

# 현미를 이용한 영지버섯쌀 생산

A Mushroom-Rice(*Ganoderma lucidum*) development which uses the brown rice.

정인창\* · 곽희진\*\*

## 【목 차】

I. 서론	IV. 요약
II. 재료 및 방법	Abstract
III. 결과 및 고찰	참고문헌

## I. 서론

버섯은 진균류에 속하는 담자균중 자실체를 형성하는 고등균류로서 전세계적으로 약 15,000여 종이 알려져 있다. 이중 한국에는 약 970여 종이 기록되어 있고 약 20여 종은 재배되고 있다. 버섯은 최근 약리적인 효과가 인정되어(박 등, 1998; 이 등, 1999) 제약분야와 함께 기능성 식품으로도 많은 주목을 받고있다. 버섯이 의약품 및 새로운 식품소재로 관심을 끌고있는 중요한 요인으로서는 식용이나 의료용으로 장기간 복용하여도 부작용이 거의 나타나지 않는다는 장점(이신영, 1996)에 있다. 버섯의 균사체는 자실체와 마찬가지로 다양한 생리적 기능을 가지는 것으로 밝혀짐(Toth 등, 1983; 이 등, 1991)에 따라 자실체를 형성하여 식용으로 이용하는 경우를 제외하고는 균사체를 배양하여 의약품과 건강식품에 다양하게 이용하는 것이 실용적이다. 우리나라의 버섯산업은 1950년대 표고버섯 원목재배, 60년대 양송이버섯 재배, 70년대 벗짚을 이용한 느타리버섯재배, 80년대 느타리버섯 폐면재배 및 영지버섯 재배, 90년대 팽이버섯의 병재배가 보급되었다. 90년대 이후 약용버

\* 정인창, 서라벌대학 관광호텔조리과 교수

\*\* 곽희진, 한국관광대학 외식산업과 교수

섯을 중심으로 다양한 버섯의 인공재배가 시도되었고 최근에는 버섯이 건강식품으로 소비자에게 충분히 인식되면서 고정 소비층을 확보하는 단계에 이르렀다. 이제까지 담자균을 식품 및 의약품으로 이용한 공정은 대부분 자실체를 이용하거나 이들 균사체를 액체배양으로 대량생산 후 추출 및 특정 성분을 정제하여 상품화하였다(Fukuda et al., 1975; Suzuki et al., 1989; Saito et al., 1989). 이러한 추출 및 정제공정에 많은 시간과 비용이 투입되었고, 이 과정에서 사용되는 유기용매에 의한 환경오염 또한 심각한 실태이다.

따라서 식용 가능한 고체재료에 버섯의 균사체를 배양하는 방법을 개발하여 다양한 문제점을 개선하고 소비층을 더욱 확고히 하는 것이 절실히 요구된다.

쌀은 곡류 중에서 비교적 영양적으로 균형 잡힌 식품으로서 우리의 식생활에서 가장 큰 비중을 차지하여 왔으나 최근 식생활의 서구화 경향이 진행됨에 따라 개인당 쌀 소비량은 감소하기 시작하여 1인당 연간 쌀 공급량은 1980년에 133kg이었으나 2001년에는 88.9kg으로 이 경향은 계속되고 있다. 일본과 대만의 1인당 쌀 소비량 감소에 비하면 아직도 더 감소할 여지가 충분히 있다. 또한 국내 쌀 생산증가와 2004년 WTO 쌀 재협상에 따른 쌀의 수입 등은 수급불균형을 더욱 초래할 것으로 예상된다.

따라서 본 연구에서는, 식이섬유가 함유된 현미에 버섯의 균사체를 배양한 버섯 쌀을 개발함으로써 쌀의 부가가치를 높이고, 추출 및 정제과정을 거칠 필요가 없이 바로 식품으로서 섭취할 수 있는 기능성식품의 개발을 위한 기초연구를 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 균주

본 연구에 사용한 균주는 농업기술연구소에서 분양받은 *G. lucidum* 7094였고, 영남대학교 생물공학연구실에서 계대배양하면서 사용하였다.

### 2. 균사배양

균의 보존용 배지로는 MYG배지(malt extract 1.0%, yeast extract 0.4%, glucose 0.4%, agar 1.5%)를 사용하였다.

### 3. 고체재료의 수분함량 조절

고체 재료인 현미는 4℃에 보관하면서 사용하였으며, 10배 무게량의 냉수(18℃) 및 끓는 물(98℃)에 각각 침지시키면서 시간의 경과에 따른 현미의 수분함량변화를 측정하였다. 수분함량의 변화는 침지시킨 현미 일정량을 꺼내어 표면수를 제거한 다음 멧돌 믹서기를 이용하여 분쇄하였고, 분쇄된 시료 3g을 수기에 담아 상압 가열건조법(신, 1983)으로 수분함량을 측정하였다.

### 4. 수분함량에 따른 균사의 성장속도

고체재료인 현미의 수분함량을 30~70%로 조절하여, 22×200mm 시험관에 무게 25g, 높이 13cm로 담고 121℃ 20분간 고압증기 살균하였다.

균사접종은 MYG배지에서 6일간 배양된 균사의 가장자리 일정 부위를 5mm cork borer로 절단하여 시험관에 담긴 고체재료의 윗부분에 2개씩 접종하였으며, 시험관상에서 12일간 28℃ 항온기에서 정치배양 하였다.

### 5. Glucosamine의 정량

고체배양에서는 액체배양에서와 달리 균체량을 측정하기가 어려우므로, 균체량을 측정하기 위한 방법으로 담자균의 세포벽에 함유되어있는 glucosamine을 정량함으로써 시료중의 균체량을 측정하고자 하였다. MYG배지에서 배양된 균사를 위와 같이 cork borer로 절단하여, 수분함량을 조절한 현미 45g이 담긴 100ml 삼각 플라스크에 2개씩 접종한 다음 8일간 배양하였다. 배양된 시료를 송풍건조시킨 후 멧돌 믹서기로 분쇄하고 이 중 0.5g을 취하여 Bishop등(1982)의 방법을 변형하여 glucosamine함량을 측정하였다.

즉, 균사가 자란 시료 0.5g을 시험관에 담고 acetone 9ml를 첨가하여 2분동안 흔들어진 다음 3000rpm에서 2분동안 원심분리하였으며, 시료는 9ml acetone으로 재현탁하여 원심분리하는 동작을 반복하였다.

시료중의 acetone을 휘발시킨 후 4ml 농축 KOH(10g KOH/4ml)로 현탁하고 121℃에서 15분동안 가압살균한 후 방냉하였다. 시료는 얼음으로 냉각한 75% ethanol 8ml로 녹여 ice-bath에서 15분 동안 방치하였고, 75% ethanol 60ml에 3g의 celite 545를 섞어서 2분 동안

방치한 celite 현탁액 0.9ml를 시료의 윗부분에 살며시 얹은 다음, 2℃, 3000 rpm에서 10분 동안 원심분리 하였다.

Pellet은 얼음 냉각한 40% ethanol 8ml로 재현탁하여 5분 동안 vortex mixing하고 2℃, 3000 rpm에서 10분동안 재원심분리한 후 10ml의 냉각한 증류수로 세척, 원심분리하는 과정을 두 번 반복하였다. 남은 부분은 증류수를 가하여 1.5ml가 되게 조정하였고 여기에 5% KHSO<sub>4</sub> 1.5ml와 5% NaNO<sub>2</sub> 1.5ml를 첨가하였다. 혼합물은 15분 동안 vortex mixing한 후 2℃, 3000 rpm에서 2분 동안 원심분리 하였다.

상등액 1.5ml를 12% NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub>NH<sub>2</sub> 0.5ml와 혼합하고 5분동안 vortex mixing한 후, 여기에 0.5% 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone(MBTH) 0.5ml를 첨가하고 혼합하였다.

혼합물을 끓는 물 속에서 3분동안 반응시킨 후 냉각시켰고, 여기에 0.5% FeCl<sub>3</sub> 0.5ml를 첨가하여 실온에서 30분동안 방치 후 UV-vis spectrophotometer (UV-1201, SHIMADZU)을 사용하여 650nm에서 흡광도를 측정하였다.

흡광도는 glucosamine HCl 표준곡선을 이용하여 환산하였으며 시료 0.5g에 들어있는 glucosamine의 µg으로 표현하였다. 1.5ml 증류수에 준비된 표준용액은 5% KHSO<sub>4</sub> 1.5ml와 5% NaNO<sub>2</sub> 1.5ml로 처리한 후 상기 공정에 따라 진행하였다.

## 6. 현미자체와 담자균배양 현미의 유리당 조성 변화

현미자체와 영지버섯 균사체가 배양된 현미의 유리당 조성 변화를 측정하였다. 담자균이 배양된 현미의 유리당 조성을 측정하기 위하여 현미배지에서 영지버섯 균사체를 28℃, 20일간 정치배양하였으며, 40℃에서 송풍 건조 후 마쇄하여 시료로 사용하였다. 비교균으로 사용된 현미 자체는 균사 접종 후 121℃에서 5분간 다시 고압살균하여 균사의 생장을 정지시켰으며, 균사를 배양하는 현미와 동일하게 28℃ 배양기에서 20일 동안 정치 후 40℃에서 송풍 건조, 마쇄하여 분석에 이용하였다. 시료는 Soxhlet 장치를 이용하여 탈지시킨후, 상기 방법과 동일하게 처리하여 유리당 측정에 이용하였다. 당 분석용 표준시약은 Merck제 arabinose, glucose, sucrose, inositol, trehalose, maltose, galactose, fructose, melibiose 였으며 Table 1의 조건으로 분석하였다.

Table 1. Operating conditions of HPLC for sugar analysis

Operating conditions	
Instrument	High performance liquid chromatograph (Young-In HPLC 9500 system)
Column	WATO 44355 Carbohydrate(4.6×250 mm)
Column temperature	35 °C
Mobile phase	80 % acetonitrile
Flow rate	1.0 ml/min
Detector	RI(RID-6A, Shimazu)

### 7. 관능검사

영지균사체가 배양된 현미를 쌀에 일정량씩 혼합하여 취반하고 관능검사를 실시하였다. 영지버섯쌀이 첨가된 밥의 기호도 조사는 버섯쌀의 첨가량을 달리하면서 각각의 시료에 대하여 맛과 조직감, 종합적 기호도에 대하여 5점 기호 척도법을 실시하여 15명의 훈련된 관능검사요원에 의하여 평가하였다. 평가는 아주 나쁘다(1점), 나쁘다(2점), 보통이다(3점), 좋다(4점), 매우좋다(5점)로 하였으며, 관능검사 결과의 통계처리는 ANOVA Test를 이용하였고, Duncan's Multiple Range Test로 유의성을 검정하였다.

## Ⅲ. 결과 및 고찰

### 1. 일반성분 분석

담자균사 배양용 현미의 수분함량, 조단백질, 조지방, 탄수화물, 조회분을 분석한 결과는 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of the brown rice

Moisture	Protein	Fat	Carbohydrates		Ash
			Nonfibrous	Fiber	
14.31	7.00	2.77	73.45	1.12	1.35

## 2. 현미 배지의 수분함량 조절

### 1) 냉침 시간에 따른 곡물의 수분함량

대부분의 곡물은 수확후 건조된 상태로 저장하였다가 가공할 때에 침지 및 가열과정을 거치는데, 콩의 경우 간장, 된장 등에 6-12시간, 템페(temph)는 3시간, 나토(natto)는 12시간, 두부는 4-13시간정도 침지하는 것이 보통이다. 본 실험에서 사용한 현미도 담자균이 생장하기 적합한 수분함량으로 조절하기 위하여 냉수에 침지하면서 수분함량 변화를 관찰하였다.

냉침시간에 따른 현미의 수분함량 변화는 Fig. 1과 같은데 10시간 냉침의 경우 hydration에 도달하였으나 최종 수분함량이 31%로서 활발한 균사성장을 위한 수분함량에는 도달하지 못하였다.

### 2) 온침 시간에 따른 곡물의 수분함량

곡물은 식용으로 이용하기 위하여 침지 및 가열공정을 거치게 되는데, 이때 조직은 연하게 되고 일부 항영양소 또한 파괴된다. 그러나 장시간의 침지 및 조리방법은 대량생산의 경우 많은 시설투자와 노동력의 소모가 크며, 침지에 의한 수용성 영양분의 손실과 과다한 가열의 경우 영양성분이 파괴되는 등의 부작용도 따르게 된다. 따라서 처리 공정의 간편화와 시간절약이 필요하므로 본 실험에서는 침지시간의 단축을 위하여 온침에 의한 곡물의 수분함량 변화를 관찰하였다.

온침에 의한 현미의 수분함량은 Fig. 2에 나타난 바와 같이 40분만에 65%의 수분함량을 보여 균사성장에 적합하였다. 침지시간이 길어질수록 침지온도가 상승할수록 전분질 등의 수용성 고형분의 용출이 증가하였는데, Quast와 da Silva(1977)는 콩의 침지중 일정시간후 콩의 무게감소는 침지중 수용성 물질의 손실에 기인하는 것이라고 보고하였다. 본 실험에서도 침지시간이 경과할수록 현미의 수용성 물질 용출이 눈에 띄게 증가하기 시작했다.

따라서 전분질이 많이 함유된 곡물은 가공적성을 고려한 침지시간의 조절이 더욱 필요할 것으로 생각되었다.

한편 현미를 물에 침지시키지 않고 삼각플라스크에 담아, 일정량의 수분을 첨가한 다음 autoclave를 실시하였다. 이 경우 전분질의 용출로 인하여 곡물립자들이 엉겨붙어, 담자균을 배양할 고체담체로 이용하기에는 적합하지 않았다.

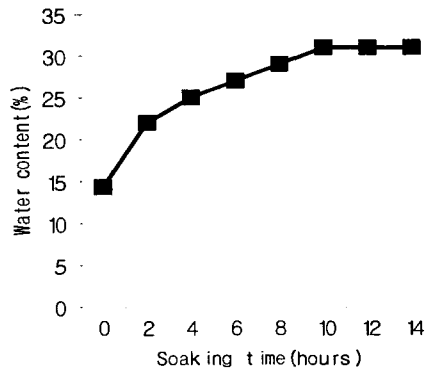


Fig. 1. Water content of the brown rice on soaking time in 18°C cold water

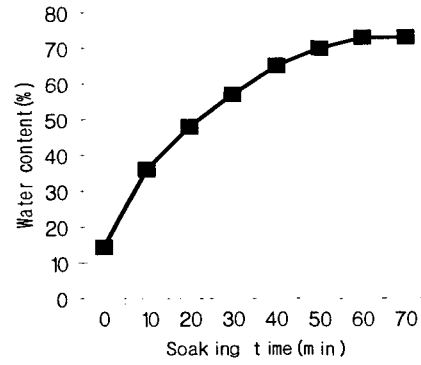


Fig. 2. Water content of the brown rice on soaking time in boiling water

### 3. 수분함량에 따른 균사의 성장속도

현미의 수분함량에 따른 균사성장 속도는 Fig. 3과 같이, 60% 이상의 수분함량에서 큰 차이가 없었으나 육안을 통해 본 균사의 밀도는 수분함량이 65%일때 전반적으로 양호한 경향을 나타내었다. 수분함량에 따른 균사의 성장속도는 현미를 냉침하였을 경우 전체 수분함량이 부족하여 균사성장 속도가 다소 부진하였으며, 온침에 의하여 수분함량을 조절하였을 때 균사생장이 더욱 촉진되었다.

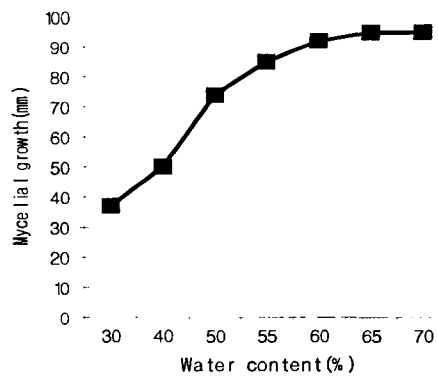


Fig. 3. Mycelial growth of *Ganoderma lucidum* on various moisture contents of the brown rice after 12 days of incubation at 28 °C

#### 4. 균사성장에 따른 glucosamine 함량

고체배양에서 균사체량을 측정하기 위해 *Ganoderma lucidum* 7094 균주를 Fig. 4와 같이 액체배양 후 수분함량이 조절된 현미에 접종하여 담자균의 세포벽에 함유되어 있는 glucosamine 함량을 측정하였다.

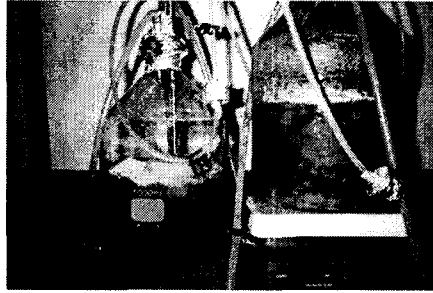


Fig. 4. Mycelial growth of *Ganoderma-lucidum* on liquid media

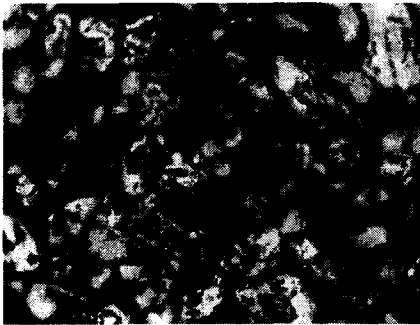


Fig. 5. *Ganoderma lucidum* mycelia cultured in the brown rice

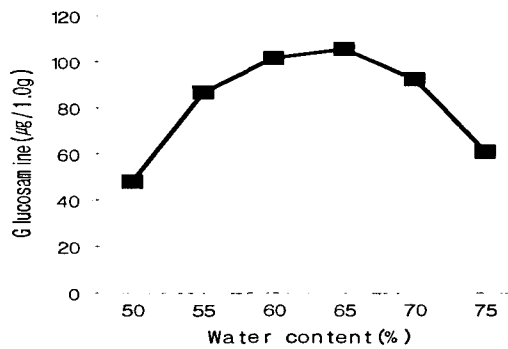


Fig. 6. Glucosamine content of *Ganoderma-lucidum* according to water content of the brown rice

현미의 수분함량에 따라 균사를 배양한 다음(Fig. 5), 시료를 회수하여 glucosamine 함량을 측정한 결과(Fig. 6) 수분함량이 65%일 때 glucosamine의 함량이 가장 높게 나타났다. 이것은 수분함량에 따른 균사성장 속도시험에서 수분함량이 65%일 때 균사성장속도가 가장 양호한 결과와 일치하는 것으로 고체담체를 이용한 *G. lucidum*의 균사성장을 위해서는 수분함량을 65%로 조절하여 균사를 배양하는 것이 균사성장속도 및 균사체량의 측면에서



가장 적절한 배양방법이라고 사료된다. 그러나 현미의 고유한 기호성 및 이용성을 고려하여 수분함량을 조절하고 배양하는 것이 담자균을 함유한 기능성식품의 개발을 위해서 매우 중요하므로 이러한 측면이 모두 고려되어야 할 것으로 사료된다.

### 5. 곡물자체와 담자균배양 곡물의 유리당 조성 변화

곡물 자체의 유리당과 담자균 배양 곡물의 유리당 조성을 비교한 결과, 담자균사체가 배양된 곡물의 경우에 전체적으로 총 유리당 함량이 증가하였다.

현미의 경우 Fig. 7에서와 같이, 곡물 자체에서 검출되지 않았던 trehalose가 담자 균사체를 배양한 현미에서 검출되었고, arabinose의 함량이 영지버섯이 배양된 현미에서 1,074.7 mg%로 나타나, 검출된 전체 유리당의 82.2 %를 나타내었으며, 현미 자체의 arabinose 함량에 비하여 큰 폭의 증가(20배)를 보였다.

본 실험결과, 담자균이 배양된 곡물에서 inositol 함량이 증가하였는데, 이는 일반적으로 phytate 함량은 미생물에 의해 감소되며 2~3개월간 발효시킨 간장과 된장의 phytate 함량이 원료콩의 약 40 % 수준으로 낮아졌다는 보고(김 등, 1994), 청국장 제조과정에서 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus licheniformis*의 혼합균주로 발효시켰을 때, 단백질의 이용율을 감소시키며 무기물의 흡수를 저해하는 것으로 알려진 phytic acid의 함량이 현저히 감소하였다는 보고(정 등, 1990; 조 등, 1996) 등을 고려할 때에, 본 실험에서 나타난 담자균 배양 곡물에서의 inositol 함량 증가도 곡물에 함유된 phytic acid가 영지버섯 균사체에 의하여 다소 분해된 때문으로 사료되었다.

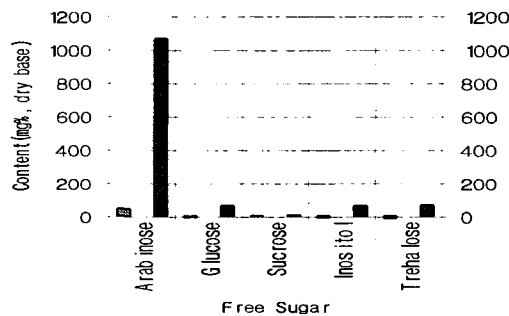


Fig. 7. Comparison of free sugar content in brown rice fermented with mycelia of the *Ganoderma lucidum*

## 6. 버섯쌀 첨가량에 따른 기호도 검사

영지버섯 균사체를 배양한 영지버섯쌀을 일반미에 첨가량을 달리하여(0%, 10%, 20%, 30%, 40%) 취반하였다. 가수량 1.4배로 동일한 가수량과 가열조건으로 취반하여 관능검사를 실시한 결과 버섯쌀이 전혀 포함되지 않은 밥이 가장 기호도가 좋았으며, 버섯쌀을 첨가할 경우는 20%를 첨가한 밥이 가장 기호도가 우수하여 취반시 영지버섯쌀을 첨가할 경우는 20%정도의 비율로 첨가하여 잡곡밥처럼 건강식으로 먹는 것이 가장 좋은 것으로 사료되었다.

Table 2. Sensory evaluation of the rice which the Ganoderma lucidum-Rice is added

	Sample				
	A	B	C	D	E
Taste	3.83 <sup>a</sup>	3.50 <sup>a</sup>	3.67 <sup>a</sup>	3.20 <sup>a</sup>	2.38 <sup>a</sup>
Texture	4.17 <sup>a</sup>	3.55 <sup>ab</sup>	3.67 <sup>ab</sup>	3.18 <sup>ab</sup>	2.33 <sup>c</sup>
Overall	4.27 <sup>a</sup>	3.47 <sup>ab</sup>	3.84 <sup>ab</sup>	3.15 <sup>ab</sup>	2.17 <sup>c</sup>

A: addition of 0% Ganoderma lucidum-Rice    B: addition of 10% Ganoderma lucidum-Rice  
 C: addition of 20% Ganoderma lucidum-Rice    D: addition of 30% Ganoderma lucidum-Rice  
 E: addition of 40% Ganoderma lucidum-Rice

## IV. 요약

현미를 이용하여 영지버섯의 균사성장에 적합한 고체배양 조건실험을 실시하였다. 냉침에 의하여 현미는 최종 수분함량이 31%로 10시간 만에 hydration time에 도달하였으며, 온침의 경우 40분 만에 65%의 수분함량이 되어, 균사배양에 적합한 수분함량에 도달하였다.

수분함량에 따른 균사성장속도 및 균사체량(glucosamine 함량) 측정에서는 수분함량이 65%일 때 균사성장속도 및 균사체량 측면에서 가장 양호한 결과를 나타내었다.

현미에 영지버섯 균사체를 배양한 결과 현미 자체에서 검출되지 않았던 trehalose가 검출되었으며, arabinose함량이 큰 폭으로 증가하였다.

일반미에 영지쌀을 첨가할 경우는 20% 첨가가 가장 기호도가 높은것으로 나타났다.

## ABSTRACT

Brown rice was used as material for solid-substrate cultivation of *Ganoderma lucidum*. The hydration time with cold water appeared to be 10 hours for brown rice, but the final water content was much less than optimum water content(65%). Hot water reduced the hydration time of brown rice, and the water content reached to 65% within 40 mins. From this result, hot water was better than cold water for the hydration of brown rice. We attempted to develop a practically applicable process by combining the soaking and sterilization. The water content of 65% appeared to be the best for the growth of the fungi and production of glucosamine related to the amount of mycelium.

The content of free sugar increased far more in brown rice fermented with mycelium than in brown rice which was not fermented.

Addition was most suitable 20% when add mushroom-rice to brown rice.

## 참고문헌

- 김희승, 윤재영, 이서래 : 대두의 조리가공에 따른 phytate 함량 및 단백질 소화율. 한국식품과학회지, 26(5), 603(1994)
- 박상신, 유국현, 민태진. 1998. 버섯추출물의 항산화활성에 관한 연구. 한국균학회지 26(1):69-77
- 신효선 : 식품분석. 신광출판사, 70(1983)
- 이신영. 1996. 버섯 유래 향암 다당류의 특성과 생산. Biotechnology News 3: 95-109
- 이현진, 김종식, 허건영, 이경복, 이인구, 송경식. 1999. 담자균 추출물의 prolyl endopeptidase, acetulcholine esterase 저해 및 항혈전 응고활성. 한국농화학회지 42(4): 336-343
- 이권행, 정훈, 김영일, 김병각. 1991. 산업폐자원을 이용한 발효에 의한 영지의 항고 혈압 성분의 생산. 한국균학회지, 19(1), 79
- 정지훈, 강성국, 김용순, 정희중 : 청국장 제조과정에서의 Bacterial Phytase에 의한 Phytic acid의 분해. 한국산업미생물학회지, 18(4), 423(1990)

- 조영훈, 이종욱 : 대두의 phytate 함량에 미치는 microwave heating의 영향. 한국농화학회지, 39(1), 32(1996)
- Bishop, R.H., Duncan, C.L., Evancho, G.M. and Young, H. : Estimation of Fungla Contamination in Tomato Products by a Chemical Assay for Chitin. *J. Food Sci.*, 47, 437(1982)
- Fukuda, K., Uematsu, T., Hamada, A., Akiya, S., Komatsr, N. and Okubo, S. : The polysaccharide from *Lampteromyces japonicus*. *Chem. Pharm. Bull.*, 23(9), 1955(1975)
- Jorge O. Toth, Bang Luu, et Guy Ourisson. 1983. Triterpenes cytotoxiques de *Ganoderma lucidum*(Polyporaceae). *Tetrahedron Letters*, 24, 1081
- Saito, K., Nishijima, M. and Miyazaki, T. : Structural analysis of an acidic polysaccharide from *Ganoderma lucidum*(strdies on fungal polysaccharides. XXXV). *Chem. Pharm. Bull.*, 37(1), 3134(1989)
- Suzuiki, I., Hashimoto, K., Oikawa, S., Sato, K., Osawa, M. and Yadomae, T. : Antitumor and immunomodulating activities of a  $\beta$ -glucan obtained from liquid-cultured *Grifola frondosa*. *Chem. Pharm. Bull.*, 37(2), 410(1989)
- Quast, D.G. and da Silva, S.D. : Temperature dependence of hydration rate and effect of hydration on the cooking rate of dry legumes. *J. Food Sci.*, 42, 1299(1977)