

귤피 및 녹차추출물에서 배양한 소나무잔나비버섯(*Fomitopsis pinicola*) 균사체의 유리아미노산 및 다당류 함량

장경호¹ · 신경옥 · 김순동[†]

¹충부대학교 이공대학호텔외식산업학과, 대구가톨릭대학교 식품산업학부 식품공학전공

Free Amino Acid and Polysaccharide Content of Submerged Mycelial Culture of *Fomitopsis pinicola*

Kyung-Ho Jang¹, Kyung-Ok Shin and Soon-Dong Kim[†]

¹Department of Hotel and Food Science Industry, Joongbu University, Choongnam 312-702, Korea
Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Industrial Technology,
Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

Abstract

Free amino acids and polysaccharide content of submerged mycelial culture of *Fomitopsis pinicola* using 2% citrus peel water extracts(CP), 2% green tea water extracts(GT) and yeast-malt broth(YM) were investigated. Cultivations were conducted at 30°C and 150 rpm for 10 days. Yields of the mycelium as fresh weight basis in GT-, CP- and YM-broth were 42.3%, 34.2% and 9.89%, and their turbidity(OD at 660 nm) of the broth without mycelium were 0.14, 0.16 and 0.22, respectively. Total free amino acid content in the mycelium were 928.19 mg% in YM, 1060.53 mg% in CP, 764.83 mg% in GT, and the major free amino acid was lysine in YM, glutamic acid in CP and GT. Total free exo-amino acid contents were 659.75 mg% in YM, 954.55 mg% in CP, 838.69 mg% in GT, and the major in the all broths was glutamic acid. Total amino acid derivatives content of the mycelium were in order of CP>GT>YM, and the major was cystathionine in YM, hydroxy proline in CP and GT. The major among exo-amino derivatives was hydroxy proline in the all broth. Exo-AIS content was in order of CP >GT>YM. Acid soluble polysaccharide content of the mycelium was GT(0.69%)>YM(0.39%)>CP(0.18%). The exo-polysaccharide content was in order of GT(0.87%)>CP(0.69%)>YM(0.09%). Alkali soluble polysaccharide content of the mycelium was in order of CP(5.21%)>GT(5.18%)>YM(4.56%), and exo-polysaccharide was in order of GT(6.79%)>YM(3.57%)>CP(3.01%). The alkali soluble polysaccharide eluted from mycelium cultivated in CP broth was supposed to polysaccharide(about 500,000 daltons) composed of hexose and uronic acid bounded with protein(below 10,000 daltons).

Key words : mushroom, *Fomitopsis pinicola*, natural medium, free amino acid, polysaccharide

서 론

생활습관의 변화와 노령화로 생활습관병의 발병율이 증가되고 있는 추세이다. 그중에서도 당뇨병 환자는 인구의 10%에 이르는 것으로 추산되고 있다(1). 이에 따라 새로운 기능성 식품소재의 발굴에 대한 다양한 연구가 이루어지고

있으며 특히, 버섯을 중심으로 활발한 연구가 이루어지고 있다(2).

소나무 잔나비버섯(*Fomitopsis pinicola*)은 자루가 없고 갓은 나무줄기에 선반 모양으로 붙어서 반원형을 이루며, 갓의 지름은 30 cm, 두께는 15 cm 정도로 큰 버섯이며, 버섯 갓 둘레 부분에 적갈색의 띠가 둘러져 있고 밑면은 황백색으로 미세한 관공이 밀포된 특징을 가지고 있는데 예로부터 다양한 생활습관병의 예방과 치유에 사용되어 왔다(1). 버섯류에서 알려지고 있는 생리활성으로는 항암

[†]Corresponding author E-mail : kimsd@cu.ac.kr,
Phone : 82-53-850-3216, Fax : 82-53-850-3216

(3), 면역증강(4), 콜레스테롤 및 혈당저하(5), 뇌졸중 및 심장병 예방과 치유(6, 7), 감염 방어효과(8) 등이 보고된 바 있으며 그 효과는 이들에 함유된 다당류에 의한 것으로 밝혀지고 있는데 그 대표적인 다당류로서는 *Lentinus edodes*로부터 추출된 β -1,3-glucan(9), *Coriolus versicolor*의 배양 균사체로부터 추출된 PS-K(10) 등이 보고되고 있다.

버섯의 인공배양법(11)으로는 고체배양법과 액체 배양법이 이용되고 있으나 전자는 노동력과 소요비용이 높아 효율성이 낮은 반면 후자는 효율성은 높으나 기반기술이 요구되는 문제점이 지적되고 있다. Lee 등(12)은 표고버섯 균사체 배양의 최적조건으로 온도 25°C, pH 4.0 교반속도 300 rpm, 접종량 10%, 산소통기량 10 v/v/m을 제시하였으며, Fraser(13)은 양송이 균사체 배양시 yeast extract와 casein은 균사체 증식에 매우 효과적인 영양원으로 보고하였다. 균사체의 생육은 탄소원이나 질소원 이외에도 비타민류, 금속이온 등 환경조건이 생육에 많은 영향을 미치며(14), 균사체의 수율증대를 위하여 인삼박 추출물(15) 등 천연소재를 이용한 연구도 있다.

본 연구에서는 천연배지를 이용하여 소나무 잔나비버섯의 균사체를 배양함으로써 합성배지를 사용함에 따라 발생하는 위생성 문제를 해결하고 나아가 배양액을 직접 가공식품 소재로 활용하고자 녹차 및 굴피 물 추출물에서의 배양한 균사체와 배양액의 다당류와 유리아미노산의 함량을 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

실험용 굴피는 대구약령사에서 구입한 건조굴피(진피)를 사용하였으며, 녹차는 설록차(주, 태평양)를 사용하였다.

균사체의 분리

버섯균사체의 분리는 경북 포항시 소재 재생농산에서 분양받은 1년생 자실체로부터 다음과 같이 분리하였다. 즉, 2 x 2 x 2 mm 크기로 절단한 자실체 일정량을 70% ethanol로 씻은 후 감자(2%), 설탕(1%), peptone(0.6%)를 함유하는 배지에서 5%되게 이식하여 10일간 150 rpm으로 진탕배양하였다. 다음에 생성된 균사체를 YM agar(yeast extract 0.5%, peptone 0.5%, 0.5%, malt extract 0.2%, glucose 1%, agar 2.0%, pH 6.5) 배지(16)에 접종, 30°C에서 5~6일간 배양하여 버섯균사체를 확인 한 후 15일 간격으로 계대배양 하여 실험용 균주로 사용하였다.

굴피 및 녹차 추출물의 조제

건조분쇄(100 mesh)한 굴피 100 g에 증류수 2.5 L을 가하

여 냉각관을 부착하여 2시간동안 끓인 후 Miracloth(Bio Chem Co. USA)로 여과한 여액을 원액으로 하여 2.0% 농도의 희석하여 사용하였다. 녹차배지는 녹차를 굴피배지 제조와 동일한 방법으로 끓여 최종농도를 2.0%로 조절하였다.

굴피 및 녹차배지의 조성 및 균사체의 배양

균사체의 배양은 glucose 5%, yeast extract 및 peptone 0.5%, malt extract 0.3%를 함유하는 2%의 굴피 및 녹차배지(pH 5.0)를 사용하였으며, fermenter(Biotron INC. Hanil R&D, Korea)를 사용하여 30°C, 150 rpm에서 10일간 배양하였다.

균사체의 수율, 수분함량 및 배양여액의 탁도

10일간 배양한 배양액을 Miracloth로 여과하여 얻은 생 균사체의 중량을 측정하여 수율(%)을 구하였으며, 수분함량은 105°C건조법으로, 그 여액의 탁도는 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

유리아미노산 함량

유리아미노산은 Ser 등(17)의 방법에 준하여 다음과 같이 행하였다. 즉, 버섯균사체, 세포의 유리아미노산은 균사체 배양여액 각 50 g 또는 50 mL에 75% ethanol 250 mL를 각각 가하여 균사체는 균질화하고, 배양여액은 그대로 실온에서 24시간 방치하였다. 다음에 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상정액을 40°C에서 감압농축한 후 0.2M citrate buffer로 용해시켜 50 mL로 정용하였으며, 0.45 μ m의 membrane filter로 여과하여 아미노산 자동분석기(Hitachi L-8800, Japan)로 분석하였다. 분석조건은 ultrapac II cation exchange resin 250 mm, buffer 용액은 pH 2.80, 3.00, 3.15, 3.50, 3.55의 citrate buffer, buffer flow rate 20 mL/hr, ninhydrin flow rate 20 mL/hr, column 온도 35~80°C, chart 속도 2 mm/min, injection volume 40 μ L로 하였다.

다당류의 추출 및 함량

배양 균사체의 다당류 함량은 Son 등(18)의 방법에 준하여 균사체 및 균사체를 제거한 배양액을 각각 100 g과 100 mL를 취하고, 80% ethanol 250 mL를 가하여 균질화한 후 80°C에서 10분간 중탕하여 효소를 불활성화시켰다. 다음에 다시 80% ethanol로 3회 세척, 여과하여 알코올 불용성 물질(AIS)을 얻었다. 산 가용성 다당류 함량은 AIS에 0.05N H₂SO₄를 100 mL 가하여 100°C에서 5시간 끓인 후 원심분리하여 얻은 상정액을 알코올 침전물로 하였다. 알칼리 가용성 다당류의 함량은 전보(19)에 준하여 HAS (homogenization after alkali swelling)법으로 측정하였다. 즉, 산 가용성 다당류를 제거시킨 잔사에 2N KOH를 잔사량과 동일한 양으로 가하여 1시간동안 팽윤, 균질화시킨 후 100 mesh를

사용하여 체 분리하고 HCl로 중화시킨 다음 dialysis cellulose tube(MW cut off 12,000)에 넣어 증류수에서 72시간 투석한 후 동결건조한 것을 알칼리가용성 다당류로 하였다.

겔 여과에 의한 다당류의 분획

알칼리가용성 다당류 20 mg을 0.3 N KOH에 녹인 후 동일용매로 평형화시킨 직경 2.85 cm 길이 62 cm의 column에 diameter 40 ~ 165 μm의 Sepharose CL - 4B(Sigma Aldrich Inc USA) column에 loading하고 fraction collector(SF - 400 Toyo Kagaku Sangyo Ltd Japan)를 이용(flow rate: 0.5 mL/min, fraction volume. 5 mL)하여 분취하였다. 분획물의 단백질은 280 nm에서 흡광도를 측정하였으며, hexose는 분획한 시액 0.5 mL에 냉 anthrone 시약 3 mL를 가하여 잘 혼합하여 끓는 water bath에서 15분간 가열, 반응시킨 후 ice bath에서 20분간 냉각 시켜 620 nm에서 흡광도를 측정하였으며, pentose는 시액 2 mL에 orcinol - FeCl₃ 0.25 mL를 가한 후 c - HCl 2.25 mL을 가하여 잘 혼합한 다음 끓는 water bath에서 10분간 가열, 정색 시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. Uronic acid는 시액 1 mL에 carbazole 0.125 g을 무수알콜 100 mL에 녹인 시약 0.2 mL을 가하여 잘 혼합한 후 끓는 water bath에서 15분간 가열, 반응시킨 후 실온에서 냉각 시켜 530 nm에서 흡광도를 측정하였다 분자량을 알기 위하여 분자량 1만, 10만의 dextran과 200만의 blue dextran 2000(Sigma Chem Co MO USA) 각각 사용하였다.

통계처리

분석은 3회 반복 측정한 평균치 및 평균치±표준편차로 나타내었으며, 유의성 검증은 SPSS(statistical package social science, version 11.5)를 이용하여 Duncan's multiple range test 및 t-test를 행하였다.

결과 및 고찰

균사체의 수율 및 배양여액의 탁도

소나무잔나비버섯 균사체의 성장에 미치는 천연배지의 영향을 알아보기 위하여 대조구 배지로 사용한 YM 배지와 천연배지로서 CP(굴피) 및 GT(녹차) 배지를 사용하여 각각 30°C, 150 rpm에서 10일간 배양한 균사체의 수율과 그 여액의 탁도를 측정된 결과는 Table 1과 같다. 생 균사체 양은 GT배지 42.3%, CP배지 34.2%, YM배지 9.89% 이었으며 건물량으로는 각각 3.32%, 2.62% 및 0.59%으로 GT 및 CP 배지가 YM배지에 비하여 각각 4.28 및 3.46배가 높았다. 균사체를 제거한 여액의 탁도는 GT배지가 0.14로 가장 낮았으며 다음으로 CP 0.16, YM 0.22 순이었다

버섯균사체의 수율은 배지의 종류에 따라 상당한 차이가 있는 것으로 알려져 있는데 Choi와 Lee(20)는 뽕나무버섯 균사체를 맥아즙 배지와 감자배지를 사용하여 27°C에서 5일간 배양한 결과 건조균사체 양이 각각 0.28% 및 0.16%라 하였으며, Chung 등(21)은 영지버섯을 CMC 0.5% 및 (NH₄)₂SO₄ 0.2%를 함유하는 유청배지(pH 5.5)에 영지버섯 균사체 중균을 10%되게 접종하여 30°C에서 9일간 배양하여 얻어진 건조 균사량은 1.02%라 하였으며, 가용성전분 2%와 KNO₃ 0.1%를 함유하는 유청배지에서 배양한 잎새버섯의 경우는 0.62%라 보고하였다.

이상의 결과, 녹차 및 굴피배지는 대조구로 사용한 YM 배지에 비하여 균사체 생육이 촉진되었으며 이것은 이들 배지에 균사체 생육에 필요한 아미노산과 비타민류를 비롯한 다양한 영양소를 함유한 때문이라 사료된다(17, 22).

Table 1. Yields of fresh mycelium and turbidity of culture without mycelium cultivated in the YM-, CP- and GT-broth at 30°C for 10 days

Measurement	YM-broth ¹⁾	CP-broth ²⁾	GT-broth ³⁾
Yields of mycelium(g/100 mL)	9.89±0.41 ^(a) (0.59±0.02) ⁵⁾	34.20±0.87 ^{b)} (2.62±0.06) ⁵⁾	42.30±1.35 ^{a)} (3.32±0.10)
Turbidity(OD at 660 nm)	0.22±0.02 ^{a)}	0.16±0.01 ^{b)}	0.14±0.01 ^{b)}

¹⁾YM-broth yeast extract 0.5%, peptone 0.5%, 0.5%, malt extract 0.2%, glucose 1%, pH 6.5
²⁾CP-broth citrus peel water extracts 2%, glucose 5%, yeast extracts 0.5%, peptone 0.5%, malt extract 0.3%
³⁾GT-broth. green tea water extract 2%, glucose 5%, yeast extracts 0.5%, peptone 0.5%, malt extract 0.3%
⁴⁾Values are mean±standard deviations of triplicate determinations, different superscripts in the same row indicate significant difference at p<0.05
⁵⁾Parenthesis denote dry weight % of mycelium against 100 mL of the broth

균사체 및 균체의 유리아미노산 함량

YM, CP 및 GT배지에서 10일간 배양한 균사체의 유리아미노산의 함량을 조사한 결과는 Table 2와 같다. YM, CP 및 GT에서 분리된 균사체의 구성 유리아미노산은 총 18종으로 total 함량은 CP 1060.53 mg%, YM 928.19 mg%, GT 764.83 mg%로 CP배지에서 가장 높았으나 필수아미노산함량은 YM 417.37 mg%, CP 394.79 mg%, GT 308.79 mg%로 YM배지에서 높았다. 주요 유리아미노산은 YM배지의 경우는 alanine 96.86 mg%, glutamic acid 93.27 mg%, lysine 86.41 mg%, arginine 81.70 mg%이었으며 CP 및 GT의 경우는 glutamic acid가 주 아미노산으로 각각 133.55 및 149.19 mg%이었으며 그 다음으로 alanine, lysine 등의 함량이 높았다.

균체의 유리아미노산의 결과는 Table 3에 나타내었다. 총 유리아미노산의 함량은 CP 954.55 mg%, GT 838.69 mg%, YM 659.75 mg%으로 나타났으며, 필수아미노산 함량은 CP 463.96 mg%, YM 343.51 mg%, GT 380.82 mg%으로

로 CP에서 많았다. 주 아미노산은 glutamic acid(117.92~203.55 mg%)로 GT에서 많았으며, 그 다음으로는 lysine (97.66~113.14 mg%)으로 CP에서 많았다. 배양 버섯균사체 및 균체의 유리아미노산에 관한 연구는 매우 적어 비교하기 어려우나 개암버섯 배양균사체의 주 아미노산은 phenylalanine으로 그 함량은 생체당 5.69 mg%으로 보고된바 있으며(23), 본 실험의 YM 배지의 배양한 균사체 주아미노산인 lysine의 함량이 생체당 86.41 mg%이고, CP와 GT배지의 주아미노산인 glutamic acid 함량이 생체당으로 각각 133.55 및 149.19 mg%으로 나타난 점과 비교할 때 소나무잔나비버섯의 균사체의 아미노산 생성력이 높은 것으로 나타났다. 자실체 경우, 아위버섯의 총 유리아미노산 함량은 건물을 기준으로 1979.2 mg%, 필수아미노산함량은 972.8 mg%, 주아미노산은 glutamic acid로 보고(24)되어 있으며, 양송이, 표고버섯 및 느타리버섯(25)과 아가리쿠스(26)에서는 주아미노산이 glutamic acid로 알려져 있다.

Table 2. Free amino acid content of the mycelium of YM-, CP- and GT-broth cultivated at 30°C for 10 days

(mg/100 g-fresh weight)			
Amino acids	YM-broth	CP-broth	GT-broth
Alanine	96.86 ²⁾	112.07	122.19
β-Alanine	6.45	14.55	14.78
Arginine* ¹⁾	81.70	63.13	61.02
Aspartic acid	33.47	39.80	38.57
Cystine	2.25	4.87	3.53
Glutamic acid	93.27	133.55	149.19
Glycine	20.86	25.00	23.33
Histidine*	19.73	19.97	16.70
Isoleucine*	36.56	36.99	32.31
Leucine*	63.28	72.65	50.51
Lysine*	86.41	100.72	63.21
Methionine*	7.69	4.19	11.77
Phenylalanine*	1.18	0.14	0.16
Proline	24.49	24.25	22.67
Serine	30.62	38.87	34.34
Threonine*	34.62	39.54	29.40
Tyrosine	9.37	14.01	12.63
Valine*	52.82	57.46	43.71
Total essential AA	417.37	394.79	308.79
Total	928.19	1060.53	764.83

¹⁾Essential amino acids

²⁾Values are mean of duplicate determination

Table 3. Exo-free amino acid content of YM-, CP- and GT-broth cultivated at 30°C for 10 days

(mg/100 mL)			
Amino acids	YM-broth	CP-broth	GT-broth
Alanine	78.43 ²⁾	111.32	82.73
β-Alanine	5.41	15.46	14.80
Arginine* ¹⁾	62.33	71.91	63.02
Aspartic acid	35.81	62.50	60.49
Cystine	2.38	6.19	5.96
Glutamic acid	117.92	179.43	203.55
Glycine	13.91	26.12	19.92
Threonine*	31.79	49.17	39.19
Histidine*	22.48	24.71	20.90
Isoleucine*	23.57	40.83	35.37
Leucine*	53.81	88.06	62.69
Lysine*	100.72	113.14	97.66
Methionine*	3.41	5.66	6.42
Phenylalanine*	0.92	0.20	0.53
Proline	16.57	27.55	19.65
Serine	29.83	50.39	41.19
Tyrosine	6.98	11.63	9.58
Valine*	44.48	70.28	55.04
Total essential AA	343.51	463.96	380.82
Total	659.75	954.55	838.69

¹⁾Essential amino acids

²⁾Values are mean of duplicate determination

균사체 및 균체의 아미노산 유도체의 함량

YM, CP 및 GT에서 10일간 배양한 균사체의 아미노산 유도체의 함량을 조사한 결과 Table 4와 같다. YM, CP 및 GT에서 분리된 균사체의 아미노산 유도체의 총 함량은 CP 258.77 mg%, GT 234.81 mg%, YM 226.56 mg%로 CP에서 가장 높았다. YM배지에서 분리된 균사체의 아미노산 유도체는 cystathionine(69.08 mg%)이 가장 많았으며, γ-amino isobutyric acid, hydroxy proline순으로 분포하였다. CP배지에서 배양한 균사체에서는 hydroxy proline (50.33 mg%)과 ornithine(48.57 mg%)이 많았으며, GT의 경우도 hydroxy proline(60.89 mg%)이 가장 많았다. YM, CP 및 GT배지의 균체의 아미노산 유도체의 함량은 Table 5와 같다. 총 함량은 CP 1165.1 mg%, GT 1044.83 mg%, YM 777.22 mg%로 CP에서 가장 높았다. YM, CP 및 GT 배지에서의 균체의 주 아미노산 유도체는 hydroxy proline(25.44~79.59 mg%)으로 GT에서 가장 높았으며, 다음으로 phosphoserine, cystathionine 및 anserine 순으로 분포하였다. 반면 균사체에서는 미량으로 존재하던 carnosine이 여액에서는 존재하지 않았다. Lee 등(27)은 능이버섯의 주 아미노산 유도체는

ornithine(26.87 mg%)으로 본 연구에서 나타난 균사체 주 아미노산 유도체인 hydroxy proline(27.20~60.89 mg%)에 비하여 높은 값을 나타내었다.

Table 4. Amino acid derivatives content of the mycelium cultivated in YM-, CP- and GT-broth at 30°C for 10 days
(mg/100 g fresh weight)

Amino acid derivatives	YM-broth	CP-broth	GT-broth
α-Amino adipic acid	4.58 ¹⁾	3.50	4.42
α-Amino isobutyric acid	3.27	3.29	2.27
β-Amino isobutyric acid	1.03	1.80	1.26
γ-Amino isobutyric acid	28.98	35.73	12.72
Ammonia	13.68	11.56	9.84
Anserine	11.03	12.59	12.67
Carnosine	1.79	1.91	2.22
Cystathionine	69.08	28.10	26.70
ethanolamine	1.46	1.77	1.93
Hydroxy proline	27.20	50.33	60.89
DL-5-hydroxylysine	3.76	5.84	4.65
3-Methyl histidine	0.74	0	0.53
Ornithine	19.28	48.57	25.66
Phospho ethanolamine	3.12	4.78	4.81
Phospho serine	13.40	18.23	16.48
Sarcosine	1.95	2.18	15.47
Taurine	12.15	19.06	22.59
Urea	10.06	9.53	9.70
Total	216.501	249.24	225.11

¹⁾Values are mean of duplicate determinations

Table 5. Exo-free amino acid derivatives content of the YM-, CP- and GT-broth cultivated at 30°C for 10 days
(mg/100 mL)

Amino acids	YM-broth	CP-broth	GT-broth
α-Amino adipic acid	2.26 ¹⁾	3.89	2.75
α-Amino isobutyric acid	2.44	3.15	2.37
β-Amino isobutyric acid	0.83	2.00	1.42
γ-Amino isobutyric acid	6.02	11.89	3.93
Ammonia	13.89	12.02	10.14
Anserine	13.31	16.57	16.06
Carnosine	0	0	0
Cystathionine	18.70	22.48	14.01
Ethanolamine	1.04	2.14	2.13
Hydroxy proline	25.44	68.80	79.59
DL-5-hydroxylysine	3.65	5.56	5.49
3-Methyl histidine	0.55	0.54	1.23
Ornithine	7.02	11.88	12.91
Phospho ethanolamine	2.56	6.83	4.23
Phospho serine	15.52	23.60	20.95
Sarcosine	2.54	3.12	18.20
Taurine	2.04	4.43	4.48
Urea	8.66	11.65	6.25
Total	777.22	1165.1	1044.83

¹⁾Values are mean of duplicate determinations

균사체와 균체의 다당류의 함량

YM, CP 및 GT 배지에서 10일간 배양한 배양액으로부터 분리한 균사체와 균체의 알코올불용성물질(AIS)의 함량과 산 및 알칼리 가용성 다당류의 함량을 조사한 결과는 Table 6과 같다. 생균사체 100 g당의 AIS 함량은 YM배지의 경우 6.51%이었으나 CP 및 GT배지의 경우는 각각 7.44% 및 7.29%로 대조구로 사용한 YM배지에서 보다 높았다. 세포 외 AIS 함량은 YM배지와 CP배지에서는 각각 4.89% 및 4.18%이었으나 GT배지에서는 9.84%로 2배 이상의 높은 함량을 나타내었다. 균사체 및 세포의 산 가용성 다당류의 함량은 GT배지가 각각 0.69% 및 0.87%로 CP 및 YM배지에 비하여 높았다. 균사체의 알칼리 가용성 다당류 함량은 CP 및 GT배지가 5.18~5.21%의 비슷한 값으로 YM배지 4.56% 보다 높았으며 균체의 산가용성 다당류 함량은 GT배지 6.79%, CP 및 YM배지에서는 3.01~3.57%로 GT배지에서 현저하게 높았다. 소나무잔나비버섯 자실체의 알칼리가용성 다당류 함량은 1N KOH로 추출할 경우 그 수율이 0.13%에 불과하나 2N KOH로 팽윤시킨 후 균질화하여 체분리할 경우는 70~76%로 증가하는 것으로 알려져 있다(19). 이상의 결과 CP는 폐기물의 하나로 가격면에서 CT배지보다 이용성이 높으며, 균사체의 수율은 GT배지보다는 다소 낮으나 YM배지에 비하여는 높고, 또한 균사체내의 알칼리 가용성 다당류의 함량은 비슷하여 산업적 활용성이 높은 것으로 사료된다.

Table 6. Content of alcohol insoluble substance, acid and alkali soluble polysaccharide extracted from the mycelium and cultured liquid cultivated for 10 days at 30°C

Samples	Medium ¹⁾	AIS	Acid soluble polysaccharide	Alkali soluble polysaccharide
Mycelium (% w/w)	YM-broth	6.51±0.29 ^{b2)} (0.64±0.01) ³⁾	0.39±0.03 ^b (0.04±0.00)	4.56±0.20 ^b (0.45±0.02)
	CP-broth	7.44±0.32 ^a (2.54±0.10)	0.18±0.01 ^c (0.06±0.00)	5.21±0.31 ^a (1.78±0.09)
	GT-broth	7.29±0.33 ^a (3.08±0.12)	0.69±0.04 ^a (0.29±0.01)	5.18±0.27 ^a (2.19±0.13)
Cultured liquid (% w/v)	YM-broth	4.89±0.21 ^b (0.48±0.04)	0.09±0.00 ^c (0.01±0.00)	3.57±0.11 ^b (0.35±0.02)
	CP-broth	4.18±0.23 ^c (1.43±0.08)	0.69±0.03 ^b (0.24±0.01)	3.01±0.13 ^c (1.03±0.06)
	GT-broth	9.84±0.52 ^a (4.16±0.22)	0.87±0.04 ^a (0.37±0.02)	6.79±0.31 ^a (2.87±0.12)

¹⁾See Table 1

²⁾Values are mean±standard deviations of triplicate determination, different superscripts in the same column indicate significant difference at p<0.05

³⁾Values were represented to the content in the culture broth(100 mL)

알칼리가용성 다당류의 겔 여과

상기의 결과 산업적 활용도가 높은 것으로 판단되는 CP 배지를 이용하여 회수한 균사체 알칼리 가용성다당류를 Sepharose CL-4B를 이용한 겔여과 결과(Fig. 1), fraction

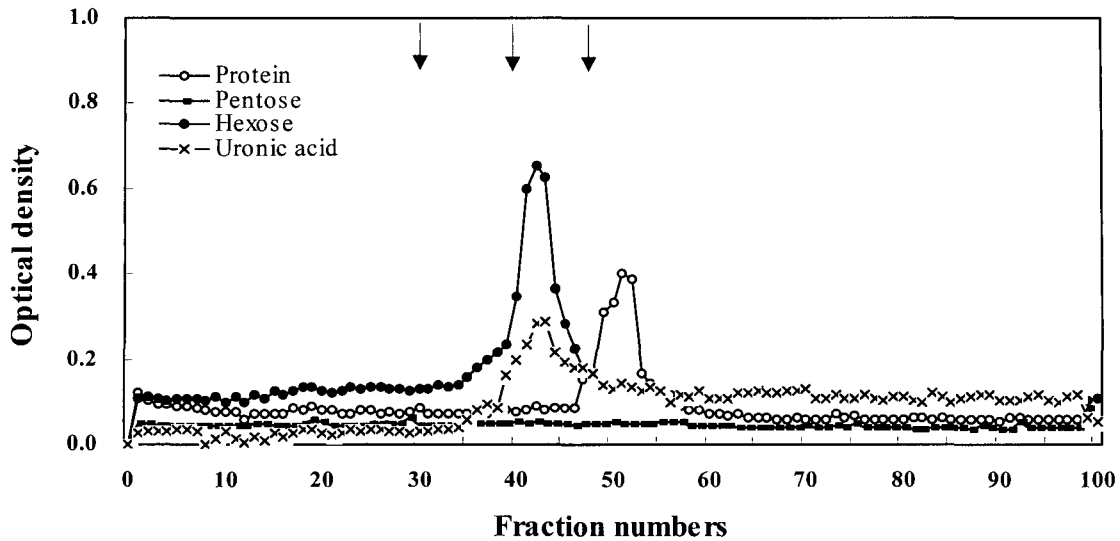


Fig. 1. Sepharose CL-4B column chromatogram of the polysaccharide extracted from submerged-liquid cultured *Fomitopsis pinicola* mycelium. Arrows at the top of the figure represent the elution position of: blue dextran 2,000(MW: 2×10^6); dextran of average molecular weight of 10^5 and 10^4 . Protein was measured OD at 280 nm, hexose and pentose were determined by Anthrone and Orcinol method, respectively.

No 47~54에서 1개의 단백질 peak가 나타났으며, fraction No 39~48에서 hexose peak와 uronic acid peak이 겹쳐 나타났으나 pentose는 검출되지 않았다. 따라서 소나무잔나비 버섯의 알칼리 가용성 다당류는 hexose와 uronic acid 복합체가 단백질과 결합하는 단백 다당체인 것으로 추정된다. 이들 구성 다당체의 평균분자량은 500,000 dalton이며 여기에 분자량 10,000 dalton 이하의 단백질이 결합된 것으로 사료된다. Park과 Lee(28)는 표고버섯 균사체 물추출물에 함유된 항암기능성의 단백다당체는 3종으로 구성되어 있다고 보고하였으며, Kweon 등(29)은 양송이버섯으로부터 추출한 다당류의 항보체 활성검색 연구에서 활성도가 가장 높은 fraction의 구성성분은 hexose와 pentose가 8.22:3.22의 비율로 결합된 단백다당체라 하였다. 한편 Lee와 Kang(30)은 액체 배양한 영지버섯 균사체 및 세포외의 항암특성을 나타내는 다당체는 수용성 산성다당체로 hexose에 미량의 5탄당이 함유되어 있고 평균분자량은 1,200,000 및 1,000,000 dalton이라 하였다. 본 연구에서는 균체의 다당체에 대하여는 실험하지 않았으나 그 양이 균사체와 비교하여 적지 않음을 감안할 때 이에 대한 차후의 연구도 이루어져야 할 것으로 생각된다. 이상의 결과, 굴피(CP)배지에 배양한 소나무잔나비 버섯 균사체의 알칼리 가용성 다당체는 hexose와 산성다당이 결합한 단백다당체로 사료되며 그 분자량은 500,000 dalton으로 여타 버섯류의 다당체에 비하여 분자량이 다소 낮은 특성이 있었다

요 약

천연배지에서 배양한 소나무잔나비버섯(*Fomitopsis*

pinicola) 균사체와 균체의 유리아미노산 및 다당류함량을 조사하였다. 배지로는 YM(yeast-malt broth), CP(citrus peel-broth) 및 GT 배지(green tea-broth)를 사용하였으며 30°C, 150 rpm에서 10일간 배양하였다. 균사체의 수율은 GT, CP 및 YM에서 각각 42.3, 34.2 및 9.89%였으며, 균사체를 제거한 배양액의 탁도는 GT 0.14, CP 0.16, YM 0.22이었다. 균사체의 총 유리아미노산 함량은 YM 928.19 mg%, CP 1060.53 mg%, GT 764.83 mg%였으며, 주 아미노산은 YM은 lysine, CP와 GT는 glutamic acid였다. 균체의 총 유리아미노산 함량은 YM 659.75 mg%, CP 954.55 mg%, GT 838.69 mg%였으며, 주 아미노산은 YM, CP 및 GT 모두 glutamic acid였다. 균사체와 균체의 total 아미노산 유도체의 함량은 CP>GT>YM 순이었다. 균사체의 주 아미노산 유도체는 YM은 cystathionine, CP와 GT는 hydroxy proline이었다. 균사체와 균체의 AIS 함량은 CP>GT>YM 순이었다. 산가용성 다당류 함량은 GT(0.69%)>YM (0.39%)>CP(0.18%) 순, 균체의 산가용성 다당류 함량은 GT(0.87%)>CP(0.69%)>YM(0.09%) 순이었다. 균사체의 알칼리 가용성 다당류 함량은 CP(5.21%)>GT(5.18%)>YM (4.56%) 순, 균체는 GT(6.79%)>YM(3.57%)>CP(3.01%) 순으로, 균사체 함유 다당류는 산가용성(0.18~0.69%)에 비하여 알칼리 가용성(4.56~5.21%)의 함량이 현저하게 높았다. CP 배지에서 배양한 균사체의 알칼리 가용성 다당류를 겔 여과한 결과 hexose와 uronic acid로 구성된 분자량 500,000 dalton의 다당류와 분자량 10,000 dalton 이하의 단백질이 결합한 단백 다당체로 추정되었다.

참고문헌

1. Shin, C.S., Lee, H.K., Koh, C.S., Kim, Y.I., Shin, Y.S., Yoo, K.Y., Park, H.Y., Park, Y.S. and Yang, B.G. (1997) Risk factors for the development of NIDDM in Yonchon County, Korea. *Diabetes care*, 20, 1842-1846
2. Jung, I.C., Kim, S.H., Kwon, Y.I. and Lee, J.S. (1996) Cultural condition for the mycelial growth of *Ganoderma lucidum* on cereals. *Korean J. Mycol.*, 24(1), 81-88
3. Hamuro, J., Hadding, U. and Bitter-Suerman, D. (1978) Solid phase activation of alternative pathway of complement by β -1,3-glucans and its possible role for tumor regressing activity. *Immunol.*, 34, 695-705
4. Lee, S.Y. (1988) Colored Korean mushrooms. Academic Press, New York., p.251
5. Koh, J.B. (2003) Effects of liquid culture of *Agaricus blazeimurill* on growth, lipid and protein levels, and enzyme activities in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 887-892
6. Ma, S.J. (1983) Effects of th substances extracted from dried mushroom by several organic solvents on the stability of fat. *J. Food Sci.*, 15, 150-154
7. Kim, G.J., Kim, H.S. and Chung, S.Y. (1992) Effects of varied mushroom on lipid compositions in dietary hypercholesterolemic rats. *Korean J. Soc. Food Nutr.*, 21, 131-135
8. Ebihara, K. and Minamishima, Y. (1984) Protective effect of biological response modifiers on murine ctomegalovirus infection. *J. Virology.*, 51, 117-121
9. Chihara, G., Hamuro, J.M., Arai, Y. and Fuokuoka, F. (1970) Fractionation and purification of polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* sing. *Cancer Res.*, 30, 2776-2781
10. Tsukagoshi, S. and Ohashi, F. (1974) Protein-bound polysaccharide preparation PS-K, effective against mouse sarcoma180 and rat ascites hepatoma ah-3 by oral use. *Gann.*, 65, 577-585
11. Gruen (1976) Promotion of stipe elongation in *Flammulina velutipes* by a diffusate from excised lamellae supplied with nutrients. *Can. J. Bot*, 54, 1306-1315
12. Lee, B.W., Im, G.H., Kim, D.W., Park, K.M., Son, S.H. and Shon, T.H. (1993) Cultural characteristics and pilot scale fermentation for the submerged mycelial culture of *Lentinus edodes*. *Kor. J. Appl. Microbial Biotechnol.*, 21, 609-614
13. Fraser, I.M. (1956) The growth promptive effect of several amino acids on the common cultivated mushroom. *Mushroom Sci.*, 3, 190-200
14. Chi, J.H., Ha, T.M., Kim, Y.H. and Rho, Y.D. (1996) Studies on the main factors effecting the mycelial growth of *Phellinus linteus*. *Korean J. Mycol.*, 24(3), 214-222
15. Park, Y.D., Hong, Y.K., Whang, W.K., Huh, J.D. and Park, S. (1989) Comparisons of protein-bound polysaccharide contents obtained from mycelial cultured broth and fruit body of *Coriolus versicolor*. *Korean J. Mycol.*, 17, 223-228
16. Yu, T.S., Park, E.K. and Park, J.M. (1996) The effects of cadmium on the enzyme activities in cadmium-tolerant yeast cells. *Korean J Appl. Microbial Biotechnol.*, 24(3), 268-273
17. Ser, S.S., Kim, M.H., No, H.K. and Kim, S.D. (2002) Cooking characteristics of coated rice with water homogenate of citrus fruits peel. *J. East Asian Soc. Dietary Life.*, 12, 318-325
18. Son, M.A., Kim, M.H., Shin, S.R., Song, J.H. and Kim, K.S. (1998) Changes on the cell wall components of jujube fruits during drying. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.*, 5, 350-354
19. Chang, K.H., Shin, J.G., Lee, M.Y., Lee, S.I., Kim, J.S., Oh, S.H. and Kim, S.D. (2005) Extraction characteristics of polysaccharide from *Fomitopsis pinicola* Jeseng mushroom. *J. East Asian Soc. Dietary Life.*, 15, 100-105
20. Choi, M.J and Lee, J.Y. (1983) Physiological and ecological studies on mycelia of *Armillariella mellea*. *Korean J. Mycol.*, 11, 79-84
21. Chung, K.S., Koo, Y.J., Yoo, J.Y., Choi, S.Y. and Shin, D.H. (1991) Mycelial growth of *Ganoderma lucidum* and *Grifola frondosa* in milk whey. *Korean J. Mycol.*, 19, 61-65
22. Kim, S.H., Park, J.D., Lee, L.S. and Han, D.S. (1999) Effect of pH on the green tea extraction. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 31, 1024-1028
23. Kang, A.S., Kang, T.S., Cho, S.M. and Yu, S.H. (2001) Studies on submerged culture and mycelial components of *Naematoloma sublateritum* mycelia. *Korean J. Mycol.*, 29, 22-27
24. Hong, J.S., Kim, Y.H., Kim, M.K. and Kim, Y.S. (1989) Contents of free amino acids and total amino acids in *Agaricus bisporus*. *Korean J Food Sci Technol.*, 21, 58-62
25. Hong, K.H., Kim, B.Y. and Kim, H.K. (2004) Analysis of nutritional components in pleurotus ferulea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 36, 563-567
26. Lee, M.H., Lee, H.J. and Cho, I.S. (1998) Chemical

- compositions of *Agaricus blazeimurill* fruiting bodies cultivated in a Korean local farm. J. Fd. Hyg. Safety., 13, 94-98
27. Lee, S.H., Kim, N.W. and Shin, S.R. (2003) Studies on the nutritional components of mushroom (*Sarcodon aspratus*). Korean J. Food Preservation., 10, 65-69
28. Park, K.M. and Lee, B.W. (1998) Extraction and purification of antitumor protein-bound polysaccharides from mycelia of *Lentinus edodes*. Korean J. Food Sci. Technol., 30, 1236-1242
29. Kweon, M.H., Lim, E.J. and Sung, H.J. (1998) Studies on bioactive polysaccharide isolated from *Agaricus bisporus*. Agric. Chem. Biotechnol., 41, 60-66
30. Lee, S.Y. and Kang, T.S. (1999) Structural analysis of the antitumor active exo- polysaccharide produced by submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* mycelium. Korean J. Mycol., 27, 76-81

(접수 2005년 5월 27일, 채택 2005년 7월 29일)