

느타리버섯의 향암수목자원 배지속 함유성분의 분해능 평가

신유수*, 양보현, 강보연, 김현수, 이지현, 홍윤표, 이상원, 이찬중, 김승유
농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부

Metabolizing analysis according to the sawdust media of the known anticancer trees by *Pleurotus ostreatus*

Yu-Su Shin*, Bo-Hyun Yang Bo-Yeon Kang, Hyun-Soo Kim, Ji-Hyun Lee, Yoon-Pyo Hong, Sang-Won Lee, Chan-Jung Lee, Seung-Yoo Kim

Department of Medicinal Crop Research, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Eumseong 369-873, Korea.

(Received December 3, 2011, Revised December 9, 2011, Accepted December 15, 2011)

ABSTRACT: The transitivity of Chemical constituents by *Pleurotus ostreatus* cultivated in different raw sawdusts, which are *Juglans mandchurica*, *Cudrania tricuspidata* and *Lindera glauca*, was investigated. The HPLC chromatography patterns on the chemical constituents of *P. ostreatus* showed the similar chromatography patterns in all different raw sawdusts and control sawdust. The unknown chemical constituents of *P. ostreatus* cultivated in the 10%, 20% mixed medium added 10%, 20% different raw sawdusts, respectively, were increased. But the significance results in the mixed medium added 50% different raw sawdusts were not showed. The chromatography patterns of mycelia grown in media added the 80% MeOH extracts of three tree species showed the similar patterns in comparison with control mycelia. In the results, the secondary metabolites of functional media were not degrade and changed to other derivatives compounds by *P. ostreatus*.

KEYWORDS : *Pleurotus ostreatus*, Anticancer effect, Aterivative compound, Transitivity

서론

느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)의 생산은 톱밥을 이용한 병재배가 주를 이루고 있으며, 기존의 톱밥과 미강위주에서 최근에는 콘코브, 면실박, 면실피, 비트펠프 등 다양한 재료를 사용하고 있으며, 수입의존도가 증가하고 있다(정종천 등, 2010). 느타리버섯의 재배에 이용되는 톱밥에는 주로 미루나무톱밥, 미송톱밥이 사용되고 있으나, 최근에는 이들 재료의 확보에 어려움과 농산부산물물을 버섯 재배에 이용하는 연구가 이루어지고 있다(정 등, 1989; 조 등, 1996; 송 등, 1993; 이 등, 1994; 박 등, 1992). 농산물의 1차가공 후 나오는 폐농산물 및 버섯재배에 1차적으로 사용되었던 톱밥배지를 다시 다른 버섯의 톱밥배지에 재사용하는 등 농산부산물물을 이용하여 폐기되는 자원을 재활용하고 농산부산물 자체가 가지고 있던 기능성 성분을 이용한 기능성 버섯 가공식품 개발에 연구가 진행되고 있으나, 기능성 성분이 담자균류인 버섯에 의해 분해되거나 다른 유도체화합물로 이행성은 아직 구명되지 않고 있다.

최근, 수목자원종 가래나무, 구지뽕나무 및 감태나무 등

의 향암효과가 알려지면서 이들 자원을 활용한 기능성식품 소재개발 및 버섯의 톱밥재배 원료로서 이용하여 기능성 버섯 생산 및 가공식품 개발에 활용하려는 연구가 진행되고 있다.

본 연구는 톱밥배지재료로서 향암효과가 있다고 알려진 가래나무(*Juglans mandchurica*), 구지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*) 및 감태나무(*Lindera glauca*)를 이용하여 재배된 느타리버섯의 용매추출에 의한 성분변화를 분석하였으며, 또한 톱밥배지원료 추출물을 이용하여 생육된 느타리버섯 균사체의 함유성분 변화를 검토하였다.

재료 및 방법

시험균주 및 종균제조

시험에 사용한 균주는 국립원예특작과학원 버섯과에 보관하고 있는 춘추느타리2호(*Pleurotus ostreatus*)를 공시균주로 사용하였다. 실험균주를 PDA 평판배지에서 7일간 배양후 미루나무톱밥과 미강혼합배지(80:20, v/v)를 250ml 삼각플라스크에 100ml 가량을 담아 121°C에서 40분간 살균한 배지에 접종하여 20일간 배양한 후 접종원으로 사용하였다. 동

* Corresponding author (totoro69@korea.kr)

Table 1. Substrates composition and its ratio of mushroom growth media

Composition of substrate	mixed ratio(%)
Pine sawdust(PS)+Rice barne(RB)	80 : 20
Pine sawdust(PS)+tree species+Rice barne(RB)	70 : 10 : 20
Pine sawdust(PS)+tree species+Rice barne(RB)	60 : 20 : 20
Pine sawdust(PS)+tree species+Rice barne(RB)	30 : 50 : 20

일한 톱밥배지를 Polypropylene 배양병(850ml)에 10g씩 접종하여 25일간 배양하여 시험용 종균으로 사용하였다.

톱밥배지 조제 및 버섯 생육

톱밥배지 재료는 가래나무(*J. mandshurica*), 구지뽕나무(*M. tricuspidata*), 감태나무(*L. glauca*)를 사용하였으며 조성비는 Table.1과 같다. 각각의 배지재료를 일정한 비율로 혼합하여 수분함량을 65% 내외로 조절하였고, 850 ml PP(Polypropylene)병에 병목까지 동일한 압력으로 담아서 처리당 160병씩 제조하여 실험용으로 사용하였다. 혼합하여 입병된 배지를 121℃에서 90분간 고압살균 후 20℃ 내외로 냉각하고 종균을 접종하였다. 배양은 온도 25℃, 상대습도 60%로 조절된 배양실에서 25일간 배양하였다. 배양이 완료된 배지는 균굽기를 한 후 생육실(온도 15℃, 상대습도 90%, CO₂농도 1000ppm)로 옮겨 발이 및 자실체 발생을 유도하였으며, 자실체 발생 후 상대습도를 85%로 낮추어 재배하였다.

추출물 첨가배지의 균사 생육

균사체에 의한 기능성물질의 이행가능성을 검토하기 위해 기본배지로 Potato dextrose broth(Difco)을 사용하였고, 가래나무, 구지뽕나무, 감태나무의 톱밥 500g을 80% MeOH로 24h, 3회 정지추출 후, 여과지(ADVANTEC No.5)로 여과 후 감압농축하였다. 수목자원 추출물의 농도는 2mg/ml로 만들어 첨가하였다. 추출물 배지에서 균사배양을 위하여 PDB 액체배지 50ml에 추출물을 첨가하여 배지를 조제한 후 121℃에서 15분간 가압살균 후 사용하였으며, 접종원은 PDA 평판배지에서 생육한 균사체를 직경 5mm의 stainless steel pipe로 mycelium disk를 만든 다음, 이 disk 5개를 50ml의 추출물배지를 넣은 250ml 삼각플라스크에 접종하여 25℃ 항온기에서 정지 배양하였다.

HPLC 분석 시료 조제

각각의 수목자원 톱밥배지에서 생육된 느타리버섯을 동결건조 후 80% MeOH로 추출한 후 감압농축하여 HPLC 분석 시료로 사용하였다. 배양 30일 후 균사체의 배양액을 여지(Whatman no. 4)를 사용하여 증류수로 3회 세척 후 감압여과하여 균사체를 회수하였다. 균사체는 동결건조후 분

쇄기로 파쇄하여 99.9% MeOH(B&J ACS) 50mL로 추출 후 농축하여 HPLC(Agilent 1200, USA) 분석시료로 사용하였다. 여액내에 잔존하는 추출물의 성분 패턴을 조사하기 위하여 여액과 chloroform 100mL를 분별깔때기에 넣고 교반 후 chloroform층을 감압농축 후 HPLC 분석시료로 사용하였다.

HPLC 분석조건

1) 톱밥배지 생육 느타리버섯

3종의 톱밥배지에서 생육한 느타리버섯의 HPLC분석은 기기: Agilent 1200 series, 컬럼: YMC ODS J'sphere H80(4.6×150mm, 4um), 컬럼온도: 40℃, UV: 203nm, gradient solution:ACN/H₂O, 19-100(v/v), flow:1ml/min, injection volume:10μL의 조건으로 분석하였다.

2) 균사체 및 여액 추출물 분석

3종의 톱밥배지에서 생육한 느타리버섯의 HPLC분석은 기기: Agilent 1200 series, 컬럼:Waters symmetry C18 (5μ m, 4.6mm I.D * 250mm), 컬럼온도: 40℃, UV: 가래나무, 구지뽕 균사체-→300nm, 여액추출물-→200nm, 감태나무 균사체-→220nm, 여과액추출물-→210nm, gradient solution: ACN/ H₂O, 15-100(v/v), flow:1ml/min, injection volume:20μL의 조건으로 분석하였다.

결과 및 고찰

톱밥배지 배지 생육 자실체분석

각각의 수목자원 톱밥배지에서 생육한 느타리버섯의 함유성분에 대한 HPLC 패턴 분석 크로마토그래피는 Fig.1과 같다. 각각의 톱밥배지에서 재배한 느타리버섯의 함유성분이 일반톱밥배지에서 재배한 느타리버섯의 함유성분과 비교하여 성분 변화는 나타나지 않았다. 이는 느타리버섯균이 3종의 수목자원 톱밥배지의 함유성분을 분해 또는 다른 유도체화합물로 전환되지 않는 것으로 사료된다.

3종의 수목자원 톱밥배지의 조성비에 따른 느타리버섯 함유성분의 변화를 분석한 결과를 Fig.2에 나타냈다. 톱밥배지의 재료 조성을 10%에서 20% 혼합한 배지에서 재배한

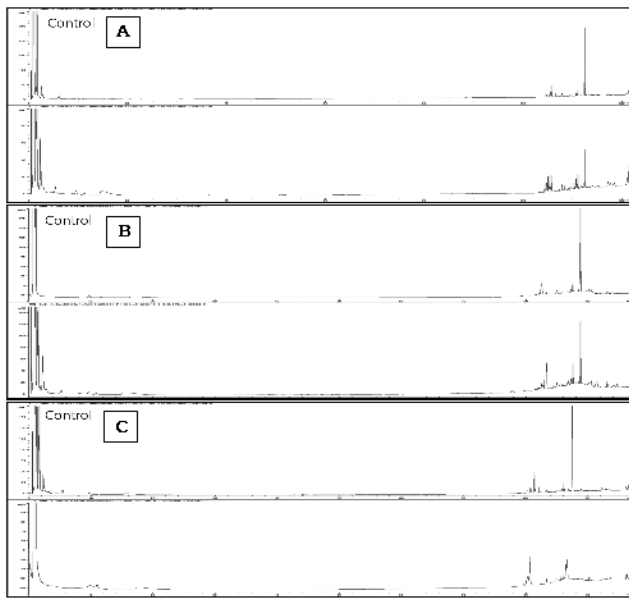


Fig. 1. HPLC analysis of *P. ostreatus* by growing at tree species media. A: *J. mandchurica*, B: *C. tricuspidata*, C: *L. glauca*

느타리버섯의 함유성분 중 Unknown 화합물들은 증가 하였으나, 50% 첨가한 배지에서는 유의성 있는 결과는 나타나지 않았다. 또한, 대조구 느타리버섯과 각각의 기능성 배지 중 원료를 10~50% 첨가한 배지에서 재배한 느타리버섯의 함유성분 변화 크로마토그래피는 느타리버섯 자체에서 생산하는 성분이 원료 첨가량이 많을수록 감소하는 경향을 나타냈다. 이는 톱밥배지의 원료인 수목자원의 함유성분 중 미지화합물이 느타리버섯의 생육에 영향을 주는 것으로 추정된다.

추출물첨가 균사체 및 여액의 HPLC 분석

3종의 수목자원의 원료 추출물을 액상배지에 첨가하여 생육한 균사체와 여액의 HPLC 크로마토그래피를 Fig.3과 Fig.4에 나타냈다. 톱밥배지의 원료추출물을 액상배지에 첨가하여 생육한 느타리버섯 균사체의 함유성분에 대한 HPLC 크로마토그래피를 비교분석한 결과 저분자 및 고분자화합물영역의 RT에서 차이점이 나타나지 않았다. 또한 여액의 액상 추출물의 분석결과도 무첨가 여액추출물과 유사한 크로마토그래피 패턴을 나타냈다.

담자균류인 느타리버섯이 글루코스등이 붙은 배당체화합물을 분해 할 수 있는 것으로 보고되었으나, 항암효과가 있다고 알려진 가래나무, 구지뿡나무 및 감태나무 등에는 배당체 화합물이 소량 및 미량으로 함유되어 있어 분해 및 다른 유도체화합물로의 이행은 나타나지 않았다. 또한 저분자량의 RT영역대에서도 무첨가와 거의 동일한 패턴을 나타내어 분해 및 다른 유도체화합물로의 이행이 나타나지 않았다.

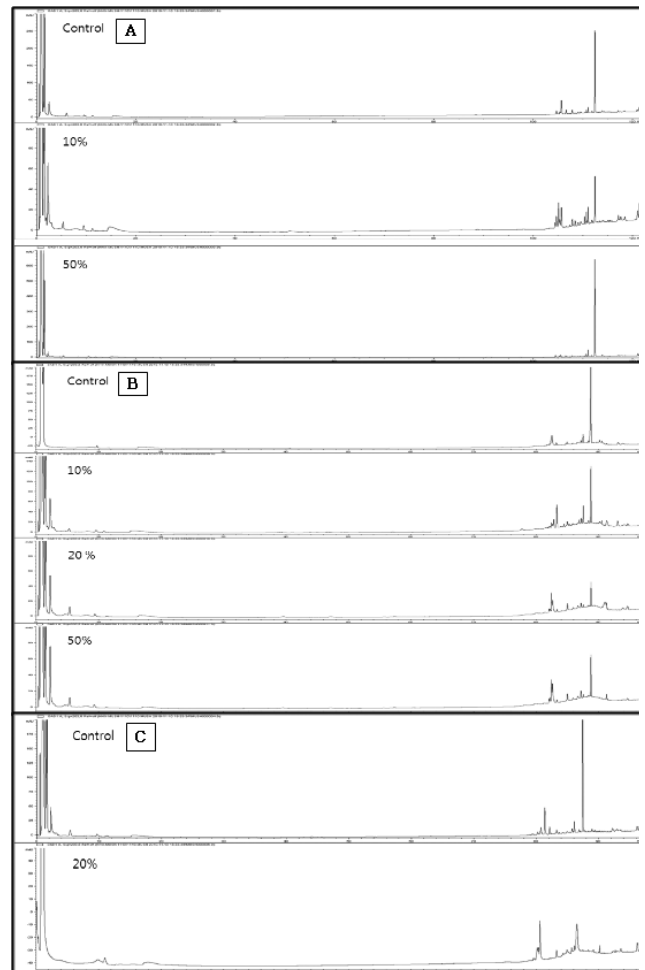


Fig. 2. HPLC pattern analysis of *P. ostreatus* according to the substrates composition ratio. A: *J. mandchurica*, B: *C. tricuspidata*, C: *L. glauca*

적요

가래나무(*J. mandchurica*), 구지뿡나무(*C. tricuspidata*), 감태나무(*L. glauca*)는 최근 항암효과가 있다고 보고되고 있는 수목자원이다. 한방에서는 가래나무 수피를 말린 것을 추목피라하며, 소염성 수렴과 해열, 눈을 맑게 하는 등의 효능이 있어 장염, 이질, 설사, 눈이 충혈하고 붓는 통증 등에 처방하고 있으며, 주요성분으로 naphthoquinones, naphthalenyl glucosides, α -tertalonyl glucopyranosides, diarylheptanoyl glucopyranosides, flavonoids 등의 페놀성 화합물들이 보고되었다. 구지뿡나무는 한방에서 자양, 강장의 효능이 있으며, 신체허약증, 정력감퇴, 불면증, 시력감퇴 등에 효과가 크며, 부인병 치료와 항암치료에도 처방되고 있다. 구지뿡나무의 주요 성분으로 근피에서 새로운 iso-prenylated xanthone 화합물인 cudraxanthone A, B, C, D, H, I, J 및

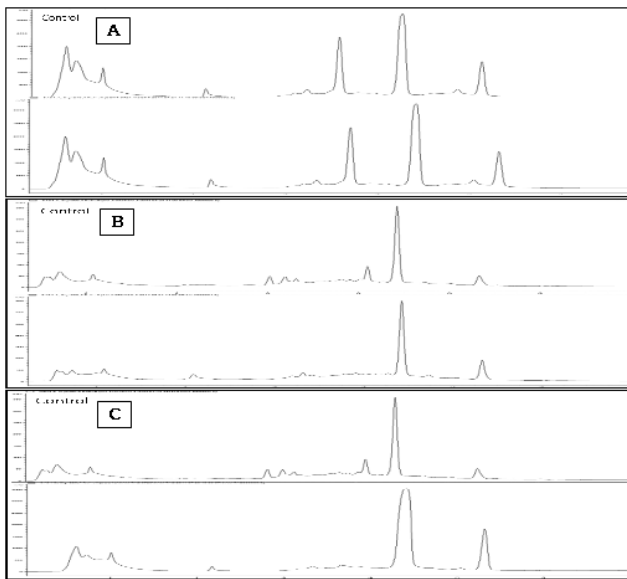


Fig. 3. HPLC analysis of mycelium by added 80% MeOH extract in PDB media. A: *J. mandchurica*, B: *C. tricuspidata*, C: *L. glauca*

K 그리고 isoprenylated flavone 화합물인 cudraflavone A, B cycloartocarpesin, populnin, quercimetrin 등이 알려졌으며, 목부에서는 β -sitosterol glucoside, arthocarpesin, norarthocarpetin, 5-O-methyl genistein 등이 분리되어졌다. flavonoid, morin, kaempferol-7-giucoside, populnin, stachydrine, proline, glutamic acid, arginine, asparaginic acid 등의 화합물들이 보고되었다. 또한, 감태나무는 한방에서 열매를 산호초라 하며, 염증을 삭히며 통증을 없애는 효능이 있어, 풍습성 관절염이나 신경통, 손발이 저린 곳, 관절통과 근육통, 배가 차갑고 아픈 곳, 여성의 산후통과 뼈가 허약한 곳이나 허리와 무릎이 아픈 곳에 처방하고 있다. 감태나무의 주요 성분으로 지방유, 정유, cineol, caryophyllene bornylactate, camphene pinene, limonene 등의 화합물들이 보고되었다.

본 연구는 항암효과가 알려진 가래나무, 구지뽕나무, 감태나무를 느타리버섯의 새로운 톱밥배지자원으로서 활용하여 이들 자원의 함유성분이 담자균류인 느타리버섯에 의해 분해되거나 다른 유도체화합물로 이행되는지를 검토하였다. 3종의 수목자원의 톱밥배지에서 재배한 느타리버섯과 공시재료를 80% 메탄올로 추출하여 조추출물을 조제하고 이를 액체배지에 첨가하여 생육한 느타리버섯 균사체를 HPLC분석 시료로 사용하였다. HPLC를 이용하여 공시재료들의 함유성분들의 크로마토그래피 패턴을 비교 분석한 결과, 가래나무, 구지뽕나무, 감태나무 톱밥배지에서 생육한 느타리버섯은 각각의 수목자원 톱밥배지속의 함유성분을 분해 또는 다른 유도체화합물로 이행시키지 않는 것으

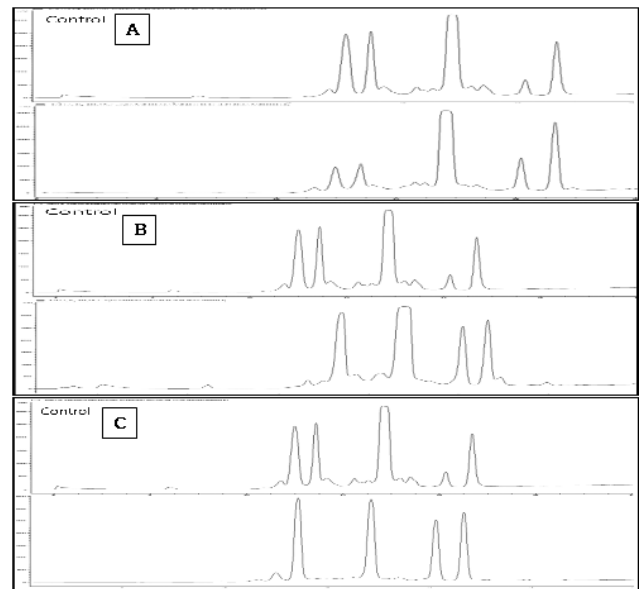


Fig. 4. HPLC analysis of filtrates by added 80% MeOH extract in PDB media A: *J. mandchurica*, B: *C. tricuspidata*, C: *L. glauca*

로 나타났다. 또한, 수목자원 추출물을 첨가하여 액상배지에서도 느타리버섯 균사체가 이들 추출물의 성분을 분해 또는 다른 유도체화합물로 이행은 나타나지 않았다. 그러나 이들 추출물은 느타리버섯 균사체의 생육에 영향을 주어 느타리버섯 균사체의 2차대사산물의 생성 및 억제를 하고 있음을 나타냈다.

참고문헌

- 정종천, 전창성, 이찬중, 오진아. 2010. 버섯 병재배 배지재료의 이화학적성과 활용. 한국균학회지. 38(2) : 136-141.
- 박원목, 송치현, 현재욱. 1992. 표고버섯의 영양생리 및 기질개발. 한국균학회지 20 : 77-82.
- 송치현, 이창호, 허태린, 안장혁, 양한철. 1993. 팽나무버섯 자실체 생산을 위한 기질개발. 한국균학회지 21 : 212-216.
- 이재운, 안원근, 이재동. 1994. 맥주효모 추출물을 이용한 표고버섯 균사체의 심부배양에 관한 연구. 한국균학회지. 22 : 266-275.
- 정환재, 박정식, 박용환. 1989. 느타리버섯재배 재료 개발시험. 농기연연구보고서(생물부편) pp 598-602.
- 조우식, 윤영석, 유영현, 박선도, 최부술. 1996. 사과 가공부산물 첨가배지 팽이버섯의 균사생장과 자실체에 미치는 영향. 한국균학회지. 24 : 223-227.