

*Chlorella* 와 *Scenedesmus* 細胞 含有物質이 *Lactobacillus delbrückii* 와 *Bacillus subtilis* 에 미치는 成長 促進效果

鄭 至 媛 · 李 泰 雨 · 李 周 植

(서울大學校 師範大學 生物科)

Stimulating effects of *Chlorella* and *Scenedesmus* cell upon the growth and fermentation of *L. delbrückii* and *B. subtilis*

Chung, Chi Won., Rhee, Tai Woo and Lee, Zoo Shik.

(Dep. of Biology, College of Education, Seoul National University.)

Abstracts

The accelerate effects on the growth rate and the capacity of fermentation of *L. delbrückii* and *B. subtilis* was investigated in the Henneberg's medium added by various amounts of cellular components of *Chlorella* and *Scenedesmus* and also was investigated in the media added micro-nutritional elements such as Mn, Fe and Mo, etc.

The results in the comparative experiments are as follow;

1. Various amounts of *Chlorella* cell components in the media accelerated remarkably the lactic acid formation and growth of *L. delbrückii*.

For example, lactic acid formation in the medium of contained 1 percent *Chlorella* cell components was promoted more than twice effects compare with control.

2. The formation of  $\alpha$ -amylase by *B. subtilis* in the medium of 2 percent *Chlorella* cell contents was also promoted more than nine twice effects compare with control.

3. The formation of lactic acid of *L. delbrückii* in the medium of *Scenedesmus* cell contents was a little more than in the medium of *Chlorella* cell contents.

4. The lactic acid fermented level attained with the addition of 0.2~0.25 percent *Chlorella* cells was the effect of promoting fermentation attained of saturating level at 100 $\mu$ g./ml. of Mn and 0.1  $\mu$ g./ml. of Fe.

1. 緒 論

藻類의 培養途上에 出現하는 여러가지 生長促進物質에 關해서는 Lefevre 와 Jakob(1949)가 數種의 藻類를 培養하던 中에 “한 藻類의 培養液內에서 다른 藻類의 生長을 促進하는 物質이 出現한다”는 事實을 밝혔다. 그후 Lewin(1958)은 *Coccomyxa* sp.의 培養液中에서 thiamine 을 檢出하였으며 또 藻類가

生成한 vitamin 이 藻體外로 遊出된다는 事實을 報告하였다.

Bently(1958)는 “*Anabaena clindrica* 의 培養液과 거의 *Oscillatoria* sp. 의 單細胞 藻類만이 成長하여 있는 湖水 물의 濾過液에서 *Chlorella* 와 여러種의 plankton algae 로 부터 抽出이 證明되었던 auxin 型의 植物 hormone 을 發見하였다”고 報告하였다. 한편 Shirota 와 Takechi(1965)는 各種 vitamin 과 無

機物質等 豊富한 養料를 含有하는 “*Chlorella* 의 어떤 細胞物質은 *Lactobacillus acidophilus* 의 乳酸醱酵作用을 促進하는 效果가 있다”는 事實을 밝히고 “이런 *Chlorella* 의 含有物은 yeast extract 나 多細胞性的 各種 algae 內에는 存在하지 않으며 *Lactobacillus* 成長에 다소 促進效果를 주는 茶葉으로 부터 抽出된 物質과도 全히 다른 性質의 物質”이라고 報告하였다.

以上の 報告等으로 미루어 볼때 藻類細胞에는 大 藻類의 成長을 促進하는 여러 物質이 含有되어 있다는 事實과 *chlorella* 細胞의 어떤含有物이 *Lactobacillus acidophilus* 의 成長을 促進한다는 事實을 알 수있다. 그러나 藻類 細胞含有物에 의한 *Lactobacillus delbrückii* 및 *Bacillus subtilis* 의 成長促進 效果에 對하여는 報告된바 없다. 또한 *Chlorella* 의 類似藻類인 *Scenedesmus* 의 細胞含有物에 의한 菌生長促進效果에 對한 報告도 全혀 없다.

著者は life cycle 및 細胞 構成 成分이 相互類似한 *Chlorella* 와 *Scenedesmus* 各 一種씩을 擇하여 이들이 醱酵作用에 미치는 促進의 效果를 究明함과 同時에 微養元素가 주는 醱酵作用의 促進效果와 單細胞 藻類가 주는 醱酵促進 效果와는 어떤 差異가 있는 가에 對해 比較 實驗한 結果를 報告하고자 한다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 使用菌株

實驗에 使用된 *Chlorella* 와 *Scenedesmus* 菌株은 韓國에서 分離 固定한 *Chlorella ellipsoidea*(1815)와 日本에서 分離받은 *Scenedesmus obiliques* 이었다. 乳酸生成菌株은 처음 *Lactobacillus delbrückii* 411~2, *L. fermenti* 402~2, *L. arabinose*, *Streptococcus faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides* 의 5 菌株를 使用했으나 그 結果는 大同小異하므로 이中 酸도가 가장 높은 *L. delbrückii* 一種을 選定 實驗을 始終하였다.

amylase 生成菌株은 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 을 使用하였다.

### 2. 細胞 含有物(藻體)의 收集

*Chlorella* 의 培養은 純水 l 當  $KNO_3$ , 5g;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 2.5g;  $KH_2PO_4$ , 1.25g;  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 5mg; Aron's A<sub>5</sub> 溶液 1ml; EDTA 7mg 을 含有시킨후 15 lbs.로 15 分間 멸균시켜 實溫에서 無菌培養하였다. 光線은 日光과 電光白熱燈을 利用하여 夜間에도 10-

000 lux 로 계속 照射하고 滅菌綿이 들은 aspirator 로 晝夜 aeration 과 agitation 시켜 10 日間 培養하였다.

綠藻粉末 製造는 培養液을 遠心分離(3000r.p.m./30min) 한후 1/500M  $K_2SO_4$  solution 으로 2回 씻고 다시 증류수로 2回 씻은 후 즉시 90°C 의 incubator 內에서 乾燥시켰으며 다음 dessicator 內에 저장 하였다.

*Scenedesmus* 의 培養은 Krauss-Thomas 의 培地 ( $KNO_3$ , 1.03g;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.25g;  $KH_2PO_4$ , 0.25g;  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 5mg; Krauss 의 微量元素溶液 0.1ml; 純水 1l)에다 上記 *Chlorella* 의 培養과 同一한 方法으로 培養하여 粉末을 얻었다.

### 3. 乳酸菌의 培養 및 醱酵度의 測定

乳酸菌의 培養은 Henneberg 液(Table I)을 使用하였으며 培養溫度는 40°C 였다.

實驗에 使用한 正常培地는 N-NaOH 를 써서 pH 7.0 이 되게 補定하고 30 分間 끓여 濾過하였다. 濾液은 다시 pH 를 補定 확인하여 每 시험관 마다 15cc씩 分注한후 綿栓, 滅菌(15 lbs. 15 分間)하여 使用하였다. *Chlorella*, *Scenedesmus* 및 微養元素의

<Table I> Media for *Lactobacillus delbrückii*.

sucrose	2g
yeast extract	3g
glucose	5g
peptone	1g
asparagine	0.3g
$KH_2PO_4$	0.3g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01g
D.W.	200c.c.
pH	6.8

添加培地는 여과한 正常培地에다 一定量의 藻類粉末과 微養元素를 各各 添加한 후 다시 pH 를 補定하여 멸균(15 lbs. 15 分間)해서 使用하였다.

微養元素의 效果는  $Fe(FeSO_4 \cdot 7H_2O)$ ,  $Mn(MnCl_2 \cdot 4H_2O)$ ,  $B(H_3BO_3)$ ,  $Cu(CuSO_4 \cdot 5H_2O)$ ,  $Zn(ZnSO_4)$ ,  $Mo((NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O)$  의 六種에 對하여 調査하였다.

接種用 *Lactobacillus* 의 培養은 10cc의 flask 에 正常培養液 50cc-씩을 넣어 滅菌한 後 保存된 菌株에서 1 白金耳씩을 接種하고 40°C incubator 內에서 24 時間 培養하였다. 다음에 이 培養液 1cc 를 取해 300 cc 의 flask 에다 100 cc-씩 分注한 正常培養液에

다시 接種하고 40°C incubator 內에서 24 時間 培養하여 振盪한후, 0.1 cc 量을 每시험관 마다의 菌接種用液으로 하였다. 生菌數의 測定은 培養 48 時間後 5 分間 振盪한 培養液 0.1 cc 씩을 取하여 平板培養法으로 測定하였다. pH 的 變化는 Beckman's pH meter 로 測定하고 酸度의 比較는 培養上澄液을 一定時間마다 1 cc 씩 取해서 phenolphthalein 을 使用하여 所要된 1/10 N-NaOH 所要量으로써 比較하였다.

4. *B. subtilis* 的 培養 및  $\alpha$ -amylase 的 測定

*B. subtilis* 的 培地는 N.B. medium (Table II) 를 使用하였다.

N.B. medium 的 製造는 100°C 에서 30 分間 끓인 후 濾液을 滅菌(15 lbs. 15 分間)하여서 實驗하였다.

<Table II> Media for *Bacillus subtilis*

beef extract	3g
peptone	5g
yeast extract	4g
glucose	1g
D.W.	1000cc
pH	6.8

菌接種用液은 保存된 菌株 1 白金耳씩을 30 cc flask 에 100 cc 씩 分注한 N.B. medium 에 移植하고 37°C 的 incubator 內에서 24 時間 靜置培養한 後 그 上澄液을 取하여 0.1 cc 量을 flask 마다의 接種用液으로 使用하였다. 本 培養은 200 cc flask 에다 50 cc 씩 分注한 培地에 菌液을 接種하고 37°C incubator 內에서 培養하였다. *Chlorella* 와 *Scenedesmus* 粉末添加培地는 여과된 N.B. medium 에 一定量씩의 粉末을 含有시킨 後 滅菌(15 lbs. 15 分間)하여 使用하였다.

$\alpha$ -amylase activity 는 Wohlgemuth 法으로 測定하였다. 酵素原液은 "*B. subtilis* 가 生成한 細胞內  $\alpha$ -amylase 는 生成된후 數分內에 細胞外로 放出된다"는 報告(Oishi. M. et al, 1963)에 基準하여서 培養液 1cc 를 酵素原液 1cc 로 定하였고 常法에 依해서 測定하였다. 比色의 基準은 1% dextrin 液 5 cc, 1% 可溶性澱粉液 0.1cc, 1/100N 沃度液 0.5cc 를 添加시켰을 때 나타나는 赤紫色의 色調를 標準色度로 하였다. W.V. 算出方法은 아래의 式과 같다.

$$D_{30}^{550} = \frac{1\% \text{ starch solution cc數}}{\text{所要酵素液 cc數}} \times \text{酵素의 稀釋}$$

培地數

III. 實驗結果

1. 細胞含有物(藻體)添加에 依한 *L. delbrückii* 와 *B. subtilis* 的 成長에 關한 實驗.

*Chlorella* 와 *Scenedesmus* 細胞物質이 *Lactobacillus* 的 成長 및 乳酸醱酵作用에 미치는 效果를 調査하기 爲하여 Henneberg 的 正常培地에서 培養한 成績과 *Chlorella* 및 *Scenedesmus* 粉末을 0.125%, 0.25%, 0.5%, 1%, 2% 的 濃度로 添加시켜 培養한 結果의 比較는 Fig. 1 에 表示함과 같다.

*Chlorella* 的 細胞含有物質(藻體)을 여러 濃度로 添加시켰을 때 나타나는 pH 變化의 差異는 對照區에 비해 *Chlorella* 添加區는 顯著한 促進效果를 나타내며 2% 添加區가 가장 酸性을 나타내었다. 對照區의 pH 變化는 培養 7 日 經過時에는 거의 steady state 에 到達하나 *Chlorella* 添加區는 繼續해 낮아진다. 또한 *Chlorella* 添加量에 對한 pH 變化의 程度는 *Chlorella* 量을 semi-logarithm 率로 添加할 때 pH 는 等差的인 變化를 나타낸다. 이와같이 semi-logarithm 率로 *Chlorella* 粉末을 添加했을 때 나타나는 生菌數의 增減關係는 Fig. 2 와 같다.

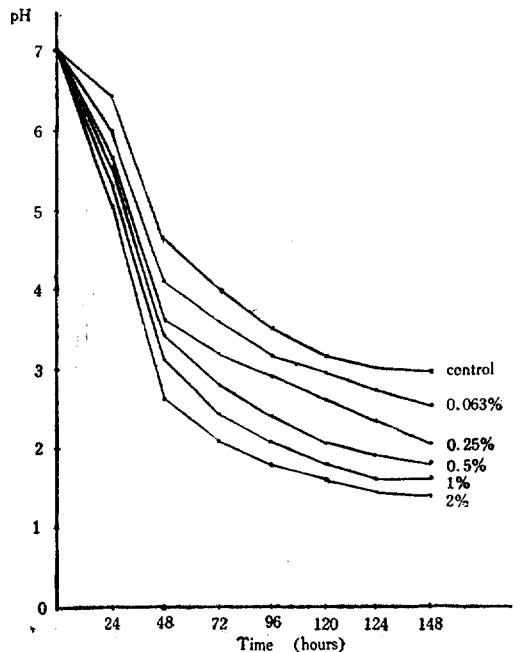


Fig. 1. Comparison of pH by *L. delbrückii* grown on the Henneberg's medium containing various amounts of *Chlorella* powder.

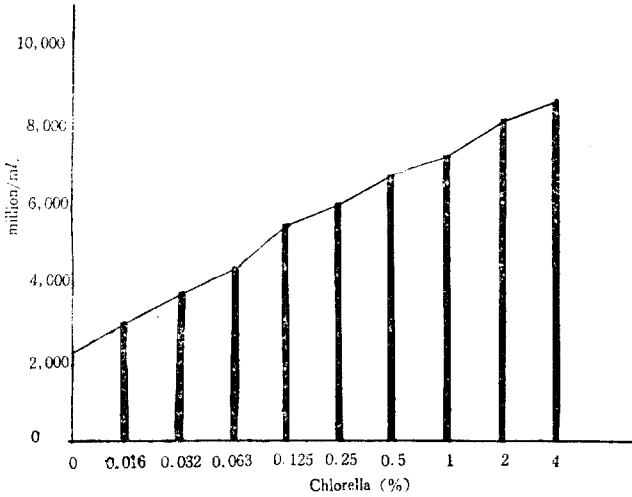


Fig. 2. Number of cells between concentration of various *Chlorella* powder and it counted at 48 th hours of incubation.

40°C에서 48時間 培養한 對照區의 生菌數는 20 ~ 25 × 10<sup>8</sup> 이었으나 *Chlorella* 粉末 2% 添加 培地 에서는 79~82 × 10<sup>8</sup> 이나 되었다. *Chlorella* 細胞物

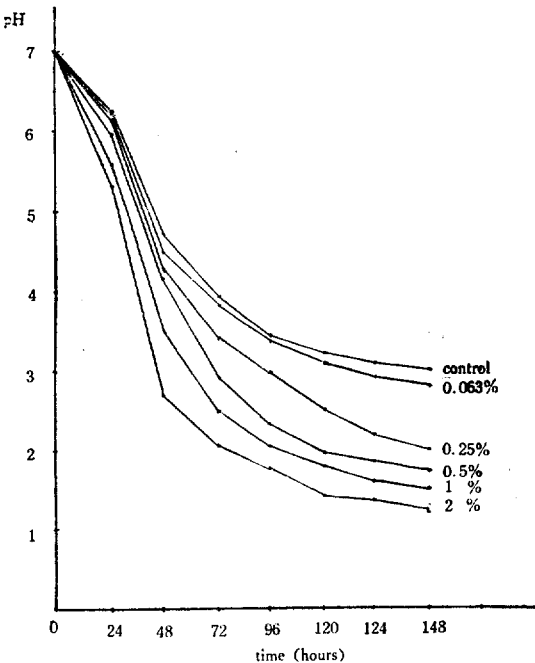


Fig. 3. Comparison of pH by *L. delbrückii* grown on the Henneberg's medium containing various amounts of *Scenedesmus* powder.

質의 添加는 生菌數가 直線의 率로 增加하는 成績을 얻을 수 있었다.

이와같이 生菌數가 semi-logarithm 率의 添加量에 對하여 直線의 關係를 갖는 것은 pH가 等差의인 關係를 갖는 結果와 相關의 關係가 있음을 나타내는 것이다. 4% 添加에서 生差數가 若干 줄어드는 成績이었으나 酸度는 계속 높아지는 結果였다. (Fig. 6 參照)

*Scenedesmus*의 細胞物質 添加에 따른 *Lactobacillus*의 成長促進效果에 對한 pH 變化는 Fig. 3에 表示함과 같다.

*Scenedesmus* 添加區와 對照區의 pH 差異는 *Chlorella*의 添加效果와 거의 같으며 semi-logarithm 率로 添加한 量에 對해 變化된 pH 差異 亦是 等差의인 結果를 나타내고 있다.

이와 같은 結果는 *Chlorella* 添加區와 같은 成績이었고 乳酸菌生長促進效果는 *Chlorella* 添加區보다 더 낮은 pH 域을 나타내는 差異가 있었다. *Chlorella* 添加가 *B. subtilis*의 α-amylase 生成에 미치는 促進效果는 Fig. 4와 같다.

*Chlorella* 細胞含有物의 1% 添加區는 對照區에 비해 約 4 倍, 2% 添加區는 9 倍以上의 높은 α-amylase를 生成하는 促進效果를 나타내며 0.5% 添加에서는 倍의 促進效果가 있었다. *B. subtilis* 菌生長에 따른 pH의 變化는 培養 初期 *Chlorella* 添加區가 對照區보다 pH 低下가 多少 빠르며 pH의 再上昇은 對照區가 더욱 빠른 結果를 나타내고 있다.

2. 細胞含有物(藻體)添加區와 微養元素 添加區의 比較實驗.

*Chlorella*와 *Scenedesmus*의 微量添加가 *Lactobacillus*의 菌成長과 酸生成能에 促進效果를 나타냈으며 *Chlorella*의 添加는 *B. subtilis*의 α-amylase 生成에도 큰 促進效果를 나타냈다. 이러한 促進效果는 *Chlorella* 內에 含有되어 있으리라 思料되는 微量元素와 어떠한 相關關係를 갖는가를 調査하는 것은 매우 重要한 일이다.

本 實驗에 쓰인 Henneberg 培養液內에 Fe. Mn. B. Mo. Cu. Zn을 0.01 μmg./ml., 0.1 μmg./ml. 1 μmg./ml., 2μmg./ml. 添加培養 했을 때 나타나는 各各의 酸度의 變化는 Table 3, 4, 5, 6, 7, 8에 表示함과 같다.

또한 *Chlorella*와 *Scenedesmus*를 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1%, 4%, 添加培養했을 때 나타나는 酸度의 變化는 Table. VI와 같다.

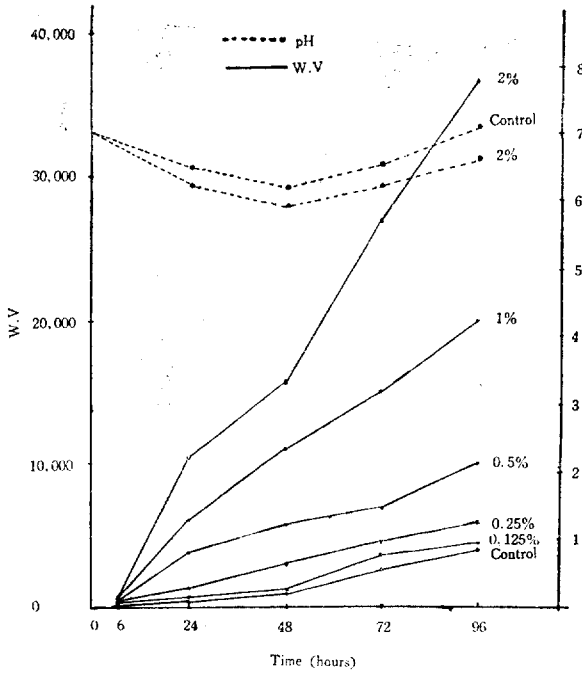


Fig. 4. Comparison of W.V. and pH by *B. subtilis* grown on the N.B. medium containing various amounts of *Chlorella* powder

<Table VI> Comparison of *Chlorella* and *Scenedesmus* in the media for lactic acid acidity. Ordinate; quantities of titrated  $\frac{1}{10}$ -N-NaOH.

Algal/%	24		48		72		120	
	Ch.	Sc.	Ch.	Sc.	Ch.	Sc.	Ch.	Sc.
4	0.35	0.33	0.83	0.84	1.23	1.25	2.09	2.12
1	0.31	0.29	0.79	0.79	0.93	1.01	1.78	1.84
0.5	0.28	0.27	0.65	0.64	0.76	0.78	1.62	1.65
0.1	0.25	0.25	0.56	0.58	0.69	0.70	1.24	1.28
0.05	0.23	0.24	0.49	0.50	0.63	0.65	1.07	1.04
0.01	0.22	0.23	0.45	0.46	0.60	0.62	0.94	0.89
control	0.25		0.38		0.54		0.82	

*Chlorella* 와 *Scenedesmus* 및 微養元素添加에 따라 나타나는 *L. delbrückii* 의 生長促進效果를 40°C 에서 120時間 培養 後 測定한 酸度를 써 比較한것은 Fig. 5, 6 과 같다.

이들 微養元素 및 *Chlorella* 와 *Scenedesmus* 細胞物質의 促進效果는 Table V 와 같다

*Chlorella* 와 *Scenedesmus* 의 促進效果는 對照區에 比較 둘 다 아주 높은 促進效果를 나타내었다.

<Table V> Statistical analysis of accelerate effects of lactic acid fermentation between *Chlorella* and *Scenedesmus* substance, and various micronutrition elements. Ordinate; acidity measured titrated  $\frac{1}{10}$ -N-NaOH in ml.

comparative	mean difference	degree of freedom	"t." value	P
cont.and Chlo	0.638	5	4.10	p<0.01*
cont.and Sce	0.601	5	6.67	p<0.01**
Chlo.and Sce	0.037	5	0.44	p>>0.05
cont. and Mn	0.320	7	8.83	p<0.01**
cont. and Fe	0.255	7	8.62	p<0.01**
cont. and Zn	0.037	7	1.71	p>0.05
cont. and B.	0.093	7	3.37	0.01<p<0.05*
cont. and Mo	0.175	7	4.24	p<0.01**
cont. and Cu	0.017	7	0.95	p<0.05
Algae andMn	0.318	12	2.30	0.01<p<0.05*
algae and Fe	0.383	12	2.45	0.01<p<0.05*
algae and Mo	0.463	12	3.87	p<0.01**
algae and B	0.731	12	4.87	p<0.01**

\* Significant at the 5% level.

\*\* Significant at the 1% level.

<Table II> Comparison of micronutritional elements in the media for lactic acid acidity. Ordinate: quantities of titrated  $\frac{1}{10}$  N-NaOH.

hours	24										48										72										120									
	Mn	Fe	Mo	B	Cu	Zn	Mn	Fe	Mo	B	Cu	Zn	Mn	Fe	Mo	B	Cu	Zn	Mn	Fe	Mo	B	Cu	Zn	Mn	Fe	Mo	B	Cu	Zn										
1,000	0.27					0.41	0.41					0.51	0.51					0.64	0.64					0.85	0.85					1.03										
500	0.23					0.48	0.48					0.54	0.54					0.85	0.85					1.03	1.03					1.18										
100	0.30	0.25	0.23	0.23	0.20	0.24	0.70	0.48	0.43	0.61	0.28	0.43	0.86	0.69	0.71	0.72	0.31	0.69	1.36	0.95	0.92	0.84	0.31	0.85	0.85					1.01										
10	0.31	0.25	0.24	0.22	0.22	0.26	0.69	0.49	0.45	0.62	0.42	0.45	0.87	0.73	0.73	0.74	0.56	0.72	1.33	1.01	0.98	0.88	0.64	0.91	0.91					1.01										
5	0.27	0.23	0.23	0.28	0.23	0.25	0.68	0.52	0.46	0.68	0.47	0.45	0.85	0.78	0.73	0.78	0.61	0.72	1.25	1.03	1.11	0.96	0.85	0.89	0.89					1.03										
1	0.31	0.22	0.25	0.28	0.26	0.23	0.60	0.54	0.45	0.68	0.47	0.44	0.77	0.76	0.74	0.79	0.63	0.67	1.13	1.03	1.12	0.99	0.72	0.86	0.86					1.03										
0.5	0.27	0.22	0.27	0.26	0.27	0.22	0.59	0.54	0.47	0.67	0.48	0.42	0.75	0.80	0.76	0.81	0.66	0.66	1.09	1.12	1.14	1.00	0.96	0.83	0.83					1.09										
0.01	0.28	0.20	0.24	0.26	0.24	0.23	0.55	0.53	0.48	0.67	0.46	0.43	0.70	0.81	0.77	0.78	0.65	0.64	1.05	1.17	1.04	0.98	0.94	0.83	0.83					1.05										
0.01	0.28	0.22	0.22	0.25	0.21	0.22	0.55	0.55	0.43	0.66	0.43	0.43	0.70	0.78	0.73	0.77	0.60	0.64	1.03	1.18	0.98	0.90	0.91	0.84	0.84					1.03										
0.001	0.27	0.21	0.21	0.23	0.22	0.21	0.53	0.47	0.41	0.65	0.41	0.41	0.67	0.72	0.72	0.77	0.59	0.62	0.98	1.12	0.96	0.87	0.89	0.85	0.85					0.98										

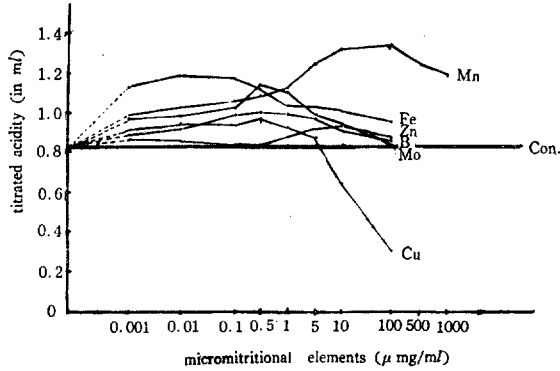


Fig. 5. Comparison of acidity between micro-nutritional elements. Ordinate; titrated acidity measured at 120 hours of incubation.

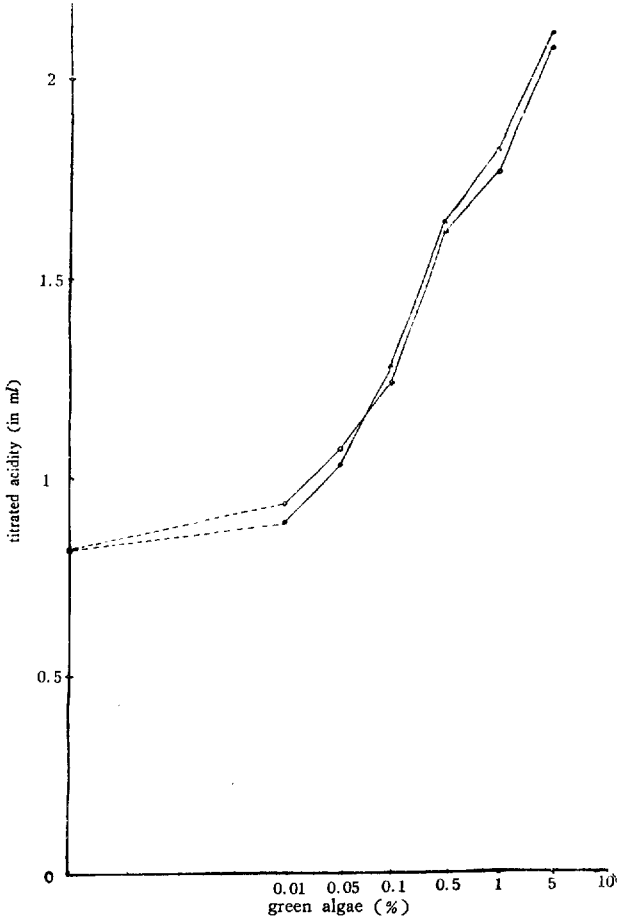


Fig. 6. Comparison of acidity between *Chlorella* and *Scenedesmus* substances. Ordinate; titrated acidity measured at 120 hours of incubation.

또한 對照區에 對한 微養元素의 促進效果는 Mn, Mo, Fe, B의 四種단이 促進效果를 가졌으나 Zn, Cu는 促進效果가 없었다. 微養元素中 가장 促進效果가 높은 것은 Mn, Fe, Mo 三種이고 그中 Mn<sup>++</sup>이 가장 높고 다음 Fe<sup>++</sup>, Mo<sup>++</sup>이었다.

綠藻物質과 微養元素間의 促進效果에 對한 比較는 綠藻物質이 Mo, B 보다는 아주 높은 促進效果를 갖는다.

*Chlorella*와 *Scenedesmus*의 比較에 있어서는 同一한 效果를 나타냈다. *Chlorella* 및 *Scenedesmus* 細胞物質 첨가와 微養元素中 가장 促進效果가 큰 Mn 첨가의 경우를 比較할때 Mn의 最大 促進效果가 나타나는 100 mg./ml.는 *Chlorella* 0.25% 添加 또는 *Scenedesmus* 0.2% 添加 효과와 同一한 效果가 있었다. 그러나 Mn<sup>++</sup>은 100mg./ml. 以上の 添加에서는 抑制效果가 나타나며 綠藻細胞物質의 경우 4% 添加에서는 Mn<sup>++</sup> 效果의 最大値보다 2倍 以上の 促進效果를 나타내고 있다.

*Lactobacillus*의 乳酸生成能에 對한 微養元素 添加와 綠藻細胞物質 添加에 있어 나타나는 促進效果는 綠藻細胞物質 添加區가 越等히 더 높은 效果를 나타냈다.

#### IV. 考 察

*Lactobacillus* 成長에 미치는 polyamine 添加效果에 關해서는 Guirard와 Snell(1964)이 spermine과 spermidine을 添加한 培地에서 그 成長이 促進되었고 가장 큰 效果가 있었던 것은 *L. casei*였으며 *L. delbrückii*에서도 促進效果가 있었으나 *Streptococci*에서는 아무런 效果가 없었다고 보고하였다.

이는 著者の 藻類細胞物質에 依한 *Streptococcus faecalis* 成長에 미치는 豫備實驗과 Shirota & Takechi(1965)가 밝힌 *Chlorella substance*에 依한 *Streptococci* 成長促進의 結果와는 차이가 있는 것이다.

*Chlorella* 細胞物質添加에 依한 乳酸酸酵菌의 乳酸生成 促進에 關한 Shirota & Takechi의 報告에서 *L. acidophills*의 乳酸生成效果는 *Chlorella* 2% 添加區가 對照區보다 酸度 2倍의 最大 效果를 가졌으나 그 以上の 添加量에서는 오히려 乳酸生成이 低下된다고 하였고 그 理由는 밝히지 않았다. 著者の *L. delbrückii*에 對한 實驗에서는 *Chlorella* 4% 添加區에서도 2% 添加區보다 더 높은 促進效果를 證明할 수 있었다. *Chlorella* 以外에 *Scenedesmus*가

菌生長에 미치는 效果에 關해서는 文獻上的 報告는 볼 수 없었다.

著者の 實驗에서 *Scenedesmus*가 *L. delbrückii*의 成長에 미치는 促進效果는 *Chlorella*와 아주 類似한 成績이있으므로 *Chlorella*와 *Scenedesmus*의 構成物質의 類似性을 추측할 수가 있다.

Neish(1950), Samejima and Myers(1958), Barker(1935)의 *Chlorella sp.*와 *Scenedesmus sp.*의 含有糖에 關한 分析表에서 *Chlorella ellipsoidea*보다 *Scenedesmus*는 mannose, fructose, lactose maltose, sucrose 등, 5種의 種類를 더 많이 含有한다는 報告는 있으나 促進의 起因을 밝힌 것이 아니다.

이 成績에서는 *Chlorella*와 *Scenedesmus*의 促進效果가 統計的으로 對等하였으므로 같은 促進要素가 있는 것으로 추측된다. 實驗에 쓰여진 微量元素의 選定은 *Chlorella* 細胞의 正常 發育에 必須的인뿐 아니라(Lee & Chin, 1967) *Chlorella*의 代謝作用에 깊이 關여하는(Emerson, 1939. Granick, 1951; Chance & Sagar 1957; Brown, 1954) Mn, Fe, Mo, B, Cu, Zn 등이 *Chlorella*에 含有되어 있으리라 추정되어서 이들로 選定하였다.

이들 6種은 모두 *Chlorella* 成長에 關係하는 것이며(Lee & Chin 1967) *L. delbrückii*의 경우, 그중 Mn, Fe, Mo, B는 현저한 成長促進效果를 나타냈으나 Zn, Cu는 촉진하는 效果가 없었다. Shirota & Takechi는 Mn과 *Chlorella*의 促進效果를 比較한 實驗에서 *Chlorella*보다 Mn의 促進效果가 훨씬 낮았으나 Mn 역시 促進效果가 있음을 證明한 것은 본 實驗과 부합되는 結果다. 그러나 그밖의 微量元素과의 關係는 밝히나 없으며 著者の 實驗에서 밝힌 *Chlorella*와 Mn 이외의 微量元素과의 相互關係와 *Scenedesmus*의 成長促進效果를 이들 微量元素과의 相互關係로 밝힌 것은 새로운 事實이다.

*Chlorella* 細胞物質의 *B. subtilis*에 대한 *Chlorella* 細胞物質의 促進效果는 1%, 2% 添加區가 0.125% 0.25%, 0.5%, 添加區에 비해 促進이 상승적 效果를 나타낸다. 이와같이 乳酸菌 成長에 미치는 促進效果 보다는도 월등히 높은 것은 *Chlorella* 細胞內에 含有된 要素의 單純한 促進效果만이 아니라 다른 어떤 *Chlorella* 細胞의 構成物質의 영양관계 등에 依해  $\alpha$ -amylase 生成이 더욱 促進하였으리라라고 추정된다.

Beverly et al(1964)은 amino acid 中 小鼠의 L-cystine이 *B. subtilis*의  $\alpha$ -amylase 生成을 억제하는



것은 L-cystine의 SH group 이나 chelating 作用으로 防禦받는 事實을 밝혔고 이러한 억제효과의 轉換은 여러 amino acid와 금속 ion 中 yeast extract가 逆轉시킨다고 報告하였다. 따라서 Chlorella 內에 含有된 L-cystine 物質은 正常培地에 含有된 yeast extract에 依해 抑制효과가 역전되었을 것으로 思料된다. *B. subtilis* 培養中의 pH의 變化에 對한 成績은 Deckord et al(1946)의 實驗에서 밝힌 事實과 같이 培養初期에 pH가 酸性域으로 下降하였다가 다시 上昇하였다.

乳酸醱酵와 關係를 갖는 醱酵과 無機 ion 과의 關

係는 Mizushima et al (1963)가 *Lactobacillus plantarum*의 glycolytic enzyme의 量的 關係의 究明에서 dl-lactic acid 만 生成하는 이들 菌內에 D와 L-lactate dehydrogenase가 存在한다는 事實을 밝히고  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $PO_4^{---}$ 의 無機 ion은 어떤 濃度에서도 細胞內 酵素의 活性를 阻害시키지 않는다고 報告 한바 있다. *L. delbrückii*는 L~dl, L-lactic acid를 生産하므로 D와 L-lactate dehydrogenase의 細胞內含有가 思料되며 *L. delbrückii*內에 이들 酵素亦是 無機 ion의 阻害를 받지 않는 것이라 推定되어 除外하였다.

## V. 摘 要

單細胞 綠藻類인 Chlorella와 Scenedesmus 細胞物質을 *L. delbrückii*와 *B. subtilis*의 正常培地에 微量添加했을 때 成長 및 醱酵作用에 나타나는 促進효과와 微養元素 添加가 이들 菌成長에 미치는 促進효과를 比較 實驗한 結果는 다음과 같다.

1. Chlorella 細胞含有物質의 1% 添加區는 *L. delbrückii*의 乳酸生成能 및 菌成長을 對照區보다 約 3倍 促進하는 효과가 있었다.
2. Chlorella의 細胞物質 2% 添加에서 *B. subtilis*의  $\alpha$ -amylase 生成能은 對照區에 비해 9倍 以上の 높은 促進효과를 보였다.
3. Scenedesmus 細胞含有物質 2% 添加에서 *L. delbrückii*의 乳酸生成과 成長에 미치는 効果는 Chlorella보다 약간 높은 促進효과가 있었다.
4. Chlorella 및 Scenedesmus의 細胞含有物質과 微養元素의 乳酸生成 促進효과的 比較 實驗에서는 綠藻細胞 含有物質 0.22~0.25% 添加結果가 微養元素中 가장 促進효과가 높은 Mn의 100 $\mu$ mg./ml. 添加와 Fe의 0.1  $\mu$ mg./ml. 添加보다 월등 높은 促進효과가 證明되었다.

## Reference

1. Barker, H.A., 1935. The metabolism of the colorless algae Prototheca Zopfii Krueger. J. Cellular Comp. Physiol. 7, 73—93.
2. Bentley, J.A., 1958. Role of plant hormones in algal metabolism and ecology. Nature, 181, 149—1505.
3. " ", 1960. Plant hormones in marine phytoplankton, zooplankton and sea water. J. Marine Biol. Assoc. United Kingdom 39, 433—444.
4. Brown, T.E., 1954. Comparative studies photosynthesis and the Hill reaction in Nostoc muscorum and chlorella pyrenoidosa. Ph.D. Thesis, Ohio State University.
5. Conrad, H., Saltman, P., and Eppley, R., 1959. Effect of auxin and gibberellic acid on growth of Ulothrix. Nature, 184, 556—557.
6. Chai, I.K., and Lee Y.H., 1966. The effect of gibberellin on the growth of Chlorella. Ewha Womans University the 80th Anniversary Thesis (Natural Sciences) p. 91—95.
7. Chance, B. & Sagar, R., 1957. Oxygen and light induced excitations of cytochrome, flavoprotein and pyridine nucleotide in Chlamydomonas mutant. Plant Physiol., 32, 548—561.
8. Deckord, L.D., Teltier, G.L., & Kneen, E., 1946. Bacterial amylase production in thin stillage, Ind. Eng. Chem., 38, p. 232.
9. Emerson, R., 1929. The relation between maximum rate of photosynthesis and concentration of chlorophyll. J. Gen. Physiol., 12, 609—622.
10. Fowden, L. A comparison of the compositions of some algal proteins. Ann. Botang(London)

- Mar. 1968] Chung, Rhee and Lee: Stimulating effects of *Chlorella* and *Scenedesmus* cell contents. 21
- 18, 257—206.
11. Gaffron, H., 1939. Uber Anomalien des at-  
mungsquotienten von Algae aus Zuckerkulturen.  
Biol. Zentr. 59, 288—302.
  12. Granick, S., 1951. Biosynthesis of chlorophyll  
and related pigments. Ann. Rev. Plant Physiol.,  
2, 115—144.
  13. Guirard, B.M., & Snell, E.E., 1964. Effect  
of polyamine structure on growth stimulation  
and spermine and spermidine content of lactic  
acid bacteria. J. Bacteriol., 88, No.1, 72—80.
  14. Jacobi, G., 1958. Uber die Bestimmung station-  
närer Konzentrationen von Brenztrauensäure  
undketoglutaräure in Laminarien. Kiel. Meere-  
sforsch. 14, 247—250.
  15. Lefevre, M., and Takob, H., 1949. Surfuelques  
proprietes des substance activives tiree des cult-  
ures dialgues d'ean Douce. Compt. rend. acad.  
sci., 229, 234—236.
  16. Lewin, R.A., 1958. Vitamin-bezonoj. In "Sci-  
encaj"(P. Neergaard, ed.), Modersmaslet, Had-  
erslev, Copenhagen. pp. 187—192.
  17. Lee S.K., & Chang, K.H., 1964. Studies on  
the amylase producing bacteria I. Kor. J. Micr-  
ob., 2, 12—22.
  18. Lee Y.N., 1964. Studies on the Phosphate  
metabolism in *Chlorella* with special reference  
to polyphosphate. Kor. J. Microb., 2, p. 2.
  19. —, Chin, P. & Sim, W.S., 1967. Effect  
micronutritional element deficiencies on the met-  
abolism of *Chlorella* cells (I). Kor. J. Microb.,  
5, 15—19.
  20. Mizushima, S., Hiyama, T., & Kitahara, K.,  
1964. Quantitative studies on glycolytic enzymes  
in *L. plantarum* IV. J. Gen. Appl. Microbel.,  
10, No.1, 33—44.
  21. —, & Kitahara, K., 1964. Quantitative  
studies on glycolytic enzymes in *L. plantarum*  
II. J. Bacteriol., 87, No. 6, 1429—1435.
  22. 宮路憲二, 1910. 醸造物中の乳酸菌, 應用微生物  
學下卷, p. 237—244.
  23. Neish, A.C., 1951. Carbohydrate nutrition of  
*Chlorella vulgaris*. Can. J. Botany 29, 68—78.
  24. Oishi, M., M., Kitayama, S., Takuhashi, H.,  
and Marno, B., 1963. Effect of L-cysteine acid  
metabolism in *B. subtilis*. J. Gen. Appl. Micr-  
obiol., 9, No. 3, 337—341.
  25. —, Takahashi, H., and Maruno, B., 1963.  
Extracellular L-amylase in *B. subtilis*. Bacteriol.,  
85, No. 1, 246—247.
  26. Samejima, H., and Myers, J. 1958, On the  
heterotrophic growth of *chlorella pyrenoidosa*.  
J. Gen. Microbiol. 18, 107—117.
  27. Syrett, P.J., 1958. Fermentation of glucose  
by *Chlorella vulgars*. Nature, 182, 1734—1735
  28. Shirota, M., and Takechi, Y., 1965. Stimulat-  
ing effect of some cellular component of *Chlorella*  
upon the growth of *Lactobacilli*. Report of Yakult  
Research Institute, I, No. 1. 33—49.
  29. 田宮博, 渡邊篤編; 1965. 一般藻類用培地. 藻  
類實驗法. p. 68—104.
  30. —, 1965. 生理化學的研究. 藻類實驗法.  
p. 187—202
  31. 友田直者, 坡口謹一郎, 山田原宣, 朝井安昭;  
1965. 液化力の測定法. 酵素の 利用工業 p 39—  
45.
  32. Uemura, T., 1960. Some consideration on the  
analytical research of the microbial eco-system.  
I.A.M. Symposia on Microbiology, Japan No.  
II. 20—41.