

Lactobacillus jensenii YW-330이 생산하는 다당류성 생물응집제 및 생산조건

서호찬 · 최양문¹ · 조홍연* · 양한철
고려대학교 생명공학원, ¹고려대학교 생물공학연구소

Polysaccharide Bioflocculant Produced by *Lactobacillus jensenii* YW-33 and Its Production Condition. Ho-Chan Seo, Yang-Mun Choi¹, Hong-Yon Cho* and Han-Chul Yang. Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea, Institute of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea - A bioflocculant producing bacterium for wastewater treatment was isolated and identified as *Lactobacillus jensenii*. The bioflocculant was supposed as a polysaccharide. *Lactobacillus jensenii* YW-33 produced the flocculant with highest activity in the medium composed of 2% sucrose, 0.05% tryptone, 0.5% yeast extract, 0.01% K₂HPO₄, 0.01% KH₂PO₄, 0.01% NaCl, 0.005% MnSO₄ · 5H₂O and 0.2% Tween 80. The optimal culture pH and temperature were 7.0 and 25°C, respectively. In the time course of production with jar fermentor, the productivity of the flocculant was increased in proportion to the cell growth and the cultivation time for maximum production was 24 hrs, showing flocculating activity of 1,130 units per ml.

응집제는 폐수처리시 전처리 단계의 부유물 침전, 최종단계의 슬러지 회수 및 탈수, 발효공업에서의 균체분리, 식품공업과 펄프제지 공업에서 현탁물질의 제거에 이르기까지 광범위하게 사용되고 있다(1-4). 응집제에 의한 침전은 표면이 음전하로 하전되어 있는 현탁입자를 양전하의 물질로 하전을 중화시킴으로써 반발력을 제거하고 Coulomb 인력, van der Waals 인력 등에 의해 입자들을 응결(coagulation)시키고 고분자응집제의 가교작용에 의해 응집(flocculation)을 일으킴으로써 침강속도를 증대시킨다(5-7).

현재 가장 많이 사용되고 있는 응집제 중 무기응집제 aluminium sulfate, polyaluminium chloride 등은 응집 효과가 우수하고 저가인 점, 조작이 간편한 장점을 갖는 반면, 잔류 aluminium이 문제시 되고 있으며(8, 9) polyacrylamide, sodium polyacrylate, polyethylene imine 유도체로 대표되는 합성 고분자 응집제는 주입량이 적고 넓은 pH에서 사용이 가능하며 응집제의 침강성 및 탈수성이 양호하지만 자연계에서 생분해가 되지 않아 2차 오염을 유발하는 점과 생체에 대한 독성으로 인해 합성 고분자 응집제의 사용을 규제하고 있는 실정이다(10). 자연계에서 독성없이 생분해되는 특징을 갖는 생물응집제는 크게 천연 고분자 응집제와 미생물이 생산하는 응집성 고분자 물질로 분류되고 천연 고분자 응집제는 sodium alginate, chitosan, gum guar, gelatin 등이

있으나 응집성이 낮고 생산가격이 높아 실용화에 어려움이 있다. *Corynebacterium* sp.(11), *Aspergillus sojae*(3), *Dematium* sp.(12), *Paecilomyces* sp.(9, 13), *Alcaligenes latus*(8, 14), *Rhodococcus erythropolis*(15) 등이 생산하는 응집물질은 polysaccharide, protein을 주요 구성성분으로 하는 exopolymer로 생물계에서 쉽게 분해될 뿐만 아니라 폐수의 특성에 따라 슬러지를 가축의 사료 및 작물의 비료로 재활용할 수 있는 부수적인 효과를 거둘 수 있다. 또한 슬러지의 유기질 비료화에 있어 폐수처리 미생물과 응집제 생산 미생물이 함유된 균체비료는 토양의 부패화를 방지하고 유기질 함량 특히 질소함량을 증가시키면서 연작장해를 완화시키는 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(16).

따라서 본 연구에서는 미생물 중 현재까지 보고된 바 없는 젖산균이 생산하는 폐수처리용 생물응집제를 개발할 목적으로 보관중인 젖산균 및 자연계로부터 응집제를 생산하는 젖산균을 대상으로 분리, 선별하였으며, 응집제 생산을 위한 최적 배양조건을 검토하였다.

재료 및 방법

균주의 분리 및 선별

응집제를 생산하는 저온성 젖산균을 분리, 선별하기 위해 자연계의 혐기성 저온환경과 발효식품 등으로부터 시료를 채취, 상법에 따라 젖산균 분리용 배지인 MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) 한천평판에 도말한 후, 25°C에서 반 혐기적으로 배양, 형성된 colony 주위의 점성여부에 따라 1차로 분리하였다. 1차 분리균주와 보관

*Corresponding author

Tel. 82-2-921-9967, Fax. 82-2-923-9923

E-mail: hycho@rccnx.korea.ac.kr

Key words: Bioflocculant, *Lactobacillus jensenii*, Polysaccharide

균주를 대상으로 동일 배양조건에서 액체배양한 후 배양 상등액의 응집활성이 100 units/ml 이상의 균주를 2차 분리하였으며, 최종균주는 대상폐수와 kaolin에서의 응집력을 지표로 선별하였다.

선별균주의 동정

선별균주는 "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" (17)에 준하여 형태학적 관찰을 하였으며 생리학적 특성은 "VITEX SYSTEM"사 제품인 Anaerobe identification card를 사용하여 검색하고, 그 결과를 VI-TEK program을 이용하여 동정하였다.

사용배지 및 배양조건

응집제 생산의 최적 배양조건을 검토하기 위해 1% glucose, 0.2% peptone, 0.05% yeast extract, 0.1% K₂HPO₄, 0.1% KH₂PO₄, 0.1% NaCl, 0.02% MgSO₄ · 7H₂O, 0.001% MnSO₄ · 5H₂O, 0.001% FeSO₄ · 7H₂O 및 0.1% Tween 80으로 구성된 기본배지 100 ml을 500 ml flask에 넣고 초기 pH 6.5, 25°C, 30 rpm에서 24시간 배양하였다. Fermentor 배양은 5 l의 배양조에서 working volume을 2 l로 하여 상기와 동일한 환경조건으로 배양하였다.

대상폐수

대상폐수는 보고한 바 있는 고농도 유기폐수들인 돈분폐수(18)와 광합성세균처리 두부공업폐수(이하 두부공업폐수)(19), 제약폐수는 J제약회사의 항생제발효폐수를 4°C이하에서 보관하면서 사용하였다.

응집활성 측정

0.5% Kaolin 10 ml에 1.0% CaCl₂ 0.1 ml를 첨가하고 균체를 제거한 배양액 0.1 ml를 가하여 10분 동안 정치한 후 상등액 1 ml를 취해 550 nm에서 흡광도를 측정하고 Nakamura 방법(3)에 따라 응집활성을 환산하였다.

$$\text{Flocculation activity (U/ml)} = \frac{(A-B)}{A} \times 100 \times \text{dilution rate}$$

A: Absorbance of reference sample

B: Absorbance of reaction mixture

대상폐수에서의 응집활성 측정

돈분폐수, 두부공업폐수, J제약폐수 10 ml에 1.0% CaCl₂ 0.1 ml를 가하고 균체를 제거한 배양액을 동량 첨가하여 12시간 정치한 후 Nephelometer(Turner TD-40)로 NTU (Nephelometer turbidity unit)값을 측정하여 다음 식에 따라 제거율(%)을 환산하였다.

$$\text{NTU removal efficiency (\%)} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A: NTU of reference sample

B: NTU of reaction mixture

Periodate 산화

Ethanol에 침전시킨 응집활성물질 20 mg을 취하여 acetate buffer(pH 4.5, 10 ml)에 용해시킨 후, 50 mM NaIO₄ 5 ml를 가하여 4°C의 암실에서 3일간 산화시켰다. 이 반응액에 ethylene glycol 5 ml를 가해 1시간 동안 실온에 방치한 후, 투석하여 NaBH₄ 20 mg을 가해 1시간 교반시켰으며 0.1 M acetic acid로 중화한 후, 투석 및 동결건조하여 응집활성을 검토하였다(20).

Pronase 처리

Ethanol에 침전한 응집활성 물질 20 mg을 취하여 10 mM CaCl₂가 함유된 Tris-HCl buffer(pH 7.9, 20 ml)에 용해시킨 후, pronase(20 units)를 가하여 37°C에서 48시간 반응시켰다. 이 반응액을 100°C에서 5분간 가열, 반응을 정지시킨 후 원심분리하여 얻은 상등액을 투석 및 동결건조하여 응집활성을 조사하였다(20).

결과 및 고찰

응집제 생산균주의 선별

보관균주 20여종과 1차 분리균주 250 여종을 MRS 배지에서 25°C, 24시간 배양한 후 균체를 제거한 상등액의 응집능을 0.5% kaolin용액에 대하여 검토하고 응집활성이 100 units/ml 이상인 20종의 균주를 2차로 선별하였다. 최종균주의 선별을 위해 0.5% kaolin 용액, 돈분폐수, 두부공업폐수, J제약폐수를 대상으로 상기와 동일하게 조제한 상등액의 응집효과를 NTU로 측정하여 부유물의 제거율을 환산하였다(Table 1). 각각의 균주들이 생산하는 응집제는 고농도 유기폐수인 돈분폐수(COD: 22,000 mg/l)에서는 제거율이 30% 미만으로 저조하였지만 광합성세균처리 두부공업폐수(COD: 400 mg/l)와 J제약폐수(COD: 5,130 mg/l)에서는 제거율이 50% 이상을 나타내었으며 최종균주는 kaolin에 대한 응집활성(765 units/ml) 및 각종 폐수에 양호한 응집효과를 보인 YW-33을 선별하였다. 본 균주가 생산하는 응집활성의 본체를 파악하기 위하여 배양 상등액에 80%의 EtOH를 가해 얻은 침전물을 pronase 처리와 periodate 산화를 행한 후 응집활성을 측정하였다. 그 결과, pronase로 처리한 침전물은 무처리균과 비교하여 차이가 없었던 반면, periodate로 산화시킨 침전물은 응집활성이 크게 감소함에 따라 YW-33이 생산하는 응집활성 본체는 다당에 기인하는 것으로 추정되었다.

선별균주의 동정

선별균주 YW-33을 MRS 배지에서 대수기 중기까지

Table 1. Flocculating activities of culture fluids against kaolin and various wastewaters

Strain	Kaolin		Swine wastewater ¹		Soybean curd wastewater ²		Pharmaceutical wastewater ³	
	Abs. at 550 nm	Flocculating activity (U/ml)	NTU	NTU removal efficiency (%)	NTU	NTU removal efficiency (%)	NTU	NTU removal efficiency (%)
Control	1.91	0.0	172	0.0	68.0	0.0	74.7	0.0
YW- 2	0.51	734	134	22.3	16.2	76.2	28.0	62.5
YW- 8	0.55	738	128	25.5	15.9	76.6	28.3	62.1
YW-27	0.76	605	124	28.3	16.5	75.7	29.8	60.1
YW-32	0.66	657	117	32.3	29.3	56.9	37.6	49.7
YW-33	0.50	765	119	30.9	15.0	77.9	31.8	57.4
YW-74	0.59	645	135	21.8	14.9	78.2	33.5	37.5
YW-85	0.98	466	177	20.9	14.4	78.8	35.7	52.2
YW-86	0.83	546	175	21.5	31.4	58.0	14.1	79.3
YW-91	0.84	541	167	25.3	33.1	55.7	12.2	82.1
YW-93	0.72	606	165	26.0	36.8	50.7	17.5	74.3
YW-94	0.71	610	179	20.0	34.3	54.1	15.9	76.6
YW-95	0.90	507	177	20.9	35.7	52.2	16.4	75.9
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1.63	150	182	-	22.7	66.6	26.8	64.1
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 4646	0.52	730	145	15.8	15.5	77.2	21.6	71.1
<i>Lactobacillus fermentum</i> IFO 3071	1.71	108	170	1.3	42.3	37.8	36.5	51.1
<i>Lactobacillus sporogenes</i> 0214A	1.04	458	151	12.6	43.2	36.4	42.5	43.1
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	0.47	756	141	18.1	15.8	76.8	26.3	64.8
<i>Streptococcus lactis</i>	1.69	117	156	9.2	50.3	26.1	33.6	55.1
<i>Streptococcus mutans</i> E49	1.51	208	180	-	25.6	62.4	15.4	79.4

¹Raw swine wastewater was filtered with the sieve of 35 mesh. ²Soybean curd wastewater was treated in photosynthetic bacteria reactor by *Rhodospirillum rubrum* P17. ³Pharmaceutical wastewater was taken from antibiotic fermentation process.

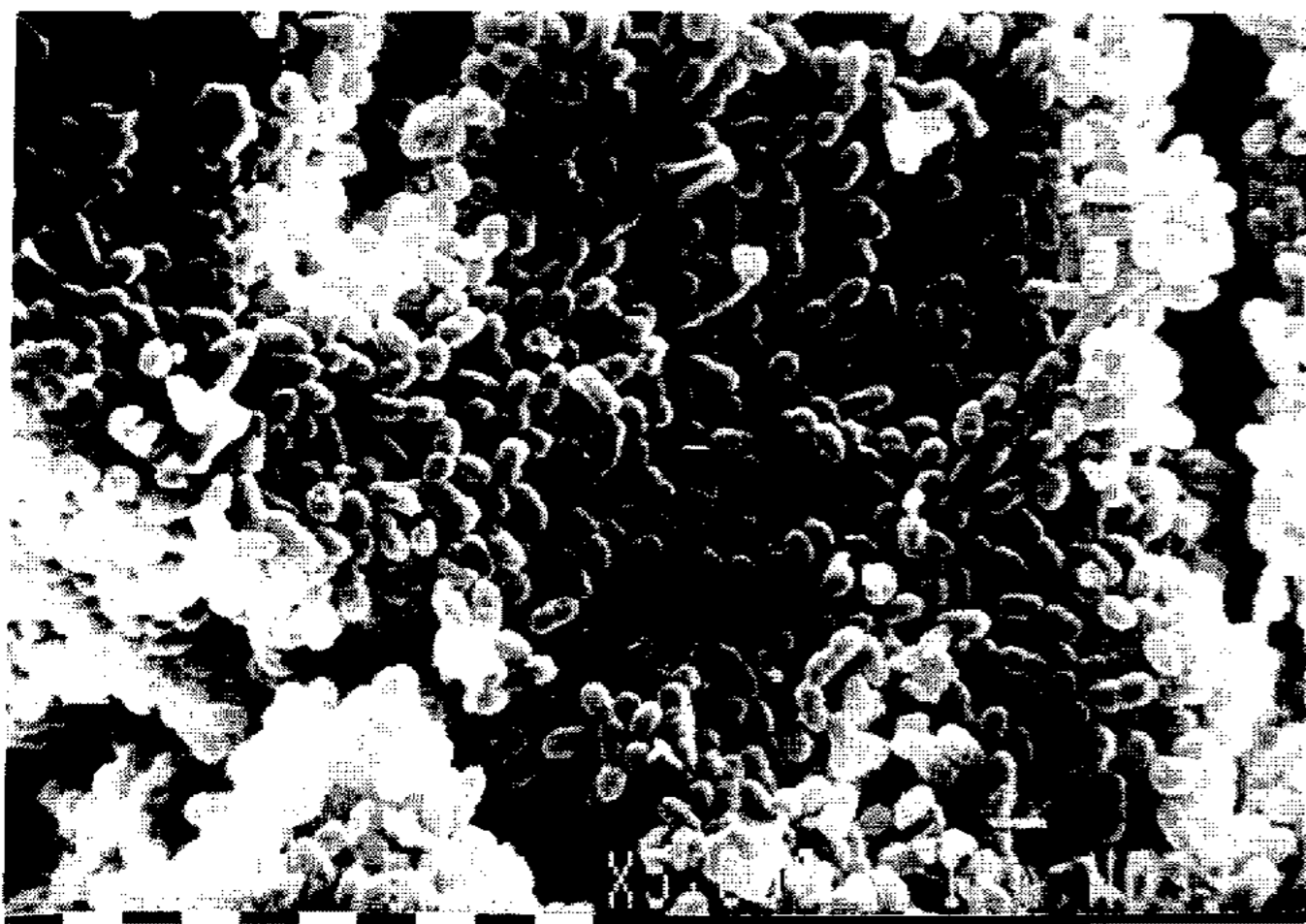


Fig. 1. Scanning electron micrograph of the strain *Lactobacillus jensenii* YW-33 (bar: 1 μ m).

배양하여 얻은 균체를 상법에 따라 전자현미경 (JEM 100CX-II)으로 관찰한 결과 간균으로 크기는 0.5-0.7 \times 2.0-4.0 μ m였다(Fig. 1). 또한 gram 양성균으로서 포자를 생성하지 않았으며 생리, 생화학적 특성을 "VITEK SYSTEM"의 Biochemical Card를 사용하여 조사(Table 2)한 후 VITEK Program에 의해 분석한 결과 선별균주 YW-33은 *Lactobacillus jensenii*일 확률이 99%이었다.

응집제 생산을 위한 배지조성의 검토

탄소원의 영향 선별균주(YW-33)의 응집활성과 균의 생육에 미치는 탄소원의 영향을 검토하기 위하여 기본배지에 각종 탄소원을 1.0% 첨가하여 25 $^{\circ}$ C, 24시간 배양한 후 균체가 제거된 상등액으로 응집활성을 측정된 결과(Fig. 2), sucrose에서 250 units/ml의 가장 높은 응집활성을 보였다. 단당류, 다당류 및 당알코올 별 탄소원들이 미치는 응집제 생산활성은 fructose, glucose, mannose 첨가시 대조구보다 높았을 뿐 미미하였으며 이는 미생물 다당생산에 있어 soluble starch의 효과를 보고한 Appanna 등의 결과(21)와 상치되었으나 *Streptococcus mutans*, *Leuconostoc mesenteroides* 등의 젖산균이 생산하는 polysaccharide exopolymer가 sucrose의 첨가에 의해 유도 또는 생산능이 증가한다는 보고(22)와는 일치하였다.

질소원 및 yeast extract 농도에 의한 영향 Fig. 3은 1% sucrose를 탄소원으로 한 기본배지에 각각의 무기태, 유기태 질소원을 0.2% 첨가하여 검토한 응집제 생산활성으로 대조구에 비해 균의 생육은 증가하였으나 높은 응집제 생산능을 보인 질소원은 관찰되지 않았다. 한편 질소원으로서 검토한 beef extract, malt extract, yeast extract 중 malt extract는 응집활성을 약 80% 감소시키는 특이한 현상을 나타낸 반면 yeast extract에 의해 약 1.7배 증가됨에 따라 첨가농도에 따른 응집활성을 조사

Table 2. Morphological and biochemical characteristics of strain YW-33

	YW-33	<i>Lactobacillus jensenii</i>
Morphological characteristics		
Gram stain	+	+
Shape	Rod	Rod
Cell size	0.5~0.7× 0.2~0.4 μm	0.6~0.8× 2.0~4.0 μm
Motility	-	-
Spore formation	-	-
Physiological characteristics		
Optimum temperature	25°C	30°C
Catalase	-	-
Arginine decarboxylation	-	-
Gelatin liquefaction	-	-
Nitrate reduction	-	-
Growth at 6.5% NaCl	+	+
Formation of indole	-	-
Acid production from		
Arabinose	-	-
Fructose	+	+
Galactose	-	+
Glucose	+	+
Lactose	-	-
Mannose	-	+
Raffinose	-	-
Sucrose	+	+
Thehalose	-	+

(+): typically positive, (-): typically negative.

한 결과 0.5% 농도까지 균의 생육증가와 함께 약 2배 높은 530 units/ml의 응집활성을 나타내었다. Kurane 등 (15)은 *Rhodococcus erythropolis*가 생산하는 단백질성 응집제의 응집활성이 yeast extract에 의해 현저히 증가되었음을 보고한 바 있다.

무기염류 및 Tween 80 농도에 의한 영향 응집제 생산 및 균체증식에 미치는 무기염류들과 Tween 80의 영향을 조사한 결과는 Fig. 5 및 Fig. 6과 같다. 대상 무기염류들 중 Ca²⁺이온과 Mn²⁺이온들이 응집활성을 증가시킨 반면 Mg²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺이온들은 응집제 생산을 저해하였다. Mn²⁺이온은 균의 증식도 증가시키므로써 Appanna 등(21)이 밝힌 Mn²⁺이온이 다당류의 생산을 촉진시킨다는 보고와 조 등(23)이 보고한 manganese sulfate의 첨가가 젖산균의 생육을 현저히 증가시켰다는 결과와 동일한 경향을 나타내었다. 세포내 또는 세포막에 존재하는 물질의 추출을 향상에 사용되고 있는 Tween 80가 exopolymer생산에 미치는 영향을 농도별로 조사한 결과 저농도 영역에서 응집활성을 급격히 상승시키는 높은 친화성을 가지면서 0.2% 첨가시 무첨가구에 비해 약 1.7배인 910 units/ml의 매우 높은 응집활성 증가현상을 보였다. 반면 균체 증식은 미미하였으며, 첨가농도 증가에 따라 응집활성의 감소율보다 높은 감소

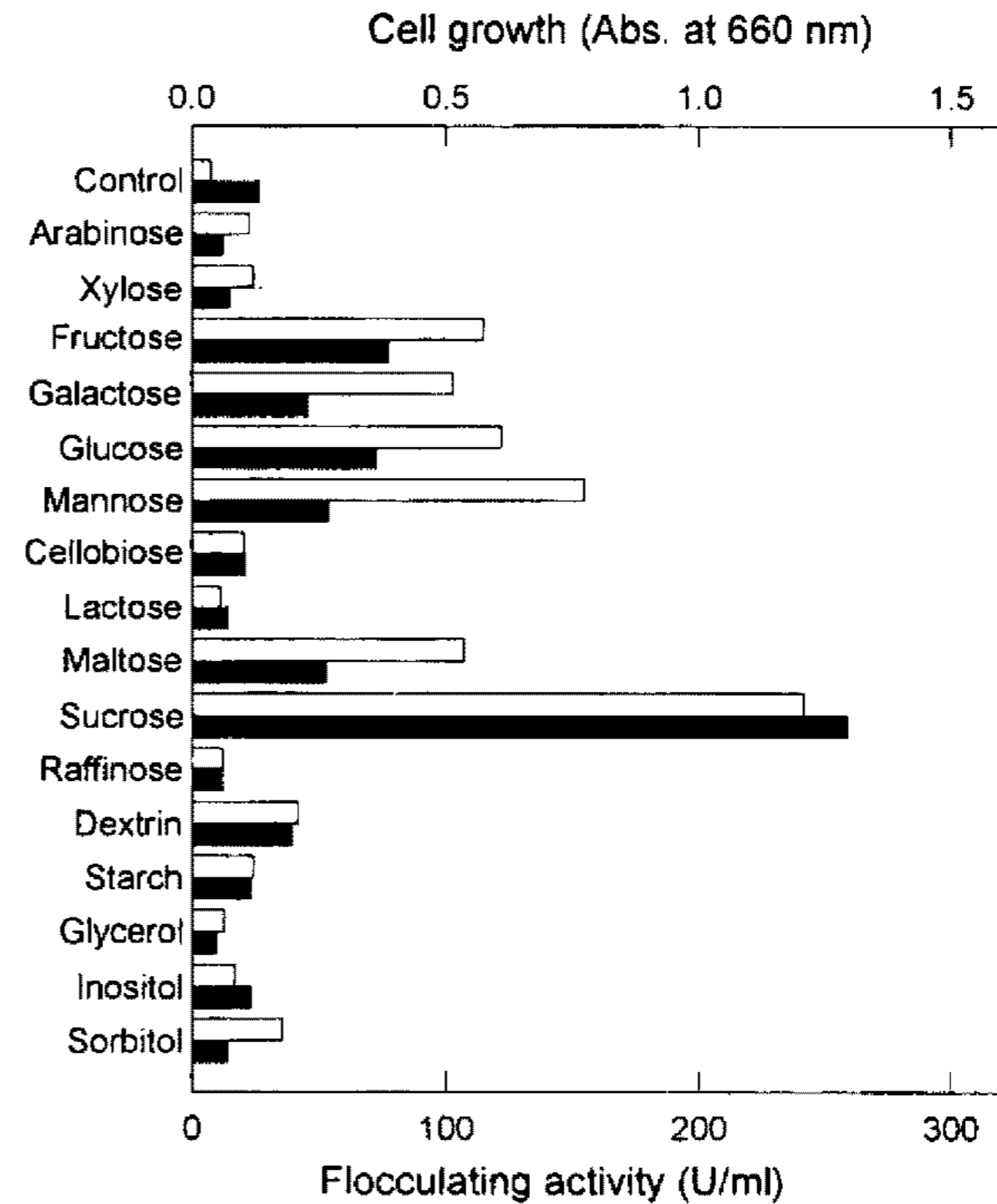


Fig. 2. Effect of carbon sources on cell growth and flocculating activity.

Each 1.0% carbon source was added to the basal medium containing 0.2% peptone, 0.05% yeast extract, 0.1% K₂HPO₄, 0.1% KH₂PO₄, 0.1% NaCl, 0.02% MgSO₄ · 7H₂O, 0.001% MnSO₄ · 5H₂O, 0.001% FeSO₄ · 7H₂O and 0.1% Tween 80. The pH of medium was adjusted to 6.5. Cultivation was carried out with rotary shaker controlled at 25°C and 30 rpm for 3 days. ■: Flocculating activity, □: Cell growth.

를 나타내었다.

C/N ratio의 영향 균체내외의 다당 축적과 생산은 C/N비와 밀접한 관련성이 알려져 있으며 일반적으로 C/N 비율이 높을수록 다당류 생산이 효과적으로 이루어진다는 보고(21)에 따라 탄소원(sucrose)과 질소원(tryptone)의 C/N 비를 달리하여 *Lactobacillus jensenii* YW-33의 균체생육 및 응집활성에 미치는 영향을 조사하였다(Table 3). 균체량은 sucrose 농도가 증가할수록 C/N 비가 낮을수록 높은 값을 보였으나 응집활성은 저하되는 경향을 나타내었으며 sucrose 2% 농도와 tryptone 0.05%를 첨가한 C/N비 40일 때 595 units/ml로 가장 높은 응집활성을 보였다. 이 결과는 pullulan 생산시 탄소원의 농도가 지나치게 높으면 다당류 생산능이 떨어진다는 Shin 등의 보고(25)와 C/N ratio가 높을수록 응집활성이 증가하였다는 Seo 등의 보고(26)와 유사한 경향이였다.

응집제 생산을 위한 배양조건

본 균주의 응집활성 및 균생육과 관련된 배양조건들인 배지의 초기 pH, 배양온도, 교반속도의 영향을 상기에서 최적화한 배지를 사용하여 검토하였다. 배양초기 pH 7.0

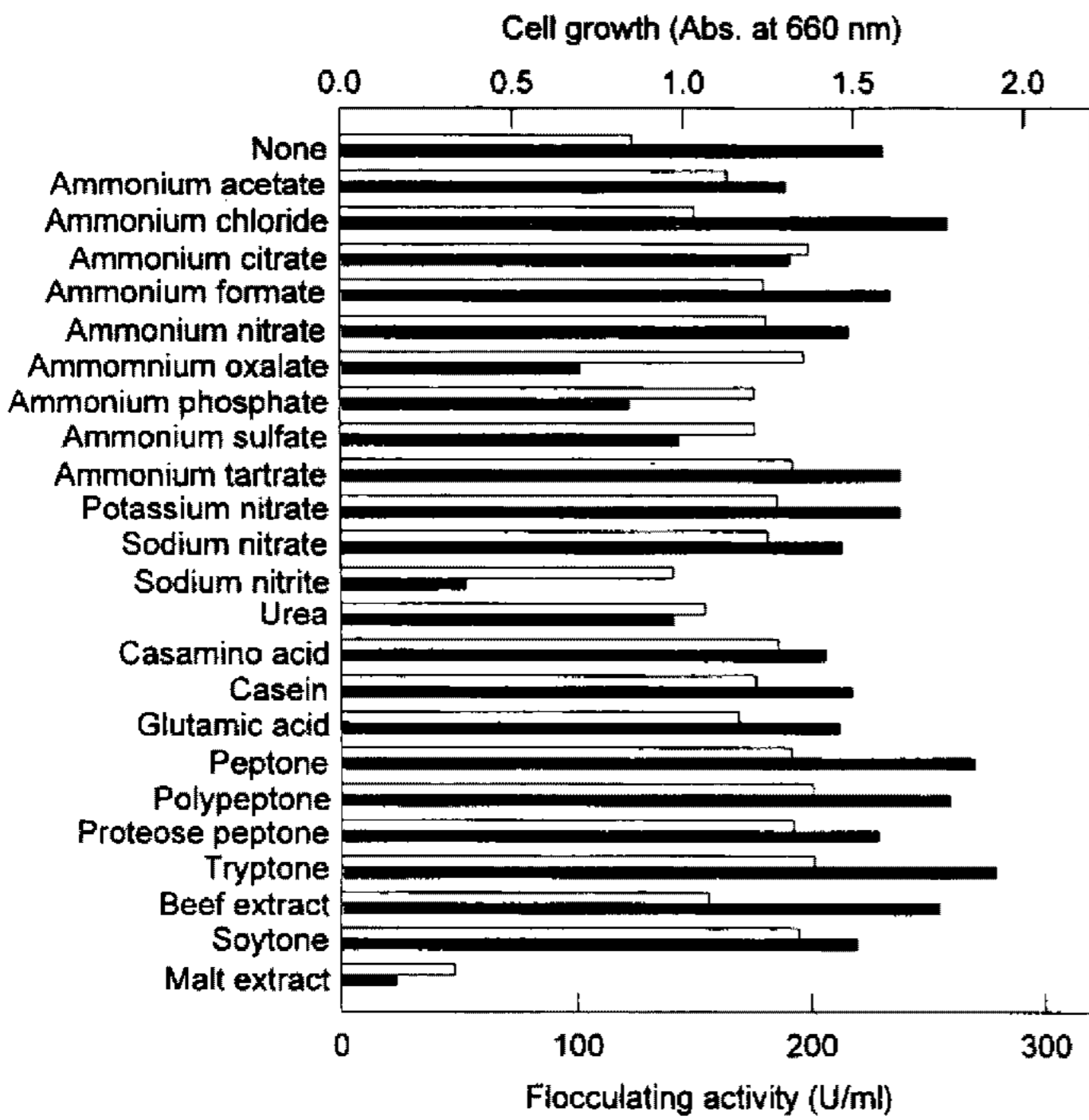


Fig. 3. Effect of nitrogen sources on cell growth and flocculating activity.

Each 0.2% nitrogen source was added to the basal medium containing 1.0% sucrose, 0.05% yeast extract, 0.1% K_2HPO_4 , 0.1% KH_2PO_4 , 0.1% NaCl, 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.001% $MnSO_4 \cdot 5H_2O$, 0.001% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ and 0.1% Tween 80. The pH of medium was adjusted to 6.5. Cultivation was carried out with rotary shaker controlled at 25°C and 30 rpm for 3 days. ■: Flocculating activity, □: Cell growth.

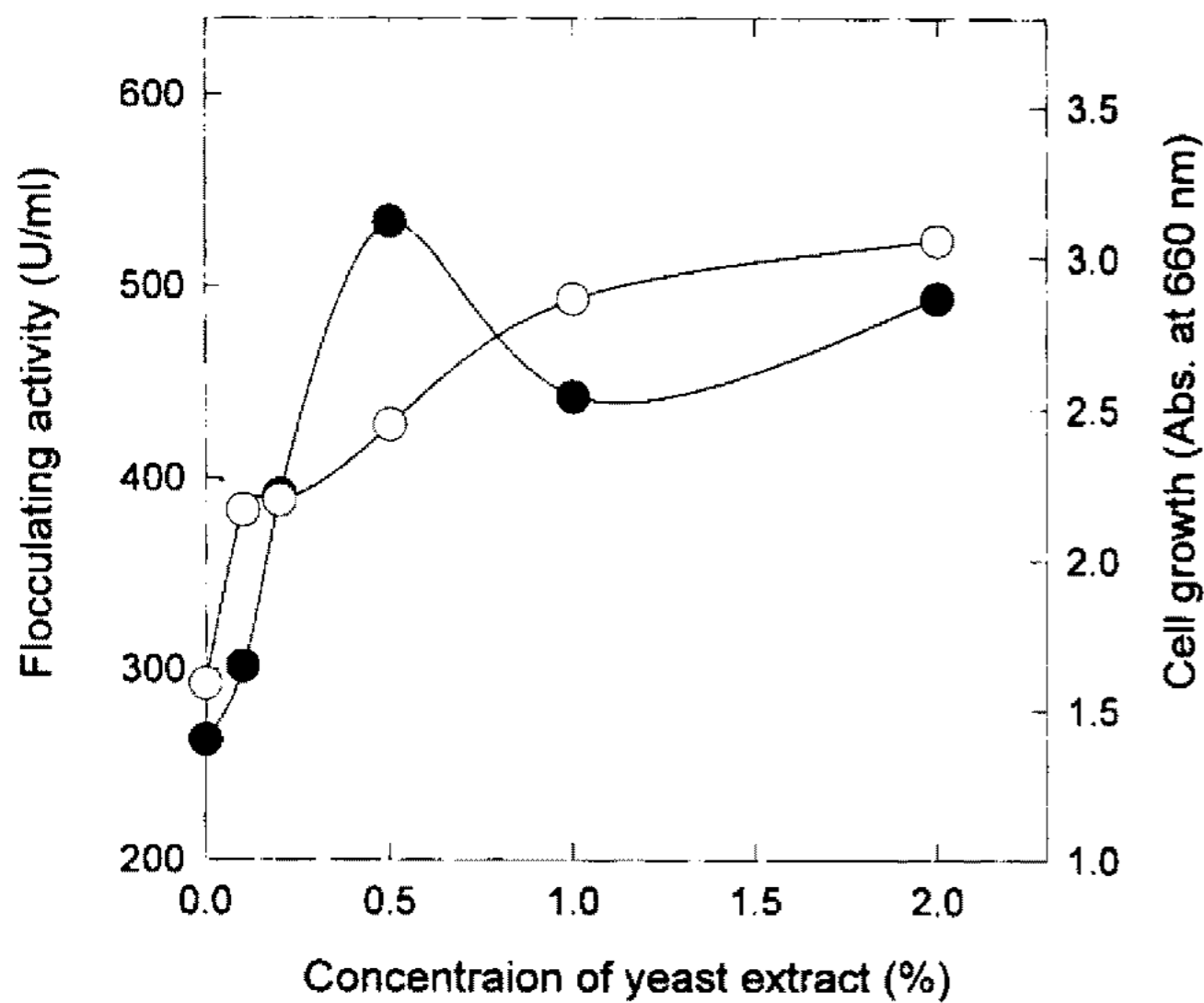


Fig. 4. Effect of yeast extract concentration on cell growth and flocculating activity.

●: Flocculating activity, ○: Cell growth.

에서 가장 높은 응집활성과 균체증식을 보였으나 pH 7.0 이상에서는 급격히 응집활성이 감소되었고 50 ppm 이상의 교반에 의해서도 응집활성과 균생육이 저하됨으로써 통기를 요구하지 않는 젖산균의 특성을 나타내었다.

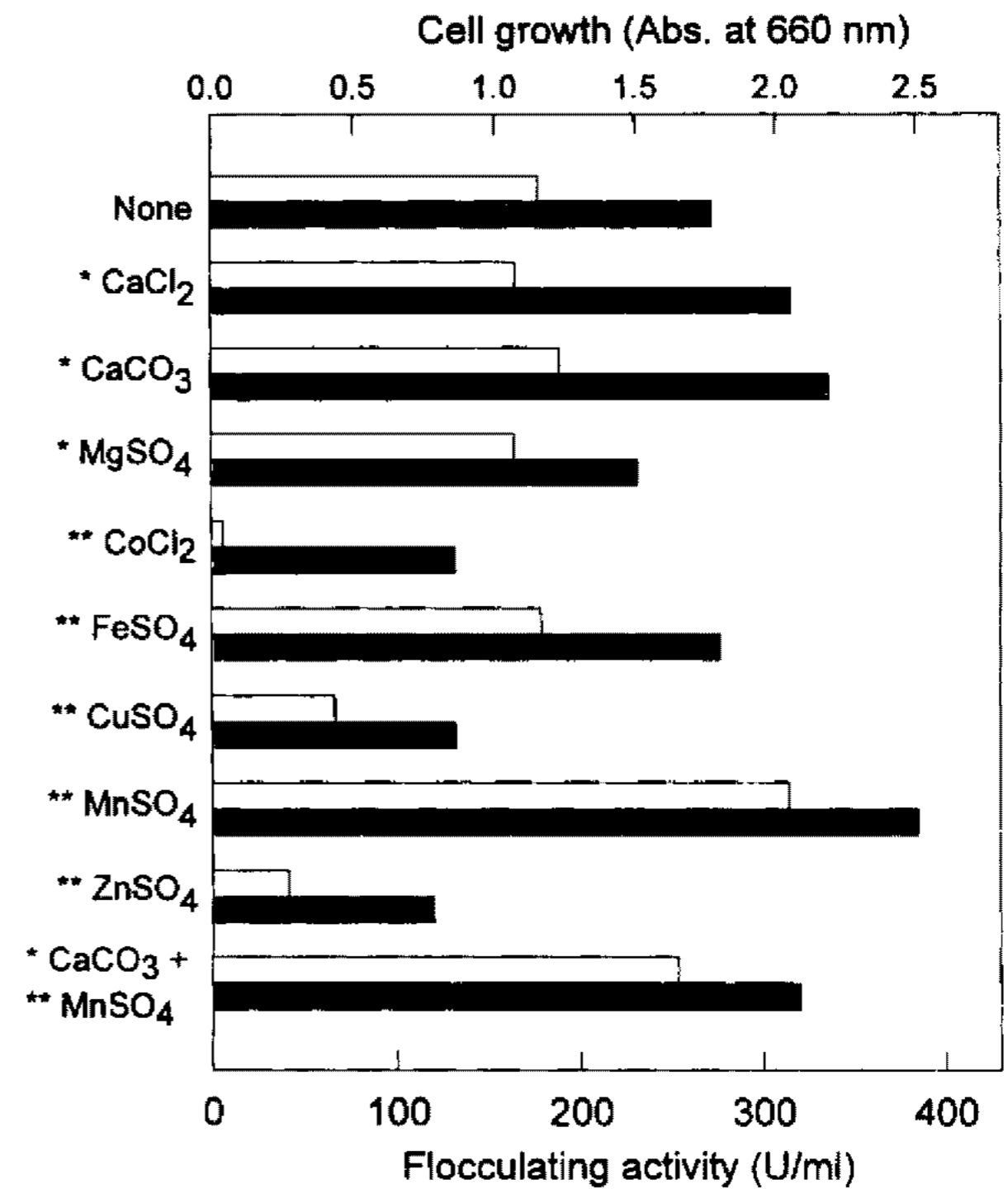


Fig. 5. Effect of inorganic salts on cell growth and flocculating activity.

Salts of 0.01% (*) and 0.005% (**) were to the basal medium containing 1.0% sucrose, 0.2% tryptone, 0.05% yeast extract, 0.1% K_2HPO_4 , 0.1% KH_2PO_4 , 0.1% NaCl, 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.001% $MnSO_4 \cdot 5H_2O$, 0.001% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ and 0.1% Tween 80. The pH of medium was adjusted to 6.5. Cultivation was carried out with rotary shaker controlled at 25°C and 30 rpm for 3 days. ■: Flocculating activity, □: Cell growth.

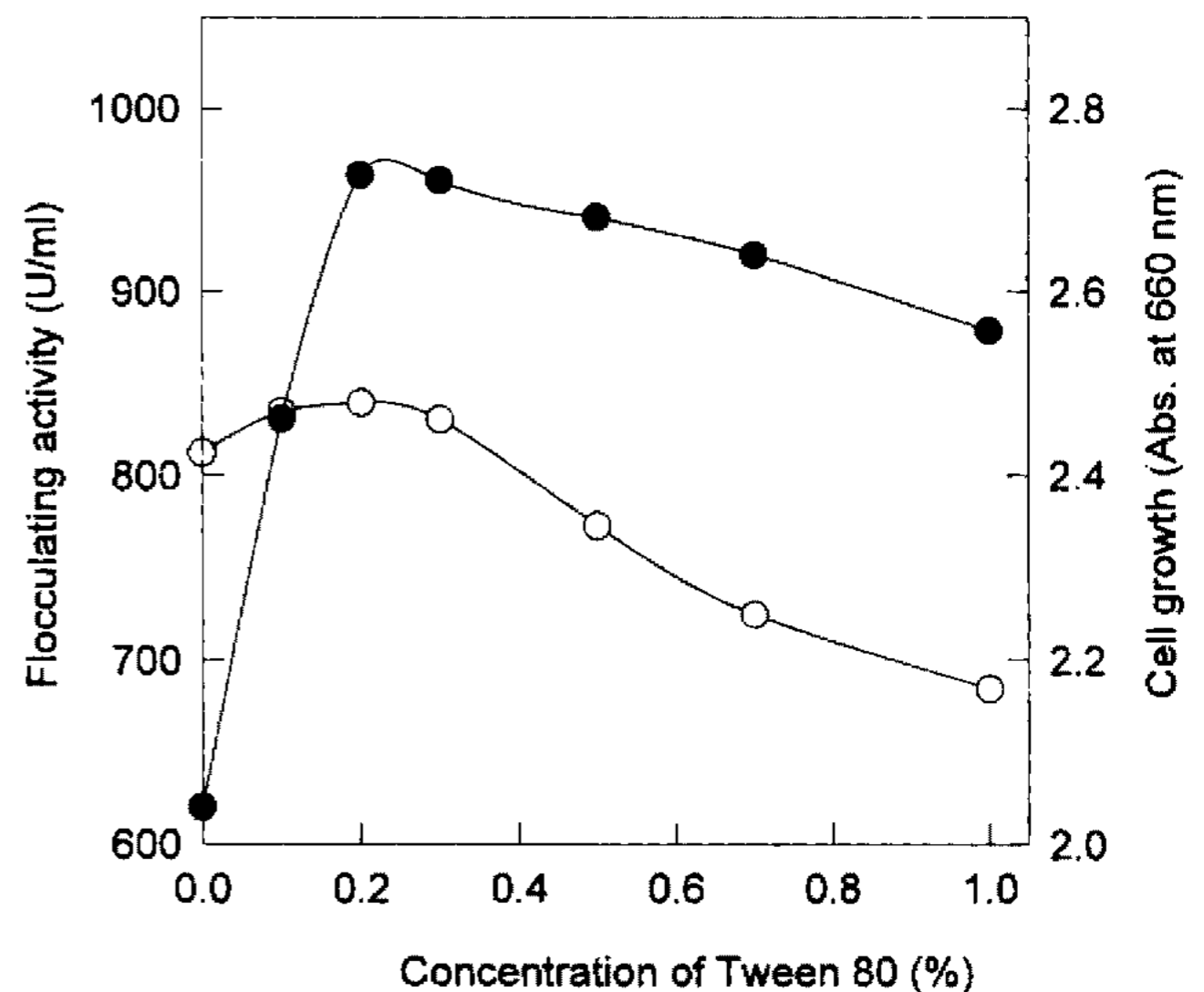


Fig. 6. Effect of Tween 80 concentration on cell growth and flocculating activity.

The medium was composed of 0.2% yeast extract, 0.1% K_2HPO_4 , 0.1% KH_2PO_4 , 0.1% NaCl, 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.001% $MnSO_4 \cdot 5H_2O$, 0.001% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ and 0.1% Tween 80. The pH of medium was adjusted to 6.5. Cultivation was carried out with rotary shaker controlled at 25°C and 30 rpm for 3 days. ■: Flocculating activity, □: Cell growth.

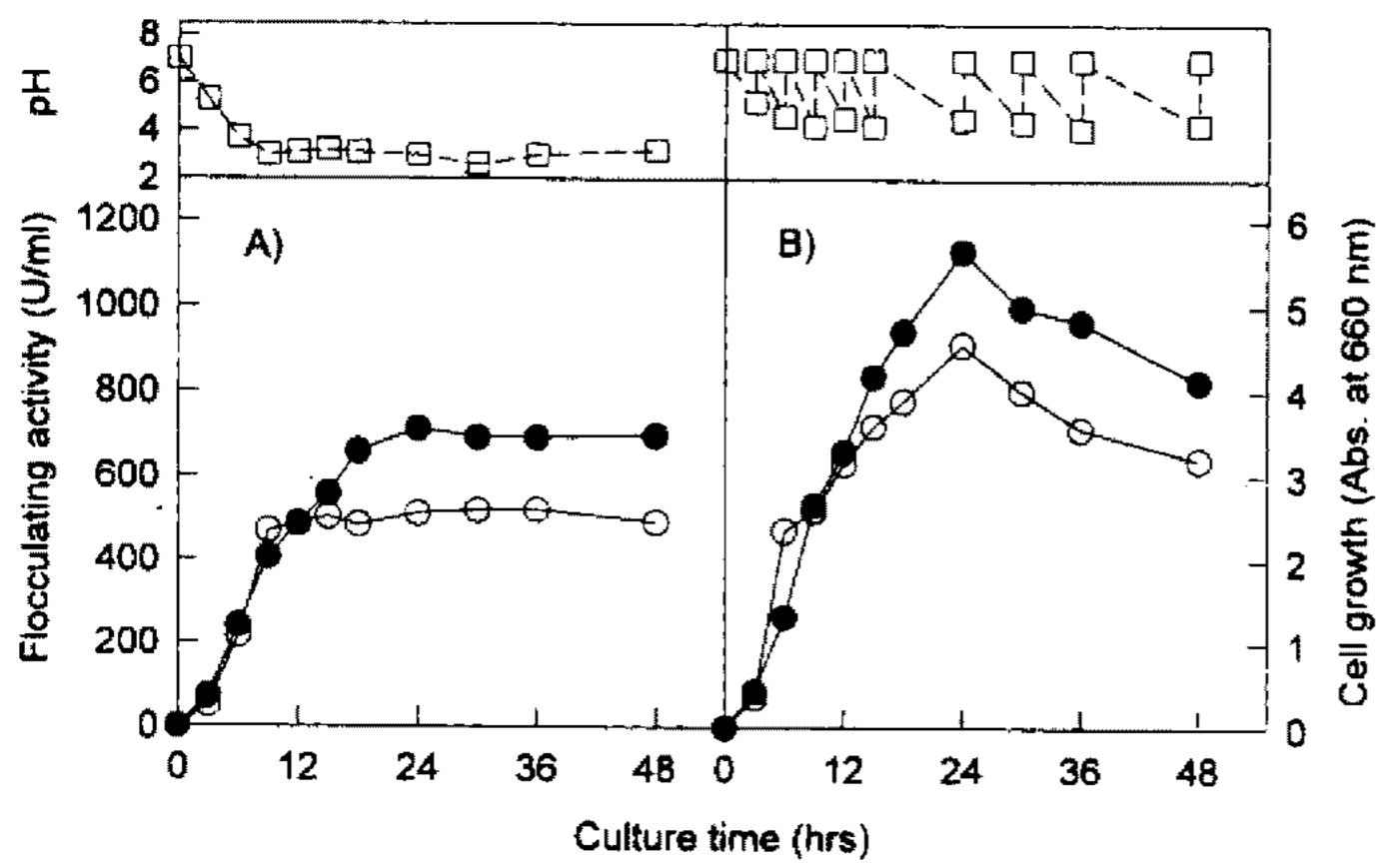


Fig. 7. Time course of flocculant production in a jar fermentor.

A) No adjusted pH, B) Adjusted pH with 2 N NaOH. Cultivation was carried out under the following condition; working volume 2 l, impeller speed 30 rpm, temperature 30°C and initial pH 7.0. ●: Flocculating activity, ○: Cell growth, □: pH.

Table 3. Effect of C/N ratio on cell growth and flocculating activity

Concentration of sucrose C/N ratio	1%		2%		3%		4%	
	C	F	C	F	C	F	C	F
50	2.65	539	3.42	528	3.68	523	3.38	578
40	2.57	554	3.31	595	3.71	549	3.34	586
30	2.70	556	3.41	575	3.78	533	3.35	586
20	2.70	532	3.51	579	3.54	519	3.55	577
10	2.77	534	3.74	579	3.81	515	3.93	571
5	3.05	519	4.12	568	4.08	516	4.67	544

Cultivation was carried out at 25°C for 24hrs in the medium containing 0.5% yeast extract, 0.01% K₂HPO₄, 0.01% KH₂PO₄, 0.01% NaCl, 0.005% MnSO₄ · 5H₂O and 0.2% Tween 80. C: Cell growth, F: Flocculating activity.

25°C에서 최적 배양온도를 보인 본 균주는 응집제 생산을 위한 배양조건들이 단순하므로 공업적인 응집제 생산 공정 또는 배출 고농도 유기폐수를 이용한 응집제 생산에 있어 다른 균주들보다 유리함을 알 수 있었다.

응집제의 jar fermentor 생산

이상의 실험결과들로부터 확립한 flask-scale의 응집제 생산용 최적배지와 배양조건에서 *Lactobacillus jensenii* YW-33을 inoculum size 1%(v/v), impeller speed 30 rpm, 배양온도 25°C 및 working volume을 2 l로 한 5 l jar fermentor를 사용하여 배양시간에 따라 추적한 응집 활성, 균체증식, pH의 변화는 Fig. 6과 같다. 균의 생육과 함께 비례하여 응집제가 생산되었으며 배양액의 pH가 4.0 이하로 저하되면서 균의 생육과 응집제 생산은 억제되어 배양 24시간에서 pH 조정구보다 50~60% 낮은 생육과 응집활성을 나타내었다. 이는 Kurane 등(17)이 보고한 *Rhodococcus erythropolis*의 경우를 포함하여 대부

분의 균들이 배양시간에 따른 생육과 응집제 생산양식이 거의 유사함을 보임으로써 응집제들이 1차 대사산물임을 시사해 주고 있다.

요 약

젖산균이 생산하는 폐수처리용 생물응집제를 개발하기 위하여 보관균주 및 자연계로부터 kaolin에 대하여 100 units/ml이상의 응집활성을 나타내는 응집제 생산균주 20종을 1차로 분리하고 각종 폐수의 부유물에 대한 제거율을 검토한 결과, 광범위하게 응집효과를 보인 YW-33을 최종 선별하였다. 선별된 균주는 *Lactobacillus jensenii*로 동정되었으며, 이 균주가 생산하는 응집제는 polysaccharide로 추정되었다. 응집제 생산을 위한 최적 배양조건은 2% sucrose, 0.05% tryptone, 0.5% yeast extract, 0.01% K₂HPO₄, 0.01% KH₂PO₄, 0.01% NaCl, 0.005% MnSO₄ · 5H₂O, 0.2% Tween 80, 초기 pH 7.0, 온도 25°C이었다. 상기의 조건에서 jar fermentor로 배양하였을 때, 24시간에서 최대의 응집활성인 1,130 units/ml을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농진청의 '95 농업특정연구사업에 의하여 수행된 연구의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Gasner, L. L. and D.I.C. Wang. 1970. Microbial cell recovery enhancement through flocculation. *Biotech. Bioeng.* **12**: 873-887.
2. Tago, Y. and K. Aida. 1977. Exocellular mucopolysaccharide closely related to bacterial floc formation. *Appl. Environ. Microbiol.* **34**: 308-314.
3. Nakamura, J., S. Miyashiro and Y. Hirose. 1976. Screening, isolation and some properties of microbial cell flocculants. *Agr. Biol. Chem.* **40**: 377-383.
4. Unz, R. F. and S. R. Farrah. 1976. Exopolymer production and flocculation by *Zoogloea* MP6. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**: 623-626.
5. Santoro T. and G. Stotsky. 1967 Influence of cations on flocculation of clay minerals by microbial metabolites by the electrical sensing zone particle analyzer. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **31**: 761-765.
6. Michaels A. S. 1954 Aggregation of suspension by polyelectrolytes. *Ind. Eng. Chem.* **46**: 1485-1490.
7. Parfitt R. L. and D. J. Greenland. 1970 The adsorption of polyethylene glycols on clay minerals. *Clay Minerals* **8**: 305-316.
8. Toeda, K. and R. Kurane. 1991. Microbial flocculant

- from *Alcaligenes cupidus* KT201. *Agr. Biol. Chem.* **55**: 2793-2799.
9. Takagi, H. and K. Kadowaki. 1985. Flocculant production by *Paccilomyces* sp. Taxonomic studies and culture conditions for production. *Agr. Biol. Chem.* **49**: 3151-3157.
 10. Gutcho, S. 1977. Waste Treatment with Polyelectrolytes and Other Flocculants. pp. 1-37, Noyes Data Corp., Park Ridge, New Jersey, U.S.A.
 11. Zajic, J. E. and E. Knetting. Developments in Industrial Microbiology. American Institute of Biological Science, Washington D. C., 1971, Pp 87-98.
 12. Shinohara, S. 1885 Japanese Patent (Kokai Koho) S54-55798.
 13. Takagi, H. and K. Kadowaki. 1985. Purification and chemical properties of a flocculant produced by *Paccilomyces*. *Agr. Biol. Chem.* **49**: 3159-3164.
 14. Kurane, R. and Y. Nohata. 1991. Microbial flocculation of waste liquids and oil emulsion by a bioflocculant from *Alcaligenes latus*. *Agr. Biol. Chem.* **55**: 1127-1129.
 15. Kurane, R., K. Toeda, K. Takeda and T. Suzuki. 1986. Cultural conditions for production of microbial flocculant by *Rhodococcus erythropolis*. *Agr. Biol. Chem.* **50**: 2309-2313.
 16. 比嘉昭夫, 1994. 微生物の農業利用と環境保全, 農文協.
 17. Sneath, P.H.A., N. S. Mair, M. E. Sharp and J. G. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Winkins. Co., New York.
 18. 김한수, 오준현, 김혁일, 조홍연, 양한철. 1994. 광합성세균 *Rhodospseudomonas palustris* KK14를 이용한 소규모 축산 폐수처리 공정. *한국농화학회지* **37**: 303-309.
 19. 서호찬, 임왕진, 조홍연, 양한철. 1993. *Rhodospirillum rubrum* P17를 이용한 두부공업 폐수처리조건의 최적화, *생물공학논문집*, 5: 42-47.
 20. 東京化學同人. 1976. 糖質の化學(下), 生化學實驗講座.
 21. Appanna, V. D. 1988. Stimulation of exopolysaccharide production in *Rhizobium meliloti* JJ-1 by manganese. *Biotechnol. Lett.* **10**: 205-206.
 22. Harris, R. and H. Mitchell, R. 1968. Relationship between extracellular polymer production and bacterial aggregation. *Bacteriol. Proc.* **34**: 38-42.
 23. Cho, Y. K., K. H. Cho, S. S. Hong and H. S. Lee. 1995. Optimization of medium components for lactic acid production. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 12-16.
 24. Kwon, O. S., H. S. Nam, H. J. Lee and Y. C. Shin. 1994. Pullulan production and morphological change of *Aureobasidium pullulans* ATCC 9348. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **22**: 565-570.
 25. Shin, Y. C., Y. H. Kim, H. S. Lee, Y. N. Kim, and S. M. Byun. 1987. Production of pullulan by a fed-batch fermentation. *Biotechnol. Lett.* **9**: 621-624.
 26. 서현호, 이문호, 김희식, 박찬선, 윤병대. 1993. *Bacillus* sp. A56을 이용한 응집제 생산, *한국산업미생물학회*. **21**: 486-493

(Received 7 October 1996)