



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0150029
(43) 공개일자 2022년11월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01G 18/20 (2018.01) A01G 18/40 (2018.01)
A01G 18/50 (2018.01)
(52) CPC특허분류
A01G 18/20 (2018.02)
A01G 18/40 (2018.02)
(21) 출원번호 10-2021-0057212
(22) 출원일자 2021년05월03일
심사청구일자 2021년05월03일

(71) 출원인
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
양재경
경상남도 진주시 강변길 31, 103동 402호(가좌동, 가호 에일린의 뜰 아파트)
하시영
경상남도 진주시 내동면 내동로 223, 201호(장미연립)
정지영
경상남도 창원시 마산회원구 양덕서로 30, 104동 1702호(양덕동, 메트로시티)
(74) 대리인
특허법인태백

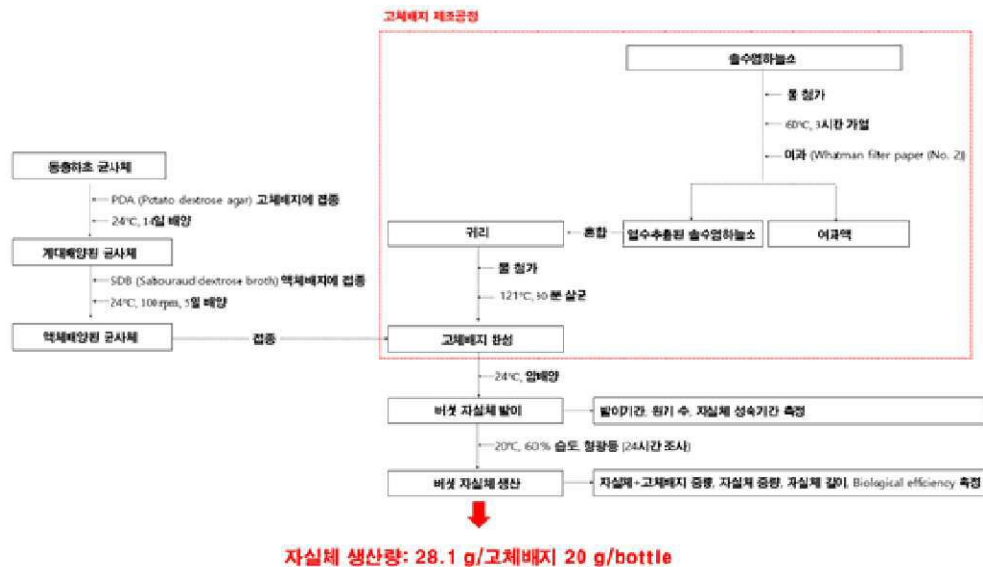
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 동충하초 자실체 생산을 위한 술수염하늘소 고체배지 조성물 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 동충하초 자실체를 생산하기 위한 술수염하늘소 고체배지 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 술수염하늘소 또는 열수 추출된 술수염하늘소로 제조된 고체배지에 배양된 동충하초 자실체는 기존의 동충하초 자실체를 생산하기 위한 고체배지들에 비해서 발이기간이 짧아서 동충하초 자실체 생장이 효율적이며, 가장 높은 자실체 길이 및 중량을 나타냈으며, 동충하초 자실체 생장의 효율성을 평가를 위해 일반적으로 사용되는 척도인 biological efficiency의 경우, 술수염하늘소 고체배지를 사용했을 때 높은 것으로 확인됨에 따라, 동충하초 자실체 성장량 증대의 효과가 확인됨에 따라, 상기 고체배지 제조방법은 동충하초 자실체를 효율적으로 생산하기 위한 고체배지용 조성물로 제공될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A01G 18/50 (2018.02)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	0000093500
과제번호	2020252B10-2021-0001
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	한국임업진흥원
연구사업명	산림융복합 전문인력 양성(대학(원)생 창의도전 아이디어 연구지원)
연구과제명	LED광 제어기술에 의해 배양된 고품량 cordycepin 동충하초 균사체로부터 자실체 생
산 및 이를 원료로 하는 향압, 향염증 기능성 건강 보조식품 개발	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경상대학교 산학협력단 산학지원과
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

- 1) 곡류에 술수염하늘소 또는 열수 추출된 술수염하늘소를 첨가하는 단계;
 - 2) 상기 1)단계에서 제조된 혼합물에 물을 첨가하는 단계; 및
 - 3) 상기 2)단계에서 제조된 혼합물을 고온 멸균하는 단계
- 를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 술수염하늘소 고체배지의 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 곡류는 귀리, 현미, 쌀 및 보리로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 술수염하늘소 고체배지의 제조방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 열수 추출된 술수염하늘소는

- a) 술수염하늘소와 증류수를 혼합한 후 가열하는 단계;
- b) 상기 a)단계에서 제조된 혼합물을 감압 여과하는 단계; 및
- c) 상기 b)단계에 의해 생성된 잔사를 건조하는 단계

를 포함하여 제조되는 것을 특징으로 하는 술수염하늘소 고체배지의 제조방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 a)단계는 증류수 100 중량부에 대하여 술수염하늘소를 2.5 내지 7.5 중량부로 혼합한 후 50 내지 70℃에서 2 내지 4시간 동안 가열하는 것을 특징으로 하는 술수염하늘소 고체배지의 제조방법.

청구항 5

청구항 3에 있어서, 상기 c)단계는 상기 b)단계에 의해 생성된 잔사를 15 내지 25℃에서 40 내지 56시간 동안 건조하는 것을 특징으로 하는 술수염하늘소 고체배지의 제조방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 1)단계는 곡류 100 중량부에 대하여 열수 추출된 술수염하늘소 20 내지 50 중량부로 첨가하는 것을 특징으로 하는 술수염하늘소 고체배지의 제조방법.

청구항 7

곡류 30 내지 40 중량%, 열수 추출된 술수염하늘소 8 내지 17 중량% 및 잔량의 물을 포함하는, 동충하초 자실체 생산용 고체배지용 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 열수 추출된 술수염하늘소는 증류수 100 중량부에 대하여 술수염하늘소를 2.5 내지 7.5 중량부로 혼합한 후 50 내지 70℃에서 2 내지 4시간 동안 가열하고 여과한 잔사를 건조하여 수득한 것을 특징으로 하는 동충하초 자실체 생산용 고체배지용 조성물.

청구항 9

가) 액체배양된 동충하초 균사체를 청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 따라 제조된 술수염하늘소 고체배지용 조성물에 투입하고 암배양 하는 단계;

나) 상기 가)단계에 의해 암배양 후 형광등 조건의 배양기로 이동하여 자실체를 배양하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 동충하초 자실체의 생산방법.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 동충하초는 밀리타리스 동충하초(*Cordyceps militaris*)인 것을 특징으로 하는 동충하초 자실체의 생산방법.

청구항 11

청구항 9에 있어서, 상기 암배양은 22~26℃의 배양기에서 12 내지 16일 동안 암배양하는 것을 특징으로 하는 동충하초 자실체의 생산방법.

청구항 12

청구항 9에 있어서, 상기 자실체 배양은 최초 발이가 발생한 시점을 기준으로 40 내지 60일간 배양하는 것을 특징으로 하는 동충하초 자실체의 생산방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 동충하초 자실체 생산을 위한 술수염하늘소 고체배지 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 동충하초(冬蟲夏草)는 겨울에는 벌레, 여름에는 버섯으로 나온다는 뜻에서 이름이 붙여졌다. 대부분이 곤충병원성진균(entomopathogenic fungi)으로 약 800여종이 알려져 있으며, 기주곤충에 감염되어 내부에서 균사 생장을 하여 자실체를 생성하는 것이 큰 특징이다. 이러한 동충하초는 아시아(중국, 한국, 일본 등)에서 예전부터 약초로 쓰여 왔다. 그 효능으로는 면역력 증강, 성인병 예방, 천식, 빈혈에 좋은 약재로 사용되어져 왔다.

[0003] 동충하초는 동의보감을 통해서 오랫동안 많은 효능이 인정되어 각종 성인병 질환의 치료 및 건강유지를 위하여 사용되어 왔다. 중국에서는 육상선수들이 동충하초를 복용하고 기적의 기록들을 나타낸다고 하여 동충하초를 3대 천연식품 건강명약으로 인정하고 있다.

[0004] 동충하초는 작물들 중 단백질 함량이 가장 높은 (건조함량의 28%이상) 군에 속하고, 면역력을 강화시키는 물질이 다량 함유되어 있다. 동충하초의 면역활성물질 중에는 키닉산(quinic acid)의 이성체로 밝혀진 '코디세핀(Cordycepin :3'-deoxy-adenosine)'이 포함되어 있으며, 동충하초 중에서도 밀리타리스 동충하초(*Cordyceps militaris*)가 다른 동충하초에 비하여 코디세핀의 함량이 월등히 높다. 코디세핀은 핵산 물질로서 세포의 유전 정보에 관여하면서 저하된 면역기능을 활성화하여 정상세포가 암세포로 전환되는 것을 방지하는 작용을 한다. 동충하초를 투입한 임상 실험에서 암세포를 죽이는 면역세포인 NK세포(natural killer cell/자연살해세포)와 면역세포에서 분비되는 사이토카인의 함량이 18%~25% 증가되는 것으로 확인되어 혈액암 치료용으로 활용되고, 건강기능식품으로서도 많은 관심을 받고 있다. 이러한 결과를 토대로 국내에서는 코디세핀이 함유된 동충하초가 버섯으로는 유일하게 건강 기능식품으로 식약처 인증을 받았다. 또한 동충하초는 혈압과 당뇨를 조절하는 효과와 폐와 간 기능 등에도 많은 도움을 주는 것으로 임상연구결과가 발표되고 있다.

[0005] 다만, 동충하초는 버섯류 중에서도 많은 소비가 이루어지고 있지만 천연에서 채집되는 양은 매우 적어서 수요를 충족할 수 없으므로 전 세계의 많은 농가들이 인공재배법으로 재배사를 만들어서 대량 재배하고 있으나 동충하초는 성장속도가 느리고, 외부환경에 민감하여 농약을 살포할 수 없는 식물이어서 재배가 매우 까다로워 오랫동안 재배를 해 온 농가에서도 동충하초 재배의 수확률이 저조한 문제점이 있어서 동충하초 자실체 성장량 증대를 위한 고체 배지 제조 공정을 위한 연구가 지속적으로 이루어지고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 이에, 본 발명은 동충하초 자실체 성장량 증대를 위해서 술수염하늘소 또는 열수 추출된 술수염하늘소를 이용한

고체배지의 제조방법을 제공하고자 한다.

[0007] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 제조방법으로 얻어진 동충하초 자실체 생산 고체배지용 조성물을 제공하는데 있다.

[0008] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 제조방법으로 얻어진 동충하초 자실체 생산 고체배지용 조성물을 이용하여 동충하초 자실체 생산방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 1) 곡류에 솔수염하늘소 또는 열수 추출된 솔수염하늘소를 첨가하는 단계; 2) 상기 1)단계에서 제조된 혼합물에 물을 첨가하는 단계; 및 3) 상기 2)단계에서 제조된 혼합물을 고온 멸균하는 단계를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 솔수염하늘소 고체배지의 제조방법을 제공한다.

[0010] 본 발명은 곡류 30 내지 40 중량%, 열수 추출된 솔수염하늘소 8 내지 17 중량% 및 잔량의 물을 포함하는, 동충하초 자실체 생산용 고체배지용 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 가) 액체배양된 동충하초 균사체를 상기 제조된 솔수염하늘소 고체배지용 조성물에 투입하고 암배양 하는 단계; 및 나) 상기 가)단계에 의해 암배양 후 형광등 조건의 배양기로 이동하여 자실체를 배양하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 동충하초 자실체의 생산방법을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명에 따른 솔수염하늘소 고체배지로 동충하초 자실체를 생산하는 경우, 기존의 동충하초 자실체를 생산하기 위한 고체배지들에 비해서 발이기간이 짧아서 동충하초 자실체 생장이 효율적이며, 가장 높은 자실체 길이 및 중량을 나타냈으며, 동충하초 자실체 생장의 효율성을 평가를 위해 일반적으로 사용되는 척도인 자실체 생산량의 경우, 솔수염하늘소 고체배지를 사용했을 때 높은 것으로 확인됨에 따라, 동충하초 자실체 생산량 증대의 효과를 이룰 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 본 발명에 따른 열수 추출된 솔수염하늘소를 이용한 고체배지 제조방법 및 이를 이용한 동충하초 자실체의 생산방법을 나타낸 모식도이다.

도 2는 동충하초가 성숙기가 되었음을 확인할 수 있는 동충하초 자실체 끝부분의 헤드를 나타낸다.

도 3는 고체배지 제조 공정에 따른 동충하초 자실체 성장 상태로, (가)는 열수 추출하지 않은 솔수염하늘소 배지로 생산한 동충하초 자실체, (나)는 열수 추출된 솔수염하늘소 배지로 생산한 동충하초 자실체를 나타낸다.

도 4은 RSM(Response surface methodology) 분석법을 통해 최적 고체배지 제조 조건에 대한 예측모델을 나타낸 것으로, X_1 은 열수 추출된 솔수염하늘소 투입량(g), X_2 은 수분함량(%), X_3 은 배양기간(days)을 나타낸다.

도 5는 RSM 분석법을 통해 최적 고체배지 제조 조건에 대한 예측모델의 최적화를 한 것을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0015] 동충하초는 기주의 대상이 되는 곤충의 몸에 침입하여 기주의 양분을 통해 자실체를 형성시키는 약용버섯으로, 동물성 단백질을 영양성분으로 하기 때문에 일반 버섯류에서는 찾아볼 수 없는 유용한 물질, 즉 인간의 각종 질병치료에 이용되어질 수 있는 유용한 성분을 포함하여 기능성 식품으로서의 고부가가치가 있으나, 대량 재배가 어렵고 외부환경에 민감하여 재배가 매우 까다로운 문제점이 있는 바, 상기 문제점을 해결하기 위하여 본 발명자들은 열수 추출된 솔수염하늘소를 이용한 고체배지를 개발하여 본 발명을 완성하였다.

[0017] 본 발명은 1) 곡류에 솔수염하늘소 또는 열수 추출된 솔수염하늘소를 첨가하는 단계; 2) 상기 1)단계에서 제조된 혼합물에 물을 첨가하는 단계; 및 3) 상기 2)단계에서 제조된 혼합물을 고온 멸균하는 단계를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 솔수염하늘소 고체배지의 제조방법을 제공한다.

[0018] 상기 곡류는 귀리, 현미, 쌀 및 보리로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상인 것으로 이에 한정되는 것

은 아니다.

- [0019] 상기 귀리는 다른 곡류에 비하여 단백질, 필수 아미노산, 수용성 섬유질이 풍부하기 때문에 동충하초 자실체 생산을 위한 영양분 역할을 수행할 수 있다.
- [0020] 상기 열수 추출된 솔수염하늘소는 a) 솔수염하늘소와 증류수를 혼합한 후 가열하는 단계; b) 상기 a)단계에서 제조된 혼합물을 감압 여과하는 단계; 및 c) 상기 b)단계에 의해 생성된 잔사를 건조하는 단계를 포함하여 제조될 수 있다.
- [0021] 상기 a)단계는 증류수 100 중량부에 대하여 솔수염하늘소를 2.5 내지 7.5 중량부로 혼합한 후 50 내지 70℃에서 2 내지 4시간 동안 가열할 수 있다. 상기 솔수염하늘소의 함량 범위 내에 포함되면 동충하초 자실체의 최초 발이기간이 4.7 내지 6.0일, 원기 수가 16.7 내지 22.7개, 자실체 성숙 기간이 31 내지 39일이 소요될 수 있으나, 상기 솔수염하늘소의 함량 범위인 2.5 중량부보다 낮을 경우, 자실체의 최초 발이기간이 8.3일 내지 10.0일, 원기 수가 10.0 내지 15.0개, 자실체 성숙 기간이 40 내지 50일 소요되고, 상기 솔수염하늘소의 함량 범위인 7.5 중량부보다 높을 경우 자실체의 최초 발이기간이 6.5 내지 9.5일, 원기 수가 12.5 내지 16.0개, 자실체 성숙 기간이 40 내지 50일 소요되어 발이기간 및 자실체 성숙 기간이 길어지고 원기수가 감소하는 문제가 야기될 수 있다.
- [0022] 상기 c)단계는 상기 b)단계에 의해 생성된 잔사를 15 내지 25℃에서 40 내지 56시간 동안 건조할 수 있다.
- [0023] 상기 1)단계는 곡류 100 중량부에 대하여 열수 추출된 솔수염하늘소 20 내지 50 중량부로 첨가할 수 있다. 상기 열수 추출된 솔수염하늘소의 함량 내에 포함되면 동충하초 자실체의 중량이 26.4 내지 27.5 g, 자실체 길이가 54.3 내지 55.1 mm, biological efficiency(=fruit body weight/medium weight × 100)가 26.2 내지 29.5 %로 나타냈지만, 상기 열수 추출된 솔수염하늘소 함량인 20 중량부 이하에서는 자실체의 중량이 7.2 내지 20.0 g, 자실체 길이가 15.1 내지 30.0 mm, biological efficiency가 6.3 내지 10.5 %이고, 상기 열수 추출된 솔수염하늘소 함량인 50 중량부 이상에서는 자실체의 중량이 9.8 내지 21.0 g, 자실체 길이가 34.7 내지 50.0 mm, biological efficiency가 9.4 내지 20.0 %로 자실체의 중량 및 길이 생산량에 문제가 야기될 수 있다.
- [0024] 본 발명은 곡류 30 내지 40 중량%, 열수 추출된 솔수염하늘소 8 내지 17 중량% 및 잔량의 물을 포함하는, 동충하초 자실체 생산용 고체배지용 조성물을 제공한다.
- [0025] 이때, 상기 곡류의 함량인 30 내지 40 중량%에서는 자실체의 중량 26.4 내지 27.5 g, 자실체 길이 54.3 내지 55.1 mm, biological efficiency가 26.2 내지 29.5%로 나타냈지만, 상기 곡류의 함량인 30 중량%보다 낮을 경우, 자실체의 중량 9.8 내지 17.5 g, 자실체 길이 15.1 내지 31.5 mm, biological efficiency가 9.4 내지 16.3%이고, 상기 곡류의 함량인 40 중량%보다 높을 경우, 자실체의 중량 17.5 내지 26.4 g, 자실체 길이 31.5 내지 54.3 mm, biological efficiency가 16.3 내지 26.2%로 자실체의 중량 및 길이 생산량에 문제가 야기될 수 있다.
- [0026] 또한, 상기 열수 추출된 솔수염하늘소는 솔수염하늘소 내부의 탄수화물이 감소함에 따라 상대적으로 단백질과 무기물 함량이 증가한 상태이므로 동충하초 자실체의 성장을 가속화시키는 역할을 수행한다. 상기 열수 추출된 솔수염하늘소의 함량인 8 내지 17 중량%에서는 자실체의 중량 26.4 내지 27.5 g, 자실체 길이 54.3 내지 55.1 mm, biological efficiency가 26.2 내지 29.5 %로 나타냈지만, 상기 열수 추출된 솔수염하늘소의 함량인 8 중량%보다 낮을 경우, 자실체의 중량 17.5 내지 26.4 g, 자실체 길이 31.5 내지 54.3 mm, biological efficiency가 16.3 내지 26.2%이고, 상기 열수 추출된 솔수염하늘소의 함량인 17 중량%보다 높을 경우, 자실체의 중량 9.8 내지 17.5 g, 자실체 길이 15.1 내지 31.5 mm, biological efficiency가 9.4 내지 16.3%로 자실체의 중량 및 길이 생산량에 문제가 야기 될 수 있다.
- [0027] 상기 열수 추출된 솔수염하늘소는 증류수 100 중량부에 대하여 솔수염하늘소를 2.5 내지 7.5 중량부로 혼합한 후 50 내지 70℃에서 2 내지 4시간 동안 가열하고 여과한 잔사를 건조하여 수득할 수 있다.
- [0028] 본 발명은 가) 액체배양된 동충하초 균사체를 상기 제조된 솔수염하늘소 고체배지용 조성물에 투입하고 암배양하는 단계; 및 나) 상기 가)단계에 의해 암배양 후 형광등 조건의 배양기로 이동하여 자실체를 배양하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 동충하초 자실체의 생산방법을 제공한다.
- [0029] 상기 동충하초는 밀리타리스 동충하초(*Cordyceps militaris*)일 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0030] 상기 암배양은 22~26℃의 배양기에서 12 내지 16일 동안 암배양할 수 있다. 상기 암배양 조건에서는 자실체의 최초 발이기간이 평균 4.7일, 원기 수가 평균 25개로 나타냈지만, 상기 암배양 조건을 벗어나면 최초 발이기간

이 6.3 내지 8.3일, 원기 수가 16 내지 22개로 성장하여 발이기간이 길어지고 원기수가 감소하는 문제가 야기될 수 있다.

[0031] 상기 자실체 배양은 최초 발이가 발생한 시점을 기준으로 40 내지 60일간 배양할 수 있다. 상기 배양기간에서는 자실체의 중량 26.4 내지 27.5 g, 자실체 길이 54.3 내지 55.1 mm, biological efficiency가 26.2 내지 29.5 %로 나타냈지만, 상기 배양기간에서 40일 이하로 배양할 경우, 자실체 중량 9.8 내지 17.5 g, 자실체 길이 15.1 내지 31.5 mm, biological efficiency가 9.4 내지 16.3 %이며, 상기 배양기간에서 60일 이상으로 배양할 경우, 자실체 중량 19.5 내지 26.5 g, 자실체 길이 30.5 내지 53.5 mm, biological efficiency가 20 내지 25 %로 자실체의 중량 및 길이 생산량에 문제가 야기될 수 있다.

[0032] 상기 동충하초 자실체의 최대 성장량을 위한 최적 배양 조건은 열수 추출된 솔수염하늘소의 투입량, 수분함량 및 배양기간과 하기의 수학적 1과 같은 상관관계를 가지는 것일 수 있다.

[0033] [수학적 1]

$$Y_1 = -244.5075 + 1.8595X_1 + 4.3081X_2 + 2.21867X_3 - 0.0018X_1X_2 - 0.002X_1X_3 - 0.000267X_2X_3 - 0.1487X_1^2 - 0.021388X_2^2 - 0.023522X_3^2$$

[0035] 상기 수학적 1에서 Y_1 은 밀리타리스 동충하초 자실체의 성장량 (g/bottle), X_1 은 열수 추출된 솔수염하늘소의 투입량 (g), X_2 는 수분함량 (%) 및 X_3 는 배양기간 (days)을 나타낸다.

[0037] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0039] <실시예 1> 동충하초 자실체 생산량을 고효율로 증대시키기 위한 고체배지 제조 공정

[0040] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 열수 추출한 솔수염하늘소를 이용한 고체배지 제조방법부터 동충하초 자실체 생산방법까지 나타낸 모식도이다.

[0041] 1. 솔수염하늘소를 이용한 열수 추출방법

[0042] 솔수염하늘소의 열수 추출은 둥근바닥플라스크에서 솔수염하늘소 20 g에 증류수 400g을 투입한 후 냉각관을 연결하여 60 ℃에서 3시간 가열하였다.

[0043] 열수 추출 후, Whatman filter paper (No. 2)를 이용하여 감압 여과하고 잔사를 48시간 실온에서 건조시켰다.

[0044] 이렇게 열수 추출된 솔수염하늘소를 획득하여 고체배지의 원료로 사용하였다.

[0045] 2. 솔수염하늘소를 이용한 고체배지 제조공정

[0046] 귀리 14.7 g, 상기 열수 추출된 솔수염하늘소 5.3 g 및 물 20 g을 첨가하여 혼합한 후에 오토클레이브에서 121 ℃, 30분 동안 고온 멸균하여 배지를 제조하였다.

[0047] 3. 상기 고체배지에 의한 동충하초 자실체의 생산방법

[0048] 사부로오드 텍스트로즈 배지(Sabouraud dextrose broth; 펩톤 10 g, 텍스트로즈 20 g, 증류수 1 L; pH 5.6)에 7일간 액체배양된 동충하초 균사체 현탁액 5 mL를 앞서 준비된 고체배지에 투입 후 24 ℃ 배양기에서 14일간 암배양하였다. 상기 동충하초 균사체는 밀리타리스 동충하초(*Cordyceps militaris*)를 이용하였다.

[0049] 암배양 종료 후, 온도 20 ℃, 습도 60 %, 24시간 형광등 조건의 배양기로 이동한 다음 60일간 자실체를 배양하였다.

[0050] 4. 고체배지 제조 공정에 따른 동충하초 자실체의 발이기간, 원기 수 및 자실체 성숙기

[0051] 발이는 자실체가 형성되는 과정 중 형태적, 기능적으로 성숙하기 이전의 단계를 의미하며, 처음 원기가 발생한 날을 기준으로 발이기간을 기록하게 된다. 성숙기는 도 2와 같이 동충하초 자실체의 끝부분에 헤드가 발생되었

을 때를 의미하며, 헤드는 일반적으로 두께가 두꺼워지고 돌기가 발생된 부분으로 나타낸다.

[0052] 표 1은 고체배지 제조 공정에 따른 동충하초의 자실체의 발이기간, 원기 수 및 자실체 성숙기를 나타낸다. 각 값은 평균 $\pm$ SE (n = 5)로 표시된다.

표 1

고체배지	최초 발이기간, day	원기 수, n	자실체 성숙기, day
술수염하늘소 배지	6.0 $\pm$ 0.0	16.7 $\pm$ 0.6	39.0 $\pm$ 1.0
열수 추출된 술수염하늘소 배지	4.7 $\pm$ 0.6	22.7 $\pm$ 2.1	31.7 $\pm$ 3.1

[0054] 그 결과 동충하초 자실체의 원기 수는 술수염하늘소 또는 열수 추출된 술수염하늘소로 고체배지를 제조했을 때 유의성있게 높은 것으로 확인되었으며, 자실체 성숙기까지의 소요기간이 짧은 것으로 확인되었다. 따라서, 술수염하늘소 고체배지를 제조하는 것이 동충하초 자실체 생산에 효율적인 것으로 판단되며, 바람직하게는 열수 추출된 술수염하늘소 배지를 제조하는 것이 더 효율적이었다.

[0055] 5. 고체배지 제조 공정에 따른 동충하초 자실체의 배, 길이, 자실체 중량 및 biological efficiency

[0056] 표 2는 동충하초 자실체 성장에 대한 고체배지 공정의 영향을 나타냈으며 배지 중량을 포함한 자실체의 중량, 자실체 길이 및 BE(biological efficiency (%)) = fruit body weight/medium weight $\times$ 100)를 나타낸다. 각 값은 평균 $\pm$ SE (n = 5)로 표시된다.

표 2

고체배지	자실체+배지, g	자실체 중량, g	자실체 길이, mm	BE, %
술수염하늘소 배지	127.6 $\pm$ 5.5	26.4 $\pm$ 0.6	54.3 $\pm$ 1.5	26.2 $\pm$ 1.5
열수 추출된 술수염하늘소 배지	123.5 $\pm$ 4.5	27.5 $\pm$ 0.1	55.1 $\pm$ 1.0	29.5 $\pm$ 1.0

[0058] 그 결과, 표 2와 도 3에 따르면, 술수염하늘소 또는 열수 추출한 술수염하늘소를 이용한 고체배지를 이용했을 때, 높은 자실체 길이 및 중량을 나타내는 것으로 확인되었다.

[0059] 또한, 동충하초 자실체 성장의 효율성을 평가를 위해 일반적으로 사용되는 척도인 biological efficiency의 경우, 술수염하늘소 고체배지를 사용했을 때 높은 것으로 확인되었으며, 바람직하게는 열수 추출된 술수염하늘소 배지를 제조하는 것이 더 높은 것을 확인할 수 있었다.

[0061] <실시예 2> 동충하초 자실체 생산량 증대를 위한 고체배지 제조공정의 최적화

[0062] 열수 추출된 술수염하늘소 투입량, 수분함량 및 배양 기간을 변수로 하고, Design-expert version 12를 이용하여 표 3과 같이 동충하초 자실체 생산량을 위한 최적의 코드 및 실측값을 얻었으며, 하기 수학적 식 1을 이용하여 최적 고체배지 제조 조건을 도출하였다.

[0063] [수학적 식 1]

$$Y_1 = -244.5075 + 1.8595X_1 + 4.30810X_2 + 2.21867X_3 - 0.0018X_1X_2 - 0.002X_1X_3 - 0.000267X_2X_3 - 0.1487X_1^2 - 0.021388X_2^2 - 0.023522X_3^2$$

[0065] 상기 수학적 식 1에서 Y_1 은 밀리타리스 동충하초 자실체의 생산량 (g/bottle), X_1 은 열수 추출된 술수염하늘소의 투입량 (g), X_2 는 수분함량 (%) 및 X_3 는 배양기간 (days)을 나타낸다.

[0066] 그 결과, 도출된 회귀식으로부터 동충하초 자실체 생산량을 위한 최적 고체배지 제조 조건을 도 4 및 도 5와 같이 도출할 수 있었으며 귀리 14.7 g, 열수 추출된 술수염하늘소(전건중량기준) 5.3 g, 증류수 20.0 g 및 배양기간 46.4 일의 조건으로 배양할 때, 자실체 생산량이 최대인 것으로 확인되었다.

표 3

RUN	CODED			자실체 중량, g /bottle	
	X ₁	X ₂	X ₃	Y ₁	
8	-1	-1	0	9.9	
15	1	-1	0	11.1	
11	-1	1	0	10.5	
4	1	1	0	10.8	
1	-1	0	-1	15.9	
7	1	0	-1	17.5	
3	-1	0	1	20.1	
9	1	0	1	21.1	
6	0	-1	-1	8.5	
16	0	1	-1	9.5	
10	0	-1	1	8.7	
12	0	1	1	9.3	
2	0	0	0	28.1	
5	0	0	0	27.5	
13	0	0	0	27.0	
14	0	0	0	27.7	
17	0	0	0	28.0	
독립 변수			CODE		
			-1	0	1
X ₁ 열수 추출된 술수염하늘소 투입량, g			0	5	10
X ₂ 수분함량, %			75	100	125
X ₃ 배양기간, days			30	45	60

또한, 표 4에 의한 ANOVA 분석으로 동충하초 자실체 생산을 위한 최적 고체배지 제조 조건에 대한 예측모델의 신뢰성 테스트 결과로 도출된 동충하초 자실체 생산을 위한 최적 고체배지는 자실체 생산량을 최대 27.7225 g/bottle로 예상하였으며, 실측한 결과 28.1 g/bottle의 유사한 자실체 생산량을 나타내었다($R^2=0.8737$).

표 4

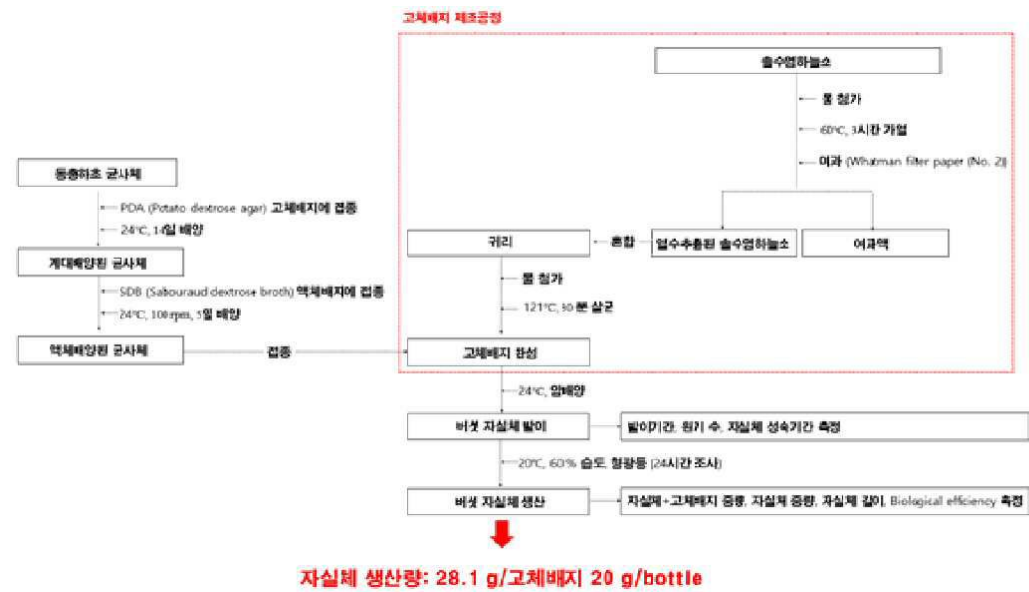
Source	Sum of Squares	df	Mean Squares	F-Value	p-Value	
Model	1010.40	9	112.27	89.92	<0.0001	significant
A - X ₁	2.10	1	2.10	1.68	0.2356	
B - X ₂	0.4512	1	0.4512	0.3614	0.5667	
C - X ₃	7.61	1	7.61	6.09	0.0430	
AB	0.2025	1	0.2025	0.1622	0.6992	
AC	0.0900	1	0.0900	0.0721	0.7961	
BC	0.0400	1	0.0400	0.0320	0.8630	
A ²	58.19	1	58.19	46.61	0.0002	
B ²	752.38	1	752.38	602.63	<0.0001	
C ²	117.94	1	117.94	94.46	<0.0001	
Residual	8.74	7	1.25			
Lack of Fit	7.97	3	2.66	13.76	0.0142	
Pure Error	0.7720	4	0.1930			
Cor Total	1019.14	16				

[0071]

이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1



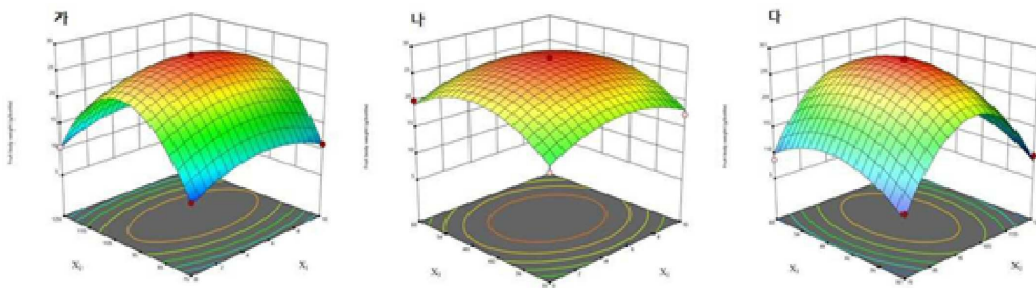
도면2



도면3



도면4



도면5

