

팽이버섯 균사체 성장에 미치는 Natural Oil의 영향

안장혁 · 임왕진¹ · 송치현² · 양한철*

고려대학교 식품공학과, ¹생물공학 연구소, ²대구대학교 생물공학과

Effect of Natural Oils on the Mycelial Growth of *Flammulina velutipes*

Ahn, Jang-Hyuk, Wang-Jin Lim¹, Chi-Hyeun Song² and Han-Chul Yang*

Department of Food Technology and ¹Institute of Biotechnology,
Korea University, Seoul 136-701, Korea

²Department of Biotechnology, Taegu University, Kyungsan 713-830, Korea

Abstract — Vegetable oils supplemented to the basal medium stimulated mycelial growth of *Flammulina velutipes*. The mycelial yield was increased 3.5 folds by addition of 3% (v/v) ricebran oil. Maximum mycelial yield (18.2 mg/ml) was obtained by addition of 3.0% ricebran oil with 1.0% CaCl₂ to the basal medium. There was no significant difference between the liquid and solid spawn in the yield of sporophores.

최근 기능성 식품에 대한 관심이 높아지면서 면역 활성 및 항암성분이 함유된 버섯류에 대한 소비가 증가하고 있다. 그 중 팽이버섯(*Flammulina velutipes*)은 항암작용이 있는 것으로 보고된 Flammulin(1)과 혈압강화작용이 있는 Flammutoxin(2)을 함유하고 있는 고단백식품으로 알려져 있다.

팽이버섯은 일반적으로 톱밥 등과 같은 Ligno-cellulose material에 고체 배양하여 자실체를 식용하고 있으며, 액체 배양에 의한 균사체의 이용가능성이 검토되었다. 고등 균류의 액체 배양 및 그의 이용방안으로서, 균사체 및 배양액으로부터 유효성분을 추출하거나(3), 균사체 자체를 고단백 식품으로써 사용하려는 시도(4), 그리고 버섯재배의 종균(5)으로서 사용가능성에 대한 연구가 진행되고 있다. 그러나 대부분의 고등균류는 균사체 액체 배양시 생산속도나 그 yield가 상대적으로 타 미생물에 비하여 낮은 단점이 있는데, 이를 보완하기 위한 방법으로 영양요구 및 첨가제에 관한 연구가 수행되고 있다.

고등균류는 일반적으로 잘알려진 조섬유 분해효소 (cellulase)(6)외에도 지질분해효소(lipase)(7) 활성을

갖고 있어서 탄소원으로 triacylglycerol 및 fatty acids 등이 growth stimulator로 작용함이 알려져 있으며(4, 8, 16), *Agricus bisporus*(9), *Pleurotus sapidus*(10) 및 *Lentimus edodes*(11) 등, 고등균류의 액체 배양시 lipid 첨가에 의한 성장촉진효과가 보고되었다.

본 실험에서는 각종 식물성유들에 의한 팽이버섯 균사체 성장 촉진 효과와 lipase를 안정화하는 인자로 알려진 Ca²⁺ ion의 영향을 측정하고 나아가 액체배양 균사체를 버섯 재배에 있어서 종균으로서의 사용 가능성을 검토하고자 한다.

재료 및 방법

균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 호주 시드니대학 미생물 학과에서 분양받은 *Flammulina velutipes*(FV 10)를 사용하였다. 보존배지 및 기본배지로 사용된 배지 조성은 mannitol 1.5%, NH₄NO₃ 0.08%, Glutamic acid 0.3%, KH₂PO₄ 0.25%, MgSO₄·7H₂O 0.06%, Thiamine·HCl 300 µg/l이며, 증류수에 녹여 pH 6.5로 조정하였다.

접종 및 배양

Key word: Vegetable oils, liquid spawn, *Flammulina velutipes*

*Corresponding author

500 ml 삼각플라스크에 기본배지 100 ml를 사용, 배양온도 22°C, 교반속도 100 rpm으로 17일간 진탕 배양한 배양액을 glass bead를 사용하여 무균적으로 균질화한 후 3 ml(10 mg D.W.)씩 접종하였다. 본 배양 실험도 같은 조건에서 배양한 후 균체량을 측정하였다. 각종 기본배지에 첨가되는 식물성유들은 121°C에서 15분간 기본배지와 함께 살균하였다.

균체량 측정

배양액을 5800 g로 20분간 원심분리하여 얻은 균체를 여과지(Whatman No. 42)로 거른 후, 잔여 lipid를 제거하기 위하여 증류수와 알코올로 수회 세척하고 마지막으로 아세톤으로 세척하여 105°C에서 항량을 구하였다.

종균제조

액체종균 및 상업적으로 사용되는 톱밥배지 종균 비교실험에서, 액체종균은 기본배지에 식물성유를 첨가한 배지에서 17일간 배양하여 사용하였고, 고체종균은 참나무톱밥에 미강을 10%첨가하여 수분함량을 65%로 조절하고 800 cc 용량의 polypropylene bottle에 500 g 충전한 후 121°C에서 1시간 살균한 다음 균사를 접종하여 18°C에서 20일간 배양한 것을 사용하였다.

자실체의 생산

Polypropylene bottle에 커피박과 옥수수박의 3:1 혼합배지를 충전하고, 톱밥배지종균은 10 g, 액체종균은 10 ml(33 mg D.W.)씩을 접종한 후 온도 18°C, 습도 60%의 암조건에서 균사를 활착시킨 후, 발아, 억제물 거쳐 온도 5°C, 습도 70%의 생육조건에서 자실체를 형성하였다.

결과 및 고찰

각종 식물성유 첨가에 의한 균사체 성장효과

*F. velutipes*의 균사체 성장에 있어서 각종 식물성유의 첨가효과를 검토한 결과(Fig. 1), 실험에 사용된 모든 식물성유가 균사체 성장촉진효과를 보였는데, 이는 다음 두가지 요인으로 고려해 볼 수 있다. 첫째로 lipid가 extracellular lipase에 의하여 breakdown(11)되어 탄소원으로 작용하기 때문이고, 둘째로 첨가된 lipid에 의하여 세포막 성분을 변화시켜 membrane permeability에 영향을 주어 nutritional transport(15)

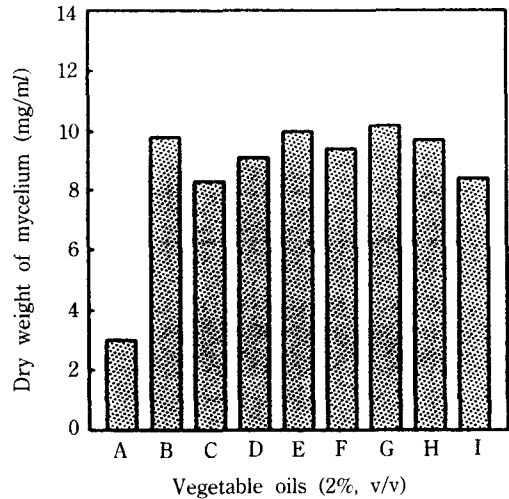


Fig. 1. Effect of various vegetable oils on the mycelial growth of *Flammulina velutipes*.

A: control, B: cotton seed oil, C: soy bean oil, D: corn oil, E: safflower oil, F: canola oil, G: ricebran oil, H: rape seed oil, I: olive oil. Each vegetable oil was added 2%(v/v). Culture was carried out at 22°C, pH 6.5 for 17 days.

가 증가된 결과로 볼 수 있다. 사용된 식물성유에 따라 약간의 차이는 보였으나 무첨가구에 비하여 약 2~3배의 균체량 증가 효과를 보였는데 이는 식물성유들의 fatty acid의 조성도와 불포화도의 차이에 그 원인이 있는 것으로 사료된다. *Letinus edodes*나 *Pleurotus sajor caju*(12)에서도 식물성유의 대부분을 차지하는 불포화 지방산인 oleic acid나 linoleic acid 첨가시 균사체 성장 촉진을 보였는데 *F. velutipes*의 경우에도 이와 유사한 것으로 생각된다.

미강유 농도별 균사체 성장효과

균사체의 건조균체량 증가에 가장 효과적인 미강유의 농도별 균사체 성장에 미치는 영향을 검토한 결과(Fig. 2), 미강유의 농도가 증가함에 따라 균사생장이 촉진되어 3.0% 농도에서 12.2 mg/ml로써 최대치를 나타내었으며 그 이상의 농도에서는 감소하는 결과가 나타났다. 이는 과량의 lipids에 의하여 배양액 상층부에 막을 형성하여 aeration을 차단하기 때문이거나 탄소원 증가에 의한 균사체 성장의 최적 C:N ratio 범위를 벗어난 결과로 사료된다.

CaCl₂ 농도에 의한 영향

lipid를 첨가하지 않은 기본배지에서 1.0%의 CaCl₂

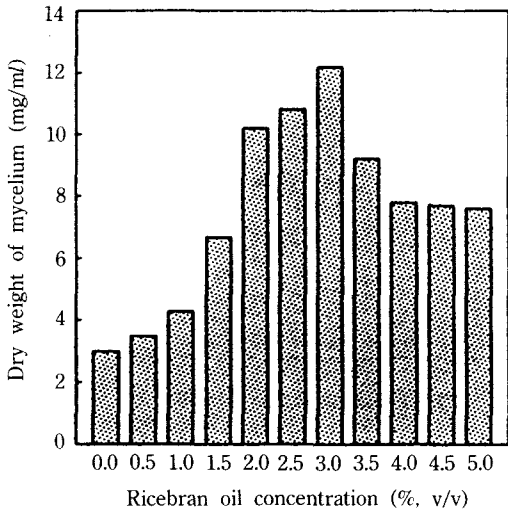


Fig. 2. Effect of ricebran oil concentration on the mycelial growth of *Flammulina velutipes*. Culture was carried out at 22°C for 17 days.

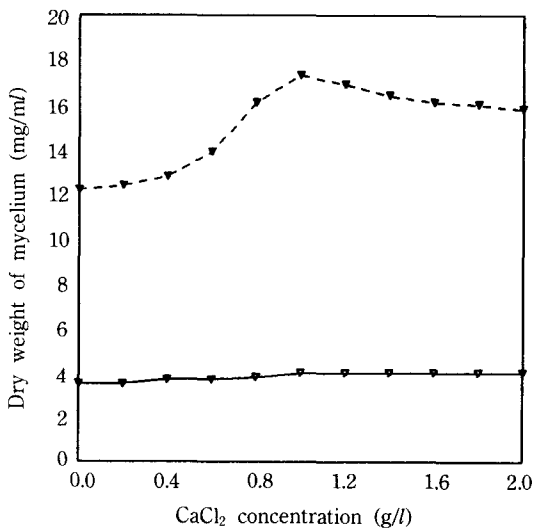


Fig. 3. Effect of Ca²⁺ concentration on the mycelial growth of *Flammulina velutipes*. Culture was carried out at 22°C for 15 days in basal medium with (▼) or without (●) 3% ricebran oil.

첨가시 건조균체량은 약 4.2 mg/ml로써 무첨가시에 비하여 별다른 증가를 보이지 않았으나, 미강유를 함유한 배지에서는 1.0% CaCl₂ 첨가에 의하여 건조균체량은 17.3 mg/ml로써 무첨가시의 10.8 mg/ml보다 약 1.6배 증가하였다(Fig. 3). 이상의 결과는 Ca²⁺에 의하여 lipase의 structure가 안정화되고(13), Ca²⁺ salt의 형성에 의한 반응계로부터 free fatty acid의

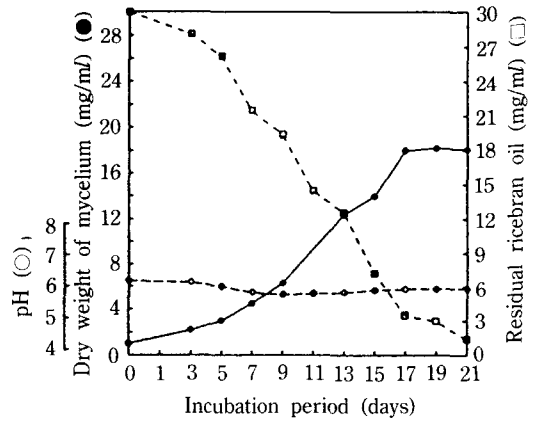


Fig. 4. Relationship between mycelial growth and utilization of ricebran oil by *Flammulina velutipes*. Culture was carried out at 22°C in basal medium supplemented with 1.0% CaCl₂ and 3.0% ricebran oil. Dry weight of mycelium (●-●), Residual ricebran oil (□-□), pH (○-○).

Table 1. Comparison of liquid spawn and solid spawn on the yield of sporospore of *Flammulina velutipes*

Type of inoculum	Yield of sporospore (g/bottle)
Solid	115.0
Liquid	118.0

제거로 lipid의 hydrolysis가 촉진되어(14) 균체량의 증가를 가져온 것으로 생각된다.

배양중 미강유의 이용과 pH의 변화

미강유 3.0%와 CaCl₂ 1.0%가 첨가된 배지에서의 균사체 성장에 따른 미강유의 이용과 pH 변화를 측정하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 배지에 함유된 미강유는 배양 초기부터 계속 감소하여 정지기에 이르면 대부분 이용되었으며, 배양 17일 후 건조균체량은 18.2 mg/ml로 최대치를 나타내었다. 한편, pH는 대수기에 이르러 5.15까지 감소하였다가 정지기 이후에는 5.8을 유지하였다.

액체 종균에 의한 자실체 생산

이상의 결과를 종합한 최적조건에서 액체종균을 제조하여 자실체 생산에 대한 적용 가능성을 검토하였다. 기본배지에 미강유와 CaCl₂를 첨가한 배지에서 배양된 균사체 10 ml(액체 종균)와 톱밥배지 종균 10 g (고체 종균)을 각각 접종, 배양하여 자실체 생산량을

비교하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 액체 및 고체 종균 사용시 자실체 생산량은 각각 118 g/bottle과 115 g/bottle로 거의 동등한 결과를 나타내었다. 액체 종균과 고체 종균의 비교실험에서 사용된 균사체의 건조중량비가 동일하여야 하는 문제점이 있으나, 액체 종균은 그 제조 기간이 짧고 고체 종균 제조에 비해 설비 면적이 적게 드는 반면 자실체 생산량은 거의 비슷한 수율을 나타내 고체 종균을 액체 종균으로 대체하여 상업적인 버섯 재배에도 적용 가능할 것으로 생각된다.

요 약

합성배지에 첨가된 모든 식물성유들이 균사생장을 촉진하여 2%(v/v)의 식물성유들에 의해 균체량이 최저 2.7배에서 최고 3.3배까지 증가하였으며, 3%의 미강유(ricebran oil)농도에서 건조균체량은 무첨가시보다 3.5배가 증가되었다. 또한 균사체의 lipid 이용은 Ca^{2+} 에 의해 촉진되어 1.0%(w/v)의 $CaCl_2$ 농도에서 균체량은 18.2 mg/ml로 최대치를 나타내었다. Flask에서 17일 배양하여 얻어진 액체종균과 고체종균을 접종하여 생산된 자실체의 양은 각각 118.0 g, 115.0 g으로 큰 차이를 나타내지 않았다.

참고문헌

1. Komatsu, J., H. Terekawa, K. Nakanishi and Y. Watanabe. 1963. *Flammulina velutipes* with antitumor activities. *J. Antibiot., Ser. A*. **16**: 139-143.
2. Lin, J.Y., Y.J. Lin, C.C. Chen, H.L. Wu, G.Y. Shi and T.W. Jeng. 1974. Cardiotoxic protein from edible mushrooms. *Nature*. **252**: 235-237.
3. Chang, S.T. and P.G. Miles. 1989. Edible mushroom and thier cultivation CRC Press Inc. 35-38.
4. Reusser, F., J.F.T. Spencer and H.R. Sallans. 1958. Protein and fat content of some mushroom grown in submerged culture. *Appl. Microbiol.* **16**: 1-4.
5. Dijkstra, F.I.J., W.A. Scheffers and T.O. Willken. 1972. Submerged growth of cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Antonie van Leeuwenhoek Ned. Tijdschr. Hyg.* **38**: 329-340.
6. Manning, K. and D.A. Wood. 1983. Production and regulation of extracellular endocellulase by *Agaricus bisporus*. *J. of Gen. Microbiol.* **129**: 1839-1847.
7. Song, C.H., K.Y. Cho and N.G. Nair. 1990. Effect of triacylglycerols on growth, lipid profile and lipase activity of *Lentinus edodes*. *Mush. J. Tropics.* **10**: 9-19.
8. Kerwin, J.L. and R.K. Washino. 1986. Regulation of oosporogenesis by *Lagenidium gigantum*: Promotion of sexual reproduction by unsaturated fatty acids and sterol availability. *Can. J. Microbiol.* **32**: 294-300.
9. Wardle, K.S. and L.C. Schisler. 1969. The effect of various lipids on growth of mycelium of *Agaricus bisporus*. *Mycologia.* **61**: 305-314.
10. Kurtzman, R.H. Jr. 1976. Nutrition of *Pleurotus sapidus*: Effect of lipids. *Mycologia.* **68**: 286-295.
11. Song, C.H., K.Y. Cho, N.G. Nair and J. Vine. 1989. Growth stimulation and lipid synthesis in *Lentinus edodes*. *Mycologia.* **81**: 514-522.
12. Nair, N. G., C.H. Song and K.Y. Cho. 1989. Lipid profile of *Pleurotus sajor caju*. *Ann. Appl. Biol.* **114**: 167-176.
13. Wills, E. D. 1960. The relation of metal ion and SH groups to the activity for pancreatic lipase. *Biochem. Biophys. Acta.* **40**: 481-490.
14. Bier, M. and F. F. Nork. 1951. The effect of certain ions on crystalline trysin and reinvestigation of its isoelectric point. *Arch. Biochem. Biophys.* **33**: 320-332.
15. Song, C.H., K.Y. Cho and N.G. Nair. 1991. Effect of low temperature shock treatment on sporophore initiation, lipid profile and nutrient transport in *Lentinula edodes*. *Mycologia.* **83**: 24-29.
16. Holtz, R. B. and L.C. Schisler. 1986. Utilization of fatty acids by *Agaricus bisporus* in commercial culture. *Mycologia.* **78**: 722-727.

(Received July 19, 1993)