

영지의 액체배양에 의한 세포외 다당 생산의 동력학적 특성

이신영* · 이학수 · 박흥조¹

강원대학교 환경생물공학부 및 연세대학교 생물산업소재연구소
¹충주산업대학교 고분자공학과

Batch Kinetics of Exo-polysaccharide Production by Submerged Cultivation of *Ganoderma lucidum*

Shin-Young Lee*, Hak-Su Lee and Heung-Cho Park¹

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

¹Department of Polymer Engineering, Chungju National University, Chungju 380-702, Korea

ABSTRACT: Batch kinetics during the exo-polysaccharide (EPS) fermentation of *Ganoderma lucidum* was investigated as a function of different substrates (glucose and starch), substrate concentration (1~7%, w/v) and subculture (3 times). Logistic model for mycelial growth fitted the experimental data better than Monod and two-thirds power model. The Luedeking-Pirt equation was adequate to fit the kinetic data of product formation and substrate consumption. The EPS production was strongly non-growth associated, although it was mixed type. The product formation and substrate consumption by growth associated mechanism decreased as the concentration of glucose increased, while those of the non-growth associated mechanism increased. However, starch medium increased the growth associated and non-growth associated substrate consumption indicating higher availability of substrate. Also, batch culture in starch medium showed the higher specific growth rate and stability during subculture than those in glucose medium. In conclusion, the enhanced EPS production and stability in the subculture was found to be remarkably improved by use of starch as sole carbon source in medium. The maximum mycelium dry weight and EPS production of 9.463 and 10.410 g/l, respectively, were obtained after shake culture of 7 days at 30°C from the media containing 7% starch.

KEYWORDS: Batch kinetic, Exo-polysaccharide, *Ganoderma lucidum*, Submerged culture

구멍장이버섯과 불로초속에 속하는 담자균의 한 종인 영지(*Ganoderma lucidum*)는 옛부터 식용이나 한방 및 민간 생약의 우수 상품약으로서 널리 사용되어 왔다(Eyal, 1991; Jong and Birmingham, 1992). 최근에는 영지의 β -glucan이 항균, 항바이러스, 콜레스테롤 저하, 혈압강하, 항혈전, 인터페론 유도, 면역증강 및 항종양 작용 등의 각종 약리작용을 나타냄이 알려져 이의 산업적 관심은 더욱 고조되고 있는 실정이다(Eyal, 1991; Jong and Birmingham, 1992; Jong *et al.*, 1991; Mizuno *et al.*, 1984).

Lee와 Kang(1996, 1997, 1998)은 그동안 영지의 액체배양을 통한 세포외 다당의 대량생산 연구를 진행하여 왔다. 그러나 영지와 같은 담자균류의 액체배양은 균사 형태(pellet 또는 filament 형성)의 다양성, 비교적 느린 증식속도, 낮은 균체량 및 계대배양의 불안정성 등으로 대량배양이 어렵다(Sakamoto *et al.*, 1978). 따라서 담자균류로부터 세포외 다당류 생산을 위한 액체배양공정의 합리적 설계나 조작을 위해서는 세포외 다당류의 발효 중 균체, 기질 및 다당류 농도의 경시적 분포에 대한 정확한 예측을 위해 발효

동력학의 수학적 모델이 필요하다(Boa and LeDuy, 1987; Fredrickson *et al.*, 1970; Klimek and Ollis, 1980; Tsuchiya, 1970; Weiss and Ollis, 1980). 하지만 지금까지 단세포 미생물에서 주로 이용된 Monod 식은 펠렛을 형성하는 균류와 같은 다세포 미생물에서는 잘 적용되지 않는다(Mulchandani and Luong, 1988). 이는 펠렛 형성 균류의 경우는 균사의 선단이 증식하고, 기질이 균사체의 전 표면층을 통하여 확산되므로 균체 표면적에 비례하여 생육한다는 사실에 근거한다(Aiba *et al.*, 1973; Bailey and Ollis, 1986). 따라서 균류의 생육속도는 균체량의 2/3승에 비례한다는 two-third power 모델이 가정되었으나 담자균류인 구름버섯(*Polyporus versicolor*)과 느타리 버섯의 생육을 two-thirds power 모델로 해석한 Caroad와 Wilke(1977)의 결과는 다소 미흡하였다. 그러므로 펠렛 형성 균류에서의 다당 발효동력학의 해석을 위한 보다 유용한 분석 모델로서 Weiss와 Ollis(1980)는 기질, 균체 및 다당류 생성물의 변화를 포함하는 동력학적인 수학적 모델을 제안한 바 있다. 이 모델에서는 미생물 균체, 다당생산, 및 기질소비에 대한 발효과정을 설명하기 위한 동력학적 모델로서 각각 logistic 모델, Luedeking-Piret 모델 및 modified Luedeking-Piret 모델을 이용하고 있

*Corresponding author <E-mail: sylee@cc.kangwon.ac.kr>

는데(Luedeking-Piret, 1959; Ollis, 1983). logistic 균체 속도 방정식을 사용하여 모든 모델 변수를 순차적으로 용이하게 산출할 수 있다(Klimek and Ollis, 1980). 한편, 영지버섯의 액체배지로 널리 사용되는 탄소원 기질은 주로 glucose이나 산업적으로는 starch도 이용되는데, 이들 두 기질사이의 차이에 대해서는 별로 보고된 바가 없어 이의 규명이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 영지버섯 액체배양의 동력학적 특성을 이들 모델을 적용하여 해석하고자 하였고, 이로부터 탄소원 기질의 종류(glucose와 starch) 및 농도와, 계대배양에 따른 동력학적 변수들을 산출함으로써 영지버섯의 액체배양에 의한 세포의 다당 생산에 미치는 기질의 영향 및 계대배양의 안정성에 대한 동력학적 특성의 기초 자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

본 연구에 사용한 균주는 *Ganoderma lucidum* ASI 7004로 PDA(Potato Dextrose Agar) 사면배지에서 계대배양 하였고, 4°C에서 보존하면서 사용하였다. 사용한 배지는 Lee와 Kang(1996)이 *G. lucidum* ASI 7004의 액체배양에 의한 세포외 다당 생산의 최적배지로 보고한 glucose 5%, yeast extract 0.5%, (NH₄)₂HPO₄ 0.1% 및 KH₂PO₄ 0.05%의 조성을 갖는 배지이다. 121°C에서 15분간 가압살균후 사용하였으며, pH는 0.1 N NaOH 또는 HCl로 조절하였다.

배양방법

영지 균사를 PDA 배지를 함유한 Petri-dish상에서 30°C, 7일간 배양후 직경 5 mm의 stainless steel pipe로 punching하여 mycelium disk를 얻었다. 이 disk 4~5개를 20 ml의 배지를 넣은 100 ml 삼각플라스크에 접종하고, 30°C, 100 rpm으로 5일간 배양하여 전배양액으로 하였다. 본 배양시는 전배양한 배양액을 접종원으로 30초 동안 균질기로 균질화하고, 이 때의 접종농도로는 균사체 생육이 왕성한 접종비인 5%(v/v) 농도로 되게 하여 50 ml의 배지를 함유한 250 ml 삼각플라스크에서 30°C, 100 rpm으로 9일간 진탕배양하였다.

균체량 측정

균체량은 배양액 50 ml을 10,000 g에서 30분간 원심분리하여 침전된 균사체를 증류수로 2~3회 수세한 다음, 70°C에서 12시간 건조하고 desiccator에서 항량이 될 때까지 방치하여 건조중량을 측정하였다.

생물고분자의 정량

배양액을 10,000 g에서 원심분리하여 얻은 상등액에 2배량의 acetone을 첨가하여 침전물로부터 얻었으며, 70°C에서 12시간 건조하고 desiccator에서 항량이 될 때까지 방치하여 건조중량을 측정하였다.

전분 및 glucose의 정량

진탕배양한 배양액을 10,000 g에서 30분간 원심분리하여 얻은 상등액을 회수하고 여기에 증류수를 가하여 5 ml로 적당히 희석한 다음, 끓는물에서 20분간 가열하였다. 여기에 냉각한 증류수 20 ml를 첨가하여 20°C에서 25분간 방치한 후 요오드 용액(0.2% I₂-2%KI) 0.2 ml를 넣고 교반하였다. 30분 후에 560 nm에서 흡광도를 측정하고 표준곡선으로부터 전분량을 구하였다(Nedeltscheva *et al.*, 1975). 이때 표준곡선은 여러 농도의 가용성 전분 용액을 끓는 물에서 20분간 가열 호화시켜서 작성하였다. 한편, 배양액중의 잔존 glucose 농도는 배양액을 10,000 g에서 30분간 원심분리하여 얻은 상등액을 회수하고 DNS(dinitrosalicylic acid)법(Miller, 1959)을 이용하여 575 nm에서 흡광도를 측정한 다음, 표준곡선으로부터 환산하여 구하였다.

Kinetic 모델 및 모델 변수의 산출

영지버섯의 회분배양중 동력학적 모델로는 다음 식(1)의 logistic 모델을 사용하였고, 비교검토를 위하여 식(2)의 Monod 및 식(3)의 two-thirds power 모델을 적용하였다.

$$\frac{dX}{dt} = \mu_0 \left[1 - \frac{X}{X_m} \right] X \quad (1)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu_0 X \quad (2)$$

$$\frac{dX}{dt} = A X^{2/3} \quad (3)$$

또 다당 생산과 기질 소비에 대해서는 각각 Luedeking-Piret 및 modified Luedeking-Piret 모델인 식(4) 및(5)를 사용하였다.

$$\frac{dP}{dt} = m \frac{dX}{dt} + n X \quad (4)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\alpha \frac{dX}{dt} - \beta X \quad (5)$$

식(1)~(5)에서 X는 t시간에서의 균체농도(g/l)이고, X_m은 최대 균체량(g/l)을 나타내며, μ₀는 초기 비증식속도(day⁻¹)이다. P는 t시간에서의 생성물 농도(g/l)이고 m은 증식연동의 다당 생성계수(g P/g X), n은 비증식연동의 다당 생성계수(g P/g X day)를 나타낸다. 또 S는 t시간에서의 기질농도, α와 β는 각각 증식연동의 기질소비계수(g S/g X) 및 비증식연동의 기질소비계수(g S/g X day)를 나타낸다.

모델 변수 μ, X_m, m, n, α 및 β값은 Klimek와 Ollis(1980)에 의해 확립된 방법을 사용하여 회분자료 X(t), P(t) 및 S(t)로부터 산출하였다.

또 증식연동형 및 비증식 연동형 기작에 의해 생산된 다당의 양, 즉 P_m과 P_n은 각각 다음 식에 의하여 계산하였다(Boa and LeDuy, 1987).

$$P_m(t) = mX_0 \left[\frac{e^{\mu t}}{1 - (X_0/X_m)(1 - e^{\mu t})} - 1 \right] \quad (6)$$

$$P_n(t) = n \left(\frac{X_m}{\mu} \right) \ln \left[1 - \frac{X_o}{X_m} (1 - e^{\mu t}) \right] \quad (7)$$

여기서 X_o 는 초기 균체농도이다(g/l).

마찬가지로 증식 및 비증식 연동과 관련되는 기질의 양인 S_α 와 S_β (g/l)는 각각 다음 식으로 계산하였다(Boa and LeDuy, 1987).

$$S_\alpha(t) = \alpha X_o \left[\frac{e^{\mu t}}{1 - (X_o/X_m)(1 - e^{\mu t})} - 1 \right] \quad (8)$$

$$S_\beta(t) = \beta \left(\frac{X_m}{\mu} \right) \ln \left[1 - \frac{X_o}{X_m} (1 - e^{\mu t}) \right] \quad (9)$$

결과 및 고찰

Glucose 배지에서의 배양 특성

배양경시변화 Glucose를 탄소원 기질로 하여 1, 3, 5 및 7%(w/v)의 각 농도에서 기질 소비, pH 변화, 균사체 증식

및 세포의 다당의 생성에 미치는 영향을 경시변화로써 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 1과 같다.

기질인 glucose가 배양시간 경과에 따라 서서히 감소하면서 균사생육 및 다당을 생성하였다. Glucose 농도 1%일 때는 glucose가 서서히 감소하면서 배양 4일 후 고갈되었으며, 균사체도 기질 소비와 더불어 배양 4일까지 지속적으로 증가하다가 배양 5일 후에는 기질의 고갈로 인하여 균체량이 다시 감소하였다. 반면, glucose 농도 3~7%일 때는 당 농도에 상관없이 배양 3일까지 균사생육이 급속히 증가하였고 이후 서서히 증가하여 배양 말기인 8~9일에도 비슷한 수준의 최대 균체량(8.23~8.83 g/l)이 유지되었다. 그러나 이때 glucose는 대체로 큰 소비없이 잔존되었으므로 본 균주는 과잉의 잔존 glucose 농도하에서 생육하는 특징을 나타내는 것으로 생각되었다. 특히, pH는 glucose 농도 3~7%에서는 초기 pH 5에서 배양경과에 따라 2.63까지 감소하였으나 glucose 농도 1%인 경우는 기질이 고갈되는 배양 4일 이후 다시 pH 6.16까지 서서히 증가하여 이러한 pH 증가가 균사생육의 저해와 관계되는 것으로 생각되었다.

한편, 세포의 다당의 경우도 균사체의 생육과 비슷한 경향을 보였다. Glucose 농도 1%일 때는 배양 5일까지는 서서히 증가하다가 배양 5일 이후 서서히 감소하였고, glucose 농도 3%인 경우도 배양 6일 후 서서히 감소함을 보였다. 그러나 glucose의 농도가 5 및 7%인 경우는 배양 6~8일에 세포의 다당생산이 급속히 증가하였고 배양 9일에도 그대로 유지되었다. 대체로 glucose 농도가 높아질수록 잔존 당의 양도 많고 다당 생산량도 높았으므로 세포의 다당의 생산은 잔존 glucose의 양에 따라 증가하는 것으로 생각되었다.

따라서 과잉의 탄소원 기질하에서 다당생산이 이루어지는 특징을 보이는 것으로 생각되었는데, 이러한 과잉 탄소원 기질하에서의 다당 생성은 Bulmer 등(1987)의 보고와 잘 일치한다. Bulmer 등(1987)은 *Aureobasidium pullulans*에 의한 pullulan이 무시될 정도의 NH_4^+ 농도 및 과잉의 포도당 농도에서 생산되는 2차 대사산물이라고 하였다.

배양 동력학적 특성 기질소비, 균체량 및 다당 생산은 기질 농도에 큰 영향을 받으므로 이들의 상관관계를 보다 명확히 살펴보기 위해 배양 동력학적 특성을 조사하고자 하였다. 따라서 담자균류 배양의 동력학적 모델로서 logistic 모델, Monod 모델 및 two-thirds power 모델을 비교하였고, 그 결과는 Fig. 2와 같다.

Monod 식의 모사결과는 실제자료보다 대수기중 더 낮은 균체량을 나타내었고, 반대로 잔존 기질은 더 낮았다. 배양 5일 후 기질의 완전소비가 예측되었으며, 또 더 높은 다당 생산이 예측되어 실험자료를 나타내는 데는 부적합하였다. two-thirds power 모델도 더 낮은 잔존 기질과 다당 생산이 예측되어 실험결과와는 차이가 있었다. 반면 logistic 모델을 사용한 모사결과는 실험자료와 유사하여 본 균주의 동력학적 모델로서 logistic 모델이 적합한 것으로 나타났다 ($R^2 \geq 0.95$ 이상). 따라서 이들 모델을 이용하여 기질소비, 균체량 및 다당생산에 대한 각 동력학 변수들을 산출하였

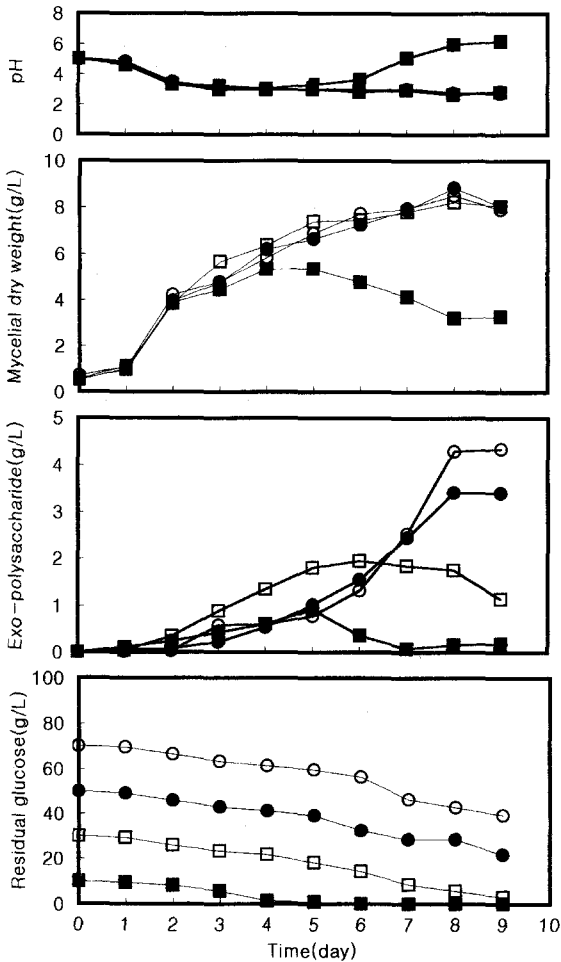


Fig. 1. Time course of the mycelial dry weight, exo-polysaccharide and residual glucose of *G. lucidum* under batch fermentation. ■ Glucose 1%, □ Glucose 3%, ● Glucose 5%, ○ Glucose 7%.

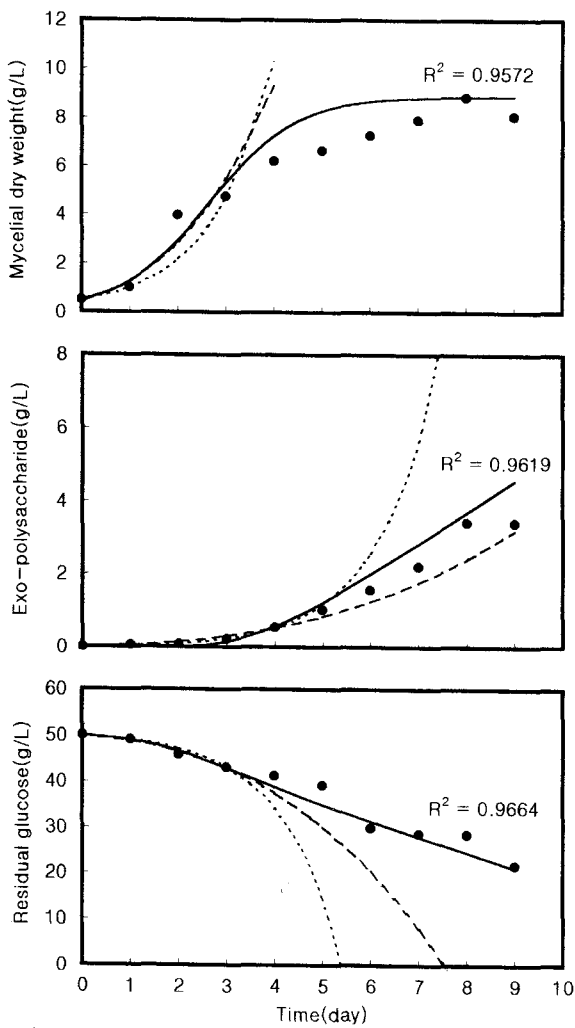


Fig. 2. Comparison of the experimental data for *G. lucidum* fermentation in glucose medium and simulations by using logistic model (—), Monod model (---), and two-thirds power model (.....).

고, 기질농도에 따른 이들의 변화는 Fig. 3과 같다.

Fig. 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 비증식 속도는 1.55~1.10 day⁻¹로 기질 농도의 증가에 따라 감소하였다. 그러나 균체증식 및 다당 생성은 기질농도에 따라 증가경향을 보여 최대 균체량은 8.83 g/l로 glucose 농도 5%에서, 그리고 최대의 다당생성은 4.34 g/l로 glucose 농도 7%에서 얻어졌다. 따라서 고농도 기질하에서 균체생육은 저해를 보이나 다당생성은 기질농도 증가로 증가함을 알 수 있었으나 이들 값은 비교적 낮은 값 범위이었으므로 더 이상 검토하지 않았다. 한편, 생성물인 다당은 1% glucose 농도에서 증식연동형 생성물 계수 m 및 비증식연동형 생성물 계수 n값을 나타내어 두 기작이 함께 존재하는 혼합형 발효동력학적 특성을 나타내었다. 그러나 기질 농도가 증가할수록 생성물의 증식 연동형 생성물 계수값은 감소하고 7% glucose 농도에서는 거의 0을 나타내어 비증식연동형 기작이 더 중요함을 보였다. Klimek와 Ollis(1980) 및 Ollis(1983)는

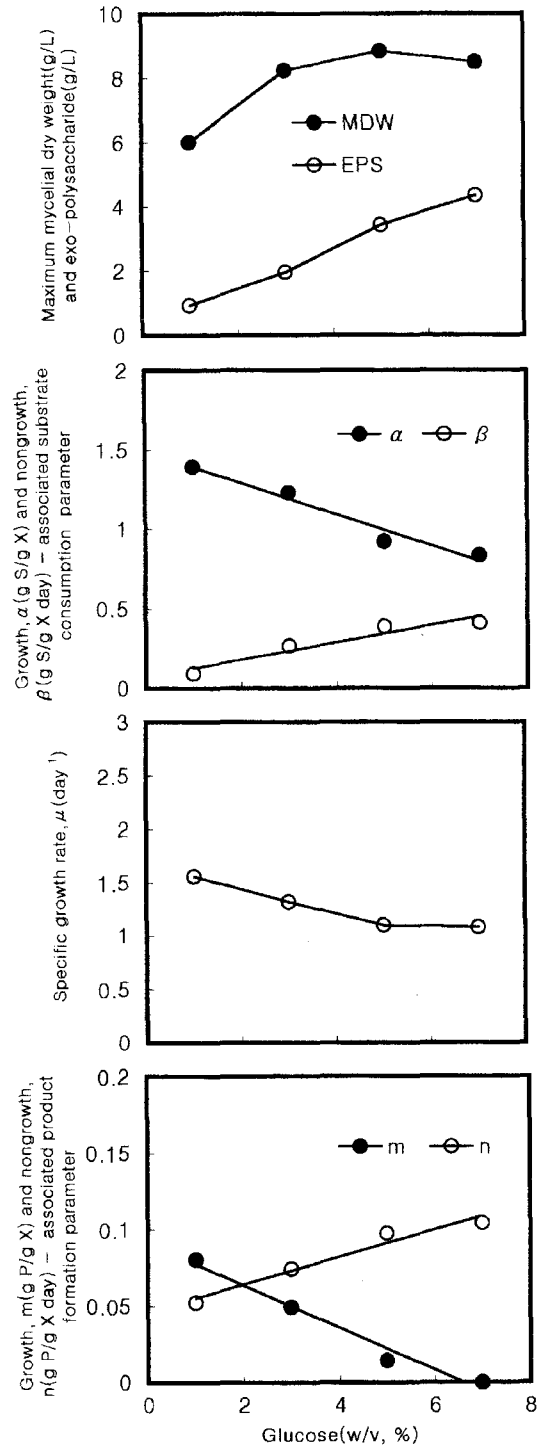


Fig. 3. Effect of glucose concentration on kinetic parameter of *G. lucidum* under batch fermentation in glucose medium.

Pseudomonas sp가 생산하는 다당은 비증식 연동형 기작으로 생성된다고 하였으나, xanthan gum은 혼합형, 그리고 pullulan과 *Azotobacter vinelandii*의 alginate는 증식연동형 기작에 의해 생성된다고 하였다. 또 기질소비의 경우는 glucose 농도가 높아질수록 증식연동형 기질소비계수 α 값은 감소하는 반면, 비증식 연동형 기질소비계수 β 값은 증가하는 경향을 보였으나 각 농도에서 α 값은 β 값 보다 컸으

며, 특히 저농도일수록 그 값의 차이가 커서 기질농도가 낮을 때는 기질이 균체증식에 이용되는 반면, 상대적으로 기질농도가 높을 때는 기질이 다당생성에 이용되는 것으로 생각되었다.

계대배양 특성 일반적으로 대규모 상업적 발효에서는 2~3차에 걸친 계대배양을 거쳐 본 배양을 실시하게 되는데, 담자균의 심부배양에서는 계대배양이 불안정하여 대량배양

이 어려운 것으로 알려지고 있다(Sakamoto *et al.*, 1978). 따라서 계대배양의 안정성을 검토하기 위하여 3차에 걸쳐 계대배양하였으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다.

2차 계대배양으로 각 glucose 농도에서 균사체량은 1차 계대배양시 보다 약 1~2 g/l, 다당생성량은 1.5~3 g/l이 감소하였다. 3차 계대배양에서는 2차계대배양시보다는 높아졌으나 1차 계대배양시 보다는 낮은 값 범위이었으며, 기질농도의 증가로 그 차이는 더욱 심하였다. 또, 비증식속도는 계대배양 차수에 관계없이 기질농도의 증가에 따라 감소하는 경향이였으며, 2차계대배양으로 감소하였으나 3차계대배양시 증가하여 1차 계대배양시 보다도 다소 높은 값을 나타내었다. 균체 수율 및 다당생성 수율도 비증식 속도와 비슷한 경향을 나타내어 결국 계대배양시 기질인 glucose에 대한 불안정성을 보였다. 따라서 glucose를 기질로 한 대량배양을 위해서는 계대배양의 안정성을 증대시킬 필요가 있는 것으로 판단하였다.

Starch 배지에서의 배양 특성

Glucose의 경우 낮은 균체증식과 다당 생산성 및 계대배양의 불안정성을 향상시키기 위하여 담자균류 심부배양에 널리 이용되는 다당류인 starch 1, 3, 5 및 7%(w/v)의 각 농도에서 기질소비, 균사체 증식 및 다당생성의 경시변화를 조사한 결과는 Fig. 5와 같다.

Starch 농도 1%일 때는 starch 기질의 소비와 더불어 구성당인 glucose가 생성되었으나 배양 5~6일 후 고갈되어 균체량도 배양 5~6일까지는 서서히 증가하다가 이후에는 더 이상 증가하지 않았다. 이 때 pH는 증가경향을 보여 glucose 배지에서와 마찬가지로 배양후기 pH의 상승이 균사체 생육과 밀접한 관계를 가짐을 보였다. Starch 농도 3, 5 및 7% 일 때의 균체량은 배양 5~6일까지는 급속한 증가를 보이다가 이후에는 미미한 증가를 보여 glucose를 기질로 한 경우와 비슷한 경향을 보였다. 그러나, starch의 소비는 glucose 일 때와 달리 starch 농도가 증가할수록 커짐을 나타내어 glucose를 기질로 사용했을 때 보다 양호한 기질 이용성을 보였다.

한편, starch를 기질로 하였을 경우도 역시 logistic 모델, Monod 모델 및 two-thirds power 모델을 비교하였으며, 그 결과를 자료로서 나타내지는 않았으나 기질농도에 따른 균사체, 다당생성 및 기질소비는 각각 logistic 모델, Luedeking-Piret 모델 및 modified Luedeking-Piret 모델이 실제값과 잘 일치함($R^2 \geq 0.95$ 이상)을 알 수 있었다. 이들 모델을 이용하여 starch 농도 변화에 따른 관련 동력학적 계수를 산출한 결과는 Fig. 6과 같다.

Starch 농도가 증가함에 따라 최대 균체농도도 증가하여 5 및 7%일 때 최대의 균사체량은 9.450~9.463 g/l으로 대응하는 농도의 glucose를 기질로 사용했을 때 보다 다소 높은 값 범위를 나타내었다. 그러나 다당생성에서는 starch 농도 7%에서 10.410 g/l의 최대 다당생성량을 보여 glucose 첨가시보다 약 2.4배량의 증가를 나타내었다. 비증식속도도

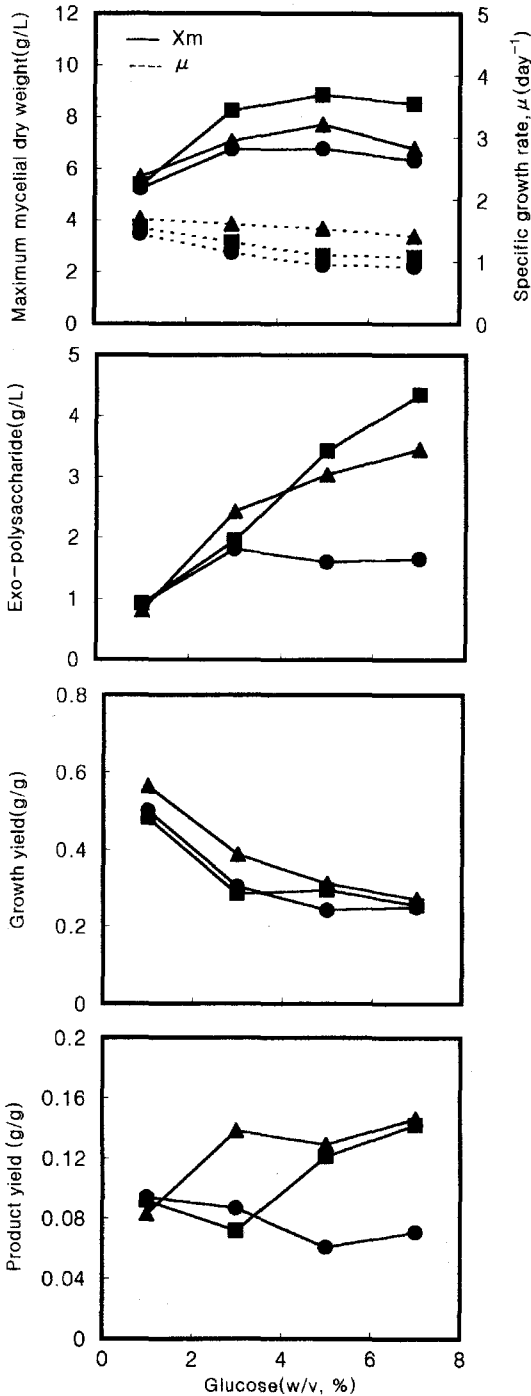


Fig. 4. Effect of subculture on kinetic parameter of *G. lucidum* under batch fermentation in glucose medium.
 ■ subculture1, ● subculture2, ▲ subculture3.

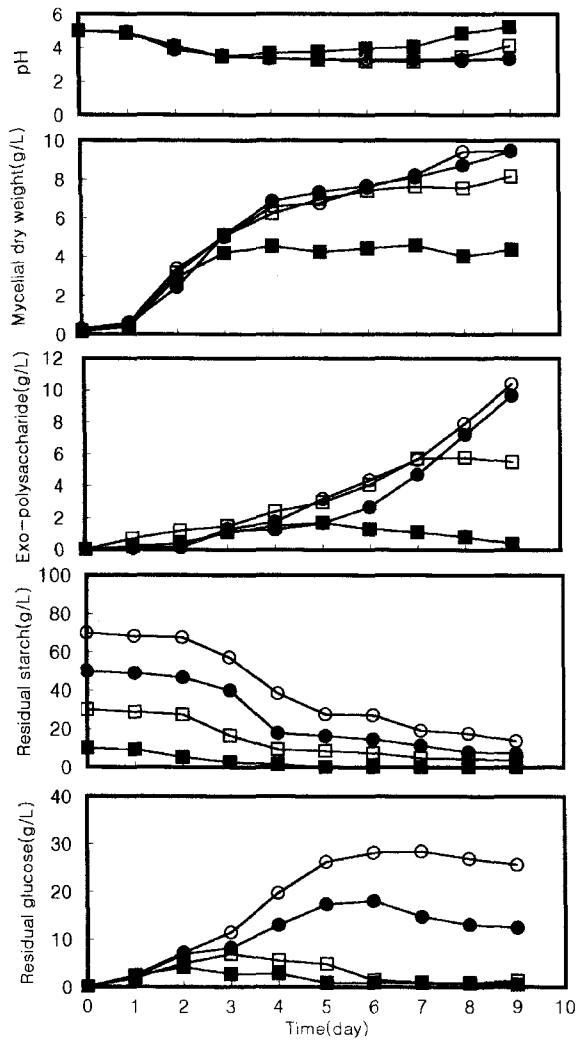


Fig. 5. Time course of the mycelial dry weight, exo-polysaccharide, residual starch and glucose of *G. lucidum* under batch fermentation.

■ Starch 1%, ⊕ Starch 3%, ● Starch 5%, ⊖ Starch 7%.

glucose와 마찬가지로 starch 농도가 증가함에 따라 감소하였으나 그 값은 glucose 보다 약 1~1.6배 높았다. 또 glucose와는 달리 비증식연동 기질소비계수 β 값은 농도증가에 따라 증가하였고, 증식연동의 기질소비계수 α 값도 3.3~3.8(gS/gX) 정도로, glucose의 0.8~1.4(gS/gX)에 비해 매우 커서 기질농도가 높을수록 증식연동의 기질 이용성이 양호함을 알 수 있었다. 아울러 비증식 연동 생성물 생성계수 n 값도 0.07~0.26(gS/gX) 정도로, glucose의 0.05~0.1 (gS/gX)에 비해 비교적 높아서 glucose 기질에서 보다 비증식 연동형 기작에 의한 다당 생산성이 매우 향상됨을 알 수 있었다. 특히, 생성물 생성에 대한 증식 및 비증식 연동형 기작의 상대적 기여도지표인 P_m 과 P_n (g/l)을 나타낸 Fig. 7에서 보는 바와 같이, 총 다당생성은 기질에 상관없이 주로 비증식 연동형 기작에 의한 함을 알 수 있다.

반면, 기질 소비에서는 starch의 경우 glucose와는 달리

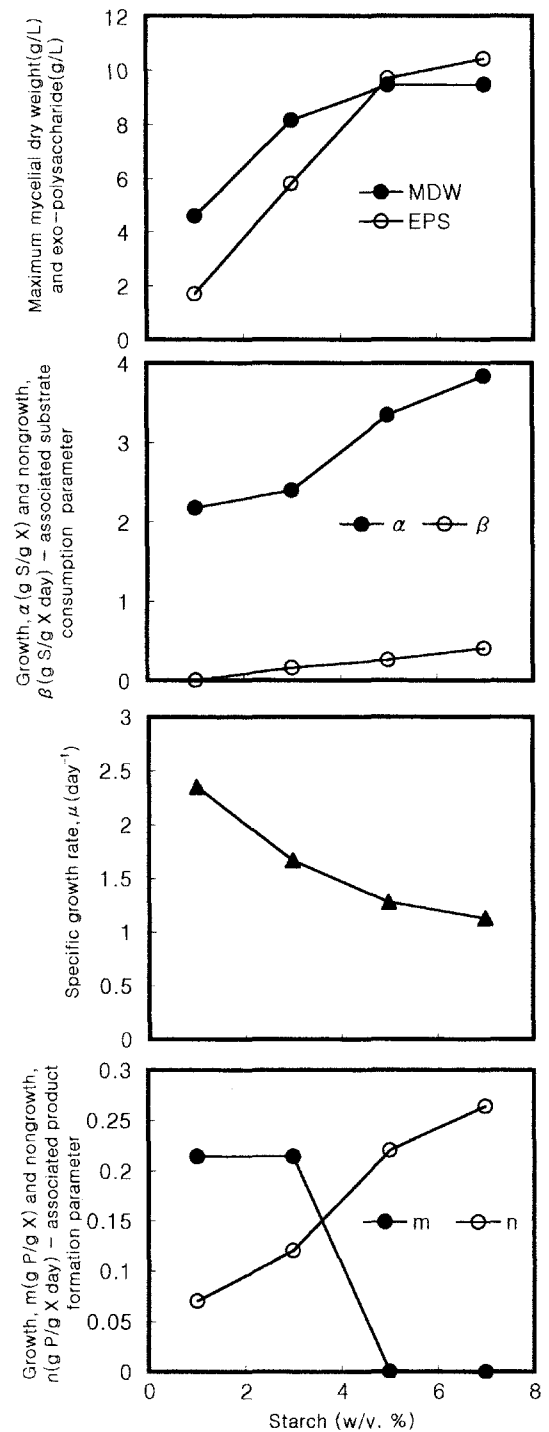


Fig. 6. Effect of starch concentration on kinetic parameter of *G. lucidum* under batch fermentation in starch medium.

증식연동형 기작이 더 중요하며 농도가 증가할수록 비증식 연동형 기작도 증가하여 이에 따라 starch 농도가 증가할수록 다당생성이 증가한 것으로 생각되었다.

한편, Fig. 8에서 보는 바와 같이, starch를 탄소원 기질로 한 경우 2차 및 3차 계대 배양으로 1차 배양에 비해 각 대응하는 농도에서 비증식속도가 다소 낮아지는 경향을 보였으나 최대 균체량 및 다당생성을 보였던 7% starch 농

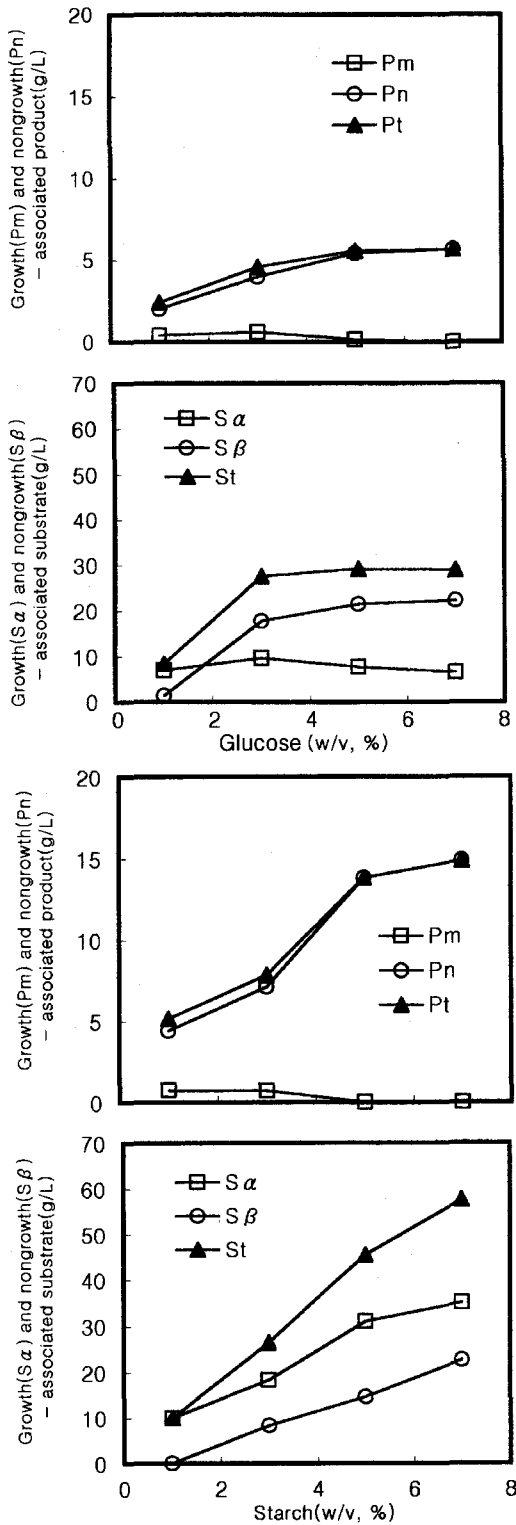


Fig. 7. Effect of substrate concentration on kinetic parameter of *G. lucidum* under batch fermentation.

도에서 균체와 다당 생성량 및 이들의 수율은 증가하였다.

따라서 starch는 영지버섯의 대량 액체배양의 기질로서 균사체 및 다당의 생성과 수율 및 계대배양의 안정성을 향

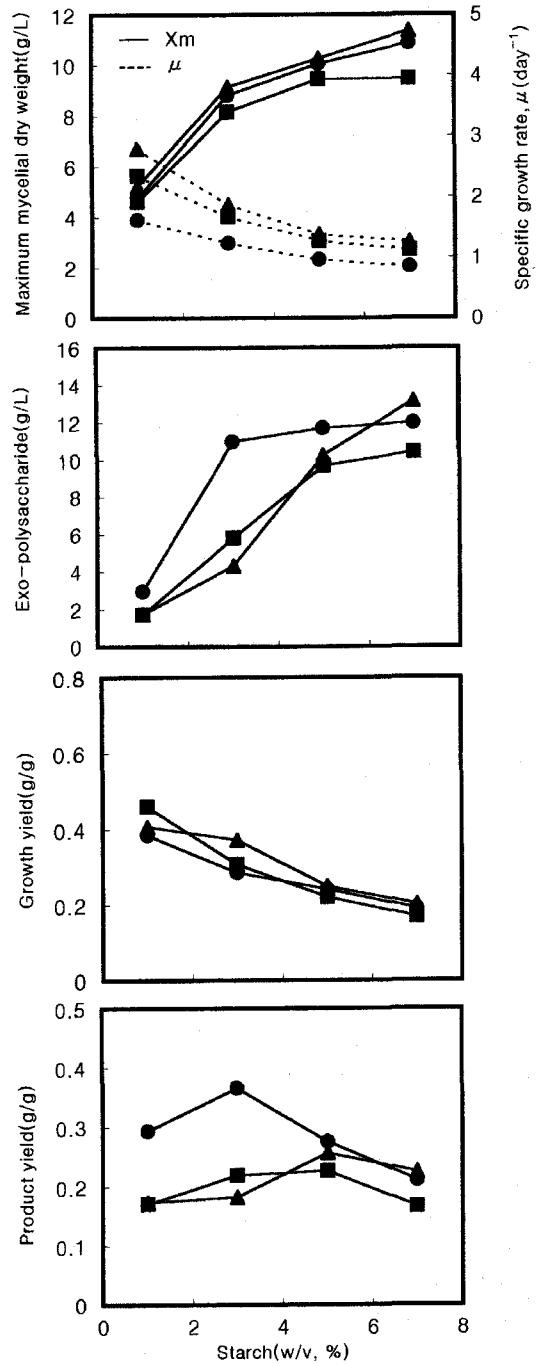


Fig. 8. Effect of subculture on kinetic parameter of *G. lucidum* under batch fermentation in starch medium. ■ subculture1, ● subculture2, ▲ subculture3.

상시키는 것으로 판단하였다.

적 요

영지버섯의 세포외 다당발효중 동력학적 특성을 기질(포도당, 전분), 기질농도(1~7%) 및 계대배양(3회)의 함수로서 조사하였다. 영지버섯 균사체 증식은 logistic 모델이 Monod 모델 및 two-thirds power 모델과 비교하여 실험값

에 잘 일치하였고, 기질 및 생성물은 Luedeking-Pirt 식에 의하여 잘 설명되었다. 또 다당 생성의 발효 기작은 증식연동형과 비증식 연동형이 함께 존재하는 혼합형이었으나 기질에 상관없이 비증식연동형 기작이 더 중요하였다. Glucose는 농도 증가에 따라 다당생성 및 기질소비의 기작이 증식연동형이 감소하고 비증식연동형이 증가하는 경향을 보였다. 그러나 starch를 사용하였을 경우는 glucose와는 달리, 기질소비의 증식연동형과 비증식연동형 기작이 모두 증가하여 높은 기질 이용성을 보였다. 아울러 starch 배지에서는 glucose 배지에서 보다 비증식속도의 증가와 계대배양시의 안정성을 보였다. 따라서 영지버섯의 배양시 starch 배지는 비증식연동형에 의한 균체 생육 및 다당생성의 생합성 촉진에 의해 이들 생산성 및 계대배양시의 안정성을 증가시키는 것으로 생각되었다. 최대의 균사체 생육 및 다당 생산은 각각 9.463 및 10.410 g/l로, 7% starch을 함유한 배지에서 30°C로 7일간 진탕배양하였을 때 얻어졌다.

감사의 글

본 논문은 연세대학교 생물산업소재연구센터의 일부 연구비지원(97-K3-0407-02-02-2)에 의거 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

- Aiba, S., Humphrey, A. E. and Millis, N. F. 1973. *Biochemical Engineering*. 2nd ed., University of Tokyo Press, Tokyo, Japan. pp. 114-115.
- Bailey, J. E. and Ollis, D. F. 1986. *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2nd ed., McGraw-Hill, New York, USA. pp. 373-456.
- Boa, J. M. and LeDuy, A. 1987. Pullulan from peat hydrolyzate fermentation kinetics. *Biotechnol. Bioeng.* **30**: 463-470.
- Bulmer, M. C., Catley, B. J. and Kelly, P. J. 1987. The effect of ammonium ions and pH on the elaboration of the fungal extracellular polysaccharide, pullulan, by *Aureobasidium pullulans*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 362-365.
- Carroad, P. A. and Wilke, C. R. 1977. Exponential growth kinetics for *Polyporus versicolor* and *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *Appl. Environ. Microbiol.* **33**(4): 871-873.
- Eyal, J. 1991. Mushroom Mycelium Grown in Submerged Culture - Potential Food Applications. pp. 31-42. In: Goldberg, I., and Williams, R. eds., *Biotechnology and Food Ingredients*. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Fredrickson, A. C., Megee, R. D. and Tsuchiya, H. M. 1970. Mathematical models for fermentation processes. *Adv. Appl. Microbiol.* **23**: 419.
- Jong, S. C. and Birmingham, J. M. 1992. Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. *Adv. Appl. Microbiol.* **37**: 101-134.
- Jong, S. C., Birmingham, J. M. and Pai, S. H. 1991. Immunomodulatory substances of fungal origin. *J. Immunol. Immunopharmacol.* **11**: 115-122.
- Klimek, J. and Ollis, D. F. 1980. Extracellular microbial polysaccharides: Kinetics of *Pseudomonas* sp., *Azotobacter vinelandii*, and *Aureobasidium pullulans* batch fermentation. *Biotech. Bioeng.* **22**: 2321-2342.
- Lee, S. Y. and Kang, T. S. 1996. Production conditions and characterization of exo-biopolymer produced by submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* mycelium. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**(1): 111-118.
- Lee, S. Y. and Kang, T. S. 1997. Optimization of antitumor active exo-polysaccharide production through the submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* mycelium. *Kor. J. Biotech. Bioeng.* **12**(2): 139-145.
- Lee, S. Y., Kang, T. S. and Lee, M. C. 1998. Condition of exo-polysaccharide production from submerged mycelial culture of *Ganoderma lucidum* by using air-lift fermenter system. *Kor. J. Biotech. Bioeng.* **13**(5): 547-553.
- Luedeking, R. and Piret, E. L. 1959. A kinetic study of the lactic acid fermentation. Batch processes at controlled pH. *J. Biochem. Microbiol. Tech. & Eng.* **1**: 393-412.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chem.* **31**: 426-428.
- Mizuno, T., Kato, M., Totsuka, K., Takenaka, K., Shinkai, K. and Shimizu, M. 1984. Fractionation, structural features and antitumor activity of water-soluble polysaccharides from "Reishi", the fruitbody of *Ganoderma lucidum*. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **58**: 873-879.
- Mulchandani, A. and Luong, J. H. T. 1988. Batch kinetics of microbial polysaccharide biosynthesis. *Biotech. Bioeng.* **32**: 639-646.
- Nedeltscheva, M., Stoilkov, G. and Popova, S. 1975. A modified analysis method of starch determination by iodine spectrophotometry. *Starch* **27**: 298-301.
- Ollis, D. F. 1983. Simple batch fermentation model: Theme and variations. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **413**: 144.
- Sakamoto, R., Niimi, T. and Takahashi, S. 1978. Effect of carbon and nitrogen sources on submerged culture of edible fungi. *Agric. Biol. Chem.* **52**(2): 75-81.
- Tsuchiya, H. M. 1970. Introductory comments. *Biotechnol. Bioeng.* **12**: 645-649.
- Weiss, R. M. and Ollis, D. F. 1980. Extracellular microbial polysaccharides. I. Substrate, biomass, and product kinetic equations for batch xanthan gum fermentation. *Biotech. Bioeng.* **22**: 859-873.