

## *Lenzites betulina* 에 의한 Tannase 생산 및 성질에 관한 연구

홍재식\* · 김명곤 · 윤 숙 · 김금재<sup>1</sup> ·곽인구

전북대학교 식품공학과, <sup>1</sup>전북대학교 간호학과

### Production and Properties of Tannase from *Lenzites betulina*

Hong, Jai-Sik, Myung-Kon Kim, Sook Yoon, Keum-Jae Kim<sup>1</sup> and In-Gu Kwak

Department of Food Science & Technology, Chonbuk National University, Chonju, 560-756, Korea

<sup>1</sup>Department of Nursing, Chonbuk National University, Chonju, Korea

Six species under the basidiomycetes were screened for extracellular tannase (tannin acyl hydrolase EC 3.1. 1.20) production in submerged culture and *Lenzites betulina* was found to be most effective for the production of tannase. The optimum cultural conditions for tannase production were 25°C, pH 6.0 and 21 days of culture period. The efficient composition of culture medium for the production of tannase was performed in synthetic medium containing tannic acid, 2g; sucrose, 5g; bacto-peptone, 2g; KH<sub>2</sub>HO<sub>4</sub>, 2g; MgSO·7H<sub>2</sub>O, 0.5g; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 2 mg; thiamine HCl, 100 ug and distilled water 100 ml. The tannase produced from *Lenzites betulina* was 223.3 unit (umole of gallic acid/ml of broth/min). The tannase had an optimal reaction conditions of pH 6.0 and temperature of 40°C. The enzyme was stable at temperature below 40°C and lost its activity by 50% above 60°C. And the stable pH range was 5.5 to 6.0.

식물체의 줄기, 잎, 뿌리 등에 존재하는 tannin 은 polyphenolic compound 의 일종으로 식품가공시 침전 및 혼탁물을 형성하고 짙은 맛을 주며 식품가공시 많은 장애를 일으킨다(1). 또한, tannin 은 단백질과 결합하는 능력이 강하므로 단백질의 소화를 억제하고 vit. B<sub>12</sub> 와 complex 를 형성하여 장내 흡수를 저해하며, 소화효소 단백질과 결합하여 효소의 활성을 억제함으로써 궁극적으로는 동물의 성장을 억제하는 해로운 물질로 알려져 있다(2). Tannase(tannin acyl hydrolase, EC 3.1.1.20)는 tannin 을 가수분해하여 gallic acid 와 glucose 를 생산하는 것으로 알려져 있으며(3), 세균류(4), 사상균류(5, 6)와 효모류(7, 8) 중에서 그 존재가 확인되고 있다. 이들 미생물이 생산하는 tannase 에 관한 연구로 사상균류에서는 *Asp. oryzae* (6, 9), *Asp.*

*flavus* (5), *Asp. niger* (10-12), *Pen. chrysogenum* (13, 14) 등에 의한 tannase 생산에 관한 보고가 있으며, 효모의 경우 *Candida* sp. K-1 의 배양물로부터 이화학적 성질이(15) 보고된 바 있다. Tannase 의 응용에 관한 연구로는 세균을 이용한 chestnut tannin 의 효소적 분해(4), 음료나 맥주의 안정화를 위한 phenol 물질의 효소적 제거(16, 17), propyl gallate 와 같은 antioxidant 의 효소적 합성(18, 19), tea 의 tannin 제거(20) 등이 있다. 그러나 국내에서는 한국산 도토리 분해효소 생산을 위한 균주의 분리와 배양조건 검토(21), *Asp.* sp. AN-11 이 분해하는 도토리 tannin 분해효소의 정제와 이화학적 성질(22) 및 이를 이용한 도토리주의 제조(23) 등이 있다. 따라서 식품가공시 적성을 떨어뜨리고 기호성 및 영양장애를 일으키는 tannin 을 효과적으로 분해할 수 있는 tannase 를 생산하는 미생물의 탐색과정 중, tannase 생산력이 우수한 담자균의 일종인 조개껍질버섯(*Lenzites betulina*)의 균사체 배양물로부터 tannase 생

Key words: Tannase, *Lenzites betulina*

\*Corresponding author

산을 위한 배양조건 및 영양조건과 효소적 특성을 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

### 재료 및 방법

#### 공시균주

전북대학교 식품가공학과 미생물 실험실에서 분리 보관하고 있는 담자균류를 배양하여 tannase 생산이 양호한 균주를 선발하고 그 중에서 *Lenzites betulina* 를 공시균주로 사용하였다.

#### 배지의 조제

보관용 배지는 수분 65%의 포플러 톱밥에 미강 10%를 첨가한 것을 사용하였고, 액체배양용 기본배지는 glucose 5g, tannic acid 2g, bacto-peptone 2g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1g, thiamine·HCl 100  $\mu\text{g}$ , D.W. 1000 ml, pH 6.0으로 하였다.

#### 배양방법

250 ml 삼각 flask에 배양액 40 ml씩 넣어 1.2 kg/cm<sup>2</sup>의 압력으로 15분간 살균 후 접종하고 배양온도와 배양기간 실험을 제외하고는 25°C에서 21일간 배양하였다.

#### 효소액의 조제

21일간 배양한 배양액을 여과하여 조효소액으로 사용하였고 효소특성실험은 이 여액에  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 가하여 30-75% 포화시켜 염석한 후 20 mM phosphate buffer (pH 6.0)에서 24시간 투석하고 0°C에서 보관하면서 사용하였다.

#### 효소활성의 측정

Tannase 활성은 Deschamps 등(4)의 방법에 준하여 배양여액 1 ml에 1% tannic acid 1 ml를 기질로 하여 40°C에서 30분간 반응시킨 다음 bovine serum albumin 용액(1 mg/ml) 4 ml를 가하여 15분간 방치한 후 분해되지 않은 tannic acid를 침전 제거한 후 260 nm의 흡광도로부터 gallic acid의 양을 계산하였다. 이와 같은 조건하에서 표준 gallic acid를 사용하여 표준곡선을 작성하였으며 효소액 1 ml가 1분간 생성시킨 gallic acid  $\mu\text{M}$ 을 1 unit로 하였다.

#### 효소의 작용 최적 pH

pH 4.0에서 pH 8.0까지의 0.2 M McIlvaine buffer에

tannic acid가 1% 되게 조제하여 기질로 사용하였다. 기질 1 ml에 효소액 1 ml를 가하여 효소활성을 측정하고 상대활성으로 나타내었다.

#### 효소의 반응 최적온도

0.2 M McIlvaine buffer (pH 6.0)에 1% tannic acid를 조제하여 효소액을 가하고 15-60°C의 온도에서 효소활성을 측정하여 상대활성으로 나타내었다.

#### 효소의 pH 안정성

pH 3.0에서 8.0까지의 완충용액 1 ml에 효소액 1 ml를 가하여 40°C에서 30분간 방치한 후 잔존활성을 측정하였다.

#### 효소의 열안정성

효소액을 30-80°C 온도의 항온조에 보존하면서 경시적으로 1 ml씩을 취하여 효소의 잔존활성을 측정하였다.

### 결과 및 고찰

#### Tannase 생산균주의 선별

각종 담자균류를 기본배지에서 배양온도 25°C, 13일간 배양한 후 tannase activity를 검토한 결과는 Table 1에서와 같이 34.2-84.2 unit/ml의 높은 tannase 생산을 보였는데, 이 중 *Lenzites betulina*가 84.2 unit/ml로 가장 높았고 그 다음으로 *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus sajor-caju* 순이었다. 이들 담자균류의 tannase 생산은 지금까지 보고된 미생물의 경우보다 월등히 높았는데 Pourrat (11) 등의 *Asp. niger*의 경우 배양 7일에 0.111 unit/ml, 岡村 등(12)의 *Asp. niger*의 경우는 96시간 배양시 23.5 unit/ml의 tannase 생산을 보였으며, Deschamps 등(4)은 bacteria (*Corynebacterium* QA0, *Bacillus polymyxa* QA7, *Klebsi-*

**Table 1. Tannase production potential of various basidiomycetes**

Species	Tannase activity (unit/ml)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	34.2
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	73.6
<i>Lentinus edodes</i>	78.9
<i>Ganoderma lucidum</i>	78.9
<i>Lenzites betulina</i>	84.2
<i>Lyophyllum decastes</i>	68.3

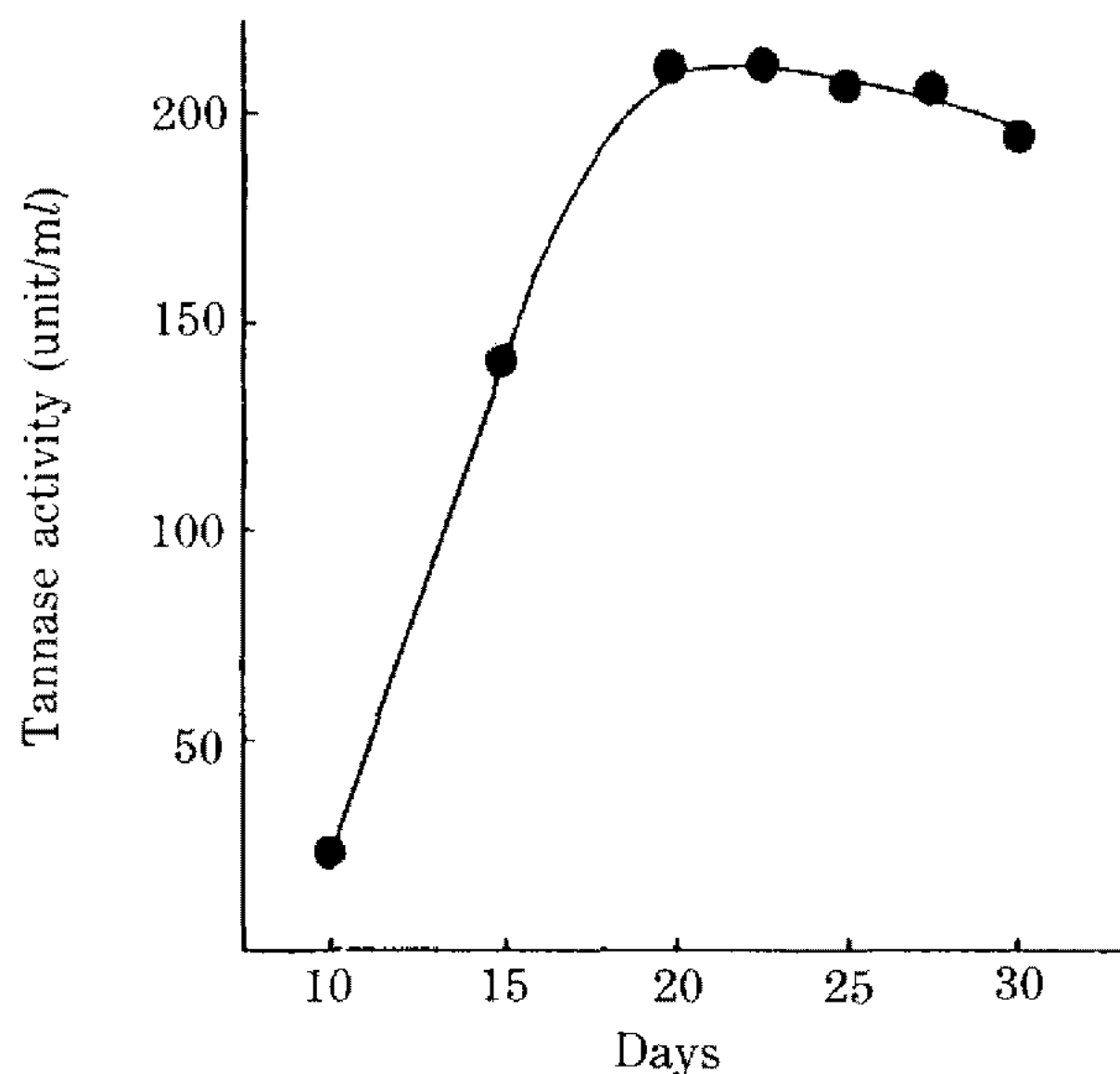


Fig. 1. Influence of culture period on tannase production from *Lenzites betulina*.

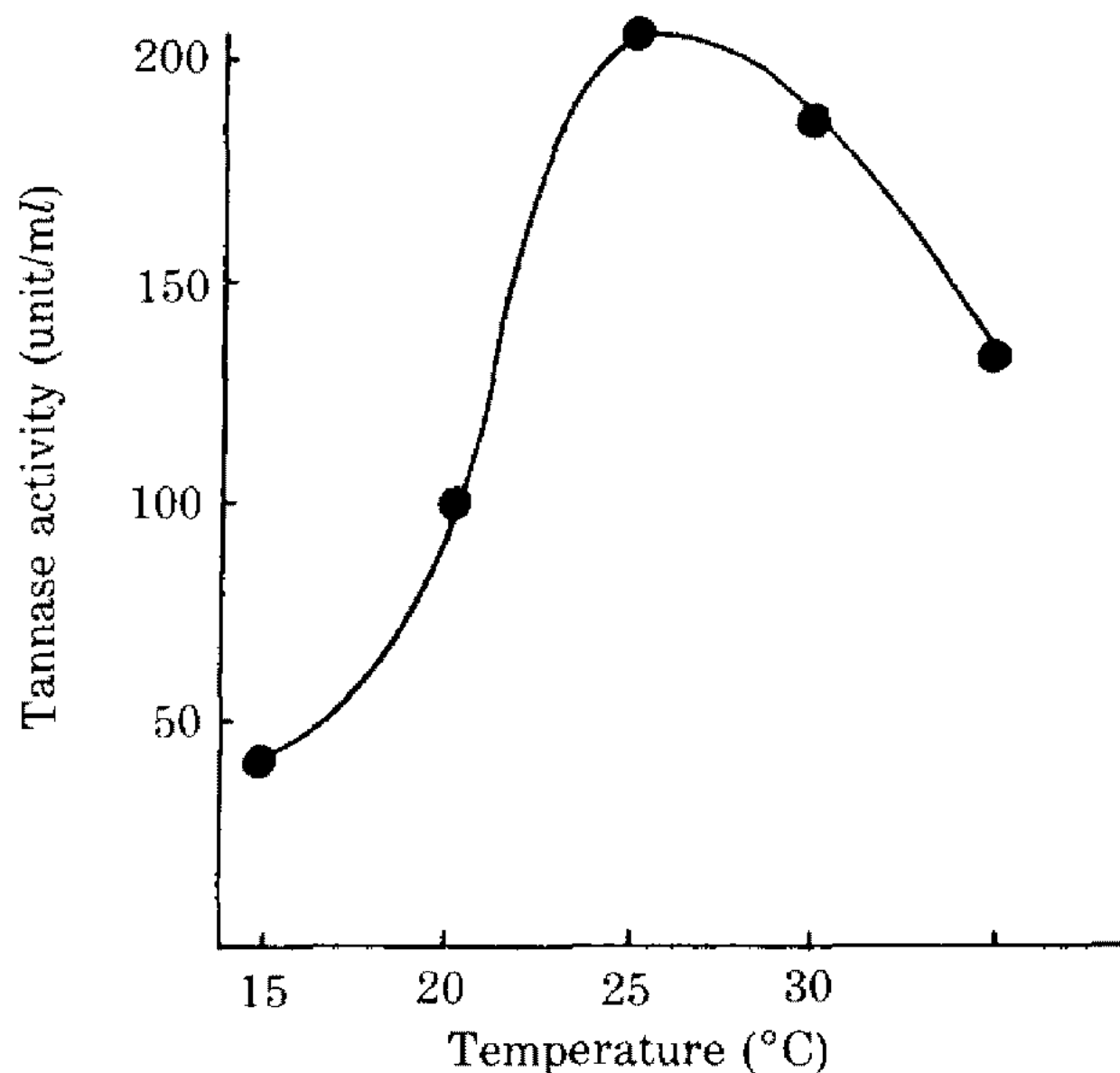


Fig. 2. Influence of temperature on tannase production from *Lenzites betulina*.

*ella pneumoniae* (Q52)의 tannase 생산실험에서 *Corynebacterium* (Q40)이 가장 우수하였으며, 배양 6시간에 0.112 unit/ml의 효소활성을 보였다는 결과보다는 월등히 높았다. 따라서 *Lenzites betulina*가 우수한 tannase 생산을 보였으므로 이의 배양조건과 영양조건을 개량함으로써 효과적인 tannase 생산방안을 모색코자 하였다.

**Tannase 생산을 위한 배양조건**

효과적인 tannase 생산을 위한 배양 최적조건을 확립하기 위하여 선별된 균주인 *Lenzites betulina*의 배양조건을 달리하여 검토하였다. 배양기간을 달리하여 tannase 생산을 살펴본 결과는 Fig.1과 같다. 배양기간이 경과함에 따라 생산이 급격한 증가를 보이다가 배양 20일경부터 일정 수준을 유지하였다. *Asp. oryzae* (3)는 배양 70-120시간에서 가장 높은 tannase 활성을 보였으며, 채 등(21)의 *Asp. flavus*와 *Asp. sp.* 경우 배양 48시간에서 최고의 활성을 보이다가 그 이상의 기간에서는 큰 감소추세를 보였고, bacteria의 경우(4)는 5-10시간에 최고의 활성을 보이다가 그 이후에는 완만한 감소추세를 보였는데, *Lenzites betulina*의 경우 최대 배양기간이 경과해도 효소의 생산이 감소하지 않고 꾸준히 일정 생산수준을 유지하는 면에서 사상균류나 세균과는 효소 생산 pattern에서 약간의 차이를 보이고 있다. *Lenzites betulina*의 tannase 생산에 미치는 온도의 영향을 살펴보기 위하여 배양온도를 15-35°C로 달리하여 배양 최적 기간인 21일에서 tannase 생산에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Fig.2와 같다. 배양온도가 상승함에

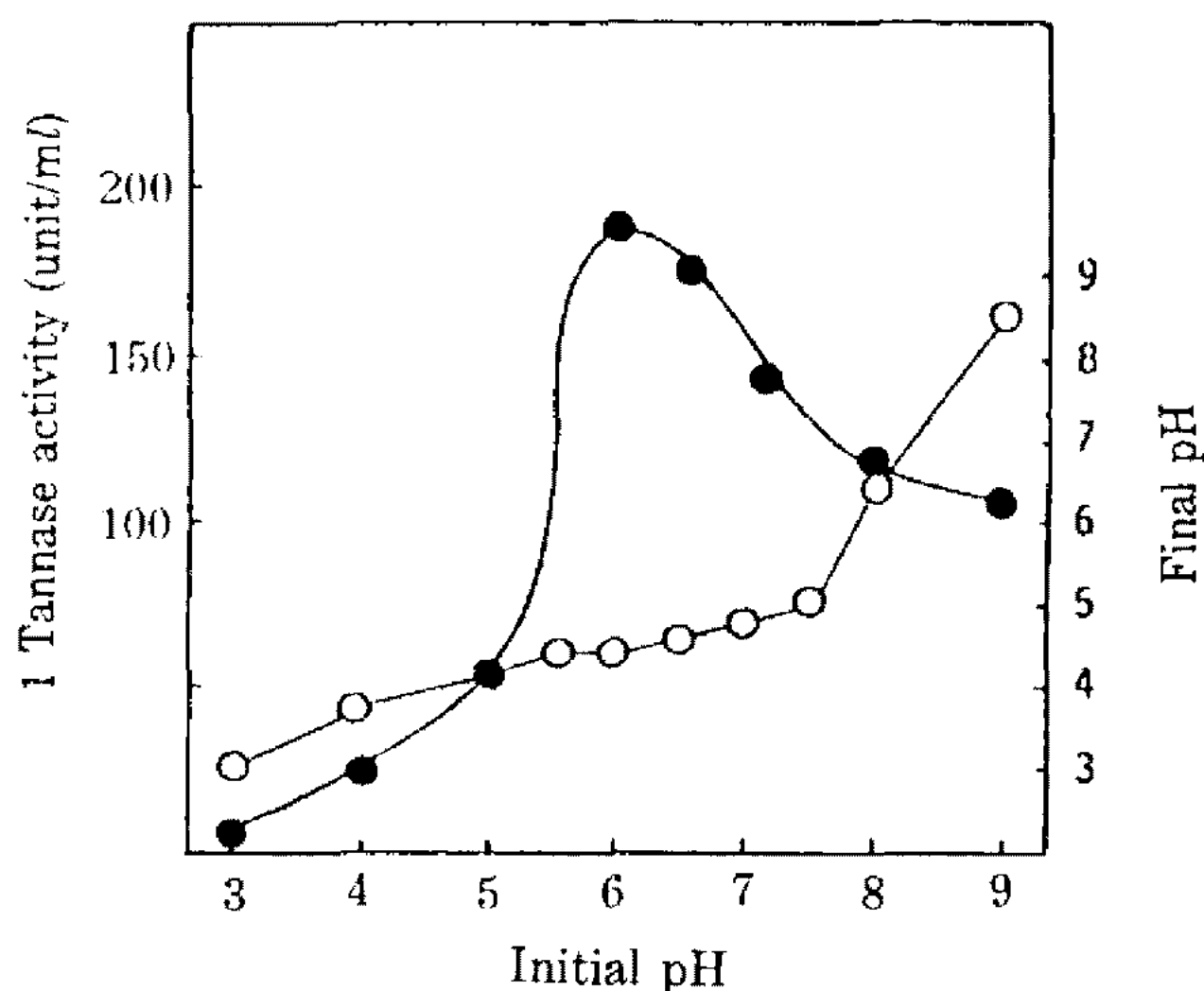


Fig. 3. Influence of initial pH on tannase production. ●—●; Tannase activity (unit/ml) ○—○; Final pH

에 따라 효소의 생산도 증가하여 25°C에서 tannase 생산이 최대를 보였고, 그 이상의 온도에서는 효소의 생산도 점점 감소하였다. 이는 *Lenzites betulina*의 최적 생육 온도가 25°C이기 때문인 것으로 사료된다. 효소생산에 미치는 배지 pH의 영향을 살펴보기 위하여 배지의 pH를 달리하여 본 결과는 Fig.3과 같다. Tannase 생산은 pH6.0에서 최고치를 보였으며 그 이하의 pH에서는 효소의 생산이 심한 감소추세를 보였고 pH6.0 이상에서는 비교적 완만한 감소를 보였다. 이는 채 등(21)의 *Asp. flavus*와 *Asp. sp.* AN-11이 생산하는 tannase의 최적 pH가 6.0이었다는 보고와 유사하였다. Pourrat 등(11)의 *Asp. niger*의 경우 intracellular tannase의 생산 최

**Table 2. Effect of different carbon sources on tannase production from *Lenzites betulina***

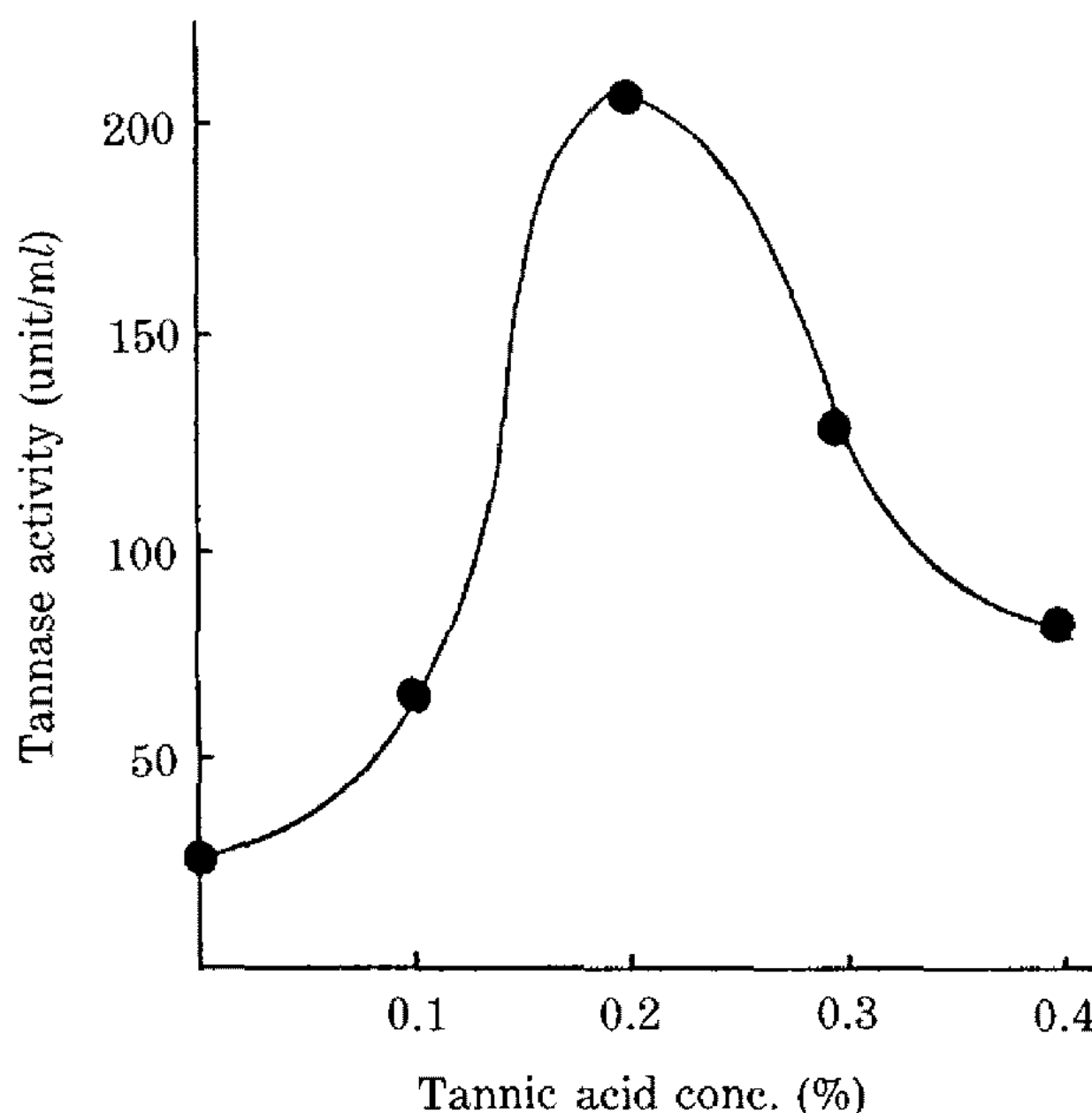
Sugar (0.5%, w/v)	Mycelial growth*	Tannase activity (unit/ml)
Inulin	+	194.6
Soluble starch	+++	178.7
CMC	+	184.1
Dextrin	++	164.3
Lactose	+++	228.8
Sucrose	+++	220.9
Trehalose	++	235.1
Mannose	+++	231.6
Fructose	++	240.0
Galactose	++	170.9
Glucose	+++	205.1
Xylose	+++	174.8
Arabinose	++	168.3
Mannitol	++	198.5

\*Mycelial growth: + + +; abundant, + +; moderate, +; scanty, -; none

적 pH는 5.0 이었고 extracellular tannase는 pH7.0 이었는데 한 균주가 생산하는 tannase도 종류에 따라 최적 pH가 차이가 있었으며, bacteria가 생산하는 tannase(4)의 경우 최적 pH가 5.5 이었다. 배양 후 배지의 pH 변화는 initial pH 5.0-7.5의 범위에서는 균사체 자체가 완충작용을 보여 pH 4.2-5.2를 유지하였으나 그 이상과 이하에서는 완충작용을 보이지 않았다.

**Tannase 생산을 위한 영양조건**

효과적인 tannase 생산을 위한 배지의 영양조건을 확립하기 위하여 *Lenzites betulina*의 영양원의 종류와 농도를 검토하였다. 기본배지의 tannic acid 농도를 0.2% 되게 조정 한 후 각종 당류를 0.5% 되게 첨가하여 tannase 생산에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 모든 탄소원에서 tannase가 생산되었고 tannase 생산에 우수한 것으로는 fructose이었으며 그 다음으로는 trehalose, mannose, lactose, sucrose, glucose 순으로 좋았다. 그러나 경제성면에서는 효소생산도 우수한 편이고 가격이 저렴한 sucrose가 더 효율적이므로 이후의 탄소원 기질로는 sucrose를 사용하였다. 西羅 등(8)의 토양에서 분리한 tannin 자화효모인 *Candida* sp.의 경우 glucose, fructose, sucrose, trehalose 등이 균체 생육에 효과적인 탄소원이라고 보고



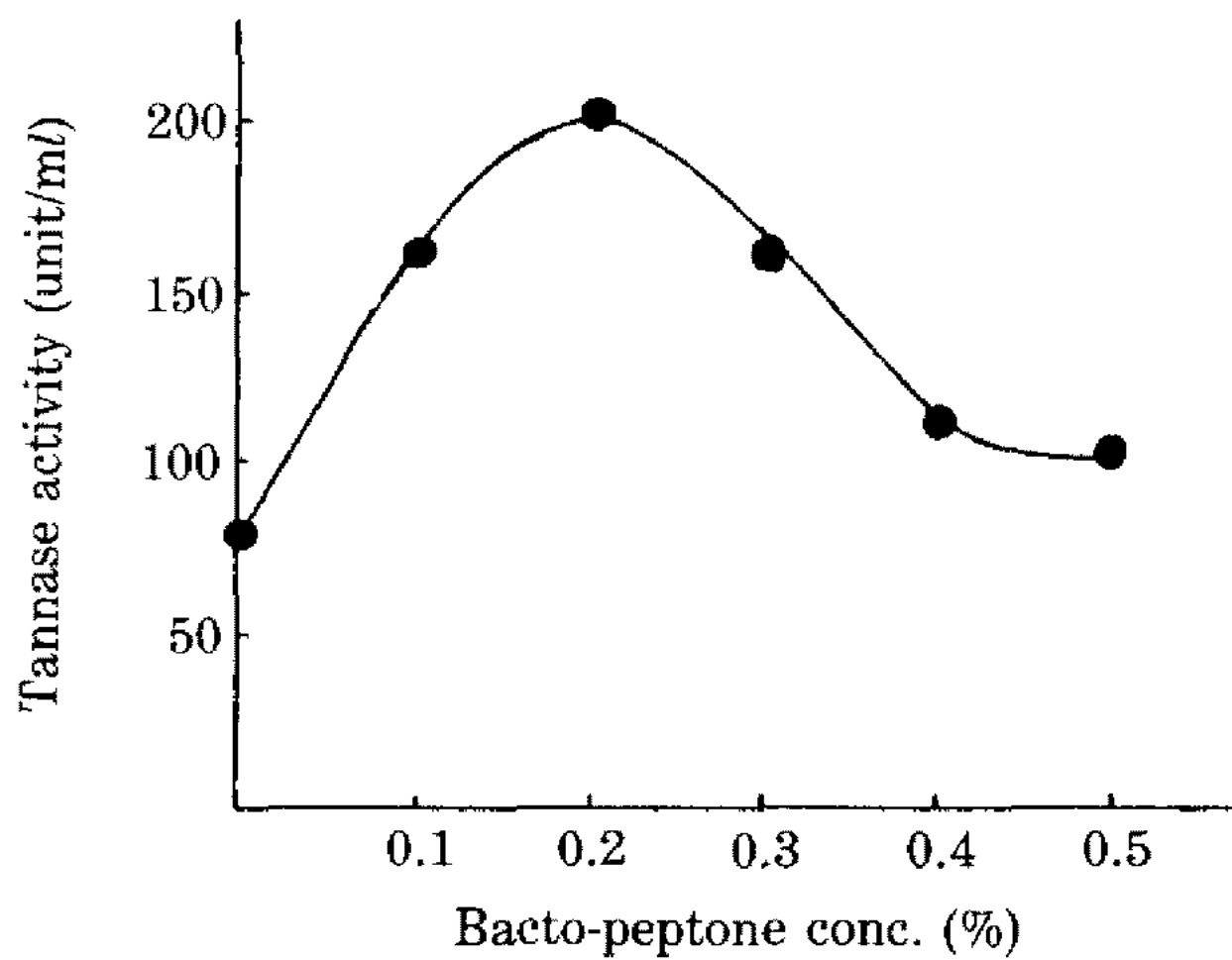
**Fig. 4. Influence of tannic acid concentration on tannase production.**

한 바 있는데 본 실험에서도 이와 유사한 경향이였다. 탄소원 중 tannase 생산이 우수하고 가격이 저렴한 당류로 sucrose를 선정하여 이의 농도를 0.5% 되게 조정하고 tannic acid를 0-0.4% 농도로 첨가하여 본 결과는 Fig.5와 같다. Tannic acid 농도가 증가함에 따라 0.2%까지는 급격하게 증가하나 그 이상의 농도에서는 감소추세를 보였는데, tannic acid의 무첨가시의 26.3 unit/ml에서 0.2% 첨가시 211.7 unit/ml의 효소생산을 보여 효소생산이 8배가 증가되는 것으로 볼 때 tannic acid는 tannase의 우수한 유도물질로 사료된다. Ikeda 등(24)은 tannic acid를 단일 탄소원으로 사용할 때보다도 이용하기 쉬운 탄소원으로 glucose를 0.5% 농도로 tannic acid와 혼용하였을 때 *Asp. niger*와 *Pen. chrysogenum*의 배양 중 gallic acid의 생산이 증가되었으나 효모의 경우는 반대의 효과를 보였다고 보고한 바 있다. 山田 등(3)은 *Asp. oryzae*의 경우 tannase 생산 배지 중의 최적 tannic acid 농도가 1% 이었다고 한 보고와 채 등(21)의 *Asp. flavus*와 *Asp. sp.*의 경우 최적 tannic acid 농도가 1% 이었다는 보고에 비해서는 본 균주의 농도가 약간 낮은 경향이였다. 각종 질소원이 tannase 생산에 미치는 영향을 검토하기 위하여 질소원 별로 N량이 0.027% 되게 조정하여 그 영향을 검토한 결과는 Table 3에서와 같이 tannase 생산은 무기태 질소원에 비하여 유기태 질소원이 효과적이었고 이 중 bactopectone이 가장 우수하였다. 무기태 질소원은 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>만이 효과가 있었고 질산태 질소는 무첨가보

**Table 3. Effect of different nitrogen sources on tannase production**

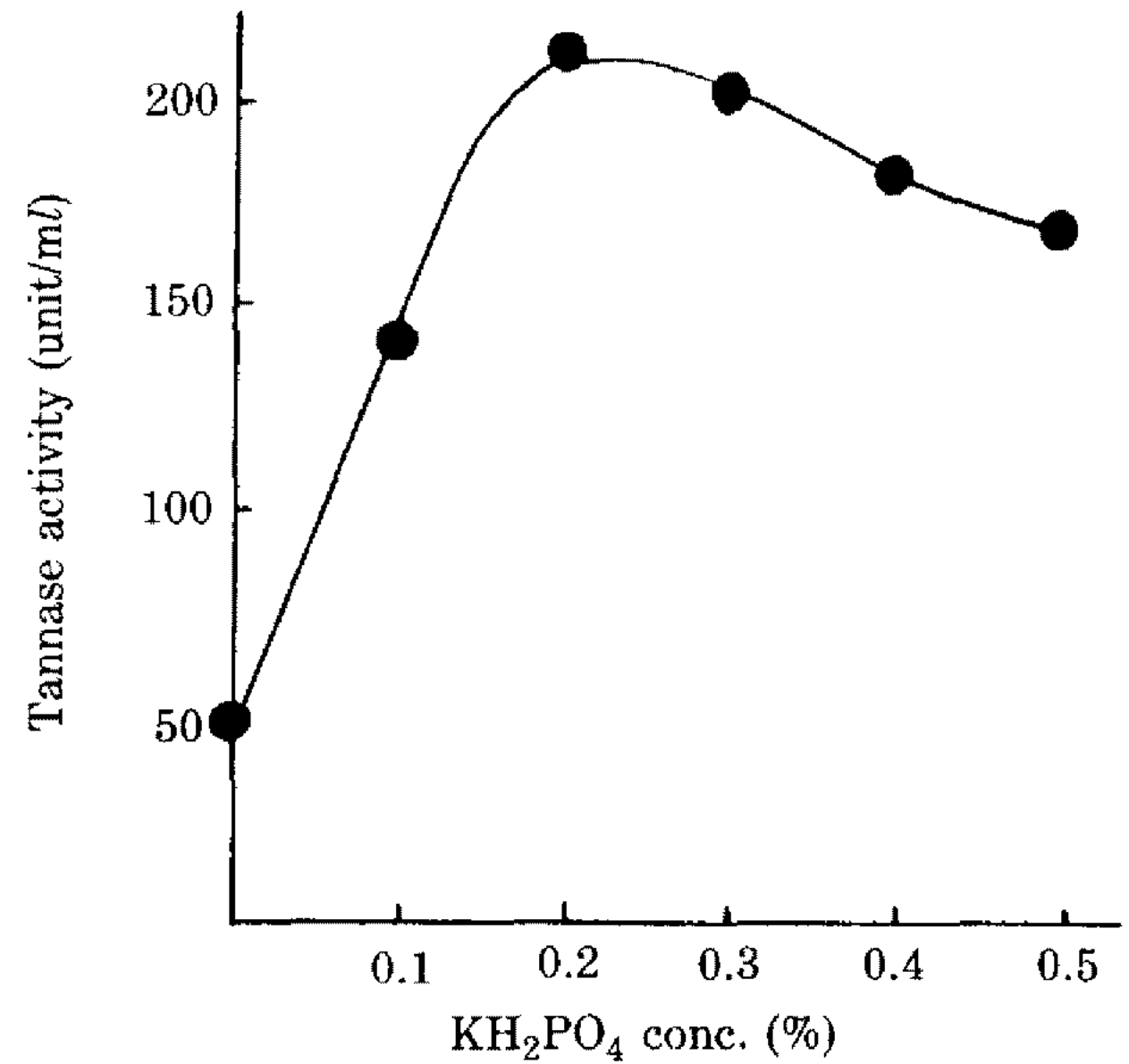
Nitrogen sources (0.027%, w/v)	Mycelial growth*	Tannase activity (unit/ml)
None	+	92.5
Proteose peptone	+++	137.1
Bacto-peptone	+++	205.7
Casamino acid	++	103.8
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	+	0.7
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+	86.5
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	+	107.8
KNO <sub>3</sub>	+	67.1
NaNO <sub>3</sub>	+	68.4
NaNO <sub>2</sub>	-	-

\*Mycelial growth; + + +; abundant, + +; moderate, +; scanty, -; none

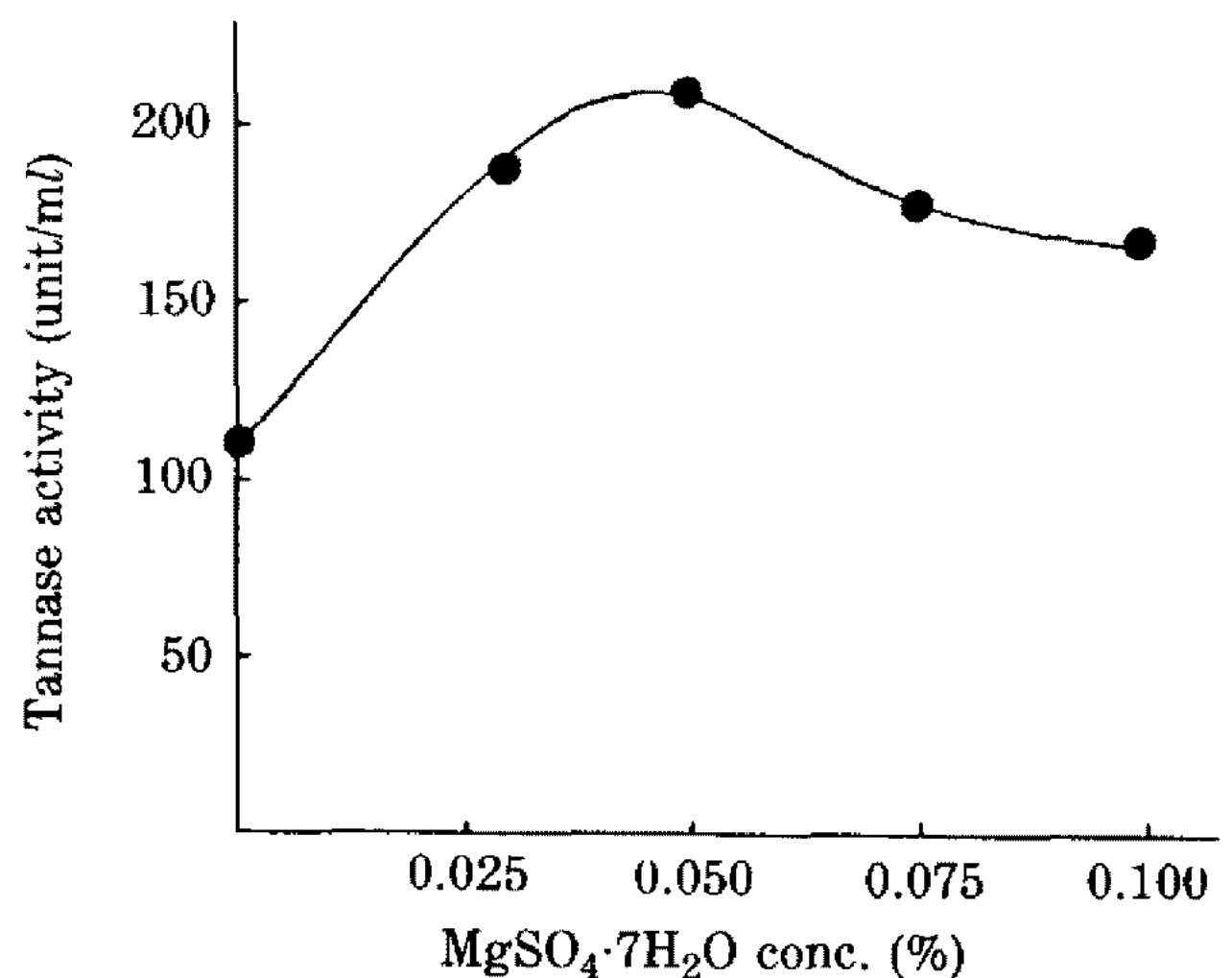


**Fig. 5. Effect of bacto-peptone concentration on tannase production.**

다 떨어져 오히려 효소생산에 저해적이었다. 山田 등(3)은 *Asp. oryzae*의 tannase 생산에 yeast extract가 질소원으로 가장 효과적이었고 그 다음으로 유기태 질소인 peptone과 casein보다도 무기태 질소인 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>와 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 잘 이용한다고 하였으며 채 등(21)은 *Asp. flavus*의 경우 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>가 tannase 생산에 가장 우수한 질소원이었고 그 다음으로는 peptone, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl 순으로 잘 이용하였다고 한 보고와는 약간의 차이를 보이고 있는데 이러한 경향들은 자낭균류와 담자균류가 영양요구성에서 차이가 있기 때문인 것으로 사료된다. 질소원 중 tannase 생산이 가장 우수했던 bacto-peptone의 농도를 0-0.5%로 달리하여 효소생산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig.5에서와



**Fig. 6. Effect of potassium dihydrogen phosphate concentration on tannase production.**

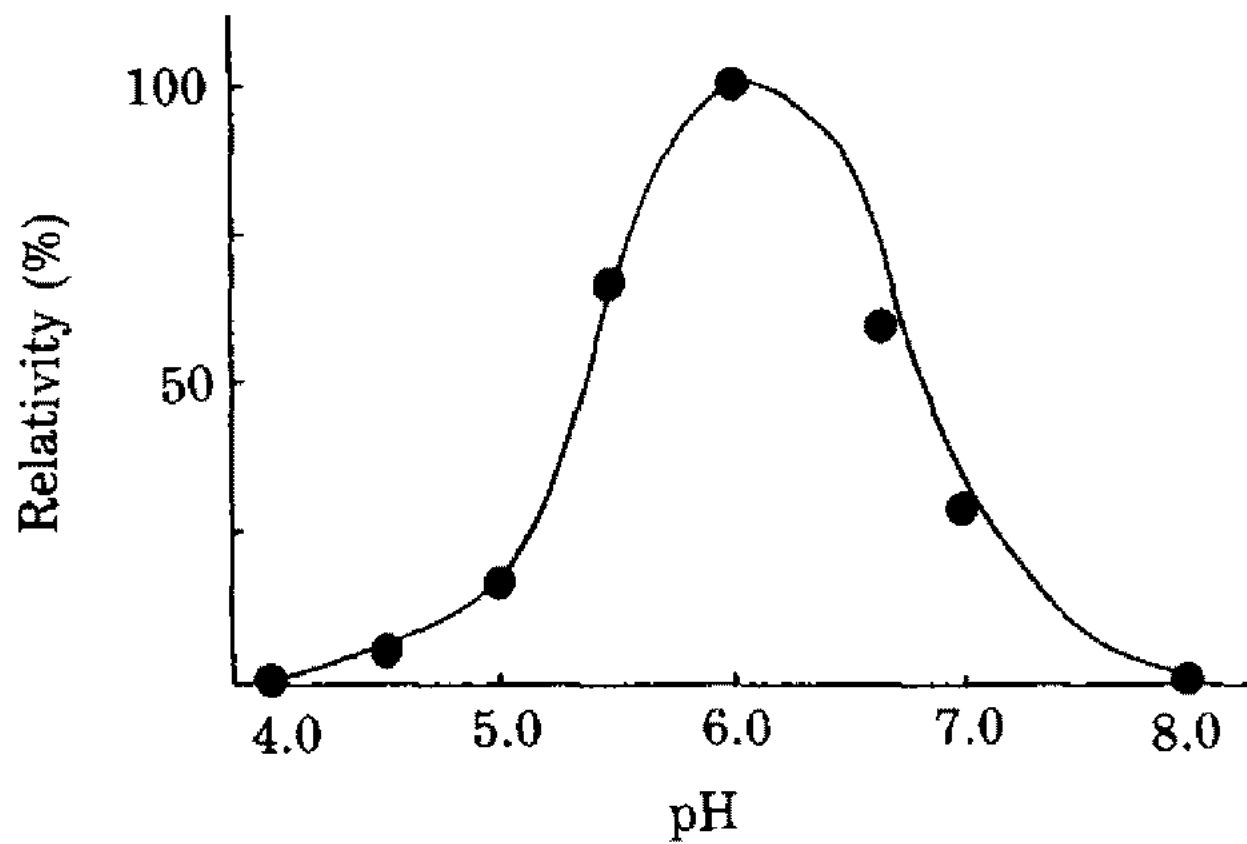


**Fig. 7. Effect of magnesium sulfate concentration on tannase production.**

같이 bacto-peptone의 농도가 증가함에 따라 0.2%까지 급격한 증가를 보이다 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향을 보여 0.2%일 때 가장 효과적임을 볼 수 있었다. 배지 중의 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>의 농도가 효소생산에 미치는 영향을 검토하기 위하여 0-0.5%로 달리하여 본 결과는 Fig.6과 같다. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>의 농도는 0.1-0.3% 범위에서 양호하였으며 그 중에서도 0.2%가 우수하였다. 배지 중의 MgSO<sub>4</sub>농도의 영향을 살펴보기 위하여 그 농도를 0-0.1%로 첨가하여 본 결과는 Fig.7과 같다. MgSO<sub>4</sub>의 첨가농도에 따라서는 효소생산에 큰 영향은 없었지만 0.05% 농도가 비교적 양호하였다. 기타 각종 무기염류가 tannase 생산에 미치는 영향은 Table 4와 같다.

**Table 4. Effect of mineral salts on tannase production**

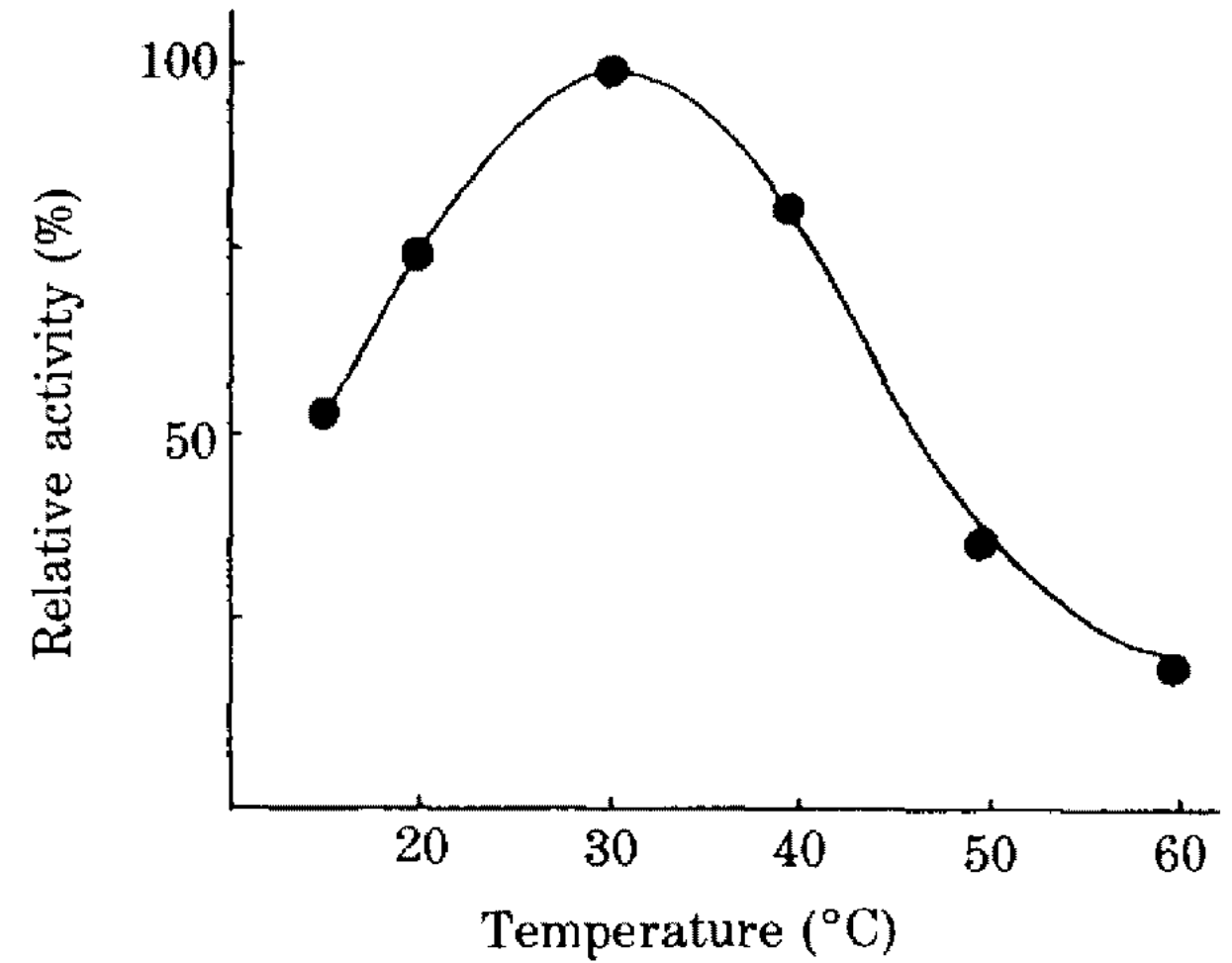
Mineral salts	Conc. (mg/%)	Tannase activity (unit/ml)
None	-	205.7
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1	181.5
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.1	131.6
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.1	207.8
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.2	223.3
All	1.4	192.5



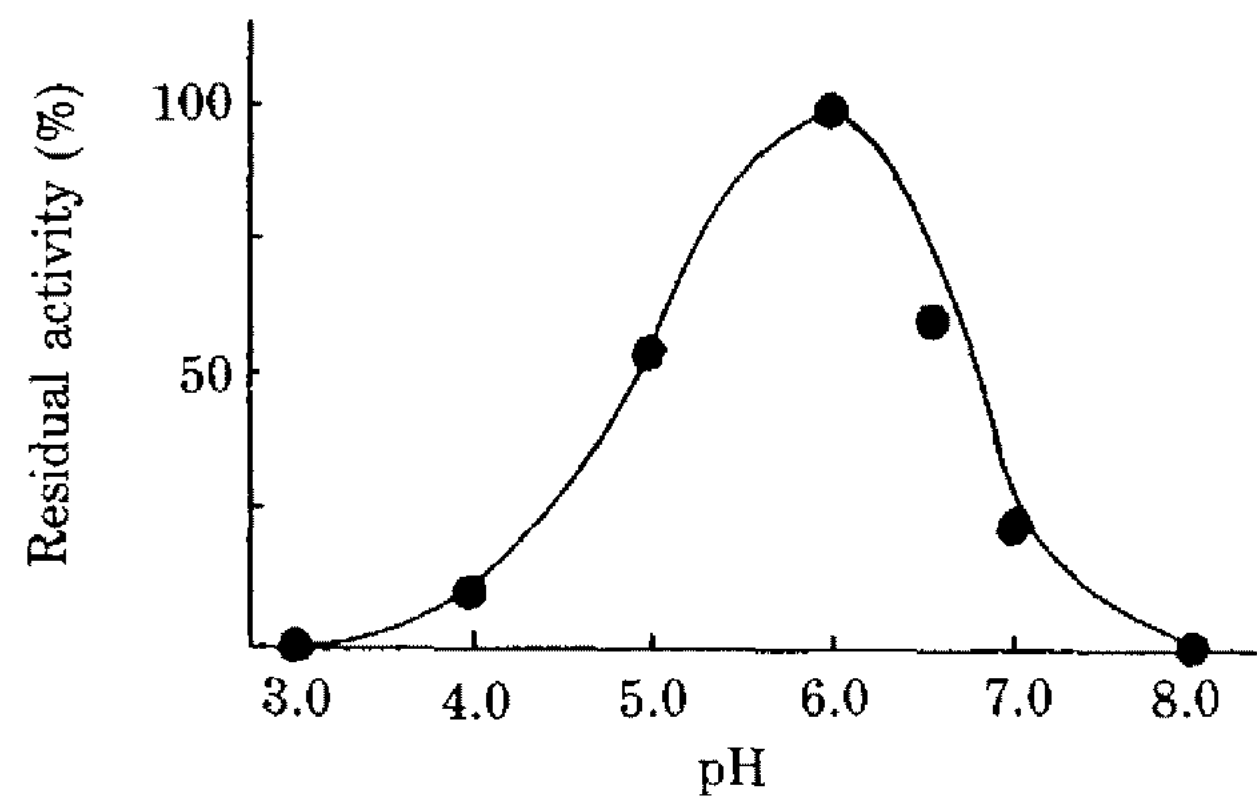
**Fig. 8. Influence of pH on tannase activity.**

CuSO<sub>4</sub>만이 효소생산에 효과가 있었고 ZnSO<sub>4</sub>의 첨가는 큰 영향은 없었으며 기타 무기염류는 무첨가보다도 떨어져 오히려 저해적이었다. 이는 채 등(21)의 *Asp. sp.*와 *Asp. flavus*의 경우 FeSO<sub>4</sub>가 저해적이고 CuSO<sub>4</sub>에서 효소생산이 증가된 것은 일치하나 ZnSO<sub>4</sub>의 경우 효소생산이 증가하는 것으로 나타나 약간의 차이를 보이고 있으며 MnSO<sub>4</sub>는 *Asp. flavus*에서 증가하나 *Asp. sp.*에서는 저해적인 것으로 나타나 균주에 따라 상이함을 보였다.

이상과 같이 담자균류 중 tannase 생산이 우수했던 *Lenzites betulina* tannase의 효과적인 생산을 위한 배양조건과 영양조건 등을 개선한 결과 배양액으로부터 223.3unit/ml의 효소생산능을 확인하였다. 지금까지 보고된 tannase 생성균주의 생성능을 보면 Deschamps 등(4)의 bacteria들의 경우는 0.065-0.112unit/ml, Pourrat 등(11)의 *Asp. niger*의 경우는 0.111unit/ml, 岡村 등(10)의 *Asp. niger*의 경우는 23.5unit/ml의 생산능을 보여 *Asp. niger*가 가장 높은 생산능을 가지고 있는 것으로 알려져 있으나 본 균주인 *Lenzites betulina*가 이보다 월등히 높은 생산능이 있음이 확인되어 금후에 우수한 tannase 생산자원으로 개발해 볼만한



**Fig. 9. Influence of temperature on tannase activity.**



**Fig. 10 pH stability of tannase.**

가치가 있다고 사료된다.

**효소의 특성**

본 효소의 최적 pH를 알아보기 위하여 pH3.0-8.0의 pH에서 효소활성을 측정된 결과 pH5.5 이상에서 급격히 증가하여 pH6.0에서 최대 활성을 보였으며 pH4.5 이하와 pH8.0 이상에서는 거의 활성을 나타내지 않았다 (Fig.8).

Tannase는 일반적으로 pH5.0-6.0의 최적 pH를 갖는 것으로 알려져 있어 본 효소와 유사한 경향을 보이고 있는데 *Asp. oryzae*(9)는 pH 5.0-6.0, *Pen. chrysogenum*(13)은 pH5.0-6.0, *Candida sp.*(15)는 pH6.0, *Asp. sp.*(22)는 pH5.5로 보고된 바 있다. 또한 본 효소의 최적온도를 알아보기 위하여 여러 온도에서 효소활성을 검토한 결과 30-50°C에서 높은 활성을 보였으며 40°C에서 가장 좋았다. 그러나 50°C 이상에서는 활성이 크게 감소하는 경향이였다. 이는 tannase의 최적온도가 *Asp. oryzae*(9)는 30-40°C, *Pen. chrysogenum*(13)은 30-40°C, *Candida sp.*(15)은 45°C, *Asp. sp.*(22)



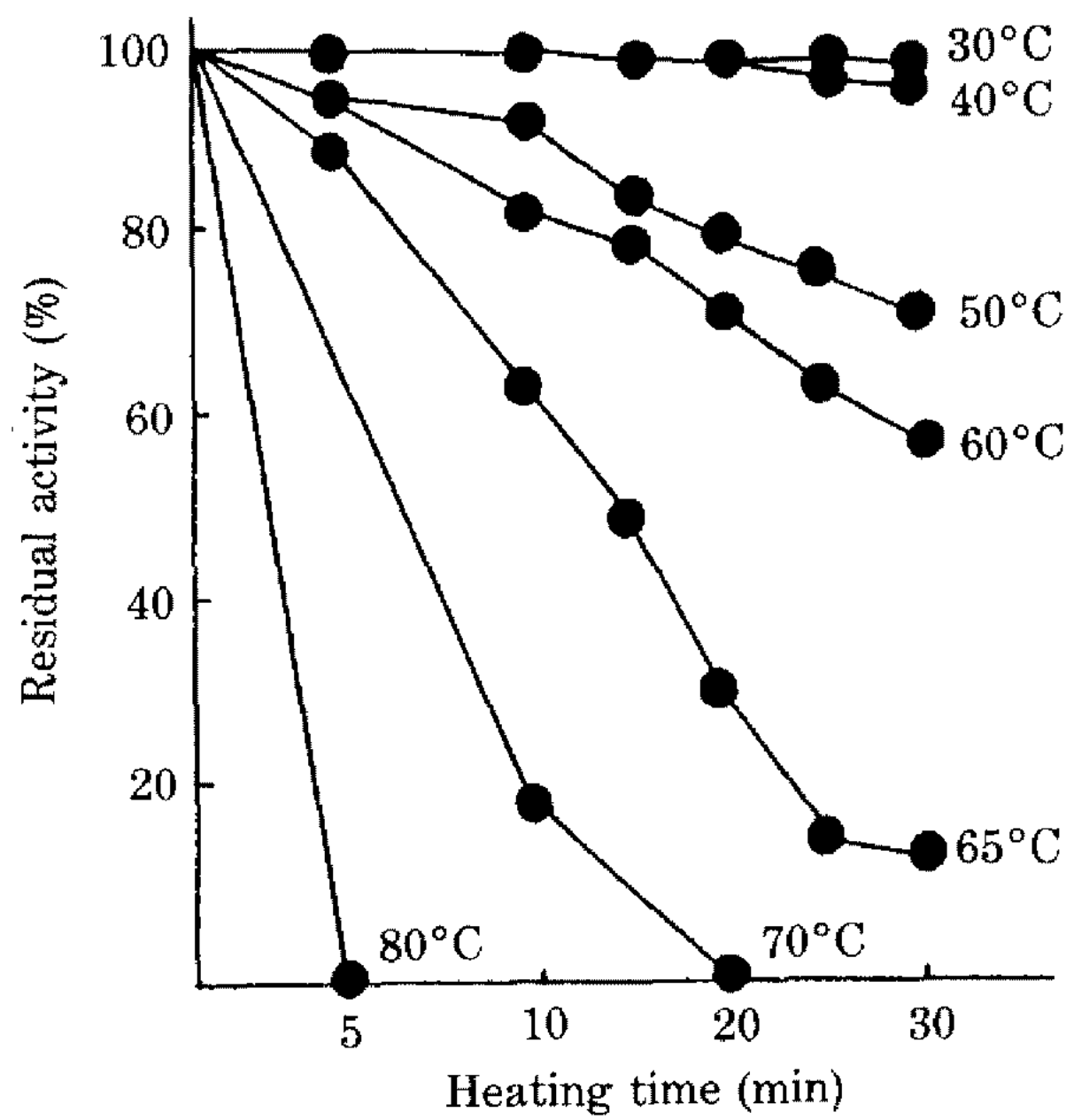


Fig. 11. Heat stability of tannase.

는 30-40°C이었다는 보고와 유사한 경향을 보이고 있다. 소정의 pH가 되도록 조절한 완충용액에 40°C, 30분간 유지시킨 후에 잔존하는 효소활성을 측정하여 pH 안정성을 검토한 결과는 Fig.10과 같다. 본 효소는 pH 5.5-6.0의 범위에서 안정하였으며, pH 5.0-6.5의 범위에서는 50% 이상의 활성을 유지하였다. 그러나 pH 5.0 이하와 6.0 이상에서는 안정성이 급격히 저하되었다. 이는 지금까지 보고된 tannase의 pH 안정성에 비하여 약간 불안한 편이었는데 *Asp. oryzae* (9)는 pH 3.0-7.5, *Pen. chrysogenum* (13)은 pH 4.0-6.5, *Candida* sp. (15)는 pH 3.5-7.5, *Asp.* sp. (22)는 pH 5.0-6.5의 범위에서 안정하였다고 보고된 바 있다. 본 효소의 열안정성을 알기 위해 효소액을 여러 온도에서 보존하면서 30분간 경시적으로 검토한 결과는 Fig.11과 같다. 40°C 이하에서 30분간 방치하였을 때는 거의 활성을 유지하였으며 60°C 이하의 온도에서는 50% 이상의 효소활성을 유지하였다. 그러나 65°C에서는 15분에 50%가 실활되었고, 70°C에서는 20분, 80°C에서는 5분 이내에 완전 실활되었는데 이는 Rajakumar 등(13)의 *Pen. chrysogenum*의 경우 30°C 이하에서는 거의 안정하였고 45°C에서는 95%의 활성을 유지하였다는 보고와 Aoki 등(15)의 *Candida* sp.의 경우 40°C 이하에서는 거의 안정하였으며 70°C에서는 20분 이내에 거의 활성을 잃었다는 보고와는 유사한 경향이 있다. 그러나 *Asp. oryzae* (9) 경우는 30°C 이하에서는 안정하나 55°C, 20분에서 거의 활성이 소멸되었다는 보고와 60°C, 20분에 활성이 거의 소멸된 *Asp.* sp. (22)의 경우보다는 열에 안정한 경향을 보였다.

## 요 약

*Lenzites betulina* (조개껍질버섯균) 등 6종 담자균류의 tannase (tannin acyl hydrolase EC 3.1.1.20) 생산을 비교하고 *Lenzites betulina*가 가장 우수하여 이 균주의 배양물로부터 효과적인 tannase 생산조건과 효소의 특성을 검토하였다.

*Lenzites betulina*의 tannase 최적 생산을 위한 배양 조건은 25°C, pH 6.0에서 21일이었고, tannase 생산을 위한 효과적인 배양기질의 조성은 tannic acid 2g, sucrose 5g, bacto-peptone 2g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  2mg, thiamine·HCl 100  $\mu\text{g}$ , 증류수 1000ml이었다. 이상의 조건에서 *Lenzites betulina*가 생산하는 tannase는 223.3 unit (gallic acid  $\mu\text{mole}/\text{ml}/\text{min}$ )이었다. *Lenzites betulina*가 생산하는 tannase의 반응 최적 pH는 6.0, 최적 온도는 40°C이었고, 40°C 이하에서는 효소활성이 대단히 안정하였으나 60°C 이상에서는 50% 이상 실활하여 고온에 민감하였다. 또한, pH 5.5-6.0의 범위에서는 비교적 안정을 유지하였다.

## 참고문헌

1. 한국식품과학회: 한국식품연구문헌총람(2), pp. 355 (1977).
2. Liener, I.E.: Tannins, in Toxic constituents of plant foodstuffs 2nd ed., Academic Press, New York, pp. 453 (1980).
3. 山田浩一, 飯淵貞明, 箕田泰治: 醸工, **45**, 233 (1967).
4. Deschamps, A.M., G. Otuk, and T.M. Lebeault: *J. Ferment. Technol.* **61**, 55 (1983).
5. Adachi, O., M. Watanabe, and H. Yamada: *Agr. Biol. Chem.* **32**, 1079 (1968).
6. Iibuchi, S., Y. Minoda, and K. Yamada: *Agr. Biol. Chem.* **36**, 1553 (1968).
7. Aoki, K., R. Shinke, and H. Nishira: *Agr. Biol. Chem.* **40**, 297 (1976).
8. 西羅寛, 下川志律男, 青木建次, 新家龍: 神大農研報, **13**, 325 (1979).
9. Iibuchi, S., Y. Minoda, and K. Yamada: *Agr. Biol. Chem.* **32**, 803 (1968).
10. 岡村成通, 木澤清, 菊地護, 武井廣介, 今井泰彦, 伊東左武郎: 日本特許公報, 昭 63-304981 (1988).
11. Pourrat, H., F. Regerat, A. Pourrat, and D. Jean: *Biotech. Lett.* **4**, 583 (1982).
12. 岡村成通, 木澤清, 菊地護, 武井廣介, 今井泰言, 伊東左武郎: 日本特許公報, 昭 62-272973 (1987).
13. Rajakumar, G.S. and S.C. Nandy: *Appl. Environ. Microbiol.* **46**, 525 (1983).

14. Rajkaumar, G.S. and S.C. Nandy: *Leat.* **32**, 278 (1985).
15. Aoki, K., R. Shinke and H. Nishira: *Agr. Biol. Chem.* **40**, 79 (1976).
16. Cantarell, C., O. Brenna, R. Pavesi and M. Rossi: *Bull. Liaison-group Polyphenols*, **13**, 138 (1986).
17. Masschelein, C.A. and M.S. Batum: *Proc. Congr-Eur. Brew. Conv.* **18**, 359 (1981).
18. Weetal, H.H.: *Appl. Biochem. Biotechnol.* **11**, 25 (1985).
19. Weetal, H.H.: *Biotechnol. Bioeng.* **27**, 124 (1985).
20. Thomas, R.L. and K. Murtagh: *J. Food. Sci.* **50**, 1126 (1985).
21. 채주규, 유태종 : 한국식품과학회지, **5**, 258 (1973).
22. 채주규, 유태종, 김병묵 : 한국식품과학회지, **15**, 333 (1983).
23. 채주규, 유태종 : 한국식품과학회지, **15**, 326 (1983).
24. Ikeda, Y., E. Takahashi, K. Yokogawa and Y. Yoshimura: *J. Ferment. Technol.* **50**, 361 (1972).

(Received September 28, 1990)