

키틴 분해균 *Aeromonas* sp. J-5003의 분리와 chitinase 생산 최적조건

* 최용운 · 이원재

부경대학교 미생물학과

서론

최근 기능성 생리활성물질로서 각광을 받고있는 chitooligosaccharide의 제조방법은 염산, 황산 등을 이용한 화학적 분해법과 효소를 이용하는 생물학적 방법을 들 수 있다.

화학적 분해법은 비용을 적게들여 쉽게 저분자 올리고당을 만들 수 있으나, 올리고당의 수율이 낮고 저중합도의 올리고당이 많이 생성되며, 원료의 불안전성으로 인해 인체에 유해한 부반응 물질을 생성시키는 문제점이 보고되고 있다(Choi. et al., 1997).

따라서, 생물학적 방법을 이용한 효소자원의 활용에 관한 연구가 진행되고 있다. Kim, 등(1997)은 *Serratia*, *Streptococcus*, *Aeromonas* 등의 일부 미생물 기원의 chitinase에 관한 연구 결과를 보고하였으나, 아직까지 이 효소에 대한 연구가 미흡한 실정이다.

본 연구는 chitinase 활성이 좋은 균주를 분리 동정하고, chitinase생산 최적조건 설정과 이들 균의 생리적 특성을 조사한 결과이다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 시료는 광안리, 부산항 등의 부산인근 해역에서 채취된 해수, 이토(mud), 그리고 algae 등이다.

채취된 시료는 colloidal chitin 함유 한천배지에 접종하여 30℃에서 72시간 배양하여 특징있는 집락들을 순수분리하여, 생리적 생화학적 실험을 하였다.

균의 분리는 Gram 음성의 rod type 균을 동정할 수 있는 API 20NE kit와 일반적인 생화학적 test를 통하여 그 특성을 조사한 후 API 20NE Profile Index에 의한 분석 및 Bergey's Manual of systematic Bacteriology(1984)에 기술된 분류기준에 의하였다.

Chitinase의 활성측정은 Dinitrosalicylic acid법으로 측정하였고, 환원당 정량은 N-acetyl-D-glucosamine을 표준물질로 하여 정량하였다. 이때 효소의 단위 1unit는 1 시간 동안 1 μ mole의 N-acetyl-D-glucosamine을 생성하는 효소량으로 정의하였다.

결과 및 요약

부산의 인근 해역에서 채집한 시료에 대하여 chitin 분해능을 측정하여 우수균을 최종적으로 분리하였다.

분리된 균주에 대한 형태적, 생화학적 특성 등을 조사한 결과를 토대로 *Aeromonas* sp. J-5003으로 동정하였다.

배양온도에 따른 균주 생육과 효소활성을 10-60°C의 각 온도에서 72hr 배양 후 조사한 결과는 30°C에서 최대활성 치가 나타났고, 초기 pH는 pH7.0에서, 배지속의 colloidal chitin의 농도는 0.5%에서, NaCl 농도는 1.5%에서, 배지첨가 탄소원의 농도는 glucose 0.2%에서, 배지첨가 질소원의 농도는 각각의 peptone과 Yeast extract 0.25%에서 최대활성 값이 나타났다.

또한, 배지의 기질 첨가와 미첨가 비교 활성 test 결과 유도효소임을 알 수 있었다.

이상의 효소생산 최적조건 하에서 균을 배양하면서 4hr 간격으로 생육곡선과 효소 활성을 측정하였고, 그 결과 균의 안정기 후반부(80-88hr)에서 가장 높은 활성이 나타났다.

참고문헌

1. Kazumi H., Lee S., Mitsunori K., Saori T., Masahiko S., Ryoichi S. and Kohei O. 1997. Isolation and characterization of chitinase from a flake-chitin degrading marine bacterium, *Aeromonas hydrophila* H-2330. Biosci. Biotech. Biochem., 61(1), 174-176.
2. Hiroshi, T., Yukio Y., Chiaki I., Yoshiro O., Katsushiro M. and Yoshihiko I., 1991. Isolation and characterization of a chitin degrading marine bacterium belonging to the genus *Alteromonas*. Nippon Suisan Gakkaishi, 57(11), 2127-2131.
3. Ohtakara, A., Mitsutomi, M. and Uchida, Y. 1979. Purification and some properties of chitinase from *Vibrio* sp. J. Ferment. Technol., 57(3), 169-177.
4. 노화정, 1996. Chitin 분해세균의 분리 및 Chitinase의 특성. 이화여자대학교 대학원 석사학위논문
5. 김광엽, 이찬용, 이계호, 1997. *Aeromonas hydrophila* 5-3K의 분리 및 Chitin 분해 특성. 산업미생물학회지, 25(2), 151-158.
6. 강신욱, 정만재, 여익현, 김동호, 1998. Chitinase를 생산하는 *Pseudomonas vesicularis* KW-15의 분리 및 특성. 한국키티닌·키티산연구회지, 3(4), 303-312.
7. 이상환, 유의경, 1996. *Serratia marcescens* JM에 의한 Chitinase의 정제와 특성. 한국화학회지, 40(1), 72-80.
8. 최연진, 김은정, 김영수, 신용철, 1997. 키티산올리고당 생산을 위한 키티산 효소의 개발. 한국키티닌키티산학회지, 2(3), 40-48