

Air-lift Fermenter System을 이용한 *Ganoderma lucidum* 균사체의 심부배양에 의한 세포외 다당류의 생산 조건

†이 신 영 · 강 태 수¹ · 이 만 춘²

강원대학교 환경생물공학부 및 연세대학교 생물산업소재연구센터, ¹강원도 농촌진흥원, ²(주)면사랑
(접수 : 1998. 6. 5., 게재승인 : 1998. 9. 2.)

Condition of Exo-polysaccharide Production from Submerged Mycelial Culture of *Ganoderma lucidum* by Using Air-lift Fermenter System

† Shin-Young Lee, Tae-Su Kang¹, and Man-Chun Lee²

Division of Environmental and Biological Engineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
Bioproducts Research Center of Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

¹Kangwon Provincial RDA, Chuncheon 200-150, Korea

²Noodle Lovers Co

(Received : 1998. 6. 5., Accepted : 1998. 9. 2.)

For the efficient production of a new exo-polysaccharide from *Ganoderma lucidum* ASI 7004, the optimum conditions and methods in submerged cultivation were investigated with an airlift fermenter system. The optimum aeration rate was 2.5 vvm at the initial pH 5.0 and 28°C. The increase of dissolved oxygen concentration by pure oxygen supply during cultivation did not improved the exo-polysaccharide production and the mycelial growth. The maximum exo-polysaccharide production and the mycelial growth under the optimum culture condition were obtained in media of glucose 60g/L, yeast extract 6g/L, (NH₄)₂HPO₄ 1g/L and KH₂PO₄ 0.5g/L. Under these optimum medium and culture conditions, about 7.15g/L of exo-polysaccharide and 13.91g/L of mycelial growth were produced, respectively.

Key Words : *Ganoderma lucidum*, submerged cultivation, air-lift fermenter system, exo-polysaccharide

서 론

다공균과 불로초속에 속하는 담자균의 한 종인 영지버섯 (*Ganoderma lucidum*)은 옛부터 식용이나 한방 및 민간 생약의 우수 상품약으로서 널리 사용되어 왔는데, 최근에와서는 특히, 항균, 항바이러스, 콜레스테롤 저하, 혈압강하, 항혈전, 인터페론 유도, 면역증강 및 항종양 작용 등을 나타내는 약효성분이 규명되었고, 또 그 효과도 보고되었다(1-8). 따라서 점차 각종 기능성 식품소재 또는 의약품 소재로의 잠재적 가능성이 매우 높은 것으로 인식되고 있으며, 경제적인 대량 생산 공정 및 유효성분의 간편한 분리 정제 공정의 개발을 위한 연구의 필요성이 매우 높은 실정이다.

이와 관련하여 그동안의 버섯 채배법인 고체배양과는 달리 버

섯의 균사를 액체배지에 넣고 탱크중에서 배양하는 심부배양의 연구가 점차 활발히 행해지고 있는데(9,10), 이들 심부배양은 1948년 미국에서 Humfeld(11)가 *Agaricus campestris*에 대해 최초로 시도한 이래, 지금까지 60종 이상의 식용버섯에 대해 검토되었다(2, 4, 5, 9, 10).

영지버섯의 심부배양도 80년대 이후에 강 등(8), 정 등(12), 한 등(6) 및 Tseng(13)에 의하여 연구되었으며, 균사체 액체 배양물을 건조 분말 상품화하여 판매도 하고 있다. 그러나 그동안의 연구는 대부분 균사체 배양을 위한 심부배양이었으며, 세포외 다당의 생산을 위한 심부배양은 별로 연구된 바 없었다(14-20). 특히, 영지 버섯의 경우, 통기교반형 배양조에서는 세포외 다당의 생산시 그 생산량이 교반 날개나 방해판 등에 의한 균사의 손상 또는 단편화 및 각종 센서에 부착하여 생육하는 wall growth와 이에 의한 적정 펠렛 크기의 유지관란 등의 원인으로 플라스크 배양시 보다 1/3로 감소하였다(21,22). 그러므로 영지버섯의 액체배양으로부터 세포외 다당의 대량생산을 위하여는 impeller type 배양장치의 동력소모를 줄이며, 전단응력에 의해 균사체 펠렛의 파편화를 방지할 발효장치로서 기포통기형 배양장치(air-lift fermenter)가 적합한 것으로 생각되었

† Corresponding author : Division of Environmental and Biological Engineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Tel : (0361) 250-6273, Fax : (0361) 243-6350

e-mail: sylee@cc.kangwon.ac.kr

다. 이는 air-lift fermenter가 일반적으로 통기교반형 배양장치와는 달리 높은 전단응력장이 존재하지 않으므로, 국부적인 강한 전단응력으로 세포증식이 억제되는 경우나 파괴되는 경우에 유리하며, 특히, 균사가 펠렛상인 경우 액의 혼합, 균일화 및 산소공급도 비교적 용이하기 때문이다(23) 그러나 영지를 포함한 다른 버섯의 air-lift fermenter를 이용한 심부배양에 대하여는 거의 보고된 바 없다. 지금까지 air-lift fermenter를 이용한 버섯의 심부배양 연구로는 L. edodes의 균사체 배양에서 새로운 합성배지로 부터 균체의 수율을 플라스크배양시 보다 5배나 증가시켰음을 보고한 Song and Cho(24)의 연구와 표고버섯 균사체의 pilot scale 생산을 보고한 이 등(25)의 연구가 있을 뿐이다.

따라서 본 연구에서는 영지 균사체의 새로운 심부배양 장치로서 air-lift fermenter를 자체 제작하였고, 이 배양 장치에서 세포의 다량의 최대 생산 및 균사체의 최대 생육을 위한 배지 및 배양조건을 검토, 확립함으로써 영지버섯의 액체배양에 의한 세포의 생물 고분자 생산의 산업적 응용을 위한 기초 자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 보존

본 연구에 사용한 균주는 본 연구실에서 보관하던 *Ganoderma lucidum* ASI 7004으로, P.D.A.(potato dextrose agar)배지에서 30℃로 7일간 배양한 후, 4℃에서 보존하였고, 8주 마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다

배지조성

본 실험에서 종균배양 및 통기속도의 영향 실험에 사용한 배지는 이와 장(21)이 *G. lucidum* ASI 7004의 액체배양에 의한 세포의 다량 생산의 최적배지로 보고한 glucose 50g/L, yeast extract 5g/L, (NH₄)₂HPO₄ 1g/L 및 KH₂PO₄ 0.5g/L (pH 5.0)의 조성을 갖는 배지이다. 배지는 121℃에서 15분간 가압살균후 사용하였고, pH는 필요시 0.1N HCl 또는 0.1N NaOH로 살균 전에 조절하였다. 또 살균시 염의 침전을 방지하기 위하여 탄소원, 질소원, 무기염류는 각각 분리하여 살균한 다음, 혼합하여 사용하였다.

전배양

P.D.A 평판배지에서 생육한 균사체를 직경 5mm의 stainless steel pipe를 이용하여 mycelium disk를 만든 다음, 이 disk 4-5개를 20mL의 배지를 넣은 100mL 삼각 플라스크에 접종하였다. 30℃에서 100rpm으로 7일간 배양하여 증균배양액으로 하였고, 이것을 다시 50mL의 배지를 함유한 250mL 삼각 플라스크에 5%(v/v) 접종하고, 종균배양과 같은 조건으로 4일간 회전진탕배양하여 전배양액으로 하였다. 이때 전배양액은 균질기(동양(주), model 0820)로 30초 동안 균질화시켜 본 배양의 접종용으로 사용하였고, 매 실험마다 새로이 배양하여 사용하였다

Airlift Fermenter에서의 배양

Airlift Fermenter의 제작 : 본 연구에 사용한 배양장치는 impeller type fermenter에 비하여 shear stress를 줄이고, 산소

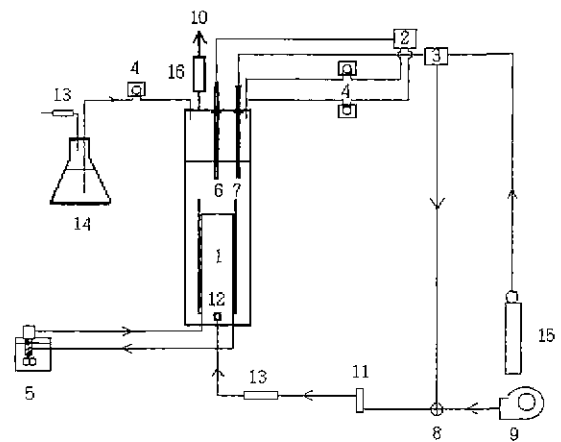
전달을 원활히 하며, 동력의 소모를 줄일 수 있는 airlift fermenter로, Chisti(26)의 concentric draught-tube internal-loop type을 개량하여 자체제작하였다. 이 장치의 개략도는 Figure 1과 같다

Fermenter의 전체부피는 3L이며, 내경(60mm)과 외경(90mm)의 직경비(D_i /D_o)는 0.667이고, 외경과 배양액까지의 높이비(H/D_o)는 4. 상승부와 하강부의 단면적비(A_u/A_d)는 0.8로 하였다.

Fermenter assembly는 3L 용량의 원통형 vessel로 구성되며, 재질은 경질유리를 사용하였다. 내부에는 1개의 draught tube를 설치하였고, 수직으로 고정된 stainless steel pipe를 통하여 온도를 조절하였다. 공기분산기는 원기동형의 sparger를 사용하였으며, 이의 배지내에서의 air bubble size는 2-7mm 정도이었다.

회분배양 : Air-lift fermenter를 이용한 회분배양은 발효조내의 working volume을 2L로 하고, 접종량 5%(v/v), 온도 28℃, aeration rate를 0.5-3.5vvm으로 변화시키면서 배양하였다. 용존산소의 농도는 배양조건하에서 공기를 주입하여 용존산소 농도가 안정되었을 때의 농도를 100%로 하여 % sat로 환산하여 나타내었다. 회분배양시에는 통기속도, 배지성분 및 조성, pH, 순수산소의 공급에 따른 영향을 각각 다음과 같이 조사하였다. Aeration rate의 영향은 공기주입 속도를 0.5-3.5vvm까지 0.5vvm씩 변화시켜 7일간 배양하면서 균사체의 무게, 다량의 생성량 및 잔존 glucose의 농도를 측정하여 검토하였다 이때 aeration rate의 증가에 따라서 발생하는 거품은 antiform 289(Sigma Co.)를 사용하여 제거하였다 배지의 pH는 살균하기 전에 0.5N HCl과 0.5N NaOH로 5.0으로 조절하여 사용하였다.

한편, 배지의 주성분인 glucose와 yeast extract의 농도가 균



- | | |
|---------------------------|--------------------|
| 1. Air-lift fermentor | 9 Air compressor |
| 2. pH controller | 10. Gas outlet |
| 3. DO controller | 11. Flow meter |
| 4. Peristaltic pump | 12 Sparger |
| 5. Temperature controller | 13. Air filter |
| 6. pH sensor | 14. Feed reservoir |
| 7. DO sensor | 15. Oxygen tank |
| 8 Three-way valve | 16. Condenser |

Figure 1 Schematic diagram of air-lift fermenter for submerged cultivation of *Ganoderma lucidum*.

사체의 생육, 세포의 다당의 생성 및 잔존 glucose에 미치는 영향은 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 1g/L로 고정된 후, 최적 통기조건에서 glucose와 yeast extract의 농도비가 기본배지에서와 같이 10:1이 되도록 각각의 농도를 10, 30, 50, 60, 90, 120 및 1, 3, 5, 6, 9, 12g/L로 변화시키고, 균사체 무게, 세포의 다당의 생성량 및 잔존 glucose 농도를 측정하여 조사하였다. *G. lucidum* 균사체 성장에 큰 영향을 미치는 yeast extract의 농도별 영향을 살펴 보기 위한 실험에서는 기본배지의 yeast extract 초기 농도를 0, 5, 10, 20 및 30g/L로 변화시키고 4일간 배양하면서 균사체의 무게, 생물 고분자의 생성량 및 잔존 glucose의 농도를 측정하였다. 이때, glucose가 균사체의 성장 및 생물 고분자의 생성량에 미치는 영향을 줄이기 위하여 glucose 농도는 30g/L로 낮추어 실험하였다. KH_2PO_4 농도의 영향은 KH_2PO_4 의 초기 농도를 0, 0.5, 1, 1.5 및 2g/L로 변화시켜 4일간 배양하면서 균사체의 무게, 세포의 다당의 생성량 및 잔존 glucose 농도를 측정하여 조사하였다. 용존산소의 영향은 배양초기에는 압축 공기만을 공급하며 배양하다가 초기의 용존산소 농도가 50% 이하로 떨어질 때부터 순수 산소와 공기를 혼합하여 2.5vvm으로 공급하면서 균사체의 생육 및 세포의 다당의 생성량을 측정하여 조사하였다. 이때, 압축공기와 순수 산소의 혼합은 DO controller에 의하여 순 산소의 공급량을 조절한 다음, 압축공기와 혼합하고, 기체 유량계로 fermenter에 공급되는 혼합공기의 양을 2.5vvm으로 일정하게 조절하였다.

분석방법

균체량은 배양액을 10,000×g에서 15분간 원심분리하여 침전된 균사체를 증류수로 2-3회에 걸쳐 수세한 다음, 70℃에서 24시간 건조하고, desiccator에서 칭량이 될 때까지 방치하여 건조증량을 측정하였다. 균사체의 pellet 크기는 Song and Cho(24)의 방법에 따라 grid를 이용하여 측정하였다. 또 세포의 다당은 원심분리하여 얻은 상등액에 2배량의 acetone을 가하여 침전물로부터 얻었으며, 균체량 측정에서와 마찬가지로의 방법으로 건조하여 측정하였다. 한편, 배양액중의 잔존 glucose의 농도는 glucose analyzer(YSI Co. model 2700)로 측정하였다.

결과 및 고찰

Aeration rate의 영향

Aeration rate를 0.5-3.5vvm범위에서 0.5vvm씩 변화시키면서 통기속도에 따른 균사체 증식 및 세포의 다당의 생성의 경시변화를 조사한 결과는 Figure 2와 같다. 통기속도와 관계없이 모든 aeration rate에서 가질인 glucose가 감소하면서 균사체의 생육은 배양 3-4일까지 급격히 증가하다가 4-5일부터 균사체의 생육이 둔화되었고, 배양말기인 6-7일에는 균체량이 서서히 감소되거나 유지되는 경향을 보였다. 또 세포의 다당의 생성도 균사체의 생육과 비슷한 경향을 나타내었다.

Table 1은 Figure 2를 기초로 서로 다른 통기속도에서 균사체 생육 및 세포의 다당 생산의 각종 배양 동력학적 변수를 구한 결과로, aeration rate 2.5vvm까지는 통기속도의 증가에 따라 균사체 증식 및 세포의 다당의 생산량도 증가하였다. 그러나 aeration rate 3.0vvm 이상에서는 다시 감소하는 경향을 보였는데, 이는 2.5vvm까지는 aeration rate이 증가함에 따라 산소전

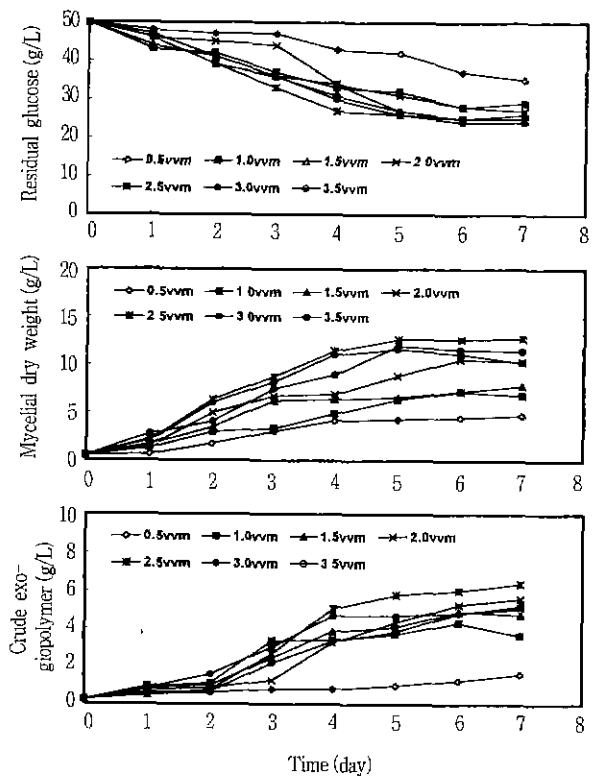


Figure 2. Time courses of the mycelial growth, crude exopolysaccharide production and glucose consumption by *G. lucidum* under batch cultivation with different aeration rates(vvm).

Table 1. Effect of aeration rate on the kinetic parameters of the mycelial growth and crude exo-polysaccharide production

Aeration rate(vvm)	X (g/L)	P (g/L)	μ (hr ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (g/g)	$Y_{P/S}$ (g/g)
0.5	4.67	1.60	0.012	0.251	0.107
1.0	6.77	3.66	0.022	0.358	0.196
1.5	7.77	4.91	0.027	0.367	0.217
2.0	10.27	5.60	0.042	0.410	0.243
2.5	12.72	6.38	0.053	0.490	0.256
3.0	11.92	5.22	0.042	0.421	0.201
3.5	11.58	5.06	0.041	0.426	0.211

달과 같은 물질전달의 균체생장에 미치는 효과가 크지만, 3.0vvm 이상에서는 이러한 효과 보다는 전단응력의 영향이 상대적으로 더 크기 때문이라고 생각되었다. 균사체 생육 및 세포의 다당의 최대값은 2.5vvm에서 얻어졌으며, 이때 각각의량은 12.7g/L 및 6.38g/L이었다. 이 결과는 이와 강(21)이 같은 균주로 impeller type의 jar fermenter에서 배양한 균사체량 및 세포의 다당 생산량인 6.5g/L 및 5.2g/L과 비교하면 각각 1.95배 및 1.22배 증가한 결과이다. 또한, 이 결과는 영지버섯의 균사체 배양물로부터 균체외성 다당류로 한 등(6)이 얻은 배양액 1.51당 987.5mg이나, Sone 등(27)이 영지 균사체의 액체배양시 세포의

분지형 glucan으로 얻은 양(390ng/L)에 비하면 수십배에 달하는 양이다. 아울러 Kechang(28)이 영지 균사체의 전탕배양으로 얻은 세포의 다당량인 1.13-1.92g/L에 비하여도 매우 많은 양이다 Song and Cho(24)도 새로운 합성 배지 및 air-lift fermenter를 이용한 *L. edodes*의 균사체 배양에서 균체의 수율을 플라스크 배양시보다 5배나 증가시켰음을 보고한 바 있다

한편, 대체로 통기속도가 증가함에 따라 비중식속도나 비생산 속도는 증가하였고, 기질의 소비속도도 증가하는 경향이였다. 2.5vvm 이하에서는 균사체의 생육에 비하여 세포의 다당의 생산이 많았고($Y_p/x = 0.5 \sim 0.7$), 균사체의 형태는 직경이 1.5-3mm의 펠렛을 이루었다. 반면, 3.0vvm 이상에서는 균사체의 생육에 비하여 세포의 다당의 생산이 적었으며($Y_p/x = 0.45$), 펠렛크기가 1-2mm이며, 펄프형으로 파편화되었다. 따라서 세포의 다당의 생산을 위하여는 적정 크기의 펠렛형 균사체를 유지하는 것이 중요한 것으로 생각되었으며, 이후의 배양은 최대의 균사체 생육 및 세포외 다당의 생산을 보인 공기급급 속도 2.5vvm으로 하여 실시하였다

배지 성분 및 조성의 영향

$(NH_4)_2HPO_4$ 를 1g/L로 고정한 후, glucose와 yeast extract의 농도비를 10:1로 유지하면서 기본배지중의 탄소원인 glucose를 각각 10, 30, 50, 60, 90 및 120g/L로 변화시키면서, 균사체 생육 및 세포외 다당 생성에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Figure 3과 같다. 배지의 초기 당 농도가 높아짐에 따라 균체생육도 증가하였으나 농도가 90g/L 이상이 되면 기질에 의한 저해로 균체의

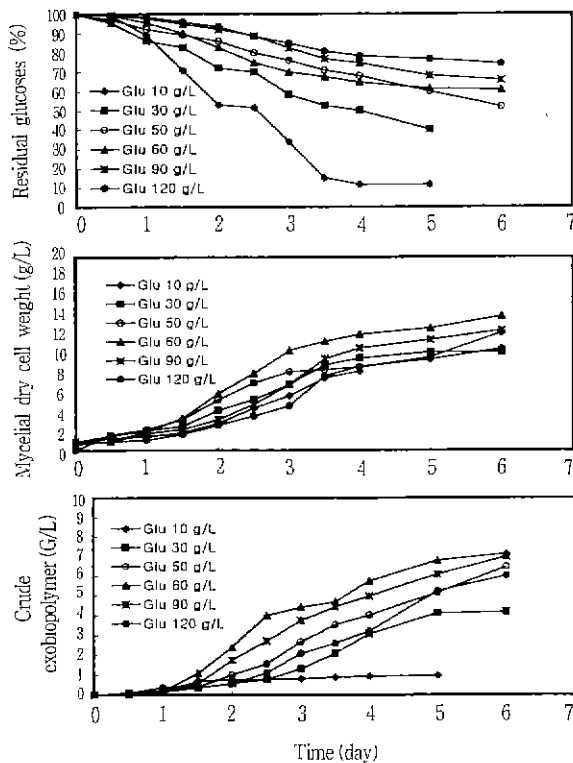


Figure 3 Time courses of the mycelial growth, crude exobiopolymer production and glucose consumption by *G. lucidum* under the batch cultivation with different glucose concentrations

생육이 감소하였고, 세포외 다당의 생산량도 균체에서와 마찬가지로의 경향을 보여서 glucose 농도 60g/L에서 최대의 균사체 생육 및 세포외 다당생성을 보였다. 잔존 glucose는 첨가량이 각기 다르므로 잔존 glucose의 %농도로 나타내었다. 이때의 균사체의 형태를 살펴보면 저농도의 당 농도에서는 펠렛의 크기가 2-4mm로 펠렛의 표면이 매끄러운 반면, 90g/L이상의 고농도 당농도에서는 크기가 1-3 mm로 저농도에서보다 상대적으로 작았으며, 표면은 거친 형태를 이루었다.

Glucose 및 yeast extract의 농도의 영향을 살펴보면, Figure 4에서 보는 바와 같이, 최대의 균사체 생육 및 세포외 다당 생성은 glucose 60g/L의 첨가구에서 얻어졌으며, 이때 각각의 값은 13.9 및 7.15 g/L이었다. 이 결과는 기본배지(glucose 50g/L)에서보다 균사체 생육 및 세포외 다당 생성이 각각 1.2 및 0.77g/L씩 상승한 것으로, 이후의 실험에서는 glucose 60, yeast extract 6, $(NH_4)_2HPO_4$ 1 및 KH_2PO_4 0.5g/L을 기본배지로 사용하였다 또한 glucose 농도 10g/L의 낮은 당농도에서는 잔존당의 농도비가 7.3%로 90%이상이 소비되었으나 당농도가 30, 50, 60, 90 및 120g/L로 높아질수록 잔존당의 농도도 41, 54, 61, 68 및 74%로 높아져 기질의 소비가 매우 낮아지는 특징을 보였다

한편, 당농도를 적게 하여 yeast extract의 농도별 첨가에 따른 균체량 및 세포외 다당의 생산량을 조사한 결과는 Figure 5와 같다. 이때, 당농도는 당의 영향을 적게하기 위하여 30g/L로 하였다. 균사체의 생육은 yeast extract 5g/L의 첨가구에서 12.04g/L로 가장 높았고, 세포외 다당의 생성은 yeast extract 10g/L의 첨가구에서 4.21g/L로 가장 높았다. 그러나 aeration rate 실험의 glucose 50g/L의 첨가구로부터 얻었던 6.38g/L의 세포외 다당 생성량에 비교하면 매우 낮은 값이었다. 잔존당의 농도는 yeast extract의 농도에 상관없이 거의 15g/L로 비슷하였다. 그러나 yeast extract 무첨가구에서는 균체생육이 2.5g/L로 매우 낮았고, 세포외 다당 생성량도 1.48g/L로 매우 적었다. 따라서 yeast extract는 균사체의 생육에 큰 영향을 미치는 것으로 판단하였고, 최적 yeast extract의 첨가농도는 최대 균체량을 나타내었던 5g/L로 하였다.

한편, 균사체의 형태에 있어서는 yeast extract 20g/L 농도이상의 첨가구에서는 펠렛의 크기가 작았으며, 펄프형의 모양이

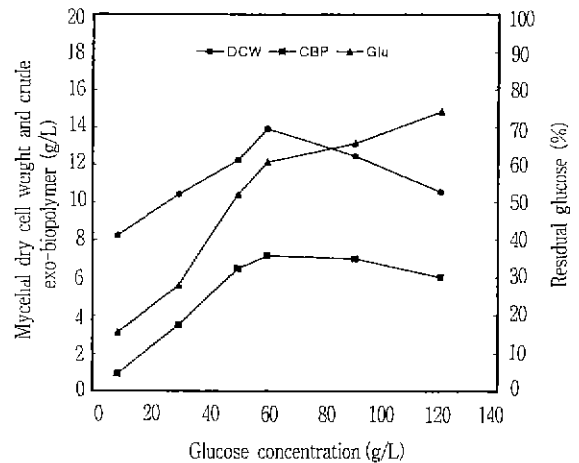


Figure 4 Effect of glucose concentration on the mycelial growth and crude exobiopolymer production

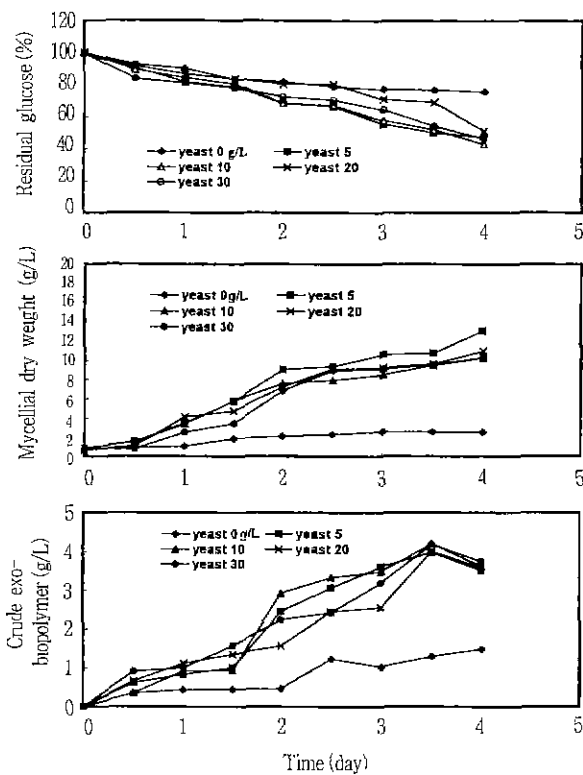


Figure 5. Time courses of the mycelial growth, crude exobiopolymer production and glucose consumption by *G. lucidum* under the batch cultivation with different yeast extract concentrations.

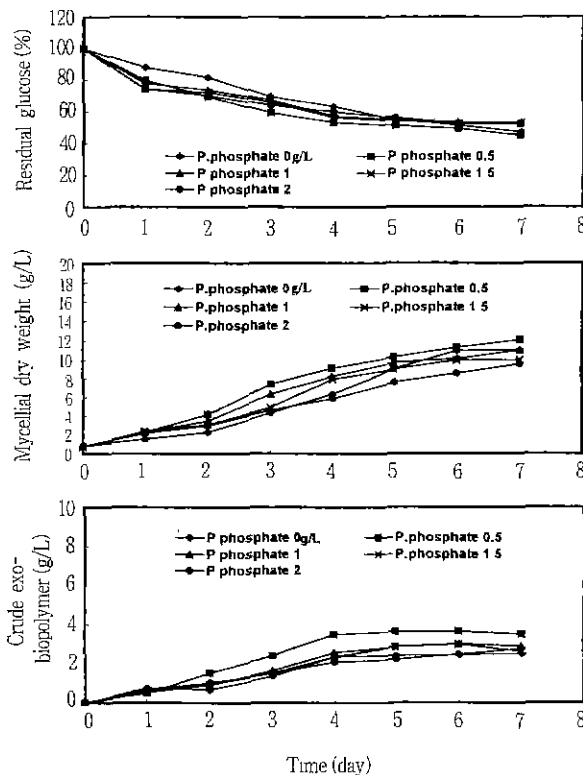


Figure 6. Time courses of the mycelial growth, crude exobiopolymer production by *G. lucidum* under batch cultivation with different KH₂PO₄ concentrations.

관찰되었는데, 이러한 현상은 배지중 탄소원이나 질소원이 풍부하였을 때 주로 발생하였다. 이와 강(21)은 fermenter 배양에서 펠렛의 크기가 flask 배양에서보다 작아졌으며(flask는 150rpm에서 평균 크기 2mm), 세포의 다당의 생성량도 flask의 1/3로 감소하였다고 보고하였다. 따라서 glucose의 농도변화 결과 및 yeast extract의 첨가농도 실험의 형태관찰에 의하면, 어느 정도의 펠렛 크기를 갖는 균사체가 세포의 다당 생산에 유리하다는 이와 강(21)의 결론과 일치한다. 또 KH₂PO₄의 첨가농도의 영향을 살펴본 결과는 Figure 6과 같다. 농도에 따른 균사체성장 및 세포의 다당의 생산량은 큰 차이는 보이지 않았으나 0.5g/L의 첨가농도에서 균사체성장 및 세포의 다당의 생산량은 각각 12.07 및 3.66g/L로 가장 많았다. 일반적으로 인(phosphorus)은 곰팡이 membrane의 중요한 구성성분이고, potassium(K) 역시 enzyme system 중에서 cofactor로 작용하며, 곰팡이 내의 무기염류중 가장 많은 양을 차지한다고 밝혀져 있다(5) 그러나 본 실험의 경우는 KH₂PO₄의 무첨가구에서도 균체량이 11.03g/L나 되어 KH₂PO₄는 균사체의 생육에는 거의 영향을 미치지 못하며, 세포의 다당의 생산에도 큰 영향을 주지 못하는 것으로 관찰되었다.

용존산소의 영향

Figure 7은 용존산소의 조절없이 통기속도를 25vvm으로 고정한 경우 및 용존산소가 포화농도의 50%수준이 되는 배양시작 60시간 후부터 순수 산소를 공급하고 배양액중의 산소농도를 높게 유지하면서 살펴본 배양경시 변화의 결과이다. 용존산소의 조절없이 통기속도를 25vvm으로 고정한 경우, 용존산소는 균사체가 성장함에 따라 급격히 감소하여 배양시작 약 3일 후에 포화농도의 5-10%까지 감소되었고, 배양말기까지 이 수준을 유지하였다. 지수적 성장기일 때 약 65%정도의 용존산소의 농도를 나타내었고, 성장이 지속되어 용존산소가 5-10%로 제한되었을 때 성장은 둔화되고 배양 6일 후 13.91g/L의 균체량을 나타내었다. 세포의 다당도 균사체와 비슷한 경향으로 증가되었으며, 배양 종료후 다당 생산량은 7.15g/L이었다.

한편, 일반적으로 air-lift fermenter의 큰 결점의 하나는 통기 교반형 발효장치와는 달리, 높은 전단응력장이 존재하지 않으므로 점유상 균사형태의 배양시에는 배양경과에 따라 고점성 배양액으로 되어 균사 분산이나 장치내의 균일화가 어려워져 산소를 액중에 충분히 공급하지 못하는 점이다(23). 본 실험의 경우도 배양 3일 이후 균사 성장이 둔화된 것은 이와같은 액중 산소농도가 낮아 졌기 때문이라고 생각되었으므로 액중의 산소농도를 높게 유지하기 위하여 공급 공기에 순수 산소를 추가 공급하고 용존산소를 지수적인 균사체 성장을 보였던 포화농도의 65%수준으로 조절하면서 실험을 진행하였다. 그러나 그 결과는 역시 Figure 7에서 보는 바와 같이, 균사체 양 13.62g/L, 세포의 다당 생산량 7.26 g/L로서 순수 산소의 공급없이 25vvm으로 공기만을 공급하였던 경우와 거의 차이를 보이지 않았다 따라서 순수 산소의 추가 공급에 의한 배양액중 용존산소의 농도 증가가 균사체의 생육 및 세포의 다당의 생성에 미치는 영향은 작은 것으로 판단하였다 이와같이 액중 산소 농도의 증가가 별로 큰 효과를 나타내지 않은 것은 균사 성장 및 세포의 다당의 생성으로 점도가 증가하여 draght tube를 중심으로 한 내외부간의 유동성 악화 등으로 draght tube외부의 dead zone에서 발생할 수

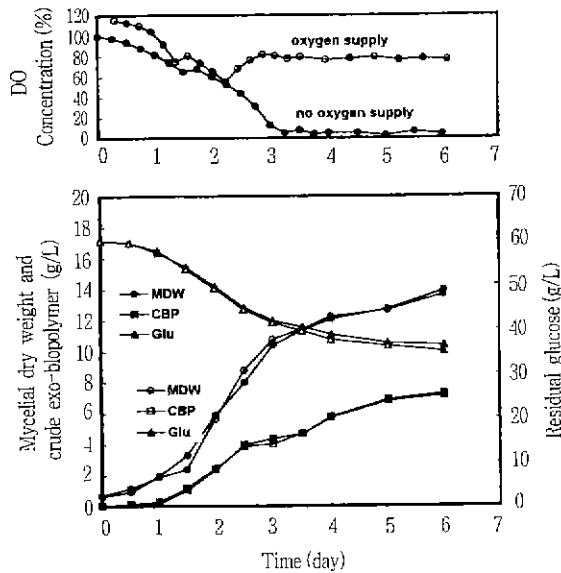


Figure 7 Profiles of the mycelial growth, crude exo-biopolymer production and glucose consumption of *G. lucidum* by pure oxygen supply during batch cultivation

도 있는 액중 산소결핍 현상과 같은 air-lift fermenter 장치상의 특성과 관련되는 것으로 생각되었다

그러나 영지 균사체의 생육은 배지중 pH나 NH_4^- 농도에도 크게 의존하므로 자료로서 나타내지는 않았으나 배양 말기의 낮아진 pH(2.5)나 NH_4^- (ammonium diphosphate) 농도의 고갈에 기인하였다고도 생각되었다. 특히, Clark(29)에 의하면 본 균주와 비슷한 섬유상 균류인 *A. niger*에서 공급가스의 산소 장력이 높아지면 균사체 펠렛의 경우 fluffy loose pellet을 형성하며, 더 짧고, 두터우며, 가지가 많은 균사의 특성을 나타내어 펠렛 벽이 훨씬 더 밀한 생육을 나타낸다고 하였다. Zetelaki와 Vas(30)도 다른 섬유상 균사체에 대해서 이러한 현상을 관찰하였는데, 이들 단단한 펠렛은 펠렛으로의 산소확산을 저해하고, 펠렛중심에서의 산소고갈로 세포의 자기소화를 일으켜 중공을 형성한다고 하였다. 따라서 액중의 산소농도 증가에 의한 균사 생육의 영향은 균사 펠렛형태의 변화에도 기인한다고도 생각되어 이에 대한 추후 검토의 필요성이 높은 것으로 판단하였다.

요 약

영지 비섯(*G. lucidum*) 균사체의 액체 배양 및 이에 의한 세포의 생물 고분자의 생산연구 일환으로, airlift fermenter를 이용한 심부배양을 실시하였으며, 균사체 및 세포의 다당의 최대 생산을 위한 배양 조건 및 배양 방법을 검토하였다. 균사체 생육 및 세포의 다당의 생성을 위한 최적 aeration rate는 초기 pH 5.0 및 온도 28°C에서 25 vvm이었다. 이때 순수 산소의 공급에 의한 배양액중 산소 농도의 증가는 균사체 생육 및 세포의 다당류의 생성에 큰 영향을 나타내지 않았다. Glucose 60, yeast extract 6, $(NH_4)_2HPO_4$ 1 및 KH_2PO_4 0.5 g/L을 함유한 배지 및 최적 배양조건하에서 최대의 균사체 생육 및 세포의 다당의 생성량은 각각 13.91 및 7.15 g/L이었다

감사의 글

본 논문은 연세대학교 생물산업소재연구센터의 연구비 지원(95-K3-0407-02-02-2)에 의해 수행된 연구 결과입니다.

참 고 문 헌

- Jong, S.C. and Birmingham, J.M.(1992). Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. *Advances in Applied Microbiology* 37, 101-134.
- 水野 卓, 河岸洋和(1988).キノコ類からの 生理活性物質の開發と 利用を めざして. *食品と開發*, 23(2), 37-43.
- Jong, S.C., Birmingham, J.M. and Pai, S.H.(1991). Immunomodulatory substances of Fungal origin. *J. Immunol. Immunopharmacol* 11, 115-122.
- 水野 卓, 川合正充(1992).キノコの化學 生化學, pp. 3-39, p 199. pp. 213-217, 新日本印刷株式會社, 東京.
- Chang, S.T. and Miles, P.G.(1989). *Eddible Mushroom and Their Cultivation*, pp. 54-57. CRC Press, Florida.
- 한만덕, 이준우, 정훈, 정성균, 이승룡, 윤경하(1995) *Ganoderma lucidum* IY009 균사체로부터 추출된 ganoderan의 항암 및 항보체 활성에 미치는 탄소원의 영향, *한국균학회지*, 23(3), 209-225.
- Mizuno, T., Usui, T., Tomoda, M., Shinkai, M., Shimixu, M., Arakawa, M. and Tanska, M.(1980) Studies on the host-mediated antitumor polysaccharide II. Screening test on antitumor activity of various kinds of polysaccharides, *Bull. Fac. Agr. Shizuoka Univ.*, 30, 41-42.
- 강창을, 심미자, 최응철, 이영남, 김병각(1981) 한국산 담자균류의 항암 성분에 관한 연구-만년버섯의 균사배양 및 항암성분, *한국생화학회지*, 14, 101-112.
- 곽상덕, 복진우, 현진원, 최응철, 김병각(1992). 한국산 고등균류의 성분연구(종우던 버섯 배양 균사체의 항암 성분). *한국균학회지*. 20(3), 240-251
- Mizuno, T., Hayashi, K., Arakawa, M., Shinkai, K., Shimizu, M. and Tanaka, M.(1981). Studies on the host-mediated antitumor polysaccharide. Part III. Fractionation, chemical structure and antitumor activity of water-soluble homoglucon isolated from *Kofukusarunokoshikake*, the fruit body of *Ganoderma applanatum*, *Bull. Fac. Agr. Shizuoka Univ.*, 31, 49-57
- Humfeld, H.(1948) The production of mushroom mycelial (*Agaricus campestris*) in submerged culture. *Science*. 107, 373-375.
- 정진섭, 구영조, 유진영, 최신양, 신동화(1991). 유청을 이용한 영지버섯 및 잎새 버섯의 균사체 배양 *한국균학회지*, 19(1), 61-65
- Tseng, T.C (1984) Studies on *Ganoderma lucidum* I. Liquid culture and chemical composition of mycelium. *Bot. Bull. Acad Sin (Taipei)*, 25, 149.
- 김병각, 이영수, 최응철, 심미자, 이영남(1977). 한국산 고등균류의 성분연구 (VI), *한국생화학회지*, 10(1), 47-48.

15. 현진원, 최응철, 김병각(1990). 한국고등균류의 성분연구, *한국균학회지*, 18(2), 58-68.
16. 이병우, 이명섭, 박기문, 김창한, 안평옥, 최춘연(1992) 운저버섯 균사체 추출물의 항암효과에 관한 연구, *한국산업미생물학회지*, 20(3), 311-315
17. 김진숙, 최응철, 김혜령, 이종길, 이정옥, 정경수, 심미자, 김병각(1983). 한국산 고등균류의 성분연구(XXXVII), *한국균학회지*, 11(4), 151-156.
18. 우명식(1983). 팽나무버섯의 항암성분에 관한 연구(제2보), *한국균학회지*, 11(4), 147-150.
19. 심미자(1981). 한국산 고등균류의 성분 및 배양에 관한 연구, *한국균학회지*, 9(2), 49-60.
20. Usui, T., Iwasaki, Y., Mixunno, T., Tanaka, M., Shinkai, K. and Arakawa, M.(1981) Antitumor activity of water-soluble β -D-glucan elaborated by *Ganoderma applanatum*, *Agricultural Biological Chemistry*, 45(1), 323-326.
21. 이신영, 강태수(1996). 영지(*Ganoderma lucidum*) 균사체의 액체배양에 의한 세포외 생분고분자의 생산 조건과 특성, *한국산업미생물학회지*, 24(1), 111-118.
22. 이신영, 강태수(1996). *Ganoderma lucidum* 균사체의 심부배양에 의한 세포외 항암활성 다당생산의 최적화. *한국생물공학학회지*, 12(2), 139-145
23. 田中秀夫(1985), カビの液體培養装置. カビの分離・同定と有用物質の生産・應用(カビ應用研究開發會), pp. 279-297, テクノアイ出版部, 東京
24. Song, C.H. and Cho, K.Y.(1987). A synthetic medium for the production of submerged cultures of *Lentinus edodes*. *Mycologia*, 79(6), 866-871.
25. 이병우, 임근형, 김동욱, 박기문, 손세형, 손태화(1993). 표고버섯 균사체의 배양 특성 및 Pilot Scale 생산. *한국산업미생물학회지*. 21(6), 609-614
26. Chisti M.Y.(1989). Airlift bioreactors. New York, Elsevier Applied Science Co.
27. Sone, Y., Okuda, R., Wada, A., Kishida, A and Misaki, A (1985). Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing culture of mycelium of *Agricultural Biological Chemistry*, 49(9), 2642-2650.
28. Kechang, Z., Xing, W, Rou, X. and Tao, Z.(1994). Studies of submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* and crude polysaccharide of *G. lucidum*. In *Better Living Through Innpuvative Biological Engineering*, W.K. Teo, M.G.S. Yap, S.K.W. Oh(ed.) Conunental Press Pte Ltd., Singapore, p.119-121.
29. Clarke, D.S.(1962). Submerged citric acid fermentation of ferrocyanide treated beet molasses. Morphology of pellets of *Aspergillus niger*. *Can. J. Microbiol.* 8, 133-136.
30. Zetelaki, K. and K. Vas(1968). The role of aeration and agitation in the production of glucose oxidase in submerged culture. *Biotechnol. Bioeng.* 10, 45-59