

## 새송이버섯 biomass를 위한 최적배양 조건

김명욱<sup>1</sup> · 권오준<sup>2</sup> · 우희섭<sup>3</sup> · 조영제<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>경북해양바이오 산업연구원, <sup>2</sup>경북전라산업기획단, <sup>3</sup>동주대학 외식조리 & 영양계열, <sup>4</sup>상주대학교 식품공학과

### Culture Condition for Biomass of *Pleurotus eryngii*

Myung-Uk Kim<sup>1</sup>, Oh-Jun Kwon<sup>2</sup>, Hi-Seob Woo<sup>3</sup> and Young-Je Cho<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>Gyeongbuk Institute for Marine Bio-Industry, Uljin 767-801, Korea

<sup>2</sup>Gyeongbuk Regional Innovation Agency, Gyeongsan 712-210, Korea

<sup>3</sup>Department of Cookery & Nutrition, Dongju College School, Pusan 604-715, Korea

<sup>4</sup>Department of Food Engineering, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

Received July 26, 2006; Accepted September 20, 2006

For the purpose of application for biomass of *Pleurotus eryngii*, the optimum culture condition were tested. It was found that the optimum culture condition for spot culture of *Pleurotus eryngii* were 24°C for 18 days with PDA medium. And the optimum culture condition of bioreactor for biomass were pH 5.5, 18°C and 27 days with PDMP broth. It was possible to artificial cultivation of mycelial from *Pleurotus eryngii* using bioreactor for biomass under the optimum conditions, and it was also possible for *Pleurotus eryngii* biomass because the forming of fruiting body when *Pleurotus eryngii* was cultivated using mass artificial cultivated mycelial in the bioreactor.

**Key words:** Culture Condition, Biomass, Bioreactor, *Pleurotus eryngii*

### 서 론

새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 주름 버섯목 느타리버섯과 느타리버섯속에 속하는 식용버섯의 한 종류로 느타리버섯에 비해 버섯자루가 굵고 길며, 주로 아열대지방의 대초원지대에 널리 분포한다. 국내에서는 큰느타리버섯이라고도 한다. 우리나라에서는 상품명으로 “새송이”라 불리우며, 맛과 향이 좋아 소비가 늘어나고 있어 다른 버섯에 비해 수분함량이 낮아 수출 상품으로써 가치가 매우 높아 농가의 소득원으로 그 기대가 큰 버섯이다<sup>1,2)</sup>. 새송이버섯의 일반성분은 100 g당 수분 86.6 g 단백질 2.2 g 탄수화물 9.6 g, 지방 0.8 g 및 회분 1.2 g이고, 특수성분은 수용성 섬유소 0.53 g, 불용성 섬유소 4.11 g이고,  $\beta$ -glucan 0.41 g, chitin 0.51 g, phenol 51.4 mg이다<sup>3)</sup>. 새송이버섯은 노화 억제와 항암작용<sup>4)</sup>, 대장암 세포증식 억제<sup>5)</sup> 및 혈당강화<sup>6)</sup> 등의 약리작용이 있는 것으로 알려져 있고, 새송이버섯의 열수추출한 조다당체가 항산화 및 항종양 효과가 있다는 보고가 있으며<sup>7)</sup>, 버섯의 균사배양 및 인공재배 등<sup>1,8,9)</sup>의 연구 및 자실체로부터 새로운 항균활성 펩타이드<sup>10)</sup>, 당뇨취의 혈당 및 혈중 콜레스테롤에 미치는 영향<sup>11)</sup>, 대장암 세포 증식 및 세포사멸에 미치는 영향<sup>12)</sup>, angiotensin converting enzyme 저해활성<sup>8)</sup>, 항산화활성

탐색<sup>13)</sup> 등이 보고되었다. 최근 버섯이 낮은 지방함량에 의한 저칼로리식품이면서 단백질, 비타민 및 각종 무기성분이 풍부하게 함유되어 있어 건강식품으로서의 각광을 받고 있으며, 해마다 다이어트 식품으로서의 그 소비가 증가함에 따라 재배면적 및 재배농가가 점차적으로 늘고 있고, 그 이용방법도 다양화되고 있다.

따라서 본 연구에서는 새송이버섯의 인공 대량배양을 위한 시도의 일환으로 새송이버섯 균사체의 biomass를 위한 최적조건을 규명하고, 실제버섯 재배에 적용시켜 보았다.

### 재료 및 방법

**시료.** 새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 2005년 재래시장에 구입하여 물로 세척한 후 물기를 제거하고 4°C 냉장고에 보관하면서 사용하였다.

**Spot 접종 및 배양.** Spot 접종은 새송이버섯 시료를 ethanol로 표면을 화염 살균한 후 흰 속살을 조금만 잘라 내고 고체 배지에 spot 접종하였다. 이때 사용된 고체 배지의 조성은 Table 1과 같으며, 25°C에서 30일간 incubator에서 배양하였다.

**Biomass를 위한 균사체 starter 제조 및 bioreactor 배양.** Spot접종하여 배양된 배지의 균사체를 배지체로 잘게 자른 후, 자른 조각을 2~3개 50 ml의 액체 배지에 접종, 배양시켜 starter를 제조하고, starter 전량을 20 l의 reactor에 접종하였다. 접종된 bioreactor는 18°C 암실에서 30일 정도 배양시켰으며, 생육

\*Corresponding author

Phone: 82-54-530-5265; Fax: 82-54-530-5269

E-mail: yjcho@sangju.ac.kr

Table 1. Composition of medium for spot culture

Ingredient	Content (g/l)
Malt extract	3
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.25
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5
MgSO <sub>4</sub>	0.15
CaCl <sub>2</sub>	0.05
FeCl <sub>3</sub>	102
NaCl	0.025
Glucose	10
Thiamine · HCl	0.0001
Agar	15

정도는 배양이 끝난 후 bioreactor의 공기주입을 멈추어 bioreactor안에 가라앉은 균사체의 부피를 높이(cm)단위로 측정하였다.

#### Bioreactor에서 배양된 균사체를 이용한 버섯재배

**버섯배지제조.** 재자실체 배양을 위한 버섯배지는 미송톱밥을 주재료로 하여, 첨가제로서 미강을 톱밥양의 30%를 첨가하고, 혼합기에서 약 30분간 충분히 혼합시킨 후, 수돗물로 배지의 수분이 62%가 되게 조절하였다.

**입병 및 배지살균.** 새송이버섯 재배를 위하여 850 ml 내열성 플라스틱병에 제조한 버섯배지 600 g을 넣은 후, 고압살균기로 121°C(1.2 kg/cm<sup>2</sup>)에서 90분간 살균하였다.

**접종 및 배양.** 살균이 끝난 배지는 배지의 품온을 35°C 이하로 급히 내려준 후, 인공 배양된 송이버섯 균사체를 접종하고, 수분이 60%, CO<sub>2</sub> 농도가 2,500 ppm으로 조절된 22°C 배양실에서 25일 정도 배양시켰다.

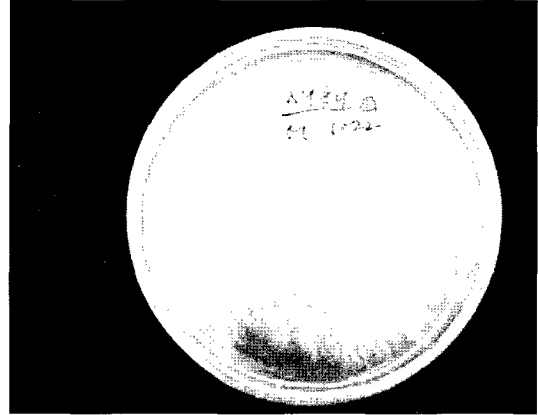
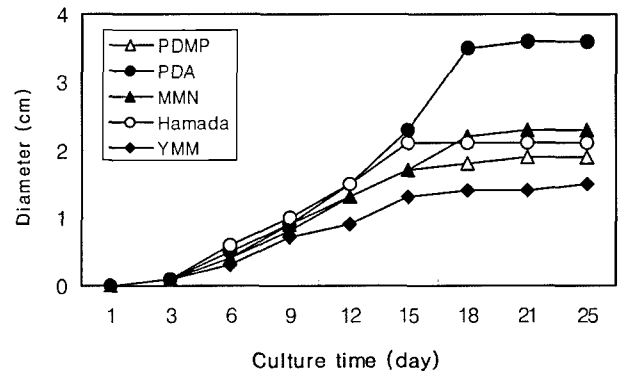
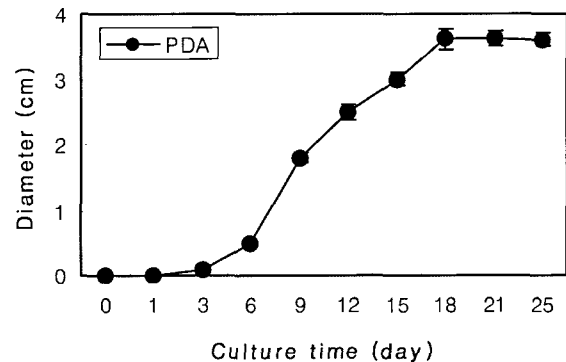
**균 굵기 작업.** 배양이 완료되면 배지의 표면에 새로운 균사를 발생시켜 어린 버섯 발생을 유도시키기 위하여 배지의 표면에 균 굵기 작업을 하였다.

**자실체발생 및 생육.** 균굵기 작업 후 배양실을 18°C, 실내습도 90%, CO<sub>2</sub> 농도 500 ppm으로 조절하여 자실체를 발생시켰으며, 자실체 생육을 위하여 배양실을 온도 15°C, 습도 80%, CO<sub>2</sub> 농도 1,000 ppm으로 배양하였다.

## 결과 및 고찰

**새송이버섯 균사체의 spot 배양.** 새송이버섯 시료를 Table 1에 제시된 고체배지를 이용하여 Fig. 1과 같이 흰색의 균사가 넓게 퍼진 상태의 균사체를 배양하였다.

**새송이버섯 균사체 spot 배양에 미치는 각종 배지의 영향.** 새송이버섯 균사체의 배양에 이용될 수 있는 각종 고체배지를 제조하여 송이버섯 균사체 spot 배양을 위한 최적배지를 조사한 결과, Fig. 2와 같이 PDA배지를 사용하여 18일간 배양하였을 때 균사체의 diameter가 3.8±0.32 cm로 가장 크게 자랐으며, 다른배지보다 균사체의 생육정도가 월등히 우수하여 PDA배지가 균사체 배양을 위한 최적의 배지임을 알 수 있었다. 강 등<sup>1)</sup>은 큰느타리버섯 균사체 배양시 YM배지에서 생육이 가장 우수하였다고 보고하였고, 김 등<sup>2)</sup>은 Lilly배지에서 균사체의 생육이 가장 우수하였다고 보고하였으나, 본 연구 결과 PDA배지에

Fig. 1. Spot culture of *Pleurotus eryngii*.Fig. 2. Effect of various medium on culture of *Pleurotus eryngii*.Fig. 3. Effect of culture time on culture with PDA of *Pleurotus eryngii*.

서의 생육도 우수한 것으로 판단되었다.

**새송이버섯 균사체 spot 배양에 미치는 배양 시간의 영향.** 새송이버섯 균사체의 배양에 미치는 배양시간을 조사하기 위하여 PDA배지에 균사체를 접종하고 25일간 배양시킨 결과, Fig. 3에서와 같이 18일 배양 시 3.5±0.09 cm의 크기로 자랐으며, 이후 배양 25일까지 배양 균사체 크기의 변화는 크게 나타나지 않아 18일 배양이 최적인 것으로 판단하였다.

**새송이버섯 균사체 spot 배양에 미치는 배양 온도의 영향.** 새송이버섯 균사체 배양을 위한 최적 배양 온도를 조사하기 위하여 PDA배지에 균사체를 접종하고 12~27°C까지 다양한 온도에

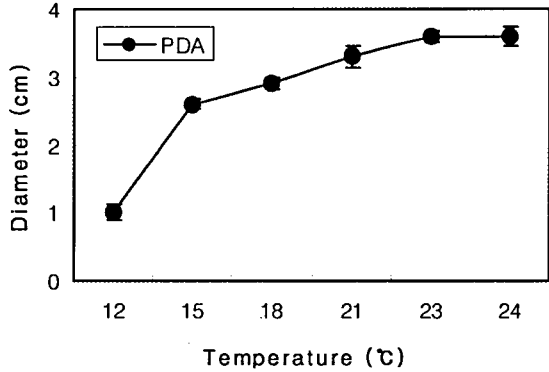


Fig. 4. Effect of temperature on culture with PDA of *Pleurotus eryngii*.

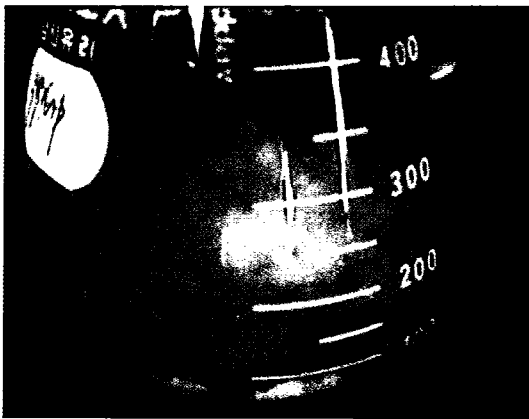


Fig. 5. Starter of *Pleurotus eryngii* for bioreactor culture.

서 배양시킨 결과, Fig. 4에서와 같이 24°C에서 배양하였을 때  $2.5 \pm 0.11$  mm의 크기로 자라 최적 배양온도는 24°C로 판단하였다. 따라서 새송이버섯 spot culture를 위한 최적 조건은 PDA 배지로 24°C에서 18일간 배양하는 것이 최적이었다. 강 등<sup>1)</sup>은 YM배지를 이용한 큰느타리 버섯 균사체 배양 시 20°C 이하의 온도에서는 균사생육이 급속히 저하되며, 25°C에서 균사의 생육 속도가 가장 빠르게 나타났다고 보고하였고, 김 등<sup>9)</sup>은 25~30°C에서 균사생육이 빠르고 균사밀도가 가장 높았다고 보고하였으며, 또한 Zadrzil<sup>4)</sup>은 *P. eryngii*균의 균사생육 최적온도가 25°C라고 한 것과 비교하여, 본 실험결과 *P. eryngii*균사체를 위한 최적 배양온도가 24°C로 나타나 비슷한 결과를 나타내었으나, Kichiro<sup>15)</sup> 등이 *P. eryngii*균의 균사 배양온도가 30°C라고 한 것 보다는 다소 낮게 나타났다.

**새송이버섯 균사체 Biomass를 위한 starter제조.** 새송이버섯 균사체의 대량생산을 위한 bioreactor배양에 이용하기 위하여 PDMP배지를 사용한 액체배지를 사용하여 Fig. 5와 같이 starter를 제조하였다.

**새송이버섯 균사체 bioreactor의 배양에 미치는 각종 배지의 영향.** 새송이버섯 균사체의 bioreactor배양에 이용될 수 있는 각종 액체배지를 제조하여 새송이버섯 균사체 bioreactor 배양을 위한 최적배지를 조사한 결과, Fig. 6과 같이 PDMP배지를 사용하여 60일간 배양하였을 때 침전 균사체의 높이가 4 cm로 액

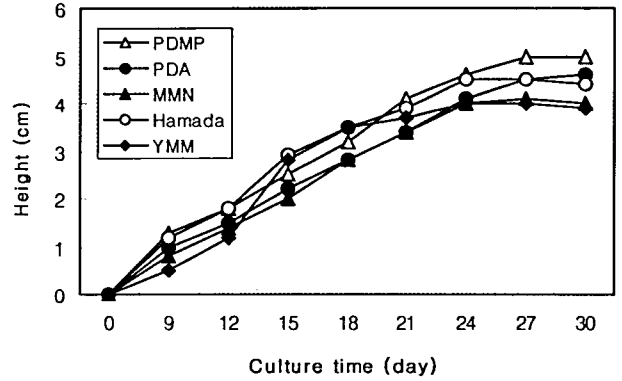


Fig. 6. Effect of various medium on culture of *Pleurotus eryngii*.

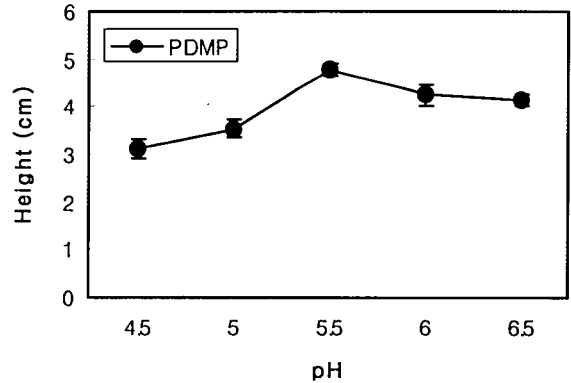


Fig. 7. Effect of pH on culture with PDMP of *Pleurotus eryngii*.

체 대량배양을 위한 최적 배지임을 알 수 있었다. 앞의 spot 배양에서는 PDA배지에서 균사체가 가장 잘 자랐으나 bioreactor를 이용한 액체배양에서는 PDMP배지가 최적인 것으로 보아 액체배양에서의 생육상태는 고체 medium에서의 생육상태와 다소 다른 양상을 나타낸다고 판단되었다. 이것에 대한 연구는 추후 진행이 되어야 할 것으로 판단된다.

**새송이버섯 균사체 bioreactor의 배양에 미치는 pH의 영향.** 새송이버섯 균사체의 배양에 미치는 pH의 영향을 조사하기 위하여 PDMP배지의 pH를 4.5~6.5까지 다양하게 제조하여 배양한 결과 Fig. 7에서와 같이 pH 5.5에서 가장 잘 자라는 것으로 확인되었다. 강 등<sup>1)</sup>은 큰 느타리버섯 균사체의 액체 배양 시 최적 pH는 6.0이라고 보고하여 본 실험 결과와 유사하였으며, 본 실험에서 실험구간 pH의 격차를 더욱 줄여서 실험한 결과 최적 pH는 5.5였다.

**새송이버섯 균사체 bioreactor의 배양에 미치는 배양 시간의 영향.** 새송이버섯 균사체의 bioreactor 배양에 미치는 배양시간을 조사하기 위하여 PDMP배지에 균사체 starter를 접종하고 30일간 배양시킨 결과, Fig. 8에서와 같이 27일 배양 시 침전 균사체의 높이가  $5.0 \pm 0.06$  cm로 액체 대량배양을 위한 최적 배양 시간임을 알 수 있었다. 강 등<sup>1)</sup>은 MYPA배지를 이용한 액체 배양 시 최적 배양 일수는 7일이라고 하여 본 실험 결과와 큰 차이를 나타내었으나, 이는 본 실험에서는 bioreactor를 이용한 대량배양의 조건이어서 배양 시간이 더 길어진 것으로 판단되었다.

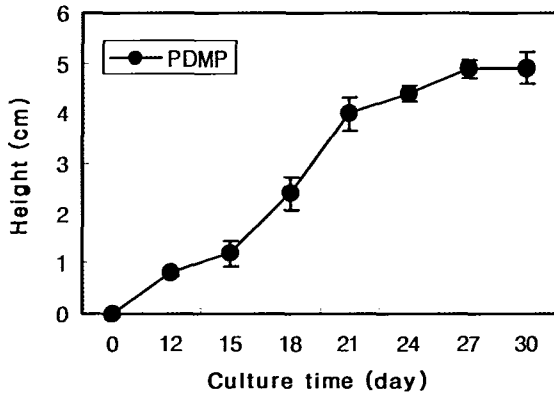


Fig. 8. Effect of culture time on culture with PDMP of *Pleurotus eryngii*.

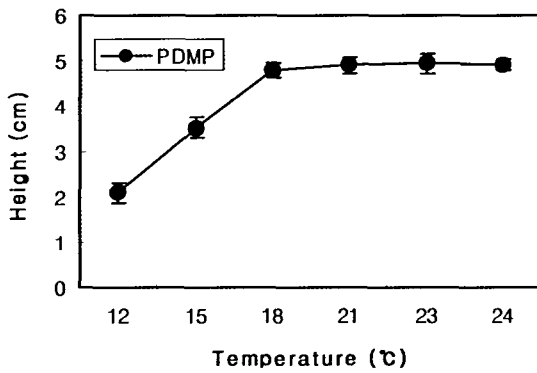


Fig. 9. Effect of temperature on culture with PDMP of *Pleurotus eryngii*.

새송이버섯 균사체 bioreactor의 배양에 미치는 배양 온도의 영향. 새송이버섯 균사체의 bioreactor 배양에 미치는 배양 온도를 조사하기 위하여 PDMP배지에 균사체 starter를 접종하고 12~27°C까지 다양한 온도에서 배양시킨 결과, Fig. 9에서와 같이 18°C까지는 온도가 올라감에 따라 균사체의 증식량이 증가하다가 18~27°C까지의 구간에서는 큰 차이를 나타내지 않았다. 따라서 대량배양 시 에너지 절약 차원에서 18°C까지 온도를 올려주는 것만으로도 reactor의 반응은 최적의 상태를 나타낼 수 있을 것이라 판단되었다. 따라서 새송이버섯 균사체의 인공대량 배양을 위한 bioreactor의 최적 조건은 PDMP배지로 pH 5.5, 18°C에서 27일간 배양하는 것이 최적이었다. 새송이버섯 균사체의 biomass를 위한 상기의 최적 조건에서 20l의 bioreactor에서 대량배양을 실시한 결과 Fig. 10에서 보는바와 같이 새송이버섯 균사체의 인공적인 대량 배양이 가능하였다.

**Bioreactor에서 배양된 균사체의 버섯배지 접종 및 배양.** 살균이 끝난 버섯 배지를 35°C로 온도를 급히 내려 잡균의 오염을 방지하고, 인공 배양된 송이버섯 균사체를 접종하고 22°C 배양실에서 25일 정도 배양시켰다. 배양 후 Fig. 11과 같이 배지의 표면에 새로운 균사를 발생시켜 자실체를 발생시키기 위하여 배지의 표면에 균 굵기 작업을 하였다.

**자실체발생 및 생육.** 균 굵기 작업 후 배양실을 18°C, 실내 습도 90%, CO<sub>2</sub> 농도 500 ppm으로 조절하여 배양한 결과 Fig. 12와 같이 자실체가 발생되었다.

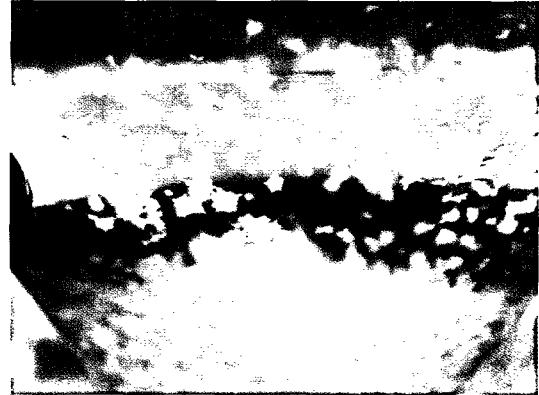


Fig. 10. Biomass of *Pleurotus eryngii* in bioreactor with PDMP broth.

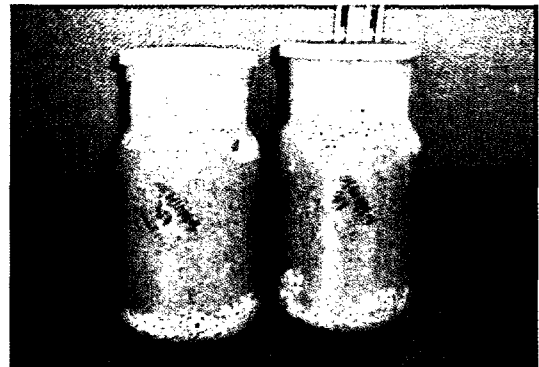


Fig. 11. Inoculation on solid mushroom medium with cultivated mycelial by biomass.



Fig. 12. Formation of fruit body from *Pleurotus eryngii*.

## 초 록

새송이버섯의 biomass를 위한 최적조건을 규명한 결과, 균사체 spot 배양을 위한 최적 조건은 PDA배지를 사용하여 24°C에서 18일 배양 시 최적인 것으로 판단하였으며, 새송이버섯 균사체 Biomass를 위한 bioreactor의 배양 최적조건은 PDMP배지를 사용하여 pH 5.5, 18°C에서 27일 배양 시 reactor의 반응은 최적의 상태를 나타낼 수 있을 것이라 판단되었다. 최적조건에서 bioreactor를 이용한 새송이버섯 균사체의 인공적인 대

량 배양이 가능하였으며, bioreactor에서 대량 인공 배양된 균사체를 이용한 새송이버섯 재배 시, 자실체가 형성되어 새송이버섯의 대량생산을 위한 biomass가 가능하였다.

**Key words:** Culture Condition, Biomass, Bioreactor, *Pleurotus eryngii*

### 참고문헌

1. Kang, M. S., Kang, T. S., Kang, A. S., Shon, H. R. and Sung, J. M. (2000) Studies on mycelial growth and artificial cultivation of *Pleurotus Eryngii*. *Korean J Mycol.* **28**, 73-80.
2. Cho, S. H., Lee, S. D., Ryu, J. S., Kim, N. G and Lee, D. S. (2001) Changes in quality of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) during modified atmosphere storage. *Korean J Postharvest Sci Technol.* **8**, 367-373.
3. Manzi, P., Marconi, S., Aguzzi, A. and Pizzoferrato, L. (2004) Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry* **84**, 201-206.
4. Guillen, F., Munoz, C., Gomez-Toribio, V., Martinez, A. T. and Martinez, M. J. (2000) Oxygen activation during oxidation of methoxyhydroquinones by laccase from *Pleurotus eryngii*. *Appl Environ Microbiol.* **66**, 170-175.
5. Kang, T. S., Kang, M. S. and Lee, S. Y. (2001) Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rats. *Korean J. Mycology* **29**, 86-90.
6. Hwang, Y. J., Nam, H. K. and Kim, S. H. (2003) Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 217-222.
7. Kim, J. Y., Kang, H. I. and Sei, K. I. (2004) Antioxidative and antitumor activities of crude polysaccharide fraction *Pleurotus eryngii*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 1589-1593.
8. Kang, T. S., Jeong, H. S., Lee, M. Y., Park, H. J., Jo, T. S., Ji, S. T. and Shin, M. K. (2003) Mycelial growth using the natural product and angiotensin converting enzyme inhibition activity of *Pleurotus eryngii*. *Korea J. Mycol.* **31**, 175-180.
9. Kim, H. K., Cheong, J. C., Chang, H. Y., Kim, G. P., Cha, D. Y. and Moon, B. J. (1997) The artificial cultivation of *Pleurotus eryngii* (I). Investigation of mycelial growth conditions. *Korean J. Mycol.* **25**, 305-310.
10. Wang, H. and Ng, T. B. (2004) Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*. *Peptides* **25**, 1-5.
11. Kang, T. S., Kang, M. S., Sung, J. M., Kang, A. S., Shon, H. R. and Lee, S. Y. (2001) Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rats. *Korean J. Mycol.* **29**, 86-90.
12. Hwang, Y. J., Nam, H. K., Chang, M. J., Noh, G. W. and Kim, S. H. (2003) Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 217-222.
13. Hui, Y. F., Den, E. S. and Chi, T. H. (2002) Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *J. Food Lipids* **9**, 35-46.
14. Zadrazil, F. (1974) The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus eryngii*. *Mush. Sci.*, IX (part 1), 621-652.
15. Kichiro, K. and Shinnosuke, M. (1996) Mycelial growth of *Pleurotus eryngii*. *Asian International Mycological Congress 96 (AIMC 96) Proceeding*, 83.