

*Trametes trogii*에 의한 섬유소 분해효소의 생산에 있어서 탄소원과 질소원의 영향

김명숙¹ · 홍재식* · 김명곤 · 윤 숙 · 최윤희²

전북대학교 농과대학 식품공학과

¹군산전문대학 식품영양과

²호남농업시험소

Effects of Carbon and Nitrogen Sources in the Production of Cellulolytic Enzymes by *Trametes trogii*

Myeong-Sook Kim¹, Jai-Sik Hong*, Myung-Kon Kim, Sook Yoon and Yoon-Hee Choi²

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

¹Department of Food & Nutrition, Kunsan Junior College, Kunsan 573-110,

²National Honam Agricultural Experiment Station, Iksan 570-080, Korea

ABSTRACT: For the purpose of utilizing cellulose resources by cellulolytic enzymes of *Trametes trogii*, its cultural conditions for the production of cellulolytic enzymes in synthetic media were investigated. The optimum conditions for the production of cellulase by *T. trogii* in synthetic media were 30~35°C, pH 4.0~6.0, and 11~15 day's cultivation. Among the carbon sources, carboxymethyl cellulose was good for the production of avicelase and β -glucosidase, but cellulose was good for the production of CMCase. The optimum concentration of Na-CMC was 3% for the production of all the three cellulolytic enzymes. As the nitrogen source, 0.03~0.04% N as ammonium tartrate was effective for the production of the cellulases.

KEYWORDS: *Trametes trogii*, cellulase, cultural conditions

Cellulase는 식물 세포벽의 주성분을 이루고 있는 cellulose의 β -1,4-glucosidic linkage를 가수분해하는 β -1,4-glucan-4-glucano-hydrolase(β -1,4-glucanase, EC 3.2.1.4)로서 cellulose chain에서 β -D-glucose를 생성하는 효소로 정의되는데 천연의 cellulose는 결정성의 단단한 조직을 형성하고 있어 β -1,4-glucanase의 작용만으로는 그 분해가 어렵고 최소한 3종류 이상의 효소가 복합적으로 작용하는 것으로 알려져 있다(Li 등, 1965). 이들 효소로는 $\text{exo-}\beta$ -1,4-glucanase(β -1,4-glucan cellobiohydrolase, Avicelase, C₁-enzyme, EC 3.2.1.91), $\text{endo-}\beta$ -1,4-glucanase(β -1,4-glucan glucanohydrolase, CMCase, C_x-enzyme, EC 3.2.1.4) 및 β -glucosidase(cellobiase, salicinase, EC 3.

2.1.74)가 있으며 소량의 $\text{exo-}\beta$ -1,4-glucan glucohydrolase(EC 3.2.1.74)가 존재하는 것으로 보고 되었다(Wood, 1968). 동일한 한 종류의 미생물 군주로부터 기질 특이성이 현저하게 다른 isozyme이 존재한다는 보고도 있었는데 Eriksson 등(1969, 1978)과 Ayers 등(1978)은 *Sporotricum pulverulentum*에 의한 cellulase 생산에 관한 연구에서 $\text{exo-1,4-}\beta$ -glucanase는 1개, $\text{endo-1,4-}\beta$ -glucanase는 5개, 1,4- β -glucosidase는 5개의 isozyme이 존재하는 것으로 보고한 바 있다. 또한 Reese(1975)는 천연의 cellulose가 수용성 당으로 전환되는데는 C₁, C_x-cellulase에 의한 2단계 반응으로 진행되며 이들 두 효소 이외에 cellobiase가 존재하여 최종적으로 glucose를 생산하는데 관여한다고 보고하였다.

*Corresponding author

Cellulase는 bacteria, fungi, 고등식물 및 무척

추 동물 등 자연계에 널리 분포되어 있고 주로 미생물 기원의 cellulase에 관한 연구가 주를 이루고 있으며, 천연의 cellulase를 강력히 분해할 수 있는 미생물의 분리와 돌연변이에 의한 균주의 개발이 활발히 진행되어 왔다.

Cellulase를 생산하는 미생물로는 *T. viride* (Berghem 등, 1973, 1974, 1975, 1976; Herr, 1979), *T. reesei*(Frein 등, 1982; Watson 등, 1984; Duff 등, 1985), *T. koningii*(Wood 등, 1972, 1982; 小守 등, 1964; 맹, 1985), *T. harzianum*(Deschamps 등, 1985) 등의 *Trichoderma*속과 *A. niger*(이 등, 1976), *A. terreus* (Garg 등, 1982), *A. aculeatus*(Kanamoto 등, 1979), *A. saitoi*(松 등, 1963), *A. phoenicis* (Deschamps 등, 1984) 등의 *Aspergillus*속 및 *Penicillium funiculosum*(Deshpande 등, 1983), *Sporotricum thermophile*(Margaritis 등, 1983), *S. pulverulentum*(Almin 등, 1975; Eriksson and pettersson, 1975) 등이 알려져 있고 이 밖에 *Clostridium* sp.(Lee 등, 1975), *Cellulomonas flavigena*(Rajoka and Malik, 1984), *C. uda* (Stoppok 등, 1982), *Myriococcum albomyces*(정, 1971), *Myriotheceum* sp.(Kassim, 1982), *Ganoderma lucidum*(최, 1986; Do와 Kim, 1986), *Pleurotus ostreatus*(Hiroi와 Ekriksson, 1970), *P. sajor-caju*(Madan과 Bisaria, 1983; 홍 등, 1984; 이, 1984), *Irpex lacteus*(Kanda 등, 1976), *Thermomonospora curvata*(Stutzenberger, 1972) 등이 알려져 있으며, 川(1973; 1973)은 carboxymethyl cellulose(CMC)를 기질로 하여 *Coprinus radians*의 cellulolytic activity를 조사하여 cellulolytic enzyme의 높은 생산력을 확인하고 또 Aphyllophorales와 Agaricales의 CMC-ase activity를, *Lampteromyces japonicus*, *Formitopsis cytisina* 및 *I. lacteus*의 cellulolytic activity를 보고하였다. Do 등(1986)은 *Ganoderma lucidum*으로부터 높은 activity의 CX-enzyme을 확인하였으며, 홍 등(1984; 1988; 1975; 1978)은 *P. sajor-caju*, *Lyophyllum decastes*, *P. ostreatus* 및 *Flammulina velutipes*가 생산하는 cellulolytic enzymes에 관하여 보고하였다.

본 연구에서는 자연계에 가장 풍부하게 존재하는 천연의 cellulase를 효과적으로 분해, 이용하기 위해서 cellulase 분해력이 우수한 group으로 알려져 있는 wood rotting fungi의 하나인 *T. trogii*에 의한 cellulase 생산에 있어 합성배지에서 탄소원과 질소원을 중심으로 배양 최적 조건을 검토하였다.

재료 및 방법

균주의 선별 전북대학교 농과대학 식품공학과 미생물학 실험실에 보관중인 담자균류, *Coriolus versicolor*, *Lenzites betulina*, *L. decastes*, *F. velutipes*, *Auricularia auricula Judae*, *Hericium erinaceum*, *T. trogii*, *G. lucidum*을 대상으로 병질배지에서의 균생육도와 cellulase 활성을 측정 한 결과 균생육도 및 cellulase 생산이 다른 균주보다 양호하여 본 실험의 cellulase 생산 균주로 *T. trogii*를 선발하였다.

사용배지

보관용 배지로는 2.5% malt extract(Difco), 2% agar(Difco)를 함유한 배지를 pH 5.0으로 조정하여 사용하였으며, 종배양용 배지는 1% malt extract를 pH 5.0으로 조정하여 사용하였다. 액체배양용 기본배지는 cellulose powder 10g, Bacto peptone 2g, KH_2PO_4 2g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, thiamin·HCl 50 μg , distilled water 1000 ml, pH 5.0으로 조정하여 사용하였다.

배양 방법

보관균주를 종배양용 배지 50 ml에 직경 0.5 cm 정도의 절편을 접종하여 30°C에서 7일간 종배양한 후, 이를 Omni mixer로 2분간 무균적으로 마쇄하고, 이 현탁액 3 ml를 250 ml 삼각 플라스크에 배양액 50 ml씩 넣고 1.2 kg/cm² 압력에서 15분간 살균한 배지에 접종하여 온도와 배양기간별 비교실험을 제외하고는 30°C에서 11일간 배양하였다.

효소활성도 측정

*T. trogii*를 합성배지에서 11일간 정치배양한 후 배양액을 여과하여 cellulase의 조효소액으로 하

였다.

Avicelase(Berghem *et al.*, 1973)는 1% Avicel 현탁액을 함유한 0.2 M sodium acetate buffer (pH 5.0) 0.5 ml에 조효소액 0.5 ml를 가하여 50°C water bath에서 60분간 반응시킨 후 유리되는 환원당을 DNS법(Miller, 1959)에 의하여 비색 정량하였다. Glucose 표준품을 사용하여 같은 방법으로 standard curve를 작성 하였고, 효소활성도는 1분당 1 M의 glucose를 생성하는 효소량을 1 unit로 하여 활성의 비교 단위로 하였다.

CMCase(Kanda *et al.*, 1976)는 1% CMC 용액을 함유한 0.2 M sodium acetate buffer(pH 5.0) 0.5 ml에 조효소액 0.5 ml를 가하여 50°C water bath에서 30분간 반응시킨 후 유리되는 환원당을 Avicelase와 같은 방법으로 측정하였다.

β -Glucosidase(Tokao *et al.*, 1985)는 17 mM salicin 용액을 함유하는 0.2 M sodium acetate buffer(pH 4.6) 0.5 ml를 가하고 50°C water bath에서 30분간 반응시킨 후 유리되는 환원당을 avicelase와 같은 방법으로 측정하였다.

단백질농도의 측정

단백질 농도는 Lowry 등의 방법(Lowry 등, 1951)을 사용하였으며 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

C. versicolor, *L. betulina*, *L. decastes*, *F. velutipes*, *A. auricula Judae*, *H. erinaceum*, *T. trogii*, *G. lucidum*을 벚꽃배지에서 11일 배양 후 균생육정도를 측정한 결과 각각 90, 74, 82, 79, 71, 80, 95, 88 mm로 *T. trogii*가 다른 균주에 비하여 양호하였고 또한 CMCase의 활성은 각각 15.01, 14.26, 14.92, 13.87, 12.53, 11.69, 15.23, 15.01 unit/ml로서 역시 *T. trogii*가 우수함이 확인되었다. 따라서 균생육이 빠르며 cellulase 생산이 양호한 *T. trogii*를 cellulase 생산용 균주로 선발하여 cellulase의 생산을 위한 배양 최적 조건 및 각종 영양원의 효과와 세포의 단백질을 측정하여 비교 검토하였다.

배양기간의 영향

액체 배지 상에서 배양기간에 따른 cellulase 생산을 검토한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 배양기간이 경과함에 따라 cellulase 생산도 점진적으로 증가하여 Avicelase, CMCase는 배양 11일에 최고를 보였고, β -glucosidase는 배양 13일에 최고를 보였다. β -glucosidase는 Avicelase 및 CMCase와는 달리 최고 생산일 이후 얼마 동안 일정량의 생산을 유지하였는데 이는 Avicelase(exo- β -glucosidase, C₁)와 CMCase(endo- β -glucosidase, C_x)가 cellulose에 먼저 작용하여 생성된 cellobiose, cellotriose 또는 short cellulose chain을 β -glucosidase가 계속해서 분해하기 때문인 것으로 생각되고, 최(1986)는 합성배지에서 *Ganoderma lucidum*의 cellulase 생산을 위한 배양기간의 영향에서, β -glucosidase가 Avicelase와 CMCase에 비하여 배양기간이 경과한 이후에 활성이 높았다고 보고한 바 있다. 세포의 단백질은 이들 효소의 생산이 증가함에 따라 점차 증가하다가 최고일 이후부터 감소하여 효소 생산경향과 유사하였다.

배양온도의 영향

배양온도를 20~40°C로 달리하여 배양 15일에 cellulase 생산을 측정한 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 배양온도가 상승함에 따라 cellulase 생

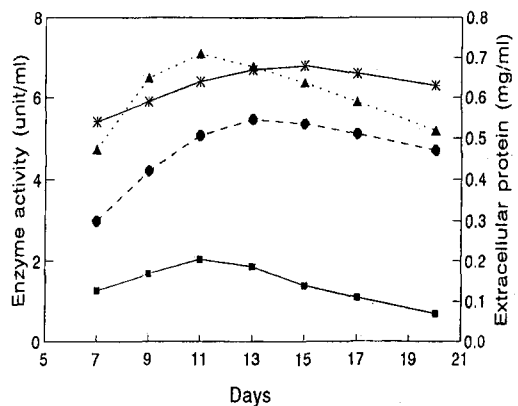


Fig. 1. Influence of period on the production of cellulolytic enzymes by *T. trogii* in synthetic mediu.

- ■ - Avicelase - ▲ - CMCase, - ● - β -Glucosidase, * Protein

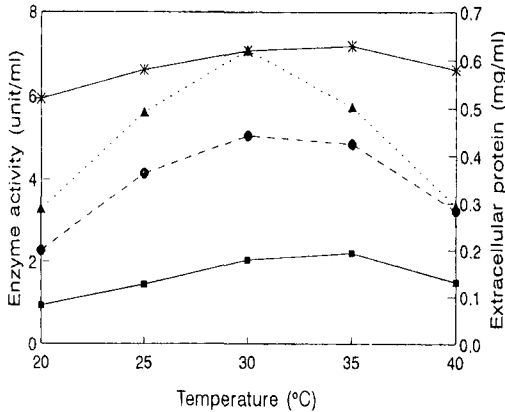


Fig. 2. Influence of cultural temperature on the production of cellulolytic enzymes by *T. trogii* in synthetic medium.
 - ■ - Avicelase, - ▲ - CMCase, - ● - β-Glucosidase, * Protein

산도 증가하여 Avicelase는 35°C에서 CMCase와 β-glucosidase는 30°C에서 가장 양호하였고 그 이상의 온도에서는 서서히 감소를 나타냈다. 세포외 단백질의 함량은 온도의 증가에 따라 큰 차이가 없었다. *Phanerochaete chrysosporium*(김, 1987)의 경우 CMCase와 β-glucosidase는 30°C, Avicelase는 35°C에서 가장 좋았다는 보고와 유사하였으나, *G. lucidum*(최, 1986)의 경우에는 Avicelase와 CMCase는 30°C에서, β-glucosidase는 25°C에서 가장 좋았다는 상이한 보고가 있었다.

배지 pH의 영향

액체배지의 pH를 3.0~6.0으로 달리하여 cellulase 생산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 1과 같이 Avicelase와 CMCase는 pH 5.0에서, β-glucosidase pH 4.5에서 가장 양호하였는데, Avicelase와 CMCase는 pH 4.5와 5.5에서도 최적 생산 pH와 큰 차이 없는 생산을 나타냈고, 그 이상의 pH에서는 감소하였으며 pH 3.5 이하에서는 매우 낮게 생산되었다. 이들 두 효소와는 달리 β-glucosidase는 pH 4.0과 3.5에서도 양호한 생산을 보였다. 이상의 결과에서 *T. trogii*에 의한 cellulase의 생산시 안정 pH 범위는 4.0~6.0 사이로 볼 수 있으며, 균체의 단백질의 생산도 이와 같은 안정 pH 범위내에서 양호하였다. *S. pulverul-*

Table 1. Influence of pH on the production of cellulolytic enzymes by *T. trogii* in synthetic media

Initial pH	Final pH	Enzyme activity (unit/ml)			Extracellular protein (mg/ml)
		Avicelase	CMCase	β-Glucosidase	
3.0	3.06	0.09	0.12	1.01	0.48
3.5	3.58	0.18	3.26	5.17	0.50
4.0	3.82	1.23	6.85	5.25	0.55
4.5	4.30	1.74	7.08	5.31	0.57
5.0	4.53	2.06	7.12	5.05	0.59
5.5	4.68	1.95	6.84	4.92	0.59
6.0	4.98	1.17	6.29	4.18	0.56

Table 2. Effect of various carbon sources on the production of cellulolytic enzymes by *T. trogii* in synthetic media

Carbon sources (1%)	Enzyme activity (unit/ml)			Extracellular protein (mg/ml)
	Avicelase	CMCase	β-Glucosidase	
Glucose	1.83	6.10	3.97	0.53
Mannitol	1.75	5.96	3.95	0.50
Lactose	2.09	6.94	4.87	0.56
Cellobiose	1.88	6.97	4.83	0.58
Cellulose	2.05	7.15	5.06	0.59
Na-CMC	2.11	7.10	5.10	0.59
Avicel	2.02	7.09	5.01	0.57
Filter paper powder	1.93	7.05	4.95	0.54
Soluble starch	2.06	7.02	4.92	0.52

entum(Eriksson and Hamp, 1978)의 cellulase 생산 최적 pH가 4.7이었고, *M. albomyces*(정, 1971)의 CMCase 당화활성이 pH 4.5에서 가장 좋았으며, *T. koningi*(小守, 1964)의 분말 여과지의 당화 활성이 pH 4.0~5.0이라는 보고와 잘 일치되었고, *G. lucidum*(최, 1986)의 cellulase 생산조건에서는 Avicelase와 β-glucosidase는 pH 5.0, β-glucosidase는 pH 5.0에서, CMCase는 pH 5.5에서 가장 양호하였으며, *P. sajor-caju*(홍, 1984)의 효소생산 최적 pH의 경우 CMCase는 pH 5.0, β-glucosidase는 pH 6.5이었다고 보고하여 균주간에 차이가 있는 것으로 생각된다. 한편, 배양 후 배지의 최종 pH를 검토한 결과 초기 pH 4.0 이하에서는 거의 변화가 없었고, pH가 증가함에 따라 초기

pH에 비하여 조금씩 낮아졌으며 효소 생산의 안정 pH 범위인 초기 pH 4.0~6.0이었던 것이 최종 pH 3.8~4.6으로 낮아졌다.

탄소원의 영향

각종의 탄소원이 *T. trogii*의 cellulase 생산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 2와 같다. Avicelase와 β -glucosidase는 Na-CMC에서, CMCase는 cellulose에서 보다 양호한 생산을 보였으며, Avicelase 생산시 filter paper powder를 제외 하고는 섬유소 형태의 탄소원 뿐만 아니라 lactose와 같은 2당류에서도 양호한 cellulase 생산을 나타냈다.

P. chrysosporium(김, 1987)에 의한 cellulase 생산에서 Avicelase는 CMC가, CMCcase와 β -glucosidase는 cellulose가 제일 효과적이었고, *G. lucidum*(최, 1986)의 경우 Avicelase와 CMCcase는 CMC에서, β -glucosidase는 cellobiose에서 가장 양호하였으며, *Chaetomium cellulolyticum*(Margaritis and Merchant, 1983)에서는 cellobiose의 유가배양에서 filter paper activity가 증가하였고, Eriksson(1978)은 wood-rotting fungus인 *S. pulverulentum*으로부터 cellulase를 가수분해 하는 enzyme mechanism을 연구하여, 1 mg/l의 cellulose가 endo-1,4- β -glucanase (CMCase)의 생성을 유도하였다는 보고와 탄소원의 효과가 유사한 경향을 나타내었다.

한편, 단당류와 그 유도체인 glucose와 mannitol을 탄소원으로 사용했을 때는 cellulase 생산이 현저하게 낮았는데, *Myriotheicum* sp. (Kassim, 1982)의 cellulase 생산시 CMC가 cellulose나 filter paper에 비하여 cellulase 생산이 낮았으며, glucose와 cellobiose, lactose, soluble starch 등은 극히 미약하였고, Mandels 및 Reese(1960)는 cellulolytic fungi(total 16 organisms)에 의한 cellulase 생산에 관한 연구에서 glycerol, mannitol 및 glucose를 탄소원으로 했을 때는 좋은 생육을 보였음에도 불구하고 cellulase(Cx-enzyme)의 생산을 볼 수 없었다고 보고한 바 있다. 배양액 중의 세포외 단백질의 함량은 각 탄소원들 사이에 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

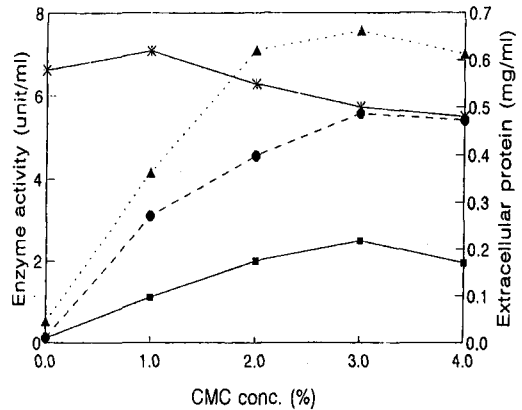


Fig. 3. Effect of Na-CMC concentration on the production of cellulolytic enzymes by *T. trogii* in synthetic media. —■— Avicelase, —▲— MCMase, —●— β -Glucosidase, * Protein

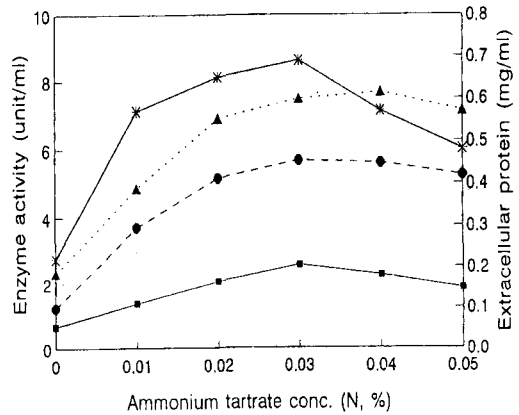
탄소원 중에서 cellulase 생산이 가장 양호 하였던 CMC를 0~4%의 농도별로 조정하여 탄소원 농도가 cellulase 생산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 3과 같이 Avicelase, CMCcase, β -glucosidase 세 효소 모두 3% 농도에서 가장 높았으며 그 이상의 농도에서는 약간의 감소를 나타냈다. 최(1986)는 *G. lucidum*의 CMC 농도에 따른 cellulase 생산 효과에서 CMCcase와 Avicelase는 1%에서, β -glucosidase는 2%에서 가장 양호하였고, 홍 등(1975)은 *P. ostreatus*가 생산하는 crude cellulase에 관한 연구에서 CMC 농도에 따라 점진적으로 증가하여 0.8%에서 제일 좋았으며, 박 등(1986)은 담자균인 *L. betulina*에 의한 cellulolytic enzyme의 CMC에 대한 분해작용 실험에서 CMC 농도의 증가에 따라 비례적으로 cellulase 생산이 증가하여 1%에서 가장 양호하였다고 보고한 바 있다. 반면에 김(1987)의 *P. chrysosporium*의 경우 높은 CMC 농도에서의 cellulase 생산 효과가 나타나 4%에서 제일 좋아 균주간의 차이는 있으나 목재부후균류는 보통 높은 기질농도에서도 생육이 가능함을 나타내었다. 세포외 단백질의 생산은 1%까지는 점진적으로 증가하다가 그 이상에서는 약간 감소하였다.

질소원의 영향

Table 3. Effect of nitrogen sources on the production of cellulolytic enzymes by *T. troglia* in synthetic media

Nitrogen sources (0.028% N, w/v)	Enzyme activity (unit/ml)			Extracellular protein (mg/ml)
	Avicelase	CMCase	β -Glucosidase	
None	1.87	6.51	4.24	0.63
(NH ₄) ₂ HPO ₄	2.17	6.97	4.32	0.64
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.32	7.41	5.59	0.66
Urea	2.20	6.98	4.48	0.65
NaNO ₃	1.85	6.47	4.37	0.63
NaNO ₂	2.19	6.50	4.40	0.64
Ammonium citrate	2.50	7.58	5.57	0.69
Ammonium tartrate	2.55	7.63	5.65	0.70
Bacto peptone	2.49	7.57	5.56	0.74
Tryptone	2.46	7.46	5.69	0.72
Casamino acid	2.42	5.53	5.67	0.73

각종 질소원이 *T. troglia*의 cellulase 생산에 미치는 영향을 검토하기 위하여 기본배지의 질소원 대신 각종 질소원을 질소량으로 환산하여 0.028% 되게 조정한 후 그 첨가 효과를 검토한 결과는 Table 3과 같다. 무기태 질소원과 유기태 질소원 모두에서 양호한 cellulase 생산을 보였는데, 무기태 질소원 중 ammonia태 질소원인 ammonium tartrate가 가장 효과적이었고 다음으로는 ammonium citrate, (NH₄)₂SO₄가 세 효소 모두의 생산에 양호하였으며, 또한 Bacto peptone, tryptone, casamino acid의 유기태 질소원이 전반적으로 cellulase 생산에 양호하였다. 무기태 질소원 중 ammonium tartrate는 담자균류가 잘 이용하는 것으로 알려져 있는데, 김 등(1982)은 피꼬리 버섯의 질소원 종류 및 그 농도에 따른 균사 생산량 비교실험에서 ammonium tartrate, asparagine, NaNO₃, urea를 0.6% 농도로 첨가했을 때 10일 후의 균체 생산량이 각각 438, 382, 273, 222 mg/50 ml로 ammonium tartrate가 가장 높았다고 보고하여 본 실험과 유사하였으며, Eriksson(1978)은 wood-rotting fungus인 *S. pulverulentum*를 질소원 별로 6일간 배양했을 때, CMCase의 생산이 urea에서는 양호하였으나 NaNO₃와 (NH₄)₂SO₄는 불량하였다는 보고와는 약간 차이가 있었다. 한편, 정

**Fig. 4.** Effect of ammonium tartrate on the production of cellulolytic enzymes by *T. troglia* in synthetic media
-■- Avicelase, -▲- CMCase, -●- β -Glucosidase, * Protein

(1971)의 *M. albomyces*에 의한 CMCase의 생산은 polypeptone, urea, (NH₄)₂SO₄ 순으로 효과적이었고, 김(1987)은 *P. chrysosporium*의 경우 무기태 보다 유기 질소원이 cellulase 생산에 보다 더 양호하여, proteose peptone이 가장 효과적이었고 (NH₄)₂HPO₄ 및 NaNO₂는 적절하지 않음을 보고하였다. 세포외 단백질은 유기태 질소원에서 양호한 생산을 보였으며, 무기태 질소원들 간에는 세포외 단백질 생산에 큰 차이가 없었다.

질소원 중 cellulase 생산에 가장 양호하였던 ammonium tartrate의 농도를 질소량으로 0~0.05% 되게 달리 조정하여 cellulase 생산에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 4와 같이 Avicelase와 β -glucosidase는 0.03%에서, CMCase는 0.04%에서 생산이 가장 양호하였고 그 이상의 농도에서는 약간 감소하였다. 세포외 단백질의 생산은 0.03% 농도까지는 증가하다가 그 이상의 농도에서는 감소하였다

적 요

섬유소자원의 이용을 목적으로 담자균류인 *T. troglia*를 실험 균주로 하여 합성배지에서 cellulase 생성 최적 배양조건을 검토해 본 결과는 다음과 같다.

합성배지에서 *T. troglia*에 의한 cellulase 생산은

30~35°C, pH 4.0~6.0, 11~15일 배양시 가장 높았다. 탄소원은 Avicelase와 β -glucosidase의 경우 CMC를, CMCase는 cellulose를 탄소원으로 했을 때 최고의 생산성을 보였으며, CMC의 최적 농도는 세 효소 모두 3%이었다. 질소원은 ammonium tartrate 첨가시 cellulase 생산이 높았으며, 그 최적 농도로 Avicelase와 β -glucosidase는 0.03 N, CMCase는 0.04 N이었다.

참고문헌

- 金東翰. 1987. *Phanerochaete chrysosporium*에 의한 cellulase生産 및 利用에 關한 研究. 全北大大學院 博士學位論文集 p. 1-87.
- 김한경, 박정식, 신관철. 1982. 담자균류를 이용한 단백질생산에 관한 연구. 농기연보 p. 512-514.
- 맹원재. 1985. *Trichoderma koningii*에서 분리된 β -glucosidase 低分子量 β -1,4-glucan glucanohydrolase의 特性 및 作用樣相 關하여, 서울大學校 博士學位論文 p. 1-142.
- 朴婉熙, 金泰姬, 魯一協. 1986. 韓國産 高等菌類 酵素에 關한 研究 (II). 木腐朽菌인 조개껍질버섯의 纖維素分解酵素의 確認. 韓國菌學會誌 14: 225-229.
- 小守吉久, 山田雄次郎, 江澤和妻, 五井仁. 1964. *Trichoderma cellulase*에 關する 研究. 第1報. 濾紙崩壞 活性化分の 精製(そのい). 日本醱酵工學會誌 42: 115-123.
- 松村親, 前島一孝. 1963. *Aspergillussaitoi*의 生産する 셀룰로스分解酵素의 研究 (第3報) 結晶 Carboxymethylcellulase의 諸性質. 日本醱酵工學會誌 41: 164-168.
- 松村親, 前島一孝. 1963. *Aspergillussaitoi*의 生産する 셀룰로스分解酵素의 研究 (第4報) Carboxymethylcellulase의 沮害と賦活. 日本醱酵工學會誌 41: 168-173.
- Almin, K.E., Eriksson, K.E. and Pettersson, B. 1975. Extracellular enzyme system utilized by the fungus *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. 2. Activities of the five endo-1,4- β -glucanase towards carboxymethyl cellulose. *Eur. J. Biochem.* 51: 207-211.
- Ayers, R., Ayers, S.B. and Eriksson, K.E. 1978. Cellobiose oxidase purification and partial characterization of a homoprotein from *Sporotrichum pulverulentum*. *Eur. J. Biochem.* 90: 171-181.
- Berghem, L.E.R., Pettersson, L.G. and Axio-Fredriksson, V.B. 1975. The mechanism of enzymatic cellulose degradation; Characterization and enzymatic properties of a β -1,4-glucan cellobiohydrolase from *Trichoderma viride*. *Eur. J. Biochem.* 53: 55-62.
- Berghem, L.E.R., Pettersson, L.R. and Axio-Fredriksson, V.B. 1976. The mechanism of enzymatic cellulose degradation; Purification and some properties of two different β -1,4-glucanohydrolase from *Trichoderma viride*. *Eur. J. Biochem.* 61: 621-630.
- Berghem, L.E.R. and Pettersson, L.G. 1973. The mechanism of enzymatic cellulose degradation; Purification of a cellulolytic enzyme from *Trichoderma viride* active on highly ordered cellulose. *Eur. J. Biochem.* 37: 21-30.
- Berghem, L.E.R. and Pettersson, L.G. 1974. The mechanism of enzymatic cellulose degradation; Isolation and some properties of a β -glucosidase from *Trichoderma viride*. *Eur. J. Biochem.* 46: 295-305.
- Deschamps, F., Giuliano, C., Asther, M., Huet, M.C. and Roussos, S. 1985. Cellulase production by *Trichoderma harzianum* in static and mixed solid-state fermentation reactors under nonaspetic condition. *Biotechnol. Bioeng.* 27: 1385-1388.
- Deshamps, F. and Huet, M.C. 1984. β -glucosidase production by *Aspergillus phoenicis* in state fermentation. *Biotechnol. Lett.* 6: 55-60.
- Deshpande, V., Raman, H.S. and Rao, M. 1983. Simultaneous saccharification and fermentation of cellulose to ethanol using *Penicillium funiculosum* cellulase and free or immobilized *Saccharomyces uvarum* cells. *Biotechnol. Bioeng.* 25: 1679-1684.
- Do, J.H. and Kim, S.D. 1986. Enzymatic properties of a cellulase from *Ganoderma lucidum*. *Kor. J. Mycol.* 14: 79-84.
- Duff, S.J.B., Cooper, D.G. and Filler, O.M. 1985. Effect of colloidal materials on cellulase production by *Trichoderma reesei* Rut-C30. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 934-938.
- Eriksson, K.E. and Pettersson, B. 1975. Extracellular enzyme system utilized by the fungus *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. 3. Purification and physico-chemical characterization of an exo-1,4- β -glucanase. *Eur. J. Biochem.* 51: 213-218.
- Eriksson, K.E. and Hamp, S.G. 1978. Regulation

- of endo-1,4- β -glucanase production in *Sporotrichum pulverulentum*. *Eur. J. Biochem.* **90**: 183-190.
- Eriksson, K.E. and Rzedowski, W. 1969. Extracellular enzyme system by the fungus *Chrysosporium lignorum* for the breakdown of the cellulose II. Separation and characterization of three cellulose peaks. *Arch. Biochem. Biophys.* **129**: 689-695.
- Frein, E.M., Montenecourt, B.S. and Eveleigh, D. E. 1982. Cellulase production by *Trichoderma reesei* immobilized on K-carrageenan. *Biotechnol. Lett.* **4**: 287-292.
- Garg, S.K. and S. Neelakantan. 1982. Effect of nutritional factors on cellulase enzyme and microbial protein production by *Aspergillus terreus* and its evaluation. *Biotechnol. Bioeng.* **24**: 109-125.
- Halliwell, G. and Griffin, M. 1973. The nature and mode of action of the cellulolytic component C1 of *Trichoderma koningii* on native cellulose. *Biochem. J.* **135**: 587-594.
- Herr, D. 1979. Secretion of cellulase and β -glucosidase by *Trichoderma viride* ITCC-1433 in submerged culture on different substrates. *Biotechnol. Bioeng.* **21**: 136-137.
- Hiroi, T. and Eriksson, K.E. 1970. Microbiological degradation of lignin. Part 1. Influence of cellulose on the degradation of lignins by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Svensk Papperstidning nr 5*: 157-161.
- Hong, J.S., Lee, J.B., Koh, M.S., Kim, J.S., Lee, K.R. and Jung, G.T. 1986. Studies on cellulases produced by *Pleurotus* spp. on synthetic medium (II). Effects of vitamins, inorganic salts and cultural conditions. *Kor. J. Mycol.* **14**: 37-41.
- Kanamoto, J., Sakamoto, R., Arai, M. and Murao, S. 1979. Enzymatic properties of two carboxymethyl cellulose hydrolyzing enzymes from *Aspergillus aculeatus*. *J. Ferment. Technol.* **57**: 1693-168.
- Kanda, T., Wakabayashi, K. and Nisizawa, K. 1976. Purification and properties of an endocellulase of avicelase type from *Irpex lacteus* (*Polyporus tuliferus*). *J. Biochem.* **79**: 977-988.
- Kassim, E.A. 1982. Cellulase production by a strain of *Myriotheceium* sp. *J. Ferment. Technol.* **60**: 381-383.
- Lee, B.H. and Blackburn, T.H. 1975. Cellulase production by a thermophilic *Clostridium* species. *Appl. Microbiol.* **30**: 346-353.
- Li, L.H., Flora, R.M. and King, K.W. 1965. Individual roles of cellulase components derived from *Trichoderma viride*. *Arch. Biochem. Biophys.* **111**: 439-447.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Madan, M. and Bisaria, R. 1983. Cellulolytic enzymes from an edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. *Biotechnol. Lett.* **5**: 601-604.
- Mandels, M. 1975. Microbial sources of cellulase. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* **5**: 81-105.
- Mandels, M. and Reese, E.T. 1960. Induction of cellulase in fungi by cellobiose. *J. Bacteriol.* **79**: 816-826.
- Margaritis, A. and Merchant, R. 1983. Xylanase, CM-cellulase and avicelase production by the thermophilic fungus *Sporotrichum thermophile*. *Biotechnol. Lett.* **5**: 265-270.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. chem.* **31**: 426-428.
- Rajoka, M.I. and Malik, K.A. 1984. Cellulase and hemicellulase production by *Cellulomonas flavigena* NIAB 441. *Biotechnol. Lett.* **6**: 597-600.
- Reese, E.T., Siu, R.G.H. and Levinson, H.S. 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. *J. Bacteriol.* **59**: 485-497.
- Reese, E.T. 1975. Summary statement on the enzyme system. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* **5**: 77-80.
- Report of the commission on enzymes of International Union of Biochemistry Oxford Pergamon press. 1961.
- Ryu, D.D.Y. and Mandels, M. 1980. Cellulase, biosynthesis and applications. *Enzyme Microb. Technol.* **2**: 91-102.
- Selby, K. and Maitland, C.C. 1967. The cellulase of *Trichoderma viride*; Separation of the components involved in the solubilization of cotton. *Biochem. J.* **104**: 716-724.
- Stoppok, W., Rapp, R. and Wagner, F. 1982. Formation, location, and regulation of endo- β -1,4-glucanase and β -glucosidase from *Cellulomonas uda*. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**: 44-53.

- Streamer, M., Eriksson, K.E., Eriksson, B. and Pettersson, B. 1975. Extracellular enzyme system utilized by the fungus *Sporotricum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. *Eur. J. Biochem.* **59**: 607-613.
- Stutzenberger, F.J. 1972. Cellulolytic activity of *Thermomonospora curvata*: Nutritional requirements for cellulase production. *Appl. Microbiol.* **24**: 77-82.
- Tokao, S., Kamgata, Y. and Sasaki. 1985. Cellulase production by *Penicillium purpurogenum*. *J. Agri. Sci. Camb.* **93**: 217-222.
- Vohra, R.M., Shirkot, C.K., Dhawan, S. and Gupta, K.G. 1980. Effect of lignin and some of its components on the production and activity of cellulase by *Trichoderma reesei*. *Biotechnol. Bioeng.* **22**: 1497-1500.
- Watson, T.G., Nelligan, I. and Lessing, L. 1984. Cellulase production by *Trichoderma reesei* (Rut-C30) in fed-batch culture. *Biotechnol. Lett.* **6**: 667-672.
- Wood, T.M. 1968. Cellulolytic enzyme system of *Trichoderma koningii*. Separation of components attacking native cotton. *Biochem. J.* **109**: 217-227.
- Wood, T.M. 1971. The cellulase of *Fusarium solani*: Purification and specificity of the β -(1-4) glucanase and the β -D-glucosidase components. *Biochem. J.* **121**: 353-362.
- Wood, T.M. 1975. Properties and action of cellulases. *Biotechnol. Bioeng.* **5**: 111-137.
- Wood, T.M. and McCrae, S.I. 1972. The purification and properties of the C₁ component of *Trichoderma koningii* cellulase. *Biochem. J.* **128**: 1183-1192.
- Wood, T.M. and McCrae, S.I. 1982. The purification and some properties of the extracellular β -D-glucosidase of the cellulolytic fungus *Trichoderma koningii*. *J. Gen. Microbiol.* **128**: 2973-2982.