

음식폐기물 추출물을 이용한 느타리버섯균의 최적성장조건

임정수 · 이소진 · 이은영*
수원대학교 환경공학과

Optimal Growth Condition of *Pleurotus ostreatus* Cultured in the Foodwastes Extracts. Lim, Joung Soo, So Jin Lee, and Eun Young Lee*, Dept. of Env. Eng., Univ. of Suwon, 445-743 San 2-2, Wau-ri, Bongdam-eup, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, Korea – For the purpose of the methodological development to convert the food wastes into resources, we have attempted to culture the mushroom hypha, *Pleurotus ostreatus*. The foodwastes were mixed with distilled water, and the mixture was autoclaved to produce fluid, which was centrifugated and used as the growth media. Concentrations of the food wastes extracts were prepared with 10, 20, 30, 40, and 50%(W/V), and the initial pH were set variously with 4, 5, 6, and 7. These were cultured for 9 days at the temperature of 25°C and the rotation rate of 120 rpm. The result is that the fluid form of the mushroom hypha have been grown best at the concentration of 30% and the optimal pH was 5 and 6.

Key words: Foodwastes media, *Pleurotus ostreatus*, optimal growth

버섯은 자연 생태계의 유기물 분해자로서 중요한 역할을 할 뿐만 아니라[5] 예로부터 인류 생활과는 밀접한 관계를 맺어 왔다. 균사체의 영양대사로 얻어지는 대사산물이 축적된 자실체의 형태로 나타나게 된다. 버섯은 단백질과 필수 아미노산 조성이 좋을 뿐만 아니라 미량원소도 풍부하여 저개발 국가에서는 단백질 공급원으로도 중요한 역할을 하고 있다[1]. 최근에는 균사체의 추출물이나 배양물이 다양한 약리작용 및 효능이 있는 것으로 밝혀져[9, 10] 건강식품이나 의약품으로서의 가치를 가지며 그 용도가 증가하고 있다[3].

그 중 느타리버섯은 활엽수 고사목에 기생하는 목재부후균의 일종으로 향이 좋아 예부터 식용으로 이용되어 왔다[12]. 전 세계에서 경작되고 있는 일반적인 식용 버섯으로 요리법이 다양하며 짧은 기간에 재배가 가능하기 때문에 인공재배도 활발하게 이루어지고 있다[13, 19-21]. 식용버섯의 인공재배를 위해서는 종균, 배지재료, 재배시설, 재배기술이 필수적으로 요구된다. 그 중에서도 유전적으로 형질이 안정하며, 잡균에 대한 저항성이 강하고 버섯생산성이 우수한 우량종균의 확보는 최우선적으로 갖추어져야 한다[4].

국내의 본격적인 느타리버섯의 재배는 기존의 원목재배에서 벗짚을 이용한 재배 방법이 보급되면서 생산이 급격히 신장되어 농가의 소득 작목으로 꾸준히 성장해 왔다[15]. 1992년 이전에는 일정지역에서 수거가 가능한 간척지 벗짚이 느타리버섯 재배에 좋지 않다는 이유로 보통 논에서 생산되는 벗짚만을 사용하여 오다가 이후 별 차이가 없다고 밝혀졌다[7]. 그러나 농촌의 인구가 감소하고 벼농사의 기계화로 인

해 벗짚의 확보가 어려워지게 되면서 폐 솜 배지 및 톱밥을 이용한 재배가 보편화 되고 봉지 및 병 재배형태는 증가하고 있다. 그러나, 폐 솜의 수입문제 및 산림자원이 빈약한 국내에서는 톱밥재배방식을 유지해 나가기 어렵기 때문에 적합한 배지 개발이 필요한 실정이다. 버섯 재배에 영향을 미치는 여러 가지 환경요인 중 종균의 활력이 가장 중요한 문제로 고체종균보다 액체종균이 우수하다고 보고되어있다[2]. 액체종균은 버섯균의 생활사에서 영양체대의 균사체를 수용성 영양분이 첨가된 액체배지에서 배양(submerged culture)하여 증식시키는 방법이다[22]. 최근에는 자실체보다 배양이 용이하다는 점에 의거하여 자실체 발생이전 단계인 균사체의 액체 배양을 통한 생리활성 물질의 생산이 널리 시도 되고 있으며, 이는 산업적으로 매우 유리한 장점을 갖는 것으로 보고되고 있다[11].

음식폐기물은 농산물을 가공하여 이용한 후 발생하는 폐기물로서 자원으로 존재하면서 경제성을 갖지 못한다. 지자체별로 자원화 사업을 실시하고 있는 상황이지만 퇴비나 비료로의 가치가 떨어지거나 농가에서 직접 생산하고 소비하기 때문에 제대로 된 자원화는 저조한 실정이다. 따라서, 1차 적인 생산물인 퇴비나 사료에서 벗어나 농작물재배를 위한 수단으로 이용하려는 변화가 필요하다. 본 연구에서는 그 방법의 일환으로 음식폐기물을 느타리버섯 균사체의 배지로 사용하는 방법을 채택하였다. 유기성폐기물로서 균사체생육이 좋았던 음식폐기물을 선정하여 느타리버섯의 균사체 배양에 있어 최적의 생육 조건을 찾아보았다.

기본배지 선별

본 연구에 사용된 균주는 하이드에서 보유하고 있는 것으

*Corresponding author
Tel: 82-31-220-2614, Fax: 82-31-220-2533
E-mail: ley@suwon.ac.kr

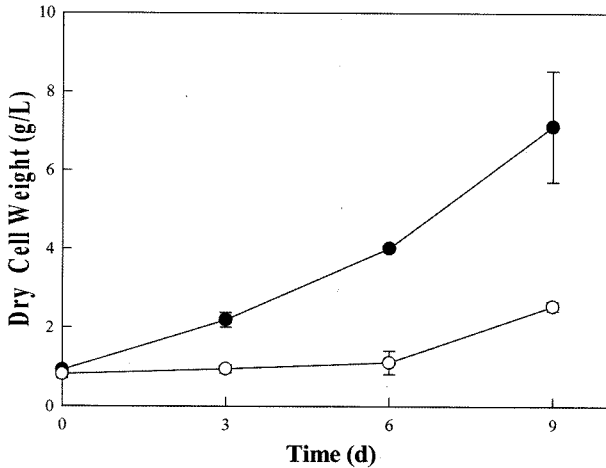


Fig. 1. Comparisons of the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* on YM and PD media. ●; YM, ○; PD.

로 *Pleurotus ostreatus* 원형1호를 사용하였다. Potato dextrose agar(PDA, Difco Co.) 배지에 균주를 도말하여 30°C에서 7일 동안 배양하였으며 실험의 접종원으로 사용하였다. 균주는 3주 간격으로 계대배양 하면서 4°C에서 보관하였다.

P. ostreatus 균사체의 액상배양에 알맞은 기본배지를 선발하기 위해 Potato Dextrose(PD, Difco, USA)배지 및 Yeast maltose broth(YM, Difco, USA)의 두 종류의 공시배지에 접종하였다. 배지를 250 mL 삼각플라스크에 110 mL씩 넣고 느타리균사체 절편을 1x1 cm 크기로 잘라 1개씩 접종하여 25°C, 120 rpm에서 10일 동안 진탕배양 하였다. 균사체의 양을 측정하여 우수한 공시배지를 기본배지로 사용하였다. *P. ostreatus* 균사체 생장에 알맞은 기본배지를 선발하기 위해 2종류의 공시배지를 이용해 배양한 후 균사체의 건조중량을 측정하였다. Fig. 1에서 보듯이 두 종류의 공시배지에 배양한 결과 PD 배지에서 배양했을 때 보다 YM 배지에서 배양하였을 때 성장속도가 빠르고 균체량이 높게 나타났다. 배양 9일째 그 균체량을 비교한 결과 YM 배지에서 약 3.6배 더 잘 자란 것으로 나타났다.

음식폐기물의 성상조사

음식폐기물의 성상을 분석한 결과가 Table 1에 나타나 있다. 3번의 분석에서 C/N ratio는 12~18로 나타났으며 이는 C/N ratio가 너무 높거나 낮으면 느타리버섯의 배지의 자실

체가 감소하기 때문에 30:1이 적당하다고 보고[6]한 것에 비해 낮은 수치였다. 또한 개암버섯에 대한 결과에선 C/N ratio가 증가함에 따라 균사생장이 많아지는 경향을 보였으나 기질의 농도에 따라 최적의 C/N ratio가 차이가 있었던 것으로 보아[14] 이 실험에서 음식폐기물의 C/N ratio가 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료되며 또한 느타리버섯 재배시 큰 영향을 미치는 수분보수력, 수분함량, 통기성과 같은 배지조건이[18] 음식폐기물의 농도와 함께 알맞은 조건을 만들어 내 느타리버섯균사체의 성장을 촉진시킨 것으로 생각된다.

기본배지와 음식폐기물배지에서의 성장비교

음식폐기물배지와 기본배지로 선택된 YM배지와 균사체 성장량의 차이를 비교해보고 음식폐기물이 배지로서의 이용가치가 있는지 확인해 보기 위해 비교실험을 진행하였다. 지금까지의 액체배양을 위한 시도들은 톱밥배지에 여러 첨가물을 섞어주거나, 부산물들이 다양한 형태로 첨가되는 것들에 대한 연구들이 있어왔다[8, 9, 18]. 본 연구에서는 음식폐기물을 단독으로 증류수에 일정 함량 넣은 후 고온증기 멸균한 액상을 배지로 활용하여 보았다. 음식폐기물의 농도는 20%(W/V)로 임의로 결정하였다. 음식폐기물을 원하는 농도로 삼베보자기에 넣고 증류수와 함께 찜통에 넣어, Autoclave(TOMY, ss-325, Japan)를 이용해 121°C에서 15분 동안 우러냈다. 이렇게 제조한 배지를 110 mL씩 삼각플라스크에 넣고 균사체 절편을 1x1 cm 크기로 잘라 1개씩 접종하고 25°C, 120 rpm에서 9일 동안 진탕배양 하였다. 가장 건조중량 값이 높게 측정되었던 6일째 결과를 비교해보면 YM 배지에서는 약 3.8 g/L, 음식폐기물배지에서는 약 3.3 g/L으로 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 2). 음식폐기물 배지의 초기 건조중량이 YM 배지에 비해 다소 높게 측정된 것은 배지자체에서 생긴 물질로 인한 영향으로 추측되며 이후 실험에서는 원심 분리하여 상등액을 이용해 배지로 사용하였다. 이 실험을 통해 음식폐기물이 균사체배양에 있어 영양공급원이 된다는 것을 알 수 있었으며 배지로서의 이용가능성을 확인할 수 있었다.

음식폐기물농도에 따른 균사체 배양

실험에 사용되는 음식폐기물 배지는 그 농도를 10, 20, 30, 40, 50%(W/V)으로 하여 제조하였다. 음식폐기물을 삼베보자기에 넣고 증류수와 함께 찜통에 넣어, Autoclave(TOMY,

Table 1. Chemical composition of the Foodwastes

Substrates	T-C	T-H	T-N	C/N	
A	44.43	6.84	2.36	18.83	Rice, cabbage pickles, egg soup
B	45.67	6.91	3.55	12.86	Rice, pumpkin, lettuce, seasoned vegetables
C	45.94	6.9	2.99	15.36	Instant noodle, bean sprout, egg, cabbage pickles

unit: wt% (dry basis)

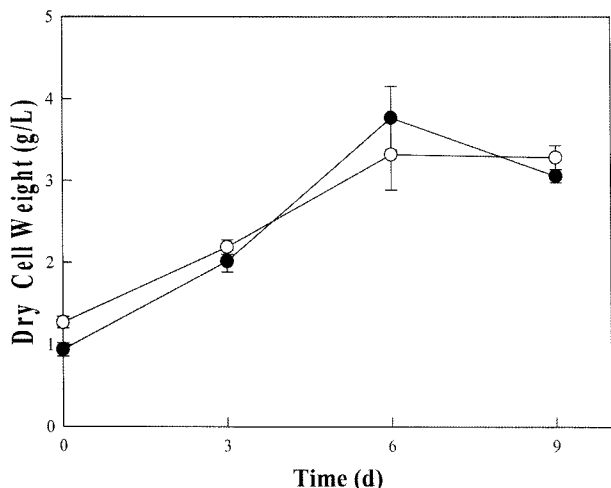


Fig. 2. Comparisons of the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* on YM and Foodwaste extract media. ●; YM ○; Foodwaste.

ss-325, Japan)를 이용해 121°C에서 15분 동안 우러냈다. 이 물질이 혼합되어 초기 건조중량의 값이 높아지는 것을 방지하기 위해 우려낸 물을 원심분리기(20PR-52D, HITACHI, Japan)로 6,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 하여 이물질들을 제거한 후에 상등액을 배지로 사용하였다. 제조된 배지를 250 mL 삼각플라스크에 110 mL씩 넣은 뒤에 느타리균사체 절편을 1×1 cm 크기로 잘라 1개씩 접종하고 25°C, 120 rpm에서 9일 동안 진탕배양 하였다. 일반적으로 균사체의 배양이 25~30°C가 최적의 배양조건인 것은 널리 알려져 있어서 배양온도에 대한 조사는 수행하지 않았다.

배양된 균사생육정도를 알아보기 위해 pH변화 및 건조중량 측정을 시행하였다. Sampling 시기는 접종 후 0, 3, 6, 9 일째 측정하였다. 건조중량 실험의 특성상 다량의 시료를 취해야 하기 때문에 한 종류의 실험에 소요되는 시료의 채취 횟수만큼 동일조건인 시료를 준비하였다. 시료채취가 있는 날에는 시료를 개봉하여 모든 시료를 건조중량 측정에 이용하였다. pH의 측정은 액상 배양한 배지를 약 5 mL씩 취하여 측정하였다. 건조중량 측정은 배양액 100 mL을 취하여 원심분리기(20PR-52D, HITACHI, Japan)로 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 하여 가라앉은 균사체를 알루미늄접시에 넣고 Drying Oven(105°C)에서 4시간 동안 건조한 후 Desiccator에서 방냉 한 뒤, 그 무게차를 측정하여 균사생장을 확인하였다.

P. ostreatus 균사체를 액상배양 할 때 최적의 기질농도를 확인한 결과, 시간경과에 따른 pH의 변화는 초기 배지의 pH는 약 4.5~5정도 나타났으나 시간이 경과함에 따라 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. Control을 포함하여 대체로 완만하게 증가하였으나, 40, 50%에서는 6일째 이후에서 그 전보다 급격히 pH가 증가하였다(Fig. 3). 이는 큰 느타리버섯의 배양결과 균사배양 전 pH보다 균사배양 후 pH가 떨어지

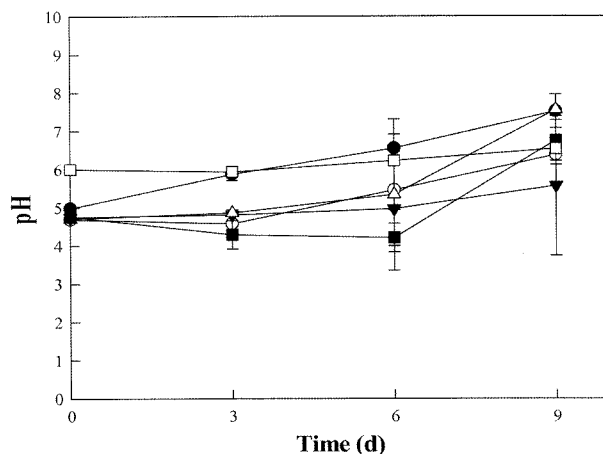


Fig. 3. The pH profile of cultures at different concentrations of Foodwaste extracts. □; Control ●; 10%, ○; 20%, ▼; 30%, △; 40%, ■; 50%.

는 경향을 보였다고 보고한 결과와 다소 차이가 있었다[16]. 이는 Fig. 3의 결과와 Fig. 4의 결과에서 보여지듯이 6일 이후 세포의 사멸이 이어지는 것으로 보아, 영양소(특히 탄소원)고갈에 의한 것으로 사료된다. 일반적으로 pH의 증가는 탄소원 고갈 후 아미노산을 탄소원으로 사용하는 경우와 탄소원이 완전히 고갈되어 세포의 lysis가 일어나는 배양 후기에 많이 관찰되는 것으로 보아 이와 같이 해석되어 질 수 있으나, 앞으로 보다 심도있는 관찰과 추가적인 해석이 필요할 듯하다. 배지의 pH가 저하됨에 따라 균주의 성장이 저하되는데 매우 고무적일 수 있다. pH의 유지는 그림 4에서 보듯이 오히려 상용화배지에 비하여 초기 생장이 잘 되는 효과를 보여준다.

건조중량의 측정결과 control에서 배양한 균사체의 경우 꾸준히 증가하였으나 음식폐기물배지에서 자란 균사체의 경

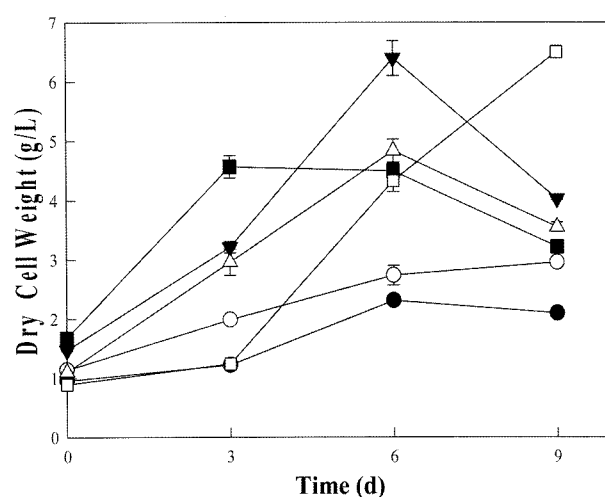


Fig. 4. Effect of the concentration of Foodwaste extracts on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus*. □; Control ●; 10%, ○; 20%, ▼; 30%, △; 40%, ■; 50%.

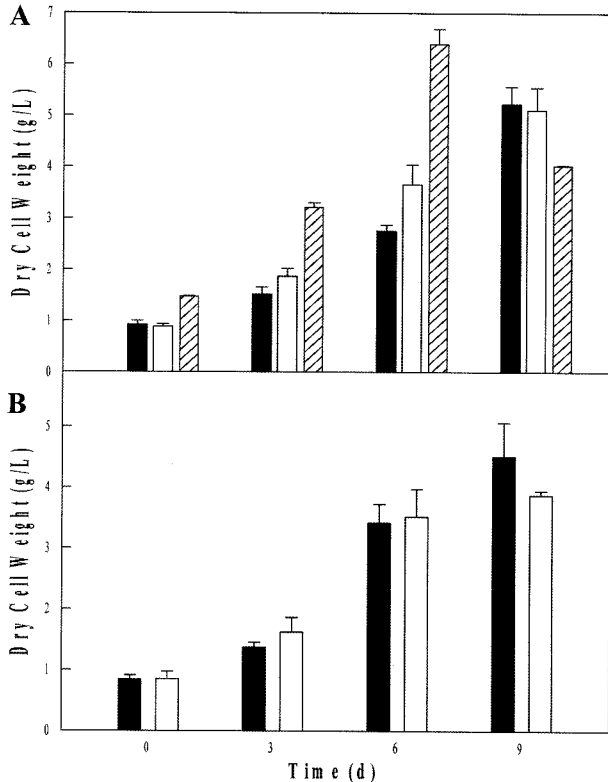


Fig. 5. Effect of initial pH on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* pH5 (A), pH6 (B). ■; Control, □; Food ▨; no buffer.

우 6일 이후 감소하는 경향을 보였다. 음식 폐기물을 30% 이상 첨가할 경우는 배양 6일 이내에 상용화배지에 비해 건조중량에서 월등한 결과가 보여진다. 음식폐기물 농도 30%에서 6일째 건조중량이 6.30 g/L로 가장 높게 나타났으며 마지막 날에도 각각의 농도에서 감소하는 경향을 보였으나 농도 30%일 때 4.02 g/L로 그 중 가장 높게 나타났다. 음식폐기물 농도 10%일 때 보다 약 2.3배의 높은 균사체 생산수를 보였다(Fig. 4). 아마도 음식폐기물농도 10%일 때 보다 영양분 이용이 용이 했을 것으로 생각되며 30%보다 농도가 높아지는 경우 50%에서 초기에는 생육이 빠르게 나타났지만 시간이 경과하면서 성장을 저해하는 것으로 보인다. 이는 아마도 음식물내의 염농도가 증가함에 따른 생육저해로 사료된다.

또한 음식폐기물 농도 30%에서의 pH변화를 살펴보면 거의 pH 5를 유지하는 것으로 나타나는데 생육에 유리한 pH를 유지한 것 또한 생육에 도움이 되었을 것으로 생각된다. 이는 초기 pH 영향에 따른 균사체 배양 결과(Fig. 5)와 일치하였다.

초기 pH 에 따른 균사체 배양

버섯재배를 위해 배지는 균사의 배양을 위한 영양분 공급과 물리적 지지대 역할을 하므로 배지의 물리·화학적 특성

이 버섯에 적합해야 한다. 배지의 화학적 특성으로 pH 및 영양성분을 고려해 볼 수 있으며, 먼저 음식폐기물 배지의 초기 pH의 영향을 검토하였다. 배지의 pH를 4, 5, 6, 7로 설정한 후 최적의 pH를 조사하였다. 이 때 음식폐기물 배지의 농도는 가장 생육이 좋았던 음식폐기물 농도 30%(W/V)로 하였다. pH의 조절은 citric acid, Na₃ citrate, Na₂HPO₄ 및 NaH₂PO₄ buffer를 이용하였다.

초기 pH를 4, 5, 6, 7로 하여 배지의 pH가 균사체의 생육에 영향을 미치는지에 대해 살펴보았다. 그 결과 pH 4, 5, 6, 7의 조건에서 모두 균사체의 생육이 있었지만 그 중 pH 5와 6에서 균사생장이 양호한 것으로 나타났다. 그 중 pH 5에서 5.11 g/L로 많게는 약 39% 정도 더 잘 자란 것으로 나타났다. 일반적인 균류에서의 적정 pH에서와 마찬가지로, 흰색 느타리버섯의 균사배양 시 생육최적 pH가 5라는 보고 [17]와 큰느타리버섯 균사생육최적 pH가 5~6이라고 보고한 결과 [15]와 일치하였다(Fig. 5). pH가 4이하 또는 7 이상이 되면 균사생장은 있지만 다소 억제되는 경향이 있었다. 또한 buffer의 추가없이 순수한 음식폐기물이 가진 pH를 가지고 균사배양 했을 때와 비교해 보았다. buffer를 사용했을 때 보다 순수한 음식폐기물만 가지고 배양했을 때 균사의 생장이 더 우수하였다. 6일째까지 약 1.7배 정도 더 잘 자란 것으로 나타났다. 9일째 균사의 건조중량이 감소된 것은 시료 채취시 문제가 있었던 것으로 사료 된다.

음식폐기물배지의 초기 pH는 음식폐기물농도 20%와 30% 일 때, 매 실험에서 pH 4.7~5.12 범위를 유지했다. 더불어 음식폐기물의 농도가 높아질수록 pH가 낮아지는 것을 알 수 있었다.

REFERENCES

1. 박정석. 2008. 버섯의 식품적 가치. 농촌진흥청 농업기술정보
2. 성재모. 1997. 느타리버섯 액체종균을 이용한 느타리버섯 생산에 관한 연구. 농림수산식품부.
3. Cha, W. S. 2004. A study on the mycelial growth of *Agrocybe aegerita* in flask culture. *J. Life Sci.* **14**: 560-566.
4. Goltapeh, E.M. and Kapoor, J. M. 1989. New substrates for spawn production of button mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Singer. *Mushroom Sci.* **12**: 281-285.
5. Han, S. Y., M. Y. Shon, and S. W. Lee. 2003. Physiological activities of mycelial *Flammulina velutipes* cultured in liquid grain media. *Kor. J. Food. Nutr.* **8**: 50-56.
6. Hong, J. S. 1978. Studies on the physio-chemical properties and the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *J. Kor. Agricul. Chem. Soc.* **21**: 150-184.
7. Jhune, C. S., H. J. Sul, W. S. Kong, Y. B. Yoo, J. C. Cheong, and S. C. Chun. 2006. Effects of NaCl Concentration on production and Yields of Fruiting Body of Oyster Mushrooms, *Pleurotus* spp.. *Kor. J. Mycol.* **34**: 39-53.
8. Jo, W. S., Y. S. Yun, S. D. Park, and B. S. Choi. 1995. Development of cheap substrate for fruiting of *Pleurotus*

- ostreatus* using paper sludge. *Kor. J. Mycol.* **23**: 197-201.
9. Jung, G. T., I. O. Ju, K. H. Kang, I. W. Park, and J. S. Hong. 1996. Production of *Pleurotus* spp. mycelium using rancid frying oils. *Kor. J. Bio.* **11**: 527-576.
 10. Jung, G. T., K. Y. Kim, J. S. Choi, J. S. Hong, and K. J. Kim. 1996. The production of mushroom mycelium using rancid oil of fried chicken. *Kor. J. Mycol.* **24**: 305-309.
 11. Jung, J. H., K. E. Lee, and S. Y. Lee. 2006. Optimization of submerged cultivation of *Hericium erinaceum*. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **21**:96-102.
 12. Kalberer, P. P. 1974. The cultivation of *Pleurotus ostreatus* experiments to elucidate the influences of different culture condition on the crop yield. *Mushroom Sci.* **9**: 653-661.
 13. Kathatun K., Mahtab H, Khanam P. A., Sayeed M. A, Khan K. A. 2007. Oyster mushroom reduced blood glucose and cholesterol in diabetic subjects. *Mymensingh Med J.* **16**: 94-99.
 14. Kang, A. S., D. Y. Cha, I. P. Hong, H.Y. Chang, and S. H. Yu. 1994. Study of cultural condition on the mycelial vegetative growth in *Naematoloma sublateritium*(Fr.) karst. *Kor. J. Mycol.* **22**: 153-159.
 15. Kang, M. S., T. S. Kang, A. S. Kang, H. R. Shon, and J. M. Sung. 2000. Studies on mycelial growth and artificial cultivation of *Pleurotus eryngii*. *Kor. J. Mycol.* **28**: 73-80.
 16. Kim, H. K., J. C. Cheong, H. Y. Chang, G. P. Kim, D. Y. Cha, and B. J. Moon. 1997. The artificial cultivation of *Pleurotus eryngii* (I). *Kor. J. Mycol.* **25**: 305-310.
 17. Kim, H. K., Y. G. Kim, B. J. Lee, K. S. Lee, E. S. Yang, M. S. Park, Y. B. Yoo, and H. G. Kim. 2008. Characteristics of mycelial growth and fruit body development of white *Pleurotus ostreatus* "Miso". *Kor. J. Mycol.* **36**: 58-62.
 18. Lee, Y. H., Y. J. Cho, and H. D. Kim. 2002. Effect of mycelial growth and fruit body development according to additives ad mixing ratio in pot cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **30**: 104-108.
 19. Olivieri, G., A. Marzocchella, P. Salatino, P. Giardina, G. Cennamo, G. Sannia. 2006. Olive mill wastewater remediation by means of *Pleurotus ostreatus*. *Biochemical Engineering J.* **7**: 180-187.
 20. Ragunathan, R., R. Gurusamy, M. Palaniswamy, K. Swaminathan. 1996. Cultivation of *Pleurotus* spp. on various agro-residues. *Food Chemistry.* **55**:139-144.
 21. Yildiz, S., U. C. Yildiz, E. D. Gezer, A. Temiz. 2002. Some lignocellulosic wastes used as rawmaterial in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culturemushroom. *Process Biochemistry.* **38**: 301-306.
 22. 古川. 1992.きのこの學, 7章 菌糸體生産, 10章 菌體利用. 東京. 共立出版株式會社.

(Received Feb. 4, 2009/Accepted Feb. 27, 2009)