

유청으로부터 유용물질 생산 :  
*Zoogloea ramigera*에 의한 Zooglan 생산에서 탄소원의 영향

\*김 동 운 · 이 재 찬 · †이 기 영 · 류 화 원 · 김 재 형  
전남대학교 생물화학공학과, \*광양전문대학 석유화학과

A Useful Material Production from Whey :  
Effect of Carbon Sources on Zooglan Production by *Zoogloea ramigera*

Dong-Woon Kim\*, Jae-Chan Lee, Ki-Young Lee†, Hwa-Won Ryu and Jae-Hyung Kim

Dept. of Biochemical Eng., Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

\*Dept. of Petrochemistry, Kwangyang Junior College, Kwangyang 545-800, Korea

ABSTRACT

Effects of carbon sources on zooglan production by *Zoogloea ramigera* were investigated. The production of zooglan was varied according to the carbon sources used. The largest amount of zooglan was obtained when lactose was used as carbon source, and fermentation broth with lactose showed the higher viscosity. The effects of carbon sources was in decreasing order of lactose, glucose, galactose and sucrose. The viscosities of purified zooglan solutions(5g/L) obtained from different carbon sources were measured. When lactose was used, the viscosities of zooglan solutions was quite high and other carbon sources such as glucose and galactose gave little lower viscosities than lactose but sucrose gave very low values. On the other hand, it could be postulated that most of lactose is hydrolyzed by intracellular  $\beta$ -galactosidase.

서 론

유청(whey)은 치즈와 casein 제조시에 생성되는 액체 성분의 대표적인 유가공 부산물로 유청 단백질과 유당이 풍부하기 때문에 유청분말, 유산, 비타민류의 제조원료 혹은 식품사료 등의 원료로 이용될 수 있다. 일반적으로 1kg의 치즈 생산시 약 7.8kg의 유청이 생산된다(1). 유청은 BOD가 높아 큰 환경문제를 일으키고 있고 유용자원의 폐기라는 문제를 안고 있어 효과적인 재활용이 시급히 요청된다. 그래서 선진국에서는 유청으로부터 생분해성이며 점성이 강하고 중금속

흡착능력이 높은 생물고분자를 생산하여 폐수처리에 사용되는 기존 수처리제 대용 및 중금속 흡착제로 사용하려는 연구가 진행되고 있다(2, 3).

*Z. ramigera* 115(ATCC 25935)는 1968년 Friedman과 Dugan이 하수로부터 최초로 분리한 그람 음성(Gram-negative), floc을 형성하는 호기성 균주이다(4). 또한, 이 균주는 여러 종류의 탄소원과 질소원에서 다당류를 생산할 수 있는 것으로 알려졌다(5). Sinskey 등은 zooglan의 높은 점성과 안정성 등의 장점으로 인하여 응집제로의 사용 가능성을 제시하였다(5). 그러나, *Z. ramigera* 115에 의한 zooglan 생산에 대한 지금까지의 연구는 주로 탄

† Corresponding Author

소원(glucose) 농도가 25g/l 이하인 낮은 농도에서 이루어졌으나, 치즈 제조시 부산물인 유청을 희석시키지 않고 직접 이용하는 것이 산업적 부산물의 효율적인 이용이란 점에서 바람직하다.

따라서 본 연구에서는 높은 점도와 분자량, 그리고 pH, 열, 기계적 전단응력에 대하여 매우 안정하여 여러 문헌에서 미생물 유래의 응집제로의 사용 가능성이 제시되고 있는 zooglan을 유청으로부터 생산하여 환경분야에 응용하는 데에 본 연구의 목적이 있으므로 유청의 주성분인 lactose와 이의 가수분해물인 glucose와 galactose의 농도를 유청중의 lactose 농도와 비슷한 45g/l로 하여 zooglan 생산에 있어서 탄소원이 미치는 영향을 고찰하여 유청의 효율적인 이용을 위한 기초 실험을 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 미생물

본 실험에 사용된 균주는 대표적 floc 생성균인 *Zoogloea ramigera* 115(ATCC 25935)를 미국으로부터 구입 사용하였다.

### 배지 및 균주 보관

미생물의 활성을 계속 유지시키기 위하여 lactose semi-defined medium(LSM)에 1.8%의 agar를 첨가한 agar plate에 일주일 간격으로 계대배양시켜 4°C의 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 플라스크 및 생물반응기에서 배양하기 위한 LSM 배지의 조성(g/l)은 lactose · H<sub>2</sub>O, 45; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1.46; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.8; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.6; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.6; CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 0.04; FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.0019; CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 0.001; ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.001; CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O, 0.001; MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, 0.001; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 0.001; yeast extract, 1.8이었으며 NaOH로 pH를 7.0으로 조정하였다(6, 7).

### 배양실험

플라스크 배양은 한천배지에 보관한 균주를 500ml 삼각플라스크에 담긴 150ml의 멸균된 배지에 한 백금이를 접종하여 진탕배양기에서 28°C, 175rpm의 조건으로 배양하였다. 발효조실험을 위한 전배양은 LSM agar plate상의 균주 한 백금이를 LSM 배지에 접종하여 28°C, 175rpm으로 진탕배양기에서 36시간 배양하였으며, 발효조 실험은 2.5l-발효조(NBS, Bioflow II)를 사용하였고 조업용량은

2l로 하였다. 공기는 1vvm으로 공급하였고, 교반속도는 990rpm, 온도는 28°C로 유지시켰으며, pH는 7로 유지시켰다.

### 균체량의 측정

세포농도는 660nm에서 분광광도계(Milton-roy, Spectronic 20D)로 혼탁도를 측정하여 검량선에 의하여 환산하였다.

### 생물고분자(Zooglan) 농도 측정

생성된 생물고분자는 배양액에 propanol의 첨가로 형성된 침전물의 건조중량을 측정함으로써 결정하였다. 발효 배양액 20ml에 3배의 propanol을 첨가한 다음 격렬하게 혼든 후 4°C의 냉장고에 24시간 놓아 둔다. 그 후 미리 중량을 측정해 둔 Whatman No. 2 여과지로 거른 후 60°C의 진공오븐에서 항량(constant weight)이 될 때까지 건조시켜 중량을 측정하였다. 침전물의 총 중량에는 균체량도 포함되어 있으므로 위에서 결정한 균체량을 뺀 건조중량을 정제되지 않은 생물고분자(crude zooglan)의 건조중량으로 하였다.

### 잔류 기질의 농도측정

발효액 중 잔류기질의 농도는 HPLC를 사용하여 측정하였다. HPLC는 Waters 회사제품으로 컬럼은 sugar pak II, 용리액은 0.5g/l의 Ca EDTA 수용액을 사용하였고 용리액의 온도는 90°C였으며, 유량은 0.5ml/min이고, 검출기는 RI detector를 사용하였다.

### 유당가수분해효소( $\beta$ -galactosidase)의 활성 측정

유당가수분해효소의 활성을 Lederberg(8)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 0.05M- sodium phosphate buffer(pH 6.8)에 o-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactoside (ONPG, Wako Pure Chemical Industry)를 5mM 되도록 용해한 기질용액 2ml를 60°C로 예온한 후 적절히 희석한 효소액 0.5ml를 가하고 60°C에서 10분간 반응 후 급냉시키면서 1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 2.5ml를 가해서 반응을 정지시킨 다음 발색된 황색의 흡광도를 420nm에서 측정하였다. Blank는 기질용액만을 10분간 incubation하고 급냉하면서 반응정지액 2.5ml를 먼저 가한 다음 동량의 효소액을 넣어서 흡광도를 측정하였다. 효소역가는 o-nitrophenol의 유리량을 표준곡선으로부터 산출, 표시하였으며 상기조건에서 1분 동안에 1 $\mu$  mole의 o-nitrophenol을 유리하는 효소량을 1단위로 하였다.

### 생물고분자(Zooglan)의 정제

Zooglan의 구성 성분과 유변학적 성질을 측정하기 위해서는 정제된 zooglan이 필요하므로 다음과 같은 절차를 거쳐 발효배양액 중에서 순수한 zooglan을 얻었다. 발효 최종배양액은 점성이 너무 커서 원심분리에 의해 세포와 생성물을 분리할 수 없기 때문에 먼저 발효액을 원심분리시키기 전에 10배의 증류수로 희석시킨 후 15,000rpm에서 20분간 원심분리시켰다. 이렇게 원심분리를 시키면 3개의 층, 즉 원심분리 tube의 바닥에 적은 양의 cell pellet, 중간층에 다당류와 cells(capsular material)층, 그리고 투명한 상등액으로 명확히 구분된다. 이때 상등액은 따라내어 보관하고 capsular material은 cell pellet이 섞이지 않도록 다른 원심분리 tube에 옮겨 놓는다. Vortexing은 협막형 다당류로부터 세포를 분리하는데 도움이 되므로 capsular material에 증류수를 첨가시킨 다음 격렬하게 vortexing 시킨 후 다시 원심분리를 시킨다. 충분히 만족할 만큼 세포가 없는 다당류가 얻어질 때까지 이러한 공정을 반복 시행하여 상등액을 모아 놓는다. 이렇게 모아놓은 용액은 환외여과(ultrafiltration)에 의해 염 및 단백을 제거한 후 48시간 동안 동결건조(freeze drying)시킨 후 분말화시켜 보관하면서 zooglan의 구성 성분 및 점도 측정 등의 물성 연구에 사용하였다.

### 배양액의 점도 측정

발효액의 점도 및 정제된 zooglan의 점도는 Brookfield RVT DV II viscometer를 사용하여 측정하였다.

### 광학현미경 검사

액체배지에서 세포가 증식하는 동안 시료를 채취하여 카메라가 장착된 광학현미경(Olympus CH<sub>2</sub>, 1000X)을 사용하여 사진을 찍었으며, 사진을 통하여 접종액의 상태 및 발효 진행상태를 확인하였다.

### 발효조 배출기체 분석

발효조에 기체 분석기(GC-9A, Shimadzu)를 연결하여 발효 배출기체의 조성을 분석하였다.

### 평균 분자량의 결정

Hydrodynamic volume에 따라 시료가 분리되는 ultrahydrogel column과 PEO(poly-ethylene oxide) 표준물을 사용한 GPC system을 이용하여

zooglan 발효액의 평균 분자량을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 진탕배양기를 이용한 플라스크 배양실험

탄소원 농도를 유청중의 lactose농도와 비슷한 45g/l를 사용하여 28°C, 175rpm으로 shaking incubator에서 배양시켜 발효 7일 후의 발효액 상태를 Table 1에 나타내었다. 탄소원이 lactose인 경우 zooglan의 생산량 및 점도가 가장 컸고, 다음으로 glucose, galactose, sucrose, maltose, fructose 순이었다. 세포의 증식은 fructose의 경우가 가장 높았고, 당 소비는 glucose인 경우가 가장 활발하였으며, 당소비와 함께 높은 점성을 나타내었으나 생성물량은 3g/l 이하였다. pH는 초기에는 6.8~6.9였으나 유기산 등의 증가로 인해 모두 5.0 이하로 떨어졌다.

### 탄소원으로 Lactose 혹은 Whey를 사용한 발효조 실험

치이즈 생산 후의 부산물인 whey의 주성분이 lactose이므로 먼저 lactose를 가지고 발효실험을 실시하였다. Lactose의 농도를 45g/l로 한 실험결과를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1은 발효시간에 따른 당 소모, 건조균체량, 배출기체 중의 이산화탄소 분율, 점도변화 및 zooglan량을 나타내었다. 세포성장과 함께 lactose는 신속히 소비되어 30시간에 이르러 lactose는 거의 소비되고, 분해된 glucose와 galactose의 양은 12시간까지 증가하다가 세포성장 및 zooglan 생성에 이용되면서 점점 감소하여 48시간에 이르러 모든 당이 소비되었다. 균체량은 18시간까지 급격히 증가하여 1.8g/l에 이르렀으며, 균체량이 급격히 증가하는 기간에는 배출기체 중의 이산화탄소 분율 또한 높게 나타남을 보여주고 있다. 본 연

Table 1. The broth of flask culture after 7 days.

	DCW* (g/l)	Final sugar conc. (g/l)	Viscosity (cp)	Product (g/l)	Final pH
Lactose	4.0	8.9	1160	11.0	4.6
Glucose	5.8	2.9	450	2.9	4.6
Galactose	4.9	11.1	80	2.8	4.6
Sucrose	7.1	18.3	20	2.1	4.9
Fructose	7.5	20.3	145	1.8	4.4
Maltose	6.2	10.2	20	2.3	4.9

\* Dry cell weight

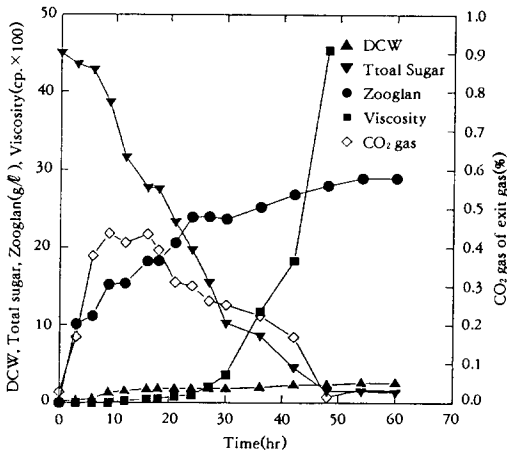


Fig. 1. Kinetics of fermentation of lactose by *Z. ramigera*.

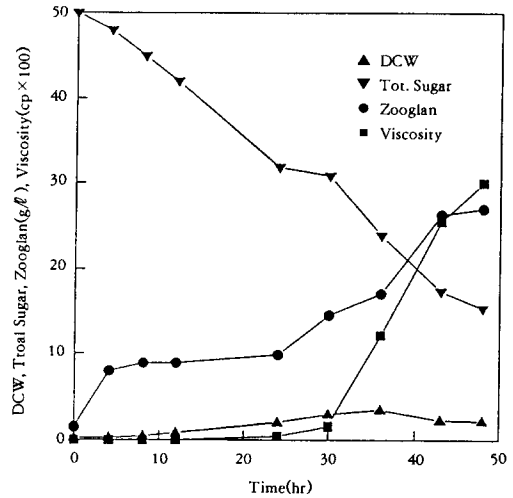


Fig. 3. Kinetics of fermentation of whey permeate by *Z. ramigera*.

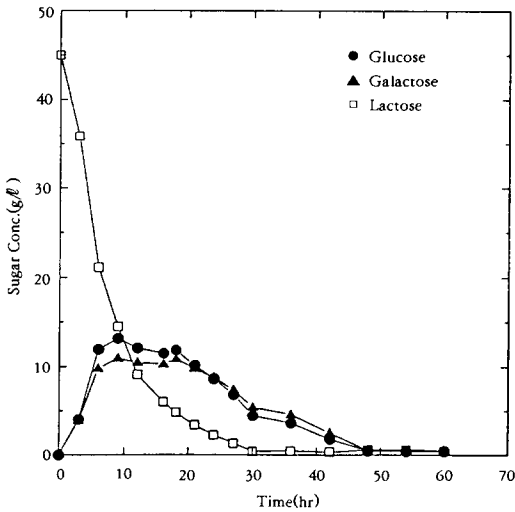


Fig. 2. Kinetics of sugar utilization in culture medium. Initial carbon source is lactose.

구에서 생성된 생성물은 고점성 물질이므로 걸보기 점도의 증가로서 생성물의 변화추이를 파악할 수가 있다. 점도는 발효 시작후 24시간부터 증가하기 시작하여 발효시간 48시간에는 4,540 cp.의 점도를 보 이다가, 매우 급격히 증가하여 54시간 이후에는 spindle No. 21의 점도 측정 최대치(5,000 cp.)를 넘 었다. Zooglan량은 발효 60시간에는 28g/l 이상 생산되었다. 당소모는 Fig. 2의 발효액 중의 당 조성 의 변화에서 보는 바와 같이 발효시작 10시간 이후

에 공급 유당의 40% 이상이 glucose와 galactose 로 발효액에 존재하여  $\beta$ -galactosidase의 활성이 뛰 어남을 알 수 있다.

Whey permeate를 사용한 zooglan 생산 실험결 과를 Fig. 3에 나타내었다. Whey permeate는 lac tose를 50g/l 함유하였다. 발효액의 점도는 24시간 에 45 cp. (shear rate 10sec<sup>-1</sup>)였고 이후 계속 증가 하여 42시간에 2,550 cp.의 높은 점도를 나타냈다. 발효 48시간이 경과하면서부터 pH 전극의 sensor부 분(tip)에 이물질이 단단히 붙어 있어 pH control에 문제가 생겼고 발효액 중에 기포가 많이 생겨 정확 한 점도 측정이 곤란한 상태가 되어 발효를 중단하 였다. 발효 초기에 많은 양의 거품이 발생하여 잘 제 거되지 않았지만 발효액 점도나 기질인 lactose와 분해산물인 glucose, galactose의 조성 변화는 탄소 원의 농도가 같은 lactose로의 발효실험 결과와 흡 사하였다.

유당가수분해효소의 활성 측정

유당을 이용할 수 있는 미생물은 세포 밖 혹은 안 에 유당 가수분해효소가 존재한다. 세포 밖에 가수 분해효소를 배출하는 미생물은 대부분이 효모나 곰 광이이고 박테리아의 경우는 가수분해효소가 세포안 에 존재한다(9). Fig. 2는 발효액 안에 있는 단당 및 2당의 농도로 발효시작 10시간 후에 40% 이상의 유당이 glucose와 galactose로 가수분해됨을 보인

Table 2.  $\beta$ -galactosidase activity of fermentation broth including lactose.

Time (hr)	Dry cell weight (g/l)	Supernatant activity (U/ml)	Broth activity (U/ml)	Specific broth activity (U/mg)
4	0.1	0	0.46	4.6
24	5.77	0.012	286	49.6
36	5.72	0	300	52.4
48	5.8	0	254	43.1

다. 이는 상당히 강한 유당 가수분해효소가 존재함을 의미한다. 이 유당가수분해 효소가 세포내 혹은 세포외에 존재하는지를 확인하기 위해 발효액과 원심상등액의 유당가수분해 효소의 활성을 측정하였다. Table 2는 측정결과로서 발효시작 후 24시간 이상의 발효액에서 효소 활성은 200U/ml 이상을 보였지만 원심상등액에서 효소의 활성은 감지되지 않았다. 원심분리 과정에서 세포외효소가 분리되었을 가능성이 배제되지 않았지만 효소의 대부분이 세포 안에 존재함을 확인하였다. 이로서 유당의 대부분은 세포안에 흡수되어 유당분해효소의 작용을 받아 단당으로 분해된 후 다당합성에 이용되는데 이때 이용되지 않은 단당들은 세포외로 배출되었다가 다시 단당의 형태로 재흡수되었다고 추측된다.

탄소원으로 Glucose 혹은 Galactose를 사용한 발효조실험

*Z. ramigera* 115를 이용하여 zooglan을 생산하는 기존의 보고 자료에서는 탄소원으로 주로 glucose를 사용하고, 농도는 25g/l 정도를 사용하였다(2, 10, 11). 본 실험에서는 lactose의  $\beta$ -galactosidase에 의한 분해 산물인 glucose와 galactose의 농도를 whey중의 당농도와 비슷한 45g/l로 하여 zooglan 생산 추이를 알아보고, 이당류와의 비교를 위한 실험을 행하였다. Fig. 4는 glucose 농도 45g/l의 발효실험 결과이고, Fig. 5는 동일한 농도의 galactose를 사용한 실험결과이다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 발효액 점도는 초기에 낮은 값을 보이다가 24시간부터 증가하기 시작하다가 40시간 이후부터 급히 증가하나 60시간에서의 점도는 685 cp.로 lactose의 경우보다 낮은 값을 보이다 발효 120시간에는 3,230 cp.에 이른다. 비증식속도는 이산화탄소 발생량과 같이 12시간 경에 가장 컸으며 건조세포량은 계속 증가하여 60시간에 4.6g/l를 나타내었다. 당소모는 세포의 성장이 활발한 구간에서 당소모가 급

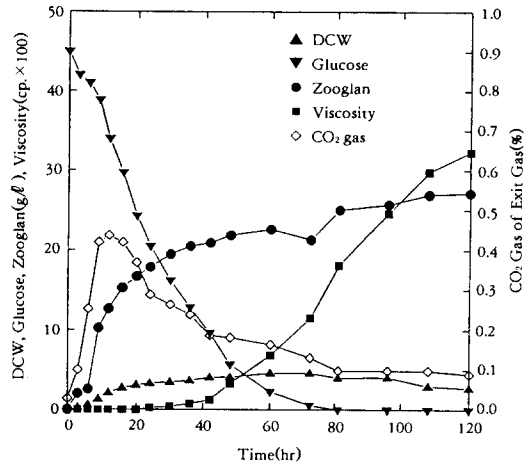


Fig. 4. Kinetics of fermentation of glucose by *Z. ramigera*.

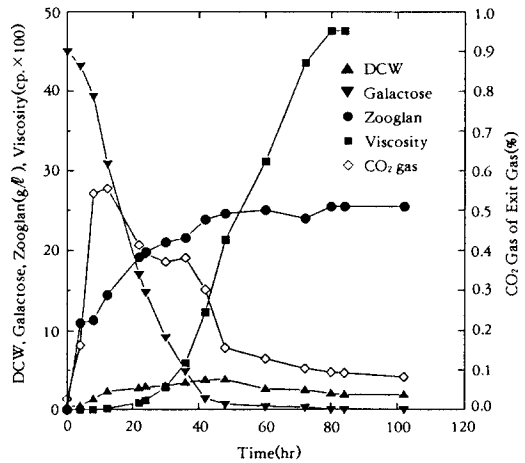


Fig. 5. Kinetics of fermentation of galactose by *Z. ramigera*.

격히 일어나 발효시간 80시간에서 기질이 고갈되었다. Zooglan량은 lactose의 경우와 마찬가지로 점도의 증가와 함께 계속 증가하여 발효시간 120시간에는 27g/l가 되었다.

한편, Fig. 5는 탄소원으로 galactose를 사용한 실험결과로 시간의 경과에 따른 당소모, 균체량, 이산화탄소 발생량, 점도 및 zooglan 생성량을 나타내었다. 대체적으로 glucose의 경우와 비슷한 경향을 보이나 glucose보다 약간 빠른 진행속도를 보여주고 있다. 점도는 발효 초기부터 서서히 증가하기 시작하여 24시간에 115 cp.를 나타내면서 급히 증가하여

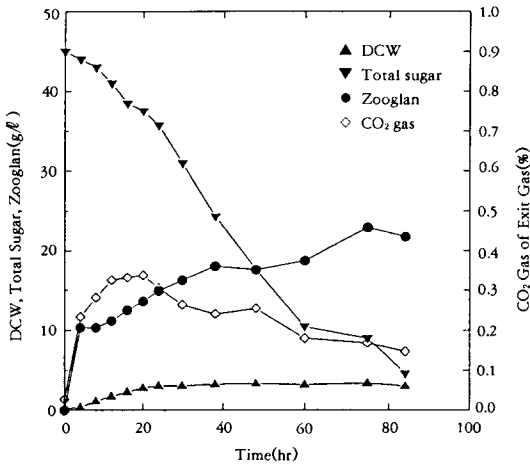


Fig. 6. Kinetics of fermentation of sucrose by *Z. ramigera*.

발효 80시간에는 4,760cp.에 이르렀고, 발효 102시간에는 점도가 더 증가하여 spindle No. 21에서의 점도 측정치를 넘었다. 균체량은 4시간에서 12시간 사이에 증가 속도가 가장 컸으며 계속 증가하여 48시간에 3.7g/l에 이르렀다. Zooglan량 또한 비슷한 경향을 보였으며, 발효시간 102시간에는 25g/l 이상에 이르렀으나, lactose의 경우보다는 약간 낮은 값을 보였다.

#### 탄소원이 Sucrose인 발효조실험

*Z. ramigera* 115가 탄소원으로 유당 이외의 이당류를 사용했을 때 어떠한 발효 형태를 보이고, 어떠한 형태로 당소비가 일어나는지를 알아보기 위해 sucrose 45g/l를 기질로 사용하여 실험하였다. Fig. 6은 발효시간에 따른 총당소모, 균체량, 발효배출기체 중의 이산화탄소 몰분율 및 zooglan 생성량을 나타내고 있다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 lag phase가 다른 탄소원에 비해 길었고, 세포성장과 함께 sucrose가 glucose와 fructose로 분해되어 배양액 중의 당당의 비율이 커짐을 보여 주었다. 그러나 그 양은 sucrose 로의 pullulan 발효나 lactose로의 zooglan 발효보다는 현저하게 적었다(미발표 데이터). 균체량은 다른 탄소원에서와 같이 꾸준히 증가하여 48시간에 3.3g/l에 이르렀다. 발효배출가스 중의 탄산가스 몰분율의 최고값이 0.33 정도로 다른 탄소원의 경우보다 낮은 값을 보였다. zooglan 생성량 또한 낮은 값을 보였고, 점도도 낮았다.

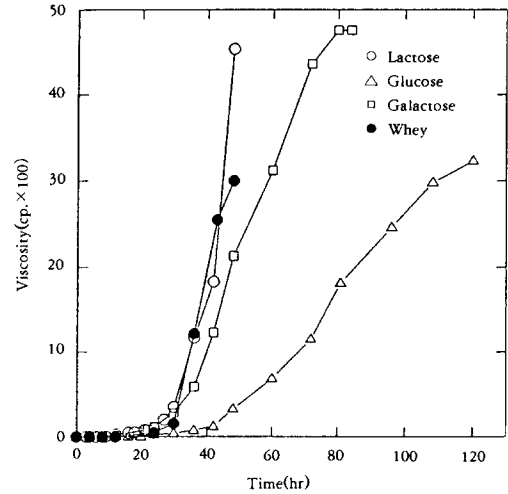


Fig. 7. Comparison of viscosity of fermentation broth at various carbon sources.

탄소원에 따라 생산된 배양액의 점도, Zooglan량 및 당소비 경향 비교

본 연구에서 생성된 생성물은 고점성 물질이므로 배양액 중의 겔보기 점도의 증가와 생성물 사이에는 서로 상관관계가 있으므로 점도의 증가를 살펴봄으로써 생성물의 변화 추이를 파악할 수 있다. Fig. 7은 탄소원으로 lactose, glucose 및 galactose를 사용하여 시간의 경과에 따른 배양액의 점도 변화를 나타낸 것으로서, 그림에서 보는 바와 같이 lactose의 경우 발효 시작후 24시간부터 계속 증가하기 시작하여 발효시간 48시간에는 4,540cp의 점도를 보이다가, 매우 급격히 증가하여 54시간 이후에는 spindle No. 21을 사용하여 shear rate 10sec<sup>-1</sup>에서는 점도 측정 최대치를 넘는 반면 glucose의 경우 점도가 증가하는 시간이 느렸으며 가장 낮은 점도값을 보였다.

Fig. 8은 여러 탄소원에서의 zooglan 생산량을 나타낸 것으로 다른 문헌치(초기 탄소원 농도는 모두 25g/l 이고, 초기질소원 농도는 NH<sub>4</sub>Cl 1g/l (2) 혹은 NaNO<sub>3</sub> 2g/l (10))와 비교할 때 빠른 시간에 높은 농도의 zooglan이 생성됨을 나타냈다. 여러 탄소원중에서도 lactose의 경우 문헌치와 배지농도의 차이는 있지만 최종 생산물 농도나 생산성에서 뛰어난 것을 알 수 있었다. 한편, Fig. 9는 *Z. ramigera* 115에 의한 zooglan 발효생산에 있어서 시간에 따른 당소비 정도를 기존의 연구결과와 비교한 것으로서, 그

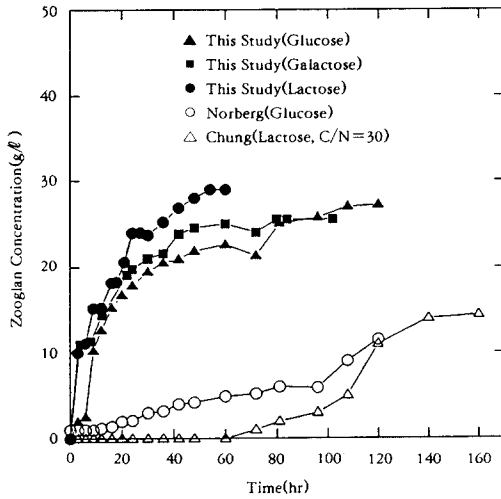


Fig. 8. Comparison of zooglan concentration at various carbon sources.

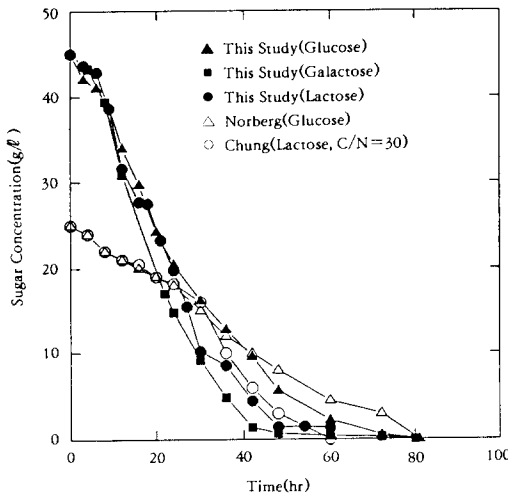


Fig. 9. Comparison of sugar utilization at various carbon sources.

림에서 보는 바와 같이 Norberg 등(2)이 사용한 25g/l 보다 높은 45g/l 를 본 연구의 탄소원으로 사용했음에도 불구하고 빠른 시간내에 당이 완전히 소비됨을 보여주고 있다. 이러한 결과로부터 유청을 희석시키지 않고 그대로 사용할 수 있는 가능성을 확인하였다. 탄소원들의 이용 순서를 검토하기 위해 glucose 및 galactose 혹은 glucose 및 lactose 10g/l 를 탄소

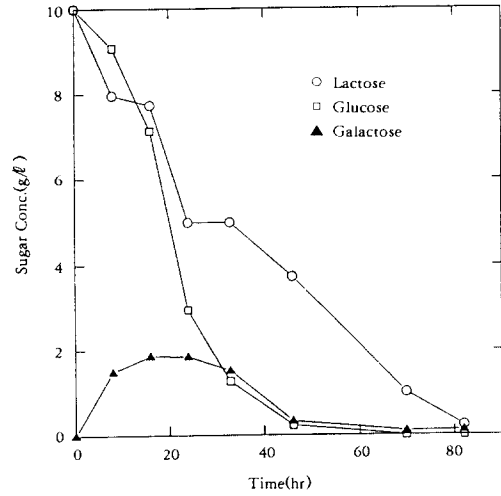


Fig. 10. Kinetics of sugar utilization in culture medium. Initial carbon source is lactose (10g/l) and glucose(10g/l).

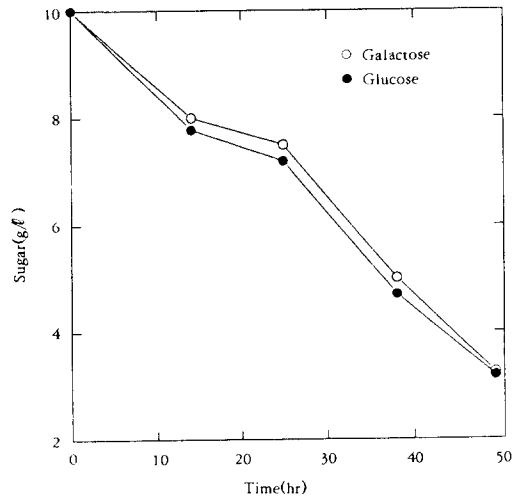


Fig. 11. Kinetics of sugar utilization in culture medium. Inital carbon source is galactose(10g/l) and glucose(10g/l).

원으로 삼아 진탕배양시키고 당소모량을 측정하였다. Fig. 10은 lactose와 glucose가 각 10g/l 씩 들어 있는 기질을 진탕배양시켰을 때 발효액에 있는 당의 조성이다. 발효가 진행됨에 따라 glucose가 lactose보다 우선적으로 소비되었다. Fig. 11은 galactose와 glucose가 각 10g/l 씩 들어 있는 기질을

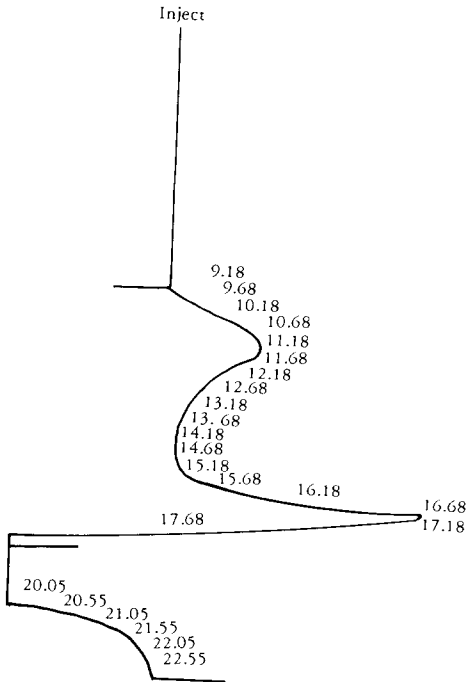


Fig. 12. Typical gel permeation chromatogram of zooglan fermentation broth.

배양시켰을 때의 당의 조성이다. Glucose와 galactose가 거의 동시에 소비됨을 알 수 있다. 이같은 현상은 lactose 45g/l 을 탄소원으로 삼은 발효액의 당 조성을 나타낸 Fig. 2에서도 확인되었다.

정제 Zooglan의 분자량, 점도 및 구성 단당비

Zooglan에 대한 평균분자량의 보고된 값은 배양 조건 및 분석조건에 따라 수십만에서 2천만까지 다양하게 보고가 되었다. Ikeda 등은 GPC분석결과를 통해 zooglan의 평균분자량이  $10^6$ 라 보고하였고(12), Nakamura 등은 GPC 분석용 용리액을 증류수로 사용하여  $2 \times 10^7$ 라고 보고하였으며(13) Cooper 등은  $4 \times 10^4 - 1.2 \times 10^7$ 라고 보고했다(7). 본 연구에서의 GPC 크로마토그램은 Fig. 12이고 용리액을 0.1 M의 NaCl을 사용한 GPC 분석 결과, lactose를 탄소원으로 하여 얻은 zooglan의 평균분자량은  $8.1 \times 10^6$ 이었다. 이 값은 Ikeda의 값보다는 높지만 Nakamura의 값보다는 낮았다. Ikeda의 값이 낮았던 것은 발효조건에 따라 분자량이 낮을 수도 있다는 Pace의 보고(14)에 따라 해석될 수 있고

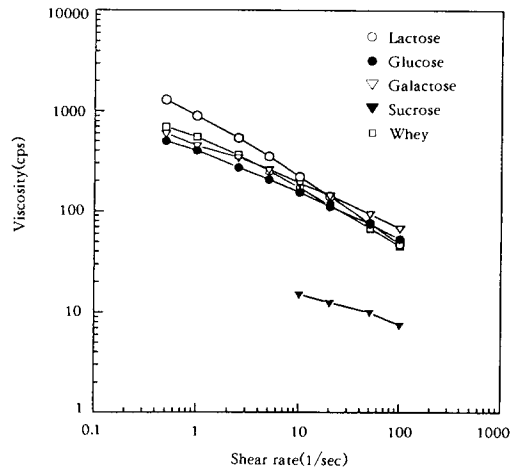


Fig. 13. Viscosity vs. shear rate data for 0.5%(w/w) solutions of zooglan gum from various carbon sources.

Table 3. Ratio of monosaccharides and Specificity of Cellulflour in hydrolyzed zooglan.

Carbon source	Lactose	Sucrose	Glucose	Galactose
Glucose/Galactose Specificity to Cellulflour (Fluoresence)	2.11	1.96	2.32	2.38
	+	+	+	+

Nakamura의 값이 높은 것은 증류수 안에서 다당이 회합하였기 때문인 것으로 해석된다. Fig. 13은 정제된 5g/l zooglan수용액의 점도이다. Lactose 기질의 경우 가장 큰 값을 보였고 glucose, galactose 기질의 경우가 약간 작았으며 sucrose 기질의 경우는 상당히 낮은 값을 보였다.

Table 3은 정제된 zooglan을 가수분해시킨 것을 HPLC로 분석한 결과로 2가지의 단당이 관찰되었는데 glucose가 galactose의 2배 정도의 비율로 존재하였다. 이것은 Ikeda(12)가 보고한 3.6에는 크게 벗어나지만 Easson(15)이나 Cooper(7)의 보고값인 2에는 부합한다. 한편 Easson이 채용한 zooglan 관정법을 발효생산물에 적용시켜 보았다. 적용된 시료 모두 cellulflour에 양성반응을 보여 생산물이 glucose와 galactose가  $\beta$  1-3 혹은  $\beta$  1-4 결합된 다당류임을 확인할 수 있었다.



## 요 약

본 연구에서는 *Zoogloea ramigera*에 의한 zooglan 생산에서 탄소원의 영향에 대한 연구를 수행하였다. 탄소원의 농도를 기존의 연구에서 사용된 25g/ℓ 보다 높은 45g/ℓ를 사용한 경우에도 zooglan을 효과적으로 생산함으로써 유청을 회색시키지 않고 그대로 zooglan 생산에 사용할 수 있는 가능성을 확인하였다.

탄소원이 lactose인 발효배양의 경우 zooglan 생산량 및 점도가 가장 컸고, glucose, galactose, sucrose 순이었다. 정제된 zooglan용액(5g/ℓ)의 점도는 lactose 기질로 생산된 zooglan의 경우 가장 큰 값을 보였고 glucose, galactose 기질의 경우가 약간 작았으며 sucrose 기질의 경우는 상당히 낮은 값을 보였다. Lactose로의 배양시 발효액에 상당량의 glucose와 galactose가 존재하였지만 이 균주는 세포외로  $\beta$ -galactosidase를 분비하기보다는 세포내에 존재한  $\beta$ -galactosidase에 의해 lactose를 분해하고 다음 대사과정으로 들어가지 못한 과잉의 단당들이 세포 밖으로 배출된 것으로 판단된다.

## 감 사

본 연구는 생물공정연구센터의 지원에 의해 수행된 결과로 이에 심심한 사의를 표합니다.

## 참 고 문 헌

1. 이재영, 유제현, 강국희 (1984), "유가공학", 향문사, 서울.
2. A. B. Norberg and S. Enfors (1982), *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 1231.
3. A. B. Norberg and H. Persson (1984), *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 239.
4. B. A. Friedman and P. R. Dugan(1968), *Dev. Ind. Microbiol.*, **9**, 381.
5. A. Sinskey, S. Jamas, J. D. Easson and C. Rha (1986), *Biotechnology in Food Processing*, Noyes Publ., New Jersey.
6. J. H. Flatt (1990), *Ph. D. Thesis*, Dept. of Chem. Eng., University of Wisconsin, Madison.
7. T. A. Cooper (1992), *Ph. D. Thesis*, Dept. of Chem. Eng., University of Wisconsin, Madison.
8. J. Lederberg (1950), *J. Bacteriol.*, **60**, 381.
9. Y. M. Kim, J. C. Lee, P. K. Chung, Y. J. Choi and Yang, H. C. (1983), *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **11**, 59.
10. D. H. Ahn and Y. C. Chung (1992), *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 196.
11. D. H. Ahn, H. S. Kwon and Y. C. Chung (1992), *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **7**, 166.
12. F. Ikeda, H. Shuto, T. Saito, T. Fukui and K. Tomita (1982), *Eur. J. Biochem.*, **123**, 437.
13. T. Nakamura, S. Koo, P. Pradipasena, C. Rha and A. J. Sinskey (1987), *Flocculation in Biotechnology and Separation Systems*, Y. A. Attia, 399, Elsevier, Amsterdam.
14. G. W. Pace (1987), *Basic Biotechnology*, J. Bu'lock and B. Kristiansen, editors, 449.
15. D. D. Easson, O. P. Peoples, C. Rha and A. J. Sinskey (1987), *Flocculation in Biotechnology and Separation Systems*, Y. A. Attia, 399, Elsevier, Amsterdam.