

pH가 곰팡이의 지질 축적과 지방산 조성에 미치는 영향

손 병 호 · 이 영 근

밀양농림전문대학 식품제조과

Effect of pH on Lipid Accumulation and Fatty Acid Composition of Molds

Son, Byung-Hyo · Lee, Yung-Guen

Dept. of Food Manufacturing, Miryang National Agricultural and Sericultural Junior College

(Received Sep. 10, 1987)

ABSTRACT

Effect of initial pH on the lipid accumulation and fatty acid composition of some species of mold were investigated.

The maximum lipid content produced by *Aspergillus niger* var. *macrosporus* was 17.5% at pH 3.5, by *Aspergillus fumigatus* 23.5% at pH 3.5, by *Penicillium spinulosum* 12.0% at pH 4.0 and by *Penicillium notatum* 7.3% at pH 4.0.

The major fatty acids were palmitic, stearic, oleic and linoleic acid in all experimental molds.

At pH from 4.5 to 6.0, the proportion of linoleic acid was increased and those of palmitic and oleic acid were decreased with rising in pH, therefore, degree of lipid unsaturation was increased in all experimental molds.

I. 서론

1878년 Nagei와 Loew가 맥주효모의 균체로부터 지질생산의 가능성을 시사한 이후 오늘에 이르기까지 수많은 미생물들의 지질생성에 관한 연구가 이루어져 왔었다. 균체의 지질생성과 그 조성은, 배양액의 화학적 조성, 배양온도, 배양기간, 배양액의 pH 등의 영향을 받는 것으로 알려져 있으며¹⁻⁴⁾, 이들 배양조건의 영향이 균종에 따라서도 매우 다양하게 나타났다. 특히 배양액의 pH 영향에 대한 지질생성과 지방산조성의 변화가 균종에 따라서 그 정도의 차이가 심하거나 매우 상이한 변화를 보였으며^{1,5,6)}, 반면에 생육가능한 pH 범위에서의 지질형성은 pH의 영향을 거의 받지 않는다는 보고도 있

었다⁷⁾. 이러한 배양 pH의 영향에 대한 다양한 결과는 주로 균종간의 차이에 기인한 것이므로 pH 영향이 잘 알려지지 않은 곰팡이 4종을 선정하여 배양액의 초기 pH가 지질생성량과 지방산조성에 미치는 영향을 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 사용 균주

Aspergillus niger var. *macrosporus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium spinulosum* 및 *Penicillium notatum*의 4균주를 한국곰균협회에서 구입하여 potato dextrose agar에 접종하여 1~5℃에서 보관하고 1개월마다 계대하여 공사균주로 사용하였다.

2. 균체 배양

공시균주의 배지는 Singh 와 Sood²⁾(1972)가 사용한 배지로서 Sucrose 120g, MgSO₄ · 7H₂O 5.0g, K₂SO₄ 0.44g, FeCl₃ · 6H₂O 0.16g, NaH₂PO₄ · 2H₂O 7.3g, ZnSO₄ · 7H₂O 0.05g, NH₄NO₃ 2.25g 을 증류수 1l에 용해한 후 배양액의 pH를 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 6.0으로 각각 조정하여 500ml 삼각플라스크에 100ml씩 분주하고 10psi에서 10분간 실균하여 각 균주를 1 spatula (φ 0.5 mm)씩 채취, 집중하여 30℃에서 9일간 정지배양하였다.

3. 균체량 및 지질량의 측정

균체량은 Singh (1966)의 방법으로 측정하였으며 건조균체를 80mesh 가 되도록 마쇄한 것을 Soxhlet 장치를 이용하여 diethyl ether로 24시간 환류시킨 후 40℃에서 rotary evaporator로써 농축하여 용매를 제거한 후 함량이 될 때까지 desiccator에서 건조시켜 조지질량으로 하였다.

4. 지방산의 분석

추출한 지질에 10% alcohol성 KOH 용액을 가하여 1시간 환류시켜 검화한 후 얻은 검화물에 1% p-toluene sulfonic acid in methanol 용액을 가하고 30분간 환류시켜 지방산의 methyl ester를 얻었다. 지방산 methyl ester를 Gas-Liquid Chromatography (GLC)에 의하여 분리정량하였으며 표준지방산은 Supelco 회사의 제품을 사용하고 Colu-

mn은 Chromosorb WHP (80~100 mesh)를, Column 온도 164℃, 검출기(FID)온도는 180℃, 운반기체는 질소로써 유속 60 ml/min인 조건하에서 분석하였으며 표준지방산 methyl ester의 보유시간 비의 비교하여 지방산의 종류를 동정하고 peak의 면적은 자동분석기(Shimadzu, Chromatopac C-EIB)에 의하여 백분율로 나타내었다.

III. 결과 및 고찰

1. 건조 균체량과 지질량의 변화

배양액의 pH를 달리한 각 균주의 건조균체량과 지질함량을 Fig. 1과 2에서 보면, Asp. niger var. macrosporus의 균체량은 pH 4.5에서 최대량을 이루었으나 배양 pH의 전 범위에 걸쳐서 pH가 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타난 반면 Asp. fumigatus는 pH 2.0에서는 생육하지 못하였으며 pH 2.5에서부터 증식이 시작되어 최대량은 pH 4.0에서 이루어지고 그 이하와 이상의 pH에서는 약간씩의 감소가 일어났다. Pen. notatum은 pH 2.5에서부터 증식하여 pH 3.5 이상에서 약 2.0g/100ml 내외로 거의 일정한 반면, Pen. Spinulosum의 경우에는 pH 2.5에서 pH 5.0까지 0.80~0.85g/100ml 정도로 거의 변화가 없는 일정한 수준을 유지하였으나 pH 2.0과 6.0에서는 생육이 크게 저해되었으며 타 균주들에 비하여 가장 적은 증식을 이루었다.

건조균체량에 대한 지질함량과 배양액 100ml 당의 지질량을 나타낸 Fig. 2에서 보면, Asp. niger var. macrosporus와 Asp. fumigatus의 건조균체

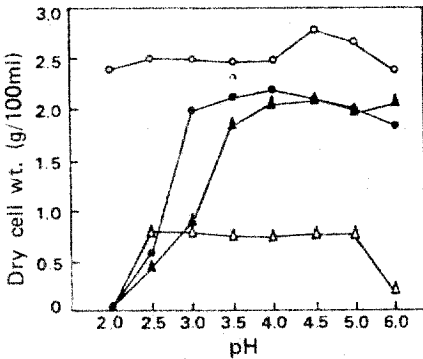


Fig. 1. Effect of initial pH on cell formation by experimental moulds

○—○— : Asp. niger var. macrosporus
●—●— : Asp. fumigatus

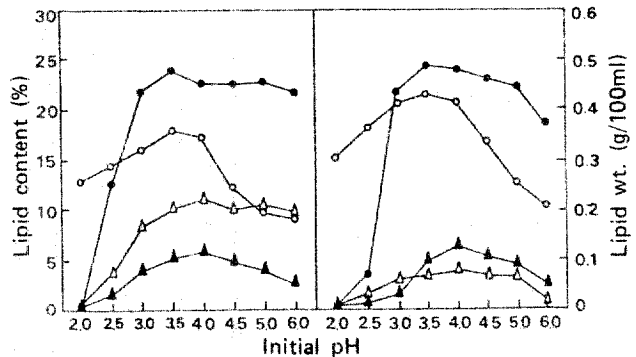


Fig. 2. Effect of Incubation pH on Lipid Production by Experimental Moulds

△—△— : Pen. spinulosum
▲—▲— : Pen. notatum

량에 대한 지질함량은 pH가 상승함에 따라 점차 증가하여 pH 3.5에서 17.5%와 23.5%로 각각 최대치를 형성하며, 그 이상의 pH에서는 *Asp. niger var. macrosporus*는 점차 감소하고 *Asp. fumigatus*는 약간 감소하나 거의 유사한 수준을 유지하였다. 그러나 *Pen. Spinulosum*과 *Pen. notatum*은 pH 4.0에서 12.0%와 7.3%로써 각각 최대함량을 형성하며 pH 4.0을 정점으로 그 이하와 이상의 pH에서는 조금씩 감소하였다. 전반적으로 지질함량은 *Aspergillus*속의 경우 pH 3.5, *Penicillium*속 pH 4.0에서 최대량을 형성하였으며, 배양액 100 ml 당 지질량의 변화도 거의 유사한 경향을 보여 각 공시균주의 최대지질량은 pH 3.5에서 *Asp. niger var. macrosporus*는 0.42g/100 ml, *Asp. fumigatus* 0.49g/100 ml, 그리고 pH 4.0에서 *Pen. spinulosum* 0.09g/100 ml, *Pen. notatum* 0.14g/100 ml 으로서 *Penicillium*속보다 *Aspergillus*속의 지질축적량이 훨씬 많았다. *Rhodotorula gracilis*⁵⁾의 경우 낮은 pH에서는 균체의 증식이 지연되는 반면 지질함량은 높았으며 최종 배양기간의 지질함량은 낮은 pH에서나 높은 pH에서나 거의 유사한 것으로 나타났다. *Mucor plumbeus*⁶⁾에서는 pH가 낮을수록 지질함량이 증가하여 pH 4.0에서 최대량을 형성하

므로서 본 실험의 *Penicillium*속의 2 균주와 일치하는 결과이었다. 한편 *Rhodotorula*속⁶⁾의 지질축적 적정 pH는 pH 5~6 이라 하며 *fusarium oxysporium*¹⁾ pH 5.5, 그리고 본 실험의 결과를 함께 검토하여 볼 때 지질축적의 적정 pH는 균종에 따라서 다양하며 그 적정 pH보다 높거나 낮을수록 더욱 감소되는 것으로 나타났다.

2. 지방산 조성의 변화

각 배양 pH에서 얻은 지질의 주요 지방산은 palmitic, stearic, oleic 및 linoleic acid 이었으며 기타 linolenic, palmitoleic, myristic acid 등도 3% 미만의 소량씩 검출되었으나 불포화도의 계산에만 포함시키고 Table에는 나타내지 않았다. Table에서 보면 *Aspergillus*속 지질의 최대 지방산은 oleic acid 이었으나 *Penicillium*은 linoleic acid 이었다. pH 변화에 따른 변화로서는, pH 4.0 이하의 낮은 pH에서는 pH 변화에 대한 지방산조성의 비율변화가 증감이 표차되어 일정한 경향을 찾기 어려웠으나 pH 4.5 이상의 높은 pH 범위에서 배양시 각 균체지질의 linoleic acid 비율이 pH 상승에 따라 증가하였으며 특히 *Penicillium*속의 2 균주가 *Aspergillus*속의 2 균주보다 더 큰폭으로 증가하

Table 1. Effect of initial pH on the fatty acid composition of experimental molds

Initial pH Fatty acid	<i>Aspergillus niger var macrosporus</i>								<i>Aspergillus fumigatus</i>							
	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	6.0	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	6.0
C _{16:0}	18.3	18.9	18.1	18.7	19.2	20.7	20.9	20.8	-	20.9	23.1	20.1	24.9	24.1	23.8	22.7
C _{18:0}	7.7	7.6	7.4	6.6	6.5	5.9	4.5	4.1	-	11.2	12.2	10.5	13.5	14.1	13.4	13.0
C _{18:1}	43.6	45.1	46.5	47.9	45.0	47.2	48.6	48.0	-	43.6	36.9	36.2	34.3	34.7	34.0	34.6
C _{18:2}	25.2	22.6	22.2	23.1	23.4	20.7	20.7	21.6	-	17.3	22.1	29.1	23.4	23.5	24.2	25.3
Degree of Unsaturation	0.97	0.93	0.94	0.97	0.95	0.93	0.95	0.99	-	0.82	0.84	0.97	0.83	0.64	0.35	0.87

Initial pH Fatty acid	<i>Penicillium spinulosum</i>								<i>Penicillium notatum</i>							
	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	6.0	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	6.0
C _{16:0}	-	21.3	28.1	23.0	20.4	25.5	18.7	20.3	-	30.1	22.5	31.4	28.2	24.8	23.7	20.7
C _{18:0}	-	3.3	3.9	3.9	2.2	4.7	2.7	1.9	-	6.7	6.6	6.9	6.5	7.0	5.2	5.0
C _{18:1}	-	28.2	29.7	29.1	22.9	29.4	27.2	21.9	-	12.0	16.3	16.6	12.7	13.3	13.4	9.6
C _{18:2}	-	40.2	31.7	35.2	46.6	32.2	44.3	45.7	-	43.6	45.9	37.2	44.0	40.9	48.5	52.0
Degree of Unsaturation	-	1.14	0.97	1.06	1.19	1.00	1.20	1.22	-	1.02	1.13	0.97	1.03	1.03	1.14	1.20

* : Degree of unsaturation expressed as Δ/mole = 1.0 X (% monoene/100) + 2.0 x (% diene/100) + 3.0 x (% triene/100)

였다. 또한 그 비율증가의 상대적 감소로써, *Aspergillus* 속의 경우에는 *palmitic* 및 *stearic acid*의 비율이 감소된 반면에 *Penicillium* 속에서는 *palmitic*과 *stearic* 외에도 *oleic acid*의 비율이 감소되었다. pH 4.0 이하의 낮은 pH에서는 불포화지방산과 포화지방산의 비율의 증감이 교차하여 불포화도의 변화도 등락을 거듭하였으나 pH 4.5 이상으로 상승시 다중불포화지방산인 *linoleic acid* 비율의 증가로 인하여 불포화도의 증가가 나타났으며, 특히 *Penicillium* 속의 2 균주에서는 뚜렷한 증가가 나타난 반면 *Aspergillus* 속에서는 그 증가폭이 적었다. 또한 *Aspergillus* 속보다 *Penicillium* 속이 균체지질의 *linoleic acid* 함량이 보다 높으므로 불포화도가 훨씬 높았다. Bhatia 등¹⁾은 *Fusarium oxysporum*의 환경조건에 관한 연구에서, *linoleic acid*의 비율은 낮은 pH에서 pH 4.5까지는 pH 상승에 따라 *palmitic*과 *stearic acid*의 비율이 증가한 정도로 감소하였다고 보고하여 *Asp. fumigatus*의 경우와 유사한 결과이나 타균주들의 경우와는 일치하지 않았다. Kessell⁵⁾은 pH의 상승과 온도의 상승에 따른 지방산조성의 변화는 상호 상반된 효과를 보이므로서 낮은 pH에서는 불포화지방산이 감소되며, 이는 주로 *oleic acid*의 감소에 기인한다고 함으로써 pH 상승에 따른 불포화도의 증가를 인정하였다. 그러나 pH 영향에 대한 지방산조성의 변화에서 일반적 경향을 찾지 못하였다는 몇가지 연구보고^{1,3,5,7)}와 함께 고려해 볼 때 지방산의 합성과 대사에 미치는 pH의 영향은 균종에 따라서 다양한 것으로 사료된다.

IV. 결 론

배양액의 pH가 *Aspergillus niger* var. *macrosporus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium spinulosum* 그리고 *Penicillium notatum*의 지질축

적과 지질의 지방산조성에 미치는 영향을 조사한 결과, 각 균주의 최대지질함량은 pH 3.5에서 *Asp. niger macrosporus* 17.5%와 *Asp. fumigatus* 23.5%이며, pH 4.0에서 *Pen. spinulosum* 12.0%와 *Pen. notatum* 7.3%로써 *Aspergillus* 속이 *Penicillium* 속보다 지질함량이 훨씬 많았다. 각 균주의 지질의 주요 지방산은 *palmitic*, *stearic*, *oleic* 및 *linoleic acid* 이었으며, 전반적 pH 범위에서 *Aspergillus* 속의 지질은 *oleic acid*가, *Penicillium* 속은 *linoleic acid*가 가장 그 비율이 높았다. pH 4.5 이상의 높은 pH 범위에서는 pH 상승에 따라서 *linoleic acid*의 비율이 증가하고 *oleic* 및 *palmitic acid*의 감소로 인하여 불포화도가 증가하였으며 특히 *Aspergillus* 속에서 보다 *Penicillium* 속에서 그 증가폭이 훨씬 크게 나타났다.

문 헌

1. Bhatia, I.S., and Armeja J.C.: *J. Sci. Food Agric.*, **29**, 611 (1978)
2. Singh, J. and Sood, M.S.: *J. Sci. Food Agric.*, **23**, 1197 (1972)
3. Singh, J. and Walker, T.K.: *Biochem.*, **62**, 286 (1956)
4. Summer, J.L., Morgan, E.D. and Evans, H.C.: *Canad. J. Microbiol.* **15**, 515 (1969)
5. Kessell, R.H.J.: *J. Appl. Bact.* **31**, 220 (1986)
6. 박성오: 한국농화학회지, **17**(2), 93 (1974)
7. Weete, J.D.: *Lipid Biochemistry of Fungi and other Organisms*, Plenum Press, Newyork, (1980)
8. 유진영, 이형준, 신동화, 서기봉: *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **10**(2), 87 (1982)