

## 교반조 발효기와 공기부양 발효기내에서의 *Phellinus linteus*의 액체배양

최근호<sup>†</sup> · 이창우

대전산업대학교 화학공학과  
(1999년 8월 30일 접수, 1999년 12월 14일 채택)

### Submerged Culture of *Phellinus linteus* in a Stirred Tank Fermenter and an Airlift Fermenter

Keun Ho Choi<sup>†</sup> and Chang Woo Lee

Department of Chemical Engineering, Taejeon National University of Technology, Taejeon 300-717, Korea  
(Received 30 August 1999; accepted 14 December 1999)

#### 요 약

본 연구에서는 *Phellinus linteus* 균사체의 대량 배양에 적합한 생물반응기의 선정과 최적 배양조건의 확립을 위하여, 연속 교반조 발효기와 공기부양 발효기에서 각각 *Phellinus linteus* 균사체를 액체 배양함으로써 두 개의 발효기의 성능을 비교하는 한편, 통기속도(1-4 L/min)와 교반기 회전속도(200-400 rpm)가 *Phellinus linteus*의 액체 배양에 미치는 영향을 연구하였다. 회분식 배양인 경우에 건조균체량과 pH 그리고 용존산소농도는 시간이 증가함에 따라서 4단계로 변화하였으나, 각 단계가 나타나는 기간들이 서로 일치하지는 않았다. 통기속도가 증가할수록 최종 건조균체량과 용존산소농도 그리고 pH 변화의 1-3단계 동안에 pH 값은 증가하였다. 포도당의 농도는 시간에 따라 감소하였으며, 통기속도와 교반기 회전속도의 포도당 농도 변화에 미치는 영향은 무시할만하였다. 최종 건조균체량은 300 rpm일 때가 최대였다. 교반기의 회전속도가 증가할수록 용존산소농도는 증가하였으며, 공기부양 발효기에서 보다 교반조 발효기에서 더 큰 건조균체량과 용존산소농도가 얻어졌다.

**Abstract** – In this study, to choose a suitable bioreactor type for the mass culture of *Phellinus linteus* mycelium, we cultured *Phellinus linteus* mycelium using a stirred tank fermenter and an airlift fermenter and compared the performances of the two fermenters. The effects of aeration rate and agitation speed on the culture of *Phellinus linteus* mycelium were also investigated in the ranges of 1-4 L/min, 200-300 rpm, respectively. For the batch submerged culture, the dry weight of mycelium, pH, and dissolved oxygen concentration changed in four steps, respectively. But the periods of same steps were not consistent with each other. With an increase in aeration rate, the final dry weight of mycelium, dissolved oxygen concentration and pH value until the third step of pH change were increased. As the time increased, the concentration of glucose decreased. However, the effects of aeration rate and agitation speed on the variation of glucose concentration were negligible. The maximum final dry weight of mycelium was obtained when agitation speed was 300 rpm. The dissolved oxygen concentration was increased with agitation speed. The dry weight of mycelium and dissolved oxygen concentration in the continuous stirred tank fermenter were larger than them those in the airlift fermenter.

Key words: *Phellinus linteus*, Culture, Mushroom, Airlift Fermenter

#### 1. 서 론

새로운 항종양성 물질(antitumor substance)의 개발이라는 측면에서 담자균류로부터 항암효력과 면역 조절 효력을 갖는 다당류(polysaccharide)를 얻기 위한 연구가 진행되어 왔다. 표고버섯(*Lentinus edodes*)과 팽이버섯(*Flamulina velutipes*) 그리고 구름버섯(*Coriolus versicolor*)을 포함하는 십여 종의 버섯이 항암효력과 면역 조절 효력을 갖는 다당류를 갖고 있으며, 그러한 버섯으로부터 얻을 수 있는 항암효력과

면역 조절 효력을 갖는 다당류 중에서도 뜨거운 물과 알코올을 사용하여 상황(*Phellinus linteus*)의 균사체로부터 추출한 다당류가 쥐에 이식한 육종(sarcoma-180)에 대해 가장 효과적임 것으로 보고되고 있다[1]. 오 등[2]은 *Phellinus linteus*의 면역 자극적인 효능은 B형 림프구(B-lymphocytes)의 기능적인 자극제와 관련이 있다고 보고하였다.

그러나, *Phellinus linteus*의 자실체는 자연적으로 구하기가 대단히 어려워서 균사체를 인공적으로 액체배양하여 항암물질을 생산하고자 하는 노력이 있어 왔다. 야마나와 홍[3, 4]은 *Phellinus linteus* 균사체의 배양에 성공하여 이에 관한 최초의 국내 특허를 1992년에 취득하였다. 특히, (주)한국신약은 1991년에 *Phellinus linteus*를 액체배양하여

<sup>†</sup>E-mail: khchoi@hyunam.tnut.ac.kr

항암효력을 갖는 다당류인 메시마엑스를 의약품으로 제조하는 허가를 획득하여 상업적으로 생산해 오고 있다.

정 등[5,6]과 유 등[7]은 *Phellinus linteus* 균사체의 액체배양과 *Phellinus linteus*로부터 항암면역 활성물질을 제조하는 것에 관한 연구를 수행하였다. 김[8]과 김[9], 이[10] 그리고 이 등[11]은 *Phellinus linteus*로부터 얻은 다당류의 항암효력과 면역활성능력에 대해 연구하였다. 한편, 오 등[2]은 뜨거운 물을 이용하여 액체배양된 균사체로부터 얻은 추출물이 자연산 버섯의 추출물과 같이 sarcoma-180과 B형 림프구에 대해 활성을 보이는 것을 확인하였다. 이 등[12]은 배지의 구성과 pH의 변화에 따라 *Phellinus linteus* 버섯의 균사체 배양으로 얻어지는 다당류의 생산량 및 단당류 구성의 변화에 대하여 연구하였다. 그들은 다당류의 생산 수율은 사용된 탄소원에 따라서 다르고, 사용된 탄소원이 달라도 균사체로부터 추출된 다당류는 모두 비슷한 단당류 조성을 갖으며, *Phellinus linteus* 균사체는  $5 \leq \text{pH} \leq 7$ 에서 잘 자란다고 보고하였다. 한편, 송 등[13]은 균사체 배양한 *Phellinus linteus*로부터 활성 다당류를 정제하는 방법을 발표하였으며, 송 등[13]과 이 등[11,14]은 *Phellinus linteus*로부터 얻어지는 다당류의 구조를 규명하려는 연구를 수행하였다.

한편, 공기부양 발효기(airlift fermenter)는 물질전달과 열전달 속도가 높고 혼합이 효과적일 뿐만 아니라 별도의 기계적 교반기를 필요로 하지 않으면서도 동력소모가 낮으며 기밀에 문제가 없으며 연속 교반조 발효기(continuous stirred tank fermenter)보다 온화한 배양조건을 제공하기 때문에 최근에 와서 획기적인 생물반응기로 각광을 받고 있다. 이러한 공기부양 발효기는 각종 발효반응, 동물세포와 식물세포의 배양을 통한 이차 대사물질의 생산 그리고 폐수의 생물학적 처리를 위한 반응기로 성공적으로 사용되고 있다[15]. Kowagoe 등[16,17]은 최근 공기부양 발효기를 사용하여 *Schizophyllum commune*과 *Tricholoma matsutake* 버섯을 성공적으로 배양한 바가 있다.

현재에 (주)한국신약은 교반조 발효기에서 *Phellinus linteus*의 균사체를 대량으로 배양하여 항암물질을 생산하고는 있으나 관련 기술이 완전히 성숙되었다고는 보기 어렵다. *Phellinus linteus* 균사체의 대량 배양을 통하여 항암물질인 다당류를 보다 경제적으로 생산하기 위해서는 최적 배지의 개발과 아울러 적합한 생물반응기의 선정 그리고 최적 배양조건의 확립이 필요하다. 그러나, 지금까지의 문헌을 살펴보면 적합한 생물반응기의 선정과 최적 배양조건의 확립에 관한 연구 결과는 거의 없음을 알 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 *Phellinus linteus* 균사체의 대량 배양에 적합한 생물반응기의 선정과 최적 배양조건의 확립을 위한 기초자료를 얻기 위하여 연속 교반조 발효기와 공기부양 발효기에서 각각 *Phellinus linteus* 균사체를 액체 배양함으로써 두 개의 발효기의 성능을 비교하는 한편, 통기속도와 교반기 회전속도가 *Phellinus linteus* 균사체의 액체 배양에 미치는 영향을 연구하였다.

## 2. 실험방법

### 2-1. 균주

본 연구에서는 *Phellinus linteus* KCTC 0082BP 균주를 (주)한국신약으로부터 분양을 받아서 사용하였다. 백금이를 사용하여 PDA(potato dextrose agar) 배지 20 mL가 든 Petri dish의 중심부에 *Phellinus linteus* 균주를 접종하여 균사가 만연할 때까지(약 10일간) 배양기내( $28 \pm 1^\circ\text{C}$ )에서 배양한 다음에 균사가 만연한 Petri dish를 냉장고( $4^\circ\text{C}$ )에 보존하였다.

### 2-2. 종균 배양

이 등[12]의 연구에서 가장 좋은 균사 성장을 보여주는 것으로 밝혀진 GP배지를 종균용 배지로 사용하였다. 즉, glucose 3g과 peptone 0.3g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1g 그리고  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.07g을 증류수 100 mL에

녹여서 만든 용액의 pH를 0.1 N NaOH 용액과 0.1 N HCl 용액을 사용하여 5로 조정된 후에 고압멸균기에 넣어서  $121^\circ\text{C}$ 에서 15분간 멸균하여 종균배양을 위한 배지를 제조하였다.

내경이 7 mm인 cork borer를 사용하여서 냉장고에 보존중인 Petri dish로부터 균사가 자라고 있는 고체배지 조각을 떼어서 100 mL 종균용 배지가 들어 있는 250 mL 삼각 플라스크 내에 넣고  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 와 150 rpm으로 유지되고 있는 진탕배양기에서 3일간 배양하였다. 이때, 플라스크 내에 직경이 16 mm인 유리 구슬 6개를 넣어서 종균배양액의 균체 농도가 균일하도록 하였다[18].

### 2-3. 배지 성분의 결정

배지의 성분의 결정을 위한 실험을 위한 배지는 다음과 같이 제조하였다. 우선 필요한 양의 시약들을 정확하게 취하여 1 L의 증류수에 녹여서 용액을 만들고, 0.1 N NaOH 용액과 0.1 N HCl 용액을 사용해서 pH를 5.0으로 조절된 후에 고압멸균기에 넣어서  $121^\circ\text{C}$ 에서 15분간 멸균하여 액체배양을 위한 배지를 제조하였다.

집중되는 균체의 양을 항상 일정하게 유지하기 위하여, 앞의 단계에서 배양한 종균배양액 1 mL를 취하여 증류수로 150배로 희석한 용액을 균질기(센스 도깨비방망이 BW-1400A, Boowon International Co.)로 20초간 균질화 한 후에 그 용액의 투광도를 파장이 600 nm로 유지되고 있는 자외선분광광도계(Spectronic 20D, Milton Roy Company)로 측정하였다. 측정된 투광도와 건조균체량간의 관계를 이용하여서 건조균체농도가 0.1 mg/mL이 되도록 종균배양액을 취해서 미리 조제한 100 mL 액체배양 배지가 들어 있는 250 mL 삼각 플라스크에 각각 접종하고,  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 와 150 rpm으로 유지되고 있는 진탕배양기에 넣어서 3일간 배양하였다. 이때도 플라스크 내에 직경이 16 mm인 유리 구슬 6개를 넣어서 배양액의 균체 농도가 거의 균일하도록 하였다.

### 2-4. 발효기 내에서의 배양 실험

*Phellinus linteus* 균사체의 액체 배양에 대한 통기속도와 교반기의 회전속도가 미치는 영향에 대한 실험은 5 L 용량의 교반조 발효기를 사용하여 수행하였으며, 이때의 교반조 발효기의 배양액의 초기부피는 2.2 L였다. 발효기 내에 앞의 실험에서 선정한 배지를 넣고, 그 용액의 pH를 0.1 N NaOH 용액과 0.1 N HCl 용액을 사용해서 5.0으로 조절된 후에 발효기를 고압멸균기에 넣어서  $121^\circ\text{C}$ 에서 15분간 멸균하였다. 그런 다음에 건조균체농도가 0.1 mg/mL이 되도록 종균배양액을 취해서 clean bench내에서 접종하였으며, 통기속도(2-4 L/min)와 교반기의 회전속도(200-400 rpm)를 변화시키면서  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 3일간 배양하였다. 통기속도의 영향을 실험할 때에는 교반기의 회전속도는 200 rpm으로 고정하였으며, 교반기 회전속도의 영향을 실험하는 경우에는 통기속도를 2 L/min으로 고정하였다. 본 연구에서 발효기로는 연속 교반조 발효기와 공기부양 발효기를 사용하였는데 각각의 상세도는 Fig. 1과 같다. 발효기 형태의 영향을 실험할 때에 배양액의 초기부피는 3.85 L였으며, 통기속도는 3.5 L/min였고, 교반기의 회전수는 300 rpm이었다.

### 2-5. 건조균체량

배지성분의 결정을 위한 실험인 경우는 배양이 끝난 직후에 그리고 발효기내에서의 실험인 경우에는 액체배양을 시작하여 일정한 시간에 도달하는 시점(6시간후, 18시간후, 24시간후, 30시간후, 42시간후, 48시간후, 54시간후, 66시간후, 72시간후)에 각각 배양액 시료 10 mL를 취하여 다음과 같은 방법으로 건조균체량을 측정하였다. 배양액 10 mL를 취하여 무게를 알고 있는 원심분리기용 튜브에 넣고 원심분리기(Centrifuge MF550, Hanil Co.)를 사용하여 3,000 rpm으로 15분간 원심분리하였다. 균체의 1차 세척을 위하여 원심분리된 튜브 내에 들어 있는 상

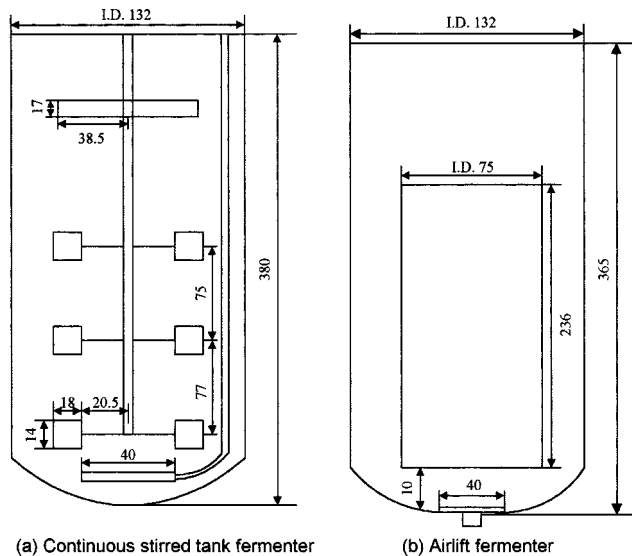


Fig. 1. Details of stirred tank fermenter and airlift fermenter. Dimension in mm.

등액을 제거하고 가라앉아 있는 균체층을 혼합기(Mixer M37615, Barnstead/Thermolyne)를 사용해서 2-3번 호트러프린 후에 증류수 10 mL를 가하고 다시 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 1차 세척과 같은 방법으로 한 번 더 세척한 다음 상등액을 제거하였다. 2차 세척 후에 균사체가 들어 있는 튜브를 온도가  $100 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지되고 있는 건조기에 넣어서 48시간동안 건조시킨 다음에 식혀서 튜브의 무게를 측정하여 건조균체량을 구하였다.

## 2-6. 포도당의 농도

발효기를 사용한 배양 실험인 경우에는 액체배양을 시작하여 일정한 시간에 도달하는 시점(6시간후, 18시간후, 24시간후, 30시간후, 42시간후, 48시간후, 54시간후, 66시간후, 72시간후)에서 채취한 배양액을 원심분리하여 얻은 1차 상등액 1 mL를 취하여 증류수로 50배 희석한 후에 회색액의 포도당 농도를 영동제약에서 판매하고 있는 Glucose-E Kit를 사용하여 효소법으로 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 배지성분의 결정

최[19]는 다른 성분의 농도가 같을 때에 1차인산칼륨( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 1.0 g 대신에 2차인산칼륨( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) 0.5 g을 넣어주는 것이 균사 성장을 증가시킨다고 보고하였다. 따라서, 다른 성분의 농도는 최가 사용한 배지와 같게 유지(배지 1L에는 glucose 90 g, peptone 10 g, yeast extract 3.0 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.0 g,  $\text{CaCl}_2$  0.1 g이 포함됨)하는 한편, 2차인산칼륨의 농도를 0.3-1.5 g/L로 변화시키면서 2차인산칼륨의 농도가 균사 성장에 미치는 영향을 실험한 결과는 Fig. 2와 같았다. 건조균체량은 2차인산칼륨의 농도가 증가함에 따라서 증가하였다가 최대값을 보여준 이후에는 감소하는 경향을 보여 주었는데, 2차인산칼륨의 농도가 0.7 g/L일 때에 가장 많은 건조균체량을 얻을 수 있었다. 그리고, 1차인산칼륨 0.1 g대신에 2차인산칼륨 0.7 g/L를 사용하면 약 10.8% 가량 증가된 17.49 mg/mL의 건조균체량을 얻을 수 있었다. 따라서, 본 연구에서는 이후의 배양 실험에 2차인산칼륨 0.7 g/L이 들어있는 배지를 사용하였다.

### 3-2. 통기속도와 교반기 회전수의 영향

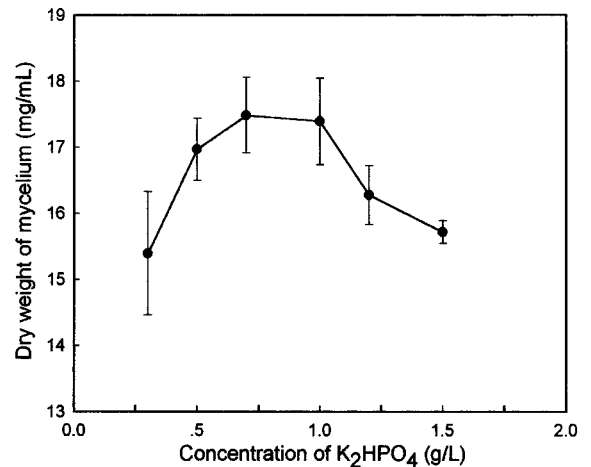


Fig. 2. Effect of  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  concentration on the mycelial growth of *Phellinus linteus*.

배양이 진행됨에 따라서 배양액의 색깔은 갈색에서 점차 자주색으로 변화했다. 배양을 시작한 후 42시간이내에서는 거품의 발생량이 많아서 거품층의 두께가 두꺼웠으나(거품분쇄기의 위치까지 거품이 도달한 흔적이 있음), 그 이후에는 거품층의 두께가 액면위의 4 cm정도로 현저하게 감소하였다. 특히, 통기속도와 교반기 회전속도가 클수록 거품 발생량이 많은 것이 관찰되었다. 배양액은 전체적으로는 죽과 같은 형상이며, 배양을 시작한 후 3일째가 되는 날에는 작은 알갱이 형태(직경은 대략 1 mm임)의 균사체가 관찰되었다.

Fig. 3은 시간에 따른 건조균체량의 변화에 대한 통기속도의 영향을 나타낸 것이다. 삼각플라스크내의 실험인 경우에 사용된 삼각플라스크의 부피는 1 L였으며, 초기배양액의 부피는 500 mL였다. 삼각플라스크나 교반조 발효기의 구분없이 건조균체량은 시간이 증가할수록 초기에 급격히 증가(1단계)하였다가 약간 감소(2단계)한 후에 다시 증가(3단계)하였다가 거의 일정하게 유지(4단계)되는 경향을 보여주었다. 즉, *Phellinus linteus*의 회분식 액체배양인 경우에 시간에 따른 건조균체량의 변화를 크게 4단계로 나눌 수 있었다. 전형적인 회분식 발효에서 얻어지는 성장곡선과 비교할 때에 1-3단계는 지연기와 대수기에 해당하는 것으로 4단계는 정장기에 해당하는 것으로 생각할 수 있다. 전형적인 회분식 발효에서 얻어지는 성장곡선과 비교할 때에 본 연구에서 얻어진 성장곡선의 특이점은 대수기중에 건조균체량이 감소

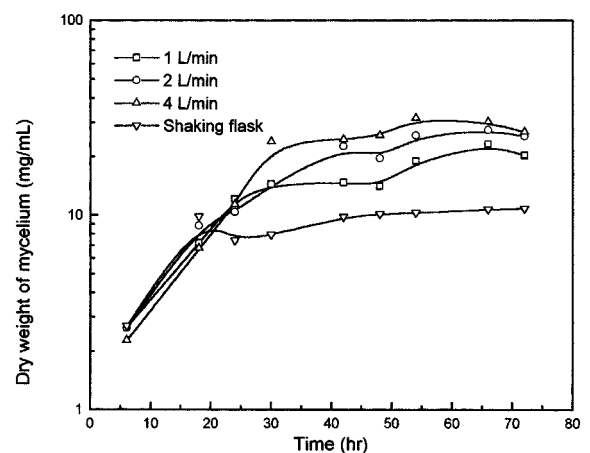


Fig. 3. Effect of gas velocity on the variation of dry weight of mycelium with time.

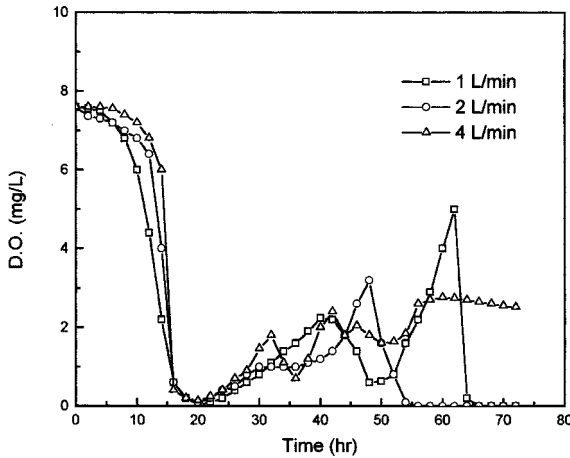


Fig. 4. Effect of gas velocity on the variation of dissolved oxygen concentration with time.

하였다가 다시 증가하는 현상을 보인다는 것이다. 대수기중에 건조균체량 감소하였다가 다시 증가하는 현상이 일어나는 것은 이 기간중에 균체의 밀도가 배양액의 밀도보다 낮음으로 인하여 배양액의 상부에 농도가 비교적 높은 균체층이 1-2 cm 가량 형성되기 때문에 하부 배양액의 균체농도가 감소하기 때문이다. 본 연구에서 시료는 발효조의 하부에서 채취하였다. 이러한 현상은 거품의 발생이 많은 큰 조건인 통기속도가 크고 교반기 회전수가 큰 조건에서 보다 분명하게 관찰되었다(Fig. 6). 배양이 진행될수록 이러한 균체층은 점차 건조되면서 벽면이나 교반기 회전축에 들러붙는 것을 관찰할 수 있었다. 삼각플라스틱의 실험인 경우에도 이 기간동안에 상당 벽면에 균체층이 형성되는 것을 관찰할 수 있었다. 한편, 통기속도가 증가할수록 최종 건조균체량은 증가하였다. 그리고, 강제적인 공기의 유입이 없는 삼각플라스틱인 경우에는 초기를 제외한 다른 기간동안에 용존산소농도가 교반조 발효기에 비해서 낮기 때문에 건조균체량이 교반조 발효기의 경우에 비해 상당히 작았다.

Fig. 4는 시간에 따른 용존산소농도의 변화에 대한 통기속도의 영향을 나타낸 것이다. 용존산소농도 역시 4단계로 변화하였다. 용존산소농도는 시간이 증가함에 따라서 초기의 서서히 감소하는 1단계와 그 이후에 급격히 감소하는 2단계 그리고 급격히 상승하는 3단계를 거친 후에 어느 정도의 폭을 가지고 증가하였다가 감소하기도 하지만 전체적으로는 점차 감소하는 4단계를 거치면서 변화하였다. 통기속도가 4 L/min인 경우에는 4단계의 경향이 비교적 뚜렷하였다. 통기속도가 이보다 적은 경우에는 4단계에서 용존산소농도가 급격히 증가했다가 영으로 감소하였다. 그러한 용존산소농도의 변화는 탐침의 막이 균체에 의해 막히기 때문에 발생하며, 실제 배양액의 용존산소농도값이 그렇게 변한단기 보다는 용존산소탐침의 막이 균체에 의해 막히기 시작할 때에 일어나는 용존산소측정장치의 오작동 현상으로 생각된다. 통기속도가 증가할수록 배양의 1-3단계 동안에 용존산소농도는 큰 값을 보여주었다.

*Phellinus linteus* 균사체는  $5 \leq \text{pH} \leq 7$ 에서 잘 자란다고 알려져 있다 [12]. 본 연구에서는 pH를 고정시켜서 보다 많은 균사체를 얻고자 하는 향후 실험을 위한 기초자료를 얻기 위하여 시간에 따른 배양액 pH의 변화를 측정하였다. 시간에 따른 배양액 pH의 변화는 Fig. 5와 같았다. 시간에 따른 pH의 변화 경향은 시간에 따른 용존산소농도의 변화 경향과 거의 유사하며, pH의 변화가 용존산소농도의 변화에 비해 다소 지연되어 나타난다고 볼 수 있었다. 그리고, 배양중에 배양액의 pH는 대략 3.3-5.2의 범위에서 변화하였다. 한편, 배양중에 사용되는 포도당의 양이 어느 정도인지를 알아보기 위하여 시간에 따른 포

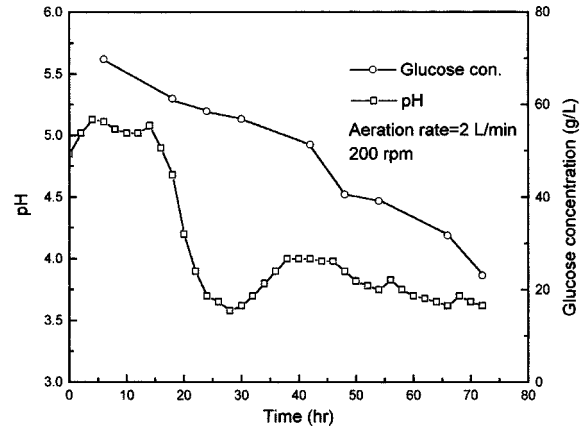


Fig. 5. Variations of pH and glucose concentration with time.

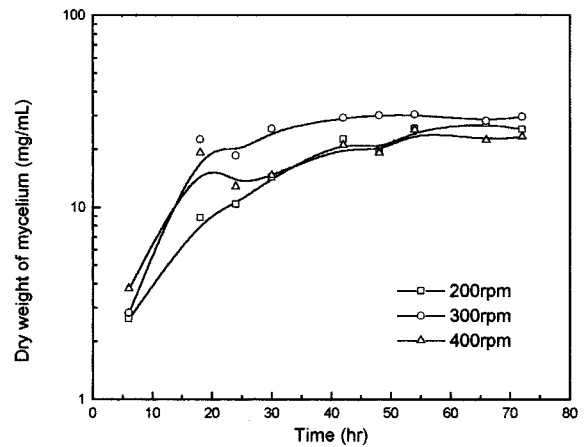


Fig. 6. Effect of agitation speed on the variation of dry weight of mycelium with time.

도당농도를 측정하였다. Fig. 5에 시간에 따른 포도당농도의 변화를 함께 나타내었다. 균체가 성장하면서 포도당을 탄소원으로 사용하므로 포도당 농도는 통기속도나 교반기 회전수의 값에는 상관없이 시간이 증가할수록 점차 감소하였다. 72시간 배양후의 포도당농도의 값은 대략 15-30 g/L로 초기값의 83-67%에 해당하는 포도당이 배양에 의해 소모됨을 알 수 있다. 그리고 통기속도와 교반기 회전속도의 포도당 농도 변화에 미치는 영향은 무시할만하였다.

Fig. 6은 시간에 따른 건조균체량의 변화에 대한 교반기 회전속도의 영향을 보여주고 있다. 교반기의 회전속도를 200 rpm, 300 rpm 그리고 400 rpm으로 변화시켰더니, 가장 큰 최종 건조균체량은 300 rpm 일 때에 얻어졌다. 교반기의 회전수가 400 rpm일 때에는 다른 회전수 일 때보다 발효중에 발생하는 거품의 양이 많았으며, 2단계이후의 용존산소농도 또한 상당히 높았다(Fig. 7). 교반기 회전수가 400 rpm일 때가 300 rpm일 때보다 2단계이후의 용존산소농도가 높은데도 불구하고 교반기 회전수가 300 rpm일 때 가장 큰 최종 건조균체량이 얻어진 것은 *Phellinus linteus* 균사체인 경우에도 교반기의 회전속도를 특정한 값 이상으로 증가시키면 전단응력의 영향을 받아서 균체성장이 느려진다는 것을 의미한다.

Fig. 7은 시간에 따른 용존산소농도의 변화에 대한 교반기 회전속도의 영향을 보여주고 있다. 교반기의 회전속도를 증가시키면 기체분산기에서 발생된 기포가 보다 작게 분쇄되어 기-액 계면적이 증가할 뿐만 아니라 혼합성능의 향상으로 기포가 발효기 내부에 고루 분산되므로 산소전달속도가 증가할 것이다. 따라서, 교반기의 회전속도가 증가

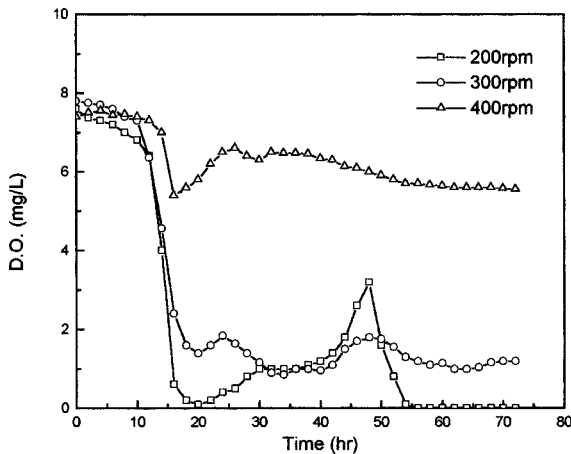


Fig. 7. Effect of agitation speed on the variation of dissolved oxygen concentration with time.

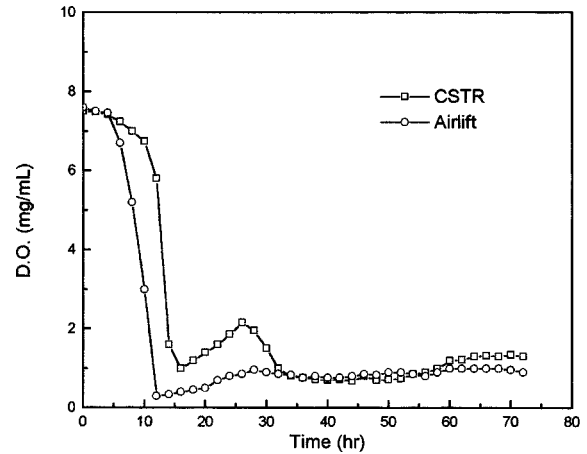


Fig. 9. Effect of fermenter type on the variation of dissolved oxygen concentration with time.

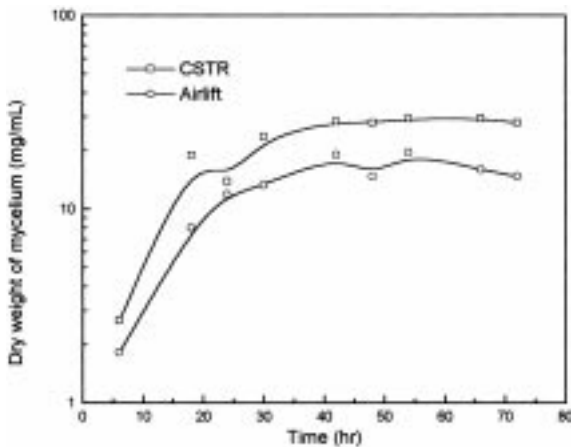


Fig. 8. Effect of fermenter type on the variation of dry weight of mycelium with time.

할수록 용존산소농도는 증가하였다. 그리고, 용존산소농도 변화의 3단계까지 걸리는 시간은 300 rpm, 400 rpm, 200 rpm 순으로 증가하였다.

### 3.3. 발효기 형태의 영향

본 연구에서는 교반조 발효기와 공기부양 발효기를 비교하기 위하여 운전부피를 3.5 L로, 그리고 통기속도를 3.5 L/min으로 동일하게 유지하면서 배양실험을 수행하였다. 이때, 교반기의 회전속도는 300 rpm였다. Fig. 8은 건조균체량에 대한 발효기 형태의 영향을 보여 주고 있다. 공기부양 발효기에 비하여 교반조 발효기에서 더 큰 건조균체량을 얻을 수 있었다. 이것은 교반조 발효기가 공기부양 발효기에 비하여 산소전달성능이 높기 때문이다.

Fig. 9는 용존산소농도의 변화에 대한 발효기 형태의 영향을 보여 주고 있다. 교반조 발효기내의 용존산소농도는 대부분의 배양기간 동안에 공기부양 발효기내의 용존산소농도 보다 크게 유지되었다. 이는 산소전달성능의 측면에서 공기부양 발효기보다 교반조 발효기가 더 우수하다는 것을 의미한다. 교반조 발효기인 경우에 교반기의 회전에 의해 큰 기포들은 분쇄가 된다. 본 연구에서 사용한 공기부양 발효기와 교반조 발효기의 직경에 대한 길이의 비는 각각 2.77과 2.88였다. 이러한 직경에 대한 길이의 비는 보통의 공기부양 발효기에서의 직경에 대한 길이의 비 값인 5.17-15[20] 보다는 상당히 작다. 그것으로 인하여 순환액체속도가 크지 않았고, 하강관의 기체체류량도 작은 반면에

순환액체로 인하여 상승관 내에서의 기포의 체류시간은 짧았다. 결국, 교반조 발효기의 기체체류량은 공기부양 발효기의 기체체류량 보다 컸으며, 그런 이유로 교반조 발효기의 산소전달성능은 공기부양 발효기의 산소전달성능보다 좋았다고 설명할 수 있다.

한편, 배양을 시작한지 약 36시간 후에는 발효조 하부의 일부분에 균사체의 침전물이 쌓이기 시작하였으며, 시간이 지나갈수록 그러한 부분의 면적이 커지는 것을 관찰할 수 있었다. 그것은 균사의 성장으로 배양액의 점도가 높아지고 그것으로 인하여 순환액체속도가 느려지기 때문이다. 배양을 시작한 후 67시간 후와 배양을 끝내는 시점에서 하강관에서의 일정한 거리(10 cm)를 색깔을 띤 직경이 5 mm가량인 균사체 덩어리가 통과하는데 걸리는 시간을 측정하는 방법으로 순환액체속도를 구하였더니 순환액체속도는 대략 1.6 cm/s였다. 배양의 초기에는 하강관의 상부로 직경이 1-3 mm가량인 기포가 유입되는 것을 관찰할 수 있었는데 반하여 배양의 후반기에는 배양액 점도의 증가로 인하여 하강관에 유입되는 기포를 관찰할 수가 없었다. 따라서 배양초기의 순환액체속도 값은 배양 후반기의 순환액체속도 값보다는 다소 컸을 것이라 추측된다.

지금까지 본 연구에서 얻은 실험결과만으로 공기부양 발효기와 비교하여 연속 교반조 발효기가 항상 균사체의 액체배양에서 월등한 성능을 보이는 것으로 최종적인 결론을 내리는 것은 조금 성급한 일 이 될 것이다. 즉, 그러한 결론은 본 연구에서 실험한 두 발효기에서만 적용할 수 있는 것이다. 직경에 대한 길이의 비나 상승관 단면적에 대한 하강관 단면적의 비 그리고 흡출관의 하부와 반응기의 바닥간의 거리와 같은 공기부양 발효기의 중요한 치수가 달라지면 물질전달과 혼합의 성능 등이 크게 달라지므로[20-27], 다양한 치수를 갖는 공기부양 발효기를 사용한 보다 많은 배양실험을 수행할 필요가 있다.

## 4. 결 론

본 연구에서는 *Phellinus linteus* 균사체의 대량 배양에 적합한 생물반응기의 선정과 최적 배양조건의 확립을 위한 기초자료를 얻기 위하여 연속 교반조 발효기와 공기부양 발효기에서 각각 *Phellinus linteus* 균사체를 액체 배양함으로써 두 개의 발효기의 성능을 비교하는 한편, 통기속도와 교반기의 회전속도가 *Phellinus linteus* 균사체의 액체 배양에 미치는 영향을 연구하였으며, 본 연구에서 얻은 실험결과를 정리하면 다음과 같다.

- (1) 회분식 배양인 경우에 건조균체량과 pH 그리고 용존산소농도는

시간이 증가함에 따라서 4단계로 변화하였으나, 각 단계가 나타나는 기간들이 서로 일치하지는 않았다.

(2) 통기속도가 증가할수록 최종 건조균체량과 용존산소농도는 증가하였다.

(3) 포도당의 농도는 시간에 따라 감소하였으며, 통기속도와 교반기 회전속도의 포도당 농도 변화에 미치는 영향은 무시할만하였다.

(4) 최종건조균체량은 300 rpm일 때가 최대였으며, 교반기의 회전속도가 증가할수록 용존산소농도는 증가하였다.

(5) 공기부양 발효기에서 보다 교반조 발효기에서 더 큰 건조균체량과 용존산소농도가 얻어졌다.

## 감 사

이 논문은 1997년도 대전산업대학교 교내학술연구비의 지원과 (주)한국신약의 연구비 지원을 받아 작성되었으며, 이에 대해 깊은 감사를 드립니다.

## 참고문헌

- Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F.: *Gann*, **59**, 155(1968).
- Oh, G. T., Han, S. B., Kim, H. M. and Yoo, I. D.: *Arch. Pharm. Res.*, **15**, 379(1992).
- Yamana, S. and Hong, N. D.: Korean Patent No. 051055(1992).
- Yamana, S. and Hong, N. D.: Korean Patent No. 051056(1992).
- Chung, K. S., Ko, K. S. and Han, M. W.: Korean Patent Open No. 95-7860(1995).
- Chung, K. S., Ko, K. S. and Han, M. W.: Korean Patent Notice No. 97-9150(1997).
- Yoo, I. D., Jung, H. S., Jung, W. J., Ko, K. S. and Han, M. W.: Korean Patent Open No. 97-1531(1997).
- Kim, S. S.: M. S. Dissertation, Chungnam National Univ., Taejon, Korea(1992).
- Kim, H. K.: M. S. Dissertation, Chungnam National Univ., Taejon, Korea(1994).
- Lee, D. W.: M. S. Dissertation, Chungnam National Univ., Taejon, Korea(1995).
- Lee, J. H., Cho, S. M., Song, K. S., Han, S. B., Kim, H. M., Hong, N. D. and Yoo, I. D.: *J. Microbiol. Biotechnol.*, **6**, 213(1996).
- Lee, J. H., Cho, S. M., Ko, K. S. and Yoo, I. D.: *Kor. J. Mycol.*, **23**, 325(1995).
- Song, K. S., Cho, S. M., Lee, J. H., Kim, H. M., Han, S. B., Ko, K. S. and Yoo, I. D.: *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 2105(1995).
- Lee, J. H., Cho, S. M., Song, K. S., Han, N. D. and Yoo, I. D.: *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 1093(1996).
- Chisti, M. Y. and Moo-Young, M.: *Chem. Eng. Comm.*, **60**, 195(1987).
- Kawagoe, M., Hyakumura, K. and Miki, K.: "Bubble Columns," Preprints of 3rd German/Japanese Symposium, Schwerte, Germany, 111 (1994).
- Kawagoe, M., Nakamura, Y. and Noda, H.: Preprints of 29th Autumn Meeting of the Society of Chemical Engineers, Japan(1996).
- Song, C. H., Lee, C. H., Ahn, J. H., Hong, B. S. and Yang, H. C.: *Kor. J. Mycol.*, **23**(1), 53(1995).
- Choi, K. H.: *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **14**(2), 167(1999).
- Koide, K., Kurematsu, K., Iwamoto, S., Iwata, Y. and Horibe, K.: *J. Chem. Eng. Japan*, **16**(5), 413(1983).
- Koide, K., Sato, H. and Iwamoto, S.: *J. Chem. Eng. Japan*, **16**(5), 407 (1983).
- Bello, R. A., Robinson, C. W. and Moo-Young, M.: *Can. J. Chem. Eng.*, **62**, 573(1984).
- Weiland, P.: *Ger. Chem. Eng.*, **7**, 374(1984).
- Choi, K. H., Han, B. H. and Lee, W. K.: *HWAHAK KONGHAK*, **28**, 220 (1990).
- Choi, K. H. and Lee, W. K.: *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **56**, 51(1993).
- Choi, K. H.: *Chem. Eng. Comm.*, **160**, 103(1997).
- Choi, K. H.: *Korean J. Chem. Eng.*, **13**, 379(1996).