RESEARCH ARTICLE

아까시재목버섯이 옻나무 껍질의 urushiol 제거에 미치는 영향

이지현[1], 정석태[1], 강지은[1], 최한석[2,*]
[1]농촌진흥청 국립농업과학원 발효가공식품과, [2]한국농수산대학 농수산가공학과

Effect of *Perenniporia fraxinea* on Eliminating Urushiol from *Rhus verniciflua* Stokes Stem Bark

Ji-Hyun Lee[1], Seok-Tae Jeong[1], Ji-Eun Kang[1] , Han-Seok Choi[2,*]
[1]Department of Agrofood Resources, National Academy of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Korea
[2]Department of Agriculture & Fisheries processing, Korea National College of Agriculture and Fisheres, Jeonju 54874, Korea

* Corresponding author: coldstone@korea.kr

ABSTRACT

This study evaluated the raw materials for spawning *Perenniporia fraxinea,* to eliminate urushiol. The growth rates of spawns on grains of millet, brown rice, and wheat were 4.92±0.05, 2.20±0.03, and 1.93±0.03 mm/day, respectively, and the laccase activity was 0.86±0.02, 0.04±0.01, and 0.01±0.00 U/mL, respectively. These observations revealed millet as the most appropriate grain for spawn production in terms of growth rate and enzyme activity. Inoculation of lacquer tree (*Rhus verniciflua* Stokes) stem bark with millet spawns of *P. fraxinea* resulted in a reduction of its urushiol contents, up to 86.6% on the third day and up to 98.5% on the seventh day. The optimal period of cultivation to eliminate urushiol was three days with 68% of residual flavonoids and 42% of phenolic components. When compared to the product cultivated from liquid spawn, the millet spawn reduced the cultivation period from 10 days to 3 days for eliminating urushiol.

Keywords: Grain spawn, *Perenniporia fraxinea*, *Rhus verniciflua*, Urushiol

Check for updates

OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249

Kor. J. Mycol. 2019 September, 47(4): 347-57
https://doi.org/10.4489/KJM.20190040

Received: November 19, 2019
Revised: November 26, 2019
Accepted: November 28, 2019

© 2019 THE KOREAN SOCIETY OF MYCOLOGY.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http: //creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

아까시재목버섯(*Perenniporia fraxinea*)은 구멍장이버섯과에 속하는 버섯으로 보통명칭으로 '장수버섯'이라 불리워지고 있다[1]. 장수버섯의 자실체에는 면역활성 다당류[2] 및 lectin[3] 등이 포함되어 있어 기능성 소재로서 활용 가능성을 가지고 있다. 이에 농촌진흥청에서는 기능성 장수버섯 품종으로 "장생"을 개발하고 그 재배법도 확립[4]하여 농가소득 증대에 기여하고자 시도하고

있다. 이에 더하여 식품원료로 사용될 수 없었던 장수버섯이 2012년에 식품원료로 등재되면서 그 사용도 증대될 것으로 기대하였으나 아직 크게 확대되지는 못하고 있다.

반면, 장수버섯의 배양적 특징을 이용한 산업화 시도는 계속되고 있다. 장수버섯균은 옻의 알레르기 유발성분인 urushiol을 저감화하는데 유용한 것으로 확인되었다[5]. 즉, 옻에 장수버섯균을 배양시키면 장수버섯이 분비하는 laccase에 의해 urushiol이 중합되는 원리[5]를 사용하였다. 이렇게 장수버섯이 배양된 옻을 열수추출하면 urushiol이 완전히 제거된 추출물[6]을 얻을 수 있어 옻의 식품사용이 일부 가능해 졌다[7]. 그러나 장수버섯균의 배양기간이 28일[5]로 비교적 길며, 배양 중 옻의 기능성 성분이 일부 소실[8]되고 있어 산업화에 어려움을 겪고 있다.

본 연구에서는 옻나무에서 장수버섯균의 배양기간을 단축하면서 옻이 가지고 있는 기능성 성분의 소실을 억제하고자 하였다. 옻나무에 질소원을 공급할 경우 배양기간이 단축될 수 있음이 시사 되었는바[5] 옻에 별도의 질소원을 첨가하는 대신 접종원을 곡물종균으로 사용함으로써 이를 해결하고자 하였다. 따라서 버섯 종균제조에 사용되는 곡물과 곡물의 크기가 작은 것을 선택하여 장수버섯균 종균제조 특성을 살펴보았고 곡물 종균사용에 따른 옻의 성분변화에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

공시 균주

국립농업과학원 미생물은행에서 보관 중인 장수버섯균(*Perenniporia fraxinea*, KACC 93226P)을 공시균주로 사용하였다.

공시 재료

본 시험에 사용된 원료는 시중에 유통되는 것을 구매하여 사용하였다. 종균 배양용 곡물은 경상북도 예천산 조, 경상남도 거창산 현미, 전라북도 완주산 통밀 세 가지를 사용하였고, 강원도 원주산 참옻나무 껍질과 속대를 사용하였는데 수령은 8년생이며 가을에 수확해서 건조시킨 것을 원주옻 식품(Otfood, Wonju, Korea)회사에서 구입하였다.

종균 배양용 재료의 특성 평가

일반성분 분석

조, 현미, 통밀, 옻나무 껍질 일반성분 분석은 식품공전 중 일반성분 시험법[9]에 따라 분석하였다. 수분 함량은 상압가열 건조법, 회분 함량은 직접 회화법, 단백질 함량은 세미마이크로 킬달(semi-micro Kjeldahl) 시험법을 적용하여 질소의 함량을 정량 한 후 단백질 함량으로 환산하였다. 지방 함량은 Soxhlet 추출장치로 에테르를 순환시켜 검체 중의 지방을 추출하여 중량법으로 측정하였고, 탄수화물의 함량은 검체 100 g 중에서 수분, 단백질, 지방, 회분의 함량을 감한 차감 계산법으로 산출하였다. 일반성분은 농업기술실용화재단에 의뢰하여 분석하였고 평균치로 표시하였다.

물리적 특성 측정

천립중은 곡물 1,000립의 무게를 측정하였고, 곡물의 넓은면의 길이(length), 좁은 면의 길이(width) 및 두께(thickness)를 측정하였다.

증식속도 분석

조, 현미, 통밀을 1시간 수침하고 1시간 물빼기 하였다. 수분이 흡수된 곡물을 시험관（21×20 cm)에 15 cm 높이로 충진하고, 면전하여 121℃에서 40분 동안 살균하였다. 멸균된 곡물배지 위에 1 cm 두께로 톱밥종균을 접종하였다. 이 후 25℃ 항온기에서 정치배양 시키면서 경시적으로 균사체의 증식 길이를 측정하였다. 대조구로는 옻나무 톱밥을 동일한 조건으로 처리하여 비교 실험하였다. 또한, 균체의 증식속도는 증식기간에 대한 균체의 성장 길이(mm)를 직선화하여 구하였다[5].

종균 배양

조를 1시간 수침하고 1시간 물빼기 하였다. 수분이 흡수된 곡물을 5 L 버섯재배 봉투에 담은 다음, 필터를 달아 121℃에서 40분 동안 살균한 후 장수버섯균을 증식시켰다.

Laccase 활성 측정

조 효소액의 조제

장수버섯을 배양한 조, 통밀, 현미, 옻나무 속대 20 g에 5배 증류수를 첨가한 후, 3시간 동안 상온에서 추출한 다음 여과(Filter paper No.2, Whatman TM, GE Healthcare Co., Buckinghamshire, UK)하여 조 효소액으로 사용하였다.

Laccase 활성 측정

Petroski 등[10]의 방법에 준하여 0.1 M citrate-0.2 M Na_2HPO_4 (pH 4.6) 완충용액 2.5 mL에 조 효소액 0.5 mL를 가하여 40℃ 항온기에서 3분간 예열하고 4.47 mM syringaldazine (1.6 mg/mL in methanol) 10 μL를 가하여 반응시켰다. 효소의 활성은 syringaldazine이 tetra methoxy azo-*P*-methylene quinone으로 산화하는 초기 1분간의 반응속도를 525 nm에서 흡광도의 변화로 측정하였다. 분당 1.0의 흡광도를 증가시키는 효소의 양을 1 unit으로 하였다[5].

옻나무에 장수버섯균의 배양

강원도 원주산 옻나무 껍질을 2×2 cm 크기로 자른 후 1일 동안 수침하고 1일 동안 물빼기 하였다. 수분이 흡수된 옻나무 껍질을 500 mL 삼각 플라스크에 40 g씩 담은 다음 121℃에서 40분 동안 살균하였으며 원료 중량대비 종균 10–50%씩 접종하여 25℃에서 7일간 배양하였다.

분석용 추출물의 제조

배양물 3.0 g을 50 mL 용량의 conical tube에 취한 다음 acetone 30 mL를 가한 후 30분간 초음파 처리 후 원심분리(4℃, 5 min)하고 상층액만을 취하였다. 잔사는 이 조작을 2회 더 반복하여 얻어진 상층액을 합하여 45℃ 이하의 온도에서 감압농축하였다. 농축하여 얻어진 잔사에 85% methanol 5.0 mL를 가하여 용해시킨 다음 membrane filter (0.45 μm, GE Healthcare Co.)로 여과 한 후 분석용 시

료로 사용하였다.

Urushiol 분석

Urushiol은 HPLC (Waters Co. Milford, MA, USA)를 이용하여 분석하였다. 조건으로 column은 Halo column (4.6×100 mm, 2.7 μm, Advanced Materials Technology Co., Wilmington, DE, USA)을 사용하였고, 성분분리는 85% methanol을 이동상으로 사용하였다. 분석은 상온에서 실시하였으며 flow rate는 0.5 mL/min, UV 검출기의 파장은 203 nm이었다. 표준품으로 사용된 C15:3 (pentadecatrienyl catechol), C15:2 (pentadecadienyl catechol), C15:1 (pentadecenyl catechol)은 Phyto-Lab GmbH&Co. KG (Vestenbergsgreuth, Germany)에서 구입하여 사용하였다.

Flavonoid 분석

Flavonoid는 HPLC (Waters Co.)를 이용하여 분석하였다. 조건으로 column은 YMC-Pack Pro C18 RS (4.6×250 mm, 5 μm, YMC Co., Tyoto, Japan)을 사용하였고, 성분분리는 0.1% formic acid가 함유된 물과 0.1% formic acid가 함유된 acetonitrile 용액을 gradient하여 이동상으로 사용하였다. 분석은 상온에서 실시하였으며 flow rate는 0.8 mL/min, UV 검출기의 파장은 270 nm이었다. 표준품으로 사용된 fustin, fisetin, sulfuretin, quercetin, butein은 Extrasynthese사(Lyon Nord, France)의 제품을 구매하여 사용하였다.

Phenolic 성분

Phenolic 성분은 HPLC (Waters Co.)를 이용하여 분석하였다. 조건으로 column은 Halo column (4.6×100 mm, 2.7 μm, Advanced Materials Technology Co.)을 사용하였고, 성분분리는 0.1% formic acid가 함유된 물과 0.1% formic acid가 함유된 acetonitrile 용액을 gradient하여 이동상으로 사용하였다. 분석은 상온에서 실시하였으며 flow rate는 0.8 mL/min, UV 검출기의 파장은 310 nm이었다. 표준품으로 사용된 gallic acid는 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였고, Methyl gallate, PGG (Penta-O-galloyl-β-D-glucose)는 전북대학교 식품공학과에서 분리·보관 중이던 것을 사용하였다[8].

통계처리

통계처리는 유의수준 5% ($p<0.05$)로 설정하여 분산분석(one way ANOVA)을 실시하였으며, 곡물의 특성과 균체성장율과의 연관성을 알아보기 위하여 Pearson 상관분석을 실시하였다. 통계 프로그램은 Minitab 17 (Minitab Inc., State College, PA, USA)을 사용하였다.

결과 및 고찰

종균용 곡물 선발

각각의 곡물에서 장수버섯 균사체의 증식속도를 Fig. 1에 나타내었다. 조, 현미, 통밀배지에서의 증식속도는 각각 4.92, 2.20, 1.93 mm/day이었으며, 대조구인 옻나무 톱밥 배지에서의 증식속도는

3.97 mm/day로 조에서의 증식속도가 옻 톱밥 배지에 비하여 1.2배 빠른 것으로 나타났다. 원료의 성분조성이 균체성장에 미치는 영향을 파악하기 위하여 일반성분을 조사하였다(Table 1). 곡물의 탄수화물 함량은 84.09-88.67, 단백질 함량은 7.00-13.90 g/100 g dry base의 분포였고 옻나무 속대는 탄수화물 98.24, 단백질 0.30 g/100 g dry base이 함유되어 있었다. 곡물의 탄수화물 함량은 옻나무 속대에 비하여 최대 16.8% 높았던 반면, 질소원인 단백질 함량은 최대 46.3배 높게 존재하고 있었다. 각각의 성분이 균체증식에 미치는 상관계수(Table 1)는 지방, 회분, 탄수화물, 단백질, C/N율이 각각 0.071, -0.563, 0.391, -0.393, 0.421로 나타났다. 장 등[11]은 장수버섯 배양에 적정한 C/N율이 12였다고 보고하고 있는바 옻나무 속대의 C/N율(52.44)과 곡물의 C/N율(0.97-2.03)의 차이가 증식에 크게 영향을 미칠 것으로 예상되었으나 조회분이 가장 큰 영향을 미치고 있었고 다음으로는 C/N율이 차지하였다. 즉, 장수버섯의 균사체는 조회분량이 적을수록, C/N율이 높을수록 잘 증식하는 것으로 해석될 수 있다. 다만, 조회분 및 C/N율이 증식에 미치는 상관계수의 P값은 각각 0.437과 0.579로서 통계적인 유의성을 가지지는 못하였다.

각각의 곡물별 물리적 특성(Table 2)을 살펴보면 조의 천립중이 2.80 g으로 현미 22.67 g, 밀 34.57

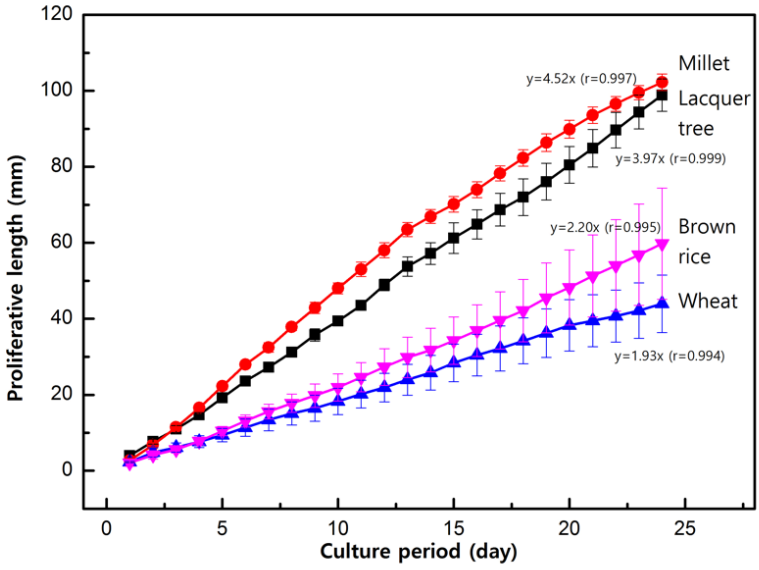

Fig. 1. Growth rate of the *Perenniporia fraxinea* on spawn media with different grain sources.

Table 1. Correlation analysis of general components of raw material and growth rate for spawning of *Perenniporia fraxinea*

	Concentration g/100 g dry base				Correlation analysis	
	Millet	Brown rice	Wheat	Lacquer tree	Coefficient	P-value
Moisture	12.54	14.31	12.76	16.59	0.187	0.813
Crud fat	2.31	2.67	0.81	0.82	0.071	0.929
Ash	1.19	1.69	1.19	0.65	-0.563	0.473
Carbohydrate	85.79	88.63	84.09	98.24	0.391	0.609
Protein	10.71	7.00	13.90	0.30	-0.393	0.607
C/N ratio	1.28	2.03	0.97	52.44	0.421	0.579
[1)]Growth rate (mm/day)	4.52	2.20	1.93	3.97		

[1)]The growth rate of *P. fraxinea* mycelium in grain substrates is described in Fig. 1.

g에 비하여 8.1배 이상 적었다. 물리적 특성이 균체증식에 미치는 영향을 분석해본 결과(Table 2) 천립중, 긴축(length), 짧은축(width),두께와의 상관성이 각각 –0.960, -0.990, -0.997, -0.910으로 모든 요소에서 높게 나타났다. 특히, 이 중에서 곡물의 짧은축 길이에 대한 상관계수의 P값은 0.048로 통계적 유의성을 나타내었다. 곡물의 크기 및 형태가 장수버섯 균사체 증식에 큰 영향을 미치는 것으로 이해된다. 즉 조는 크기가 작아 낱알 사이의 이격이 좁은 반면, 현미와 밀 낱알의 이격은 조에 비하여 크기 때문에 균체가 늦게 증식하는 것으로 생각된다. 그러나 명확한 규명을 위해서는 물리적환경, 성분적차이, 선호도 등에 대해 보다 면밀한 검토가 필요하다.

Table 2. Correlation analysis of physical characteristics of grain used as raw material and growth rate for spawning of *Perenniporia fraxinea*

	Millet	Brown rice	Wheat	Correlation analysis	
				Coefficient	P-value
Weight of 1000 seeds	2.8±0.07^{b}	22.67±0.63^{ab}	34.57±0.63^{a}	-0.960	0.181
Length	1.68±0.09^{c}	5.25±0.33^{b}	6.39±0.34^{a}	-0.990	0.089
Width	1.71±0.15^{c}	2.94±0.13^{b}	3.21±0.25^{a}	-0.997	0.048
Thickness	1.37±0.14^{c}	2.09±0.10^{b}	2.81±0.32^{c}	-0.910	0.273

Values are presented as mean±standard deviation and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.

각각 배양물에서의 laccase활성(Table 3)은 조 배양물이 0.86 U/mL로 현미 0.04, 밀 0.01 U/mL에 비하여 21.5배 이상 높게 나타났다. 특히 조 배양물의 laccase활성이 옻나무 톱밥 배양물의 효소활성 0.81 U/mL보다도 높은 것으로 확인되었다. Laccase는 urushiol을 제거하는 중요한 효소이며[5], 배지의 조성 및 배양조건에 따라 생산량에 차이가 있는 것으로 알려져 있다[12,13]. 장수버섯의 laccase생산 조건에 대해서는 알려진 바가 많지 않으나 느타리의 일종인 *Pleurotus sajar-caju*를 여러 농산자원에 배양한 결과 조에서 높은 laccase생산성[14]을 나타내는 것으로 조사되었다. 이상의 결과로부터 장수버섯의 균체성장 속도가 빠르고 laccase활성이 높아 옻에 함유된 urushiol 제거에 도움을 줄 수 있는 조를 종균용 곡물로 선발하는 것이 타당하였다.

Table 3. Laccase activity of *Perenniporia fraxinea* grain spawn

	Gain spawn			
	Millet	Brown rice	Wheat	Lacquer tree
Laccase activity (Unit/mL)	0.86±0.02^{a}	0.04±0.01^{b}	0.01±0.00^{b}	0.81±0.03^{a}

Values are presented as mean±standard deviation and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.

Urushiol 함량의 변화

옻나무 껍질에 조에서 배양된 장수버섯 종균을 접종한 후 경시적으로 urushiol의 함량변화를 관찰하였다(Table 4). 원물인 옻나무 껍질에 포함된 urushiol의 함량은 C15:3이 357.9, C15:2가 98.1, C15:1이 181.8 mg/kg으로 C15:3의 함량이 가장 높게 분포하였다. 이들 3가지 congener 성분의 합인 urushiol 총량은 637.8 mg/kg이었다. 옻나무 껍질에 함유되었던 urushiol 성분의 합은 장수버섯 균 배양 3일째 118.05 mg/kg 이하로 전체양의 81.5%가 감소되어 일일 평균 173.3 mg/kg씩 급격하

게 줄었다. 그러나 배양 3일 이후부터는 urushiol의 감소폭이 크게 줄었고 배양 4일째의 감소폭은 36.81 mg/kg으로 나타났다. Urushiol의 총량은 배양 4일째 87.3%, 배양 6일째 90.9%, 배양 7일째 94.7%까지 줄어들었다.

Table 4. Changes in urushiol on the seventh day of cultivation by spawn volume

Compounds	Non-cultured (mg/kg)	Cultured (mg/kg)				
		10%	20%	30%	40%	50%
C15:3	357.94±1.06[a]	19.04±0.06[b]	16.30±0.00[b]	4.75±0.06[d]	9.67±0.28[c]	9.44±0.46[c]
C15:2	96.84±2.31[a]	0.23±0.05[b]	trace	n.d.	0.79±0.10[b]	n.d.
C15:1	179.11±0.10[a]	14.82±0.08[b]	14.71±0.04[b]	4.61±0.08[e]	10.15±0.11[c]	5.51±0.16[d]
Total	637.9±1.35[a]	34.09±0.19[b]	31.01±0.00[c]	9.36±0.14[f]	20.61±0.49[d]	14.95±0.45[e]

Values are presented as mean±standard deviation and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
n.d.: not detected.

종균 사용량에 따른 배양 7일째의 urushiol 잔존량을 살펴본 결과(Table 4) 10% 접종구는 34.09, 20−40%까지는 각각 31.01, 9.36, 20.61, 14.95 mg/kg으로 30% 처리구에서 urushiol 제거 효과가 가장 높았고 그 이상에서는 효과가 줄어드는 경향이었다. 종균을 30% 첨가하였을 경우 배양 7일째 urushiol 제거율은 98.5%로 나타났다. Choi 등[5]은 이전 연구에서 참나무 톱밥 종균을 사용해 배양할 경우 배양 28일째 93%의 urushiol 제거율을 보였다. Kim 등[8] 또한 장수버섯 맥아즙 액체종균을 이용한 시도에서 배양 13일차에 93.6%까지 제거되어 조 배양 종균을 사용하는 것이 urushiol 제거에 효과적이었다. 이는 옻나무 껍질에 미강을 20% 섞어서 배양할 경우 배양 15일째 약 98%의 제거율[5]을 보이고 있어 옻나무에 질소원 등 영양원을 보강해 줄 경우 배양속도와 urushiol 제거율이 증가되는 것으로 이해할 수 있다. 다만, 옻에 함유된 urushiol 함량을 98%까지 감소시키는데 걸리는 시간이 미강을 첨가하는 것보다 조에 배양시킨 종균을 사용하는 것이 15일에서 7일로 단축시킬 수 있는 것으로 나타났다. 이는 조의 영양적인 측면과 종균 제조시에 생산된 laccase(Table 3)가 배양 중에 urushiol제거를 도왔을 것으로 생각된다.

Flavonoid, phenolic 성분의 함량 변화

옻나무 껍질에 장수버섯균이 증식된 배양물의 flavonoid 성분의 변화를 경시적으로 관찰하였다(Table 5). 원물인 옻나무 껍질에 포함된 fustin, fisetin, sulfuretin, quercetin, butein의 함량은 각각 13.4, 38.5, 18.9, 20.3, 17.2 mg/kg이었다. 이들 성분의 합은 108.3 mg/kg이었으며, 장수버섯균이 증식함에 따라 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

배양 3일째 floavonoid 성분의 함량은 73.74 mg/kg으로 전체함량 대비 32%가 감소하였고 배양기간에 의존적으로 감소하다가 배양 7일째 43.33 mg/kg으로 60%까지 감소되었다. 접종량에 따라서도 접종량이 증가하면서 43.33 mg/kg에서 32.09-20.47 mg/kg으로 flavonoid 화합물의 잔존량도 낮아지는 것으로 조사되었다. 개별 성분별로는 10% 첨가구에서 fustin, fisetin, sulfuretin, quercetin, butein이 각각 원물대비 90.7%, 60.3%, 63.5%, 49.5%, 44.1% 감소 되어 fustin성분의 감소율이 가장 높았고 butein성분의 감소율이 가장 낮아 성분별로 민감도가 다른 것으로 조사되었다.

한편 phenolic 성분의 함량도 장수버섯균 배양에 의해서 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4, Table 6). 원물의 옻나무 껍질에 포함된 gallic acid, methyl gallate, PGG의 함량은 각각 112.30, 5.28, 52.09 mg/

Table 5. Changes in flavonoid compounds on the seventh day of cultivation by spawn volume

Compounds	Non-cultured (mg/kg)	Cultured (mg/kg)				
		10%	20%	30%	40%	50%
Fustin	13.40±1.02^{a}	1.25±0.00^{b}	0.38±0.00^{bc}	0.46±0.00^{bc}	0.51±0.02^{bc}	n.d.
Fisetin	38.50±1.02^{a}	15.30±0.02^{b}	10.99±0.02^{c}	11.89±0.05^{c}	9.94±0.00^{c}	6.68±0.22^{d}
Sulfuretin	18.90±0.04^{a}	6.90±0.04^{b}	6.23±0.02^{bc}	5.78±0.11^{c}	5.54±0.29^{c}	3.33±0.28^{d}
Quercetin	20.33±0.07^{a}	10.26±0.00^{b}	6.74±0.01^{cd}	6.94±0.01^{c}	6.52±0.01^{d}	5.89±0.06^{e}
Butein	17.20±0.80^{a}	9.62±0.00^{b}	7.75±0.02^{c}	6.43±0.07^{e}	6.50±0.07^{c}	4.57±0.00^{d}
Total	108.33±0.69^{a}	43.33±0.05^{b}	32.09±0.08^{c}	31.50±0.22^{c}	29.01±0.18^{d}	20.47±0.32^{e}

Values are presented as mean±standard deviation and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
n.d.: not detected.

kg 이었다. 이들 성분의 합은 169.67 mg/kg이었으나 배양 3일차에 71.26 mg/kg으로 58.1% 감소되었고 배양 7일차에는 27.91 mg/kg까지 감소되었다. 액체종균을 사용한 Kim 등[8]의 연구에서도 배양 10일차에서 flavonoid 화합물은 56.2%, phenolic성분은 70.7% 감소하여 본 연구의 결과와 유사한 것으로 확인되었다.

Flavonoid 화합물 및 phenolic성분은 항혈전 활성[15], 암세포의 증식억제[16,17] 등의 기능성을 가지고 있어 옻에 있어 중요한 성분들이다. 따라서 이들 성분은 보존하고 urushiol만을 선택적으

Table 6. Changes in phenolic compounds on the seventh day of cultivation by spawn volume

Compounds	Non-cultured (mg/kg)	Cultured (mg/kg)				
		10%	20%	30%	40%	50%
Gallic acid	112.30±0.30^{a}	14.57±0.14^{b}	11.34±0.36^{b}	16.92±0.15^{b}	14.09±0.11^{b}	14.95±0.00^{b}
Methyl gallate	5.28±0.22^{a}	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PGG	52.09±1.01^{a}	13.34±2.11^{b}	10.44±1.72^{b}	10.13±1.52^{b}	11.88±0.20^{b}	13.92±0.82^{b}
Total	164.67±6.69^{a}	27.91±2.19^{b}	21.78±2.14^{b}	27.05±1.35^{b}	25.97±0.21^{b}	28.87±0.77^{b}

Values are presented as mean±standard deviation and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
n.d.: not detected.

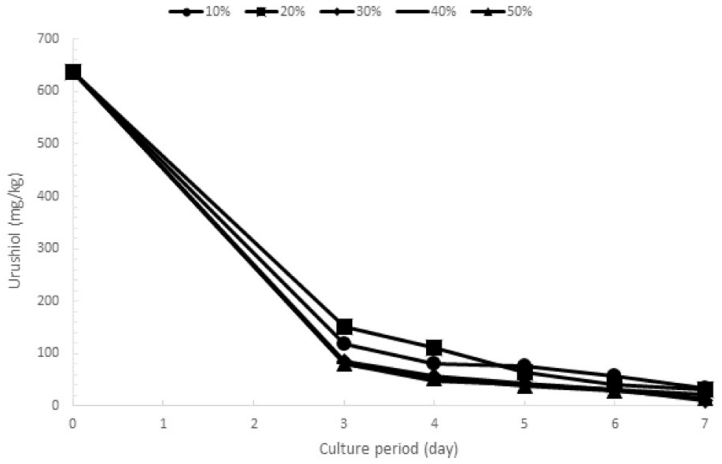

Fig. 2. Change in urushiol content during the cultivation of *Rhus verniciflua* stem bark by inoculation volume of *Perenniporia fraxinea* millet spawn.

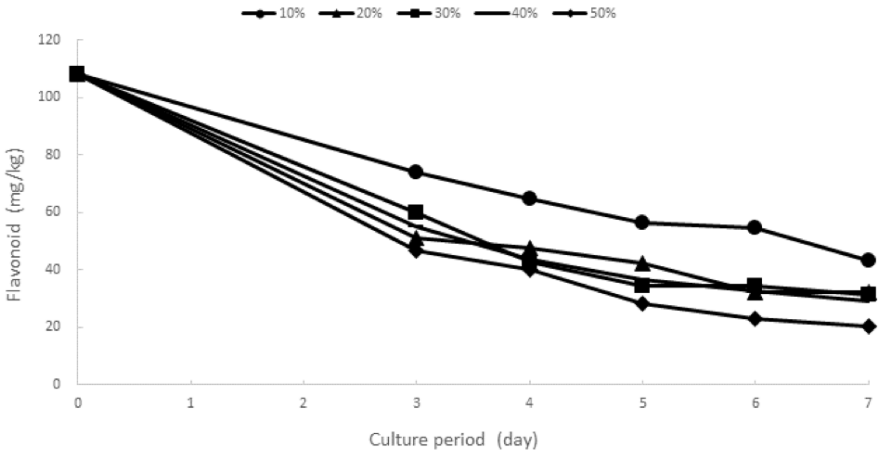

Fig. 3. Change in flavonoid content during the cultivation of *Rhus verniciflua* stem bark by inoculation volume of *Perenniporia fraxinea* millet spawn.

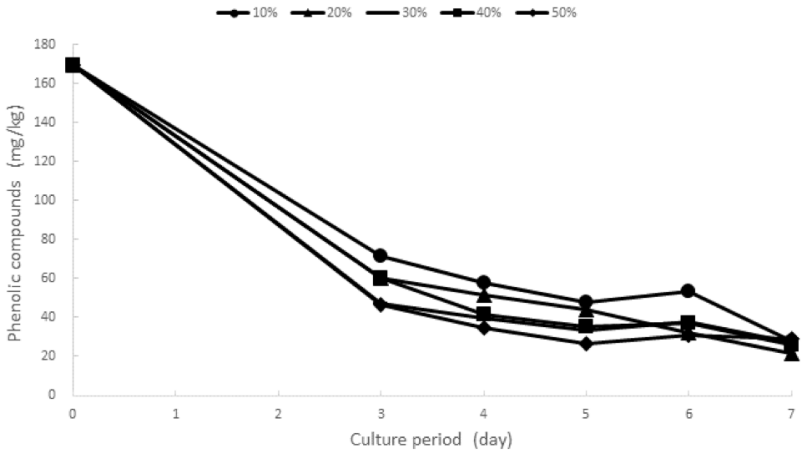

Fig. 4. Change in phenolic compounds during the cultivation of *Rhus verniciflua* stem bark by inoculation volume of *Perenniporia fraxinea* millet spawn.

로 제거해주기 기대하였으나, 장수버섯의 배양에 따른 유용성분의 변화를 제어하기는 어려웠다. 다만, 액체종균을 사용한 Kim 등[8]의 연구와 비교하여 볼 때 액체종균은 urushiol이 85% 감소되는데 10일 가량이 소요된 반면, 조에 배양된 종균을 30% 사용하면 86.6% 감소시키는데 3일로 단축시킬(Fig. 2) 수 있는 장점이 있다. 이에 따른 flavonoid 성분의 잔존율은 50%에서 68%로, phenolic성분의 잔존율은 30%에서 42%로 증가되었다. 요약하면, 조를 이용한 고체종균의 사용은 옻의 알레르기 유발성분인 urushiol을 제거하는데 소요되는 배양기간을 단축시켰으며, 이로 인한 기능성분의 소실도 일부 억제시킬 수 있을 것으로 판단된다.

옻나무의 urushiol 제거를 위한 상업적인 배양기간에 대하여 검토하였다. 장수버섯이 배양되지 않은 옻나무 껍질에 25배의 물을 넣고 100°C에서 8시간 물추출하면 3.61 mg/kg의 urushiol이 검출되는 반면, 배양 3일차의 장수버섯균 옻배양물을 물추출할 경우 접종량과 관련없이 검출되지 않는 것으로 나타났다(data not shown). 따라서 상업적인 이용은 옻나무에 장수버섯균 배양을 3일간 하는 것을 검토해 볼 필요가 있다.

적요

본 연구에서는 urushiol 제거에 적합한 장수버섯 종균용 원료에 대하여 평가하였다. 세 가지 곡물조, 현미, 통밀에서의 장수버섯 균사체 증식속도는 각각 4.92±0.05, 2.20±0.03, 1.93±0.03 mm/day 이었다. 장수버섯이 배양된 곡물종균의 laccase의 활성은 각각 0.86±0.02, 0.04±0.01, 0.01±0.00 U/mL 이었다. 증식속도와 효소활성 측면에서 장수버섯 종균용 곡물로는 조를 사용하는 것이 적합하였다. 조에 배양된 장수버섯 종균을 옻나무에 배양하였더니 3일차에 urushiol이 최대 86.6% 감소하였고 7일차에 98.5%까지 감소하였다. Urushiol 제거를 위한 적정 배양기간은 3일이었으며 이때 flavonoid 잔존량은 68%, phenolic 성분의 잔존량은 42% 이었다. 액체종균을 사용하여 배양한 것과 비교했을 때 urushiol을 제거하기 위한 증식기간이 10일에서 3일로 단축되었다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was support of cooperative research program for Rural Development Administration in Korea (RDA) (Project No. PJ01313502) and Agricultural Science and Technology for National Institute of Agricultural Science, RDA in Korea (Project No. PJ01260102).

REFERENCES

1. Seok SJ, Lim YW, Kim CM, Ka KH, Lee JS, Han SK, Kim SO, Hur JS, Hyun IH, Hong SG, et al. List of mushrooms in Korea. 1st ed. Seoul: Korea Society of Mycology; 2013.
2. Cho SM, Yun BS, Koshino H. Structure of fomitellan A. a mannofucogalactan from the fruiting bodies of *Fomitella fraxinea*. Bioorg Med Chem Lett 2011;21:204-6.
3. Kim HJ, Cho KM, Gerelchuluun T, Lee JS, Chung SK, Lee CK. Lectins isolated from mushroom *Fomitella fraxinea* enhance MHC-restricted exogenous antigen presentation. Immune Netw 2007;7:197-202.
4. Kong WS, Yoo YB, Jhune CS, You CH, Cho YH, Kim KH. A new functional mushroom cultivated variety Jangsaeng of *Fomitella fraxinea.* J Mushroom Sci Prod 2005;3:129-32.
5. Choi HS, Kim MK, Park HS, Yun SE, Mun SP, Kim JS, Sapkota K, Kim S, Kim TY, Kim SJ. Biological detoxification of lacquer tree (*Rhus verniciflua* Stokes) stem bark by mushroom species. Food Sci Biotechnol 2007;16:935-42.
6. Choi HS, Yeo SH, Jeong ST, Choi JH, Park HS, Kim MK. Preparation and characterization of urushiol free fermented *Rhus verniciflua* stem bark (FRVSB) extracts. Korean J Food Sci Technol 2012;44:173-8.
7. Ministry of Food and Drug Safety. Korea food and drug administration notice. Notice No. 2012-128. 2012.
8. Kim DH, Kim MJ, Kim DW, Kim GY, Kim JK, Gebru YA, Choi HS, Kim YH, Kim MK. Changes of phytochemical components (urushiols, polyphenols, gallotannins) and antioxidant capacity during *Fomitella fraxinea*-mediated fermentation of *Toxicodendron vernicifluum* bark. Molecules 2019;24:683-700.
9. KFDA. Korean Food Standard Codex; General test methods. Seoul: Korea Food Drug Administration; 2010.
10. Petroski RJ, Peczynska-Czoch W, Rosazza JP. Analysis, production and isolation of an

extracellular laccase from *Polyporus anceps*. Appl Environ Microbiol 1980;40:1003-6.
11. Chang HY, Cha DY, Kang AS, Hong IP, Kim KP, Seok SJ, Ryu YJ, Sung JM. Cultural characteristics of *Fomitella fraxinea* (Fr.) Imaz. Kor J Mycol 1995;23:238-45.
12. Ryan D, Leukes WD, Burton SG. Fungal bioemediation of phenolic waste waters in an airlift reactor. Biotechnol Prog 2005;21:1068-74.
13. Minussi RC, Pastore GM, Duran N. Laccase induction in fungi and laccase/N-OH mediator systems applied in paper mill effluent. Bioresour Technol 2007;98:158-64.
14. Thiribhuvanamala G, Kalaiselvi G, Parthasarathy S, Anusha B. Induction of lignolytic enzyme activities in different agro residues by the white rot fungi, *Pleurotus sajar-caju*. Int J Chem Stud 2017;5:89-94.
15. Park BC, Lee YS, Park HJ, Kwak MK, Yoo BK, Kim JY, Kim JA. Protective effects of fustin, a flavonoid from *Rhus verniciflua* stokes, on 6-hydroxdopamine-induced neuronal cell death. Exp Mol Med 2007;39:316-26.
16. Samoszuk M, Tan J, Chorn G. The chalcone butein from *Rhus Verniciflua* stokes inhibits clonogenic growth of human breast cancer cells co-cultured with fibroblasts. BMC Complem Altern M 2005;5:5.
17. Wang Y, Chan FL, Chen S, Leung LK. The plant polyphenol butein inhibits testosterone-induced proliferation in breast cancer cells expressing aromatase. Life Sci 2005;77:39-51.