

Optimal control of glucose concentration for the production of biopolymer with *Cordyceps militaris*

김경주, 이중헌, 권규혁

조선대학교 화학공학과

Tel:(062) 230-7226, Fax:(062)230-7226

서론

곤충을 침입하여 이를 기주로 충체 위에 자실체를 형성하는 동충하초중 일부 종들은 고대로부터 중국에서 불로장생의 비약으로 결핵, 천식, 황달의 치료 및 아편중독의 해독제, 병후의 보양 및 강장제, 면역 기능 강화제로서 이용되어온 고가의 한방 약재이다. 그 중 *Cordyceps militaris* 등 약 7종의 동충하초가 현재 약용으로 이용되고는 있으나, 자연 상태에서의 자실체의 채집은 상당히 어려워 공급이 한정되어 인공적인 자실체의 생산에 큰 관심을 가지게 되었다.¹⁾ 현재 많은 연구결과 인공적인 자실체의 생산은 활발히 이루어지고 있으나, Cell 및 Exo-biopolymer의 산업적 생산에 대하여서는 많은 연구가 필요한 실정이다. 이에 *Cordyceps militaris* 배양에 있어서 경제성을 고려하여 배지의 설정 및 유가식 배양을 통한 biopolymer의 대량 생산에 관하여 다양한 연구를 통해 산업적 활용방안을 검토하고자 한다.

재료 및 방법

공시균주 : 본 실험에 사용한 번데기 동충하초 균주는 강원대학교 동충하초은행(EFCC. Entomopathogenic Fungal Culture Collection)에 보관중인 C738을 공시균주로 사용하였다. 보관용 배지로는 PDA배지를 사용하였으며 25℃ 항온기에서 배양하여 실험에 접종원으로 사용하였다.

기본적정배지의 선발 실험: 번데기 동충하초를 PDA배지에 20일간 배양하였다. 액체배양 배지는 PDB배지와 YMK배지, SYP배지, 인공배양배지를 사용하였으며 PDA배지 상에서 생육한 균사체를 직경 5mm의 cork borer를 이용하여 mycellium disk 5개를 121℃에서 15분간 가압 살균한 배지 100mL에 접종하여 shaking incubator에서 7일간 25℃, 120rpm으로 배양하였다. 배지 조성은 Table. 1과 같으며 초기 pH는 5.0으로 조절하였다.

영양원의 변화에 따른 균사생장 실험: Table 1.의 배지 중 생장이 가장 우수한 SYP배지의 Yeast extract, 탄소원의 농도를 변화시켜 사용하였다. 균사체를 Homogenizer로 균질화시킨후 10mL씩 접종하였으며 7일간, 25℃, 120rpm, 초기 pH 5.0으로 배양하였다.

본배양방법 : 본 연구에서는 회분식 배양을 실시하였으며, 본 발효의 5%에 해당하

는 flask medium 100ml를 만들어 shaking incubator에서 7일간 배양한 후 균사체를 Homogenizer로 균질화 시켜 접종을 실시하였다. 초기 pH는 5.0, 배양온도는 25°C로 하였으며, 교반속도는 120rpm, 통기량은 1vvm으로 조절하여 배양하였다.

분석방법 : 균체량은 배양액을 8,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 침전된 균사체를 증류수로 2~3회에 걸쳐 세척한 다음, 60°C에서 24시간 건조하여, 건조기에서 항량이 될 때까지 방치한 후 건조중량을 측정하였다. 또 세포의 다당류는 원심 분리하여 얻은 상등액에 미리 냉장보관 중인 4배의 ethanol을 가하여 4°C에서 24시간 침전하여 침전물을 8,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 회수하고, 감압여과하여 건조시켜 항량이 될 때까지 방치하여 건조중량을 측정하였다.

Table. 1 Media composition

Media	Composition(g/L)
PDB	Potato Dextrose Broth (Difco) 24
YMK	Glucose 80, Yeast extract 20, KH ₂ PO ₄ 1, MgSO ₄ · 7H ₂ O 1
SYP	Starch 15, Yeast extract 3, Glucose 5, Peptone 1, KH ₂ PO ₄ 1, MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.5
인공배양 배지	Glucose 20, Glutamic-acid 2, MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.05, KH ₂ PO ₄ 0.46, K ₂ HPO ₄ 1.0, Thiamine-HCl 120 μ g

결과 및 고찰

기본적정배지의 선발 실험 : 실험 결과 PDB와 SYP의 생장이 가장 우수함을 알 수 있었다. 하지만 PDB배지는 SYP배지에 비해 경제성이 떨어지는 단점이 있으므로 SYP배지를 기본적정배지로 선발하였다.

영양원의 변화에 따른 균사생장 실험 : SYP배지의 영양원의 조성변화에 따른 실험결과 질소원인 Yest extract의 영향을 가장 많이 받음을 알 수 있었으나, 전체적으로 균사생장의 차이가 크지 않으므로 경제성을 검토하여 Yeast extract의 농도를 감소시켜 본 배양실험을 해보았다. 탄소원인 Starch는 세포 외 다당류 추출 시 Ethanol에 잘 용해되지 않아 분리비용을 높이는 양상을 보였으므로, 탄소원으로 Glucose만을 사용하기로 결정하였다.

본배양 실험 : 본배양 배지의 조성은 Yeast extract 0.5g/L, Glucose 10-60 g/L, Peptone 1 g/L, KH₂PO₄ 1 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g/L로 3일간 배양하였으며, pH는 1N HCl과 1N NaOH로 조절하였다. Glucose 농도의 증가에 따라 세포의 성장 및 biopolymer의 생산에서 저해를 받는 것으로 측정되어 유가식 배양을 통하여 다당류를 생산하였다.

참고문헌

- 1) J. M. Sung, C. H. Kim, K. J. Yang, H. K. Lee and Y. S. Kim, " 동충하초속균의 분포 및 *Cordyceps militaris*와 *C. nutans*의 이용에 관한 연구 " (1993), *Kor. J. Mycol.*, 21(2), 94-105