

## *Agrobacterium* sp. KF-67에 의한 미생물 응집제 생산

정준영 · 김교창 · 도대홍\*

충북대학교 식품공학과, \*충청전문대 식품공업과

### Production of Bioflocculant by *Agrobacterium* sp. KF-67

Jun-Young Jeong, Kyo-Chang Kim and Dae-Hong Do\*

Dept. of Food Sci. and Tech., Chungbuk National Univ., Cheongju, 360-763, Korea

\* Dept. of Food Sci. and Tech., Chungcheong Junior College, Cheongwon, 363-890, Korea

#### Abstract

Among 120 microorganisms isolated from soil, KF-67 was the best producer of flocculant and was examined for flocculating ability in the kaolin clay and CaCl<sub>2</sub> suspension. KF-67 was identified to be a species belong to the genus *Agrobacterium* sp. The influence of components of the culture medium for flocculant production by *Agrobacterium* sp. KF-67 was studied. The favorable carbon and inorganic nitrogen source for production of the flocculant were glucose and NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> and their addition concentrations were 2% and 0.1%, respectively. Addition of the organic nitrogen such as yeast extract, peptone and inorganic salt such as CaCO<sub>3</sub> significantly increased the production of flocculant. These result indicated that the production of flocculant by *Agrobacterium* sp. was significantly affected by both organic nitrogen and inorganic salt. The components of the optimum culture medium were 2% glucose, 0.1% NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0.01% yeast extract, 0.01% peptone, 0.04% CaCO<sub>3</sub>, 0.03% NaCl in initial pH 7.5 when cultured with rotary shaker controlled at 30°C and 120 rpm. Under the optimum culture medium, flocculant production was highly improved about 76% than that isolation medium.

Key words : *Agrobacterium* sp., bioflocculant, optimum culture medium.

#### 서론

현재 다양한 종류가 광범위한 산업에서 이용되는 응집제는 무기, 유기 및 천연 고분자 응집제 등으로 분류된다<sup>1)</sup>. Aluminum sulfate, polyaluminum chloride, ferric chloride와 활성 silica 등의 무기 응집제는 폐수 처리에, polyacrylamide, polyethylene imine, sodium polyacrylate 등의 유기 응집제는 저렴하면서 응집력이 우수하여 토목분야와 폐수처리 등에 광범위하게 사용되고 있다<sup>2)</sup>. 그러나 polyacrylamide 유도체들은 2차 환경오염과 인체에 강한 신경독성과 발암성이 있고 polyaluminum chloride의 주성분인 aluminum은 Alzheimer 질환을 유발하는 것으로 보고<sup>4)</sup>되어 사용에 대한 우려가 높다. 천연 고분자 물질인 chitosan,

guar gum, sodium alginate 등의 응집제는 인체에 무해하고 안정성이 있어 식품 및 발효공업에서 균체 제거나 회수에 이용하고 있다<sup>5)</sup>. 그러나 이들 천연 고분자 응집제들은 가격이 비싸고 응집작용이 약한 단점 때문에 사용이 한정적이다. 한편 식품 및 발효공업의 공정과정 중 균체 제거 및 회수에 보편적으로 이용되는 기존의 일반적인 원심분리법과 여과법은 에너지 소비가 많아 적절한 응집제를 사용함으로써 생산원가를 줄여야만 할 실정이다. 따라서 식품산업에서 요구되는 인체에 무해하면서 강한 응집력을 갖는 저가의 응집제 개발이 절실한 실정이다<sup>6)</sup>. 최근에는 미생물 기원 응집제가 인체에 무해하면서도 천연 고분자 응집제에 비하여 저렴하면서 응집력이 강한 것으로 알려져 있어<sup>7)</sup> 활발한 연구가 진행되고 있으며 *Rhodococcus* sp., *Corynebacterium* sp.,

*Dematium* sp., *Aspergillus sojae* 등의 미생물 응집제 생산균주가 보고되어 있다<sup>8-10)</sup>. 그러나 이들 미생물 응집제는 작용범위가 제한적이어서 혼합물질 용액에서는 응집효과가 감소되는 단점이 있다.

따라서 본 실험에서는 작용범위가 넓고 응집력이 강한 미생물 응집제 개발을 목적으로 토양에서 응집력이 우수한 균주를 선발하고 이들의 응집물질 생산조건을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 균 분리 및 선발

응집제 생산 실험균주는 분리한 *Agrobacterium* sp. KF-67을 사용하였다. 균 분리는 충북 청주시와 청원군 일원의 토양시료를 최소량의 탄소원이 함유된 분리용 한천 고체배지<sup>11)</sup>(glucose 2g, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 0.2g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1g, NaCl 0.05g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05g, yeast extract 0.01g, agar 15g in 1ℓ distilled water, pH 7.5)를 사용하여 25℃에서 비교적 성장 속도가 빠른 약 120 집락을 분리하였다. 같은 성분의 액체배지 10ml에 집락을 접종하고 28℃ 진탕항온수조에서 120rpm으로 진탕하면서 16시간 배양하여 활성화시켰다. 활성화시킨 배양액 1ml를 새로운 100ml의 액체 배지에 이식하여 다시 3일간 배양한 배양액 0.1ml와 0.5% kaolin clay 10ml와 0.1% CaCl<sub>2</sub> 0.1ml을 교반하여 혼합하고 3분 동안 정지한 후 상층액의 흡광도를 측정하여 1차 선발하였다. 2차 선발은 100ml 배양액으로 1차 선발과 같은 방법으로 kaolin clay와 CaCl<sub>2</sub> 혼합용액에 대한 응집활성력을 측정하여 가장 우수한 균주를 선발하였다.

### 2. 배양 및 배지

배양균의 활성화는 최소량의 탄소원이 함유된 분리배지<sup>11)</sup>를 사용하여 응집물질 생성을 유도하였고 탄소원 성분별 영향을 조사하는 배지로도 사용하였다. 응집제 성분 생성에 질소원 및 무기염 첨가량과 성분간 차이를 조사하기 위한 배지는 배지 1ℓ에 glucose 2g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.01g, NaCl 0.01g 함유된 기초배지를 pH 7.5로 조절하여 적용성분을 가감하면서 사용하였다. 배양은 분리균을 16시간 활성화시킨 배양액 0.1%를 접종하여 30℃에서 50시간 120rpm으로 교반 배양하면서 응집활성을 측정하였다.

### 3. 균체량 측정

균체량은 spectrophotometer(Spectronic-20, US-

A)를 이용하여 660nm에서 배양액의 흡광도를 측정하였다.

### 4. 응집활성 측정

응집활성<sup>2)</sup>은 0.5% kaolin clay 10ml와 0.1% CaCl<sub>2</sub> 0.1ml를 혼합한 용액에 배양액 0.1ml를 첨가하고 10초간 교반하여 실온에서 3분간 정지한 후 상층액 2ml를 취하여 spectrophotometer(Spectronic-20, USA)로 550nm에서 흡광도를 측정하였다. 응집활성력은 다음 식으로 계산하였다. 대조구는 배양액 대신 증류수를 사용하였다.

Unit of flocculating activity(F.U.)=1 / A-1 / B

F. U. : Flocculating unit, A and B: Abs. of control at 550nm and sample at 660nm.

### 5. 배양조건

응집제 생산에 가장 유용한 배지성분과 농도를 조사하기 위하여 배지성분의 종류와 농도에 따른 균생육과 응집활성을 비교하였다. 탄소원에 대한 실험은 균 분리에 사용한 분리배지<sup>11)</sup>성분 중 탄소원을 종류와 농도를 다르게 첨가하여 배양하고 응집활성을 비교하였다. 이때 확인된 적정 탄소원과 농도를 질소원과 무기염에 대한 기초 실험배지의 탄소원 대신 넣고 무기질소원 0.3%, 유기질소원과 무기염 0.01%의 농도로 첨가하여 성분별 응집활성을 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 균 분리 및 동정

식품공업에 유용한 응집제 생산을 목적으로 토양으로부터 약 120 여종의 집락을 분리하여 응집활성이 가장 우수한 KF-67 균주를 최종 선발하고 API 20NE kit을 이용하여 *Agrobacterium* sp.로 추정하였다. KF-67 분리균의 생리적 성질을 조사하고 “Bergey's manual of determinative bacteriology”의 보고 내용과 비교하였다. 분리한 KF-67 균주의 생리적 성질은 Table 1과 같으며 *Agrobacterium tumefaciens* Biovar 1과 유사한 성질을 갖고 있었으나 균체의 크기, nitrate와 nitrite 이용성에서 차이가 있었다. 따라서 분리균을 *Agrobacterium* sp. KF-67로 명명하여 실험균주로 사용하였다.

### 2. 탄소원에 대한 영향

균 생육과 응집활성에 영향을 주는 탄소원을 조사하

**Table 1. Morphological and physiological characteristics of the Agrobacterium sp. KF-67 from soil**

Characteristics	Isolate KF-67	Agrobacterium tumefaciens Biovar 1	Characteristics	Isolate KF-67	Agrobacterium tumefaciens Biovar 1
Gram stain	negative	negative	Urease	-	-
Shape	rod	rod	Indol formation	-	-
Size	0.45~1.0 $\mu$ m	0.6~1.0 $\mu$ m	H <sub>2</sub> S formation in lead acetate paper method	-	-
Growth at:			Acid production:		
35°C	+	+	D-glucose	+	+
28°C	+	+	D-fructose	+	+
2% NaCl growth	+	+	lactose	+	+
Reduction of:			sucrose	+	+
nitrate	-	d	xylose	+	+
nitrite	-	d	Utilized as:		
Hydrolysis of:			ammonium salt	+	+
gelatin	-	-	ammonium nitrate	+	+
casein	-	-			
starch	-	-			

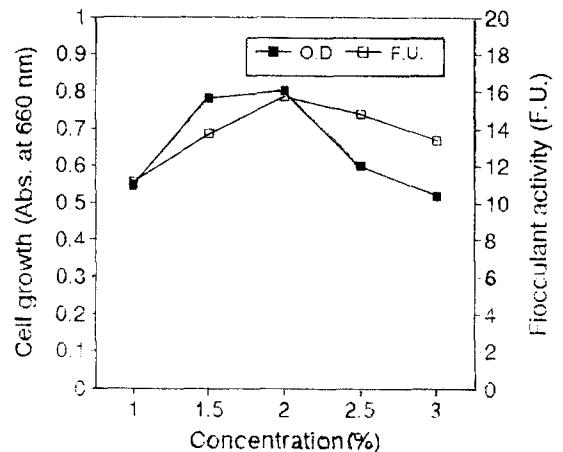
+ : positive, - : negative, d : 11~89% of the strains are positive

기 위하여 분리배지에 각 탄소원을 2%의 농도로 첨가하여 조사한 결과는 Table 2와 같으며, 최대 응집활성은 나타낸 glucose에 대한 농도에 따른 응집활성 변화는 Fig. 1과 같이 나타났다. 탄소원으로 2%의 glucose를 첨가하였을 때 가장 우수한 응집활성을 나타내었고 maltose, sucrose도 높은 응집활성을 나타내었다. 그러나 soluble starch, dextrin 등의 다당류에서는 응집활성이 거의 없었다. Xylose와 fructose는 단당류이지만 거의 활성이 나타나지 않았다. 응집활성이 가장 큰 glucose는 균 생육시 대수기 말기에 최대의 응집활성을 보인 후 정상기 초기부터는 급격한 감소를 보였다. Kurane 등<sup>2)</sup>은 *Rhodococcus erythropolis*를 이용한 응집제

**Table 2. Effect of various carbon source on flocculating activity and cell growth of Agrobacterium sp. KF-67**

Carbon sources	Cell growth of Agrobacterium sp. KF-67(Abs. at 660 nm)	Kaolin clay and CaCl <sub>2</sub> mixing solution <sup>A</sup> (F.U. <sup>B</sup> )
Maltose	0.48	14.80
Glucose	0.98	15.91
Sucrose	0.86	14.22
Soluble starch	0.41	0.01
Inositol	1.15	13.61
Dextrin	0.51	0.10
Xylose	0.01	0.11
Galactose	0.52	13.5
Fructose	0.03	0.04
Lactose	0.48	7.22

<sup>A</sup> : 0.5% Kaolin clay 10 ml+0.1% CaCl<sub>2</sub> 0.1ml, <sup>B</sup> : flocculating unit(F.U.)=1/A-1/B(A=Abs. of control at 550nm, B=Abs. of sample at 550nm).



**Fig. 1. Effect of glucose concentration on flocculating activity and cell growth of Agrobacterium sp. KF-67.** Cultivation was carried out in cultural flask with 1,000ml medium containing 0.01g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.01g NaCl and glucose of each concentration with rotary shaker controlled for 50 hours at 30°C and 120rpm. Measurement of cell growth and flocculating activity were carried out by the same method as the above experiments.

생산조건을 검토한 실험에서 응집활성이 대수기 후기에 최고를 나타내어 정상기까지 활성이 유지되었고 이는 생성된 응집제가 세포에 의해 자가분해되지 않은 결과라고 추측하였다. 응집활성이 정상기 초기부터 급격히 감소되는 본 실험의 결과는 보다 충분한 검토가 필요하지만 대수기 말기에 최대로 생성된 응집물질의 자가분해 또는 배양액의 pH 저하에 기인한 응집활성의 실패

로 추측된다. 가장 우수한 응집활성을 나타낸 탄소원인 glucose의 농도에 따른 응집활성을 조사한 결과 2% 첨가구에서 최대 응집활성과 균 생육을 보이지만, 그 이상의 농도에서는 오히려 응집활성이 감소하는 것으로 조사되었다. 이와 같은 결과는 *Aracuadendrom* sp.가 3% 농도에서 가장 높은 응집활성을 나타내었다고 보고한 이 등<sup>12)</sup>의 결과와 다소 차이가 있었다. 이러한 차이는 실험균주의 차이에 기인한 것으로 생각된다. 본 실험에 사용된 기초배지의 탄소원으로 가장 높은 응집활성을 나타낸 2% glucose를 첨가하여 기타 배지성분들에 대한 영향을 조사하였다.

### 3. 무기질소원의 영향

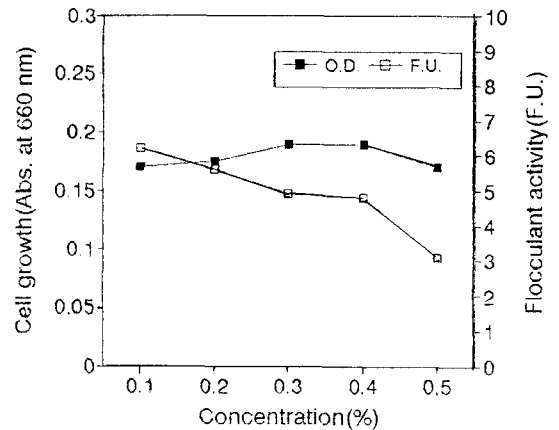
균 생육과 응집활성에 대한 무기질소원의 영향을 조사하기 위해 2%의 glucose를 첨가한 기초배지에 다양한 무기질소원을 0.3%씩 첨가하여 배양하고 응집활성과 균 생육을 측정하여 결과는 Table 3과 같다.

이때 최대 응집활성을 나타낸  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 를 농도별로 구분 첨가하고 배양했을 때 응집활성과 균 생육의 결과는 Fig. 4와 같이 나타났다. Table 3에서와 같이 무기질소원으로  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 를 첨가했을 때 균 생육과 응집활성이 가장 우수하였으나  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ 는 응집활성 증가에 효과가 적었다. 가장 높은 응집활성을 보인  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 를 농도에 따른 응집활성 변화를 조사한 결과 Fig. 2에서와 같이 0.1%의 첨가구에서 최대 응집활성을 보였고, 배지의  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 의 농도가 0.1% 이상에서는 균 생육은 증가하였으나 응집활성은 오히려 감소하였다. 따라서

**Table 3. Effect of various inorganic nitrogen source on flocculating activity and cell growth of *Agrobacterium* sp. KF-67**

Inorganic nitrogen sources <sup>A</sup>	Cell growth of <i>Agrobacterium</i> sp. KF-67(Abs. at 660 nm)	Kaolin clay and $\text{CaCl}_2$ mixing solution <sup>B</sup> (F.U. <sup>C</sup> )
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.120	3.6
$(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$	0.085	2.8
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	0.180	6.4
$\text{CH}_3\text{COONH}_4$	0.085	2.4
$\text{NaNO}_3$	0.075	2.3
$\text{NH}_4\text{Cl}$	0.140	3.2
None(Control)	0.080	3.4

<sup>A</sup> : inorganic nitrogen source of 0.3% was added to the 1,000ml basal medium containing 20g glucose, 0.01g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  and 0.01g NaCl, <sup>B</sup> : 0.5% Kaolin clay 10ml+0.1%  $\text{CaCl}_2$  0.1ml, <sup>C</sup> : flocculating unit (F.U.) = 1/A - 1/B (A=Abs. of control at 550nm, B=Abs. of sample at 550nm).



**Fig. 2. Effect of ammonium nitrate concentration on flocculating activity and cell growth of *Agrobacterium* sp. KF-67.**  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  of each concentration was added to the 1,000ml basal medium containing 20g glucose, 0.01g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  and 0.01g NaCl. Cultivation and measurement were carried out by the same method as the above experiments.

본 실험에서 기초배지의 질소원으로  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 의 첨가 농도를 0.1%로 조절하여 적용하였다.

### 4. 유기질소원의 영향

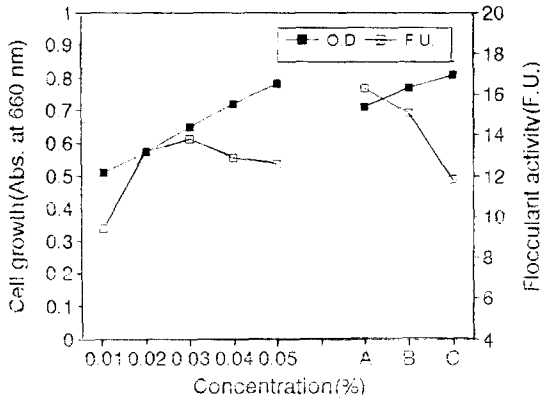
각종 유기질소원을 0.01%씩 첨가하여 균 생육과 응집활성을 측정하여 결과는 Table 4와 같이 yeast extract 첨가구에서 가장 높게 나타났다. Peptone과 casamino acid 첨가구에서도 비교적 높은 응집활성을 보였다. 그러나 malt extract, tryptone, beef extract 첨가구에서는 비첨가구와 비교하여 균 생육은 증가하는 반면 응집활성에는 영향을 미치지 못하였다. 가장 우수한 유기질소원인 yeast extract와 peptone을 혼합배양하면 응집활성을 더욱 증대시킬 수 있을 것으로 생각하고 이들의 혼합첨가구와 yeast extract 단독 첨가구의 응집활성을 비교하였다. Yeast extract 단독 첨가구에서는 0.03% 농도에서 가장 높은 응집활성을 보였고, 혼합 첨가구에서는 각 0.01%씩 조합하여 배양했을 때 최대의 응집활성을 나타내었다.

혼합첨가구의 응집활성은 yeast extract 단독첨가구보다 약 24%, 무첨가구보다는 약 180%의 응집활성 증가를 나타냈다. 따라서 응집체 생산에 유기질소원이 큰 영향을 미치며, 특히 두 종류의 유기질소원을 조합하여 첨가할 때 응집체 생산에 보다 효과적임을 알 수 있었다<sup>11,12)</sup>. 이하의 실험에서는 기초배지의 질소원을 yeast

**Table 4. Effect of various organic nitrogen source on flocculating activity and cell growth of *Agrobacterium* sp. KF-67**

Organic nitrogen sources <sup>A</sup>	Cell growth of <i>Agrobacterium</i> sp. KF-67(Abs. at 660 nm)	Kaolin clay and CaCl <sub>2</sub> mixing solution <sup>B</sup> (F.U. <sup>C</sup> )
Casamino acid	0.47	7.8
Malt extract	0.35	6.4
Peptone	0.51	8.7
Tryptone	0.42	6.9
Yeast extract	0.53	9.3
Beef extract	0.45	6.5
None(control)	0.24	6.4

Each organic nitrogen source of 0.01% was added to the 1,000ml medium containing 20g glucose. <sup>A</sup> : 0.01g NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0.01g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O and 0.01g NaCl, <sup>B</sup> : 0.5% Kaolin clay 10ml+0.1% CaCl<sub>2</sub> 0.1ml, <sup>C</sup> : flocculating unit(F.U.)=1/A-1/B(A=Abs. of control at 550 nm, B=Abs. of sample at 550 nm).



**Fig. 3. Effect of peptone concentration on flocculating activity and cell growth of *Agrobacterium* sp. KF-67.** Peptone or yeast extract of each concentration was added to the 1,000ml medium containing 20g glucose, 0.01g NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0.01g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O and 0.01g NaCl. Cultivation and measurement were carried out by the same method as the above experiments.

extract와 peptone을 각각 0.01%씩 첨가하여 무기염류에 대한 영향을 검토하였다.

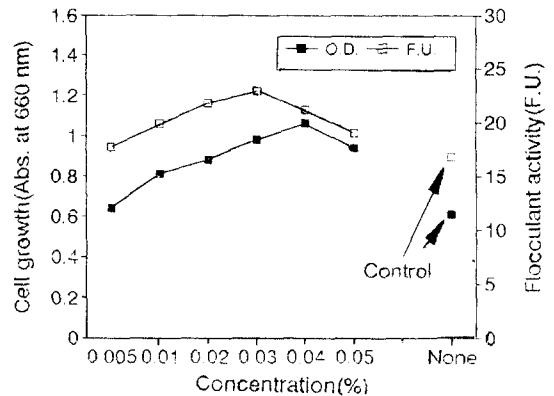
**5. 무기염류의 영향**

무기염류에 의한 응집활성 변화는 Table 5와 같이 나타났다. 무기염 성분 중 Ca<sup>2+</sup>이온(CaCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>)의 영향이 가장 크며, 특히 CaCO<sub>3</sub> 첨가시 가장 응집활성이 높았다. Mg<sup>2+</sup>(MgSO<sub>4</sub>), Fe<sup>2+</sup>(FeSO<sub>4</sub>), K<sup>+</sup>(KNO<sub>3</sub>)이온도 비첨가구에 비해 보다 높은 응집활성을

**Table 5. Effect of various inorganic salt on flocculating activity and cell growth of *Agrobacterium* sp. KF-67**

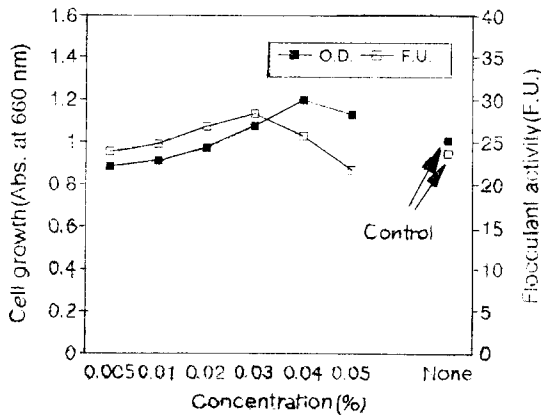
Inorganic salts <sup>A</sup>	Cell growth of <i>Agrobacterium</i> sp. KF-67(Abs. at 660 nm)	Kaolin clay and CaCl <sub>2</sub> mixing solution <sup>B</sup> (F.U. <sup>C</sup> )
FeSO <sub>4</sub>	0.55	17.3
CaCO <sub>3</sub>	0.85	22.3
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.38	2.7
ZnSO <sub>4</sub>	0.35	3.4
CoCl <sub>2</sub>	0.26	4.2
MgSO <sub>4</sub>	0.61	20.2
NaCl	0.48	3.6
CuSO <sub>4</sub>	0.28	2.9
KNO <sub>3</sub>	0.47	16.9
CaCl <sub>2</sub>	0.64	18.9
MnSO <sub>4</sub>	0.38	3.7
None(control)	0.43	16.8

<sup>A</sup> : various inorganic salt of 0.01% was added to the 1,000ml medium containing 20g glucose, 0.01g NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0.001g peptone, 0.001g yeast extract, 0.01g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O and 0.01g NaCl, <sup>B</sup> : 0.5% Kaolin clay 10ml+0.1% CaCl<sub>2</sub> 0.1ml, <sup>C</sup> : flocculating unit(F.U.)= 1/A-1/B (A= Abs. of control at 550 nm, B= Abs. of sample at 550 nm).



**Fig. 4. Effect of calcium carbonate salts concentration on flocculating activity and cell growth of *Agrobacterium* sp. KF-67.** Inorganic salts of each concentration was added to the 1,000ml medium containing 20g glucose, 0.01g NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0.001g peptone, 0.001g yeast extract, 0.01g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O and 0.01g NaCl. Cultivation and measurement were carried out by the same method as the above experiments.

나타냈지만, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3+</sup>이온은 비첨가구보다 응집활성과 균 생육이 모두 낮아 저해인자로 조사되었다. 또한 NaCl 첨가구는 균 생육은 활발하지만 응집활성은 감소되는 것으로 조사되었다. 일반적으로 미생물 응집체 생산에 pH가 큰 영향을 미치는 요인으



**Fig. 5. Effect of sodium chloride concentration on flocculating activity and cell growth of *Agrobacterium* sp. KF-67.** Sodium chloride of each concentration was added to the 1,000ml medium containing 20g glucose, 0.01g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0.001g peptone, 0.001g yeast extract and 0.01g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Cultivation and measurement were carried out by the same method as the above experiments.

로 알려져 있다<sup>13)</sup>. 본 실험에서  $\text{CaCO}_3$  첨가로 응집활성이 증가한 결과는  $\text{CaCO}_3$ 가 배양액 중의 pH 저하를 억제시킴으로서 응집제의 생산을 촉진시키고<sup>2)</sup>,  $\text{Ca}^{2+}$ 이온에 의한 응집현상이 복합적으로 나타난 결과로 생각된다<sup>14)</sup>.

Fig. 4는 가장 우수한 응집활성을 나타낸  $\text{CaCO}_3$ 의 농도에 따른 영향으로 균 생육은 0.03%, 응집활성은 0.04% 첨가구에서 최대를 나타내었고 비첨가구에 비해 약 45%의 응집활성 증가를 가져왔다. 배지성분 중의 하나인 NaCl의 응집활성과 균 생육에 대한 영향은 Fig. 5로서 0.03% 첨가시 응집활성이 비첨가구에 비해 약 19% 증가하여 가장 높았다. 한편 0.04% NaCl 첨가구는 균 생육은 0.03% 첨가구 보다 활발하지만 응집활성은 오히려 감소하였다. 따라서 배지 중 NaCl의 함량 조절은 균 생육과 응집활성의 상대적 제한인자로 작용하는 것으로 생각된다.

이상의 결과로 *Agrobacterium* sp.에 의한 응집제 생산은 2% glucose, 0.1%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0.01% yeast extract, 0.01% peptone, 0.04%  $\text{CaCO}_3$ , 0.03% NaCl이 최적 배지성분인 것으로 조사되었다. 한편 응집활성은 응집제 생산에 가장 효율적인 배지성분과 배합비율로 구성된 최적배지에서 약 28 이었고, 기초배지로 사용한 분리배지에서는 15.9로서 약 76.1%의 응집력 활성을 증가시켜 응집제 생산에 유용한 배지로 생각된

다.

## 요 약

토양으로부터 분리한 120 여종의 집락 중 응집제를 생산하는 집락을 선발하고 가장 응집력이 우수한 K-67 균주를 최종 선발하여 *Agrobacterium* sp. KF-67로 동정하고 실험균주로 사용하였다. 응집제 생산시 최적 배지성분을 조사하기 위하여 응집활성을 kaolin과 활성탄 현탁액에서 응집활성을 측정하였다. 최적 배지성분과 농도는 탄소원과 무기질소원은 glucose와  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  각각 2%와 0.1%, 유기질소원은 yeast extract와 peptone 각 0.01%, 무기염으로  $\text{CaCO}_3$ 을 0.04%를 첨가하였을 때 응집활성이 가장 우수하였다. 배지 중 0.03% NaCl 첨가로 약 19%의 응집활성을 향상시킬 수 있었다. 이상과 같은 결과로 볼 때 *Agrobacterium* sp.에 의한 응집제 생산시 최적배지의 성분 조성과 함량은 2% glucose, 0.1%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0.01% yeast extract, 0.01% peptone, 0.04%  $\text{CaCO}_3$ , 0.03% NaCl이었고, 이때 기초배지에 비해 약 76.1%의 응집활성력이 증가하여 응집제 생산에 효과적인 배지성분 조건으로 조사되었다.

## 참고문헌

1. Kurane, R., Takedo, K. and Suzuki, T. : Screening for and characteristics of microbial flocculant. *Agri. Biol. Chem.*, **50**, 2301 (1986).
2. Kurane, R., Takedo, K. and Suzuki, T. : Culture condition for production of microbial flocculant by *Rhodococcus erythropolis*. *Agri. Biol. Chem.*, **50**, 2309 (1986).
3. Toeda, K. and Kurane, R. : Microbial flocculant from *Alcaligenes cupidus* KT201. *Agri. Biol. Chem.*, **55**, 256 (1991).
4. Dearfield, K. L. and Abermathy, C. O. : *Mutany. Res.*, 195 (1988).
5. Takagi, H. and Kadowaki, K. : Flocculant production by *Pacilomyces* sp., *Agri. Biol. Chem.*, **49**, 3151 (1985).
6. Takagi, H. and Kadowaki, K. : Flocculant production by *Pacilomyces* sp. *Agri. Biol. Chem.*, **49**, 11 (1985).
7. Zajic, J. E. and Leduy, A. : Flocculant chemical properties of a polysacchride from *Pullularia* sp., *Appl. Microbiol.*, **25**, 623 (1973).
8. Miki, B. L. A., Hung-Poon, N. A., James, P. and Seligy, V. L. : Possible mechanism for flocculation interaction governed by gene FLO1 in *Sacch. cerevisiae*. *J. Bacteriol.*, **150**, 878 (1992).
9. Kurane, R. and Matsuyama, H. : Production of a

- biofloculant by mixed culture. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**(9), 1589 (1994).
10. Gutcho, S. : Waste treatment with polyelectrolytes and other flocculant, in *Noyes Data Crop*, Park Ridge, New Jersey, USA., p. 1-37 (1977).
  11. Seo, H. H. and Lee, M. H. : Biofloculant production from *Bacillus* sp. A56, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **21**, 486 (1993).
  12. Lee, S. H. and Lee, J. D. : Isolation of Biofloculant producing microorganism and its culture characteristics. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 5 (1995).
  13. Shimofuruya, H. : The production of Flocculating substance by *Streptomyces griseus*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60** (1996).
  14. Lee, S. H. : Microbial flocculant from *Aracuadendron* sp. TS-49, *Biotech. Lett.*, **17**, 95 (1995).
- 
- (1997년 6월 23일 접수)