

Serratia sp. KH-95에 의한 적색 색소 생산 및 배양학적 특성

†김창호·김승욱¹·홍석인¹

제일제당(주) 대소공장 연구개발팀, ¹고려대학교 화학공학과
(접수 : 1998. 3. 31., 게재승인 : 1998. 5. 10.)

Production of Red Pigment by *Serratia* sp. KH-95 and its Cultural Properties

Chang-Ho Kim†, Seung-Wook Kim¹, and Suk-In Hong¹

Cheiljedang Corporation, 259 Daepung-ri, Daeso-myun, Eumsung-gun, Chung-buk 369-820, Korea

¹Department of Chemical Engineering, Korea University, Seoul 136-701, Korea

(Received : 1998. 3. 31., Accepted : 1998. 5. 10.)

Optimal media and cultural conditions for the production of prodigiosin-like red pigment were established using *Serratia* sp. KH-95. Glucose and phosphate(K_2HPO_4) stimulated the cell growth, but inhibited the production of pigment at concentration levels of above 10 g/L and 2.0 g/L, respectively. Addition of soy bean oil or rice oil to the production medium accelerated cell growth up to more than 2-3 times, but the production of prodigiosin increased about 15-20% in spite of the good cell growth. The effect of pH on the production of pigment was investigated in a 5 liter-bioreactor. When the pH of culture broth was maintained below 8.0, most of pigment was attached to the surface of cells. When the pH of culture broth was above 8.5, however, about 70% of total pigment was suspended in the supernatant of the broth. The cell growth and production of pigment were inhibited at dissolved oxygen concentration of below 10% of air-saturation.

Key Words : prodigiosin-like red pigment, *Serratia* sp. KH-95, medium optimization, cultural properties

서론

색소는 크게 천연색소와 합성색소로 나누어지며 식품공업, 화장품, 의약품, 가축사료 첨가제등으로 다양하게 사용되고 있다. 19세기 이후 화학공업의 발달과 함께 합성색소가 개발되어 광범위하게 사용되어져 왔지만 안전성 등이 문제되어 식품, 의약품 및 화장품등에서 점차 천연색소에 대한 사용이 증가되고 있다(1, 2)

천연색소는 동식물 및 미생물에 의하여 생산되는데, 동식물을 이용하여 천연색소의 생산시 동식물의 생육 조건 및 자연환경에 따라 품질의 변화가 심한 단점을 지니고 있으며 산업적으로 요구하는 일정한 품질로 다량 공급할 수 있는 천연색소는 많지 않다. 반면에 미생물을 이용한 색소 생산시 발효에 의한 대량 생산이 가능하며 품질이 안정된 제품을 생산할 수 있다. 미생물에 의한 천연색소 생산은 사용 미생물의 종류, 배양방법, 사용배지에 따라서 적색, 황색, 청색의 다양한 색소가 생산되며 동일한 균주일 경우에도 배지의 성분, 배양온도, pH등에 따라 색소 함량이 조절되어 색조가 다른 색소가 생산된다고 알려져있다(3-5). 미생물에 의한 색소 생산은 *Monascus*(5-7), *Streptomyces*(8)

및 *Serratia*(9-12)에 의한 많은 연구가 진행되어지고 있으며 산업적으로 이용 가능성이 높다.

색소는 2차대사물질로서 항생제, Toxin등 2차대사물질의 발효에서 나타나는 전형적인 조절기작이 일어나는 것으로 알려져있으며 식물세포 조직배양 및 미생물에 의한 색소 생산시 배지중 첨가되는 탄소원, 질소원, 인산, 그리고 미량원소에 의하여 색소 생성이 많은 영향을 받는다고 알려져 있다(5, 13-15). 하지만 균체가 색소를 생성하는 이유는 명확하게 알려져 있지는 않다. 항생물질의 경우 이용하기 쉬운 탄소원 및 질소원 그리고 인산이 항생물질의 생성을 억제하는 것으로 알려져 있으나 이들이 직접 항생물질의 생성을 억제하는 것이 아니라고 보고되어져 있다. 항생물질의 생성 여부는 균체의 성장 속도와 밀접한 연관이 있으며 이용하기 쉬운 배지가 많이 존재 할 경우 이들 물질이 균체 생장속도를 매우 빠르게 함으로서 항생물질 생성을 중지시키며 또한 이들 물질이 항생물질의 생산에 필요한 전구물질의 생산에 연관된 특정 효소의 생성을 repression 하거나 생성된 효소를 inhibition 함으로서 항생물질의 생산을 억제하는 것으로 알려져있다(16-19). 식물세포 및 미생물에 의한 색소 생산시 배지 성분이 색소 생성을 억제하는 현상 역시 항생물질 생산과 유사 할것으로 판단된다.

현재까지 미생물을 이용한 천연색소의 생산은 색소를 생산하는 미생물의 분리, 색소의 구조 분석 및 색소 생산에 관여하는 생합성 경로에 관한 연구들이 대부분으로 산업화에 관한 연구는 매우 부족한 형편이다 따라서 본 연구에서는 색소의 생산을 위

† Corresponding Author : Cheiljedang Corporation, 259 Daepung-ri, Daeso-myun, Eumsung-gun, Chung-buk 369-820 Korea.

Tel : 0434-539-7093, Fax : 0434-539-7054

e-mail : changhau@cheiljedang.com

한 최적배지를 확립후 생물반응기를 이용하여 배양조건이 색소 생산에 미치는 영향을 조사함으로써 대량 생산을 위한 기초 데이터를 확립하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용된 균주는 김 등(20)이 토양으로부터 분리한 prodigiosin계 적색색소를 생산하는 *Serratia* sp. KH-95 KFCC 10970로서 0.2% glucose, 1.0% yeast extract, 1.0% peptone, 1.5% agar를 함유하는 한천배지에 접종하여 28°C에서 24시간 배양 후 4°C에서 냉장 보관하면서, 2주마다 새로운 배지에 계대 배양하여 사용하였다.

배지조성 및 배양방법

플라스크 및 생물반응기 배양을 위한 종균배양은 0.2% glucose, 1.0% yeast extract, 1.0% peptone를 함유한 종균 배양배지 25 ml가 담긴 250 ml 삼각플라스크를 이용하여 12시간 동안 28°C, 200 rpm으로 배양을 실시하여 종균으로 사용하였다.

플라스크 배양에 의한 색소 생산을 위하여 3.0% casein, 0.1% K_2HPO_4 , 0.1% $MgSO_4$, 0.1% NaCl로 조성된 액체배지 50 ml가 담긴 500 ml 삼각플라스크에 종균배양액을 접종하고 회전식 진탕 배양기에서 28°C, 200 rpm으로 18시간 배양을 실시하였다.

5L 생물반응기(KFC, Korea)를 이용한 색소 생산을 위하여 상기 조성의 액체 배지 3L를 이용하여 온도 28°C, 교반속도 500~900 rpm, 통기량 0.5 vvm 조건으로 21시간 실시하였다. 배양이 진행되는 동안 실험 목적에 따라 10% H_2SO_4 를 이용하여 pH를 7.5~8.5로 제어하거나 또는 제어하지 않았다.

균체농도의 측정방법

배양물을 증류수로 희석시킨후 분광 광도계(UV-160A, Shimadzu Co.)로 600 nm에서 optical density(O.D)를 측정하였으며 생성된 색소는 O.D 값에 영향을 주지 않았다(20).

적색색소의 측정방법

배양액 및 균체에 함유되어있는 색소량을 측정하기 위하여 배양액을 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액과 균체를 분리하였다. 배양액의 색소량을 측정하기 위하여 상등액을 0.01N HCl을 함유한 메탄올을 이용하여 10~100배 희석한 후 분광광도계를 사용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 균체에 함유되어있는 색소를 분석하기 위하여 원심분리후 상등액을 버린 다음 0.01N HCl을 함유한 메탄올을 이용하여 균체로부터 색소를 추출한 다음 10~100배 희석한 다음 분광광도계를 사용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 미리 정제하여 얻은 색소의 흡광 표준 곡선을 이용하여 색소 농도를 산출하였다.

결과 및 고찰

포도당 및 인산이 균체의 성장 및 색소 생산에 미치는 영향

미생물의 성장에 필수이지만 2차 대사물질의 생성을 저해하는 대표적인 물질로 알려진 포도당과 인산을 이용하여 색소 생산에 관한 배양 특성을 밝히고자 하였다. 삼각플라스크에서 포도당의

농도를 0, 5, 10, 15, 20 g/L으로 변화시키면서 균체의 성장과 색소의 생성 관계를 조사하였다. Figure 1에서와 같이 포도당이 첨가되지 않은 경우 균체의 O.D가 9.68에 비하여 포도당이 첨가됨에 따라 균체의 성장이 증가되어 포도당 농도 20 g/L 경우 O.D가 22.7로 2배이상 증가한 것으로 나타났다. 하지만 색소의 생성은 포도당이 첨가되지 않은 경우 920 mg/L로 가장 높았으며, 포도당의 농도가 10 g/L 이상의 경우 색소는 10 mg/L 이하로 거의 생성되지 않았다. Scoot 등(21)은 *Serratia marcescens*에 의한 색소의 생산시 균체 성장 말기에 색소를 만드는 시점에서 균체의 성장에는 관계가 없으나 prodigiosin 및 prodiginines의 전구물질 합성에 관여하는것으로 알려진 prolin oxidase가 만들어진다는 연구 결과를 보고하였으며, Lim 등(14)은 포도당이 prolin oxidase가 만들어지는것을 저해하며, 그 결과 prodigiosin계 색소의 생산이 억제된다고 보고하였다.

인산이 균체의 성장과 색소 생성에 미치는 영향을 조사하였다. 인산의 공급원으로 K_2HPO_4 를 사용하였으며, K_2HPO_4 1, 2, 4, 8, 16, 32 g/L를 삼각플라스크배양을 위한 기본 배지에 첨가하여 실험을 실시하였다. Figure 2에서와 같이 인산을 넣지 않은 경우 균체 O.D 값은 9.74 였으며, K_2HPO_4 농도가 1 g/L 경우 O.D가 10.2로 조금 증가하였다. 하지만 K_2HPO_4 농도가 2 g/L 이상의 경우 균체의 O.D는 10.7 정도로 더이상 증가하지 않았다. 색소의 생성은 K_2HPO_4 를 넣지 않은 경우의 872 mg/L에 비하여 K_2HPO_4 농도가 1 g/L인 경우 색소의 생성량이 920 mg/L로 5% 정도 증가하였으나 2, 4, 8, 16 g/L로 K_2HPO_4 의 농도가 증가함에 따라 색소의 농도는 각각 710, 595, 192 mg/L로 급격히 낮아졌다. K_2HPO_4 의 농도가 16 g/L 이상인 경우 색소는 거의 생성되지 않았다. 이와같은 결과는 Witney 등(15)이 *Serratia marcescens*를 이용한 색소 생산시 인산이 색소의 생산을 억제한다고 보고한 실험 결과와 일치하였다.

이상과 같이 포도당과 인산을 이용한 색소 생산에 관한 실험의 결과로부터 *Serratia* sp. KH-95에 의한 색소의 생성은 배지의 영양조건에 따른 균체성장 관련성이 달라지는 혼합 성장 생성물생산(mixed growth associated product formation)의 특징을 보여주는 2차 대사물질로 생각된다.

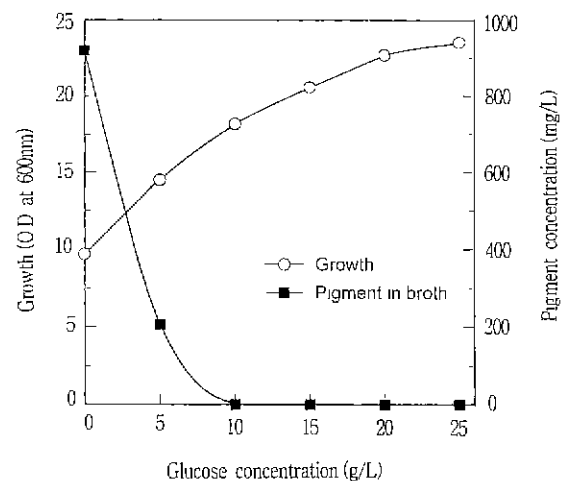


Figure 1. Effect of glucose concentration on the pigment production in shake-flask culture.

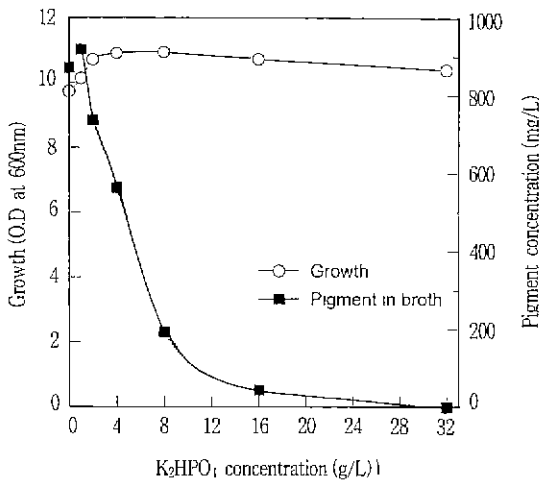


Figure 2. Effect of phosphate (K_2HPO_4) concentration on the production of pigment in shake-flask culture.

대두유 및 미강유가 색소 생성에 미치는 영향

미생물을 이용하여 항생제와 같은 2차대사물질의 생산시 탄소 원료로 널리 사용되고 있는 대두유 및 미강유를 이용하여 색소의 생산성 및 배양 특징을 조사하였다. 대두유 및 미강유 5, 10, 20, 30 g/L를 삼각플라스크배양을 위한 기본배지에 각각 첨가하였다. 대두유를 배지에 첨가할 경우 Table 1에서와 같이 대두유를 넣지 않은 경우 균체의 O.D 값은 9.8 였으며, 대두유를 5, 10, 15, 20 g/L첨가함에 따라 균체의 O.D 값은 18.4, 22.1, 28.2, 33.4로 대조구에 비하여 2-3배 크게 증가하였다. 하지만 전체 색소의 생성은 대두유를 넣지 않은 경우에 비하여 15.0-33.0% 증가하여 균체 성장에 비례하여 색소의 생성이 이루어지지 않았다. 또한 배양액 및 균체에 존재하는 색소의 농도를 비교 분석하였다. 첨가된 대두유의 양이 많을수록 균체에 존재하는 색소의 농도는 증가하였으나, 반대로 배양액내에 존재하는 색소의 농도는 낮아져 대두유를 첨가하지 않은 대조구에서 색소의 농도가 1250 mg/L로 가장 높았으며, 대두유 농도가 30 g/L인 경우 배지내 존재하는 색소의 농도는 550 mg/L로서 대조구에 비하여 매우 낮았다.

이와 같이 생성된 색소가 균체와 배양액중 존재하는 양이 달라지는 것은 배양액의 pH에 따라 영향을 받는 것으로 판단되었다. Table 1에서와 같이 대두유가 첨가되지 않은 대조구의 배양액 pH가 8.55로 가장 높았으며, 대두유를 첨가함에 따라 배양액의 최종 pH는 7.98, 7.95, 7.84, 7.82로 낮아지는 것을 알 수 있었다. 동시에 배양액의 pH가 낮을수록 균체에 많은 색소가 존재함을 알 수 있었다. 미강유를 배지내에 첨가하는 경우 역시

Table 1. Effect of soy bean oil on the growth and pigment production in shake-flask culture.

| Soy bean oil concentration (g/L) | Final O.D | Final pH | Pigment concentration (mg/L) | | |
|----------------------------------|-----------|----------|------------------------------|---------|-------|
| | | | in broth | in cell | total |
| 0 | 9.8 | 8.55 | 1,250 | 3,600 | 4,850 |
| 5 | 18.4 | 7.98 | 1,200 | 4,800 | 5,600 |
| 10 | 22.1 | 7.95 | 1,180 | 4,500 | 5,680 |
| 20 | 28.2 | 7.84 | 650 | 5,800 | 6,450 |
| 30 | 33.4 | 7.82 | 550 | 5,930 | 6,480 |

Table 2. Effect of rice oil on the growth and pigment production in shake-flask culture

| Rice oil concentration (g/L) | Final OD | Final pH | Pigment concentration (mg/L) | | |
|------------------------------|----------|----------|------------------------------|---------|-------|
| | | | in broth | in cell | total |
| 0 | 9.8 | 8.55 | 1,250 | 3,600 | 4,850 |
| 5 | 22.8 | 7.96 | 1,100 | 4,550 | 5,650 |
| 10 | 25.8 | 7.95 | 1,100 | 4,650 | 5,750 |
| 20 | 28.1 | 7.82 | 510 | 5,610 | 6,120 |
| 30 | 34.2 | 7.78 | 48- | 6,030 | 6,510 |

Table 3. Effect of trace element on the growth and pigment production in shake-flask culture.

| Component (50mg/L) | Final O.D | Final pH | Pigment concentration (mg/L) | | |
|--------------------|-----------|----------|------------------------------|---------|-------|
| | | | in broth | in cell | total |
| none | 9.82 | 8.55 | 1,250 | 3,600 | 4,850 |
| Fe ⁺⁺ | 9.35 | 8.62 | 1,100 | 3,340 | 4,440 |
| Zn ⁺⁺ | 9.72 | 8.67 | 1,380 | 3,100 | 4,470 |
| Mn ⁺⁺ | 9.63 | 8.69 | 1,310 | 3,720 | 5,030 |
| Cu ⁺⁺ | 9.34 | 8.77 | 1,260 | 3,550 | 4,810 |

Table 2에서와 같이 대두유와 매우 유사한 실험 결과를 얻을 수 있었다. 일반적으로 미생물 배양시 이용 가능한 탄소원이 배지내에 존재할 경우 에너지 대사과정중 만들어지는 유기산에 의하여 배양액내의 pH가 떨어지는 경향이 있으며, *Serratia* sp. KH-95 균주 역시 배양액내에 이용 가능한 탄소원이 존재하는 경우 카제인만이 에너지원으로 존재하는 경우에 비하여 배양액의 최종 pH가 낮아지는 것으로 관찰되었다.

미량원소(Fe⁺⁺, Zn⁺⁺, Mn⁺⁺, Cu⁺⁺)들이 색소 생산에 미치는 영향

미생물에 의한 색소 생산시 Fe⁺⁺, Zn⁺⁺, Mn⁺⁺, Cu⁺⁺와 같은 미량 원소들이 색소의 생성을 억제하거나 만들어진 색소들이 균체밖으로 이동하는 것을 조절한다고 알려져 있으며 Bau 와 Wong(13)은 Zn⁺⁺ 이온이 *Monascus purpureus*에 의하여 홍국 색소 생산시 균체의 성장, 색소 생산 및 균체 밖으로의 전달을 저해한다고 보고하였다.

Fe⁺⁺, Zn⁺⁺, Mn⁺⁺, Cu⁺⁺와 같은 미량원소들이 색소 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 Fe⁺⁺, Zn⁺⁺, Mn⁺⁺, Cu⁺⁺이온의 공급원으로 FeSO₄·H₂O·ZnSO₄·5H₂O·MnSO₄·4H₂O·CuSO₄·5H₂O를 각각 50 mg/L의 농도로 플라스크 배양을 위한 기본배지에 넣어주었다. Table 3에서와 같이 미량원소를 넣어주지 않은 경우 균체의 O.D, 배양액의 최종 pH, 및 전체 색소 생성량은 각각 9.82, 8.55 와 4850 mg/L였다. Fe⁺⁺, Zn⁺⁺, Mn⁺⁺, Cu⁺⁺이온을 넣어준 경우 균체의 O.D가 9.35, 9.72, 9.63, 9.34로 미량원소를 넣어주지 않은 경우와 비교하여 비슷한 값을 보여주었으며, 전체 색소의 생성량 및 배양액의 최종 pH 역시 미량원소를 넣어주지 않은 결과와 매우 유사한 결과를 보여주었다. 위와 같은 실험 결과로부터 Fe⁺⁺, Zn⁺⁺, Mn⁺⁺, Cu⁺⁺의 미량원소는 본 연구에서 분리한 *Serratia* sp. KH-95 균주에는 영향을 주지 않는 것으로 판단되었다.

생물반응기에서 pH가 균체의 성장 및 색소 생성에 미치는 영향

생물반응기를 이용한 배양에서 pH를 조절할 때 균체의 성장 및 색소의 생성에 미치는 영향을 조사하였으며, 동시에 삼각플라스크 배양을 통하여 확인된 생성된 색소가 균체와 배양액중 존재하는 양이 달라지는 현상을 규명하고자 하였다.

Figure 3에서와 같이 인위적으로 pH를 제어하지 않은 경우 배양액의 pH는 시간에 따라 점차 상승하는 것을 알 수 있다. 이것은 균체가 성장에 필요한 에너지를 탄소원이 아닌 질소원인 카제인으로 부터 얻기 때문으로 판단된다. 10% 황산용액을

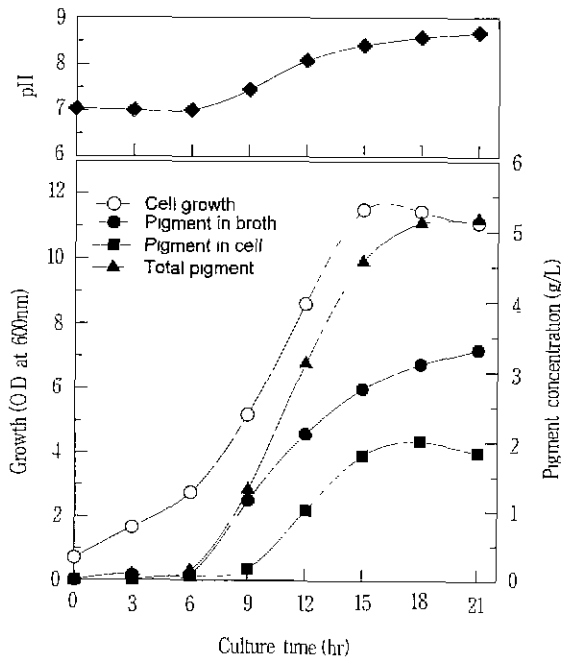


Figure 3. A batch culture of *Serratia* sp. KH-95 without pH control in a bioreactor.

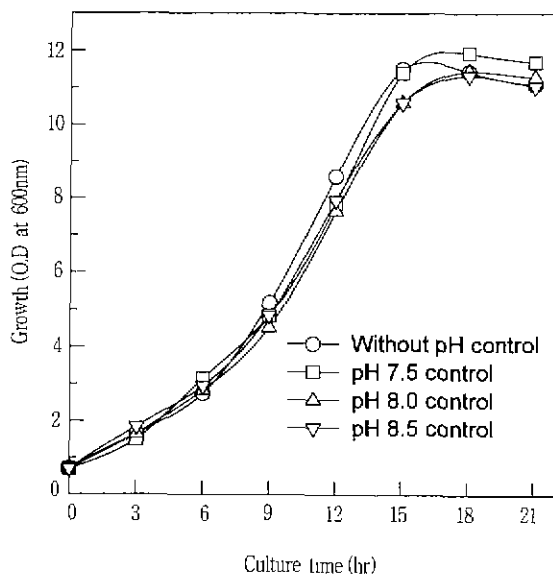


Figure 4. Effect of pH control on cell growth of *Serratia* sp. KH-95 in a bioreactor.

이용하여 배양액의 pH를 7.5, 8.0, 8.5에서 각각 자동제어하였다. Figure 4에서와 같이 배양 pH에 관계없이 시간당 균체의 성장 곡선은 유사한 값을 나타내었으며, 21시간 배양후 균체의 O.D 값은 11.0~12.0으로 매우 비슷하였다. 그러나 Figure 5에서와 같이 색소의 농도는 pH를 제어하지 않은 경우 5.6 g/L로 가장 높았으며, pH 8.5, 8.0, 7.5로 제어할 경우 색소의 최종 농도는 5.1, 5.05, 4.7 g/L로 조금씩 낮아지는 경향을 보였다. 배양 pH가 바뀔때 따라 생성된 색소의 배양액내 분포가 변하는 것을 알 수 있었다. Figure 6과 Figure 7에서와 같이 배양액의 pH가 낮을수록 색소가 배양액보다 균체와 함께 존재하였으며, pH가 높을 수록 배양액에 존재하였다. Figure 6에서와 같이 배양 pH가 8.5이상인 경우 균체에 존재하는 색소는 1.8 g/L로 전체 생성된

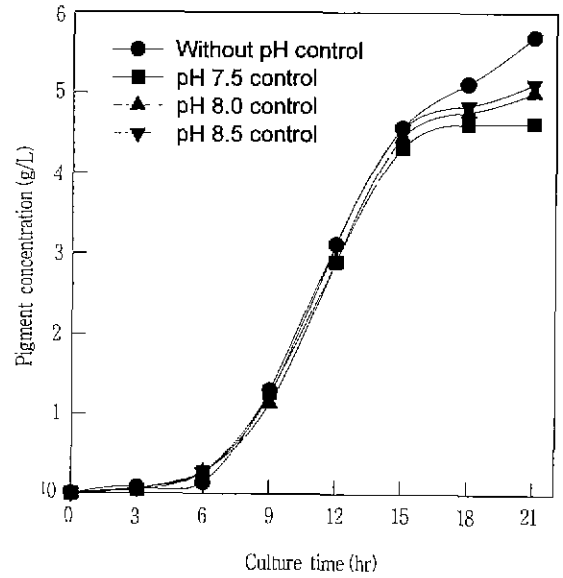


Figure 5. Effect of pH control on the total production of pigment in a bioreactor.

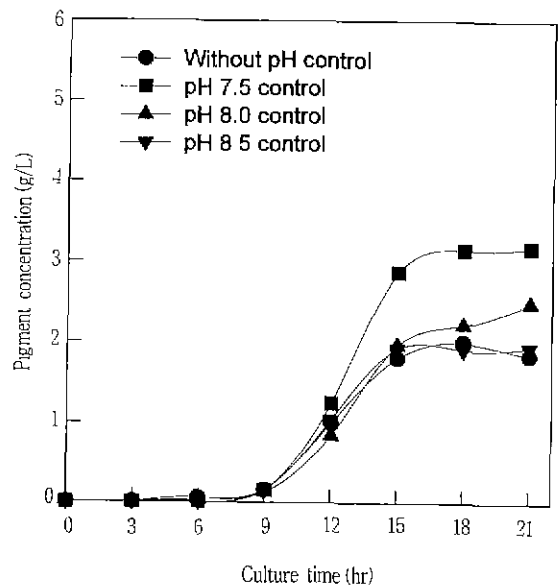


Figure 6. Effect of pH control on pigment concentration in cell, in a bioreactor.

색소의 25-30% 이었으나, 배양 pH를 8.0으로 조절한 경우 균체에 존재하는 색소의 농도가 2.5 g/L로 전체 생성된 색소의 50% 정도가 균체에 존재하였다. 배양 pH를 7.5로 조절한 경우 균체에 존재하는 색소의 농도는 3.05 g/L서 전체 생성된 색소의 64% 이상이 균체에 존재하는 것을 알 수 있었다. 이것은 배지에 대두유와 미강유를 첨가한 삼각 플라스크에서의 실험 결과와 비슷한 결과로서 배양액내의 pH가 낮을수록 생성된 색소가 소수성을 띠게 되어 균체에 붙는것이 용이하게 되어 균체 외부의 세포벽에 흡착되기 때문이라 판단된다. Figure 7에서와 같이 반

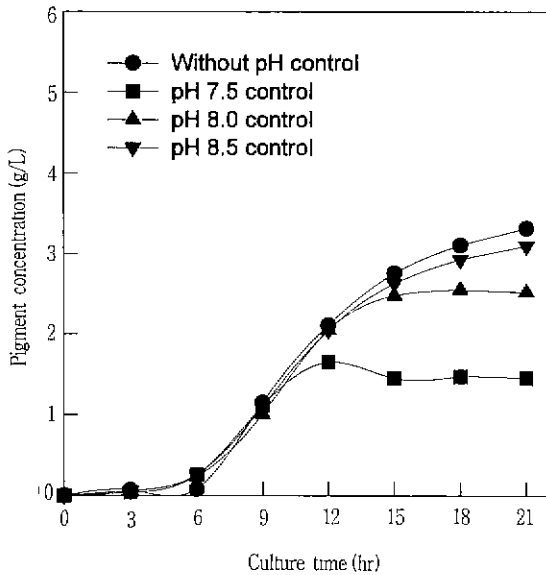


Figure 7. Effect of pH control on pigment concentration in broth, in a bioreactor.

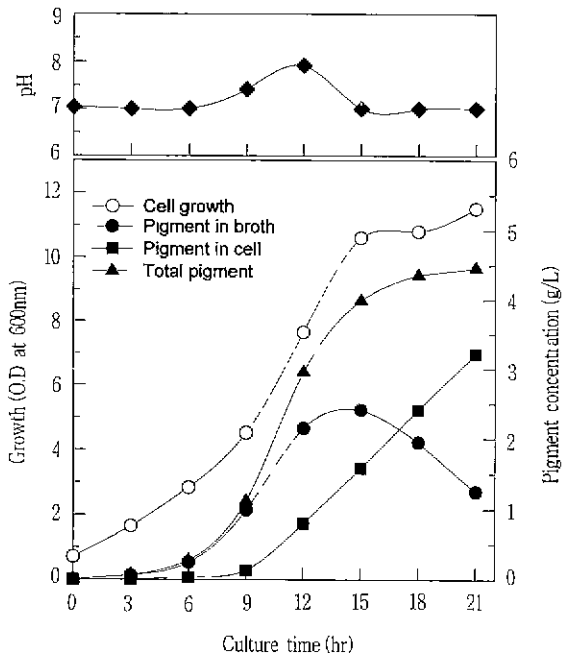


Figure 8. A batch culture of *Serratia* p. KH-95 with pH drop from 8.0 to 7.0 in a bioreactor.

대로 배양 pH가 높을수록 배양액내에 존재하는 색소의 농도가 높아져 배양 최종 pH를 8.5이상 유지시키는 경우 배양액의 색소 농도는 3.0 g/L 이상으로 배양 pH를 7.5로 제어한 경우에 비하여 색소의 농도가 2배 이상인 것을 확인할 수 있었다. pH 변화에 따라 색소의 이동현상을 확인하기 위하여 배양액의 pH를 갑자기 낮추는 실험을 실시하였다. Figure 8에서와 같이 배양중 pH를 8.0에서 7.0으로 내리자 배양액내에 존재하던 색소중 50% 이상이 균체로 이동하는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과로부터 색소의 회수 방법에 따라 배양조건을 변경시키는 것이 가능하다는 것을 알 수 있었다. 즉 균체로부터 직접 색소를 회수하는 경우 배양액의 pH를 7.5 이하로 제어하는 것이 유리하며, 흡착수지와 같은 흡착체를 이용하여 배양액으로부터 색소를 회수하는 경우에는 배양액의 pH를 8.5이상으로 하는 것이 바람직함을 알 수 있다.

생물산업의 특징은 생성물의 농도가 매우 낮아 정제 비용이 차지하는 부분이 매우 크다고 알려져있다(22). 정제를 용이하게 하기 위하여 배양 조건을 최적화하는 것은 산업화를 위하여 매우 유리하므로 본 연구에서 얻어진 pH 조절을 통한 생성물의 배양액내 분포 조절 결과는 향후 소수성 생산물의 발효 생산에 유용하게 적용할 수 있을 것으로 생각된다.

생물반응기에서 용존산소 농도가 균체의 성장 및 색소 생산에 미치는 영향

배양액의 용존산소 농도를 40%, 20% 및 10% 이하로 유지시키므로써 용존산소가 균체의 성장 및 색소 생산에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. Figure 9와 10에서와 같이 용존산소농도가 40% 및 20% 이상 유지될 경우 균체의 최종 O.D 값은 11.8 및 11.6으로 비슷하였으며 생산된 전체 색소 농도 역시 4.15, 3.98 g/L로 비슷하였다. 하지만 Figure 11에서와 같이 용존산소

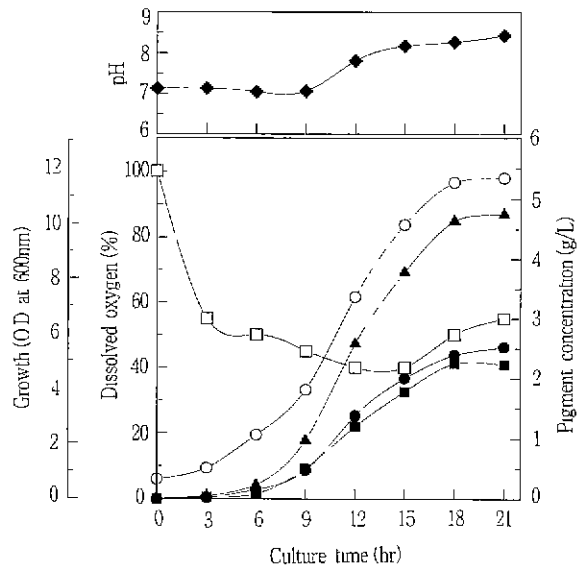


Figure 9. A batch culture of *Serratia* sp. KH-95 maintaining above 40% of air-saturated dissolved oxygen in a bioreactor.

- Cell growth
- Dissolved oxygen
- Pigment in broth
- Pigment in cell
- ▲ Total pigment

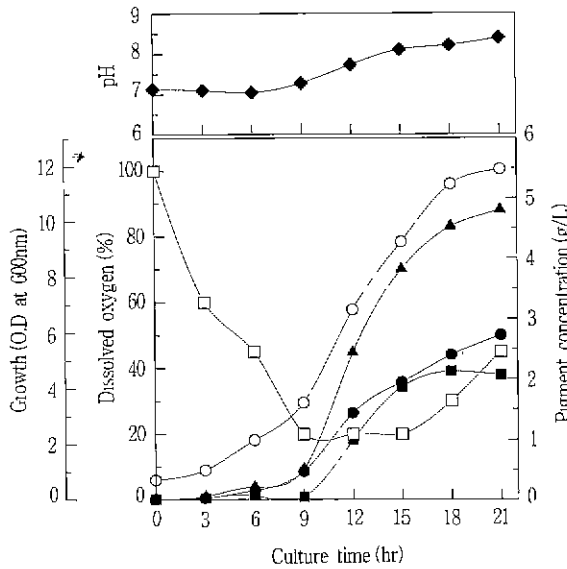


Figure 10. A batch culture of *Serratia* sp. KH-95 maintaining above 20% of air-saturated dissolved oxygen in a bioreactor.

○ Cell growth
 □ Dissolved oxygen
 ● Pigment in broth
 ■ Pigment in cell
 ▲ Total pigment

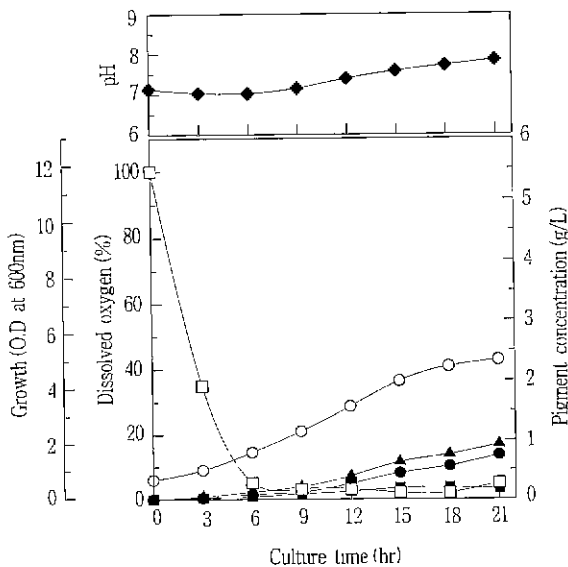


Figure 11. A batch culture of *Serratia* sp. KH-95 maintaining below 10% of air-saturated dissolved oxygen in a bioreactor.

○ Cell growth
 □ Dissolved oxygen
 ● Pigment in broth
 ■ Pigment in cell
 ▲ Total pigment

의 농도를 10% 이하로 유지시키는 경우 균체의 최종 O.D 값은 4.6으로 산소를 20% 이상 공급한 경우에 비하여 40% 정도의 성장이 이루어졌으며, 전체 색소 생산량은 0.8 g/L으로 산소를 충분히 공급한 경우와 비교하여 20% 정도의 색소가 만들어짐을 알 수 있었다. 따라서 용존산소는 20% 이상 유지하는 것이 균체

의 성장 및 색소의 생산에 적합한 것으로 판단되었다.

요 약

Serratia sp. KH-95에 의한 prodigiosin계 적색 색소 생산을 위해 최적배지 및 배양조건을 확립하였다. 2차대사물질의 생성을 억제하는 것으로 알려진 포도당과 인산은 균체의 성장을 촉진하였으나 색소 생산을 크게 억제하였다. 포도당 및 K_2HPO_4 의 농도가 각각 10 g/L 과 2.0 g/L 이상일때 색소의 생성이 크게 저해를 받았다. 배지에 대두유와 미강유가 첨가되는 경우 균체의 성장은 2-3 배 증가하였다. 이때 색소의 생산은 저해를 받지 않았지만 15~20%의 증가에 그쳤다. 생물반응기에서 배양 pH를 7.5, 8.0, 8.5로 자동제어했을때 배양 pH에 관계없이 균체의 O.D 값은 11.0~12.0 그리고 색소 전체 생산량은 5.0~5.2 g/L으로 비슷하였으나 배양 pH 별로 생성된 색소가 위치하는 장소가 달라졌다. pH가 낮을수록 색소는 균체와 함께 분리되었지만, pH 8.5 이상시 70% 이상 균체 외부의 배양액내에 존재하였다. 그리고 배양중 pH를 8.0에서 7.0으로 내리자 배양액내에 존재하던 색소중 50% 이상이 균체로 이동하였다. 배양중 용존산소는 20% 이상 유지시 균체의 성장및 색소의 생산이 양호하였으나 10% 이하시 모두 크게 저해를 받았다.

참 고 문 헌

1. Lauro, G. J. (1991), A primer on natural colors. *Cereal Foods World* 36, 949-953.
2. Francis, F.J. (1987), Lesser-known food colorants, *Food technol.* 41, 62-68.
3. Carels, M. and D. Shepherd (1977), The effect of different nitrogen sources on pigment production and sporulation of *Monascus* species in submerged shaken culture, *Can. J. Microbiol.* 23, 1360-1372.
4. Yongsmith, B., W. Tabloka, W. Yongmanitchai, and R. Bavavoda (1993), Culture condition for yellow pigment formation by *Monascus* sp. KB10 grown on cassava medium, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 9, 85-90.
5. Wong, H. C., Y. C. Lin, and P. E. Koehler (1981), Regulation of growth and pigmentation of *Monascus purpureus* by carbon and nitrogen concentration. *Mycologia* 73, 649-654.
6. Han, O. and R. E. Mudgett (1992), Effect of oxygen and carbon dioxide partial pressures on *Monascus* growth and pigment production in solid-state fermentation. *Bio-technol. Prog* 8, 5-10.
7. Yongsmith, B., S. Krairak, and R. Bavavoda (1994), Production of yellow pigments in submerged culture of a mutant of *Monascus* sp. *J. Ferment. Bioeng.* 78, 223-228.
8. Ohshima, M., N. Ishizaki and Y. Tonooka (1985), Production of neopurpuratin, purplish-red pigment, by pure culture of *Streptomyces propurpuratus*. *J. Ferment. Technol.* 63, 79-83.
9. Yang, I. Y. and S. O. Hwang (1995), Isolation and iden-

- ification of *Serratia marcescens* strain US50-3 producing water soluble red pigment. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 23, 777-780.
10. Natarajan, V. and P. K. Kamath (1995), U.V stable pigment:prodigiosin. *Paintindia.* 45, 23-33.
 11. Morrison, P. A. (1966), Prodigiosin synthesis in mutant of *Serratia marcescens*. *J. Bacteriol.* 91, 1599-1604.
 12. Trias, J., M. Vinas, J. Guinea, and J. G. Loren (1988), Induction of yellow pigmentation in *Serratia marcescens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 3138-3141.
 13. Bau, Y.S. and H. C. Wong (1979), Zinc effects on growth, pigmentation and antibacterial activity of *Monascus purpureus*. *physiol. plant.* 46, 63-67.
 14. Lim, D. V., S. M. H. Qadi, C. Nichols, and R. P. Willams (1977), Biosynthesis of prodigiosin by nonproliferating wild-type *Serratia marcescens* and mutant deficient in catabolism of alanine, histidine and proline. *J. Bacteriol.* 129, 124-129.
 15. Witney, F. R., M. L. Failla, and D. D. Weinberg (1977), Phosphate inhibition of secondary metabolism in *Serratia marcescens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 1042-1046.
 16. Aharonowitz, Y. and A.L. Demain (1978), Carbon catabolite regulation of cephalosporin production in *Streptomyces clavuligerus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14, 159-164.
 17. Gall, M. and E. Katz (1972), Regulation of secondary metabolite biosynthesis catabolite repression of phenoxazinone synthase and actinomycin formation by glucose. *J. Bacteriol.* 109, 659-667
 18. Demain, A. L. (1982), Catabolite regulation in industrial microbiology, *Overproduction of Microbial Production* (V. Krumphanzl, B. Sikyta, and Z. Van, eds), pp3-20, Academic press.
 19. Wang, D. I. C., C. L. Coony, A. L. Demain, P. Dunnill, A. E. Humphry, and M. D. Lilly (1979), *Fermentation and Enzymatic Technology.* pp 26-36. John Wiley & Sons. Inc.
 20. Kim, C. H., S. H. Kim and S. I. Hong (1998), The isolation and characteristics of prodigiosin like red pigment produced by *Serratia* sp. KH-95. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* accepted.
 21. Scott, R. H., S. M. H. Qadi, and R. P. Willams (1976), Role of L-proline in the biosynthesis of prodigiosin. *Appl. Environ. Microbiol.* 32, 561-566.
 22. Mattiasson, B. and O. Holst (1991), Objectives for Extractive Bioconversion, *Extractive Bioconversions*(Mattiasson, B. and O. Holst, eds), pp.1-9, Marcel Dekker Inc., New York.