

Hericium erinaceum 액체배양의 최적화

¹정재현 · 이근억 · †이신영
강원대학교 생물공학과, ¹충주대학교 식품공학과
(접수 : 2005. 8. 5., 게재승인 : 2005. 10. 20.)

Optimization of Submerged Cultivation of *Hericium erinaceum*

Jae-Hyun Jung¹, Keun-Eok Lee and Shin-Young Lee†

Department of Biotechnology and Engineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

¹Department of Food Science and Technology, Chungju National University, Chungju 380-702, Korea

(Received : 2005. 8. 5., Accepted : 2005. 10. 20.)

Recently, it has been known that *Hericium erinaceum* is a one of the very useful functional materials with great attention in mushroom processing industry. In present study, a liquid culture which was not studied systematically until now, was conducted as a method of cultivation for *H. erinaceum*, and also examined the characteristics of the liquid culture and conditions of process optimization. A good basal medium was selected through the cultivation of 16 species mushroom media and the optimum condition for medium and cultivation were chosen by response surface method. From these results, the optimum condition of medium for mushroom was 3% glucose, 0.2% yeast extract/peptone (1 : 1) and 0.1% KH₂PO₄/MgSO₄ (1 : 1) and also the optimal culture condition was obtained at inoculum of 13.42%, temperature of 22.3°C and pH of 5.7. The mycelial dry weight of 9 g/l was obtained under these conditions and this amount was about 1.7 times higher than that which were cultivated in basal medium for 8 days.

Key Words : *Hericium erinaceum*, mycelium, submerged culture, response surface analysis, optimization

서론

노루궁뎅이 버섯 (*Hericium erinaceum* (Bull.ex.Fr) Pers.)은 담자균류, 민주름버섯목 (Aphyllorphorales), 턱수염버섯과 (Hydnaceae), 산호침버섯속 (*Hericium*)으로 분류되는 버섯으로, 현재 산업적으로 매우 주목되고 있는 기능성 버섯 중의 하나이다(1, 2).

지금까지의 연구에 의하면 노루궁뎅이 버섯은 각종의 영양성분을 풍부하게 함유하며, Hella cell 증식저해물질, 신경성장인자 (nerve growth factor: NGF) 합성유도촉진 물질, 면역기능조질 성분 (BRM 효과), 항종양 다당류, lectin, 식이섬유 (β -glucan, chitin질, hetero 다당) 등의 약리활성 성분이 있으며, 이들에 의해 대응하는 각종의 생리활성이 보고되고 있다(3, 4).

*H. erinaceum*의 재배기술은 1981년도 Liu(5)에 의해 개발

되어 고체배양에 의한 인공재배가 가능해졌지만 아직도 산업적 생산체제는 매우 미미한 실정이다. 이는 고체배양에 의한 자실체 생산에는 광선, 온도, 습도의 제어를 필요로 하며, 또 유효성분의 추출수율도 낮기 때문이다. 따라서 최근에는 자실체보다 배양이 용이한 자실체 발생이전의 단계인 균사체의 액체 배양에 의한 생리활성의 물질 생산이 널리 시도되고 있으며, 특히, 자실체 형성을 필요로 하지 않는 용도이면 산업적으로 매우 유리한 장점을 갖는 것으로 보고되고 있다(6).

이들 액체배양은 주로 자실체 및 종균생산을 위한 액체 종균 생산이나 식품 또는 의약품 원료 생산의 균사체 또는 세포의 대사산물 생산을 위해 이용되는데, 1948년 미국에서 Humfeld(7)가 *Agaricus campestris*에 대해 최초로 시도한 이래, 지금까지 60종 이상의 식용버섯에 대해 액체배양이 검토되었다.

*H. erinaceum*의 액체배양에 관해서도 그동안 몇몇 종 배지를 사용하여 *H. erinaceum*의 균사체를 생산한 Grigansky 등(8) 및 Lomberh 등(9)의 연구가 있다. 국내의 경우도 *H. erinaceum*의 균사체 생산을 위한 기초연구로서 이루어진 Baek(10)의 연구 및 Cho(11)의 식품부산물물을 이용한 노루궁뎅이 버섯 균사체의 액체배양 연구가 보고되고 있다. 하

† Corresponding Author : Department of Biotechnology and Engineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Tel : +82-33-250-6273, Fax : +82-33-243-6350

E-mail: sylee@kangwon.ac.kr

Table 1. The Composition of culture media used for mycelial growth of *Hericium erinacem*

(Unit: g/L)

Ingredient	Media ^{a)}															
	MCM	MYP	PD	ME	YM	YMPG	YMG	PYG	GP	GPY	GCM	CVM	MYG	CCM	MYM	PCM
Potato			250.0													
K ₂ HPO ₄	1.0								10		0.46	0.46		0.46		
KH ₂ PO ₄	0.46					2.0					1	1		1		
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5					1.0			0.7	0.5	0.5	0.5		0.5		1.93
Fe ₂ SO ₄ · 7H ₂ O																
Glucose	20.0		20.0		10.0	10.0	4.0	14	30	20	30	20	10	40	10	43.81
Sucrose											20					
Thiamine- HCl						1.0 ³										
DL-Asparagine						1.0										
Casamino acid											5					
Peptone	2.0	1.0		5.0	5.0	2.0		1.25	3	2	4	4		5	5	6.63
Malt extract		30.0		20.0	3.0	10.0	10.0						3		3	
Yeast extract	2.0	2.0			3.0	2.0	4.0	1.25	2	10		6	4	5		
Beef extract																6.63

^{a)} MCM : Mushroom complete media
 MYP : Malt extract-yeast extract-peptone
 PD : Potato dextrose
 ME : Malt extract
 YM : Yeast extract-malt extract
 YMPG: Yeast extract-malt extract-peptone-glucose
 YMG : Yeast extract-malt extract-glucose
 PYG : Peptone-glucose-yeast extract

GP : Glucose-peptone
 GPY : Glucose-peptone-yeast extract
 GCM : Ganoderma complete media
 CVM : Coriolus versicolor media
 MYG : Glucose-Malt extract-Yeast extract
 CCM : Coriolus complete media
 PCM : Phellinus complete media
 MYM : Malt extract-yeast extract-glucose

지만 플라스크 배양 수준에서 이루어진 이들 연구의 결과는 균사체의 생산 수율이 낮고 (2.7-9.2 g/L), 배양기간이 길어(~10 day) 균사체 생산 수율의 향상을 위한 배지나 배양의 최적화 필요성이 매우 높음을 보였다. 특히 다른 버섯류에 비해 매우 제한되어 있어 액체배양에 대한 보다 체계적인 연구검토의 필요성은 충분하다.

그러므로 본 연구에서는 식용은 물론 각종 약리효과를 나타내는 *H. erinaceum*의 기능성 식품의 제품화 연구 일환으로, 지금까지 체계적으로 연구된 바 없는 *H. erinaceum*의 액체배양을 시도하고, 이 버섯의 액체배양을 위한 최적화를 반응표면분석법으로 수행하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지

공시 균주는 본 연구실에 보관 중인 노루궁뎅이 버섯 (*Hericium erinaceum*)이며, PDA (Potato-Dextrose Agar) 배지에 사면배양하여 보존하였고, 8주마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 액체배양은 16종 배지를 사용하였으며 (Table 1), 이 때 pH는 필요시 0.1 N HCl 또는 0.1 N NaOH로 조절하였다.

배양방법

PDA (potato dextrose agar) 평판배지에서 생육한 균사체를 직경 5mm의 stainless steel pipe에 의해 mycelium disk를 얻은 다음 이 disk 4~5개를 20 mL의 배지를 넣은 100 mL 삼각플라스크에 접종하였다. 25℃에서 100 rpm으로 7일간 배양하여 종균배양액으로 하였고, 이를 다시 50 mL의 각 배지를 함유한 250 mL 플라스크에 5% (v/v) 접종하고, 온

도 25℃, 진탕속도 100 rpm으로 10일간 회전 진탕배양하였다.

반응표면 분석

H. erinaceum 액체배양의 최적 배지조성의 최적화는 균사생육의 주 요인인 탄소원 (0~40 g/L), 질소원 (1.0~3.0 g/L), 무기질원 (0.8~2.2 g/L)을 독립변수로 하고 균사생육을 종속변수로 하여 Table 2와 같이 16개의 처리조합으로 이루어진 중심합성계획법(12)에 따라 실험한 다음, 반응표면분석 (response surface analysis)하여 실시하였다. 이 때, 액체 배양의 균사 생육은 원심분리 (8000 rpm, 15min)후, 70℃에서 12시간 건조하여 건조 균체량으로 측정하였다 (13, 14).

모든 자료는 SAS (statistical analysis system)를 응용하여 컴퓨터로 분석, 처리하였으며(15), 반응 표면 모형은 다음 식 (1)의 2차 다항 회귀모형을 적용하였다.

$$Y(I) = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i < j}^k \beta_{ij} X_i X_j \tag{1}$$

여기서 *k*는 독립변수의 수, *X*는 독립변수, *Y(I)*는 종속변수이며, β_0 , β_i 및 β_{ij} 는 각각 중심점에서의 회귀계수, 선형 계수 및 2차 interaction 계수이다.

본 실험의 경우는 3개의 독립변수를 사용하였으므로, *k* 값은 3이며, *X*₁, *X*₂ 및 *X*₃는 각각 탄소원, 질소원 및 무기질원의 농도를 나타낸다. 또, 각 독립변수의 수준은 5로 하였고, 계산의 편의를 위하여 -2~+2 범위의 code value를 갖도록 다음, 식(2)-(4)를 이용하여 선형화하였다.

$$X_1 \text{ code} = (X_1 - 20)/10 \tag{2}$$

$$X_2 \text{ code} = (X_2 - 2.0)/0.5 \quad (3)$$

$$X_3 \text{ code} = (X_3 - 1.4)/0.4 \quad (4)$$

정상점 (stationary point)은 2차 회귀에 의해 산출한 상수 값 (β)을 대입하여 얻은 반응식을 미분하여 얻었다.

한편, 액체배양의 배양조건 최적화도 배지조성과 마찬가지로의 방법으로 실시하였다. 즉, 버섯의 균사 생육에 큰 영

향을 미치는 인자인 pH, 온도 (°C) 및 접종비 (%)를 독립 변수로 하고, 균사 생육량을 종속변수로 하였으며, 실험조건은 -2~+2의 5 수준으로 하였다(Table 3).

반응표면의 contour map (등고선도) 및 2차 다항 회귀모형의 회귀분석은 SAS program(15)을 사용하였다.

통계분석

각 실험 자료는 평균, 표준편차를 구하고, ANOVA

Table 2. Variables and their levels of central composite design for medium composition

Variables	Levels				
	-2	-1	0	1	2
Carbon source (X1) glucose (g/l)	0	10	20	30	40
Nitrogen source (X2) Yeast extract : Peptone = 1 : 1 (g/l)	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Mineral source (X3) KH ₂ PO ₄ + K ₂ HPO ₄ (g/l)	0.6	1.0	1.4	1.8	2.2

EXP. NO.	Coded value			Experimental value(g/l)		
	X1	X2	X3	X1	X2	X3
1	-1	-1	-1	10	1.5	1
2	1	-1	-1	30	1.5	1
3	-1	1	-1	10	2.5	1
4	-1	-1	1	10	1.5	1.8
5	1	1	-1	30	2.5	1
6	1	-1	1	30	1.5	1.8
7	-1	1	1	10	2.5	1.8
8	1	1	1	30	2.5	1.8
9	2	0	0	40	2	1.4
10	-2	0	0	0	2	1.4
11	0	2	0	20	3	1.4
12	0	-2	0	20	1	1.4
13	0	0	2	20	2	2.2
14	0	0	-2	20	2	0.6
15	0	0	0	20	2	1.4
16	0	0	0	20	2	1.4

Table 3. Variables and their levels of central composite design for culture condition

Variables	Levels				
	-2	-1	0	1	2
pH (X1)	2.5	4	5.5	7	8.5
Temp. (°C) (X2)	15	20	25	30	35
Inoculum size (%) (X3)	2.5	5.0	7.5	10	12.5

EXP. NO.	Coded value			Experimental value		
	X1	X2	X3	X1	X2	X3
1	-1	-1	-1	4	20	5.0
2	1	-1	-1	7	20	5.0
3	-1	1	-1	4	30	5.0
4	-1	-1	1	4	20	10
5	1	1	-1	7	30	5.0
6	1	-1	1	7	20	10
7	-1	1	1	4	30	10
8	1	1	1	7	30	10
9	2	0	0	8.5	25	7.5
10	-2	0	0	2.5	25	7.5
11	0	2	0	5.5	35	7.5
12	0	-2	0	5.5	15	7.5
13	0	0	2	5.5	25	12.5
14	0	0	-2	5.5	25	2.5
15	0	0	0	5.5	25	7.5
16	0	0	0	5.5	25	7.5

(analysis of variance)로 유의적인 차이를 검정하였고, 처리 전후의 각 군간의 비교는 Student's t-test를 이용하였다. 모든 통계처리는 SAS를 이용하였으며, 유의수준은 $p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$ 로 하였다.

결과 및 고찰

생육 기본 배지의 선정

*H. erinaceum*의 액체배양을 위한 적정 배지의 선발을 목적으로 버섯의 생육배지로 널리 쓰이는 16종의 액체배지 (Table 1)를 사용하여 플라스크 배양하면서 균사 생육을 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 1과 같다.

*H. erinaceum*의 생육은 GPY나 GCM 배지에서는 거의 생육이 없었으나 나머지 배지에서의 생육은 배지종에 크게 의존하여 배양경과에 따라 서서히 생육하고 배양 6-10일 후 최대값을 보였다. Mushroom complete medium으로 알려진 MCM에서 가장 높은 균사체량의 생성을 나타내었고, 다음으로 YMPG > GP 등의 순으로 높은 균사체량을 보였다. 하지만 균사생육이 가장 우수하였던 배지에서도 최대 균사체량은 5.35 g/L에 불과하여 균사체량이 낮았다. 특히, 최대 균사체량에 도달하는 배양기간이 6~10일로 길어서 다른 버섯과 비교하면 비교적 균사생육이 저조하였다. 따라서 배지조성의 검토 필요성이 높았다.

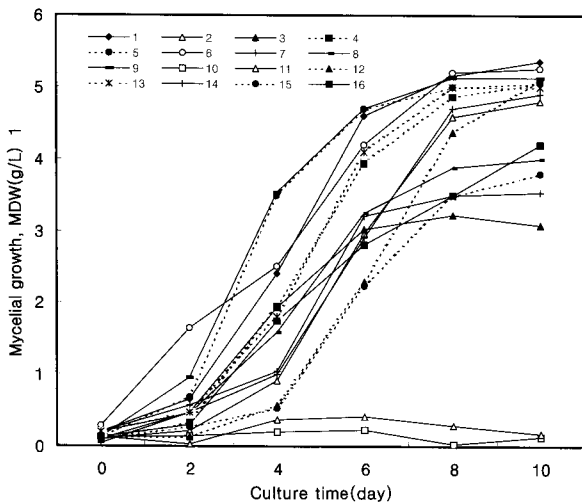


Figure 1. Time course of mycelial growth of *Hericium erinaceum* in different liquid media.

최적 배지 조성의 검토

비교적 우수한 생육을 보인 기본 배지들의 성분을 보면 탄소원으로는 glucose, 질소원으로는 yeast extract와 peptone, 그리고 무기원으로는 KH_2PO_4 와 MgSO_4 이었다. 따라서 이들 탄소원 (X_1), 질소원 (X_2), 무기질원 (X_3)을 독립변수로 하고, 균사생육을 종속변수로 하여 3변수, 5 수준 (-2~+2)의 중심합성법에 의한 최적화 실험을 실시하였다. 그 결과는 Table 4에서 보는 바와 같이, 16개 처리조합에 따라 2.88~7.38 g/L의 균사생육을 보였다.

독립변수의 입력 자료와 추정값을 이용하여 회귀분석한 결과, Table 5에서와 같이, 정상점은 탄소원 농도 22.28 g/L, 질소원 농도 2.36 g/L 및 무기질원 농도 1.35 g/L에서 얻어졌으며, 이 때 균사량의 추정값은 7.72 g/L이었다.

Table 6은 종속 변수와 독립 변수들의 다중 상관 계수와 잔차를 요인으로 하여 이 식의 종속변수 변량에 대한 독립변수의 영향을 검토한 분산분석 (ANOVA)의 결과이다. 다중상관계수 (regression coefficient)의 제곱합은 32.78, 잔차 (residue)의 제곱합은 0.09이었고, 회귀계수는 0.9987이었으며, 유의수준을 검정하는 F-값도 매우 양호한 값 ($p > 0.99$)을 나타내어 종속변수와 독립변수의 상관관계가 뛰어난 것을 알 수 있었다. 실제 다중 회귀분석으로 얻은 정상점의 결과를 이용하여 배양한 결과, 균사체의 양은 약 7.6 g/L로 추정값과 잘 일치하는 값 범위이었다.

Table 4. Experimental results of various energy sources by central composite design

Exp. No.	X1 Carbon source (g/L)	X2 Nitrogen source (g/L)	X3 Mineral source (g/L)	Y MDW (g/L) ^{a)}
1	10	1.5	1	5.21
2	30	1.5	1	4.44
3	10	2.5	1	6.63
4	10	1.5	1.8	3.44
5	30	2.5	1	6.56
6	30	1.5	1.8	3.93
7	10	2.5	1.8	5.32
8	30	2.5	1.8	6.70
9	40	2.0	1.4	5.65
10	0	2.0	1.4	5.15
11	20	3.0	1.4	6.45
12	20	1.0	1.4	2.88
13	20	2.0	2.2	3.05
14	20	2.0	0.6	4.65
15	20	2.0	1.4	7.38
16	20	2.0	1.4	7.38

^{a)} Mycelial dry weight

Table 5. Values of regression coefficients for medium composition

Regression coeff.	Std. Err.	T-value	Stationary Points
Beta0	7.358	0.079	93.21 **
Beta1	0.127	0.030	4.253 ** X01 0.228 22.28
Beta2	0.958	0.030	32.115 ** X02 0.725 2.36
Beta3	-0.416	0.030	-13.931 X03 -0.135 1.35
Beta11	-0.495	0.030	-16.592
Beta12	0.199	0.042	4.711 **
Beta13	0.339	0.042	8.029 **
Beta22	-0.679	0.030	-22.751
Beta23	0.139	0.042	3.289 **
Beat33	-0.882	0.030	-29.58

Expected Y Value = 7.72

Table 6. ANOVA table for medium composition

Factor	Deg. Free.	Square Sum	Square Mean	Fo
Regression	9	32.78	3.642	255.73 **
Error	6	0.09	0.014	
Total	15	32.86		

$R^2 = 0.9974$
 $R = 0.9987$

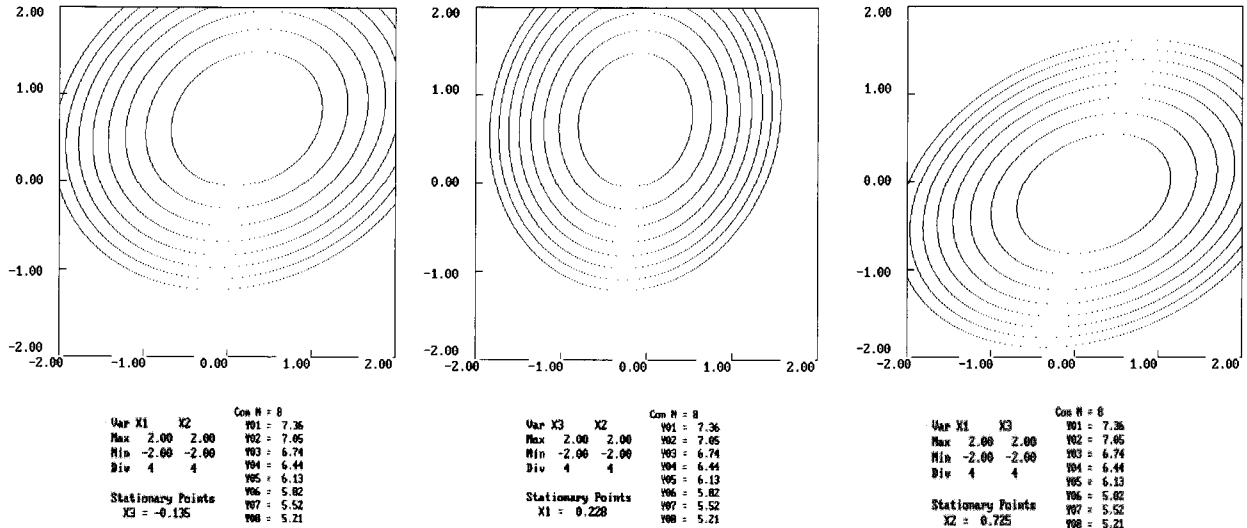


Figure 2. Contour plot of carbon source (X1), nitrogen source (X2) and mineral source (X3) for mycelial growth.

한편, 균사체 생산에 미치는 각 요인들 사이의 상호 작용을 알아보기 위해 등고선 그림으로 나타낸 결과는 Fig. 2와 같다.

탄소원 (X₁)과 질소원 (X₂)의 변화에 따른 균사체 생성량을 보면, 정상점 부근에서는 비교적 안정하며, 정상점에서 최대값을 나타내어 이로부터 멀어질수록 균사체량도 급격히 감소하였고 따라서 균사생육은 탄소원 (X₁)보다는 질소원 (X₂)에 더 민감함을 보였다. 또, 질소원 (X₂)과 무기질원 (X₃) 간의 상호작용을 보면, 무기질원 (X₃)보다는 질소원 (X₂)이 균사체 생육에 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 아울러 탄소원 (X₁)과 무기질원 (X₃)에 따른 균사체 생육의 변화 양상도 탄소원보다는 무기질소원에 더 민감한 영향을 나타내었다.

그러므로 균사체 생육은 질소원 (X₂)과 무기질원 (X₃)의 변화에 큰 영향을 받았으며, 탄소원의 변화에는 크게 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 이들 요인들에 의한 균사체 생육의 영향을 고려할 때, 플라스크 배양에서의 최적 균사체 생육에 대한 반응표면 회귀식은 다음 식의 형태로 표현할 수 있었다.

$$Y = 7.358^{**} + 0.127X_1^{**} + 0.958X_2^{**} - 0.416X_3 - 0.495X_1^2 + 0.199X_1X_2^{**} + 0.339X_1X_3^{**} - 0.679X_2^2 + 0.139X_2X_3^{**} - 0.416X_3^2 \quad (P < 0.01, R^2 = 0.9987)$$

이 때 회귀식 중의 * 및 **는 독립변수의 회귀계수가 각각 $p > 0.95$ 및 $p > 0.99$ 에서 유의성이 있음을 나타낸다.

최적 배양조건의 검토

예비실험 결과, pH, 온도 및 접종량은 *H. erinaceum* 액체 배양 조건의 주요 인자이었으므로 앞서 구한 최적배지의 조성하에서 다시 이들 3개 변수를 독립변수로 하여 중심 합성법으로 실험하고 반응표면분석하였다.

Table 7은 pH, 온도 및 접종비가 서로 다른 16개 처리조합에 따른 균사 생육의 실험 결과로, 처리조합에 따라 0.04 g/L에서 7.35 g/L의 매우 광범위한 값을 나타내었다.

분산분석 결과, 자료로 나타내지는 않았으나 R²은 0.92이상이었고, 전체 모형에 대한 유의수준은 0.05보다 작아서 5%이내의 수준에서 유의성이 있었다. 또, 역시 자료화하지는 않았으나 회귀분석 한 결과, 최적 배양조건은 22.28℃, pH 5.67, 접종량 13.42%이었으며, 균사체량의 추정값은 8.95g/L이었다. 또 이들 값으로 실험한 결과, 균사생육의 실험값과 추정값은 비교적 잘 일치하였다.

Table 7. Experimental results of culture conditions by central composite design

Exp. No.	X1 pH	X2 Temp. (°C)	X3 Inoculum size (%)	Y MDW (g/L) ^{a)}
1	4.0	20	5	6.98
2	7.0	20	5	6.57
3	4.0	30	5	3.19
4	4.0	20	10	7.39
5	7.0	30	5	5.14
6	7.0	20	10	7.24
7	4.0	30	10	4.66
8	7.0	30	10	5.48
9	8.5	25	7.5	4.99
10	2.5	25	7.5	0.04
11	5.5	35	7.5	0.38
12	5.5	15	7.5	6.32
13	5.5	25	12.5	7.51
14	5.5	25	2.5	6.85
15	5.5	25	7.5	7.35
16	5.5	25	7.5	7.35

^{a)} Mycelial dry weight

한편, 이들 반응변수 값의 등고선도를 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. Fig. 3A를 보면, 균사 생육은 균사체 생산량은 pH (X₁)보다는 온도 (X₂)에 더 민감함을 보였다. 정상점 부근에서는 비교적 안정하였으며, 정상점에서 최대값을 나타내어 이로부터 멀어질 수록 균사생육도 서서히 감소하였다. Fig. 3B는 접종비 (X₃)와 온도 (X₂)에 따른 균사생육의 변화 양상으로 역시 온도의 영향이 매우 큼을 보였다. 또, 일정 온도에서 pH (X₁)와 접종비 (X₃) 간의 상호작용을

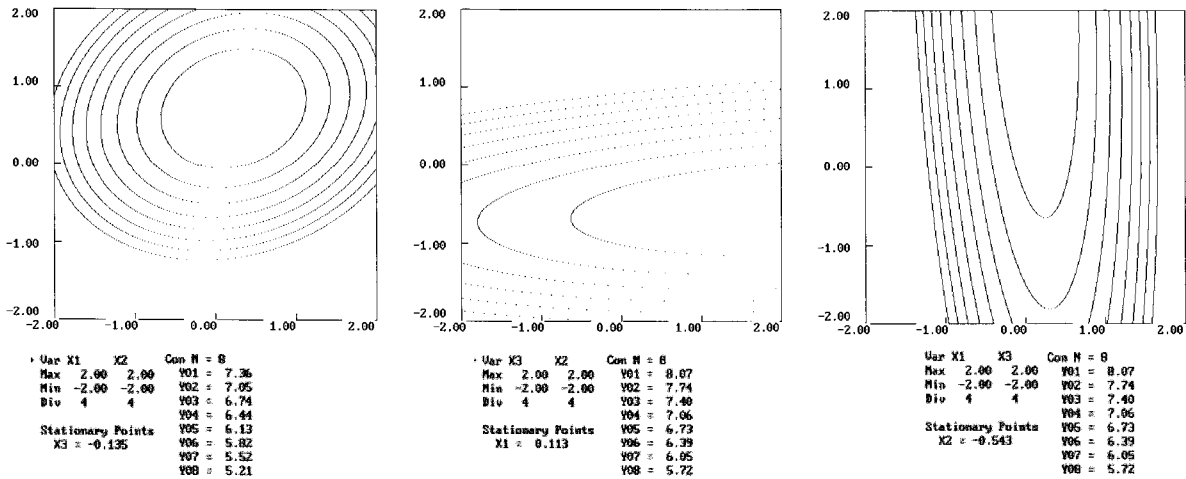


Figure 3. Contour plot of pH (X1), temperature (X2) and inoculum size (X3) for mycelial growth.

나타낸 Fig. 3C를 살펴보면, pH (X2)가 균사생육에 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

그러므로 균사생육은 온도 (X2)와 pH (X1)의 변화에 큰 영향을 받았으며, 접종비의 영향은 보다 적음을 알 수 있었다. 이들 요인들에 의한 균사생육의 영향을 고려할 때, 플라스크 배양에서의 최적 균사생육은 다음 식의 형태로 표현할 수 있었다.

$$Y = 7.716^{**} + 0.757X_1^* - 1.349X_2 + 0.263X_3 - 1.209X_1^2 + 0.416X_1X_2 - 0.109X_1X_3 - 1.000X_2^2 + 0.091X_2X_3 - 0.042X_3^2 \quad (P < 0.01, R^2 = 0.9987)$$

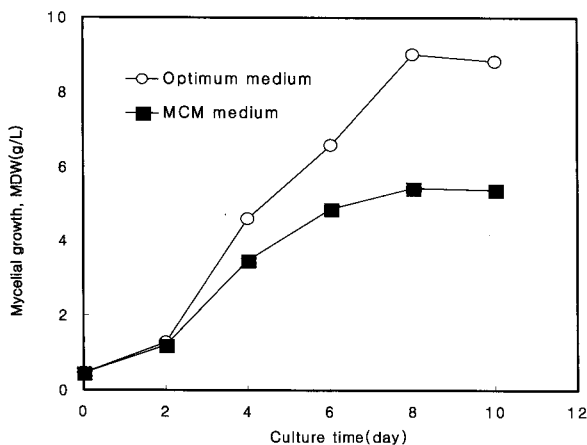


Figure 4. Comparison of time course of mycelial growth of *H. erinaceum* from basal medium (MCM) and optimum medium.

기본배지와 최적배지의 비교

이상에서 구한 최적 배지를 사용한 최적 배양조건하의 균사 생육과 MCM 기본배지하의 균사생육을 10일간 배양 하면서 비교한 결과는 Fig. 4와 같다.

두 경우 모두 배양 8일 후 최대 생육을 보였으며, 이후 이 수준을 유지하였다. 그러나 기본배지에서의 균사체량은 배양 8일 후 약 5.40 g/L이었으나 최적배지 하에서는 약 9 g/L로 1.7배 향상된 결과를 보였다.

이러한 결과는 최근 Lomberh 등(8)이 약용버섯의 액체배양 연구에서 3종의 *H. erinaceum* 및 4종의 배지로부터 배양 하여 얻은 최대값 9.2 g/L와 비슷한 값 범위이었다. 그러나 Lomberh 등(8)의 결과는 10일간 배양한 결과로 본 연구에서는 2일간의 배양 단축 효과가 있었다. 또 Lomberh 등(8)의 배지조성과는 CaCl₂·2H₂O, corn steep liquor, trace element solution 등을 포함하지 않고 매우 단순한 특징을 갖는다.

이와 같이 본 실험의 최대 균사체량은 보고된 결과보다는 다소 증가하였다고 볼 수 있으나 다른 버섯과 비교하면 균사체량이 낮고 또 배양기간도 길어 비교적 느리게 생육함을 관찰할 수 있었다. 따라서 보다 높은 생산성의 향상을 위해서는 균사체량의 증가와 더불어 이에 도달하는 기간을 더욱 단축시킬 수 있는 새로운 형태의 fermenter를 설계 고안하고, 새로운 배양 system을 적용하는 추가 연구의 필요성이 높은 것으로 판단되었다.

요 약

*H. erinaceum*은 식용은 물론 각종 약리효과를 나타내어 현재 산업적으로 매우 주목되고 있는 기능성 소재들 중의 하나이다. 본 연구에서는 *H. erinaceum*의 기능성 소재화 연구의 일환으로, 지금까지 체계적으로 연구된 바 없는 *H. erinaceum*의 액체배양을 시도하고, 이 버섯 액체배양의 최적화를 수행하였다. 16종 버섯 배지의 플라스크 배양을 통해 우수 기본 배지를 선발하였고, 이의 반응표면분석에 의해 배지 및 배양조건 최적화를 수행한 결과, 최적 배지 조성은 glucose 3%, yeast extract/peptone (1 : 1) 0.2%, KH₂PO₄/MgSO₄ 0.1% (1 : 1) 0.2%이었으며, 최적 배양조건은 22.28℃, pH 5.67, 접종량 13.42%에서 얻어졌다. 이러한 최적 배지 및 배양조건하에서 얻어진 균사체량은 약 9 g/L이었으며, 이는 기본배지에서 배양 8일 후 얻어진 최대값인 5.40 g/L에 비하면 약 1.7배 향상된 결과이었다. 하지만 *H. erinaceum*의 액체배양시 낮은 균체량과 비교적 느린 생육이 관찰되어 보다 높은 생산성의 향상을 위해서는 이에

적합한 새로운 형태의 fermenter의 선정 및 새로운 배양 system의 적용이 필요한 것으로 나타났다.

REFERENCES

1. Stamets, P.(1993), Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms, p387, Ten Speed Press, Berkeley, CA.
2. Ahn, D. K. (1992), Medicinal fungi in Korea, *Kor. J. Mycol.* **20**, 154-165.
3. Mizuno, T. (1995), Yamabushitake, *Hericium erinaceum*: Bioactive substances and medicinal utilization, *Food Reviews International* **11**(1), 173-175
4. Kawagishi, H., A. Shimada, R. Shirai, K. Okamoto, F. Ojima, H. Sakamoto, Y. Ishiguro, and S. Furukawa (1994), Erinacines A, B and C, strong stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mycelia of *Hericium erinaceum*, *Tetrahedron Letter* **35**(10), 1569-1572.
5. Liu, C. Y. (1981), Technique of cultivation of monkey-head mushroom, *Edible Fungi* No. 4, 33.
6. Lee, S. Y. (1996), Characteristics and production of antitumor polysaccharides from mushroom origin in Korean, *Biotechnology News* **3**(2), 95-109.
7. Humfeld, H. (1948), The production of mushroom mycelium (*Agaricus campestris*) in submerged culture, *Science* **107**, 373-375.
8. Grigansky, A. Ph., E. F. Solomko, and B. Kirchoff (1999), Mycelial growth of medicinal mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.:Fr.) Pers. in pure culture, *International Journals of Medicinal Mushrooms* **1**(1), 81-87.
9. Lomberh, M. L., E. F. Solomko, A. S. Buchalo, and B. Kirchoff (2002), Studies of medicinal mushrooms in submerged cultures, In *Mushroom Biology and Mushroom Products*, H. P. Graciel, and A. V. Adalberto Eds.; Proceedings of the 4th International Conference of Mushroom Biology and Mushroom Products. Feb. 20-22, 2002, Hotel Villa Bejar, Cuernavaca, Mexico.
10. Baek, G. Y. (2000), Studies on the growth characteristics and functional screening of mycelia and fruiting body of *Hericium erinaceum*, MS thesis, Dept. of Food Science and Technology, Chungju National University, Chungju.
11. Cho, J. Y. (1996), Liquid cultivation of *H. erinaceum* mycelium using by food byproducts and compositions of health beverage containing the extract of this mycelium, Korean Patent Application No. 1996-07058.
12. Thompson, D. (1982), Response surface experimentation, *J. Food Processing and Preservation* **6**, 155-188.
13. Lee, S. Y. and T. S. Kang (1996), Production condition and characterization of exo-polysaccharide production produced by submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* mycelium, *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**(1), 111-118.
14. Lee, S. Y. and T. S. Kang (1997), Optimization of antitumor active exo- polysaccharide production through the submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* mycelium, *Kor. J. Biotech. Bioeng.* **12**(2), 139-145.
15. Statistical Analysis System. Property software (Release 6.03 ed.). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.