

## 영지버섯 고미성 균주 선발에 관한 연구

김경수\* · 변명옥 · 유창현 · 차동열 · 정 훈<sup>1</sup> · 고미석<sup>2</sup>

농촌진흥청 농업기술연구소 균이과

<sup>1</sup>일양약품중앙연구소

<sup>2</sup>경상대학교 농학과

### Selection of Highly Bitter taste Strains on *Ganoderma* sp.

Kyung-Soo Kim\*, Myung-Ok Byun, Chang-Hyun You, Dong-Yeul Cha,  
Hoon Jeong<sup>1</sup> and Mi-Suk Ko<sup>2</sup>

Applied Mycology and Mushroom Division Agricultural Science Institute,  
R.D.A., Suweon 441-707

<sup>1</sup>Central Institute of Research, Il Yang Pharmaceutical Co., Ltd. Yongin  
Kyonggi 449-900

<sup>2</sup>Dept. of Agronomy, Gyeongsang National University, Chinju 660-701 Korea

**ABSTRACT:** A study was conducted on the characteristics of 11 strains of *Ganoderma* sp. to select the strains with more bitterness. Among the flat type strains, ASI 7071 and 7091 showed higher bitterness, while among the branched type strains ASI 7074 and 7094 were found to be more bitter than other strains. The growth of ASI 7091 was best on *Ganoderma* complete media(GCM), while ASI 7010, 7048 and 7075 performed best in oak saw dust media. Among the branched type strains the esterase isozyme band patterns were similar. On the other hand among the flat type strains, the esterase isozyme band patterns differed from each other. Out of 11 strains, ASI 7004 was found to have the heaviest fruiting body, ASI 7071 the thickest cap and ASI 7094 the biggest cap.

**KEYWORDS:** *Ganoderma*, bitter taste strains

영지버섯(*Ganoderma* sp.)은 우리나라를 비롯하여 아시아, 유럽, 북미주 등 세계적으로 널리 분포하고 있는 목재부후균으로 참나무, 밤나무 등 활엽수 고사목에서 자생한다(Hseu, 1990). 영지는 중국 고서인 이시진의 본초강목에서 그 색채에 따라 청지, 적지, 황지, 백지, 흑지, 자지 등으로 나누고 해설과 약효를 기재하였다(Takashi, 1994). 또한 영지는 자실체 형태에 따라 편각지와 녹각지로 구분하기도 한다. 영지는 항암, 정혈, 이뇨, 해독, 보간, 강심 등 질병의 예방과 치료에 효과가 있음이 보고 되었다(Kim, 1990; Mizuno, 1989). 따라서 영지는 예로부터 생

약으로 많이 이용되었으며 근래에는 건강 식품으로도 각광을 받고 있는 버섯이다.

영지버섯은 물 또는 유기용매로 추출하여 맛을 보았을 때 독특한 쓴맛을 나타내는 고미성분이 있으며, 이것이 바로 영지버섯의 약효와 관계가 있다. 고미성분은 주로 자실체의 표면에 많이 존재하는 것으로 알려져 있으며 액체 배양한 균사체에서는 생성되지 않는 것으로 보고되었다(Kim, 1992). 이러한 고미성분은 triterpenoid 계통의 물질로써 그 분자량은 400~586 dalton까지 다양하게 존재하며, 영지에만 존재하는 물질로 알려진 것은 50여 종류로 C<sub>24</sub> 계통의 lucidone류, C<sub>30</sub> 계통의 ganoderic acid류, ganolucidenic acid류, ganoderenic acid류 등이다

\*Corresponding author

(Kim, 1989).

우리나라에서는 1992년에 전국 1,600여 농가에서 1,594톤이 생산되었으며 매년 그 생산과 수요가 증가 추세에 있다.

본 연구는 건강음료용으로 가공되는 영지에서 대단히 중요한 고미 성분이 높은 균주를 선발하고자 실시하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

## 材料 및 方法

### 배양적 특성 조사

**공시 균주** 본 시험에 사용한 영지버섯 균주는 농업기술연구소 균이과에 보존중인 70 균주중 1차로 재배시험에서 선발된 ASI 7004 외 11 균주를 사용하였다.

**배지** 균주 보존 및 증식 배지는 영지버섯 완전 배지(GCM)를 사용하였으며 그 배지 조성은(g/l), yeast extract 10.0, Bacto-peptone 4.0,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.5,  $KH_2PO_4$  0.46,  $K_2HPO_4$  1.0, glucose 30.0, sucrose 20.0, casamino acid 5.0, agar 20.0이다.

톱밥배지는 참나무 톱밥 80%+미강 20%(V/V)로 잘 혼합하여 수분을 65%로 조절한 후 시험관과 1500 cc 플라스틱병에 일정하게 톱밥을 넣고 121°C에서 90분 동안 살균하여 균사생장과 버섯재배용으로 사용하였다.

### 자실체 형성

**버섯 재배** 영지버섯을 접종한 후 균사가 다 자란 배지는 재배실로 옮겨서 버섯을 발생시켰다. 재배사의 온도는 28~30°C, 습도는 90% 정도로 유지하였으며 백열전구를 낮시간 동안에 조사하였다. 영지버섯은 발생 후 약 40일이 경과하여 관공부위의 색이 연황색일 때 수확하였다.

### 전기영동

**균사추출액 조제** 균사체를 GCM 배지에서 10일간 배양하여 나일론 망에 걸린 다음 증류수로 2번 세척하였다. 균사체 10g에 액체질소를 넣어 마쇄한 후 고속냉동 원심분리기(12,000g)에서 4°C로 30분간 원심 분리 후 상등액을 전기영동의 시료로 사용하였다.

**전기영동** 전기영동은 수직형 전기영동 장치를

이용해서 10% polyacrylamide slap gel을 사용, Ornstein과 Davis 방법에 따라 5°C에서 일정한 전류로 (30 mA/cm, gel) 하였다.

**발색법** Esterase는  $\alpha$ -naphthylacetate 20 mg, ethylene glycol monomethyl ether 2 ml, fast blue RR salt 20 mg을 0.2 M Tris-HCl buffer(pH 7.2) 100 ml와 혼합한 후 gel을 침적하여 암상태로 50 rpm으로 흔들어 밴드가 선명할 때까지 약 30분간 발색시켰다. Leucine amino peptidase는 gel을 발색액 (120 ml Tris-malate buffer(pH 5.4), 50 ml 증류수, 15 mg fast black K salt, 20 mg L-leucyl- $\beta$ -naphthyl amide HCl)에 침적하여 암상태하에서 30분간 발색시켰다.

### 고미도 조사

영지버섯 균주별로 건조된 자실체 7g을 채취하여 20배의 물을 가한 다음 100°C에서 90분간 끓여서 열수 추출을 하고, 이 추출액을 여과지에 여과하여 150 ml로 조정하였다. 고미도는 추출액을 20 ml 취하여 최종적으로 100 ml가 되게 한번 더 희석한 다음 2 사람이 관능시험으로 각 균주간의 쓴맛을 조사하였다.

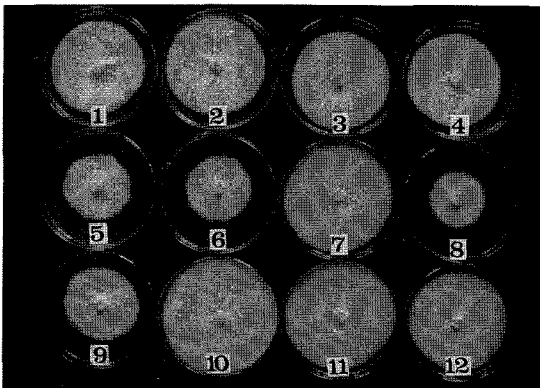
## 結果 및 考察

### 균사의 배양적 특성

영지버섯 ASI 7004외 11균주를 GCM 배지와 참나무 톱밥 80%와 미강 20%를 혼합한 배지에 30°C 항온기에서 10일간 배양하여 본 결과 Table 1과 같이 GCM 배지에서는 ASI 7091 균주의 생육이 가장 양호하였고 ASI 7075 균주가 가장 늦었다. 균사생장 형태는 Fig. 1과 같은데 공중균사는 대체로 양호하였으나 ASI 7071, 7072, 7075 균주는 거의 없었다. 그리고 참나무 톱밥배지에서는 ASI 7010, 7048, 7075 균주의 생육이 가장 양호하였으며 ASI 7074 균주의 생육이 늦었다. 특히 ASI 7075 균주는 GCM에서는 생장이 느렸으나 톱밥에서는 다른 균주보다 빨라서 배지에 따른 균사생장은 균주마다 상이한 결과를 나타내었다. 이러한 균주간의 균사생장 속도의 차이는 같은 영지 종내에서도 균사의 성장속도가 다르다는 Hseu(1990)의 결과와 동일하였다.

**Table 1.** Mycelial growth of *Ganoderma* sp. on GCM and oak sawdust media

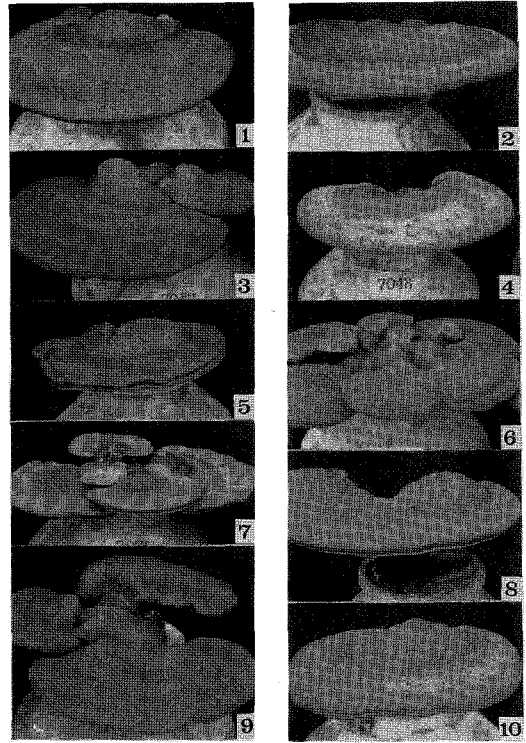
| Strain   | Mycelial growth (mm/10 days) |             |
|----------|------------------------------|-------------|
|          | GCM                          | Oak sawdust |
| ASI 7004 | 72                           | 54          |
| ASI 7010 | 75                           | 60          |
| ASI 7013 | 72                           | 55          |
| ASI 7048 | 69                           | 60          |
| ASI 7071 | 52                           | 59          |
| ASI 7072 | 54                           | 58          |
| ASI 7074 | 82                           | 53          |
| ASI 7075 | 44                           | 60          |
| ASI 7083 | 59                           | 54          |
| ASI 7091 | 86                           | 55          |
| ASI 7094 | 82                           | 56          |
| ASI 7100 | 74                           | 48          |

**Fig. 1.** Colony morphology of *Ganoderma* species, grown on GCM plate at 30°C for 10 days. 1: 7004, 2: 7010, 3: 7013, 4: 7048, 5: 7071, 6: 7072, 7: 7074, 8: 7075, 9: 7083, 10: 7091, 11: 7094, 12: 7100

### 자실체 특징

영기버섯을 톱밥배지에서 재배한 결과 버섯의 형태와(Fig. 2) 자실체의 무게 및 크기는 Table 2와 같다.

버섯의 형태는 ASI 7013, 7074, 7075, 및 7094 균주는 여러개의 자실체 분지형태로 발생되어 녹각지 형성 균주의 특성을 나타내었으며 Table 2에서

**Fig. 2.** Morphology of fruiting bodies cultivated at 28~30°C for 40 days in growing room in artificial conditions.

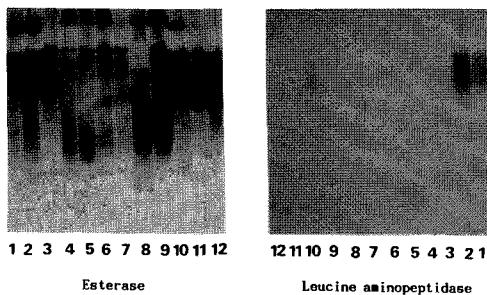
1: 7004, 2: 7010, 3: 7013, 4: 7048, 5: 7071, 6: 7074, 7: 7075, 8: 7083, 9: 7094, 10: 7091

보는 바와 같이 갓의 두께가 상당히 얇았다. 전형적인 편각지는 ASI 7004, 7010, 7048, 7071, 7072, 7083 및 7091 균주였으며 자실체 형태는 ASI 7004, 7010, 7048, 7091에서 대체로 양호하였다. 그리고 ASI 7071 및 7072 균주는 다른 버섯보다 갓의 크기는 작았지만 상대적으로 두꺼웠으며 육안으로 관찰하였을 때 다른 균주에 비하여 포자의 양이 월등이 많았다. ASI 7075 균주는 ASI 7074, 7094와 비슷한 자실체 형태를 나타내었으나 색택이 약간 연노랑색을 나타내었으며 자실체 개체중과 갓의 두께등에서도 아주 열등하였다. 개체중은 ASI 7004 균주가 34.6 g으로 가장 무거웠으며 ASI 7075 균주가 21.0 g으로 가장 가벼웠다. 갓의 직경은 ASI 7094 균주가 가장 크고 ASI 7072, 7083 균주가 작았으며, 갓의 두께는 ASI 7071 균주가 가장 두껍고 ASI 7075 균주가 얇았다.

**Table 2.** Dry yield, size and degree of bitterness of fruiting body of *Ganoderma* strains

| Strain   | Dry yield of fruiting body (g/bottle) | Size of fruiting body (mm) |       | Degree of bitter taste* |
|----------|---------------------------------------|----------------------------|-------|-------------------------|
|          |                                       | Thickness                  | Width |                         |
| ASI 7004 | 34.8                                  | 12.0                       | 87.5  | ++                      |
| ASI 7010 | 24.6                                  | 12.0                       | 91.5  | ++                      |
| ASI 7013 | 33.6                                  | 12.0                       | 92.5  | +++                     |
| ASI 7048 | 33.8                                  | 12.0                       | 83.5  | ++                      |
| ASI 7071 | 30.4                                  | 16.5                       | 83.5  | +++                     |
| ASI 7072 | 29.3                                  | 14.3                       | 80.5  | ++                      |
| ASI 7074 | 27.6                                  | 12.5                       | 96.5  | ++++                    |
| ASI 7075 | 21.0                                  | 10.0                       | 82.5  | ++                      |
| ASI 7083 | 23.8                                  | 14.5                       | 80.5  | ++                      |
| ASI 7091 | 32.9                                  | 12.0                       | 87.5  | +++                     |
| ASI 7094 | 30.0                                  | 11.5                       | 108.5 | ++++                    |

\*: ++, low; ++, usual; +++, high; +++++, very high.



**Fig. 3.** Isozyme band patterns of esterase and leucine aminopeptidase of *Ganoderma* sp.

1: 7004, 2: 7010, 3: 7013, 4: 7048, 5: 7071, 6: 7072, 7: 7074, 8: 7075, 9: 7083, 10: 7091, 11: 7094, 12: 7100

영지버섯은 동일한 종내에서도 균주에 따라 형태가 다른 편각, 녹각 그리고 중간 형태가 동시에 나타날 수 있어서 발생 환경 조건에 따라 자실체의 형태 변화가 아주 민감하다고 하였다(Hseu, 1990). 따라서 영지버섯의 균주별 특성을 정확히 알려면 여러가지 환경조건에서 재배하여 볼 필요가 있으며, 자실체 형태가 다른 각 균주간의 차이를 정확히 구명하여 확실한 분류동정이 이루어져야 할 것으로 사료 되었다.

### 전기영동

영지버섯의 전기영동 결과는 Fig. 3과 같이 esterase의 isozyme 밴드 양상은 ASI 7004와 7010, 7091 균주, ASI 7013과 7074, 7094, 7100 균주, ASI 7071과 7072 균주가 비슷하였으며 ASI 7075, 7048, 7083 균주는 특이한 밴드를 나타내었다. Leucine amino peptidase의 밴드 패턴은 ASI 7004와 7010, 7091이 비슷하였으며, 다른 균주에서는 밴드를 거의 육안으로 관찰하기 어려웠다.

이상의 밴드 패턴으로 보아 같은 종일지라도 수집된 지역에 따라 다르게 나타날 수도 있으므로 더 검토가 필요할 것으로 생각되었다. 그러나 분지형과 편각지는 그 밴드 양상이 매우 다르게 나타난 것으로 보아 형태가 다르면 isozyme band 패턴도 다르게 나타나는 것을 알 수 있었다. 그리고 분지형 중에서 ASI 7075 균주는 자실체 형태, 색택 및 밴드형태도 다른 것으로 보아 다른 종일 것으로 사료되었다.

영지버섯의 고미도가 다른 균주별 isozyme 밴드의 차이가 있는가를 알기 위하여 균주별 전기 영동을 실시한 결과 고미도와 isozyme band 패턴과는 특이성 있게 연관시킬 수 없었다. 그러나 이에 대한 관계는 추후에 검토해야 할 여지가 있는 것으로 사료되었다. 분지형과 편각지는 밴드가 다르게 나타났으며, 이 결과는 박등(1986)의 결과와 동일하였다.

박등(1986)은 녹각지와 편각지의 isozyme 밴드가 다르게 나타난다고 하였으며, 동일 균주에서는 자실체 형태가 달라도 동일한 밴드를 나타내어 자실체의 형태는 유전적인 것이라기 보다는 환경적인 요인에서 기인된다고 하였다. 그리고 박(1994)은 균주의 생육단계별 및 배지별 밴드의 차이를 본 결과 모두 상이한 밴드를 나타낸다고 하였다.

### 고미도

버섯의 쓴맛을 나타내는 고미도를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 고미도는 ASI 7074, 7094 및 7013 등의 분지형태를 가진 균주가 높았으나 ASI 7075 균주의 자실체는 중간형태를 나타내었으나 고미도는 아주 낮게 나타내었다. 편각지로서는 ASI 7071, 7091 균주의 고미도가 상당히 높게 나타났다. 이 결과로 보아 전형적인 편각지보다는 분지형 편각지가 높은 고미도를 나타낸다고 사료 되었다. 그러나 분지형 편각지는 그 자실체 형태나 수량이 편각지에 비하여 열세이기 때문에 상품성은 낮았다.

영지버섯의 독특한 쓴맛인 고미는 여러가지 산으로 구성된 triterpenoid 류에 속하며 가장 강한 물질은 lucidenic acid D로서  $5 \times 10^{-10}$  M의 극히 낮은 농도에서도 쓴맛이 감지된다고 하였다. 본 시험에서 편각지보다 고미도는 ASI 7074 및 7094 균주 등 분지형에서 고미도가 높았으나 수량과 상품성이 떨어지기 때문에 편각지이면서 고미도가 높은 균주의 개발이 필요하다고 하겠다. 그리고 본 시험은 특별한 고미성분을 확인한 것이 아니고 복합적인 고미도를 측정했기 때문에 성분 및 분자량별 고미도의 연구가 필요하다고 생각되었다.

이상의 결과를 종합적으로 검토해 보면 전형적인 편각지에서는 ASI 7091 균주, 분지형에서는 ASI 7074, 7094 균주의 생장속도 및 자실체의 고미도가 다른 균주에 비하여 대체로 양호하기 때문에 육종 모본으로 사용이 가능한 균주로 사료되었다.

### 摘 要

고미도가 높은 영지버섯 균주를 선발하기 위하여

농업기술연구소 균이과에 보존 중인 11개 균주의 특성을 조사하여 본 결과는 다음과 같다. 고미도는 편각지 중에서 ASI 7071, 7091 균주, 분지형에서는 ASI 7074, 7094 균주가 높았다. 균사생장은 GCM 배지에서는 ASI 7091, 참나무톱밥 배지에서는 ASI 7010, 7048, 7075 균주가 양호하였다. 자실체의 개체중은 ASI 7004가 가장 무겁고 ASI 7075 균주가 가벼웠으며, 자실체 두께는 ASI 7071, 크기는 ASI 7094 균주가 양호하였다. 그리고 전기영동에 의한 동위효소 밴드의 양상은 esterase에서 분지형은 거의 비슷하였으나 편각지는 여러 형태로 나타났으며, leucine aminopeptidase에서는 편각지만 밴드를 나타내었다.

### 參考文獻

- Davis, B. J. 1964. Disc electrophoresis-II: Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **121**: 404-407.
- Hseu, R. S. 1990. An identification system for cultures of *Ganoderma* species. Dr. Thesis, Nat. Taiwan Univ., Taiwan.
- Kim, H. W. 1989. Bitter Principles of *Ganoderma lucidum*. *Kor. Soc. Mycol. Newsletter* **1**(1): 30-32.
- Kim, B. K. 1992. Pharmacological efficacy of *Ganoderma lucidum*. The 4th International Symposium on *Ganoderma lucidum*. Seoul, Korea. 53-60.
- Mizuno, T. 1989. Development and utilization of bioactive substances from medicinal and edible mushroom fungi(2). II. *Ganoderma lucidum*(Fr.) Ksrst. *The Chemical Times* **133**: 50-60.
- Ornstein, L. Disc electrophoresis-I: Background and Theory. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **121**: 321-349.
- Park, D. S. 1994. Interspecific isozyme variation within the genus *Ganoderma* by isoelectric focusing. M.S. Thesis. Kangwon Nat. Univ., Korea.
- Park, W. M., Lee, Y. S., Kim, S. H. and Park, Y. H. 1986. Characterization of isolates of *Ganoderma lucidum* by electrophoretic patterns of enzymes. *Kor. J. Mycol.* **14**(2): 93-99.