

Phellinus linteus의 액체배양을 위한 새로운 합성배지의 개발

최 근 호†

대전산업대학교 화학공학과

(접수 : 1998. 10. 17., 게재승인 : 1999. 2. 25.)

Development of a New Synthetic Medium Composition for the Submerged Culture of *Phellinus linteus*

Keum Ho Choi†

Department of Chemical Engineering, Taejeon National University of Technology, Taejeon 300-717, Korea

(Received : 1998. 10. 17., Accepted : 1999. 2. 25.)

A new synthetic medium was developed for the submerged mycelial cultures of *Phellinus linteus*. The medium for maximum mycelial growth of *Phellinus linteus* (3 days incubation, 28 °C, pH 5) consisted of (per 1 L): glucose, 90 g; peptone, 10 g; soluble starch, 10 g; yeast extract, 3 g; KH_2PO_4 , 1 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 g; and CaCl_2 , 0.1 g. The concentrations of glucose, peptone, yeast extract, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, and CaCl_2 were examined in the ranges of 10~90 g/L, 0~10 g/L, 0~15 g/L, 0~2 g/L, 0~1 g/L, and 0~0.5 g/L, respectively. The dry weight of mycelium in 3 days increased to 16.79 mg/mL using the new synthetic medium. The optimum temperature for mycelial growth of *Phellinus linteus* was 28°C. The concentrations of KH_2PO_4 , CaCl_2 , and yeast extract, which gave the maximum mycelial growth of *Phellinus linteus*, existed in the concentration ranges examined in this study. But, in the cases of other compositions ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, peptone, and glucose), the mycelial growth of *Phellinus linteus* increased with the concentrations in the ranges

Key Words : *Phellinus linteus*, submerged culture, mycelial growth, medium composition, optimum temperature

서 론

새로운 항종양성 물질(antitumor substances)의 개발이라는 측면에서 담자균류로부터 항암효과와 면역 조절 효력을 갖는 다당류(polysaccharides)를 얻기 위한 연구가 진행되어 왔다. 표고버섯(*Lentinus edodes*)과 팽이버섯(*Flamulina velutipes*) 그리고 구름버섯(*Coriolus versicolor*)을 포함하는 십여 종의 버섯이 항암효과와 면역 조절 효력을 갖는 다당류를 갖고 있으며, 그러한 버섯으로부터 얻을 수 있는 항암효과와 면역 조절 효력을 갖는 다당류 중에서도 뜨거운 물과 일코올을 사용하여 상활(*Phellinus linteus*)의 균사체로부터 추출한 다당류가 쥐에 이식한 육종(sarcoma-180)에 대해 가장 효과적인 것으로 보고되고 있다(1).

그러나, *Phellinus linteus*의 자실체는 자연적으로 구하기가 대단히 어려워서 균사체를 인공적으로 액체배양하여 항암물질을 생산하고자 하는 노력이 있었다. 1989년에 야마나와 흥(2, 3)이 *Phellinus linteus* 균사체의 배양에 성공하여 이에 관하여 최초로 국내 특허를 취득하였다. 특히, (주)한국신약은 1991년에 *Phellinus linteus*를 액체배양하여 항암효과를 갖는 다당류인 메

시마익스를 의약품으로 제조하는 허가를 획득하여 상업적으로 생산해오고 있다. 정 등(4,5)과 유 등(6)은 *Phellinus linteus* 균사체의 액체배양과 *Phellinus linteus*로부터 항암면역 활성물질을 제조하는 것에 관한 연구를 수행하였으며, 김(7)과 김(8), 이(9) 그리고 이 등(10)은 *Phellinus linteus*로부터 얻은 다당류의 항암효과나 면역활성능력에 관한 연구를 수행하였다. 한편, 오 등(11)은 뜨거운 물을 이용하여 액체배양된 균사체로부터 얻은 추출물이 자연산 버섯의 추출물과 같이 sarcoma-180와 B형 림프구에 대해 활성을 보이는 것을 확인하였다

특히, 이 등(12)은 배지의 구성과 pH의 변화에 따라 *Phellinus linteus* 버섯의 균사체 배양으로 얻어지는 다당류의 생산량 및 구성의 변화와 단당류 구성의 변화에 대하여 연구하였다. 그들은 *Phellinus linteus*는 YMG, PYG 그리고 GP에서는 잘 자랐으나 YM과 GPY배지에서는 잘 자라지 않았으며, 탄소원으로 glucose, galactose, mannose, arabinose, 전분, xylose, rhamnose, sorbitol, mannitol 그리고 sucrose를 각각 사용하여 실험하였더니 탄소원이 glucose일 때 균체생장이 가장 좋은 실험결과를 얻을 수 있었다고 보고하였다. 또한, 그들은 다당류의 생산 수율은 사용된 탄소원에 따라 달랐으며, pH와 균사 성장 그리고 pH와 다당류 수율 간의 밀접한 관계는 관찰되지 않았으며, *Phellinus linteus* 균사는 알칼리 pH(pH≥8)에서 보다는 산성과 중성인 pH범위(5≤pH≤7)에서 잘 자란다고 보고하였다. 그러나, 그들이 동일한 문헌에 제시한 실험결과를 이용하여 pH의 변화에 따른 (100 mL당의 건조균체량×다당류 수율)

† Address : Department of Chemical Engineering, Taejeon National University of Technology, Taejeon 300-717, Korea
Phone : 042-630-0445, Fax : 042-630-0436,
e-mail : khchoi@hyunam.tnut.ac.kr

의 값을 계산해 보면, *Phellinus linteus*의 액체배양을 통하여 다당류를 생산하기 위한 최적 pH는 5정도인 것으로 추정할 수 있다 그리고 정 등(5)도 pH 5에서 *Phellinus linteus* 균사를 대량으로 액체배양하는 실험을 수행한바가 있다. 따라서, 본 연구에서는 배지의 pH를 항상 5로 조절한 후에 실험하였다. 그밖에 송 등(13)과 이 등(10, 14)은 *Phellinus linteus*로부터 얻어지는 다당류의 구조를 규명하려는 연구를 수행하였다.

Phellinus linteus 균사체의 대량 배양을 통하여 함입물질인 다당류를 경제적으로 생산하기 위해서는 새로운 배지의 개발이 필요하다. 따라서, 본 연구에서는 문헌에 나와 있는 배지들의 성능을 비교하여 배지의 성분이 어느 정도는 정해져 있는 기본배지를 우선 선정 한 후에 기본배지에 들어 있는 성분들의 농도를 변화시키면서 실험하는 방법을 통하여 새로운 배지를 개발하였다

실 험

균 주

본 연구에서는 *Phellinus linteus* KCTC 0082BP 균주를 (주) 한국신약으로부터 분양을 받아서 사용하였다 백균이를 사용하여 PDA(potato dextrose agar) 배지 20 mL가 든 Petri dish의 중심부에 *Phellinus linteus* 균주를 접종하여 균사가 만연할 때까지(약 10일간) 배양기내(28±1 °C)에서 배양한 다음에 균사가 만연한 Petri dish를 냉장고(4 °C)에 보존하였다

종균 배양

이 등(12)의 연구에서 가장 좋은 균사 성장을 보여주는 것으로 밝혀진 GP배지를 종균용 배지로 사용하였다. 즉, glucose 3 g과 peptone 0.3 g, K₂HPO₄ 1 g 그리고 MgSO₄·7H₂O 0.07 g을 증류수 100 mL에 녹여서 만든 용액의 pH를 0.1 N NaOH 용액과 0.1 N HCl 용액을 사용하여 5로 조절한 후에 고압멸균기에 넣어서 121 °C에서 15분간 멸균하여 종균배양을 위한 배지를 제조하였다.

내경이 7 mm인 cork borer를 사용하여 냉장고에 보존중인 Petri dish로부터 균사가 자라고 있는 고체배지 조각을 떼어서 100 mL 종균용 배지가 들어 있는 250 mL 삼각 플라스크 내에 넣고 28±1 °C와 150 rpm으로 유지되고 있는 진탕배양기에서 3일간 배양하였다. 이 때, 플라스크 내에 직경이 16 mm인 유리구슬 6개를 넣어서 종균 배양액의 균체 농도가 균일하도록 하였다(15).

액체 배양

액체배양을 위한 배지는 다음과 같이 제조하였다. 우선 필요한 양의 시약을 정확하게 취하여 100 mL의 증류수에 녹여서 용액을 만들고, 그 용액의 pH를 0.1 N NaOH 용액과 0.1 N HCl 용액을 사용해서 pH 5.0로 조절한 후에 그 용액을 고압멸균기에 넣어서 121 °C에서 15분간 멸균하여 액체배양을 위한 배지를 제조하였다.

절종되는 균체의 양을 항상 일정하게 유지하기 위하여, 앞의 단계에서 배양한 종균배양액 1 mL를 취하여 증류수로 150배로 희석한 용액을 균질기(센스 도계비방망이 BW-1400A, Boowon International Co.)로 20초간 균질화 한 후에 그 용액의 투광도를 파장이 600 nm로 유지되고 있는 자외선분광광도계(Spect-

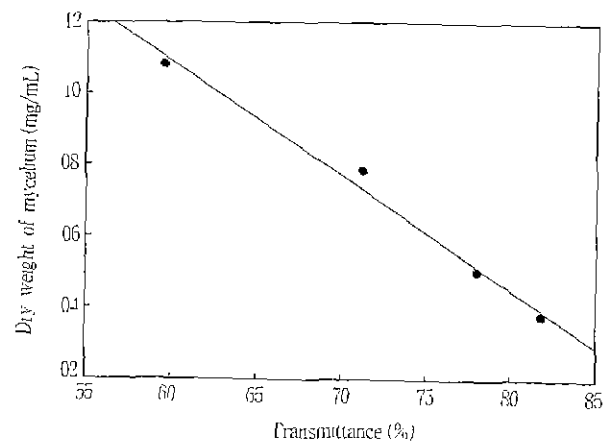


Figure 1 Relationship between transmittance and dry weight of mycelium $y=3.169 \times 10^{-3}x+0.2983$.

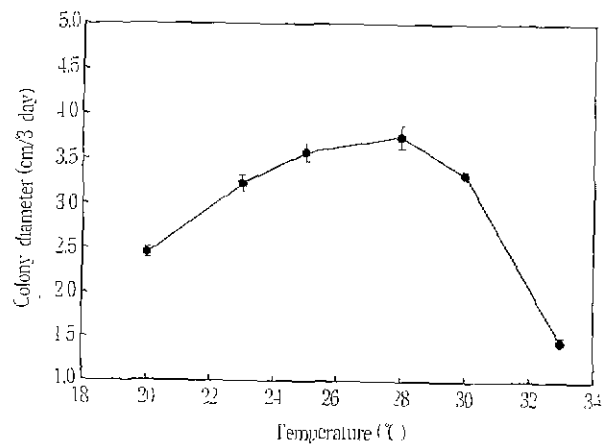


Figure 2 Effect of temperature on the mycelial growth of *Phellinus linteus*

ronic 20D, Milton Roy Company)로 측정하였다. 측정된 투광도와 건조균체량간의 관계는 Figure 1과 같다. 측정된 투광도와 건조균체량간의 관계를 이용하여서 건조균체량이 10 mg이 되도록 종균배양액(약 1.5 mL)을 취해서 미리 조제한 100 mL 액체 배양 배지가 들어 있는 250 mL 삼각 플라스크에 각각 접종하고 28±1 °C와 150 rpm으로 유지되고 있는 진탕배양기에 넣어서 3일간 배양하였다. 이 때도 플라스크 내에 직경이 16 mm인 유리구슬 6개를 넣어서 배양액의 균체 농도가 거의 균일하도록 하였다.

건조균체량

액체배양이 끝나면 배양액 10 mL를 취하여 무게를 알고 있는 원심분리기용 튜브에 넣고 회전수가 3000 rpm으로 유지되고 있는 원심분리기(Centrifuge MF550, Hamil Co.)를 사용하여 15분간 원심분리하였다. 균체의 1차 세척을 위하여 원심분리된 튜브 내에 들어 있는 상층액을 제거하고 가라앉아 있는 균체층을 혼합기(Mixer M37615, Barnstead/Thermolyne)를 사용해서 2~3번 흐트러뜨린 후에 증류수 10 mL를 가하고 다시 3000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 1차 세척과 같은 방법으로 한번 더 세척한 다음 상층액을 제거하였다. 2차 세척 후에 균사체가 들어 있는 튜브를 온도가 100±1 °C로 유지되고 있는 건조기

에 넣어서 24시간동안 건조시킨 다음에 식혀서 튜브의 무게를 측정하여 건조균체량을 구하였다.

실험결과 및 토의

배양온도의 영향

균사의 성장속도에 대한 배양 온도의 영향을 알아보기 위하여, 내경이 6 mm인 cork borer를 사용해서 보존하고 있던 고체배지 조각을 떼내어 PDA 배지 20 mL가 든 다른 Petri dish의 중심부에 접종한 후에 항온기 내에서 3일간 배양하여 colony의 직경을 측정하였다. Figure 2는 온도의 변화에 따른 colony 직경의 변화를 나타내고 있다. 배양온도가 20~33 °C의 범위에서 증가하는 동안에 colony의 직경은 증가하였다가 감소하는 경향을 보여주고 있다. 본 실험의 온도범위에서는 28 °C의 배양온도에서 가장 큰 colony의 직경이 얻어졌다. 이는 *Phellinus linteus*는 28 °C에서 가장 성장속도가 빠르다는 것을 의미한다. 따라서, 본 연구에서는 향후 모든 배양실험을 이 온도에서 행하였다. 정 등(5)은 *Phellinus linteus*의 액체배양시에 바람직한 온도범위는 24~30 °C이라고 보고하였다. 대부분의 식용버섯균의 균사증식을 위한 최적온도는 20~30 °C인 것으로 알려져 있다(16). 한편, 1991년에 박과 이(16)는 *Coriolus versicolor*와 *Lentinus edodes*의 균사증식을 위한 최적온도는 25~28 °C이라고 보고한바가 있으며, 홍과 이(17)가 얻은 복령(*Poria cocos*)의 균사증식을 위한 최적온도는 25~29 °C였다.

기본 배지의 선정

버섯의 종류에 따라서 최적배지는 다른 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 문헌에 나와 있는 배지들을 사용하여 얻은 실험결과를 비교하여 배지의 성분이 어느 정도 경해져 있는 기본배지를 우선 선정한 다음에 기본배지에 들어 있는 성분들의 농도를 변화시키면서 실험하는 방법을 통하여 새로운 배지를 개발하

고자 하였다. 따라서, 성분이 정해 있는 기본배지의 선정을 위하여 본 연구에서 제조한 2가지 배지와 이 등(12)이 사용한 GP배지 그리고 정 등(5)이 사용한 중 배지를 사용하여 실험한 결과를 Table 1에 나타내었다. Table 1을 보면, 본 연구에서 제조하여 사용한 배지1이 배지2나 이 등(12)이 사용한 GP배지 그리고 정 등(5)이 사용한 중 배지보다 좋은 균사성장을 보여줄 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 배지1을 기본배지로 택하여 새로운 배지를 개발하는 실험을 수행하였다. 한편, 배지2는 화학적으로 잘 정의되는 합성배지로 peptone이나 yeast extract와 같은 유기질소원 대신에 무기질소원을 포함하고 있는 것이 가장 큰 특징이다. 다른 배지들과 비교할 때에 배지2가 가장 낮은 균사 성장을 보여주고 있다. 이러한 결과는 버섯의 경우에 일반적으로 무기질소원보다는 peptone이나 yeast extract와 같은 유기질소원이 들어 있는 배지에서 잘 자란다는 다른 실험결과(16, 18, 19)와 일치한다.

배지 성분의 변화가 균사 성장에 미치는 영향

먼저 다른 성분의 농도는 기본배지와 같게 유지하고 1차인산칼륨(KH_2PO_4)의 농도를 0~2.0 g/L로 변화시키면서 1차인산칼륨의 농도가 균사 성장에 미치는 영향을 알아본 결과는 Figure 3과 같았다 건조균체량은 1차인산칼륨의 농도가 증가함에 따라서 증가하였다가 최대값을 보여준 이후에는 감소하는 경향을 보여 주었는데, 1차인산칼륨의 농도가 1.0 g/L일 때에 가장 많은 건조균체량을 얻을 수 있었다 이러한 실험결과는 기본배지의 성분중에서 1차인산칼륨의 농도가 1.0 g/L일 때에 가장 균사성장속도가 빠르다는 것을 의미한다. 이러한 1차인산칼륨의 최적농도는 홍 등(18)이 느타리버섯의 배양에서 얻은 최적 농도인 0.2%에 비해서는 작으며, 박과 이(16)가 *Lentinus edodes*와 *Coriolus versicolor*의 균사체 배양에 사용한 값인 0.046%보다는 상당히 큰 값이다.

Figure 4에 염화 칼슘의 농도가 균사 성장에 미치는 영향을

Table 1. Experimental results for the choice of a basic medium.

No of medium	Composition of medium (per liter)	Dry weight of mycelium (mg/mL)	Reference
1	glucose 50 g peptone 10 g yeast extract 10 g KH_2PO_4 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g CaCl_2 0.1 g	12.4±0.80	This study
2	glucose 50 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 2.3 g KNO_3 0.04 g NH_4NO_3 4 g	3.49±0.28	This study
3	glucose 30 g peptone 3 g K_2HPO_4 10 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.7 g	8.40±0.46	(12)
4	glucose 50 g peptone 10 g yeast extract 10 g K_2HPO_4 0.5 g	11.78±0.67	(5)

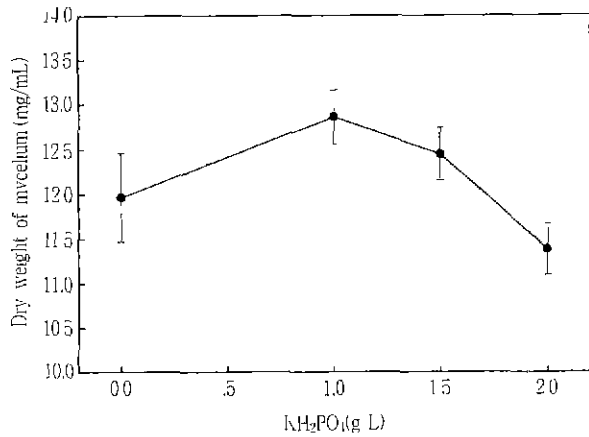


Figure 3 Effect of potassium dihydrogen phosphate concentration on the mycelial growth of *Phellinus linteus*

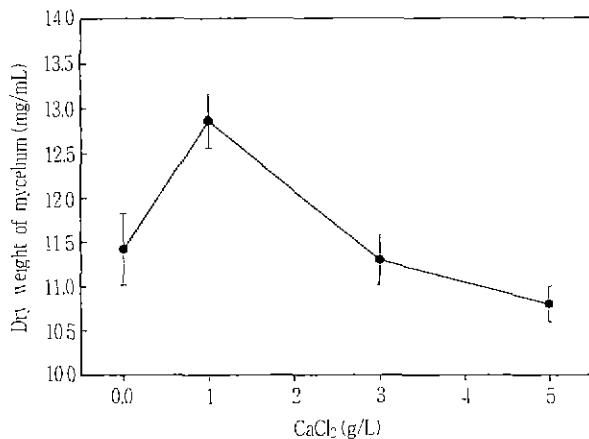


Figure 4. Effect of calcium chloride concentration on the mycelial growth of *Phellinus linteus*.

나타내었다. 이때에 배지로는 앞의 실험결과를 바탕으로 1차인 산칼륨의 농도를 1.0 g/L로 하는 한편, 1차인산칼륨과 염화칼슘을 제외한 다른 성분의 농도는 기본배지와 같게 제조한 배지를 사용하였다. 건조균체량은 염화칼슘의 양이 증가할수록 증가하였다가 최대값을 보인 이후에는 다시 감소하였다는데, 염화칼슘의 농도가 0.1 g/L일 때에 가장 균사성장이 좋았다

Figure 5는 황산마그네슘7수화물($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)의 농도가 균사 성장에 미치는 영향을 나타내고 있다 이때에 황산마그네슘7수화물을 제외한 1 L 배지내에 들어 있는 다른 성분의 양은 다음과 같았다: glucose 50 g, peptone 10 g, yeast extract 10 g, KH_2PO_4 1.0 g, CaCl_2 0.1 g 본 연구에서 실험한 황산마그네슘7수화물의 농도 범위에서 건조균체량은 황산마그네슘7수화물의 농도가 증가함에 따라서 점차 증가하는 경향을 보여주었다. 따라서, 황산마그네슘7수화물의 농도가 1.0 g/L일 때에 가장 많은 건조균체량이 얻어졌다. 이러한 황산마그네슘7수화물의 농도 값은 홍 등(18)이 느타리버섯의 배양에서 얻은 최적 농도 범위인 0.04 ~ 0.08 %에 비해서는 상당히 크다.

Figure 6은 효모추출물(yeast extract)의 농도가 균사 성장에 미치는 영향을 나타내고 있다. 이때에 효모추출물을 제외한 1 L 배지내에 들어 있는 다른 성분의 양은 다음과 같았다: glucose 50 g, peptone 10 g, KH_2PO_4 1.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g,

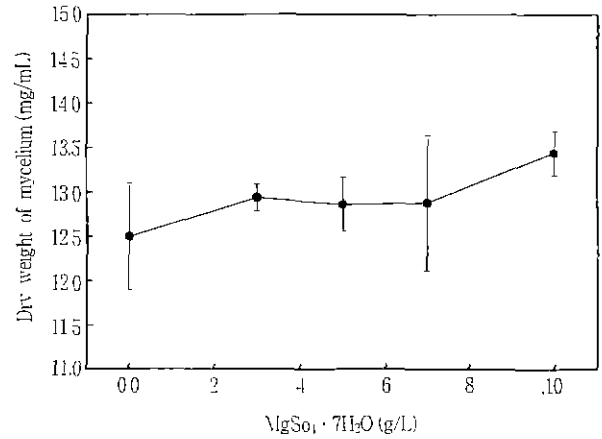


Figure 5. Effect of $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ concentration on the mycelial growth of *Phellinus linteus*.

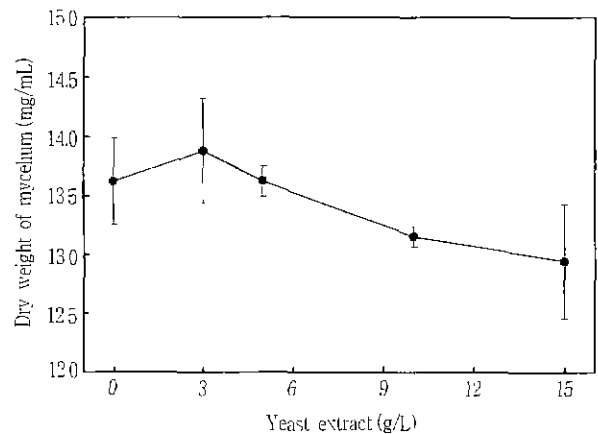


Figure 6. Effect of yeast extract concentration on the mycelial growth of *Phellinus linteus*.

CaCl_2 0.1 g. 효모추출물의 농도가 3.0 g/L일 때의 건조균체량만이 효모추출물을 넣지 않은 배지에서 얻어진 건조균체량보다 약간 컸을 뿐이었으며 다른 농도에서의 건조균체량은 효모추출물을 넣지 않은 배지에서 얻어진 건조균체량보다 오히려 작았다. 본 연구에서 최대의 균사성장을 보여주는 효모추출물의 농도는 박과 이(16)가 *Lentinus edodes*와 *Coriolus versicolor*의 배양에서 얻은 최적 농도인 0.6 %에 비해서는 상당히 작다.

Figure 7에 peptone의 농도가 균사 성장에 미치는 영향을 나타내었다. 이때에 배지 1 L에는 glucose 50 g, yeast extract 30 g, KH_2PO_4 1.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g 그리고 CaCl_2 0.1 g이 공통으로 들어 있었다. 다른 성분들의 영향을 실험한 결과와 비교할 때에 건조균체량은 peptone의 농도가 증가함에 따라서 크게 증가하였다 이는 앞에서 실험한 다른 성분과 비하여 peptone의 농도가 균사 성장에 미치는 영향이 크다는 것을 의미한다. 그리고 본 연구에서 실험한 범위에서는 peptone의 농도가 10 g/L일 때 가장 많은 건조균체량이 얻어졌다. 본 연구에서 최대의 균사성장을 보여주는 peptone의 농도 값은 박과 이(16)가 *Lentinus edodes*와 *Coriolus versicolor*의 배양에서 얻은 최적 농도인 0.4 %와 홍 등(18)이 느타리버섯의 배양에서 얻은 최적 농도인 0.2 %에 비해서는 상당히 작다

Figure 8은 포도당(glucose)의 농도가 균사 성장에 미치는 영

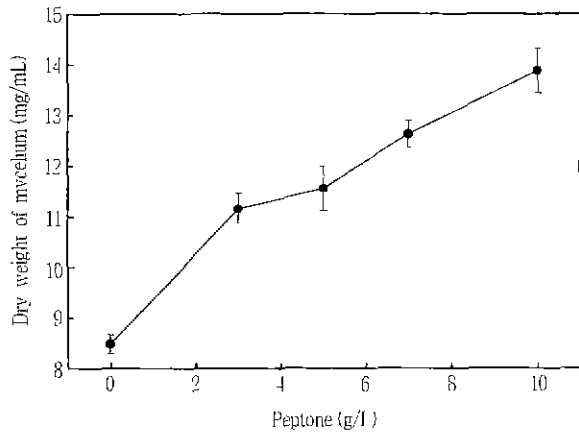


Figure 7. Effect of peptone concentration on the mycelial growth of *Phellinus linteus*.

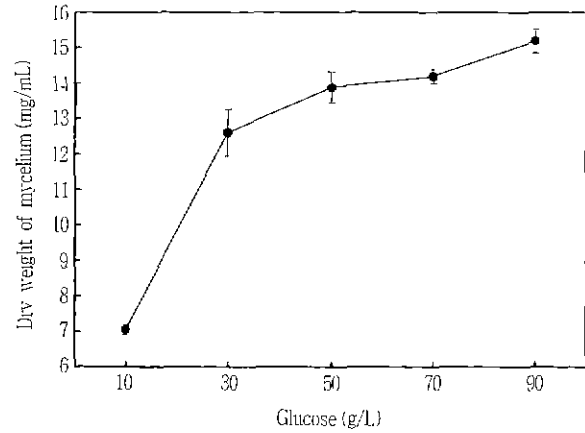


Figure 8. Effect of glucose concentration on the mycelial growth of *Phellinus linteus*.

향을 나타내고 있다 이때에 배지 1 L에는 peptone 10 g, yeast extract 3.0 g, KH₂PO₄ 10 g, MgSO₄ · 7H₂O 10 g 그리고 CaCl₂ 0.1 g이 공용으로 들어 있었다. Figure 8은 포도당의 농도는 peptone의 농도와 마찬가지로 기타 다른 성분들의 농도에 비해서 전체 성장에 큰 영향을 주는 것을 보여 주고있다. 건조균체량은 포도당의 농도가 50 g/L에 이를 때까지는 포도당의

농도가 증가함에 따라서 급격히 증가하나 그 이후의 농도에서는 단지 조금 증가하였다. 그리고 본 연구의 실험 범위에서는 가장 많은 건조균체량은 포도당의 농도가 90 g/L일 때 일어났다.

지금까지 단지 기본배지에 들어있는 성분의 농도를 변화시키는 실험을 통해서도 15.06 mg/mL의 좋은 균사 성장을 보여주는 배지를 얻을 수 있었으며, 그 배지(Table 2의 배지1)의 조성

Table 2. Dry weight of mycelium of *Phellinus linteus* grown in different culture media.

No. of medium	Composition of medium (per liter)	Dry weight of mycelium (mg/mL)	Reference
1	glucose 90 g peptone 10 g yeast extract 3 g KH ₂ PO ₄ 1 g MgSO ₄ · 7H ₂ O 1 g CaCl ₂ 0.1 g	15.06±0.83	This study
2	glucose 90 g peptone 10 g yeast extract 3 g K ₂ HPO ₄ 0.5 g MgSO ₄ · 7H ₂ O 1 g CaCl ₂ 0.1 g	15.78±0.22	This study
3	medium 1+soluble starch 10 g	16.79±0.67	This study
4	medium 1+corn steep liquor 10 g	14.75±0.98	This study
5	glucose 50 g soluble starch 10 g corn steep liquor 10 g peptone 5 g yeast extract 5 g K ₂ HPO ₄ 0.5 g MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.3 g	12.84±0.19	(5)
6	glucose 50 g peptone 10 g yeast extract 10 g KH ₂ PO ₄ 0.87 g MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.5 g CaCl ₂ 0.3 g	14.25±0.64	(8)

은 1 L당에 glucose 90 g, peptone 10 g, yeast extract 3.0 g, KH_2PO_4 1.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g 그리고 CaCl_2 0.1 g이다. 앞에서 얻은 배지의 조성을 더욱 변화시켜서 보다 높은 균사 성장을 얻기 위하여 가용성 전분과 corn steep liquor를 추가하는 실험과 1차인산칼륨(KH_2PO_4)대신에 2차인산칼륨(K_2HPO_4)을 사용하는 실험을 수행하였다. 그렇게 하여 얻은 결과들과 다른 연구자들이 제안한 배지를 사용하여 얻은 실험 결과들을 table 2에서 비교하였다. 배지1에 가용성 전분 10 g을 추가하면 건조균체량이 크게 증가하였으나 corn steep liquor 10 g의 추가는 건조균체량을 증가시키지 못하였다. 그리고, 다른 성분의 농도가 같을 때에 1차인산칼륨(KH_2PO_4) 1.0g 대신에 2차인산칼륨(K_2HPO_4) 0.5 g을 넣어주는 것은 균사 성장(배지2의 실험결과)을 증가시켰다 이는 인(P)의 양이 감소해도 칼륨(K)의 양을 증가시키면 균사 성장을 증가시킬 수 있다는 것을 의미한다. 한편, 정 등(5)의 배지에서는 단지 12.84 mg/mL의 건조균체량을 얻을 수 있었으며, 김(8)의 배지를 사용할 때에도 14.25 mg/mL의 건조균체량을 얻을 수 있을 뿐이었다. 반면에 본 연구에서 개발한 배지3은 다른 배지에 비하여 월등히 높은 균체성장을 보여주었는데, 배지3을 사용할 때에는 김(8)이 사용한 배지와 비교해서도 약 18 %가량 증가된 16.79 mg/mL의 건조균체량을 얻을 수 있었다. 따라서, 본 연구에서 개발한 새로운 배지는 배지3이다. 정 등(5)은 배지5를 사용하여 공기가 분산되는 발효조에서 3일 만에 25 mg/mL의 건조균체량을 얻을 수 있다고 보고하였다 이러한 건조균체량의 수치는 배지3에서 얻은 값보다 크다. 그러나, 정 등의 결과는 2 차례의 증배양을 거친 후에 2차 증배양액을 배지에 접종하여 배양하여 얻은 결과인데, 2차 증배양액에 들어 있는 균체량이 불분명할 뿐만 아니라 공기가 분산되는 대형 발효조에서 배양하여 얻은 결과이기 때문에 본 연구의 결과와 직접적으로 비교하는 것은 불가능하다. Song 등(20)은 일정기간 동안의 *Lentinus edodes*의 배양에서 얻어지는 건조균체량은 접종량에 따라서 다르며, 플라스틱대신에 공기가 분산되는 발효조에서 배양하면 건조균체량이 5배나 증가한다고 보고하였다.

한편, 탄소원에 따라서 균사의 성장과 다당류의 수율이 각각 다르기 때문에 건조된 균사로부터 생산되는 다당류의 양을 증가시키려면 균사의 최대 성장과 다당류의 생산수율을 함께 고려해야 하는 것으로 알려져 있다(12). 이 등(12)은 mannose를 사용하면 높은 다당류의 수율을 얻을 수 있는 반면에 균체의 성장은 낮으며, glucose를 사용하면 균사의 성장은 상대적으로 빠른 반면에 다당류의 수율은 낮았다고 보고하였다. 즉, 다당류의 생산 양식은 균사의 성장 양식과 반드시 일치하지 않으므로 좋은 균사성장을 보여주고 있는 본 연구에서 개발한 배지가 좋은 균사 성장과 함께 높은 다당류의 생산 수율을 주는지에 대해서는 계속하여 연구할 필요가 있다.

결 론

본 연구에서는 *Phellinus linteus* 균사의 대량 배양을 통하여 항암물질인 다당류를 보다 경제적으로 생산하기 위한 새로운 배지를 개발하기 위한 연구를 수행하였으며, 본 연구에서 얻은 실험결과를 정리하면 다음과 같다.

(1) 본 연구에서 개발한 *Phellinus linteus* 균사의 배양을 위한 새로운 배지 1 L는 다음의 성분들로 구성된다: glucose,

- 90 g; peptone, 10 g; 가용성 전분, 10 g; yeast extract, 3 g; KH_2PO_4 , 1 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 g; CaCl_2 , 0.1 g.
 (2) 본 연구에서 개발한 새로운 배지를 사용하여 3일만에 16.79 mg/mL의 건조균체량을 얻을 수 있었다.
 (3) 탄소원인 glucose와 질소원인 peptone은 yeast extract나 KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 과 같은 다른 배지 성분들에 비하여 *Phellinus linteus* 균사 성장에 대해 영향이 큰 성분이었다.
 (4) *Phellinus linteus* 균사의 배양을 위한 최적 온도는 28°C 였다

감 사

이 논문은 1997년도 대전산업대학교 교내학술연구비 지원을 받아 작성되었으며, 이에 대해 깊은 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

- Ikekawa, T., M. Nakanishi, N. Uehara, G. Chuhara, and F. Fukuoka (1968). Antitumor Action of Some Basidiomycetes, Especially *Phellinus linteus*, *Gann*, 59, 155-157.
- 야마나 세이조, 홍남두 (1992), 다당류 및 그의 제조방법, 한국 특허 051055.
- 야마나 세이조, 홍남두 (1992), 페리누스 린테우스 균사체의 배양방법, 한국 특허 051056.
- 정경수, 고경수, 한만우 (1995), 펠리누스 린테우스(*Phellinus linteus*)균사체의 인공 액체배양 및 항암면역 활성물질 제조 방법, 한국 특허공개 95-7860.
- 정경수, 고경수, 한만우 (1997), 펠리누스 린테우스(*Phellinus linteus*)균사체의 인공 액체배양 및 항암면역 활성물질 제조 방법, 한국 특허공개 97-9150.
- 유익동, 정학성, 정원진, 고경수, 한만우 (1997), 펠리누스 린테우스(*Phellinus linteus*)로부터 분리된 항암면역활성 다당류 및 이의 제조방법, 한국 특허공개 97-1531.
- 김진숙 (1992), "목질진흙버섯(*Phellinus linteus*)의 항암성분에 관한 연구", 석사학위논문, 약학과, 충남대학교, 대전.
- 김해경 (1994), "목질진흙버섯(*Phellinus linteus*)의 항암활성에 관한 연구", 석사학위논문, 약학과, 충남대학교, 대전.
- 이대우 (1995), "참나무 톱밥 배지에 배양시킨 상황(*Phellinus linteus*)균사체의 항암활성에 관한 연구", 석사학위논문, 약학과, 충남대학교, 대전.
- Lee, J. H., S. M. Cho, K. S. Song, S. B. Han, H. M. Kim, N. D. Hong, and I. D. Yoo (1996). Immunostimulating Activity and Characterization of Polysaccharides from Mycelium of *Phellinus linteus*, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 6, 213-218.
- Oh, G. T., S. B. Han, H. M. Kim, and I. D. Yoo (1992), Immunostimulating Activity of *Phellinus linteus* extracts to B-Lymphocyte, *Arch. Pharm. Res.*, 15, 379-381.
- Lee, J. H., S. M. Cho, K. S. Ko, and I. D. Yoo (1995), Effect of Cultural Conditions on Polysaccharide Production and its Monosaccharide Composition in *Phellinus linteus*

- L13202, *Kor. J. Mycol.*, 23, 325-331.
13. Song, K. S., S. M. Cho, J. H. Lee, H. M. Kim, S. B. Han, K. S. Ko, and I. D. Yoo (1995), B-Lymphocyte-Stimulating Polysaccharides from Mycelium of *Phellinus linteus*, *Chem. Pharm. Bull.*, 43, 2105-2108.
 14. Lee, J. H., S. M. Cho, K. S. Song, N. D. Han, and I. D. Yoo (1996), Characterization of Carbohydrate-Peptide Linkage of Acidic Heteroglycopeptide with Immuno-Stimulating Activity from Mycelium of *Phellinus linteus*, *Chem. Pharm. Bull.*, 44, 1093-1095.
 15. Song, C. H., C. H. Lee, J. H. Ahn, B. S. Hong, and H. C. Yang (1995), Standardization of Chemically Defined Medium for the Production of Mycelium and Basidiocarps in *Flammulina velutipes*, *Kor. J. Mycol.*, 23(1), 53-60.
 16. 박경숙, 이재성 (1991), *Coriolus versicolor*와 *Lentinus edodes*의 영양배지 조성 및 배양조건의 최적화, *한국생물공학회지*, 6(1), 91-98.
 17. 홍인표, 이민웅 (1990), 복령(*Poria cocos*)의 배양학적 특성에 관한 연구, *한국균학회지*, 18(1), 42-49.
 18. 홍재식, 윤세익, 김영수, 이정매 (1987), 느타리버섯균의 Trehalose 합성(I), *한국균학회지*, 15(2), 108-115.
 19. 홍인표, 이민웅, 김광포, 이상선 (1991), 복령의 형태 및 균사배양에 관한 연구, *한국균학회지*, 19(1), 54-60.
 20. Song, C. H., K. Y. Cho, and N. G. Nair (1987), A Synthetic Medium for the Production of Submerged Cultures of *Lentinus Edodes*, *Mycologia*, 79(6), 866-876.