

Effects of Culture Conditions on Mycelial Growth and Polysaccharide Production of *Tricholoma matsutake* in Bioreactor

최민구, 김성수, 홍억기

강원대학교 바이오산업공학부

전화 (033) 250-6275, FAX (033) 243-6350

Abstract

This experiment was carried out to obtain the optimal liquid culture conditions for the mycelial growth and the polysaccharide production of *Tricholoma matsutake*. For the mycelial growth and polysaccharide production, the synthetic medium was optimized with containing glucose 40 g/L, yeast extract 30 g/L, KH_2PO_4 1.5 g/L and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g/L. The effects of agitation and aeration were investigated for the cell growth and the polysaccharide production in batch culture. The biomass and polysaccharide concentrations were 21.87 g/L at 150 rpm and 8.86 g/L at 300 rpm, respectively. And the biomass concentration and the polysaccharide production were 20.85 g/L at 0.5 vvm and 8.83 g/L at 1.5 vvm, respectively.

서론

송이(*Tricholoma matsutake*)는 분류학적으로 담자균아문(Basidiomycotina), 주름버섯목(Agaricales), 송이버섯과(Trichomatacea)에 속하는 버섯으로 독특한 향취물질(*l*-octene-3-ol, 2-octanol, 1-octene, 4-methylcinnamic acid 등)¹⁾과 뛰어난 맛으로 인하여, 한국, 일본, 중국 등의 동아시아 지역에서는 식용버섯 중 가장 선호되는 담자균류 버섯으로 알려져 왔다.

송이는 인공재배가 쉽지 않은 버섯으로 균사까지는 인공으로 얻을 수 있게 되었으나, 자실체의 생산이 문제이며 그 가능성을 검토하기 위하여 다방면의 연구²⁾가 진행되어 왔으나, 아직까지 그 재현성이 없고 방법이 확립되지 않아 성공한 예가 없다. 지금까지 송이에 관한 연구는 생태학적 연구³⁾, 효소활성에 관한 연구⁴⁾⁵⁾, RNA gene⁶⁾에 관한 연구가 주로 이루어져 왔으며, 송이 균사의 액체배양에 관한 연구⁷⁾는 최근 활발히 이루어지고 있으나 배양기간이 길고, 그 양이 매우 적기 때문에 인공재배나 공업적 이용에 어려움을 겪고 있다. 따라서 본 연구에서는 flask culture를 통하여 얻은 기본 배지 및 물리적인 조건을 토대로 송이의 균사생장과 polysaccharide 생산 최적화

를 위하여 5L jar fermentor에서 교반속도와 통기량의 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 경북 울진에서 구입한 송이버섯의 자실체로부터 균사를 분리하여 사용하였으며, 보관용 배지로는 PDA(potato dextrose agar)를 사용하였다. 균주 배양을 위한 기본배지의 조성은 glucose 40g/L, yeast extract 30g/L, KH_2PO_4 1.5 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g/L이며, 전배양에 사용된 접종원은 기본배지에서 10일간 배양한 후, 5 mL을 취하여 멸균된 20% skim milk 용액 5ml과 혼합하여 -75°C 에서 냉동 보관하였다가 사용하였다.

회분배양(batch culture)

냉동보관된 10 mL의 활성화된 stock을 250 mL 플라스크(working volume 100 mL)에 접종하여 26°C 에서 14일간 진탕배양(150rpm)하여 사용하였다. 액체배지에 적응을 위하여 한번 더 100 mL의 액체배지에 옮겨준 후, 본배양에서는 접종비 10%인 300 mL의 전배양액을 접종하여 배양을 실시하였다. 회분배양은 5L 생물반응기(Korea Fermentor Co., KF-5L)에서 working volume 3L로 하여 26°C , 150 rpm, 1.0 vvm으로 배양을 실시하였으며, pH는 조절하지 않았다.

결과 및 고찰

교반속도의 영향

교반속도의 영향을 살펴보기 위하여 5L jar fermentor에 working volume을 3L로 하고 교반속도를 달리하여(100 rpm, 150 rpm, 200 rpm, 250 rpm, 300 rpm) 26°C , 1 vvm으로 배양을 실시하였다. 그 결과 교반속도에 따른 균체량의 변화는 낮은 교반속도에서 균사생장이 양호한 결과를 나타내었으며 150 rpm에서 배양 10일째 21.87 g/L로 가장 높은 값을 나타내었다. Polysaccharide 생성량은 교반속도의 변화에 따라서 큰 차이를 나타내며 최대 생성량은 300 rpm에서 배양 8일째 8.86 g/L를 나타내었다. Glucose의 소비는 비슷한 경향을 보이고 있으며 15.57 g/L ~ 20.11 g/L가 소비되지 않고 잔존하였으며 높은 교반속도에서 소비가 느리게 이루어졌다. (Fig. 1.)

통기량의 영향

통기량의 영향을 살펴보면 균체량과 glucose의 소비속도에서는 낮은 통기량의 조건

에서 균사생장이 양호하고 glucose의 소비 또한 더 많이 이루어지는 것을 관찰할 수 있었다. Polysaccharide의 생성량은 산소공급이 충분히 이루어질 때 높은 생성량을 나타내며 균체량은 0.5 vvm의 조건에서 배양 11일째 20.85 g/L로 가장 높은 값을 나타내었으며 polysaccharide 생성량은 1.5 vvm에서 배양 11일째 8.83 g/L로 가장 높은 값을 나타내었다.(Fig. 2.)

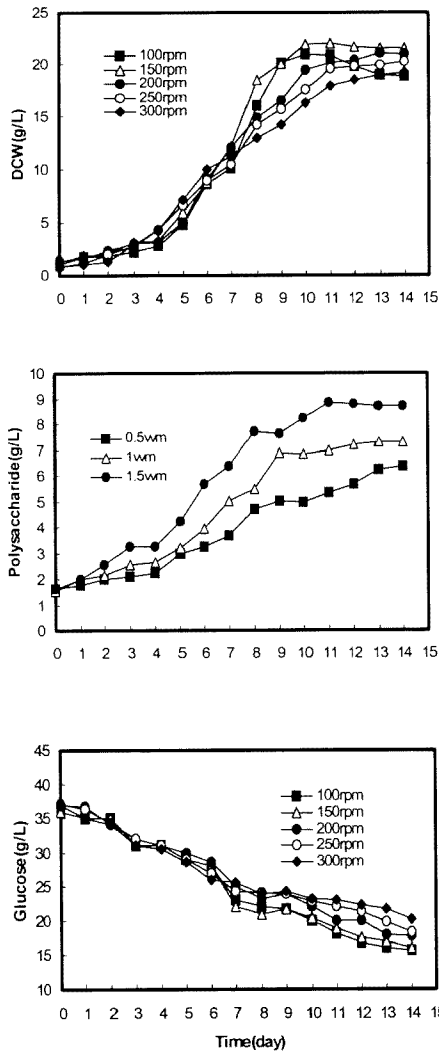


Fig. 1. The effects of agitation on cell growth, polysaccharide production and residual glucose.

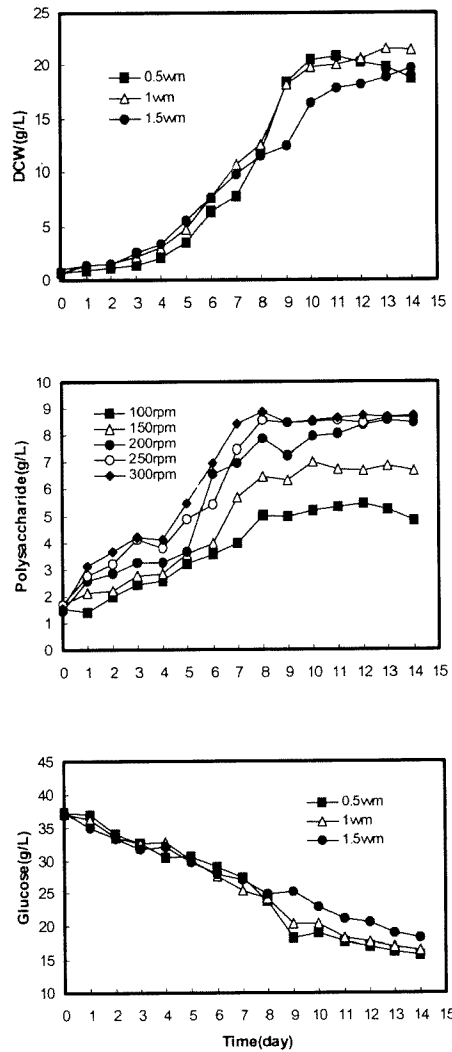


Fig. 2. The effects of aeration on cell growth, polysaccharide production and residual glucose.

요약

본 연구에서는 담자균류의 일종인 *Tricholoma matsutake*의 균사체 생육과 polysaccharide 생산을 최적화하기 위하여 5L jar fermentor에서 교반속도와 통기량의 영향을 검토하였다. 교반속도는 150 rpm에서 가장 좋은 결과를 보였으며, 균체량은 배양 10일째 21.87 g/L, polysaccharide는 교반속도는 300 rpm에서 배양 8일째 8.86 g/L로 가장 높은 값을 나타내다. 통기량은 11일째 0.5 vvm에서 가장 좋은 균체량 20.85 g/L, polysaccharide는 1.5 vvm에서 배양 11일째 8.83 g/L로 가장 높은 값을 나타내었다.

참고문헌

1. Jang-Soo Ahn, Kyu-Han Lee, "Studies on the volatile aroma components of Edible mushroom(*Tricholoma matsutake*) of Korea" (1986), *J. Kpren Soc. Food Nutr.* 15(3), 253-257.
2. Ito, J., "The present status of *matsutake* production technique in Japan" (1981), *Kor. J. Mycol.*, 12(4), 211-222.
3. Hyun Park, Kang-Hyeon Ka, Cheon In Ryoo, Kyo-Soo Kim and Hyun-Joong Kim, "Ectomycorrhizal Mushroom Occurrence around the Fairy Ring of *Tricholoma matsutake* st a Pine-Mushroom Forest" (1998), *Kor. J. Mycol.*, 26(3), 306-313.
4. Eung-Gi Min and Yeoug-Hwan Han, "Characteristics of Extracellular β -Glucosidase in *Tricholoma matsutake*" (2000), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 15(1), 9-13.
5. Lu-Min Baario, Alexis Guerin-Laguette, Norihisa Matsushita, Kazuo Suzuki and Frederic Lapeyrie, "Saprobic potential of *Tricholoma matsutake* : growth over pine bark treated with surfactants" (2002), *Mycorrhiza*, 12, 1-5.
6. Seon-Kap Hwang and Jong-Guk Kim, "Secondary Structural and Phylogenetic Implications of Nuclear Large Subunit Ribosomal RNA in the Ectomycorrhizal Fungus *Tricholoma matsutake*" (2000), *Current Microbiology*, 40(4), 250-256.
7. Lee, C.-Y., O.-P. Hong, M.-J. Jung, and Y.-H. Han, "Effect of carbon sources and vitamins on myclial growth of *Tricholoma matsutake* DGUM 26001" (1997), *Kor. J. Mycol.*, 25(3), 226-232.