

ORIGINAL ARTICLE

표고버섯 균사체 배양기간에 따른 PDB 배지 내 유리 아미노산 변화

오태석 · 박윤진¹⁾ · 김태권¹⁾ · 안승원²⁾ · 김창호 · 조용구 · 장명준*

공주대학교 식물자원학과, ¹⁾공주대학교 두과농비자원연구센터, ²⁾공주대학교 원예학과

Changes of Free Amino acid in PDB Medium by *Lentinula edodes* (Sanjo 701ho) Cultivation period

Tae-Seok Oh, Youn-Jin Park¹⁾, Tae-Kwon Kim¹⁾, Seung-Won Ann²⁾, Chang-Ho Kim, Yong-Koo Cho, Myoung-Jun Jang*

Department of plant Resources, Kongju National University, Yesan 32439, Korea

¹⁾Green Manure and Legumes Resource Center, Kongju National University, Yesan 32439, Korea

²⁾Department of Horticultural Science, Kongju National University, Yesan 32439, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the changes in the amount of 20 free amino acids in PDB (Potato Dextrose Broth) medium during the incubation period while cultivating *Lentinula edodes*. The total incubation period was 90 days, and the total amount of free amino acids was confirmed every 45 days. Among the 18 kinds of amino acids whose increase and decrease patterns were confirmed, 10 amino acids were increased compared to that in the control, among which cysteine increased from its initial value of $9,889 \pm 3 \mu\text{g/L}$ to $12,909 \pm 2 \mu\text{g/L}$ at 45 days and $29,256 \pm 4 \mu\text{g/L}$ at 90 days. Six amino acids with decreased expression patterns were identified. Arginine decreased to $83,751 \pm 2 \mu\text{g/L}$ after 45 days from its initial value of $161,787 \pm 1 \mu\text{g/L}$ and to $79,055 \pm 7 \mu\text{g/L}$ at 90 days.

Key words : Cultivation period, *Lentinula edodes*, Free amino acid

1. 서론

버섯은 자실체를 형성하는 고등균류로서 탄수화물과 단백질, 지질 등의 영양소를 고루 함유하고 있고, 맛과 향적인 측면에서도 뛰어난 기능성을 가지고 있으며, 무기질, 비타민, 아미노산 등 인체에 중요한 영양성분을 고루 가지고 있는 식품으로 알려져 있다(Breene, 1990; Oh

and Lee, 2005; Kim et al., 2017). 표고버섯(*Lentinula edodes*)은 담자균류 주름버섯목 낙엽버섯과 표고 속에 속하는 버섯으로 특유의 향과 맛을 가지고 있어, 기호성이 높은 버섯으로서 최근 원목재배에서 톱밥재배로 전환되고 있는 실정이며, 재배방식이 톱밥재배로 전환됨에 따라 대량으로 인공재배가 가능하여 그 생산량은 계속 증가하고 있다(Tian et al., 2015). 표고버섯은 독특한

Received 22 March, 2019; Revised 15 April, 2019;

Accepted 15 April, 2019

*Corresponding author: Myoung-Jun Jang, Department of plant Resources, Kongju National University, Yesan 32439, Korea
Phone : +82-41-330-1204
E-mail : plant119@kongju.ac.kr

The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.
© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

맛과 향으로 인해 가공식품으로써 연구가 주목받고 있으며, 더불어 항암작용 물질인 렌티난(lentinan)과 콜레스테롤을 낮춰주는 에리타데닌(eritadenin)을 함유하고 있어 약용으로도 사용되고 있다(Park et al., 2011). 표고버섯의 영양성분 중 아미노산은 단백질을 이루는 구성성분으로서 신진대사 과정에서 에너지 생성을 위한 영양소로 알려져 있는데, α -아미노산은 아미노단백질을 구성하는 원료로 20여종이 있으며, 또한 Leucine, Methionine, Valine, Isoleucine, Lysine, Threonine, Phenylalanine, Histidine, Tryptophan 등 아홉 가지는 인체 내에서 합성되지 않는 아미노산으로 음식물로 섭취하여야만 하는 필수 아미노산이다(Park et al., 2017).

표고버섯에 대한 연구는 자실체뿐만 아니라 표고버섯의 균사체에 대한 연구와 버섯의 배지에 대한 연구도 진행되고 있다. 표고의 성분 중 아미노산에 관한 국내 연구는 Pyo and Ro(1975)에 의한 식용버섯류의 아미노산에 관한 연구, Hong et al.(1989)에 의한 양송이, 느타리, 표고버섯의 유리아미노산 및 전아미노산의 조성에 대한 연구 등 표고버섯 자실체의 성분에 대한 연구들이 있었는데, Cho et al.(2002)은 버섯의 생육시기에 따라 총 아미노산의 함량이 변화가 생긴다고 하였으며, Lee et al.(1994)은 표고버섯의 균사체 배양 시 맥주효모를 이용함으로써 아미노산의 증감을 확인하였다. 또한, Park(2014)은 톱밥배지에 아미노산을 첨가함으로써 자실체 내에서의 아미노산 변화를 확인하였다. 현재 표고버섯의 톱밥 재배 시 집종원균은 주로 PDA배지에서 배양을 하게 되는데, 이러한 표고재배에 이용되는 일반적

인 배지상태의 아미노산 변화 양상은 향후 자실체에도 영향을 미치게 된다(Yoon et al., 2010; Jo and Shin, 2017). 본 연구에서는 표고균사체를 PD (Potato Dextrose Broth) 배지를 이용하여 표고 생육기준인 90일에 맞춰 액체배양을 하고 액체배양 시 배양 기간에 따른 유리아미노산의 증감양상을 확인하여 액체종균을 이용한 톱밥 재배 시에 필요한 기초자료를 확보하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 균주 배양

실험에서 사용한 균주는 농촌진흥청 버섯과에서 분양 받은 산조701호(ASI3305)를 PDA 평판배지에서 5일간 배양($25 \pm 1^\circ\text{C}$)한 후 균사의 생육이 80% 이상 진행된 플레이트를 선택하여 사용하였다. 균사체배양에 사용된 액체배지는 PDB (Potato Dextrose Broth)를 사용하였으며, 121°C 에서 20분간 고압멸균 후 20°C 내외로 냉각하여 PDA 평판배지에서 배양한 산조701호(ASI3305)를 cork borer를 이용하여 5 mm로 잘라 50 ml의 PDB가 들어있는 삼각플라스크에 옮겨 넣은 후 온도가 조절되는 Shaking incubator(IS-2100R, Jeio Tech, Korea)를 이용하여 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 배양하였다. PDB를 Control로 하였으며, 표고버섯 재배 기간인 3개월에 준하여 90일간 배양하면서 45일 단위로 유리 아미노산의 총 함량을 확인하였다.

2.2. 아미노산 분석

아미노산의 분석은 액체배양에 사용한 PDB 중 10 ml

Table 1. Operating conditions for the analysis of free amino acids by high speed amino acid analyser

High speed amino acid analyser : Model L-8900	
Column	4.6 mm I.D. 60 mm L.*1 Packed with Hitachi custom ion exchange resin
Pump	Delivery pressure; 0 to 30 MPa (0 to 306 kgf/cm ²) Flow rate range; 0.000 to 0.999 mL/min
Column oven	System; Peltier Temperature setting range; 20 to 85°C (in 1 °C steps)
Reaction unit	System; Electronic heating (reaction column) Temperature setting; 50 to 140°C (in 1°C steps)
Photometer	Spectrophotometer; Aplanatic concave diffraction grating Wavelength; 570 nm, 440 nm Analyzer

Table 2. Expression level of free amino acids of 90 days of culture in PDB medium

Amino acid name	Control(PDB) (ug/L)	45 days (ug/L)	90 days (ug/L)
Aspartic acid	71,136±3	74,532±1	165,034±2
Threonine	82,722±4	100,495±4	194,638±1
Serine	87,194±3	90,254±2	131,097±1
Glutamic acid	180,963±2	223,595±2	343,507±3
Sarcosine	0	39,907±1	110,002±3
Glycine	48,609±1	51,499±2	108,621±4
Alanine	113,446±2	108,485±4	144,558±2
Citrulline	0	2,548±6	0
Valine	111,297±2	112,513±3	195,674±6
Cysteine	8,811±3	22,330±2	25,895±4
Methionine	26,878±2	0	0
Isoleucine	92,135±3	76,461±1	86,381±5
Leucine	274,831±1	170,215±5	147,334±3
Tyrosine	39,470±2	47,183±4	61,904±4
Phenylalanine	148,264±5	109,917±1	115,241±3
Lysine	221,903±2	155,265±7	161,116±1
Histidine	25,970±4	20,761±3	42,075±1
Arginine	160,419±1	97,525±2	81,442±7

을 시료로 취하여 원심분리(3,000 rpm/10 min) 후 상등액을 사용하였다. 원심분리 한 상등액에 5배의 증류수를 가하여 희석 후 5% trichloroacetic acid (TCA)를 동량 넣어 2배로 희석한 뒤 12,000 rpm/15 min 처리하여 상등액을 분리하였으며, 이 상등액에 n-hexane을 처리하여 지질 및 색소 등 비극성 물질을 제거하였다. n-hexane을 처리한 시료는 0.2 µm Syringe filter 후 HITACHI L-8900 Amino Acid Analyzer를 사용하여 유리아미노산을 분석하였다. 아미노산의 분석 조건은 Table 1과 같다.

3. 결과 및 고찰

표고버섯 균사체 액체배양 시 배양기간에 따른 배지 내 유리아미노산의 변화 양상을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 본 연구에서 표고버섯 균사체 배양액의 아미노산은 Asp, Thr, Ser 등 20종이 검출되었다. 본 연구에서 확인된 20종의 아미노산 중 90일간의 배양을 통해 PDB

배지 내에서 아미노산의 증감은 18종의 아미노산으로, 이는 필수 아미노산 중 Tryptophan을 제외한 Leucine, Methionine, Valine, Isoleucine, Lysine, Threonine, Phenylalanine, Histidine 등의 8종의 필수 아미노산과 비 필수 아미노산인 Aspartic acid, Serine, Glutamic acid 등을 포함하여 총 18종의 아미노산의 증감이 확인되었다. Cho et al.(2002)은 생육시기별로 표고버섯의 유리아미노산을 분석하였을 때, 총 17종의 아미노산을 확인하였으며, Kim and Seo(2016)는 표고 수집종에서 총 16종의 유리아미노산이 검출되었다고 하였는데, 본 연구에서는 PDB상에서 균사체를 배양한 액체배지 내 유리아미노산 함량을 측정된 것으로 액체배지 내 아미노산의 구성이 기존의 일반적인 표고버섯 자실체의 아미노산 구성과는 차이가 있는 것으로 보인다.

0일차의 PDB배지 내의 유리아미노산을 control로 보았을 때, 증감양상이 확인된 18종의 아미노산 중 control 대비 그 양이 증가한 것은 Aspartic acid, Serine, Sarcosine, Cysteine 등 10종이었다. 대표적으로 황 함유

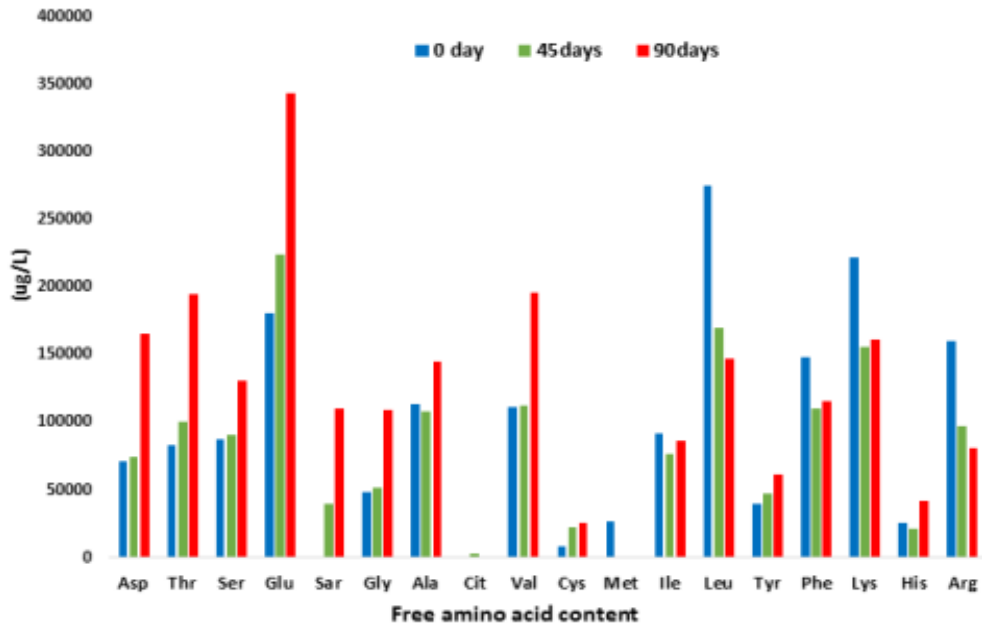


Fig. 1. Changes in free amino acids during 90 days of culture in PDB medium.

아미노산인 Cysteine의 경우 최초 $8,811 \pm 3$ ug/L에서 45일후에는 $22,330 \pm 2$ ug/L, 90일에는 $25,895 \pm 4$ ug/L로 증가하는 양상을 보였다. 그러나, Cysteine과 같이 황을 함유하는 아미노산인 Methionine의 경우 배양 45일부터 배지 내에서 발견되지 않았는데 이는 액체배지 내 표고 균사체가 성장하며 Methionine을 이용하고, 이로 인해 시간이 지남에 따라 액체배지 내에서 Methionine을 확인할 수 없는 것으로 판단된다. 또한, 배양 기간 중 발현양상이 감소되는 것은 Phenylalanine, Lysine, Arginine 등 6종으로 대표적으로 Arginine은 최초 $160,419 \pm 1$ ug/L 이었으나 45일후에는 $97,525 \pm 2$ ug/L, 90일에는 $81,442 \pm 7$ ug/L로 감소하는 것을 확인할 수 있으며, Citrulline은 최초 배지 내에는 측정되지 않았으나 이후 배양 45일차에 $2,548 \pm 6$ ug/L로 확인되었다. 그러나 배양 90일에는 액체배지 내에서 Citrulline이 확인되지 않았다. 향후 배양과정 중 균사체의 아미노산 증감양상을 확인해 볼 필요가 있을 것으로 보인다. Aminuddin et al.(2007)은 배지재료를 달리하여 표고버섯(*Lentinula edodes*) 균사체를 액체 배양하였을 때, 균사체 내에서 총 16종의 아미노산을 보고하였으며, 배지 재료가 변화함에 따라 아미노산의 양 또한 변화하는 것을 확인하였다. 본

실험에서는 균사체의 아미노산을 분석한 것은 아니나 균사체의 배양과정에서 발생하는 아미노산의 변화양상을 확인하는 것으로 추후 배양기간별 균사체 내의 아미노산의 함량을 측정하는 실험이 진행하여 비교가 필요할 것으로 판단되어진다.

4. 결론

표고버섯(*Lentinula edodes*) 균사체를 PDB상에서 90일간 배양을 하며 PDB배지의 아미노산의 변화에 대해 조사를 하였다. PDB배지 내에서 확인된 20종의 아미노산 중 18종의 증감양상이 보였으며, Tryptophan을 제외한 Leucine, Methionine, Valine, Isoleucine, Lysine, Threonine, Phenylalanine, Histidine 등의 필수 아미노산을 포함하고 있었다. 배양기간이 지남에 따라 아미노산의 양이 증가한 것은 Serine, Sarcosine, Glycine 등 10종의 아미노산으로 Phenylalanine, Lysine, Arginine 등 6종은 배양기간 중 배지 내에서 아미노산의 양이 감소되고, 또한 Citrulline은 배양기간 중 최초 배지 상에서는 발견되지 않았으나, 45일차에는 아미노산이 측정되었고 90일차에서 측정되지 않는 것을 확인할 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 2017년도 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2017R1D1A3B03034601).

REFERENCES

- Aminiddin, H., Mohd Khan, A., Abidin, H., Madzlan, K., Suri, R., Kamal, M. K., Nor Ajila, S., 2007, Effect of different rates of agitation on mycelium growth and amino acid composition of *Lentinula edodes* in submerged cultures, *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 35, 139-146.
- Breene, W., 1990, Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms, *Journal of Food Protection*, 53, 883-894.
- Cho, D. B., Hyun, K. H., Choi, J. H., Na, K. C., Seo, J. S., Kang, S. K., Kim, Y. D., 2002, Chemical compositions of *Lentinula* in growth stage - A study on application plan of *Lentinula* I -, *Korean journal of plant resources*, 15, 128-134.
- Hong, J. S., Kim, Y. H., Kim, M. K., Kim, Y. S., Sohn, H. S., 1989, Contents of Free Amino Acids and Total Amino Acids in *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*, *Korean journal of food science and technology*, 21, 58-62.
- Jo, H. G., Shin, H. J., 2017, Effect of addition amino acids on the mycelial growth and the contents of β -glucan and γ -aminobutyric acid (GABA) in *Sparassis latifolia*, *Journal of Mushrooms*, 15, 38-44.
- Kim, K. J., Seo, K. S., 2016, Free sugar, amino acid, and beta-glucan content in *Lentinula edodes* strains collected from different areas, *Journal of mushrooms*, 14, 27-33.
- Kim, K. J., Im, S. B., Yun, K. W., Je, H. S., Ban, S. E., Jin, S. W., Jeong, S. W., Koh, Y. W., Cho, I. K., Seo, K. S., 2017, Content of proximate compositions, free sugars, amino acids, and minerals in five *Lentinula edodes* cultivars collected in Korea, *Journal of mushrooms*, 15, 216-222.
- Lee, J. Y., An, W. G., Lee, J. D., 1994, Studies on the Submerged Culture of *Lentinula edodes* Mycelia in Brewer's Yeast Extract Medium, *The Korean journal of mycology*, 22, 266-275.
- Oh, S. I., Lee, M. S., 2005, Antioxidative and antimutagenic effects of *ganoderma lucidum* Krast extracts, *Korea Journal of food and nutrition*, 18, 54-62.
- Pyo, M. Y., Ro, I. H., 1975, A Study on the Amino Acid Contents of Edible Mushrooms, *The Korean journal of nutrition*, 8, 1.
- Park, Y. A., Lee, K. T., Bak, W. C., Kim, M. K., Ka, K. H., Koo, C. D., 2011, Eritadenin Contents Analysis in Various Strains of *Lentinula edodes* using LC-MS/MS, *The Korean Journal of Mycology*, 39, 239-242.
- Park, H. S., 2014, Morphological Characteristics and Functional Components Changes of Oyster Mushroom (*Pleurotus* spp.) by Using Sawdust Medium Which Contains Amino acid, MS Thesis, Konkuk University.
- Park, Y. A., Bak, W. C., Ka, K. H., Koo, C. D., 2017, Comparative analysis of amino acid content of *Lentinula edodes*, a new variety of shiitake mushroom, in 'Poongnyunko', *Journal of mushrooms*, 15, 31-37.
- Tian, Y., Zhao, Y., Huang, J., Zeng, H., Zheng, B., 2015, Effects of different drying methods on the product quality and volatile compounds of whole shiitake mushrooms, *Journal of Food Chemistry*, 197, 714-722.
- Yoon, D. Y., Park, K. M., Lee, J. H., 2010, Characteristics and Biological Properties of *Pleurotus eryngii* grown on Monosodium Glutamate-enriched Media, *The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering*, 25, 277-282.

-
- 오태석, 공주대학교 식물자원학과 부교수
ots1022@kongju.ac.kr
 - 박윤진, 공주대학교 두과농비자원연구센터 연구교수
cocono@naver.com
 - 김태권, 공주대학교 두과농비자원연구센터 대학원생
rlaxornjs1@naver.com
 - 안승원, 공주대학교 원예학과 교수
annsw@kongju.ac.kr
 - 김창호, 공주대학교 식물자원학과 교수
changho@kongju.ac.kr
 - 조용구, 공주대학교 식물자원학과 조교
choyk09@kongju.ac.kr
 - 장명준, 공주대학교 식물자원학과 조교수
plant119@kongju.ac.kr