

느타리버섯균의 Trehalose 합성(I)

—培養 條件—

洪載植·尹世億·金英秀·李種培

全北大學校 食品加工學科

Synthesis of Trehalose by *Pleurotus* spp.

—Cultural conditions—

Jai-Sik Hong, Se-Eok Yun, Young-Soo Kim and Jong-Bae Lee

Department of Food Science and Technology, Chonbuk National

University, Chonju 520, Korea

ABSTRACT: Nutritional characteristics and cultural conditions for trehalose synthesis and mycelial yield of *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus ostreatus* 201 in submerged culture were investigated. The results were as follows: Among the carbon sources, glucose was most excellent for trehalose synthesis and mycelial yield. The optimal concentration of glucose was 1%. Among the nitrogen sources, peptone was most excellent for trehalose synthesis and mycelial yield. The optimal concentration of peptone was 0.05%. The optimal concentration of KH_2PO_4 and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ for trehalose synthesis and mycelial yield was 0.1%, 0.04% and 0.2%, 0.04-0.08%, respectively. The optimal temperature and pH for trehalose synthesis were 25°C and pH 5.5, but optimal temperature and pH for mycelial yield were 30°C and pH 5.5. The maximum yield of trehalose was obtained after 10 day cultivation.

KEYWORDS: Trehalose synthesis, Mycelial yield, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus ostreatus* 201

Trehalose는 D-glucosyl-D-glucoside로 $\alpha, \alpha, \alpha, \beta, \beta, \beta$ -glycoside의 세가지 形態로 존재가 가능하다. α, α -trehalose만이 自然에 널리 퍼져있는 공통된 이성체이며 최근에 α, β -trehalose가 벌꿀과 royal jelly에서 分離되었다(Lee, 1982). 이러한 trehalose는 19世紀에 Bouroquelot의 研究이래로 곰팡이에서 polyols와 함께 發見된 것으로 알려져 있다(Hill 등, 1963).

Sussman(1966)에 의하면 *Neurospora*의 子囊胞子에 trehalose가 약 5~10% 含有되어 있는데 發芽하는 동안에 급격히 分解, 利用되어 소모되나 子囊胞子が 形成되기 시작하면서 부터 trehalose의 再合成이 일어나며 休眠期の 子囊胞子에서는 지질이 內因性 基質로서 利用되어 수년간 子囊胞子를 貯藏한 後에도 trehalose는 利用되지 않는다.

Trehalose는 *Neurospora*외에도 酵母, 곰팡이, 몇몇 무척추동물 등을 비롯하여 子囊菌類의 胞子 등에

축적되어 있다고 報告되었다(Birch, 1963).

이들 微生物 體内に 含有되어 있는 trehalose와 일부의 glycogen은 주로 에너지 貯藏源으로서의 機能을 가지며 幼蟲에서는 trehalose가 chitin 合成의 炭素源으로 알려져 있다(Roth 등, 1968; Elbein 등, 1973; Wright 등, 1975; Elbein, 1967; Murphy 등, 1965).

Pollock 등(1951)은 Active dry yeast 細胞의 trehalose 含量은 窒素制限 培地에 培養함으로써 크게 增加된다고 報告하였고 Trevelan과 Harrison(1956)은 酵母培養 實驗에서 同化할 수 있는 窒素源이 없을 때는 trehalose가 많이 合成된다고 했으며, Panek(1962)은 *Saccharomyces cerevisiae*의 trehalose 合成實驗에서 窒素源의 존재하에서는 酵母가 아미노산과 trehalose를 合成하는데 Glucose-6-Phosphate가 두 物質의 공통적인 中間物質이기 때문에 아미노산 合成이 일어나지 않으면 trehalose가

많이 합성되고 이와는 반대로 trehalose 합성이 일어나지 않으면 Glucose-6-Phosphate는 대부분 amino acid를 합성한다고 하였다.

Osamu Nimi 等(1984)은 pH-stat batch culture에서 glucose가 존재하는 한 細胞내의 trehalose량은 증가하지만 glucose가 소모된 후에는 trehalose의 소비가 시작된다고 했으며 곰팡이에 있어서도 glucose 혹은 sucrose를 함유한 培地에 培養하면 菌體의 증식과정에서 이들 糖을 炭素源과 에너지원으로 利用하기 때문에 菌體내에는 trehalose, polyols가 축적된다.

이상과 같이 곰팡이 胞子나 酵母菌體 및 버섯균의 자실체내의 trehalose 함량에 관해서는 報告된 바가 있으나 버섯 菌體內의 trehalose 함량에 대해서는 報告된 바가 없기 때문에 자실체 형성과 trehalose 합성과의 관계, 아미노태 窒素와 trehalose 합성과의 관계 및 trehalose의 중간대사물을 確認하기 위한 기초 實驗으로 본 研究에서는 여름철에 재배하고 있는 느타리버섯인 *P. sajor-caju*와 가을철에 재배하고 있는 *P. ostreatus* 201을 利用하여 合成培地의 炭素源, 窒素源, 無機物, 溫度, pH 및 培養期間 등을 달리하였을 때 버섯 菌體內의 trehalose 합성과 菌體량에 미치는 影響을 檢討하여 약간의 結果를 얻었기에 報告하고자 한다.

材料 및 方法

供試菌株

全北大學校 農科大學 醱酵微生物學 研究室에 保管하고 있는 *Pleurotus sajor-caju*와 *Pleurotus ostreatus* 201을 供試菌株로 使用하였다.

培地의 調製

1) 保存培地 組成

malt extract 2%, yeast extract 0.5%, agar 1.5%, pH 5.5

2) 定置培養培地

炭素源 實驗은 基本培地의 glucose 대신에 各種 糖類를 1%씩 加하여 調製하였고 glucose 濃度實驗은 glucose를 0.25~1%되게 調製하였으며 窒素源 實驗은 基本培地의 peptone 대신에 各種 窒素源을 窒素량이 0.026%되게 하고 窒素源 濃度實驗은 peptone을 0.05~0.2%까지 되게하여 調製하였다. 그리고 無機鹽類 實驗에서 KH_2PO_4 는 0.01~0.5%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 는 0.01~0.16%까지 되게 하였고 pH

Table I. Composition of the basal medium

| | |
|--|---------|
| Glucose | 1 % |
| Peptone | 0.2% |
| KH_2PO_4 | 0.1% |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ | 0.02% |
| Thiamine HCl | 0.05mg% |
| pH | 5.5% |

는 pH比較實驗을 제외하고는 모든 實驗은 pH 5.5로 調整하였다.

培養方法

基本培地에 保存菌株를 一定量 接種하여 27°C暗所에서 7日間 種培養하여 이를 waring blender(5,000 rpm)로 2分間 磨碎하고 이 懸濁液을 各種 培地에 5 ml씩 接種하여 培養溫도와 培養期間別 實驗을 제외하고는 27°C에서 10日間 培養하였다.

Trehalose의 定量

乾燥菌體는 癱醉한 후 菌體 1g에 80% ethanol 10배량을 가하여 100°C 수조에서 1시간씩 2회 抽出, 濾過하고 濾液 일정량을 取하여 HCl 濃도가 5%로 되게 가한 후 100°C에서 3시간 加水分解 한 다음 中和하였다. 菌體중의 trehalose 동정은 HPLC(waters, U. S. A.)를 利用하여 확인하였고 trehalose 정량은 酸加水分解전 的 濾液을 대조구로 하여 Somogyi-Nelson法(Somogy; 1952)으로 비색 定量하였다(三宅 등, 1971).

菌體의 定量

前述한 바와같이 培養한 菌體를 濾紙로 濾過한 후 蒸留水로 수회 水洗한 다음 70°C vacuum oven에서 乾燥, 稱量하여 菌體量으로 하였다.

結果 및 考察

炭素源의 影響

合成培地의 炭素源을 달리하여 *P. sajor-caju*와 *P. ostreatus* 201을 培養하였을 때 菌體내의 trehalose 합성과 菌體량을 調査한 結果는 Table II와 같다.

Table II와 같이 兩菌株의 菌體내의 trehalose 合成은 일반적으로 *P. sajor-caju*가 많았으며 炭素源別로는 兩菌株 모두 glucose, maltose에서 현저하게 많았고 그 다음이 sucrose였으며 mannitol과 rhamnose에서는 trehalose 合成이 아주 적었다. 특

Table II. Effect of carbon sources on the synthesis of trehalose and mycelial yield

| Strains Carbon sources | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>Sajor-caju</i> Mycelium (mg/50ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Mycelium (mg/50ml) |
|---------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| Xylose | 2.55 | 136.7 | 3.27 | 147.6 |
| Arabinose | 1.52 | 97.3 | 1.75 | 100.5 |
| Glucose | 8.78 | 151.7 | 5.87 | 163.5 |
| Mannose | 4.86 | 142.9 | 2.23 | 153.6 |
| Fructose | 3.35 | 123.7 | 0.70 | 149.1 |
| Rhamnose | 0.74 | 57.8 | 0.01 | 72.1 |
| Maltose | 8.52 | 140.4 | 5.81 | 138.0 |
| Sucrose | 5.83 | 100.6 | 3.71 | 113.8 |
| Soluble starch | 4.94 | 92.7 | 1.26 | 78.9 |
| Mannitol | 0.01 | 99.8 | 0.82 | 116.3 |
| Sorbitol | 1.33 | 87.6 | 2.63 | 92.9 |

히 glucose와 maltose에서 trehalose 합성이 많은 이유는 trehalose가 α, α -diglucoside로 되어있기 때문에 glucose 분자를 가진 炭素源이 유리한 것이 아닌가 생각된다. 菌體量은 일반적으로 *P. ostreatus* 201이 모든 炭素源중에서 많은 경향을 보였으며 sugar alcohol을 炭素源으로 했을 때는 菌體量에는 큰 변화가 없었으나 trehalose 합성은 아주 적었다. Yoshiaki 등(1981)은 *Porodisculus pendulus*를 液體培養했을 때 glucose, mannose, fructose 등이 菌體生産에 적절한 炭素源이라고 報告한 바 있는데 本實驗에서도 이와 유사한 경향을 보였다.

Glucose 濃度の 影響

基本培地の 炭素源중에서 trehalose의 合成과 菌體生育이 良好한 glucose의 濃度を 0.25~1%로 하여 培養하였을 때 trehalose 合成과 菌體量에 미치는

影響을 調査한 結果는 Table III과 같다.

Table III과 같이 兩菌株에서 炭素源을 添加하지 않았을 때는 trehalose 合成이 아주 적었으나 炭素源의 濃도가 增加함에 따라서 trehalose의 合成도 점진적으로 增加하였다. Osamu Nimi 등(1984)은 pH stat batch culture에서 培地の glucose 含量이 많을 때는 trehalose量은 점진적으로 增加된다고 하였고 黃(1970)은 *S. cerevisiae* Rasse O의 實驗에서 糖含量이 많은 培地에서 培養한 酵母菌體의 trehalose 含量이 높다고 報告하였는데 本實驗에서도 같은 추세를 보였다. 菌體는 glucose를 添加하지 않았을 때도 兩菌株 모두 生育할 수 있었고 glucose 濃도에 따라서 점진적으로 菌體量이 增加되었으며 이 중에서도 *P. ostreatus* 201의 菌體量이 더 많았다.

窒素源의 影響

1) 有機態 및 無機態 窒素의 影響

Table III. Effect of glucose concentration on the synthesis of trehalose and mycelial yield

| Strains Glucose conc. (%) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>Sajor-caju</i> Mycelium (mg/50ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Mycelium (mg/50ml) |
|---------------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| None | 0.65 | 83.6 | 0.71 | 95.8 |
| 0.25 | 4.82 | 109.4 | 3.08 | 121.7 |
| 0.5 | 5.76 | 120.9 | 4.64 | 145.3 |
| 0.75 | 7.94 | 148.4 | 5.33 | 160.2 |
| 1 | 8.59 | 155.6 | 5.72 | 164.2 |

合成培地の窒素源을 달리하여 *P. sajor-caju*와 *P. ostreatus* 201을 培養하였을 때 菌體內的 trehalose 合成과 菌體生育에 미치는 影響을 調査한 結果는 Table IV와 같다.

Table IV와 같이 有機態窒素중에서는 兩菌株 모두 peptone에서 trehalose 合成이 제일 良好하였고 암모니아態窒素중에서는 *P. sajor-caju*는 $(NH_4)_2HPO_4$ 에서, *P. ostreatus* 201은 $(NH_4)_2SO_4$ 에서 다소 높았으며 窒酸態窒素에서는 菌體生育은 아주 부진하나 trehalose 合成은 $NaNO_3$ 에서 兩菌株 모두 다소 높은 傾向을 보였으며 *P. sajor-caju*에서는 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, NH_4NO_3 에서 *P. ostreatus* 201에서는 Urea에서 제일 不良하였다. 菌體量은 일반적으로 無機態窒素보다 有機態窒素에서 많았고 이중

에서도 peptone이 제일 많았으며 암모니아態窒素중에서는 $(NH_4)_2HPO_4$, 窒酸態窒素중에서는 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 에서 兩菌株 모두 다소 높았으며 菌株別로는 casamino acid를 제외하고는 *P. ostreatus* 201에서 일반적으로 菌體量이 많았다. Yutaka 等 (1975)은 *Psilocybe panaeoliformis*의 菌體培養에서 peptone, casamino acid가 가장 良好한 窒素源이라고 報告한 바 있는데 本 實驗結果에서도 이와같은 傾向을 나타냈다.

2) 아미노산의 影響

基本培地の 窒素源을 各種 아미노산으로 代치하여 *P. sajor-caju*와 *P. ostreatus* 201을 培養했을 때 菌體內的 trehalose 合成과 菌體量을 調査한 結果는 Table V와 같다.

Table IV. Effect of nitrogen sources on the synthesis of trehalose and mycelial yield

| Strains Nitrogen sources | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>sajor-caju</i> Trehalose (mg/50 ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Mycelium (mg/50ml) |
|-----------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| Peptone | 8.70 | 153.7 | 5.79 | 162.4 |
| Casamino acid | 3.01 | 132.7 | 2.74 | 118.6 |
| Urea | 3.17 | 93.8 | 0.49 | 101.3 |
| $(NH_4)_2HPO_4$ | 3.42 | 113.2 | 1.07 | 142.1 |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 0.74 | 72.9 | 1.62 | 81.3 |
| $Ca(NO_3)_2 \cdot 4 H_2O$ | 0.09 | 76.3 | 1.86 | 98.9 |
| $NaNO_3$ | 4.93 | 28.9 | 2.01 | 33.7 |
| KNO_3 | 1.44 | 43.9 | 0.64 | 62.8 |
| NH_4NO_3 | 0.44 | 25.1 | 0.79 | 31.9 |

Table V. Effect of amino acids on the synthesis of trehalose and mycelial yield

| Strains Amino acids | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>sajor-caju</i> Mycelium (mg/50ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Mycelium (mg/50ml) |
|------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| Aspargine | 1.08 | 119.9 | 3.46 | 110.6 |
| DL-threonine | 0.96 | 83.7 | 1.15 | 90.8 |
| Glycine | 1.82 | 80.4 | 5.28 | 83.7 |
| DL-alanine | 2.96 | 93.8 | 0.74 | 99.5 |
| L-leucine | 0.84 | 53.7 | 1.85 | 59.9 |
| L-isoleucine | 0.22 | 43.2 | 1.43 | 50.2 |
| DL-valine | 2.36 | 40.7 | 1.55 | 58.4 |
| DL-methionine | 0.92 | 30.6 | 1.09 | 34.5 |
| L-serine | 1.04 | 73.4 | 3.31 | 80.1 |

Table V와 같이 trehalose의 합성은 有機態窒素인 peptone에 比하면 현저하게 減少되었고 *P. sajor-caju*에서는 여러 아미노산중에서 alanine, valine에서 다소 높은 편이며 *P. ostreatus* 201에서는 glycine은 peptone과 거의 같은 trehalose를 合成할 수 있었고 그 다음으로는 asparagine, serine이 良好한 편이었다. 菌體量은 兩菌株 모두 Asparagine이 제일 많았고 그 다음으로 alanine이었다.

Peptone 濃度の 影響

基本培地の 窒素源중에서 trehalose 合成과 菌體生育이 良好한 peptone의 濃도를 0.05~0.2%로 하여 培養할 때 trehalose 合成과 菌體量에 미치는 影響을 檢討한 結果는 Table VI과 같다.

Table VI과 같이 peptone 濃度の 增加에 따라서 trehalose 合成은 兩菌株에서 모두 점진적으로 減少하는 傾向이었고 peptone 無添加培地에서는 糖無添加培地보다 菌體量은 다소 적었으나 trehalose 合成은 많았는데 이는 trehalose 合成을 위해서는 窒素源보다는 炭素源이 필요함을 말해주고 있다.

Pollock 等(1951)은 active dry yeast 製造過程에서 細胞內 trehalose 含量은 培地の 窒素源濃도를 制限하여 培養함으로써 크게 增加한다고 報告하였는데 本 實驗結果도 이와 잘 一致하였다. 菌體量은 trehalose 合成과는 반대로 peptone 濃度の 增加에 따라서 점진적으로 增加되었으며 *P. sajor-caju*보다 *P. ostreatus* 201이 다소 높은 傾向을 나타냈다.

KH₂PO₄의 影響

基本培地の KH₂PO₄ 濃도를 0.01~0.5%로 하여 *P. sajor-caju*와 *P. ostreatus* 201을 培養하였을 때 菌體內的 trehalose 合成과 菌體量을 調査한 結果는 Table VII과 같다.

Table VII과 같이 trehalose 合成은 兩菌株 모두 KH₂PO₄ 0.1%에서 제일 良好하였고 그 이상과 이하에서는 점진적으로 減少하였으며 無添加培地에서는 아주 적은 量의 trehalose만을 合成할 수 있었다. 菌體生育은 trehalose 合成과는 달리 0.2%에서 兩菌株 모두 良好하였고 이 濃度 範圍를 벗어나면 점진적으로 減少추세를 보였다. KH₂PO₄ 無添加培地에서는 MgSO₄·7H₂O 無添加培地보다 菌體收率이 상

Table VI. Effect of peptone concentration on the synthesis of trehalose

| Strains Peptone conc. (%) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>sajor-caju</i> Mycelium (mg/50ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Mycelium (mg/50ml) |
|---------------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| None | 2.37 | 43.2 | 2.08 | 46.8 |
| 0.05 | 10.57 | 73.6 | 7.42 | 85.1 |
| 0.1 | 9.71 | 97.9 | 7.03 | 108.3 |
| 0.15 | 9.19 | 120.4 | 6.28 | 133.4 |
| 0.2 | 8.52 | 147.2 | 5.66 | 157.8 |

Table VII. Effect of KH₂PO₄ concentration on the synthesis of trehalose and mycelial yield

| Strains KH ₂ PO ₄ conc. (%) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>sajor-caju</i> Mycelium (mg/50ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Mycelium (mg/50ml) |
|---|--------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| None | 1.22 | 90.1 | 1.51 | 93.2 |
| 0.01 | 7.66 | 124.8 | 5.64 | 135.8 |
| 0.05 | 8.47 | 137.6 | 5.43 | 151.1 |
| 0.1 | 8.65 | 153.5 | 5.62 | 160.7 |
| 0.2 | 8.23 | 168.6 | 4.95 | 179.8 |
| 0.3 | 7.91 | 159.8 | 3.84 | 170.9 |
| 0.5 | 7.08 | 138.1 | 3.76 | 152.3 |

Table VIII. Effect of $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ concentration on the synthesis of trehalose and mycelial yield

| Strains MgSO ₄ ·7H ₂ O conc | <i>Pleurotu</i> Trehalose (%) | <i>sajor-caju</i> Mycelium (mg/50ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Myc'um (mg/50ml) |
|---|-------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| None | 2.55 | 120.8 | 2.28 | 125.6 |
| 0.01 | 6.74 | 149.0 | 5.72 | 157.5 |
| 0.02 | 8.59 | 156.3 | 5.93 | 168.9 |
| 0.04 | 8.41 | 160.4 | 6.21 | 175.3 |
| 0.08 | 7.51 | 160.7 | 5.28 | 169.8 |
| 0.12 | 5.94 | 158.4 | 3.96 | 150.9 |
| 0.16 | 4.80 | 147.3 | 2.88 | 142.7 |

Table IX. Effect of cultural temperature on the synthesis of trehalose and mycelial yield

| Strains Temp. (°C) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>sajor-caju</i> Mycelium (mg/50ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Mycelium (mg/50ml) |
|--------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| 15 | 2.03 | 80.6 | 2.19 | 92.8 |
| 20 | 7.05 | 113.7 | 4.41 | 120.9 |
| 25 | 8.28 | 150.0 | 5.54 | 165.0 |
| 30 | 7.17 | 151.3 | 5.02 | 169.9 |
| 35 | 1.36 | 65.9 | 1.97 | 87.8 |

당히 減少됨을 알 수 있었다.

MgSO₄·7H₂O의 影響

基本培地の MgSO₄·7H₂O의 濃度を 0.01~0.16%로 하여 *P. sajor-caju*와 *P. ostreatus* 201을 培養하였을 때 菌體내의 trehalose 合成과 菌體量을 調査한 結果는 Table VIII과 같다.

Table VIII과 같이 trehalose 合成은 *P. sajor-caju*인 경우 MgSO₄·7H₂O 0.02~0.04%에서 가장 우수하였고 *P. ostreatus* 201인 경우 *P. sajor-caju*보다는 다소 떨어지나 0.04%에서 良好하였으며 이보다 높은 0.16%에서는 현저한 減少를 보였으나 이보다 낮은 濃度에서는 큰 變化가 없었다.

菌體生育은 *P. sajor-caju*에서는 MgSO₄·7H₂O 0.04~0.08%로 trehalose의 경우보다는 다소 높은 濃度에서 良好했고 *P. ostreatus* 201에서는 MgSO₄·7H₂O 0.04%에서 가장 良好하였으며 MgSO₄·7H₂O 無添加區에서 trehalose 合成은 현저한 減少를 보였으나 菌體收率에는 큰 變化가 없는 것 같았다.

培養溫度의 影響

*P. sajor-caju*와 *P. ostreatus* 201의 培養溫度를 달리하여 培養할 때 trehalose 合成과 菌體量에 미치는 影響을 調査해 본 結果는 Table IX와 같다.

Table IX와 같이 trehalose 合成은 25°C로 培養했을 때 兩菌株에서 모두 良好하였고 35°C에서는 菌體生育도 부진했을 뿐 아니라 trehalose 合成도 현저하게 減少하였는데 이는 낮은 溫度에서 보다는 높은 溫度에서 더 심한 減少現象을 보였다. 菌株別로는 *P. sajor-caju*가 *P. ostreatus* 201보다도 상당히 높았다. 菌體生育은 trehalose 合成보다도 溫度폭이 넓어 25~30°C에서 제일 良好하였고 그 이상의 溫度에서는 현저한 減少現象을 보였으며 菌體收率은 trehalose 合成과는 달리 *P. ostreatus* 201이 *P. sajor-caju*보다 더 높았다.

培地の 初期 pH의 影響

培地の 初期 pH가 兩菌株의 trehalose 合成과 菌體量에 미치는 影響을 調査한 結果는 Table X과 같다

Table X. Effect of initial pH of medium on the synthesis of trehalose and mycelial yield

| Strains Initial pH | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>sajor-caju</i> Mycelium (mg/50ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Mycelium (mg/50ml) |
|--------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| 4.0 | 4.83 | 118.7 | 3.03 | 135.9 |
| 4.5 | 5.77 | 125.8 | 3.95 | 153.1 |
| 5.0 | 8.27 | 148.2 | 4.39 | 162.3 |
| 5.5 | 8.53 | 155.0 | 5.71 | 170.0 |
| 6.0 | 6.35 | 150.3 | 4.10 | 167.2 |
| 6.5 | 6.04 | 145.2 | 2.31 | 165.7 |
| 7.0 | 2.08 | 140.8 | 1.78 | 163.4 |

Table XI. Change in trehalose content and mycelial yield during the cultivation periods

| Strains Cultivation days | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>sajor-caju</i> Mycelium (mg/50ml) | <i>Pleurotus</i> Trehalose (%) | <i>ostreatus</i> 201 Mycelium (mg/50ml) |
|--------------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|---|
| 8 | 8.07 | 132.5 | 5.79 | 140.8 |
| 10 | 8.50 | 153.6 | 5.94 | 169.2 |
| 12 | 8.25 | 160.8 | 5.89 | 182.4 |
| 14 | 8.10 | 165.7 | 5.62 | 193.6 |
| 16 | 7.98 | 164.2 | 5.58 | 190.7 |

Table X과 같이 trehalose 합성은 낮은 pH에서는 다소 저조하였으나 pH가 점진적으로上昇함에 따라 trehalose 합성도 증가하여 pH 5.5에서 兩菌株 모두 정도의 차이는 있으나 最高의 수치를 나타내었고 그 이상의 pH에서는 점진적으로 減少하다가 pH 7.0에서는 현저한 減少를 나타내었다. 菌體의 生育은 兩菌株 모두 pH 5.5에서 가장 良好하였고 pH 4.0에서도 菌體의 收率은 큰 減少를 나타내지 않았으며 pH 7.0에서도 trehalose 합성과는 달리 兩菌株에서 모두 현저한 변화를 볼 수 없었다.

培養期間의 影響

*P. sajor-caju*와 *P. ostreatus* 201을 培地의 最適條件하에서 8~16日間 培養하여 trehalose 합성과 菌體量을 調査한 結果는 Table XI과 같다.

Table XI과 같이 兩菌株 모두 10日間 培養하였을 때 trehalose 합성이 제일 많았고 培養期間이 經過함에 따라서 점진적으로 減少의 추세를 보였는데 이는 培地內의 糖이 含有되어 있을 때는 trehalose 합성이 증가하나 培地의 糖이 消費되어있지 않으면 菌

體內에 合成된 trehalose가 서서히 分解하여 微生物의 에너지원으로 使用되기 때문에 減少되는 것이 아닌가 추정된다. 菌體量은 trehalose 합성과는 달리 14일까지는 培養期間에 따라서 점진적으로 增加되었으나 그 이후부터는 兩菌株 모두 減少하는 경향을 나타냈다.

摘 要

合成培地에서 *P. sajor-caju*와 *P. ostreatus* 201의 培養條件을 달리하여 培養할 때 trehalose 합성과 菌體量의 變化를 調査한 結果는 다음과 같다.

1. Trehalose 합성에 適合한 炭素源은 兩菌株 모두 glucose였고 그 다음이 maltose였으며 glucose 最適농도는 1%였다. 菌體收率은 높은 炭素源은 glucose, maltose 순이었다.

2. Trehalose 합성에 適合한 窒素源은 兩菌株 모두 peptone이었고 그 濃度는 0.05%였으며 菌體收率은 peptone, casamino acid, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 순으로

로 높았다.

3. Trehalose 合成에 適合한 KH_2PO_4 와 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 의 濃度는 兩菌株 모두 0.1%, 0.04%였고 菌體收率은 KH_2PO_4 0.2%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04~0.08%가 높았다.

4. Trehalose 合成에 適合한 溫度와 pH는 25°C, pH 5.5였고 菌體收率은 30°C, pH 5.5에서 높았으며 trehalose 合成은 10日間 培養했을 때 菌體收率은 14日間 培養했을 때가 가장 良好하였다.

參考文獻

- Birch, G.G.(1963): Trehalose, *Advan. Carbohydr. Chem.* **18**:201-225.
- Elbein, A.D.(1967): Carbohydrate metabolism in *Streptomyces hygroscopicus*. *J. Biol. Chem.* **242**: 403-406.
- Elbein, A.D. and M. Mitchell(1973) : Levels of glycogen and trehalose in *Mycobacterium smegmatis* and the purification and properties of the glycogen synthetase. *J. Bacteriol.* **113** :863-873.
- Hill, E.P. and A.S. Sussman(1963): Purification and properties of trehalose form *Neurospora* *Arch. Biochem. Biophys.* **102** :389-396.
- Lee, C.K.(1982): Developments in food carbohydrate-2. Applied Science Publishers Ltd. London. p.1.
- Murphy, T.A. and G.R. Wyatt(1965): The enzymes of glycogen and trehalose synthesis in silk moth fat body. *J. Biol. Chem.* **240** : 1500-1508.
- Osamu, N., A. Yoshiyuki, I. Atsushi, Y. Yoshinori and S. Masanori(1984): Intracellular accumulation of trehalose during streptomycin formation by *Streptomyces griseus*. *Agric. Biol. Chem.* **48**: 285-290.
- Panek, A.(1962): Synthesis of trehalose by baker's yeast. *Arch. Biochem. Biophys.* **98** :349-355.
- Pollock, G.E. and C.D. Holmstrom(1951): The trehalose content and the quality of active dry yeast. *Cereal Chem.* **28** : 498-505.
- Roth, R. and M. Sussman(1968): Trehalose -6-phosphate synthetase and its regulation during slime mold development. *J. Biol. Chem.* **243** : 5081-5087.
- Somogyi, M.(1952): Notes on sugar determination *J. Biol. Chem.* **185**:19-23.
- Sussman, A.S.(1966): Types of dormancy as represented by conidia and ascospores of *Neurospora*. In the fungus spore. 235-256. edited by M.F. Madelin.
- Trevelyan, W.E. and J.S. Harrison(1956): Studies on yeast metabolism. *Biochem. J.* **62**:177-183.
- Wright, B.E. and David J.M. Park(1975): An analysis of the kinetic positions held by five enzymes of carbohydrate metabolism in *Dictyostelium discoideum*. *J. Biol. Chem.* **250**:2219-2226.
- Yoshiaki, I., M. Michiko, K. Koichiro, M. Yoichi and K. Takuro(1981): Effect of medium components and cultural conditions on the production of polysaccharide by *Porodisculus pendulus* and mycelium growth. *Agric. Biol. Chem.* **45**(3):653-657.
- Yutaka, K., H. Takao, H. Noboru and I. Yoshio(1975): Nutritional study of fruit-body formation in *Psilocybe panaeoliformis*. *Trans. Mycol. Soc. Japan* **16**:268 -281.
- 三宅義雅, 伊藤敏子(1971) : 酵母におけるトレハロースの生理作用, 日本 農藝化學會誌 **45**(9) : 393-397.
- 황규찬(1970) : *Saccharomyces cerevisiae* Rasse O의 培養條件과 trehalose를 中心으로 한 菌體成分과의 關係에 對하여 韓國微生物學會誌 **8** :85-89.

Accepted for Publication 15 September 1987