

Cordyceps scarabaeicola KEFC-C252의 균사체 배양에 의한 수용성 색소의 생산과 색소의 항돌연변이 효과

이현우* · 손준형 · 최종환 · 예병일 · 신운섭¹ · 김종배² · 김현원

연세대학교 원주의과대학 생화학교실, ¹관동대학교 의과대학 미생물학교실, ²상지영서대학 식품영양학과

Production of Water-Soluble Pigment from Mycelial Culture of *Cordyceps scarabaeicola* KEFC-C252 and Its Antimutagenic Effect. Lee, Hyeon-Woo*, Joon Hyung Sohn, Jong-Whan Choi, Byung-II Yeh, Woon-Seob Shin¹, Jung-Bae Kim², and Hyun-Won Kim. Department of Biochemistry, College of Medicine, Yonsei University, Wonju 220-701, Korea, ¹Department of Microbiology, College of Medicine, Kwan-Dong University, Kangnung, 210-701, Korea, ²Department of Food and Nutrition, Sangji Youngseo College, Wonju 220-702, Korea – Cultural conditions for the production of water-soluble pigment from mycelial culture of *Cordyceps scarabaeicola* KEFC-C252 and antimutagenic activity of the pigment were investigated. To obtain the maximum productivity of the pigment from mycelial culture of *C. scarabaeicola* KEFC-C252, the optimized medium was made with 1.5% sucrose, 2.5% yeast extract and initial pH 5.5. *C. scarabaeicola* KEFC-C252 was cultivated to reach the maximum concentration of the pigment at 26°C for 108 hrs. *C. scarabaeicola* KEFC-C252 produced about 1.2 g/liter pigment under the optimized condition. The pigment was isolated from the culture filtrate by ethylacetate extraction, acidic precipitation and crystallization. The isolated pigment was scarlet hexagonal column crystal, and the color of the pigment was changed according to pH of the solution. The pigment showed violet in the alkaline water but showed red color in the acidic water. The pigment showed inhibitory activity against mutagenic activity induced by 4-nitroquinoline N-oxide. Furthermore, the pigment showed inhibitory activity against spontaneous mutation on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

Key words: pigment, mutagenic activity, antimutagenic activity, *Cordyceps scarabaeicola*

식품 및 화장품에 사용되고 있는 합성색소의 안전성이 의문시되어 이를 대체할 수 있는 천연색소의 수요가 점차 증가하고 있다. 동식물에서 유래하는 천연색소는 생육시기 및 생육조건 등에 따라 원료의 품질이나 수급에 문제가 많이 발생하고 있다. 최근에는 안정적인 색소의 생산을 위하여 식물의 조직배양 및 미생물 배양기술로 천연색소를 생산하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 지치세포를 조직 배양하여 shikonin을 생산하였고[4], 포도세포에서 anthocyanin계 색소의 생산이 성공적으로 이루어져 일부 산업화 단계에 있으며[14,18], red beet의 모근상 배양에 의한 betacyanin의 생산이 보고된 바 있다[10]. 미생물 기원의 천연색소에 관한 연구는 *Monascus anka* 유래의 황색 색소[6], *Serratia marescens* 유래의 적색 색소[19], *Bacillus* sp. PY123 유래의 노란색 색소[9] 등 많은 보고가 있다. 근래 곰팡이 및 세균을 이용한 색소의 생산에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으나, 이차대사산물인 색소를 생산하기 위하여 버섯의 균사체를 이용한 경우는 없었다. 색소의 생산 뿐 아니라

버섯균사체 배양액에서 이차대사산물을 생산하는 연구는 찾을 수 없었다. 본 연구실에서 동충하초로 알려진 버섯의 일종인 *Cordyceps scarabaeicola* KEFC-C252 균사체를 배양하던 중 배양액으로 다량의 청적색 색소가 분비되는 것이 관찰되었다. 따라서 천연색소로의 개발가능성이 있다고 판단되어 색소의 생산에 적합한 배양조건을 검토하고 색소를 정제하였으며, 정제된 색소가 강한 항돌연변이 효과를 나타내었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험균주

색소를 생산하는 버섯균사 *Cordyceps scarabaeicola* KEFC-C252은 한국과학재단 특성화 장려사업 동충하초은행에서 구입하여 사용하였다. Sabouraud dextrose 평판배지에 *C. scarabaeicola* KEFC-C252를 접종하여 26°C에서 1주간 배양한 후 4°C 냉장고에서 보관하며 실험에 사용하였다.

색소 및 균사체 측정법

색소의 생산량은 분광광도계(Shimadzu UV-240)로 400 nm에서 흡광도를 측정하여 정제된 색소의 흡광도와 비교하여

*Corresponding author
Tel. 0371-741-0286, Fax. 0371-743-0411
E-mail: hwlee@wonju.yonsei.ac.kr

측정하였다. 균사체를 제거한 배양액 5 ml에 2N HCl을 가하여 pH 3.0으로 조절한 후 1,000rpm에서 2분간 원심분리하였다. 침전된 색소는 적당량의 증류수에 용해시키고 pH 7.0으로 조절하였다. 색소용액을 흡광도 측정이 가능한 범위로 희석한 후 흡광도를 측정하였다. 균사체의 증식량은 배양된 균사체를 여과한 후 증류수로 충분히 세척하고, 110°C에서 일정한 중량이 측정될 때까지 건조하여 건조중량(dry cells weight, DCW)으로 표시하였다.

색소의 생산조건

색소의 생산에 적합한 배양조건을 확립하기 위하여 250 ml Erlenmeyer flask에 50 ml 배지를 가하고 가압살균한 후 1 ml의 종균을 접종하였다. 접종한 균사체를 26°C에서 120rpm으로 4일간 진탕배양하였다. 종균은 250 ml Erlenmeyer flask에 30 ml의 기초배지를 가하고 가압살균한 후 *C. scarabaeicola* KEFC-C252 일백균니를 접종하여 26°C에서 2일간 진탕배양한 균사체를 사용하였다. 색소의 생산에 적합한 배지의 조성을 검토하기 위하여 사용한 기초배지는 1% glucose, 0.5% tryptone 및 0.5% yeast extract 였으며, 초기 pH는 6.0이었다. 기초배지의 glucose와 tryptone-yeast extract를 대체한 다양한 탄소원과 질소원 배지에서 *C. scarabaeicola* KEFC-C252를 배양하여 탄소원 및 질소원이 색소의 생산에 미치는 영향을 조사하였으며, 색소의 생산에 적합한 농도를 조사하였다. 또, 탄소원 및 질소원을 최적화한 배지의 초기 pH 및 배양온도가 색소의 생산에 미치는 영향을 조사하였다. 7리터 발효조에 최적화한 액체배지 5리터를 가하여 121°C에서 가압살균한 후, 150 ml의 종균을 접종하여 1.5vvm으로 통기하며 200rpm으로 교반하면서 26°C에서 5일간 배양하였다. 12시간마다 시료를 채취하여 색소의 생산량, 균사체의 증식량 및 pH의 변화를 조사하여 배양시간에 따른 색소의 생산과 발효조에서 색소의 생산을 검토하였다.

색소의 분리정제

배양 여과액 1리터에 진한 HCl을 가하여 pH 3.0으로 조절하고 500 ml ethylacetate로 2회 반복하여 추출하였다. Ethylacetate 층을 분리하여 50°C에서 감압건조 하였으며, 건조된 색소는 200 ml의 증류수에 용해 시키고 pH 10.0으로 조절하였다. 색소용액에 1 ml의 진한 HCl을 가하여 서서히 흔들면서 색소를 침전시킨 후 침전된 색소를 1,000rpm으로 2분간 원심분리 하여 모았다. 침전된 색소를 위와 동일한 방법으로 다시 물에 녹여 침전시킨 후 30ml의 증류수로 2회 반복하여 세척하고 50°C에서 완전히 건조시켰다. 건조된 색소는 200 ml의 에탄올에 용해 시킨 후 600 ml의 chloroform/n-heptane (1/2, v/v)을 가하고 상온에서 하루동안 방치하여 결정을 형성시켰다. 결정을 chloroform/n-heptane(1/2, v/v) 용액으로 충분히 세척하여 50°C에서

건조시킨 다음, 100 ml 에탄올에 다시 녹여 chloroform/n-heptane(1/2, v/v) 용액으로 재결정시켜 건조하여 650 mg의 황색 육각기둥 모양의 결정을 얻었다. 색소의 분리방법은 Fig. 1과 같았다.

색소의 돌연변이원성과 항돌연변이원성 조사

색소의 돌연변이원성과 항돌연변이원성 조사는 Ames test를 약간 변형하여 시행하였다[2,13]. 색소의 변이원성을 시험하기 위하여 점돌연변이된 *Salmonella typhimurium* TA100와 frame shift 돌연변이된 *Salmonella typhimurium* TA98 히스티딘 영양요구성 변이주를 사용하였다. 평판배지에 색소를 농도별로 첨가하고 100 ml의 시험균을 현탁한 top agar를 가하여 평판고화 시킨 다음 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이의 콜로니수를 측정하였다. 돌연변이원성은 색소가 첨가되지 않은 집단의 복귀돌연변이를 기준으로 하여 돌연변이율로 나타내었다. 색소의 항변이원성 시험은 *S. typhimurium* TA100 배양액 100 µl에 2 µg의 4-nitroquinoline N-oxide(4-NQO)를 가하고 각 농도의 색소를 가한 후 전체 반응액이 1 ml이 되도록 증류수를 가하여 37°C에서 30분간 처리하였다. 처리된 균체를 증류수로 두 번 세척하고 top agar에 현탁하여 평판고화 시킨 다음 37°C에서 48시간 배양하여 His⁺ 복귀돌연변이의 콜로니수를 측정하였다. 항돌연변이활성은 His⁺ 복귀돌연변이의 저해율(inhibition ratio)로 나타내었다.

$$\text{Inhibition ratio}(\%) = 100 \times [(a-b)/(a-c)]$$

a: 변이원에 의해 유도된 His⁺ 복귀돌연변이의 콜로니수

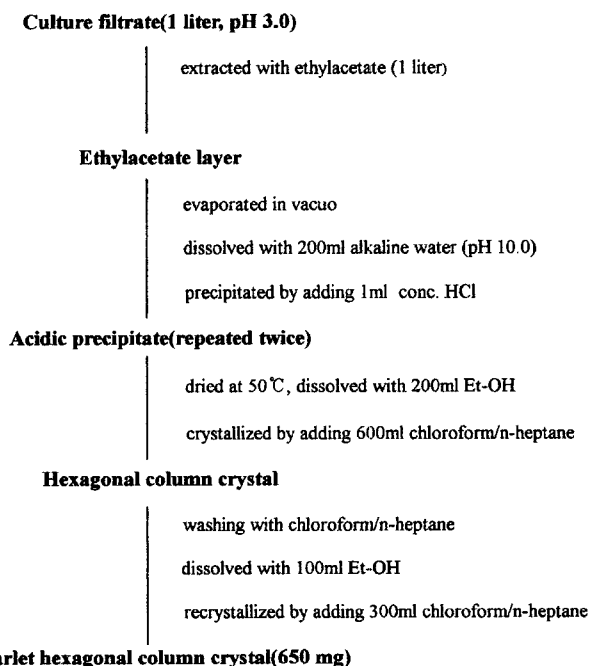


Fig. 1. Isolation procedure of the pigment from cultural filtrate of *C. scarabaeicola* KEFC-C252.

b: 변이원과 색소처리로 유도된 His⁺ 복귀돌연변이의 콜로니수
 c: 색소만을 처리한 경우의 His⁺ 복귀돌연변이의 콜로니수
 돌연변이원성 및 항돌연변이원성 실험은 3구 3회 반복하여 평균값으로 나타내었다.

결과 및 고찰

색소생산을 위한 배양조건

색소의 생산에 적합한 *C. scarabaeicola* KEFC-C252의 배양조건을 검토하기 위하여, 탄소원과 질소원, 배지의 초기 pH, 배양온도 및 배양시간을 조사하였다. 탄소원이 색소의 생산에 미치는 영향은 Table 1과 같았다. Arabinose, xylose, 및 lactose 등에서 균사체의 증식은 양호 하였으나, 색소는 생산되지 않았다. Sucrose 및 glucose를 탄소원으로 배양하면 색소의 생산이 우수할 뿐 아니라 균사체의 증식도 좋았다. 본 실험에서는 색소의 생산이 가장 우수한 sucrose를 탄소원으로 이용하였다. 질소원이 색소의 생산에 미치는 영향을 조사한 결과 *C. scarabaeicola* KEFC-C252는 yeast extract, yeast extract-tryptone혼합물, tryptone, peptone 및 cassamino acid 등에서 색소의 생산이 우수하였으며, 균사체의 증식도 양호하였다(Table 2). Yeast extract에서 색소의 생산량이 가장 많았으며 색소의 정제과정에도 장점이 있어서 Yeast extract를 질소원으로 사용하였다. 색소의 생산에 가장 적합한 sucrose와 yeast extract의 농도는 각각 1.5%와 2.5%였으며, 균사체의 증식은 각

Table 3. Effect of C/N ratio on the pigment production by *C. scarabaeicola* KEFC-C252

Yeast extract(%)	Sucrose(%)			
	0.5	1.0	1.5	2.0
0.5	*360/39	360/56	360/64	460/72
1.0	560/56	560/72	700/84	460/92
1.5	700/67	880/83	840/86	815/83
2.0	620/68	940/75	1080/83	1000/81
2.5	560/58	1120/67	1200/77	860/72
3.0	500/50	1040/63	1120/70	750/68

*Pigment(μg/ml)/Cell growth (DCW, mg/10 ml)

1.5%에서 최대였다. 색소는 2.5% yeast extract에서 최대생산량을 나타내어 비교적 높은 농도의 질소원이 필요하였으

Table 1. Effect of carbon sources on the pigment production by *C. scarabaeicola* KEFC-C252

Carbon Sources (1.0%)	Pigment (μg/ml)	Cell growth (mg/10 ml)
Arabinose	0	40
Xylose	0	30
Fructose	200	61
Glucose	390	74
Sucrose	440	72
Lactose	0	76
Soluble starch	250	57

Table 2. Effect of nitrogen sources on the pigment production by *C. scarabaeicola* KEFC-C252

Nitrogen Sources (1.0%)	Pigment (μg/ml)	Cell growth (mg/10 ml)
Cassamino acid	150	46
Casein	0	27
Peptone	150	66
Tryptone	260	61
Tryptone-Yeast extract(1:1)	440	78
Yeast extract	560	73

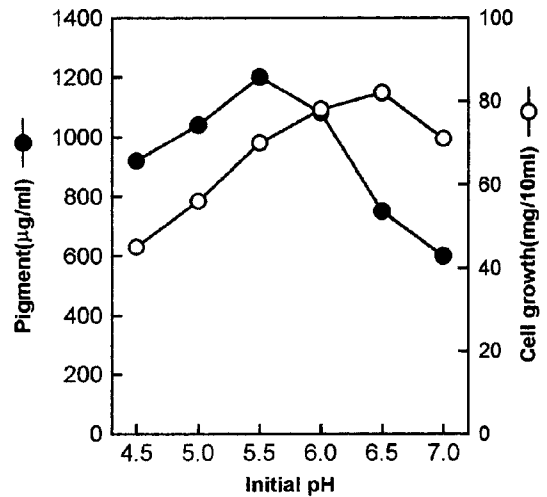


Fig. 2. Effect of initial pH of medium on the pigment production by *C. scarabaeicola* KEFC-C252.

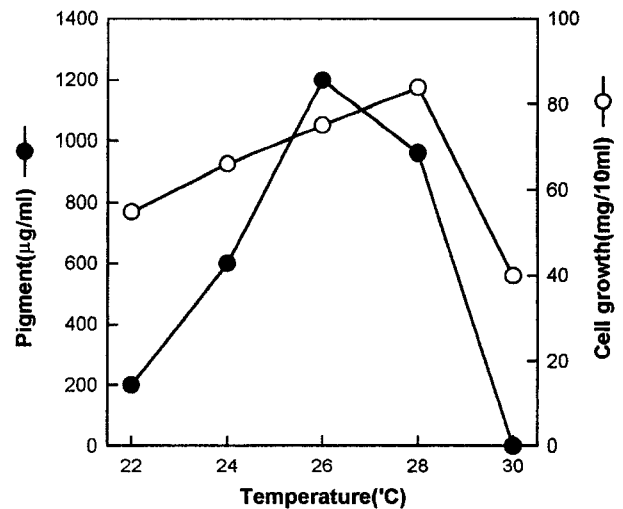


Fig. 3 Effect of temperature on the pigment production by *C. scarabaeicola* KEFC-C252.

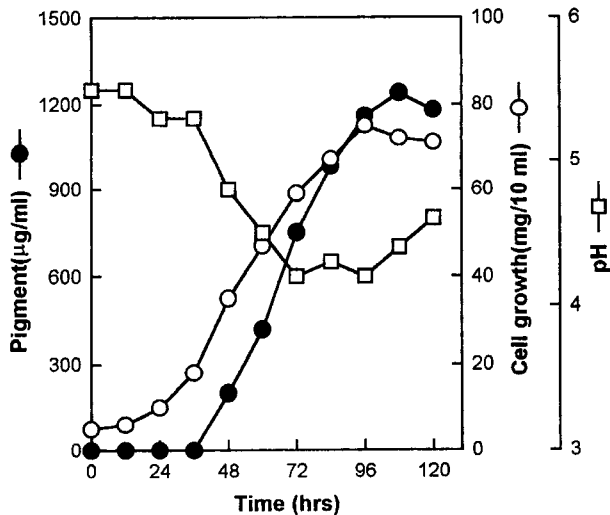


Fig. 4. Time course on the pigment production by *C. scarabaeicola* KEFC-C252 in 7 liter jar fermenter.

C. scarabaeicola KEFC-C252 was cultivated in 7 liter jar fermenter containing 5 liters optimized medium. Three percent seed culture was inoculated, and the culture was controlled with 200 rpm agitation, 1.5 vvm aeration, and 26°C. The optimized medium was to be made up of 1.5% sucrose, 2.5% yeast extract and initial pH 5.5.

며, 색소생산에 적합한 C/N의 비율은 0.60이었다(Table 3). 색소의 생산에 미치는 배지의 초기 pH와 온도의 영향을 조사한 결과는 Fig. 2 및 Fig. 3과 같았다. *C. scarabaeicola* KEFC-C252는 배지의 초기 pH 5.5에서 가장 많은 색소를 생산하였으나, 균사체의 증식은 초기 pH 6.5에서 최대를 나타내었다. 26°C에서 배양할 때 가장 많은 색소가 생산되었으나, 균사체의 증식은 28°C에서 가장 왕성하였다. 발효조에서 배양시간에 따른 색소의 생산은 Fig. 4에 나타내었다. 발효조에서 96시간 배양하였을 때 균사체의 증식이 최대에 달하였으며, 색소의 생산량은 108시간 배양한 후에 최대에 도달하였다. *C. scarabaeicola* KEFC-C252의 색소합성은 대수증식기와 정체가 초반부에 이루어지며, 최고치에 도달한 후에 색소의 농도는 비교적 안정하게 유지되었다. *C. scarabaeicola* KEFC-C252는 최적배양조건에서 1.2 g/liter의 색소를 생산하였다. 발효조에서 색소를 생산한 경우 flask배양에서 생산되는 최대의 색소량과 비슷한 정도의 생산성을 보였다. *C. scarabaeicola* KEFC-C252의 균사체 배양으로 생산되는 색소는 배양액에서 안정하였으며, 비교적 많이 생산되어 응용가능성이 있다고 판단된다. 식물의 조직배양 및 미생물의 배양기술을 이용하여 안정적으로 천연 색소를 생산하는 연구가 활발히 이루어지고 있지만[6,9,10,19], 본 연구처럼 버섯의 균사체를 배양하여 색소를 생산한 예는 없었다. 버섯의 자실체는 예로부터 식용 및 약용으로 많이 이용되었으며, 오랫동안 연구되어 왔다[5,15,17,21]. 또한, 균사체 배양기술을 이용한 경우에는 다당류 등의 고분자물

질을 생산하는 연구가 주류를 이루고 있으며[7,12], 이차대 사산물을 생산하는 연구결과는 찾아보기 어려운 실정이다. 따라서 본 연구에서는 버섯의 균사체를 배양하여 이차대사 산물을 생산하는 새로운 가능성을 제시하고 있다.

색소의 색상특성

분리된 색소는 수용액의 pH에 따라 다양한 색상을 나타내었는데, 알칼리성 용액에서 청색, 중성 용액에서 청적색, 약산성 용액에서 황색, 강산성 용액에서 붉은색을 나타내었다. 천연색소 중 pH에 따라서 색상이 변하는 특성이 수용성 색소인 anthocyanin계열의 색소가 갖는 전형적인 특성과 일치하여 본 실험에서 분리한 색소는 anthocyanin계열의 색소로 추정된다. 황색 색소가 *Monascus anka*에서[6], 노란색 색소가 *Bacillus* sp. PY123에서[9], 붉은색 색소가 *Serratia marcescens*에서[19], 갈색 색소가 *Bacillus licheniformis*에서[8] 생산된다고 보고되는 등 다양한 색상의 색소가 미생물로부터 생산되는 것으로 알려져 있다. 그러나 청색계통의 색소에 관한 보고는 찾아보기 어려운 실정이다. *C. scarabaeicola* KEFC-C252가 생산하는 색소는 약알칼리성에서 청색을 나타낼 뿐 아니라 pH에 따라 다양한 색상의 변화를 보이는 특성이 있어, 이런 특성을 이용한 응용이 기대된다.

색소의 돌연변이원성 및 항돌연변이원성

돌연변이원성을 조사하기 위하여 평판배지에 색소만 첨가하고 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 균주를 배양한 결과 색소의 농도가 증가하면서 자발적 돌연변이에 의한 콜로니수가 감소하였다. 색소의 시험균에 대한 독성검사는 LB 배지에 각 농도의 색소를 첨가하고 콜로니수를 측정한 결과 색소가 시험균의 생육에 전혀 영향을 주지 않았다. 이는 색소의 독성 때문에 시험균의 생육이 감소한 것이 아니라, 분리된 색소가 자발적 돌연변이를 억제하는 효과가 있는 물질임을 시사하고 있다. 색소를 150 µg/ml로 첨가한 경우에 *S. typhimurium* TA100에서 자발적 돌연변이

Table 4. Mutagenic tests of the pigment from *C. scarabaeicola* KEFC-C252 on *S. typhimurium* TA100 and TA98

Dose (µg/ml)	TA100		TA98	
	His ⁺ (CFU)	Mutation ratio	His ⁺ (CFU)	Mutation ratio
0	59.00 ± 4	1.000	60.33 ± 3	1.000
50	54.70 ± 5	0.927	57.67 ± 4	0.956
100	47.60 ± 5	0.806	52.00 ± 5	0.862
150	40.64 ± 6	0.689	48.12 ± 3	0.778
200	34.81 ± 3	0.590	44.46 ± 3	0.737
250	30.00 ± 4	0.508	38.33 ± 4	0.635
300	29.54 ± 5	0.500	36.13 ± 5	0.599

Mutagenic activity is expressed as mutation ratio(%) of His⁺ reversion of *S. typhimurium* which is described in detail by Maron and Ames[13].

Table 5. Antimutagenic activities of the pigment from *C. scarabaeicola* KEFC-C252 on *S. typhimurium* TA100

Dose(μg/ml)	His ⁺ (CFU)	Inhibition ratio(%)
0	954 ± 40	0.00
50	930 ± 35	4.10
100	862 ± 33	10.10
150	683 ± 43	36.15
200	491 ± 32	59.43
250	308 ± 20	80.37
300	298 ± 18	78.78

To treatment of antimutagen, 1 μl reaction mixture was composed of 100 μl *S. typhimurium* TA100 culture, 2 μg 4-NQO, and pigment. After the mixture was incubated at 37°C for 30 min, the cell was washed twice with distilled water. the treated cell was cultured on the plate at 37°C for 48hrs. Antimutagenic activity is expressed as inhibition ratio(%) of His⁺ reversion of *S. typhimurium* TA100 which is described in detail by Maron and Ames[13].

에 대한 억제율은 약31%를 보였으며, *S. typhimurium* TA98에서 자발적 돌연변이에 대한 억제율은 약22%를 나타내었다(Table 4). *S. typhimurium* TA100 균주를 4-nitroquinoline N-oxide(4-NQO)로 처리하여 유발되는 돌연변이에 대한 색소의 항돌연변이율을 조사한 결과 Table 5와 같이 250 μg/ml에서 약80%의 돌연변이 억제율을 나타내어 분리한 색소는 우수한 항돌연변이원성 물질이었다. 돌연변이 억제효과에 대하여 식물성 식품소재, 발효유제품 및 약용식물 등에서 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 이유는 항돌연변이원성 물질들이 발암억제효과를 보여주기 때문이다[1,11, 16,20]. 천연색소가 항돌연변이원성을 나타낸다는 보고는 김 등이 *Bacillus licheniformis* SSA3에서 생산되는 갈색색소의 항돌연변이효과에 관하여 보고한 바 있다[8]. 또한, 천연색소인 베타카로틴은 강한 항산화력에 기인하는 항돌연변이효과가 있을 뿐 아니라 발암억제 효과도 인정되고 있다 [3]. 본 연구에서 분리한 색소도 발암억제 등의 생물학적 효과가 기대되어 구조분석 및 다양한 기능성에 관한 연구가 수행되어야 할 것이다.

요 약

Cordyceps scarabaeicola KEFC-C252 균사체의 배양으로 생산되는 천연색소의 생산조건 및 색소의 정제방법을 조사하였으며, 분리된 색소의 항돌연변이 효과를 조사하였다. 색소의 생산에 적합한 배지는 1.5% sucrose, 2.5% yeast extract, 초기 pH5.5였다. *C. scarabaeicola* KEFC-C252를 26°C에서 108시간 배양한 후에 색소생산이 최대에 달하였으며, 최적조건에서 *C. scarabaeicola* KEFC-C252는 1.2 g/liter의 색소를 생산하였다. 색소는 ethylacetate 추출, 산침전 및 결정화과정을 거치면서 정제하여 황색의 육각기둥 모양의 결정을 얻었다. 분리된 색소는 용액의 pH변화에 따라

색상이 변하는 특성을 나타내었는데 알칼리성 용액에서 청색, 산성 용액에서 붉은색을 나타내었다. 분리된 색소는 4-NQO로 유도된 돌연변이를 억제하는 항돌연변이원성 물질이었다. 또 분리된 색소는 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100에서 자발적 돌연변이를 감소시켰다.

감사의 글

본 연구는 1998년 연세대학교 교내연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

REFERENCES

- Ahn, B. Y., D. G. Kim, and D. S. Chio. 1999. Antimutagenic effect of tansen(*Salvia miltiorrhiza* Bunge). *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **27**: 197-202.
- Ames, B. N., F. D. Lee, and W. E. Dursoton. 1973. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **70**: 782-786.
- Cozzi, R., R. Ricordy, T. Aglitti, V. Gatta, P. Perticone, and R. D. Salvia. 1997. Ascorbic acid and β-carotene as modulators of oxidative damage. *Carcinogenesis* **18**: 223-228.
- Fujita, Y., Y. Hara, Suga, and R. Morimoto. 1981. Production of shikonin derivatives by cell suspension cultures of *Lithospermum erythrorhizon*. *Plant Cell Report* **1**: 61-63.
- Hamada, M. 1991 Effect of *Cordyceps sinensis* (Berk) Sacc. extract upon anti-tumor activity and tumor immunity. *J. Kanazawa Med. Univ.* **16**: 46-53.
- Kang, S. G., J. W. Rhim, S. T. Jung, and S. J. Kim. 1996. Production of red and yellow pigments from *Monascus anka* in a jar fermenter. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **24**: 756-762.
- Kiho, T., A. Yamane, J. Hui, S. usui, and S. Ukai. 1996. Polysaccharides in fungi. XXXVI. Hypoglycemic activity of a polysaccharide (CS-F30) from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis* and it effect on glucose metabolism in mouse liver. *Biol. Pharm. Bull.* **19**: 294-296.
- Kim, J. K., S. M. Park, and S. J. Lee. 1995. Novel antimutagenic pigment produced by *Bacillus licheniformis* SSA3. *J. Microbio. Biotechnol.* **5**: 48-50.
- Kim, J. Y. and K. H. Kim. 1997. Isolation and characterization of *Bacillus* sp. PY123 producing water-soluble yellow pigment. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 454-458.
- Kim, S. H., S. H. Kim, J. N. Lee, S. W. An, K. S. Kim, B. Hwang, and H. Y. Lee. 1998. Optimization of betacyanin production by red beet hairy root cultures. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **26**: 435-441.
- Lee, S., D. J. Kwon, J. Y. Yoo, and D. H. Chung. 1996. Effect of mugwort extract on the *in vitro* mutagenicity, desmutagenicity. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 105-110.
- Lee, S. Y. and T. S. Kang. 1996. Production condition and characterization of the exo-biopolymer produced by sub-

- merged cultivation of *Ganoderma lucidum*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**: 111–118.
13. Maron, D. M. and B. N. Ames. 1983. Revised methods for the *salmonella mutagenicity test*. *Mutat. Res.* **113**: 173–219.
14. Noe, W., C. Langebartels, and H. U. Seitz. 1980. Anthocyanin accumulation and PAL activity in a suspension culture of *Daucus carota L.* *Planta* **149**: 283–287.
15. Ohmori, T., K. Tamura, A. Wakaiki, G. Kawanishi, S. Tsuru, T. Yadomae, and K. Nomoto. 1988. Dissociation of a glucan fraction (CO-1) from protein-bound polysaccharide of *Cordyceps ophioglossoides* and analysis of its antitumor effect. *Chem. Pharm. Bull.* **36**: 4512–4518.
16. Rhee, C. H. and H. D. Park. 1999. Isolation and characterization of lactic acid bacteria producing antimutagenic substance from Kimchi. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 15–22.
17. Sung, J. M., C. H. Kim, K. J. Yang, H. K. Lee, and Y. S. Kim. 1993. Studies on distribution and utilization of *Cordyceps militaris* and *C. nutans*. *Kor. J. of Mycology* **21**: 94–105.
18. Yamkawa, T., S. Kato, K. Ishida, T. Kodama, and Y. Minoda. 1983. Production of anthocyanins by *Vitis* cell in suspension culture. *Agric. Biol. Chem.* **47**: 2185–2191.
19. Yang, I. Y. and S. O. Hwang. 1995. Isolation and identification of *Serratia marcescens* strain US50-3 producing water-soluble red pigment. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 777–780.
20. Yoon, K. D., D. J. Kwon, S. S. Hong, S. I. Kim, and K. S. Chung. 1996. Inhibitory effect of soybean and fermented soybean products on the chemically induced mutagenesis. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **24**: 525–528.
21. Yoshida, J., S. Takamura, S. Suzuki, and S. Kashimura. 1992. Potentiating effect of an extract of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. on cytostatic activity of mouse effector cells against tumor cells. *J. Kanazawa Med. Univ.* **17**: 330–335.

(Received March 9, 2000)