

표고 톱밥재배에서 배지조성과 버섯발생 온도에 따른 β -glucan 함량 비교

박영애¹ · 박원철¹ · 기강현¹ · 구창덕^{2*}

¹국립산림과학원 화학미생물과 ²충북대학교 산림학과

Comparison of β -glucan Contents of *Lentinula edodes* Cultivated on Sawdust according to Medium Composition and Fruiting Temperature

Young-Ae Park¹, Won-Chull Bak¹, Kang-Hyeon Ka¹ and Chang-Duck Koo^{2*}

¹Division of Wood Chemistry and Microbiology, National Institute of Forest Science, Seoul 02455, Korea

²Department of Forest Science, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

ABSTRACT : *Lentinula edodes* is an edible mushroom that contains a β -glucan called lentinan, which has antitumor and immune-enhancing properties. In the present study, the β -glucan contents of *L. edodes* mushrooms cultivated on sawdust with different nutritional supplements and fruiting temperatures were measured using a commercial β -glucan assay kit purchased from Megazyme (Bray, Ireland). The weight loss of sawdust media and the yield of fruiting bodies showed similar trends, but the yield was more closely associated with the nutritional supplements used than the weight loss of sawdust media was. The β -glucan contents of *L. edodes* were 39.5-42.1%, except in the bean curd refuse + CaCl₂ supplementation group (50.4%). Furthermore, the β -glucan content decreased with increasing temperatures and was 42.4% at a low fruiting temperature.

KEYWORDS : β -glucan, Calcium chloride, Fruiting temperature, *Lentinula edodes*, Sawdust cultivation

서론

β -glucan은 고등식물의 세포벽, 곡물류의 씨앗, 균류 등에 존재하는 것으로 [1, 2], 면역시스템(백혈구, 대식세포, 림프구)에 관여하여 면역력을 증강시켜 암을 치료하는 효과와 콜레스테롤 저하와 지방과 당 대사에 긍정적인 영향을 주는 것으로 알려져 있다 [1].

표고의 렌티난(lentinan), 잎새버섯의 글리포란(grifolan), 느타리류의 플레우란(pleuran), 팽이버섯의 플라물린(flammulin), 불로초의 GI-1, 치마버섯의 시조필란(shizophylan), 구름버섯의 클레스틴(krestin) 등이 버섯류의 대표적인 β -glucan이다 [1]. 표고의 렌티난은 β -1,3-D-glucan으로 면역활성 및 항암효과가 있는 것으로 밝혀졌고, 위암 치료제로 활용되었다 [3]. 또한 표고는 콜레스테롤 저하, 항바이러스 효과, 항종양 효과, 항산화 효과, 비타민 D 등 매우 많은 건강 기능성들이 밝혀져 건강기능식품의 으뜸이라 할 수 있다 [4].

β -glucan은 식물에서 보리와 귀리에 높게 함유된 것으로 보고되고 있고 [5], 수용성 β -glucan은 표고에 46%, 느타리에 27%와 38%, 큰느타리에 17% [2], 꽃송이버섯에 43.5% [6] 포함되었다. 국내의 표고에는 β -glucan이 25~44%였다 [7]. 아울러 버섯류에서 β -glucan 함량을 높이고자 자외선 처리 [8], 배지조성 변화 [9], 엘리시터 [10] 등이 연구되고 있다. 그러나 수용성 β -glucan이 가장 높은 것으로 알려진 표고의 β -glucan 함량을 높이고자 하는 연구는 찾아보기 어렵다.

Kor. J. Mycol. 2016 December, 44(4): 296-299
<https://doi.org/10.4489/KJM.2016.44.4.296>
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
 E-mail: koocdm@chungbuk.ac.kr

Received September 30, 2016
 Revised November 1, 2016
 Accepted November 1, 2016

© 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.

따라서 본 연구에서는 국내의 대표적인 임산물인 표고에서 배지조성과 자실체 발생온도 조건에 따라 β -glucan 함량에 어떤 차이가 있는가를 알아보고자 하였다. 이와 같은 결과는 표고에서 β -glucan 함량을 높이고자 하는 연구를 하는데 중요한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

배지조성 및 버섯 생산성

실험에 사용한 균주는 국립산림과학원이 품종출원한 풍년고 품종이다. 균주는 사용 전까지 감자한천배지에 배양하여 냉장보관하였다. 톱밥배지의 조성은 참나무류 톱밥과 영양원(미강, 보리, 콩비지, 홍삼박)을 8:2(무게비율)로 혼합하고 CaCl_2 0.5% 첨가와 미첨가 배지로 하였다. 톱밥배지는 배지수분을 65%로 조정하고, 2 kg 사각배지 형태로 만들어 121°C에서 90분간 고압살균하였다. 균 접종은 10반복하였고, 22°C로 설정한 배양실에서 120일간 배양하였다. 30일 간격으로 중량감소율을 조사했으며, 90일 배양시점에서 명배양으로 전환하였다. 배양이 완료된 배지는 수조에 24시간 침수한 후, 온도 $18 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $90 \pm 5\%$, 광 300 Lux 내외로 조절된 버섯 발생실에서 생산성을 조사하였다.

온도 처리는 발생실의 온도를 저온($13\sim 15^\circ\text{C}$), 중온($18\sim 20^\circ\text{C}$), 고온($24\sim 26^\circ\text{C}$)으로 설정하였다. 배지의 조성은 참나무류 톱밥에 영양원으로 미강을 사용하였고 실험은 생산성 검정과 같은 방법으로 하였다. 모든 버섯 생산성은 3차에 걸쳐 수확한 결과로 나타났다.

자실체의 베타글루칸(β -glucan) 함량 분석

β -glucan 분석용 버섯 시료는 위의 실험조건에서 생산된 것을 사용하였다. 버섯 시료는 55°C 로 설정된 오븐(JP/MOV-212F; Panasonic Healthcare, Tokyo, Japan)에서 수분 함량 4%로 건조한 다음 Lab blender (US/7010S; Waring Labs, Torrington, CT, USA)를 이용하여 100 mesh (3.0~5.0 mm diameter) 크기로 분쇄하였다. β -glucan 분석은 McClear와 Glennie-Holmes [11]의 효소적 방법에 따라 Megazyme β -glucan assay kit (K-YBGL; Megazyme, Wicklow, Ireland)를 사용하여 측정하였다. 총 glucan 함량 측정을 위해 시료는 100 mg을 시험관에 넣어 37% HCl 1.5 mL을 넣고 30°C 의 water bath에서 45분간 가수분해하였다. 각 시험관에 추가로 증류수 10 mL을 넣어 100°C 에서 2시간 동안 가수분해하였다. 다음으로 2 M KOH를 10 mL씩 넣고, 200 mM sodium acetate buffer (pH 5.0)를 첨가하여 100 mL로 mass-up하여 충분히 섞어주었다. 다음, 상등액 0.1 mL에 200 mM sodium acetate buffer에 녹인 exo-1,3- β -glucanase와 β -glucosidase 혼합물 0.1 mL을 넣었다. Reagent blank는 acetate buffer 0.2 mL을 넣고, D-glucose standard는 D-glucose standard 0.1 mL와 acetate buffer 0.1 mL을 넣고 40°C 에서 60분 동안 가수분해하였다. Glu-

cose oxidase/peroxidase mixture (GOPOD) 3 mL을 넣고 40°C 에서 20분 동안 incubation 하였다. 총 glucan의 흡광도는 분광광도계(UVmini-1240; Shimadzu, Kyoto, Japan)로 510 nm에서 측정하였다. α -glucan의 당 함량은 시료 100 mg을 tube에 넣고 2 M KOH 2 mL씩 넣고 20분간 섞어주었다. 1.2 M sodium acetate buffer 8 mL을 넣어 혼합한 다음 amyloglucosidase와 invertase 혼합물 0.2 mL를 넣고 혼합하여 40°C water bath에서 30분간 가수분해하였다. 상등액 0.1 mL에 200 mM sodium acetate buffer 0.1 mL, GOPOD reagent 3 mL을 넣어 40°C 에서 20분간 반응시킨 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. β -glucan 함량은 glucan 총 함량으로부터 α -glucan의 당 함량을 빼서 계산하였으며, 버섯 건조 중량의 백분율(w/w)로 표현하였다. 모든 측정은 3반복으로 하였고, 측정 결과는 SPSS ver. 18.0 통계 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)으로 ANOVA 분석하였다. 모든 데이터는 평균 \pm 표준 편차로 표현하였고 통계적 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였다.

결과 및 고찰

배지 영양원에 따른 배양특성 및 버섯 생산성

배지조성에 따른 중량감소율은 120일 배양 후 조사한 결과, 배지 영양원으로 보리 + CaCl_2 첨가배지 20.8%, 콩비지 첨가배지 19.6%, 미강 + CaCl_2 첨가배지 19%, 콩비지 + CaCl_2 첨가배지 18.9%, 보리 첨가배지에서 18.6%, 미강, 홍삼박 첨가배지에서 약 18%, 홍삼박 첨가배지 17.4% 순으로 나타났다. 미강과 보리 영양원의 경우 CaCl_2 첨가했을 때 중량감소율이 높았으나 콩비지와 홍삼박의 경우 CaCl_2 미첨가 배지의 중량감소율이 높았다(Fig. 1). 그러나 전체적으로 통계적인 유의성은 나타나지 않았다.

배지의 영양원에 따른 버섯 생산량은 184~391 g을 보였다(Fig. 2). 영양원에 따른 버섯의 생산량은 중량감소율과 같은 경향성을 나타냈다. 그러나 중량감소율만큼 버섯 생산량의 비례 관계가 관찰되지 않아, 영양원의 종류가 버섯 생산량에 더 큰 영향을 주는 것을 알 수 있다. 또한 영양원 종류와 CaCl_2 첨가 유무에 따라 버섯 생산량의 차이가 발생해 영양원의 종류에 따라 CaCl_2 첨가 유무를 결정해야 되는 것을 알 수 있었다. 한편, 홍삼박 첨가배지가 391 g으로 가장 좋았다. 그리고 자실체는 다른 영양원 첨가배지에서 생산된 자실체보다 단단하고 탄성이 더 높았다. 이런 특성은 버섯의 유통기간을 늘리는데 일조할 수 있을 것으로 생각되며[12], 추후 정량적인 자료를 보완할 필요가 있다.

자실체의 베타글루칸(β -glucan) 함량 분석

배지조성에 따른 차이

콩비지 + CaCl_2 첨가배지를 제외한 영양원의 종류와 CaCl_2 첨가 유무와 관계없이 β -glucan의 함량은 41% 내외로 나타났다(Fig. 3). 콩비지 + CaCl_2 첨가배지의 β -glucan

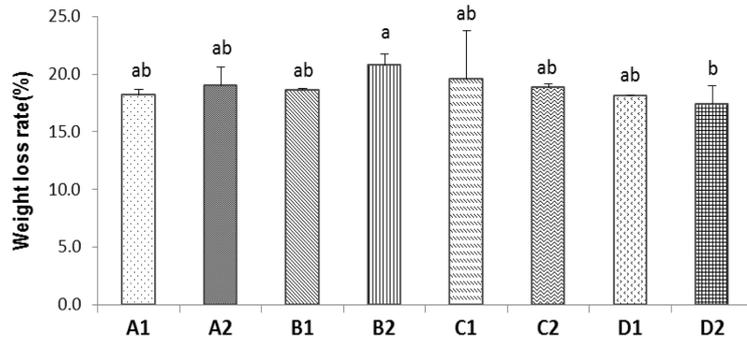


Fig. 1. Weight loss rate of *Lentinula edodes* according to different supplements on sawdust cultivation after 120 days of inoculation. A1, rice bran; A2, rice bran + CaCl₂; B1, barley flour; B-2, barley flour + CaCl₂; C1, bean curd refuse; C2, bean curd refuse + CaCl₂; D1, red ginseng refuse; D2, red ginseng refuse + CaCl₂ (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$, $n = 4$).

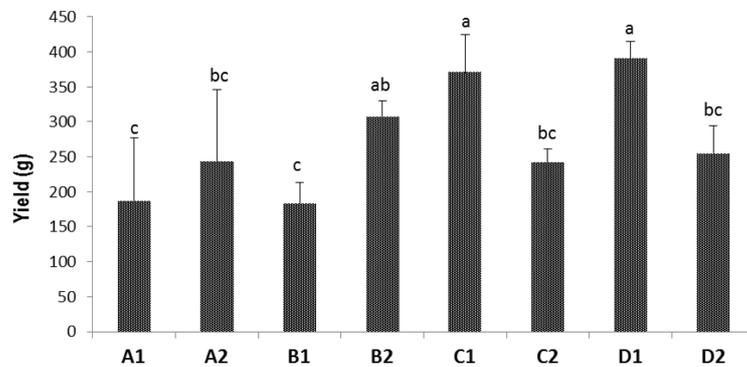


Fig. 2. Yields of fruiting bodies of *Lentinula edodes* according to different supplements on sawdust cultivation (fresh weight, g/2 kg medium). A1, rice bran; A2, rice bran + CaCl₂; B1, barley flour; B2, barley flour + CaCl₂; C1, bean curd refuse; C2, bean curd refuse + CaCl₂; D1, red ginseng refuse; D2, red ginseng refuse + CaCl₂ (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$, $n = 4$).

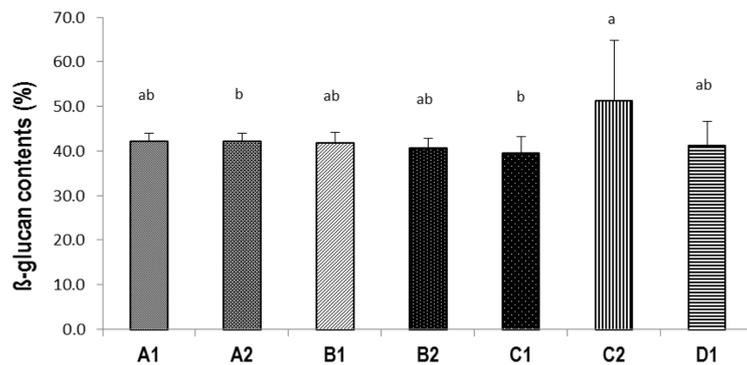


Fig. 3. beta-glucan contents of fruiting bodies of *Lentinula edodes* according to different supplements on sawdust cultivation. A1, rice bran; A2, rice bran + CaCl₂; B1, barley flour; B2, barley flour + CaCl₂; C1, bean curd refuse; C2, bean curd refuse + CaCl₂; D1, red ginseng refuse (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$, $n = 3$).

함량은 51.4%로 가장 높았다. 전반적으로 표고의 beta-glucan 함량이 대체적으로 40% 내외였던 Bak 등[7]의 선행 연구와 비슷한 결과였다. 콩비지와 CaCl₂ 첨가배지가 다른 처리

구에 비해 beta-glucan 함량이 높게 나타난 것은 매우 독특한 특징으로 콩비지에서 beta-glucan 함량을 높이는데 CaCl₂의 역할에 대한 조사가 더 필요하다.

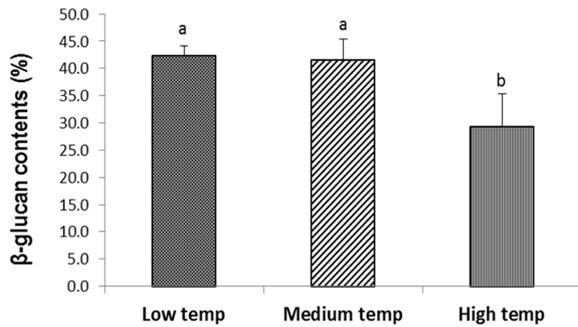


Fig. 4. β -glucan contents of fruiting bodies of *Lentinula edodes* according to fruiting temperature. Low, 13~15°C; Medium, 18~20°C; High, 24~26°C (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$, $n = 3$).

발생온도 조건에 따른 변화

표고의 발생온도 조건에 따른 β -glucan 함량은 Fig. 4와 같다. β -glucan의 함량은 저온(13~15°C)에서 42.4%로 가장 높았고, 고온 처리구에서 낮았다. 사용한 품종은 고온성 품종에 해당하며, β -glucan 함량이 높은 표고를 생산하려면 저온 또는 중온 처리가 필요할 것으로 판단되었다. 꽃송이버섯의 경우 온도 처리에 의한 β -glucan 함량[8]은 저온(11°C) 처리 37.8%, 고온(26°C) 처리 32.8%, 대조군(20~22°C) 40.4%로 표고의 중온(18~20°C) 조건에서 높은 것을 알 수 있다. 따라서 표고와 꽃송이버섯은 20°C 전후의 온도조건이 β -glucan 함량을 높게 생산하는 범위라고 할 수 있다. 한편, Wang 등[13]은 노랑느타리의 수용성 다당류 생산에서 25°C가 좋은 것으로 보고하였으나, 이는 버섯의 자실체와 균사체 배양조건의 차이로 인한 결과로 판단된다.

적 요

표고는 항암활성과 면역활성을 촉진하는 렌티난이라는 β -glucan을 가진 식용버섯이다. 본 연구에서는 표고 톱밥재 배에서 배지의 영양원의 종류와 버섯 발생온도에 따른 표고조직의 β -glucan 함량의 변화를 메가자임법으로 조사하였다. 배지 중량이 감소하면서 버섯생산량은 증가하였지만, 이 생산량은 중량감소보다 영양원 종류에 더 크게 영향을 받았다. 콩비지 + CaCl_2 처리구(50.4%)를 제외한 표고의 β -glucan 함량은 39.5~42.1% 범위였다. 자실체 발생 온도에 따른 β -glucan 함량은 발생온도 증가에 따라 반비례 관계가 나타났고, 저온 발생조건에서 42.4%였다.

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the Golden Seed Project of 'Breeding of new strains of shiitake for cultivar protection and substitution of import (213003-04-4-SBH10), National Institute of Forest Science, Republic of Korea.

REFERENCES

- Rop O, Mlcek J, Jurikova T. Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutr Rev* 2009;67:624-31.
- Manzi P, Pizzoferrato L. Beta-glucans in edible mushrooms. *Food Chem* 2000;68:315-8.
- Oba K, Kobayashi M, Matsui T, Kodera Y, Sakamoto J. Individual patient based meta-analysis of lentinan for unresectable/recurrent gastric cancer. *Anticancer Res* 2009;29:2739-45.
- Finimundy TC, Dillon AJ, Henriques JA, Ely MR. A review on general nutritional compounds and pharmacological properties of the *Lentinula edodes* mushroom. *Food Nutr Sci* 2014; 5:1095-105.
- Havrlentová M, Kraic J. Content of β -D-glucan in cereal grains. *J Food Nutr Res* 2006;45:97-103.
- Kimura T. Natural products and biological activity of the pharmacologically active cauliflower mushroom *Sparassis crispa*. *BioMed Res Int* 2013;2013:982317.
- Bak WC, Park JH, Park YA, Ka KH. Determination of glucan contents in the fruiting bodies and mycelia of *Lentinula edodes* cultivars. *Mycobiology* 2014;42:301-4.
- Sou HD, Ryu R, Kang KH, Park H. Effects of ultraviolet and temperature treatments to improve β -glucan contents of the fruiting body of *Sparassis latifolia*. *Kor Inst For Recreat Welf* 2013;2013:580-3.
- Lee HD, Lee KS. β -glucan and glucosamine contents in various cereals cultured with mushroom mycelia. *Kor J Mycol* 2009;37:167-72.
- Park H, Ka KH, Ryu SR. Enhancement of β -glucan content in the cultivation of cauliflower mushroom (*Sparassis latifolia*) by elicitation. *Mycobiology* 2014;42:41-5.
- McClellan BV, Glennie-Holmes M. Enzymic quantification of (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan in barley and malt. *J Inst Brew* 1985; 91:285-95.
- Choi JI, Ha TM, Jeon DH, Ju YC, Ju JC, Cheong JC. Characteristics and breeding of a long-term storable oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) variety 'Gonji-7ho'. *J Mushroom Sci Prod* 2013;11:149-53.
- Wang JC, Hu SH, Liang ZC, Yeh CJ. Optimization for the production of water-soluble polysaccharide from *Pleurotus citrinopileatus* in submerged culture and its antitumor effect. *Appl Microbiol Biotechnol* 2005;67:759-66.