

석유탄화수소를 이용한 단세포단백질의 생산에 관한 연구

V. 균체의 회수, 정제 및 예비 동물사육 시험

변 유 량·권 태 완·지 규 만**·김 춘 수*

한국과학기술연구소 식량자원연구실 · *동물사료연구실

(1972년 9월 18일 수리)

Production of Single-Cell Protein on Petroleum Hydrocarbon

V. Recovery and Purification of the Yeast Cell and Its Preliminary Animal Feeding Test

Yoo-Ryang, Pyun Tai-Wan Kwon, Kew Mahn Chee** and Chun Su Kim*

*Food Resources Laboratory, *Animal Feedstuffs Laboratory,*

Korea Institute of Science and Technology

(Received September 18, 1972)

Abstract

Methods of separating yeast cells from oil-water-cell emulsion and subsequent purification of the recovered yeast have been studied. In addition, the results of preliminary feeding experiments in which a yeast grown on gas oil was incorporated into chick rations are reported.

According to the present study, it appears that the recovery of the yeasts would be easier at pH 9, since the emulsion is relatively more unstable. A class of surface active agent at a concentration of 0.3% was found to facilitate the separation of the yeast from the emulsion. The use of electrolytes such as NaCl and KCl were found to be most effective in breaking the emulsion.

Solvent treatment using iso-propyl alcohol and its azeotropic mixture with hexane at 58°C are particularly suitable for purification of the yeast.

In the feeding experiment it was found that 5 percent of the fishmeal in the control ration could be replaced by the yeast with no adverse effect on performance. However, when 8 percent of the fish meal in the control ration was replaced by the yeast, some effect on live-weight gain of the chicks was observed.

**현주소 : North Carolina 대학교

序 論

n-Paraffin 을 함유한 輕油와 같은 石油溜分을 炭素源으로하여 石油資化酵母를 好氣의으로 배양함으로써 菌體蛋白質을 生産함에 있어서 그 溜分中에 약 10% 내의 n-paraffin 만이 資化되는데, 이때 未資化輕油와 酵母 그리고 水溶液培地는 대단히 안정한 emulsion 을 형성한다. 그러므로 이 emulsion 으로부터 菌體를 分離, 回收하고 菌體에 殘存하여 있는 石油成分을 가능한 限除去하기 위하여 昂貴의 裝置와 溶媒處理를 소요하게 된다. 여기서는 前報^(1,2)의 培養條件에 관한 研究에 이어 효과적인 菌體回收 및 精製方法을 究明코져 emulsion 의 性質을 살폈고, 그 破壞方法과 溶媒處理에 관한 몇 가지 知見을 얻었으므로 이를 報告하며 아울러 실험실에서 製造한 試製品을 사용한 豫備 動物飼育試驗에 대해서도 記述하고자 한다.

實驗方法

菌體의 培養 : *Candida tropicalis* KIST 351 을 사용하여 28 l Microferm 에서 前報⁽²⁾와 동일한 방법으로 30 시간 배양한 菌體培養液으로 回收, 精製실험을 순차적으로 행하였다.

菌體의 回收 : 20 l 병에 菌체배양액 10 l를 注入한 다음 靜置하여 수용액층과 菌體 cream 층의 분리상태를 經時的으로 관찰하고 분리된 各층의 組成을 검토하였다. 이와같이 분리된 菌體 cream 10 ml를 100 ml Erlenmeyer flask 에 注入하고 界面活性劑 및 電解質溶液을 各々 適當한 濃도로 첨가한 후 N-NaOH 로 pH 9 로 調整한 다음 rotary shaker 에서 15 분간 교반하였다. 교반종료후 Sorvall 원심분리기(RC-2B)로 5000×g에서 10분간 원심분리하여 遠沈된 菌體의 packed volume 으로 emulsion 에서 분리된 菌體量을 측정하였다.

菌體의 精製 : 원심분리된 菌體 cream 에 60°C 의 水道水 또는 0.3%의 界面活性劑를 첨가한 溫水를 同量 내지 그 倍量 가한 다음 10분간 강력히 교반하여 원심분리하였다. 이와같은 조작을 3~4회 반복하여 菌體를 세척한 후 回收된 濕한 菌體와 이를 60°C에서 진공건조시키고 분쇄한 乾燥菌體를 各々 baffle 이 달린 1 l 삼각플라스크에서 교반하면서 아세톤과 hexane 등 數種의 용매로 추출을 행하였다.

動物飼育試驗 : A 및 B試製品은 乾燥菌體를 前述한바와 동일방법으로 hexane-ethyl alcohol 共沸混合物로 各々 3회 및 5회 抽出한 것이며, C試製品은 습한 菌體

를 아세톤으로 1차 抽出한 다음 상기 共沸混合物로 2회 抽出한 것이다. 試製品의 일반조성과 아미노산조성은 前報⁽²⁾에 밝힌바 있다. 試驗動物로는 일반 부화장에서 구입한 Rhode island red(우)와 White cornish(송)의 F₁ 초생추 72수를 사용하였으며 試驗飼料의 配合率은 표 1과 같다. 飼育試驗은 當研究所 實驗鷄舍에서 4주간 실시하였으며 시험 말기에 2일간 代謝試驗을 실시하였다. 增體量, 飼料攝取率 및 飼料効率は 前報⁽¹⁾와 동일방법으로 측정하였으며 窒素蓄積率은 攝取窒素量에서 總排泄窒素量을 빼고 이를 總窒素攝取量으로 나누어 百分率로 나타내었으며 back fat 含量은 Moran 등⁽³⁾의 방법으로 구하였다. 肝중량은 試驗終了後에 各 처리별로 임의로 3首씩을 선택하여 도살 후 肝을 채취하여 100°C에서 건조시켜 恒量을 구하여 이것을 生體重量 100g 당의 肝중량으로 나타내어 비교하였다.

표 1. Formulation of experimental diets

Unit : %

Ingredient	Cont- rol	A		B		C	
		5	5	3	5	8	
SCP	0	5.0	5.0	3.0	5.0	8.0	
Fish meal	8.0	3.0	3.0	5.0	3.0	0.0	
Soybean meal	19.0	19.5	19.5	19.0	19.5	20.0	
Perilla meal	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	
Wheat meal	7.1	5.6	5.6	6.5	5.6	4.5	
Yellow corn	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	
Oyster shell	1.1	1.0	1.0	1.1	1.0	1.6	
D.C.P.	0.7	1.8	1.8	1.3	1.8	1.8	
NaCl	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	
Vitaton ⁽¹⁾	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
TM10 ⁽²⁾	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
DL-methionine	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	

(1) Vitamin and mineral mixture

(2) Antibiotics

實驗結果 및 考察

가. 菌體 cream 의 分離

일반적으로 醱酵培養液으로부터 菌體를 回收하기 위하여 그 첫단계로 遠心分離 또는 濾過를 행한다. 그러나 輕油를 基質로 한 石油炭化水素醱酵에서는 菌體는 未資化輕油 나 培地등으로 안정한 emulsion 을 형성하여 菌體의 걸르기 比重이 감소되므로 靜置하여 上層에서 농축된 菌體 cream 을 우선 回收할 수 있다.

그림 1에 菌體 cream의 분리상태를 圖示하였다. 최초 10분간에 cream의 분리속도가 빠르며 30분만에 분리가 거의 終了된다. 이때 菌體 cream層의 固體含量은 乾量으로 평균 5.6%였으며 발효액에서 流出되는 배양액의 菌體濃度 1.3%에 비하여 약 4배 농축된 셈이다. 한편 수용액 배지에 浮遊하여 있는 菌體濃度は 0.045%로서 無視할 정도였다. 그림 1에서 菌體 cream을 장시간 放置하였을 때 容積이 감소되는 현상은 cream層에 內包되어 있던 氣泡가 서서히 放出되기 때문이다.

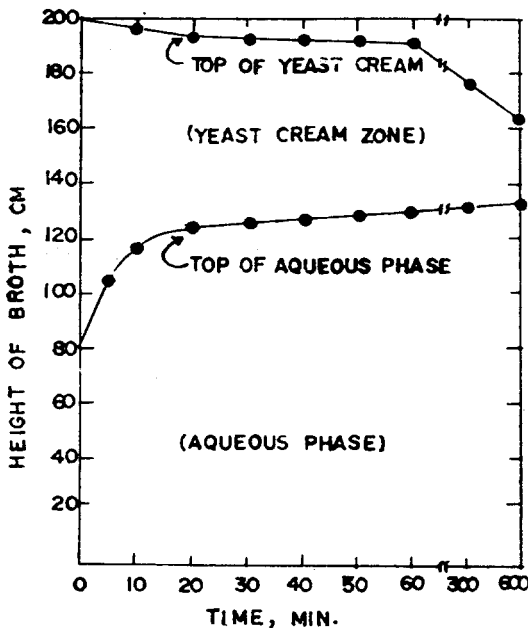


그림 1. Time dependent separation of the yeast cream from fermented broth

나. Emulsion의 性質

일반적으로 효모의 직경은 5 μ이며 비중은 1.07~1.08⁽⁴⁾로서 배양액과의 비중차가 적어서 상당한 遠心力을 가하여야만 비로소 분리할 수 있다. 炭化水素醱酵에서는 菌體는 油滴과 직접적인 접촉에 의하여 炭化水素를 資化하므로 炭化水素 資化酵母의 oil에 대한 親和力과 emulsion의 형성은 生育의 중요 因子이나 한편 菌體의 回收工程에서는 油滴에 부착된 酵母에 의하여 油滴의 凝集이 방해되며, 菌體의 乾物比중이 감소되므로 遠心力場에서의 菌體分離가 매우 곤란하다. 이와같은 菌體 emulsion의 형성 機構를 알기 위해서는 酵母細胞壁의 구조를 명확히 알아야 하나 현재까지 그 구조는 명확히 究明되지 못하였으며 단지 Roberston의 lipid bilayer model과 Green의 lipid-protein complex model이 제안되어 있을 뿐이고 細胞壁의 脂質은 磷脂質과

bimodal lipid로 구성되어 있다 한다.⁽⁵⁾ Mimura등⁽⁶⁾은 炭化水素資化酵母 *Candida petrophilum*에서 강력한 乳化力을 갖는 脂質을 추출하여 磷脂質임을 推定한 바 있는데 磷脂質은 강력한 乳化劑이다. 뿐만 아니라 일반적으로 炭化水素資化酵母는 炭水化合物로부터 생산된 효모보다 지방함량이 높으며, Munk등⁽⁷⁾은 菌體에 지방이 많이 함유되어 있을수록 菌體의 乳化力이 우수하다고 하였다. 이와같은 사실들로 미루어 볼때 炭化水素資化酵母가 油滴에 부착하여 emulsion을 형성하는 데는 어떤 종류의 親油性脂質이 작용하며 이와같은 脂質의 축적으로 oil에 강력한 親和力을 갖는 것으로 생각된다.

Shivastava등⁽⁸⁾의 발표한 바에 의하면 炭化水素資化菌은 물·油의 界面張力を 현저히 저하시킨다고 하였다. 이와같이 界面張力を 저하시키는 능력에 의하여 炭化水素資化菌자체가 乳化劑의 역할을 하여 o/w emulsion을 형성하게 되는데, 이때 酵母의 작용은 微粒固體乳化劑에 비유할 수 있을 것이다. Pickering⁽⁹⁾에 의하면 固體乳化劑에 의하여 o/w emulsion이 형성될 基本條件으로서 固體는 oil에 보다 물에 의하여 쉽게 젖어야 한다고 하였다.

즉 固體가 둘 혹은 oil相에만 分散되어 있으면 乳化劑의 역할을 할 수 없으며 固體가 液液界面에 集合되어 있어야 하며 固體粒子的 대부분은 水溶液相과 접하고 일부만이 oil과 접하여야 한다. 顯微鏡下에서 菌體 cream을 관찰하여 보면, 菌體粒자는 連續相인 배지와 접하고 단지 일부만이 oil과 접하고 있는 상태를 용이하게 관찰할 수 있으며 그 결과 界面面積이 최소가 되어 안정한 emulsion이 형성된다.

다. Emulsion의 破壞

前述한 바와 같이 炭化水素化酵母는 안정한 emulsion을 형성하므로 배양액으로부터 菌體와 oil을 回收하기 위해서는 emulsion을 파괴하지 않으면 안된다. emulsion을 파괴하는 방법으로서는 界面活性劑 및 電解質溶液의 添加,^(10,11) 溶媒處理⁽¹²⁻¹⁵⁾, 凍結 및 熱處理⁽¹⁶⁾ 등이 제안되어 있다.

1. pH 및 溫度의 影響

菌體 cream의 pH에 따른 emulsion의 안정성을 조사하였는데 그림 2를 살펴보면 pH 9에서 분리가 양호하였다. 이는 Champagnet⁽¹⁴⁾과 Shivastava등⁽⁸⁾의 報告와 일치되는 결과로서 강알칼리성에서 비교적 emulsion이 불안정하다는 것을 시사하고 있다.

한편 온도에 의한 영향을 살펴보면(그림 3) -20°C에서 24시간 凍結시킨 후 원심분리하면 80%의 菌體가 분리되었다. 이는 酵母菌體 및 물의 凍結溫度의 차에 의하여 凍結過程에서 상호간에 界面張力이 변하여 emulsion이 파괴된 것으로 생각된다. 또한 100°C에서 10

분간 가열한 후 원심 분리하면 약 60%의 菌體가 분리되었으며 이와같은 현상은 酵母에 의하여 생성된 界面活性物質의 分解 및 菌體蛋白質의 凝固 등에 의하여 emulsion 이 파괴된 것이 아닌가 생각된다. 遠藤⁽¹⁵⁾은 加壓加熱에 의한 방법을 제안한 바 있으나 본실험에서는 經濟的인 菌體生産을 목적으로 하므로 이에 대해서는 고려하지 않았다.

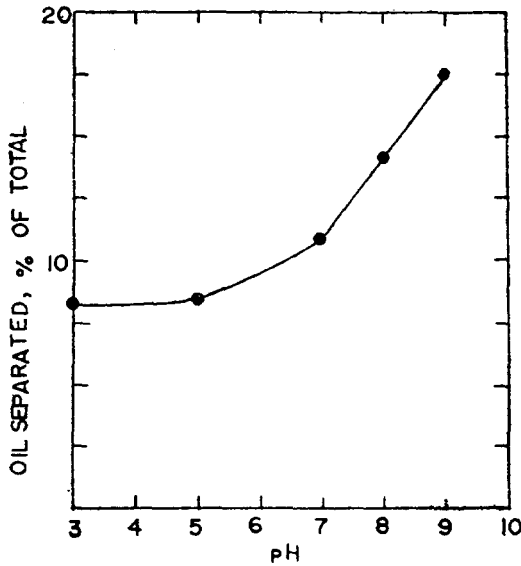


그림 2. Separation of oil from water-cell-oil emulsion at different pH

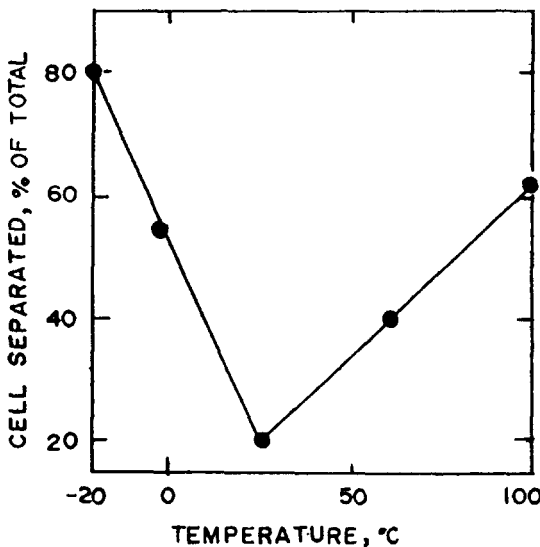


그림 3. Effect of temperature on the separation of yeast cells from water-cell-oil emulsion

2. 界面活性劑의 添加

界面活性劑의 處理에 의한 菌體 emulsion 의 파괴는 여러 연구자들에 의하여 제안되었다. 界面活性劑로는 陽 ion, 陰 ion 및 非 ion 性인 것을 사용할 수 있겠으나 飼料 나아가서는 食用을 目的으로 菌體를 生産하느니 만큼 食用界面活性劑를 사용하는 것이 바람직하다. 국내에서 생산되는 15종의 食用界面活性劑를 사용하여 pH를 변화시키면서 菌體 emulsion 의 파괴를 시험하였는데, 표 2에서 보는 바와 같이 대체로 pH 9에서 분리 효과가 우수하였으며, 이는 前述한 바의 pH 9 이상의 强알칼리성에서 emulsion 이 불안정하다는 것과 일치되는 결과이다. 이들 界面活性劑 중에 트리오, Monogly S-7 및 G-4(商品名)는 pH 9에서 약 90%의 菌體가 분리되었으며, 특히 트리오가 우수하였다. 대표적으로 트리오 添加量에 대한 영향을 검토해본 결과 표 3에서 보는 바와 같이 0.3% 이상이면 충분하였으며 원심력을 5,000×g에서 10,000×g까지 상승시켜 보았으나 분리 효과는 상승되지 않았다. Champagnet등⁽¹³⁾은 온도를 60~90°C로 상승시키므로 界面活性劑의 사용량을 줄일 수 있을 것이라고 하였으나 트리오를 첨가하였을 때는 온도를 상승시키기에 따라 오히려 역효과를 나타내었다.

표 2. Effect of surfactants on the separation of yeast cells from the emulsion at different pH.

Surfactants, %	pH					
	4	5	6	7	8	9
Control	20 ⁽¹⁾	20 ⁽¹⁾	20 ⁽¹⁾	20 ⁽¹⁾	20	30 ⁽¹⁾
Trio ⁽²⁾	20	30	40	50	90	90
Tonio ⁽³⁾	30	—	60	—	—	85
Tween 20 ⁽⁴⁾	40	50	60	80	80	60
Tween 60 ⁽⁴⁾	30	30	30	50	50	60
Tween 80 ⁽⁴⁾	50	50	50	50	50	60
Span 60 ⁽⁴⁾	30	40	40	40	50	70
Span 80 ⁽⁴⁾	70	70	50	30	30	30
Spasol ⁽⁵⁾	80	80	80	80	70	70
Meltose ⁽⁵⁾	80	80	80	70	70	70
Sorpan ⁽⁵⁾	80	80	80	80	80	80
Aldo ⁽⁵⁾	80	80	80	80	80	90
Polyege ⁽⁵⁾	60	60	60	60	60	60
Monogly S-7 ⁽⁵⁾	80	80	80	80	80	90
Monogly G-4 ⁽⁵⁾	80	80	80	80	80	80
Monogly S-5 ⁽⁵⁾	80	80	80	80	80	80
Monogly O-7 ⁽⁵⁾	70	70	70	70	70	70

(1) Cell separated, % of total
 (2) 애경유지 주식회사 상품명
 (3) 극동상사 상품명
 (4) 남영상사 상품명
 (5) 삼풍수지 상품명

표 3. Effect of surfactant (Trio) concentration on the separation of yeast cells from the emulsion at pH 9

	Concentration of Trio, %.						
	0.01	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Cells separated, % of total	20	30	30	80	90	90	90

3. 電解質의 影響

Emulsion 을 파괴하기 위하여 多價 ion 鹽을 사용한다는 것은 널리 알려진 사실이며, 그리고 hydrocolloid 및 高分子電解質이 많이 개발되어 凝集劑로 사용되고 있다. 高分子凝集劑를 이용한 菌體回收에 관해서는 Gasner 및 Wang⁽¹⁷⁾이 50여종에 대하여 연구한 바 있다. 본 연구에서는 흔히 사용되는 몇 가지에 電解質 대하여 검토하였다. 표 4를 살펴보면 NaCl, KCl 등 할로젠화알칼리금속염의 효과가 우수하였다. 이와 같은 할로젠화알칼리금속염과 界面活性劑를 혼합하여 사용한 결과, 분리효과는 다소 상승하여 90% 이상의 菌體가 분리되었다. 이로 미루어 볼 때 界面活性劑溶液에 海水를 적당량 섞어 菌體 cream 을 처리하면 양호하게 菌體를 회수할 수 있을 것으로 생각된다. Cresol 을 0.5% 이상 첨가했을 때 Shivastava 등⁽⁸⁾이 밝힌바와 같이 菌體는 즉시 凝集되어 침전되는 것이 관찰되었다. 일반적으로 菌體의 表面은 陰 ion 荷電을 띠고 있으나 배지 중의 과량의 陽 ion 이 表面에 吸着되어 결과적으로 陽 ion 의 성질을 갖이게 되며⁽¹⁷⁾ 여기에 極性基가 吸着되어 emulsion 이 파괴되는 것으로 생각된다.

이외에 菌體 cream 을 진공건조시키는 도중 수분이 증발됨에 따라 相反轉이 일어나 다량의 oil 이 분리되는 것이 관찰되었으며 또한 배양조건에 따라 균체의 분리

표 4. Effect of electrolytes on the separation of cells from the emulsion

	% of separated cell			
	Dose, N			
	0.02	0.05	0.2	1
NaCl	20	80	80	—
KCl	30	70	80	—
Al ₂ (SO ₄) ₃	30	40	50	—
MgCl ₂	20	30	50	—
ZnSO ₄	40	50	60	—
CaCl ₂	10	20	40	—
Iso-propyl alcohol	—	—	—	80
n-Butyl alcohol	—	—	—	90
o-Cresol	—	—	—	90

정도에 상당한 차이점이 발견되었다. 이상의 방법으로 菌體 cream 의 emulsion 을 파괴하고 원심분리한 cream 의 組成은 菌體 22%, oil 10.5% 및 수분 67.5%였다. 상술한바의 실험결과를 바탕으로 經濟的인 菌體分離方法은 試驗工場規模의 연구를 통해서 앞으로 구체적으로 진행될 것이다.

라. 菌體의 精製

精製炭化水素를 基質로 사용했을 때 菌體에 殘留하는 炭化水素는 일반적으로 0.1% 내외에 불과하나 輕油를 基質로 했을 때는 未資化輕油의 상당량이 菌體에 부착되어 있다. 즉 표 5에서 보는 바와같이 溫水로 3회 세척한 濕한 菌體에는 12.5%, 乾燥製品에는 43%의 oil 이 含有되어 있다. 따라서 菌體蛋白質을 飼料로서 안전하게 사용하기 위해서는 菌體에 吸着되어 있는 殘留成分을 有機溶媒로 가능한 한 제거하여야 하는데 이 工程은 菌體蛋白質의 安全性 및 經濟性에 크게 영향을 주게 된다.

표 5. Composition of yeast cell samples subjected solvent extraction.

	Wet yeast cream	Dried yeast cream
Cell, %	17.5	52.3
Moisture, %	70.0	4.7
Oil, %	12.5	43.0
g Oil/g dry inert solid	0.714	0.822

菌體의 溶媒處理는 濕한 菌體를 바로 溶媒로 抽出하는 방법과 菌體를 일단 乾燥시킨 다음 抽出하는 두 방법이 있을 수 있다. 습한 菌體의 抽出은 1 차로 極性溶媒를 사용하여 대부분의 수분과 약간의 菌體지방을 제거하므로써 다음 단계의 抽出效率을 높일 필요가 있다. Acetone, ethyl alcohol 및 iso-propyl alcohol 등의 極性溶媒를 사용했을 때 iso-propyl alcohol 이 월등히 우수하였으며 cream 對 溶媒 비율은 1:5가 적합하였고 이때 약 90%의 oil 이 抽出되었다.(그림 4)

한편 乾燥菌體를 極性 및 非極性溶媒와 이들의 共沸混合物로 抽出한 결과는 표 6과 같으며 역시 iso-propyl alcohol 이 가장 우수하였다. 그러나 이와같이 alcohol 단독보다는 hexane 과의 共沸混合物를 사용하면 抽出效率은 다소 저하되나 沸點이 낮으므로 經濟的일 것이다. Hexane 으로 抽出했을 때는 ethyl ether 不溶性物質이 없었으나 alcohol 을 사용했을 때는 ethyl ether 不溶性物質이 3~7%나 되어 이는 菌體지방 뿐만 아니라 lipoprotein 이 일부 동시에 抽出된 것이 아닌가 짐작된다. Hexane-ethyl alcohol 共沸混合物를 사용한 抽出結果는

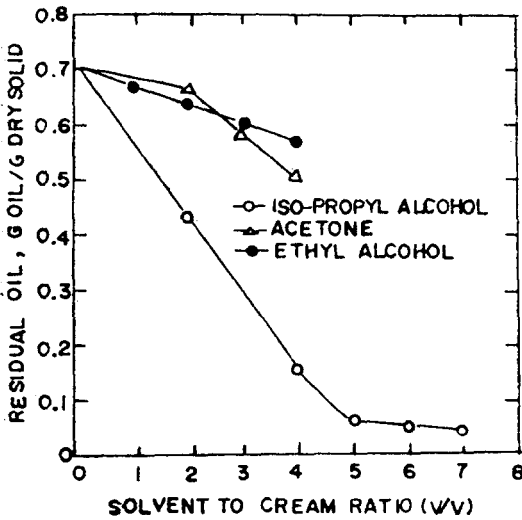


그림 4. Residual oil on yeast cells after different solvent extraction

그림 5에서 보는 바와같이 抽出時間은 30분 菌體 對 溶媒比率은 1:3이 적합하였으며 吸入濾過한 후 酵母 cake에 殘留하는 miscella의 농도는 약 50%였다.

표 6. Percent of residual oil on the yeast cells and total extracted oil after different solvent extraction

Solvents	Residual oil g.oil/g. dry inert solid	extracted oil	
		% of total	% of total
Acetone	0.253	69.2	
Ethyl alcohol	0.264	67.8	
Iso-propyl alcohol	0.164	88.0	
Hexane	0.190	76.8	
Petroleum ether	0.307	62.6	
Ethyl alcohol-hexane (1:4.5)	0.190	76.9	
Iso-propyl alcohol-hexane (1:4)	0.194	76.4	
Acetone-petroleum ether (3:1)	0.317	61.4	

마. 豫備動物飼育試驗

菌體蛋白質飼料의 사양시험 결과는 표 7과 같다. A, B, C의 세가지 처리를 동일한 5% 添加水準에서 비교한 결과, B 처리의 경우가 가장 우수하여 이 경우에는 對 照區보다도 3.3% 정도의 더 좋은 增體를 보였다. 增體量은 모든 처리간에 有意性이 나타나지 않았는데 이것은 個體차이가 심하기 때문이다. C 처리의 사료에서 添加水準間의 비교는 添加量이 많아질수록 增體量은 不良하여 졌으나 역시 統計的인 有意性은 없었다. 飼料効

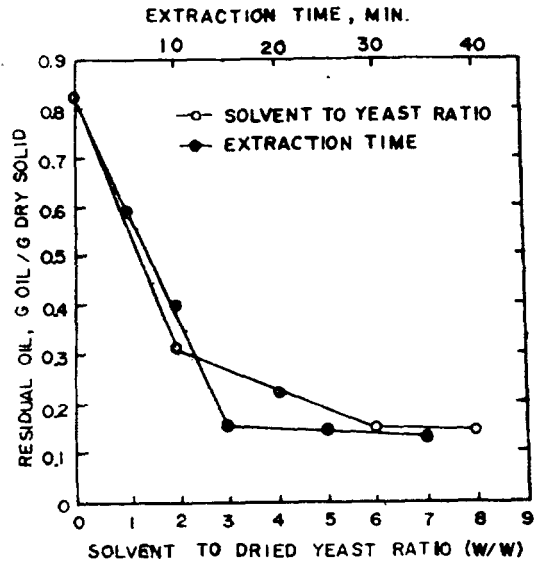


그림 5. Effect of solvent to dried yeast ratio and extraction time on residual oil

표 7. Chick responses to the dietary inclusion of S.C.P.

Treatment	Control	Single-Cell Protein				
		A		C		
		5%	5%	3%	5%	8%
Body gain, g	366.3	348.1	377.5	378.4	350.8	338.6
% of control	100.0	95.0	103.0	103.3	95.8	92.4
Feed-intake, g	701	708	768	774	666	713
Feed-efficiency	1.91	2.03	2.03	2.05	1.90	2.10
N-retention, %	71.1	53.8	61.0	60.6	61.0	57.7
Back fat, %	63.1	61.4	—	69.1	72.2	61.7
Liver weight, g	0.694	0.763*	—	0.826*	0.762*	0.911*
Mortality, %	0	16.7	16.7	8.3	16.7	8.3

*p<0.05

**p<0.01

率은 대체로 비슷하나 C 처리의 8% 水準에서 不良하게 나타났다. 폐사수는 각 처리의 5% 水準에서 각각 2마리씩 나타났다. 이는 弱雛의 발생으로 인한 것이며 시험후기에는 폐사가 나타나지 않은 것으로 보아, C 처리의 8% 水準에서 1마리만 폐사된 것으로 보아 이와 같은 폐사율이 이 蛋白質飼料 때문이라고 보기는 어렵다. 代謝試驗을 통하여 조사한 窒素蓄積率과 back skin의 조지방 함량을 조사한 결과도 표 7에서 보는 바와 같

다. 窒素蓄積率は 對照區가 가장 우수하며 A 처리구가 不良하였다. 다음이 C 처리구의 8% 水準區였다. Back fat 함량에 있어서도 이와같은 경향을 보였는데 이를 統計分析한 결과 각 처리간에 有意性이 나타나지 않았다. 한편 간의 乾物重量을 體重 100g 當으로 측정한 결과를 Duncan's multiple range test¹⁸로 統計分析한 결과 各處理區는 對照區에 비하여 $p < 0.05$ 에서의 有意性을 가지고 더 무거운 것으로 나타났으며 특히 C 處理의 8%區는 다른 處理區에 비하여 高度의 有意性으로서 ($p < 0.01$) 더 무거운 것이 인정되었으나 肉眼的으로는 對照區에 비하여 어떤 차이를 발견할 수 없었으며 이에 대하여서는 앞으로 더 세밀한 연구가 필요하다고 본다. 本試驗은 菌體蛋白質飼料의 초생추에 대한 飼料的 利用性을 調査하였으나 前報⁽¹⁾에서와 마찬가지로 豫備的 段階에 지나지 않는다. 이제 試驗工場이 완료되었으므로 금년 하반기부터는 비교적 대규모의 장기적인 飼育試驗을 實施하여 상세한 시험결과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

要 約

輕油를 基質로 한 石油炭化水素醱酵液으로부터 効果的으로 菌體를 回收, 精製하기 위한 몇가지 知見과 豫備動物飼育試驗결과를 要約하면 다음과 같다.

- 1) 醱酵培養液으로부터 菌體 cream의 靜置分離는 30분만에 終了되며 이때 cream의 菌體濃度는 5.6%였다.
- 2) pH 9 이상의 강알칼리성에서 菌體 emulsion은 不安定하였으며 熱處理, 凍結에 의하여 emulsion으로부터 60~80%의 菌體를 分離할 수 있었다.
- 3) Emulsion 破壞를 위한 食用界面活性劑로는 트리오가 가장 우수하였으며 그 적합한 濃度는 0.3%였다. 이외에 Aldo, Monogly 5-7 및 G-4도 有效하였다.
- 4) NaCl, KCl 등의 할로겐 화알칼리금속염이 菌體 emulsion 破壞에 우수하였으며 트리오와 같은 界面活性劑와 混合하여 사용하므로써 90% 이상의 菌體를 分離할 수 있었다.
- 5) 乾燥半製品을 hexane-ethyl alcohol 및 iso-propyl alcohol의 共沸混合物로 抽出하는 것이 가장 期待되는

菌體의 精製方法이며 抽出溫度는 58°C, 抽出時間은 30分, 菌體 對 溶媒比率는 1:3이 적합하였다.

6) 菌體蛋白質의 사양실험결과 魚粕과 5% 代替한 水準에서는 對照區보다 3.3%의 더 좋은 增體를 보였으나 8% 代替區는 다른 처리구에 비하여 肝중량이 더 무거운 것이 인정되었다.

9종의 食用계면활성제를 분양하여 주신 삼동수제대 표 지성규氏에게 심심한 사의를 표하는 바이다.

引 用 文 獻

- 1) 변유량, 권태완 : 한국미생물학회지, 9, 5 (1971).
- 2) 이용현, 변유량, 권태완 : 한국식품과학회지, 4, 200, (1972).
- 3) A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis* (10th. ed.), Washington D.C. (1965).
- 4) 石油醱酵研究會編 : 石油醱酵, 辛書房, 東京 (1970).
- 5) Annon: *C & E N*, 40 (1970, May 25).
- 6) Mimura, A., Watanabe, S. and Takeda, I.: *J. Ferment. Technol.*, 49, 255 (1971).
- 7) Munk, V., Dostilek, M. and Volfova, O.: *Biotech. & Bioeng.*, 11, 383 (1969).
- 8) Shivastava, S. P., Singh, H. D. Baruah, J. N., Krisma, P. V. and Iyanger, M. S.: *J. Appl. Chem.*, 20, 105 (1970).
- 9) Pickering, S. U.: *J. Soc. Chem. Ind.*, 29, 129(1910).
- 10) 日本特許: 昭 46-5037.
- 11) 日本特許: 昭 45-35233.
- 12) 日本特許: 昭 46-37862.
- 13) 日本特許: U.S. Patent: 3,186,922 (1962).
- 14) 日本特許: 昭 46-37856.
- 15) 日本特許: 昭 45-35233.
- 16) 日本特許: 昭 46-37864.
- 17) Gasner, L. L. and Wang, D. C.: *Biotech. & Bioeng.*, 12, 873 (1970).
- 18) 李台現 : 實驗生物統計學, 文運堂 (1963).