

## *Brevibacterium ammoniagenes*에 의한 글루탐산 제조에 관한 연구

유 영 진 · 김 택 영\*

국립공업시험원 식품가공과, 서강대  
(1976년 11월 12일 수리)

### Studies on the Production of L-Glutamic Acid by *Brevibacterium ammoniagenes*

Young-Jin Yoo and Taik-Yung Kim

Food Industrial Department, National Industrial Research Institute, Sogang University  
(Received November 12, 1976)

#### Abstract

A bacterium strain (K-173-10) which was isolated from waste soil of Korea brewing factory, could be grown on acetate as the sole carbon source and accumulated a considerable amount of L-glutamic acid in the medium. This strain was identified as the new species *Brevibacterium ammoniagenes*.

This study was concerned not only with the culture condition for the production of L-glutamic acid and the cell growth, but also with the effects on concentration of various kind of organic substances, growth factors and penicillin.

The results obtained were summarized as follow;

1. It was found that the concentrations of acetate and ammonium ions affected the growth of the bacterium as well as its L-glutamate accumulation.

The optimum conditions of the composition of grown media for the growth of the bacterium and its glutamic acid production was found to be 40 g/l of total acetate, 100 µg/l thiamine, 0.5 µg/l biotin and 1~2 g/l corn steep liquor as the growth factors.

2. Organic acid such as succinic acid, malic acid and α-ketoglutaric acid inhibited the cell growth as well as its L-glutamic acid production.
3. The penicillin (20 units/ml) stimulated the production of glutamic acid at appropriate incubation period.
4. It was found that this strain could grow in the presence of urea and ammonium acetate but not in other nitrogen sources.

#### 서 론

미생물에 의한 글루탐산발효에 관한 연구는 Morrison<sup>(1)</sup>, Fowled<sup>(2)</sup> 등에 *Aerobacter aerogenes* 및 *Escherichia coli*가 포도당과 암모니아염으로 부터 글루탐산을 생산한다고 보고한 이후 여러 학자들에 의하여 글루탐산생성균주<sup>(3-15)</sup>, 발효배양조건검토,<sup>(3-10)</sup> 글루탐산 생성검토<sup>(4,9)</sup> 및 공업적생산방법등에<sup>(12-16)</sup> 관하여 많은 연구가 보고되었다.

종래의 발효법에 의한 글루탐산생산은 주로 당질을 원료로 하여 생산하여 왔으나 근래에는 생산기술의 발전으로 당질이외의 원료인 석유제품<sup>(17-18)</sup> 및 기타 유기화합물<sup>(19-24)</sup> 등을 탄소원으로 사용하는 연구들이 보고되고 있다.

특히 공업적으로 대량생산이 가능한 원료인 초산<sup>(25-30)</sup> ethanol<sup>(31-33)</sup>, n-파라핀등<sup>(32-33)</sup>을 사용하는 글루탐산생산연구는 일본과 미국<sup>(32)</sup> 등에서 활발히 진행되어 왔다. 그러나 이 분야에는 아직도 우수 발효균의 검색, 발효

배양조건의 개선 및 원료의 선택등과 같은 해결되어야 할 많은 연구과제가 남아 있다. 저자<sup>(35)</sup>는 우리나라 전국에 산재하고 있는 탁주양조장 폐수구에서 초산자화균을 선별하여 그중 글루탐산 축적능이 가장 우수한 K-173-10 균종을 선별하였고 이를 동정한 결과 *Brevibacterium ammoniagenes*로 판명한 바 있다. 본 연구는 이 균종에 대하여 초산을 탄소원으로 한 글루탐산발효시의 영양조건, 배양조건, 증식과정 및 글루탐산의 생성량에 관하여 연구 검토하였다.

## I. 실험재료 및 실험방법

### 1. 공시균종<sup>(35)</sup>

본 연구에서는 저자등이 우리나라 전국에 산재하고 있는 탁주양조장 폐수구에서 선별, 분리, 동정한 초산자화성 균주인 *Brevibacterium ammoniagenes*를 사용하였다.

### 2. 발효조건<sup>(30,35,36)</sup>

이 공시균종에 대한 배양조건, 영양조건 및 배지의 조성등이 글루탐산생성과 균체중식에 미치는 영향을 검토하기 위하여 다음 I-3에서의와 같은 방법에 따라 다음 각 항에 대한 실험을 하였다.

- 1) 초산농도의 영향
- 2) pH의 영향
- 3) 요소의 영향
- 4) Thiamine의 영향
- 5) Biotin의 영향
- 6) 몇 가지 유기물질의 영향
- 7) Succinic acid, Malic acid,  $\alpha$ -ketoglutaric acid의 영향
- 8) Penicillin의 영향
- 9) 전배양의 영향

### 3. 배지의 조제<sup>(30,35,36)</sup>

Table 1. Composition of media for the seed of acetic acid assimilating bacteria.

NH <sub>4</sub> OAc	15g (as acetic acid)
NaOAc	25g (as acetic acid)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.4g
Fe <sup>2+</sup>	2 ppm
Mn <sup>2+</sup>	2 ppm
Thiamine-HCl	0.1 $\mu$ g
Agar	18g
Distilled water	1,000ml
pH	7.6~8.6

우선 Table 1<sup>(35)</sup>의 액체배지 50ml를 500ml 진탕플라스크에 분주하여 20분 동안 가압(1.3kg/cm<sup>2</sup>) 살균한 다음 공시균종을 접종하고 30°C에서 72시간 진탕기(진폭 60mm, 120r.p.m.)로 배양하여 종균(seed)으로 한다. 그리고 Table 2<sup>(35)</sup>의 기본 배지 50ml를 상기와 같은 방법으로 살균한 후 종균 5% 정도를 접종한 다음 30°C에서 48시간 진탕배양하고 I-2에서의 발효조건에 관한 실험을 위하여 이 배양액의 글루탐산생성량과 균체량을 각각 측정한다.

Table 2. Composition of basal culture media

NH <sub>4</sub> OAc	20g
NaOAc	20g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.4g
FeCl <sub>2</sub>	2 ppm
MnCl <sub>2</sub>	2 ppm
Urea	0.5g
Thiamin-HCl	100 $\mu$ g
Biotin	0.3 $\mu$ g
Distilled water	1,000ml
pH	7.8~8.4

### 4. 균체량의 측정<sup>(37,38)</sup>

I-2에서의 발효조건에 관한 실험을 위하여 I-3에서 얻은 배양액중의 균체량 측정은 배양액을 증류수로 10배 희석하여 Spectrophotometer로 590 nm에서 흡광도(Optical density)를 측정하여 균체의 비교량으로 하였다.

### 5. 글루탐산의 정량<sup>(36,39~41)</sup>

I-2에서의 발효조건에 관한 실험을 위하여 I-3에서 얻은 배양액중의 글루탐산의 생성량을 측정하기 위하여 배양액의 균체를 제거한 후 글루탐산의 양은 글루탐산 탈탄산효소를 이용하여 Warburg<sup>(39,40)</sup> 검압법에 의하여 다음과 같이 정량하였다.

Warburgmanometer의 주실에는 효소용액(Washington Biochemical Corporation 제품) 0.5 ml (효소건물량 10~20 mg)를 넣고 제1측실에 시료 1 ml (M/15초산완충액으로 pH 4.6으로 조절한 것)를, 제2측실에는 2N 황산 0.5 ml를 가한다. 이 반응용기를 Manometer에 연결하여 37°C의 항온조에 넣은 다음 약 10분간 진탕하여 온도가 평형에 도달된 후 Manometer의 눈금을 조절한다. 다음 제1측실의 효소액을 주실에 주입하면 곧 탄산가스가 유리되기 시작한다. 반응이 15분 정도에 끝난 다음 다시 15분간 진탕하여 반응이 평형에 도달한 것을 확인하고 제2측실의 황산을 가해 약 10분간 다시 진탕

한 후 눈금을 읽는다. 효소의 바탕실험은 시료대신에 0.5ml의 증류수를 사용하였고 이 때에 글루탐산 1mg이 152.3ml의 이산화탄소에 상당한 것으로 계산하였다.

II. 결과 및 고찰

1. 초산농도의 영향

발효배지의 주성분인 초산양이 글루탐산의 축적과 균체증식에 미치는 효과를 검토하기 위하여 중간배양배지 Table 1에서와 같이 초산암모늄을 15g/l으로 고정하고 초산나트륨을 각각 15g/l에서 35g/l 사이로 변화, 첨가한 발효배지로 I-3의 실험에 의해서 Fig.1과 같은 결과를 얻었다.

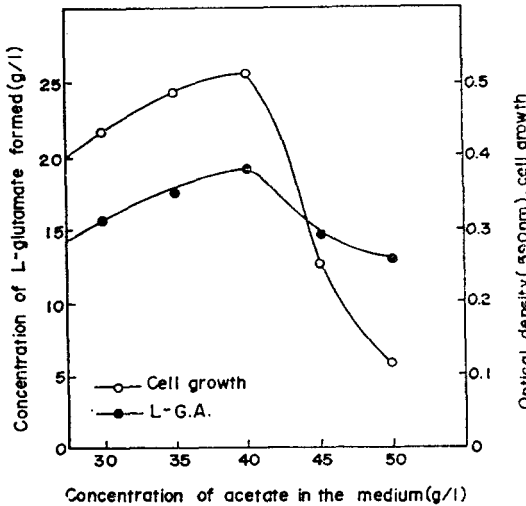


Fig. 1. The effect of the concentration of acetate on the cell growth and its glutamic acid accumulation [(the concentration of ammonium acetate was remained constant (15g/l)].

이 결과 글루탐산의 축적과 균체증식의 최적농도는 초산총농도가 40g/l일 때임을 확인할 수 있었고 그 이상에서는 세포증식이 급격히 저하되었고 글루탐산축적도 감소된다는 사실도 확인할 수 있었다. 또 초산암모늄양이 글루탐산축적과 세포증식에 미치는 영향에 대한 검토를 위하여 이미 앞에서 확인한 바 있는 글루탐산축적과 균체증식의 최적농도인 40g/l로 초산의 총농도를 고정시키고 초산암모늄과 초산나트륨의 양을 각각 변화시켜 첨가한 발효배지로 I-3에서와 같은 실험으로 Fig. 2와 같은 결과를 얻었다.

이 결과 초산암모늄과 초산나트륨의 혼합비율이 15g/l와 25g/l인 경우가 세포증식과 글루탐산축적을 위한 최적비율을 확인할 수 있다. 또 초산암모늄의 함량이

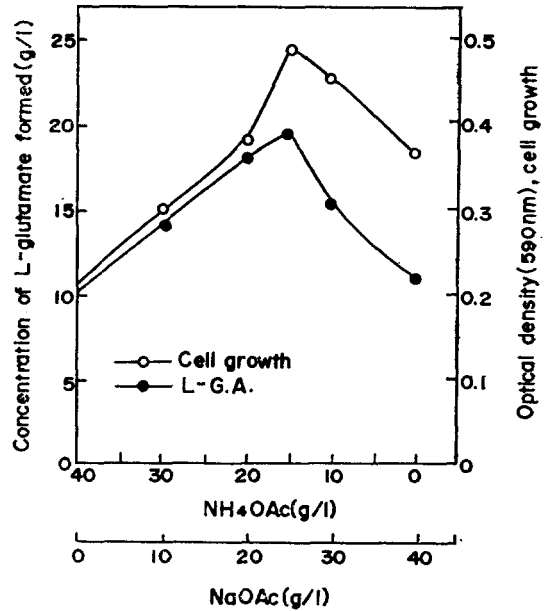


Fig. 2. The effect of the ratio of sodium acetate and ammonium acetate on the cell growth and its glutamic acid accumulation (the concentration of acetic acid in medium was 40g/l).

이 비율보다 높아지면 균체증식 및 글루탐산축적이 저하되는 경향을 나타냈으며 초산나트륨양이 이 비율보다 높아도 균체증식 및 글루탐산축적이 감소함을 확인할 수 있었다. 이와같이 Fig. 1 및 Fig. 2에 의하면 본 균종의 증식 및 글루탐산의 축적은 탄소원으로 사용한 초산염의 조성비율에 영향을 받는다고 결론지을 수 있었다.

2. pH의 영향

배지의 액성이 글루탐산의 축적과 균체증식에 미치는 효과를 검토하기 위하여 배지 I-3의 액성을 pH 7.0~9.0 사이로 변화시켜서 I-2의 실험을 하여 Fig.3과 같은 결과를 얻었다.

이때 배지의 액성은 암모니아수, 수산화나트륨용액 및 염산을 사용, 조절하였다.

이 결과로 글루탐산의 축적과 균체증식의 최적 pH가 8.2인 것을 확인할 수 있었다.

이때 용액의 pH 조절은 암모니아수를 사용하였을 때 수산화나트륨 용액을 사용하였을 때 보다 더 좋은 효과를 나타내고 있다는 사실도 확인할 수 있었다.

이는 *Micrococcus glutamicus*<sup>(6,42)</sup>를 사용한 실험의 결과와 일치한 것으로 암모니아가 아미노산 생합성시 아미노기를 제공할 수 있기 때문이라고 생각된다.

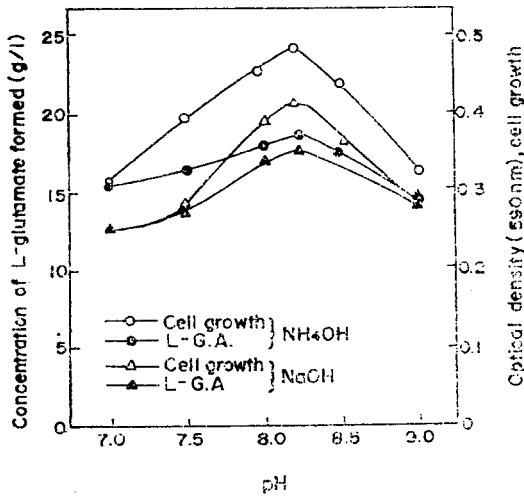


Fig. 3. Optimum pH for the production of glutamic acid and cell growth(the pH was adjusted either by the the addition of ammonium hydroxide or sodium hydroxide)

3. 요소의 영향

요소를 질소원으로 사용하여 세포증식과 글루탐산생성에 미치는 영향에 관한 실험결과 Fig. 4를 얻었다.

이 결과는 *Micrococcus glutamicus*<sup>(5,43)</sup> 및 다균종<sup>(44,45)</sup> (본균주와는 달리 당질을 탄소원으로 함)을 사용하여 과량의 무기질소원 및 요소를 첨가한 실험결과와 상이하였다.

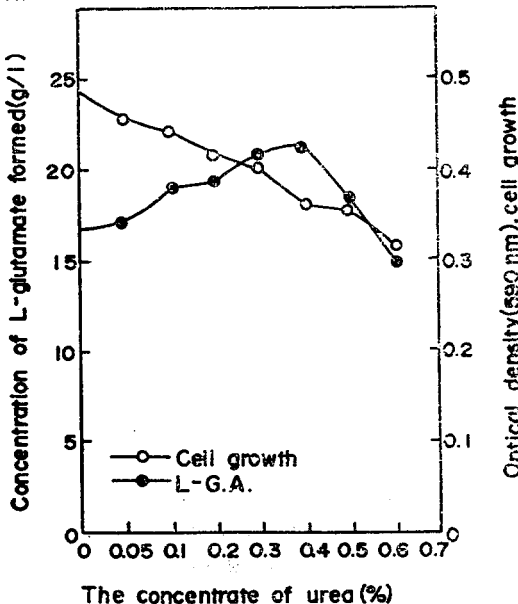


Fig. 4. The effect of urea on the production of glutamic acid and cell growth.

Fig. 4와 같이 요소농도가 증가하면 점차적으로 세포증식이 낮아지고 글루탐산생성은 증가하는 경향을 보여주었다. 그러나 요소의 일정량(0.3~0.4%)을 넘으면 균의 증식과 글루탐산의 생산이 모두 감소되었다.

다른 균종<sup>(5,43)</sup>에 글루탐산축적을 위한 요소의 최적농도는 0.5~1.5%였으나 본균종에 대한 요소최적농도는 훨씬 낮은 0.3~0.4%였다.

요소농도가 증가함에 따라 세포증식이 점차적으로 감소한 것은 균체중에 존재하는 Urease가 요소를 분해하여 암모니아를 축적시키므로 pH가 상승되어 균의 증식이 약화된다는 陳<sup>(4)</sup>의 보고와 유사한 경향을 나타내고 있다. 그러나 이 경우 Fig. 4에서 본 바와 같이 글루탐산생성이 22g/l까지 증가하는 것은 세포증식에 유독한 암모니아를 제거하는 수단으로 glutamic dehydrogenase system에 의하여 글루탐산합성을 촉진시키는 것이 아닌가 생각된다. 그러나 요소의 최적농도를(0.2~0.4%) 초과하면 위와 같은 효과도 상실되어 글루탐산생성이 감소되는 것으로 생각된다.

요소의 중간첨가효과에 대한 실험결과 Fig. 5를 얻었다. Fig. 5와 같이 요소의 중간첨가효과는 균종점중

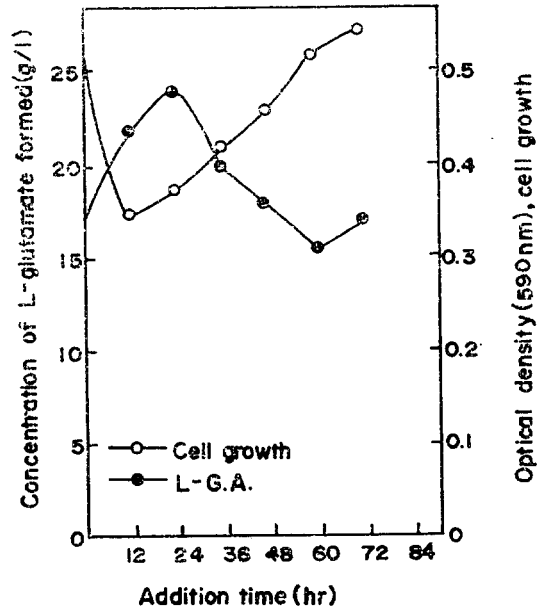


Fig. 5. The effect of addition time of urea to media on the production of glutamic acid and cell growth

12~24시간 후에 요소(0.3%)를 첨가하였을 때는 글루탐산생성은 증가하고 세포증식은 오히려 감소하는 경향을 나타냈으나 그 이상의 시간이 지나서 첨가하였을 때는 세포증식은 증가하고 글루탐산생성이 감소되는 경향을 나타내었다.

4. Thiamine의 영향

Thiamine<sup>(47)</sup>의 첨가량이 글루탐산생성 및 균체증식에 미치는 영향에 관하여 실험한 결과는 Fig. 6과 같다.

高橋<sup>(48)</sup>는 Thiamine의 농도가 30~50 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 세포증식이 가장 좋으나 글루탐산생성에는 별 효과가 없었음을 보고한 바 있으나 본 실험결과는 오히려 균체증

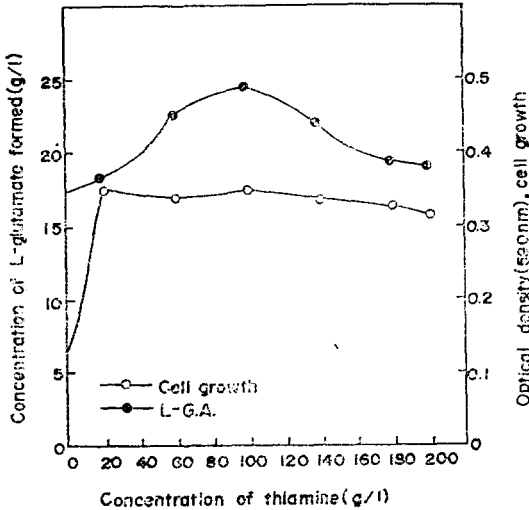


Fig. 6. The effect of the addition of thiamine on the production of glutamic acid and cell growth.

식에는 효과가 없었고 글루탐산생성은 Thiamine의 첨가량에 따라 점차 증가하여 Thiamine의 농도가 100 $\mu\text{g/l}$ 일 때 최고의 글루탐산생성을 나타내었다.

5. Biotin의 영향

글루탐산의 생산능력이 있는 미생물<sup>(48,49)</sup> 즉, *Micrococcus glutamicus*, *Bacillus ciculans*, *Bacillus lentus* 등에 속하는 세균은 Biotin이 증식 필수인자이며, 또한 글루탐산의 축적현상과 밀접한 관계가 있다고 보고된 바 있으며, 특히 田中<sup>(50)</sup> 山田<sup>(51)</sup>는 배지중에 생성된 글루탐산량을 좌우하는 여러가지 요인중 가장 중요한 것을 배지중에 함유된 Biotin의 농도라 하였다. 그들은 Biotin의 농도가 최적농도 이하일 때는 균의 증식이 억제되고, 글루탐산의 생성이 정상 이상으로 축적됨을 밝혔다. 한편 배지에 Biotin이 결핍되면 정상적인 지방산의 합성이 저해되고 세포막의 포화지방산과 불포화지방산의 비율이 달라져서 투과성이 증가하여 글루탐산의 분비가 촉진된다고 하였다.

본 연구에 있어서는 위와 같은 Biotin 효과를 관찰하기 위하여 Biotin첨가량에 따르는 글루탐산생성량을 관찰하여 Fig. 7과 같은 결과를 얻었다.

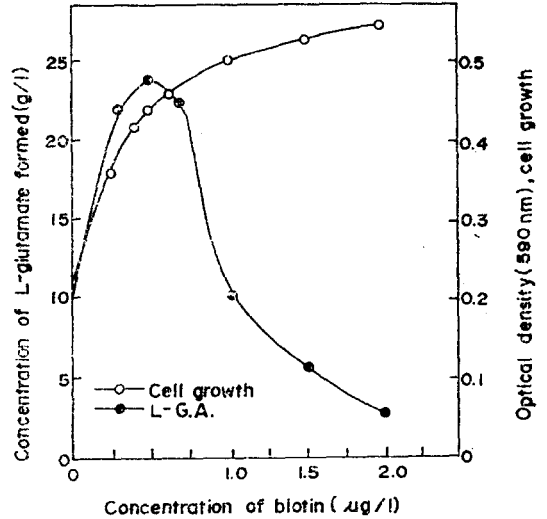


Fig. 7. Optimum phase of biotin addition to the production of glutamic acid and cell growth.

균체증식에는 Biotin 첨가량에 따라 점차적으로 증가하였으나, 글루탐산생성은 Biotin 농도가 0.5 $\mu\text{g/l}$ 까지는 증가하다가 그 이상 농도에서는 급격히 감소하였다.

木下<sup>(6)</sup>의 *M. glutamicus* 연구결과에 의하면 Biotin농도가 50 $\mu\text{g/l}$  균의 성장이 가장 좋았으며, 또 陳<sup>(4)</sup> 田中<sup>(50)</sup>은 *M. glutamicus*을 사용하여 균체증식 및 글루탐산생성량의 최적 Biotin의 농도는 2~3 $\mu\text{g/l}$ 임을 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 Biotin 농도가 0.5 $\mu\text{g/l}$ 일 때 글루탐산생성량이 가장 좋았다. 이와 같은 결과로 초산을 탄소원으로 하는 본 균종의 글루탐산생성을 위한 최적 Biotin의 농도는 당질을 탄소원으로 하는 타균종에 비하여 약 1/10에 불과하였다.

6. 몇 가지 유기물질의 영향

1) 몇 가지 단백질 분해액의 촉진효과

본균종에 대하여 유기 촉진물질에 대하여 공업자원의 대상이 될 수 있는 대두박 낙화생박과 동시에 Meat Extract Pepton Extract 등을 실험한 결과는 Table 3과 같다. 대두박, 낙화생박을 감압 염산분해 후 Humin을 여과, 제거한 다음 수증기를 취입하여 염산을 추출, 제거하고 농축하여 분해액의 총질소를 약 2%되도록 조정하였다.

대두박 분해액(S.C.H).....질소함량=2.02%

낙화생 분해액(P.C.H).....질소함량=2.05%

Table 3의 결과를 보면 초산을 탄소원으로 하는 본 배지에 천연 단백질원을 첨가하여도 글루탐산 축적과 세포증식에는 별 다른 효과가 없다.

2) 몇 가지 천연물 Extract의 효과

천연물 Extract의 촉진효과를 실험하기 위하여 쌀겨,

Table 3. The effect of natural nitrogen sources on the cell growth and its L-glutamic acid accumulation.

Natural nitrogen source	Concentration(g/l)	Cell growth (O.D., 590nm)	L-glutamin acid formed(g/l)
S.C.H.	0.5	0.25	14.3
	1	0.31	15.2
	2	0.30	13.1
	4	0.27	12.4
P.C.H.	0.5	0.28	14.6
	1	0.28	14.1
	2	0.30	15.1
	4	0.27	13.2
Meat extract	0.5	0.25	10.2
	1	0.27	9.8
	2	0.25	12.1
	4	0.28	10.5
Pepton extract	0.5	0.27	11.5
	1	0.25	12.3
	2	0.38	15.2
	4	0.30	14.5

밀기울에 각각 중량의 10배 가량의 물을 가하고 가압, 침출(120°C, 1.3kg/cm<sup>2</sup>, 1hr)한 것을 본 실험에 사용하였다. Corn steep liquor는 옥수수가루에 10배량의 물을 가하고 0.2% 아황산나트륨 수용액에 40°C에서 2~3일 침전시킨 후 상층액을 제거한 다음 분리시키고 다시 옥수수가루를 가하여 Be'3°로 되게끔 만든 것을 사용하였다. 이 원료들의 성분조성은 Table 4와 같다.

Table 4. Composition of total solid and total nitrogen in the extract of natural products.

Extract of natural products	Total solid (%)	Total nitrogen (%)
W.B.E. (Wheat bran extract)	2.74	0.26
R.B.E. (Rice bran extract)	2.56	0.24
C.S.L. (Corn steepliquor)	3.08	0.31

천연물 Extract 촉진효과에 대하여 실험한 결과는 Fig. 8과 같으며, 이 실험은 Biotin, Thiamine, Urea를 제외한 배지중에서 실시한 결과로서 그 중에서 가장 효과가 있는 것은 Corn steep liquor용액이었다. Corn steep liquor를 기본배지에 Biotin(0.5µg/l) Thiamine(100µg/l)을 첨가한 후 배양실험한 결과는 Fig. 9와 같으며, Biotin, Thiamine을 단독으로 첨가 실시한 것 보다 월등히 좋은 결과를 얻었다. Thiamine 단독은 균종 성장에 좋지 않고 Biotin 단독은 글루탐산생성이 저하하였

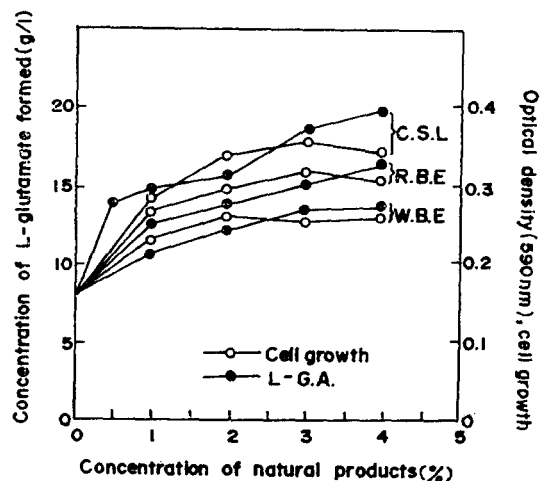


Fig. 8. The effect of concentration of natural products(as extracts) on the cell growth and glutamic acid production without thiamine, biotin in basal media.

지만 Corn steep liquor를 첨가하여 실험한 결과로 균의 증식 및 글루탐산 축적에 상승효과가 있어 좋은 성과를 얻었다.

### 7. Succinic acid, Malic acid, α-Ketoglutaric acid의 역할

Tri-carboxylic acid cycle 유기산인 C<sub>4</sub>-Dicarboxylic acid를 배지에 첨가하여 실험한 결과 이것은 奧,<sup>(10)</sup>

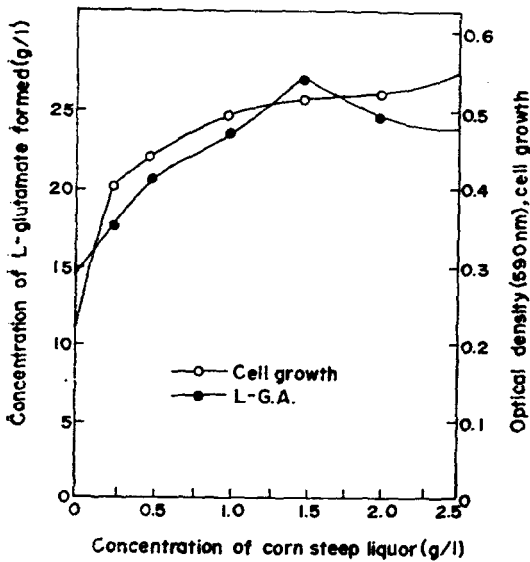


Fig. 9. The effect of corn steep liquor on growth and glutamic acid accumulation with biotin (0.5µg/L) and thiamine (100µg/L) in basal medium.

河<sup>(52)</sup>가 보고한 글루탐산 증가효과와는 상반되는 것이 보였다. 본균주에 대하여 실험한 결과는 Fig. 10과 같으며, 균증식, 글루탐산 축적효과 보다는 오히려 저해

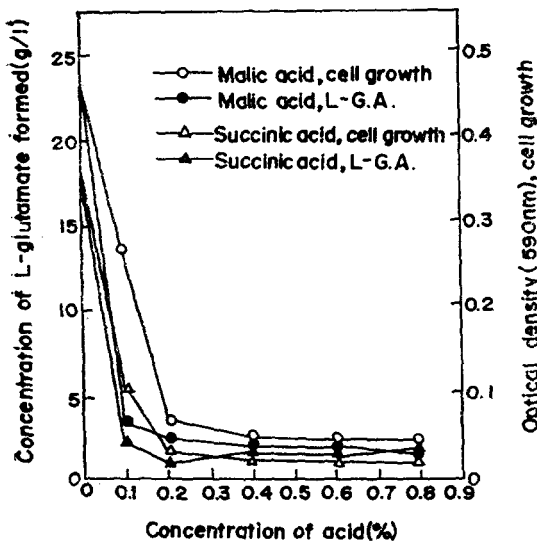


Fig. 10. The effects of addition of succinic acid and malic acid on cell growth and glutamic acid accumulation.

작용을 보이고 있었다. 또한  $\alpha$ -Ketoglutaric acid의 첨가 실험 결과도 Fig. 11과 같이 균의 증식 및 글루탐산 축적이 저해됨을 알 수 있다.

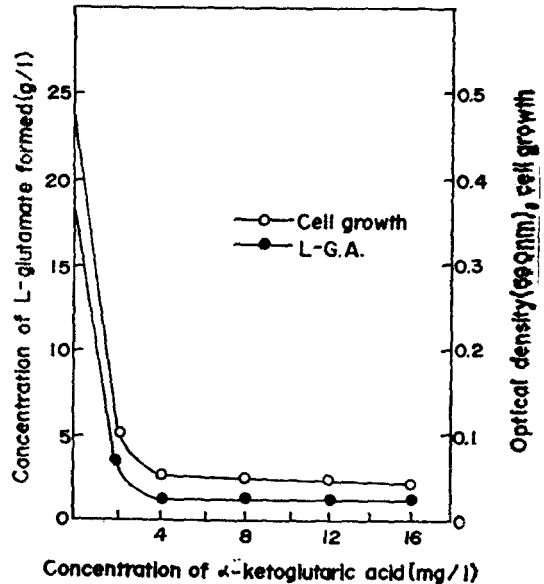


Fig. 11. The effect of  $\alpha$ -Ketoglutaric acid on the production of glutamic acid and cell growth.

### 8. Penicillin의 영향

Penicillin은 균체증식, 글루탐산 축적, 균체 세포막 형성 및 세포막내의 글루탐산 농도비에 영향을 준다는 E. Gale,<sup>(53)</sup> M.J. Tohnson,<sup>(54)</sup> Lederbery,<sup>(55)</sup> 松尾<sup>(56)</sup> 등의 연구보고가 있다. 본 실험에서 사용한 *Brevibacterium ammoniagenes*<sup>(36)</sup>는 Gram양성균이므로 Penicillin을 첨가하면, 세포막내의 글루탐산농도비가 달라지고, 세포막의 투과성의 변화가 일어난 것으로 생각되어 penicillin의 농도에 따른 균의 글루탐산 생산과 증식에 미치는 영향을 실험하여 Fig. 12와 같은 결과를 얻었다.

Fig. 12에 나타난 바와 같이 Penicillin 농도가 20 unit/ml에 도달할 때까지는 균체증식이 약화되지만 세포막의 투과성의 증가로 인한 글루탐산생성은 계속 증가함을 알았다. 그러나 Penicillin의 농도가 20unit/ml 이상일 때는 글루탐산생성과 균체증식이 다 같이 감소하는 경향을 나타내었다.

Penicillin의 중간첨가에 따르는 효과를 실험한 결과 Fig. 13을 얻었다. 이 때 첨가된 Penicillin 양은 앞의 결과로 얻은 최적농도인 20unit/ml를 택하였다.

Takahera<sup>(58)</sup>는 Penicillin 첨가시기가 균종을 접종한 후 6시간, Hah<sup>(52)</sup>는 16시간, Harada<sup>(59)</sup>는 24시간 후가 가장 좋은 시기였다고 보고하였고, Takashi<sup>(60)</sup>는 시간에 영향이 없다고 하였다. 본 실험에서는 Fig. 13에서 보는 바와 같이 Penicillin을 균종 접종후 36시간 후에 첨가하는 것이 글루탐산생성에 있어서 최적 시기임을 알았다.

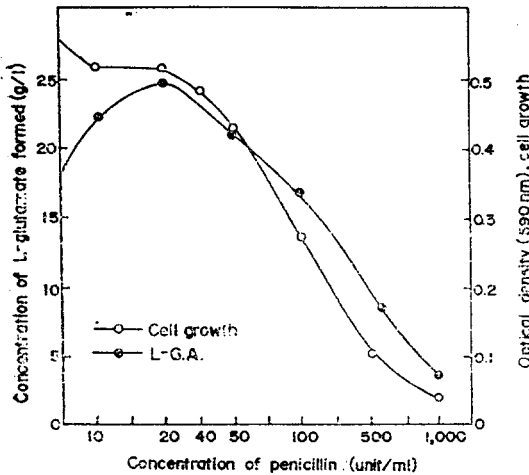


Fig. 12. Optimum concentration of penicillin for the production of glutamic acid and cell growth.

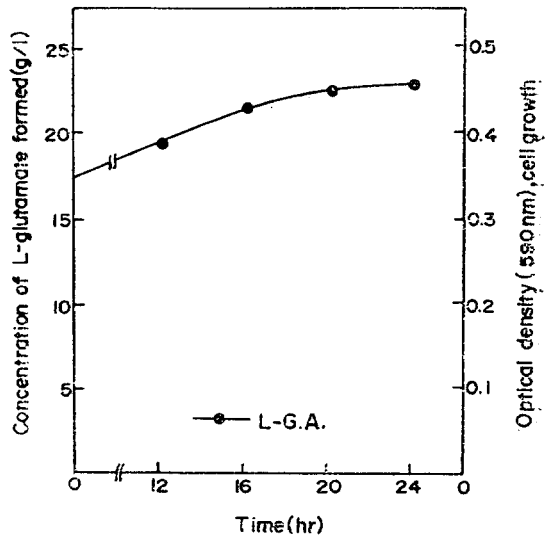


Fig. 14. The effect of incubation time for the production of glutamic acid.

III. 결 론

Brevibacterium ammoniagenes 균종의 발효 및 배양 조건을 검토한 결과 초산은 40 g/l, Urea 0.3%, Growth factors로서 Biotin 0.3~0.52 µg/l, Thiamine 100 µg/l, Corn steep liquor 1.0~2.0 g/l의 각 농도가 세포증식과 글루탐산생성의 최적조건임이 규명되었으며, Penicillin의 농도 20 unit/ml, pH 7.8~8.2등이 본균종에 대하여 최적조건임이 밝혀졌다.

참 고 문 헌

- Morrison, A. G. et al: *J. chem. soc.*, 380 (1949)
- Fowled, E. B. et al: *Arch. Biochem. Biophys.*, 56, 22 (1955)
- Asai, T., Aida K., Oishi K.: *Bull. Agr. chem. soc. Jap.*, 21, 134 (1957)
- 陳秩宗, 杜聰明, 陳倫宗: *醸工(日本)*, 37, 310, 371 (1959)
- 朝井勇宜, 租田浩, 大石邦夫: *醸協(日本)*, 15, 371 (1957)
- 木下祝郎, 板擔史郎: *Amino Acids (Japan)*, 2, 42 (1960)
- Su, Y. C., Yamada K.: *Bull. Agr. Chem. soc. (Japan)*, 24, 69 (1960)
- 太田修二, 田中政民: *醸工(日本)*, 37, 261 (1959)
- 小李克乙, 布子信夫: *醸工(日本)*, 37, 440 (1959)

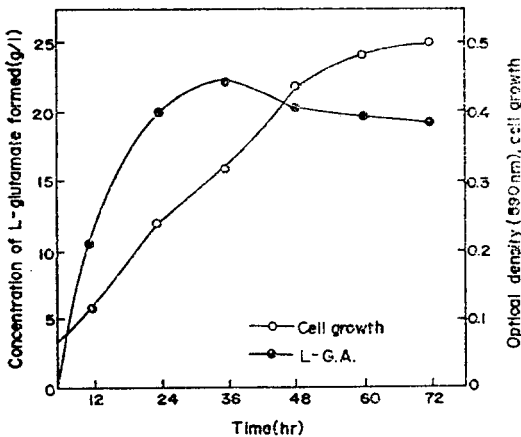


Fig. 13. Time course on growth and its glutamic acid accumulation when the penicillin (20 unit/ml) was added in the media.

9. 전배양의 영향

전배양시간이 본 발효에 있어서의 증식 및 글루탐산생성에 미치는 영향을 실험한 결과 Fig. 14를 얻었다. 이 실험결과를 고찰하여 보면 전배양시간의 연장은 균체의 증식을 계속 증가시켰으나 글루탐산생성에는 큰 영향을 주지 못했다. 그러므로 전배양시간이 20시간 경과 후에는 세포증식은 계속되었으나 글루탐산생성은 증가하지 아니하였으므로 가능한 전배양의 최적시간은 16~20시간이 적당하다고 생각된다.



10. 奥村信二, 郁洵龍一郎, 角田俊直 : 農化(日本), 36, 841(1962)
11. 大石邦夫, 榎田浩 : *Amino Acid and Nucleic Acid* (Japan), 8, 35 (1963)
12. 宮月恭, 大澤岳義 : 日本特許公報, 昭 39-2988
13. 増尾榮太郎 : 日本特許公報, 昭 37-6342
14. Shiiro, I., Mitsugi, K., Otsuka, S., Tsunoda, : U. S. Pat., 3,117,915 (1965)
15. Lee, W. H., Good, R. C. : U. S. Pat., 3,087, 863(1963)
16. Otsuka, S., Yazak. H. : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 3, 35 (1957)
17. Yamada, K. : *Agr. Biol. chem.*, 27, 390(1963)
18. Kabayashi, K., Ikeda, S. : *Amino Acid and Nucleic Acid* (Japan), 16, 132 (1971)
19. Kimura, K. : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 10, 23(1964)
20. Tsunoda, T., Aoki, R., Kinoshita, K., Konoda, K. : 農化, 33, 221 (1959)
21. Kinoshita, S., Udaka, S., Shimon, M. : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 3, 193 (1957)
22. 宮地昇, 松中俊規 : 日本特許公報, 昭 37-20947
23. 那須, 山林克之, 布子信夫 : 日本特許公報, 昭 38-20947
24. Oki, T., Sayma, Nishimura, Y., ZaKi, A. O. : *Agr. Biol. Chem.*, 32, 119(1968)
25. Harada, J. Kozi, Seto, : *J. Ferment. Tech.*, 46, 169(1969)
26. Isamu, Shiiro, Mitsugar, Tsunoda, : *J. Biochemistry*, 46, 1665(1969)
27. Tsama, T., Shiiro, I. : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 7, 18 (1961)
28. 岡部節三, 澁川滿, 大内俊二 : 農化, 42, 563(1968)
29. Sun oil Co. Ltd : U.S. Pat., 3,201,323
30. 俞永鎮, 金澤泳, 朴啓仁 : 한국식품과학회지, 5, 197 (1973)
31. 三中俊一, 西村幸男, 北井淳夫 : *Amino Acid and Nucleic acid*(Japan), 19, 73(1969)
32. 牛口喬, 早川司郎, 武田勲 : 農化, 40, 26 (1966)
33. 奥村信二 : 日本食品工業學會誌, 12, 12 (1968)
34. Tsunoda, Shiiro I., Mitsugi, K. : *J. Gen. Microbiol.*, 7, 18 (1961)
35. 俞永鎮, 朴啓仁 : 한국미생물학회지, 11, 59(1973)
36. 朴啓仁, 金奇珠, 俞永鎮 : 國立工業研究報告, 13, 167 (1963)
37. Kazuaki, K., Yoshio, S., Toshihiko, K. : *J. Ferment Tech.*, 50 182 (1972)
38. 神崎俊彦, 比野一昭 : 農化, 46, 95 (1972)
39. 關根隆光, 笹川泰治 : 續ワルブルグ檢壓計, 南江當 (1) p 18 (1955) (2) p 46 (1956)
40. Umbreit, W. W., Burris, R. H. : *J. Biol. Chem.*, 159, 333(1945)
41. Umbreit, W. W., Barris, R. H., Staffer, J. F. : *Manometric Techniques*, p. 207(1957)
42. 木下祝郎 : 蛋白質核酸酵素, 3, 247 (1957)
43. 木下祝郎, 秋田定夫 : 日本特許公報, 24, 3382 昭 32-8698)
44. 多田, 中山, : 日本特許, 258,589(1957)
45. 吳赫鎮 : 韓國特許, 44(1958)
46. 高橋 : *Amino Acids* (Japan), 10, 1(1964)
47. 高田亮平, 陳秋宗 : 調味料(その科學と製造), 東京 光生館, p. 175 (1967)
48. 小川知可良, 大出通資 : *Amino Acids* (Japan), 1, 45(1959)
49. 太田修二, 田中政民 : *Amino Acids* (Japan), 1, 50 (1959)
50. 田中勝宜, 秋田定夫, 木村一雄, 木下祝郎 : 農化, 34, 594,600(1960)
51. 蘇遠志, 山田浩一 : *Amino Acids* (Japan), 1, 38(1959)
52. 하덕모, 노완섭 : 한국산업미생물학회지, 2, 141 (1974)
53. Gale, E. F. : *J. Gen. Microbiol.*, 1, 53,314,(1947)
54. Tohnson, M.J., Robers, J. : *Biochim. Biophys. Acta.*, 59. 450, 458 (1962)
55. Lederbery, J. : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, U.S. 42,574 1959
56. 松尾, 大山, 谷本, : 醸工, 42, 98 (1964)
57. 松尾, 大山, : 醸工, 43, 915 (1966)
58. Takahara, M. : *J. Ferment. Tech.*, 44, 915,(1966)
59. Harad, T. K., Seto, Y. : *J. Ferment. Tech.*, 46, 169(1968)
60. Takashi, Shiro, : *J. Agr. chem. soc.*, (Jap), 40, 26(1966)