

## 생물반응기를 이용한 잣버섯(*Lentinus lepideus*)의 균사체 및 수용성 다당체 생산특성

이위영<sup>1\*</sup> · 안진권<sup>1</sup> · 가강현<sup>2</sup>

<sup>1</sup>국립산림과학원 생물공학과, <sup>2</sup>국립산림과학원 화학미생물과

### Production of Mycelia and Water Soluble Polysaccharides from Submerged Culture of *Lentinus lepideus* in Bioreactor

Wi Young Lee<sup>1\*</sup>, Jin Kwon Ahn<sup>1</sup> and Kang Hyeon Ka<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div. of Biotechnology, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

<sup>2</sup>Div. of Wood Chemistry & Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

(Received April 23, 2007)

**ABSTRACT:** The mushroom *Lentinus lepideus* was used to produce mycelial as well as soluble polysaccharides in bioreactor cultures. To determine optimal submerged culture conditions, both growth characteristics and water soluble polysaccharides production were compared among four different types of bioreactor and culture conditions. For the production of mycelial biomass, the following bioreactors were proven to be effective in decreasing order: an external-loop type air-lift bioreactor (ETAB; 7 g/l), a balloon type air bubble bioreactor (BTBB; 6.2 g/l), a stirrer type bioreactor (STB; 6 g/l), and a column type air bubble bioreactor (CTBB; 5 g/l). Maximal production of water soluble exopolysaccharides (EPS; 0.62 g/l) and endopolysaccharides (PPS; 7.7%) could also be obtained from BTBB. The mycelial biomass increased with increase in glucose concentration from 15 g/l to 75 g/l in the media. In contrast, PPS contents in the cells decreased with increase in glucose concentration in the media, showing the highest PPS content (7%) at 15 g/l. Among different medium feeding types, fed-batch culture based on concentration control in media (10 g/l) produced higher mycelia than fed-batch culture based on volume control of media (5.8 g/l) or batch culture (3.4 g/l). EPS production was also higher in fed-batch culture based on medium concentration control than that in other feeding types.

**KEYWORDS:** Balloon type bioreactor, Endopolysaccharides, Exopolysaccharides, *Lentinus lepideus*, Submerged culture

담자균류로부터 분리한 다당체는 특징에 따라 항종양 효과, 면역조절 작용, 항바이러스 등의 약리적 작용이 있는 것으로 알려져 있으며(Engstad *et al.*, 2002; Tsukada *et al.*, 2003), 이들 버섯의 균사체를 활용하여 다당체의 안정적인 생산을 위한 균사체의 심부배양에 대한 연구가 진행되고 있다(Hwang *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004). 버섯 균사체의 심부배양은 사용되는 생물반응기의 종류나 형태, 배지공급 방식, 기타 물리 화학적인 배양요인에 의해 균사체 생산량이나 유용물질의 함량이 영향을 받는다.

최와 이(2000)는 상황(*Phellinus linteus*) 심부배양에, Lee *et al.*(2004)은 *Grrifola frondosa* 심부배양에 교반식 생물반응기가 적합하다고 보고 하였으며, Kawagoe *et al.* (1996, 1999)은 상황 및 송이(*Tricholoma matsutake*) 심부배양에 공기부양식 생물반응기가, 또한 이 등(2003)은 송이 심부배양에 공기부양식 생물반응기 중 풍선형의 생

물반응기가 적합하다고 보고하였다. 이와 같이 버섯 균사체 종류별에 따라 배양에 적합한 생물반응기의 종류를 달리함으로 적절한 생물반응기의 선택을 필요로 한다.

균사체의 생산과 더불어 세포내 다당체 생산량이나 세포외 다당체의 생산도 발효조 내의 배지 공급방식에 의해 영향을 받으며(김 등, 2004), 발효조의 공기 공급율이나 교반 강도에 따라서도 세포외다당체의 생산 및 생리활성도에도 영향을 준다(Kim *et al.*, 2006).

잣버섯은 소나무 등 침엽수의 갈색 부후균으로서 느타리과에 속하는 식용 담자균류이다. 잣버섯의 열수 추출물인 Lepidan은 세포내의 전사조절인자인 NF-kB를 특이적으로 활성화 시키며(Jin *et al.*, 1996), 면역계 세포의 싸이토카인인 TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-10, IL-12, IL-18, 및 GM-colony-stimulating factor(CSF) 등의 분비를 촉진, 조절함으로써 면역증강 작용을 한다(Jeong *et al.*, 2006; Jin *et al.*, 2003). 또한 조혈모세포의 재생작용을 증가시킨다고 하였다(Jin *et al.*, 2003). 이와 같이 Lepidan은 면역계 세포 활성화작용에 의한 생체반응조절 물질로서 잠재적인 가

\*Corresponding author <E-mail: lwy20@foa.go.kr>

치가 있는 것으로 보고되었다. 그러나 지금까지 잣버섯 균사체의 액체배양 배지조성에 관한 보고는 있으나 대량 생산을 위한 심부배양 배양조건은 아직 밝혀져 있지 않다.

본 연구는 생물반응기를 이용한 잣버섯의 균사체 및 다당체의 생산에 적합한 생물반응기를 선별하고자 공기부양 식인 칼럼형, 풍선형, 기포통기형 및 교반식 생물반응기를 대상으로 균사체 및 다당체의 생산 특성을 비교하고, 회분배양 및 연속배양에 의한 배지공급 방식에 따른 잣버섯의 균사체 생산량 및 다당체 생산 특성을 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 공시균주 및 균주 조제

시험에 사용한 잣버섯의 균사체는 자실체로부터 분리하여 사용하였다. 전배양으로 PDA 배지에 배양중인 잣버섯 균사체를 500 ml 삼각플라스크에 잘게 썰어 넣어 25°C의 진탕기에서 120 rpm으로 10일간 액체배양을 실시하였다. 액체배양된 균사체를 호모게나이저(Ingenieurbüro, X1030 D)로 13,000 rpm에서 8초간 분쇄, 균질화하여 생물반응기 처리 등 아래의 실험에 사용하였다. 액체배양 배지의 조성은 glucose 25 g/l, yeast extract 2 g/l, glutamic acid 1 g/l, biotin 0.5 mg/l, thiamine 0.1 g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g/l, MgSO<sub>4</sub> 0.5 g/l, 0.1 M-FeCl<sub>3</sub> 5 ml/l 및 0.1 M-MnSO<sub>4</sub> 5 ml/l로 하였다.

### 생물반응기 종류에 따른 배양 조건

심부배양하기 위한 생물반응기로 풍선형 공기부양식 생물반응기는 자체 제작한 풍선형의 공기부양식 생물반응기를, 칼럼형 공기부양식 생물반응기는 원통형으로서 지름 75 mm, 높이 350 mm인 것을, external-loop형의 기포통기식 생물반응기는 상승 및 하강관의 지름이 40 mm이고, 높이가 300 mm인 것을 사용하였다(이 등, 2003). 공기 공급율은 0.1 vvm으로, 배양액 부피(working volume)는 2 l로 하였다. 교반식 생물반응기는 5 l급 생물반응기(한국발효기)를 사용하였고 교반속도는 80 rpm, 공기 공급율은 0.1 vvm으로, 배양액 부피는 4 l로 하였다. 배지의 조성은 상기의 액체배양 배지 조성 과 동일하다. 배지의 초기 pH는 4.5로 조절하였다.

### 배양 배지 공급방법별 처리

회분 배양을 위해 배지의 조성은 glucose 45 g/l, yeast extract 6 g/l, glutamic acid 1 g/l, biotin 0.5 mg/l, thiamine 0.1 g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g/l, MgSO<sub>4</sub> 0.5 g/l, 0.1 M-FeCl<sub>3</sub> 5 ml/l 및 0.1 M-MnSO<sub>4</sub> 5 ml/l로 하였고, 8일간 공기부양식 풍선형 생물반응기에서 배양하였다.

배지공급량 조절에 의한 연속배양은 회분배양의 배지 조성으로 배양 초기 2 l량으로 시작하여 배양 3일 후 1 l

을 첨가, 배양 5일 후 다시 1 l을 첨가하여 최종 4 l로 조절하여 9일간 배양하였다.

배지농도 조절에 의한 연속배양은 glucose와 yeast extract의 농도를 초기에 20 g/l와 3 g/l로, 3일간 배양 후 35 g/l와 4.5 g/l로 농도를 높이고, 이어서 배양 5일째에 전체 첨가한 농도가 각 45 g/l와 6 g/l가 되도록 첨가하여 전체적으로 8일간 배양 후 수확하여 성장량을 조사하였다.

### 균사 성장량 및 배지내 화학적 성분변화 분석

배양된 균사체는 6000 rpm에서 원심분리(VS-5500CFN, Korea)하여 균사체와 배지 성분을 분리하였다. 분리된 균사체는 수회 증류수로 세척하였다. 세척된 균사체는 최종 수확된 균사체 일부는 흐르는 물로 세척하고 70°C 건조기에서 3일간 건조 후 건조량을 측정하였고, 일부는 수용성 단백과 다당체를 추출하기 위하여 동결 건조하였다.

생물반응기내에서의 균사체의 성장량은 균사 접종 후 1 일마다 충전 세포용량(packed cell volume)으로 측정하였다. 배지내의 용존산소량은 매일 측정하였고, 상대적 용존 산소량으로 표시하였다.

균사 배양중의 기질 소비량을 측정하기 위해 배양액을 1일 간격으로 분취하여 pH를 측정하고, 즉시 0.45 µm filter로 여과 후 여액을 -40°C에 냉동보관하여 잔존 glucose 함량 분석용 시료로 사용하였다.

배지내 잔존 glucose 함량은 HPLC(TSP operating system, USA)를 이용하고, ELSD(Alltech 2000, USA) 검출기를 사용하여 정량하였다. Column은 Carbohydrate ES(Alltech, 5 µm, 4.6×250 mm)를, 이동상은 acetonitrile : water = 72 : 28의 혼합용액을 사용하였다.

### 배양액으로부터 수용성 exopolysaccharide(EPS) 분리 및 정량

각 처리별로 균사체를 일정기간 배양 후 배양액을 6,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 상등액에 4배의 95% EtOH을 첨가하여 4°C 냉장고에 24시간 방치 후 6,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 침전물을 분리하였다. 침전된 다당체를 증류수에 녹여 다시 6,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상등액을 분리하였다. 상등액을 동결건조하여 세포의 다당체를 정량하였다.

### 균사체로부터 수용성 endopolysaccharide(PPS) 추출 및 정량

각 처리별로 생산된 균사체 일정량(1 g)을 80% EtOH을 넣어 overnight 후 원심분리를 실시하였다. 침전물에 다시 80% EtOH을 첨가하여 교반 후 원심분리하여 침전물을 분리하였다. 침전물에 증류수 30 ml를 첨가하여 121°C 고압멸균기에서 1시간 동안 autoclave을 실시하였다. 6,000 rpm에서 20분간 원심분리를 하여 상등액과 침전물을 얻었다. 상등액은 상기의 세포의 다당체 정량하는

방법으로 수용성 다당체를 추출, 투석, 동결건조하여 정량하였다.

### Exopolysaccharide 분자량 측정

분리된 세포의 다당체를 정제하기 위하여 4°C 증류수에 서 3일간 투석하였고, 투석한 세포의다당체를 분자량 결정에 사용하였다. 세포의 다당체의 분자량은 HPLC(TSP system; ELSD detector)를 이용하여 결정하였다. 칼럼은 Shodex Sugar KB-805 column(0.8×30 cm; Showa Denko K.K., Tokyo, Japan)을 사용하였으며 이 칼럼은 이미 텍스트란으로 분자량이 표준화 되어있다(Lee *et al.*, 2004). 이동상으로 H<sub>2</sub>O를, 유속은 0.7 ml/min으로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 생물반응기 형태별에 따른 잣버섯 균사체 생산

생물반응기를 이용한 잣버섯 균사체 및 다당체의 생산에 적합한 생물반응기 형태를 선발하고자, 공기 부양식의 풍선형, 칼럼형 및 기포통기형과 교반식의 교반형의 생물반응기를 대상으로 균사체 생산량 및 수용성 다당체 생산량을 비교하였다(Fig. 1). 풍선형에서 균사체 생산량이 5.3 g/l 가장 높았고, 이어서 기포통기형(4.8 g/l), 칼럼형(4.5 g/l), 교반형(3.0 g/l)의 순이었다. 풍선형, 기포통기형과 같은 공기부양식의 생물반응기에서는 균사체가 펠렛 형태로 성장하였으나 교반식 생물반응기에서는 균사체가 깃털 모양으로 성장을 하였다. 교반형의 생물반응기에서 생산량이 낮은 것은 임펠라에 의한 전단력 증가의 원인(Cui *et al.*, 1997; Smith *et al.*, 1990)과 더불어 실험에 사용한 교반형 생물반응기의 높이가 낮고, 공기가 임펠라에 의해 분산은 되지만 기포입자의 크기가 다른 생물반응기에 비해 커서 배양액 단위 면적당 공기 접촉 표면적이 낮아 공기용존율이 낮았기 때문인 것으로 추정된다(이 등, 2006).

균사체의 g당 수용성 단백다당체(water soluble endo-

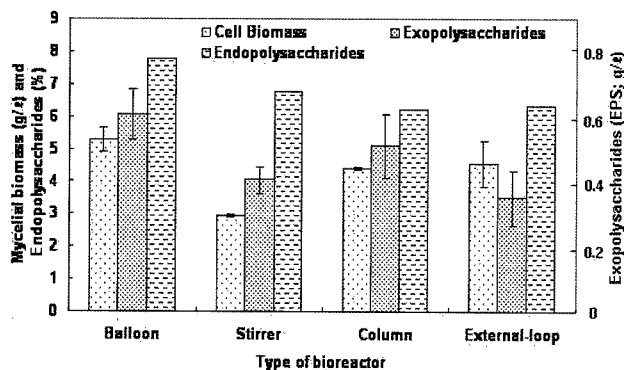


Fig. 1. Effect of bioreactor types on mycelial biomass, endopolysaccharide and exopolysaccharide production from *Lentinus lepideus* in batch culture of 0.1 vvm at 24°C for 9 days.

Table 1. Molecular weight of water soluble exopolysaccharides producing from submerged culture of *Lentinus lepideus*. The mycelia were cultivated under the various types of bioreactors at 24°C for 10 days

Type of bioreactor	Molecular weight (kDa)	
	Fraction 1	Fraction 2
Balloon	4,650	1,620
Stirrer	2,330	810
Column	3,060	1,350
External loop	2,820	1,240

polysaccharide, PPS)의 추출율도 풍선형에서 7.8%로 가장 높았고, 칼럼형, 교반형 및 기포통기형에서는 6.5% 전후로 유사하게 나타났다. 수용성 세포의 다당체(water soluble exopolysaccharide, EPS)도 균사체 성장량이 가장 높았던 풍선형에서 0.6 g/l로 가장 높았고 칼럼형, 이어서 교반형 및 기포통기형 순으로 낮았다. 전반적으로 수용성의 세포내·외 다당체 생산량은 균사체 성장량이 우수한 조건에서 생산량이 높게 나타나는 것으로 추정되었다(Lee *et al.*, 2004). 그러나 세포의 다당체 생산량은 일정 이상으로 균사체가 성장할 경우 균사체의 성장량과 비례하지 않는다(Xu and Yun, 2004)하여 다당체 생산의 최적화를 위해서는 특정 균사체에 적합한 배양조건이 규명되어야 할 것이다.

생물반응기 형태별에 따른 세포의 다당체의 분자량을 비교하였다(Table 1). 세포의 다당체 분자량은 배양조건에 따라 다르게 나타나며(Shu and Lung, 2003), 한편 세포의 다당체의 생리활성작용은 분자량과 관련이 있다 하였다(Calazans *et al.*, 2000; Peng *et al.*, 2005). 본 실험에서 분자량은 세포의 다당체를 칼럼으로 분리하여 나타난 대표적으로 큰 2개 peak로부터 측정하였다. 풍선형에서 세포의 다당체의 분자량이 가장 큰 것으로 나타났으며 이어서 칼럼형 기포통기형, 교반형, 순으로 낮게 나타났다. 분자량은 성장량이 우수했던 풍선형에서 가장 크고, 성장량이 저조했던 교반형에서 가장 낮아 균사체 성장량과도 관계가 있는 것으로 추정되며, 이러한 결과로부터 잣버섯의 균사체는 풍선형에서 다른 형태의 생물반응기 보다 균사체 배양속도가 빠르다는 것을 의미한다. Lee *et al.*(2007)은 잔나비블로초의 세포외다당체는 적절한 배양조건에서 균사체의 배양기간이 길수록 세포외다당체의 분자량도 증가하는 경향이라 하여 성장량과 관계가 있는 것으로 추정한 바가 있다.

이상의 결과로 교반식 등 다른 형태의 생물반응기보다 공기부양식 형태가 잣버섯 균사체 생산 및 다당체 생산에 적합한 것으로 나타났다.

### 풍선형 생물반응기에서 잣버섯 균사체의 배양 특성과 탄소원 농도 영향

생장이 우수하였던 풍선형 생물반응기에서의 잣버섯 균

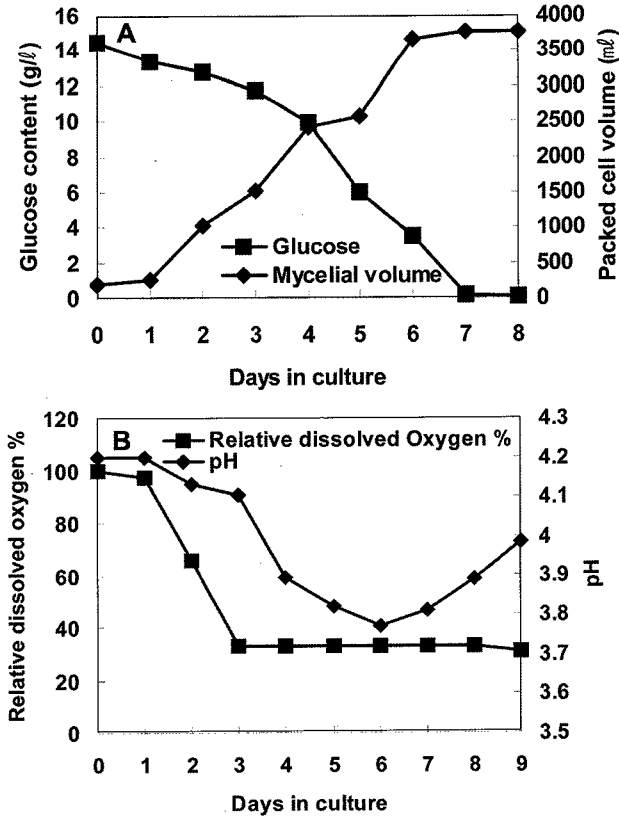


Fig. 2. The time course change in glucose content, packed mycelial volume (A), pH, and dissolved oxygen (B) during the submerged culture of *Lentinus lepideus* in balloon type of air bubble bioreactor with an aeration rate of 0.1 vvm at 24°C.

사체 성장 특성을 조사하고자 탄소원 농도를 glucose 15 g/l로 하여 기질소모량, pH 변화, 용존 산소량 및 균사체 성장량을 조사하였다. Fig. 2의 A는 배양일자별에 따른 기질로 주어진 탄소원의 소모량과 균사체 성장량(부피 성장량)을 나타낸 것이다. 배양 7일째 배지내의 glucose량이 거의 소모되었으며 균사체의 부피 성장량도 배양 1일부터 생장이 시작되어 6~7일 사이에 최대가 되었다. 일반적으로 부후균이 최적화된 액체 배지에서의 생육정체기는 8일 경에 나타난 것과 같이 유사한 성장형태를 보여 주었다 (Lee et al., 1999, 2004).

Fig. 2의 B는 배양일자별에 따른 배양액의 상대적 용존 산소량 및 pH 변화를 나타낸 것이다. 상대적 용존산소량은 배양 3일째 30%로 낮아졌으며 그 이후로 큰 변화가 없었다. pH는 균사체 부피 생장이 최대에 이르는 시기인 6일째에 3.8로 낮아졌다가 점차 증가하여 배양 9일째에는 4.0으로 다시 높아졌다.

Fig. 3은 풍선형 생물반응기에서의 배지내의 탄소원 농도별에 따른 배양일자별 균사체의 부피 성장량을 나타낸 것이다. 배지내의 탄소원 농도가 가장 낮았던 glucose 15 g/l처리에서 배양 5일째 부피가 최대에 이르러 가장 빠르

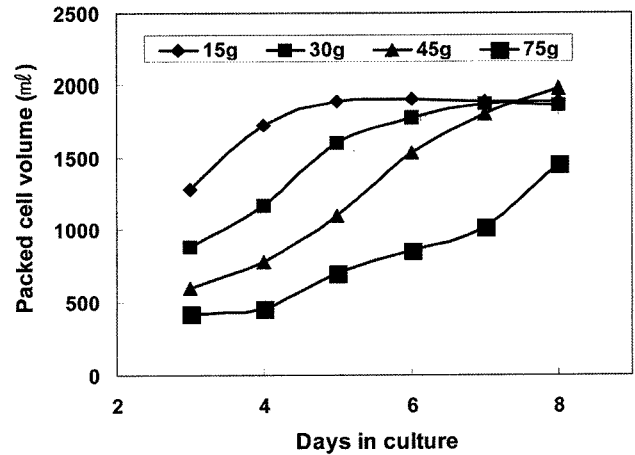


Fig. 3. Effect of carbohydrate concentration on packed cell volume during the submerged culture of *Lentinus lepideus* in balloon type of air bubble bioreactors with an aeration rate of 0.1 vvm at 24°C.

게 최대 부피생장에 이르렀고, glucose의 농도가 높아질수록 초기 생장이 지연되면서 부피생장이 최대에 이르는 기간이 지연되었다. 배양 9일 후 생산된 균사체의 양은 배지내의 glucose의 농도가 높을수록 증가하였으나 glucose 농도가 가장 높았던 60 g/l 처리에서는 감소하는 경향이였다(Table 2). 배지내의 탄소원 농도가 높을수록 초기생장 기간이 지연되는 이유는 기질내의 C/N율과도 관계가 있겠지만 잣버섯 균사체가 배출하는 효소 농도와 소화시키기 위한 배지 기질농도와도 관계가 있을 것으로 추정된다(Na et al., 2006).

균사체내의 수용성 단백다당체의 함량은 glucose 농도 15 g/l처리에서 7.7%로 가장 높았고 배지내의 glucose의 농도가 증가할수록 감소하는 경향이였다. 한편 수용성 세포의 다당체의 생산량은 탄소원 농도 처리간 차이가 없이 유사한 경향이였다. 균사체의 심부배양에서 수용성 단백다당체의 함량은 C/N율이 과도하게 높거나 낮을 경우에 낮아지는 경향이였으며, 적절한 C/N율에서 높았다는 보고가 있다(Lee et al., 2007). 한편 세포의 다당체는 배지내의 탄소원 함량이 높을수록 높다 하였으나 잣버섯의 경우는 차이가 없는 경향이므로 이러한 다당체 생산은 균사체의 종류에 따라 차이가 있어 적절한 생산 조건이 구명되어야 할 것으로 추정된다.

#### 배양 배지 공급방법 별에 따른 잣버섯 균사체의 성장 특성

잣버섯 균사체 배양에 적합했던 농도인 탄소원 15 g/l의 처리 비율에 준하여 질소원과 탄소원 농도를 3배 농도로 하여 배지의 공급 방법에 따른 균사체 생산량 및 다당체 생산 특성을 비교하고자 회분배양 방법, 배지량 공급방법에 의한 연속배양 및 배지 농도조절에 의한 연속배양 방법을 실시하였다(Table 3).

**Table 2.** Comparison of growth characteristics among the glucose contents of submerged cultures of *Lentinus lepideus* in balloon type of air bubble bioreactor with an aeration rate of 0.1 vvm at 24°C

Conc. of glucose (g/l)	Cell biomass (g/l) <sup>a</sup>	Stagnant days of packed cell volume	Overall cell yield $Y_{x/s}$ <sup>b</sup>	PPS <sup>c</sup> content in cell (%)	Yield of EPS <sup>d</sup> (g/l)
15	3.9	5	0.26	7.7	0.45
30	4.5	7	0.15	4.0	0.33
45	5.9	8	0.13	2.8	0.45
60	8.4	10	0.14	2.5	0.55
75	4.9	10	0.07	2.3	0.45

<sup>a</sup>Mycelial dry weight after cultivation of 8 days.<sup>b</sup>The value of  $Y_{x/s}$  was defined as the cell mass obtained per one gram of glucose consumed.<sup>c</sup>Water soluble endopolysaccharides.<sup>d</sup>Water soluble exopolysaccharides.**Table 3.** Comparison of growth characteristics among submerged culture types of *Lentinus lepideus* in the balloon type of air bubble bioreactors with an aeration rate of 0.1 vvm at 24°C

Culture type	Cell biomass (g/l) <sup>a</sup>	Stagnant days of packed cell volume	Overall cell yield $Y_{x/s}$ <sup>b</sup>	Overall growth rate Rx (g/d/l) <sup>c</sup>	PPS <sup>d</sup> content in cell (%)	Yield of EPS <sup>e</sup> (g/l)
Batch culture	3.4	8	0.08	0.43	4.3	0.23
Fed-culture <sup>f</sup>	5.8	8	0.13	0.73	5.0	0.53
Fed-culture <sup>g</sup>	10.0	7	0.22	1.25	4.6	1.07

<sup>a</sup>Mycelial dry weight after cultivation of 8 days.<sup>b</sup>The value of  $Y_{x/s}$  was defined as the cell mass obtained per one gram of glucose consumed.<sup>c</sup>The value of Rx was defined as the cell concentration at the end of the culture divided by the total cultivation time.<sup>d</sup>Water soluble endopolysaccharides.<sup>e</sup>Water soluble exopolysaccharides.<sup>f</sup>Cultivating media volume at initial, after 3 days culture, and after 6 days culture were controlled 2 l, 3 l and 4 l, respectively.<sup>g</sup>Concentration of glucose and yeast extract in liquid media at initial, after 3 days culture, and after 5 days culture were controlled 20 and 3 g/l, 35 and 4.5 g/l, and 45 and 6 g/l, respectively.

균사체 생산량은 회분배양에서 3.4 g/l로 가장 낮았고, 배지 농도 조절에 의한 연속배양 방법이 10 g/l로 가장 높게 생산하였다. 배지 공급 방법에 따른 수용성 다당체 생산량은 배양방식에 따른 생산량 차이가 크게 나타나지 않았으나, 수용성 세포외 다당체 생산량은 배지 공급 방법에 따라 큰 차이가 있었다. 배지량 공급 방법에 의한 연속배양은 0.53 g/l이었으나 배지 농도 조절에 의한 연속배양은 1.07 g/l로 높게 나타났다. 김 등(2004)은 신령버섯의 고밀도 액체배양에서 회분 배양보다 질소원과 탄소원을 계속적으로 공급하는 유가식 배양에서 회분 배양보다 세포외 다당체 생산량이 높았다 하였다. 본 실험결과도 이와 일치하는 경향이였다. 이상의 결과로 고농도의 배지에서 젓버섯 균사체 배양은 배지량 보다는 배지의 농도를 조절하는 연속배양 방법이 균사체 생산 및 세포외다당체 생산에 가장 적합한 것으로 나타났다.

일반적으로 배지의 농도가 높을 경우 균사체의 접종량을 높여 주거나 초기 배지량을 줄여 주어 극복할 수 있으나 고농도에 민감한 균사체는 배지의 농도를 조절하는 연속배양 방법이 적합한 것으로 추정되었다. 또한 배지의 농도 조절에 의한 연속배양 방법이 세포외 다당체 생산에도 유리한 것으로 추정되었다.

## 적 요

젓버섯 균사체 배양에 적합한 생물반응기는 풍선형의 공기부양식의 생물반응기가, 수용성 다당체의 생산에도 생장이 좋았던 풍선형 공기부양식 생물반응기가 유리한 것으로 나타났다. 배지의 탄소원 농도별에 따른 수용성 세포외 다당체의 생산량은 농도 처리간 차이가 없었으나 수용성 세포내 다당체는 탄소원 농도가 낮은 즉 C/N율이 낮을수록 증가하였다. 젓버섯 균사체는 고농도의 배지 배양조건에서 생물반응기내로 배지 공급형태가 배지량 증가 방법보다 배지농도 조절에 의한 연속 배양방법이 우수한 것으로 나타났다.

## 참고문헌

- 김현한, 나정걸, 장용근, 이상중. 2004. *Agaricus blazei*의 유가식 배양을 통한 균사체 및 세포외 다당체 생산. *한국생물공학회지* **19**: 457-461.
- 이위영, 안진권, 강강현, 권영진. 2003. 공기부양식 생물반응기의 형태별 송이균사의 성장특성 비교. *한국균학회지* **31**: 89-93.
- 이위영, 박영기, 안진권, 박소영. 2006. 생물반응기 유형에 따른 잔나비불로초(*Ganoderma applanatum*)의 균사체 및 수용성 다당체 생산 특성. *한국균학회지* **34**: 1-6.
- 최근우, 이창우. 2000. 교반조 발효기와 공기부양 발효기내에서

- 의 *Phellinus linteus*의 액체 배양. *화학공학* **38**: 310-315.
- Calazans, G., Lima, R., Franca, F. and Lopes, C. 2000. Molecular weight and antitumor activity of *Zymononas mobilis* levens. *Int. J. Biolog. Macromol.* **27**: 245-247.
- Cui, Y. Q., van der Lans, R. G. J. M. and Luyben, K. C. A. M. 1997. Effect of agitation intensities on fungal morphology of submerged fermentation. *Biotechnol. Bioeng.* **55**: 715-726.
- Engstad, C. S., Engstad, R. E., Olsen, J. O. and Osterud, B. 2002. The effect of soluble  $\beta$ -1,3-glucan and lipopolysaccharide on cytokine production and coagulation activation in whole blood. *Int. Immunopharmacol.* **2**: 1585-1597.
- Hwang, H. J., Kim, S. W., Choi, J. W. and Yun, J. W. 2003. Production and characterization of exopolysaccharides from submerged culture of *Phellinus linteus* KCTC 6190. *Enzyme Microb. Technol.* **33**: 309-319.
- Jeong, J. C., Jin, M. R., Lee, J. K., Lee, W. Y., Park, Y., Han, Y. N. and Kim, S. Y. 2006. Control of cytokine gene expression by PG 101, a water-soluble extract prepared from *Lentinus lepideus*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **339**: 880-887.
- Jin, M. R., Jeon, H., Jung, H. J., Kim, B. C., Shin, S. S., Choi, J. J., Lee, J. K., Kang, C. Y. and Kim, S. Y. 2003. Enhancement of repopulation and hematopoiesis of bone marrow cells in irradiated mice by oral administration of PG101, a water-soluble extract from *Lentinus lepideus*. *Exp. Biol. Med.* **228**: 759-766.
- Jin, M. R., Jeon, H., Jung, H. J., Kim, B. C., Shin, S. S., Choi, J. J., Lee, J. K., Kang, C. Y. and Kim, S. Y. 2003. Activation of selective transcription factors and cytokines by water-soluble extract from *Lentinus lepideus*. *Exp. Biol. Med.* **228**: 749-758.
- Jin, M. R., Kim, S. Y. and Kim, B. K. 1996. Induction of B cell proliferation and NF-B activation by a water-soluble glycan from *Lentinus lepideus*. *Int. J. Immunopharmacol.* **18**: 439-448.
- Kawagoe, M. 1996. Applications of the bubble column in biotechnology. Proceedings of the 4th Japan-Korea symposium on separation technology. Pp 623-626.
- Kawagoe, M., Kawakami, K., Nakamura, Y., Naoe, K., Miki, K. and Noda, H. 1999. Submerged culture of *Tricholoma matsutake* mycelium in bubble column fermenters. *J. Biosci. Bioeng.* **87**: 116-118.
- Kim, H. O., Lim, J. M., Joo, J. H., Kim, S. W., Hwang, H. J., Choi, J. W. and Yun, J. W. 2004. Optimization of submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*. *Biores. Technol.* **96**: 1175-1182.
- Kim, H. M., Kim, S. W., Hwang, H. J., Park, M. K., Mahmoud, Y. A. G., Choi, J. W. and Yun, J. W. 2006. Influence of agitation intensity and aeration rate on production of antioxidative exopolysaccharides from submerged mycelial culture of *Ganoderma resinaceum*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**: 1240-1247.
- Lee, B. C., Bae, J. T., Pyo, H. B., Choe, T. B., Kim, S. W., Hwang, H. J. and Yun, J. W. 2004. Submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*. *Enzyme Microb. Technol.* **35**: 369-376.
- Lee, K. M., Lee, S. Y. and Lee, H. Y. 1999. Bistage control of pH for improving exopolysaccharide production from mycelia of *Ganoderma lucidum* in an air-Lift fermentor. *J. Biosci. Bioeng.* **88**: 646-650.
- Lee, W. Y., Park, Y., Ahn, J. K., Ka, K. H. and Park, S. Y. 2007. Factors influencing the production of endopolysaccharide and exopolysaccharide from *Ganoderma applanatum*. *Enzyme Microb. Technol.* **40**: 249-254.
- Na, J. G., Kim, H. H., Chang, Y. K. and Lee, S. J. 2006. Kinetic modeling of submerged culture of *A. blazei* with mixed carbon sources of glucose and dextrin. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**: 1331-1337.
- Peng, Y., Zhang, L., Zeng, F. and Kennedy, J. F. 2005. Structure and antitumor activities of the water-soluble polysaccharides from *Ganoderma tsugae* mycelium. *Carbohydrate Polymer* **59**: 385-392.
- Shu, C. H. and Lung, M. Y. 2003. Effect of pH on the production and molecular weight distribution of exopolysaccharide by *Antrodia camphorata* in batch cultures. *Process Biochem.* **39**: 931-937.
- Smith, J. J., Lilly, M. D. and Fox, R. I. 1990. The effect of agitation on the morphology and penicillin production of *Penicillium chrysogenum*. *Biotechnol. Bioeng.* **35**: 1011-1023.
- Tsukada, C., Yokoyama H., Miyaji C., Ishimoto Y., Kawamura H. and Abo T. 2003. Immunopotential of interaepithelial lymphocytes in the intestine by oral administrations of  $\beta$ -glucan. *Cellular Immunol.* **221**: 1-5.
- Xu, C. P. and Yun, J. W. 2004. Influence of aeration on the production and the quality of the exopolysaccharides from *Paecilomyces tenuipes* C240 in a stirred-tank fermenter. *Enzyme Microb. Technol.* **35**: 33-39.