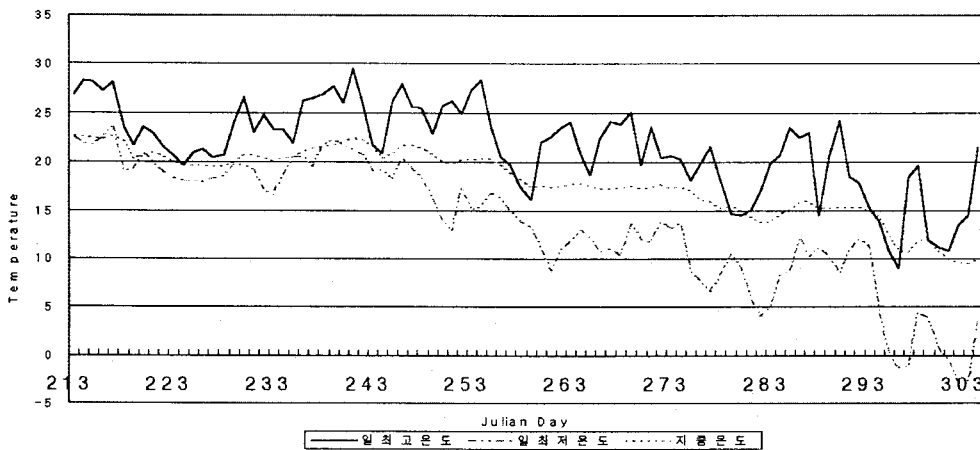


그림 6. 2002년도 온도의 변화(일최고온도, 일최저온도, 지중온도)

하지만 8월 22일(234일)부터 9월 12(255일)까지 일최고기온이 25℃ 이상이 유지되어 능이균사가 고온장해를 입었을것으로 생각되며 이시기에는 지중온도 또

한 20°C 이상을 유지하여 능이의 원기발생에 많은 영향을 미쳤으리라 생각된다. 실제로 25°C 이상의 고온이 유지된 기간에 능이 원기의 생성이 없어서 이후 9월 중순경에서 말까지 능이의 발생량과 유통량이 거의 없음을 현지조사와 능이 유통량 조사를 통하여 확인하였다.

능이 유통량 조사에서 9월 말부터 거래량이 늘어나 10월 초순경에 다시 많은 양의 능이가 거래되었는데 이는 능이가 발생하지 않은 시기(9월 13일 ~ 9월 24일) 전후로 일최고기온이 25°C 아래로 내려가 다시 원기가 생성되고 능이가 발생되기 시작하였으며 10월 초(282일 전후)에 일최고온도는 15°C 이하로 일최저온도는 5°C 이하로 내려가 능이의 발생이 없었다. 이후 최저기온이 10°C 이상으로 오른 10월 중순 이후에 능이 발생지 조사에서 원기가 생성되어 자실체가 발생한 것이 확인되었지만 기온의 급격한 하락으로 더 이상 크지 못하고 고사한 상태로 발견되었다. 이후 10월 21일(294일) 이후로 5°C 이하로 내려가 더 이상의 능이 발생은 없었다.

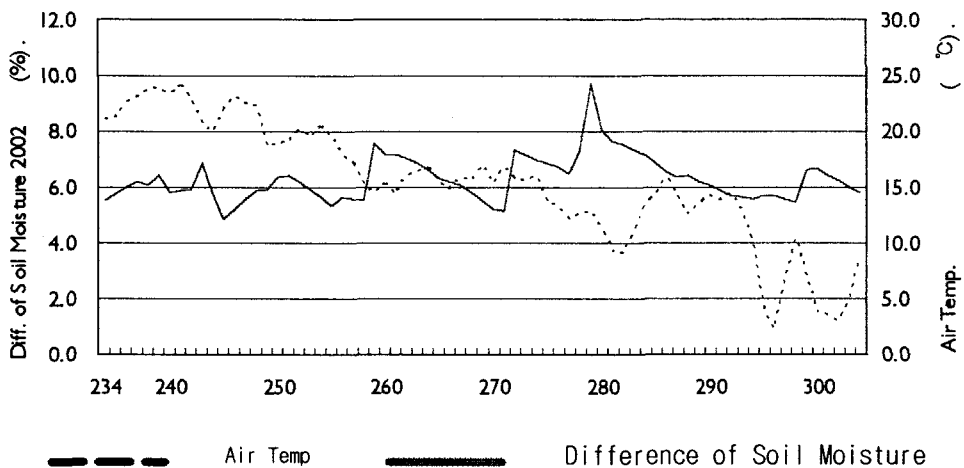


그림 7. 온도변화에 따른 발생지와 비발생지의 토양수분 차이

2000년도의 경우에도 8월 27일(239일)부터 9월 6일(249일)까지 일최고기온이 25°C 이상을 유지하여 2000년도의 능이 유통량 조사에서도 9월초의 능이 생산량

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

이 적어 가격이 높게 유지되고 있음을 알 수 있다(김 등, 2000). 또한 능이 발생의 종료시점은 10월 12일(285일) 이후로 5℃ 이하로 떨어지며 발생량이 거의 없었으며 당시의 유통량 또한 10월 초부터 생산량이 줄어 가격이 점차 높아졌으며 10월 첫주 이후로 생산량이 없어 거래가 없음을 확인하였다.

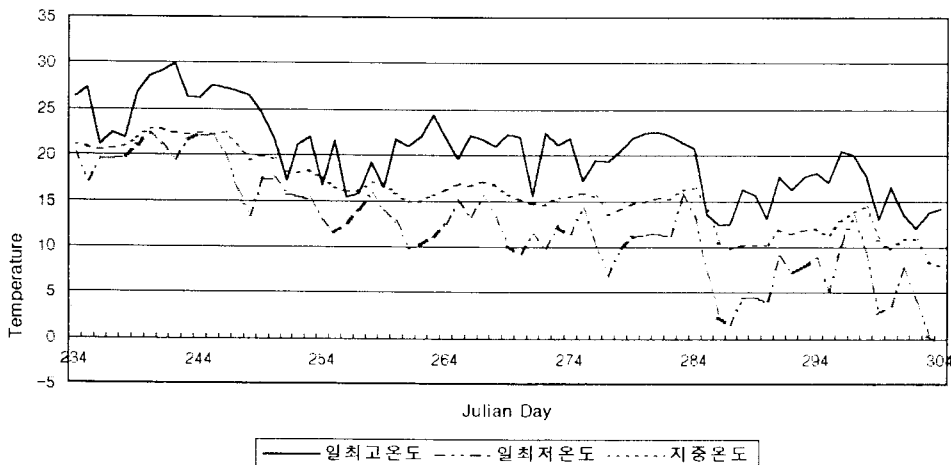


그림 8. 2000년도 온도의 변화(일최고온도, 일최저온도, 지중온도)

따라서 능이발생의 종료시점은 일최저기온에 영향을 받는다고 생각되며 일최저기온 5℃이하 지중온도는 15℃ 이하로 내려가면 능이의 발생이 더 이상 없는 것으로 확인되었다. 비슷한 균근성 버섯인 송이에서도 구창덕(2000)은 월악산 지역에서 10월 16일 이후 5℃ 이하로 낮아지면 송이의 발생이 없었다고 하였으며, 이 등(1999)도 송이증수 및 인공재배 연구에서 최저기온이 12℃ 이상에서 송이가 발생하고 6℃ 이하에서는 휴면에 들어간다고 하였으며 능이에서도 비슷한 경향을 보이고 있다.

본 연구를 통하여 능이의 발생과 관련한 인자들 중에서 토양수분과 기온이 능이의 발생에 얼마나 많은 영향을 미치는지 확인할 수 있었다. 향후 능이의 생장과 발생에 관련한 보다 정확한 온도범위와 토양수분대를 규명하여야하고, 이를 바탕으로 나아가서는 지속적인 능이의 발생과 생산량 증가를 위해서 능이 발생 시작 후에 오는 고온장해를 피하기 위한 지온의 유지와 토양수분의 유지를 위한



적절한 관수 시점의 규명도 필요할 것이다.

## 2) 능이산지 관리 모델

능이 버섯의 생산량은 땅속 능이균의 균체량, 기주식물인 참나무가 공급하는 에너지 그리고 수분과 온도의 환경에 영향을 받는다. 따라서 능이산지 관리 모델은 능이생산을 위한 모델로써 (1) 능이-참나무-환경의 삼각모델과 (2) 토양수분-대기온도-능이생산 모델을 제시한다.

### 가) 능이-참나무-환경의 삼각 모델

능이는 균류, 곰팡이이며 능이균이 포자를 만들 때 형성하는 버섯 즉 자실체를 말한다. 능이버섯 생산을 좌우하는 것은 능이균의 생체량, 기주인 참나무 그리고 능이버섯이 발생하는 환경의 세 조건에 좌우된다 (그림 9). 능이 자실체를 형성하기 위해서 능이균사가 충분히 생장을 하여야하는데, 이에 필요한 것은 에너지원인 탄수화물, 에너지 대사와 팽압 유지에 필요한 물, 그리고 위 두 가지가 제공되는 서식지 땅속 환경이다. 첫째로, 능이는 균근성 버섯으로 필요한 탄수화물을 살아있는 참나무의 뿌리에 공생하여 얻는다. 즉 참나무 뿌리에 절대적으로 공생을 하고 있는 것이다. 그리고 능이는 지속적인 균생장과 버섯발생을 위하여 토양 속의 물과 양분을 이용한다.

결국 능이생산량은 위 세가지 조건에 따라 결정되는 것으로 어느 한가지라도 충족되지 않으면 버섯발생이 없으며, 위 세가지 조건이 충분할수록 버섯생산량이 많게 된다.

능이생산을 많게 하기 위해서는 우선 땅 속에 균사량이 많아야하고, 이 균사량이 증가하기 위해서는 기주식물인 참나무로부터 광합성산물인 탄수화물이 충분히 공급되어야 한다. 즉 참나무의 잎의 양이 많아서 광합성량이 많을수록 능이생산이 많아질 것이다. 참나무의 광합성산물은 뿌리를 통하여 균근을 형성한 능이균사로 공급되므로 참나무의 뿌리량 또한 땅속에 충분히 있어야한다. 이를 위해서는 뿌리가 뻗을 토양이 충분히 깊어서 토양입자의 양이 많을수록 좋다. 토양입자는 N, P, Ca, K, 미량원소 등의 양분을 공급한다.

능이 자실체는 90% 이상이 수분이므로 버섯원기 형성과 이 원기의 지속적인 생장을 위해서는 충분한 수분이 공급되어야한다. 필요한 수분은 토양내 능이균사

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

를 통하여 자실체로 공급되므로, 토양수분 함량이 능이생산량을 좌우하는 직접적인 인자가 된다. 그러므로 능이생산은 토양속의 능이균체량, 기주인 참나무, 토양수분의 세가지 인자를 종합적으로 고려하여야 한다.

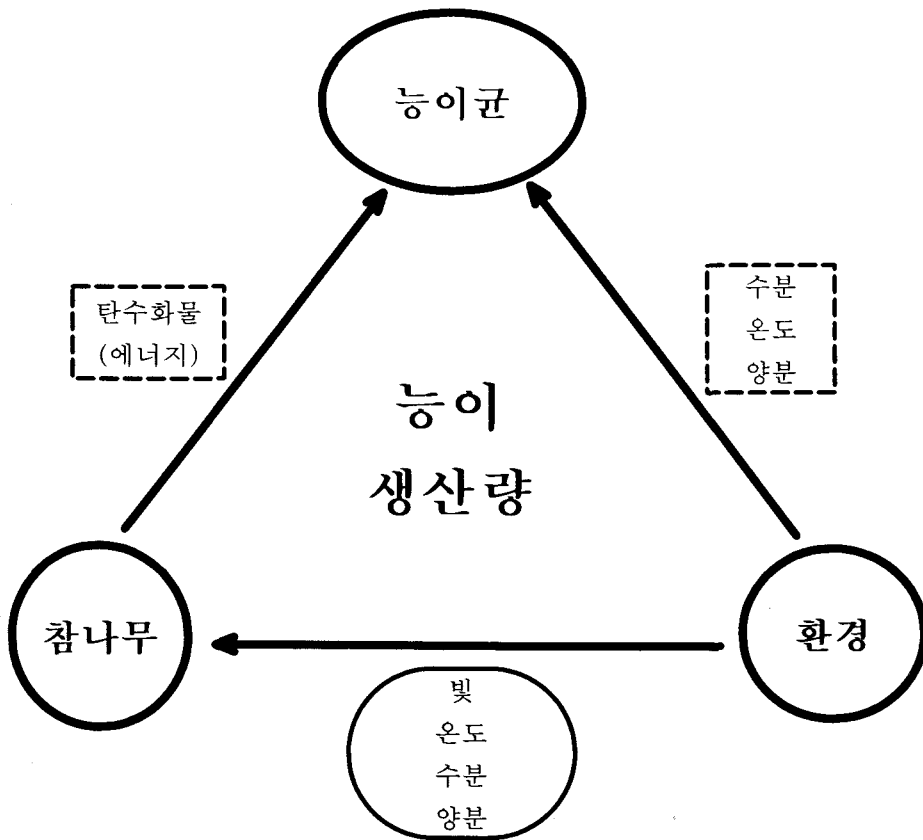


그림 9. 능이-참나무-환경의 삼각모델

**나) 토양수분과 대기온도의 능이 생산 모델**

땅속에 능이균환이 있는 산지에서 능이버섯생산량은 토양수분함량과 대기온도에 결정적으로 좌우된다. 그러므로 그림 10과 같이 능이생산-토양수분-대기온도 모델이 성립될 수 있다. 이에 대한 근본적인 이유로는 토양수분과 대기온도는 직접적으로 참나무의 광합성, 잎으로부터 광합성산물의 이동, 능이버섯의 원기 형성, 형성된 원기의 지속적인 성장에 영향을 미치기 때문이다.

(1) 기주식물인 참나무로부터 탄수화물을 받아야 자라는 능이 균사

토양내 능이균사가 자라기 위해서는 참나무 잎이 광합성으로 생성한 탄수화물 즉 에너지가 뿌리로 내려보내져야 한다. 이 에너지량이 많기 위해서는 참나무의 성장기간이 충분히 길고 그 동안에 토양 수분과 기온이 적당히 높아야 한다. 일반적으로, 생산되는 버섯의 크기와 양은 배지내 균체량 즉 균체의 바이오매스에 의하여 절대적으로 결정된다 (Deacon, 1999). 능이에 대하여는 균체량과 능이발생량간에 관계가 잘 알려져 있지 않으나, 송이의 경우 1개 발생에 필요한 균환의 양은 1,500cm<sup>3</sup> - 2,000cm<sup>3</sup>로 알려져 있다 (小川, 1991). 그러므로 땅속에 뻗어 있는 활성균환의 폭이 넓고 두께가 두꺼울수록 능이 발생량이 많아질 것이다.

(2) 온도 자극이 필요한 버섯 원기의 형성

땅속에 있는 능이 균체량이 충분하여도 균사상태에서 버섯으로 원기형성이 있어야 능이버섯을 볼 수 있게 된다. 송이의 경우에는 이 원기 형성에는 19℃ 이하의 자극온도가 절대적으로 필요하다 (小川, 1991)고 알려져 있다. 능이는 송이보다 이른 시기에 발생하기 시작하므로 원기발생 자극온도는 그 보다 높은 20 - 22℃라고 생각이 된다.

(3) 적절한 온도와 수분이 계속 필요한 능이 원기의 성장

버섯원기는 보통 쌀알 크기에 지나지 않는다. 이 작은 원기가 수확할 만한 크기로 성장하기까지는 약 10만배 이상의 부피생장을 하여야한다. 여기에는 물과 적당한 온도가 필요하다. 송이의 경우 小川(1991)은 형성된 송이원기가 계속 자라서 땅 표면으로 나오기까지의 기간에 최저온도가 15℃ 이상은 되어야 잘 자란다고 하였다. 지표면 위로 올라온 능이원기는 그 후부터는 토양온도보다는 기온

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

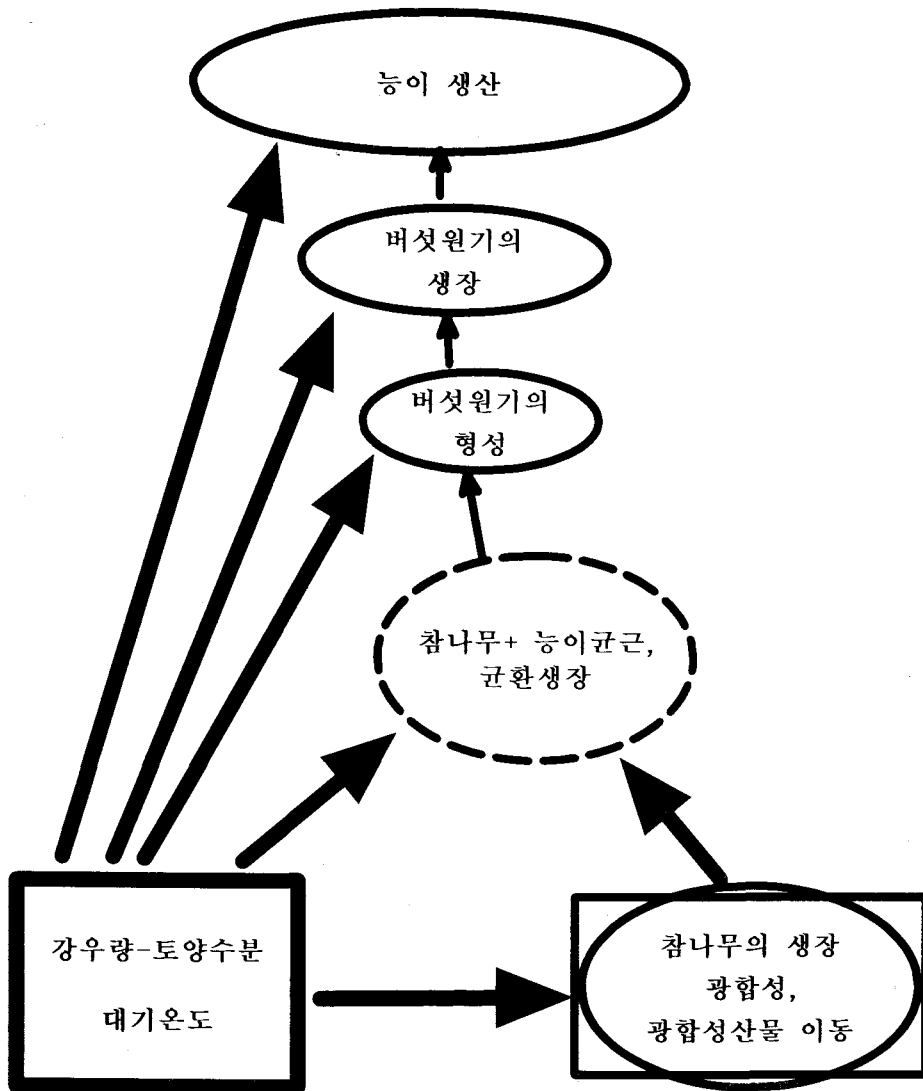


그림 10. 능이생산-토양수분-대기온도 모델

에 영향을 더 크게 받으면서 성장할 것이다. 그래서 능이생산과 기상과의 관계에 대한 이 논문의 모델은 형성된 원기와 함께 눈에 드러난 버섯의 지속적인 성장에는 수분과 온도가 필요함을 더욱 강조한다. 즉 능이 생산량을 결정하는 것은 원기형성과 함께 이 원기의 지속적인 성장을 가능하게 하는 기상인자라는 것이다. 이 기상인자는 충분한 토양수분 위에 적정한 기온이다.

능이생산에 관여하는 인자는 능이 균사체의 생물적 특징, 참나무-능이 공생관계, 토양수분, 토양온도 그리고 대기온도가 모여서 이루는 복합성 그 자체이다. 능이가 생산되려면 먼저 땅속 송이 균환내 균사체가 충분히 성장하여야 한다. 그리고 이 균사체로부터 버섯원기가 형성되고 에너지와 물이 이 원기로 공급되어야 하는데, 이것은 토양온도에 영향을 받을 것이다. 또한 나중에 지표면에 드러난 능이 자실체에서의 생장은 대기의 온도변화에 영향을 받을 것이다.

결국 능이 자실체의 원기형성, 형성된 원기의 지속적인 생장은 독립적으로 그 시기의 강수량과 온도 등에 영향을 깊이 받으므로, 능이 생산은 그 시기인 9월과 10월의 기상에 좌우된다. 능이생산 시기의 온도변화가 능이생산에 중요하게 영향을 끼칠 것이라는 이번 결론은 앞으로의 능이산 관리에 하나의 지표를 제공할 것이라고 생각한다.

#### 4. 결론

우리나라에서 능이(*Sarcodon aspratus*)는 제일가는 버섯으로 알려져 있고, 민간요법에서는 육류체증의 소화제로 쓰인다. 능이 버섯은 참나무류와 외생균근을 형성하고 산림에서 생산된다. 따라서 능이는 중요한 산림소득원이 되므로 이 연구에서는 능이에 대하여 자원 파악, 생태구명, 집중묘 생산, 산지 관리모델 개발을 시도하였다.

우리나라의 능이 생산량은 1999년부터 2001년 기간 동안 강수량 변동에 의하여 크게 차이가 나지만 연간 50-60톤으로 집계되었다. 이 중에서 충북 지역이 13톤이었다. 능이 버섯의 발생지를 이해하기 위하여 토양내 균환의 생태적 특징을 조사하였다. 능이의 서식지는 비교적 수분이 많은 계곡 부위로 주요 수종은 신갈나무, 굴참나무, 상수리나무, 졸참나무이었다. 능이 자실체의 뿌리부위에는 짙은 갈색인 굵고 단단한 균사다발이 땅속의 흰색균사집단에까지 연결되어 있었다. 땅

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

속의 균사집단은 원형, 난형, 부정형, 또는 띠모양이며, 길이가 0.5-15.0m 폭은 24-108 cm, 깊이 2-33 cm 이다. 능이균환은 부식이 거의 없는 광물질 토양내 33 cm 깊이까지 자란다. 이 균사집단은 토양입자, 균사 그리고 능이와 참나무의 균근으로 매우 단단하게 뭉쳐져 있어서 경도는 2.0-5.1kg/cm<sup>2</sup>로 균근이 없는 토양보다 3배 정도 단단하였으며, 토양수분은 15.7 - 21.1%로 능이균이 없는 토양보다 2.0-3.5% 낮았다. 능이균환내 에르고스테롤 함량은 건조토양 g당 17.3 $\mu$ g으로 능이균이 없는 토양의 약 20배 정도 높았다. 능이균근은 솜털모양의 흰색균사로 덮힌 밝은 갈색이며, 균근의 균투두께는 10-25  $\mu$ m, Hartig 망은 2-3개층의 세포층까지 발달하였다. 능이균사는 무색투명하고 뽀뽀하며 표면은 매끈하고 연결 꺾쇠가 있었다.

능이 접종묘를 생산하기 위한 기본연구로 능이자실체로부터 균사조직을 분리 배양하여 시험관에서 상수리묘목에 접종시험한 결과 균근이 형성되지 않아 분리된 균은 능이균사임을 확인할 수 없었다. 자실체 조직에는 녹색 광합성 세균 뿐만 아니라 보고되지 않은 관모양의 간상세균이 서식하고 있었다. 접종원으로서 자실체 조직, 포자 슬러리, 균환토양을 접종하거나, 현지 균환 위에 참나무 종자를 파종한 바, 능이 균근은 단지 현지 균환에서 자라는 묘목에서만 형성되었다. 즉 능이자실체 조직, 포자, 현지에서 분리된 균환토양은 접종원으로서 효과가 없었다.

능이산지 관리 모델에서는 능이생산을 위하여 능이-참나무-환경의 삼각모델을 고려하였다. 능이 발생과 성장을 위하여는 온도가 영향을 미치며 동시에 토양수분은 14% 이상이 효과적 것으로 조사되었다. 앞으로 땅속의 능이 균사집단이 어떻게 시작하여 발달하는 지에 관한 연구가 필요하다고 생각한다.

## 제 2절 능이 생리활성 성분 연구

### 1. 서론

버섯류는 영양성분으로서 식이섬유가 풍부히 함유된 고섬유질 식품으로 평가되고 있으며, 이들이 가지는 미량성분에 의하여 항종양성, 콜레스테롤의 저하 등 생리기능이 계속 해명되면서 그 중요성이 계속 주목받고 있다. 버섯에 포함된 미량성분 가운데 구름버섯으로부터의 Clestine, Mizofirane, 표고버섯에 들어있는 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 Eritadenine (Suzuki and Oshima, 1976), 암세포를 억제시키는 다당체인 Lentinan (Chihara, 1970) 등 의약품으로서 인가된 성분도 있으며, 기타 버섯으로부터 유래되는 항종양성 다당류의 연구보고가 많고, 항바이러스 효과(Yamamura and Cochrane, 1976)를 나타내는 생리활성 물질에 대한 연구도 진행되고 있는 등, 임산버섯의 식용, 약용 버섯은 신약개발의 중요한 천연자원으로 인정되고 있다. 일본의 경우 특히 기능성식품의 중심을 이루는 표고버섯으로부터 추출·정제된 Eritadenine 성분은 오늘날 특정 보건용 식품과 깊은 관계가 있는 미량성분과 생리기능의 과학적 해명이 이루어지면서 당시 일본의 JSD 식품제도를 발족시키는데 결정적 역할을 하였다. 최근 성인병이 늘어나면서 특히 암이나 심장질환이 증가하는 추세에 있는바, 항종양 및 콜레스테롤의 저하작용을 가지는 버섯의 기능성성분에 관한 이용이 새로이 주목을 받고 있다.

산림에서 나는 식용버섯으로 능이(향버섯, *Sarcodon aspratus*)는 참나루 수종의 뿌리와 공생하여 나는 버섯으로 균근성이며 아직 인공재배법은 알려지지 않고 있다. 인공재배가 불가능한 이들 버섯의 재배를 위해서 기주식물에 균을 접종하여 직접 묘포장이나 임지에서 재배가 시도되고 있다. 능이버섯은 일명 향버섯이라 불릴 만큼 향이 우수하며 건조시에 특히 강한 향이 생성되는 등 우수한 향으로 각광받고 있으나 향에 대한 연구는 아주 미흡한 실정에 있다. 능이는 향기와 맛이 기막히게 좋고 한방과 민간요법에서 육류의 소화제로 알려져 있으므로 한국 고유의 고급식품 문화발달에 기여할 것으로 생각된다. 능이버섯은 학명이 *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito로 분류학상 민주름목 (Aphyllphorales), 굴뚝버섯과

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

(Thelephoraceae), 노루털버섯속 (Sarcodon) 에 속하는 담자균(Basidiomycetes)이다. 높이가 10-20 cm로 나팔꽃처럼 편 갈래기 모양이고, 균모는 지름 10-20 cm이며 중심부는 줄기의 기부까지 깊숙이 뚫려 있다. 표면에는 거칠고 뒤집혀진 각모양의 인편이 밀생한다. 전체가 분홍색, 담갈색에서 홍갈색, 흑갈색을 거쳐 건조하면 흑색이 된다. 하면의 침은 길이 1cm 이상으로 자루의 아래까지 있으며 자루는 길이 3-6 cm로 표면은 매끄럽고 균모보다 담색이고 포자는 지름 5-6  $\mu\text{m}$ 로 아구형, 담갈색이며 사마귀가 있다. 건조하면 강한 향기가 나는 식용균으로 여름에서 가을 사이에 활엽수림내 땅위에 열을 지어 군생하며 한국과 일본에 분포하고 있다(Lee, 1988). 능이버섯은 오래 전부터 우리나라에서 식용되어 온 버섯으로 한방에서는 육류를 먹고 체할 때 탕약으로 사용되어 왔다(Park, 1991).

노루털 버섯속(Sarcodon)에 속하는 버섯으로 수행한 실험은 동맥경화증에 미치는 영향을 조사한 것(Ryong 등, 1989)과 *Sarcodon leucopus*에서 항생물질을 추출해 낸 실험(Tringali 등, 1987)이 있으며, 능이버섯 자체로 하여 연구한 것으로는 능이버섯을 메탄올로 냉침 하여 얻은 추출액으로 항암효과를 조사한 것(Maruyuma, 1989)이외에는 진행된 것이 없다.

단백질 분해효소는 효소의 활성 부위에 따라 serine, cystein, aspartic, metallo protease로 구분하며(Neurath 등, 1989) 세포 내에 존재하는 것과 세포 외로 분비되는 것으로 나눌 수 있다. 세포내 존재하는 단백질 분해 효소는 비정상적인 단백질의 분해, 타단백질의 성숙, 타단백질 분비, 그리고 역할단백질을 불활성화하는 등에 역할을 담당하며, 세포외로 분비되는 단백질 분해효소는 세포외에 존재하는 고분자 물질을 저분자 물질로 분해하여 세포내 흡수를 용이토록 하는 역할을 담당하고 있다.

균류는 일반적으로 단백질 분해 효소를 합성하여 세포 외로 분비하는 것으로 알려져 있으며 (Moriyama, 1974) *Conidibolus* (Srinivasan 등, 1983), *Phanerochaete chrysosporium* (Dosoretz 등, 1990), *Thermomyces lanuginosus* (Hasnain 등, 1992), *Beauveria bassiana* (Bidochka 등, 1994; Shimizu 등, 1993), 그리고 *Mucor pusillus* (Mashaly 등, 1987) 등 병원성을 일으키는 균류의 세포외 단백질 분해효소에 대한 연구가 진행된 바가 있는데, 이 단백질 분해효소가 주로 곤충 (Cole 등, 1993; Lopez 등, 1992; Dean 등, 1983; Boucian 등, 1987)이나 식물(Sharma, 1984; Robertsen, 1984)의 외피를 분해하여 균이 숙주에 침투 할



수 있도록 하는 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. 그러나 버섯에서 추출해 낸 단백질 분해효소에 대해서는 연구된 바가 거의 없으며 또한 이들의 역할에 대해서도 알려진 바가 없다.

특히 호온성과 고온에서 안정성을 갖는 단백질 분해효소는 *Bacillus stearothermophilus* (Dhandapani 등, 1994), *Thermoactinomyces* (Tsuchiya 등, 1993), *Thermus aquaticus* (Matsuzawa 등, 1987), 그리고 *Sulfolobus acidocaldarius* (Fusek 등, 1990)와 같이 고온의 환경에서 생존하는 호온성세균에서 얻는 것이 대부분인데 이러한 단백질 분해효소로는 thermopain (Fusek 등, 1992), aqualysin I, II (Matsuzawa 등, 1983), caldolyisin (Taguchi 등, 1983) 등이 있다. 이러한 단백질 분해효소의 열 안정성에 대한 학문적인 관심도 많이 있으며 생물공학의 응용차원에서 이들의 가치가 높게 평가되고 있다. 단백질 분해효소는 미생물을 배양하거나, 파파야 등의 열매, 동물의 위나 췌장에서 추출하여 제조하며 간장제조, 제과 생선 및 육류가공등의 식품산업과 세제에 사용되며, 의약용으로는 소화제, 소염제로 사용되는 등 다양한 용도로 사용되며 전체 효소 중에서 가장 많은 양이 사용되고 있다.

본 연구에서는 능이가 포함하고 있는 각종 생리활성 성분을 분석, 화학구조를 구명하기 위하여 실시하였다. 아울러 능이버섯으로부터 분리한 protease의 효소적 특성을 분석하고, 이 효소의 고기연육 및 식품첨가시 색깔변화에 미치는 영향을 알고자 하였다. 마지막으로 버섯균의 액체배양을 통한 protease 효소의 생산최적 조건을 구명코자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 1. 버섯수집 및 준비

1999년 10월 월악산 충북대 연습림 및 청주시 농협 물류센터에서 구입한 능이(향버섯, *Sarcodon aspratus*)를 건조시킨다음 4℃에서 저온저장하여 공시하였다. 일부 버섯은 소금에 절인상태에서 보관하였다.

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

### 2. 조성분의 분석

#### 가. 벼싯이 함유하는 무기성분

시료를 세단하여 증류수로 잘세척후 150℃의 oven에서 항량이 될 때까지 건조시켰다. 이를 백금도가니에 넣고 회화로에 넣어서 500±25℃에서 8시간동안 회화시킨다음, 최종적으로 700℃까지 올려 다시 2시간 더 화화시켰다. 이 회분에 10N HCl 10ml를 가하고 hot plate에서 1시간동안 용해시키고 산용액(2%HNO<sub>3</sub> + 6% HCl)을 가하여 100ml로 한후 원자흡광분석기를 사용하여 흡광도를 측정, 표준용액의 흡광도로부터 구한 검량선에 따라 시료중의 농도를 계산하였다. 측정시 각각 다른 파장(Ca 318nm, Mg 285nm, Fe 238nm, Cu 325nm, Zn 214nm, Mn 279nm, Pb 257nm, Na 589nm)에서 측정하였다.

#### 나. 능이의 용매추출특성

##### 1) 열수추출

시료분말 100g에 증류수 1,000ml를 가한다음, 80-90℃에서 8시간 추출을 행하였다. 이 추출물을 cellulose acetate 투석막에 넣어 4℃에서 증류수 3,000ml를 사용, 2시간투석하는 조작을 7회반복후, 감압농축하여 10℃에서 6000G로 40분간 원심분리후, 상등액을 냉동건조시켜 분말시료를 얻었다.

polysaccharide fraction의 분석은 Carney(1986) 및 Cho(1988)등의 방법으로 실시하였는바, 시료액 2ml에 anthrone시약 200mg을 무수알코올 5ml에 녹인후, 75% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 가하여 100ml로 한다음, glucose 표준용액에 대한 정색반응을 시켰다. 반응후 625nm에서 흡광도를 측정하여 glucose의 표준곡선의 결과로부터 당함량을 정량하였다. 총단백질량은 Folin's phenol reagent (Lowry et al., 1951)를 사용하여 750nm에서 흡광도를 측정하고, albumin을 표준시료로하여 만든 검량선으로 단백질함량을 계산하였다.

##### 2) 알코올 추출

건조시킨 능이분말 5g을 75% ethanol 50ml에 넣고 waterbath에서

30분간 3회추출, ethylether 로 탈지시킨다음, 농축시켜 유리아미노산시료로 하였다. 총아미노산함량은 버섯 1g에 6N-HCl 60ml 을 가하고 110℃에서 20시간 가수분해시킨후, 감압.농축시켜 0.02N HCl용액으로 희석시켜 Amino Acid Analyzer(Hitachi, 835)로 분석하였다.

### 3. Glycoprotein의 추출 및 정제

시료에 10배량의 증류수를 가하고 100℃에서 3시간 동안 추출한 후, 3,000G에서 20분간 원심분리하여 그 상등액을 여과하였다. 여과액을 감압농축기로 10분의 1용량으로 농축시킨 다음, 3배량의 ethanol을 가하여 4℃에서 하루밤 방치하였다. 이때 30, 50, 70 및 90% ethanol로 ethanol 농도별 침전물의 수율을 비교하였다. 생성된 침전물을 5,000G에서 30분간 원심분리하여 회수하고 이를 소량의 증류수에 녹여 다시 3,000G에서 20분간 원심분리하여 불용성 불순물을 제거하였다. 이를 증류수에 넣어 24시간 투석한 다음 동결건조시켜 조당단백질을 분리하였다.

### 4. 능이버섯의 Protease 활성

#### 가. 조Protease효소의 추출

시료를 준비하여 동결시킨 버섯 10kg에 0.1M의 McIlvaine buffer (pH 5.0)을 가하고, 믹서로 분쇄하여 원심분리(15,000rpm, 30분)한다음, 그 상등액을 조효소추출액으로 사용하였다. 이 조효소액을 감압증발기를 사용하여 약 1/4의 용량으로 농축한 다음, 포화도 0.8의 황산암모늄을 가하여 단백질부분을 침전시켰다. 침전물을 증류수에 현탁시켜 visking tube에 넣어 투석을 행하였으며, 이를 농축하여 공시재료로 사용하였다.

#### 나. 조Protease효소활성의 측정

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

소정량의 조효소추출액 시료에 대한 효소의 활성은 시료를 0.1M의 McIlvaine buffer (pH 4.0)에 녹여 1%용액으로 하여, Casein-Folin 법을 사용, 660nm에서 측정하였다.

### 다. Protease 의 정제

자실체 10kg으로부터 얻은 조효소액 6리터를 35℃, 감압하에서 약 4배로 농축하고 이 농축액에 0.8로 포화된 황산암모늄을 가하여 염석.투석한다음, carboxymethyl cellulose column (pH 3.8)을 통과시켜 이에 흡착되지않는 부분을 모아서 DEAE-Sephadex A-50을 사용하는 column chromatography (pH 6.2)를 행하여 활성을 나타내는 fraction을 모았다. 이 용리액을 한외여과장치로 농축시키고, Sephadex G-75를 사용, Gel Permeation Chromatography (Column 내경 1.5 x 90cm, pH 4.0)를 행하였으며, 나아가서 초점전기영동 (ampholine을 포함하는 LKB column, pH 3.5 - 6, 4℃, 300V, 48시간)을 하여 효소를 단리하였다.

### 라. Protease의 특성

조 Protease 및 정제된 protease 의 pH, 온도, 기질농도등에 대한 활성변화 등 효소의 특성을 조사하였다. 이 효소의 분자량은 Sodium dodesyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)는 Novex Mini-Gel Kit 를 사용하였으며 15% 또는 4-20%의 농도의 젤을 이용하여 Laemmli(1970)방법에 따라 수행하였다. 온도가 높아짐에 따라 효소의 자가분해능을 나타내며 이로 인해 효소의 활성저해제인 PMSF(phenylmethanesulfonyl fluoride) 0.1  $\mu$ g을 첨가한 상태로 100 ℃에서 5분간 중탕하여 시료를 준비하였다. 단백질의 띠는 Commassie brilliant blue R-250(Sigma)로 염색하여 확인하였고 표준 단백질으로는 phophorylase b(94 kDa), bovine serum albumin(67 kDa), ovalbumin(43 kDa), carbonic anhydrase(30 kDa), trypsin inhibitor(20.1 kDa),  $\alpha$ -lactalbumin(14.4 kDa) (Pharmacia)을 사용하였다.

## 5. Protease의 활용

### 가. 공시재료

본 실험에 사용한 연육시험용 쇠고기는 청주시 농협 하나로마트 식육판매점에서 구입한 한우고기를 냉동저장하여 사용하였으며, 연육처리효과를 비교하기 위한 대조구로서 설탕은 농협 하나로마트에서 제일제당(주)의 정백당을, 단백질분해효소로서 Sigma사의 Papain (4,400 unit/g)을 구입하여 사용하였다. 연화용 버섯시료 및 protease효소의 준비를 위하여 청주시 농협 물류센터에서 구입한 능이(향버섯, *Sarcodon aspratus*)버섯을 건조, 분쇄하여 20-40 메쉬의 크기로 분별한 분말 및 능이버섯으로부터 분리, 정제한 protease를 연육용시료로 사용하였다.

### 나. 고기의 연화처리 및 물성의 측정

공시한 쇠고기를 길이 15 mm, 폭 5 mm, 두께 2 mm 되도록 잘라서 능이버섯분말을 중량의 5%, 능이버섯의 protease효소를 0.5% 가하고 25℃에서 60분간 반응시켰다. 대조구로서 설탕 5%, papain 0.5%, 그리고 쇠고기만을 사용하였다. 처리시료의 수분함량은 AOAC의 방법(19)에 의거 구한 수분으로부터 보수력을 측정하였다.

처리시료의 연화정도를 측정하기 위하여 Rheometer (Sun Rheometer, Compac-100, Japan)를 사용, Load cell 하중 1 kg, 시료길이 15mm, 측정속도 2 mm/sec.로 5회 측정, 평균값을 계산하여 경도를 구하였다.

처리시료의 색깔에 미치는 연육효과를 보기 위하여 Color meter (Minolta, CM3400, Japan)을 사용하여 Hunter 식 색도로 나타냈는데, 명도(Lightness, L), 적색도(Redness, a), 황색도(Yellowness, b),  $\Delta E$  값으로 표시하였다.

## 6. Protease의 생산을 위한 최적 배양조건과 효소특성

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

### 가. 공시균

Protease 생산을 위한 공시균으로서 표고버섯균(*Lentinula edodes*)를 사용하였다.

### 나. 배지 재료

접종용 배지로서는 콩가루(Soybean flour, SBF), 옥수수가루(Corn flour, CF), 카제인(Casein, C), 소맥분(Wheat flour, WF), 밀기울(Wheat bran, WB) 및 증류수(W)를 이용하여 조제하였으며, 생산용배지로서는 밀기울:옥수수가루:증류수 = 10:1:10으로 혼합하여 사용하였다.

### 다. 최적 배양조건

공시균은 접종용 배지에 접종하여 27℃에서 16시간 배양하고, 이를 다시 PDA배지로 옮겨 27℃에서 7일간 배양한 다음, 배양용기에 무균의 식염수를 가하여 포자를 모아 생산용배지에 접종하여 27℃, pH 4.0의 조건에서 96시간 진탕배양 (300±20rpm) 하였다.

### 라. Protease 의 효소적 특성

소정량의 조효소추출액 시료에 대한 효소의 활성은 시료를 0.1M의 McIlvaine buffer (pH 4.0)에 녹여 1%용액으로 하여, Casein-Folin 법을 사용, 660nm에서 측정하였다. Protease 1 unit 는 pH 4, 37℃에서 1ml의 효소용액에 의해 casein으로부터 유리되는 1μg의 tyrosine 이 유리되는 양으로 하였다. 효소의 분자량은 Sephadex G-75 컬럼크로마토그래피로 측정하였으며, 적정 pH 및 온도안정성을 조사하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 1) 조성분의 분석

##### 가. 버섯이 함유하는 무기성분

Table 1. Contents of minerals in Neungi mushroom.

Mineral	Contents, ppm
Ca	82.5
Mg	10.4
Zn	3.95
Mn	2.47
Fe	7.08
Cu	1.89
Pb	0.05
Na	26.3

능이버섯(향버섯, *Sarcodon aspratus*)의 회분함량은 1.48%였으며 이들중에 함유된 무기성분은 Table 1에 나타낸바와 같다. 성분가운데 Ca의 함량이 82.5ppm으로서 가장 높았으며, 다음이 Na으로서 26.3ppm, Mg 10.4ppm, Fe 7.08ppm의 순이었으며, Zn, Mn, Cu도 함유되어 있었고, Pb 는 0.05 ppm으로서 가장 소량 함유되어 있었다.

##### 나. 버섯이 함유하는 당 및 단백질 함량

Table 2는 열수추출물중의 당함량 및 총 단백질함량을 측정한 결과로서, 당함량은 54%였으며, 총단백질은 32.6%를 나타냈다.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

Table 2. Polysaccharides and protein contents in hot-wated extracts.

L/I	Contents
Polysaccharide fraction	54.0
Total protein	32.6

Table 3. Free and total amono acids in Neungi mushroom.

Amono acids	Free, mg/g	Total, mg/g
aspartic acid	0.71	15.5
threonine	0.45	12.6
serine	0.68	15.0
glutamic acid	6.08	21.7
proline	-	trace
glysine	0.51	10.8
alanine	2.09	9.82
cystine	-	2.11
valine	0.71	10.5
methionine	0.44	0.56
isoleucine	0.61	10.2
leucine	0.79	13.7
tyrosine	-	0.08
phenylalanine	0.25	4.55
lysine	0.71	10.9
arginine	1.53	6.73
histidine	0.21	4.88

Table 3은 능이버섯중의 유리아미노산 및 총아미노산 함량은 측정된 결과로서, 알코올추출물중의 아미노산으로서는 총 14종의 아미노산이 검출되었으며, glutamic acid가 6.08mg으로서 가장 많았으며, alanine 과 arginine이 그 다음으로 많이 들어 있었다. proline, cystine, tyrosine 등은



검출되지 않았다. 산가수분해물중에 함유된 아미노산은 15종이었으며, 그 가운데 glutamic acid 가 21.7mg으로서 가장 많았고, aspartic acid, serine, threonine 등이 그 다음으로 많이 함유되어 있었다.

## 2) Glycoprotein의 성상

### 가. 조 당단백질의 수율 및 성상

에틸알코올의 농도에 따른 glycoprotein의 수율은 Table 4에서 보는 바와 같이 농도 30%일 때 0.50g 이었으며, 농도가 점차 증가됨에 따라 그 수율이 증가하여 에틸알코올 농도 95%일 때 3.32g으로서 수율이 증가하는 결과를 나타냈다.

Table. 4. Yield of crude glycoprotein by ethanol precipitation.

Glycoprotein Fraction GP	Ethanol concentration, %			
	30	50	70	95
Yield, g	0.50	1.21	2.15	3.32

침전에 사용된 에틸알코올의 농도에 따른 total sugar 및 총단백질함량은 Table 5에서 보는 바와 같이 30% 에틸알코올로 침전시켰을 때, 총당의 함량이 95.1%로 가장 높았으며, 에틸알코올 농도가 높아감에 따라 당함량이 점차 낮아지는 것으로 나타났으며, 95% 에틸알코올로 침전시켰을 때 총당의 함량이 가장 높았다. 침전물중에는 glycoprotein이외에 단순 다당류 및 단순단백질도 함유되어 있다고 볼 수 있다.

Table. 5. Sugar and protein contents of crude glycoprotein.

Contents, %	Ethanol concentration, %			
	30	50	70	95
Total sugar	95.1	92.8	92.7	70.6
Protein	n.d.	n.d.	n.d.	6.8

\* n.d. : not detected

#### 나. 당단백질의 분리와 정제

열수추출-에틸알코올 침전을 거쳐 조제된 조 glycoprotein (GP), 이를 박막여과, ion exchange chromatography 및 gel filtration을 이용하여 분리정제한 분자량 30만 이상의 분획 (P), 이 30만 이상의 고분자부분을 DEAE-Sephadex A-50 컬럼을 사용, DEAE-Sephadex에 흡착되지 않는 분획(P1)과 P1을 다시 10mM sodium phosphate (pH 7.0)에 녹여 상등액을 Sepharose 2B로 젤여과하여 얻은 부분(P2) 등 2종의 glycoprotein 분획을 얻을 수 있었으며, 이들중에 함유된 총 당함량과 단백질함량을 Table 6에 나타냈다 glycoprotein의 정제과정에서 당의 함량이 증가되는 것으로 나타났으며 총단백질의 함량은 감소하는 것으로 나타났다.

Table 6. Sugar and protein contents of each fraction isolated from fruitbody of *Sarcodon aspratus*.

Fraction	Total sugar, %	Protein, %
GP(CB)	70.5	6.5
P(B)	81.4	22.4
P1(B-1)	84.6	6.8
P2(B-1-B)	90.1	1.1

## 다. 단백질다당류의 분자량 및 단당류 조성

Table 7. Carbohydrate composition of various fractions from fruit bodies.

Fraction	Fucose	Galactose	Glucose	Mannose
GP(CB)	2.21	5.69	82.5	0.11
P2(B1B)	22.5	7.42	70.8	n.d.
P3(B2B)	6.7	27.33	20.7	45.8

\* n.d.: not detected.

중성 다당류에 해당되는 P2의 분자량은 60만이상으로 나타났으며, 조 glycoprotein (GP)를 박막여과, 이를 박막여과, ion exchange chromatography 및 gel filtration을 이용하여 분리정제한 분자량 30만 이상의 고분자부분을 DEAE-Sephadex A-50 컬럼을 사용, DEAE-Sephadex에 흡착되지 않는 분획(P1)을 다시 10mM sodium phosphate (pH 7.0)에 녹여 상등액을 Sepharose 2B로 젤여과하여 얻은 부분(P2), ion exchange chromatography 및 gel filtration을 이용하여 분리정제한 분자량 30만 이상의 분획(P)을 DEAE-Sephadex A-50 컬럼을 사용, DEAE-Sephadex에 흡착되는 부분(P3)에 대하여 단당류의 조성을 분석한 결과는 Table 7과 같다. GP 및 P3에서 glucose, galactose, mannose, fucose 등 4종의 당이 검출되었으며, P2에서는 mannose 가 검출되지 않았다.

Table 8. Amino acid composition of protein fraction of each fraction.

Amino acid	GP	P2	P3
aspartic acid	8.14	8.85	14.8
glutamic acid	12.0	12.8	20.1
serine	10.8	9.88	10.3
glycine	9.22	9.74	14.9
histidine	3.77	1.45	2.11
arginine, threonine	6.73	5.51	5.72
alanine	12.0	12.8	7.63
proline	7.61	6.81	1.39
tyrosine	3.74	3.81	0.97
valine	7.51	6.79	5.11
methionine	2.36	2.33	0.51
cystine	0.85	n.d.	3.29
isoleucine	4.55	9.75	2.25
leucine	5.84	5.41	4.51
phenylalanine	3.21	2.76	1.60
lysine	2.35	1.30	4.38

열수추출-에틸알코올 침전에 의하여 분리한 glycoprotein의 각 fraction에 대하여 아미노산을 분석한 결과, Table 8에서 보는 바와 같이 조단백다당류인 GP는 glutamate, serine, alanine 등이 고농도로 검출되었으며, P3분획에서는 aspartate, glutamate, glycine 이 고농도로 함유되어 있었다. 한편 중성 다당류로서 분획된 P2 fraction의 경우는 glutamate, alanine 이 비교적 다량 함유되었으며, cysteine은 거의 확인되지 않았다.

### 3) 능이버섯의 Protease 활성

#### 가. Protease의 분리 및 정제

자실체 6리터로부터 6단계의 정제단계를 거쳐 정제하여 Table 9와 같은

결과를 얻었다. 정제가 진행되어감에 따라 protease의 총활성은 감소하였으나 비활성은 점차 증가하였다. 황산암모늄의 탈염만으로도 비활성은 2.62배 증가하였으며, CMC column처리로 17배, DEAE- Sephadex A-50 column처리로 113.8배의 활성증가를 나타냈다. 나아가서 Sephadex G-75 column 처리로 728.3배로 증가됨을 알 수 있었다.

Table 9. Purification of protease in fruit body of *Sarcodon aspratus*.

Procedure	Volume ml	Total protein A <sub>280</sub>	Total protease U	Specific activity U/A <sub>280</sub>	Yield %
Homogenates	6,000	210,000	88,230	0.42	100
Concentration (35°C)	1,600	195,000	87,750	0.45	91
Desalting [0.8 sat. (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	145	42,100	46,300	1.10	58
CMC column (pH 3.8)	160	3850	27,500	7.14	35
DEAE-Sephadex A-50 column	150	410	19,600	47.81	24
Sephadex G-75 (pH 4.0)	85	42.5	13,000	305.9	16
EF chromatography a)	10	5.1	6,480	1,270.6	8
b)	5	2.2	3,010	1,368.2	3.5

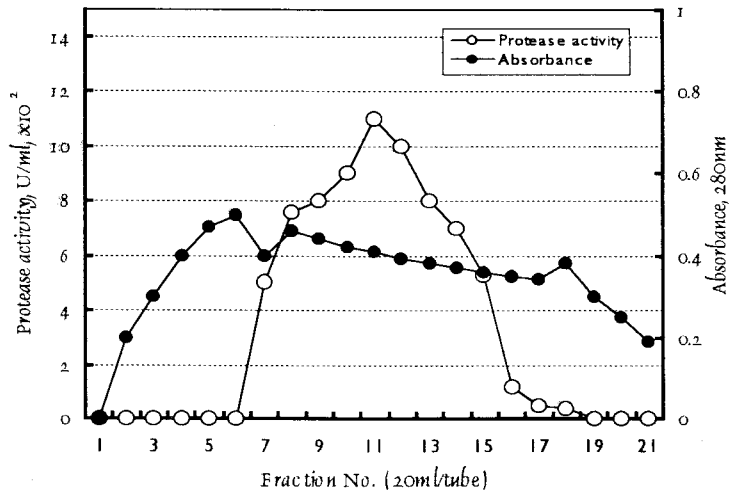


Fig. 1. Column chromatography of protease on a DEAE-Cellulose column.

능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

Fig. 1은 DEAE-Cellulose column처리에 의한 protease의 활성을 나타낸 결과인데, 단백질 fraction의 활성은 전체 분획영역에 걸쳐 매우 넓은 분포를 가졌으며, protease활성은 120ml 로부터 320ml 사이에 유지하고 있었다.

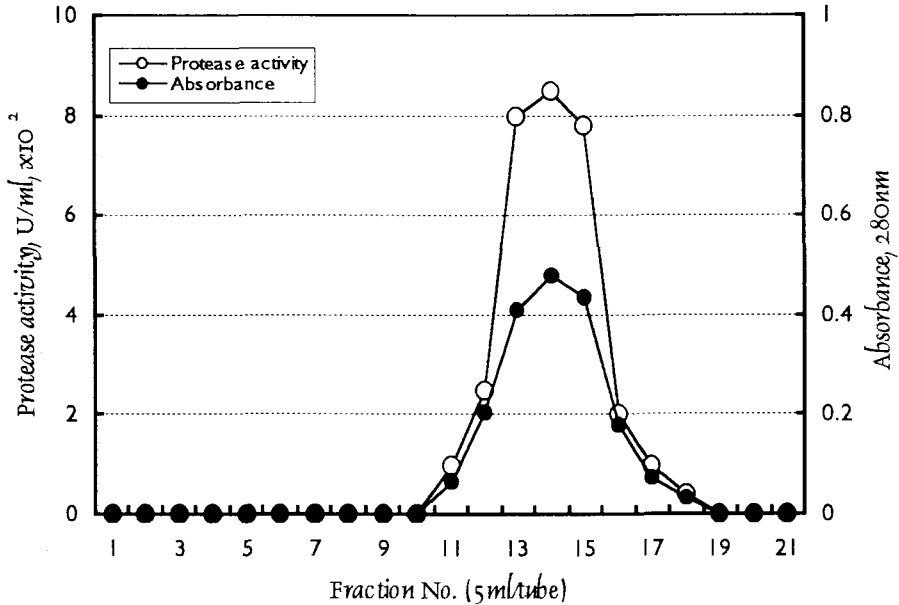


Fig. 2. Column chromatography of protease on Sephadex G-75.

Fig. 2는 상기 용리액을 다시 Sephadex G-75 column으로 정제한 것으로서 단백질의 활성과 protease의 활성이 매우 잘 일치하였다.

능이버섯의 자실체에는 어떠한 protease가 존재할것인가를 알기위하여 각종 pH의 0.1M McIlvaine 완충용액에 casein 및 hemoglobin을 각각 용해시킨 것을 기질로하여 기질농도 1%에서 효소의 검색을 실시하였으며, 그 결과 최적 pH 3.5 부근 및 최적 pH 7.0부근의 2종류의 protease 가 있음을 알 수 있었다.

Fig. 3은 기질을 달리한 protease의 활성을 상이한 pH에서 측정한 결과이다.

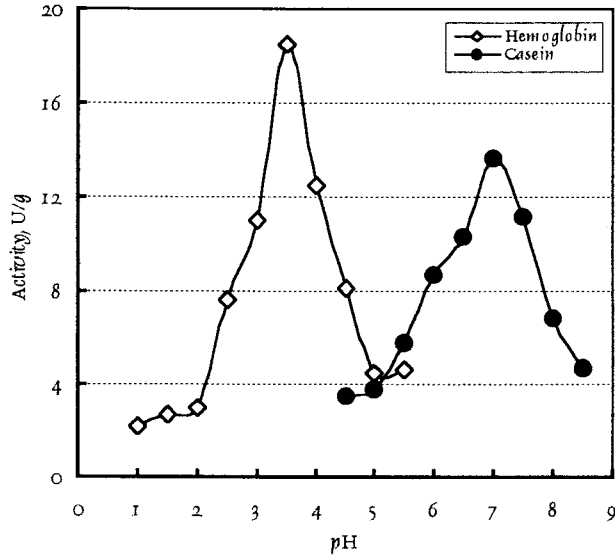


Fig. 3. pH - protease activity curves of fruitbody extracts of *Sarcodon aspratus*.

나. 능이버섯균이 생산하는 protease

능이버섯의 균질현탁액을 CMC column, DEAE-Sephadex A-50 column 및 Sephadex G-75로 정제한 다음, 최적 pH 3.5 부근의 protease를 사용하여 ampholine을 포함하는 LKB column으로, pH 3.5 - 6, 4°C, 300V 전압조건으로 48시간 초점전기영동을 수행하여 Fig. 4에서 보는 바와 같이 pH 4.35 및 pH 4.7의 등전점을 달리하는 protease 가 있음을 확인하였다. 아울러 Table 9에서 보는 바와 같이 정제결과 이들의 회수율이 등전점 4.35(a)가 8%, 4.70(b)이 3.5%였으며, 이들 fraction 의 비활성은 각각 3,025배 및 3,257배로 상승하였다. 이들 효소들은 등전점만 다를 뿐, 효소적 특성이 거의 동일하였다.

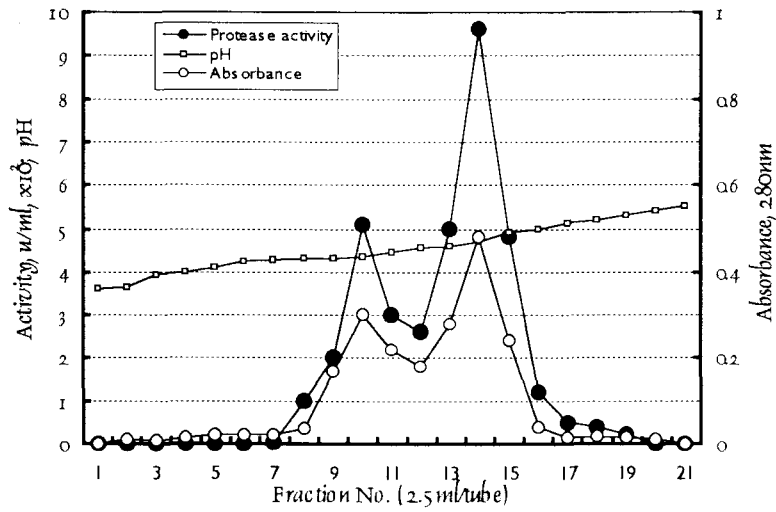


Fig. 4. Isoelectric focusing pattern of protease in fruitbody extracts of *Sarcodon aspratus*.

다. Protease의 효소적 특성

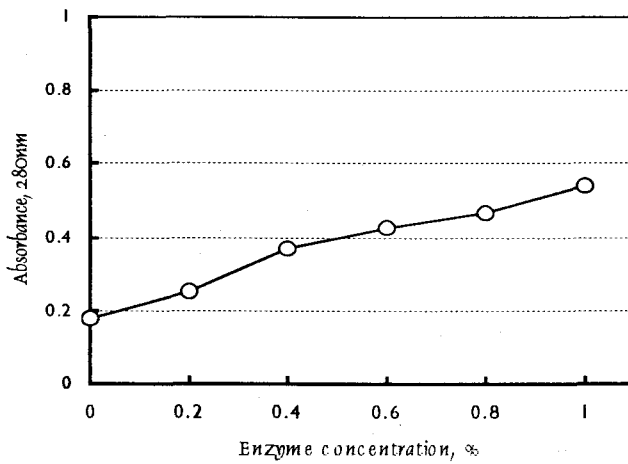


Fig. 5. Effect of enzyme concentration on protease activity.



Fig. 5 는 pH 4.0의 McIlvaine 완충액으로 일정하게 희석한 시료용액에 casein 기질용액을 가하여 37℃에서 60분간 반응시키고 그 흡광도를 측정할 결과이다. 이 결과로부터 효소의 농도가 0.5% 이상이 되면 흡광도와 효소농도가 비례하지 아니하므로 효소의 농도를 0.4% 이하로 하여 효소의 활성을 측정하였다.

4-20%의 polyacrylamide 겔로 전기영동을 한 결과 단일띠 만이 관찰되었는데 이로써 효소가 순수 분리되었음을 확인할 수 있었다. 표준단백질을 이용하여 분자량을 산출한 결과, 효소가 약 43 kDa의 분자량을 갖는 단백질임을 알 수 있었다. Polyacrylamide 겔에 시료를 얹기 전에 효소를 sample buffer와 섞어 100 ℃에서 중탕하는 단계에서 효소의 자가분해성으로 인해 효소 스스로가 분해되어 겔상에서 약 10여개의 띠로 나타나는 것을 관찰 할 수 있었는데, 효소를 sample buffer에 넣어 중탕할 때 효소활성 저해제인 PMSF 0.1  $\mu$ g 을 첨가하여 효소의 활성을 저해시킬 경우 자가분해가 일어나지 않게 되어 겔상에서 단일띠만이 나타났다. 이러한 이유로 전기영동 수행시에 시료는 효소와 sample buffer에 PMSF를 넣은 상태에서 중탕하여 준비하였다. 효소의 최대활성을 보이는 온도인 65 ℃에서 효소를 15-30분 사이의 간격으로 정치한 후 polyacrylamide 겔을 통해 단백질 띠의 변화 양상을 관찰해 본 결과 65 ℃에서 정치한 시간이 길어질수록 단백질 띠의 농도가 감소함을 관찰할 수 있었고, 이를 통해 이 효소는 자가분해능을 가진 효소임을 알 수 있었다.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

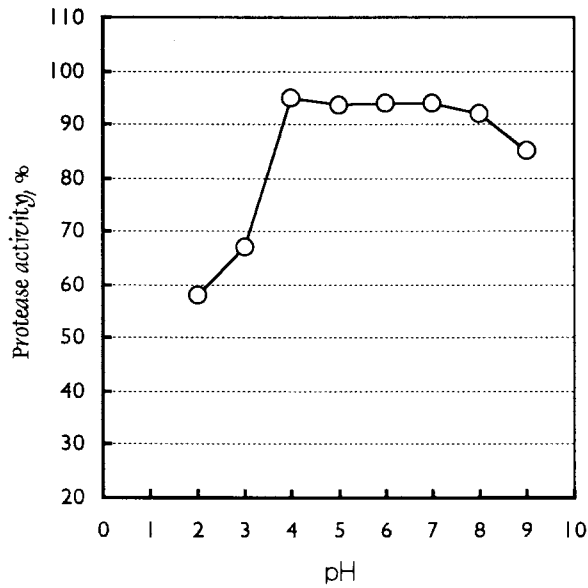


Fig. 6. pH stability of protease enzyme.

효소활성을 측정할때와 동일한 완충용액을 사용하여 pH 2 - 9까지의 범위에서 protease의 pH 안정성을 측정하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 protease는 pH 4에서 최적의 활성을 보였으며, pH 4 - pH 7의 범위에서 안정한 활성을 나타냈다.

Fig. 7 는 효소의 최적온도를 알기 위하여 pH 4.0의 0.1M McIlvaine 완충용액에 30℃에서의 효소활성을 100으로 하고 온도를 높이면서 상대활성을 조사하였다. 그 결과, 그림 6'에서 보는 바와 같이 최적 온도가 40 - 50℃ 범위였으며, 최고의 활성값은 30℃의 그것보다 1.5 - 2 배정도였다.

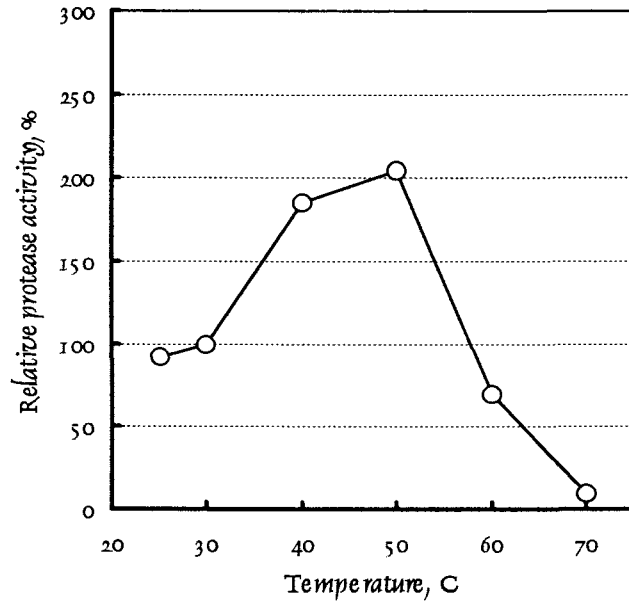


Fig. 7. Optimum temperature of protease enzyme.

Fig. 8은 Protease 의 온도안정성을 조사한 결과를 나타낸 것이다. Protease를 casein을 기질로 하여 온도를 변화시켜가면서 1시간동안 열처리하였을 때 효소의 활성 안정성을 조사한 결과, 40°C 까지는 90% 가까운 효소활성을 유지하고 있었으며, 온도가 40°C 가 지나면서 급격한 활성저하를 나타내었다. 50°C에서는 80% 정도의 활성이 유지되었으며, 60°C로 온도가 올라가면 45%, 70°C에서는 거의 활성이 나타나지 않을 정도로 미미하였고, 80°C이상에서는 활성이 완전히 잃어버리게 됨을 알 수 있었다.

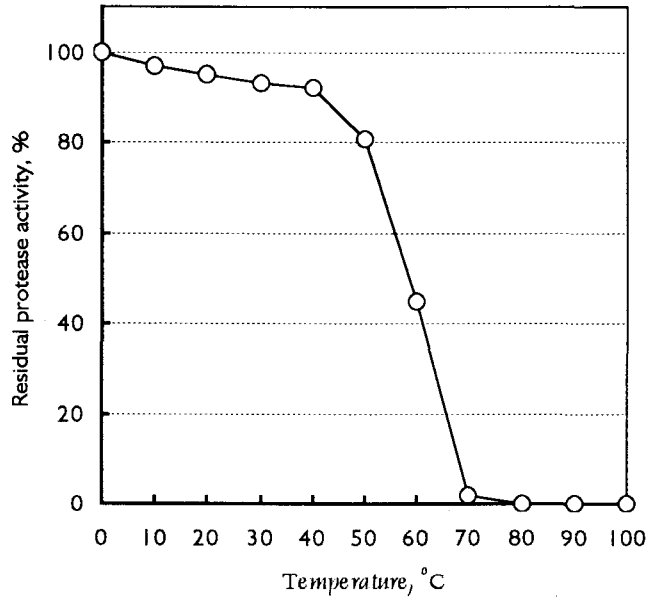


Fig. 8. Thermal stability of protease.

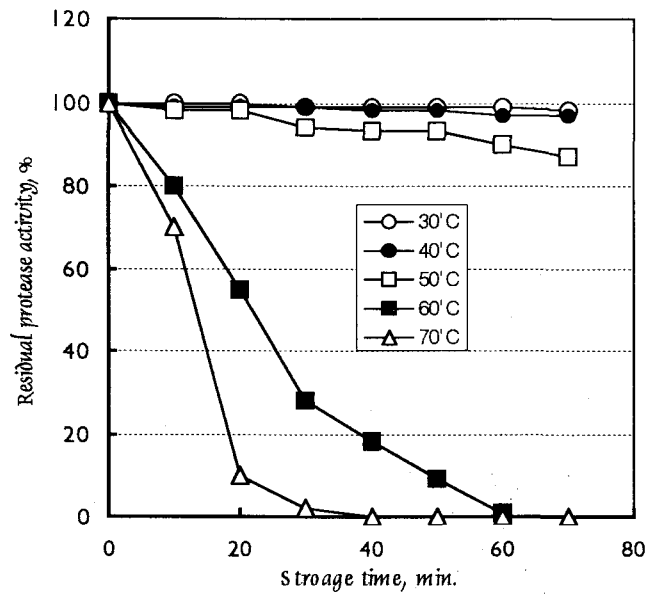


Fig. 9. Thermal stability of protease.

Fig. 9는 각각의 온도에서 1시간 이상 효소를 방치하였을 때 열에 대한 안정성을 조사한 결과이다. 그림에서 명백한 바와 같이 30℃ 및 40℃에서는 거의 1시간 열처리가 계속되더라도 매우 안정한 활성을 보였으며, 50℃에서도 70분간처리로 90% 가까운 열 안정성을 나타내고 있다. 이에 대하여 60℃ 및 70℃에서는 10분 - 20분처리로도 급격한 효소의 활성저하가 시작되었으며, 70℃처리의 경우는 30분처리로 거의 모든 효소의 활성이 없어짐을 알 수 있었다.

#### 4) Protease의 활용

##### 가. 연화처리 시료의 보수력

소고기의 근육조직이 함유하고 있는 수분함량은 75% 정도를 차지하지만 전체수분량보다 더욱 중요한 것은 보수력으로서 조리후 고기조직이 많은 수분을 보유하고 있어야 조직이 부드럽게 느껴지고, 다즙성이 증가되므로서 고기조직이 유연함을 느끼게 된다고 한다. Table 10에서 보는 바와 같이 능이버섯 분말과 protease를 첨가하므로써 매우 높은 보수력을 나타냈으며, 시판되고 있는 연육제인 papain 과 거의 동일한 보수력을 나타냈다. 능이버섯의 protease는 대조구인 무처리에 비해 26.8%, 설탕에 비해서는 13.8%의 보수력을 증가시켰다. 이러한 보수력 증가는 연육효과에 의하여 단백질의 가수분해가 일어나면서 수용성 성분이 증가되기 때문인 것으로 판단된다.

Table 10. Water retention capacity of treated beef.

L/I	Water retention capacity, %
Control	60.4
Neungi	
Mushroom powder	70.5
Mushroom protease	76.6
Sugar	67.3
Papain	73.7

## 나. 경도특성

고기의 근육은 결합조직 단백질과 근원섬유단백으로 구성되는데, 근원섬유 단백질은 actin, myosin, connectin을 비롯함 200여종의 단백질로 구성된다. 일반적으로 연육제는 단백질분해효소의 작용으로 고기근육의 결합조직이나 근육단백질을 분해하여 근원섬유의 장력을 저하시킴으로서 고기를 부드럽게 해주게 된다. 본 실험에서 사용한 능이버섯 분말과 protease의 첨가가 Table 11에서 보는 바와같이 경도를 감소시키는 것으로 나타났으며, 시판되고 있는 연육제인 papain 과 거의 동일한 연육효과를 가져왔다. 설탕도 대조구에 비하여 22.5%의 상당한 경도의 감소를 보여주었는데 이는 설탕첨가로 인한 삼투압의 증가로 보수력이 증가되었기 때문으로 생각된다. 능이버섯의 첨가로 인한 경도감소효과는 능이버섯분말이 51.6%, 능이버섯 protease는 58.5%, 시판의 연육제인 papain은 56.3%의 높은 경도감소를 나타냈다.

Takahashi 및 Saito(1979)에 의하면 쇠고기의 숙성중 일어나는 쇠고기근육의 구조변화를 관찰한 결과, 근육섬유에 A-band, I-band, Z-line 및 M-line 등이 있는데, 근원섬유의 파괴는 Z-line과 I-band 의 접합점에서 일어나는데, 이는 Z-line과 I-band 사이에 존재하는 gap filament 혹은 connectin이라 불리는 탄성단백질이 분해되어 근원섬유의 약화를 초래하고, 결과적으로 고기의 연화가 일어난다고 하였다. Park (1986)은 ficin을 처리하였을 때 근원섬유의 myosin이 먼저 분해되었고, actin은 분해가 일어나지 않았다고 보고하였으며, Chae 및 Park (1996)은 배가 함유한 protease는 myosin의 분해를 촉진시켰다고 보고하였다. Youn 및 Yang (1974)는 papain을 이용한 쇠고기의 연육실험에서 이 연육제가 근원섬유의 분해를 촉진하였으나, collagen 이나 elastin 섬유에는 작용하지 않았다고 보고하였다. 이에 대하여 능이버섯의 protease는 시판 연육제인 papain보다도 더 효과적으로 actin, myosin, connectin을 비롯한 근원섬유 단백질의 분해를 시키는 것으로 사료된다.

Table 11. Hardness of treated beef

L/I	Hardness (kg)
Control	11.5
Neungi	
Mushroom powder	5.56
Mushroom protease	4.77
Sugar	8.91
Papain	5.02

#### 다. 색도 특성

각 처리의 색도를 측정한 결과를 명도(Lightness, L), 적색도(Redness, a), 황색도(Yellowness, b),  $\Delta E$  값으로 Table 12 에 표시하였다. L 값의 경우 능이버섯 분말첨가는 명도를 감소시켰으나, 능이버섯 protease의 경우 47.2로 높아졌으며, 설탕 및 papain도 protease와 유사한 명도를 나타냈다. 적색도와 황색도의 경우에는 대조구에 비하여 모든 처리에서 낮은 값을 보여주었다.

명도와 적색도 및 황색도로부터 구한  $\Delta E$  값이 0 - 0.5 이면 색차가 거의 없는 것이며, 0.5 - 1.5는 근소한 색차가 있는 것으로, 1.5 - 3.0이면 감지할 수 있을 정도의 색차가, 3.0 - 6.0 은 현저한 색차가, 6.0 - 12 는 매우 현저한 색차를, 12 이상이면 다른 색으로 나타내는 것이 일반적이다.  $\Delta E$ 값에 있어서 능이버섯 분말을 첨가하면 4.55로서 현저한 색차를 보여주었으며, protease, 설탕 및 papain은 2.07 - 2.74 로서 감지할 수 있을 정도의 색차로 나타났다. 능이버섯 분말이 진한 색차를 결과한 것은 능이버섯이 가지는 색소에 기인하는 것으로서 버섯자체가 요리시 타재료의 색까지도 변하게 하는 자체의 색소때문으로 생각된다.

Table 12. Color changes in treated beef.

L/I	Color			
	L	a	b	$\Delta E$
Control	45.1	4.88	16.7	0.0
Neungi				
Mushroom powder	44.2	4.24	15.2	4.55
Mushroom protease	47.2	4.22	13.5	2.74
Sugar	46.8	4.01	14.7	2.69
Papain	47.8	4.12	12.3	2.07

### 5) Protease의 최적 배양조건

Protease 생산을 위한 공시균으로서 표고버섯균(*Lentinula edodes*)를 사용하였으며, Protease의 최적생산 조건을 구명하기 위하여 생산기질의 조성, 배양조건, 배양기간등을 검토하였다.

#### 가. 배양기질의 조성이 Protease 생산에 미치는 영향

접종용 배지로서는 콩가루(Soybean flour, SBF), 옥수수가루(Corn flour, CF), 카제인(Casein, C), 소맥분(Wheat flour, WF), 밀기울(Wheat bran, WB), 옥수수기름 (Corn oil, CO) 및 이온교환수(W)를 Table 13 과 같은 여러 가지 조성비로 배합하여 가장 활성이 높은 조건을 조사하였다.

배지의 조성별 protease 생산성에 있어서는 WB+CF+CO+W의 조합이 85 U/g으로서 가장 높은 protease 생산성을 보여주었고, WB+CO+W조합이 70U/g, WB+C+CO+W조합은 60U/g 으로서 밀기울과 옥수수가루가 비교적 좋은 protease 생산성을 나타냈다. 한편 SBF+C+WF+CO+W 및 SBF+WB+CO+W는 각각 3 U/g 및 40 U/g으로서 콩가루와 소맥분조합의 protease 생산성이 매우



낮은 것을 알 수 있었다.

표 Table 13. The effect of medium composition on protease production.

Medium composition	Mixing ratio, w/v	Protease, U/g biomass
SBF+C+WF+CO*+W	3%:0.5%:3%:0.003%:H <sub>2</sub> O	3
SBF+WB+CO*+W	3%:3%:0.003%:H <sub>2</sub> O	40
WB+CF+CO*+W	3%:3%:0.003%:H <sub>2</sub> O	85
WB+C+CO*+W	3%:0.5%:0.003%:H <sub>2</sub> O	60
WB+CO*+W	0.3%:0.003%:H <sub>2</sub> O	70

Soybean flour: SBF, Corn flour: CF, Casein: C, Wheat flour: WF,  
Wheat bran: WB, Demineralized water: W, \* CO : corn oil (v/v)

#### 나. 배양기질의 액체조성

Protease 생산을 위한 배양 매체로서 사용한 이온교환수, pH 4.5로 조절한 산성이온교환수 및 acetate buffer를 사용한 결과, Table 14에 나타낸 바와 같이 acetate buffer에서는 전혀 protease의 생산이 되지 않았으며, pH 6.5의 이온교환수가 80 U/g 의 가장 높은 protease 생산성을 나타냈다. 이 이온교환수를 pH 4.5로 조절하였을 때 생산성은 62 U/g 으로 낮아졌다.

Table 14. The effect of different liquid media on protease production.

Liquid	Protease, U/g biomass
Demineralized water (pH 6.5)	80
Acidified demineralized water (pH 4.5)	62
Acetate buffer (0.1 M, pH 4.5)	-

#### 다. 배양기간의 영향

배양기간에 따른 protease 생산성은 Table 15에서 보는 바와같이

## 농이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

배양시간이 경과됨에 따라 증가하였으며, 72시간 배양으로 90 U/g의 최대값에 달하였고, 그 이후 점차 감소하는 경향으로 나타났다. 84시간 배양으로 85 U/g, 96시간이 되면서 60 U/g으로 그 생산성이 감소되었다.

Table 15. The effect of culture period on protease production.

Culture period, hr	Protease, U/g biomass
48	50
60	65
72	90
84	85
96	60

### 라. Protease 의 특성

*Lentinula edodes*를 이용하여 생산된 protease의 분자량은 약 45,000이었으며, 효소특성을 상이한 pH 및 온도의 조건에서 조사한 결과는 Fig. 10 및 Fig. 11에 나타났다. Fig. 10은 상이한 pH에서의 protease의 활성을 측정한 결과 최적 pH는 4에서 나타났으며, 최대의 활성은 pH 4 - 6 범위에 있었다.

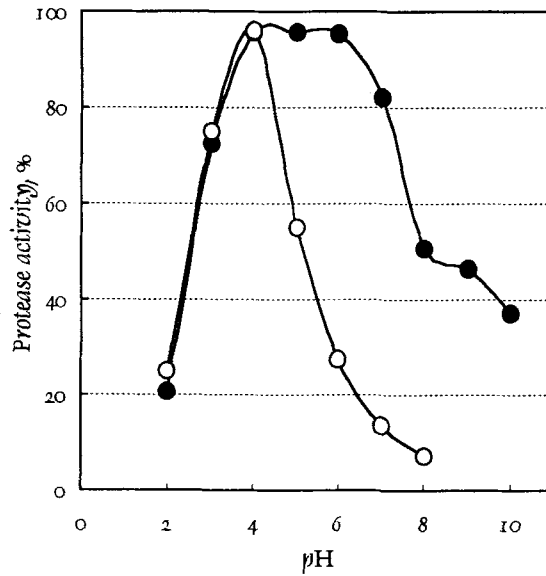


Fig. 10. Protease activity of *Lentinula edodes*.

○-○: Protease activity was determined by reacting casein at different pH at 37°C for 15 min.

●-●: The enzyme was incubated at different pH at 37°C for 1 hr. The reaction products were determined and plotted against respective pH.

Fig. 11 은 protease의 온도안정성을 조사한 결과로서 최적온도는 55 °C에서 나타났으며, 30 - 60 의 넓은 온도범위에서 안정함을 알 수 있어서 이 효소는 소화용 제제, 식품공업, 맥주제조업 및 가죽무두질 등 널리 이용될 수 있을것으로 생각된다.

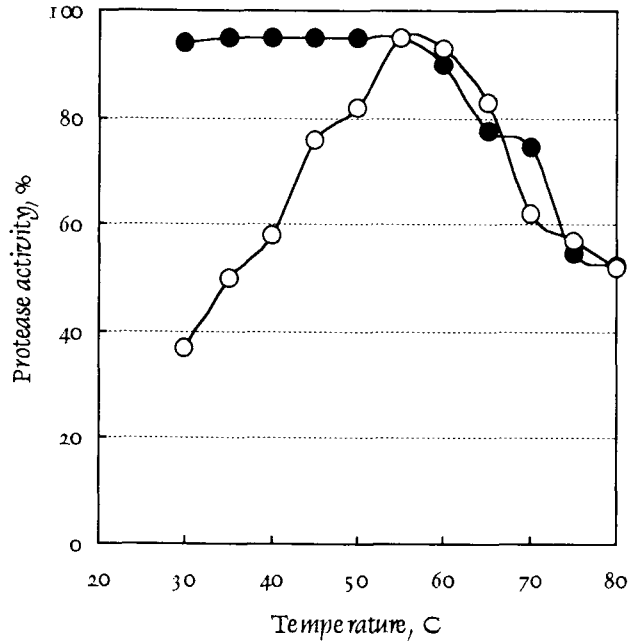


Fig. 11. Stability of protease of *Lentinula edodes*.

○-○: Protease activity was determined by reacting casein at different temperature at pH 4.0 for 15 min.

●-●: The thermal stability was determined by incubating the enzyme at different temperatures for 1 hr. The reaction products were measured and plotted against respective temperature.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 능이가 포함하고 있는 각종 생리활성 성분을 분석, 화학구조를 구명하기 위하여 실시하였다. 아울러 능이버섯으로부터 분리한 protease의 효소적 특성을 분석하고, 이 효소의 고기연육 및 식품첨가시

색깔변화에 미치는 영향을 알고자 하였다. 마지막으로 버섯균의 액체배양을 통한 protease 효소의 생산최적 조건을 구명코자 하였다.

능이버섯(*Sarcodon aspratus*)의 무기성분 및 아미노산의 조성을 분석하였는바, 능이버섯은 Ca, Mg, Zn, Mn, Fe, Cu 및 Pb를 함유하였으며, 특히 Ca 및 Na 성분이 많이 함유되어 있었다.

온수추출물은 54%의 다당류를 함유하였으며, 32.6%의 단백질을 가지고 있었다. 유리 및 총 아미노산을 분석한 결과, 14종의 유리아미노산이 검출되었고, glutamate, alanine, arginine 등이 많았다. 총아미노산은 15종이었으며, glutamate가 가장 많았고, aspartate, serine, threonine 등이 그 다음이었다.

95% EtOH 추출에 의하여 3.32%의 수율로 Glycoprotein을 얻었으며, 추출에 사용하는 EtOH농도에 따라 당의 함량이 상이한 glycoprotein을 얻을 수 있었는데, EtOH농도가 낮을수록 당의 함량이 높았다.

Glycoprotein 을 정제한 결과, 분자량 30만 이상의 부분이 39.5%나 되는 고분자 당단백질임을 알 수 있었고, 이를 Ion chromatography로 분리하여 얻은 B-1를 gel chromatography로 분획한 B1B가 분자량 700Kda정도의 중성다당류로 밝혀졌다. 한편 중성 다당류로서 분획된 P2 fraction의 경우는 glutamate, alanine 이 비교적 다량 함유되었으며, cysteine은 거의 확인되지 않았다.

능이버섯으로부터 추출한 세포의 protease 효소를 정제하였으며, 정제가 진행되어감에 따라 protease의 비활성은 점차증가하였다. 황산암모늄의 탈염만으로도 비활성은 2.62배 증가하였으며, CMC column처리로 17배, DEAE-Sephadex A-50 column처리로 113.8배의 활성증가를 나타냈다. 나아가서 Sephadex G-75 column 처리로 728.3배로 증가됨을 알 수 있었다. Polyacrylamide 젤로 전기영동을 한 결과 단일띠 만을 가진 약 43 kDa의 분자량을 갖는 단백질을 알 수 있었다. Polyacrylamide 젤에 효소활성 저해제인 PMSF 0.1  $\mu$ g 을 첨가로 이 효소는 자가분해능을 가진 효소임을 알 수 있었다.

최적 pH 3.5 부근의 능이버섯의 정제 protease의 초점전기영동을 수행한 결과 pH 4.35 및 pH 4.7의 등전점을 달리하는 protease 가 있음을 확인하였으며, 정제결과 이들의 회수율이 등전점 4.35(a)가 8%, 4.70(b)이 3.5%였으며, 이들 fraction 의 비활성은 각각 3,025배 및 3,257배로 상승하였다. 이들 효소들은

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

등전점만 다를 뿐, 효소적 특성이 거의 동일하였다.

이 protease는 pH 4에서 최적의 활성을 보였으며, pH 4 - pH 7의 범위에서 안정한 활성을 나타냈다. 이 protease의 최적 온도가 40 - 50°C 범위였으며, 최고의 활성값은 30°C의 그것보다 1.5 - 2 배정도였다. Protease의 온도안정성을 조사한 결과, 40°C까지는 90% 가까운 효소활성을 유지하고 있었으며, 온도가 40°C가 지나면서 급격한 활성저하를 나타내었다. 50°C에서는 80% 정도의 활성이 유지되었으며, 60°C로 온도가 올라가면 45%, 70°C에서는 거의 활성이 나타나지 않을 정도로 미미하였고, 80°C 이상에서는 활성이 완전히 잃어버리게 됨을 알 수 있었다. 열에대한 안정성을 조사한 결과, 30°C 및 40°C에서는 거의 1시간 열처리에서는 매우 안정한 활성을 보였으며, 50°C에서도 70분간처리로 90%의 안정성을, 60°C 및 70°C에서는 10분 - 20분처리로도 급격한 효소의 활성저하가 시작되었으며, 70°C처리의 경우는 30분처리로 거의 모든 효소의 활성이 없어짐을 알 수 있었다.

Protease의 활용과 관련하여, 능이버섯 분말과 protease를 첨가하므로써 매우 높은 보수력을 나타냈는바, 능이버섯의 protease는 무처리에 비해 26.8%, 설탕에 비해 13.8%의 보수력을 증가시켰다. 이러한 보수력 증가는 연육효과에 의하여 단백질의 가수분해가 일어나면서 수용성 성분이 증가되기 때문인 것으로 판단된다.

능이버섯 분말과 protease의 연육효과를 실험한 결과, 소고기의 경도를 감소시키는 것으로 나타났으며, 시판되고 있는 연육제인 papain 과 거의 동일한 연육효과를 가져왔다. 능이버섯의 첨가로 인한 경도감소효과는 능이버섯분말이 51.6%, 능이버섯 protease는 58.5%, 시판의 연육제인 papain은 56.3%의 높은 경도감소를 나타냈다. 그 이유로서는 능이버섯의 protease가 actin, myosin, connectin을 비롯한 근원섬유 단백질을 효과적으로 분해를 시키기 때문으로 사료된다.

능이버섯의 첨가가 식품의 색도 [(명도(Lightness, L), 적색도(Redness, a), 황색도(Yellowness, b),  $\Delta E$  값]에 미치는 영향을 조사해본 결과, 능이버섯 분말첨가는 명도를 감소시켰으나, 능이버섯 protease의 경우 47.2로 높아졌으며, 설탕 및 papain도 protease와 유사한 명도를 나타냈다. 적색도와 황색도의 경우에는 대조구에 비하여 모든 처리에서 낮은 값을 보여주었다.  $\Delta E$ 값에

있어서 능이버섯 분말을 첨가하면 4.55로서 현저한 색차를 보여주었으며, protease, 설탕 및 papain은 2.07 - 2.74 로서 감지할 수 있을 정도의 색차로 나타났다. 능이버섯 분말이 진한 색차를 결과한 것은 능이버섯이 가지는 색소에 기인하는 것으로서 버섯자체가 요리시 타재료의 색까지도 변하게 하는 자체의 색소때문으로 생각된다.

Protease효소의 대량생산을 위한 공시균으로서 표고버섯균(*Lentinula edodes*)를 사용하였으며, Protease의 최적생산 조건을 구명하기 위하여 생산기질의 조성, 배양조건, 배양기간등을 검토한 결과, 배지의 조성별 protease 생산성에 있어서는 밀기울+옥수수가루+옥수수기름 (WB+CF+CO+W) 조합이 85 U/g으로서 가장 높은 protease 생산성을 보여주었고, 콩가루와 소맥분조합의 protease 생산성이 매우 낮은 것을 알 수 있었다. Protease 생산을 위한 배양 매체로서 acetate buffer에서는 전혀 protease의 생산이 되지 않았으며, pH 6.5의 이온교환수가 80 U/g 의 가장 높은 protease 생산성을 나타냈다. 이 이온교환수를 pH 4.5로 조절하였을 때 생산성은 62 U/g 으로 낮아졌다. 배양기간에 따른 protease 생산성은 배양시간이 경과됨에 따라 증가하였으며, 72시간 배양으로 90 U/g의 최대값에 달하였고, 그 이후 점차 감소하는 경향으로 나타났다. Sephadex G-75 chromatography 로 측정된 분자량은 약 45,000 이었다.

*Lentinula edodes*를 이용하여 생산된 protease의 효소특성을 상이한 pH 및 온도의 조건에서 조사한 결과, 최적 pH는 4에서 나타났으며, 최대의 활성은 pH 4 - 6 범위에 있었다. protease의 온도안정성을 조사한 결과로서 최적온도는 55 °C에서 나타났으며, 30 - 60 의 넓은 온도범위에서 안정함을 알 수 있어서 이 효소는 소화용 제제, 식품공업, 맥주제조업 및 가죽무두질 등 널리 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

## 제 3절 능이의 향기성분과 건조 중의 변화

### 1. 서론

굴뚝버섯과 (Thelephoraceae)에 속하는 능이버섯(*Sacodon aspratus*)은 한국과 일본에 자생하며 예로부터 우리 나라 농산 촌에서 식용뿐만 아니라 육류를 먹고 체하였을 때의 단방약이나 육류 요리시 부재료로 일부 이용하고 있다<sup>(1)</sup>. 또한 능이버섯은 일명 향버섯이라고도 하며 활엽수림의 부식이 많은 산지에서 발생하고 갓은 깔대기 모양이며 엷은 홍색을 띤 갈색인데 노쇠하거나 마르면 흑갈색으로 되어 강한 향기를 풍긴다<sup>(2)</sup>. 능이버섯에 관한 연구로는 능이버섯에서 분리한 단백질 가수분해 효소의 특성<sup>(3)</sup>, 능이 중 알칼리성 단백질 가수분해효소의 1차구조에 관한 연구<sup>(1)</sup>, 능이의 성분에 관한 연구<sup>(2,4)</sup>, 능이버섯의 약리작용에 관한 연구<sup>(5)</sup> 등 일반성분이나 약리작용, 단백질 가수분해 효소의 특성에 관한 연구는 있으나 향기 성분에 관한 연구는 없는 실정이다. 능이버섯뿐 아니라 여러가지 버섯종류의 화학성분은 광범위하게 연구되어 왔으나 버섯의 풍미에 중요한 영향을 미치는 휘발성 향기성분에 관한 연구로는 양송이<sup>(6,7)</sup>, 송이<sup>(8)</sup>, 느타리<sup>(9)</sup>, 표고<sup>(10)</sup>, 털목이<sup>(11)</sup> 버섯 등에 대한 보고가 있을 뿐이다. 또한 버섯은 외피에 납질층이 없는 구조를 가지고 있어 조직에서 공기 중으로 수분증발을 억제할 수 있는 생리구조를 가지고 있지 않아 버섯내부 조직에서 공기 중으로 수분증발이 자유롭게 진행된다. 수분증발 속도는 버섯의 상태, 주위환경과 습도, 공기유동과 대기압 등에 따라 달라지며 버섯으로부터의 수분증발로 갓과 줄기가 수축되고 단단해지며 형태의 변화와 효소활성의 변화에 의하여 향기성분에 미치게 된다<sup>(12)</sup>. 건조증상은 버섯의 상품적 가치에 영향을 주기 때문에 제품의 품질향상과 효율적 건조를 위해서는 좀더 과학적인 건조방법이 요구되고 있다<sup>(13)</sup>. 버섯의 건조와 관련된 연구로는 표고버섯과 영지버섯의 품질변화에 미치는 열풍건조조건의 영향에 관한 보고<sup>(14)(15)</sup>, 마이크로웨이브 및 열풍에 의한 양송이 버섯 건조에 관한 연구<sup>(16)</sup>, 건조방법에 따른 양송이 버섯의 물리적 특성에 관한 연구<sup>(17)</sup>, 버섯의 건조특성에 관한 연구<sup>(18)</sup> 등 일부 버섯의 건조특성에 관한 논문이 일부 보고되었으나, 능이버섯의 건조특성에 관한 연구는 없는 실정이고, 건조과정 중의 향기성분과 물성변화 변



화에 관한 논문도 거의 찾아보기 힘든 실정이다. 따라서 본 연구에서는 능이버섯의 휘발성 향기성분을 조사하여 기초자료로 활용하기 위해 simultaneous distillation and extraction(SDE), supercritical fluid extraction(SFE), headspace 등 추출방법을 달리하여 GC와 GC/MS, GC/olfactometry중 AEDA(aroma extract dilution analysis)법 으로 향기성분과 특성을 조사하였고, 능이버섯의 품질향상과 효율적 건조를 위해서 능이버섯의 최적 건조조건 및 건조과정중의 향기성분의 변화와 물성변화를 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 1) 재료

본 실험에 사용된 능이버섯은 9월 하순부터 10월 초순사이에 월악산에서 채취한 것으로,  $-70^{\circ}\text{C}$  freezer에서 냉동 보관하였다.

### 2) 실험장치

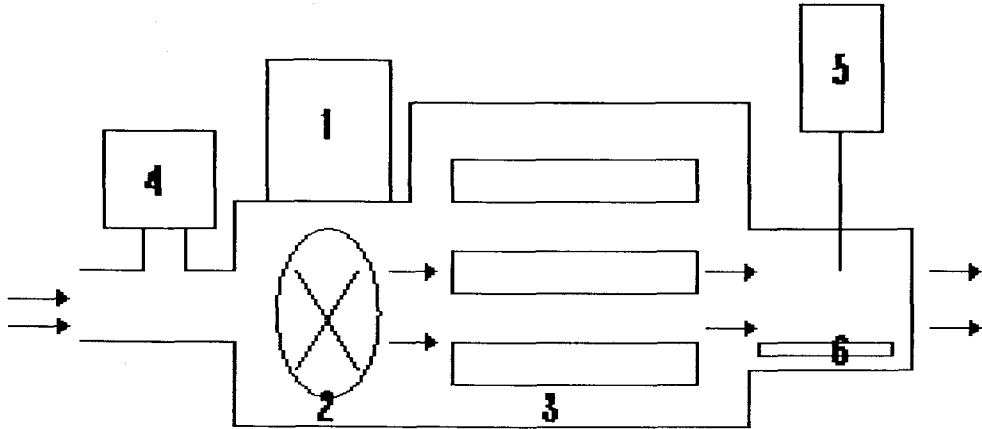
본 능이버섯의 건조실험에 사용된 장치의 개략도는 Fig. 1에 나타낸 것과 같다. 가열장치, 가습장치 및 송풍장치등의 공기조화장치를 이용해 온도와 풍속, 상대습도등을 제어할 수 있도록 제조하였다.

### 3) 향기성분 추출

#### 가. SDE 추출

Lickens and Nickerson type simultaneous steam distillation-extraction(SDE)<sup>(19)</sup> 장치를 사용하여 상압하에서 추출하였다. 시료 150 g과 증류수 600 mL를 1 L 증류용 플라스크에 넣고, 50 mL diethyl ether를 추출용 플라스크에 넣은 후 3시간 동안 추출하였다. 여기서 얻은 추출액은 무수황산 나트륨으로 탈수한 후 진공농축기(rotary evaporator)로  $30^{\circ}\text{C}$ 를 유지하면서 농축한 후 질소가스하에서 1 mL까지 재 농축하였다.

## 농어의 임지재배 기술 및 기능성 개발



1. Temperature and air velocity controller, 2. Motor and fan, 3. Heater, 4. Humidifier, 5. Humidity and air velocity measuring instrument, 6. Sample tray.

Fig. 1. Schematic diagram of experimental apparatus for the drying test.

### 나. SFE 추출

Jasco 사의 고압추출 장치를 사용하였다. 추출장치는 이산화탄소 주입부(Model 880-81 B.P.R), 가압부(Model PU-980), 추출기(Model: CO-965 column)로 구성되었으며, 최대압력은 350 kg/cm<sup>2</sup>, 추출용기는 10 mL를 사용하였으며 고압에 견딜수 있는 재질을 사용하였다. 이산화탄소는 고순도 싸이폰 가스를 사용하였다. 시료는 추출기에 넣은 후 추출온도를 40℃로 고정시키고, 추출압력은 250 kg/cm<sup>2</sup>로 유지시켰으며, 이산화탄소는 2 mL/min 의 유속으로 공급시켰다. 정유성분의 수율을 높이기 위하여 collector에 diethyl ether를 넣어 포집하였으며, 생물 15 g을 추출 vessel에 넣어 5시간 동안 추출하였다.

### 다. Headspace추출

시료는 생물 시료 5 g을 세절한 후 headspace autosampler(Varian Genesis Headspace)를 사용하였다. Plate temperature는 80℃로 하였고, sample equilibrium time은 30 min, mixing time은 1 min, loop size 1 mL, loop

equilibrium time은 0.1 min, injection time은 0.5 min, sample loop temperature는 110 °C, line temperature는 110°C, transfer line back pressure는 25 psi 로 추출하였다.

#### 4) 향기성분 분석

##### 가. GC 및 GC/MS분석

GC는 Varian star 3400 CX를 이용하였으며 컬럼은 Restek-Stabilwax DA(30 m×0.53 mm)를 사용하였고, 오븐온도는 50°C에서 5분간 유지한 후 분당 3°C로 220°C까지 상승시켰으며 이 온도에서 20분간 유지하였다. 검출기는 flame ionization detector를 사용하였고 주입구의 온도는 230°C, 검출기의 온도는 250°C로 하였다. GC-MS는 Hewlett Packard 사의 GCD G1800B를 사용하였으며 컬럼은 HP-FFAP(30 m×0.25 mm), 오븐온도는 50°C에서 5분간 유지한 후 분당 3°C로 280°C까지 상승시켰다. Carrier gas는 질소를 사용하였고, 화합물의 동정은 GC-MS로 얻은 mass spectrum을 Wiley 275L Data base로 검색하여 동정하였다. 향기성분의 동정은 GC-MS를 이용하였으며, 함량은 GC의 peak area의 상대적인 비로 나타내었다. GC/MS결과와 GC/sniffing test 화합물의 상호관계는 sigma aldrich 사로부터 구입한 n-alkane류 (C<sub>8</sub>~C<sub>28</sub>)에서 얻은 retention index를 비교하여 구하였다.

##### 나. GC/sniffing test

GC/olfactometry방법 중 AEDA법<sup>(20)</sup>을 이용하였고, 모든 분석 조건은 GC조건과 동일하게 하였다. SDE 와 SFE 로 추출한 향을 1 mL로 농축한 다음 diethyl ether로 3배수씩 단계적으로 희석하면서 아무런 냄새가 감지되지 않을 때까지 sniffing test를 진행하였고, headspace 에서는 단계적으로 취하는 시료량을 1/3씩 줄여 나가면서 아무 냄새도 감지되지 않게 될 때 까지 행하였다. 이때 어떤 향기성분의 냄새가 마지막으로 감지된 희석배수를 그 향기성분의 flavor dilution(FD) factor라고 하며, 각각의 방법으로 추출한 향을 일정 배수로 희석하고 각각의 희석된 향을 sniffing하여 감지된 모든 향기 성분은 FD factor로 나타내었다<sup>(15)</sup>.

### 5) 건조조건

능이버섯의 건조 시 건조 온도와 풍속, 건조 시간 등이 건조특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 상대습도를 15%로 조절하고 건조 온도(30℃, 50℃, 70℃)와 풍속(0.5 m/s, 1.0 m/s, 1.5 m/s)을 주요 변수로 하여 이들을 3회 이상 반복 측정하였다.

### 6) 건조 과정 중 구조변화관찰

건조 과정 중 구조를 관찰하기 위한 표본 제작 과정은 세절한 능이버섯을 0.1M phosphate buffer(pH 7.4)로 조성된 4% glutaraldehyde를 사용하여 전 고정 후 동일 완충액에서 overnight 시키고 동일한 buffer로 조성된 1% osmium tetroxide(OsO<sub>4</sub>) 용액을 사용하여 후 고정하였다. 각각의 고정 후에는 완충용액인 0.1M phosphate buffer(pH 7.4)를 사용하여 각 20분간 두 번씩 세척하였다. 이어서 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%까지 ethanol 농도 상승 순으로 각 10분씩 탈수한 뒤, propylene oxide로 20분씩 2번 치환하였다. 그 후 3:1, 1:1, 1:3의 propylene oxide : Epon mixture를 순차적으로 30분씩 포매시킨 후 Epon mixture만으로 60분 포매하였다. 조직을 Epon mixture로 포매한 Epon block을 초박절편기(Reichert supernova ultramicrotome, Leica Co. Made in Republic of Austria)로 50~60nm의 두께로 초박절편하여 Methylene Blue로 염색하여 Automatic Photomicrographic system(Model Olympus PM10SP Photomicrographic system, Made in Japan)으로 건조 중 구조변화를 검경하고 사진촬영을 실시하였다. 배율은 200배로 조절하였으며, 200 $\mu$ m $\times$ 200 $\mu$ m의 정사각형 안의 공극의 크기와 수를 확인하였다.

### 7) 건조 과정 중 색도 측정

색도는 색차계(Model COLOR OUEST II, Hunter Associates Laboratory, INC, Made in USA)를 이용하여 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값을 각각 3회 이상 반복 측정하여 아래의 식을 이용하여 건조 전 능이버섯과의 색도차( $\Delta E_{ab}$ )를 나타내었다.

$$\Delta E_{ab} = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

### 8) 건조 과정 중 물성 측정

각 시료를 무작위로 10개를 선택하여 푸도 레오메타(Fudoh Rheo-meter, Model RT-3010D, RHEOTECH Co. Made in Japan)로 물성을 측정하였다. 시료의 중앙부분을 상부에서 여러 아답터(adapter)를 이용하여 식품을 구성하는 조직의 파열시험, 강도 및 연도시험, 침투시험, 전단 응력 시험, 응력 완화에 의한 탄성 및 점성시험, 점탄성의 측정 시험, 인장에 의한 점착 강도, 인장강도 시험, 표면 장력 측정 등을 종합적으로 측정하여, 건조 시간에 따른 Strength, Compression Distance, Break Down, Deformation Rate, Hardness, Surrender, Distortion, Alleviation Time, Alleviation Rate, Softness, Jelly Strength 등의 물성 특성간의 회귀방정식을 구하였고 이를 생능이버섯의 실험결과와 비교하였다. 물성 측정 조건은 Chat speed는 50mm/min이고, load range는 5kg<sub>f</sub>으로 설정하였다.

### 9) 건조 후 재수화 특성

건조능이버섯을 증류수에 30분 간격으로 침지 후 꺼내 표면에 붙어 있는 수분을 제거한 후 무게를 측정하였다. 이때 복원율은 생능이버섯의 수분 무게에 대한 복원 후의 수분무게비로 나타내었다. 물성은 건조과정 중의 물성 측정방법과 동일하게 실행하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 1) 추출방법에 따른 향기성분 분석

SDE, SFE, headspace 방법으로 추출 후 GC/MS로 정성하여 향기성분의 함량을 Table 1에 나타내었다. SDE로 추출하고 GC/MS를 이용하여 정성한 결과 능이버섯의 향기성분은 33개이며 관능기별로 보면 산 6개, 알콜류 6개, 알칸류 7개, 케톤류 5개, 알데하이드류 2개, 기타 7개로 나타났다. 확인된 성분 중 주성분은 저비점의 알콜류와 산류, 알칸류 및 케톤류이며 이 중 1-octen-3-ol (24.84%), 1-octen-3-one (16.85%), benzeneacetaldehyde (8.63%), 3-octanone (7.72%),

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

1-octanol (4.89%), 2-octen-1-ol (2.83%), 3-octanol(2.51%)등이 높은 면적비를 나타내었다. 능이버섯의 향기성분 중 함량이 높게 나타난 1-octen-3-ol은 능이버섯 뿐 아니라 다른 식용버섯에서도 많이 함유되어 있는 것으로 보고되었다<sup>(21)</sup>. 또한 일반 식용버섯의 주요 휘발성 향기성분으로 알려져 있는 C<sub>8</sub> 화합물들은 능이버섯에서도 주요 휘발성 성분인 것으로 확인되었다. SDE추출물에서 정성된 화합물 중 furfural 및 furfuryl alcohol은 향기성분 추출과정에서 갈변반응에 의해 생성된 것으로 추정되며, butylated hydroxy toluene(BHT)은 미량 검출되었으나 용매로 사용된 diethyl ether에서 혼입된 것으로 사료되어 향기성분에는 포함시키지 않았다<sup>(22)</sup>. SFE 추출하여 GC/MS로 정성한 결과 능이버섯의 향기성분은 26개의 화합물로 나타났으며, 정성된 화합물 중 산은 12개, 알콜류는 7개, 케톤류는 3개, 기타 4개로 나타났다. 이 중 특히 높은 면적비를 차지하고 있는 성분은 benzeneacetic acid(17.52%), 1-octen-3-ol(14.28%), pentadecanoic acid(5.36%), 1-octanol(4.14%), 2-methyl-propanoic acid(3.77%)이었다. Headspace추출물에서는 총 17개의 화합물이 확인되었는데, 그 중 산은 3개, 알콜류 4개, 케톤류 2개, 기타 8개로 나타났으며, 그 중 높은 면적비를 차지하고 있는 성분은 1-octen-3-one(54.52%), ally iso thiocyanate(10.68%), 1-octen-3-ol(4.65%) 등이었다. 이와 같이 추출방법에 따라 확인된 주요성분의 면적비가 각각 다르게 나타났으며 이는 추출방법 특성의 차이에 의한다고 생각된다<sup>(23)</sup>.

## 2) GC sniffing에 의한 추출물의 향기특성과 강도

능이버섯의 향기특성을 살펴보기 위해 sniffing test 한 결과 각각의 추출물에서 정성된 화합물의 향기 특성은 Table 2와 같다. AEDA방법에서 FD factor가 큰 화합물은 향기특성이 강하다는 것을 나타내며 3가지 추출물에서 공통으로 FD factor가 큰 화합물은 RI 1479, 1481, 1486 일 때로 생능이버섯내를 나타내는 unknown화합물 이었다. 그 외에 생버섯내를 나타내는 1-octen-3-one(RI 1296), 1-octen-3-ol(RI 1442), 풀내를 나타내는 1-octanol(RI 1525)등에서 화합물에서 향기특성이 강하게 나타났다. 이외에도 FD factor는 작았지만 Table 1에서와 같이 나타낸 여러 가지 향기성분들이 능이버섯의 향기특성을 이루고 있었다. 즉, 흙냄새를 나타내는 3-octanol, 강한 풀내를 나타내는 2-octenal 등의 C<sub>8</sub> 화합물과

단 꽃향기를 나타내는 benzeneacetaldehyde, 목재 내를 나타내는 L-linalool, 치즈 내를 나타내는 3-hydroxy-2-butanone, 상큼한 단내를 나타내는 2-decanone, 약간의 불쾌한 고기내를 나타내는 3-methyl thiopropanol, 시큼한 우유내를 나타내는 propanoic acid 등이 능이버섯의 향기특성을 이루고 있다. SDE로 추출한 향을 AEDA로 나타낸 결과 RI에 따른 FD factor는 Fig. 2에서와 같다. SDE추출물에서 FD factor가 큰 것은 RI가 1476일 때와 1486일 때로 둘다 생능이 버섯내를 나타내었다. 이 성분들은 휘발성이 강하고 역치가 낮아 GC/MS로 동정되지 않았지만<sup>(24,25,26)</sup> 능이버섯의 향을 내는 중요한 성분일 것이라 생각되어진다. Fig. 3는 SDE추출물의 GC chromatogram결과를 나타내었다. 그림에서 알 수 있듯이 FD factor와 peak area%의 유형이 다르게 나타났으며, 이는 화합물의 양과 향의 강도가 일치하지 않음을 알 수 있다. 즉 역치가 낮은 화합물은 양이 적어도 높은 FD factor를 나타내어 향의 특성에 중요한 영향을 미친다. Fig. 4과 Fig. 5는 SFE추출물에서의 RI에 따른 sniffing test와 GC peak area %를 각각 나타낸 것으로, 화합물의 검출한계와 역치등이 달라 sniffing test에 의해 정성된 화합물이 GC/MS로는 정성되지 않는 결과를 나타내었다. 또한 GC/MS에 의해 정성된 화합물 중에 낮은 증기압으로 인해 GC/olfactometry 결과에 나타나지 않는 화합물도 있다<sup>(27)</sup>. Fig 4을 보면 능이버섯의 향기활성이 강한 성분은 주로 GC전반부에 나타났으며, 특히 RI 1476 일 때와 1481일 때 향기 활성이 크게 나타났다. 이는 SDE추출물의 AEDA결과와 유사하며, 이 성분들을 비롯하여 FD factor가 큰 화합물 즉, 활성이 강한 향기성분은 대부분 GC/MS로 동정되지 않았다. Fig. 6와 Fig. 7은 Headspace에서의 RI에 따른 sniffing test와 GC peak area %를 각각 나타내었다. Headspace GC/olfactometry에서는 단계적으로 취하는 시료량이 적을 때 감지되는 향기 성분이 상대적으로 강한 향기특성을 나타내는 것으로 말할 수 있는데, 강한 향기특성은 GC전반부에서 대부분 감지되었다. 이는 같은 FD factor라도 SFE추출물과 SDE추출물에서 감지된 향보다 더 강하게 나타났다. 이상의 결과에서 처럼 추출방법에 따라 향의 profile은 각각 다르게 나타났으나, 생능이버섯내를 나타내는 RI(1486)는 3가지 추출방법 모두에서 높게 나타나는 특징을 보였다. 능이버섯의 독특한 향기특성은 C<sub>8</sub> 화합물들을 비롯하여 GC/MS로 정성된 여러 성분들과 AEDA법으로 확인된 미량 성분들이 상호 작용하여 나타내어지는 것으로 생각된다.

Table 1. Volatile compounds of *Sarcodon aspratus* with three different extracting conditions.

RI	Compounds	Peak area(%)			odor description
		SDE	SFE	Headspace	
1163	2-methyl-2-pentenal	—	—	0.20	grassy
1254	3-octanone	7.72	—	—	
1280	3-hydroxy-2-butanone	1.10	0.37	—	mild cheese
1296	1-octen-3-one	16.85	—	54.52	fungus
1360	allyl-iso-thiocyanate	—	0.42	10.68	pungent sauce
1391	3-octanol	2.51	0.69	0.21	bitter herb
1418	2-octenal	—	—	0.29	green leafy
1442	1-octen-3-ol	24.84	14.28	4.65	fungus-like
1452	furfural	2.05	—	0.15	almond-like
1468	2-decanone	0.37	0.48	0.21	orange-like
1506	propanoic acid	—	0.27	0.18	sour mike
1514	L-linalool	—	0.58	—	woody
1525	1-octanol	4.89	4.14	—	mild herb
1534	2-methyl-propanoic acid	—	3.77	—	
1550	3-methyl-2-cyclohexen-1-ol	0.46	—	—	
1572	3-hydroxy-2-methyl-pentanal	0.50	—	2.38	
1583	2-octen-1-ol	283	1.96	—	
1594	butyric acid	—	0.27	—	rancid butter-like
1606	benzeneacetaldehyde	8.63	1.49	—	refreshing sweet
1632	furfuryl alcohol	0.27	0.27	0.42	burnt odor
1643	3-thiophenecarboxaldehyde	0.23	—	0.32	
1680	3-methyl thiopropanol	—	0.27	0.27	unpleasantmeat like
1686	2-propionylthiazole	0.23	—	0.36	
1709	undecenal	0.46	—	—	dry floral
1757	pentacosane	—	—	0.42	
1767	2,4-decadienal	0.09	—	—	fresh citrusy
1770	2,5-diformylthiophene	0.32	—	0.36	
1912	2-hydroxy-5-methyl-benzoic acid	0.23	—	0.35	
2012	octanoic acid	—	0.53	—	sweet like



Table. 1 Continued

RI	Compounds	Peak area(%)			odor description
		SDE	SFE	Headspace	
2045	hexadecane	0.14	—	—	
2055	2,6-di(t-butyl)-4-hydroxy- 4-methyl-2,5-cyclohexadien-1-one	0.37	0.42	—	
2080	tributyl ester phosphoric acid	1.23	—	—	
2121	nonanoic acid	—	0.21	—	mildly nut like
2145	heptadecane	0.09	—	—	
2245	octacosane	0.18	—	—	
2251	3-(methylthio)-propanoic acid	—	4.03	—	
2332	1-tetradecanol	—	—	—	
2343	heneicosane	0.18	—	—	
2385	benzoic acid	—	0.90	—	
2395	indole	0.23	—	—	
2434	dodecanoic acid	0.32	0.26	—	
2442	1-octadecene	—	0.26	—	
2497	benzeneacetic acid	—	17.52	—	
2508	teracosane	0.14	—	—	
2523	1-heptadecanol	—	—	—	
2529	N-(2-phenylethyl)-acetamide	0.46	2.12	—	
2598	2-methyl-3-(methoxycarbonyl)- 4,5,6,7,-tetrahydrobenzofuran	—	3.24	—	
2646	pentatriacontane	0.14	—	—	
2658	tetradecanoic acid	0.87	1.54	—	
2752	hexatriacetane	0.23	—	—	
2767	pentadecanoic acid	0.27	5.36	—	
Total	51	79.41	65.66	75.98	

SDE: simultaneous distillation and extraction

SFE: supercritical fluid extraction

RI: retention index

Table 2. Potent odorants (FD factor  $\geq 9$ ) in *S. aspratus*

RI <sup>a</sup>	Compounds	odor description <sup>b</sup>	FD factor		
			SDE	SFE	Headspace
1296	1-octen-3-one	fungus	9	9	9
1323	unknown	mild mushroom	—	9	9
1360	ally thiocarbonimide	pungent sauce	27	—	9
1372	unknown	almond-like	27	9	9
1442	1-octen-3-ol	fungus-like	9	9	27
1468	2-decanone	orange-like	9	9	—
1476	unknown	mushroom-like	243	81	9
1481	unknown	woody	27	243	27
1486	unknown	mushroom	729	81	27
1498	unknown	mild herb	27	81	9
1506	propanoic acid	sour milk	—	27	—
1525	1-octanol	mild herb	9	9	9
1583	2-octen-1-ol	mushroom	9	—	9
1632	furfuryl alcohol	burnt odor	9	9	—
1709	undecenal	dry floral	—	9	—
1718	unknown	rose	—	27	—
1724	unknown	rotted mushroom-like	—	9	—
1733	unknown	rubber, burnt odor	—	9	—
1767	2,4-decadienal	fresh citrusy	9	—	—
1798	unknown	mushroom	9	—	—
2183	unknown	almond-like	—	27	—

a: Retention index on Restek-Stabilwax DA column

b: Odor description as signed during AEDA

SDE: simultaneous distillation and extraction

SFE: supercritical fluid extraction

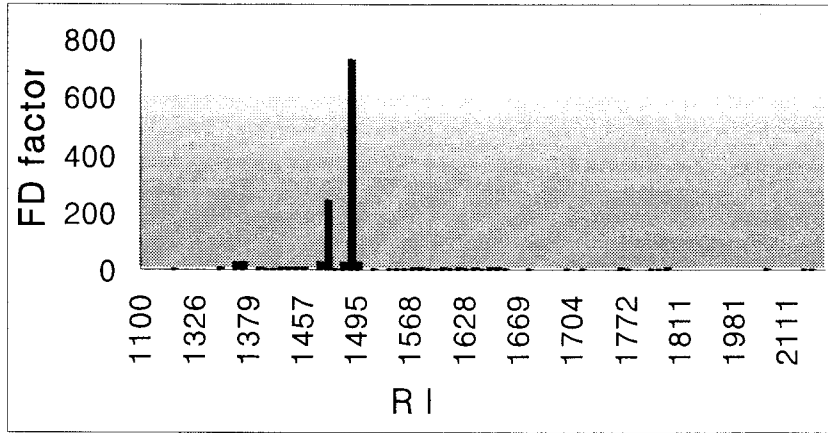


Fig 2. Results of sniffing test of flavor compounds in *S.aspratus* extracted by SDE.

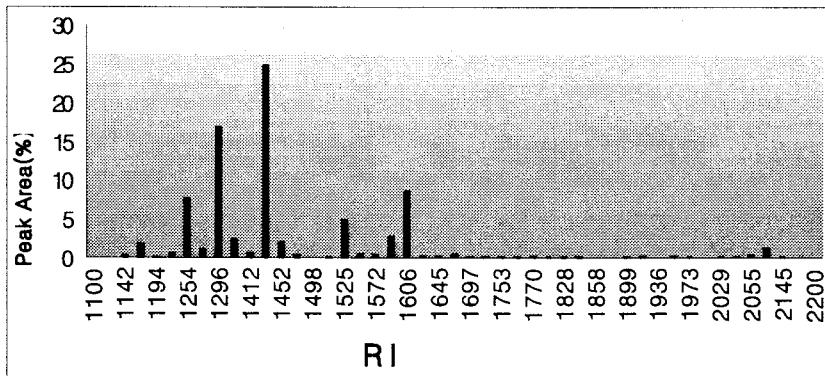


Fig 3. Results of gas chromatogram of flavor compounds in *S.aspratus* extracted by SDE.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

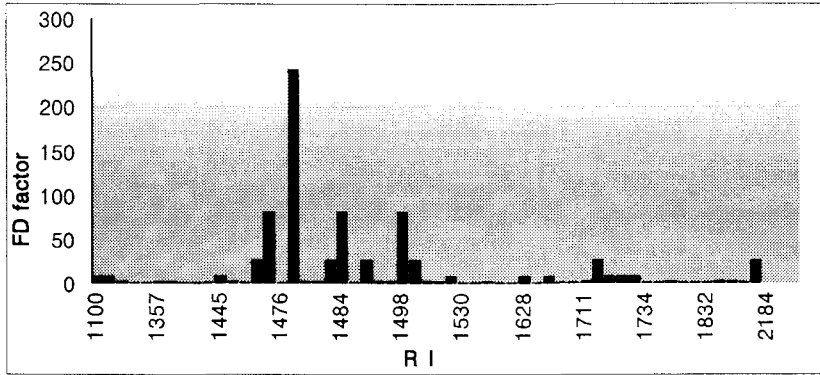


Fig 4. Results of sniffing test of flavor compounds in *Saspratus* extracted by SFE.

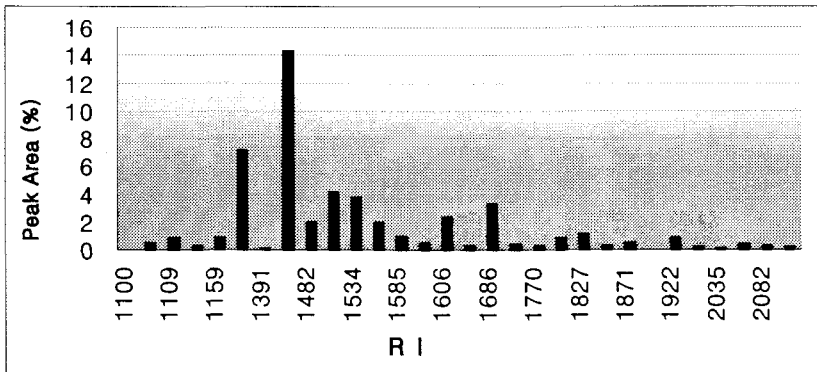


Fig 5. Results of gas chromatogram of flavor compounds in *Saspratus* extracted by SFE.

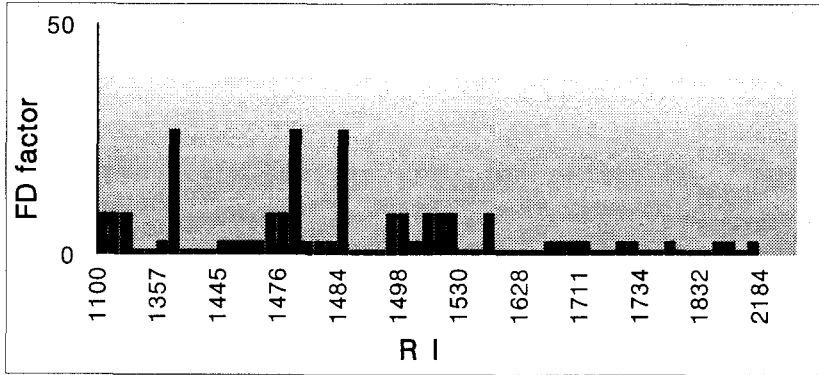


Fig 6. Results of sniffing test of flavor compounds in *S.aspratus* extracted by headspace.

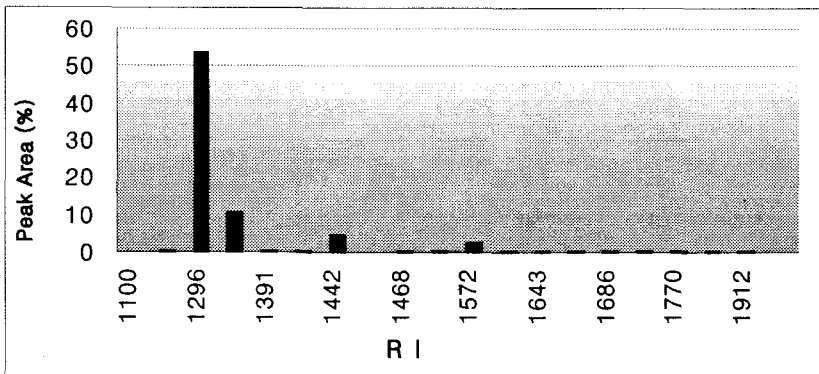


Fig 7. Results of gas chromatogram of flavor compounds in *S.aspratus* extracted by headspace.

### 3) 건조 온도의 영향

건조 풍속(0.5 m/s, 1.0 m/s, 1.5 m/s)에 따라 온도를 30℃, 50℃ 및 70℃로 변화시킨 경우 건조시간에 따른 수분함량의 변화를 Fig. 8, 9, 10에 나타내었고, 건조시간에 따른 건조속도 변화를 Fig. 11, 12, 13에 나타내었다. 모든 조건에서 온도의 영향이 나타나고 있으며 이것은 대부분 온도 증가함에 따라 비례적으로 증가하는 것을 볼 수 있다. 각 풍속에서 함수율의 비가 0.1%까지 건조되는데 소요

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

되는 시간을 보면 풍속 0.5 m/s에서 30℃일 때 13시간, 50℃일 때 12시간, 70℃일 때 8시간 소요되었고, 풍속 1.0 m/s에서 30℃일 때 12시간, 50℃일 때 11시간, 70℃일 때 5시간 소요되었다. 풍속 1.5 m/s에서는 30℃일 때 11시간, 50℃일 때 10시간, 70℃일 때 4시간 소요되었다. 온도가 높아질수록 초기에 급속히 건조되는 경향을 보이고 있으며, 이에 따라 건조 속도도 상승되었다. Fig. 11, 12, 13은 각 풍속에서의 온도별 건조속도를 나타낸 것으로 능이버섯의 경우 항률건조 기간이 매우 짧고, 상당기간이 감률건조 기간으로 나타나고 있다. 이는 대부분의 농산물에서 항률건조 기간은 나타나지 않거나 짧은 기간만 나타나고, 대부분이 감률건조 기간만 나타나는 것으로 보고된 결과와 일치한다.<sup>(28)</sup> 그리고 초기의 건조율은 급속하게 감소하고 일정 함수율에 도달한 이후 완만히 감소하는 것을 볼 수 있는데 이것은 1차와 2차의 감률건조 기간으로 나누어 생각할 수 있으며, 감률건조 1단계는 초기에 모세관 현상에 의한 건조가 진행되고, 감률건조 2단계는 수분층의 확산에 기인한 건조가 진행된다고 보고한 바 있다<sup>(30)</sup>. 건조온도가 향기 성분에 미치는 영향을 조사하기 위하여 상대습도 15%, 풍속 1.5 m/s의 건조조건에서 각 온도별 향기성분 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 각 온도별 향기성분의 차이는 능이버섯을 구성하고 있는 향기 화합물들간은 상대적 함량비에 의한 차이로 보이며, C<sub>8</sub> 화합물을 비롯하여 능이버섯의 주요 휘발성 향기성분으로 알려져 있는 여러 화합물들의 함량을 비교해본 결과 건조온도 50℃에서 1-octen-3-ol, 3-octanone, 1-octanol, 3-octanol등의 peak area가 각각 17976, 11570, 1016, 1077로 다른 건조온도 조건에 비해 높게 나타났으며, 능이버섯의 이취로 여겨지는 butyric acid, propanoic acid, 3-methyl thiopropanol등은 30℃의 온도에서 peak area가 다른 온도조건에 비해 높게 나타났고, 70℃의 온도에서 신선한 능이버섯의 향기성분으로 알려진 1-octen-3-ol은 다른 온도 조건에 비해 그 함량이 낮게 나타났다. 건조 후 능이향의 주성분인 C<sub>8</sub> 화합물을 비롯한 다른 능이버섯의 주요 휘발성 성분이 많이 남아있는 조건이 능이버섯을 건조하기 위한 온도로 적당하다고 생각되며, 따라서 1-octen-3-ol, 3-octanone, 1-octanol, 3-octanol등 C<sub>8</sub> 화합물이 많아 남아있는 건조 온도 50℃에서 건조할 때 향의 손실이 적을 것으로 사료된다.

#### 4) 건조 풍속의 영향

각 온도에서 풍속을 0.5 m/s, 1.0 m/s, 1.5 m/s로 변화시킬 때 건조 시간에 따른 수분함량 변화를 Fig. 14, 15, 16에 나타내었고, 건조시간에 따른 건조속도 변화를 Fig. 17, 18, 19에 나타내었다. 풍속을 0.5 m/s에서 1.5 m/s로 변화시키면서 수분함량 변화와 건조속도를 측정된 결과 각 풍속의 영향은 크게 나타나지 않았다. 이는 대두<sup>(30)</sup>, 소맥<sup>(29)</sup>, 보리<sup>(31)</sup> 등의 곡류나 버섯류<sup>(32)</sup>의 건조특성에서도 풍속은 건조속도에 크게 영향을 미치지 않는다고 보고한 바와 일치한다. 함수율의 비가 0.1 %까지 건조하는데 걸리는 소요시간을 보면 온도 30℃에서는 풍속 0.5 m/s일 때 13시간, 1.0 m/s일 때 13시간, 1.5 m/s일 때 12시간 소요되었고, 온도 50℃에서는 풍속 0.5 m/s일 때 12시간, 1.0 m/s일 때 11시간, 1.5 m/s일 때 9시간 소요되었으며, 온도 70℃일 경우 걸리는 소요시간은 0.5 m/s, 1.0 m/s, 1.5 m/s 일 때 각각 8시간, 6시간, 4시간이 소요되었다. Fig. 11, 12, 13에서는 대부분이 감률 건조 단계로 진행되며, 건조 후반기에 건조속도가 완만해 지는데, 이는 건조 후반기의 건조속도는 풍속과 같은 외부조건 보다는 고체내부의 수분이동조건에 지배되기 때문이라고 생각한다.<sup>(31)</sup> Table 4는 풍속이 향기에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각 풍속별 향기성분의 peak area를 측정된 결과 각 조건에서의 peak area의 차이는 크게 없었으며, 그 수치가 비슷하게 나타난 것으로 보아 풍속은 향기성분에 크게 영향을 미치지 않았다고 사료된다.

#### 5) 건조시간에 따른 향기성분의 변화

건조과정 중 향기성분 변화를 조사하기 위하여 건조온도 50 ℃, 풍속 1.5 m/s의 건조조건에서 시간에 따른 향기성분의 변화를 측정하였다. Table 5에 나타난 결과와 같이 신선한 능이버섯의 주요 향기성분은 1-octen-3-ol, 1-octen-3-one, 3-octanone, 1-octanol, 2-octen-1-ol, 3-octanol등의 C<sub>8</sub> 화합물과 benzeneacetaldehyde등으로 보고되었으므로<sup>(12)</sup>, 이런 주요 향기성분을 중심으로 향기 성분 변화를 조사하였다. 건조 과정 중 신선한 능이버섯에 다량 존재하던 1-octen-3-ol은 건조시간 경과에 따라 상대적인 함량비(peak area%)가 점점 감소하였으며, 절대적인 peak area값도 249114에서 17976으로 상당히 감소 하였다.

농어의 입지재배 기술 및 기능성 개발

이를 비롯한 1-octanol, 2-octen-1-ol, 3-octanol 등의 C<sub>8</sub> 화합물들의 함량비도 감소하였다. 이는 건조된 표고버섯의 향기성분중 1-octen-3-ol의 함량이 75%에서 1.34%로 상당히 감소한 연구 결과와 같으며, 건조과정 중 주요 향기성분이 소실됨을 확인하였다. 그러나 C<sub>8</sub> 화합물 중 1-octen-3-one의 함량은 증가하였으며, 이는 1-octen-3-ol의 산화에 의해 1-octen-3-one이 형성된다고 보고하고 있다<sup>(32)</sup>. 이외에도 3-octane, undecenal 등의 함량이 증가하였으며, butyric acid, propanoic acid, 3-methyl thiopropanol, 2-octenal 등이 건조된 농이버섯에서 검출되었다. 이는 버섯의 품질에 관련된 휘발성 향기성분은 열을 가할 때 상당한 변화가 있다고 보고된바와 같다<sup>(32)</sup>.

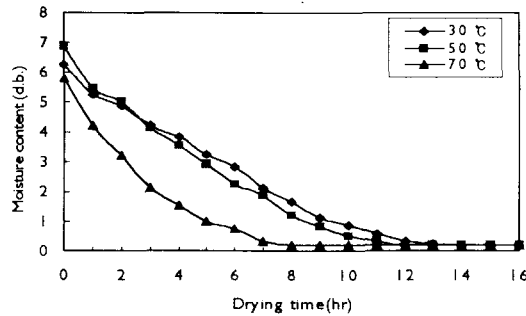


Fig. 8. Moisture content vs. drying time for *S.aspratus* at the air velocity of 0.5 m/s.

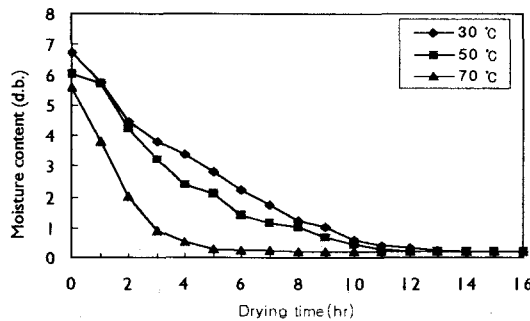


Fig. 9. Moisture content vs. drying time for *S.aspratus* at the air velocity of 1.0 m/s.



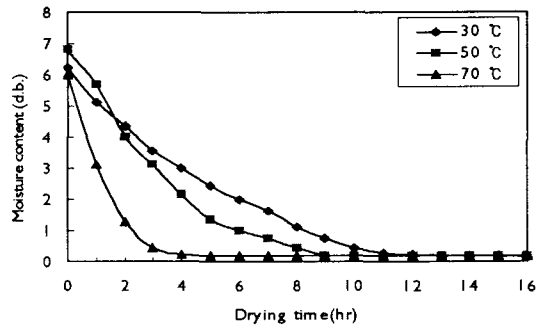


Fig. 10. Moisture content vs. drying time for *S.aspratus* at the air velocity of 1.5 m/s.

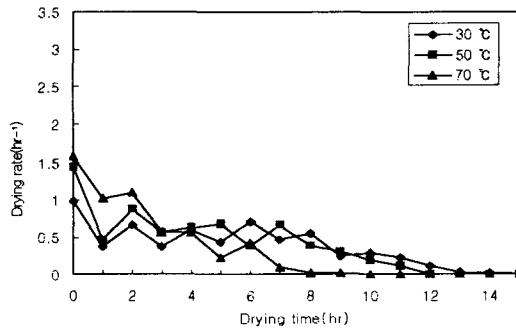


Fig. 11. Drying rate vs. drying time for *S.aspratus* at the air velocity of 0.5 m/s.

농어의 임지재배 기술 및 기능성 개발

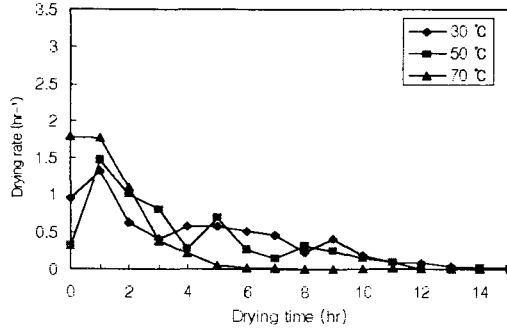


Fig. 12. Drying rate vs. drying time for *S.aspratus* at the air velocity of 1.0 m/s.

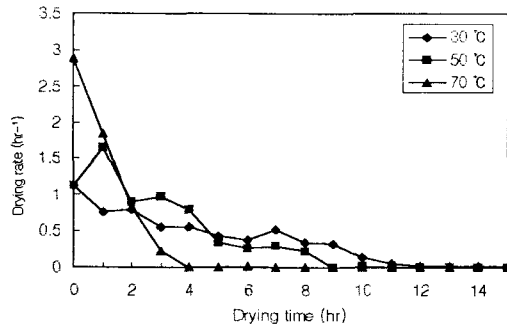


Fig. 13. Drying rate vs. drying time for *S.aspratus* at the air velocity of 1.5 m/s.

Table 3. Changes in major volatile compounds of Neungee(*Sarcodon aspratus*) by drying temp.

RI	Compounds	30℃		50℃		70℃	
		Peak area	Peak area (%)	Peak area	Peak area (%)	Peak area	Peak area (%)
1254	3-octanone	4363	4.27	11570	8.75	7090	1.25
1280	3-hydroxy-2-butanone	—	—	1294	0.98	1621	0.97
1296	1-octen-3-one	14663	14.35	31513	23.83	56852	34.01
1391	3-octanol	—	—	1077	0.81	384	0.23
1418	2-octenal	—	—	158	0.11	702	0.42
1442	1-octen-3-ol	15082	14.76	17976	13.59	11504	6.88
1452	furfural	—	—	—	—	2926	1.75
1468	2-decanone	153	0.15	549	0.41	702	0.42
1506	propanoic acid	1757	1.72	1177	0.85	—	—
1525	1-octanol	510	0.5	1016	0.76	—	—
1550	3-methyl-2-cyclohexen-1-ol	—	—	2591	1.95	—	—
1572	3-hydroxy-2-methyl-pentanal	684	0.67	6295	4.76	819	0.49
1583	2-octen-1-ol	674	0.66	191	0.14	1220	0.73
1594	butyric acid	1798	1.76	1511	0.63	1438	0.86
1606	benzeneacetaldehyde	19241	18.83	5901	6.46	8745	5.23
1632	furfuryl alcohol	4628	4.53	2980	2.25	1621	0.97
1643	3-thiophenecarboxaldehyde	2166	2.12	2977	2.12	2543	1.2
1680	3-methyl thiopropanol	5494	5.38	877	0.67	276	0.21
1686	2-propionylthiazole	—	—	1143	0.86	819	0.49
1709	undecenal	510	0.50	1178	0.86	702	0.42
1767	2,4-decadienal	—	—	692	0.89	200	0.12
1912	2-hydroxy-5-methyl-benzoic acid	357	0.35	—	—	—	—
2012	octanoic acid	633	0.62	—	—	—	—
2245	octacosane	184	0.18	1143	0.86	1117	0.67
2251	3-(methylthio)-propanoic acid	—	—	—	—	1621	1.15
2343	heneicosane	—	—	1202	0.90	1601	0.95
2385	benzoic acid	776	0.76	1146	0.98	2857	1.7
Total 27			72.11		74.42		61.12

농이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

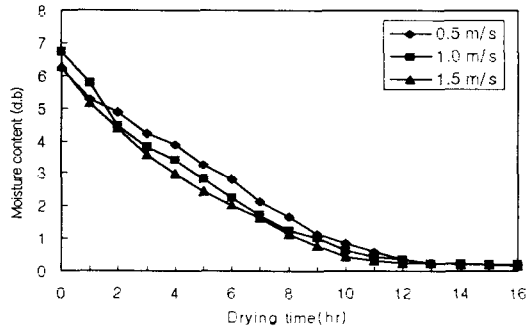


Fig. 14. Moisture content vs. drying time for *Saspratus* at the temperature of 30°C.

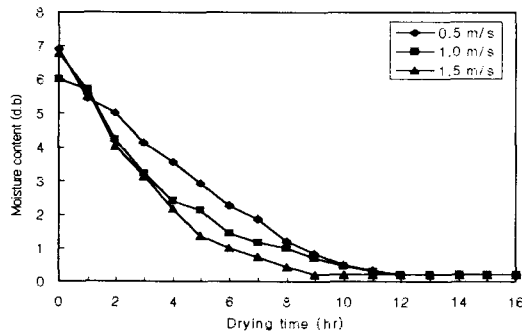


Fig. 15. Moisture content vs. drying time for *Saspratus* at the temperature of 50°C.

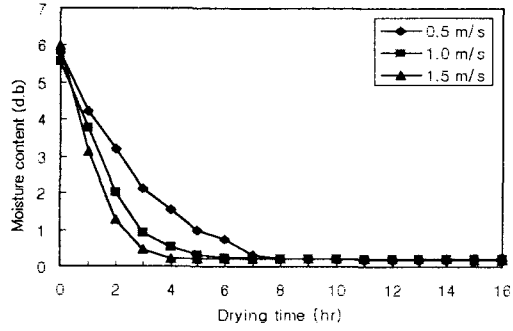


Fig. 16. Moisture content vs. drying time for *Saspratus* at the temperature of 70°C.

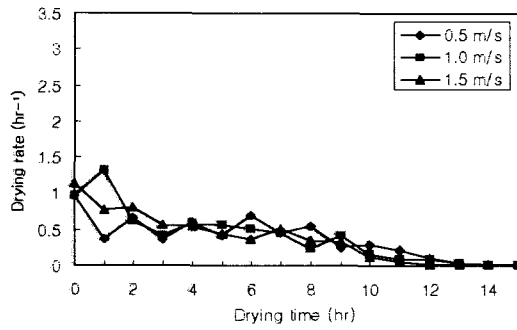


Fig. 17. Drying rate vs. drying time for *Saspratus* at the temperature of 30°C.

농이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

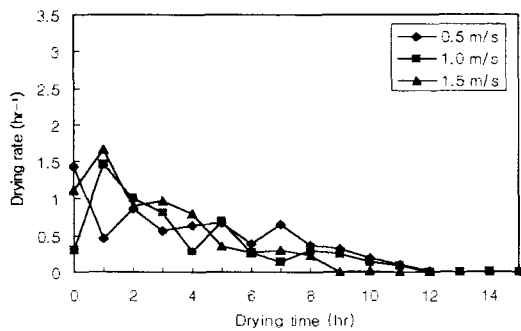


Fig. 18. Drying rate vs. drying time for *Saspratus* at the temperature of 50°C.

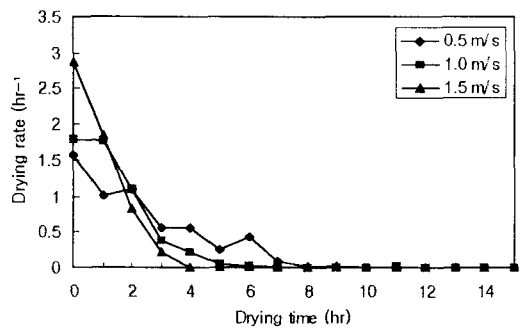


Fig. 19. Drying rate vs. drying time for *Saspratus* at the temperature of 70°C

Table 4. Changes in major volatile compounds of Neungee(*Sarcodon aspratus*) by drying air velocity.

RI	Compounds	0.5 m/s		1.0 m/s		1.5 m/s	
		Peak area	Peak area (%)	Peak area	Peak area (%)	Peak area	Peak area (%)
1254	3-octanone	9689	9.27	9491	8.27	11570	8.75
1280	3-hydroxy-2-butanone	—	—	—	—	1294	0.98
1296	1-octen-3-one	24406	23.35	27683	24.12	31513	23.83
1391	3-octanol	—	—	1411	1.23	1077	0.81
1418	2-octenal	—	—	516	0.45	158	0.11
1442	1-octen-3-ol	11246	10.76	14874	12.96	17976	13.59
1452	furfural	—	—	—	—	—	—
1468	2-decanone	156	0.15	275	0.24	549	0.41
1506	propanoic acid	752	0.72	596	0.52	1177	0.85
1525	1-octanol	522	0.5	527	0.46	1016	0.76
1550	3-methyl-2-cyclohexen-1-ol	—	—	619	0.54	2591	1.95
1572	3-hydroxy-2-methyl-pentanal	3104	2.97	2708	2.36	6295	4.76
1583	2-octen-1-ol	167	0.16	596	0.52	191	0.14
1594	butyric acid	1839	1.76	1021	0.89	1511	0.63
1606	benzeneacetaldehyde	7138	6.83	7402	6.45	5901	6.46
1632	furfuryl alcohol	1599	1.53	1411	1.23	2980	2.25
1643	3-thiophenecarboxaldehyde	2215	2.12	3925	3.42	2977	2.12
1680	3-methyl thiopropanol	397	0.38	665	0.58	877	0.67
1686	2-propionylthiazole	—	—	413	0.36	1143	0.86
1709	undecenal	1567	1.50	1813	1.58	1178	0.86
1767	2,4-decadienal	—	—	1136	0.99	692	0.89
1912	2-hydroxy-5-methyl-benzoic acid	365	0.35	309	0.27	—	—
2012	octanoic acid	648	0.62	—	—	—	—
2245	octacosane	1233	1.18	1537	1.34	1143	0.86
2251	3-(methylthio)-propanoic acid	—	—	—	—	—	—
2343	heneicosane	—	—	1101	0.96	1202	0.90
2385	benzoic acid	1839	1.76	2111	1.84	1146	0.98
Total	27		65.91		71.58		74.42

Table 5. Changes in major volatile compounds of Neungee(*Sarcodon aspratus*) by drying time

RI	Compounds	3 hr		6 hr		9 hr	
		Peak area	Peak area (%)	Peak area	Peak area (%)	Peak area	Peak area (%)
1254	3-octanone	66750	6.52	14065	6.24	11570	8.75
1280	3-hydroxy-2-butanone	11451	1.12	3091	1.37	1294	0.98
1296	1-octen-3-one	215758	21.10	47031	20.87	31513	23.83
1391	3-octanol	1513	0.73	1095	0.48	1077	0.81
1418	2-octenal	2517	0.24	2763	0.27	158	0.11
1442	1-octen-3-ol	249114	24.36	46664	20.71	17976	13.59
1452	furfural	—	—	—	—	—	—
1468	2-decanone	1279	0.12	817	0.32	549	0.41
1506	propanoic acid	2259	0.22	1522	0.67	1177	0.85
1525	1-octanol	23302	2.27	2650	1.17	1016	0.76
1550	3-methyl-2-cyclohexen-1-ol	1351	0.13	1145	0.51	2591	1.95
1572	3-hydroxy-2-methyl-pentanal	1279	0.12	10141	4.5	6295	4.76
1583	2-octen-1-ol	6264	0.61	967	0.43	191	0.14
1594	butyric acid	1679	0.16	2889	1.28	1511	0.63
1606	benzeneacetaldehyde	47056	4.60	11896	5.27	5901	6.46
1632	furfuryl alcohol	3497	0.34	4411	1.95	2980	2.25
1643	3-thiophenecarboxaldehyde	7467	0.73	1983	0.88	2977	2.12
1680	3-methyl thiopropanol	9037	0.88	1203	0.53	877	0.67
1686	2-propionylthiazole	34547	3.37	1841	0.81	1143	0.86
1709	undecenal	5866	0.57	1548	0.68	1178	0.86
1767	2,4-decadienal	16415	1.6	1862	0.82	692	0.89
1770	2,5-diformylthiophene	1362	0.13	—	—	—	—
1912	2-hydroxy-5-methyl-benzoic acid	1523	0.23	—	—	—	—
2245	octacosane	—	—	2104	0.93	1143	0.86
2332	1-tetradecanol	—	—	—	—	1202	0.90
2343	heneicosane	4556	0.44	1045	0.48	1146	0.98
2385	benzoic acid	3775	0.36	—	—	—	—
Total	27		70.59		71.17		74.42

### 6) 건조 과정 중 수분함량변화

능이버섯은 표면에서 수분이 증발하기 위해서는 내부의 수분이 고체층을 통하여 표면으로 이동한다. 이를 내부확산이라 하고 이 이동 메카니즘은 여러 가지가 있다. 일반적으로 건조기작에서는 이들 메카니즘이 복합적으로 일어나며, 건조하는 동안 메카니즘은 수시로 변하므로 기작을 수식화하기는 어렵다. Table. 6은 능이버섯을 건조기내의 상대습도를 15%로 조절하고 온도와 풍속을 50℃, 1.5m/s로



건조하였을 때 무게의 변화와 수분함량의 변화를 보여준다. 능이버섯의 수분함량은 86.6789%로 건조 중의 변화를 살펴보면 Fig. 3에서 보듯이 처음 1시간 정도는 조금씩 줄다가 2시간에서 4시간까지 수분함량이 급격히 감소하는 경향을 보인다. 즉, 50℃, 15%에서 표면의 건조는 1시간 정도면 완전히 건조되고 1시간 이후에는 버섯내부의 수분이 표면으로 이동하고 있는 것을 짐작할 수 있다. 즉, 능이버섯은 표면건조가 1시간 이내에 이루어지는 것으로 짐작할 수 있다. 무게로 보면 3시간 동안은 급격히 감소하다가 그 이후에는 거의 일정해 지는 것을 볼 수 있다. 능이버섯의 건조특성은 1시간 이전에 표면건조가 일어나고 그 이후에는 내부확산에 의해 건조가 일어나고 4시간 정도면 주어진 조건으로 건조가 거의 완료되는 것을 볼 수 있었다.

Table 6. Changes in water constant during drying period.

시간(분)	무게(g)	수분함량(%)
0	4.6460	86.6789
30	3.7411	83.4567
60	2.8761	78.4810
90	2.1125	70.7030
120	1.5300	59.5481
150	1.0704	42.1805
180	0.8368	26.0397
210	0.7043	12.1255
240	0.6439	3.8826
270	0.6202	0.2150
300	0.6192	0.0484
330	0.6189	0.0000

#### 7) 건조 과정 중구조변화

능이버섯의 건조과정 중 구조는 수축되어 크기가 작아진 것을 볼 수 있었다. Table. 7에서 보듯이 능이버섯의 갓 두께의 변형율이 0.728인데 반해 갓 면의 변형율은 0.3805(가로, 세로의 평균)로 두께의 변형이 면의 변형보다 2배정도 큰 것을 보였다. 즉, 건조 중 능이버섯은 갓의 크기가 작아지고 두께가 상당히 얇아지

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

는 것으로 나타났다. 이는 능이버섯의 조직과 관련이 깊기 때문에 이를 구명하기 위해 조직을 포매하여 구조를 관찰해 보았다. Fig. 19 - Fig. 31은 능이버섯의 건조과정 중의 구조를 종단면과 횡단면으로 나누어 200배 확대하여 사진 촬영을 실시하였다. 종단면은 처음에 조직이 엉성하다가 건조 3시간정도 부터는 공극의 크기가 작아져 공극을 거의 찾아보기가 힘들었다. 반면 횡단면은 공극의 크기가 줄고 공극의 수는 많아 졌으나 종단면에 비해 변화폭이 작은 것을 알 수 있었다. 이는 갓의 두께의 변형율이 면의 변형율보다 큰 것을 뒷받침해준다. 즉, 능이버섯의 건조과정 중 조직 변화의 특성은 갓의 두께의 수축이 면의 수축보다 월등히 크게 나타나는 것을 알 수 있었다.

Table 7. Changes in organization during drying period.

시간(분)	가로(mm)	세로(mm)	높이(mm)
0	27.40	25.82	9.25
30	26.98	25.18	7.63
60	25.40	23.23	6.88
90	23.57	20.93	5.67
120	22.37	19.43	4.98
150	21.50	17.77	3.28
180	19.95	16.93	3.00
210	19.27	15.18	2.75
240	18.32	15.23	2.70
270	18.08	15.02	2.55
300	18.04	15.01	2.52
330	18.04	15.00	2.52
변형율	0.342	0.419	0.728

가. 종단면

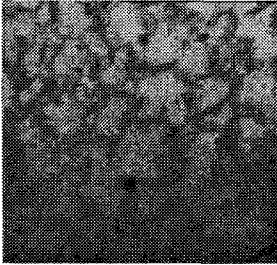


그림 20. 생능이

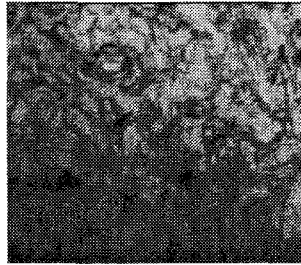


그림 21. 1시간 건조

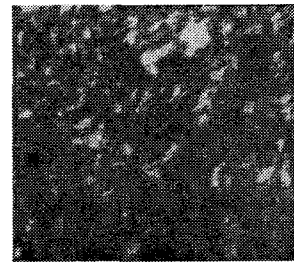


그림 22. 2시간 건조

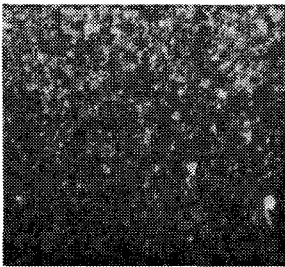


그림 23. 3시간 건조

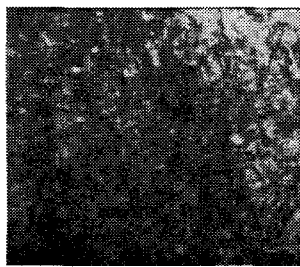


그림 24. 4시간 건조

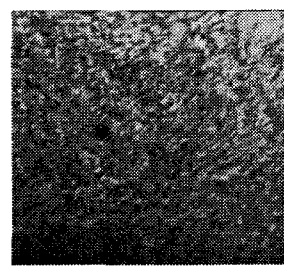


그림 25. 5시간 건조

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

### 나. 횡단면



그림 26. 생능이

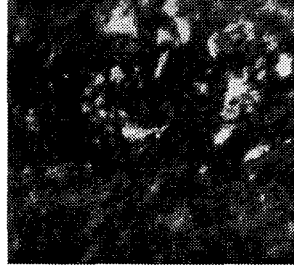


그림 27. 1시간 건조



그림 28. 2시간 건조

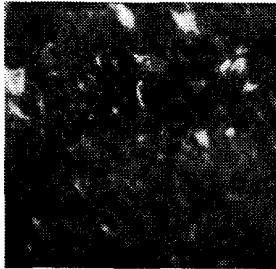


그림 29. 3시간 건조

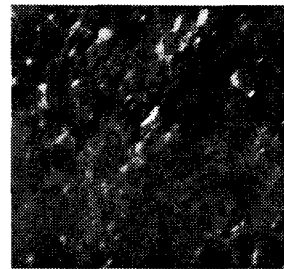


그림 30. 4시간 건조

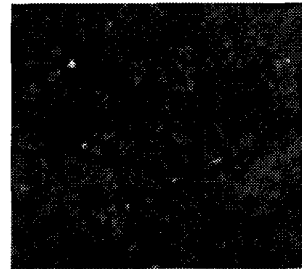


그림 31. 5시간 건조

### 8) 건조 과정 중 색도변화

건조과정에 따른 능이버섯의 색도 측정의 결과는 Table. 8에 나타내었다. L(lightness)값은 시간이 경과할수록 대체로 감소하는 경향을 보였고, a(redness) 값 또한 대체로 감소하였다. b(yellowness)값 또한 감소하여 건조과정 중 능이버섯의 색도는 전체적으로 검게 변화하였다.

Table 8. Changes in color during drying period.

구분	L	a	b	Eab
생능이	15.93	1.26	1.04	16.01
1시간 건조	15.45	1.08	0.89	15.51
2시간 건조	15.61	1.16	1.07	15.69
3시간 건조	15.34	1.10	1.04	15.41
4시간 건조	15.50	1.06	1.08	15.57
5시간 건조	13.78	0.51	0.57	13.80
5시간 재수화후	15.60	1.60	1.27	15.73

### 9) 건조과정 중 물성 변화

능이버섯의 건조과정 중 물성의 변화를 보면 Compression Distance, 즉 압축 거리는 건조시간에 따라 상당히 감소하였고, Hardness는 건조시간이 경과함에 따라 증가하였고, Surrender는 거의 일정한 수치를 나타냈다. Distortion은 감소하였고, Alleviation Time은 증가하였다. Alleviation Rate는 감소하였고, Softness는 감소하였고, Jelly Strength는 감소하였다. 생능이버섯의 갓의 두께에 대한 압축거리는 7.23mm이고 건조가 진행됨에 따라 거리가 짧아지는 것을 알 수 있다. 5시간 건조후의 압축거리는 2.97mm로 약 40.08%정도만 남고 수축된 것을 볼 수 있었다. 능이버섯은 건조가 진행되면서 조직이 단단해지고 구조변화에서 보듯이 조직의 수축으로 인하여 경도가 증가하고 Softness나 Jelly Strength 등의 부드러움을 나타내는 지표는 감소하는 것을 알 수 있다. 이는 농산물의 건조에서 대체적으로 나타나는 건조특성과 같은 것이다. 각 물성특성의 회귀방정식과 R<sup>2</sup>값은 다음과 같다.

1. Compression Distance :  $y = 0.0566x^3 - 0.4056x^2 - 0.4508x + 8.1833$   $R^2 = 0.9653$
2. Break Down :  $y = 171.75x^4 - 2012.7x^3 + 8048.7x^2 - 13220x + 10280$   $R^2 = 1$
3. Deformation Rate :  $y = 168.84x^4 - 2369.1x^3 + 12039x^2 - 26167x + 20545$   $R^2 = 1$
4. Hardness :  $y = 305.32x^3 + 6412.1x^2 + 14257x + 69246$   $R^2 = 0.993$
5. Surrender:  $y = -26.7x^5 + 479.67x^4 - 3245.8x^3 + 10181x^2 - 14485x + 88723$   $R^2 = 0.9996$
6. Distortion :  $y = -0.004x^4 + 0.0594x^3 - 0.3003x^2 + 0.482x + 0.3117$   $R^2 = 0.9977$
7. Alleviation Time :  $y = 0.1335x^4 - 2.0825x^3 + 10.352x^2 - 15.825x + 22.878$   $R^2 = 0.989$

능이버섯의 임지재배 기술 및 기능성 개발

8. Alleviation Rate:  $y = -0.012x^5 + 0.2012x^4 - 1.2408x^3 + 3.4437x^2 - 4.3422x + 2.86$   $R^2 = 1$   
 9. Softness :  $y = -0.0006x^4 + 0.0096x^3 - 0.0456x^2 + 0.0413x + 0.175$   $R^2 = 0.9979$   
 10. Jelly Strength :  $y = 9.0835x^3 + 14.463x^2 - 1197.6x + 5698.4$   $R^2 = 0.9975$

Table. 9. Changes in texture during drying period.

Drying time	Compression Distance (mm)	Hardness (dyn/cm <sup>2</sup> )	Surrender (dyn/cm <sup>2</sup> )	Distortion	Alleviation Time (sec)	Alleviation Rate	Softness (cm/kg)	Jelly Strength (g.cm)
0	7.23	90445	81626	0.55	15.52	0.91	0.18	4510.30
1	6.6	128209	81331	0.48	17.79	0.86	0.14	3462.06
2	4.29	166287	81626	0.35	23.8	0.71	0.10	2507.11
3	3.37	267053	81403	0.21	25.47	0.41	0.06	1611.36
4	3.21	326192	81454	0.17	26.02	0.42	0.05	1303.40
5	2.97	454829	81267	0.09	23.78	0.27	0.04	967.78

10) 재수화특성

능이버섯을 풍속은 1.5%로 고정시키고 온도를 달리하여 건조한 후 물에 담가 재수화 정도와 특성을 관찰한 결과는 Table.10 에서 보는 바와 같이 나타났다. 열풍건조를 시행한 능이버섯의 재수화율을 측정하고 증류수에 침지 후 처음 30~60분은 세조건 모두 급격히 증가한 것을 볼 수 있다. 60분 이후에는 거의 일정한 수치를 보였다. 조건별로 비교해보면 70℃로 건조한 것이 초기의 수분 흡수량이 많았고 50℃가 적었다. 그러나 시간이 지날수록 30℃와 70℃는 거의 비슷하게 나타났고 50℃만이 약간 작게 나왔으나 거의 차이가 나질 않았다. 각 온도별 재수화율은 30℃로 건조한 능이버섯은 39.22%이고, 50℃로 건조한 것은 40.35%, 70℃로 건조한 것은 40.51%로 나타나 재수화율은 건조온도와는 별 상관관계가 없는 것으로 보인다.

Table 10. 재수화 특성

재수화시간 (분)	30도 건조		50도 건조		70도 건조	
	시료무게	R	시료무게	R	시료무게	R
생능이	1.9787		2.0380		2.0937	
0	0.2589	0.0000	0.3080	0.0000	0.3022	0.0000
30	0.5749	0.1837	0.6392	0.1914	0.7568	0.2538
60	0.6672	0.2374	0.6684	0.2083	0.7899	0.2722
90	0.7136	0.2644	0.6807	0.2154	0.7970	0.2762
120	0.7343	0.2764	0.7051	0.2295	0.8260	0.2924
150	0.7506	0.2859	0.7479	0.2543	0.8386	0.2994
180	0.7615	0.2922	0.7753	0.2701	0.8308	0.2951
210	0.7557	0.2888	0.8051	0.2873	0.8521	0.3069
240	0.7890	0.3082	0.8057	0.2877	0.8711	0.3176
270	0.7806	0.3033	0.8275	0.3003	0.8363	0.2981
300	0.7760	0.3007	0.8223	0.2973	0.8482	0.3047

(R=생능이버섯의 수분무게에 대한 복원 후의 수분무게비, RH=15%, 풍속=1.5m/s)

### 11) 재수화 후 물성변화

능이버섯을 재수화 과정 중 물성의 변화를 측정된 결과는 Table. 11에서 나타낸 바와 같다. 재수화시간에 따라 완전 복원은 안됐지만 재수화 특성과 비슷하게 약 40%정도 복원되는 것을 알 수 있었다. Compression Distance는 복원 후 6.34 mm로 복원값이 큰 것으로 보였다. Hardness는 재수화 3시간까지는 감소하다가 그 이후에는 거의 일정하게 유지되었다. Surrender는 거의 변화가 없었고, Distortion은 재수화 2시간까지는 증가하다 그 이후에는 거의 일정한 수치를 보였다. Alleviation Time과 Rate는 거의 일정하였고, Softness는 0.11cm/kg로 생능이버섯과는 많은 차이를 나타냈다. Jelly Strength는 생능이버섯과 건조 후 값의 중간정도로 나타났다. 그러나 건조 전에 나타난 Break Down과 Deformation Rate는 나타나질 않았다. 종합해보면 재수화 후의 물성은 재수화 특성과 마찬가지로 약 40%정도 복원되는 것을 알 수 있었다. 각 물성특성간의 회귀방정식과 R<sup>2</sup>값은 다음과 같다.

$$1. \text{ Compression Distance: } y = -0.0317x^4 + 0.4267x^3 - 2.1433x^2 + 4.9883x + 1.44 \quad R^2 = 1$$

$$2. \text{ Hardness : } y = -5053.4x^4 + 64321x^3 - 282342x^2 + 477751x - 67345 \quad R^2 = 1$$

능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

- 3. Surrender :  $y = -6122x^4 + 77545x^3 - 336710x^2 + 559143x - 212230$   $R^2 = 1$
- 4. Distortion :  $y = -0.0046x^4 + 0.0692x^3 - 0.3754x^2 + 0.8808x - 0.4$   $R^2 = 1$
- 5. Alleviation Time :  $y = -0.1558x^4 + 0.835x^3 + 3.3458x^2 - 22.825x + 44.82$   $R^2 = 1$
- 6. Alleviation Rate :  $y = 0.0233x^4 - 0.2767x^3 + 1.1217x^2 - 1.8183x + 1.6$   $R^2 = 1$
- 7. Softness :  $y = 0.0008x^4 - 0.01x^3 + 0.0392x^2 - 0.05x + 0.11$   $R^2 = 1$
- 8. Jelly Strength :  $y = -1.6775x^4 + 28.345x^3 - 204.49x^2 + 759.5x + 1639.5$   $R^2 = 1$

Table 11. 재수화 과정중 물성 변화

재수화시 물성변화	Compression Distance (mm)	Hardness (dyn/cm <sup>2</sup> )	Surrender (dyn/cm <sup>2</sup> )	Distortion	Alleviation Time (sec)	Alleviation Rate	Softness (cm/kg)	Jelly Strength (g.cm)
생능이	7.23	90445	81626	0.55	15.52	0.91	0.18	4510.30
건조 후	2.97	454829	81267	0.09	23.78	0.27	0.04	967.78
1	4.68	187332	81626	0.17	26.02	0.65	0.09	2221.14
2	5.75	192507	32650	0.34	16.74	0.61	0.10	2540.43
3	6.07	152187	32650	0.36	16.38	0.66	0.11	2707.01
4	6.3	149098	32650	0.37	20.6	0.54	0.11	2790.30
5	6.34	144685	81626	0.4	21.32	0.55	0.11	2819.46

#### 4. 결론

1. 능이버섯의 향기성분을 SDE, SFE, headspace 로 추출하고 GC, GC-MS로 동정한 결과 SDE추출물에서는 33개, SFE추출물에서는 26개, headspace추출물에서는 17개의 화합물이 동정되었다. 확인된 화합물의 주성분은 1-octen-3-ol, 1-octen-3-one, 3-octanone, 2-octen-1-ol, 3-octanol, 1-octanol 등의 C<sub>8</sub> 화합물과 benzeneacetaldehyde 등이었다. AEDA 결과 능이버섯의 주된 향기특성으로는 생능이버섯내(unknown), 생버섯내(1-octen-3-ol), 곰팡이내(1-octen-3-one), 흙냄새(3-octanol), 풀내(1-octanol), 강한 풀내(2-octenal), 단 꽃내(benzeneacetaldehyde), 목재내(L-linalool), 치즈내(3-hydroxy-2-butanone), 상큼한 단내(2-decanone), 약간의 불쾌한 고기내(3-methyl thiopropanol), 시큼한 우



유내(propanoic acid) 등으로 나타났다.

2. 온도 3수준(30 °C, 50 °C, 70 °C)과 풍속 3수준(0.5 m/s, 1.0 m/s, 1.5 m/s)에서 능이버섯의 건조실험을 수행하였으며, 각 조건에서의 향기성분과 건조과정 중 향기 성분의 변화를 조사하였다. 능이버섯의 건조는 상당기간이 감률건조 기간으로 나타났으며, 건조속도는 건조온도가 높아질수록 증가했으나, 풍속은 건조에 미치는 영향이 작게 나타났다. 건조온도 50°C, 풍속 1.5 m/s의 건조조건에서 1-octen-3-ol, 3-octanone, 1-octanol, 3-octanol등의 peak area가 각각 17976, 11570, 1016, 1077로 다른 건조온도 조건에 비해 높게 나타났다. 건조시간에 따른 능이버섯의 주요 향기성분 함량 변화를 보면 1-octen-3-ol을 비롯한 1-octanol, 2-octen-1-ol, 3-octanol등의 C<sub>8</sub> 화합물 peak area가 크게 감소하였고, C<sub>8</sub> 화합물 중 1-octen-3-one, 3-octane등의 상대적 함량비는 증가하였다. 또한 건조과정 중 butyric acid, propanoic acid, 3-methyl thiopropanol 등과 같은 화합물이 생성되었다.

3. 능이버섯을 50°C, 1.5m/s, Rh=15%의 조건으로 건조하면서 물성을 Rheometer로 측정하였다. 건조시간에 따른 Strength, Compression Distance, Break Down, Deformation Rate, Hardness, Surrender, Distortion, Alleviation Time, Alleviation Rate, Softness, Jelly Strength등 물성특성 간의 회귀방정식을 구한 결과 응력이 최고로 도달하는데 걸리는 시간은 생능이버섯에서 10.83초, 건조된 능이버섯은 2.91초로 건조시간에 따라 짧아졌다. 능이버섯의 색도는 건조과정 중 L값과 a값은 감소하였고 b값은 증가하여 대체로 검게 변하였다. 구조는 두께의 변형율이 0.728인데 반해 면의 변형율은 0.3805로 두께의 변형이 면의 변형보다 2배정도 큰 것을 보였다. 즉, 건조 중 능이버섯은 갖의 크기가 작아지면서 두께가 상당히 얇아지는 것으로 나타났다. 능이버섯을 건조한 후 재수화시 재수화율은 40.5%정도 회복되었다. 응력이 최고로 도달하는데 걸리는 시간 또한 6.41초로 44.2%정도 회복된 것을 관찰할 수 있었다. 실험을 행한 물성 특성의 회복은 40% 정도로 재수화나 응력의 최고 도달 시간과 비슷한 복원율을 나타냈다.

## 제 4 절 능이를 위한 포장재 개발

### 1. 서론

최근 식품첨가물의 안전성 기준이 강화되고, 소비자가 이해하기 쉬운 천연제품 첨가물의 개발이 기대되고 있다. 키토산은 항균성을 이용한 천연 보존제로서 식품에 널리 응용되고 있다. 이러한 항 세균성과 항 곰팡이활성을 가지는 키토산을 이용하여 버섯의 부패를 막아 보존성을 향상시키고자 버섯 포장용 종이를 제조하였다.

식품의 저장수명을 연장시킬 목적으로 사용되고 있는 여러 식품보존제 중 소르빈산과 소르빈산 칼륨은 미국 내에서 안전성이 인정된 화합물(generally recognized as safe(GRAS))로 인체 내에서 지방산 대사 경로를 통해서 완전히 분해된다고 알려져 있다. 현재 제지공정에는 많은 화학 약품들이 사용되고 있는데, 이중 섬유간 결합을 증대시키기 위해서 많은 양의 강도향상제(binder) 들이 사용되고 있다. 강도향상제는 작용기에 따라 주요 기능인 결합력의 증대 이외에 부가적으로 균에 대한 저항성을 나타낼 수 있는 것들이 존재할 수도 있다. 일반적으로 제지업계에서 사용하는 강도향상제 중 VAEC(vinyl acetate ethylene copolymer)와 AVA(acrylic vinyl acetate) 그리고 식품 보존료 중 PS(potassium sorbate)를 초지시 내첨 하였을 때 종이에 미치는 강도적 영향과 항균성에 대하여 실험하였다. 강도향상제와 PS를 종이에 내첨 하였을 때 두 강도향상제 모두 PS의 첨가량이 증가함에 따라 강도가 증가하는 양상을 나타내었지만 강도향상제 대비 200%가 첨가되었을 경우 오히려 섬유간 결합을 방해하는 것으로 나타났다. 지합의 경우 강도향상제와 PS를 첨가함에 따라 지합이 개선되는 경향을 나타냈지만 지합 역시 과량의 PS가 첨가 됐을 때 지합을 저해하는 것으로 나타났다. 이는 강도향상제가 가지는 결합능력 이상의 (-) charge를 PS가 공급하기 때문에 섬유간 결합을 저해하여 지합과 강도의 저하를 가져오는 것으로 판단된다. 강도향상제의 종류에 따라서도 강도향상과 지합의 개선 정도가 달라졌는데 이는 강도향상제의 구조의 차이에 기인한 것으로 판단된다.

버섯의 저장 수명에 관여하는 여러 인자 중 가장 큰 요소는 호흡시 발생하는 CO<sub>2</sub>와 O<sub>2</sub> 그리고 호흡열에 의해서 발생하는 수분의 증발이기 때문에 저장 수명

을 연장하기 위해서는 버섯의 호흡 자체를 조절하는 방법이 가장 효과적이라고 할 수 있다. 솥은 자체가 가지는 내부 공극이 많기 때문에, 본 실험에서는 도관의 분포가 많은 환공재의 참나무 솥을 이용한 포장용지를 제조하여 버섯 저장시 버섯의 물성 변화와 솥을 첨가한 종이의 물성 변화를 측정하였다. 솥은 고체상 물질로 종이 제조시 강도를 저하시키기 때문에 기존 실험에서 강도와 항균성 모두에 긍정적인 효과를 나타낸 AVA(acrylic vinyl acetate)를 솥과 함께 첨가하여 종이를 제조하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

#### 1) 공시펄프

공시펄프는 대한펄프에서 공급받은 뉴질랜드산 Radiata pine으로 생산된 NBKP (Nadelholz Bleached Kraft Pulp)를 사용하였다.

#### 2) 키토산

(주) 바이오텍에서 공급받은 키토산 150 cPs를 사용하였다.

#### 3) 항균약품

식품보존료로 가장 많이 쓰이고 있는 소르빈산류중 소르빈산칼륨(potassium sorbate)을binder 대비 50%, 100%, 200%를 각각 첨가하였다.

#### 4) 강도향상제

제지용 강도향상제는 국내 L사의 AVA(Acrylic Vinyl Acetate)와 VAEC(Vinyl Acetate Ethylene Copolymer)를 전건 펄프 대비 5%로 사용하였다.

#### 5) 솥

참나무 솥을 분쇄기(MFC S1)에 갈아서 무작위 추출하여 전건 펄프대비 5%를 각각 첨가하였다.

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

### 나. 실험방법

#### 1) 펄프 고해

피브릴화 정도에 따른 강도 변화를 보기 위해 침엽수 펄프를 실험실용 Valley beater를 이용하여 고해하중 2.8 kgf와 5.6 kgf로 고해도 400 ml C.S.F., 500 ml C.S.F. 600 ml C.S.F.로 제조하였다.

#### 2) Chitosan 수용액 제조

가) 150 cPs의 chitosan을 lactic acid를 첨가하여 1, 2, 3% 농도로 제조하였다.

나) Chitosan을 내침하기 위해 0.5% 농도로 제조하였다.

#### 3) 키토산 종이 제조

가) TAPPI Standard T248 om-81에 의거 600 ml C.S.F.로 고해한 펄프를 평량  $60 \text{ g/m}^2$  으로 제조하였다.

나) 고해도 600 ml C.S.F.로 제조한 종이 위에 키토산 수용액을 농도별로 bar coater를 이용하여 coating 하였다.

다) TAPPI Standard T248 om-81에 의거 400 ml C.S.F.로 고해한 펄프에 chitosan 0.5%를 내침하여 제조하였다.

라) 고해도 600ml CSF로 제조한 종이 위에 키토산 수용액을 농도별로 bar coater를 이용하여 coating 하였다.

#### 4) 항균지 제조

수초지 제작시 0.3%로 희석한 지료에 강도향상제(5%)만 첨가한것과 강도향상제(5%)와 소르빈산 칼륨(50%, 100%, 200%)을 함께 첨가한 것을 실험실용 원형 초지기를 이용하여 제작하였다.

#### 5) 슛, 바인더 첨가 종이 제조

가) 수초지 제조

위의 공시 펄프를 실험실용 Valley Beater를 이용하여 5.4kgf의 고해 하중으로 여수도 500 ml C.S.F., TAPPI standard T248 om-81에 의거하여 평량 80 g/m<sup>2</sup>인 수초지를 제조하였다.

나) 숯 첨가 종이 제조

위의 수초지 제조와 동일한 조건에서 전건 펄프대비 5%의 숯을 첨가하여 제조하였다.

다) 숯과 강도향상제를 첨가한 종이 제조

위의 수초지 제조와 동일한 조건에서 전건 펄프대비 5%의 숯과 5%의 강도향상제를 첨가하여 제작하였다.

6) 종이의 기계적 특성 측정

TAPPI standard T 402에 의거하여 23±1 °C, 상대습도 50±2%의 조건에서 시험편을 조습 처리하여, 평량과 두께, 투기도(T 251 cm-85)를 측정 후 TAPPI standard T200 hm-88에 의거하여 시험편의 겉보기 밀도를 계산하였다.

7) 종이의 물리적 특성 측정

TAPPI standard T 220 om-88에 의거하여 조습처리 후, 압축강도, 파열강도, 인장강도(T 494 om-85), zero-span(T 231 cm-85)을 측정 후 T 220 sp-96에 의거하여 인장지수와 Page식을 이용하여 결합강도를 계산하여 약품첨가에 따른 강도변화를 측정하였다.

Page equation은 다음과 같다.

$$\frac{1}{T} = \frac{1}{F} + \frac{1}{B}$$

(T : 인장강도 F : 섬유자체강도 B : 결합강도)

8) 버섯포장실험

$$\cdot \text{중량감소율}(\%) = \frac{\text{처리전 무게} - \text{처리후 무게}}{\text{처리전 무게}} \times 100$$

· 결로량은 포장처리 후 포장재에 남아있는 수분을 전건시킨 킴와이프스로 닦아낸 후 무게를 측정하였다.

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

- 경도는 Fruits Hardness Tester를 이용하여 측정하였다.
- 색측정은 HUNTER L.a.b. 장치를 이용하여 측정하였다.

### 9) 항균성 시험

시험편과 대조편을 공시균으로 접종시킨 후 접종액과 일정량의 중화용액을 진탕시켜 배양된 세균을 추출한다. 이 중화액속에 존재하는 세균의 수가 측정되면 항균성이 있는 시험편과 대조편간의 세균 감소율을 측정한다.

시험조건은 시험균액을  $37 \pm 1$  °C에서 24-48시간 진탕배양 후 균수를 측정하였고, 공시균으로는 키토산을 내침한 실험에서는 *Staphylococcus aureus* ATCC. 6538 (황색포도상구균)을 사용하였고, 키토산을 코팅한 실험에서는 공시균(*E. coli* O-157ATCC 43895균)을 사용하였다.

$$\text{감소율(\%)} = \frac{Ma - Mb}{Ma}$$

Ma = 대조편의 24시간 배양 후 생균수 (3검체 평균치)

Mb = 시험편의 24시간 배양 후 생균수 (3검체 평균치)

## 3. 결과 및 고찰

### 가. 키토산 종이

#### 1) 고해하중에 따른 강도변화

종이를 만들기 위해서는 주원료가 되는 펄프에 물리적인 힘을 가해 펄프 섬유 개개에 피브릴화를 일으키는 고해(refining)라는 작업을 통해서 종이의 결합력을 높여준다. 이때 고해하중을 다르게 하면 펄프섬유의 성상이 다르게 된다. 고해하중이 높으면 섬유의 외부 변형이 많이 일어나고 고해하중이 낮으면 섬유내부의 변형이 많이 일어난다. 이러한 섬유의 변형성상에 따라서 종이의 강도적 특성 또한 다르게 나타난다. 아래의 Fig. 1, Fig. 2에서 보면 고해 하중이 낮고 고해를 많이 한 종이 강도적 특성이 높음을 알 수 있다. Chitosan의 첨가가 섬유간 결합력을 향상시켜 강도를 더 향상시키는 것을 알 수 있었다.

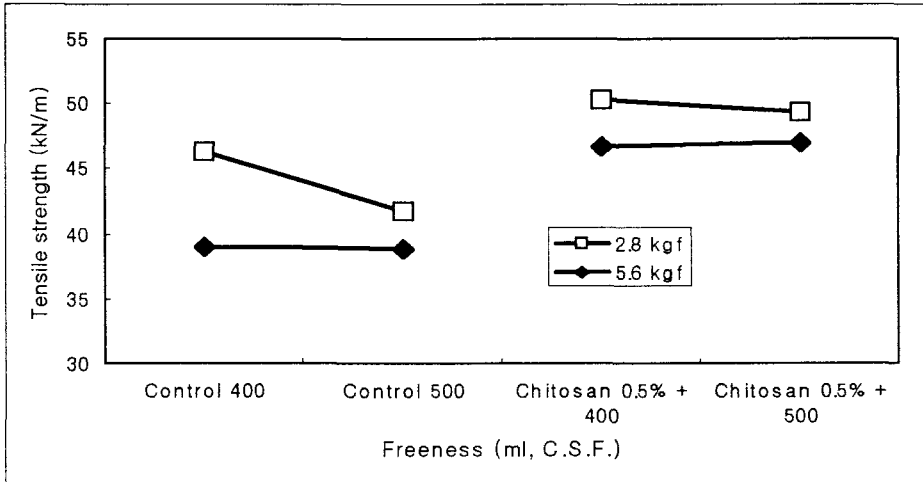


Fig. 1. Effect of refining load on tensile strength of chitosan added paper.

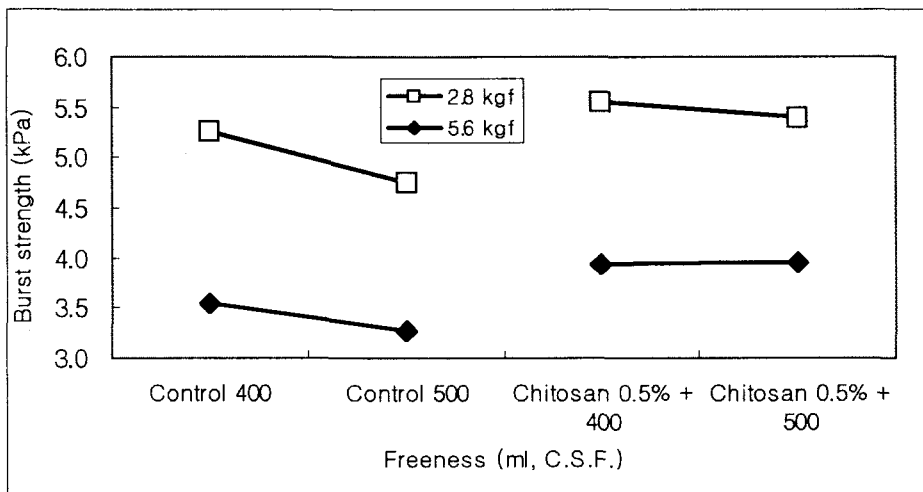


Fig. 2. Effect of refining load on burst strength of chitosan added paper.

아래의 Fig. 3은 chitosan 첨가에 따른 강도의 증가량을 나타내는 것으로 고해

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

하중이 높고 여수도를 낮게 한 것이 강도의 향상이 많았다. 이것은 섬유의 외부 변형이 많이 되어 chitosan의 분자들이 결합할 수 있는 구조적 공간이 많이 생긴 현상에 의한 것으로 보이며, 또한 고해를 적게 하면 종이 제조시 섬유와 섬유사이의 공극이 상대적으로 많기 때문에 결합할 때 chitosan이 같이 결합할 수 있는 구조적 형태를 가졌기 때문인 것으로 보인다.

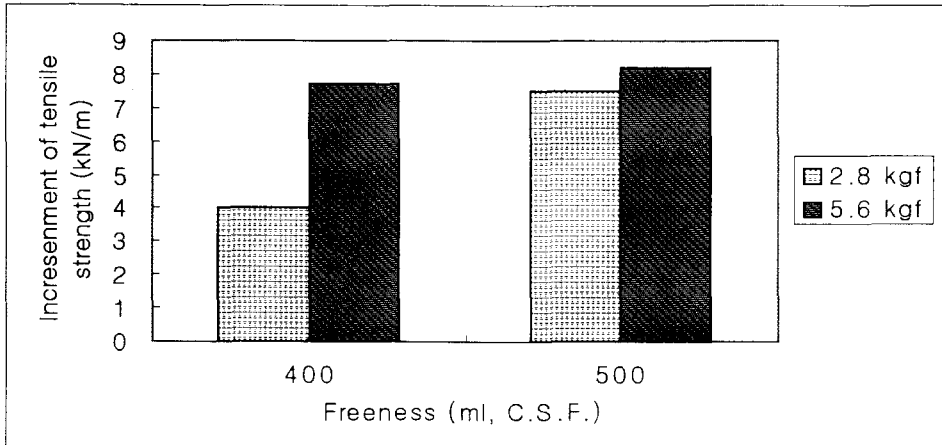


Fig. 3. Effect of freeness on tensile strength of chitosan added paper depending on refining load.

### 2) 코팅한 종이의 기계적 성질

Fig. 4에서 보면 coating 된 chitosan의 농도가 짙을수록 지합지수가 낮아지는 것을 볼 수 있다. 종이는 섬유의 네트워크 형성에 의해서 이루어지는 것으로 섬유와 섬유사이에는 공극이 많이 있다. 따라서 이런 종이 표면의 공극들 사이로 chitosan이 coating되면서 흡수, 침투해 들어가 종이 표면의 빈 공간을 채워주는 효과로 지합을 좋게 하는 것으로 판단된다. Fig. 5에서 보면 무처리의 기공도 값보다 chitosan 1%를 coating 한 종이가 기공도가 낮은 것을 볼 수 있다. 이는 지합지수가 낮아지는 것과 같은 원리로 섬유의 공극들 사이에 chitosan 용액이 흡수, 침투해 들어가 공극들을 메우기 때문에 일어나는 현상으로 판단된다. Chitosan 2%와 3%용액이 coating된 종이의 공극이 무처리보다 많아지는 것은, 용액의 농도가 짙어지면서 종이내부로 침투해 들어가지 못하게 되어 종이내부의 공극이 많이 줄어들지 못하고, 종이 표면 위에 coating된 층 자체의 공극들이



있기 때문에 판단된다.

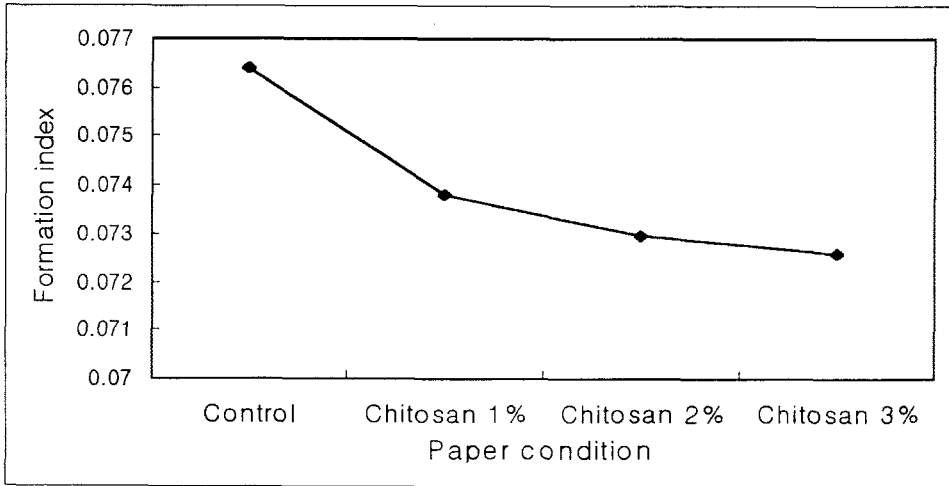


Fig. 4. Effect of chitosan concentration of coating solution on formation index.

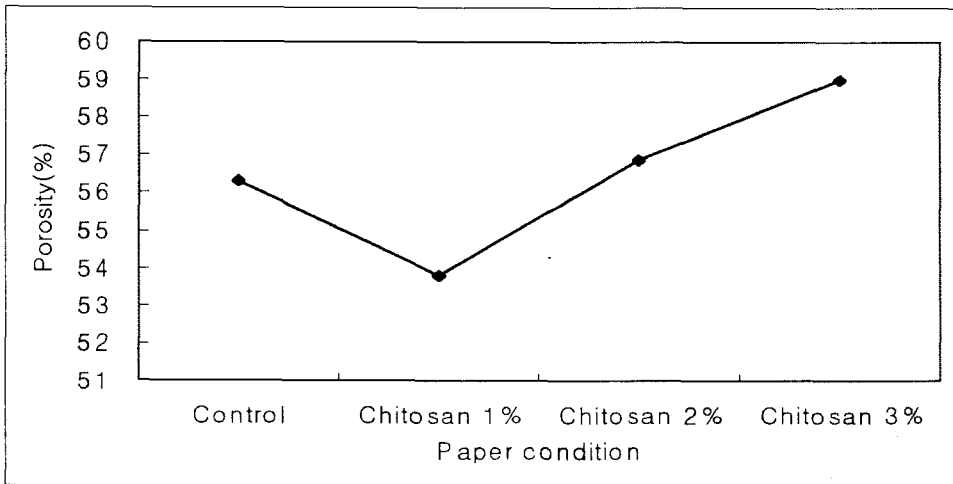


Fig. 5. Effect of chitosan concentration of coating solution on porosity.

Fig. 6에서는 공극의 평균 직경의 변화를 볼 수 있다. Chitosan 수용액 1%의

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

경우, 수용액의 침투현상이 작은 공극의 부분에서 상대적으로 많이 이루어지는 것으로 판단된다. Chitosan 수용액 2%와 3%의 경우, 농도가 상대적으로 높아서 작은 공극까지는 침투하지 못하고 커다란 공극에만 침투해 들어가는 것으로 보인다. Chitosan 수용액 농도를 높이면 공극의 크기가 작아지는 결과를 이용해, 식품을 포장할 경우 포장된 식품의 유통조건에서 필요한 대기조건에 따라서 포장재 생산시 chitosan coating 수용액 농도를 조절할 수 있겠다. Chitosan의 농도가 낮으면 종이를 구성하고 있는 섬유의 팽윤이 유도되어 기공 크기가 커지는 현상으로 이해되기도 한다. Fig. 7에서는 chitosan coating 종이의 건조속도가 chitosan 수용액 농도가 높아질수록 빠른 것을 보여준다. 농도가 높을수록 수분의 함량이 적기 때문일 것이다. 종이의 생산비에서 건조비용이 가장 많이 든다. 따라서 다른 문제를 일으키지 않는다면 종이를 생산할 때 증발시켜야 하는 수분의 양이 적은, 즉 chitosan 수용액 농도가 높은 것이 좋을 것으로 판단된다.

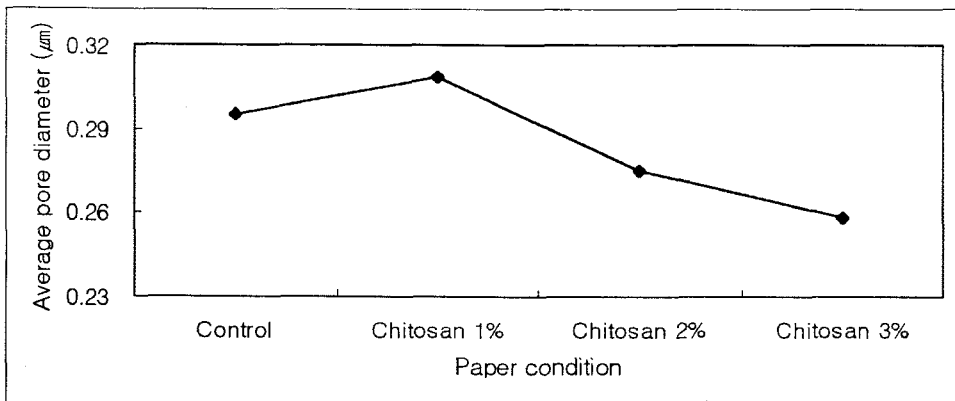


Fig. 6. Average pore diameter.

### 3) Coating한 종이의 강도적 성질

식품의 유통과정에 있어서 종이의 강도는 매우 중요하다. Figs. 7-8을 보면 양쪽에서 잡아당길 때 버티는 힘인 인장강도와 외부의 충격에 버티는 파열강도의 증감경향이 같음을 알 수 있다. Chitosan 농도 증가에 따라서 강도가 증가하다가 고농도인 3%에서는 감소하였다. Chitosan 3%수용액은 종이내부로 깊이 흡수, 침

투하지 못하고 표면에서 존재하는 양이 많아 섬유간 결합에 영향을 미치지 못하였기 때문이다. 유통과정에서 포장지의 보존 측면 즉 포장재의 강도로 볼 때 chitosan 2%의 수용액이 가장 좋을 것이다.

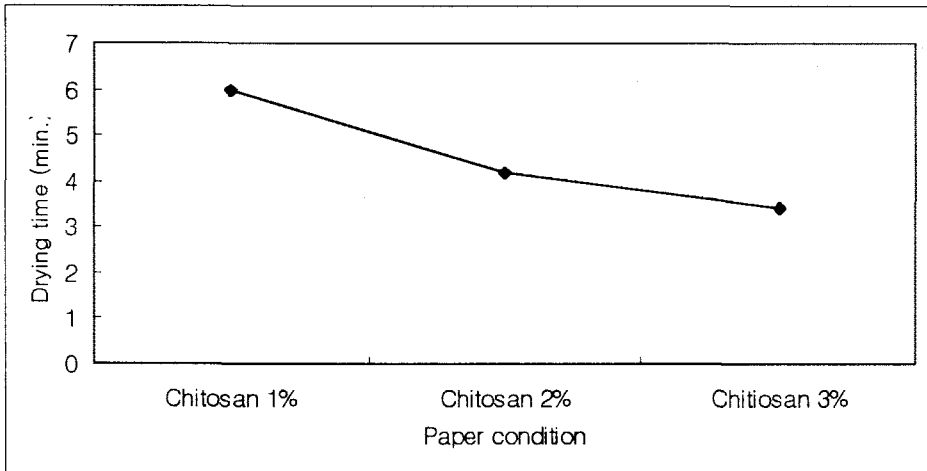


Fig. 7. Drying time.

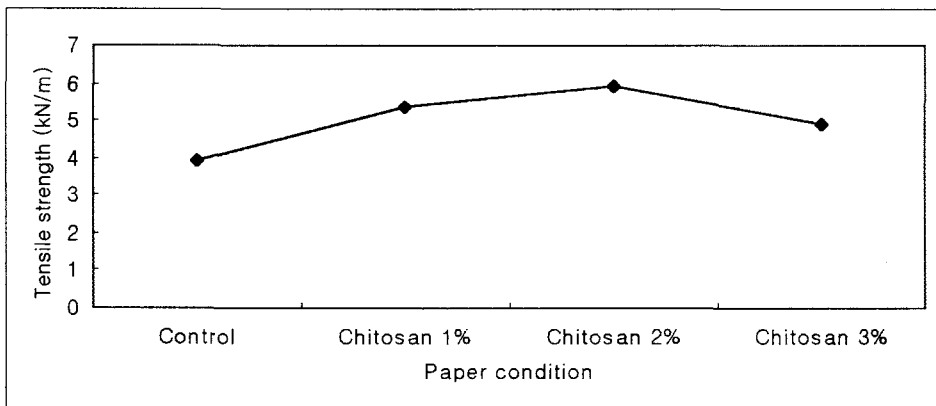


Fig. 8. Tensile strength.

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

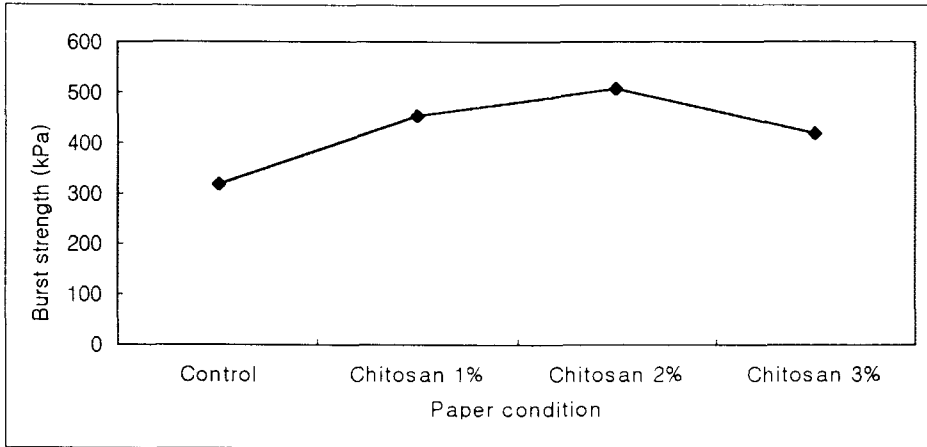


Fig. 9. Burst strength.

### 4) 기본적인 버섯 포장 실험 결과

#### 가) 중량감소율, 결로량, 갓의 경도

키토산의 항세균성과 항곰팡이활성 특성을 이용하여 저장수명을 연장하고자 종이 포장재에 키토산 코팅을 하였다. 5일간 버섯 저장실험을 실시하여 키토산의 특성을 분석하였다. Fig. 6은 중량감소율을 나타낸 것인데 초기의 중량이 비슷하였고 감소율도 거의 비슷하였다. Fig. 7은 결로량으로 소비자들이 제품을 선택할 때 신선도를 주로 판단하는 특성인 포장 tray나 램에 맺힌 수분의 양을 측정하는 것이다. 무처리한 종이보다 키토산 코팅한 종이의 결로량이 적게 나타났으므로 소비자들에게 좀 더 신선해 보일 수 있는 특성을 갖는다. Fig. 8은 버섯의 갓 부분의 경도를 측정하는 것인데 초기 경도 값은 거의 비슷하였으나 무처리한 종이에 비해 키토산 코팅한 종이를 포장재로 사용한 것이 저장하는 동안 경도 변화가 적게 나타났다.

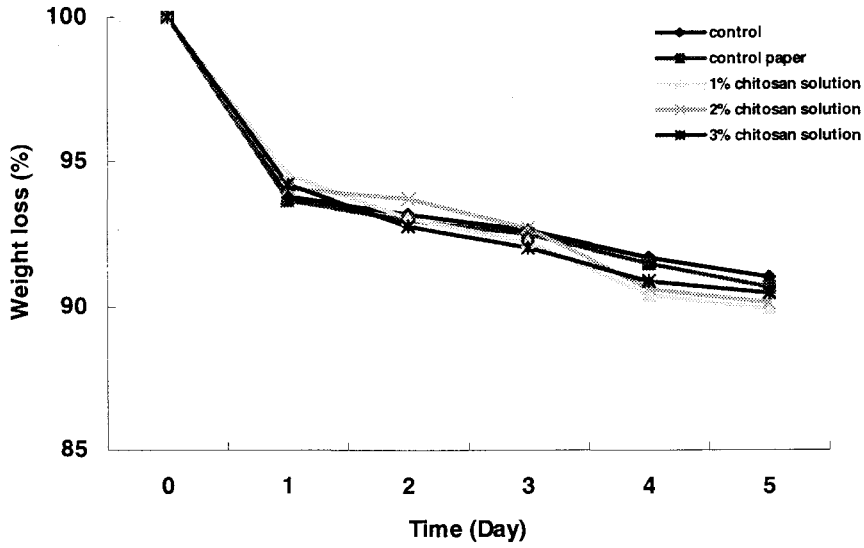


Fig. 10. Weight loss of mushroom during storage period.

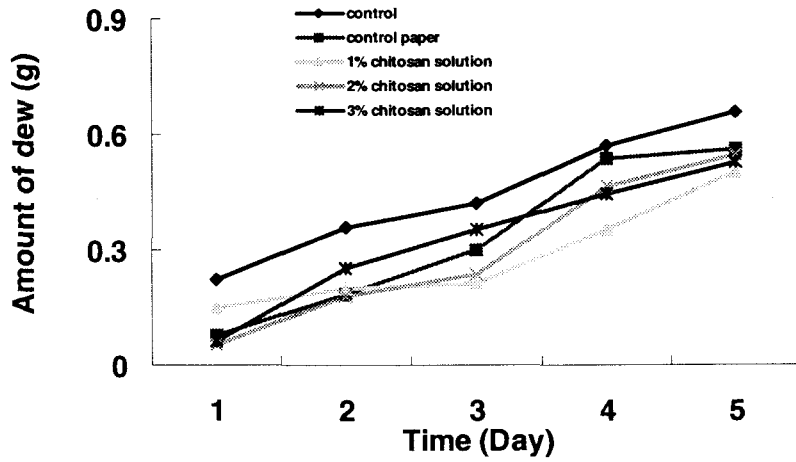


Fig. 11. Quantity dew of mushroom during storage period.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

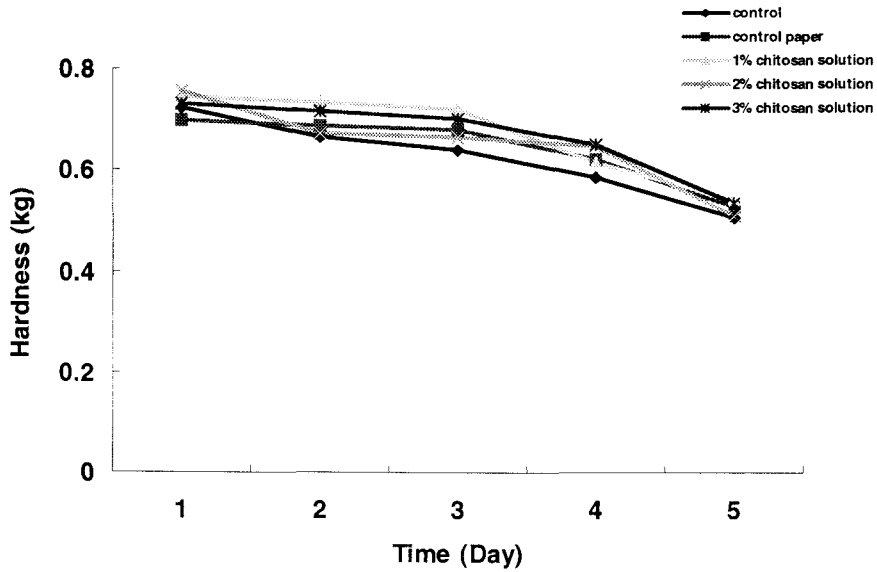


Fig. 12. Hardness of mushroom during storage period.

5) Coating 한 종이의 항균성

Table 1. Antibiosis of paper depending on chitosan concentration of coating solution

Concentration of chitosan solution (%)	Control	1	2	3
초기균수( $\times 10^9$ )	1.5	1.5	1.5	1.5
24시간후	$4.3 \times 10^9$	$1.4 \times 10^4$	$1.4 \times 10^4$	$1.4 \times 10^4$
세균감소율(%)	93.8	99.8	99.8	99.8

*E-coli* O-157 균은 육류에서 많이 발생하는 균으로서 사람에게 매우 해로운 균이며 유통과정에서 발생하는 경우가 많다. 서구 선진국에서는 육류를 종이에 포장해서 판매를 한다. 머지않아 국내에서도 육류의 종이포장 판매가 될 것이다.

### 제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

위의 표를 보면 무처리한 종이도 세균감소율이 93.8%나 된다. 이것은 아마도 종이 제조시에 사용된 물의 성분이 산성인 것과 여러 복합적인 요인에 의한 것으로 보인다. Coating된 chitosan 수용액의 농도에 상관없이 세균감소율은 높게 나왔다. Chitosan이 coating 된 종이가 *E-coli* O-157균에 대한 항균성을 가지고 있음을 알 수 있다.

Figs. 13-16은 chitosan coating 종이와 무처리 종이의 항균성을 보여주는 것으로, chitosan 코팅된 종이가 실제 균들의 성장을 억제하고 있는 것을 보여주고 있다.

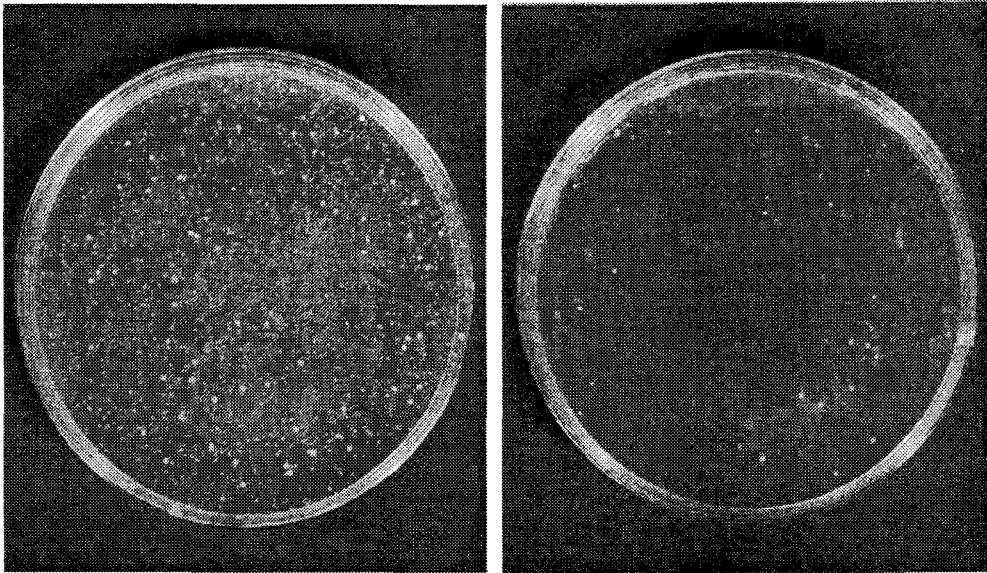


Fig. 13. Photography of colony at no chitosan treated paper.

Fig. 14. Photography of colony at chitosan 1% treated paper

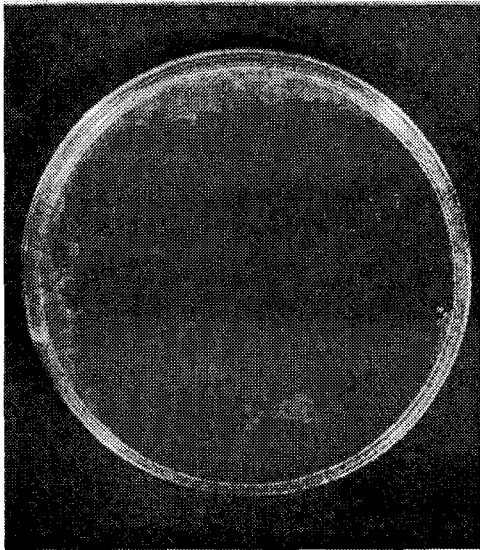


Fig. 15. Photography of colony at chitosan 2% treated paper.

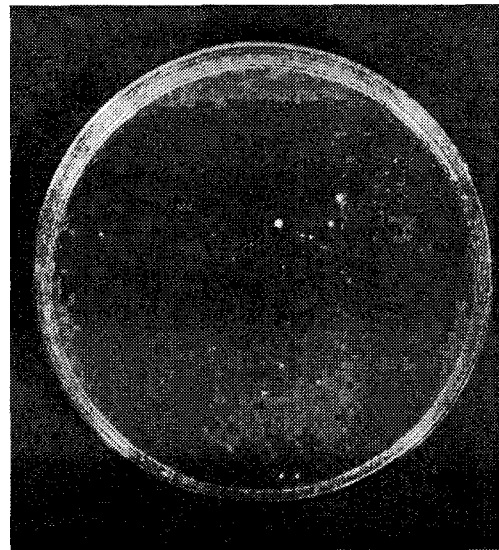


Fig. 16. Photography of colony at chitosan 3% treated paper.

## 나. 항균지

### 1) 종이의 구조적 특성변화

#### 가) 겉보기 밀도 변화

겉보기 밀도는 펄프·제지공업에서 공기중의 종이 중량을 단위면적과 두께의 곱으로 나눈 값을 말하며, 간단히 밀도라고도 한다. 종이의 겉보기 밀도는 종이의 기본적 특성 중 가장 중요한 특성이다.

Fig. 17은 강도향상제와 PS가 초지시 내첨 되었을 때 종이의 겉보기 밀도의 변화를 나타낸 것이다. 강도향상제만을 첨가하였을 때 무처리 시편보다 종이의 겉보기 밀도를 증가시키는데 강도향상제가 섬유간 결합을 증대 시켰기 때문이다. 강도향상제와 PS의 첨가량이 증가할수록 대체적으로 겉보기 밀도가 증가하였는데 (-) charge를 가지는 PS의 첨가가 강도향상제의 성능을 향상 시켰기 때문으



로 판단된다. 두 강도향상제간의 성능 차이는 크게 나타나지 않았고, 강도향상제와 PS의 혼합 첨가시 PS/강도향상제 100% 첨가이상은 별다른 효과를 나타내지 않는 것을 알 수 있다.

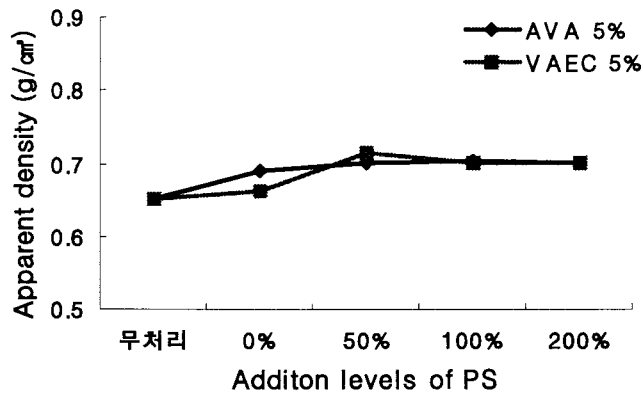


Fig. 17. Effect of PS consistency on apparent density.

나) 지합 변화

Fig. 18은 강도향상제와 PS의 내첨시 지합의 변화로서 낮은 지합 지수값을 나타낼수록 종이내 섬유 분포가 균일함을 나타낸다. 강도향상제와 PS가 첨가될수록 지합이 향상되는 경향을 나타낸다. 이는 초지전 해리상태의 섬유에 (+) charge의 강도향상제와 (-) charge의 PS가 첨가되었을 때 적당한 섬유간 엉킴 (flocculation)을 유발하기 때문에 지합의 향상을 가져온 것으로 판단된다. PS/강도향상제 100%이상의 경우 지합이 나빠지는 것으로 나타나는데 이는 과도한 (-) charge의 공급에 따른 영향으로 판단된다.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

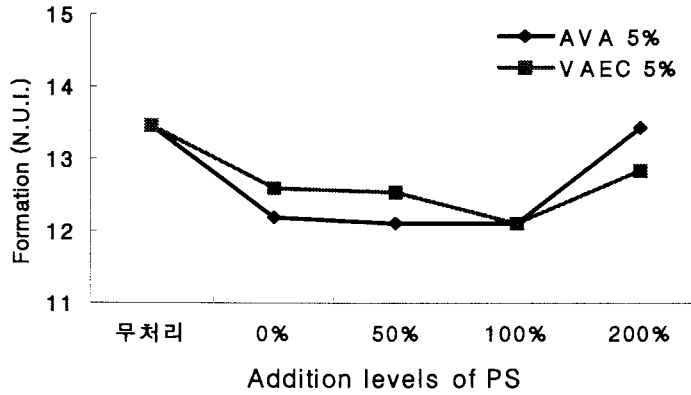


Fig. 18. Effect of chemical consistency on formation.

다) 투기도 변화

Fig. 19는 강도향상제와 PS의 내침시 종이의 투기도를 나타낸 것으로 약품 첨가량이 증가할수록 투기도가 낮아지는 것을 알 수 있다. 투기도 역시 PS/강도향상제 100% 이상에서 투기도가 나빠지는 경향을 나타내는데 이 역시 과도한 (-) charge의 공급으로 인한 영향으로 판단된다.

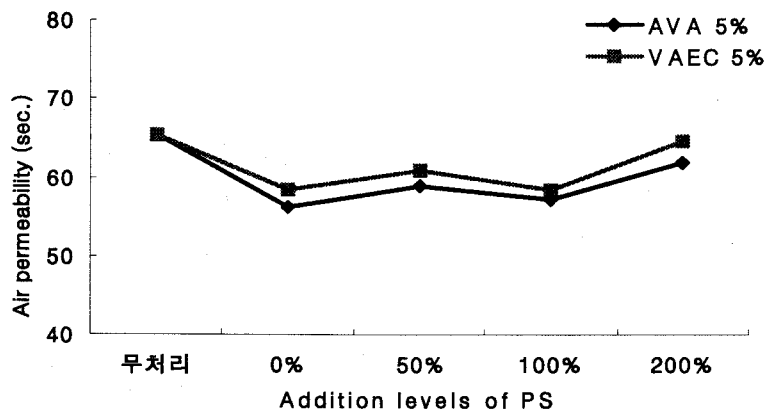


Fig. 19. Effect of PS consistency on air permeability.

## 2) 종이의 강도적 특성 변화

## 가) 인장강도 변화

Fig. 20은 강도향상제와 PS의 내침시 종이의 인장강도를 나타낸 것으로 약품의 첨가량이 증가할수록 종이의 강도가 증가하는 경향을 나타내고, PS/강도향상제 100% 이상 첨가시 강도가 저하하는 경향을 나타냈다. 두 강도향상제 간에도 약간의 강도 향상의 차이를 나타내는데 이는 강도향상제가 가지는 자체의 성능 차이에서 기인한 것으로 판단된다.

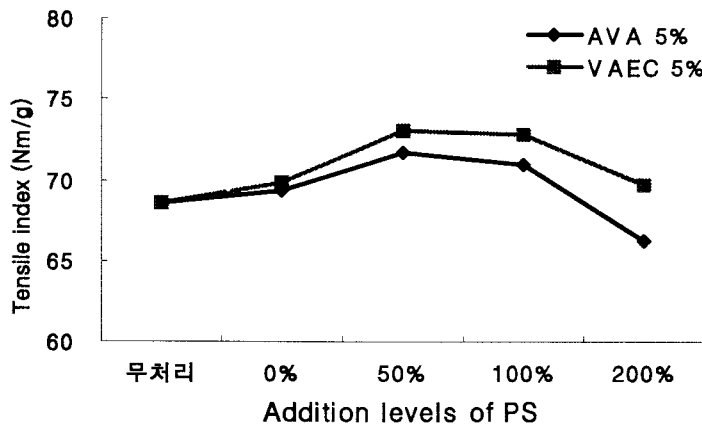


Fig. 20. Effect of PS consistency on Tensile index.

## 나) 내부 결합강도 변화

Fig. 21은 약품 첨가량에 따른 내부 결합 강도 변화로서 약품 첨가량이 증가할수록 결합 강도가 증가하는 것을 알 수 있다. 이는 일차적으로 (+) charge인 강도향상제의 첨가로 인한 증가와 이차적으로 (-)charge인 PS의 첨가로 인한 강도향상제의 성능 향상에 기인한 것으로 판단된다. 종이의 구조 변화와 마찬가지로 종이의 강도에서도 PS/강도향상제 100% 이상의 첨가에서 결합 강도가 감소하는 것은 과도한 (-) charge의 공급으로 인한 섬유간 결합의 감소 때문으로

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

판단된다. 두 강도향상제 간의 성능 차이는 AVA의 경우 vinyl acetate 자체가 분지가 많고 점도가 높지 않아 균일한 응집체를 만들기 적당하여 종이의 구조는 크게 향상시키지만 강도적 측면에서는 VAEC 만큼의 강도 향상을 유도하지 못하는 특성을 나타낸다. VAEC는 vinyl acetate와 ethylene의 공중합체 이기 때문에 선상의 구조를 가지고 점도 또한 AVA보다 훨씬 높은 것으로 보아 응집능력이 높아 종이의 구조 향상은 AVA보다 크지 않지만 반면에 강도 향상은 훨씬 높음을 알 수 있다.

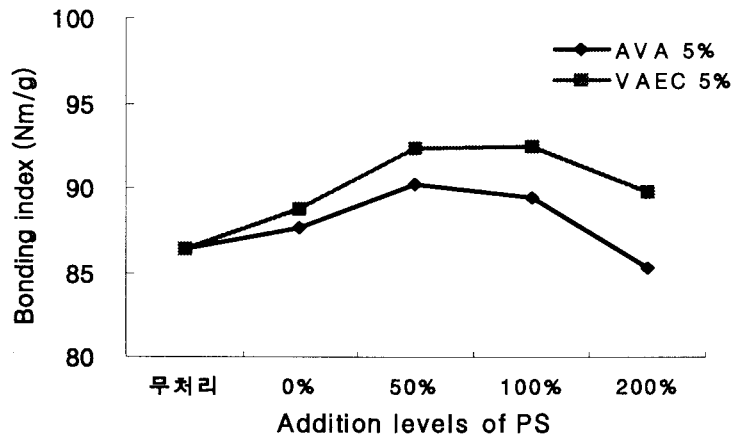


Fig. 21. Effect of PS consistency on Binding strength.

### 3) 종이의 항균성

Table 2는 황색 포도상 구균에 대한 종이의 항균성 실험으로 강도향상제와 PS 첨가된 종이 모두에서 99%이상의 균감소율을 나타내었다. 이전 실험에서 강도향상제로 전분을 사용하였을 경우 균감소율이 20% 전후였던 것에 비하여 균 생장 저지에 큰 향상을 나타내었다. 전분의 경우 glucose로 이루어진 당류로서 균의 양분이 될 수 있는 조건이 되어 균 생장 저지를 못한 것으로 판단하였는데, 이번 실험의 강도향상제인 AVA나 VAEC의 경우 균의 양분으로 작용하지 않고 PS와 함께 균 생장을 억제하는 시너지 효과를 나타낸 것으로 판단된다. 강도향상제의

항균성은 강도향상제에 포함 되어있는 acetate가 유기산중 가장 높은 항균성을 나타내는 물질이기 때문에 의한 것과 vinyl가 섬유를 coating 하는 기능이 발현 되어 항균성을 높였다고 판단된다.

Table 2. Result of shake flask test

	Storage period (hr.)		Decrease rate (%)
	0	24	
Blank	$1.9 \times 10^9$	$7.8 \times 10^9$	-
VAEC 5%	$1.9 \times 10^9$	<10	99.9
VAEC 5% + PS 50%	$1.9 \times 10^5$	$4.7 \times 10^4$	99.4
VAEC 5% + PS 100%	$1.9 \times 10^5$	$4.7 \times 10^4$	99.2
VAEC 5% + PS 200%	$1.9 \times 10^5$	$4.7 \times 10^4$	99.8
AVA 5%	$1.9 \times 10^9$	<10	99.9
AVA 5% + PS 50%	$1.9 \times 10^5$	$4.7 \times 10^4$	99.3
AVA 5% + PS 100%	$1.9 \times 10^5$	$4.7 \times 10^4$	99.8
AVA 5% + PS 200%	$1.9 \times 10^5$	$4.7 \times 10^4$	98.7

#### 다. 숯, 강도향상제 종이

##### 1) 종이의 구조적 특성변화

###### 가) 겉보기 밀도 변화

Fig. 22는 숯 그리고 숯과 강도향상제를 함께 내침했을 때의 종이의 겉보기 밀도의 변화를 나타낸 것이다. 무처리한 종이에 비해 숯을 첨가한 종이의 겉보기 밀도가 감소하였다. 이는 숯을 첨가시켰기 때문에 숯이 차지하는 공간이 생겨 섬유간에 촘촘히 결합하지 못해서 겉보기밀도가 감소한 것으로 생각된다. 따라서 숯을 첨가한 종이의 bulk는 무처리한 종이에 비해 증가함을 알 수 있다.

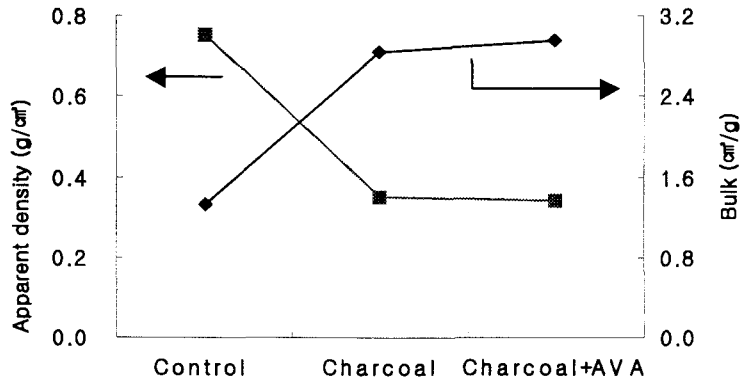


Fig. 22. Effect of mixing condition on apparent density and bulk.

나) 지합 변화

Fig. 23은 숯 그리고 숯과 강도향상제를 함께 내침 했을 때 종이의 지합을 나타낸 것으로 지합이 낮을수록 종이내의 섬유 분포가 균일함을 나타낸다. 무처리한 종이에 비해 숯을 첨가한 종이의 지합이 나빠졌다. 그리고 숯과 강도향상제를 함께 첨가한 것은 숯만 첨가한 종이와 거의 비슷한 지합을 나타내었다. 이는 숯이 첨가되어 섬유를 불균일하게 분포시켰기 때문이라고 생각된다.

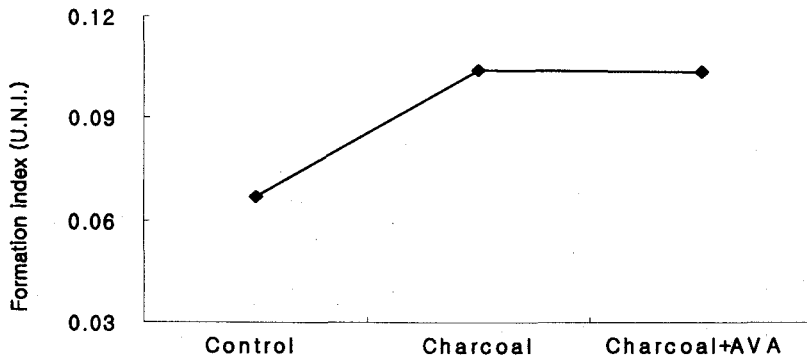


Fig. 23. Effect of mixing condition on formation.

다) 투기도 변화

Fig. 24는 숯 그리고 숯과 바인더를 함께 첨가한 종이의 투기도를 나타낸 것이다. 숯을 첨가한 종이가 공기투과가 더 빠르게 일어났는데 이는 숯의 영향으로 공극이 증가하였기 때문이라고 생각된다. 숯과 바인더를 함께 첨가한 종이가 숯만 첨가한 종이보다 공기 투과가 약간 느리게 진행된 이유는 바인더가 약간 영향을 준 것으로 판단되나 거의 차이가 나지는 않는다.

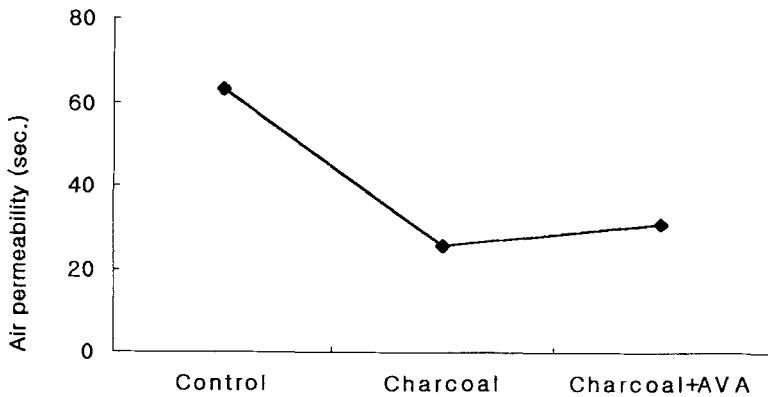


Fig. 24. Effect of mixing condition on air permeability.

2) 종이의 강도적 특성 변화

가) 인장강도 변화

Fig. 25는 숯 그리고 숯과 강도향상제를 함께 첨가한 종이의 인장강도를 나타낸 것으로 숯만 첨가한 종이가 무처리한 종이에 비해 인장강도가 떨어졌는데 이는 숯이 섬유간 결합을 저하시켰기 때문이라고 생각된다.

숯과 강도향상제를 첨가한 종이가 가장 높은 인장강도를 나타내었는데 이는 강도향상제의 작용뿐만 아니라 결합 향상에 의한 것으로 생각된다.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

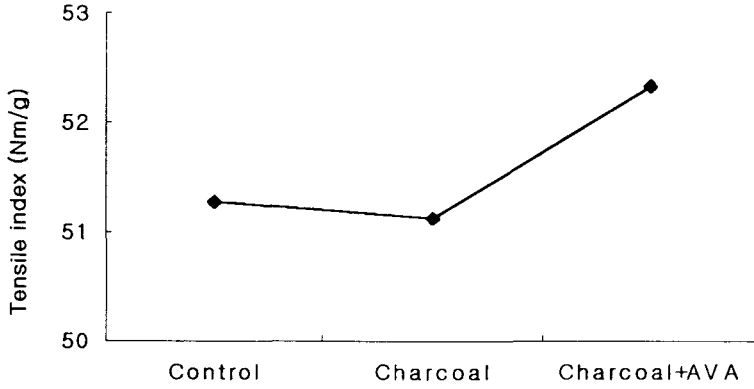


Fig. 25. Effect of mixing condition on tensile index.

나) 압축강도 변화

Fig. 26은 숯 그리고 숯과 강도향상제를 함께 첨가한 종이의 압축강도를 나타낸 것으로 숯을 첨가한 종이가 강도가 떨어지는 경향을 보였고 그 원인은 무기물인 숯이 들어가 결합을 방해했기 때문으로 생각된다. 겉보기 밀도와 bulk의 경향에서와 마찬가지로 숯에 비해 강도향상제의 영향이 크게 나타나지는 않았다. 따라서 숯만 첨가한 종지와 숯과 강도향상제를 함께 첨가한 종지의 압축강도는 큰 차이를 보이지 않았다.

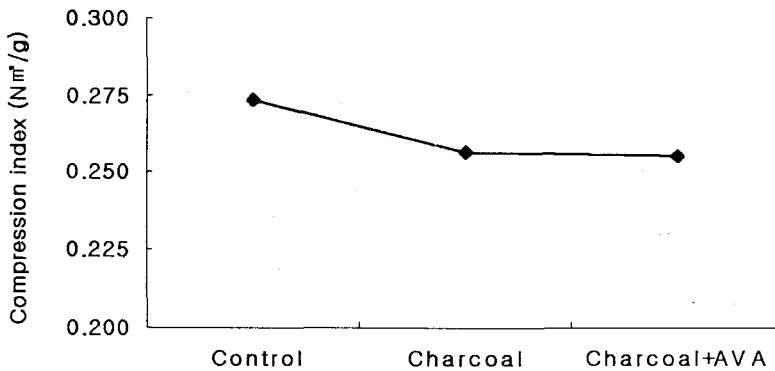


Fig. 26. Effect of mixing condition on compression index.



다) 파열강도 변화

Fig. 27은 숯 그리고 숯과 강도향상제를 첨가한 종이의 파열강도를 나타낸 것으로 숯을 첨가한 종이가 무처리한 종이보다 파열강도가 낮게 나타났는데 이는 압축강도의 경향과 마찬가지로 무기물인 숯이 첨가되어 강도를 저하시킨 것으로 생각된다. 강도향상제와 숯을 함께 첨가시킨 종이는 숯만 첨가한 종이와 거의 비슷한 경향을 보이는 것으로 보아 강도향상제가 압축강도에 큰 영향을 주지 않은 것으로 생각된다.

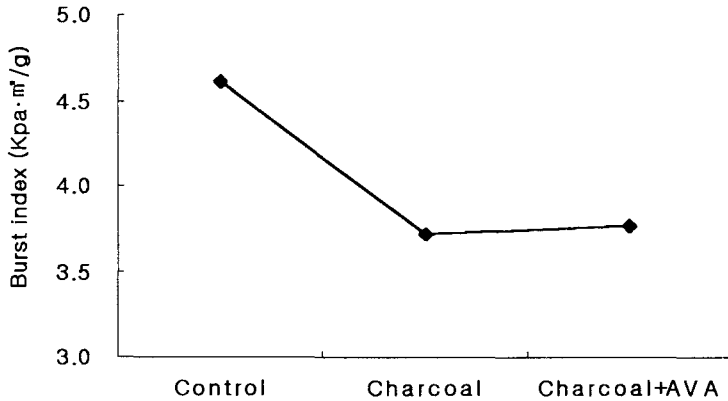


Fig. 27. Effect of mixing condition on burst index.

3) 기본적인 버섯 포장 실험 결과

가) 중량감소율

종이를 첨가한 처리구는 무처리한 것과 거의 비슷한 중량 감소율의 경향을 나타내었다. 이것은 버섯 자체의 중량 손실로 종이를 첨가한 것이 그다지 큰 영향을 미치지 못한 것으로 판단된다.

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

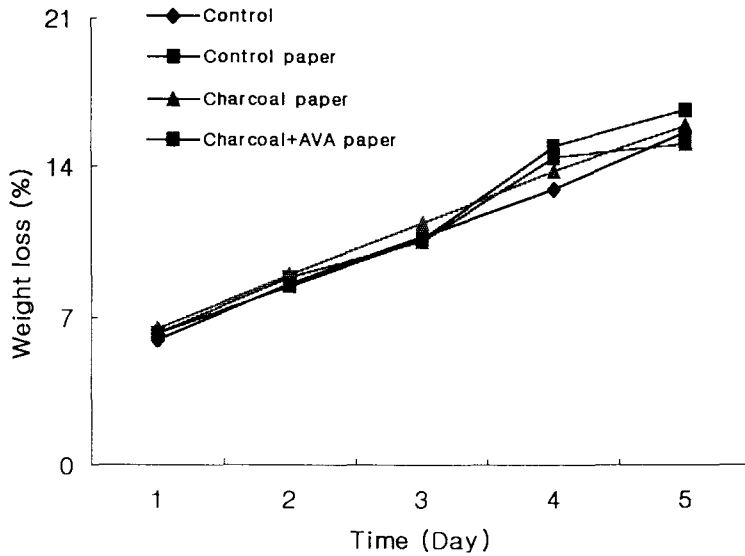


Fig. 28. Weight loss of mushroom during storage period.

### 나) 결로량

5일 동안 저장기간에 따른 결로량을 나타낸 것으로 결로량이 적을수록 포장재에 맺힌 수분이 적다는 것으로 습기가 차 보이지 않아서 구매할 때 신선해 보이는 효과를 보이고 수분이 너무 많으면 물러지므로 종이를 첨가시켜 어느 정도의 수분을 제거해주는 역할을 하였다.

종이로 포장하는 경우 무처리보다 결로량이 많이 감소되어 유리하였으며, 솥을 종이에 처리한 경우 저장기간이 길어지면서 효과가 뚜렷하였다.

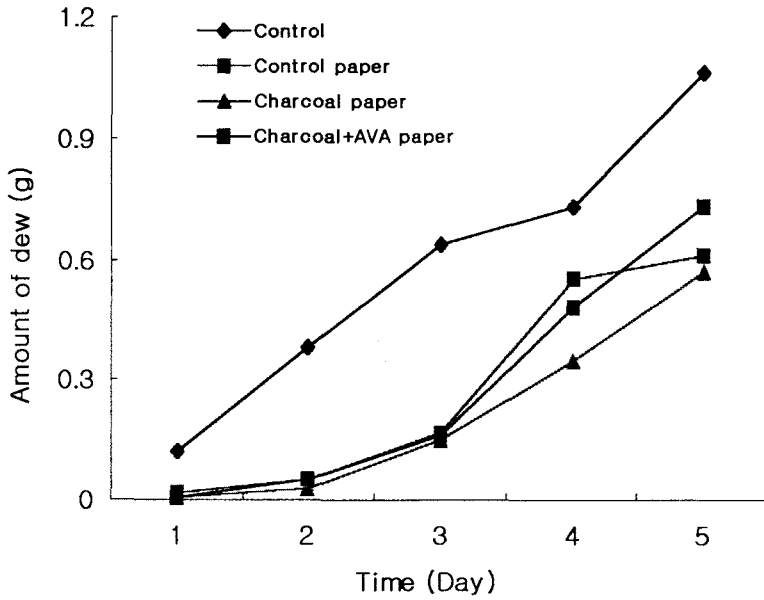


Fig. 29. Quantity of dew at mushroom packaging during storage period.

다) 갓의 색측정

Fig. 31은 5일 동안의 갓의 색을 측정함으로써 신선도를 나타낸 것이다. 갓의 색이 진해졌다는 것은 부패가 일어난 것으로, 시간이 지날수록 control의 갓 색이 진하게 나타났다. 결로량에서도 나타났듯이 종이를 첨가함으로써 버섯의 신선도 유지에 도움을 준 것으로 판단된다.

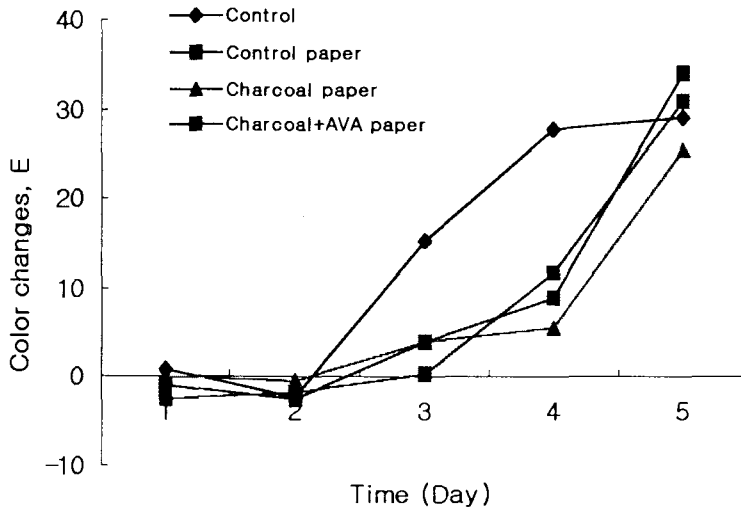


Fig. 30. Color changes of mushroom during storage period.

#### 4. 결론

포장재로 사용하기 위해서는 인쇄적성과 유통시 강도적 특성이 고려되어야 한다. 겉보기밀도와 지합을 통해 종이의 구조적 특성을 분석하였고, 인장, 압축, 파열강도를 측정하여 유통시 강도적 특성을 분석하였다.

고해하중이 낮은 경우 종이의 강도가 증가하였고, 키토산 내침에 의한 종이의 강도는 고해하중이 높을 때가 고해하중이 낮을 때 보다 강도 증가율이 높았다.

키토산을 첨가하면 종이의 지합이 향상되었고, 종이의 강도는 키토산 2%를 코팅하였을 때가 1%, 3%보다 더욱 높았다. 종이의 건조속도는 키토산 농도가 높을 수록 빠르며, 키토산 수용액의 분자량과 농도에 의해서 종이의 공극구조를 변화시킬 수 있었다. 그리고 키토산 코팅 종이는 *E. coli* O-157 균에 대한 높은 항균성을 가졌다.

강도향상제인 AVA와 VAEC, 식품 보존료인 PS를 내침하여 초지 하였을 때

종이의 구조적 특성 향상과 강도적 향상 그리고 항균성도 향상되는 긍정적인 효과를 나타내었다. 종이 산업에 사용되는 강도향상제에도 어느 정도 항균성을 나타내는 것이 존재하기 때문에 식품 보존료인 PS와 제지용 강도향상제의 혼합사용으로 종이의 특성 향상과 항균성의 향상을 동시에 가져올 수 있으리라 판단되었다.

그리고 숯 첨가 실험에서는 숯이 고체상 물질이므로 종이의 구조적 측면에서 겉보기 밀도가 낮아져 bulk해 지기 때문에 투기도가 향상된다. 뿐만 아니라 숯이 보유하고 있는 공극으로 기체 흡수를 증가시킨다고 판단되었다. 숯을 첨가한 종이는 강도가 약해지는 경향을 보이므로 이를 극복하기 위해 항균성이 있는 강도향상제(AVA)를 사용하여 강도적 측면을 보완하였다. 종이 포장은 버섯 저장시 결로량을 감소시켜주므로 신선도를 유지할 수 있는 역할을 하기도 한다고 판단되었다.

# 여 백

## 제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1. 임지재배 기술

이번 연구로 우리나라에서 연간 능이 생산량과 자원이 파악되었으며, 지역적으로는 충북 지역에서의 능이의 발생패턴 등 능이의 생태적 특성이 구명되었다. 이 생태적 특성을 토대로 능이산지의 유형이 구명되었으며, GIS를 이용한 기초적인 데이터베이스화작업이 이루어졌다. 특히 능이 발생에 중요한 인자로는 충분한 토양수분임이 조사되었으며, 이것은 일반적으로 알려져 있는 8월과 9월의 강우량과 밀접한 관계가 있음이 증명되었다. 하지만 중요한 목표였던 능이의 임지재배기술, 즉 능이 균사배양, 능이 접종원배양 그리고 능이균으로 접종된 묘목의 생산은 능이 균사배양의 어려움과 균사체, 포자체, 균환토양 등의 접종원을 가지고 시도하였으나 미치지 못하였다. 여기에 대하여는 보다 발달된 분자생물학적, 미생물학적, 식물학적인 연구가 새로운 가설을 정립하여 이루어져야 한다고 생각한다.

그러나 능이는 기주인 참나무속의 나무로 에너지인 탄수화물을 받고 토양으로부터 수분을 흡수하여 가을에 발생하여 나오므로 이 3가지 인자를 고려하여 현재 능이가 발생하고 있는 산지에 대하여 관리모형을 제시할 수 있었다.

이번 연구는 땅속의 수목뿌리와 균근균 그리고 토양환경의 3자가 이루는 산림생태계의 고유한 구조와 기능을 밝힘으로써, 송이나 덩이와 같은 균근균 버섯의 임지재배에 새로운 아이디어를 제공할 것이라고 생각한다.

### 2. 능이 생리활성 성분

식용버섯재배는 건강식품으로서 금후 새로운 형태의 고부가 소득원 창출을 가능하게 할 것이며, 야생의 임산버섯으로부터 신물질을 추출함으로써 임업의 생산성을 높여 높은 수확을 기하게 할 것이고, 산림수확을 높이는데 크게 기여하게 될 것이다. 버섯이 포함하고 있는 각종 생리활성 성분을 분석, 화학구조를 구명하게 되고, 이들이 인체에 미치는 효과가 구명되므로써 국민의

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

건강증진은 물론 신약의 등장을 앞당기게 하여 의약업계의 발전은 물론 주요한 수출상품으로서 크게 기여하게 될 것이다.

### 3. 능이 향기성분과 건조 저장

능이버섯의 향기성분을 SDE, SFE, headspace 로 추출하고 GC, GC-MS로 동정한 결과 SDE추출물에서는 33개, SFE추출물에서는 26개, headspace추출물에서는 17개의 화합물이 동정되었다. 능이버섯의 건조는 상당기간이 감률건조 기간으로 나타났으며, 건조속도는 건조온도가 높아질수록 증가했으나, 풍속은 건조에 미치는 영향이 작게 나타났다. 건조시간에 따른 능이버섯의 주요 향기성분 함량 변화를 보면 1-octen-3-ol을 비롯한 1-octanol, 2-octen-1-ol, 3-octanol등의 C<sub>8</sub> 화합물 peak area가 크게 감소하였고, C<sub>8</sub> 화합물 중 1-octen-3-one, 3-octane등의 상대적 함량비는 증가하였다. 능이버섯은 건조 중에 대체로 검게 변화였고 갖의 크기가 작아지면서 두께가 상당히 얇아지는 것으로 나타났다. 능이버섯을 건조한 후 재수화시 재수화율은 40.5%정도 회복되었다.

### 4. 능이 포장재

펄프섬유의 최적 배합, 첨가제의 투입을 통한 최종 포장재의 특성을 조절할 수 있는 기술을 확보함으로써, 능이버섯은 물론 다양한 청과물의 포장에 큰 도움이 될 것이다. 이러한 특성부여 기술의 확보는 현재 선진국에서 독점적으로 사용함으로써 우리나라와 같은 기술 개발국 들에게 고급부가제품의 개발, 생산에 애로가 큰 기술들이다. 이러한 특성부여 기술을 바탕으로 특수지 예를 들면, 고밀도지, 티백지, 전기 절연지 등 전 산업간에 널리 사용되고 있는 다양한 특수지를 자체적으로 생산해 낼 수 있는 기술을 확보하게 될 것이다.

선도유지 향상을 위한 펄프 섬유 최적 배합, 첨가제 투입 효과를 극대화 할 수 있는 기술을 개발함으로써 국내 제지산업, 골판지산업, 포장산업의 경쟁력을 확보함으로써, 국내 산업의 활성화는 물론 해외시장으로의 수출 증가에 큰 도움이 될 것으로 본다.



## 제 5장 연구 개발결과의 활용계획

능이 임지재배 기술향상을 위하여 이번 연구에서 제시된 능이산지의 관리모델 중에서 토양수분관리 모델을 현지 적용하여 검토할 것이다. 이것은 강우량에 따라 능이생산 변동이 격심한 것을 완화하는데 기여할 것이라고 생각한다. 나아가 이번 연구에서 구명되지 못한 효과적인 능이접종원과 접종 그리고 접종묘 생산 기술을 개발하기 위한 새로운 가설을 구상할 필요가 있다. 능이는 이미 성공한 모래밭버섯이나 덩이버섯 접종묘 생산기술과는 다른 구상을 가져야한다고 생각된다. 이러한 연구는 산지내에서 기타 균근성 버섯 (예: 능이, 덩이, 송이, 그물버섯, 송로, 피꼬리버섯, 달걀버섯 등)의 과학적 생산에 활용될 것이다.

그리고 균근성 버섯의 임지재배기술개발을 위하여 연구방향을 다음과 같이 제안한다. 우선 균근성 버섯 생산을 위하여환경관리 사업과 환경관리 기술개발을 균근균 접종기술과 병행하여 계속 추진한다. 그리고 유전자 분석기술을 개발하여 환경개선 및 접종사업의 효과를 측정하는 방법을 고안해야 한다. 이를 위해서는 우선 균근의 특징을 명확히 기록하고, 이를 보완하는 균근과 균사의 유전자를 분석하여 균근성 버섯이 생겨나고 있는 지를 먼저 확인할 수 있어야 한다. 또한 토양내 균환 형성의 시작 메카니즘을 구명할 필요도 있다.

더불어서 균근성 버섯의 생리-생태를 이해하기 위하여 버섯 원기의 형성에 관여하는 유전자 파악, 균근이나 균환, 그리고 산지에 따른 버섯의 유전자 변이를 이해할 필요가 있다.

능이버섯이 많이 가지고 있는 단백질가수분해효소 (proteinase, protease)의 특성이 밝혀졌으므로 이 효소를 이용한 육류 식품개발을 추구할 수 있다고 생각한다. 단백질분해효소는 식육의 가공 및 연화, 물고기 sauce의 속성발효 등에 이용되고 있으며, 양조산업, 조미료산업 등 식품공업에 널리 이용되고 있다. 특히 국내산으로 연육제로 주로 사용되고 있는 과실로서 키위, 무화과, 배, 파인애플 등이 있으며, 이들의 단백질 분해효과에 관한 연구가 이루어지고 있으나 산업적으로 이용되기에는 체계적인 연구가 미흡한 형편이다. 현재 다양한 용도로 사용되고 있는 식물성 단백질 분해효소류가 거의 전량 수입되고 있으며, 육류 외식산업의 급증으로 인하여 연육제의 수요가 증가하고 있는

## 능이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

실정에서 본 연구결과는 매우 유용한 정보로서 사용될 것으로 기대된다.

능이의 향기성분의 분석법을 확립됨으로써 가향식품 개발을 목적으로 한 타식품의 향기성분분석 자료로 활용가능하다. 능이버섯에서 분석되어 묘사된 휘발성 성분들의 개별적인 향기특성을 활용하여 음료나 식품 및 향수를 비롯한 생활필수품 등의 제품으로 창출가능하다.

건조조건의 정립으로 방향성 성분을 함유한 식품 등의 제품생산과정에 응용가능하다. 한편 단기간의 연구로는 능이버섯자실체의 저장성을 높이기 위한 온도나 습도관리 그리고 건조 기술이 필요하다고 생각한다. 특히 수분이 수분이 많은 자실체에는 박테리아의 번식이 활발하여 건조 중에도 버섯의 품질이 퇴화되는 경우가 많다.

실질적으로는 본 기술을 버섯 포장재를 제조하는데 기술지도할 수 있다. 여기서 생산된 포장재는 산지 포장업체에 공급하여 능이버섯의 포장에 사용하도록 한다. 특수한 기능성을 부여할 수 있는 기술을 제지업체에 전달, 지도함으로써 관련되는 다양한 특수지 생산에 필요한 기술을 주고, 현재 국내에 수입되고 있는 특수지를 국내에서 자체 생산할 수 있도록 하여, 수입을 대체하고 해외에 수출할 수 있다. 또한 포장을 정량화, 규격화함으로써 농가의 수입을 보장하면서 버섯의 물류비용을 최소화하고 신속히 유통하는데 활용할 수 있다. 개발된 능이 포장재를 실질적으로 능이산지에서 포장하여 그 효과를 검토할 필요가 있다. 이를 통하여 능이 버섯의 선도를 유지함으로써 버섯의 맛, 향기, 영양을 지켜주어 임산물의 부가가치를 높여 생산자들의 의욕을 고취하고, 소비자들에게 신선도를 높여 만족을 주도록 한다. 농가와 임업 관련 종사자들의 수입을 증가시키고 산을 지킬 수 있도록 한다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보

### 1. 머리말

수목 뿌리와 균의 공생체로 1880년경 유럽에서부터 알려지기 시작한 菌根(mycorrhiza=fungus root) 공생관계는 그 동안의 연구로 자연 토양생태계에서는 일반적인 현상임이 밝혀지면서, 생태계의 구조와 기능면에서 중요하게 다루어지고 있다. 특히 최근 발달하고 있는 유전자 분석방법으로 토양생태계 내에서 이 菌根共生관계의 다양성이 더욱 잘 이해되고 있다. 또한 임업에서는 비목재 임산물로써 버섯의 가치가 증대함에 따라 송이, 덩이(서양송로, truffles), 찌꼬리버섯, 능이와 같은 菌根性 버섯의 재배기술 개발 또한 菌根 연구의 중요한 과제가 되고 있다.

버섯 중에는 오직 산림에서 특정한 나무와 공생하여야만 생기는 버섯이 있다. 이 공생관계에서 수목은 버섯에게 탄수화물을 공급하고, 버섯은 그 대가로 토양으로부터 수분과 양분을 흡수하여 수목에게 공급한다. 이들이 균근성(菌根性, mycorrhizal) 버섯이다. 균근성 버섯은 아직도 인공재배가 안 되면서 그 가격이 높아 귀중한 산림 소득원이다. 현재 우리 나라에서 목재생산에 의한 소득발생은 조림 후 20-40년 후에도 확실하지 않지만, 소나무림이나 참나무림에서 송이나 능이가 나면 이를 채취하여 얻는 소득은 농가에게 크게 도움을 주고 있다. 그렇게 때문에 균근성 버섯을 재배하는 기술을 개발하는 것은 매우 가치 있는 일로서, 프랑스, 이태리, 스페인 뉴질랜드 등의 나라에서는 덩이버섯(truffles)을 참나무나 개암나무에 공생시켜서 과수원처럼 재배하는데 큰 노력을 기울이고 있다. 하지만, 아직 이들의 생물학적 특성을 충분히 이해하지 못하여 일부 재배지를 제외하고는 큰 성공을 거두지 못하고 있는 단계이다.

버섯의 생산은 현재 세계적으로 추구하고 있는 농임업의 지속가능한 경영을 추구하기 위한 한 방편으로서 매우 중요시되고 있다. 그러므로 연구개발과정 중에 수집한 해외기술정보를, 균근의 분류, 식용 균근성 버섯의 유통, 이들 버섯의 인공재배를 위하여 필요한 기술, 그리고 최근 연구 동향과 균근연구에 관한 web

농이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

sites를 가지고 정리하였다.



그림 1. 뉴질랜드 덩이버섯 재배사업 간판 (New Zealand, Canterbury)

## 2. 균근의 종류

이 지구상에서 육상 식물의 대부분은 사실상은 뿌리 그 자체만이 아니고, 그 속에 공생하는 곰팡이를 품고 있다. 그래서 실제로 땅을 파서 뿌리를 보면 콩나물에서 보는 그런 혼한 뿌리털은 잘 보이지 않고 균사가 뿌리를 감싸고 있는 것을 보게된다. 즉 균과 뿌리가 공생하는 균근(菌根)을 보는 것이다. 곰팡이 균은 광합성을 못하므로 식물에게서 탄수화물을 받아 성장하고 버섯을 만들어 생활사를 완성하고, 땅속으로 뻗어나가 뿌리털 대신에 수분과 양분을 흡수하여 뿌리로 공급한다.

균근의 형태는 여러 가지로 나누어지지만 크게 두 가지가 중요하다. 수지상 내생균근(arbuscular endomycorrhiza:AM, 樹枝狀内生菌根)과 외생균근(ectomycorrhiza:ECM, 外生菌根)이다 (표1). 수지상 내생균근은 균사가 뿌리의

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보

피층세포내에 침투하여 나뭇가지모양의 구조를 만든 것으로, 땅속에 100-300 $\mu$ m 크기의 포자를 형성할 뿐이며, 버섯을 만들지는 않는다. 내생균근에는 뿌리털이 잘 발달하지 않아서 뿌리 표면은 매끈한 편이다. 내생균근을 형성하는 식물은 대부분의 초본식물과 목본식물로 농작물, 과수(장미과, 감나무 등), 원예작물(장미과, 국화과, 가지과 등)이 이에 해당된다. 육상 식물의 약 80%의 종이 이 수지상균근을 형성한다 (John, 2002. <http://www.mycorrhiza.org>).

이에 비하여 외생균근에서는 균이 뿌리의 피층세포 내부에는 들어가지 않고 세포사이에만 침투하며 뿌리 외부에는 두꺼운 균사층을 만든다. 그 외부모양은 Y자형이나 산호모양으로 맨눈으로도 잘 볼 수 있다. 외생균근을 형성하는 식물은 소나무과, 참나무과, 자작나무과, 피나무과, 사시나무과 등 한정된 목본식물이다. 이 외생균근에서 뺀어나온 균사가 땅속을 점유하여 큰 집단을 형성하고 수십년간 자라면서 버섯을 만든다. 균근성 버섯의 예로써는, 송이, 능이, 덩이, 그물버섯류 등의 식용버섯과 광대버섯류, 끈적버섯류, 알버섯류 등의 독버섯도 있다. 이들이 소나무류나 참나무류 등이 있는 산림에서만 나는 이유는 이들 수종과 공생하기 때문인 것이다.

표1. 균근의 종류와 특징

균근	특징	기주 식물	균류	생태계에서의 중요성
外生菌根 (ectomycorrhiza)	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Y자형, 산호형</li> <li>· 뿌리표면에 균사층 형성</li> <li>· 표피 및 피층 세포사이에 침투하여 Hartig 망형성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 소나무과,</li> <li>· 참나무과,</li> <li>· 자작나무과,</li> <li>· 버드나무과 수종</li> </ul>	송이, 능이, 덩이, 송로, 광대버섯, 피꼬리버섯 등 산림내 땅에서만 나는 버섯	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 구조면에서</li> <li>· 지중 종다양성 주요 구성체</li> <li>- 기능 면에서</li> <li>· 수분흡수</li> <li>· 양분흡수</li> <li>· C 순환</li> <li>· 야생동물 먹이</li> <li>· 버섯생산</li> <li>· 뿌리보호</li> </ul>
樹枝狀 内生菌根 (Arbuscular mycorrhiza: AM)	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 피층세포 내에 아버스쿨 (나무모양) 형성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 외생균근기주 이외의 대부분 수종</li> </ul>	접합자 균류 중, <i>Glomus</i> , <i>Gigaspora</i> , <i>Scutellospora</i> , <i>Acaulospora</i> , <i>Entroposphora</i> 등 160여종	

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

수지상 내생균근과 외생균근은 모두 뿌리의 통도조직에는 들어가지 않으므로 수분과 양분의 이동은 전혀 방해받지 않는다. 어떤 형태의 균근도 형성하지 않는 식물종으로는 십자화과, 썩기풀과, 석죽과 식물의 일부 종에 불과하다. 난초과나 진달래과 식물은 세포내에 수지상이 아닌 코일모양의 내생균근을 형성한다.

### 3. 식용 균근성 버섯의 가치

균근은 수목뿌리에 공생하여 토양으로부터 양분과 수분을 흡수하여 수목에 공급함으로써 수목의 생존과 성장에 크게 기여한다. 이에 더하여, 균근이 발생시키는 균근성 버섯은 송이, 능이, 덩이, 그물버섯 등 맛이나 향기가 매우 특이하고 무공해이므로 식용으로 또는 약용으로 귀하게 취급된다. 그 가치는 버섯 종류에 따라 kg 당 15,000원 - 1,500,000원에 이른다. 우리나라의 송이는 보통 kg당 10만원이고, 2001년도 처럼 흉년이 되면 kg당 40만원에 이른다. 능이는 kg당 1만원-5만원이고, 유럽의 덩이는 최소한 kg당 100만원이다 (표 2).

표 2. 균근성 버섯의 유통 (Hall & Brown, 1989; Hall et al, 1990; 김재수 등, 1999; 김홍은 등, 2000)

버섯종 (학명), (영어명)	주요 생산국	가격 (US\$/kg)	유통량 (ton)	주요 시장
송이 ( <i>Tricholoma matsutake</i> ) (pine mushroom)와 유사종	한국, 중국, 일본, 캐나다, 미국 등	\$30-500	3000	일본
능이 ( <i>Sarcodon aspratus</i> ) (hedgehog mushroom)	한국	\$10-30	50	한국
덩이 ( <i>Tuber melanosporum</i> ) (Perigord black truffle)과 유사종	스페인, 이태리, 프랑스, 스웨덴, 뉴질랜드, 중국, 등	\$600 - 1000	400	유럽
피꼬리버섯 ( <i>Cantharellus cibarius</i> ) (chanterelle)	유럽, 북아메리카	\$10	200,000	유럽, 북아메리카
그물버섯 ( <i>Boletus edulis</i> ) (cep)과 유사종	유럽, 북아메리카	\$10	50,000	유럽, 중국, 북아메리카

한편 독우산광대버섯, 알광대버섯 등 광대버섯 속의 많은 것은 사람의 간세포를 죽이는 맹독성(치사율 60%)이므로 여름철 버섯 중독사의 심각한 문제를 일으키기도 하고, 파리버섯은 농가에서 파리를 잡는데 이용되기도 하였다. 그 외 무명버섯, 분홍망태버섯 같은 좋은 버섯 발생시 그 모양과 색깔이 특이하고 다양하여 산림의 미적 가치를 높인다. 그리고 아직 이용되고 있지는 않지만 특정한 기주식물과 공생하거나 특이한 환경에서만 발생하는 균근성 버섯은 생물다양성 또는 환경평가의 지표종으로서 역할도 할 수 있다. 덩이를 제외한 식용균근성 버섯은 현재 자연 산림에서만 채집되고 있다. 균근성 버섯의 산지의 관리와 생산에 관하여는 송이, 능이, 덩이, 그리고 기타버섯으로 나누어 차후 토의될 것이다.

#### 4. 균근성 버섯의 재배 가능성: 현재까지의 기술

아직 인공배양을 하지 못하고 있는 균근성 버섯은 기주식물을 이용한 재배를 고려할 수 있다. 하지만 기주식물을 이용하는 데에도 여전히 단계적으로 해결해야 될 기술적 어려움이 있다. 즉 균의 분리배양, 균주관리, 소규모접종, 대량 접종원생산의 4단계가 적어도 성공적으로 이루어져야하기 때문이다 (표 3). 이 4단계를 성공하더라도 온갖 생물들이 함께 공존하는 외부에 노출시켜서 접종한 균이 성공적으로 기주식물과 정착하려면 환경요인의 복잡성 증가(표 4)를 깊이 고려하여야 한다. 즉 순수배양시에는 다른 균이나 양분 수분 등의 제한요인이 없을 것이나, 기주식물에 균근을 형성시키지 위하여는 기주식물의 생장에 필요한 환경 즉 광도, 양분, 수분 등이 중요하게 된다. 나아가 온실이나 묘포토양에서 접종된 묘목을 기를 때에는 토양속의 기존 균근균과 경쟁적인 다른 다양한 미생물상이 고려되어야 한다. 마지막으로 버섯생산을 이루기 위하여는 장기적으로 기주식물의 생장에 미치는 기상과 함께 버섯이 발생하는 시기의 강우량과 온도가 매우 중요한 제한 인자로 작용하게 된다.

균근성 버섯의 균사는 포도당 같은 1탄당을 이용할 수 있으므로, 느타리나 양송이, 표고처럼 톱밥이나 곡립에 대량으로 배양하지 못하고 있다. 물론 포도당을 사용하여 균사체를 액체배양으로 대량 증식은 가능하지만, 이런 균사체를 자연토양 상태에 넣으면 경쟁적인 여러 토양미생물 속에서 전혀 견디지 못한다. 이에 비하여 포자는 환경변화에 안정된 편이지만, 기주선택성, 기주식물과 공생하기

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

전까지의 활력변화, 그리고 환경변화에 따른 성장력 등이 알려져야 한다. 그리고 균근을 형성할 때까지의 기간이 균사체 접종원보다는 길수가 있다.

표 3. 외생균근균 배양에 필요한 단계적 기술내용

단계	내용
1. 균분리와 배양	-자실체(fruiting body, 버섯) 조직분리 -포자(spore)에서 분리하는 가능하나 의미가 적음 -균근(mycorrhizas)에서 분리하는 매우 어려움
2. 균주 관리	-순수배양 균주 확보 -최적 배양 조건 이해 -계대배양 -장기보관 방법
3. 소규모 접종	-무균 시험관내 묘목 접종: 조직배양을 응용 -균종과 기주와의 선택성 구명 - 균주 선발 -토양에서 균근균 접종효과 구명 - 균주선발
4. 대규모 접종원 생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 균사체 접종원:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>-액체형 균사체 (slurry),</li> <li>-고체형 균사체 (캡슐화)</li> </ul> </li> <li>· 포자체 접종원:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>-액체속 포자(slurry),</li> <li>-건조상태 포자</li> <li>-캡슐화 포자,</li> </ul> </li> <li>· 뿌리 조직배양체: 균근접종원</li> </ul>

(Brundrett, M. et al. 1996. 참조)

표 4. 균근성 버섯재배에서 고려할 복잡성의 증가 내용

고려할 내용	생물적 비생물적 환경 요인
1. 균	균의 순수배양 (1)
2. 기주식물 + 균	균근 형성 (1+2)
3. 소독된 토양에 접종	탄수화물, 양분, 수분 (1+2+3)
4. 비소독 토양에 접종	다른 미생물의 경쟁 (1+2+3+4)
5. 현지에서 버섯생산	환경, 기상조건 (1+2+3+4+5)



균근성 버섯은 아직은 표고나 느타리처럼 유기물을 이용하여 인공적으로 재배를 못하고 있으나, 덩이버섯이나 송로(*Rhizopogon reubescens*), 모래발버섯 등은 기주식물에 접종하여 과수원이나 묘포장에서 발생시킬 수 있다. 덩이는 프랑스, 호주 뉴질랜드, 미국 등에서 참나무나 개암나무 묘목에 균을 접종하여 과수원처럼 식재한 후 5-6년 후에 버섯을 발생시킨다. 한편 송로는 자실체가 복강균으로 내부가 포자로 들어차 있고 소나무과 수목의 묘목에 접종하면 균근형성이 잘 되고, 또 어린 묘목에서도 버섯이 발생된다. 모래발버섯은 식용은 아니지만 송로처럼 복강균으로 소나무나 참나무 묘목에 포자를 접종하여 균근이 쉽게 형성되며, 묘목시기에도 버섯이 발생한다. 이런 복강균의 포자접종 기술은 참나무에 덩이버섯 포자를 접종하는 기술과도 유사하다.

그러나 균근성 버섯의 재배는, 아직 충분히 개발되지 못한 접종원의 생산, 균근형성, 접종묘의 생산, 산지이식, 버섯생산 등의 기술 모두가 성공되어야만 가능하다. 그러므로 오직 몇몇 단계의 재배기술만이 성공한 현재 상황에서는, 기존 생산지의 생태적 조건을 이해하여 원하는 버섯 종의 발생이 유리하게 유지되도록 산림을 관리하는 것이 버섯생산을 도모하는 데 가장 효과적일 것이다.

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

표 5. 균근성 버섯의 재배기술 개발 상황 (김홍은 등 2000. 참조)

균근성 버섯	기주수목	균근 형성	접종원		접종묘	산지 이식	버섯 생산
			포자	균사			
송이 <i>Tricholoma matsutake</i>	소나무	○	×	×	×	×	×
능이 <i>Sarcodon aspratus</i>	참나무속	×	×	×	×	×	×
싸리버섯(송이싸리버섯) <i>Ramaria botrytis</i>	참나무속	×	×	×	×	×	×
덩이(서양송로) <i>Tuber melanosprum</i>	개암나무, 참나무속	○	○	×	○	○	○
송로(알버섯) <i>Rhizopogon rubescens</i>	소나무속	○	○	×	○	○	○
피꼬리버섯 <i>Cantharellus cibarius</i>	참나무과, 소나무과 등	○	×	○	○	×	○
그물버섯 <i>Boletus edulis</i>	소나무과, 참나무과, 등	○	×	×	×	×	×
모래발버섯 (비식용) <i>Pisolithus tinctorius</i>	소나무과, 참나무과 등	○	○	○	○	○	○

○: 개발, ×: 미개발, ?: 미확인.

## 5. 균근연구의 역사

표 6. 균근연구의 역사

시기	균근 연구 내용
1880년대	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Hartig: Hartig 망 관찰</li> <li>· Frank: mycorrhiza 명명</li> </ul>
1930년대	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Hatch: 균근의 양분 흡수기능 증명</li> </ul>
1940년대	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Asai: 콩과식물에서 균근의 역할 증명</li> <li>· Melin &amp; Norkrans: 균근균 배양배지(MN) 창안. 균근생리연구 확대</li> </ul>
1950년대	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Melin: 방사성 동위원소로써 광합성 C의 균근으로 이동 증명</li> <li>· Harley: 방사성 동위원소로써 토양애소 균근, 기주식물로 P의 이동 증명 생태계에서 균근의 중요성 제안</li> <li>· Harley: The Biology of Mycorrhiza 출간</li> </ul>
1960년대	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Marx: 균근의 뿌리 병에 대한 방어역할 증명, MMN 고안</li> <li>· 균근의 생리연구 확대</li> </ul>
1970년대	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Trappe: 양묘 및 조림에 균근균 이용 가능성 제안</li> <li>· Marx: 균근균 접종원의 대량 배양 및 묘포장에서 접종묘 생산 성공.</li> <li>· 북아메리카 균근연구학회 개최(NACOM)</li> </ul>
1980년대	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 균근연구의 세계화 (NACOM 3년마다 개최, 아시아COM, 유럽COM개최)</li> <li>· 균근의 생태학적 연구(지구 온난화, 사막화 등) 확대</li> </ul>
1990년대	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 유전자 분석을 균근연구에 대대적으로 적용(종다양성, 종, 균주식별 등)</li> <li>· 균근성 버섯의 생산을 위한 기술개발 및 산림관리안 개발</li> <li>· 균근성 버섯의 인류 사회-문화적 가치발굴</li> <li>· 1, 2차 세계균근학회(ICOM) 개최 (1996년, 1998년) (동시개최: 식용 균근성 버섯의 생태, 생리, 재배에 관한 국제학회)</li> <li>· 균근 web sites 개설</li> </ul>
2000년대	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 제 3차 세계균근학회(ICOM) 개최, 2001년(호주)</li> <li>· 제 2차 식용 균근성 버섯의 생태, 생리, 재배에 관한 국제학회(2001년, NZ)</li> <li>· 균근의 유전자원 보전 연구 확대</li> <li>· 생태학 (다른 생물과의 관계, 종 및 균 개체의 다양성, 토양환경 오염문제)</li> <li>· 유전자 분석을 통한 고도의 균근성 버섯의 생산기술 개발</li> </ul>

## 6. 최근 균근 연구 동향

표 7. 2001년 세계균근학회와 식용 균근성 버섯학회 에서 발표된 논문들의 내용

개념	· 새천년의 균근연구과제 내용
유전자 분석, 분자 생물학적 방법	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 대상 유전자: 18S rDNA, 5S rDNA, rDNA의 ITS 또는 IGS, motifs, 단백질</li> <li>· 분석 방법: PCR-RFLP, PCR-RAPD, 동위효소</li> <li>· 분석 : 종 및 균주의 변이 및 다양성 공생관계 이해 종 선택성(특이성), 유전자 마커개발 염기배열 분석, 공생발현 유전자 분석 균근별 균종 감별 자연토양내 균근균 존재의 감지 곰팡이와 식물과의 상호작용: 유전자에서 구조와 기능으로</li> </ul>
형태	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 균근의 해부학적 특징 기록</li> </ul>
생리	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 균근식물의 생리-생태 이해</li> <li>· 양분 대사 및 이동: N, P, 아미노산, 광합성산물, 중금속</li> <li>· 스트레스: 내지온, 내건성</li> <li>· 효소: 인산화효소, 과산화효소</li> <li>· 식물의 균근 의존도</li> </ul>
생태	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 균근의 생태</li> <li>· 탄소 순환 및 배분: 묘목에서 균근에 할당되는 탄소비율은 약4%</li> <li>· 생물 다양성 및 기능의 다양성</li> <li>· 다른 생물과의 관계: 질소고정균, 병원균, 유기물 분해균, 야생동물 먹이</li> <li>· 환경: [CO<sub>2</sub>], O<sub>3</sub>, 중금속, 제초제, 폐광지, 하수잔사, biomediation, 근권의 생물분해</li> <li>· 환경변화: 환경복구, 산불, 벌채, 식생천이, 불리한 환경에서의 균근</li> </ul>
조립	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 양묘: 접종원 활력 검정, 접종효과, 균근형성인자</li> <li>· 산림의 수종갱신에 따른 구성 공생 균종의 변화</li> </ul>
균근성 버섯재배	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 버섯 종: 송이, 덩이, 찌꼬리버섯, 그물버섯,</li> <li>· 덩이버섯의 유통 문제(특히 프랑스에서는 형태가 비슷한 수입 중국산)</li> <li>· 국가: 이태리, 프랑스, 스페인, 유고, 스웨덴, 핀란드, 호주, 뉴질랜드, 미국, 중동지역</li> <li>· 묘목생산: 유전자분석으로 접종된 균근균의 감염확인</li> <li>· 버섯농장 조성: 유전자 분석으로 접종된 균근의 발달정도 모니터링, 균근별 균종감별</li> <li>· 버섯농장 관리: 간벌, 관수 등 (기상변화와 버섯생산 관리는 ?)</li> <li>· 버섯생산관리: 토양내 균근 콜로니 변화를 모니터링(타감작용 고려)</li> </ul>
농업생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 지속가능한 열대 농림업, 원예작물의 활착,</li> <li>· 농약,비료 사용 절감 고려</li> </ul>

## 7. 균근연구 관련 web sites

British Mycological Society

Cantharellus Research Group (Swedish Univ. of Agricultural Sci., Uppsala)

Forest Mycology and Mycorrhiza Research Team: Corvallis Oregon

(<http://www.fsl.orst.edu/home/usfs/mycology/truffs.html>)

Fungal and Soil Ecology Lab (University of Guelph)

Fungal Genetics Stock Center

Glossary of Soil Microbiology Terms

ICOM3: the Third International Conference on Mycorrhizae

INVAM: International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi

Michael Wood's Mycological Museum

Microbial Germplasm Database

Mycological Society of America

Mycological Society of San Francisco

Mycologue Publications

Mycology Resources on the Internet

Mycorrhiza Information Exchange Web Site: Clearinghouse for information on research, teaching, business of mycorrhizal symbiosis

Mycorrhiza Research Group (University of Western Sydney, Nepean)

Mycorrhizae at the Microbe Zoo (Center for Microbial Ecology, Michigan State University).

Mycorrhizal Fungi Databases

MycorWeb Forest Microbiology Unit (INRA), Champenoux, France

Online Mycorrhiza Information Exchange (University of Tennessee)

Root Biology and Mycorrhiza Research Group: University of Guelph Ontario

Soil Ecology and Restoration Group (San Diego State University)

Take a trip through LichenLand (Oregon State University)

Taylor Lab at UC Berkeley

The British Columbia Ectomycorrhizal Research Network (BCERN). A Manual of Concise Descriptions of North American Ectomycorrhizae A web site for ectomycorrhizal research in British Columbia and home for the on-line version of

The Bruns Lab (UC Berkeley) (<http://plantbio.berkeley.edu/~bruns/>)

## 농이의 입지재배 기술 및 기능성 개발

The Cornell Center for Fungal Biology

The Rhizosphere Biodiversity Research Group (Egger & Massicotte, University of Northern British Columbia)

The Root Biology and Mycorrhiza Research Group (University of Guelph)

the Russulales Website

The Tree of Life: Ascomycota

The Tree of Life: Basidiomycota

## 8. 결론

원래는 야생이었던 버섯들이 인제는 표고, 느타리, 양송이, 동충하초, 영지 처럼 인공적으로 배양되어 경제적으로 중요한 것이 된 것도 있다. 그러나 기주식물과 공생하여야만 자실체를 형성하는 균근성 버섯의 인공재배는 아직 그 기술이 충분히 개발되지 않은 상태이다. 따라서 현재로서는 인공재배 기술개발과 병행하여, 균근과 야생 균근성 버섯의 생태를 이해하고, 자원이 지속적으로 유지되도록 그 자연환경을 관리하는 것이 필요하다고 생각한다.

120 여 년에 이르는 균근연구는 그간 식물과 균류의 공생관계에 대한 이해를 높여왔다. 하지만 균근은 아직은 농림업의 생산성 향상에서 비료만큼의 큰 기여는 못하고 있다. 그래도 균근은 지중 생태계의 중요한 구성인자로서, 그리고 육상생태계에서 수분과 양분, 탄소 순환에서 중요한 기능을 하고 있다. 해외에서는 현재 40여개의 균근연구 관련 web sites를 운영하고 있고, 2년마다 국제 균근학회를 개최하여 연구정보를 활발히 교환하고 있다. 또한 최근 매우 발달한 유전자 분석방법을 동원하여 생태계 내에서 균근의 종식별, 종과 균주의 다양성을 밝히고, 임업에서 점차로 중요도가 높아 가는 균근성 버섯의 입지 및 포자 재배 기술을 개발하고 있다.

## 제 7장 참고문헌

- Ahn, J. S., Kim, S. K and Park, E.S. Studies on the volatile components of edible mushrooms(*Agaricus bisporus*) of Korea. *J. Korean soc. Food Nutr.*, 16: 333 (1987)
- Aichio, K. 1965. Growth Promoting Effect of Certain Amino acids on the Agrarian Fruit body. *Mushroom Science VI*: 121-134.
- Astrup, T., and Mullertz, S. (1952). The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity, *Arch. Biochem. Biophys.*, 40, 346-351
- Atkins, F. C. 1974. *Guide to Mushroom Growing*. Faber and Faber, London: p 61-56.
- Baek, H.H. and Cadwallader, K.R. Roasted chicory aroma evaluation by gas chromatography/mass spectrometry/olfactometry. *J. Food sci*, 63: 234-237 (1998).
- Baek, H.H., Cadwallader, K.R., Marroquin, E. and Silva, J.L. Identification of predominant aroma compounds in Muscadine grape juice. *J. Food sci*, 62: 249-252 (1997)
- Baek, H.H., Kim, D.M. and Kim, K.H. Changes in quality of shiitake mushroom (*Lentinus edods*) by different drying methods. *J. Korean. Food Sci. Technol.* 21: 145-148 (1989)
- Beynon, R. J., Bond, J. S. (1989). *Proteolytic enzymes : A Pratical Approach*. IRL Press, 1-4
- Bidochka, M. J., and Khachatourians, G. G. (1994). Protein hydrolysis in grasshopper cuticles by entomopathogenic fungal extracellular proteases, *J. Invertebr. Pathol.* 63. 7-13
- Blank, I. and Grosch, W. Evaluation of potent odorants in dill seed and dill herb(*Anethum graveolens* L) by aroma extract dilution analysis, *J. Food sci*, 56: 63-67 (1991)
- Breitenbach, J. and F. Kraenzlin. 1986. *Fungi of Switzerland*. Volume 2

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

- Nongilled fungi. Mykologia Luzern. 232-236p.
- Brennan, J.G., Butters. T.R., Cowell. N.D. and Lilly A.E.V. Food engineering operations. 2nd. ed. *Applied Science pub., London. England*, 313 (1976)
- Brian, S. and Thomas, L. 1992. Mushroom and other Fungi. Hong Kong, see pp 80-81.
- Brundrett, M. et al. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research. 374p.
- Brundrett, M. N. Bougher, B. Dell, T. Grove and N. Malajczuk. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research. 374p.
- Casey, J. P., Pulp and Paper, Vol. 1, 2, 3, (1980).
- Cha, D. Y. 1981. Investigation on artificial cultures for new edible wild mushroom(Ⅱ). *Kor. J. Mycol.* 9: 123-128.
- Cha, Y.J. and Cadwallader, K.T. Aroma active compounds in Skipjack Tuna sauce, *J. Agric, Food, Chem*, 46: 1123-1128 (1998)
- Chai, J. K. 1993. Studies on the Resources in the cultivation of *Lentinus edodes*. Effects of Physiological activating substances among the bed logs. *Kor. J. Mycol.* 21: 217-223.
- Chang, H. G. 1976. Influence of Nutritional Supplementation to the Substrate on Vegetative and Reproductive Growth of Winter Mushroom, *Flammulina velutipes* and Chemical changes of the substrates produced during Growth of the Fungus. *Kor. J. Mycol.* 4: 31- 44.
- Chang, S, T. and Hayes, W. H. 1978. The Biology and Cultivation of edible mushroom. Academic Press, New York, see pp 521-557.
- Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989. Edible mushroom and their cultivation. CRC Press, Florida, see pp 189-223.
- Chen, C.C. and Wu, C.M., Volatile components of mushroom(*Agaricus subrufecens*). *J. Food Sci*, 49: 1208 (1984)



- Cheng, S. and Tu, C. C. 1978. *Auricularia* spp. In: *The biology and cultivation of edible mushrooms*. Edited by S.T. Chang and W.A. Heyes, Academic Press. pp 605-625.
- Chihara, G. 1993. Medical aspects of *Lentinan* isolated from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. pg 261-266 In: Chang, ST, Buswell, JA, and Chiu, SW. eds. *Mushroom biology and Mushroom products*. Proceedings of the First International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products 23-26 August 1993, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong.
- Clegg, J. C. S. (1982). Glycoprotein Detection in Nitrocellulose Transfers of Electrophoretically Separated Protein Mixtures Using Concanavalin A and Peroxidase: Application to Arenavirus and Flavivirus Proteins, *Anal. Biochem.*, 127, 389-394
- Cole, S. C. J., Charnley, A. K., and Copper, R. M. (1993). Purification and partial characterization of a novel trypsin-like cysteine protease from *Metarhizium anisopliae*, *FEMS. Microbiol. Letter*, 113, 189-196
- Cronin, D.A. and Wark, K.K. The characterization of some volatile constituents of mushroom (*Agaricus bisporus*). *J. Agric. Food chem.* 21: 959 (1973)
- Dahlberg, A. 2001. Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist* 150:555-562.
- Dhandapani, R., and Vijayaragavan, R. (1994). Production of a thermophilic, extracellular alkaline protease by *Bacillus Stearothermophilus* AP-4, *World. J. Microbiol. Biotechnol.*, 10, 33-35
- Dosoretz, C. G., Chen, H. C., and Grethlein, H. E. (1990). Effect of environmental conditions on extracellular protease activity in lignolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 395-400
- Eriksson, O. 1996. Regional dynamics of plants: a review of evidence for remnant, source-sink and metapopulations. *OIKOS* 77:248-258.
- Falange, H., Smith, A. K. and Rackis J. J. 1964. Production of fungal mycelial

## 농어의 임지재배 기술 및 기능성 개발

- protein in submerged culture of soybean whey. *J. appl. Microbiol.* 12: 330-334.
- Falnghe, H. 1962. Production of mushroom mycelium as a protein and fat source in submerged culture in medium of vanasse. *Applied Microbial.* 10: 572-576
- Fraser, I. M. and Fujikawa, B. S. 1958. The growth promoting effect of several amino acids on the common cultivated mushroom, *A. bisporus*. *Mycologia.* 50: 538-549.
- Fujiwara, N., Masui, A., and Imanaka, T. (1993). Purification and properties of highly thermostable alkaline protease from an alkaliphilic and thermophilic *Bacillus* sp, 30, 245-256
- Go, S. J., You, C. H. and Park, Y. H. 1984. Effect of Temperature, pH, Carbon and Nitrogen Nutritions on Mycelial Growth of *Pleurotus sajorcaju* and *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* 12: 15-19.
- Grosch, W. Review : Determination of potent odourants in food by aroma extract dilution analysis(AEDA) and calculation of odour activity values(OAVs), *Flavour Fragrance J.* 9:147-158 (1994)
- Hall, I., Buchanan, P.K., Wang, Y., Cole, A. 1998. Edible and poisonous mushrooms, An introduction. New Zealand Crop & Food Research Ltd. 189p.
- Hall, I.R., G.G. Strong, Y. Wang, and I. Plattner. 1992. Progress in research on truffles and other edible fungi in New Zealand. *Micologia e Vegetazione Mediterranea VII (2);* 271-274.
- Hammond, J. B. W. 1986. Carbohydrates and mushroom growth. *The mushroom Journal.* 165: 316-321.
- Hamuro, J., Maeda, Y., Fukuoka, F. and G. Chihara 1974. *Antitumor polysaccharides* lentinan and *pachymaran* as immunopotentiators. *Mushroom Science.* 9: 477-487.
- Hensen, C., and Dowdle, E. B. (1980). Electrophoretic analysis of plasminogen

- activators in polyacrylamide gels containing sodium dodesyl sulfate and copolymerized substrates, *Anal. Biochem.*, 102, 196-202
- Hofmann, T. and Schieberle, P. Evaluation of the key odorants in a thermally treated solution of ribose and cysteine by aroma extract dilution techniques, *J. Agric. Food. chem.*, 43: 2187-2194(1995)
- Hong, J.S. and Lee. K.R. Volatile flavor components of Korean *Lentinus edodes*, *Korean J. Food Sci. Technol.* 20: 606-612 (1988)
- Hong, J.S. and Lee. K.R. Volatile flavor components of Korean *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.*, 14: 31 (1986)
- Hong, J.S. Contents of free amino acids and total amino acids in *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*, *Korean J. Food Sci. Technol.* 21: 58-62 (1989)
- Hosokawa, A. and Motohashi, K. Drying characteristics of a single grain of rough rice. *J. soc. Agr. Mach. Japan*, 33: 53 (1971)
- Jany, K.-D., Leder, G. and Mayer, B. (1986). Amino acid sequence of proteinase K from the mold *Tritirachium album* Limber, *FEBS Lett.* 199, 139-144
- John, St. T. 2002. The kinds of mycorrhiza. <http://www.mycorrhiza.org/types.htm>.
- Jonsson, L., A. Dahlberg, M.C. Nilsson, O. Zackrisson, O, Karen. 1999. Ectomycorrhizal fungal communities in late-successional Swedish boreal forests and composition following wildfire. *Molecular Ecology* 8:205-217.
- Kim, H.Y., Influencing factors in drying characteristics of fluidized bed drying of Husked Barley. *J. Korean. Food Sci. Technol.* 33: 706-713 (2001)
- Komanowski, M. 1970. Air drying of cultivated mushrooms. *Food Technol.* 24: 80-84.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly the head bacteriophage T<sub>4</sub>, *Nature*, 227, 680-685
- Lassen, M. (1952). Heat denaturation of plasminogen in fibrin plate method, *Acta Physiol. Scand.*, 27, 371-376

능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

- Lee SS, and Sung, CK., 1997. The mycelia isolated from the basidiocarps of *Tricholoma matsutake* in Korea. *Korean Mycology* 25: 121-120.
- Lee SS, and Sung, CK., 1997b. The mycelia isolated from the basidiocarps of *Tricholoma matsutake* in Korea. *Korean Mycology* 25: 121-120.
- Lee SS, Choi KJ, Oh CH 1996. Sawdust-culture of *Lepista nuda*. *Korean J. Mycology* 24: 274-279.
- Lee, J. Y. (1988). Colored korean mushrooms, Acardemy publishing Co., Ltd., korea, 219
- Lee, J.W. Studies on the pharmacological effects of *Sarcodon aspratus*, Woosuk Univ. of Junju, Junju, Korea (1990)
- Lee, J.W., Lee, J.H., Do J.H. and Sung H.S. Volatile flavor components of Korean *Auricularia polytricha*, *J. Korean Soc. Agric. chem. Biotech.* 38: 546-548 (1995)
- Lee, SS. and KJ. Choi. 1995. Solid-culture of *Lepista nuda*. *Korean J. Mycology* 23: 105-113.
- Lee, T.K. Studies on the primary structure of alkaline protease in *Sarcodon aspratus*, *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22: 811-814 (1993)
- MacLeod, A.J. and Panchasara, S.D. Volatile aroma components, particularly glucosinolate products, of cooked edible mushroom. *Phytochem.*, 22: 705 (1983)
- Maruyama, H. F., Yamazaki, K., Murofushi, S., Konda, C., and Ikekawa, T. (1989). Antitumor Activity of *Sarcodon aspratus*(BERK.) S. ITO and *Ganoderma lucidum*(FR.) KARST., *J. Pharmacobio. Dyn.*, 12, 118-123
- Matsuzawa, H., Hamaoki, M., and Ohta, T (1983). Production of thermophilic extracellular proteases (aqualysins I and II) by *Thermus aquaicus* YT-1, an extreme thermophilic, *Agric. Biol. Chem.*, 47, 25-28
- Mau, J.L. and Ziegler, G.R. Factors affecting 1-octen-3-ol in mushroom at harvest and during postharvest storage. *J. Food Sci.* 58: 331-334 (1993)
- Mega, J.A. Mushroom flavor, *J. Agric, Food, Chem*, 29: 1-4 (1981)
- Min, Y.K., Yoon, H.S., Kim, J.Y., Jeong, H.S. Aroma characteristics of

- Applemint with different extraction methods, *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1465-1470 (1999)
- Morihara, K. (1974) Comparative specificity of microbial proteinases, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 41, 179-243
- Neurath, H. (1989) The diversity of proteolytic enzymes, *In* Beynon, R. J., Bond, J. S. (ed.), *Proteolytic Enzymes : A Practical approach*, ISL Press, 1-4
- Nikerson, G.B. and Likens, S.T. Gas chromatographic evidence for occurrence of hop oil components in Beer. *J. Chromatogr.* 21: 1-5 (1996)
- Park, Jong-Moon, Thorpe, James L., Characterization of tensile energy absorption, ESPRI Report, 98, (1993).
- Park, Jong-Moon, Thorpe, James L., Distortion and dilatation in the failure of paper, ESPRI Report, 100, (1994).
- Park, Jong-Moon, Thorpe, James L., Mode I fracture study of commercial paper grades, ESPRI(Empire State Paper Research Institute) Report, 96, (1992).
- Park, Jong-Moon, Thorpe, James L., The energy criteria for elastic-plastic fracture in tough paper, ESPRI Report, 97, (1992).
- Park, Jong-Moon, Thorpe, James L., Yield and fracture of paper (Angle of initial crack propagation), ESPRI Report, 99, (1993).
- Park, W. H. (1991). Colored fungi of korea, Kyohak publishing Co., Ltd, korea, 344-345
- Park, W.H. Studies on the components of *Sarcodon aspratus(I)*, *Kor. J. Mycol*, 11: 85-89 (1983)
- Park, W.H. Studies on the components of *Sarcodon aspratus(II)*, *Kor. J. Mycol*, 11: 159-162 (1983)
- Pilz, D. and R. Molina. 2002. Commercial harvests of edible mushrooms from the forests of the Pacific Northwest United States: issues, management, and monitoring for sustainability. *Forest Ecology and Management* 155:3-16.

- Redecker, D., T.M. Szaro, R.J. Bowman, T. and D. Bruns. 2001. Samll genets of *Lactarius xantogalactus*, *Russula cremoricolor* and *Amanita francheti* in late stage ectomycorrhizal successions. *Molecular Ecology* 10:1025-1034.
- Riva, M., Schiraldi, A. and Cesare, L.F.D. Drying of *Agaricus bisporus* mushrooms by microwave-hot air combination. *Lebensm.-Wiss.u-Technol.* 24: 479-483 (1991)
- Sarath, G., Motto, R.S., Wanger, F. W. (1989). Protease assay methods, *In* Beynone, R. J., Bond, J. S. (ed.), *Proteolytic Enzymes : A Pratical approach*, ISL Press, 25-55
- Sell, P.E. Nancy J., *Process Control Fundamentals for the Pulp and Paper Industry*, TAPPI PRESS, Atlanta, GA, 1995.
- Song, S.K. Drying Characteristics of mushroom. *J. Korean Soc Agr. Eng.* 19: 112-123 (1994)
- Spiro, R. G. (1966). Analysis of sugars found in glycoproteins, *Methods Enzymol.*, 8, 3-26
- Spoerke, DG, and Rumack, BH. 1994. *Handbook of mushroom poisoning*. CRC press, Boca Ration.
- Srinivasan, M. S., Vartak, H. G., Powar, V. K., and Sutar, I. I. (1983). High activity alkaline protease production by *Conidiobolus* sp., *Biotechnol. lett.*, 5, 285-288
- Stamets, P. 1993. *Growing Gourmet and Medicinal mushrooms*. Ten Speed Press and Mycomedica™ . Berckely. CA 94707.
- Tojo, M. and Okamura. T. A. Study of drying of soybean-III. *J. Soc. Agr. Mach. Japan.* 29: 209(1967)
- Tsuchiya, K., Nakamura, Y., Sakashita, H., and Kimura, T. (1992). Purification and characterization of a thermostable alkaline protease from alkalophilic *Thermoactinomyces* sp. HS682, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 56, 246-250
- Uhm, T.B and Lee, T.K, Characterization of a serine protease from *Sarcodon aspratus*, *J. Korean Soc. Food Nutr.* 20(1), 35-39 (1991)

- Wood, DA, Claydon, N., Burton, KS, Matcham, SE, Allan, M, Perry, C., Thrston, CF, Raguz, S. and Yague, E. 1991. Molecular analysis of enzymes of *Agaricus bisporus*. In pg 43-50: Maher, MJ. Science and Cultivation of edible fungi. Proceedings of the 13th International Congress on Science and Cultivation of edible fungi. Dublin, 1-6 September, 1991
- Yajima, I., Yanai, T., Nakamura, M., Sakakitabara, M. and Hayashi, K., Volatile flavor components of *Tricholoma matsutake*, *Agric. Biol, Chem.* 45: 373 (1981)
- 古川久彦. 1992.きのこ學. 共立出版社. 東京. 116-140p.
- 구창덕, 김재수, 박재인, 조남석, 최태호, 민두식. 2000. 표고균사 배양체내 에르고스테롤 함량의 변이. 한국목재공학회지 28:65-70.
- 今關六也, 大谷吉雄, 本郷次雄. 1988. 日本のきのこ. 山と溪谷社. 624p.
- 김삼순, 김양섭. 1990. 한국산 버섯도감. 유평출판사. 391p.
- 김순철, 골판지 기술, 예진, p.482, 1997.
- 김재수 등. 1999. 송이, 지속가능한 생산전략. 신농민강좌시리즈. 농민신문사. 279p.
- 김홍은 등. 2000. Suggestions for developing the cultivation technology of mycorrhizal mushrooms. Proceedings of the 2nd international symposium on New Horizon of Bioscience in Forest Product Field. April 19-20. 충북대학교. 52-62.
- 김홍은, 등. 2001. 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발. 농림기술개발과제 1년차 연구결과 보고. 충북대학교 농과대학. 51p.
- 민두식, 조남석의 2인, “알칼리요소를 사용한 신갈나무재의 펄프화에 관한 연구”, 농촌열에너지연구 8(1), 충북대학교, (1992), (p.4-130).
- 민두식, 조남석, 성재모, 조재명. 1995. 표고버섯, 새로운 재배와 경영. 농민신문사
- 박완희, 이호득. 1991. 한국의 버섯. 교학사. 508p.
- 박종문, James Thorpe, “고인성 종이의 탄성-소성 파괴의 에너지 판단기준”, 목재공학(24권4호), 한국목재공학회, (1996), (p.64-73).
- 박종문, James Thorpe, “상업용지의 Mode I 파괴 연구”, 펄프·종이기술(28권 4호), 한국펄프종이공학회, (1996), (p.17-30).

## 능이의 임지재배 기술 및 기능성 개발

- 박종문, “종이물성의 이론과 응용”, 제지기술, 강원대 창강제지기술연구소, (1995), (p.44-55)
- 박종문, “종이의 특성에 영향을 미치는 섬유특성”, 서울대농업생명과학대학 목재화학실, 서울대 목재화학실, (1996), (p.214-235).
- 박종문, “탈수성 향상 기술개발”, 통상산업부, (1996).
- 박종문, 오세균, 한신호, “Effect of enzyme on ink size and distribution during the enzymatic deinking process of old newsprint”, 6th int'l Conf. on Biotech. in Pulp & Paper Industry, WUV- universitatsve rlag, (1996), (p.11-15).
- 박종문, 오세균, 한신호, 윤병태, 안은숙, “폐지를 활용한 경량도공지제조기술 개발”, 과학기술처, (1995).
- 박종문, 윤병태, 오세균, “인도네시아산 열대활엽수의 비시티엠펜피펄프화”, 한국 화학연구소, (1995).
- 산림청 홈페이지. 2002. <http://www.foa.go.kr>
- 相良直彦. 1993. きのこの動物. 築地書館. 185p.
- 小川眞. 1991. マツタケの生物學. 東京. 築地書館. 333p.
- 오세균, 박종문, “골판지원지의 강도강화상지료 및 공정영향고찰”, 골판지 포장, 물류, 한국골판지포장 공업협동조합, (1994), (p.92-94).
- 월간버섯사. 2001. 능이버섯 임지재배 기술 및 기능성 개발. 월간버섯. 10월. 102-106.
- 이태수, 이지열. 2000. 한국 기록종 버섯 재정리 목록. 임업연구원 연구자료. 163호.87p.
- 정대교. 1966. 표고(추이)재배. 농업생산기술문고 (89). 부민 문화사. 161p.
- 조남석, “셀룰로오스로부터 기능성 신소재개발”, 목재공학22(4), 한국목재공학회, (1994), (p.51-60).
- 조남석, 김영신, 박종문, 민두식, Andrzej Leonowicz, “활엽수 크라프트펄프 및 박테리아 셀룰로오스로부터 제조한 종이의 물성, 펄프·종이기술(29권4호), 한국펄프종이공학회, (1997), (p.53-63).
- 조남석, 박종문, “골판지포장과 합성수지포장의 환경 친화성 평가 총분석”, 골판지 포장, 물류, 한국골판지포장공업협동조합, (1996), (p.48-55).



- 조남석, 전양, 신동소, “알칼리-요소를 사용한 무공해펄프 제조에 관한 연구(제3 보)”, 펄프·종이기술 27(2), 한국펄프종이공학회, (1996), (p.41-47).
- 차동열. 성재모. 조남석 외. 1998. 버섯학. 교학사.

여 백

## 부 록

### ※능이 연구 관련 사진 설명



사진 1. 능이버섯(*Sarcodon aspratus*)의 자실체. 참나무림의 땅에서 2-7개의 다발로 난다. 갓 아래는 바늘상의 자실층이 있고 이곳에 담자 포자를 맺는다. 버섯조직은 맛이 있으며, 신선한 것은 아주 순하면서 향긋하다.



사진 2. 무늬노루털버섯(*Sarcodon scabrosus*). 이 버섯은 능이와는 유사종으로 소나무림에서 나며, 자루가 길고, 맛이 매우 쓰다.



사진 3. 능이버섯 자실체의 뿌리가 땅속 깊이 뻗어있다.



사진 4. 땅 속에 있는 능이버섯의 흰색 균사와 참나무 균근, 토양의 복합체.



사진 5. 능이 균사에 있는 연결 격쇄. 능이 균사는 무색투명하며, 균사 굵기는 4-5 $\mu$ m, 균사벽 두께는 약 1 $\mu$ m이다.



사진 6. 능이균 사체는 땅 속으로 22cm 깊이까지 뻗으며 참나무의 뿌리와 토양을 단단하게 묶고 있다.





사진 7. 능이 균환조사 및 균환 내 토양수분 변화 조사지. 월악산 충북대 연습림, 골미. 상수리와 굴참나무림 내에 12m x 12m 조사구에서 1m x 1m 격자로 표시하고 능이 발생 위치, 균환의 모양과 위치를 조사하였다.



사진 8. 능이버섯의 발생지점을 표시하고 균환의 위치를 확인한 후 노란 막대로 표시하였다. 버섯 발생기간 전후 약 2달 동안, 토양 속 능이균환 내부의 수분 변동상황을 TDR (Time Domain Reflectometry) probe를 설치하여 측정하였다.



사진 9. TDR probe와 전선.

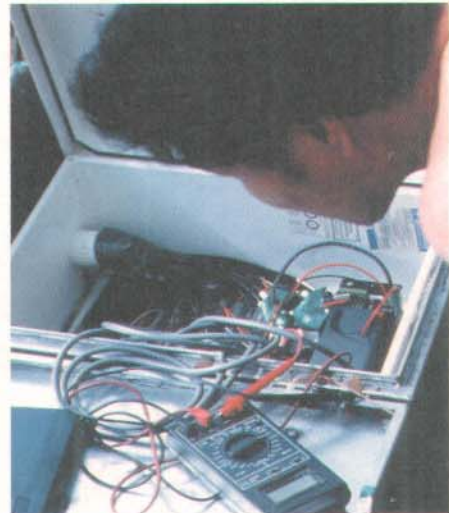


사진 10. TDR probe에 감지된 토양 수분량은 CR10X data logger에 저장하였다.



사진 11. 능이균 집중묘를 기르기 위하여 능이균환의 토양을 채집하였다. 능이균사는 썩고있는 뿌리 속에는 들어가지 않았다.



사진 12. 능이 균환덩이 4-5개를 화분에 넣고 그 위에 상수리나무, 굴참나무, 졸참나무 종자를 파종하였다.



사진 13. 능이균환내 균근은 균사가 치밀하게 엉켜져 싸여 있다.



사진 15. 능이 균환 덩어리를 접종하였으나 참나무 묘목의 뿌리에는 균근이 형성되지 않았고, 뿌리털이 발달한 비균근 상태였다. 접종원으로 사용된 능이 균환덩어리는 검게 썩었다.



사진 14. 능이 균환 덩어리를 접종한 화분을 온실과 growth chamber에서 배양하였다.





사진 16. 정단부가 뾰족한 상수리나무 묘목의 비균근 뿌리.

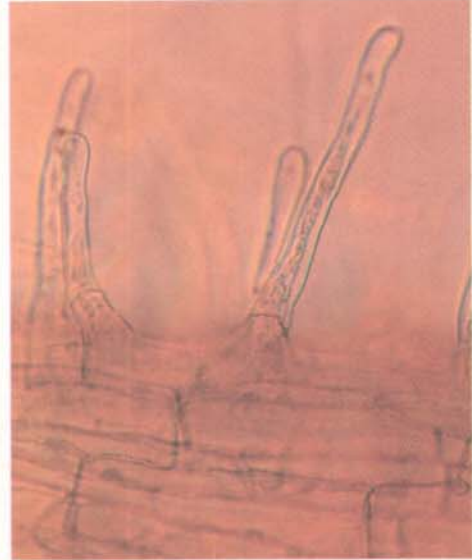


사진 17. 비균근 뿌리에 발달한 뿌리 털.



사진 18. 온실 내부에서 오염된 것으로 보이는 흰색 균근.



사진 19. 온실외부에서 키운 묘목에서 자연적으로 형성된 흰색과 검정색 균근.



사진 20. 월악산 충북대 연습림 골미지역의 능이 발생지점 균환 위에 파종된 굴참나무 종자.



사진 21. 파종된 종자에서 나온 굴참나무 유묘.



사진 22. 균환부위에서 굴취된 굴참나무 묘목. 좌측 묘목은 능이균환 위에 심겨졌던 것으로 균환의 흠덩이가 단단히 붙어있다. 반면에 우측의 묘목은 능이균환이 없는 곳에 파종되었던 것으로 뿌리에서 토양이 대부분 쉽게 떨어져나갔다.



사진 23. 능이 균환 위에 식재되었던 묘목의 뿌리에서 형성되었던 능이 균근으로 버섯발생 후 표피와 피층세포가 사멸하면서 검정색으로 되었으나 그 내부의 통도조직은 밝은 갈색으로 살아있다.



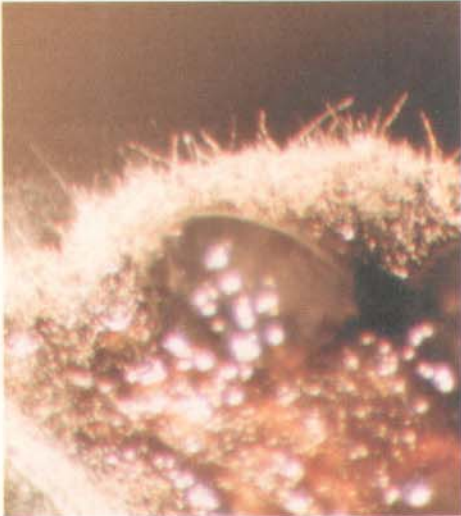


사진 25. 균분리 배양 중인 능이 조직에서 흰색 실처럼 자라나오고 있는 균사. 그 가운데에는 무색 투명한 박테리아 콜로니가 또한 자라고 있다.



사진 24. 능이 버섯의 바늘상 자실층 조직에서 능이균을 분리배양하는 중에 흰색의 박테리아가 매우 빠르게 성장하였다. 이 박테리아는 저장 중에 버섯을 무르게 하고 품질을 떨어뜨린다.



사진 26. IBA 생장조절물질을 처리하여 발근된 상수리나무 조직배양묘에 능이균으로 생각되는 균사를 접종하였다.



사진 27. 능이균으로 생각되는 배양된 균사는 상수리나무 기내 배양묘에서 균근을 전혀 형성하지 않았다.



사진 28. 능이를 4℃에 저장하는 동안 자라나오는 *Trichoderma* 속 균의 균사.



사진 29. 능이 자실체의 바늘상 자실층에 성장하는 *Botrytis* 속 균의 균사. 이 들 균은 능이의 품질과 저장성을 떨어뜨린다.



사진 30. 능이 발생지점에서 능이 자실체가 썩어서 검게 변한 모양.