

■ 特別講演 要旨 ■

## 低溫 微生物의 工業的 利用

梁 漢 喆\*

永點附近에서 生育하는 微生物이 自然界에 널리 分布하여 海洋 및 土壤中的 物質循環에 큰 役割을 하고 있다. 近年 cold chain의 普及으로 低溫에서 生育하는 微生物에 對하여 關心이 높아져 특히 食品衛生學, 海洋微生物學領域에서 低溫微生物의 生態, 分布, 分類에 많은 研究報告가 있다.

한편 溫도와 微生物生理의 關係에 關하여는 微生物의 生育, 酵素活性, 細胞膜透過性, 細胞構成成分 營養要求에 關한 研究報告는 있지만 低溫微生物 活性를 積極的으로 利用한 것은 釀造工業을 除外하고는 거의 없다. 그러므로 近年 發表된 低溫微生物을 利用한 菌體生産, Amino acid 및 有機酸의 生成, 海洋細菌에 依한 Protease의 生成에 關하여 소개하고자 한다.

### (1) *n*-Paraffin을 資化하는 海洋性酵母에 依한 菌體生産

#### 1) 人工海水의 濃도에 對한 鹽類要求.

海水 海低土等を 試料로하여 12°C에서 2日 平板培養하여 *n*-Paraffin을 資化하는 比較的檢出度가 높은 *Candida*屬 酵母를 分離하였다. 人工海水를 使用 鹽類要求에 關하여 調査한 結果 人工海水濃도가 높아짐에 따라 生育이 좋아지고 75%일 때 最高의 菌體를 生産하였으며 炭素原으로 glucose를 使用했을때보다 *n*-Paraffin을 使用한 경우 一層 顯著하였다.

#### 2) 炭素源을 glucose 또는 *n*-paraffin을 使用하였을 때 生育과 溫도의 關係

Waldhof型 fermenter를 使用할때 glucose培地에서는 5°C에서도 菌의 生育이 가능하고 12°C~28°C 사이의 溫度에서 菌의 生育이 가장 좋다. 한편 *n*-paraffin을 培地로 使用하면 *n*-paraffin이 固化하기 때문에 菌의 生育은 거의 볼수없다. 最高의 菌體收量은 12°C에서 生育이 좋으며 溫度가

높아지면 菌體生育은 低下하는 傾向이있다. 卽 28°C에서의 培養과 比較하면 12°C培養에서는 培養時間이 길지만 *n*-paraffin에 對한 菌體收量은 12°C에서는 80%, 28°C에서는 約 50%로 12°C쪽이 約 1.8배의 높은 收量을 나타낸다. 한편 培養溫度를 12°C로 부터 15°C로 올리고 接種量을 10%로하여 培養할때 4日째에 1l당 100g의 *n*-paraffin으로부터 85g의 乾燥菌體를 얻었다. 또한 菌體收量이 最高로 되었을때 培養液의 半分을 새로운 培地로 바꾸어 넣고 1日半 培養하면 最高의 生育을 나타내며 2日째의 培地첨가는 1日동안의 培養에서 菌體生産量은 最高로 되었으며 7日間の 培養에서 200g/l의 乾燥菌體를 얻었다. 酵母가 *n*-paraffin을 資化 또는 酸化함에따라 熱이 發生하기 때문에 菌體生産을 低溫에서 培養하는 것은 不利한 點도 있으나 이러한 培養條件을 檢討함으로써 一般的으로 生育速度가 느린 低溫에서도 어느정도 菌體生産을 빨리 할수있다.

### (2) 低溫性細菌에 依한 Amino acid의 生成

#### 1) *Brevibacterium*屬菌의 生育과 溫도의 關係.

土壤, 下水, 河川水로 부터 5°C에서 生育이 가능한 細菌 500株를 分離하였으며 約 15株가 5°C에서 glutamic acid를 生成하였으며 이中 glutamic acid生成이 가장 현저한 *Brevibacterium*屬菌 一株를 取해서 實驗에 使用했다.

이菌은 0°C에서도 生育하며 最適溫度는 15°C附近이었고 37°C까지 生育한다. 이菌을 5°C와 28°C로, 繼代培養하면 28°C의 경우 2代繼代에서 生育이 정지되었다. 이것은 28°C에서 營養要求를 나타내는 것이다. 卽 20°C以上の 높은 溫度에서 methionine을 要求하며 thiamine, biotin 添加에 依해 生育이 促進된다. 이菌은 5°C에서는 glutamic acid를 主로 生成하였고 28°C에서는 alanine이 生成되며 15°C에서는 glutamic acid와 alanine이 거의 같은量이 生成되었다.

\*高麗大學校 食品工學科 教授

## 2) 培養途中 溫度的 變化에 따른 生成物의 變化

培養途中 溫度를 5°C 로부터 28°C 로 變化시키면 溫度를 變化시킨 時點부터 glutamic acid 의 生成은 停止되고 alanine 이 生成된다. 이와 反對로 28°C 로 부터 5°C 로 溫度를 變化시키면 glutamic acid 의 生成이 증가되고 alanine 의 生成은 停止된다. 이와같이 培養途中에 溫度를 變化시키면 培養溫度에 따라 Amino 酸의 生成에 變化를 가지고온다.

## 3) L-glutamic acid 와 L-alanine 의 脫水素酵素活性에 對한 溫度的 영향.

溫度에 依한 醱酵轉換을 酵素學的으로 說明할 目的으로 glutamic acid 와 alanine 生成의 最終段階酵素로 생각되는 L-glutamic acid 와 L-alanine 脫水素酵素의 活性과 溫度와의 關係를 調查하여 보면 5°C 와 28°C 에서 培養하여 얻은 菌體를 cell free extract 하여 L-glutamic acid L-alanine 兩 dehydrogenase 의 活性을 測定하면 L-glutamic acid dehydrogenase 의 活性은 5°C 와 28°C 에 있었다. 한편 L-alanine dehydrogenase 의 活性은 5°C 에서는 거의 나타나지 않았다. 이 結果는 培養에서 얻은 結果와 잘 一致한다.

## (3) 低溫性 細菌에 依한 有機酸의 生成.

使用菌株는 湖水로부터 分離한 Pseudomonas 屬 菌으로 20~28°C 에 生育適溫을 갖고 있으며 5°C 에서도 잘 生育한다. 이 菌의 有機酸生成과 溫度와의 關係를보면 20°C 를 境界로하여 10°C 의 低溫부근에서는 succinic acid, 28°C 의 高溫부근에서는 2-Ketogluconate 가 生成된다.

溫度에 依한 醱酵轉換을 酵素的으로 說明할 目的으로 10°C 와 28°C 에서 얻은 菌體를 cell free extract 를 만들어 Succinic acid dehydrogenase activity 를 10°C, 28°C 에서 測定하였을 때 各溫度에서 거의 같은 活性을 나타냈다. 또한 intact cell

system 實驗結果에서는 10°C 에서 培養하여 얻은 菌體가 28°C 에서의 菌體에 比하여 낮은 活性을 나타낸다. 이와같은 結果는 細胞의 構造가 培養溫度에 따라 많은 영향을 받는 것으로 생각된다. 예를 들어 物質透過性等은 培養溫度에 따라 變化하고 또한 培養溫度에 따라 生産物에 變化가 생기는 것으로 생각된다.

## (4) 海洋性 低溫細菌에 依한 Protease 의 生成

魚肉의 腐敗가 海洋細菌에 依하여 일어나는 것으로보아 一般的으로 海洋性細菌에 依한 Protease 의 活性이 높은것으로 알려져있다. 이 實驗에 使用한 菌株는 海水로부터 分離한 Pseudomonas 屬 菌으로 海水中の 鹽類를 요구하며 5°C 에서 生育이 아주 좋고 菌體增殖은 4 日째에 最高에 達하였으며 Protease 의 生成은 5 日째에 最高에 達한다.

그러나 28°C 에서의 生育은 좋지 않고 Protease 의 生成은 거의 없다. 培養에서 얻어진 菌體를 cell free extract 하여 硫酸鹽析, DEAE Sephadex 로 濃縮한後 DEAE-cellulose, Column Chromatography 를하여 4 種의 protease 를 얻어 酵素活性과 溫度關係를 調查해본 結果 最高溫度는 50~60°C 이었다.

以上 現在까지 많이 알려져 있는 菌體生産, Amino acid, 有機酸, Protease 에 對하여 低溫培養에 依한 醱酵生産物에 關하여 소개하였다. 工業的으로 低溫培養함으로써 醱酵장치 및 低溫을 유지하여야 한다는 어려운 問題가 있지만 溫度의 變化에 依하여 代謝系를 간단히 變化시킬수가 있으며 한편 screening 의 범위를 넓혀 新物質 및 새로운 種類의 酵素를 生産하는 하나의 方法이 되며 屋外에서 특히 低溫의 환경에서 醱酵生産이 가능하다고 생각되며 이에 부수하여 contamination 의 억제 및 phage 의 오염을 억제할수 있으므로 微生物生理學的으로 흥미있다고 생각된다.