

알긴산 분해 효소 생산 미생물의 탐색

어명희 · 주동식 · 김옥선 · 최용석 · 조순영
강릉대학교 동해안해양생물자원연구센터

서론

당질 특히 올리고당이 혈청지질, 급만성 독성 및 변이원성에 대한 영향, bifidobacteria의 활성화에 미치는 효과, 생체 조절인자로서의 효과 및 장내 세균군의 개선, 변비, 항콜레스테롤 효과(菅野 智榮, 1989) 등 다양한 기능성을 가지고 있는 것으로 밝혀지면서 많은 연구가 행해지고 있다(富田旁男 et al., 1992). 근년까지 올리고당에 관한 연구는 주로 육상 식물 다당류를 대상으로 널리 이루어졌으며, 이들 육상 식물 다당류 유래 올리고당 중 일부는 공업적으로 대량 생산되어 식품 분야 등에 이용되고 있다(待永泰市 et al., 1989). 그러나, 해조 다당류를 원료로 한 올리고당 제조에 관한 연구는 국내외에서 일부만 행해 졌으며, 국내에서는 주 등(1996)이 효소 분해 알긴산 올리고당을 제조하여 항혈전성 등의 기능성을 본 연구에 있을 뿐이다. 더욱이 아직 효소분해 제품화가 되어 나오지 않고 있는데, 이것은 고효성 알긴산 분해 효소 분비 미생물이 발견되지 않은 것이 주요 원인이라 사료된다. 이에 본 연구에서는 고효성 알긴산 분해 효소 분비 미생물을 해수, 조간대 해조, 흙 등을 대상으로 탐색해 보았다.

재료 및 방법

균주 분리 시료 : 알긴산 분해 균의 검색을 위한 시료는 동해안(남으로 동해에서 북으로 하조대까지)에서 채취한 해수, 토양 및 해조를 사용하였다.

알긴산 분해 균주의 분리 : 단계별 희석된 시료를 배양하여 독립 colony를 분리하고, 다시 계대배양한 균을 액체배지에 배양하여 알긴산 분해능을 검색하기 위하여 Somogyi-Nelson법에 따라 환원당을 측정하였다.

분리 균주의 최적 배양 조건 : 탄소원 및 탄소원의 농도, 질소원 및 질소원의 농도, NaCl 농도, pH, 온도 및 배양시간에 따른 환원당 생성량을 측정하였다.

분리 균의 동정 : 각종 생리, 생화학적 특성을 실험하고, DNA sequence phenol-Chloroform method의 실험 결과들을 토대로 Bergey's Manual Systematic Bacteriology, Gibbs와 Skinner의 분류 방법에 따라 동정을 행하였다.

결과 및 요약

해양 및 토양에서부터 알긴산 분해균 분리원으로 하여서 69종의 균주를 분리하였는데, 이들 균주의 각각의 환원당 생성으로 하여 미약한 활성을 가진 균까지 약

68여종의 균주를 분리할 수 있었다. 이중 8개의 균주가 활성이 높았고, 그중에서도 분해능이 가장 강한 1균주(577번)를 검색, 분리하였다. 577번 균주의 성장과 분해 활성 효소 생산에 알긴산이 필수적이었으며, 1.0~2.0%의 알긴산 첨가가 효과적인 것으로 나타났다. 질소원으로는 Nutrition broth이 가장 효과적이었는데, 0.5%까지는 균체 성장에 효과적이었으나 그 이상의 농도에서는 다소 감소하는 것으로 나타났다. 또한 성장 최적 pH는 7.5, 배양온도로는 28~30℃였으며, 산성 영역의 pH 조건과 30℃ 이상의 온도 영역에서는 알긴산의 분해 활성 효소 생산이 급격히 저하되었다. 577번 균주의 성장과 분해 활성 효소 생산에 NaCl이 꼭 필요한 것은 아니었으나, 일정 농도인 2.0% 농도가 가장 적당하였다. 배양 시간은 144시간이 적당하였고, 그 이후는 미생물 성장 및 사멸 곡선에 의하여 감소하는 경향을 보였다. 577번 균주는 그람양성 간균으로 운동성을 없었고, 식염 무첨가 배지에서도 성장하였으나 그 성장이 미미하였으며, 생화학적 특성 및 DNA 유전자 배열을 측정하여 판단해 볼 때 *Bacillus Licheniformis*로 추정되었다.

참고문헌

- 菅野 智榮. 1990. イソマルトオリゴ糖の性狀と食品への應用. *New Food Industry* 32(10): 28-32.
- 富田旁男·黃田 馬. 1992. 微生物による天然多糖から有用オリゴ糖の生産. *化學と生物* 30(3): 170.
- 待永泰市. 1989. 糖質酵素機能開發と有用カルコ糖の生産. *化學と生物* 27(1): 76
- 주동식·이정석·박중제·조순영·김희경·이용호. 1996. 효소분해에 의한 알긴산 올리고당류의 제조. *한국식품과학회* 28(1): 146