J. Korean Soc. Food Nutr.
24(5), 790~795(1995)

응집제 생산균주의 분리 및 배양특성

이순호 · 권기석* · 이재동 · 이문호** · 오희목* · 윤병대* · 이태호†

부산대학교 미생물학과
*한국과학기술연구원 유전공학연구소
**(주) 화랑화학

Isolation of Bioflocculant-Producing Microorganism and Its Culture Characteristics

Soon-Ho Lee, Gi-Seok Kwon*, Jae-Dong Lee, Mun-Ho Lee**, Hee-Mock Oh*,
Byung-Dae Yoon* and Tae-Ho Lee†

Dept. of Microbiology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea
**Genetic Engineering Research Institute, KIST, P.O. Box 115, Taejon 305-600, Korea*
***Hwa-Rang Environment Co., Ltd., Anyang 430-017, Korea*

Abstract

Flocculant-producing microorganisms were isolated from soil samples using kaoline as the flocculating test material. One strain that had high flocculating activity among them was selected and identified as *Arcuadendron* sp. TS-49. The favorable medium for production of the flocculant was 3% glucose, 0.2% yeast extract, 0.1% NH_4Cl, 0.01% $MgSO_4$, and 0.05% $MnSO_4$ in 150ml of T.W. with initial pH 7.0. The optimum culture temperature and pH were 30°C and pH 7.0, respectively. The flocculant activity was observed most highly after 4 to 5 days of cultivation at the optimum condition and decreased significantly with the lapse of cultivation time. The flocculant was produced constituently and seemed to be degraded for reassimilation during cultivation. The productivity achieved by this system was about ten-fold higher than that of screening medium. This bioflocculant flocculated all tested solids, including various microorganisms and organic / inorganic compounds. Several qualitative analyses of the the bioflocculant showed that it was a kind of glycoprotein containing sugars and protein.

Key words : bioflocculant, flocculation activity, flocculation of solid materials, *Arcuadendron* sp. TS-49

서 론

산업의 발달과 더불어 환경오염에 대한 관심이 증대됨에 따라 각종 응집제가 상하수 처리, 공장 폐수 및 발효공정에서의 균체 제거 등에 다양한 용도로 이용되고 있다. 이와같은 목적으로 사용되는 응집제는 현재 무기응집제, 유기합성 고분자응집제, 천연 고분자응집제 등 크게 3종류가 개발되어 사용되고 있지만 그 사용 용도에 따라 혹은 유해성 여부(1) 등에 따라 각기 다른 장단점을 가지고 있어 실제 사용에는 많은 제약이 따르고 있다. 이들 응집제 중 무기응집제는 상하수도의 처리, 유기합성 고분자응집제는 폐수처리 등의 산업적 공정에 주로 사용되고 있으며 그 사용량은 계속 증가하고 있는 실정에 있다. 그러나 이러한 유기합성 응집제는 분해가 잘되지 않아 환경오염의 원인이 될 뿐만 아니라, 특히 분해 과정에서 발생되는 acrylamide 등의 단량체는 신경독 및 강한 발암성 물질(1)로 보고되어 현재 그 사용에 각종 규제가 강화되고 있다. 한편 chitosan 및 sodium alginate 등의 천연 고분자응집제는 무독하고 생분해되는 잇점은 있으나 응집능이 비교적 약해 그 사용범위는 그렇게 넓지못하다는 단점이 있다. 이와 같은 응집제는 그 용도가 활성오니의 제거, 폐수 및 토사의 침전, 발효 균체 제거 등 매우 다양하지만 이들의 인체에 대한 유해성 및 환경에 대한 2차 오염 등의

†To whom all correspondence should be addressed

많은 문제점을 내포하고 있다. 따라서 이러한 단점들을 해결할 수 있는 안전하고 강력한 생분해성 응집제의 개발이 현재 시급히 요구되고 있는 실정에 있으며, 이러한 목적으로 사용될 수 있는 응집제로서는 미생물 유래의 응집제가 가장 유망할 것으로 기대되고 있다. 미생물 유래의 응집제는 응집물질에 대한 작용특성이 특이하고 응집제의 구성 성분도 물질에 따라 다양하여 그 용도가 확대될 것으로 기대되며 현재 당단백질성 물질이 여러 종류 알려져 있다(2-9). 그러나 이와같은 최근의 많은 연구 결과에도 불구하고 실용화 단계에 있는 것은 아직 그렇게 많지 않으며 모든 대상물질에 광범위한 응집특성을 나타내는 물질은 발견되고 있지않는 실정에 있다.

저자들은 작용범위가 넓고 응집력이 강력한 새로운 종류의 응집제를 개발하기 위해 자연계로 부터 미생물을 검색한 결과, 목적에 부합하는 유망 미생물을 분리하는데 성공하여 그 결과의 일부를 전보에 보고한 바 있으며(10,11) 본 연구에서는 분리균주의 동정과 응집제 생산을 위한 배양특성에 대해 기술하고자 한다.

재료 및 방법

균주 분리

각지에서 채취하여 그늘에서 풍건한 토양 0.5g을 멸균수 1ml에 현탁하여 한천 배지에 도말한 후 30°C에서 배양하였다. 한천배지에 형성된 colony는 순수분리 후 4°C에 보관하여 본 실험에 사용하였다. 이 때 사용된 배지는 glucose 3.0%, beef extract 0.1%, polypeptone 1.0%, K_2HPO_4 0.1%의 조성으로 되어 있으며 이를 pH 7.0으로 조정한 후 agar 1.5%를 첨가하여 121°C에서 15분간 멸균한 뒤 평판배지로 사용하였다.

배양조건

응집제 생산균주의 검색배지로는 glucose 2.0%, yeast extract 0.2%, $(NH_4)_2SO_4$ 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01%, NaCl 0.01%가 첨가된 액체배지를 사용하였으며, 각 분리균주는 배지에 접종 후 30°C에서 4일간 진탕배양(90rev×6cm)한 다음 10,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 그 상등액을 응집제 생성 여부를 검색하기 위한 시료로 사용하였다.

분류 및 동정

분리 균주의 동정은 균사 및 colony의 색깔, 분생자병(conidiophore)의 형태, 정낭(vesicle) 및 경자(sterigmata)의 형태, 격벽의 유무, 분생자의 형태 및 색깔 등을 기초로 하여 Ainsworth 분류법(12), Kendrick and Carmichael 분류법(13), Barron 분류법(14)에 준하여 위상차 현미경(Nikon Co., Japan)으로 검색하였다.

균주배양

분리균주에 의한 응집제 생산 및 생육 최적 조건을 설정하기 위해서 500ml 용량의 삼각플라스크에 액체배지 100ml를 분주하여 가압 멸균한 후 전배양된 종균을 본 배양액의 5%(v/v) 되게 접종한 후 25°C에서 4일간 진탕배양(90rev×6cm)하였다. 전배양은 액체배지 10ml를 50ml 용량의 시험관에 분주하여 가압멸균하고 포자 1백금이를 접종하여 30°C에서 72시간 진탕배양하였다. 배양시의 균체량은 배양액을 여과하여 집균한 후 110°C dry oven에서 건조한 후 평량하여 측정하였다.

응집활성 측정

Kaolin clay(Junsei Chemical Co.)를 응집활성 측정을 위한 표준시료로 사용하였으며 경우에 따라서는 active carbon, 각종 powder를 사용하기도 하였다. 활성측정은 kaolin clay 현탁액(5,000ppm) 90ml을 100ml mass cylinder에 넣고 적당히 희석한 배양액 1ml를 첨가한 후 증류수로 100ml가 되게 정용하였다. 이 혼합액을 10여초 흔들어 실온에 5분간 방치한 다음 조심스럽게 상등액을 취하여 660nm에서의 흡광도를 측정하였다. 대조구는 배양액 대신 증류수를 사용하였으며 이 두 흡광도의 차이를 응집활성으로 나타내었다.

측정된 흡광도에 의한 응집활성(Flocculation activity ; FA)의 계산은 다음 식과 같다.

Flocculation activity=1/A-1/B

A : Sample의 660nm에서의 O.D.값

B : Control의 660nm에서의 O.D.값

결과 및 고찰

공시균주의 선정

Kaolin clay에 대해 응집활성을 나타내는 균주를 토양으로 부터 1차 검색한 결과 수종의 유망균주가 분리되었다. 이 중 Kaolin clay에 대한 응집활성 뿐만 아니라 여타 종류의 현탁성 물질에도 응집활성을 나타내고 작용범위가 특히 넓은 균주를 선발하기 위해 active carbon 및 cellulose powder 등의 각종 miscellaneous compouds와 *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* 등의 미생물 균체에 응집활성을 나타내는 균주를 선발하였다. 그

결과 분리균주 중 흑녹색을 띄는 곰팡이 1균주가 각종 공시물질에 대해 높은 응집활성을 나타내며 고농도의 점질성 고분자화합물을 배양액 중에 생산한다고 하는 사실이 밝혀져 이 균주를 유망균주로 선발하고 본 실험의 공시균주로 사용하였다.

공시균의 분류 및 동정

분리균주는 평판배양 및 현미경 관찰에 의한 그 형태학적인 특징으로 보아 불완전 균류(Fungi Imperfecti)의 Hyphomycetes강, Agonomycetales과에 속하는 곰팡이의 일종이었다. 분리균주의 형태적 특성은 Table 1 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 PDA, Saubour 배지상에서는 생육이 아주 빠르고, Czapec 배지에서는 생육이 약간 부진하였으며, colony 색깔은 dark brown을 띄며, 배면 색깔은 흑색을 나타내었다. 분생자는 관찰되지 않았고, 격벽이 있었으며, 생육 후기 균사의 일부분이 팽배하는 특징을 가지고 있었다. 이와 같은 결과는 *Arcuadendron*속의 전형적인 특징과 일치하는 것으로 본 분리균주를 *Arcuadendron* sp. TS-49라 명명하였다.

Arcuadendron sp. TS-49의 응집제 생산 조건 검토

Arcuadendron sp.에 의한 응집제 생산의 최적 조건을 설정하기 위해 탄소원, 질소원, 무기염, initial pH, 배양 온도 등의 영향을 검토하였다.

Table 1. Cultural and morphological characteristics of the isolated strain

Factor	Characteristics
Rate of growth	Growing rather rapidly (spreading)
Colony color	Dark brown
Character of growth	Dark velvety
Colony reverse	Black
Hyphae	Aerial, swellen
Septum	Forming
Conidiophore	Absent
Conidia	Absent

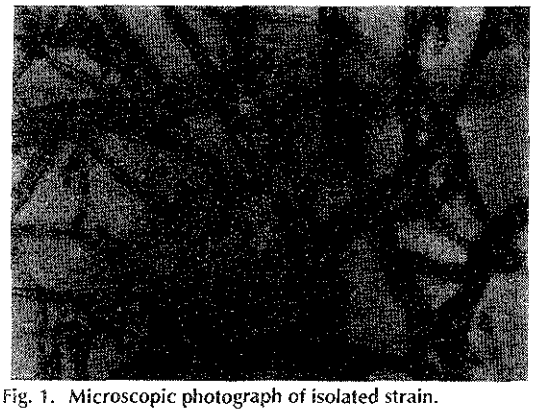

Fig. 1. Microscopic photograph of isolated strain.

탄소원의 영향

0.2% yeast extract, 0.1% $(NH_4)_2SO_4$, 0.01% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.01% NaCl (pH 6.5)의 액체배지에 각종 탄소원을 2% 첨가하여 30°C에서 96시간 배양한 결과를 Table 2에 표시하였다. 그 결과 glucose, maltose, galactose를 탄소원으로 사용한 경우 응집제 생성이 비교적 양호하였다. 그들 공시물질 중 활성이 가장 높은 glucose를 분리균의 탄소원으로 결정하였다. Glucose 농도에 따른 응집제 생산성은 glucose 3% 이상의 농도에서 비교적 높은 활성을 나타내어 glucose의 농도를 3%로 결정하였다.

질소원의 영향

3% glucose, 0.01% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.01% NaCl 함유배지에 각종 유기, 무기질소원을 0.3%씩 첨가하여 30°C에서 96시간 진탕배양하여 균의 생육과 응집활성를 측정한 결과(Table 3), yeast extract, casamino acid, beef ext., NH_4NO_3, $(NH_4)_2SO_4$의 경우에 비교적 응집활성이 높게 나타났다. 이때 유기 및 무기질소를 조합하여 배지에 첨가하면 응집제 생산이 증대할 것으로 판단되어 이들 질소원을 조합하여 30°C, 96시간 진탕배양하여 균의 생육과 활성을 측정한 결과(data not shown), 0.2% yeast extract와 0.1% NH_4Cl를 동시에 질소원으로 사용할 경우 응집활성이 크게 증대하였으며, 이 경우 이들을 단독으로 첨가했을 때 활성이 가장 높았던 casamino acid 보다 그 생산량이 3배 이상 증가하는 현상을 보였다. 이때 이들의 질소원의 농도에 따른 응집

Table 2. Effect of carbon sources on the flocculant production by *Arcuadendron* sp. TS-49

Carbon sources (2%)	Growth (mg/110ml)	Flocculation activity (1/O.D.)
Citric acid	311	0.93
Glucose	396	2.75
Fructose	453	1.36
Sucrose	524	1.08
Galactose	578	2.31
Soluble starch	463	-
Lactose	583	0.01
Arabinose	378	-
Inositol	463	-
Xylose	362	0.49
Sorbose	245	0.01
Maltose	534	2.60
Mannitol	534	-

Table 3. Effect of nitrogen source on the flocculant production by *Arcuadendron* sp. TS-49

Nitrogen sources (0.3%)	Growth (mg/110ml)	Flocculation activity (1/O.D.)
$NaNO_3$	194	0.02
NH_4Cl	226	2.13
$(NH_4)_2SO_4$	214	3.48
NH_4NO_3	166	2.98
KNO_3	204	0.04
Casamino acid	409	4.59
Urea	51	0.01
Ammonium acetate	34	0.32
Malt extract	254	2.52
Yeast extract	619	4.54
Beef extract	533	2.58
Polypeptone	314	0.01
Bactopeptone	276	0.01
Tryptone	496	0.01

활성 정도는 유기질소원의 농도가 높을수록 활성이 증가하는 경향을 보였으며, 무기질소원은 농도가 높을수록 다소 활성이 떨어지는 경향을 나타내었다. 특히, NH_4Cl을 다른 유기질소원과 조합하였을 경우에 비교적 높은 활성을 나타내는 경향을 보였다. 유기질소원 중 urea, ammonium acetate 등은 균의 생장 뿐 아니라 응집제 생산성도 극히 저조하였으며 tryptone, bactopeptone의 경우는 균의 생장은 촉진되었지만 응집활성은 거의 나타나지 않았다.

무기염의 영향

미생물에 의한 응집제 생산에는 일반적으로 무기염류가 크게 영향을 미친다고 알려져 있기 때문에(2,15) 본 균주의 응집제 생산과 균의 증식에 미치는 무기염류의 영향을 검토하였다. 즉, 3% glucose, 0.2% yeast extract, 0.1% NH_4Cl을 함유하는 기본배지에 0.02%의 각종 무기염을 첨가하여 30°C, 96시간 진탕배양하여 균의 생육도와 응집활성을 측정하였다. 그 결과(Table 4), NaCl, KH_2PO_4, $MnSO_4$와 $MgSO_4$ 등을 배지에 첨가하였을 경우 응집제의 생산이 크게 향상된다는 사실이 밝혀졌다. 이때, 비교적 높은 활성을 나타내는 무기염을 선택하여 이들을 조합한 후 응집제 생산에 미치는 영향을 검토한 결과 0.01% $MgSO_4$, 0.05% $MnSO_4$를 동시에 첨가했을 경우 응집활성이 최대로 나타났다(data not shown). 이때의 응집제 생산량은 단독 첨가구 보다 거의 3배에 도달하였다.

한편 3가 양이온인 Co의 경우는 활성이 거의 나타나지 않았으며, $FeSO_4$, $FeCl_3$, $CoCl_2$ 등은 균의 생육을 오히려 저지하였고 염의 농도가 높을수록 응집제 생성이 감소하는 경향을 보였다.

Table 4. Effect of salts on the flocculant production by *Arcuadendron sp.* TS-49

Salts (0.02%)	Growth (mg/110ml)	Flocculation activity (1/O.D.)
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	687	6.47
$CaCO_3$	658	7.73
$Ca(OH)_2$	576	6.07
$Ca(NO_3)_2$	629	7.30
$CaSO_4$	643	7.54
KH_2PO_4	562	12.48
KCl	524	7.66
K_2HPO_4	423	4.69
KNO_3	624	9.66
Na_2CO_3	576	5.65
NaCl	523	12.48
CH_3COONa	762	7.02
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	617	11.61
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	178	5.16
$FeCl_3$	176	5.91
$MnSO_4$	623	13.95
$CuSO_4$	432	2.04
$CoCl_3$	102	0.01
$Al_2(SO_4)_3$	562	4.64

본 균주에 의해 생산되는 응집제는 예비실험 결과 점성이 강한 고분자 화합물로서 일종의 다당류에 속하는 색소성 화합물로 판명되었다. 일반적으로 다당류의 생산에는 manganese의 첨가가 그 생산 효과를 높인다고 보고되고 있으며(2,15), 본 균주의 경우에도 이 보고에 일치하는 결과가 얻어졌다. 또한 이와같은 응집제의 생산을 촉진하는 이온들은 응집반응시의 응집효과도 크게 향상시킨다고 알려져 있다. 본 응집제의 경우에는 Fe이온이 응집활성을 무려 10배 이상 증대시키는 결과로 나타났다(10).

배양 온도 및 pH의 영향

본 분리균주의 생육과 응집제 생산에 미치는 배양 온도 및 초기 pH의 영향을 검토하기 위해 3.0% glucose, 0.2% yeast extract, 0.1% NH_4Cl, 0.01% $MgSO_4$, 0.05% $MnSO_4$를 함유 배지에 분리균을 접종하여 각 온도별, pH별로 4일간 진탕배양하여 균체의 증식 및 응집제의 생산성을 검토하였다. 그 결과(Fig. 2), 본 균주의 생육 최적 온도는 30°C이였으며 응집제의 생성도 이 온도에서 최고치를 나타내었다.

한편 배지의 pH를 각각 달리하여 30°C, 4일간 진탕배양하여 균의 생육 및 응집활성을 검토한 결과 pH 5~8의 넓은 범위에서 응집활성이 최대로 나타나 응집제 생산에 pH의 영향은 그렇게 크지 않는 것으로 밝혀졌

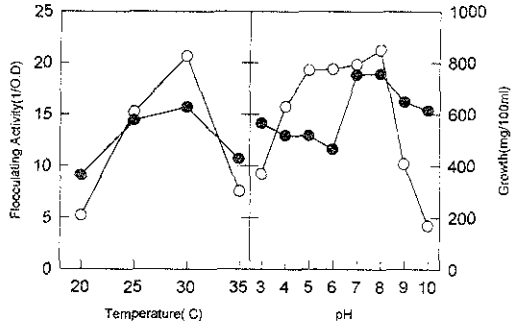

Fig. 2. **Effect of temperature and pH on flocculant production and cell growth of *Arcuadendron* sp. TS-49.**
Cultivation was carried out with 500ml flask containing optimum medium 100ml at 90 strok for 96hrs.
—○— : flocculant activity, —●— : cell growth

Table 5. The optimum culture condition for the production of flocculant

Medium	Glucose	3.0%
	Yeast extract	0.2%
	NH_4Cl	0.1%
	$MgSO_4$	0.01%
	$MnSO_4$	0.05%
	pH	7.0
Other conditions	Temperature	30°C
	Culture time	4~5day
	Agitation	90Rev.×6cm stroke
	150ml of medium per 500ml △flask	

다. 한편 pH 8 이상의 알카리성 쪽에서는 균의 생육은 양호하였으나 응집활성은 급격히 감소하여, 균의 생육량과 응집제의 생산간에는 직접 상관관계가 없는 것으로 나타났다.

이상 *Arcuadendron* sp. TS-49 균주의 생육 및 응집제 생산에 미치는 각종 영향인자를 검토한 결과 Table 5와 같은 배양조건을 설정할 수 있었다. 이와 같은 최적 배지로 *Arcuadendron* sp. TS-49를 배양하였을 경우 초기의 screening 배지에 비해 응집활성이 무려 10배 가량 증가하는 결과를 나타내었다.

배양시간에 따른 균의 증식과 응집제 생산

Table 4에 표시된 최적 배지를 500ml용 flask에 100ml 분주하여 30°C에서 경시적으로 배양하면서 각 시간대별로 균체량, 응집활성 및 pH를 측정하여 Fig. 3에 나타내었다. 그 결과 응집활성은 3일 이후에 활성이 급격히 증가하였으며 5일 이상 배양시에는 활성이 감소하는 경향을 보였다. 이러한 활성의 감소 요인에는 생산된 응집제가 효소 등에 의해 분해되어 탄소원으로 재이용되는 경우와 응집제 자체가 서로 응집되어 그 활성이 소실되는 경우, 또한 pH의 변화에 따른 응집제의

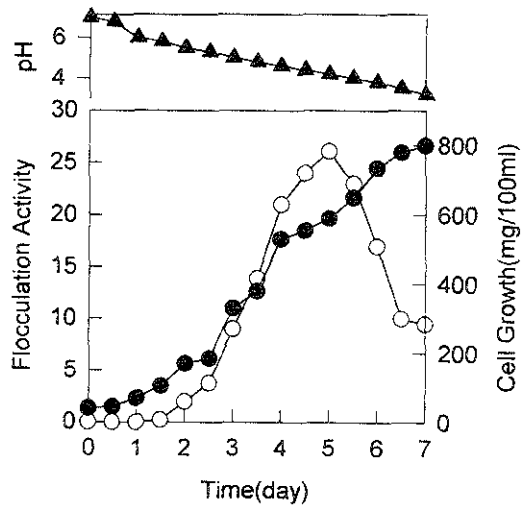

Fig. 3. **Time course of production of flocculant by *Arcuadendron* sp. TS-49.**
Cultivation was performed under optimum condition of Table 5. Cell growth was expressed with dried cell.
—○— : flocculant activity, —●— : cell growth

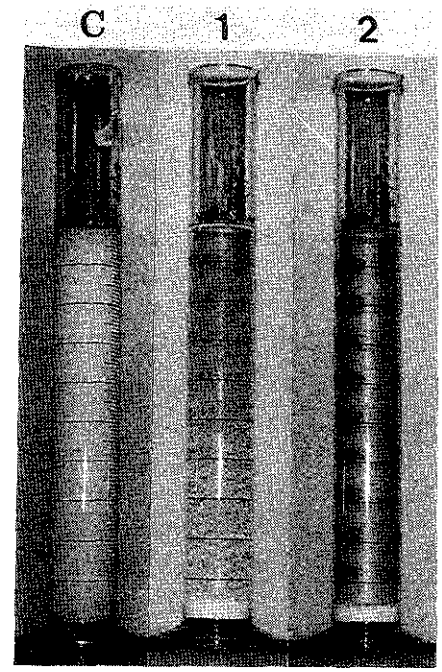

Fig. 4. **Photographs of kaoline clay flocculated with *Arcuadendron sp.* TS-49 flocculant.**
The culture broth was added to kaoline clay solution. It was vigorously mixed and standed at room temperature.
C : control, 1 : after 30 sec standing, 2 : after 1 min standing

실활 가능성 등을 생각할 수 있다. 그러나 본 물질은 강한 점성을 나타내는 물질로 배양과 더불어 점성이 증

가하다가 응집활성이 감소함과 동시에 점성도 함께 떨어지는 것으로 보아 본 균주에 의해 분해되어 본 물질이 재이용되거나 실활되는 것으로 판단되었다. 또한 본 응집제는 pH 안정성이 극히 높은 물질이기 때문에 배양시간에 따라 응집활성이 크게 감소하는 것은 pH 변화에 의한 실활이 아니라 우수한 생분해성에 의한 것으로 생각되었다.

한편 본 미생물에 의해 생산되는 응집제는 kaolin clay, active carbon, cellulose powder 등의 micellaneous compound 뿐만 아니라 *E. coli, Saccharomyces cerevisiae* 등의 미생물 균체에도 작용하여 높은 응집활성을 나타낸다는 것이 확인되었다(10). 이때 생산된 응집제의 kaolin clay에 대한 응집현상을 Fig. 4에 나타내었다. 본 응집제는 여러 종류의 기질에 작용시켰을 경우 불과 수초안에 응집현상이 나타나 효율적으로 solid material을 침전시킨다는 사실이 확인되어 산업적인 응용 가능성을 시사하였다. 응집제의 구조적인 특성 등에 대해서는 현재 검토중에 있다.

요 약

응집제를 생산하는 미생물을 토양시료로 부터 분리하여 그 중 응집활성이 높은 1 균주를 선택하여 분류학적 위치를 조사한 결과, *Arcuadendron* sp.으로 동정되었으며 본 균주를 *Arcuadendron* sp. TS-49로 명명하였다. 응집제 생산 최적배지는 3% glucose, 0.2% yeast extract, 0.1% NH_4Cl, 0.05% $MnSO_4$, 0.01% $MgSO_4$ (pH 7.0) 의 경우가 가장 우수하였으며, 배양 온도 및 배양 pH는 30°C, pH 7.0일 때가 최적이었다. 최적 배양조건하에서 4~5일간 배양시 응집제 생산량이 최대에 도달하였으며 배양 시간의 경과와 더불어 응집활성은 급격히 감소하는 현상을 보여 생분해성이 우수함을 나타내었다. 이때의 응집제 생산량은 screenig 배지에 비해 거의 10배 정도로 향상되었으며, 각종 microorganism과 suspended solid에 대한 응집작용을 검토한 결과, 정도의 차이는 있으나 모든 공시물질에 응집활성을 나타내었다. 응집제의 조성을 검토하기 위해 각종 정성 test를 행한 결과, 당과 단백질이 검출되어 일종의 glycoprotein임이 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술처 기반기술개발사업 연구비(BSG G70710)및 1994년도 교육부 기초과학육성연구비(BSRI-94-4410)의 지원에 의한 연구의 일부임.

문 헌

1. Dearfield, K. L. and Abermathy, C. O. : Acrylamide ; Its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenety. *Mutant Res.*, **195**, 45 (1988)
2. Fattom, A. and Shilo, M. : *Phormidium* J-1 bioflocculant ; productivity and activity. *Arch. Microbiol.*, **139**, 421 (1984)
3. Kurane, R., Takeda, K. and Suzuki, T. : Screening for and characteristics of microbial flocculants. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2301 (1986a)
4. Kurane, R., Takeda, K. and Suzuki, T. : Culture conditions for production of microbial flocculant by *Rhodococcus erythropolis*. *Agri. Biol. Chem.*, **50**, 2309 (1986b)
5. Kurane, R., Hamamochi, K., Kakuno, T., Kiyohara, M., Hirano, M. and Taniguchi, Y. : Production of a bioflocculant by *Rhodococcus erythropolis* S-1 grown on alcohols. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 428 (1994)
6. Nakamura, J., Miyashiro, S. and Hirose, Y. : Purification and chemical analysis of microbial cell flocculant produced by *Aspergillus sojae* AJ 7002. *Agri. Biol. Chem.*, **40**, 619 (1976)
7. Takagi, H. and Kadowaki, K. : Flocculant production by *Paecilomyces* sp. taxonomic studies and culture conditions for production. *Agri. Biol. Chem.*, **49**, 3151 (1985)
8. Takeda, H., Koizumi, J., Matsuoka, H. and Hikuma, M. : Factors affecting the activity of a protein bioflocculant produced by *Nocardia amarae*. *J. Ferment. Bioeng.*, **74**, 408 (1992)
9. Toeda, K. and Kurane, R. : Microbial flocculant from *Alcaligenes cupidus* KT201. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2793 (1991)
10. Lee, S. H., Lee, S. O., Jang, K. L. and Lee, T. H. : Microbial flocculant from *Arcuadendron* sp. TS-49. *Biotech. Lett.*, **17**, 95 (1995)
11. Nam, J. S., Kwon, K. S., Hwang, J. S., Lee, M. H., Oh, H. M., Yoon, B. D. and Lee, T. H. : Isoation of bioflocculant-producing microorganism and its culture condition. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **10** (1995)
12. Ainsworth, G. C. and Sussman, A. S. : The Fungi ; An advanced treaties. Vol. IVa and IVb. Academic press, New York, p.443 (1973)
13. Carmichael, J. W., Kendrick, B., Conner, I. L. and Sigler, L. : Genera of hyphomycetes. The University of Alberta press, Alberta, p.43 (1980)
14. Barron, G. L. : The genera of Hyphomyces from soil. Williams and Wilkins Co., Baltimore, p.2 (1968)
15. Seo, H. H., Lee, M. H., Kim, H. S., Park, C. S. and Yoon, B. D. : Bioflocculant production from *Bacillus* sp. A56. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **21**, 486 (1993)

(1995년 6월 21일 접수)