

내열성 방선균 *Streptomyces thermocyaneoviolaceus*의 Xylanases를 이용한 자일로올리고당의 생산

이오석 · 최충식 · 최준호 · 주길재 · 이인구*
경북대학교 농과대학 농화학과

Production of Xylooligosaccharides with Thermostable Xylanases from the *Streptomyces thermocyaneoviolaceus*. Lee, Oh-Seuk, Chung-Sig Choi, Jun-Ho Choi, Gil-Jae Joo, and In-Koo Rhee*. Department of Agricultural Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 701-702, Korea – *Streptomyces thermocyaneoviolaceus* producing the thermostable xylanase was used for the production of xylooligosaccharides from xylan. The optimal conditions for the xylanase production were investigated in a jar fermentor, which operated at 2 vvm aeration and 400 rpm agitation speed at 50°C for 24 h. The optimal reaction condition for the production of xylooligosaccharides with xylanases which were prepared by the precipitation with ammonium sulfate, were obtained by the reaction at 60°C for 12 h in the mixture composed of 10% birchwood xylan in 50 mM sodium phosphate buffer (pH 6.0) and 10 unit/ml of xylanase. In this optimal condition for the xylooligosaccharides production, the mixture of xylooligosaccharides (58.8 g/l) which were composed of 20.1 g/l of xylobiose, 8.9 g/l of xylotriose, 4.5 g/l of xylo-tetraose, 16.2 g/l of xylopentaose, and 9.1 g/l of xylohexaose, and 5.0 g/l of xylose was produced from 100 g/l of birchwood xylan by the xylanases of *S. thermocyaneoviolaceus*.

Key words: *Streptomyces thermocyaneoviolaceus*, xylooligosaccharides, xylanase

Xylan은 식물 세포벽의 주된 성분으로 xylose 잔기가 β -1,4-glycosidic bond로 연결된 주쇄에 L-arabinose, glucuronic acid, 4-O-methyl-D-glucuronic acid, acetyl기 등이 단일 혹은 복수 잔기로 분지되어 있다[14]. Xylan을 가수분해하는 효소는 endoxylanase인 β -1,4-xylanase(1,4- β -D-xylan xylanohydrolase; EC 3. 2. 1. 8)와 exoxylanase인 β -xylosidase(1,4- β -D-xylan xylohydrolase; EC 3. 2. 1. 37)가 있다[5, 14]. Xylanase는 통상 endoxylanase를 의미하며 β -1,4-D-xylopyranoside의 glycoside bond로 중합된 xylan의 주골격을 절단하여 자일로올리고당을 생산한다[7]. 이 자일로올리고당은 β -xylosidase에 의해 최종 분해산물인 xylose로 가수분해된다[1,6,15,16].

Xylan의 가수분해산물인 자일로올리고당은 xylose가 2-6개 중합된 것으로 사람의 소화효소에 의해 분해되지 않고 대장까지 도달하는 저칼리리성(1.5~3.0 kcal/mol)이며 난소화성 당이다[8,18]. 또 대장내의 유산균 및 *Bifidus*균이 선택적으로 이용할 수 있으며, 충치예방 효과와 아울러 *Bifidus*균 증식촉진 인자로 알려져 있다[10,13,17]. 현재까지 보고된 xylanases를 이용한 xylan의 가수분해에 대한 연구는 주로 hemicellulose로부터 단당류인 xylose를 생산하여 알

콜발효 또는 xylitol 생산에 주안점을 두고 진행되어 왔으나, 자일로올리고당을 생산하기 위한 연구는 거의 없는 실정이다[17]. 또한 이러한 기능성을 가지고 있는 자일로올리고당을 산업적으로 대량 생산하기 위해서는 자일로올리고당의 정제와 회수공정을 고려할 때 xylan 가수분해물중에 단당류인 xylose 함량이 적고 자일로올리고당의 함량이 상대적으로 많은 시럽의 제조가 필수적이다.

*Streptomyces thermocyaneoviolaceus*는 고온성균으로서 생육 최적온도가 50°C로 내열성이 우수한 xylanase를 생산하고 특히 값싼 농산 부산물인 밀기울을 사용하여 xylanase의 생합성을 유도할 수 있었다. 또한 본 균의 xylanase는 xylan을 잘 분해하여 높은 수율의 자일로올리고당을 생산하면서도 단량체인 xylose의 생성량이 아주 낮은 특징이 있었다[2,3].

따라서 본 연구는 xylose 함량이 적고 자일로올리고당이 많이 생성되는 효소반응 조건을 설정할 목적으로 *S. thermocyaneoviolaceus*가 생산하는 xylanase를 이용하여 기질, 반응온도, 반응 pH, 반응시간 등의 영향을 조사하여 최적 반응조건을 설정하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

균주, 배지 및 배양

본 실험에서 사용된 균주인 *S. thermocyaneoviolaceus* KCCM 40049[2,3]는 XM한천배지(1.0% birchwood xylan,

*Corresponding author
Tel. 82-53-950-5718, Fax. 82-53-953-7233
E-mail: ikrhee@knu.ac.kr

0.1% yeast extract, 0.1% bacto-peptone, 0.05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.005% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.05% KH_2PO_4 , 0.2% K_2HPO_4 및 1.5% agar를 이용하여 37°C에서 1 주일 배양하여 포자를 형성시켜 4°C에 보관하고 매 1 개월마다 계대배양하였다. 또한 종배양은 XM한천배지상의 포자 한 백금이를 XM액체배지에 접종하여 50°C에서 24 시간 배양하였다. 플라스크 배양에는 전보[2]에서 조사한 효소생산용 배지인 WB배지(0.8% 밀기울, 0.06% yeast extract, 0.06% bacto-peptone, 0.05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.005% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.05% KH_2PO_4 및 0.2% K_2HPO_4 , pH 7.0)에 종배양액을 2% 접종해서 50°C에서 24 시간 배양하였다. 또 jar-fermentor (KFC 2.5 l; 한국발효기) 배양에서는 WB배지에서 밀기울 농도를 2.0%로 높여서 플라스크 배양에서와 같이 50°C에서 24 시간 배양하여 사용하였다.

조효소액의 조제

본 실험에서 사용된 효소액은 상기의 조건에서 배양한 배양액 1l를 탈지면으로 여과한 후 원심분리하여 얻은 상정액을 황산암모늄으로 50%까지 포화시켜 하룻밤 정지한 다음 원심분리하여 침전물을 회수하였다. 침전된 효소단백질을 최소량의 50 mM sodium phosphate buffer(pH 6.0)에 용해한 후 동일 원충액으로 매 2 시간마다 원충액을 교환하면서 8 시간 투석하여 본 실험에 사용하였다.

효소 가수분해물의 분석

각 반응조건에서 반응시킨 xylan의 가수분해물은 TLC 및 HPLC로 분석하였다. TLC는 전개용매로 1-butanol:2-propanol:water:acetic acid:acetonitrile(7:5:4:10:2, v/v)을 사용하여 5 시간 전개하였다. 전개후 풍건시킨 TLC판을 methanol 90 ml와 진한 황산 10 ml 혼합용액에 orcinol 0.2 g을 녹인 용액에 2 초간 담근 후 95°C에서 5 분간 발색시켜 확인하였다.

HPLC 분석에서는 Sugar-Pak I column(Φ 6.5×300 mm, Waters Co.)을 사용하였으며 이동상으로 Ca-EDTA 용액(50 mg Ca-EDTA/l 초순수, pH 10.5)을 사용하였다. Column 온도는 85°C, 유속은 분당 0.5 ml로 조정하였으며 시료를 20 μ l씩 주입하여 분석하였다. 자일로올리고당의 정량은 내표준정량법을 사용하여 측정하였으며, 이때 내부 표준물질은 올리고당 분석에 영향을 미치지 않는 D-ribose를 최종농도 10.0 mg/ml로 사용하였다.

Xylanase 활성측정법

Xylanase 활성측정은 전보[3]에 준해서 실시하였다. 즉, 100 mM sodium phosphate buffer(pH 6.0) 0.2 ml에 효소액(또는 배양상정액) 0.2 ml와 1.0% birchwood xylan 현탁액(1 g의 birchwood xylan에 80 ml 증류수를 가하여 121°C에서 15 분간 autoclave한 후 실온까지 냉각한 다음 100 ml로 만듦) 0.4 ml를 혼합하여 65°C에서 20 분간 반응

시킨 후 dinitrosalicylic acid(DNS)용액[12] 0.8 ml를 가하여 효소반응을 정지시키고 반응액을 boiling water bath에서 10 분간 가열한 후 급냉하고 재증류수 2.4 ml를 첨가하여 546 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성단위는 위의 조건에서 1 분간에 1 μ mol의 xylose에 상당하는 환원당을 생산하는 효소의 양으로 나타내었다.

Jar-fermentor 배양조건

Xylanases를 대량생산하기 위해서 2.5-l jar fermentor를 사용하여 효소생산에 미치는 통기효과, 교반속도의 영향, 배양시간의 영향을 조사하였다. 통기효과를 조사할 때에는 WB배지 1l를 넣고 121°C에서 15 분간 살균한 후 종배양액을 1%되게 접종한 다음 교반속도를 300 rpm으로 고정하고 공기 주입량을 1, 2 및 3 vvm의 속도로 각각 주입하면서 24 시간 동안 배양하여 효소생산에 미치는 영향을 조사하였다. 교반속도의 영향을 조사하기 위해서는 공기 주입량을 2 vvm으로 고정하고 교반속도를 각각 300, 400 및 500 rpm으로 조정하여 24 시간 동안 배양하여 효소생산에 미치는 영향을 조사하였다. 또 최적 통기속도(2 vvm)와 교반속도(400 rpm)에서 4 시간마다 시료를 채취하여 효소생산에 미치는 배양시간의 영향을 조사하였다.

시약

Oat spelt xylan, birchwood xylan 및 xylose는 Sigma사 제품을 사용하였고, 자일로올리고당의 표준물질은 영국의 Megazyme사[1,4- β -D-xylobiose(X2), Lot XB120202; 1,4- β -D-xylotriose(X3), Lot No. XTR40301; 1,4- β -D-xylotetraose(X4), Lot No. XTE40301; 1,4- β -D-xylopentaose(X5), Lot No. LPE40301; 1,4- β -D-xylohexaose(X6), Lot No. 811013] 및 일본 Suntory사(Xylooligo 20P, Lot No. 91012551)로부터 구입하여 사용하였으며, TLC판은 Merck사의 제품(Silica gel 60F₂₅₄)을 사용하였고, 그 외의 시약들은 시판되는 특급 및 일급 시약들을 사용하였다.

결과 및 고찰

Jar-fermentor 배양조건

*S. thermocyanoeviolaceus*는 bagasse에서 분리된 고온성 균으로서 28~60°C 범위에서 생육할 수 있으며, 생육 최적 온도는 50°C이며 65°C에서는 생육이 불가능한 특성을 가지고 있다[11]. 또한 이 균은 최소한 4 종류의 xylanases를 분비하며, 이들 xylanases는 최적온도 및 기질 특이성에 있어서 독특한 효소학적 성질을 가지고 있다[2]. 특히 이 균이 생산하는 4 종의 xylanase는 내열성이 높고 xylan을 가수분해시킬 때에 장시간 처리에도 monomer인 xylose의 생산량이 적고 자일로올리고당이 많이 생산되는 특징을 가지고 있다[2]. 그러므로 이 균주는 xylan으로 부터 자일로올

리고당 조제를 위한 xylanase 생산 균주로 선발된 바 있다[3].

Jar fermentor를 이용한 xylanase 생산조건은 50°C에서 통기효과를 조사한 결과 Fig. 1과 같이 2 vvm이 최적인 것으로 조사되었으며, 교반속도는 400 rpm에서 가장 높은 효소생산성을 나타내었다. 상기의 최적조건에서 배양시간별로 효소생산성을 조사한 결과 Fig. 2와 같이 24 시간이상 배양할 때가 최적이었다. 이때 생산되는 효소량은 배양액 ml당 14.2 unit이었다. 배양시간을 48시간까지 연장해도 효소활성의 감소는 없었다. 특히 본 균의 xylanases는 내열성이 높기 때문에 균체를 제거한 후 실온에서 일주일후에도 95%이상의 활성을 유지하였다.

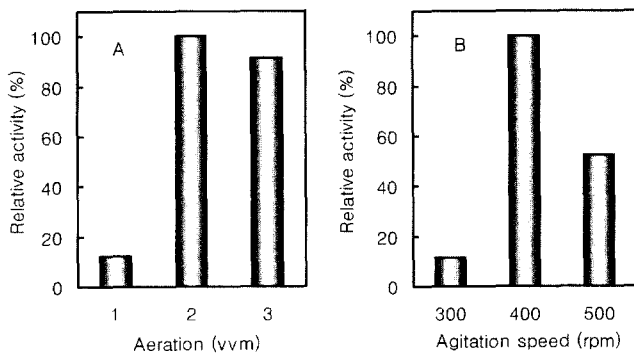


Fig. 1. Effect of aeration (A) and agitation speed (B) in jar-fermentor on the production of xylanases by *S. thermocyaneoviolaceus*.

One percent of seed culture were inoculated to 1 l of WB media in a 2.5-l jar fermentor. The bacteria were incubated at 50°C for 24 h on the indicated rate of aeration and speed of agitation.

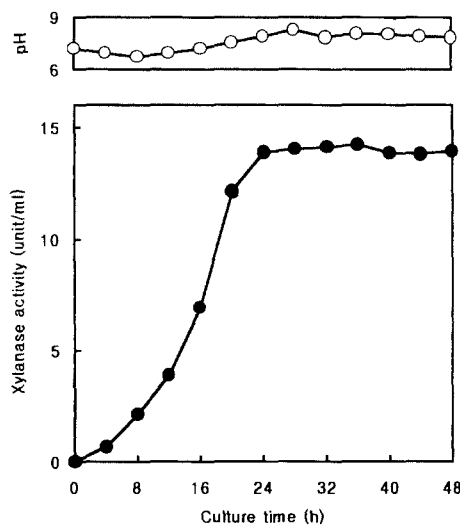


Fig. 2. Effect of culture time on the production of xylanases by *S. thermocyaneoviolaceus*.

One percent of seed culture were inoculated to 1 l of WB media in a 2.5-l jar fermentor. The bacteria were incubated at 50°C for 48 h on 2 vvm of aeration and 400 rpm of agitation.

기질에 따른 자일로올리고당의 생산

S. thermocyaneoviolaceus xylanases의 xylan 종류에 따른 분해정도를 조사하기 위하여 2% birchwood xylan용액 및 2% oat spelt xylan용액 0.5 ml에 50 mM sodium phosphate buffer(pH 6.0)로 희석한 효소액(5 unit/ml) 0.5 ml를 첨가하여 반응액을 조제하였다. 이 반응액을 50°C에서 4 시간 동안 100 rev/min의 속도로 진탕시키면서 반응시켰다. 효소반응 정지를 위해서 10 분간 boiling하고, 15,000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 고형분을 제거한 후 TLC로 분해생성물을 분석하였다. 그 결과 Fig. 3과 같이 *S. thermocyaneoviolaceus*가 생산하는 xylanases는 birchwood xylan에서는 X2가 주된 생성물이었고, 상당히 많은 양의 X3 및 그 이상의 중합도를 가진 자일로올리고당을 생산하였다. 그러나 oat spelt xylan으로부터는 X2가 주된 생성물이며 xylose가 소량 생산되고 X3이상의 올리고당이 거의 생산되지 않았으며 상당량의 불용성 xylan을 남겼다. X2와 X3의 자일로올리고당은 장내세균중의 *Bifidus*균의 증식을 촉진하는 탁월한 효과를 가지고 있으며[14], X4이상의 자일로올리고당은 가용성 식이섬유의 효과로 장통과시간 및 혈중 콜레스테롤 저감효과 등이 있음이 밝혀져 있다[8, 9]. 따라서 xylose 생산량이 적고 X2이상의 올리고당을 많이 함유한 자일로올리고당을 생산하기 위해서는 birchwood 유래의 xylan이 더 적합한 기질로 생각되었다.

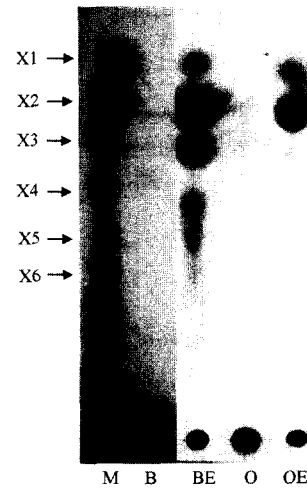


Fig. 3. Thin layer chromatography of the various xylan hydrolyzates produced by xylanases of *S. thermocyaneoviolaceus*.

The reaction mixture was composed of 0.5 ml of xylan and 0.5 ml xylanase solution which were diluted with 50 mM phosphate buffer (pH 6.0). The final concentration of enzyme and xylan were 2.5 unit/l and 10 mg/ml, respectively. The reactions were carried out at 50°C for 4 h and terminated by boiling for 10 min. Symbols: M, standard xylooligosaccharides; B, birchwood xylan without reaction; BE, hydrolysates of birchwood xylan; O, oat spelt xylan without reaction; OE, hydrolysate of oat spelt xylan; X1, xylose; X2, xylobiose; X3, xylotriose; X4, xylotetraose; X5, xylopentaose; X6, xylohexaose.

반응온도에 따른 자일로올리고당의 생산량

Xylan을 xylanases로 가수분해시 반응온도에 따라 생성된 자일로올리고당의 조성 변화를 조사하기 위해 투석 xylanases를 10 unit/ml를 함유하고 있는 10% birchwood xylan 용액 20 ml(50 mM sodium phosphate buffer, pH 6.0)를 50, 60 및 65°C에서 4 시간동안 반응시켰다. 이 반응액의 분해 생성물을 HPLC로 분석한 결과는 Fig. 4와 같다. 각 온도에서 비슷한 경향을 보였으나 생성물을 정량하여 xylose, X2, X3, X4, X5 및 X6의 양을 비교한 결과, 60°C에서 생성된 X2의 함량이 50°C보다 높았고, 65°C보다는 조금 적었다. 또 X2~X6의 올리고당의 총생산량을 보면 50°C에서 51.9 g/l, 65°C에서 52.9 g/l, 60°C에서 55.6 g/l이었다. 따라서 자일로올리고당 생산을 위한 반응최적온도는 60°C인 것으로 사료된다.

효소농도에 따른 자일로올리고당의 생산량

효소농도에 따른 자일로올리고당의 조성 변화를 조사하기 위해서 투석 xylanases를 1, 2, 5, 10, 및 20 unit/ml를 함유하고 있는 10% birchwood xylan 용액 20 ml(50 mM sodium phosphate buffer, pH 6.0)를 60°C에서 12 시간 반응시켰다. 이 반응액의 생성물을 HPLC로 분석한 결과는 Table 1과 같다. 그 결과 10 unit/ml의 효소농도에서 X2~X6까지의 올리고당 생성량이 가장 높았다. 이보다 더 높은 효소농도에서는 xylose 함량이 현저히 증가하여 올리고당 함량이 상대적으로 감소하는 경향을 보였다. 1, 2 unit/ml의 저농도의 효소에서는 X6의 함량이 높고, 고농도 효소(5~20 unit/ml)에서는 X2의 함량이 비교적 높은 경향이 있었다. 고농도의 효소농도에서는 상대적으로 xylose의 생성량이 많았으며 10 unit/ml에서는 X2가 가장 많았고, 20 unit/ml에서는 X2의 생성량이 줄고 xylose 함량이 현저히 많았다. 따라서 자일로올리고당의 생산을 위한 최적효소농도는 10 unit/ml인 것으로 생각된다.

반응 pH에 따른 자일로올리고당의 생산량

S. thermocyaneoviolaceus 유래의 xylanases로 xylan을 가수분해시킬 때 올리고당의 생산성에 미치는 반응 pH의

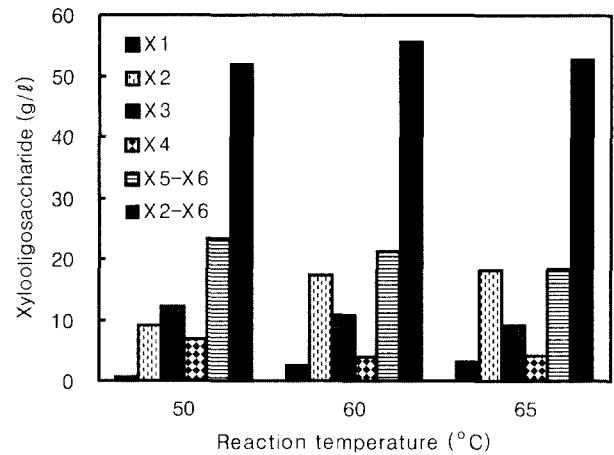


Fig. 4. Effect of reaction temperature on the production of xylooligosaccharides.

The reaction mixture was composed of 20 ml of 10% birchwood xylan and xylanases (10 unit/ml) in 50 mM sodium phosphate buffer (pH 6.0) and incubated at 60°C for 4 h. The concentration of xylooligosaccharides was calculated from HPLC data.

영향을 조사하기 위해 birchwood xylan 2 g를 20 ml의 각종 pH의 완충액으로 희석한 투석 효소액(최종농도 10 unit/ml)에 첨가하여 잘 혼합한 후 60°C에서 12 시간 반응시켰다. 이 때 사용한 완충액은 50 mM citrate-phosphate buffer (pH 4.0~5.5), 50 mM sodium phosphate buffer(pH 6-8) 및 50 mM glycine-NaOH buffer(pH 9-10)를 사용하였다. 반응액을 15,000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 얻은 상정액을 HPLC로 분석한 결과는 Table 2와 같다. pH가 효소활성 최적 pH인 pH 5.0[2]에 가까울수록 xylan을 가수분해하여 많은 올리고당을 생산하였지만 xylose의 양도 함께 상승하여 올리고당의 함량이 감소하는 경향을 나타내었다. 그 결과 올리고당의 생산에 최적인 pH는 6.0부근이었다.

반응시간에 따른 자일로올리고당 생산

위의 실험에서 설정된 조건에서 반응시간에 따라 생성되는 자일로올리고당의 조성을 분석하였다. 즉 10 unit/ml의

Table 1. Effect of enzyme concentration on the production of xylooligosaccharides

Enzyme (unit/ml)	Concentration of xylooligosaccharides (g/l)						
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X2-X6*
1	0.08	1.95	3.31	4.33	2.92	12.40	24.90
2	0.27	4.75	5.58	5.41	3.12	12.92	31.78
5	1.58	11.83	6.98	4.58	2.21	11.28	36.87
10	4.30	18.73	6.53	4.27	1.57	10.80	41.90
20	6.47	16.97	4.29	3.32	ND	10.52	35.10

The reaction mixture was composed of 20 ml of 10% birchwood xylan and xylanases (1 to 20 unit/ml) in 50 mM sodium phosphate buffer (pH 6.0) and incubated at 60°C for 12 h. The concentration of xylooligosaccharides was calculated from HPLC data. *X2-X6 referred to total xylooligosaccharides from X2 to X6 in the reaction mixture. ND, not detected.

Table 2. Effect of pH on the production of xylooligosaccharides

Reaction pH	Concentration of xylooligosaccharides (g/l)						
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X2-X6*
4	3.78	15.26	4.97	3.64	ND	13.97	37.85
5	4.41	16.69	5.94	4.55	ND	15.40	42.57
6	3.77	15.18	5.68	4.04	11.90	6.87	43.67
7	2.74	13.64	6.16	4.47	11.71	7.67	43.65
8	1.13	8.92	6.20	4.98	13.03	7.16	40.30
9	1.27	10.24	5.60	3.65	1.95	ND	21.45
10	0.07	0.54	1.40	2.68	2.36	ND	6.98

The reaction mixture was composed of 20 ml of 10% birchwood xylan solution and 10 unit/ml of xylanases in various pH solution and incubated at 60°C for 12 h. The concentration of xylooligosaccharides was calculated from HPLC data. *X2-X6 referred to total xylooligosaccharides from X2 to X6 in the reaction mixture of the indicated pH. ND, not detected.

Table 3. Effect of reaction time on the production of xylooligosaccharides

Reaction time (h)	Concentration of xylooligosaccharides (g/l)						
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X2-X6*
1	0.38	8.11	7.76	6.27	16.80	7.98	46.91
2	0.65	9.53	8.84	6.37	16.82	8.40	49.96
4	2.15	14.73	9.11	5.89	16.53	8.95	55.21
8	3.27	17.16	9.27	5.07	16.59	8.83	56.91
12	5.00	20.10	8.90	4.50	16.20	9.10	58.80
24	10.69	23.38	6.10	3.36	16.29	9.04	58.17

The reaction mixture consisted of 20 ml of 10% birchwood xylan and 10 unit/ml of xylanases in 50 mM phosphate buffer (pH 6.0) and was incubated various reaction time at 60°C. The concentration of xylooligosaccharides was calculated from HPLC data. *X2-X6 referred to total xylooligosaccharides from X2 to X6 in the reaction mixture of the indicated reaction time.

투석 xylanases를 함유한 10% birchwood xylan 용액(50 mM sodium phosphate buffer, pH 6.0)을 60°C에서 반응 시키면서 시간별로 2 ml씩 반응액을 채취하여 10 분간 boiling하여 효소반응을 정지시켰다. 이 반응액을 15,000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 얻은 상정액을 HPLC로 생성된 자일로올리고당을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 반응시간이 경과할수록 xylose와 X2의 함량이 증가하였으나 xylose를 제외한 X2~X6의 생성량이 12 시간 반응에서 가장 좋았으며, 그 이후부터는 약간 감소하는 경향이었으나, 24 시간 반응 후에도 현저하게 감소하지는 않았다. 이 조건에서 12 시간 반응시켜 생산된 자일로올리고당의 조성은 X2, X3, X4, X5 및 X6가 각각 20.1, 8.9, 4.5, 16.2 및 9.1 g/l이었으며 총 자일로올리고당(X2~X6)은 58.8 g/l을 생산할 수 있었고, 이때 생성되는 xylose의 양은 5.0 g/l이었다. 이러한 자일로올리고당의 생산량은 산업적으로 생산할 수 있기에 충분한 양으로 사료된다.

요 약

*S. thermocyaneoviolaceus*가 생산하는 xylanases를 황산암모늄에 의한 염석 및 투석에 의해 조제한 효소를 이용하여 자일로올리고당을 생산하기 위한 최적 반응조건을 설정

하였다. 자일로올리고당 생산을 위한 기질로는 oat spelt xylan 보다는 birchwood xylan을 사용하는 것이 더 좋았다. 반응온도의 영향을 조사한 결과 효소의 열 안정성과 자일로올리고당의 생성량 등을 고려할 때 60°C에서 반응하는 것이 가장 좋았다. 효소의 농도, pH의 영향 및 반응시간의 영향을 조사한 결과, 10 unit/ml의 xylanases를 첨가하여 pH 6.0에서 12 시간 반응시켰을 때 가장 많은 양의 자일로올리고당을 생산할 수 있었다. 이러한 최적 반응조건에서 10% birchwood xylan으로부터 생산할 수 있는 자일로올리고당의 조성은 X2, X3, X4, X5 및 X6가 각각 20.1, 8.9, 4.5, 16.2 및 9.1 g/l이었으며, 이 때 생산되는 총 자일로올리고당(X2~X6)은 58.8 g/l이었다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림 기술개발사업 연구비 지원에 의해 수행된 연구결과와 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Biely, P. 1985. Microbial xylanolytic systems. *Trends Biotechnol.*, 3: 286-290.

2. Choi, J. H. 1998. Purification and characterization of xylanase from *Streptomyces thermocyaneoviolaceus* Thesis for the master of agriculture, Kyungpook National University.
3. Choi, J. H., D. H. Kwon, O. S. Lee, G. J. Joo, H. D. Park, and I. K. Rhee. 1998. Production of xylanase by *Streptomyces thermocyaneoviolaceus* *Agri. Res. Bull. Kyungpook Nat. Univ.* **16**: 45–53.
4. Christov, L. P. and B. A. Prior. 1996. Repeated treatments with *Aureobasidium pullulans* hemicelluloses and alkali enhance biobleaching of sulphite pulps. *Enzyme Microb. Technol.* **18**: 244–250.
5. Dekker, R. F. H. and G. N. Richard. 1976. Hemicellulases: their occurrence, purification, properties, and mode of action. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **32**: 277–352.
6. Frederick, M. M., C. H. Kiang, J. R. Frederick, and P. J. Reilly. 1985. Purification and characterization of endo-xylanases from *Aspergillus niger*. Two isozymes active on xylan backbones near branch point. *Biotechnol. Bioeng.* **27**: 525–532.
7. Irwin, D., E. D. Jung, and D. B. Wilson. 1994. Characterization and sequence of a *Thermomonospora fusca* xylanase. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 763–770.
8. Joo, G. J., I. K. Rhee, S. H. Kim, and S. J. Rhee. 1998. Effect of dietary xylooligosaccharide on indigestion and retarding effect of bile acid movement across a dialysis membrane. *Korean Soc. Food Sci. Nutri.* **27**: 705–711.
9. Kim, S. H., I. K. Rhee, G. J. Joo, H. P. Ha, and S. J. Rhee. Effects of dietary xylooligosaccharides on lipid levels of serum in rats fed high cholesterol diet. *Korean Soc. Food Sci. Nutri.* **27**: 945–951.
10. Kohomoto, T., F. Fukui, H. Takaku, Y. Machida, and T. Mitsuoka. 1991. Does-response of isomaltooligosaccharide for increasing fecal *Bifidobacteria*. *Agric. Biol. Chem.* **55**: 2157–2164.
11. Lu, Y. and X. Yan. 1981. Studies on the classification of thermophilic *Actinomyces*. I. Determination of thermophilic *Streptomyces* (2). *Acta Microbiol. Sinica* **21**: 414–420.
12. Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* **31**: 426–428.
13. Oku, T. 1994. Special physiological functions of newly developed mono and oligosaccharides. p. 202 *In* I. Goldberg (ed.), *Functional Foods*, Chapman & Hall, New York.
14. Reilly, P. J. 1981. Xylanase: structure and function. *Basic Life Sci.*, **18**: 111–129.
15. Thomson, J. A. 1993. Molecular biology of xylan degradation. *FEMS Microbiol. Rev.* **104**: 65–82.
16. Wong, K. K. Y., L. U. L. Tan, and J. N. Saddler. 1988. Multiplicity of β -1,4-xylanase in microorganisms: functions and applications. *Microbiol. Rev.* **52**: 305–317.
17. Wong, K. K. Y. and J. N. Saddler. 1992. Applications of hemicellulases in the food, feed, and pulp and paper industries, pp. 127–143. *In* P.P. Coughlen, and G.P. Hazlewood (ed.), *Hemicellulose and Hemicellulases* Portland Press, London.
18. Yasuda, T. 1993. Application of xylooligosaccharides for the processed food. *New Food Industry*, **35**: 72–79.

(Received Jul. 23, 2001/Accepted Aug. 22, 2001)