

배양조건이 *Micrococcus* sp.의 생육 및 casein 분해에 미치는 영향 : (I) 배지조성에 관한 연구

이시경 · 주현규* · 백운화

두산종합기술원, *건국대학교

초록 : Cheddar 치즈의 숙성기간을 단축시키고 flavor를 증진시킬 목적으로 단백질분해력이 있는 *Micrococcus* sp. LL3를 Cheddar 치즈에 첨가하기 위하여 본 균의 최적배양을 위한 배지조성을 검토하였다. 탄소원으로는 glucose, mannose, fructose 등의 당류가 양호하였으며, arabinose, xylose는 균의 성장을 심하게 저해하였다. 본 균주에서는 탄소원의 첨가에 의한 catabolite repression은 나타나지 않았다. 또한 질소원으로는 yeast extract 0.2%의 첨가가 균의 성장에 좋았으며, 무기 질소원 첨가는 균의 성장이 감소하였다. 특히 urea를 첨가시 균의 성장에 심한 저해효과가 있었다. 본 균주는 NaCl 9%첨가시 까지도 균의 생육이 가능했으며, 특히 1%첨가시에는 균체생육 및 단백질분해 효과가 다소 증가하였다. 무기염의 경우 MgSO₄ 0.05%, 아미노산은 glutamic acid 0.2%첨가시 효과가 좋았다. 그러나 비타민은 0.1 µg/ml 수준으로 첨가시 균의 성장 및 단백질분해 효과에 영향을 미치지 않았다(1991년 11월 11일 접수, 1991년 11월 30일 수리).

대부분의 치즈가 소비자의 손에 가기전에 flavor의 형성이 이루어지기 위해서는 최소한의 숙성기간이 필요하다. 따라서 치즈 flavor의 손상없이 숙성기간을 단축시킨다는 것은 치즈산업에 상당한 원가 절감을 가져다 준다. 그러나 지금까지의 숙성 치즈숙성에 관한 연구는 주로 starter로서 이용되는 *Streptococci*나 non-starter bacteria중 *Lactobacilli*를 중심으로 이루어져 치즈제조에 응용되었다.^{1,2)} 체다치즈의 major secondary microflora³⁾인 *Micrococci*는 분류학적으로는 *Micrococcaceae* family에 속하는 그람 양성 non-starter non-lactic acid bacteria로서 Cheddar cheese의 non-starter population중 16~68%를 차지하는 것으로 보고되어 있다.⁴⁾

*Micrococci*는 저온 살균에서도 살아남을 수 있어 pasteurized milk에도 존재하며, cheese제조시 이의 첨가에 의해 Cheddar cheese의 flavor를 증가시켰으며,⁵⁾ *Micrococci*에 의한 cheese flavor 증진효과는 이 균이 갖고 있는 proteolytic, lipolytic activity에 기인하는 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 지금까지 *M. caseolyticus*, *M. sodomensis*, *Micrococcus* sp. MCC315, *M. lysodeikticus* 등이 생성하는 extracellular proteinase가 보고되었으나,⁷⁾ 치즈 숙성과정중 치즈내에 있는 *Micrococci*에 의한 extracellular proteinase의 분비를 증명할 만한 확실한 보고가 아직까지는

없다. 그러나 *M. freudenreichii* 325가 생성하는 intracellular proteinase가 보고되었으며, 본 균주를 치즈제조시 첨가하였을때 치즈 숙성중 proteolysis가 증가하였다고 하였다.⁸⁾ 또한 intracellular proteinase, endopeptidase, aminopeptidase, dipeptidase 등의 효소가 여러 *Micrococcus* sp.에 존재하는 것으로 최근 보고되었다.⁹⁾ 따라서 본 연구에서는 Cheddar cheese의 제조에 있어 단백질분해 활성이 큰 *Micrococcus* sp. LL3를 adjunct로 이용할 경우 숙성 기간을 단축시킬 수 있을 것으로 생각되어 본 균주의 생산을 위하여 최적배양을 위한 배지조성을 검토 하였다.

재료 및 방법

사용균주

미국 Univ. of Wisconsin-Madison, Dept. of Food Science에서 제공받은 *Micrococcus* sp. LL3균주를 사용 하였다.

사용배지 및 배양

균성장 배지는 glucose 0.2%, tryptone 1%, yeast extract 0.2%, glutamic acid 0.2%, MgSO₄ 0.05%, NaCl 1

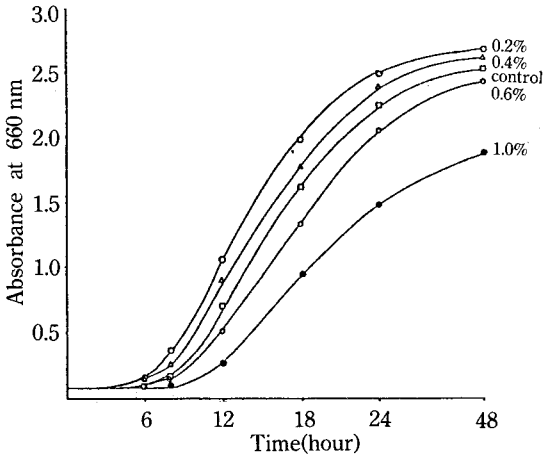


Fig. 1. Growth curve according to glucose concentration.

의 조성을 완전 배지로 하여 각각의 영향을 조사하고자 하는 배지조성을 대치하여 제조하였다. 이를 멸균하여 종균 1%씩을 접종후 30°C에서 진탕 배양(120 rpm)하면서 일정시간별로 균의 성장을 관찰하였다.

단백 분해용 배지는 casein 1.5%, glucose 0.2%, tryptone 0.5%, yeast extract 0.2%, glutamic acid 0.2%, MgSO₄ 0.05%, NaCl 1%의 조성을 단백질 분해용 완전 배지로 사용하여 위와 같은 방법으로 제조후 종균 1%를 접종하여 30°C에서 36시간 진탕배양(120 rpm) 후의 유리되는 tyrosine 양으로서 단백질 분해를 측정하였다.

Caseinolysis 측정

Casein 용액의 단백질 분해 정도는 Vaidyanathan 등¹⁰⁾의 방법을 변형하여 유리되는 tyrosine 함량으로 나타내었다.

균체량 측정

각 배양시간 별로 배양액을 일정량 취하여 분광 광도계(spectrophotometer)로 660 nm에서의 O.D(Optical density) 값을 측정하였다.

Cell free extract 조제

24시간 배양된 배양액을 0.01 M phosphate buffer(pH 7.0)로 2회 세척 원심분리한 균체를 세포분해용 alumina를 첨가하여 분쇄하였다. 그후 0.01 M phosphate buffer(pH 7.0)를 처음 배양액의 10% 가하고 냉장 원심분리하여 상등액을 cell free extract 효소액으로 사용하였다.

Aminopeptidase activity 측정

Soda 등¹¹⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. Leucine-p-Nitroanilide(LNA)를 기질로 하여 35°C water bath 상에서 20분간 반응시킨 후 410 nm에서의 흡광도를 측정하였다. Specific activity는 1분간에 효소 단백질 1mg에 의한 흡광도 0.01의 증가로 하였다.

Fermentor 배양

40 L fermentor(New brunswick)를 이용하여 glucose 0.2%, tryptone 1%, yeast extract 0.2%, glutamic acid 0.2%, MgSO₄ 0.05%, NaCl 1%의 조성을 갖는 배지 25 L를 제조한 후(pH 7.0) 자동멸균하여 30°C에서 배양하였다.

결과 및 고찰

Glucose 농도에 의한 영향

Glucose 농도를 달리하였을 때의 배양시간에 따른 *Micrococcus* sp. LL3의 성장상태를 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1과 같이 glucose를 전혀 첨가하지 않은 대조구에서는 배양 8시간만에 lag phase가 완전히 끝났으나, glucose를 0.2% 첨가시에는 배양 6시간에 lag phase가 끝나고 배양 8시간에는 이미 log phase에 들어선 것을 알 수 있었다. 이는 glucose 농도 0.4% 첨가시에도 유사한 경향이었다. 그러나 glucose 0.6% 이상 첨가시에는 균의 성장이 현저하게 감소하였으며, glucose 농도가 높아짐에 따라 균 증식의 저해도 심한 것으로 나타났다.

한편 casein 용액에 glucose의 농도를 달리하여 36시간 동안 배양하였을 때의 유리되는 tyrosine 양은 Fig. 2에서와 같이 glucose 0.2% 첨가시 casein의 분해는 대조구에 비해 17% 증가한 결과였다. 그러나 glucose 0.5% 첨가시의 단백질 분해 효과는 다소 감소하였으며, 1% 첨가시에는 유리되는 tyrosine 양이 현저하게 감소하였다. 이는 glucose 0.6% 이상 첨가시에는 기질저해(substrate inhibition)로 균의 생육이 저해되어 그 결과 단백질 분해력이 감소하는 것으로 생각된다. 이상의 결과는 Desmazaud 등¹²⁾의 보고와 다소 차이가 있었으나 Mills 등¹³⁾의 보고와는 유사한 결과였다.

한편 Juffs¹⁴⁾은 *Pseudomonas aeruginosa* 172의 protease 생성은 첨가된 glucose에 의해 catabolite repression을 받고 있다고 하였다. 그러나 본 실험에 사용한 *Micrococcus* sp. LL3의 경우 proteolytic enzyme system 중 어느 특정효소의 활성을 측정하지는 않았지만,

glucose 0.2% 첨가시 까지는 균의 증식과 caseinolysis의 증가로 보아 Ratliff 등¹⁵⁾이 보고한 바와 같은 탄소원의 첨가에 의한 catabolite repression은 받고 있지 않은 것으로 생각된다.

탄소원의 영향

0.2%의 각기 다른 탄소원을 첨가하여 30°C에서 진탕 배양시키면서 배양 24시간 및 48시간 후의 균성장을 측정 한 결과는 Table 1과 같다.

탄소원으로 이용된 대부분의 단당류가 균의 성장을 촉진시키고 있었으며, 그중 glucose와 mannose첨가시 가장 좋은 효과를 나타내었다. 그러나 sucrose나 lactose와 같은 이당류의 당을 탄소원으로 사용하였을 경우에는 대조구에 비해 균의 성장이 감소하였으며, 특히 maltose첨가에 의해 심한 저해효과를 나타내었다. 또한 5탄당인 xylose와 arabinose를 탄소원으로 첨가시에도 균의 성장이 심하게 억제되었다.

한편 본균주에 의한 casein분해에 미치는 탄소원의 영향에 관한 실험에서, mannose나 glucose와 같은 단당류의 첨가시에는 대조구보다 17% 증가하였으나, 이당류에 의해서는 다소 억제되었다.

McDonald¹⁶⁾는 *Micrococcus* sp. 407을 이용한 실험에서 0.5%의 glucose를 첨가시 균성장이 감소하였으며, 오히려 maltose 0.5% 첨가에 의해 균의 성장 및 proteinase 생

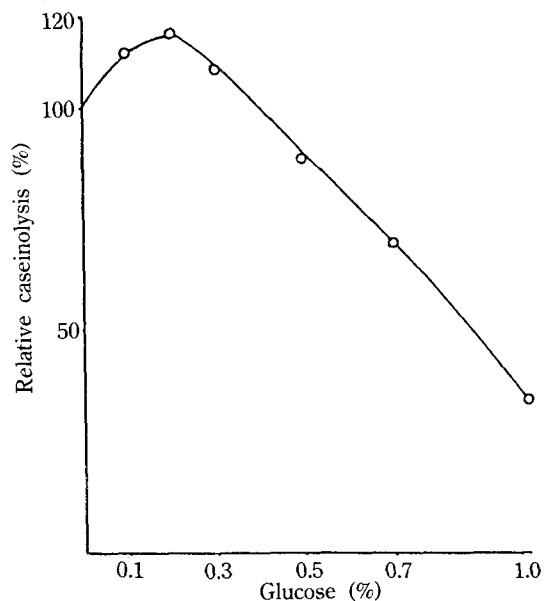


Fig. 2. Effect of glucose concentration on caseinolysis.

성이 촉진되었다고 하여 본 실험과 다소 상반되는 결과였다. 이러한 탄소원에 의한 균성장의 차이에 관하여는 Williams 등¹⁷⁾이 *M. freudenrichii* 407을 사용한 당의 투과와 이용에 관한 실험에서, 본 균주는 maltose와 maltoligosaccharide를 glucose로 분해시키지 않고 직접 이용할 수 있었으나, glucose, isomaltose, sucrose, maltitol 등은 투과시킬 수 없었다고 보고한 바와 같이 균의 성장은 균에 의한 당의 투과성(permeability)과 밀접한 관계가 있는 것으로 생각된다. 또한 Thomas 등¹⁸⁾도 *Str. lactis*와 *Str. cremoris*를 이용한 연구에서 탄소원에 의한 균성장의 차이는 균주의 phosphoenolpyruvate phosphotransferase system(PTS) 등에 의한 당의 transport system과 밀접한 관계가 있었다고 하였다.

Table 1. Effect of carbon source on cell growth and caseinolysis

Carbon source	O.D at 660 nm		Liberated tyrosine (µg/ml)	Relative caseinolysis (%)
	24 hr	48 hr		
None	2.21	2.55	69.2	100
D-Glucose	2.49	2.68	80.9	117
D-Mannose	2.45	2.67	80.6	117
D-Fructose	2.46	2.66	80.3	116
D-Galactose	2.32	2.60	76.8	111
Sucrose	2.01	2.28	57.4	83
Lactose	1.87	2.19	56.1	81
Maltose	1.73	2.01	52.6	76
D-Xylose	1.48	1.79	26.3	38
D-Arabinose	1.40	1.71	20.8	30
D-Mannitol	2.28	2.57	69.4	100

Table 2. Effect of nitrogen source on cell growth and caseinolysis

Nitrogen source	O.D at 660 nm		Liberated tyrosine (µg/ml)	Relative caseinolysis (%)
	24 hr	48 hr		
None	2.41	2.55	62.1	100
Yeast extract	2.68	2.68	76.4	123
Beef extract	2.64	2.68	75.1	121
Malt extract	2.58	2.68	67.7	109
Peptone	2.63	2.68	72.0	116
Casein hydrolysate	2.51	2.68	65.2	105
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.30	2.68	55.3	89
NH ₄ NO ₃	2.15	2.68	49.1	79
KNO ₃	1.91	2.68	27.3	44
Urea	1.51	2.68	13.0	21

질소원의 영향

질소원의 종류를 달리하여 각 질소원을 0.2%씩 첨가하였을때, 균의 성장 및 단백질 분해 효과의 결과는 Table 2와 같다. Yeast extract를 질소원으로 사용시 가장 좋은 효과를 보였으며, beef extract나 peptone도 좋은 결과를 나타내었다. 그러나 NH₄NO₃, KNO₃ 등의 무기질소원을 사용시에는 균성장 및 단백질분해 효과가 감소하였으며, 특히 질소원으로 urea를 사용시 단백질분해 효과가 현저하게 감소하여, 질소원을 첨가하지 않은 경우의 21%에 지나지 않았다.

한편 질소원으로서의 yeast extract 농도를 달리하여 30°C에서 진탕배양 하였을때, 48시간 후의 균의 성장은 Fig. 3에서와 같다. 본 실험에서 yeast extract농도 0.2% 첨가시 균의 성장이 좋았다. 또한 0.3%이상 첨가시에도 탄소원의 경우와는 달리 yeast extract농도에 의한 균의 저해현상은 없었다.

무기염류의 영향

각종 무기염을 0.05%씩 첨가하여 30°C에서 48시간 배양후 균의 성장을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 첨가된 무기염류중 MgSO₄에 의해 균성장이 다소 촉진되었으며, casein 분해효과도 13% 증가되었다. 또한 CaSO₄ 첨가시에도 비슷한 효과를 나타내었다.

MnCl₂, NiCl₂, CoCl₂는 본균주의 성장 및 casein 분해효과에 영향을 미치지 않은 것으로 나타나, 대조구와 같은 결과였다. 그러나 FeSO₄와 CuSO₄는 본균주의 증식을 억제시켰을 뿐 아니라 casein분해도 저해하였다.

이는 McKellar 등¹⁹⁾이 *P. fluorescens* B52의 무기염이 protease생성에 미치는 영향에 관하여 Ca⁺⁺이온을 1.0 mM 첨가시 균의 성장에는 영향을 미치지 않았지만 효소활성에 커다란 증가효과가 있었고, Zn⁺⁺이온의 첨가에 의해서는 균의 성장과 효소활성이 다소 저해되었

다고 보고한 것과 유사한 결과였다. 그러나 이들의 실험에서 Mg⁺⁺ 및 Mn⁺⁺이온의 경우는 균의 성장과 효소활성에 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

NaCl농도에 의한 영향

NaCl의 농도를 달리하여 30°C에서 배양하였을 때 48시간 후의 균성장은 Fig. 4에서와 같다.

즉 NaCl 농도 3%까지의 첨가에 의해서는 균의 성장이 저해받지 않았으며, NaCl 1%첨가시에는 오히려 균의 성장이 다소 증가하는 경향을 보였다. 또한 NaCl 7%의 농도에서도 균의 성장이 좋았으나, 9% 첨가시에는 균의 증식이 감소하였다. 본 실험의 결과로 *Micrococcus* sp. LL3는 NaCl 9%의 높은 농도에서도 생육가능한 내염성 세균임을 알 수 있다.

한편 casein 분해에 관하여는 NaCl 3% 첨가시까지 casein으로부터 유리되는 tyrosine양의 변화가 없었으나, 7%와 9%첨가시에는 각각 54% 및 16%의 효과를 나타내었다. 이는 고농도의 NaCl에 의한 효소활성의 감소에

Table 3. Effect of metal ion on cell growth and caseinolysis

Metal ion	O.D at 660 nm	Liberated tyrosine (µg/ml)	Relative caseinolysis (%)
	48 hr		
None	2.60	68.8	100
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.68	77.7	113
CaSO ₄	2.67	77.1	112
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.58	67.4	98
FeSO ₄ ·2H ₂ O	2.38	61.2	89
CuSO ₄ ·5H ₂ O	2.34	59.2	86
MnCl ₂	2.61	70.2	102
NiCl ₂	2.60	69.5	101
CoCl ₂	2.60	70.2	102
ZnCl ₂	2.49	64.0	93

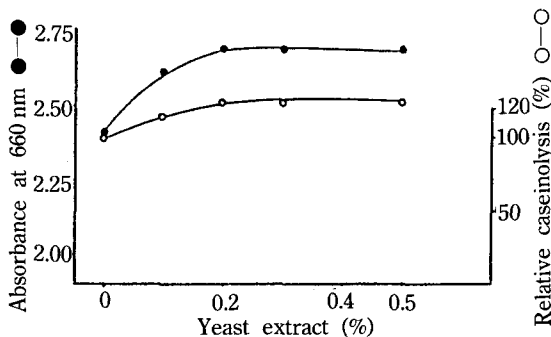


Fig. 3. Effect of yeast extract on cell growth and caseinolysis.

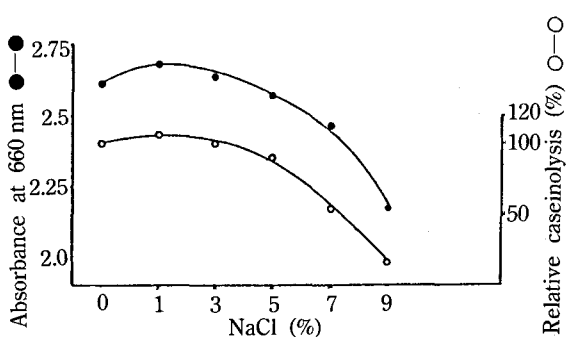


Fig. 4. Effect of NaCl on cell growth and caseinolysis.

기인하는 것으로 생각된다.

이상의 결과는 Desmazeaud 등¹²⁾이 *M. caseolyticus*의 배양조건에 관한 실험에서 NaCl 0.5% 첨가시 단백분해 효소의 생성이 촉진되었으며, NaCl 0.5%이후 7.2% 첨가시까지도 효소활성 및 균의 성장에 저해가 없었다는 보고와 유사하였다.

아미노산 및 비타민의 영향

몇가지 아미노산과 비타민이 본 균주의 생육 및 단백분해력에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각각의 아미노산을 0.2%, 비타민을 0.1 µg/ml의 농도로 첨가하여 30°C에서 배양시켰다.

Table 4에서와 같이 대부분의 아미노산이 균의 성장 및 단백분해력에 좋은 효과가 있는 것으로 나타났으며, 특히 L-glutamic acid를 첨가시 가장 높은 효과를 보였다. 또한 L-alanine과 L-glycine도 좋은 결과를 나타내었으나, L-valine과 L-isoleucine을 첨가시에는 균의 성장과 단백분해 효과가 감소하였다. 한편 leucine과 phenylalanine의 D형과 L형의 isomer를 각각 첨가하여 입체 특이성(stereospecificity)을 조사한 결과 D형과 L형의 아미노산을 각각 첨가시, 어느 경우에도 균체증식 및 단백분해 효과를 저해하지 않았다.

그러나 D형의 아미노산은 L형의 아미노산에 비해 균체 성장의 촉진효과는 거의 없었다. 또한 각종 비타민의 경우 첨가된 0.1 µg/ml의 농도에서는 균체생육과 단백분해 효과에 영향을 미치지 않았다.

Sashital 등²⁰⁾은 L-valine, L-leucine, L-isoleucine과 같은 branched chain을 갖는 아미노산이 protease생성은

저해한 반면, 이들 아미노산은 균의 성장을 촉진시켰다고 하여 아미노산 첨가에 의한 균성장 효과와 protease생성 효과와의 상반되는 결과를 보고하였으나 본 실험에서는 상반되는 결과가 나타나지 않았다.

또한 Neumark 등²¹⁾은 첨가된 아미노산에 의해 균의 성장은 촉진되었으나 protease생성은 현저하게 감소하였다고 하면서, 아미노산 첨가에 의한 protease 생성의 억제효과(repression)를 보고하였다. 아미노산에 의한 이러한 효소생성의 저해에 관하여, Moravcova 등²²⁾은 mRNA의 합성단계인 transcription level에서 저해된다고 그 저해 기작을 밝힌 바 있다.

이상의 아미노산에 의한 *Micrococcus* sp. LL3의 생육과 casein분해에 미치는 영향에 관한 실험에서 많은 미생물의 protease 생성은 아미노산의 첨가에 의해 end product repression을 받는다고 보고한 것과는 달리, 본 실험에서는 0.2%의 아미노산을 첨가시 단백질 분해효과에 end product repression을 받지 않는 것으로 나타났다. 이는 McDonald 등²³⁾이 *M. freudenreichii* 407을 이용한 실험에서, 첨가된 대부분의 아미노산에 의해 균의 성장 및 protease 생성이 억제되기 보다는 촉진되었다고 보고한 것과 유사한 결과였다.

Fermentor 배양

지금까지 검토된 조성의 배지를 제조 후 40 L fermentor를 이용하여 25 L를 배양하였다. 이때 배양시간에 따른 균의 성장과 intracellular aminopeptidase이 활성을 측정하여 500 ml Erlenmyer flask에 100 ml를 가하여 진탕배양(120 rpm)한 flask 배양과 비교하였다.

Table 4. Effect of amino acid and vitamin on cell growth and caseinolysis

Amino acid (0.2%)	O.D. at 660 nm	Relative caseinolysis(%)	Vitamin (0.1 µg/ml)	O.D. at 660 nm	Relative casenolysis(%)
	48 hr			48 hr	
None	2.58	100	Riboflavin	2.61	104
L-Glutamic acid	2.68	114	Biotin	2.60	101
L-Aspartic acid	2.57	100	Pyridoxine HCl	2.61	102
L-Alanine	2.64	111	Thiamine HCl	2.58	100
L-Glycine	2.64	112	Ca-pantothenate	2.59	100
L-Lysine	2.58	100	p-Aminobenzic acid	2.59	100
L-Phenylalanine	2.64	112			
D-Phenylalanine	2.59	100			
L-Leucine	2.62	108			
D-Leucine	2.56	99			
L-Histidine	2.53	94			
L-Valine	2.31	87			
L-Isoleucine	2.27	79			

Table 5. Comparison of cell growth and enzyme activities between flask and fermentor cultures

Culture type		Culture time(hour)						
		6	10	16	24	30	36	48
Flask	Growth	0.15	0.65	1.70	2.49	2.56	2.62	2.68
	Activity	0.9	1.47	2.3	2.82	2.68	2.40	2.12
Fermentor	Growth	0.08	0.25	0.89	1.88	2.19	2.33	2.50
	Activity	0.41	0.7	1.32	1.63	2.14	2.10	2.08

Growth : O.D at 660 nm

Activity : Specific activity unit/min/mg protein

Table 5와 같이 fermentor에서의 균체성장과 효소활성이 flask배양시 보다 낮은 것으로 나타났다. 즉 flask 배양시 24시간 후의 균의 성장은 O.D값으로 2.49이었으나, fermentor배양시에는 1.88이었다. 이는 flask배양시 18시간동안 배양하였을 때의 균의 성장과 같았다. 또한 intracellular aminopeptidase활성의 증가도 균의 성장과 유사한 결과를 보였으며, 배양 30~36시간에서 효소활성이 가장 높았다.

그러나 이때 본효소의 specific activity는 flask배양시 보다 낮은 2.14 unit/min/mg protein 이었다. 이와같이 fermenter 배양시 다소 낮은 효소활성은 scale-up에 따른 배양최적화가 이루어지지 않았기 때문인 것으로 생각된다.

이상에서와 같이 *Micrococcus* sp. LL3의 생육 및 단백질분해를 위한 배지조성을 검토한 결과 탄소원 및 질소원으로 glucose 0.2%와 yeast extract 0.2%를 첨가할 경우 증진효과가 있었으며, 특히 본균주의 생육에 비타민 등 까다로운 영양물질을 요구하지 않아 산업적인 배지로서의 가능성도 보여 주었다. 또한 3%의 NaCl 농도에 있어서도 균의 생육 및 단백질분해에 저해가 없어 Cheddar치즈 제조시 *Micrococcus* sp. LL3의 첨가는 치즈 숙성중 casein의 분해를 촉진시켜 숙성기간의 단축에 기여할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 논문에 사용된 균주와 실험기구를 제공해 주신 미국 University of Wisconsin-Madison, Department of Food Science의 Dr. E.H. Marth교수께 깊은 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. Law, B.A., Castanon, M.J. and Sharpe, M.E. : J. Dairy Res., 43 : 301(1976)
2. Peterson, S.D. and Marshall, R.T. : J. Dairy Sci., 73 : 1395(1990)
3. Prasad, R., Malik, R.K. and Marthure, D.K. : Asian J. Dairy Res., 3(1) : 25(1984)
4. Feagan, J.T. and Dawson, D.J. : Aust. J. Dairy Tech., April 59(1959)
5. Alford, J.A. and Frazier, W.C. : J. Dairy Sci., 33 : 107(1950)
6. Marth, E.H. : J. Dairy Sci., 46 : 869(1963)
7. Bhowmik, T. and Marth, E.H. : J. Dairy Sci., 73 : 1675(1990)
8. Baribo, L.E. and Foster, E.M. : J. Dairy Sci., 35 : 149(1952)
9. Bhowmik, T. and Marth, E.H. : J. Dairy Sci., 71 : 2358(1988)
10. Vaidyanathan, A., Pawse, A.W. and Tamhane, D.V. : India J. Dairy Sci., 28 : 119(1975)
11. El. Soda, M. and Desmazeaud, M.J. : Can. J. Microbiol., 28 : 1181(1982)
12. Desmazeaud, M. and Hermier, J. : Ann. Biol. Ani. Bioch. Biophys., 8(3) : 419(1968)
13. Mills, C. and Campbell, J.N. : Can. J. Microbiol., 20 : 81(1974)
14. Juffs, H.S. : J. Appl. Bacteriol., 40 : 23(1976)
15. Ratliff, T.L., Stinson, R.S. and Talburt, D.E. : Can. J. Microbiol., 26 : 58(1980)
16. McDonald, J. : Can. J. Microbiol., 7 : 111(1961)
17. Williams, P.J. and McDonald, J. : Can. J. Microbiol., 12 : 1213(1961)
18. Thomas, T.D., Turner, K.W. and Crow, V.L. : J. Bacteriol., 144(2) : 672(1980)
19. McKellar, R.C. and Cholette, H. : J. Dairy Sci., 68 : 3216(1985)
20. Sashital, K.S. and Zimmerman, L.M. : Can. J. Microbiol., 14 : 1265(1968)
21. Neumark, R. and Citri, N. : Biochem. Biophys. Acta., 59 : 749(1962)
22. Moravcova, J. and Chaloupka, J. : Folia Microbiol., 29 : 273(1984)
23. McDonald, I.J. and Chambers, A.K. : Can. J. Microbiol., 12 : 1175(1966)

Effects of cultural conditions on growth of *Micrococcus* sp. and casein hydrolysis : (I) Studies on compositions of media

Si-Kyung Lee, Hyun-Kyu Joo* and Un-Hau Pek(Doosan Technical Center, Seoul 150-020, Korea, *Department of Agricultural Chemistry, Kon Kuk University, Seoul 133-701, Korea)

Abstract : This study was carried out to determine the effects of media compositions on cell growth and casein hydrolysis for cell production in order to add *Micrococcus* sp. LL3 as a potential agent for industrial application for the shortening of ripening period. Monosaccharides like glucose, mannose and fructose were more excellent as carbon source, but arabinose and xylose markedly inhibited cell growth and caseinolysis. Among the organic nutrients, yeast extract was more effective for cell growth and for caseinolysis. However, inorganic nitrogen sources were less effective than organic sources. Urea inhibited cell growth severely. Cell growth and caseinolysis were rather increased a little in the broth containing 1% NaCl, and the organism tolerated and grew in relatively high concentrations of NaCl up to 9%. Addition of vitamin did not affect cell growth and caseinolysis in level of 0.1 μ /m^l concentration. Cell growth and caseinolysis were stimulated by addition of glutamic acid and MgSO₄ with concentration of 0.2% and 0.05% respectively.