

에르고스테롤함량을 송이버섯의 활성균권형성 평가지표로 리용하기 위한 연구

박금철, 김은혁, 김명성

위대한 수령 김일성동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《과학자들은 우리 나라의 현실이 요구하는 문제를 연구하여야 하며 우리 인민에게 필요한것을 만들어 내기 위하여 노력하여야 합니다.》(《김일성전집》 제35권 374페이지)

에르고스테롤은 식물이나 동물의 세포에는 없고 진균세포에만 존재하는것으로 하여 그 함량은 식물뿌리에서의 진균의 감염정도, 토양에서의 함량은 토양에 있는 진균의 균실체함량을 평가하는 지표로 흔히 쓰이고있다.[1, 4]

송이버섯은 살아있는 소나무와 공생관계를 이루는 균뿌리균으로서 소나무가 자라는 토양에 시로(Shiro)라고 불리우는 토양, 소나무뿌리, 송이버섯균실로 이루어지는 활성균권이 형성되어 균체량이 일정한 수준에 이르러야 자실체가 돋는다.[3] 이로부터 우리는 에르고스테롤함량을 송이버섯 활성균권의 형성정도를 평가하는 지표로 리용할수 있는가를 검토하였다.

재료와 방법

송이버섯활성균권흙은 함경북도 김책시 해연리에서 채취하였다.

송이버섯균구루는 2018년에 송이버섯자실체로부터 조직분리하여 얻은것이였다.

고체종균(질석종균)으로는 합성배지(포도당 2.0%, 효모추출물 0.5%, 펩톤 0.5%, KH_2PO_4 0.1%, CaCl_2 0.1%)에서 3개월동안 자래운것을 리용하였다. 검량선작성은 에르고스테롤표품(《Sigma》)을 0.8mg/mL의 농도로 맞추어 리용하였으며 분석장치는 HPLC(《Agilent 1220 LC》, 탭(《Eclipse plus C18》, ϕ 4.6mm×250mm, 5 μ m))를 리용하였다.

에르고스테롤추출은 선행방법[2]을 편리상 조금 수정하여 진행하였는데 먼저 시료를 105℃의 건조기에서 2h동안 향량이 될 때까지 말린 다음 균마하였다. 여기에 5% KOH가 들어있는 70% 염기성메타놀용액을 질량비로 30배 되게 넣고 85℃의 항온수욕조에서 1.5h동안 추출하였다. 이것을 8 000r/min에서 4min동안 원심분리하고 상청액을 같은 체적의 석유에테르로 2번 추출하였다. 석유에테르층을 갈라내어 합친 다음 70℃ 건조기에서 증발시킨 후 1mL의 에타놀(95%)을 넣어 HPLC분석을 진행하였다.

HPLC분석조건[2]은 다음과 같다.

검측파장은 282nm, 시료주입량은 10 μ L, 탭온도 25℃, 이동상으로 메틸알콜(HPLC급), 류속 1.0mL/min으로 하였다.

에르고스테롤표준용액의 주입량을 변화시키면서 HPLC표준검량선을 작성하고 이에 기초하여 에르고스테롤함량을 계산하였다.

결과 및 논의

1) HPLC분석을 위한 이동상의 선정

HPLC를 위한 이동상으로 이전의 방법에서 리용하던 아세토니트릴(HPLC급)대신 메타

놀(HPLC급)을 리용하였다. 에르고스테롤표품을 리용한 HPLC분석결과는 그림 1과 같다.

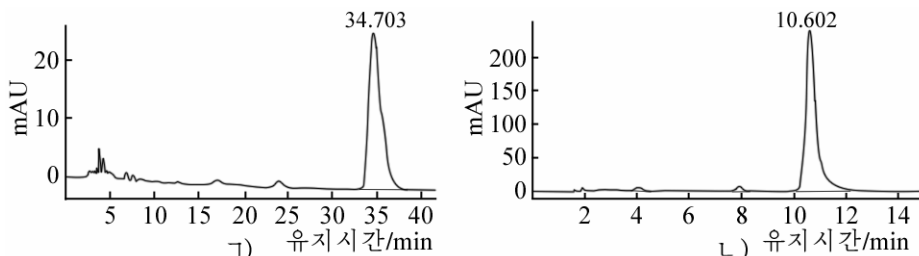


그림 1. 각이한 이동상에 의한 에르고스테롤표품용액의 HPLC상

ㄱ) 이동상이 아세토니트릴:메타놀:물=90:7:3인 경우, ㄴ) 이동상이 메타놀인 경우

그림 1에서 보는바와 같이 HPLC분석에서 이동상으로 메타놀을 리용하는 경우 탑에서 시료의 유지시간이 10.6min으로서 아세토니트릴을 리용할 때의 34.7min에 비하여 약 1/3로 단축되었다. 이것은 이동상으로 아세토니트릴대신 메타놀을 리용하는 경우 더 합리적이라는것을 보여준다.

2) HPLC분석을 위한 에르고스테롤표준검량선작성

HPLC분석에서 표준에르고스테롤용액의 주입량을 2, 4, 6, 8, 10 μ L로 하고 그에 따르는 탈착곡선의 봉우리면적을 기록하였으며 그 값에 기초하여 표준검량선을 작성하였다.(표 1과 그림 2)

표 1. 에르고스테롤표품의 주입량에 따르는 탈착곡선의 봉우리면적($n=3$)

주입량/ μ L	2	4	6	8	10
농도/(mg·mL ⁻¹)	0.16	0.32	0.48	0.64	0.80
봉우리면적(mAU)	1 336.52 \pm 6.94	2 676.37 \pm 4.84	4 127.57 \pm 12.23	5 538.27 \pm 6.23	6 959.06 \pm 3.34

그림 2에서 보는바와 같이 분석결과로부터 회귀방정식을 작성하면 $y=8\ 816x-104.54$ 였으며 상관결수는 $R^2=0.999\ 9$ 였다.

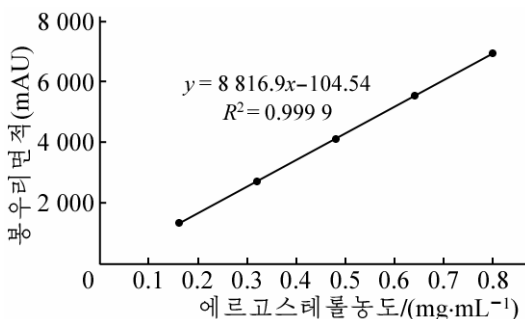


그림 2. 에르고스테롤의 HPLC표준검량선

한편 HPLC분석에서 에르고스테롤의 검출한계는 0.000 06mg/mL였다.

3) 균권흡과 인공적으로 자래운 송이버섯고체중균시료에서 에르고스테롤함량

균권흡과 인공적으로 자래운 송이버섯고체중균시료로부터 에르고스테롤을 추출하여 HPLC 분석(그림 3)을 진행하고 검량선에 기초하여 매 시료에서의 에르고스테롤함량을 계산한 다음 실지함량으로 환산한 결과는 표 2와 같다.

그림 3에서 보는바와 같이 모든 시료들에서 에르고스테롤에 해당되는 탈착봉우리(유지시간 10.6min부근)가 나타났다.

표 2에서 보는바와 같이 송이버섯이 돋는 소나무뿌리균권흡에서의 에르고스테롤함량은 (0.072 \pm 0.001)mg/g이었고 질석을 담체로 하여 인공적으로 자래운 송이버섯고체중균에서는 (0.074 \pm 0.001)mg/g으로서 송이버섯산지 균권흡에서의 함량과 차이없었다. 이로부터 송이버섯고체중균에서의 에르고스테롤함량이 0.070mg/g이상이면 활성균권이 형성되었다고 볼수 있으며 송이버섯재배에서 에르고스테롤함량을 활성균권형성평가지표로 리용할수 있다고 본다.

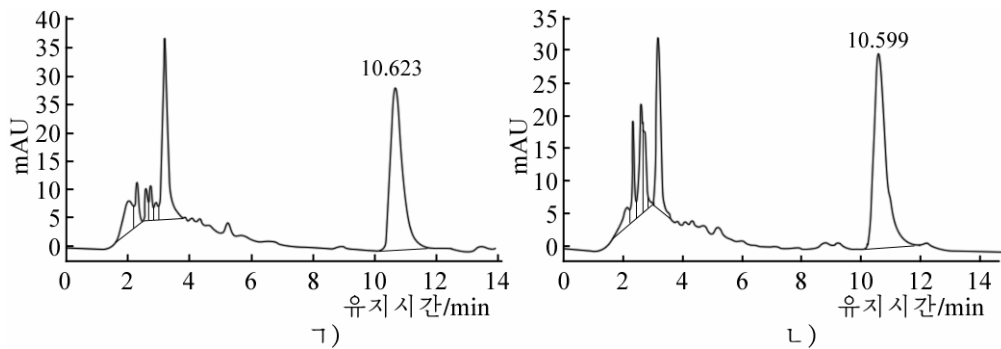


그림 3. 몇가지 에르고스테롤분석시료들의 HPLC상

ㄱ) 균권흙, ㄴ) 질석종균

표 2. 균권흙과 인공적으로 자래운 송이버섯고체종균시료의 에르고스테롤함량($n=3$)

시료	균권흙	질석종균
에르고스테롤함량 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	72.12 ± 1.23	73.81 ± 1.09

맺는 말

송이버섯고체종균에서의 에르고스테롤함량이 0.070mg/g 이상이면 활성균권이 형성되었다고 볼수 있으며 송이버섯재배에서 에르고스테롤함량을 활성균권형성평가지표로 충분히 리용할수 있다고 본다.

참고 문헌

- [1] X. R. Zhao et al.; Soil Biology and Biochemistry, 37, 311, 2005.
- [2] Jenny Ahlborn et al.; J. Food Sci. Technol., 2018. <http://doi.org/10.1007/s13197-018-3290-z>.
- [3] 弓明钦 等; 松茸, 云南科技出版社, 31~68, 1999.
- [4] 路秀玲 等; 食品与发酵工业, 27, 6, 45, 2000.

주체110(2021)년 1월 5일 원고접수

Study on Using Ergosterol Content as Estimating Index of Artificial Shiro Formation in *Tricholoma matsutake*

Pak Kum Chol, Kim Un Hyok and Kim Myong Song

If the ergosterol content in culture medium(based on vermiculate) of *Tricholoma matsutake* is more than 0.070mg/g , it can be considered the artificial shiro to form. Thus, the ergosterol content in culture of *Tricholoma matsutake* can be used as estimating index of artificial shiro formation.

Keywords: *Tricholoma matsutake*, ergosterol, shiro