

계란을 이용한 눈꽃동충하초 재배방법에 관한 연구

강한석 · 손장호*, 이길왕 · 김선구 · 조병욱 · 신태순 · 전해열**

*밀양대학교동물자원학과, 경남 밀양시 내이동 1025-1번지

**경상북도 축산기술연구소, 경북 영주시 안정면 묵리 산 66-1번지

A Study on the Method of Culture for *Paecilomyces japonica* Using an Egg

H. S. Kang · J. H. Son*, K. W. Lee · S. K. Kim · B. W. Cho · T. S. Shin and H. Y. Jeon**

*Miryang National University, Naeidong 1025-1, Miryang-si, Gyeongnam, 627-702, South Korea

**Gyongbuk, Livestock Research Institute, 66-1 Mt., Mook-ri, Anjung-myeon, Youngju-si, Gyongbuk, South Korea

〈 목 차 〉

ABSTRACT	IV. 적 요
I. 서 언	V. 사 사
II. 재료 및 방법	인용문헌
III. 결과 및 고찰	

ABSTRACT

This study was conducted to established method of culture for *Paecilomyces japonica* using an egg. Mycelia grew favorably at the temperature of 22~26℃ on eggs. 5.1g of dry matter basis(average 7.2cm of longer and 199.6 of numbers) of artificial fruiting bodies were harvested at 60 days after inoculation from one of egg. Commercial fruiting bodies of *Paecilomyces japonica* from silkworms was used for comparative nutritional contents. Cordycepin contents of fruit bodies of *Paecilomyces japonica* cultivated on eggs and silkworms were not significantly different. Crude fat contents of fruiting bodies of *Paecilomyces japonica* cultivated from eggs was significantly higher than from silkworms(P<0.05). Mn and Cu contents of fruiting bodies of *Paecilomyces japonica*

cultivated from silkworms were significantly higher than from eggs($P<0.05$), but Na, Mg, Fe and Zn contents were significantly higher from eggs($P<0.05$). Glycine, Arginine and Proline contents in the fruiting bodies of *Paecilomyces japonica* cultivated from silkworms were tend to higher than from eggs, but Serine, cystein, methionine, isoleucine and phenylalanin were tend to higher from eggs. These results were made possible that possible mass production of artificial fruiting bodies of *Paecilomyces Japonica* cultivated on eggs.

Key Words : *Paecilomyces japonica*, artificial fruiting bodies, cordycepin, silkworms, eggs

I. 서 언

동충하초(冬虫夏草)라는 이름은 동충하초菌이 침입하여 겨울에는 곤충의 몸속에 균핵을 형성하여 있다가 여름에는 풀처럼 돋아 나오는 모습에서 연유되었다. 즉 동충하초균의 포자나 균사가 곤충이나 균핵, 식물의 종자 등에 들어가서 기주안에 있는 물질을 영양원으로 이용하여 내생균핵을 만든 다음 밖으로 자실체를 형성하는데 그것이 바로 동충하초 버섯이다.

지금까지 곤충에 침입하는 동충하초균은 세계적으로 800여종으로 알려져 있다.

이들 중 버섯을 형성하는 것은 대부분 자낭균강(Acomycetes), 맥강균목(Clavicipitales), 맥강균과(Clavicipitaceae)에 속하는 Cordyceps 속 등 8개속 (①Cordyeps, ②Podonectrides, ③Torubiella, ④Shimizuomyces, ⑤Sphaeracordyceps, ⑥Wakefieldionyces, ⑦Neocordyceps, ⑧Atricordyceps)이 알려져 있으며 그 종(Species) 수는 세계적으로 400여종이 보고되고 있다 (Sung 등, 1997 ; 清水大典, 1994).

지금까지 일본에서 300여종(清水大典, 1994)이, 한국에서 78종(성, 1996)이 보고되어졌으며, 그 대표적인 동충하초로는 번데기 동충하초, 큰매미 동충하초, 유충흑색다발 동충하초, 큰 유충방망이 동충하초, 풍뎅이 동충하초, 유충긴목구형 동충하초, 눈꽃동충하초 등이 있다. 동충하초균의 특징은 완전세대의 유성생식 기관으로서 자낭포자를 형성할 뿐만 아니라 생활사의 일부로 무성생식 기관으로서 포자를 형성하는 불완전 세대를 갖는다고 알려져 있다(Evans, 1982).

이러한 동충하초는 자연 생태계 내에서 곤충집단의 밀도를 조절하기도 하지만 한방약재로 또는 해충방제로 이용할 수 있다는 점에서 최근 많은 사람들에게 관심을 불러일으키고 있다. 또한 동충하초는 매우 강력한 면역기능 증강작용이 있다는 사실이 최근에 증명되었는데, 동충하초에서 추출한 영양액은 유기체의 면역기능을 현저하게 강화시키고 체액면역과 세포면역에 대해서

도 촉진효과가 있어, 종양과 바이러스 감염에 대한 유기체의 저항력을 높인다(Shin, 1999). 특히 동충하초에는 종양 억제물이 매우 높아서 항암 성분이 있을 가능성도 있다(Park 등, 2000). 이처럼 우수한 효능을 가진 동충하초이지만, 자연 상태로 성장되어 생육조건이 까다로운 동충하초의 자실체를 채집하는 것은 매우 어렵기 때문에 전 세계적으로 그 생산량이 미비하여서 특정인에 의해 고가로 구매되어 복용되고 있으므로, 동충하초의 자실체를 안정적으로 공급하기 위한 재배방법이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 건강식품 및 한약재 등에 관심이 높은 동충하초의 자실체를 안정적으로 공급하기 위해서 계란을 배지로한 인공적인 자실체의 대량생산방법을 연구하였으며, 인공적으로 생산된 동충하초의 자실체내의 영양성분(특수성분 포함)도 자연에서 생산된 것과 비교 분석하였다.

II. 재료 및 방법

계란으로부터 동충하초의 자실체를 얻기 위해서는 첫째, 동충하초의 균주를 PDA 고체 배지에서 배양한 후 PD배지에서 액체종균으로 배양하여 계란에 접종시키는 단계, 둘째로 종균이 감염된 계란에 내생균핵을 형성시키는 단계, 마지막으로 내생균핵이 형성된 계란으로부터 자실체를 형성시키는 단계로 3가지로 대분할 수 있다.

1. 동충하초 종균의 분류

밀양대학교 잠사곤충학과내 동충하초 연구소에서 분리한 PJ2, P660, P240, CS 및 Cm 등 5종의 *Pecilomyces japonica*군(강 등, 2002)중 온도별 생육기간별 생산량이 우수한 종균을 구명하기 위하여 온도는 5℃에서 30℃까지 5℃ 간격으로 배양한 후 배양성적이 가장 우수한 P660 종균을 본 연구에 사용하였다.

2. 원료종균의 배양

1) 고체종균 배지(PDA) 만들기

멸균 증류수 100ml를 300ml의 삼각 플라스크에 넣고 PD(Potato Dextrose, Becton dickinson) 2.4g, 한천(Agar) 1.4g을 혼합하여서 넣은 후 Autoclave에서 멸균하였다(120℃, 20min). 삼각 플라스크를 Autoclave에서 꺼낸 다음 지름 9cm의 Petridish에 약 20ml 정도 분주하여 완전히 식힌 후 동충하초 종균을 2mm² 첨가하여서 Incubator(22℃)에서 30일간 배양하였다. 배양이 종료된 고체배지는 냉장상태 (0~2℃)에 보관하였다.

2) 액체종균 배지(PD) 만들기

멸균 증류수 100ml를 300ml 삼각 플라스크에 넣고 PD(Potato Dextrose, Becton Dickinson) 2.4g을 완전히 녹인 다음 Autoclave에서 멸균하였다(120℃, 20min). 멸균된 PD 배지를 Autoclave에서 꺼낸 다음 실온에 방치, UV멸균 과정을 거쳐 300ml 삼각 플라스크에 100ml씩 분주한 다음 전술한 바와 같이 고체 종균 2mm를 첨가하여 혼합 배양기(Shaking Incubator, 160rpm, 25℃)에서 7일간 배양하였다. 배양이 완료된 액체배지도 고체배지와 동일한 조건에 보관한다. 만들어진 액체 종균내 동충하초균의 포자농도는 10^8 spores/ml정도가 된다(강 등, 2002).

3. 계란에 액체 종균 접종하기

계란에 종균을 접종하기 위하여 250ml용 비이커를 Autoclave(120℃, 20min)에서 멸균시킨다. 이때 계란은 난각을 깨끗이 세척 후 UV상자내에서 60분간 방치시킨다. 멸균된 비이커내에 계란 한 개를 깨어 넣고 액체종균 5.0ml를 접종한다. 동충하초 종균이 접종된 계란내에 내생균 핵 형성을 위하여 온도 22~26℃, 습도 70~90%의 배양기에서 60일간 배양하였다.

4. 종균 접종 후 동충하초 자실체 성장 관찰 내용

1) 시험 계란수 (계란에 액체 종균 접종갯수) 및 관찰내용

- ① 온도 22~26℃로 고정된 배양기내에서 1회 배양갯수 50개를 10반복의 조건으로 실시하였다.
- ② 계란내 종균 접종 후 60일간 매일 오전 10시, 1회, 기록 일지에 특이사항(종균 접종부분의 색깔, 동충하초 자실체의 성장속도 등)을 관찰 기록하였으며, 정기적으로 자실체의 성장속도를 조사하였다.

2) 계란에서 얻어진 동충하초 자실체(Fig. 1)의 영양성분 분석

- ① 계란 및 누에(시판용, 자연산)에서 얻어진 동충하초의 자실체는 일반성분은 AOAC (1996) 방법에 의하여 건조법, 킬달법, 속실텐법 및 회화법에 따라 각각 수분, 조단백, 조지방 및 조회분을 분석하였다. 또한 자실체내의 아미노산의 함량을 분석하기 위하여, 건조한 각 시료 0.1g 정도를 glass tube에 정밀히 취하여 6N 염산 25ml씩을 주입하고 감압과 질소충전을 반복한 후 150℃의 가수분해장치(Pico-Tag workstation, Waters社)에서 1시간 가수분해시켰다. 가수분해한 시료용액은 방냉 후 7.5M NaOH 용액으로 중화하고, 0.2M sodium citrate loading buffer(Ph 2.2)로써 일정량으로 정용한 후 0.22 μ m membrane filter로 여과한 것을 아미노산 정량용 시험액으로 하였으며, sodium type의 ionexchange column을 장착한 HPLC를 이용하여 각 시험액의

아미노산함량을 구하였다. 또한 필수아미노산의 Chemical score는 Sheffner(1967)의 방법에 따라서 산출하였다. 자실체내의 각종 미네랄 함량은 분석은 AA기(AA-6200, Shimadzu)를 이용하여서 분석하였으며, 이때의 아미노산 분석을 위한 HPLC의 조건은 Table 1에 나타내었다. 계란에서 생성된 동충하초의 성분과 시판용 누에(자연산)에서 생성된 동충하초간의 성분 비교를 위해서 누에에서 생성된 동충하초도 동시에 일반 성분, 각종 미네랄 분석 및 아미노산 분석을 실시하였다.

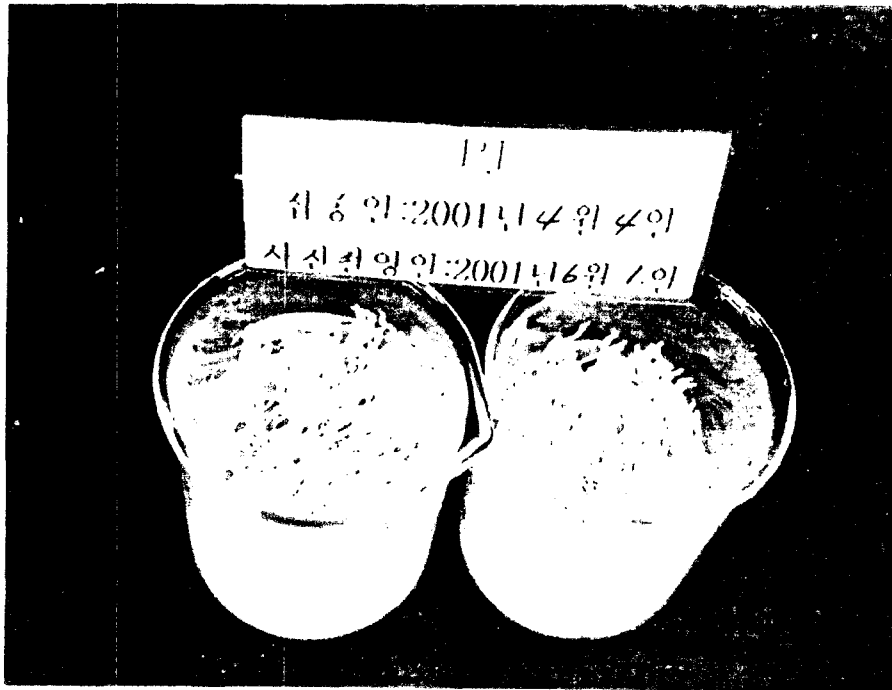


Fig 1. Artificial fruiting body of *Paecilomyces japonica* from eggs.

Table 1. Condition of HPLC for amino acids analysis.

Instrument	Water Model 510
Column	Amino acid analysis column(25cm×0.46cm ID)
Injection Volumn	20 μ l
Flow rate	0.4ml/min
Detector	Fluorescence, Water Model 420-AC
Mobile phase	Buffer A : Sodium citrate pH 3.05 Buffer B : Sodium nitrate pH 9.60

② 계란 및 누에에서 생산된 동충하초 자실체내의 Cordycepin 추출을 위한 전처리 : 계란 및 누에에서 수확된 자실체중에 함유된 Cordycepin 추출을 위하여 탈지한 시료 1g을 마개가 있는 유리용기에 넣고 HPLC용 water 100ml를 부어 잘 흔들어준 후 90℃의 shaking water bath에서 12시간동안 80rpm의 속도로 교반 추출하였다. 이것을 실온에서 식힌 후 Whatman No.2 여과지로 여과하였다. 여액 50ml를 삼각 플라스크에 담고 HPLC용 acetone 100ml를 섞어 잘 흔들어준 다음 4℃에서 12시간 동안 냉침한 후 다시 Whatman No.2 여과지로 여과하였다. 여액을 감압 농축하여 건조물을 얻은 후 이를 HPLC용 water 5ml에 용해시켰다. HPLC 분석을 위하여 0.45 μ m membrane filter로 여과한 후 분석시료로 사용하였다. Cordycepin 분석을 위한 HPLC의 조건표는 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Condition of HPLC for cordycepin analysis.

Instrument	Spectra-Physics
Column	μ Bondapak C18 (30 \times 3.9cm)
Flow rate	1ml/min
Mobile phase	0.05M K ₂ HPO ₄ (pH 4.6) : Methanol = 40 : 60
Injection volume	50 μ l

5. 통계처리

계란과 누에에서 얻어진 동충하초 자실체를 분석하여 얻어진 일반성분함량, 각종미네랄 함량, 아미노산 함량 및 Cordycepin의 함량간의 비교는 t-test를 실시하여서 처리간의 유의성을 검정하였다(Snedecor 과 Cochran, 1967).

Ⅲ. 결과 및 고찰

계란에 액체 종균을 접종 후 생육기간에 따른 동충하초 자실체의 증식효과를 Table 3에 나타내었다. 60일의 관찰 기간동안 생성된 결과 계란 한 개에서 얻을 수 있는 동충하초 자실체는 평균 7.2cm 길이의 5.1g(건물기준) 정도의 자실체를 얻을 수 있었다.

본 관찰 기간동안 특이사항으로는 계란에 액체종균 접종 1일 후에는 접종부위를 중심으로 계란 속에 기포가 발생하기 시작하여서 접종 3일째에는 난황 표면에 백색의 종균이 관찰되었다. 그 다음날에는 계란이 담겨진 비이커 전체로 균사체가 퍼진 것이 관찰되었으며, 접종 7일째부터 난황 윗부분부터 동충하초의 자실체가 조금씩 나타나기 시작하였다. 접종 15일째에 전체 관찰 자실체의 50% 정도가 관찰되며, 이때부터 자실체 근부에서 분지현상이 관찰되기 시작하였다.

접종 후 15~30일 사이에 가장 빠른 자실체의 성장이 관찰되었다. 자실체의 길이 및 무게도 접종 후 15~30일 사이에 가장 빠른 성장을 나타내었다. 이와 같은 결과는 항온기속의 계란이 액체종균 접종 후 15일 정도에 종균 증식에 가장 적합한 환경을 조성하여서 접종 30일 이상이 되면 계란 속에 있는 상당량의 영양소가 자실체에 의해서 소실된 것으로 사료된다.

Table 3. Effect of proliferation of fruiting bodies of *pecilomyces japonica* cultivated on eggs.

	10 days	15 days	30 days	45 days	60 days	SEM
Number	97.2 (48.7)	102.4 (51.3)	177.2 (88.8)	191.0 (95.7)	199.6 (100.0)	20.8
Length (cm)	1.21 (16.8)	2.13 (29.5)	5.84 (80.9)	7.19 (99.7)	7.21 (100.0)	1.2
Amount (g/DM)	0.7 (13.7)	1.1 (21.6)	3.1 (60.8)	4.1 (80.4)	5.1 (100.0)	0.5

* Parentheses are percentage of values at 60 days.

** Values are means.

Paecilomyces japonica 균주를 계란에 배양 후 얻어진 자실체의 Cordycepin 함량은 Table 4에 나타내었다. 동충하초의 특징적인 성분으로는 Cordycepin acid라고 할 수 있다 (Cunningham 등, 1951). 그 외에도 Vitamin 등 미량성분들이 많이 함유하고 있다. 동충하초 중의 키닉산(Quinic acid)의 이성체로 알려진 코디세핀은 핵산물질로서 세포의 유전정보에 관여하면서 저하된 면역기능을 활성화하여 정상세포가 암세포로 되는 것을 방지하는 작용을 한다고 보고되고 있다(심 등, 2000 ; 이 등, 2001). 동충하초내에 약 7% 정도 들어 있는 코디세핀 산은 D-mannitol이란 물질로서 혈액 속에 들어가 순환하면서 머리의 내압을 내리고 뇌수종을 경감시키며 또한 눈의 내압을 내리는 작용과 이뇨작용 등을 하며 질병으로부터 인체를 방어하는데 대단히 중요한 역할을 하는 물질로서 면역력을 증가시키고 심장과 간장을 보호하여 암을 억제하거나 노화방지에 관여한다고 보고되고 있다(Shin, 1999 ; Park 등, 2000).

Table 4. Cordycepin contents of fruiting bodies of *pecilomyces* cultivated on silkworms and eggs.

	Contents(μ g/g DM)
Silkworm	129.24 \pm 18.58
Egg	72.53 \pm 42.52

* Values are mean \pm SEM.

계란을 배지로에서 생성된 동충하초 자실체에서 검출된 Cordycepin의 양은 누에를 배지로 생성된 동충하초의 자실체에서 얻어진 Cordycepin량의 약 56 % 정도이지만, 반복간에 오차가

커서 처리간 유의차는 인정되지 않았다. 본 결과는 계란을 배지로 생성된 동충하초 자실체에서도 다량의 Coprdycepin이 검출된 것을 나타낸 결과가 되었다.

Table 5. Chemical composition of fruiting bodies of *pecilomyces* cultivated on silkworms and eggs(%).

	Moisture	Crude protein	Crude ash	Crude fat
Silkworm	9.64	52.43	5.82	10.27a
Egg	8.88	48.75	5.03	26.96b
SEM	0.90	2.36	0.85	3.86

* Values are means : a, b ; P<0.05.

Table 6. Mineral contents of fruiting bodies of *pecilomyces* cultivated on silkworms and eggs(mg/100g).

	Ca	K	P	Na	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu
Silkworm	150.3	1,704.2	1,117.9	30.4a	107.0a	3.6a	15.9a	2.2b	0.8b
Egg	148.5	1,346.8	1,099.6	680.2b	179.5b	27.3b	32.4b	0.9a	0.3a
SEM	13.4	149.3	97.1	18.2	12.3	5.9	3.3	0.1	0.1

* Values are means. a, b ; P<0.05.

Table 5와 6에서는 누에와 계란을 배지로 생성된 동충하초 자실체의 화학적 조성 및 각종 미네랄 함량을 나타내었다. 일반적으로 시판용으로 누에에서 얻어진 동충하초의 자실체는 약 10% 전후의 수분을 함유하고 있다고 보고되어 있다(강 등, 2002). 따라서 계란을 배지로 생성된 동충하초 자실체의 수분함량을 10.0% 정도 수준까지 저하시키기 위해서 동결건조(-70℃, 3days)를 실시 후 일반성분 분석에 이용하였다(계란에서 30일만에 생성된 동충하초 자실체는 약 80% 정도의 수분을 함유하고 있다). 계란과 누에를 배지로 생성된 동충하초 자실체의 조단백질 및 조회분 함량은 처리구간에 차이는 인정되지 않았지만, 조지방 함량은 계란 배지에서 생성된 것이 누에를 배지로 생성된 것 보다 유의하게 높았다(P<0.05). 양 배지에서 생성된 동충하초 자실체에서 검출된 각각의 미네랄 함량은 두 처리 함께 P와 K의 함량이 전체 미네랄 함량의 50.0% 이상을 차지하였으며, 누에 배지에서 생성된 것에는 Mn 및 Cu가, 계란을 배지로 생성된 자실체에서는 Na, Mg, Fe 및 Zn의 함량이 상대적으로 높게 검출되었다.

강 등(2002)은 인공적으로 얻어진 동충하초의 경우 *Paecilomyces* 균핵이 있는 배지의 영양소 함량에 따라 얻어진 동충하초 자실체 간에 성분의 차이를 나타낼 가능성이 있음을 보고하였다. 계란과 누에의 화학적 성분의 비교가 선행된 후 재도 고찰이 필요하리라 생각된다.

Table 7에서는 누에와 계란을 배지로 생성된 동충하초 자실체에서 조사된 각종 아미노산의 함량을 나타내었다. 처리간 40.0% 이상의 차이를 나타낸 아미노산의 종류는 누에를 배지로 생

성된 것에는 Glycine, Arginine 및 Proline이, 계란을 배지로 생성된 것에는 Serine, Cystein, Methionine, Isoleucine 및 Phenylalanine 등의 함량이 상대적으로 높게 나타났다. 이 또한 배지의 영양소 함량의 차이로 인한 것으로 사료되나(이 등, 1998) 차후에 배지간의 영양소 함량 분석 후 재도 고찰이 필요하리라 사료된다.

Table 7. Amino acid contents of fruiting bodies of *pecilomyces* cultivated on silkworms and eggs.

	Silkworm	Egg
Aspartic acid	3,638.1	3,770.9
Serine	1,268.9	2,234.0
Glutamic acid	4,302.4	4,594.6
Glycine	2,866.3	1,821.9
Histidine	1,126.9	1,494.0
Threonine	3,193.9	3,423.0
Arginine	5,046.6	3,000.2
Alanine	2,435.1	2,521.6
Proline	4,254.7	2,585.2
Cystein	649.6	1,136.7
Tyrosine	3,023.5	2,086.5
Valine	2,127.5	3,028.3
Methionine	884.7	1,810.0
Lysine	2,803.6	2,875.6
Isoleucine	1,492.0	2,468.7
Leucine	2,150.1	2,467.8
Phenylalanine	1,530.3	2,502.5
Total	43,443.7	45,336.7

* Values are means.

IV. 적 요

본 연구는 계란을 이용한 눈꽃 동충하초 재배방법을 확립하기 위해서 실시되었다. 계란에서의 눈꽃 동충하초의 자실체는 22~26℃에서 성장하였다. 접종 후 60일째의 배양기간중 계란 한 개에서 건물기준으로 5.1g(평균길이 7.2cm, 199.6개 자실체)의 인공 눈꽃 동충하초 자실체가 생산되었다. 생산된 눈꽃 동충하초 자실체내의 영양소 함량 비교를 위해서 시판용 누에 동충하초도 동시에 이용되었다. 계란과 누에에서 생산된 각각의 눈꽃 동충하초의 자실체중의 코디세핀(Cordycepin)의 함량은 유의한 차이는 인정되지 않았다. 계란에서 생산된 눈꽃 동충하초의

자실체중에는 조지방의 함량이 누에에서 생산된 것보다 유의하게 많았다($P<0.05$). 눈꽃 동충하초 자실체중의 Mn 과 Cu 함량은 누에에서 생산된 눈꽃 동충하초에서 높았지만($P<0.05$), Na, Mg, Fe 및 Zn 함량은 계란에서 생산된 눈꽃 동충하초에서 많았다($P<0.05$). Glycine, Arginine 및 Proline 함량은 누에에서 생산된 눈꽃 동충하초 자실체에서 높은 경향이, Serine, Cysten, Menthionine, isoleucine 및 Phenylalanin의 함량은 계란에서 생산된 눈꽃 동충하초에서 높아지는 경향이 인정되었다.

본 연구는 계란에서 인공적으로 눈꽃 동충하초의 대량생산을 가능하게 하였다.

주요어: 눈꽃 동충하초, 인공 자실체, 코디세핀의 함량, 누에, 계란

V. 사 사

본 연구는 경상남도주관 2002년도 농수산분야 생명공학산업화 연구개발사업에 의해서 진행되었음을 감사드립니다(연구기간 : 2000.6.1~2002.5.30).

인용문헌

1. 강한석·김군자·손장호·김영봉·이용주. 2002. 생물자원(동충하초)을 이용한 축산 Bio 식품개발. 경상남도 생명공학과제 최종보고서.
2. 성재모. 1996. 한국의 동충하초. 교학사 출판사.
3. 심진영·이연실·임순성·신국현·현진이·김성연·이은방. 2000. 눈꽃 동충하초의 약물 활성 생약학회지 31(2) : 163-167.
4. 이영근·최영환·김한수·김용균. 1998. 영양원을 달리한 동충하초 자실체의 아미노산 조성 비교, 밀양대학교 농업기술개발 연구소보고 2 : 84-89.
5. 이을연·이봉덕·지설하·박홍석. 1995. 생효모 배양물의 급여가 산란계의 생산성에 미치는 영향 한국가금학회지 22(2) : 77-84.
6. 이지선·이입선·정경수·김용해·한영환·이만형. 2001. 눈꽃 동충하초 균사 배양물의 항암효과에 관한 유세포 분석학적 연구. 생약학회지 45(1) : 64-70.
7. 清水大典. 1994. 原色 冬蟲夏草圖鑑 誠文堂新光社.
8. AOAC. 1996. Association of Official Analysis Chemists. Arlington VA USA.
9. Cunningham KG·Hutchinson SA·Mar:son W·Spring FS. 1951. Cordycepin, a metabolic product from cultures of *Cordyceps militaris*(Linn.) Link. Pt. 1. Isolation

- and characteristics. J Chem Soc 51 : 2290-2300.
10. Evans HC. 1982. Entomogenous fungi in tropical forest ecosystem : an appraisal. Ecological Entomology 7 : 47-60.
 11. Park KH · Moon EK · Shin YK · Bae MA · Kim JG · Kim YH. 2000. Antitumor activity of *Paecilomyces japonica* is mediated by apoptotic cell death. J Microbiol Biotechnol 10 : 16-24.
 12. Scheffner AL 1967 In vitro protein evaluation. In "Newer Methods of Nutritional Biochemistry"(Ed) Albanese, A. A. p.125.
 13. Shin KH. 1999. Immuno-stimulating, Anti-tumor and Anti-fatigue effects of silkworm-dongchunghacho(*Paecilomyces japonica*). Proceedings of the 1st International Symposium on cordyceps., Seoul, p.21.
 14. Snedecor GW · Cochran WG. 1967. Statistical Methods(Ames, Iowa, University Press).
 15. Sung JM · Lee HK · Choi YS · Kim YY · Kim SH · Sung GH. 1997. Distribution and taxonomy of entomopatho-genic Fungal species from Korea, Kor. J. My col. 25(4) : 239-252.