

## 靈芝의 水溶性 抽出物이 *Saccharomyces cerevisiae* 의 고급 Alcohol 生成에 미치는 影響

朱鉉圭 · 李重根  
건국대학교 농화학과

### The Effect of *Ganoderma lucidum* Water Soluble Extract on Higher Alcohol Production of *Saccharomyces cerevisiae*

Hyun-Kyu Joo and Joong-Keun Lee

Department of Agriculture Chemistry, Kon Kuk University, Seoul

#### Abstract

This study has investigated the effect of *Ganoderma lucidum* water soluble extract on higher alcohol production of *Saccharomyces cerevisiae*. *S. cerevisiae* was inoculated in malt wort media which were added 0, 0.01, 0.1, 0.5 or 1.0% extracts of *G. lucidum* and fermented at 15°C for 120 hours respectively. Some results about cell growth, changes of pH and sugarity and alcohol composition during fermentation are as follows; The cell growth of *S. cerevisiae* was remarkably increased as *G. lucidum* extract was added into each step. It was increased to 1.2, 1.5, 1.9 times on added group of 0.1%, 0.5%, 1.0% *G. lucidum* extract than control group after the fermentation of 120 hours. Content of sugar was systematically low on step of addition of *G. lucidum* extract after the fermentation of 120 hours but pH was systematically high. The more the quantity of *G. lucidum* extract was added, the more total alcohol quantity were produced during fermentation. Especially higher alcohol content was more increased about 1.8 times on 1.0% group (219.9 ppm w/v) than on control group (117.26 ppm w/v) after the fermentation of 120 hours.

#### 서 론

생활수준이 향상됨에 따라 자연식품, 건강식품 및 성인병예방 식품에 대한 관심이 높아지고 특히 인삼과 영지등이 널리 애용되고 있다<sup>(1,2)</sup>

영지 (*Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst)는 구멍장이버섯과 (*Polyporaceae*) 만년버섯속 (*Ganoderma*)에 속하는擔子菌 (*Basidiomycete*)으로서 그 자실체를 이용한다<sup>(3,4)</sup>.

영지에 관한 연구는 1970년대 초 인공재배를 성공하면서부터 계속되고 있다. 德本등<sup>(5)</sup>은 영지에서 Ganoderic acid A, B 및 이와 유사한 화합물을 분리하였으며, 中村등<sup>(6)</sup>은 영지의 성분을 규명하기 위하여 50% Ethanol 추출물을 HPLC로 분석한 결과 3개의 Ganoderic acid 유도체를 발견해냈고, Kubota 등<sup>(7)</sup>은

영지의 苦味成分으로 Ganoderic acid A 및 B를 분리했으며 分野등<sup>(8)</sup>은 영지의 수용성추출액에서 혈당강화 성분인 Ganoderan A 및 B를 확인 하였다. 또한 신등<sup>(9)</sup>은 영지의 무기성분을 정량하였고, 이등<sup>(10)</sup>은 영지의 일반성분 및 영지포자를 관찰하였으며 이외에 영지의 열수추출액이 종양세포를 이식한 쥐의 수명 연장과 遲延性過敏反應을 조사하였다. 강등<sup>(11)</sup>은 한국산 담자균류의 항암 성분에 관한 연구에서 만년버섯의 배양균사체로부터 항암성분을 분리하였고 김등<sup>(12)</sup>도 자실체에서 항암성분을 분리하였다.

Yoshiaki 등<sup>(13)</sup>은 영지 균사의 성장배지와 자실체에서 분리한 다당류의 구조 및 항종양 활성에 대한 연구 결과를 보고 하였으며 박등<sup>(14)</sup>은 단백질 패턴과 esterase, LAP의 동위원소패턴등을 비교 관찰하였고 홍등<sup>(15)</sup>은 합성배지를 사용해서 영지의 섬유소 분해효소 생산과 균

사 생육에 관한 배양조건을 검토하였다. 또한 水野등<sup>(16)</sup>은 영지에 함유된 수용성 다당류를 분획·정제하여  $\alpha$ -glucan,  $\beta$ -glucan, fucogalactan mannofucogalactan 및 acidic  $\beta$ -glucan을 분리하고 이들에 대한 화학구조를 규명하였다.

한편, 上松등<sup>(17)</sup>은 본태성 고혈압 환자, 정상인 및 경증 고혈압 환자에게 각각 재배영지를 6개월간 투여한 결과 고혈압 환자의 경우 혈액중 cholesterol치를 떨어뜨리는 동시에 부작용이 거의 없어 유효하다고 보고하였으며, 有地<sup>(18,19)</sup>등도 혈압강하, 특히 최고혈압의 저하작용 및 안정화 작용을 인정하였고, 또한 久保등<sup>(20,21)</sup>은 영지의 열수추출물이 高脂血症 改善作用과 播種性 血管內 凝固作用에 대해 보고하였다.

김<sup>(22)</sup>은 영지의 수용성 및 에탄올추출물을 Henneberg 배지에 첨가하여 효모의 증식과 생리에 미치는 영향을 조사하였다.

이와 같은 연구결과가 보고됨에 따라 한국에서도 영지를 이용한 가공식품이 개발 판매되고 있으나 지금까지 연구되어진 것은 주로 영지의 성분 및 임상 실험에 관한 것이고 가공식품, 특히 발효에 관한 연구는 거의 없다.

따라서 본 실험에서는 영지추출물이 효모 생리와 양조 주제조에 미치는 영향을 규명하고자 맥아즙에 영지의 수용성 추출물을 첨가한 다음 *Saccharomyces cerevisiae*를 접종하여 발효과정 중에 생성되는 alcohol과 그 성분변화를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 영지 및 菌株

영지 (*Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst)는 대전 원목 영지농장에서 1986년 7월에 수확한 것이고, 균주는 본 실험실에서 보관중인 *Saccharomyces cerevisiae*를 사용하였다.

### 영지추출물의 조제

영지를 분쇄기로 약 10 mesh의 크기로 세절하여 그 300g에 증류수 1,500ml를 가하고 항온수조(80°C)에서 5시간의 3회 반복 추출하고, 여과 (동양여지 No. 2)한 다음 여액을 수분 5%되도록 Rotary vacuum evaporator(65°C, 100rpm)로 농축하였다<sup>(22)</sup>.

### 맥아즙의 조제

시판 맥주용 맥아를 분쇄하여 상법에 준하여 맥아즙을

조제하였다<sup>(23)</sup>.

### 종균 배양

맥아즙 20ml에 *S. cerevisiae* 1 백균이를 접종하고, 25°C에서 24시간 배양한 후에 200ml 맥아즙에 옮겨 24시간 배양하였으며 이것을 500ml의 맥아즙에 옮겨서 10시간 배양한 다음 종균 (균농도:  $3.6 \times 10^7$ /ml)으로 사용하였다<sup>(23)</sup>.

### 시험구의 조제 및 효모점종

맥아즙에 영지추출물을 각각 0%, 0.01%, 0.1%, 0.5%, 1.0% 첨가하고 이들을 각각 대조구 0.01%구, 0.1%구, 0.5%구, 1.0%구로 표시하였다. 접종 효모액은 각 시험구의 맥아즙 400ml에 대하여 종배양액 10ml씩을 접종하였다<sup>(23)</sup>.

### 일반성분의 분석

일반성분의 분석<sup>(24)</sup>은 수분은 건조 감량법으로, 조지방은 Soxhlet법, 단백질은 Kjeldahl 정량법, 섬유소는 A. O. A. C 법, 회분은 직접회화법에 준하였다.

### *S. cerevisiae* 생육도 측정

*S. cerevisiae*의 생육도<sup>(25)</sup>는 각 처리구의 배양액 10ml를 원심분리 (3,000rpm, 20min)한 후 증류수로 1회 세척하고 증류수 60ml에 혼탁시켜 660nm에서 흡광도를 측정하였다.

### pH의 변화 및 총당 측정

pH의 변화는 각 처리구의 배양액 25ml를 취하여 pH meter로 측정하였고<sup>(22)</sup> 총당은 pH 측정시 얻은 여액을 20ml 취하여 25% HCl로 산분해 시킨후 Somogyi 방법으로 정량하였다<sup>(24,26)</sup>.

### Alcohol의 정량

Alcohol의 정량<sup>(23)</sup>은 발효액을 經時的으로 취하여 5°C에서 4,000rpm으로 15분간 원심분리한 다음 그 분리액 100ml에서 40ml의 증류액을 받아 Gas Chromatograph 분석용 시료로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반성분

시료 영지의 일반성분은 Table 1과 같이 수분(16.

27%)과 회분 (1.45%)은 김<sup>(22)</sup>, 이등<sup>(10)</sup>이 보고한 바와 거의 유사하나 조단백, 조지방, 조섬유등은 서로 상이하게 나타났다. 이와같은 결과는 영지 재배시의 배지원료와 배양조건등이 다르기 때문인 것으로 사료된다.

Table 1. Contents of chemical components in *G. lucidum*.

Component	Content (%)
Moisture	16.27 ± 0.05
Ash	1.45 ± 0.01
Crude protein	9.40 ± 0.30
Crude lipid	1.75 ± 0.25
Crude fiber	44.50 ± 0.50
Nitrogen free extract	26.63 ± 0.22

균체량증식에의 영향

영지추출물의 첨가량을 달리한 배지에서 배양된 *S. cerevisiae*의 발효시간 경과에 따른 생육도는 Fig. 1과 같다.

각 시험구는 영지추출물의 첨가량이 많을수록 증가되

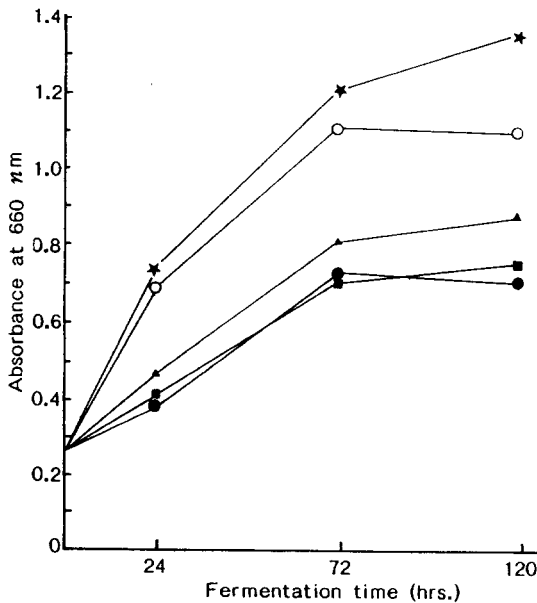


Fig. 1. Effect of *G. lucidum* on the growth of *S. cerevisiae*.

*G. lucidum* extract added/malt wort(%); ●—● 0%(control), ■—■ 0.01%, ▲—▲ 0.1%, ○—○ 0.5%, ★—★ 1.0%

는 경향을 보였다. 발효 120시간 후의 0.01%구는 대조구와 거의 비슷한 증가를 보였으나, 0.1%구는 대조구의 1.2배, 0.5%구는 1.5배 증가하였으며 특히, 1.0%구는 1.9배로 현저한 균체증식 효과를 보였다.

배양 120시간에서의 각 시험구의 균체량 증가 순위는 1.0%구 > 0.5%구 > 0.1%구 > 0.01%구 > 대조구 순이었다. 김<sup>(22)</sup>은 *S. cerevisiae*를 이용해서 건조균체량을 측정 한 결과 대조구에 비해 0.1%구가 1.05배, 0.5%구는 1.57배, 1.0%구는 1.67배 증가하였다고 보고 하였는데 이는 본 실험의 결과와 유사하였다.

이상과 같이 영지추출물을 첨가할 경우 균체량이 대조구에 비해 증가되는 경향이 뚜렷함은 영지성분이 균체의 생육을 촉진시키기 때문인 것으로 생각되나 어떤 물질이 효모의 균체량 증식에 영향을 주는가에 대하여 앞으로 규명해 보고자한다.

pH 및 당소비량

기본 배지에 영지의 수용성추출물을 첨가한 각 시험구의 발효과정중의 pH의 변화는 Fig. 2와 같다.

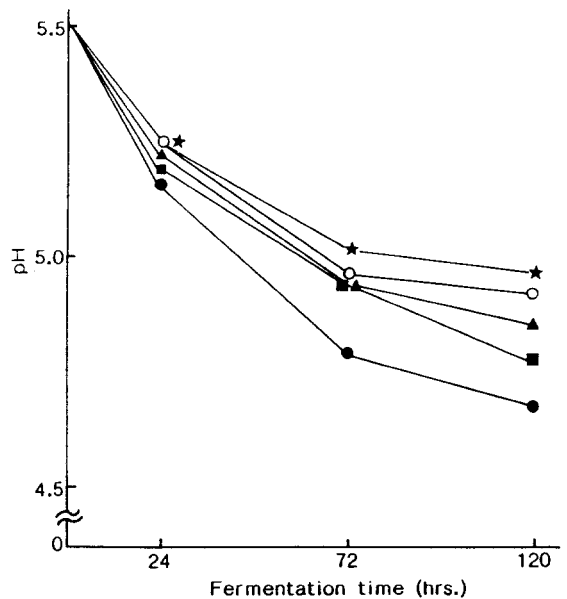


Fig. 2. Changes of pH in each treatment during fermentation.

*G. lucidum* extract added/malt wort(%); ●—● 0%(control), ■—■ 0.01%, ▲—▲ 0.1%, ○—○ 0.5%, ★—★ 1.0%

발효가 진행됨에 따라 시험구 모두 pH가 낮아졌으며 발효 120시간후의 pH는 1.0%구 > 0.5%구 > 0.1%구 > 0.01%구 > 대조구의 순으로 낮아 영지추출물의 첨가량이 적을수록 변화가 크게 나타났다. 또한 발효 96시간까지는 변화가 심했으나 96시간에서 120시간 사이에는 변화의 정도가 적었다. 이는 김<sup>(22)</sup>이 보고한 내용과 거의 유사하였으며, 또한 박등<sup>(27)</sup>의 연구에서도 인삼추출물 첨가량이 적을수록 pH의 변화가 크게 나타났다는 보고와도 같은 경향이다. 따라서 영지추출물중에는 pH의 변화를 억제하는 물질이 있을 것으로 사료된다.

영지추출물을 첨가한 각 시험구의 발효과정중 당의 변화는 Fig. 3과 같다.

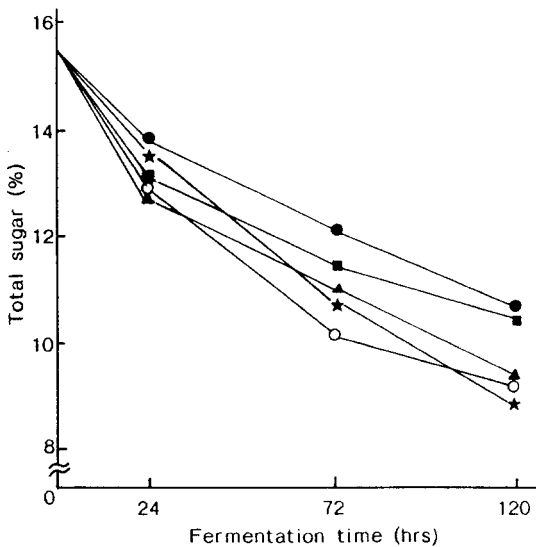


Fig. 3. Changes of sugar content during fermentation by *S. cerevisiae*.

*G. lucidum* extract added/malt wort(%); ●—● 0%(control), ■—■ 0.01%, ▲—▲ 0.1%, ○—○ 0.5%, ★—★ 1.0%

시험구 모두 발효가 경과됨에 따라 당도가 낮아졌고 발효 120시간후 당 함량의 감량순위는 1.0%구 > 0.5%구 > 0.1%구 > 0.01%구 > 대조구의 순이었다. 발효 72시간의 경우 대조구는 3.3%의 감량을 나타내었으나 0.5%구는 감량 5.2%로서 대조구의 약 1.6배 감소를 보였고 대조구, 0.1%구, 1.0%구는 발효 120시간까지 일정하게 감량 되었으며 0.01%구, 0.5%구는 72시간까지 비교적 급하게 감소하고 그후 완만히 감량되었다.

박등<sup>(23)</sup>은 인삼 saponin의 첨가량이 증가됨에 따라 발

효중의 당 소비량도 늘었다는 보고와 같이 영지추출물 첨가에서도 거의 유사한 경향을 보였고 또한 김<sup>(22)</sup>이 발표한 *S. cerevisiae*에 의한 당도의 변화도 본 실험과 발효 시간별 변화폭의 차이는 있으나 전반적인 경향은 비슷하였다.

이상의 결과는 발효가 진행됨에 따라 영지추출물이 효모의 생육을 촉진시켰기 때문에 당 소비율이 높아진 것으로 생각된다.

#### Alcohol 성분변화

영지추출물을 첨가한 맥아즙에 *S. cerevisiae*를 접종하고 15°C로 발효시키면서 G.C로 Table 2의 조건으로 성분변화를 측정된 결과는 Table 3과 같고 그 gas chromatogram은 Fig. 4~8에 표시하였다.

각 시료를 G.C로 정량한 결과 발효 시간별 총 생성물의 조성비는 다음과 같았다.

발효 24시간에 총 알콜 생산량은 대조구가 42.48 ppm w/v으로 가장 높았으나 발효 72시간에서 120시간까지는 영지추출물의 첨가량이 많을수록 알콜 생산량이 증가하였고, 고급알콜인 n-propylalcohol은 발효 72시간에는 1.0%구가 대조구에 비해 1.4배 높았으나 120시간 후에는 3.6배나 증가하였으며, iso-butylalcohol은 발효 72시간에 1.0%구가 대조구와 같은 생성을 보였으나 발효 120시간에는 대조구의 1.7배나 향상되었다. iso-amylalcohol의 경우 발효 72시간에는 iso-butylalcohol과 마찬가지로 대조구와 별 차이가 없었으며 Acetaldehyde는 발효 24시간의 경우 대조구가 영

Table 2. Operating conditions of gas chromatograph for the determination of alcohols.

Instrument	Varian 3700 gas chromatograph U.S.A
Detector temp.	200°C
Detector type	FID
Column	PEG 1500m/celite 545(60/80), 1/8x4m s.s column
Injector type	Universal
Injector temp.	150°C
Injection vol.	5 $\mu$ l
Oven temp.	90°C
Chart speed	1.0cm/min.
Carrier gas	He
Flow rate	40 $\mu$ l/min.

Table 3. Changes of alcohol and other components during fermentation by *S. cerevisiae*, unit : ppm(w/v)

Fermentation time		24 hours				
G. lucidum extract added (%)		0	0.01	0.10	0.50	1.00
Products						
Acetaldehyde		20.80	9.80	11.60	11.60	10.40
Ethylacetate		.	.	.	.	.
n-propylalcohol		4.18	3.82	3.45	3.82	3.64
Iso-butylalcohol		.	.	.	.	.
Iso-amylalcohol		17.50	15.80	18.60	19.96	15.54

Fermentation time		72 hours				
G. lucidum extract added (%)		0	0.01	0.10	0.50	1.00
Products						
Acetaldehyde		11.60	15.30	17.10	19.00	19.00
Ethylacetate		1.50	2.20	1.90	2.70	3.20
n-propylalcohol		17.40	19.10	18.70	23.80	24.90
Iso-butylalcohol		17.60	15.80	15.60	17.60	16.70
Iso-amylalcohol		75.10	73.10	75.10	81.40	76.40

Fermentation time		120 hours				
G. lucidum extract added (%)		0	0.01	0.10	0.50	1.00
Products						
Acetaldehyde		6.10	7.95	19.20	30.60	29.40
Ethylacetate		3.40	4.90	5.60	4.60	7.60
n-propylalcohol		21.96	30.10	37.60	46.30	79.60
Iso-butylalcohol		18.00	21.10	24.20	23.10	30.80
Iso-amylalcohol		77.30	94.60	104.20	94.80	109.50

지추출물 첨가구에 비해 가장 높았고 72시간 이후에서는 영지추출물 첨가구가 모두 대조구보다 높게 나타났다.

발효 24시간후 모든 실험구에서 n-propylalcohol, iso-amylalcohol이 검출되었으나 iso-butylalcohol은 검출되지 않았으며 박등<sup>(23)</sup>이 인삼을 첨가한 알콜 생성 실험(24hr)과는 상이한 경향을 보였다. 이는 접종효모의 종류가 다를 뿐만 아니라 첨가한 인삼과 영지의 성분 차이에서 오는 결과일 것으로 사료된다.

한편 Fig. 4~8에서 보는바와 같이 peak2, 4는 미지의 다른 종류의 알콜 성분으로 생각되며 앞으로 계속 연구해 보고자 한다.

이상의 결과로 볼때 영지추출물은 고급알콜인 n-propylalcohol, Iso-butylalcohol, Iso-amylalcohol을 현저하게 증가시켰음을 확인할 수 있었다.

## 요 약

영지의 수용성추출물이 alcohol 발효에 미치는 영향을

검토하기 위해 영지추출물을 0, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0% 되게 첨가한 맥아즙에 *S. cerevisiae*를 접종하고 120시간 발효 (15°C)과정중 *S. cerevisiae*의 생육도, pH의 변화 및 당 소비량, alcohol 생성 등을 조사하였다.

영지추출물 첨가량이 증가 할수록 균체 증식은 현저하였고, 발효 120시간에서 0.1%, 0.5%, 1.0%구는 대조구보다 각각 1.2배, 1.5배, 1.9배 증가하였다. 발효액(120시간)의 당함량은 영지추출물 첨가량 순으로 낮았으나 pH는 높았다. 발효 과정중 총 alcohol 생성량은 영지추출물 첨가구가 모두 대조구보다 많았고 특히 고급 alcohol의 생성량은 120시간 발효후 1.0%구가 대조구에 비하여 약 1.8배 증가 하였다.

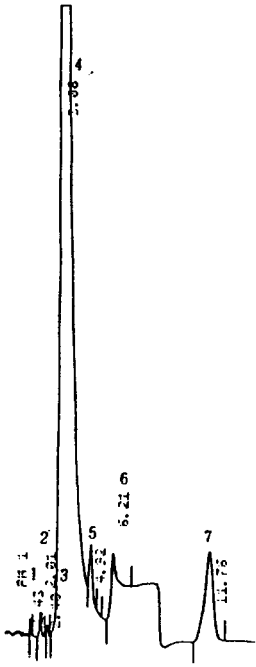


Fig. 4. Gas chromatogram of alcohol products on control group after 120 hours fermentation.

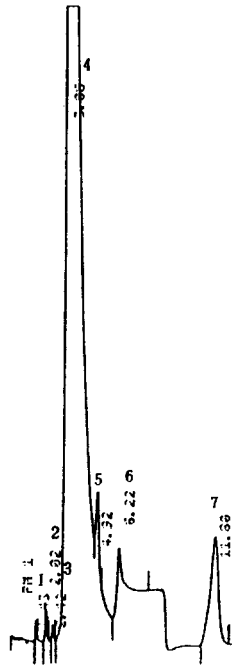


Fig. 5. Gas chromatogram of alcohol products on 0.01% group after 120 hours fermentation

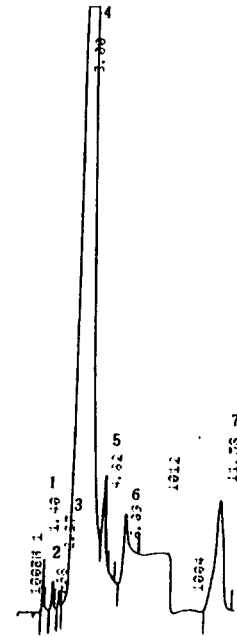


Fig. 6. Gas chromatogram of alcohol products on 0.1% group after 120 hours fermentation.

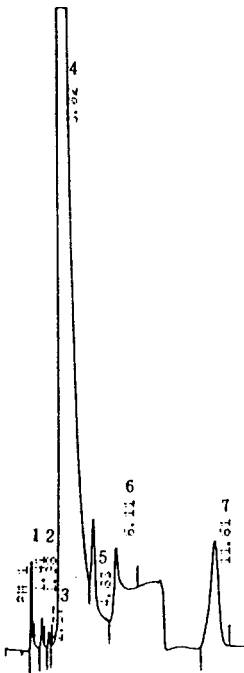


Fig. 7. Gas chromatogram of alcohol products on 0.5% group after 120 hours fermentation.

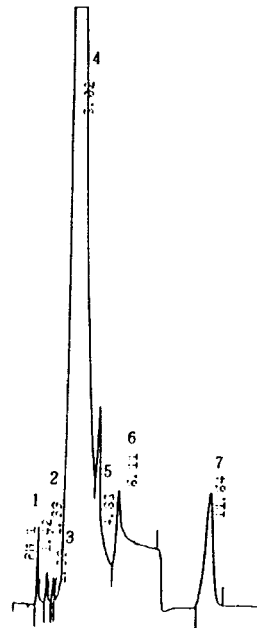


Fig. 8. Gas chromatogram of alcohol products on 1.0% group after 120 hours fermentation.

1. Acetaldehyde 2. unknown 3. Ethylacetate 4. unknown 5. n-propylalcohol 6. Iso-butylalcohol 7. Iso-amylalcohol

## 문헌

1. 성현순, 양재원, 박명환, 김만옥 : 한국농화학지, 24, 1(1981).
2. 우명식, 박용환, 김종협, 김병각 : 한국균학회 영지 심포
3. 김병학, 최응칠, 정경수, 이영수 : 생약학회지, 7, 3 (1976)
- 4 水野卓, 坂村 貞雄 ; 化學と生物, 23, 12 (1985)
5. 徳本和佳子, 坂本秀代恵, 藤井美智子, 平井裕子, 神田博史, 山崎和男 ; 日本薬學會 第 104 會 總會要旨集 No. 28 C 3-4 (1984)
6. 中村英雄, 石原茂正, 内田藤, 森田泰夫 ; 일본약학회 제 104회 총회요지집 No. 28 C 4-1 (1984)
7. Kubota, T., Asaka, Y., Miura, I. and Mori, H.; *Helv. Chim. Acta.* 65 (1982).
8. ヒキノヒロシ 今野長八, 林淋義明, 林輝明 ; 일본약학회 제 104 회. 총회요지집 No. 280 9-2 (1984)
9. 신혜원, 김하원, 최응칠, 김병각 : 한국균학회지, 13, 1(1985)
10. 이명희, 김하원, 심미자, 도상학, 최응칠, 김병각 : 한국균학회지, 14, 2 (1986)
11. 강창울, 심미자, 최응칠, 이영남, 김병각 : 한국생화학회지, 14, 2 (1981)
12. 김병각, 정희수, 정경수, 양문식 : 한국균학회지, 8, 2 (1980)
13. Yoshiaki sone, Reiko Okuda, Noriko Wada, Etsu Kishida and Akira Misaki; *Agric. Biol. Chem.*, 49, 9 (1985)
14. 박원목, 이용세, 김성희, 박용환 : 한국균학회지 14, 2 (1986)
15. 홍계식, 최윤희, 윤세억 ; 한국균학회지 14, 2 (1986)
16. 水野 卓, 加藤尚美, 戸塚篤史, 竹中一秀, 新海健吉, 清水雅子 ; *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 58, 9(1984)
17. 上松瀬藤男, 梶原長雄, 林恭子, 下恒内秀二, 富金原直, 石河秀夫, 中村力 ; *Yakuda Zashi*, 105, 10(1985).
18. 有地 滋, 谿 忠人, 久保道德, 松田秀秋, 吉村成年, 桐ヶ谷紀昌 ; 基礎と臨床, 13, 2(1979)
19. 有地 滋, 上原清史, 上野 降, 河井 洋, 谷動, 長谷初恵, 任恒 膝治, 谿 忠人, 久保道德, 桐ヶ 谷紀昌 ; 基礎 と臨床, 13, 12 (1979)
20. 久保道德, 松田秀秋, 田中基晴, 木村善行, 谿忠人, 有地 滋, 興 田拓道, 桐ヶ谷紀昌 ; 基礎と臨床, 14, 9(1980).
21. Michinori, K., Hideaki, M., Maris, N., Shigeru, A. and Takeshi, T. ; 藥學雜誌, 103, 8(1983).
22. 김성조 ; 건국대학교 석사학위 논문 (1986).
23. 박세호, 유태종, 이석건 ; 고려인삼학회지, 5, 2 (1981)
24. 정동효, 장현기 ; 최신 식품 분석법, 삼중당, p.84-146 (1982)
25. 이시경, 주현규 ; 한국산업미생물학회지, 13, 2 (1985)
26. 양희천, 이태규 ; 한국산업미생물학회지, 9, 3 (1981)
27. 박세호, 유태종, 이석건 ; 고려인삼학회지, 6, 1(1982)

(1987년 8월 19일 접수)