

개암버섯균의 액체배양과 균사체의 성분에 관한 연구

강안석^{*} · 강태수¹ · 조수목² · 유승현³

¹ 강원도 농업기술원 북부농업시험장, ² 도립충북과학대학 식품생명과학과
³ 충청진흥청 농업과학기술원 응용미생물과, ³ 충남대학교 농생물학과

Studies on Submerged Culture and Mycelial Components of *Naematoloma sublateritium* Mycelia

An-Seok Kang*, Tae-Su Kang¹, Soo-Muk Cho² and Seung-Hun Yu³

Kangwon Provincial Rural Development Administration, Chunchon, 200-150, Korea

¹ Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk Provincial University of Science and Technology, Okchon 373-800, Korea

² National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea

³ Department of Agricultural Biology, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

ABSTRACT: This study was carried out to get the basic information for the submerged culture and analyze the biochemical components of *Naematoloma sublateritium* mycelia. The optimal temperature, pH, agitation speed and cultural time for the mycelial growth of *Naematoloma sublateritium* were 25°C, 5.5, 150 rpm and 20 days, respectively. The proximate composition of mycelia was as follows; carbohydrate 55.8% (total sugar 48.7%), crude protein 22.4%, fat 4.1% and ash 4.7% respectively. Among the free amino acid contents, phenylalanine, alanine and lysine were predominant component. The linoleic acid and palmitic acid were found to be the highest among the free fatty acids. The biopolymer extracts of mycelia was identified to be protein-bounded polysaccharide by color reaction and sepharose CL-4B gel chromatography.

KEYWORDS: *Naematoloma sublateritium*, Submerged culture, Mycelial components, Biopolymer

개암버섯(*Naematoloma sublateritium*(Fr. Karst))은 분류학적으로 진균문(Eumycota), 담자균아문(Basidiomycotina), 진정담자균강(Basidiomycetes), 주름버섯목(Agaricales), 독청버섯과(Strophariaceae)에 속하며 사물기생하는 목재부후균으로 알려져 있다(大森, 1982).

이 버섯은 모양이 좋고, 맛과 향 및 색깔이 좋을뿐 아니라 성분중 Fasciculol-F 등(今關 등, 1981)이 있어 이용가치가 높은 반면, 균사활력이 약하여 각종배지에서 생장이 더디며 자실체 형성이 어려운 점 등의 문제점이 있으므로 이와 같은 문제가 해결된다면 앞으로 인공재배에 의한 대량생산도 가능하리라 생각된다.

버섯 균사체의 액체배양(Gentao, 1979; Humfeld, 1948; Natarajan and Raman 1980; 강, 1995)은 저비용으로 짧은 기간내에 균일한 품질의 균사체를 대량생산할 수 있으며, 생산된 균사체로부터 유용물질의 추출, 분리가 간편하여 고부가가치의 생리활성물질의 생산 및 균사체로부터 건강식품소재의 개발 등도 가능하다.

버섯 균사체 추출물 중 생리활성을 나타내는 성분으로는 주로 항생물질과 같은 저분자의 활성물질과 다당류 또는

단백다당류 등의 고분자물질로 대별된다(Fukushima, 1989). 특히, 고분자물질의 경우, 그 활성정도는 고분자물질의 평균분자량, 구조 및 용해도 등에 따라 차이가 있으며, 이들 성분 중에서도 대표적인 것이 β -glucan(Mizuno 등, 1982)으로 난치병인 암 등에 큰 효과가 있음이 알려져 있다(水野와 川合, 1992).

본 연구는 개암버섯 균사체의 액체배양조건을 구명함과 동시에 균사체 중에 함유되어 있는 성분분석에 관한 것으로 개암버섯균의 액체배양에 관한 기초자료로 이용하고자 수행하였으며, 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시균주, 배지 및 접종원 배양

개암버섯(*Naematoloma sublateritium* (Fr.) Karst) 균주는 농업과학기술원의 응용미생물과에 보존중인 ASI 11005를 분양받아 PDA 배지로 계대 배양하며 보존하였다. 개암버섯 균사체 액체배양을 위한 종균용 접종원의 배양은 예비 실험을 통해 최적 공시배지로 선정된 GYMP 배지(glucose 10 g/l, peptone 10 g/l, yeast extract 10 g/l, malt extract 15 g/l) 50 ml를 조제하여 250 ml의 삼각 플라스크에 넣어

*Corresponding author

멸균하고, PDA 배지에서 생육한 균사체를 직경 8 mm의 cork borer로 절취하여, 이 절편 4~5개를 접종한 다음, 25±1°C의 진탕배양기에서 7일간 배양하여 사용하였다.

온도, pH 및 교반속도의 영향

개암버섯 균사체의 최적 온도를 조사하기 위하여 GYMP 배지 50 ml를 250 ml의 삼각 플라스크에 조제하여 멸균한 다음, 전배양액 5%(v/v)를 접종하고, 25±1°C의 진탕배양기에서 22일간 배양한 후 건조균체량을 측정하였다. 또 최적 pH의 경우도 GYMP 배지를 pH 4~8까지 조제하여 50 ml씩, 250 ml의 삼각 플라스크에 넣고, 멸균 후 전배양액 5%(v/v)를 접종하고, 상기 온도에서와 같은 조건으로 조사하였다.

교반속도에 따른 균사체량의 변화를 알아보기 위하여 GYMP 배지를 조제하여 250 ml의 삼각플라스크에 50 ml씩 배지를 분주하여 멸균한 후, 미리 배양한 접종원을 5% (v/v)접종하였다. 그후 교반속도가 100, 150, 200, 250 rpm으로 조절된 진탕배양기에서 25±1°C의 온도로 22일간 배양하면서 균사체의 형태 관찰 및 건조 균사체량을 구하였다.

배양기간의 영향

배양시간에 따른 균사체량의 변화를 알아보기 위하여 GYMP 배지를 조제하고 상기 교반속도 실험결과를 이용하여 28일간 배양하면서 배양시간에 따라 배양액을 sampling 하여 균사체량과 pH 변화를 조사하였다.

균사체의 생산과 고분자 분리

균사체를 액체배양에 의해 대량 생산하기 위하여 Fig. 1

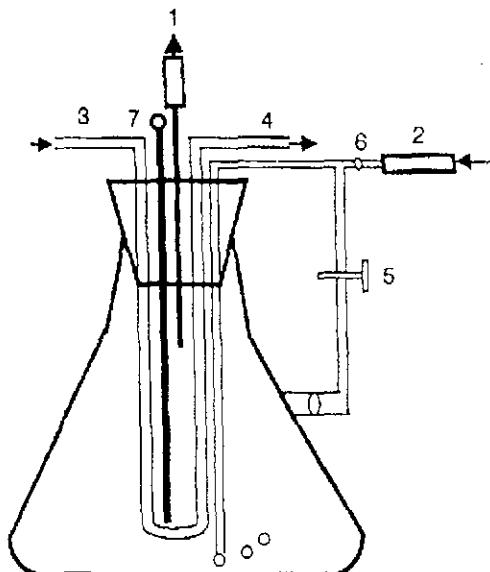


Fig. 1. Schematic diagram of bioreactor for submerged cultivation of *Naematoloma sublateritium*.

1; air-out filter, 2; air-in filter, 3, 4; water in and out tube 5; clamp, 6; inoculation and sampling port, 7; thermometer.

과 같은 bioreactor를 자체제작하여 사용하였다.

총 3 l 용량의 가지달린 삼각 플라스크와 silicon rubber, silicon tube 및 stainless steel pipe 등을 이용하였으며, 산소의 원활한 공급을 위하여 기포발생기에 재균용 펄터를 제작하여 연결 부착하였다. 통기량의 조절을 위해 flow meter를 산소주입구에 설치하였으며, 온도조절을 위하여 bioreactor 내부에 2개의 stainless steel관을 설치하여 항온 조로부터 일정온도의 물을 연속적으로 순환시켰다. 종균 접종구는 stainless steel pipe와 silicon tube를 이용하여 무균적인 결합과 분리가 가능하도록 만들었고, bioreactor의 입구는 무균유지를 위하여 silicon rubber로 stopper를 만들어 부착하였다.

이 bioreactor를 이용한 균사체 배양은 GYMP 배지 2 l를 조제하여 bioreactor에 넣고 121°C에서 30분간 고압멸균한 다음, 접종원인 개암버섯 균사체 전배양액 100 ml를 접종구를 통하여 무균상태로 접종하였다. 25°C의 온도에서 0.5 vvm의 통기량으로 액체배양(submerged culture) 하였으며, 이때 배양 초기에 통기기에 의해 거품이 생성되므로 이를 막기 위하여 antifoam으로 식용유 2 ml을 배지에 첨가하였다.

한편, 개암버섯 균사체 고분자 추출물의 분리는 균사체 배양액을 여과지(Whatman No. 5)와 여과장치를 이용하여 침압여과한 다음, 균사체를 중류수로 충분히 수세한 후 동결 건조기(0.05 torr)에서 건조하였다. 건조 균사체에 소량의 중류수를 가하고 95°C의 water bath에서 24시간 환류추출한 후, 추출액을 농축하고, 에탄올을 농축액의 3배 용량으로 가한 다음, 4°C에서 1일간 방치하였다. 원심분리기를 이용하여 2,500×g에서 15분간 원심분리하였으며, 이로부터 침전물을 회수하고 동결건조하여 고분자 추출물 시료로 하였다.

균사체의 성분분석

균사체의 일반성분 분석은 AOAC법(1983)을 기초로 하여 분석하였다.

수분함량은 105°C 상압건조법에 기초하여 수분측정기 (Denwer Ins. Mark 2HP, U.S.A)로, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법(Soxtec, 2050, Sweden)으로 분석하였다. 조단백질 함량은 켈달법에 의하여 Kjeltec(Auto sampler system, 1035 analyzer, sweden)으로 전질소함량을 구한 나음, 단백질 함량은 질소계수인 6.25를 곱하여 산출하였다. 유리 아미노산의 분석은 건조 균사체시료 0.5 g을 50 ml의 0.1 N HCl로 추출하여 여과한 다음, 여액 10 ml를 Sep-pak C18 cartridge로 전처리하여 분석시료로 하였으며, 분석은 pico-Tag법에 준하여 실시하였다. 아미노산 표준물질은 pierce H(pierce co., U.S.A)을 사용하였고, millenium program(Waters co.)과 waters사의 pico-Tag system(Millipore, Milford, M.A.) 및 UV detector(Waters co.)를 사용하였다.

한편, 유리지방산 분석은 건조된 시료 1 g을 변형된 Folch 방법에 따라, 지방을 추출한 다음, methylation을 하여 fatty

Table 1. The condition of gas chromatography for analysis of fatty acids

Instrument	Hewlett-Packard 5890
Detector	Flame ionization detector (FID)
Column	SP-2560, 100 m \times 0.25 mm ID, 0.20 μ m film, Supelco co.
Oven temp.	140~240°C (4°C/min, after 5min)
Injection temp.	260°C
Detector temp.	260°C
Carrier gas	He
Flow rate	20 ml/min

Table 2. The conditions of high performance liquid chromatography for analysis of sugar

Instrument	Waters co.
Detector	Refractive index (RI)
Column	High performance carbohydrate column (4.6 \times 250 mm)
Mobile phase	75% acetonitrile
Flow rate	1.2 ml/min

acid methyl esters(FAMEs) 유도체화 하였다. FAMEs는 100 mg/ml의 농도로 조제하여 gas chromatography(HP 5890, USA)로 Table 1과 같은 조건으로 분석하였다. 회분 함량은 550°C의 회화로에서 직접회화법으로 분석하였고, 탄수화물은 조섬유와 전당으로 구분하여 측정하였는데, 조섬유는 산 및 알칼리분해법을 이용하여 조섬유 분석장치 (Fibertec system, Sweden)로 측정하였으며, 전당 함량은 일반 성분의 총합을 구한 다음, 100에서 감하여 계산하였다. 또, 유리당의 구성성분 분석은 전조된 시료 0.1 g을 85% ethyl alcohol 10 ml에 첨가하여 16시간 상온에서 방치한 다음, 원심분리한 후 상당액 1 ml을 취하여 농축하고 중류 수 0.1 ml에 녹여 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 분석시료로 사용하였다. 분석은 HPLC(Waters co.)를 사용하였으며, 분석조건은 Table 2와 같다. 이때 표준물질은 glucose를 비롯한 20여종의 단당류, 이당류 및 당 알콜류를 사용하였다.

고분자 추출물의 정성분석 및 점제

동결전조된 고분자 추출시료를 0.1%(w/v) 농도로 중류 수에 용해하여 조제하고 UV/vis spectrophotometer(Spectronic, Fenesys-5)를 이용하여 파장 200~700 μ m 범위에서 scanning하였다. 환원당의 유무를 조사하기 위하여 DNS (dinitrosalicylic acid)법과 Fehling 반응을, 우론산의 정성분석을 위하여 carbazol-sulfuric acid 반응을, 단백질과 아미노산의 존재유무를 확인하기 위하여 Ninhydrin 및 Biuret 반응, 단백다당 및 아미노당의 확인을 위해 Elson-Morgan 반응을 수행하였다. 이때 실험용 시료는 기수분해 한 것과 하지 않은것 2종으로 구분하여 하였는데, 기수분해의 경우는 1 M의 HCl 용액에 소량의 고분자 추출물을 넣고, 95~100°C의 oil bath에서 24시간 동안 미세하게 교반하면서

기수분해한 후, NaOH로 중화하여 여과하고, 그 여액을 농축하여 기수분해 시료로 사용하였다.

고분자 추출물의 정제는 Sepharose CL-4B를 사용하여 젤크로마토그라피를 행하였다. 즉, 중류수에 3~4일간 펑윤 시킨 Sepharose CL-4B를 컬럼(ϕ 2.0 \times 81 cm)에 충진하고, phosphate buffer(pH 6.8)용액으로 하루동안 평형화시켰다. 개암버섯 균사체 고분자 추출물을 소량의 phosphate buffer 용액에 녹인후, 원심분리하여 불순물을 제거하고 상등액을 얻은 다음, 이를 컬럼의 상부에 충진하였다. Phosphate buffer를 20 ml/hr의 유속으로 용출시키며 fraction collector (Waters, Japan)로 분획당 4.0 ml씩 받았으며, 각 분획은 phenol-sulfuric acid법과 Lowry법으로 각각 당과 단백질 함량을 분석하였다. 이때 void volume은 blue dextran (M.W. 2,000,000)으로 결정하였다.

결과 및 고찰

온도, pH 및 교반속도의 영향

온도, pH 및 교반속도에 따른 건조균사체량을 측정한 결과는 Table 3과 같다.

도표에서 보는 바와 같이 최적 온도는 25°C이었으며, 15°C와 35°C에서는 균사체 생산량이 감소하였다. 또 최적 pH의 경우, pH 5.0~6.5 범위에서 비교적 양호하여 약산성 내지 중성의 pH 범위에서 생육이 우수하여 일반적으로 알려진 곰팡이류의 생육 최적 pH 범위와 일치하였다.

교반속도의 경우, 100~250 rpm 범위에서 2.47~2.93 g/l로 균사체량은 큰 차이가 없었으며, 150 rpm에서 최대값을 보였다. 따라서 균사체 배양을 위한 동력 소비량 등을 감안

Table 3. Effect of temperature, pH and agitation speed on mycelial growth of *Naematoloma sublateritium*

	Parameter	Mycelial dry weight ^a (g/l)
Temperatuere (°C)	15	1.54 \pm 0.37
	20	1.90 \pm 0.35
	25	2.20 \pm 0.44
	30	1.84 \pm 0.14
	35	1.62 \pm 0.31
pH	4.0	1.38 \pm 0.28
	4.5	1.44 \pm 0.11
	5.0	2.00 \pm 0.48
	5.5	2.30 \pm 0.34
	6.0	2.18 \pm 0.10
	6.5	2.10 \pm 0.08
	7.0	1.88 \pm 0.19
	7.5	1.50 \pm 0.33
	8.0	1.44 \pm 0.23
RPM	100	2.47 \pm 0.34
	150	2.93 \pm 0.24
	200	2.81 \pm 0.16
	250	2.77 \pm 0.25

^aThe data presented are the mean \pm standard deviation of three samples.

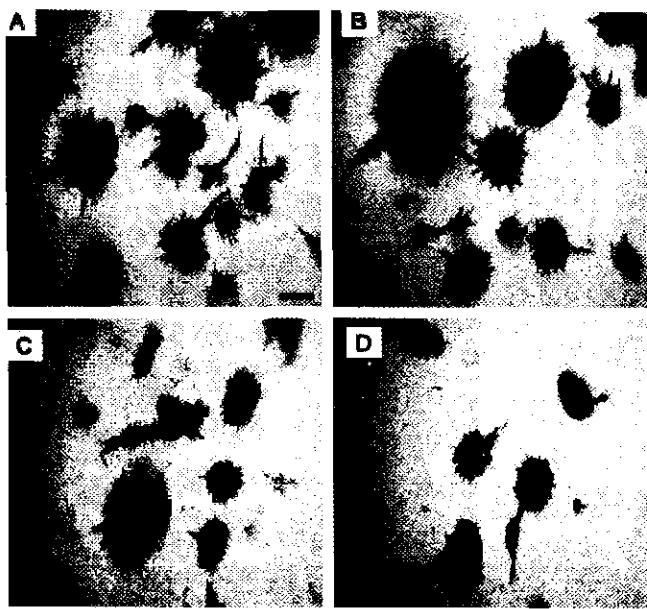


Fig. 2. Effect of agitation speed on pellet morphology of *Naematoloma sublateritium* (scale bar = 500 μ m).
A; 100 rpm, B; 150 rpm, C; 200 rpm, D; 250 rpm.

하여 150 rpm을 최적 교반속도로 정하였다.

일반적으로 버섯류는 호기성이므로 교반속도가 증가하게 되면 통기효과는 커지게 되나 적정수준 이상의 교반속도에서는 절단력이 균사체에 작용하여 오히려 균사체의 생육이 감소하는 것으로 생각되며, Song 등(1987)도 *Lentinus edodes*의 액체배양시 교반속도가 150 rpm 이상에서는 균사체의 생산량이 감소하였다고 보고한 바 있다.

한편, 교반속도에 따른 균사체의 형태를 관찰한 결과 (Fig. 2), 그림에서와 같이 회전수가 증가함에 따라 pellet의 크기가 다소 감소하였으나, 100~150 rpm의 범위에서는 균사체의 형태에 큰 변화가 없었다. 그러나 200 rpm 이상에서는 작은 크기의 균사체 pellet의 수가 증가하였으며 pellet의 가장자리도 저속 교반속도에서보다 완만한 형태를 나타내었다. 이는 회전수가 증가하면 균사체에 작용하는 절단력이 커져 균사체의 가장자리에 있는 균사가 절단되기 때문인 것으로 생각되었다.

배양기간에 따른 균체량의 변화

배양기간에 따른 배양액의 pH 및 균사체량의 경시적 변화를 검토해 본 결과, Fig. 3과 같이 균사체량은 배양 7일 이후 급격히 증가하였고, 배양 20일 후에 최대값을 보이다가 그 이후부터는 서서히 감소하였다. 또 배양액의 pH는 배양 7일까지 다소 감소하다가 그 이후부터 배양 16일째는 증가하였으며, 다시 20일까지 감소한 후, 그 이후부터 배양 28일 까지는 일정한 값을 나타내었다.

액체배양에 의한 균사체의 생산을 위한 배양일수는 버섯의 품종에 따라 다른 것으로 알려져 있는데, Sone 등 (1985)은 영지균사체의 생산을 위해 7일간 액체배양을 하

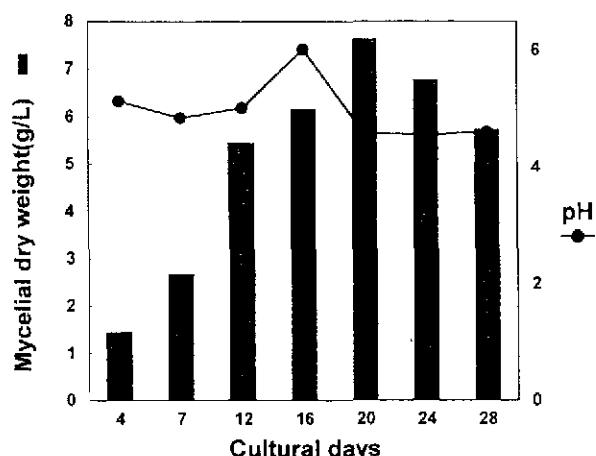


Fig. 3. Time course of the mycelial growth of *Naematoloma sublateritium*.

였고, Kosaric 등(1973)은 *Morchella*속의 균사체 배양을 위해 9일간 배양하였다고 보고한바 있다.

따라서 위의 실험 결과로부터 개암버섯 균사체 배양을 위한 액체배양의 최적일수는 20일로 하였다.

균사체 및 고분자 물질의 성분분석

개암버섯 균사체의 일반성분을 분석한 결과는 Table 4와 같다.

표에서 나타난 바와 같이 탄수화물은 55.8%를 차지하였으며, 전당의 함량이 48.7%로 매우 높았고, 조단백질 함량은 22.4%, 회분 4.7% 및 지방 4.1%이었다. 함유량이 높은 당류중, 단당류, 이당류 및 당알콜의 함량을 알아보기 위하여 HPLC를 통해 분석한 결과는 Fig. 4와 같다.

Table 4. Approximate composition of *Naematoloma sublateritium* mycelia (dry basis)

Crude protein (%)	Crude ash (%)	Crude fat (%)	Crude fiber	Carbohydrate (%) Total sugar
22.4±0.24	4.7±0.15	4.1±0.13	7.1±0.27	48.7±0.36

The data presented are the mean±standard deviation of three samples.

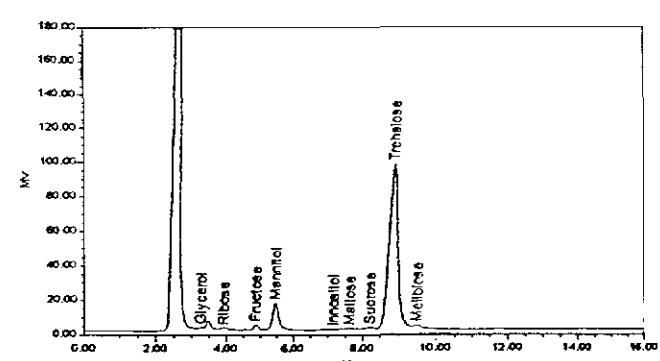


Fig. 4. Pattern of free sugar of *Naematoloma sublateritium* mycelia.

Table 5. Composition of free amino acids from the mycelia of *Naematoloma sublateritium*

Amino acid	Content ($\mu\text{mole/g}$ dry weight)
Aspartic acid	2.7
Glutamic acid	2.3
Serine	2.9
Glycine	0.4
Histamine	0.8
Threonine	0.2
Alanine	4.0
Proline	0.2
Phenylalanine	6.9
Lysine	3.7

균사체에는 여러 가지의 당성분이 함유되어 있었으며, 그중에서도 이당류인 trehalose의 함량이 가장 높았으며, 당알콜인 mannositol도 비교적 많이 함유되어 있었다. Crisan과 Sands(1978)는 버섯의 탄수화물에는 펜토스, 헥소스, 아미노당 및 당알콜 등이 함유되어 있다고 보고한 바 있다.

한편, 유리아미노산을 분석하기 위하여 phenylisothiocyanate(PITC)로 유도한 다음, 얻어진 아미노산 유도체를 분석한 결과는 Table 5와 같다.

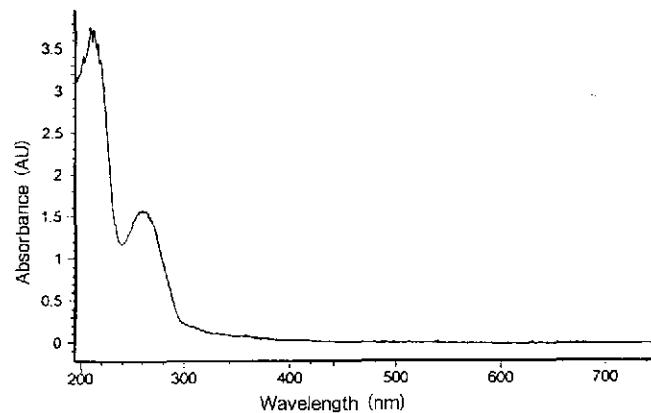
개암버섯 균사체에는 총 10종의 아미노산이 함유되어 있었으며, 그중에서도 필수 아미노산으로 알려진 phenylalanine의 함량이 가장 높았고, alanine 및 lysine도 비교적 많이 함유되어 있었다. 일반적으로 버섯 자실체에는 필수 아미노산이 함유되어 있으며, 그중에서도 필수 아미노산인 lysine의 함량이 가장 높고, tryptophan과 methionine이 낮은 것으로 알려져 있다(Chang and Miles, 1989).

유리지방산 조성을 GC로 분석한 결과는 Table 6과 같다. 총 8종(포화지방산 5종, 불포화지방산 3종)의 유리 지방산이 검출되었으며, 그 중에서도 기능성 식품의 소재로 잘 알려져 있는 불포화지방산인 linoleic acid(C18 : 2)가 68.2%로 가장 많이 함유되어 있었고, 포화지방산인 palmitic acid(C16 : 0)도 18.7%로 비교적 많이 함유되어 있었다.

대개 버섯자실체의 지방산 함량중에는 linoleic acid가 월등하게 많은데, 표고 76%, 양송이 69% 및 풀버섯 70% 정도로 보고되고 있다(Chang and Miles, 1989).

한편, 균사체 추출 고분자 물질의 UV/vis scanning한 결과는 Fig. 5와 같다.

그림에서 보는 바와 같이 260~280 nm 사이에서 큰 peak를 나타내어, 아미노산이나 단백질 및 핵산 등 함질소화합물이 함유되어 있음을 알 수 있었다. 또 추출고분자의 정성분석의 일환으로 발색반응을 검토한 결과는 Table 7과

**Fig. 5.** Chromatogram of UV/vis scanning on the mycelial biopolymer extracts of *Naematoloma sublateritium*.**Table 7.** Color reaction on the mycelial biopolymer extracts of *Naematoloma sublateritium*

Reaction	Mycelial extracts	
	Non-hydrolysate	Hydrolysate ^a
Dinitrosalicylic acid	+	+
Fehling	+	+
Carbazole-sulfuric acid	-	-
Ninhydrin	+	+
Biuret	+	+
Elson-morgan	-	+

^aHydrolysis with 1 M-HCl solution at 95~100°C oil bath for 24 hrs.

같다.

가수분해물 및 비가수분해물 모두 DNS법과 Fehling 반응에서 양성으로 나타나서 환원당이 함유되어 있으나 carbazole-sulfuric acid 반응에서는 음성을 나타내어 uronic acid는 없는 것을 알 수 있었다. Ninhydrin 반응 및 Biuret 반응에서 모두 양성을 나타내어 고분자시료에 단백질과 아미노산이 함유된 것으로 예측되었으며, Elson-Morgan 반응 결과, 비가수분해물에는 음성이었고, 가수분해물에는 양성을 나타내어 아미노당이 다량 함유된 단백다당 혹은 당단백질로 예측되었다.

일반적으로 버섯류의 생물활성중, 항암효과를 나타내는 성분은 주로 다당류이며, 그중에서도 β -glucan(Mizuno 등, 1982)이 가장 잘 알려져 있고, 그밖에도 표고버섯 유래의 lentinan이나 구름버섯 균사체 추출물인 krestin(PSK) 등을 들수 있는데, 이 들은 단백질이나 펩타이드가 당류에 결합된 protein-bounded polysaccharide(Fukushima, 1989)로 알려져 있다.

한편, 개암버섯 균사체로부터 추출한 고분자 시료를 분획·정제하기 위하여 Sepharose CL-4B를 이용한 컬럼 크로마토그래피를 행한 결과는 Fig. 6과 같다.

Void volume이 약 75 ml 정도이었으며, 고분자 시료는 void volume근처의 분획에서부터 당성분이 검출되어 분자량이 큰 고분자의 다당류가 존재함을 알 수 있었고, 38번

Table 6. Fatty acid compositions of *Naematoloma sublateritium* mycelia

Molar ratio of fatty acid methyl esters (%)								
C14:0	C15:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C24:0	C24:1	
0.4	2.9	18.7	3.2	3.9	68.2	1.5	1.3	

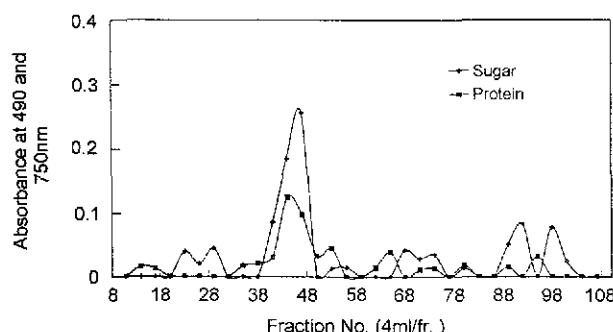


Fig. 6. Gel permeation chromatography of the mycelial biopolymer extracts from *Naematoloma sublateritium* using the Sepharose CL-4B.

부터 48번 분획까지 가장 큰 당 및 단백질 peak가 동시에 검출되어, 이 분획은 고분자 단백다당(protein-bounded polysaccharide)일 가능성이 매우 높은 것으로 판단되었다.

적  요

본 연구는 개암버섯의 연구에 대한 기초자료를 마련하고자 개암버섯 균사체의 액체배양 조건과 성분을 분석하였다. 액체배양시 개암버섯 균사체의 생육최적 온도, pH 및 교반속도는 각각 25°C, pH 5.5 및 150 rpm이었으며, 배양기간은 20일이 좋았다. 균사체의 일반성분은 탄수화물 55.8%, 조단백질 22.4%, 지방, 화분이 각각 4.1%, 4.7%였고, 전당합량이 48.7%였다. 균사체의 유리아미노산 함량은 phenylalanine, alanine 및 lysine이 많이 함유되어 있었고, 유리지방산으로는 linoleic acid와 palmitic acid가 많았다. 균사체 고분자 추출물을 발색반응과 Sepharose CL-4B를 이용한 겔크로마토그라피에 의해 정제한 결과, 주분획은 단백다당으로 판단되었다.

참고문헌

大森清水. 1982. 느타리버섯재배. 농산어촌문화협회. 동경.
今關六也, 大谷吉雄, 本郷次雄. 1989. 日本のきのこ. 山と渓谷社.

- 강태수. 1995. 영지균사체의 액체배양에 의한 세포외 생물고분자의 생산에 관한 연구. 강원대학교 박사학위논문.
- 水野卓, 川合正允. 1991. きのこの化學・生化學. 學會出版センター. 東京.
- A.O.A.C. 1983. Official method of analysis. Association of official analytical chemist. Washington, D.C.
- Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989. Edible mushroom and their cultivation. pp. 29-31. CRC Press. Florida.
- Crisan, E. V. and Sands, A. 1978. Nutritional value in the biology and cultivation of edible mushroom. p. 137. Academic press. New York.
- Fukushima, M. 1989. The overdose of drugs in Japan. *Nature*. **342**: 850-851.
- Gentao, L., Tiantong, B., Xinyi, N., Shuzhen, L. and Zhenyu, S. 1979. Some pharmacological actions of the spores of *Ganoderma lucidum* and the mycelium of *Ganoderma capense* (LLOYD) Teng cultivated by submerged fermentation. *Chinese Medical Journal*. **92**: 496.
- Humfeld, H. 1948. The production of mushroom mycelium (*Agaricus campestris*) in submerged culture. *Science*. **107**: 373.
- Kosaric, N., Ledue, A. and Zajic, J. E. 1973. Submerged culture growth of edible mushrooms on waste sulphite liquors. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*. **51**: 186.
- Mizuno, T., Ushiyama, M., Usui, T., Arakawa, M., Shinkai, K. and Shimizu, M. 1982. Studies on the host-mediated antitumor polysaccharide. Part VI. Fractionation, isolation and characterization of antitumor active β -D-glucan from mycelial cells of *Ganoderma applanatum*. *Bull. Fac. Agr. Shizuoka Univ.* **32**: 42-57.
- Natarajan, K. and Raman, N. 1980. In vitro production of fruit bodies in *Lentinus cladopus* in liquid culture. *Indian Journal of Exp. Biology*. **18**: 545.
- Sone, Y., Okuda, R., Wada, A., Kishida, A. and Misaki, A. 1985. Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing culture of mycelium of *Ganoderma lucidum*. *Agricultural Biological Chemistry*. **49**: 2642-2650.
- Song, C. H. and Cho, K. Y. 1987. A synthetic medium for the production of submerged culture of *Lentinus edodes*. *Mycologia*. **79**: 866-871.