

L-Glutamic acid 醱酵生産에 관한 研究(第一報)

切干고구마 酸分解液을 利用한 L-Glutamic acid 生産

梁 漢 喆·崔 瑢 鎮·梁 漢 宇·成 河 珍
高麗大農科大學 食品工學科

Studies on the L-Glutamic acid Fermentation(Part I)

L-Glutamic acid Production from the Hydrolyzate of Sliced and Dried Sweet Potatoes

Han-Chul Yang, Yong-Jin Choi, Han Woo Yang, Ha-Chin Sung
College of Agriculture, Korea University.

(Received November 29 1974)

Abstract

The possibilities of utilizing acid-hydrolyzate of "Sliced and dried sweet potatoes" as a carbon source for the microbial production of L-Glutamic Acid(L-GA) with *Micrococcus glutamicus* were investigated and the results showed as follows:

1) The highest hydrolysis rate, 74.6% of the reducing sugar based on the weight of dry matter, was obtained when the sweet potatoes were hydrolyzed with 0.8% of HCl at 2.0kg/cm² for 30 minutes.

The most favorable hydrolyzate for the growth of the cells, however, was found to be the one obtained by treating the sweet potatoes with 0.5% HCl at 2.0kg/cm² for 10 minutes. Reducing sugar content of the hydrolyzate was 10% as glucose.

2) Biotin content of the hydrolyzate was 25μg/l and it was proved to be excess in amount for the L-GA production.

3) The effects of addition of antibiotics, alcohols and fatty acid esters on the L-GA production were tested in the biotin excess medium.

The production of L-GA was most increased to 32.5g/l with the addition of 10 I. U. of penicillin per ml. to the culture medium at 4 hours after inoculation.

But the addition of alcohols, especially fatty acid esters, showed no significant effects.

4) Among the organic nutrients tested, "Gluten acid hydrolyzate" greatly enhanced the production of L-GA adding its concentration of 1.0% to the medium.

5) The maximum production of L-GA resulted in 35g/l when the cells were grown for 48 hours in the hydrolyzate medium supplemented with 1.0% of "Gluten acid hydrolyzate" and with 10 I. U. of penicillin per ml added at 4 hours after cultivation.

I. 緒 論

L-Glutamic acid (L-GA) 醱酵生産에 있어서 L-GA 生産菌은^{1~4)} 거의 모두가 生育必須因子로서

biotin 을 要求하고 있으나 培地中 biotin 含量이 過量이면 菌體增殖은 旺盛한데 비해 L-GA 生産量은 현저히 감소된다는 것은 過去 많은 研究報告^{5~8)}에 依해 이미 잘 알려진 事實이다.

따라서 L-GA 醱酵生産의 糖質原料로서 現在 各

國에서 널리 이용되고 있는 甘蔗糖密(Cane Molasses), 甜菜糖密(Beet Molasses)^{9~10)} 등은 一般的으로 極히 過量的 biotin 을 含有하고 있어서 이에 對한 對策으로 各種 抗生物質^{11~15)}, alcohol 類^{16~18)} 및 脂肪酸 ester 類^{19~23)} 등을 培養液에 添加함으로써 L-GA 生産量을 增加시키는 많은 研究報告가 있었다.

現在 우리나라에서도 L-GA 의 工業的 生産에 糖密을 糖質原料로 利用하고 있음으로 "Penicillin 添加法"²⁴⁾에 依해 L-GA 를 生産하고 있는 實情이나 高價의 糖密原料供給이 앞으로 더욱 곤란 할 것이 豫想되어 本研究에서는 糖密에 對한 原料 代替目的으로 國內에서 生産되는 原料인 切干고구마의 酸糖化液 利用可能性에 關한 基礎研究로서 우선 切干고구마 酸糖化條件과 Biotin 定量 結果 酸糖化液中에도 역시 Biotin이 過量 含有되어 있어서 各種 抗生物質, alcohol 類 및 脂肪酸 ester 類 등의 添加效果와 아울러 몇 가지 培養條件을 檢討한 結果를 報告하고자 한다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

試料인 切干고구마는 眞露酒造株式會社에서 求하였으며 그 一般成分은 Table 1. 과 같다.

Table 1. General Composition of Sliced and Dried Sweet Potatoes.

Moisture	9.16%
Crude Protein	3.73%
Crude Fat	0.71%
Crude Fiber	2.23%
N-free ex.	81.58%
Ash	2.59%

2. 使用菌株 및 基本培地組成

L-GA 酸酵生産의 試驗菌株로는 高麗大學校 食品工學科 保存 *Micrococcus glutamicus* 를 使用하였으며 本菌株의 培養基本培地組成은 Table 2. 와 같다.

Table 2. Composition of Basal Medium.

Casamino acid	0.05%
Inorganic salts; KH ₂ PO ₄	0.1%

MgSO ₄ 7H ₂ O	0.04%
Fe	2ppm
Mn	2ppm
Thiamine	200 γ /ml
Urea*	2%
Hydrolyzate**	1000ml
pH	7.0

* Initial: 1%

After 24 hours incubation: 1%

** Hydrolyzate was equivalent to 10% of Glucose

III. 實驗方法

1) 切干고구마의 一般成分 分析

水分, 粗灰分, 粗脂肪 및 粗纖維는 常法²⁵⁾에 따라 定量하였으며 粗蛋白質은 Kjeldahl法²⁶⁾으로 定量하였다.

2) 酸糖化法

加水分解劑로는 鹽酸을 使用하였으며 鹽酸을 濃度別로 切干고구마 粉末에 對해 5倍量(V/W) 加하고 autoclave를 使用, 壓力 및 時間을 달리하여 加水分解시켜 糖化하였다.

3) 糖化率 測定

濾過, 中和한 糖化液一定量을 取하여 Beretland 法으로 還元糖을 定量한 다음, Glucose量으로 換算하여 原料에 對한 重量比를 %로 表示하였다.

4) 接種

保存菌—白金耳를 Beef extract 1.0%, peptone 0.5%, sodium chloride 0.5%, glucose 0.5% 및 urea 0.5% (pH7.0)의 組成으로 된 液體培地^{27, 28)} 50ml에 接種하고 30°C에서 24시간 진탕培養한 前培養液을 30ml의 本培養培地에 1.0ml씩 注射하여 接種하였다.

5) 培養 및 菌體增殖量 測定

基本培地 30ml 를 500ml容 진탕 flask에 分注, 120°C에서 5分間 加壓殺菌한 다음 接種하고 30°C에서 48시간 진탕培養(120r. p. m. 진폭 7cm)하였다.

菌體 增殖量은 Spectrophotometer (Shimazu Model-QV-50)를 使用하여 660 μ 에서의 Optical density로 表示하였다.

6) L-GA 定量

酸酵液中的 L-GA測定은 L-GA가 不溶性의 磷酸銅鹽과 反應하여 定量的으로 生成하는 靑色의 水溶性인 分子內 錯化合物을 620 μ 에서의 Optical Density를 測定함으로써 L-GA를 신속 간편하게 定

量할수 있는 銅錯鹽에 의한 比色定量方法²⁹⁾을 주로 利用하였으며 必要에 따라 paper chromatography에 의한 定量方法³⁰⁾을 使用하여 比較分析하였다.

Fig. 1은 上記比色定量法에 의해 얻어진 L-GA의 標準曲線이다.

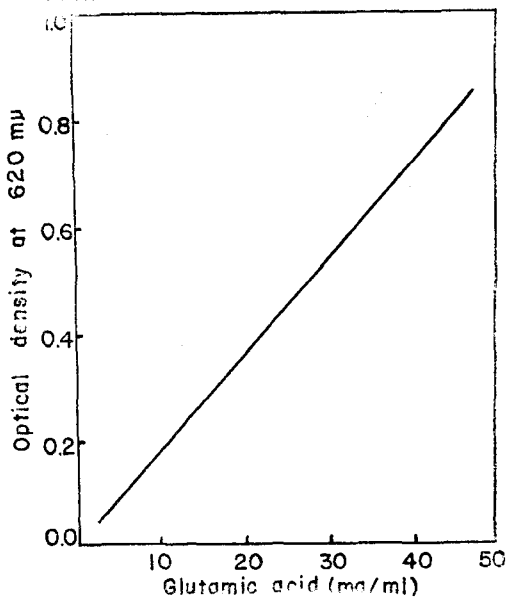


Fig. 1. Standard Curve of L-Glutamic Acid by Photometry

7) Biotin 定量

L. D. Wright의 간편 tube method²¹⁾에 따라 *Lactobacillus plantarum*을 試驗菌株로 使用하여 Biotin을 bioassay하였다. 즉 *Lactobacillus plantarum* 培養基基礎培地 4.0ml에 試料液(切干 고구마 酸分解液)이 浸漬된 pulp disc(dia. 6.0mm)를 넣고 115°C에서 5分間 加壓 殺菌後 菌體懸탁液 一滴을 加해 接種, 37°C에서 15時間 培養하여 얻은 培養液의 菌體 生育度를 610m μ 에서의 O. D.를 測

定하여 Biotin을 定量하였다.

Fig. 2.는 이 方法에 의해 얻은 biotin 標準曲線이다.

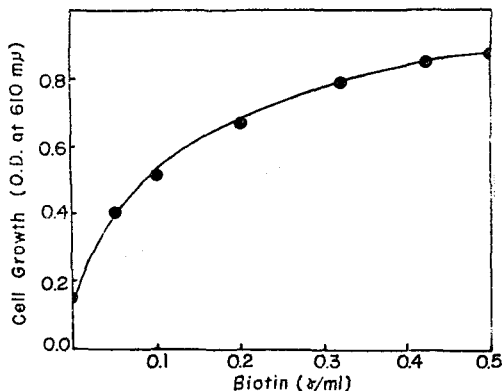


Fig. 2. Standard curve of Biotin by Bioassay

III. 結果 및 考察

1. 糖化條件 및 培養最適糖化液選定

鹽酸濃度, 加水分解時間 및 壓力등의 各各 다른 糖化條件下에서 切干고구마粉末을 加水分解시켜 그 最適糖化條件을 검토한 結果(Table 3.) 鹽酸濃度 0.8%, 壓力 2.0kg/cm²에서 30分間 加水分解시켰을 때 糖化率이 74.6%로서 가장 높았으며 이 보다 높은 酸濃度 및 壓力에서는 生成된 還元糖이 酸化分解³²⁾를 받음으로서 糖化率이 비교적 低下됨을 보이고 있는것 같다.

한편 菌體生育 最適 糖化液을 選定하기 위하여 糖化率이 가장 良好한 壓力條件 즉 2.0kg/cm²에서 酸濃度 및 加水分解時間을 달리 하였을 때 얻어진 糖化液을 各各 30ml씩 取해 여기에 基本培地 組成中 無機鹽만을 添加하고 培養試驗 해본 結果 (Table 4), 0.5%의 酸으로 20分 加水分解하여 얻

Table 3. Effect of Hydrochloric Acid Concentration, Pressure and Time on the Hydrolysis of Sliced and Dried Sweet Potatoes.

HCl(%)	Pressure (kg/cm ²)			1.0			1.5			2.0			2.5							
	Time(min)			10			20			30			10			20			30	
0.3	8.5	10.2	15.7	12.8	18.1	25.4	20.4	23.9	35.2	37.1	40.4	51.6								
0.5	16.8	21.4	40.6	32.3	35.7	62.4	45.8	52.2	72.8	60.6	68.1	73.5								
0.8	26.4	34.0	65.0	50.2	58.8	70.1	67.2	69.3	74.6	66.8	71.5	70.8								
1.0	36.5	48.2	70.2	52.4	60.2	74.4	67.8	70.1	73.9	67.5	67.3	60.8								

Hydrolysis rate (%)

Solid Liquid ratio of 1/5.

은 糖化液이 糖化率은 낮는데 비해 菌體增殖은 가장 良好한 結果를 나타내었다.

이는 Machevitstaya³³⁾ 등이 報告한 바와 같이 糖化液中的 微生物 生育억제 效果를 나타내는 糖의 酸化生成物인 Furfural 및 Formic acid 등의 含量에 기인되는 것으로 생각된다.

Table 4. Effect of HCl-Hydrolysis Conditions on the Growth of *Micrococcus glutamicus*.

Concentration of HCl (%)	Hydrolysis Time (min)		
	10	20	30
0.5	—	*0.450	0.260
0.8	0.20	0.12	0.19
1.0	0.26	0.08	0.14

Hydrolyzed under 2.0kg/cm² Pressure.

*O. D at 660m μ (after 48hrs. incubation at 30°C with reciprocal shaking)

2. 培地中の Biotin含量과 L-GA 生産

1) Glucose培地中 Biotin濃度와 L-GA生産量

供試菌인 *M. glutamicus*의 生育必須因子인 Biotin이 L-GA生産과 菌體增殖에 미치는 영향을 검토

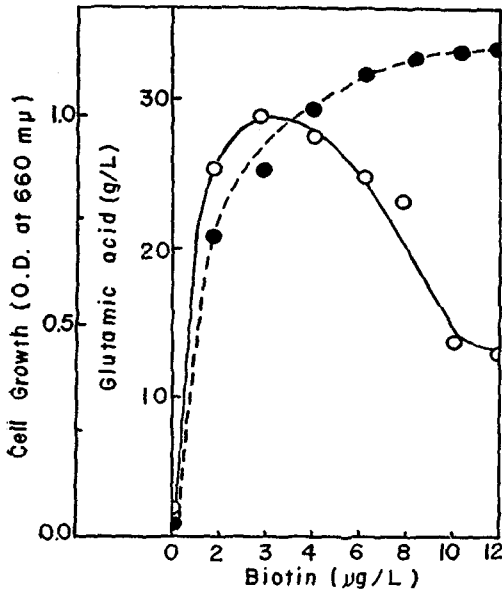


Fig. 3. Effect of Concentration of Biotin on the Production of L-Glutamic acid

○—○ Glutamic acid

●---● Cell Growth

Incubated with reciprocal shaking at 30°C for 48 hours.

하기 위해 基本培地組成中 酸糖化液代身 glucose 10%를 炭素源으로한 培地에 Biotin을 濃度別로 添加하여 그 效果를 檢討한 結果 Fig. 3.에 表示되어 있는 바와 같이 L-GA生産量은 培地中 Biotin濃도가 3~4µg/l일 때 最大値를 나타내었고 그 以上の 濃度에서는 현저히 감소되었다.

한편, 菌體增殖量은 Biotin첨가 濃도에 거의 比例的으로 增大됨을 보이고 있어 이와 같은 結果는 이미 잘 알려진 많은 研究者들의 報告^{5, 8, 33)}와 一致하고 있다.

2) 酸糖化液培地中 Biotin濃度の 영향

切干고구마 酸糖化液의 Biotin含量은 定量結果 25µg/l이었으며 이와 같은 Biotin濃도는 前項의 試驗結果와 비교하여 볼 때 현저한 過量이었다. 따라서 酸糖液을 炭素源으로 使用하면 菌體增殖은 活發하나 L-GA生産量은 極히 微微할 것이 예상되어 炭素源으로 酸糖化液과 10% glucose溶液을 一定比率로 混合하여 培地中 biotin濃度を 調節하였을 때의 醱酵結果는 Table 5와 같았다.

L-GA生産量은 酸糖化液과 10% glucose溶液을 7.5:42.5로 混合하였을 경우 즉 培地中 biotin濃도가 3.75µg/l일 때 最大値를 나타내었고 그 以上の 濃度에서는 生産量이 현저히 감소되어 炭素源으로 酸糖化液만을 (biotin含量, 25µg/l) 使用하였을 때는 L-GA生産量이 最大値의 1/4에 未達되는 極히 감소된 數値를 보였다.

Table 5. Effect of Biotin Concentration in Distributively mixed Hydrolyzate with Glucose Media on L-Glutamic acid Production.

Distributively mixed media		Biotin Content (µg/l)	L-Glutamic acid (g/l)
*Hydrolyzate (ml)	Glucose (10%)(ml)		
0	50.0	0	0.49
2.5	47.5	1.25	22.7
5	45.0	2.50	28.0
7.5	42.5	3.75	30.5
10	40.0	5.0	26.5
12.5	37.5	6.25	25.5
15	35.0	7.50	22.0
20	30.0	10.0	16.3
30	20.0	15.0	12.5
50	0	25.0	6.9

*Hydrolyzate was equivalent to 10% of Glucose.

Incubated with reciprocal shaking at 30°C for 48 hours

3. L-GA生産에 對한 抗生物質의 效果

1) 各種抗生物質의 첨가 效果

L-GA醱酵生産에 있어서 培地中 Biotin이 過量 含 有되어 있으면 L-GA生産量이 현저히 감소됨으로

서 L-GA生産量增大와 同時에 連續操作時 오염 可能性을 배제할 目的으로 市販 抗生物質을 培養6時 間 前後에 切干고구마 醱糖化液 培地에 濃度別로 添加하여 菌體生育 저해도와 生産量에 對한 영향 을 검토하여 Table 6과 같은 結果를 얻었다.

Table 6. Effect of Antibiotics on the Glutamic Acid Fermentation.

Antibiotics	Added concentration (I. U. /ml)					
	2		10		50	
	*C. G.	**L-GA	C. G.	L-GA	C. G.	L-GA
Penicillin	0.523	25.5	0.283	29.2	0.230	26.5
Kanamycin	0.642	16.8	0.629	19.0	0.583	21.7
Chloramphenicol	0.635	17.7	0.620	19.3	0.590	19.0
Oxytetracyclin	0.633	17.7	0.599	24.3	0.432	27.0
Ceporan	0.500	26.3	0.362	28.0	0.320	25.1
No addition	0.658	16.7				

*Cell Growth; O. D. at 660m μ after x20 dilution.

**L-Glutamic acid (g/l)

After 6 hours incubation, various concentrations of antibiotics were added to the medium. Incubated with reciprocal shaking at 30°C for 48 hours.

Table 6에 表示되어 있는 바와 같이 penicillin 10 I. U. /ml濃度로 添加하였을 때 L-GA生産量은 無添加時보다 약 倍量의 增大를 나타냄으로서 Penicillin이 가장 良好한 效果를 나타내었다.

2) Penicillin의 첨가 濃度 및 時間의 效果

各種 抗生物質中 가장 效果의이었던 penicillin의 添加濃度에 따른 L-GA生産效果를 검토한 結果 (Fig 4 참조) 10 I. U. /ml의 penicillin을 添加하였을 때 L-GA生産量이 最大值를 보였으며 그 以上의 濃度에서는 점차적으로 低下됨을 보였다.

또한 10 I. U. /ml의 Penicillin을 2時間 간격으로 培養液에 添加하여 添加時間에 따른 效果를 조사한 結果 Fig 5.에 表示되어 있는 바와 같이 L-GA生産量과 菌體增殖은 Penicillin添加時間에 따라 현저한 差를 보였으며, 培養開始後, 4時間째 添加하였을 때 L-GA生産이 32.5g/l로서 가장 높았다.

炭素源으로 糖蜜을 使用한 松尾¹²⁾등의 研究報告에 依하면 Penicillin을 培養開始後 6時間째 첨가할 때 가장 效果의이었던고 하였으나 切干고구마 醱糖化液을 使用한 本研究結果와는 약간의 差異를 보이고 있다.

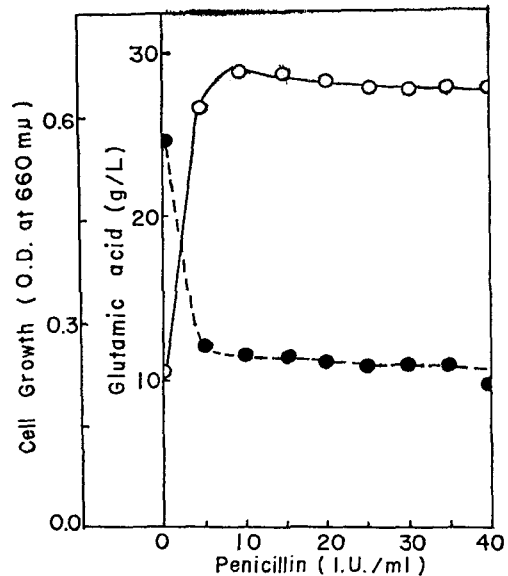


Fig. 4. Effect of Concentration of Biotin on the Production of L-Glutamic acid

○—○ Glutamic acid
●—● Cell Growth

After 6 hours incubation, various concentrations of penicillin were added to the medium. Incubated with reciprocal shaking at 30°C for 48 hours.

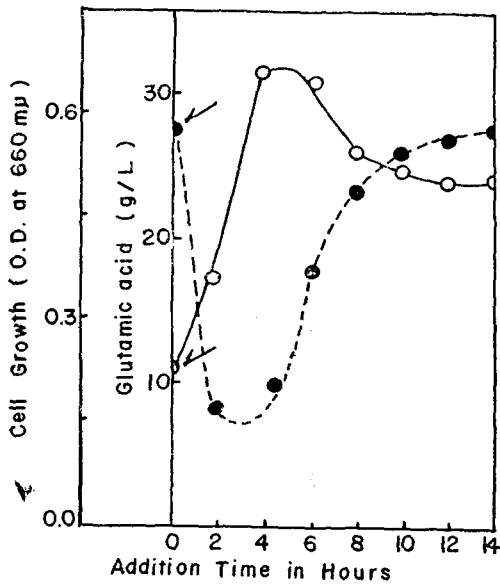


Fig 5. Effect of Addition Time of Penicillin on the Production of L-Glutamic acid

○—○ Glutamic acid
●---● Cell Growth
← No Addition

10% of penicillin was added to the medium every 2 hours.

Incubated with reciprocal shaking at 30°C for 48 hours.

4. L-GA生産에 對한 Alcohol類와 脂肪酸 ester類의 效果

1) Alcohol類의 첨가效果

抗生物質 代身 各種 Alcohol類를 濃度別로 培養後 8時間제 培養液에 添加하여 L-GA生産에 對한 alcohol類의 效果를 검토, Table 7과 같은 結果를 얻었다.

Table 7. L-Glutamic Acid produced in various Concentration of Alcohols.

Alcohols	Conc. of alcohols (%)	Cell Growth (O. D.)	L-GA produced (g/l)
Methyl alcohol	0.1	0.50	16.7
	0.5	0.515	15.2
	2.0	0.370	19.6
Ethyl alcohol	0.1	0.470	16.2
	0.5	0.460	14.5
	2.0	0.420	18.0

Butyl alcohol	0.1	0.460	16.5
	0.5	0.505	18.3
	2.0	0.420	23.8
Propyl alcohol	0.1	0.470	15.4
	0.5	0.460	17.8
	2.0	0.410	22.5
Iso-Butyl alcohol	0.1	0.400	16.8
	0.5	0.500	17.5
	2.0	0.370	23.2
n-Amyl alcohol	0.05	0.480	18.5
	0.1	0.505	16.4
	0.5	0.370	16.8
Iso-Amyl alcohol	0.05	0.480	16.2
	0.1	0.505	16.4
	0.5	0.440	15.4
No Addition	0	0.530	17.2

After 8 hours incubation, alcohols were added to the medium.

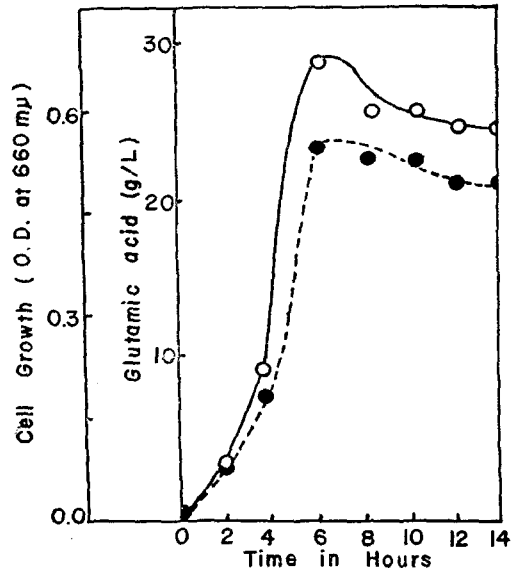


Fig 6. Effect of Addition Time of Butanol on the Production of L-Glutamic acid

○—○ Glutamic acid
●---● Cell Growth

2% of butanol was added to the each medium every 2 hours.

Incubated with reciprocal shaking at 30°C for 48 hours.

Alcohol添加에 依한 L-GA生産은 比較的 저조하 였으나 Propanol, butanol 및 isobutanol등을 2%濃

도로 添加하였을 때는 뚜렷한 효과를 보였다.

특히 Butanol 2% 添加時 L-GA生産량이 23.8g/l로서 가장 良好한 효과를 나타내어 Butanol의 添加時間에 따른 효과를 아울러 검토하였던 바(Fig 6) 培養後 6時間째 添加하였을 때 約 28g/l의 生産량을 나타냄으로서 가장 좋은 효과를 보였으나 Penicillin에 比하면 약간 낮은 生産量이었다.

alcohol類의 添加에 의한 L-GA生産에 미치는 代謝 機能 조절에 관한 연구는 앞으로 검토하여 보고하고자 한다.

2) 脂肪酸 Ester類의 첨가 효과

糖密培地를 使用한 L-GA生産에 있어서 各種 脂肪酸 ester添加에 依해 良好한 結果를 얻은 河野^{22,23)} 등의 報告들이 있으나 切干고구마 酸糖化液을 使用하였던 本研究에서는 脂肪酸 ester類의 添加로 菌體增殖은 多小 저해를 보였으나 L-GA生産量은 無添加時보다 저하됨을 보였다. (Table 8)

Table 8. Effect of Addition of Fatty Acid Esters on the L-Glutamic acid Fermentation.

Fatty Acid Esters	Conc. of Esters (%)	Cell Growth (O. D)	L-Glutamic acid(g/l)
Methyl acetate	0.1	0.45	18.7
	0.5	0.42	16.6
	2.0	0.43	15.3
Ethyl acetate	0.1	0.46	16.7
	0.5	0.47	17.3
	2.0	0.53	18.4
Iso-Amyl acetate	0.01	0.46	14.7
	0.05	0.45	15.1
	0.5	0.39	16.7
n-Capric acid	2.0	0.16	18.5
	0.01	0.47	15.0
	0.05	0.44	14.8
No Addition	0.5	0.41	14.0
	2.0	0.10	11.8
	0	0.53	17.2

After 6 hours incubation, various fatty acid esters were added to the medium.

Incubated with reciprocal shaking at 30°C for 48 hours.

5. 有機營養源의 効果

基本培地에 各種有機營養源을 適量添加하고 培養後 4時間째에 10 I. U./ml의 penicillin을 添加하

여 48時間 培養함으로서 L-GA生産에 對한 有機營養源의 效果를 檢討한 結果(table 9) 味液을 1.0% 濃度로 添加하였을 때 L-GA生産量의 顯저한 增加를 보였으나 味液의 어떤 成分에 基因된 效果인지는 알 수 없었다.

Table 9. Effect of Organic Nutrients on L-Glutamic acid Production.

Growth Factor	Conc. of addition (%)	Cell Growth (O. D20)	L-Glutamic acid(g/l)
No addition	0	0.283	29.2
Polypeptone	0.1	0.288	29.4
Yeast-ex.	0.1	0.463	33.7
Soyabean powder	0.1	0.355	33.3
C. S. L.	0.5	0.408	34.0
Beef-ex.	0.1	0.456	33.8
Casamino acid	0.1	0.189	31.8
Gluten acid hydrolyzate	1.0	0.251	35.0

Organic nutrients supplemented to the medium and, after 4 hours incubation, 10% of penicillin was added to it.

Incubated with reciprocal shaking at 30°C for 48 hours.

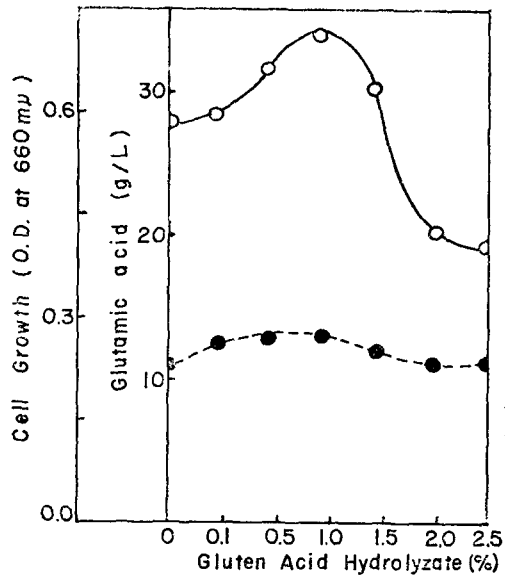


Fig 7. Effect of Addition Concentration of "Gluten-Acid-Hydrolyzate" on the Production of L-Glutamic acid

○—○ Glutamic acid
●---● Cell Growth

따라서 味液의 添加濃도에 따른 效果를 아울러 檢討하였던 바 1% 濃도로 添加하였을 때 가장 效果의이었으며 그 以上の 添加濃도에서는 L-GA 生産量이 오히려 현저히 저하됨을 보였다(Fig 7).

6. 培養時間과 L-GA 生産量

切干고구마 酸糖化液을 炭素源으로 利用한 L-GA 醱酵生産에 對한 以上の 研究結果, 가장 良好한 生産條件 즉 基本培地에 味液을 1% 濃도로 添加하고 10 I. U./ml의 Penicillin을 培養後 4時間에 添加한 條件下에서 培養時間에 따른 菌體 增殖量, L-GA 生産量, 殘糖量 및 pH의 變化를 조사한 結果(Fig 8).

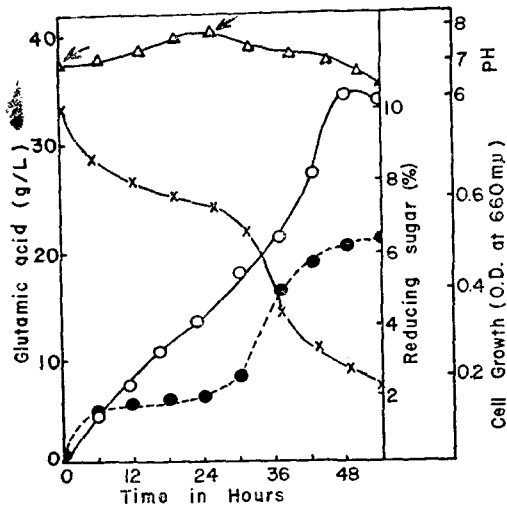


Fig 8. L-Glutamic acid formed, Cell Growth, Residual sugar and Change of pH of the medium during the incubation

- Glutamic acid
- Cell Growth
- ×—× Residual sugar
- △—△ pH
- Urea Feeding

10 I. U./ml of penicillin was added to the basal medium supplemented with "Gluten-Acid-Hydolyzate".

Incubated with reciprocal shakrng at 30°C for 48 hours.

L-GA 生産量은 培養24時間부터 急激히 增加하여 48時間에는 35g/l로서 最大値를 보였고 그 以上 培養하였을 때는 점차 감소되었다. 이 期間中 糖소비는 急激히 감소하였으며 菌體增殖도 比較的 活發하였다. 한편 培地의 pH는 培養全過程中 큰 變

動이 없었다.

IV. 要 約

1. 切干고구마 酸糖化條件을 檢討한 結果, 鹽酸濃度 0.8%, 壓力 2.0kg/cm²의 條件下에서 30分間 加水分解시켰을 때 糖化率이 74.6%로서 가장 높았으나 供試菌인 *Micrococcus glutamicus* 生育의 最適糖化液으로는 鹽酸濃度 0.5%, 壓力 2.0kg/cm²에서 10分間 加水分解시켜 얻은 糖化液이 가장 良好하였으며 이 液의 糖化率은 52.5%이었다.

2. 切干고구마 酸分解液의 Biotin含量을 定量한 結果, 25μg/l으로서 L-GA 醱酵生産基質로서 過量의 biotin을 含有하고 있었다.

3. 切干고구마 酸糖化液基質의 Biotin과잉에 對한 各種 抗生物質, Alcohols 및 脂肪酸 ester類의 添加效果와 添加濃度 및 添加時間에 對한 效果를 檢討한 結果, penicillin을 10 I. U./ml의 濃도로 培養後 4時間에 添加하였을 때 L-GA 生産量이 32.5g/l로서 가장 좋은 結果를 보였으며 Alcohol類 特別히 脂肪酸 ester類는 極히 低조한 結果를 나타냈다.

4. 切干고구마 酸糖化液을 利用한 L-GA 醱酵生産에 對한 各種有機營養源의 添加效果를 檢討한 바 味液 1.0%를 添加하였을 때 현저한 生産增大를 보였으므로 基本培地에 味液 1%濃도를 添加하고 培養後 4時間에 10 I. U./ml의 Penicillin을 添加하여 培養時間에 따른 L-GA 生産量을 檢討한 結果 48時間 培養하였을 때 L-GA 生産量이 35.0g/l로서 最大生産을 나타내었다.

REFERENCE

- 1) Tanaka, K., Iwasaki, T., and Kinoshita, S.; *J. Agr. Chem. Soc.* **34**, 593. (1960)
- 2) Oishi, K., Aida, K. and Asai, T.; *J. Agr. Chem. Soc.* **35**, 855. (1961)
- 3) Okumura, S., Tsugawa, R., Tsunoda, T., Kono, K., Matsui, T. and Miyachi, N.; *J. Agr. Chem. Soc.* **36**, 141 (1962)
- 4) Miyai, K., Tsuruo, I., Kodaira, R., Hayakawa, S., Akimoto, T. and Goto, K.; *J. Agr. Chem. Soc.* **37**, 32. (1963)
- 5) Chao, K.C. and Foster, J.W.; *J. Bacteriol.* **77**, 715. (1959)
- 6) Shiiō, I., Otusuka, S., and Takahashi, M.; *J. Biochem.*, **51**, 67. (1962)

- 7) Miyai, K., Kodaira, R., Tsuruno, I., Goto, K., and Akimoto, T.; *Agr. Biol. Chem.*, **27**, 243, (1963)
- 8) Okumura, S., Tsugawa, R. and Tsunoda, T.; *J. Agr. Chem. Soc.* **36**, 197. (1962)
- 9) Kobayashi, K., Nunoko, N., Sato, K., and Ogawa, N.; *J. Ferment Tech.* **37**, 440(1959)
- 10) Kobayashi, K., Nunoko, N., Sato, K., and Ogawa, N.; *J. Ferment. Tech.*, **38**, 288. (1960)
- 11) Shibukawa, M., Osawa, T., Nobukuni, and Yamamoto, S., *J. Agr. Chem. Soc.* **38**, 285. (1964)
- 12) Matsuo, T., Kubo, M., Hashida, W., and Teramoto, S.; *Amino acids* **7**, 51. (1963)
- 13) Taharu, M., Yoshiro, O., Hagime, T., Wataru, H., and Shiro, T.; *Amino acid and Nucleic acid* **9**. 85. (1964)
- 14) Udagaw, K., Aeb, S., and Kinoshita, S.,; *J. Ferment. Tech.* **40**, 614. (1962)
- 15) Shiio, I., Otsuka, S., and Takahashi, M.,; *J. Biochem.* **51**. 56(1962)
- 16) Kono, K., Iijima, Y., Oki, T., Miyachi, N., and Ozaki, A.,; *Amino acids and Nucleic Acid.* **11**, 99. (1965)
- 17) 河野景明, 日特公 昭 40-1996
- 18) 河野景明, 日特公 昭 40-15440
- 19) Takinami, K., Yoshi, H., Yamada, Y., Okada, H. and Kinoshita, K.; *Amino acid and Nucleic acid*, **18**, 120. (1968)
- 20) Takinami, K., Okada, H., and Tsunoda, T.; *Agr. Biol. Chem.*, **28**, 114. (1964)
- 21) Takinami, K., Okada, H., and Tsunoda, T.; *Agr. Biol. Chem.* **27**. 858 (1963)
- 22) 河野景明 日特公 昭 41-7435
- 23) 河野景明 日特公 昭 40-1997
- 24) Thomas phillips, Edwardsville, and Norman L. Somerson. USP 3, 080, 297.
- 25) 東京大學 農學部 農藝化學教室編. 實驗農藝化學, 上卷. 112(1967).
- 26) Association of Official Analytical Chemists 1970. Methods of Analysis of A. O. A. C. 11th. Ed. Association of official Agricultural Chemists. Washington. D. C.
- 27) H. C. Yang, H. I. Kim, and H. C. Sung; *Korean J. Appld. Microb. Bioeng.* **1**, 2. 105. (1973)
- 28) D. H. Chung, S. O. Park, and J. S. Kim.; *Korean J. of Food Scicnce & Tech.* **4**, 2. 112. (1972)
- 30) Maruta, Y., Samegima, H., and Tanaka, M.; *J. Agr. Chem. Soc.* **28**, 775. (1956)
- 31) Wright, L.D. and Skeggs, H.R.; *Proc. Soc. Expetl. Biol. Med.* **56**. 95. (1944)
- 32) Dudkin, M.S., N.G. Shikantova, N.S.N.S. Skomyakova and N.A.Leme.; *Chem. Ab.* **59**. 8960h(1962)
- 33) Macheviststaya, S.G., *Chem. Ab.*, **33**. 3517 (1938)
- 34) Kinoshita, S.; *J. Ferment. Tech.* **37**. 547. (1959)