

흰목이버섯 및 공생균이 분비하는 Xylanase 효소적 특성

장현유* · 김광포 · 홍인표 · 김한경 · 정종천 · 성재모¹

*한국농업전문학교 특용작물과, 농업과학기술원 응용미생물과

¹강원대학교 생명자원과학대학 농생물학과

Enzymatic Characteristics for Xylanase Activity of *Tremella fuciformis* and its Symbiotic Fungi

Hyun-You Chang*, Gwang-Po Kim, In-pyo Hong, Han-Kyoung Kim,
Jong-Cheon Chung and Jae-Mo Sung¹

*Department of Industrial Crops, Korea National Agricultural College, RDA, Suwon 442-600
National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707

¹Department of Agricultural Biology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

ABSTRACT: Effects of cultural conditions on the production of xylanase by *Tremella fuciformis*, symbiotic fungi and mixed fungi were investigated. The optimum carbon source for high production of xylanase by *T. fuciformis*, symbiotic fungi and mixed fungi was xylose. The optimum nitrogen source for both *T. fuciformis* and symbiotic fungi was KNO₃, whereas mixed fungi was (NH₄)₂SO₄. The optimum culture period for high production of xylanase was 5 days for both *T. fuciformis* and mixed fungi, and 6 days for symbiotic fungi, respectively. The optimum temperature for *T. fuciformis* and symbiotic fungi was 40°C, and the corresponding value for mixed fungi was 45°C. Xylanase activity was high at pH 6 for *T. fuciformis* and symbiotic fungi, and pH 7 for mixed fungi. Except Hg²⁺ and Pb²⁺, metal ions in *T. fuciformis* inhibited the activity of xylanase, and, thermal stability of xylanase in *T. fuciformis*, symbiotic fungi and mixed fungi maintained 80% of activity until 50°C. The Michaelis constant (*K_m*) of xylan was 6.25×10^{-5} M in *T. fuciformis*, 5.6×10^{-2} M in symbiotic fungi, 5.2×10^{-2} M in mixed fungi.

KEYWORDS: *K_m*, Metal ion, Thermal stability, Xylanase

흰목이(*Tremella fuciformis*)균은 cellulose 및 lignin 분해능이 약하여 단독 생장이 어려우나 공생균에 의하여 기주체의 cellulose 및 lignin 분해를 돕는다고 알려져 있다(Huang, 1986). 이 공생균은 ascomycetes에 속하며 “깃과 유사한 균사(feather-like mycelium)”를 가지고 있어 흰목이균의 균사가 원목 내부로 잘 침투될 수 있도록 유도하고 흰목이균에게 영양분을 공급하는 것으로 추측된다고 하였다(Huang, 1986). 따라서 흰목이버섯 재배에 필요한 종균은 반드시 흰목이균과 공생균을 혼합하여 사용하여야 한다. 그 이유는 흰목이균과 공생균의 xylanase의 활성은 그다지 높지 않으나 xylanase는

hemicellulose의 주성분인 β-1,4-D-xylan을 임의로 분해하여 xylobiose와 xylotriose 등의 oligo당을 생성하는 역할을 하여 버섯류에 있어서 cellulose 분해의 중요한 역할을 한다. 또한 xylanase는 최초 달팽이의 소화액에서 발견되었으나(Fukui, S. 1958) 맥아와 penicillium, aspergillus 등의 곰팡이에 의해서도 생산되며 *Coprinus*속으로 분류되는 버섯류에서 활성이 비교적 높은 것이 많은데 특히 *Schizophyllum commune*(Paice, 1978), *Stremum gausapoatum*(Ericksson, 1971), *Coniophora sanguinolentum*(King 등, 1968) 등은 endo type의 xylanase를 생산한다고 하였으며 福住(1971)에 의하면 *S. commune* No.15가 검색한 균주중 xylanase 활성과 laccase 활성이 가장 높다고 보고하

*Corresponding author

였다. 담자균은 균사생장과 자실체 형성시 반드시 목재 구성성분인 cellulose나 lignin을 분해하여 이용하는데 본 실험은 cellulose중 hemicellulose에 속하는 xylan를 분해하는 xylanase에 대하여 흰목이균과 공생균, 이들의 혼합균으로부터 분리되는 xylanase의 효소적 특성에 대한 몇가지 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

효소생산에 대한 탄소원, 질소원 및 배양일수의 영향

본 실험에 공시한 균주는 농업과학기술원 응용미생물과에 보존중인 흰목이버섯(*T. fuciformis* ASI 6045, 이하 T로 표시), 흰목이균의 공생균 ASI 6046(이하 H로 표시) 및 이들 두 균주 ASI 6045와 ASI 6046을 혼합배양한 혼합균(이하 T+H로 표시)을 사용하였다. 공시균은 PDA 배지에 5일간 배양한 다음 균사를 선별하기 위하여 기본배지(Table 1)에 접종하여 25°C에서 10일간 배양하였다. Xylanase 활성을 유도하는 배지의 최적 탄소원과 질소원을 조사하기 위하여 탄소원에 관한 실험에서는 기본배지에서 질소원은 NaNO_3 로 0.2%가 되게 고정하고 탄소원을 glucose 등 5종을 각각 0.1%씩 첨가하였으며, 질소원에 관해서는 탄소원을 malt ex-

tract로 0.1%가 되게 고정하고 질소원을 NaNO_3 등 5종을 각각 0.2%씩 첨가하였으며, 배양일수가 효소활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 배양일수별로 xylanase 활성을 측정하였다.

효소생산에 대한 pH 영향

꼭지가 긴 500 ml flask에 선별된 기본배지를 100 ml씩 넣고 접종하여 최대활성을 나타내는 배양일수 동안 배양하고 그 배양액을 4°C에서 12,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 그 배양여액을 4°C에서 80% ammonium sulfate로 하룻밤 침전한 후 투석한 것을 냉동건조기(ISE SUR-QUICK)로 동결건조하여 조효소로 사용하였다. 조효소에 대한 pH의 영향을 측정하기 위해 0.1 M MclLvaine buffer로 pH 4.0~8.0까지, 0.1 M Tris-HCl buffer로 pH 8.0~11.0까지 조절하여 xylanase 활성을 측정하였다.

효소 활성도 측정

Xylanase 활성 측정방법은 환원력 검정으로 Somogyi-Nelson法(1952, 1964)에 의해 측정하였다. 효소활성의 1.0 Unit는 기질 1 μmol (=10⁻⁶ mol)을 최적조건하에서 1분간에 변화되는 효소량으로 계산하였다.

최적 특이성 기질 선별

Xylan from spelt의 2종류의 기질 20 mg에 조효소액 120 μl , 0.02 M MclLvaine buffer(pH 6.0) 1080 μl 를 잘 혼합하여 37°C에서 45분간 반응시킨 후 Somogyi-Nelson법(1952, 1964)에 의해 환원당에 대한 540 nm의 흡광도를 측정하여 최적 기질을 선별하였다.

열에 대한 안정성

기질 20 mg, 조효소액 120 μl , 0.02 M MclLvaine buffer(pH 6.0) 1080 μl 를 혼합하여 각 온도에서 45분간 반응시킨 후 급냉하여 초기속도를 측정하고 열 안정성을 조사하였다.

Km값

기질의 농도를 0, 5, 10, 20, 60, 100 mM로 변화

Table 1. Composition of the basal medium used for screening enzyme production

KH_2PO_4	2.0 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.3 g
CaCl_2	0.3 g
Trace elements*	400 μl
Carbon sources**	0.1%
Nitrogen sources***	0.2%
pH	6.0
Distilled water	1.0 l

*Trace elements: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 50 mg/ml, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 14 mg/ml, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 16 mg/ml, CaCl_2 20 mg/ml

**Carbon sources: glucose, xylose, sucrose, lactose, malt extract

***Nitrogen sources: NaNO_3 , NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, yeast extract, polypeptide

시키면서 각 농도별 초기속도를 측정하여 Lineweaver-Burk plot를 그린 다음 *K_m*값을 구하였다.

효소활성에 미치는 금속이온의 영향

효소활성에 미치는 각종 금속이온의 영향을 조사하기 위하여 각 금속 염화물을 10⁻⁵ M의 농도로 처리하여 최적조건 하에서 반응시킨 후 xylanase의 활성을 조사하였다.

결과 및 고찰

탄소원의 영향

흰목이균과 공생균 또는 혼합균으로부터 분리되는 extracellular xylanase의 활성이 높은 배지를 선발 하기 위하여 탄소원으로서 glucose, xylose, sucrose, lactose, malt extract를 각각 0.1%씩 첨가하여 xylanase activity를 측정할 결과 흰목이균의 경우 xylose를 첨가 하였을때 56.4(U × 10⁻²)로 가장 높았으며 maltose, glucose, lactose, sucrose 순이었다. 공생균과 혼합균의 경우도 xylose를 첨가하였을 때 각각 1.947, 2.465(U)로서 대조구는 물론 다른 처리보다도 현저히 높았다(Fig. 1). 張(1996)에 의하면 장수버섯 균사체 배양으로부터 생산되는 xylanase의 활성은 malt extract와 glucose를 첨가한 배지에서 현저히 높고 다음이 xylose, sucrose 순이었다고 보고하였으며, Simpson(1956)에 의하면 β-1,4'-xylanase는 일반적으로 xylose 또는 xylose 유도체가 존재할 경우 현저히 그 생산량이 증가되며 arabinose와 ribose 등 5탄당에는 효과가 없다고 보고한 바 pentose의 일종인 xylose가 UDP glucose → UDP gluclone산이 되

어 dicarboxylase의 작용으로 탈탄산하여 UDP xylose을 생성하는 생합성 경로를 거치는 것으로 추정되며 이러한 결과는 張(1996)과 Simpson(1956)의 보고와 유사한 결과를 나타내었다.

질소원의 영향

기본배지에 활성도가 높은 탄소원으로 확인된 0.1% xylose를 첨가한 후 NaNO₃, NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, yeast extract, polypeptone를 각각 0.2%씩 첨가하여 xylanase activity를 측정할 결과, 흰목이균과 공생균은 무기질소 화합물인 potassium nitrate(KNO₃) 첨가 배지에서 각각 0.425, 1.862(U), 혼합균은 ammonium sulfate((NH₄)₂SO₄) 첨가 배지에서 2.145(U)로 가장 높았다(Fig. 2). 張(1996)에 의하면 장수버섯 균사체 배양으로부터 생산되는 xylanase 활성은 NaNO₃ 첨가시 가장 높았고 다음이 NH₄NO₃이었으며 (NH₄)₂SO₄와 yeast extract, polypeptone을 첨가할 때는 xylanase activity가 없었다고 보고한 것과는 상이하며 또한 흰목이균과 공생균, 혼합균의 경우는 peptone 첨가 배지에서도 상당히 높은 xylanase 활성이 나타난 것은 주로 일반 세균배양에 있어서 주로 유기영양 질소원으로 쓰이는 peptone이 흰목이균의 균사가 마치 세균이 자라는 형태와 비슷한 점과 공생균의 자낭균적 특징이 이의 영향이 아닌가 추정되나 이는 앞으로 검토해야 과제라 생각한다.

배양일수가 효소생산에 미치는 영향

탄소원으로 xylose 0.1%와 질소원으로 흰목이균과 공생균은 potassium nitrate, 혼합균은 ammonium sulfate를 각각 0.2%씩 첨가한 기본배지

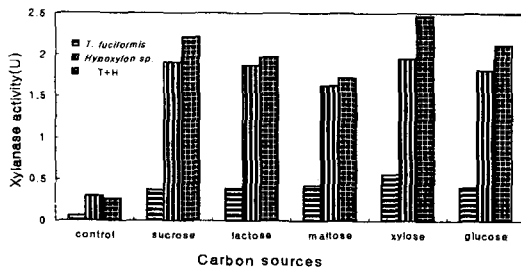


Fig. 1. Effect of carbon sources of xylanase production.

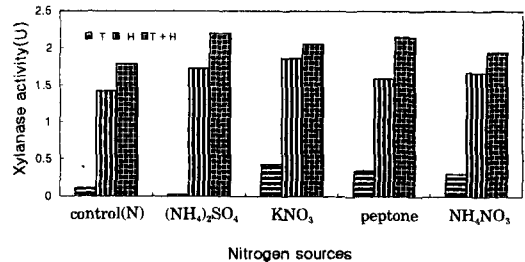


Fig. 2. Effect of nitrogen sources of xylanase production.

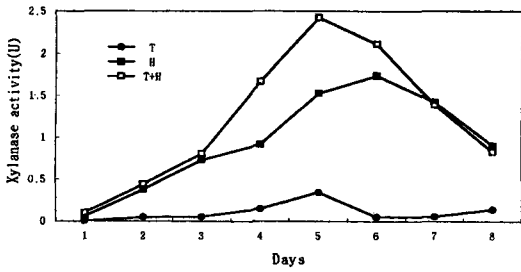


Fig. 3. Time courses of xylanase production.

에 8일간 배양하면서 매일 xylanase 활성을 조사한 결과 흰목이균과 혼합균은 5일째, 공생균은 6일째에 최고치를 나타내었는데 xylanase 활성은 혼합균에서 2.424(U)로 가장 높았고, 다음이 공생균으로 1.738(U)이며 흰목이균은 0.562(U)로 가장 낮았다. 최대활성을 나타내는 배양일수도 혼합균, 공생균, 흰목이균 순으로 짧았다(Fig. 3). 福井(1960)에 의하면 *Chaetomium globosum* A2에 의해 생성되는 β -1-3' xylanase와 β -1-4' xylanase는 5일째 가장 활성이 높다고 보고한 것과 비슷한 경향을 나타내었다.

pH가 효소생산에 미치는 영향

배지의 pH에 따른 조효소의 xylanase activity는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 흰목이균은 pH 7.0에서 0.575(U), 공생균과 혼합균은 pH 6.0에서 1.601, 1.656(U)로 활성도가 높았으며 활성의 절대치가 혼합균에서 가장 높았고 다음이 공생균, 흰목이균 순위였다. King 등(1968)은 *Coniphora cerebella*에서 xylanase 활성 최적 pH는 5.0, *Bacillus subtilis* G-2(高橋, 1957)는 pH 6.0, *B. firmus*(稻岡, 1959)는 pH 7.2, *Aspergillus batatae*(Fukui, S. 1958)는 pH 4.5, *Aspergillus niger*(稻岡, 1960),

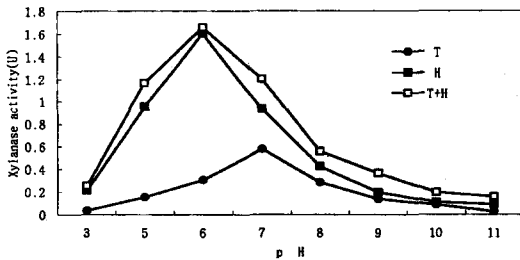


Fig. 4. Effect of pH on the xylanase production.

Chaetomium globosum A2(福井, 1960)는 pH 3.5라고 보고한 바 균의 종류에 따라 상이하였으나 흰목이균, 공생균 및 혼합균은 pH 6.0~7.0에서 높은 활성을 나타내어 균에 따라 최적 pH가 다른 것으로 판단된다. 효소는 고유의 최적 pH 조건에서 활성이 최고에 달하게 되며 효소의 pH 활성 곡선은 효소의 촉매 부위에 있어서 중요한 양성자 공여기 혹은 양성자 수용기가 필요로 하는 이온화 상태에 있는 pH를 나타내고 있다. 효소 활성의 최적 pH는 균사생장 pH와는 반드시 동일하지만은 않다. 즉 흰목이균의 균사생장 최적 pH는 5.5, 공생균은 5.0, 혼합균은 5.5로서 효소의 최적 pH와 일치하지 않았다. 대부분 효소의 최적 pH 범위는 pH 5~8이지만 때로는 산성이나 알칼리성에 치우친 경우도 있으나 본 실험의 경우는 중성에 가까운 pH 6.0~7.0을 나타내는 특징이 있었다.

온도가 효소생산에 미치는 영향

온도에 대한 조효소의 xylanase의 activity는 흰목이균, 공생균 및 혼합균의 경우 40°C에서 가장 높았으나 공생균과 혼합균은 이 온도 보다 높을 때 급속히 낮았으며 흰목이균은 이 온도 보다 높거나 낮을 때 급속한 변화는 없었다(Fig. 5). Xylanase 생산 최적온도는 *B. subtilis*는 37°C(高橋, 1957), *B. firmus*는 55~60°C(稻岡, 1959), *A. batatae*는 50°C(S. Fukui, 1958), *A. niger*는 45°C(稻岡, 1960), *C. globosum* A2는 45°C(福井 등 1960)와 yeast의 경우 60°C(Kusakabe 등, 1975)이라고 보고한 바 일반적으로 고온일수록 효소의 촉매작용도 왕성하게 된다. 그러나 어느 온도 이상으로 높아지

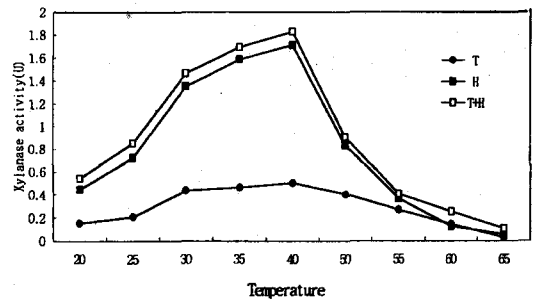


Fig. 5. Effect of temperature on the xylanase production.

면 효소는 활성을 잃게 되는데 대체로 70~80°C 이상에서 변성 응고되어 불활성으로 된다. 본 실험에서는 65°C 이상에서 거의 활성을 잃게 되었으며 효소가 가장 활발하게 작용하는 최적온도는 일반적으로 35~40°C이나 흰목이균, 공생균, 혼합균의 xylanase도 40°C이었다.

열에 대한 효소의 안정성

각 온도에서 45분간 효소액을 반응시킨 후 활성을 측정된 결과 40°C까지 100% 활성을 유지하였으며 50°C에서 흰목이균은 83%, 공생균은 95%, 혼합균은 89%의 활성을 유지하였고 60°C에서는 54~62%, 70°C에서는 11~30%까지 활성을 유지하였다. 3종류의 균중 공생균이 열에 제일 안정적으로 70°C에서 30%까지 활성을 유지하였다(Fig. 6). 열에 대한 xylanase의 안정성은 *Aeromonas caviae* W-61(Viet, 1991)의 50°C, 효모 *F. APSuligenum*의 40°C(Mot and Verachert, 1985), 세균류 *B. stearothermophus*의 90°C(Fogarty and Kelly, 1979), *B. circulans* F-2의 45°C(Chung 등, 1982), *Bacillus* sp.의 60°C(Oh 등, 1981)와 비교할 때 본 효소는 최적 활성온도가 비교적 낮은 40~45°C로 일반적인 균류에 비해 본 효소는 비교적 저온성으로 나타나는 것은 효소가 40°C 이상의 온도에서 견딜수 있는 독특한 random coil 구조를 포함하고 있지 않기 때문인 것으로 추정된다(Fogarty와 Kelly, 1979).

금속이온이 xylanase 효소 활성에 미치는 영향
xylanase 효소 활성에 미치는 각종 금속이온의

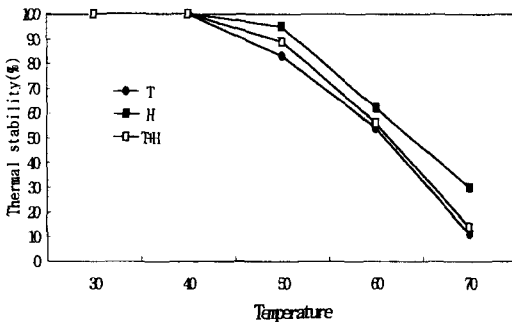


Fig. 6. Effect of thermal stability in xylanase production.

영향을 조사하기 위하여 앞의 실험에서 확인된 최적 조건으로 효소와 반응시킨 후 xylanase의 활성을 측정된 결과, 대체적으로 흰목이균에서는 Hg²⁺가 120%, 혼합균에서는 Pb²⁺가 110%까지 효소활성을 촉진시킨 것 외는 금속이온이 효소활성에 저해적인 영향을 미쳤는데, 특히 Mn²⁺은 흰목이균, 공생균, 혼합균에 대한 활성을 가장 많이 저해하였으며 그 다음이 Cu²⁺, Zn²⁺, Ca²⁺, Co²⁺, Se 등이었다(Fig. 7). 단백질만으로 된 효소 이외에 단백질에 어떤 물질이 결합되지 않으면 활성화되지 않는 효소가 있는 바 이러한 효소의 활성화를 도와주는 물질이 조효소이다. 금속이온 즉 Mg는 phosphatase, Fe는 catalase, Cu는 tyrosinase, Zn는 탈수소 효소, Mn과 Co는 peptidase, Mo는 질산환원효소에 조효소로 작용하는데 Matsumuta et al. (1963)에 의하면 *A. saito*는 CMCCase에서 Cu²⁺는 10⁻³ M에서 1.7배, Cu²⁺는 10⁻⁴ M에서 1.6배 부활시켰고 Cd²⁺, Fe²⁺, K²⁺도 부활효과가 있었으나 Hg²⁺, Ag²⁺는 저해적이라고 보고하였으며, *Myriococcum albomoces*(鄭, 1971)의 CMCCase를 Ca²⁺, Mg²⁺는 10⁻³ M 농도에서 부활시키었으나, Hg²⁺, Mg²⁺, Cu²⁺는 강하게 저해하였다는 보고와는 상이하게 본 실험에서 흰목이균은 Hg²⁺ 금속이온에서 촉진적으로 작용되는 결과를 얻었는데 이는 중금속을 분해할 수 있는 특이한 효소를 지니고 있음을 시사하고 있어 앞으로 흰목이균을 이용한 중금속 흡착력에 대하여 연구 검토되어야 할 과제이다.

기질 특이성

효소의 기질은 한 종류에 한하지 않고 유사한 구조를 가진 복수의 화합물에 대해서도 작용하는 경

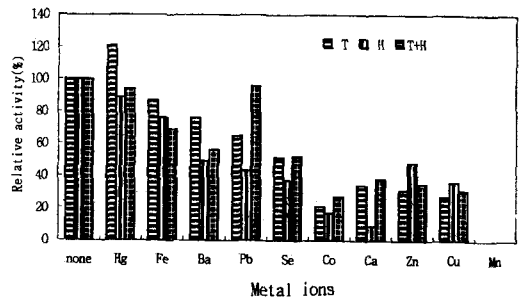


Fig. 7. Effect of metal ions on xylanase activity.

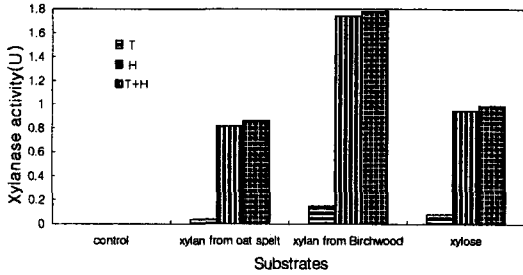


Fig. 8. Effect of various substrates of enzyme in the xylanase production.

우가 많다. 흰목이균, 공생균, 혼합균 모두 xylanase의 기질로서 xylan from Birchwood가 가장 활력이 높았다(Fig. 8). 大野 等(1994)에 의하면 특이한 불완전균인 *Fusidium* sp. BX-1의 xylanase 기질로서 xylan 0.5%+glycerol 2.0%+oleic acid 0.5% 첨가시 10.6(U/ml)인 반면 xylan만 첨가시 0.62(U/ml)로 현저한 차이가 있다고 보고하였으나 본 실험에서는 xylan from oat spelt나 xylose 보다는 xylan from Birchwood가 가장 활성이 높았다.

기질농도의 영향

효소의 농도를 고정하고 기질의 농도를 5, 10, 20, 30, 40, 50 mg/ml로 다르게 조절하여 효소 활성을 조사한 결과 흰목이균은 20~50 mg/ml에서 활성이 높아졌으며 공생균과 혼합균은 20 mg/ml까지 급격히 상승하다가 그 이상에서는 기질농도가 높아도 증가폭은 아주 적었다(Fig. 9). 일반적으로 효소의 촉매반응은 이에 관여하는 기질의 농도가 높을수록 활발히 일어나 기질의 농도가 낮을 때

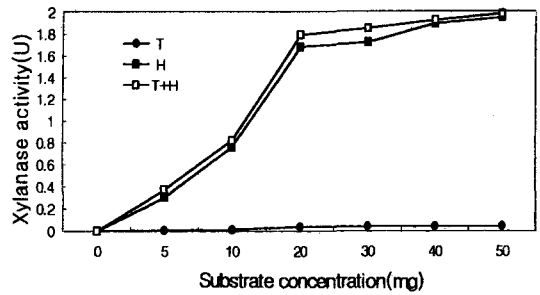


Fig. 9. Effect of substrate concentration in xylanase production.

에는 효소 중에 기질과 결합되지 못하는 부분이 생겨 반응속도는 작으나 이때 기질의 농도를 다시 증가시키면 반응의 속도는 커진다. 그러나 본 실험에서는 기질의 농도가 50 mg/ml 이상 되어도 반응의 속도는 일정한 값을 나타내었다. 즉 기질이 과잉일 때의 반응속도를 효소의 최대속도(V_{max})라고 하는데 기질 xylan from Birchwood 용액의 농도별 반응속도에 의하여 본 효소 기질 농도에 대한 친화력 측정을 위한 실험으로 효소역학에 대한 분석을 Lineweaver-Burk의 방법으로 plot하여 K_m 값으로 비교하였다. K_m 값은 효소 촉매반응 최대속도(V_{max})가 1/2이 되는 기질의 농도를 말하는데 Michaelis와 Menten은 효소의 쌍곡선형 포화곡선을 간단한 수식으로 바꾸어 더욱 많은 유용한 정보를 얻기 위하여 K_m 값을 구하였으며 효소에 대한 고유상수를 정량적으로 계산하고, 또한 효소의 저해에 대해서 해석을 할 수 있으므로 효소의 반응 속도론에 관한 모든 연구에 있어서 K_m 값은 기본적인이다. 흰목이균은 $6.25 \times 10^{-5} M(T)$, 공생균은 5.6×10^{-2}

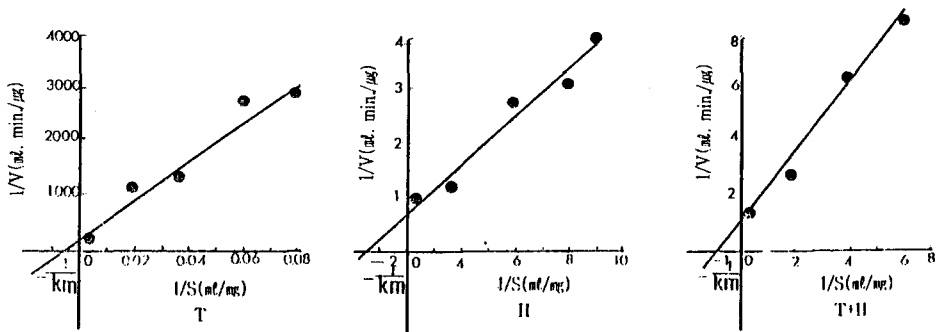


Fig. 10. Effect of substrate concentration on xylanase activity in *T. fuciformis* symbiotic fungi and mixed fungi by Lineweaver-Burk plot.

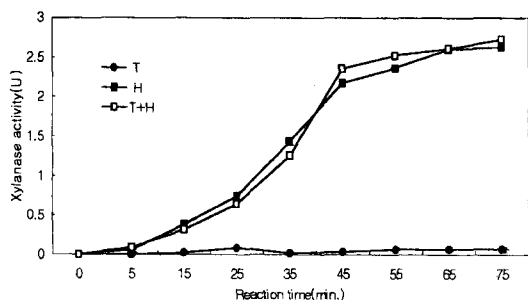


Fig. 11. Effect of reaction time on the xylanase production.

M(H), 혼합균은 5.2×10^{-2} M(T+H)로 측정되어 (Fig. 10), 자낭균류에 속하는 공생균의 K_m 값은 담자균인 흰목이균에 비하여 896배 정도 친화력이 강하였다. 이는 인공 톱밥배지에서 균사생장이 되지 않는 흰목이균이 효소의 기질과의 친화력이 약하기 때문인 것으로 생각되어지며 공생균과 혼합배양을 하면 832배의 친화력을 유지하므로써 공생균 단독 보다는 흰목이균과 공생균을 혼합하면 약간의 친화력이 약하여지나 흰목이균에게 상승작용을 하였다. *Pellicularia filamentosa* (Tanaka *et al.*, 1979)의 cellulase가 crystalline cellulose를 분해할 때의 K_m 값이 33 mg/ml이었다고 보고한 것과 *B. subtilis*와 *A. oryzae* (Fisher and Stein, 1960)의 K_m 값이 1~5×10 mM과 비교할 때 흰목이균은 친화력이 약하나 공생균과 혼합균은 매우 양호한 것으로 나타났다.

반응시간의 영향

효소활성에 미치는 반응시간의 영향을 검토하기 위하여 반응시간을 10분 간격으로 75분까지 경시적으로 반응시킨 결과 흰목이균은 반응시간에 따라 그의 변화가 없었으나 공생균과 혼합균은 45분 동안 반응시킬 때까지는 비례적으로 증가하다가 그 이상에서는 변화가 적었다(Fig. 11).

적 요

흰목이균, 공생균, 혼합균(흰목이균과 공생균)의 xylanase 생산 최적 탄소원은 xylose이었고 흰목이균, 공생균의 질소원은 KNO_3 , 혼합균의 질소원

은 $(NH_4)_2SO_4$ 이었다. Xylanase 생산 최적 배양일수는 흰목이균과 혼합균은 5일, 공생균은 6일이었으며 최적온도는 흰목이균과 공생균이 40°C, 혼합균이 45°C이었다. Xylanase 생산 최적 pH는 흰목이균과 공생균이 pH 6.0, 혼합균이 pH 7.0이었으며, 금속이온의 영향은 흰목이균에서는 Hg^{2+} , 혼합균에서는 Pb^{2+} 를 제외하고는 금속이온이 저해적으로 나타났다. 흰목이균, 공생균, 혼합균의 xylanase 열안정성은 50°C까지 80% 이상 안정하였으며, 기질(Birchwood) 특이성에 관해서는 Birchwood로부터의 xylan이 가장 활성이 높았다. 흰목이균, 공생균, 혼합균의 xylanase 기질농도는 20 mg/ml, 반응시간은 45분까지 활성이 급속히 상승하다가 그후 매우 완만한 반응속도를 나타내므로써 이를 기초로 하여 K_m 값을 얻은 결과, 흰목이균은 6.25×10^{-5} M, 혼합균은 5.2×10^{-2} M, 공생균은 5.6×10^{-2} M로 흰목이균, 혼합균, 공생균 순으로 효소 기질과의 친화력이 약하였다.

참고문헌

- 高橋光雄. 1957. 日農化大會講演(IV). p 50.
 大野信子, 藤原佳奈, 條山浩文, 勝井貴明. 1994. 특이한不完全菌 *Fusidium* sp. Bx-1의 생성하는キシラナーゼ. 生物工學會誌. 72(1): 13-19.
 稻綱惠, 早田尚. 1959. 日農化大會講演(IV). p 15.
 稻綱惠, 早田尚. 1960. 日農化大會講演(IV). p 12.
 福井作藏, 鈴木藏夫, 北原覺雄, 三輪知雄. 1960. Purification and properties of β -1,4'-xylanase from *Chaetomium globosum* A₂. 農化 34: 48.
 福住俊郎. 1971. 日本菌學會大會講演要旨集. p 62.
 張炫西, 車東烈, 森永力. 1996. 장수버섯 菌絲體 培養으로부터 xylanase 生産과 分離. 農業論文集 38(1): 324-329.
 鄭東孝. 1971. *Myriococcum albomyces*가 生産하는 cellulase에 關한 研究. 農化誌 14: 59-97.
 Chung, M. J., Taniguchi, H., Maruyama, Y. and Lee, M. J. 1982. Studies on α -amylase of *Bacillus circulans* F-2. Part II. Enzymatic characteristics of the purified α -amylase. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 10(2): 123-132.
 De Mot, R. and Verachtert, H. 1985. Purification and characterization of extracellular amyolytic enzymes from the Yeast. *Filobasidium capsuligenum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1474-1482.

- Ericksson, K. E. and Pettersson, B. 1971. Purification and characteristics of xylanase from the rot fungus *Streum sanguinolentum*. *Int. Biodetn. Bull.* **7**: 115-119.
- Fisher, E. H. and E. Stein, A. 1960. α -amylase, In the Enzymes. Acad. press, New York. **4**: 313-343.
- Forgarty, W. M. and Kelly, C. T. 1979. Developments in microbial extracellular enzymes, In topics enzyme and fermentation biotechnology. John Wiley and Sons. New York. **3**: 45-47.
- Fukui, S. 1958. Purification and some properties of *Aspergillus batatae*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **4**: 39.
- Huang, N. L. 1986. Cultivation of *Tremella* (in chinese), promotion of science press. Beijing. 31-104.
- King, N. J. and Fuller, D. B. 1968. The xylanase system of *Coniophora cerebella*. *Biochem. J.* **108**: 571-576.
- Kusakabe, I., Yasui, T. and Kobayashi, T., 1975. A new method for preparation of xylobiose, eliminating xylose from enzymatic xylan hydrolyte by yeast. *Agr. Biol. Chem.* **39**(7): 1355-1362.
- Matsumura, C., Maejima, K. 1963. Studies on cellulotic enzymes produced by *Aspergillus saitoi*. Inhibition and activation of carboxymethyl cellulase (IV). *J. Ferment. Technol.* **41**: 168-173.
- Nelson, N. 1964. Photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* **153**: 375-380.
- Oh, D. H., Lee, K. P., Pyun, Y. R. and Yu, J. H. 1981. Studies on the production of thermostable amylase. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **9**(2): 91-97.
- Paice, M. G., Jurasek, L., Carpenter, M. R. and Smillie, L. B. 1978. Production, characterization and partial amino acid sequence of xylanase from *Schizophyllum commune*. *Appl. Environ. Microbiol.* **36**(6): 802-806.
- Simpson, F. J. 1956. Production of xylanase from fungi. *Can. J. Microbiol.* **2**: 28.
- Somogyi, M. 1952. Notes in sugar determination. *J. Biol. Chem.* **195**: 19-23.
- Tanaka, M., Taniguchi, M., Morita, T., Matsumo, R. and Kamikubo, T. 1979. Effect of chemical treatment of solubilization of crystalline cellulose and cellulosic wastes with *Pelliclaria filamentosa* cellulose. *J. Ferment. Technol.* **57**: 186-190.
- Viet, D. N., Kamio, Y., Abe, N., Kaneko, J. and Izaki, K. 1991. Purification and properties of β -1,4-xylanase from *Aeromonas caviae* W-61. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**(2): 445-449.