

표고 액체종균 배양시 배지와 균사체의 양분변화

심규광¹ · 유영진² · 구창덕^{3*} · 김명곤⁴¹(주)팔오테크, ²전북농업기술원, ³충북대학교 산림학과, ⁴전북대학교 바이오식품공학과Changes of Nutrients in Media and Mycelia on Liquid Spawn Culture of *Lentinula edodes*Kyu-Kwang Shim¹, Young-Jin Yoo², Chang-Duck Koo^{3*} and Myung-Kon Kim⁴¹ParoTech, 463, Deokjeol-ri Jeongnam-myeon, Hwaseong-si, Gyeonggi-do 445-964, Korea²Jeonbuk Agricultural Technology Administration, Iksan 570-704, Korea³Department of Forest Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea⁴Jeonbuk National University, Iksan Campus, Bio Food Technology Ma-dong, Iksan 570-752, Korea

ABSTRACT : *Lentinula edodes* liquid spawn growth under explosive aeration (supplying air with tiny bubbles) and soybean meal addition to liquid culture medium were investigated in terms of mycelial growth and residual free sugar content. The two treatments were effective for homogeneous culturing of mycelial spawn and for separating colonies during multiplication after an exponential growth period without limiting sustaining nitrogen nutrients. The mycelial growth and carbon dioxide concentration were greatest on the 13th day since the inoculation. At 12th day, however, free sugars were almost depleted in the upper part of the liquid medium. Total nitrogen content within precipitated mycelia was the highest at the 13th day. Chitin and sucrose contents in the mycelia were the highest at the 18th day, but ergosterol content became highest at 22 days. These results suggest that *Lentinula edodes* liquid spawn is ready in 18 days after inoculation.

KEYWORDS : Carbon dioxide, Fermentation, *Lentinula edodes*, Liquid spawn, Soybean meal

서 론

우리나라에서 표고(*Lentinula edodes*)는 생산량이 약 45,000톤이고 생산액이 약 2,200억원에 달하는 중요한 버섯품목이다. 최근에는 원목을 이용하는 표고 생산방식은 참나무 원목자원 구입이 어려워지고, 노동력이 부족하여 참나무톱밥을 이용하는 봉지재배 방식으로 전환되어서 이 방식에 의한 표고 생산비율이 30~40%에 이르고 있다. 기존의

톱밥봉지재배에서는 톱밥종균을 이용하고 있으나, 액체종균으로 접종하는 방식이 매우 효율적임이 연구되고 있다 [1].

표고 톱밥재배에서 액체종균은 톱밥종균에 비하여 배지 점유속도가 신속하여 효율적인 것으로 알려졌고 [2], 실제로 톱밥종균 접종으로 보통 120일 걸리는 톱밥배지 생산기간이 액체종균 접종으로 90일로 단축되었다 [3]. 그리고 이 표고 액체종균의 대량 생산(8 L)에 최적인 C/N율은 13.1로 보고되었다 [4].

일반적으로 버섯의 액체종균이 고체종균에 비하여 좋은 장점이 있지만, 느타리, 팽이 등의 다른 버섯에 비하여, 표고 균사체의 액체배양은 생육속도가 느리고 배양 중 오염 가능성이 높아 산업화가 어려운 실정이다. 그리고 액체종균의 균체량의 밀도가 낮으면 배지에 접종하였을 때에 활착이 지연되고, 균일한 배양이 되지 않으며 오염되기 쉽다. 따라서 배지에 접종 후 표고균사 활착을 신속하게 하고, 균사생장을 균일하게 하기 위해서는 액체종균의 밀도가 높은 것이 유리하다. 따라서 이 표고 액체종균의 밀도를 높이고 오염을 줄여 품질을 높이는 것이 절실하다.

본 연구에서는 표고 액체종균을 대량(140 L) 배양할 때

Kor. J. Mycol. 2014 June, 42(2): 144-149
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2014.42.2.144
pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail: kooedm@chungbuk.ac.kr

Received July 8, 2013

Revised October 8, 2013

Accepted June 20, 2014

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

에, 접종원을 고속균질기로 균질화하여 투입하고 산소를 폭기방법으로 공급하고, 균체가 다량으로 형성되는 대수기 및 대수기 이후에 균체가 이용할 수 있도록 질소양분을 대두박으로 충분히 공급하였다. 그 결과 배양액과 균사체가 분리되지 않는 고밀도 액체종균을 만들 수 있었으므로, 이러한 배양과정에서 액체종균의 품질을 균사체 내 밀도와 양분 함량으로써 알고자 하였다.

재료 및 방법

액체종균 제조

본 시험에는 표고 품종 산조701호를 사용하였다. 원균은 PDA (potato dextrose agar) 사면배지에서 24°C에서 13일 동안 배양되었다. 표고균사 대량 배양을 위한 액체종균 배양액은 증류수 1 L에 설탕 30 g, 탈지대두박(soybean meal) 3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.8 g, $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.8 g, 펩톤 0.8 g, 목초액(유기칼) 0.67 mL, 안티폼 204 (Sigma, A-6426) 2~3 방울을 첨가하고, 1 L 삼각플라스크 내에 500 mL씩 넣고, 멸균하여 121°C에서 60분간 고압살균되었다. 그리고 PDA에서 배양된 산조701호 배양체(1 cm 직경) 8~9개 조각을 1 L 삼각플라스크 내 500 mL 액체배지에 접종하여 배양초기에는 정지하고 배양후기에는 진탕(90 rpm)하면서 15~20 일간 배양하였다.

표고 액체종균을 대량 증식배양하기 위하여, 약 150리터 배양액통(지름 40 cm, 높이 120 cm)에 수도물 140 L, 설탕 4.2 kg, 대두박 0.98 kg, MgSO_4 70 g, K_2HPO_4 70 g, 목초액(유기칼) 93.3 mL, 안티폼 204 (Sigma, A-6426) 5~6 mL를 넣었고, 이때의 pH는 6.2였다. 배양액통 전체를 고압살균한 후, 24시간 지하수로 용기를 냉각시켰다. 여기에 최근 배양된 액체 접종원 700 mL를 고속 균질기로 12,000 rpm에서 40~60초 동안 균질화한 후 무균실에서 접종하였다. 이 배양액통에 직경 50 mm × 0.2 μm의 필터(Pall Co.) 3개를 직렬로 연결하여 공기압 2.0 kg.f/cm²로 폭기하면서 표고균사를 배양하였다. 폭기는 내경 지름 13~15 mm관에 연결된 내경 1 mm의 가느다란 10개 분지관을 통하여 압력 공기를 주입하는 것으로, 이를 통하여 배양액에 산소를 공급하면서 배양액도 순환시켰다. 배양실 온도는 20~22°C로 조절하였고, 폭기 진행 중인 배양기내부의 이산화탄소 농도는 배출구에서 IAQ (Indoor Air Quality)-CALC7545 (TSI Co.) 측정기로 측정하였다.

대두박 증량처리

액체배양에서는 배양 대수기에 많은 에너지와 양분이 지속적으로 필요하기 때문에 지효성 질소원(N)인 대두박(soybean meal)을 증량하였다. 즉 대두박을 배양액 140 L에, 대조구에서는 0.35 kg, 증량 처리구에서는 0.98 kg를 넣어서, 액체종균의 C/N율을 13.1[4]과 4.3으로 하여 배양시킨 균사량을 비교하였다 (Table 1).

배양 균사 생중량 측정

배양된 표고 균사체의 생중량을 측정하기 위해서 폭기 배양 중인 140 L 중에서 매일 1 L씩 분획하여 분석시료로 사용하였다. 분획시료에서 부유 균사를 1시간 동안 침전시켜서 배양된 균사체 부피(mL/L)를 측정하고, 원심분리하여 생중량(g/L)을 측정한 후, -10°C에 냉동보관하면서 화학적 특성 분석에 이용하였으며, 실험에서 각각의 결과는 매일 분취한 1 L 용량에 대하여 서술하였다.

접종 전 오염검사

액체종균은 수분과 양분이 풍부하고 폭기로 배양되므로 오염되면 급격히 증식되고 배양액 내 빠르게 분산된다. 따라서 폭기 배양 4일째부터 매일 배양균사체를 채집하여 슬라이드 글라스에 올리고 진한 Giemsa Staining Solution [關東化學(株), Cica-Reagent 100 mL Cat No. 17596-23]을 떨어뜨려 균사체와 세균류를 40~60초 동안 염색시킨 후 슬라이드 뒷면으로부터 증류수로 씻어낸 후 건조시켜 현미경에서 100~1000배율로 오염여부를 조사[5]하고 오염된 배양액통은 제거하였다.

액체종균의 화학적 특성 분석

배양균사체 내 총질소(T-N) 함량 분석은 경기도 농업기술원에 의뢰하였다. 표고 균사체 0.1 g에 진한 H_2SO_4 25 mL와 황산염 촉매제를 넣고 350°C에서 30분간 분해한 시료를 냉각시킨 후, 45% NaOH 60 mL, 진한 H_2SO_4 2~3방울을 가하여 나온 증류용액을 0.5 N- H_2SO_4 로 적정하여 질소 함량을 계산하였다.

환원당은 Luchsinger와 Cornesky[6] 그리고 Nelson[7]의 방법을 준용하여 정량하였다. 표고 액체종균을 원심분리(3,000 rpm, 10 min)하여 상층액 10g에 증류수 40 mL를 가하여 50 mL로 정용하였다. 시료액 1에 혼합시약(A:B=25:1, A=증류수 1 L 내에 무수 NaHPO_4 25 g, $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{KNa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 25 g, NaHCO_3 20 g, 무수 Na_2SO_4 200 g, B=증류수 200 mL 내에 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 30 g, 진한 황산 4방울)을 0.5 mL 첨가하여 20분간 가열, 냉각 후 C액(증류수 450 mL 내에 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 25 g, 진한 황산 21 mL, 증류수 25 mL 내에 $\text{Na}_2\text{HSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3 g)을 1 mL 첨가하고 실온에서 반응시킨 후, 증류수 5 mL를 혼합하여 520°C에서 흡광도를 측정하였다. 환원당 함량은 글루코오스로 검량선을 작성하여 시료의 환원당 함량을 산출하였다.

키틴 분석은 Hyun[8]의 시험방법을 준용하였다. 동결된 시료 0.16 g을 칭량하여 6 N HCl 5 mL를 넣고 100°C 중탕기에서 4시간 동안 가수분해 시켰다. 실온에서 30분 간 방치 후 110 mm 여과지(No. 2)로 여과한 액을 증류수를 사용하여 50 mL로 정용하였다. 5 N NaOH를 사용하여 pH 5.7로 조정한 다음 시험관에 피검물 2 mL와 4% acetylacetone 0.5 mL를 혼합하고, 90°C 온탕에서 110 rpm으로 흔들면서 1시간 반응시켰다. 시험관을 실온에서 10분간 방치

한 후 95% 에탄올 4 mL, Ehrlich 시약 0.5 mL와 증류수 3 mL를 첨가하여 530°C에서 흡광도를 측정하였다. 에르고스테롤 함량 분석은 Pasanen 등[9]과 Koo 등[10] 등의 방법에 따랐다. 유리당은 Im 등[11]과 Jung[12]의 시험방법을 준용하여, 표고 균사체 시료 20 g을 80% 에탄올 100 mL에 넣은 후 85°C 온탕에서 30분 간 초음파로 추출한 후 80% 에탄올 100 mL을 가하여 0.45 µm 멤베레인 필터로 여과한 후 프락토스, 글루코스, 말토스, 수크로스, 락토스를 HPLC로 분석하였다.

결과 및 고찰

대두박 첨가에 따른 균사 생장

폭기 배양 17일째에 분획된 시료를 1 L의 매스실린더에서 1시간 동안 침전하여 얻은 균사체 부피(mL/L)는 대조구에서 68 mL/L인데 비하여, 대두박 증량 처리구에서는 85 mL/L로 25% 더 증가되었다. 이 분획된 1 L의 용액을 원심 분리하여 얻은 균사체 생중량은 대조구 35.7 g/L에 비하여, 대두박의 증량 처리구에서 64.5 g/L로 80.7%가 증가하였다(Table 1). 이처럼 대두박 추가 첨가로 균사체 생중량이 많이 증가한 것은 기존 액체종균[13]에서의 영양원이 많이 부족하다는 것을 의미한다.

그리고 배양 17일째 현미경에서 관찰한 결과, 대두박은 거의 대부분 분해된 상태였다. 이렇게 표고균사가 충분히 자라서 액체배지 내에 대두박이 거의 분해되는 시점에서 액체종균을 톱밥배지에 접종할 경우에는, 오염이 되지 않으면서 활착이 잘 진행되었다[5]. 그리고 대두박은 폭기 배양 중에 균사가 서로 뭉치지 않고 독립 입자로 자라도록 지지체 역할도 하였다. 이처럼 균사 지지체 역할을 하는 것으로는 수용액에 완전히 용해되지 않는 보리나 밀 등 부유성 당화 배지도 효과가 있다[14].

액체 종균 배양기간 중 이산화탄소의 발생량 변화

배양 중 이산화탄소 농도와 균체내 질소함량을 측정한 결과, 이산화탄소 농도는 폭기 시작 일부부터 증가하다가 13일째 3000 ppm으로 최고에 이른 후 서서히 감소하였고, 균체내 질소함량은 13일째 급격히 축적된 후 다시 급격히 감소한 후 안정화되었다(Fig. 1). 그러나 배양기에서 분획한

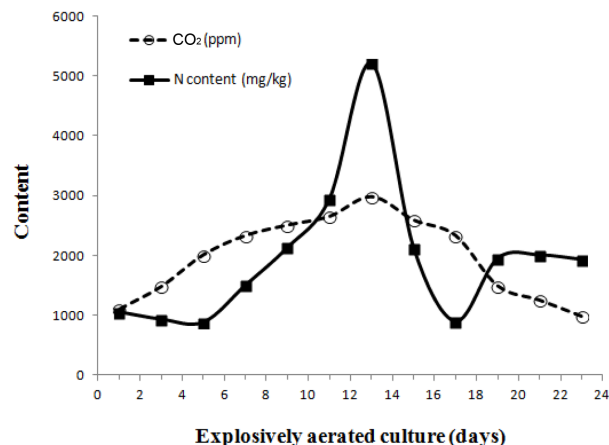


Fig. 1. Concentration of carbon dioxide (ppm) emitted from explosively aerated liquid spawn culture of *Lentinula edodes* and nitrogen content in the mycelia.

1 L를 1시간 정치하여 조사한 균체량은 폭기 7일째부터 지속적으로 증가하였다(Fig. 2, 3). 따라서 액체종균 배양기에서 균체량과 배출되는 이산화탄소 농도는, 배양 초기부터 13일째까지는 함께 증가하였다. 이 결과는 균체량이 점점 증가하는 동안 균사활성은 왕성하였으나, 초기 투입된 질소영양원이 점차로 고갈되면서 균사활성이 감소하고, 균체내 축적된 양분이 재활용됨으로써 균사생장이 안정화되기 때문으로 생각되었다. 위 결과는 팽이의 액체 종균배양에서는 배양 5일째에 이산화탄소 농도가 2,495 ppm으로 최대 농도에 도달하였으나, 균사증가속도와 이산화탄소 배출농도가 일치하지는 않았다고 하는 보고[5]를 뒷받침하였다.

액체 종균 내 균사체량은 투입된 영양원, 배양 온도, 폭기되는 공기량, 폭기구 구조, 접종원의 상태와 투입량 등에 따라 달라지는 것으로 보고된 바 있다[15]. 따라서 이와 같이 폭기 배양 중의 배출구에서의 이산화탄소 농도의 측정으로 액체 종균의 제조 상황을 수치적으로 확인이 가능할 것으로 판단되었다.

액체종균 배양시 균사 생중량 변화

액체종균 내 균사생장량은 폭기 배양 9일째까지 지속적으로 증가하여 13일째에 최대 (생중량 81 g/L)가 되고 이후

Table 1. Gravitationally precipitated mycelial volume and fresh mycelium weight per 1 L liquid spawn culture fraction of *Lentinula edodes* while explosive aeration

Measurement	Treatment (C/N ratio)	Mycelial volume (mL/L)					
		Date of culture fraction collection					
		6 th	9 th	11 th	13 th	15 th	17 th
Gravitationally precipitated mycelium	Control (13.1)	11	25	36	48	64	68
	Soybean meal addition (4.3)	18	43	58	61	84	85
Fresh pure mycelium	Control (13.1)	10.1	15.6	14.3	30.1	32.4	35.7
	Soybean meal addition (4.3)	25.1	38.6	61.9	71.2	56.3	64.5

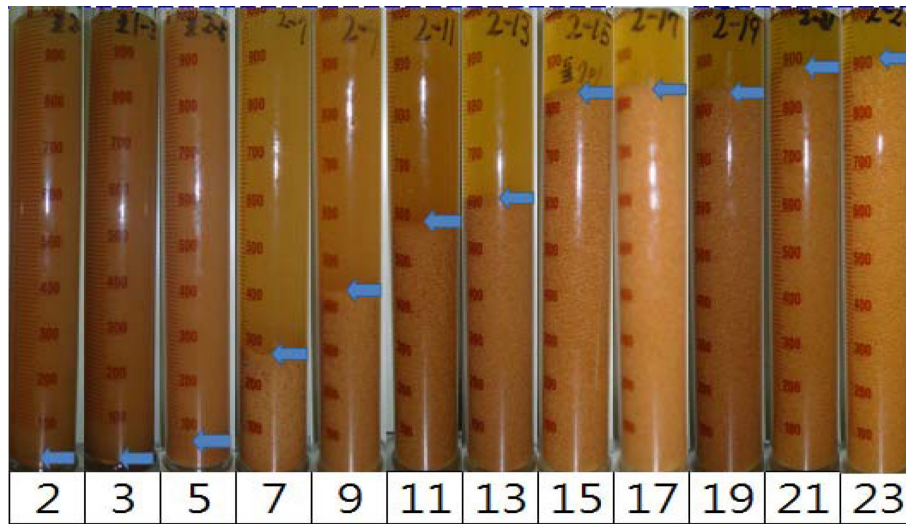


Fig. 2. Mycelial growth of *Lentinula edodes* by volume (mL/L). These are daily fractions collected from explosively aerated liquid spawn culture of *L. edodes*. Arrow indicates height of one-hour gravitationally precipitated mycelium volume.

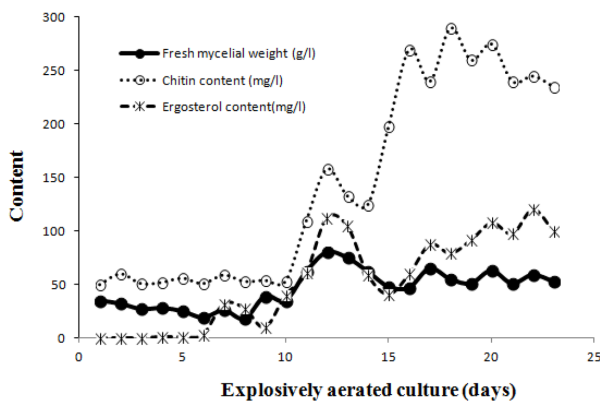


Fig. 3. Changes in fresh mycelial weight, chitin and ergosterol contents in the mycelia daily collected fractions from explosively aerated liquid spawn culture of *Lentinula edodes*.

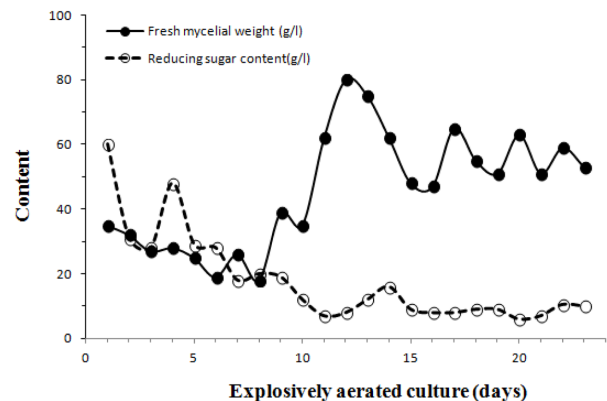


Fig. 4. Mycelial growth and changes in reducing sugar contents in upper solution in daily fractions collected from explosively aerated liquid spawn culture of *Lentinula edodes*.

부터는 감소하였다(Fig. 3). 하지만 겔보기 균체량은 폭기 배양 23일째까지도 증가하였다(Fig. 2). 이에 비하여 실제 균체량이 13일째 이후 감소한 것은, 배양액의 투명도가 높아진 것과 대두박 입자가 감소한 것을 확인한 결과, 균사체 둘러싸인 대두박 입자가 분해되었기 때문인 것으로 판단되었다. 겔보기 균사는 균사체간의 활력과 호흡으로 배출된 이산화탄소 가스에 의한 부유 상태가 혼합된 것이므로 이를 균밀도가 높은 것으로 판단할 수는 없었다. 또한 원심분리된 균사체 중량은 첫째 날부터 8일째까지는 점진적으로 약간 감소되었는데(Fig. 3), 이는 첨가된 고휘도 대두박이 원심분리할 때에 균사체와 함께 침전되어 포함된 것으로, 균사생장과 함께 점차 용해되어 감소한 것으로 생각된다. 즉 균사체의 실제 구성물인 키틴분석 결과(Fig. 4)에서 보면, 균체량은 배양 11일째까지는 느리게 증가하였고 그 이후에

대수적으로 급격히 증가하였다. 한편 15일째 이후 균사량의 변동(Fig. 3)은 140 L 배양액으로부터의 시료채집 오차에 의한 것으로 생각된다. 이런 변동의 원인은 명확하게 밝혀진 것이 아니므로, 이 결과는 균사생장량, 균체 내 유리당 탄수화물, 키틴과 에르고스테롤의 배양일수에 따른 전체적 변화 경향으로 이해하는데 국한된다고 생각한다.

Lee 등[2]은 8 L 용량의 표고 액체종균을 17일간 배양하여 균사 건중량 106 mg/40 mL(= 2.6 g/L)을 얻었다. 본 연구에서는 같은 기간 동안에 140 L 배양액에서 액체종과 균사층이 분리되지 않는 고밀도로 부유된 표고 액체 균사체 약 55 g/L를 얻을 수 있었다. 그리고 이를 톱밥배지에 2 kg/f/cm²의 압력으로 스파이럴형 노즐로 균사체를 분산시키면서 접종하였을 때, 24시간 후에는 배지에서 하얀 표고균사가 활착되는 것(Fig. 6)을 확인하였다.

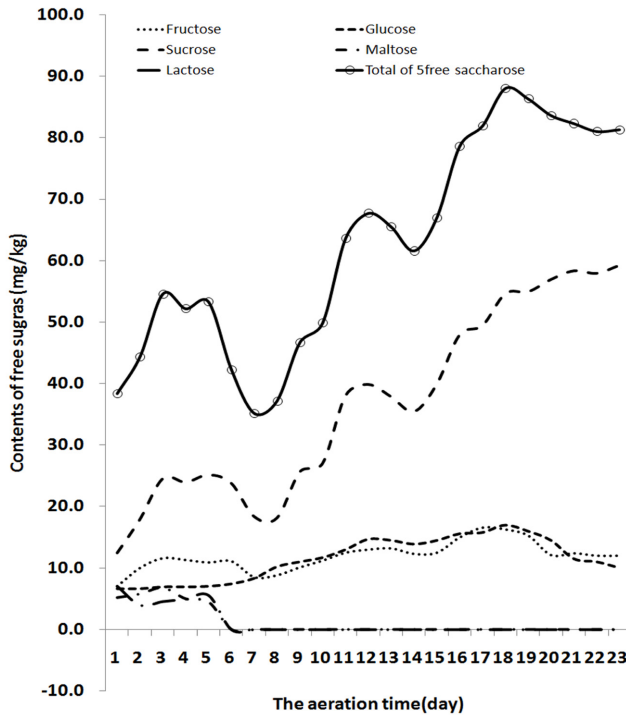


Fig. 5. Changes in free saccharose content in the mycelial fractions daily collected from explosively aerated liquid spawn culture of *Lentinula edodes*.

액체배지 내 에너지원과 배양 균사체 내 키틴 질소 에르고스테롤 함량 변화

액체배지 내 환원당 함량은 접종시 60 g/L에서 배양 11일째까지 계속 감소하여 약 90%가 소비되었다(Fig. 3). 이것은 글루코스를 20 g/L 함유한 배지에서 구름버섯 균사체가 배양 6일째 환원당을 거의 소비한 것[16]보다는 느렸다. 한편 균사체내 유리당 함량은 배양 8주째부터 증가하여 18일째에는 5종 총유리당 함량은 최대치인 88.0 mg/kg 되었으며 이후에는 점점 감소되었다(Fig. 5). 이런 변화는 균사체내 수크로스 함량의 변화와 거의 일치하며(Fig. 5), 키틴함량 변화(Fig. 4)와도 유사한 경향이였다.

표고 액체종균의 폭기 배양 중 균사체 내 총질소(T-N)함량은 균사생장과 함께 점진적으로 증가하였다(Fig. 1). 이것은 균사 생중량 변화(Fig. 4)와 거의 일치하였으며, 폭기 배양 13일째에 최고치를 보였고 첨가된 영양원이 고갈되는 후기에는 현저히 감소되었다. 따라서 균사체 중에 최고의 농도를 보인 13일째에도 균사가 배양액을 충분히 채우지 못한 상태이므로, 처음에 첨가되는 영양원들을 더 많이 투입할 수 있다고 생각한다.

표고 액체종균의 폭기 배양 중에 일별 분획된 배지 내 키틴 함량의 증가는 왕성한 호흡이 이루어지는 증식 대수기 이후이며, 키틴 함량이 가장 많은 시기는 배양 18일째였다(Fig. 4). 폭기 배양 23일째에 걸보기 균사체량은 계속 증가한 것으로 보이지만 실제 균사벽 성분인 키틴함량은



Fig. 6. Hyphal regrowth from liquid spawn of *Lentinula edodes* within 24 hours after its inoculation into the oak sawdust medium.

오히려 감소하였는데, 이 시기에는 영양원의 고갈과 함께 균사의 노화현상에 의한 자가소화 현상이 있었다고 생각된다.

한편 에르고스테롤은 곰팡이 세포 내 원형질 내 분포하는 스테롤물질로서 실제 활력있는 세포질 함량을 추정하는데 이용된다[10]. 이번 결과에서 에르고스테롤 함량(Fig. 4)은 호흡량이 가장 높고 균체내 질소축적량이 가장 높은 13일째 높았으며(Fig. 1), 균체량이 많고(Fig. 3) 균체내 총질소량(Fig. 4)이 최대가 된 때와 거의 일치하였다. 한편 에르고스테롤 함량은 12일째 거의 최고점인 112.8 mg/L에 도달한 후 급속히 감소하였고, 다시 점차로 증가하여 22일째에 최고점 120.7 mg/L에 도달하였다. 이런 불일치 현상은 배양액 내 당의 고갈, 균사체 내 당의 축적량, 질소함량, 키틴함량, 에르고스테롤 함량 변화와 관련하여 보다 상세한 연구가 필요하다는 것을 나타낸다. 배양 후반기 15일째 이후 키틴 함량이 높지만 균체량과 에르고스테롤 함량이 이에 비례하지 않은 것은, 실제로는 과숙한 균사에는 균사벽만 있고, 원형질이 적다는 것을 의미한다. 이것은 배양 15일째부터 호흡량이 감소한 것으로도 설명이 된다.

따라서 액체배양체 내 균사활력, 배양균사량, 키틴함량, 에르고스테롤함량, 액체 배지 내 유리당 함량과 균사활력 등으로 판단하여 볼 때, 가장 적합한 액체종균은 폭기 배양 18일 전후였다. 하지만 액체종균의 제조방법에 따라서는 폭기 배양일 수를 단축할 수도 있을 것으로 판단되었다.

액체종균의 오염여부와 배출공기의 이산화탄소 농도변화

한편, 표고균사의 액체종균 배양법은 신속하게 대량 배양할 수 있고, 효율적으로 접종할 수 있으며, 초기균사생장 속도가 빠르다는 장점이 있다. 그럼에도 불구하고 극소량의 오염균이라도 존재하는 경우에는 그 피해가 막심할 수 있으므로, 철저한 접종 전 오염검사를 통하여 오염되지 않은 액체종균을 사용해야만 한다.

액체종균을 사용하는 버섯생산현장에서는 정밀한 방법으로 검사하기에 시간과 비용적인 면에서 한계가 있으므로 액체종균 내의 균체량에 대하여 효율적이고 수치화된 방법으로 추정할 수 있는 기법이 필요하다. 폭기배양 진행 중에 배출되는 이산화탄소 농도는 배양균사의 호흡량에 따른 것이므로, 이 농도가 갑작스럽게 증가하는 것은 오염의 증거가 된다. 또한 예상과는 다른 감소는 배지 내 양분의 고갈 등을 나타낼 수도 있다.

적 요

본 연구에서는 효율적으로 표고 액체종균을 생산하기 위하여, 액체배지에 폭기방법으로 산소를 공급하고, 대두박을 첨가하여 표고균사체 성장량과 잔존 배양액의 유리당 함량을 조사하였다. 그 결과 폭기방법은 균질화된 표고균사가 성장하면서 서로 뭉치지 않고 균질하게 증식하고, 대두박 첨가는 대수가 이후에도 지효성 질소영양원이 공급 되도록 하는 효과가 있었다. 배양 중 침전 균사체의 중량은 13일째에 가장 많았으며, 배양용기의 배출구에서 이산화탄소 농도는 13일째에 가장 높았다. 상층 수용액에서 환원당은 폭기 12일째에 거의 소비되었다. 그리고 배양균사체에서 총질소(T-N)량은 폭기 배양 13일째에 최고 수준이며, 키틴함량과 5종의 유리당 중에서 수크로즈함량은 폭기 배양 18일째에 가장 높았으나, 에르고스테롤 함량은 폭기 배양 22일째에 가장 높았다. 이와 같은 결과를 종합적으로 판단할 경우 표고액체 종균으로서 사용 적기는 균사활력이 가장 왕성하고 균체량이 많은 배양 18일째로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품 기술기획평가원(IPET)의 2009~2012년 연구비지원으로 수행된 것입니다.

REFERENCES

1. Lee BH, Bak WC, Ka KH, Ryu, SR. Comparison of productivity among various spawn shapes of middle-temperature type strain for sawdust cultivation of Shiitake. J Mushroom Sci Production 2008;6:38-41.
2. Lee TS, Cho NS, Min DS. Effect of sawdust culture on oak mushroom, *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler by inoculation of the liquid spawn. Mokchae Konghak 1998;26:19-28.
3. Kawai G, Kobayashi, H, Fukushima Y, Ohsaki K. Effect of liquid mycelial culture used as a spawn on sawdust cultivation of shiitake (*Lentinula edodes*). Mycoscience 1996;37:201-7.
4. Lee BW, Im GH, Kim DW, Park KM, Son SH, Shon TH. Cultural characteristics and pilot scale fermentation for the submerged mycelial culture of *Lentinus edodes*. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 1993;21:609-14.
5. Shim KK, Yoo YJ, Koo CD, Kim YS, Kim MK. Changes in the CO₂ and amount of mycelium growth of the liquid spawn on *Flammulina velutipes*. J Mushroom Sci Production 2012; 10:3-8.
6. Luchsinger WW, Cornesky RA. Reducing sugar by the dinitrosalicylic method. Ana Biochem 1982;4:346-51.
7. Nelson N. A photimetric adaption of the somogy method for determination of glucose. J Biol Chem 1944;153:375.
8. Hyun KH. Mode of expression of cell wall-related genes under cell wall stress condition in *Saccharomyces cerevisiae* [MS Thesis]. Daejeon, Korea: Chungnam National University. 2006.
9. Pasanen AL, Yli-Pietila K, Pasanen P, Kalliokoski P, Tarhanen J. Ergosterol content in various fungal species and biocontaminated building materials. Appl Environ Microbiol 1999;65: 138-42.
10. Koo CD, Cho NS, Kim JS, Park JI, Choi TH, Min DS. Variation of ergosterol content in *Lentinula edodes* culture. Mokchae Konghak 2000;28:65-70.
11. Im MH, Choi JD, Chung HC, Lee SH, Lee CW, Choi C, Choi KS. Improvement of meju preparation method for the production of Korea traditional kanjang (soy sauce). Kor J Food Sci Technol 1998;30:608-14.
12. Jung MO. Mycelial mass culture and functionality of *Fomitella fraxinea* [MS Thesis]. Kyungsan, Korea: Youngnam University. 2004.
13. Shim KK, Yoo YJ, Koo CD, Kim YS, Kim MK. The contamination check before inoculation at the liquid spawn on *Flammulina velutipes*. J Mushroom Sci Production 2012;10:44-8.
14. Park YD, Hong YK, Whang WK, Huh JD, Park S. Comparisons of protein-bound polysaccharide contents obtained from mycelial cultured broth and fruit body of *Coriolus versicolor*. Kor J Mycol 1989;17:223-8.
15. Hong SJ, Lee WH, Shin BS, Sung JM. Production of *Pleurotus ostreatus* and *Flammulina velutipes* using liquid spawn inoculation system. Kor J Mycol 2003; 31:22-7.
16. Lee BW, Lee MS, Park KM, Kim CH, Ahn PU, Choi CU. Anticancer activities of the extract from the mycelia of *Coriolus versicolor*. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 1992;20:311-5.