Effect of media compositions on carbohydrolase complex production in *Lentinus edodes*

박점석, 최민구, [1]지영민, [2]최정우, 홍억기
강원대학교 바이오산업공학부,
[1]고려대학교 생명 · 유전공학부, [2]서강대학교 화학공학과
전화 (033) 250-6275 FAX (033) 243-6350

Abstract

This study was to investigate the effects of media components on carbohydrolase complex production in liquid culture of *Lentinus edodes*. Glucose and yeast extract, and $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ were selected as carbon, nitrogen, and mineral sources, respectively. The production level of β-glucosidase, one of carbohydrolase complex, was high. On the other hand, β-glucuronidase and β-galactosidase production levels were very low, which remain to be improved.

서론

아라비녹실란은 면역 증진 효과(자연 치유력)가 있는 것으로 백혈구 중에 특히 NK 세포(자연 살상 세포)를 약 9배까지 강화시키고 T임파구의 생산을 자극하는 것으로 보고되었으며, 부작용이 없고 지금껏 발견된 면역 증대 물질 중 가장 강력한 성분이다. 그러나 이러한 아라비녹실란은 미강에 매우 적게 존재하기 때문에 아라비녹실란을 대량으로 생산하기 위해서는 탄수화물 복합효소의 높은 생산수율이 필수적이다. 그렇기 때문에 본 실험에서는 탄수화물 복합효소 생산에 영향을 미치는 배지성분 검토가 실행되어졌다. 검토 결과 탄수화물 복합효소중 β-glucosidase의 생산은 높은 편이나, 나머지 두 효소인 β-glucuronidase, β-galactosidase의 생산이 매우 저조하기 때문에 이 두 효소의 생산을 향상시키기 위한 실험이 진행되어 지고 있다.

재료 및 방법

균주 및 보존

본 실험에 사용된 균주는 표고버섯(*Lentinus edodes*) 자실체로부터 분리하였으며 균주 보관용 배지로는 PDA(potato dextrose agar)를 사용하였다.

배지조성

탄수화물 복합효소의 생산에 있어 배지조성에 따른 영향을 검토하기 위해 탄소원,

질소원, mineral source를 종류별로 변화를 주어 복합효소의 활성을 측정하였다. 탄소원의 영향을 검토할 때는 먼저 질소원으로서 yeast extract를 고정시키고 단당류, 이당류, 다당류를 변화를 주어 발색기질(Chromogenic substrate)을 사용하여 복합효소의 활성을 측정하였다. 질소원의 영향 검토시는 탄소원으로서 glucose를 고정시키고 유기질소원, 무기질소원 각각 종류별로 변화를 주어 복합효소의 활성을 측정하였다. mineral source 는 탄소원 glucose, 질소원 yeast extract를 고정시키고 각각의 mineral source들을 변화를 주어 복합효소의 활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

Fig.1 은 여러 가지 탄소원을 검토한 결과 starch, mannose가 다른 탄소원에 비하여 좋은 결과를 나타냈지만 경제성을 고려하여 볼 때 glucose를 탄소원으로 사용했을 때와 큰 차이가 없었기 때문에 탄소원으로 glucose를 선택했다. Fig.2 는 glucose 농도별로 영향을 살펴본 결과인데 glucose 2%, 3%, 4%에서 cell growth는 좋은 결과를 나타냈지만 복합효소의 활성을 살펴볼 때 glucose 1%에서 보다 좋은 결과를 나타내지 않았기 때문에 복합효소 활성측면에서 볼 때 glucose 1%의 농도가 유리함을 알 수 있었다. Fig.3 에서는 유기질소원을 검토한 결과인데 다른 유기질소원들과 비교해 cell growth나 복합효소의 활성 모두 yeast extract에서 가장 좋은 결과를 나타내 유기질소원으로서 yeast extract를 선정하였고 Fig.4 는 yeast extract 농도별 영향을 검토한 결과 cell growth, 복합효소의 활성 모두 yeast extract 1%에서 가장 좋은 효과를 나타내었다. Fig.5 , Fig.6은 무기질소원과 mineral source 에서의 영향을 검토한 결과 control에 비하여 그다지 좋은 효과를 나타내지 않았기 때문에 검토 대상에서 제외 시켰다. 다만 무기질소원에서 $(NH_4)_2SO_4$에서 glucuronidase, galactosidase의 활성이 좋아 보이기 때문에 yeast extract와 같이 섞어서 영향을 검토해 볼 예정이고, mineral source에서는 $MgSO_4.7H_2O$에서 control에 비해 약간 높아 보이므로 $MgSO_4.7H_2O$ 농도별 영향을 검토할 예정이다.

위에서 검토되어진 배지성분들에서는 그다지 탄수화물 복합효소의 생산수준이 눈에 띄게 좋은 결과를 얻지 못했기 때문에 cellulose, cellobiose, dextrin 등 기타 다른 배지성분의 영향을 더 검토할 예정에 있다.

요약

본 연구는 고수율의 아라비녹실란을 얻기위해 필수요소인 *Lentinus edodes*의 액체배양을 통해 생산되어지는 탄수화물 복합효소의 생산수율을 증대시키는데 그 목적이 있다. 그러기 위해 탄수화물 복합효소의 생산에 배지성분이 미치는 영향을 검토 하였다.

References

1. Sheldon J.B. Duff and David G. Cooper and O. Maynard Fuller, "Effect of media composition and growth conditions on production of cellulase and β-glucosidase by a mixed fungal fermentation. Enzyme Microb. Technol., 1987, vol. 9, January 47-52
2. Huizhong Chen, Marianne Hayn and Hermann Esterbauer, "Purification and characterization of two extracellular β-glucosidase from *Trichoderma reesei*. Biochimica et Biophysica Acta, 1121(1992) 54-60
3. W. Grajek, "Hyperproduction of thermostable β-glucosidase by *Sporotrichum (Chrysosporium) thermophile*. Enzyme Microb. Technol., 1987, vol. 9, December 744-748
4. Chris A. Wozniak and Lowell D. Owens, "Native β-glucuronidase activity in sugarbeet(*Beta vulgaris*). Physiologia Plantarum 90 : 763-771. 1994
5. A. Martinez, O.T. Ramirez, F. Valle, "Improvement of culture conditions to overproduce β -galactosidase from *Escherichia coli* in *Bacillus subtilis*. Appl Microbiol Biotechnol (1997) 47 : 40-45

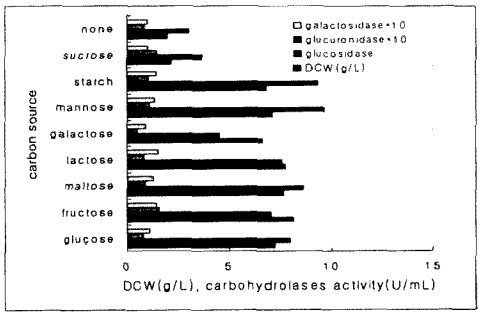

Fig 1. Effect of carbon source on the cell concentration on the growth and carbohydrolases production.

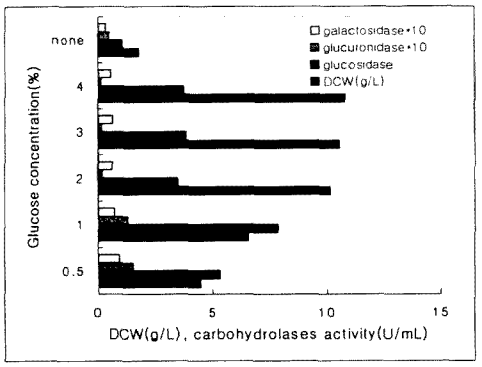

Fig 2. Effect of glucose cell growth and carbohydrolases production.

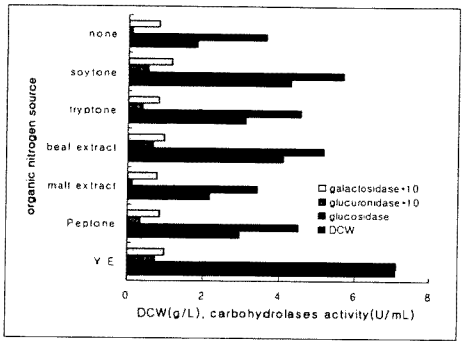

Fig 3. Effect of organic nitrogen source on the cell growth and carbohydrolases production

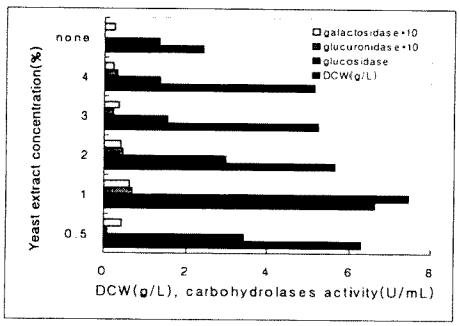

Fig 4. Effect of yeast extract concentration on the cell growth and carbohydrolases production

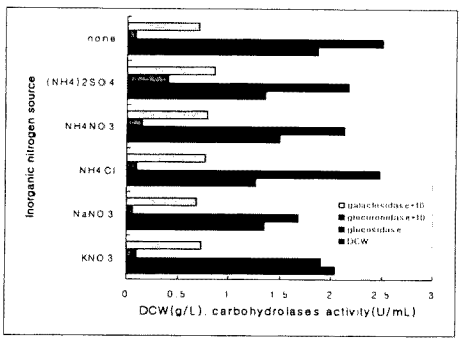

Fig 5. Effect of inorganic nitrogen source on the cell growth and carbohydrolases production

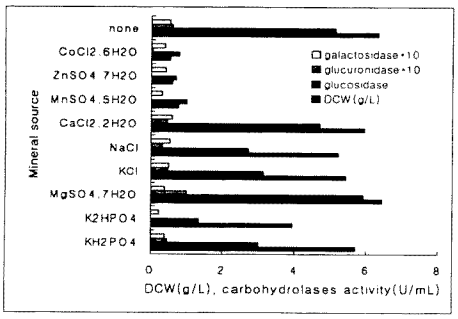

Fig 6. Effect of mineral source on the cell growth and carbohydrolases production