

Diplodia gossypina ATCC10936 균주를 이용한 (+)-Jasmonic acid의 생산조건 최적화

고인호 · 김경주 · 김용휘*

세종대학교 생명식품공학부 식품공학과

Diplodia gossypina ATCC 10936에 의해 생산되는 카이랄 (+)-jasmonic acid (JA)는 생물학적으로 가장 활성이 높은 형태로, 식물 성장 hormone으로서 뿐만 아니라 상업적으로 jasmin 향 생산에 이용되는 물질중 하나이다. (+)-JA의 대량 생산을 위한 공정 개발을 위해, *D. gossypina* ATCC10936을 이용하여 (+)-JA 생산을 위한 최적배양 조건을 조사하였다. 최적 탄소원으로는 fructose와 glucose로 확인되었으며 질소원으로는 NaNO₃가 (+)-JA를 생산에 가장 적합하였다. (+)-JA 생산의 최적 온도와 회전 교반수는 28°C와 200 rpm으로 나타났다. 균사체의 균체량은 PDMYS 배지에서 최대로 증가하였으나, (+)-JA 생산은 SM 배지에서 최대 600 mg/L가 생산되었다.

Key words □ biosynthesis, *Diplodia gossypina*, epi-jasmonic acid, optimal conditions

균류의 연구영역은 과거 단순발효(traditional fermentation)에서부터 최근에는 환경 및 생물공학 등으로 다양해졌으며, 이에 따라 미생물의 생화학적 특성 및 미생물 대사활동에 관여하는 효소의 기작 및 특성에 관한 많은 결과를 내놓았다. 최근 새로운 미생물의 발견과 대사작용에 대한 연구를 통해 Bayer-Villiger reaction, Diels-Alder reaction, Bamberger rearrangement, Strecker degradation, Beckman rearrangement, Kolbe-schmidt reaction 등 유기합성의 기본을 이루는 화학반응이 미생물의 대사 작용에서 발견됨에 따라, 미생물의 생유기합성을 이용한 새로운 유기물질을 생성할 수 있는 가능성을 열어놓았다(1). 종전에는 병원성 균류에 대한 연구가 분리나 동정에 중점을 두어 진행되었지만 근래에는 병원성 균류에서 생성되는 유기물질에 대한 관심과 연구가 증가하고 있는 추세이며(3), 최근에는 균류의 생유기 합성 기작을 이용한 새로운 물질을 생산할 수 있는 방법에 대한 연구로 발전하고 있다(1).

병원성 균류를 이용하여 유용한 유기물질의 생산 기작에 관한 연구 중, 관심을 끌고 있는 대표적인 예로 jasmonic acid (JA, 3-oxo-2-(2'-pentenyl)-cyclopentaneacetic acid)을 들 수 있을 것이다(8). JA는 식물 성장 조절인자로서, 식물체에서 다양한 생리 기능을 갖는다(10). JA는 과일의 성숙, 수분의 생산, 뿌리의 성장, 미생물의 감염에 의한 식물의 방어시스템에 관여하기도 한다(9). JA는 불포화지방산, linoleic acid가 octadecanoid pathway를 통해서 생산된다. Linoleic acid는 lipoxygenase, allene oxide synthase와 allene oxide cyclase에 의해서 12-oxo-phytodienoic acid (12-oxo-PDA)로 바뀌고, 12-oxo-PDA는 환원반응과 제한적인 β-

oxidation에 의해서 JA가 만들어진다(7, 10). 식물성장 조절제로서 JA는 206종 105과의 식물류에 의하여 합성되는 것으로 알려졌다(7, 10).

식물성장 Hormone으로서 JA는 다양한 상업적인 가치를 가지고 있으며, 그 중 가장 응용이 가능한 분야는 바로 천연 향료로의 활용이라고 말할 수 있다(8). 전세계의 향 시장 규모는 \$16 billion으로 그 중 10%인 \$1.6 billion이 천연향 시장으로 형성되어 있다. 식생활의 안정성과 건강에 대한 소비자의 관심의 급증과 함께 경제적 가치의 변화에 따른 소비자의 천연소재에 대한 선호도의 증가에 따른 "Naturalness"에 관한 관심도 높아지고 있다. 천연향의 수요는 증가하고 있으나 계절적인 공급의 제한과 지리적인 제한으로 인하여 지속적인 생산 공급이 어려워 국제적인 향료회사를 중심으로 천연 향료 원료의 공급을 위한 새로운 기술의 개발에 박차를 가하고 있다(6, 8).

자스민 향료는 *Jasminium grandiflorum*이라고 불리는 자스민 식물의 꽃에서 추출 분리된 화합물로서 오랜 세월 우수한 향료로 각광을 받아왔다. 자스민 향료의 대표적인 화합물로는 시스-자스민(cis-jasmonone)과 메틸 자스민산(methyl jasmonate, MJ)이 있으며, 이들은 자연계에서 산출되는 일종의 시클로펜테논(cyclopentenone) 유도체로서, 그 합성법이 용이치 않은 까닭으로 값이 비싸기 때문에 합성법에 대한 연구가 계속되어 왔다(2, 8).

JA는 일반적으로 식물체에서만 생성되는 것으로 알려져 있었으나, 몇몇 과학자들에 의해 식물 병원성 균류에서도 생성되는 것을 발견하였다(4, 5). 식물 병원성 균류에 의한 JA의 생산이 확인된 이후, 균류를 이용한 발효를 통해 JA를 생산하려는 연구가 보고된 바 있다(6, 8). 특히 카이랄 (+)-JA는 생물학적으로 가장 활성이 높은 형태로, 최근에는 methylation화 시켜 (+)-MJ를 생산하므로써, jasmin 향 생산에 이용되어 상업적 가치가 크게

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 02-3408-3228, Fax: 02-3408-3319
E-mail: kimyh@sejong.ac.kr

증가하였다(6, 8).

이에 본 논문에서는 천연 (+)-MJ 합성을 위하여 카이랄 (+)-JA의 대량 생산을 위한 산업적 생산 공정 개발을 목표로, *Diplodia gossypina* ATCC10936을 이용하여 (+)-JA 생산을 위한 최적배양 조건을 조사하였다.

재료 및 방법

사용 균주

JA의 생산성 향상 및 공정 개발에 관련된 연구를 위하여 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, USA)에서 식물 병원성 균류인 *D. gossypina* ATCC10936을 구입하여 JA 생산성에 관한 실험에 사용하였다. 구입된 *D. gossypina* ATCC 10936은 potato dextrose agar (PDA, Difco Laboratories Detroit, USA) 사면배지에 28°C에서 7일 간 배양하여 4°C에서 보관하였다. 장기간 *D. gossypina* 균체의 보관을 위하여 potato dextrose broth (PDB, Difco)를 이용하여 28°C에서 3일간 배양한 후, 배양된 균체를 Blender로 분쇄하여 2 ml씩 분배하고 급속 동결한 후 -70°C에서 보관하였다.

배지 및 시약

본 실험에 사용한 (±)-JA mixture 는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA)에서 구입하여 Thin Layer Chromatography (TLC) 및 High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)의 표준물질로 사용하였다. 본 실험에 사용된 배지는 보존균주를 위한 PDA를 포함하여, 액상배양을 위한 PDB를 사용하였으며, 질소원으로 사용된 soy-peptone 및 malt extract는 Difco에서 구입하여 사용하였다. Sodium nitrate (NaNO_3), potassium phosphate/monobasic (KH_2PO_4), potassium phosphate/dibasic (K_2HPO_4)는 Sigma에서 구입하였으며, magnesium sulfate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), potassium chloride (KCl), iron sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)는 (주)대정화정(Korea) 제품을 구입하여 사용하였으며, 이외의 모든 시약 및 배지 시약은 일급 시약을 사용하였다. 배지 준비를 위한 물은 일반수(tap water)와

deionization 수지를 이용한 탈 이온수를 사용하였다.

균주 배양 조건

미생물의 성장, 생산에 조건과 영양물의 요구에 따라 basal minimal salt medium (b-MS, 6)에서 변형된 modified basal minimal salts medium (BMS)을 중심으로 구성성분의 차이에 따라 (N), (N2) 및 (N3)BMS와 salt medium (SM) (Table 1)를 사용하였으며, 영양배지로 potato dextrose malt yeast salts medium (PDMYS, PDB 24 g/L, malt extract 5 g/L, soytone 5 g/L, yeast extract 10 g/L)를 사용하였다. 모든 배지는 25% NaOH를 이용하여 pH 6.0으로 조절한 후 121°C, 20분간 살균하여 사용하였다. 접종균주는 사면배지에서 배양된 균체를 이용하거나, 동결 보관된 균사체를 이용하였다. JA 생산의 최적 조건을 결정하기 위해 BMS에 fructose, glucose, lactose, sucrose와 starch (stock solution, 50% w/w solution)를 최종 농도가 30 g/L로 첨가하여 탄소원에 따른 영향을 실험하였으며, SM배지를 이용하여 최적 온도, 회전 교반수 조건을 결정하였다. 균주의 건체량을 측정하기 위해 100 ml의 균체 배양액을 cheese cloth를 이용하여 균체를 분리한 후, heating oven (95°C)에서 3일간 건조한 후 측정하였다.

Glucose 함량의 측정

배지내 glucose의 함량을 결정하기 위하여 배양액을 1일 간격으로 10 ml 씩 분취를 하여, 원심분리(5,000 × g, 20 min)한 후 상층부를 회수하였다. 회수된 상층액은 1/10 로 희석하여, YSI 2700 SELECT Biochemistry Analyzer (YSI Life Sciences, Detroit, USA)를 이용해 배지 내 glucose 함량을 정량하였다.

TLC을 이용한 JA의 분석

균주는 7일간 배양하여 25% H_2SO_4 을 이용하여 pH 4.5로 맞춘 후, 배양액과 ethyl acetate (1:1, V/V)를 넣고 혼합하여 votex 및 원심분리 후, ethyl acetate층을 분리하여 시료로 사용하였다. 각 시료는 silica gel TLC plate (Merck, Germany)에서 전개하여

Table 1. Components of culture medium (dissolved in deionized water)

	Medium (g/L)					
	BMS	(N)BMS	(N2)BMS	(N3)BMS	b-MS	SM
NaNO_3	1.0	2.0	0.5	2.0	2.0	7.5
KH_2PO_4	2.0	1.5	2.0	2.0	1.33	2.0
K_2HPO_4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.66	
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.0	2.0	2.0	0.5	0.5	0.6
KCl	0.5	0.5	0.2	0.5	0.5	0.3
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.6
Yeast extract	0.5	0.5	0.5	0.5	-	1.0
Glucose	30	30	30	30	30	30
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	-	0.01	0.3
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	-	0.001	0.003
$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	-	0.0015	0.003
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	-	0.001	0.003

고, 시료의 전개는 TLC chamber (20×20×5 cm)에서 수행하였다. 전개 용매의 조성은 n-hexane : ethyl acetate : acetic acid = 50 : 50 : 0.5 v/v/v)이며, 전개가 끝난 TLC plate 는 건조시킨 후, 발색시약(H₂SO₄ : ethanol : vanillin = 40 g : 10 g : 0.5 g)을 이용하여 열처리를 통하여 JA의 존재를 확인하였다.

HPLC을 이용한 JA의 분석

배양액을 10 ml 씩 분취한 후, 원심분리해(5,000 × g, 20 min) 배지 배양액을 회수하였다. 회수된 배양액은 0.25 μm PTFE syringe filter (Millipore, USA)를 이용해 여과하여 시료로 이용하였고, HPLC 분석을 위한 (+)-JA 기준 물질은 methanol을 이용하여 stock solution (100 mg/g)을 준비한 후 -20°C에서 보관하고, 필요에 따라 d-H₂O를 이용하여 여러 농도로 희석하여 사용하였다. 여과된 20 μl의 시료는 HPLC에 주입하여 JA의 정량 분석을 실시하였다. HPLC 장치는 P680 HPLC pump (Dionex Inc, USA)와 Model UVD 170U/340U 검출기(Dionex)를 이용하였다. 분석 column은 C₁₈ 역상 column (5.0 μm, 150×4.0 mm, Bischoff, Germany)을 사용하였고, column 온도는 35°C로 유지하면서 분석하였다. 검출기의 UV의 파장은 200 nm, 210 nm, 220 nm, 230 nm의 각기 다른 파장으로 동시에 검출하였다. 용매조건으로는 0.1% TFA를 함유한 d-H₂O와 acetonitrile을 6:4로 섞어, 0.8 ml/min 유속으로 유지하면서 분석하였다.

결과 및 고찰

D. gossypina ATCC10936에 의한 JA 생산

D. gossypina ATCC10936에 의한 JA의 생산을 확인하기 위해서, 배양액을 1일 간격으로 10 ml씩 분취를 하여, 원심분리한 후(7,000 × g, 20 min) 상층부를 회수하여 JA 생산여부를 TLC

로 확인하였다(자료 미제시). TLC로 JA의 생산이 확인된 배양액은 JA의 정량을 위하여 HPLC를 이용하여 분석하였다(Fig. 1). ATCC에서 구입한 *D. gossypina* 균체를 ATCC에서 제공된 세포 배양 방법을 이용하여 PDB에 배양할 경우 JA는 생산되지 않았다. JA의 생산을 위하여 다양한 배지 조건이 이용되었으며, *D. gossypina*의 JA생산 능력은 세포 배양액의 색도에 따라 생산량의 현저한 차이를 보여 색도가 white에서 yellow인 경우 가장 많은 JA생산성을 보였으며, blue에서 dark black일 경우 JA 생산성이 현격하게 줄어들었으며, 이 결과는 Kim (8)의 결과와 일치한다. 배지 조건과 관련한 미생물의 색도 변화에 관한 연구는 현재 보고되지 않았으나, 미생물 생육조건인 악화로 인한 sporulation반응에 관련된 현상으로 추정되고 있지만 *D. gossypina*의 실험실내 sporulation현상은 현재까지 보고되지 않았다. 또한 JA 생산성은 미생물의 균체량과 관련이 없는 것으로 파악되었다. 한편, *D. gossypina*의 배양 중 미생물의 배양형태가 pellet형상을 지닐 경우 JA의 생산량은 현격하게 저하되었다. 이는 *D. gossypina*의 JA 생산성은 세포의 성장과 관련이 없는 2차 대사산물의 결과로 여겨지며, *D. gossypina*에 의한 JA 생산관련 대사과정의 연구가 추가로 필요하다.

배지 성분에 따른 균의 성장과 JA의 생산 관계

D. gossypina ATCC10936에 의해 JA를 생산할 경우, 세포 건체량의 증가를 적정수준으로 제한하여 JA 생산성 극대화가 필요하다. *D. gossypina* 성장에 적합한 배지의 선택과 함께 JA의 생산을 촉진 할 수 있는 배지를 선택하기 위하여 비교 실험하였다(Table 1). 미생물 성장을 위하여 크게 영양배지와 염을 중심으로 BMS를 이용하여 실험한 후, N-source 및 무기염의 농도에 변화를 준 7가지의 배지에 균주를 1% 접종하며 이를 7일간 배양하였다. BMS배지를 이용할 경우 가장 우수한 N-source를 선택하

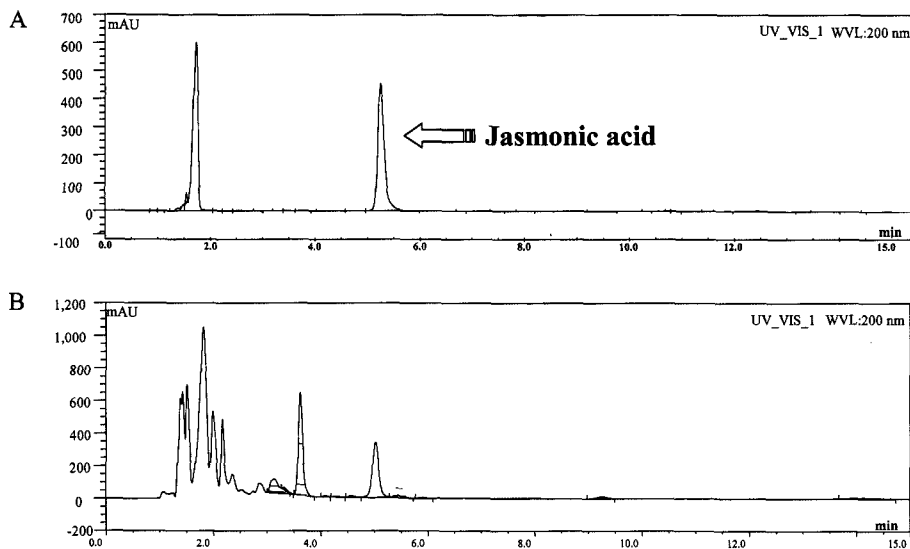


Fig. 1. HPLC analysis of the production of JA by *D. gossypina* ATCC10936. (A) (±)-JA standard (1,000 mg/L in d-H₂O), (B) *D. gossypina* cell culture broth. Cell culture was grown in SM medium at 28°C and 200 rpm for 7 days.

기위해 다양한 N-source를 첨가하였으나 NaNO_3 가 JA 생산에 가장 적합한 N-source로 확인되어 이번 연구에 적용하였다(자료 미제시). *D. gossypina* ATCC10936은 nitrate reductase의 활성을 통해 NO_3^- 을 NH_4^+ 로 전환하여 N-source로 사용하는 것으로 추정된다. *D. gossypina* ATCC10936은 배지의 종류와 관계없이 배양을 시작한 후 2-3일 동안 급격하게 균체량을 증가시키는 반면, JA 생산량은 균체량의 증가와 관계없이 지속적으로 증가시키는 것으로 나타났다. 영양배지인 PDMYS 배지에서 7일간 배양된 균주의 전체량은 36.8 g/L 으로 가장 높았으나, JA 생산성은 저조하였다. 상대적으로 무기염을 중심으로 한 BMS 배지에서 배양된 균체량은 상대적으로 적었으나 높은 JA가 생성되었다(Fig. 2A and B). JA 정량분석을 위하여 HPLC를 이용하여 분석한 결과, SM 배지에서 650 mg/L의 농도를 보여 가장 높은 것으로 나타났다. 그 다음으로 (N)BMS가 500 mg/L을 나타내었다. (N2)BMS의 경우 47.28 mg/L로 가장 낮은 결과를 얻었다(Fig. 2B). (N2)BMS의 경우 배지 조성 성분 중 NaNO_3 의 양이 상대적으로 많은 경우로 NaNO_3 에 의한 pH의 영향에 의하여 JA 생산성이 영향을 받은 것으로 추정된다. 미생물에 따라서 균의 성

장과 JA의 생산량과의 관계가 반드시 비례적으로 일치하지 않음을 확인하였다(Fig. 2). 하지만 균체량의 증가와 함께 균체의 색도로 yellow에서 dark black으로 변화되는 것으로 관찰되어 JA 생산성과 균체의 색도는 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다. 이러한 결과는 아마도 JA가 *D. gossypina*의 2차 대사산물로 추정되지만, 미생물의 성장곡선과 JA 생산시기 및 기작에 관련하여 추가 연구가 필요하다.

배양에 사용되는 물에 따른 영향

D. gossypina ATCC10936의 성장은 배지 구성성분 중 영양성분(C와 N-source)에 영향을 받지만 균체의 색도 및 JA 생산성은 배지 내 포함된 다양한 무기물질의 영향을 받는 것으로 추정되고 있다(6, 8). 특히 배지 내 $\text{Fe}^{++(++)}$ 의 농도에 많은 영향을 받는 것으로 확인되었다(자료 미제시). 배지에 사용된 물에 의하여 모든 배지에서 배양된 *D. gossypina*의 균체량 및 균체의 색도의 변화가 관측되었다. 물 속에 잠재적으로 존재하는 이온에 의한 JA의 생산에 대한 영향을 알아보기 위해, 일반수(tap water), 18 Ω 의 탈이온수(1차 deionized water), 7 M Ω 의 탈이온수(2차 deionized water) 3종류를 가지고 균을 배양하였다. 그 결과 일반수에서 배양한 *D. gossypina*에서는 JA의 생산이 일어나지 않았으며 18 Ω 의 탈이온수와 7 M Ω 의 탈이온수에서는 각각 200 mg/L와 500 mg/L 정도의 JA를 생산하는 것으로 확인되었으며, 일반수를 사용할 경우 균체의 색도는 dark black으로 바뀌는 경향을 보였다. 따라서 본 실험에서는 7 M Ω 의 탈이온수를 사용하여 물이 줄 수 있는 영향을 최소화하였다. 이러한 결과는 물 속에 존재하는 소량의 이온이 균체 생장을 촉진시키는 반면, JA 생산을 저해하는 요인으로 작용하는 것으로 추정된다.

탄소원의 영향

JA는 불포화지방산, linoleic acid가 octadecanoid pathway를 통해서 *de novo* synthesis를 통하여 생산되는 것으로 알려져 있다(7). JA 생산을 위해 linoleic acid를 첨가할 경우 함께 첨가되는 유화제의 영향에 의하여 JA 생산 및 분리를 저해하여, JA 생산에 필요한 최적의 C-source를 결정하기 위하여 BMS에 fructose, glucose, lactose, starch, sucrose를 최종 농도 30 g/L로 첨가하여 실험한 결과 starch, fructose, lactose, glucose 순위로 *D. gossypina* ATCC10936 균체량의 증가를 보였으며(자료 미제시), JA의 생산은 fructose를 첨가한 배지에서 glucose를 첨가한 것보다 조금 더 많이 생산되는 것으로 나타났다. 그러나 가격 및 경제성면에서 포도당이 우수하기 때문에 C-source로 포도당으로 사용하여 JA 생산공정의 연구를 진행하였다.

JA의 생산공정의 최적화

D. gossypina ATCC10936를 이용한 JA 생산 공정의 개발을 위하여 배지의 조성과 더불어 배지의 pH, 미생물 배양온도와 용존 산소의 공급량 및 동시에 미생물 균체 형상(dispersed growth vs. pellet growth)에 영향을 줄 수 있는 회전 교반수의 영향을 측정하였다. 모든 배지의 초기 pH는 6.0으로 25% NaOH를 이

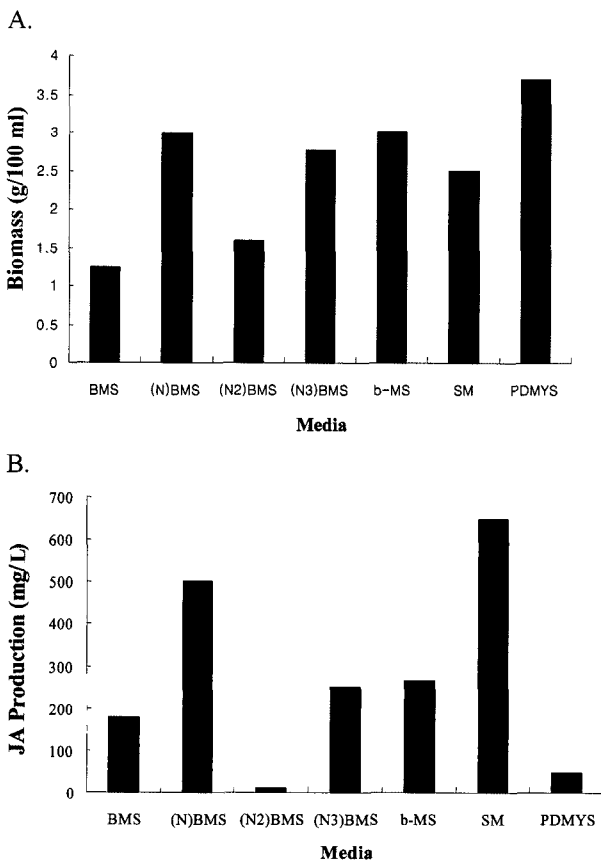


Fig. 2. Relationships between cell growth and the production of JA by *D. gossypina* ATCC10936 in different media. (A) Effect of culture medium on mycelial growth and (B) Effect of culture medium on the production of JA. All cell cultures was grown at 28°C and 200 rpm for 7days.

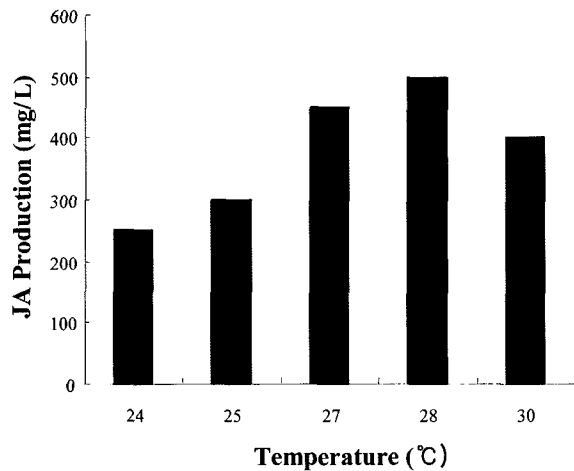


Fig. 3. Effect of temperature on the production of JA by *D. gossypina* ATCC10936. All cultures was grown in SM medium, and at 28°C and 200 rpm for 7 days.

용하여 조절한 후 배지의 pH 변화에 따른 JA 생산량 변화에 대한 영향을 확인하였다. 실험 결과, 7가지의 배지에서 pH가 서로 다르게 변화되는 것을 확인할 수 있었으며, 초기 배양에 따라 배지의 pH는 4로 줄어들며, 균주 배양 6일을 기점으로 pH가 5-6 정도로 다시 상승하는 경향을 보였지만, 7가지 배지 간에 pH에 변화에 따른 JA 생산성은 큰 차이를 나타내지 않았다. 또한 JA 생산에 따른 pH 변화는 크게 나타나지 않았다(자료 미제시). 배양온도는 미생물의 생육과 JA 생산에 영향을 미치는 것으로 알려져 있어(6), 최대 JA 생산성을 보여주는 SM 배지에서 JA 생산의 최적 온도를 측정하였다. *D. gossypina*의 생육은 온도에 의하여 상대적으로 적은 영향을 받았으며, JA 생산성은 각각 24°C에서 250 mg/L, 28°C에서 500 mg/L와 30°C에서 400 mg/L로 나타나 28°C가 JA 생산에 가장 적합한 온도로 확인되었다(Fig. 3). 균사체 생장은 다른 호기성 미생물 배양에서와 같이 aeration에 따른 용존 산소량에 영향을 받으며, 액상 배지 내 균류의 형상은

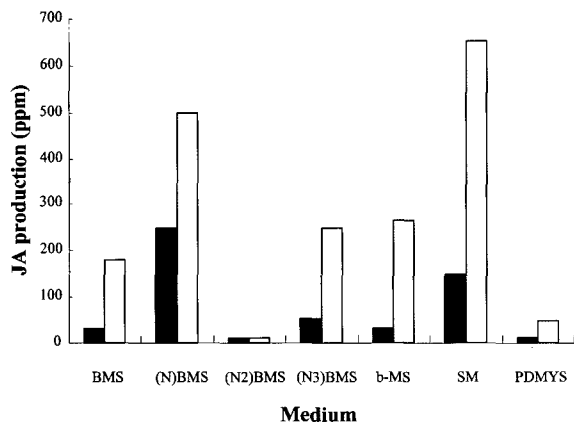


Fig. 4. Effect of agitation speed on the production of JA by *D. gossypina* ATCC10936. Open bar (□); agitation at 200 rpm, closed bar (■); agitation at 150 rpm. All cultures was grown at 28°C.

aeration에 따른 shear pressure에 결정되는 것으로 알려져 있어, shear pressure가 작을 경우 pellet 형태를 형성하며 교반수가 적을수록 pellet의 직경이 증가한다. Pellet의 직경이 증가하면 균사의 호흡률이 감소하여 작은 pellet이 더 많은 균사체를 형성한다. 본 연구에서 aeration과 JA 생산성에 관련 관계를 확인하기 위하여 agitation speed를 각각 150과 200 rpm으로 조절하여 배양한 결과 200 rpm에서 JA 생산성이 증가되었고, 균체의 pellet size도 작아지는 것으로 확인되었다(Fig. 4). *D. gossypina*에 의한 산업형 JA 생산공정의 개발 및 최적화를 위한 agitation 및 aeration에 의한 shear pressure의 상관관계를 확인하기 위하여 20-liter 발효기를 이용한 실험이 진행되고 있다.

감사의 말

이 논문은 일부 인하대학교 ERC 초정밀분리기술연구센터와 세종대학교 산학협력기술센터의 2005년도 산학연 공동기술개발 컨소시엄 사업의 지원에 의하여 수행되었음.

참고문헌

1. 김용휘. 2004. 생유기합성:새로운 환경 친화적 정밀화학 물질 합성을 위한 생합성과 유기합성의 접목. 미생물과 산업. 30, 11-20.
2. 이우영, 채우기, 박외숙. 1987. 테르펜계 천연향료 합화물의 합성에 관한연구. 과학기술부과제 87-0306-06-13.
3. 홍수정, 이철원, 송범훈. 1999. Methyl jasmonate 처리에 의한 벼 저장의 저온장에 경감효과. 한국농화학회지. 11, 284-293.
4. Aldridge, D.C., S. Galt, D. Giles, W.B. Turner. 1971. Metabolites of *Lasiopodia theobromae*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1623-1627.
5. Eng, F., M. Gutierrez-Rojas, and E.F. Torres. 1998. Culture conditions for Jasmonic acid and biomass production by *Botryodiplodia theobromae* in submerged fermentation. *Process Biochemistry.* 33, 715-720.
6. Farbood, M., R. Blocker, L. McLean, M. Sprecker, M. McLean, N. Kossiakoff, A. Kim, and M. Hagedorn. 2004. Bioprocess for the high-yield production of food flavor-acceptable jasmonic acid and methyl jasmonate, novel jasmonic acid isomer produced thereby and uses thereof. US Patent No. 6, 458-569.
7. Hamberg, M. and H.W. Gardner. 1992. Oxylipin pathway to jasmonates: biochemistry and biological significance. *Biochim. Biophysica Acta.* 1165, 1-8.
8. Kim, A.Y. 2005. Application of biotechnology to the production of natural fla and fragrance chemicals. *ACS symposium series* 908, 60-74.
9. Meyer, A., O. Miersch, C. Buttner, W. Dathe, and G Sembdner. 1984. Occurrence of the plant growth regulator jasmonic acid in plants. *J. of plant growth regulation.* 3, 1-8.
10. Vick, B.A. and D.C. Zimmerman. 1984. Biosynthesis of jasmonic acid by several plant species. *Plant Physiol.* 75, 458-46.

(Received May 22, 2006/Accepted August 24, 2006)

ABSTRACT: Optimal Conditions for the Production of (+)-Jasmonic acid by *Diplodia gossypina* ATCC10936

Inho Go, Kyoungju Kim and Yonghwi Kim* (Department of Food Science and Technology, Sejong University, Seoul 143-747, Korea)

Diplodia gossypina ATCC10936 produced chiral specific (+)-jasmonic acid (JA) that is the most biologically active form. (+)-JA is a plant growth hormone and also one of the most important aroma compounds responsible for jasmin-like aroma note. In order to develop a commercial bioprocess for the production of (+)-JA, optimal culture conditions for *D. gossypina* ATCC10936 were investigated. *D. gossypina* produced (+)-JA using either fructose and glucose as a sole carbon source. As a nitrogen source, NaNO₃ gave relatively high (+)-JA production. The optimal temperature for the production of (+)-JA by *D. gossypina* was 28°C, and optimal agitation was found to be 200 rpm. *D. gossypina* produced (+)-JA upto 600 mg/L in SM medium, although the highest level of biomass was obtained in PDMYS medium.