

## 세균 단세포단백질(SCP) 생산을 위한 보조균주의 분리와 그 효과

권오진 · 양성호\*  
한국원자력연구소, \*신일전문대학

## Isolation and its effect of a second organism for single cell protein(SCP) production

Oh-Jin Kwon · Sung-Ho Yang\*  
Korea Atomic Energy Research Institute  
\*Dept. of Food Science & Technology, Shinil Junior College

### ABSTRACT

Experiments were carried out to find the possibility of an economic production of single cell protein(SCP) in mixed culture by *Cellulomonas* sp. KL-6 and a second organism. The second organism, strain LI-10, was isolated from the large intestines of a mouse.

1. When these strains were mixed, cell growth and carboxymethyl cellulase (CMCase) activity were increased to about 63% and 161%, respectively compared with that of single culture of strain KL-6. We found the mixed culture as a proper method of degradation of cellulose in our study.

2. Strain LI-10 was identified as *E. coli*.

3. This strain produced trace amounts of cellobiose, but glucose was not found in detectable amounts in the filter paper(FP) medium.

4. CaCO<sub>3</sub> injected in the medium at the ratio of 0.1% not only enhanced cell growth but also was effective as an acid neutralizing agent.

5. When this organism was cultured under the optimal medium (glucose 0.1%, NH<sub>4</sub>Cl 0.1%, yeast extract 2.0%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%, KCl 0.05%, pH 7.2 and a temperature 30°C) for 5 days, a cell mass produced 1.18 g/l. The results showed the increase of cell mass up to 300% compared to 0.28 g/l produced in CMC medium.

**Keywords** : single cell protein(SCP), mixed culture, *Cellulomonas* sp. KL-6, *E. coli* LI-10.

### I. 서 론

섬유소를 기질로 한 세균 단세포단백질(single cell protein, SCP)이 가축의 사료단백질 및 기능성 단백질식품으로 필요성이 증대되고 있다.<sup>1-12)</sup> 그러나 섬유소는 효소의 작용을 받기 어려운 lignin과 결합되어 있어 발효기질로 이용하는 데는 검토, 개발할 난제가 많다.<sup>13,14)</sup> 이러한 문제는 단독배양에서 하나의 균주는 균 특유의 대사과정을 가지므로 생리적 능력이 제한되어 섬유소를 분해하여 SCP 생산에 한계가 있기 때문으로 이는 배양 과정에서 각기 보완될 수 있는 기능을 지닌 두 종류 이

상의 균주를 혼합배양하면 해결될 수 있으리라 생각된다. 이러한 혼합배양의 유용성은 여러 연구자들<sup>15-20)</sup>에 의해 인정되었지만 혼합배양의 기작은 미생물 사이의 상호작용(neutralism, commensalism, mutualism, competition, amensalism, parasitism, predation)이 매우 복잡하기 때문에 기본적인 특성을 정확하게 규명하지 못하고 있다. 한편 본 연구자들은 부엽토에서 섬유소 분해력이 강한 세균인 *Cellulomonas* sp. KL-6를 분리하여 섬유소 기질에 물리·화학적 전처리로 효소분해를 촉진하여 균체증식을 향상시킨 결과, 1.63 g/l로 SCP 수율을 증가시켰고 생산된 단백질의 필수

아미노산 함량도 우수하였으며 예비 동물실험 결과, 안전성도 인정되었음을 보고<sup>21-23)</sup>한 바 있다. 그러나 생산된 SCP의 양이 적어 산업적으로 이용하기에는 아직 부족한 실정이고 사육실험의 결과로 볼때도 SCP 투여군에서 실험 전기간중의 체중 증가량이 유의한 차이는 없어 본 균의 세포단백질이 실험동물의 장내에서 소화되기 어려워 단백질원으로 이용되지 못한 것으로 생각되었고 이는 직접 또는 간접적인 방법으로 본 균의 세포벽을 제거시켜 세포내 단백질을 용출시킨다면 각균간의 유의성이 크게 나타날것으로 생각된다. 이와같은 관점에서 본 연구자들은 기존 분리된<sup>21)</sup> *Cellulomonas* sp. KL-6 균주의 SCP 생산성의 한계를 혼합배양을 시도하여 보완하고자 SCP 투여 실험동물의 장내용물에서 균주를 분리, 선별하여 SCP 생산특성을 살펴 차후 혼합배양시 보조균주로서의 이용 가능성을 조사하였다.

## II. 실험방법

### 1. 균주의 선별

Mouse는 라이프 사이언스에서 분양받아 온도 ( $20\pm 1^\circ\text{C}$ ), 습도( $50\pm 10\%$ ) 및 명암 12시간(07:00~19:00) 주기로 조절한 사육실에서 3% SCP를 첨가한 실험식으로 4주간 실험사육한 체중 30g 내외의 ICR계 웅성 흰쥐를 사용하였다.<sup>23)</sup> 균주의 분리는 mouse의 대장(large-intestine) 부위와 소장(small-intestine) 부위를 각각 1g 채취하여 10ml의 selenite broth(Difco)에서 증균배양, MacConkey, agar(Difco)에서 분리배양을 하여 생성된 집락 중 육안으로 그 형태적 특징이 뚜렷이 구분되는 균주만을 분리하였고 구별하기 어려운 집락은 새로운 배지에 순수점종하여 재차 확인하였다. 분리한 균주는 주균주인 *Cellulomonas* sp. KL-6와 혼합하여 filter paper (FP) 배지의 여과지 대신 1.0%의 carboxymethyl

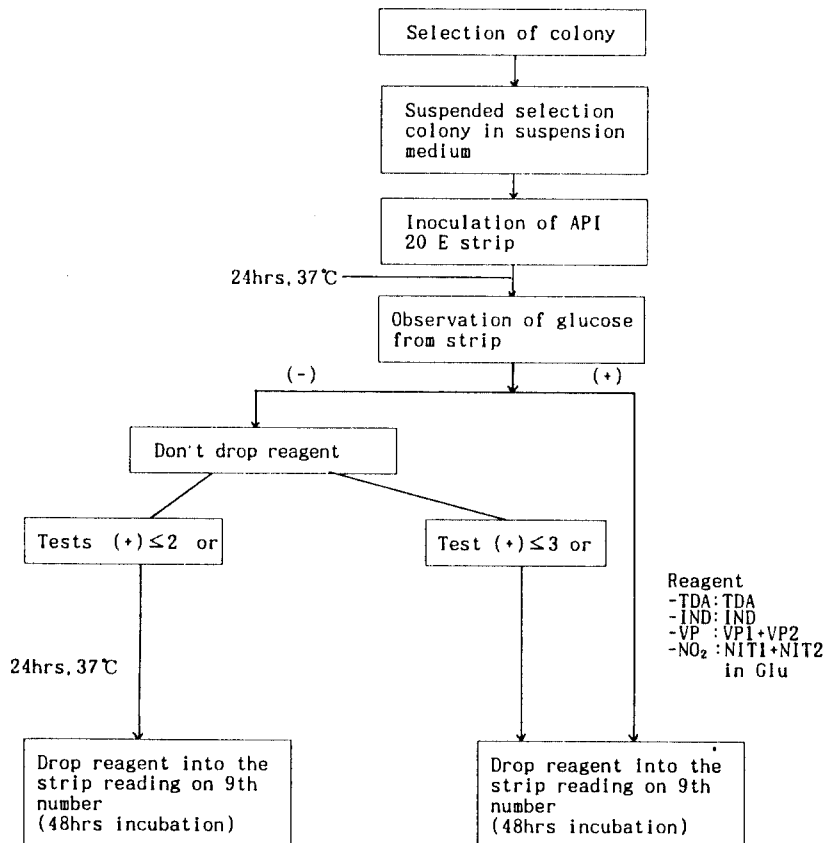


Fig. 1. Identification system using the API 20 E kit.

cellulose sodium salt(CMC)를 첨가한 CMC 배지에 50시간 배양한 후 권<sup>21)</sup>의 방법으로 측정된 CMCase 활성이 가장 좋은 1 균주를 최종 선별하였다. FP 배지는 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0g, NaCl 6.0g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1g, CaCl<sub>2</sub> 0.1g, yeast extract 1.0g을 1 liter의 증류수에 녹여 pH 7.2로 조정한다. 배지액 10ml에 탄소원으로 1×6cm의 filter paper(Whatman No. 1)를 넣어 사용하였다.

## 2. 균주의 동정

최종 선별된 균주는 API 20E 동정용 kit<sup>26)</sup>에 따라 Fig. 1과 같이 동정하였다. 즉, CMC 배지에서 분리된 집락 하나를 따서 5ml의 suspension medium (demineralized water)에 현탁시킨 다음 API 20 E kit에 접종하여 glucose 반응이 양성이거나 tube의 양성반응이 3가지 이상이면 시약을 첨가하여 각 반응결과에 부여된 수치를 합하여 7자리의 숫자로 표시한 후 API 20 E analytical profile index로 동정하였고 glucose 반응이 음성이면 양성반응이 2가지 이하이면 37°C에서 24시간 재배양한 후 시약을 첨가하여 동정하였다.

## 3. 유리당의 분석

FP 배지에서 유리된 glucose을 확인하기 위하여 FP 배지에 분리균주를 접종하여 30°C에서 50시간 진탕배양한 다음 배양액을 여과, 10,000×g에서 원심분리하여 상등액을 Diaion HP 20에 통과시킨 용출액 100 ml를 농축시켜 농축액 10 ml를 0.2 μl membrane filter와 C<sub>18</sub> sep-pack cartridge에 통과하여 이의 20 ml를 high performance liquid chromatography(HPLC)로 분석하였다. HPLC의 분석조건과 기기는 다음과 같다. Instrument, Young-In HPLC 9500 system; column, Rezex RNM- carbohydrate (300×7.8mm); detector, RI(RID-6A, Shimazu); mobile phase, water; flow rate, 0.4 ml/min; injection volume, 20 μl; range, 8×10<sup>-6</sup> RIU; temperature, 75°C.

## 4. 균체증식 최적조건

기본배지를 CMC 배지로 하여 여기에 탄소원(1.0%), 질소원(0.1%), 생육인자(0.1%), 인산원(0.05%), 금속이온(0.01%), NaCl (0~4%), pH(4.0~11.0) 및 온도(20~50°C)등을 달리하여 균체증식에

미치는 영양요구성과 배양조건을 조사하였고 배양 중 생성된 산성물질을 중화하기 위해 0.1%의 CaCO<sub>3</sub>를 첨가하여 그 효과도 살펴보았다. 균체증식은 600nm에서 흡광도로 측정하였다.

## 5. SCP 생산

균체증식 최적조건에서 이상의 실험으로부터 가장 우수한 효과가 인정되는 균주를 접종한 후 7일간 배양하면서 각 배양기간별로 생산한 균체량을 조사하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 균주의 선별

주균주인 *Cellulomonas* sp. KL-6와 혼합배양할 보조균주의 선별결과는 Table 1과 같다. 주균주 단독 배양시보다 분리균주들과 혼합배양시에 약 46~66%의 균체증식을 가져와 그 효과가 인정되었다. 그러나 혼합배양시 각 균주간의 균체증식이 비슷하여 차후 섬유소 분해에 유리한 CMCase 생성력을 비교한 결과, mouse의 대장에서 분리한 LI-10 균주와 주균주인 KL-6를 혼합하였을때가 효소역가가 월등하였고 이는 주균주 단독배양시보다 약 161%가 증가되었다. Fig. 2와 3은 배양기간별 LI-10 균주의 균체증식에 따른 pH 변화 및 효소생산을 나타낸 것이다. 균체증식은 배양 4일째에 가장 좋았으며 이때 효소생산도 CMCase는 40unit/ml, FPase는 20unit/ml, β-glucosidase는 0.1unit/ml를 생산하였다. 이와같은 결과는 KL-6 균주는 배양 4일째 CMCase와 FPase는 각각 약 60unit/ml, β-glucosidase는 0.6 unit/ml를 생산한다는 보고<sup>20)</sup>와 비교해 보면 LI-10 균주 단독배양시에는 효소생성이 매우 적었다. pH는 배양 2일째 pH 6으로 떨어졌으나 그 후 증가하여 4일째는 배양전의 pH로 상승되었다. 권과 정<sup>21)</sup>은 KL-6 균주의 배양액중의 산성물질을 중화하기 위해 0.1~1.0%의 CaCO<sub>3</sub>를 첨가하여 그 효과를 인정한 바 있다.

### 2. 균주의 동정

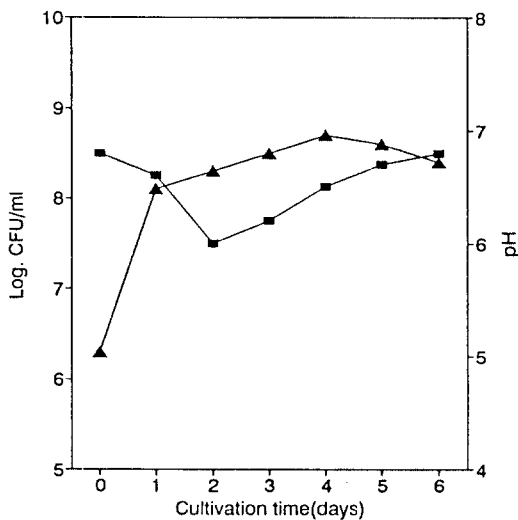
API 20 E kit를 사용하여 최종 선별된 LI-10 균주를 동정한 결과는 Table 2와 같다. LI-10 균주는 gram 음성, 통기성 간균으로 반유동 고층배지에서 운동성이 없었고 catalase, indol 및 methyl red 반응이 양성이었으며 gelatin 액화력과 H<sub>2</sub>S 생성능력

**Table 1.** Strains isolated from the mouse

Strain	Cell growth(O.D 600nm)	CMCase activity(unit/ml)
KL-6	0.84	47.2
LI -9 + KL-6	1.29	99.5
LI-10 + KL-6	1.37	123.2
LI-11 + KL-6	1.36	40.3
LI-15 + KL-6	1.37	106.1
SI-18 + KL-6	1.35	108.5
SI-19 + KL-6	1.23	66.7
SI-20 + KL-6	1.37	90.5
SI-24 + KL-6	1.38	100.5
SI-26 + KL-6	1.32	93.5
SI-27 + KL-6	1.40	76.1
SI-30 + KL-6	1.38	106.1
SI-31 + KL-6	1.38	102.2
SI-34 + KL-6	1.25	97.2

LI : large intestine, SI : small intestine.

Cells were cultured on carboxymethyl cellulose sodium salt(CMC) medium for 50 hrs at 30°C



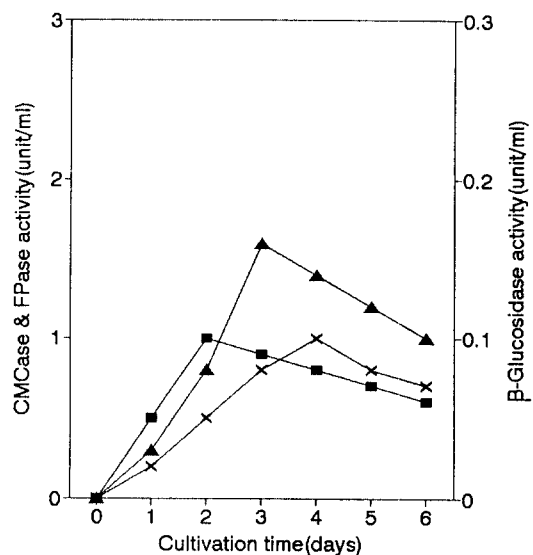
**Fig. 2.** Changes of the cell growth and pH of strain LI-10.

▲-▲, cell growth; ■-■, pH.

이 없었다. Voges-Proskauer 반응은 음성이었으며 urea를 가수분해하지 못하였고 inositol, amygdalin을 제외한 모든당을 분해하였다. 이러한 특징들은 API 20 E analytical profile index로 확인한 결과, *E. coli*로 동정되었다.

### 3. 유리당의 분석

*E. coli* LI-10 균주를 접종, 배양한 FP 배지에서 유



**Fig. 3.** Changes on the cellulase activity of strain LI-10 according to cultivation time.

×-×, Carboxymethyl cellulase;

▲-▲, Filter paperase; ■-■, β-Glucosidase.

리된 당을 HPLC로 확인한 결과, glucose는 검출되지 않았으며 cellobiose는 미량으로 정량할 수 없었다. 이와같은 결과는 배양기간별 효소활성에서의 결과와 같이 LI-10 균주는 균체외로 cellulase를 분비하지 않거나 미약함을 보여주고 있어 차후 섬유소 분해에 LI-10 균주 단독으로는 사용할 수 없음을 나타낸다.

**Table 2.** Characteristics of strain LI-10 isolated from the mouse

Characteristics	Strain LI-10	Characteristics	Strain LI-10
Shape	Rod	Indol	+
Size	0.7~0.9×1.2 μm	Voges-Proskauer	-
Gram stain	-	Citrate	-
Colony shape	Moderate, Convex	Gelatin	-
	Citrate	H <sub>2</sub> S	-
Growth on broth	Pellicle, Turbid	Acid production from	
Motility	-	Glucose	+
ONPG	+	Mannitol	+
Arginine dihydrolase	-	Inositol	-
Lysine decarboxylase	+	Sorbitol	+
Ornithine decarboxylase	+	Rhamnose	+
Nitrate reduced to nitrite	+	Sucrose	+
Urease	-	Melibiose	+
Oxidase	-	Amygdalin	-
		Arabinose	+

**Table 3.** Effect of various nutritional sources on the growth of *E. coli* LI-10

Source	Component	Cell growth (O.D 600nm)	Source	Component	Cell growth (O.D 600nm)
Carbon (1.0%, w/v)	-	0.74	Phosphate (0.05%, w/v)	-	0.94
	Glucose	0.76		(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (A)	0.58
	Xylose	- <sup>a)</sup>		NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (B)	1.02
	Arabinose	-		Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (C)	0.56
	Rhamnose	-		K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (D)	0.40
	Fructose	0.10		KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (E)	1.06
	Galactose	-		A + B	0.28
	Sucrose	-		A + C	-
	Lactose	0.04		A + D	0.22
	Maltose	-		A + E	0.26
	Cellobiose	-		B + C	0.24
	Raffinose	-		B + D	-
	CMC <sup>b)</sup>	-		B + E	0.20
Nitrogen (0.1%, w/v)	-	0.52		C + D	-
	Glycine	0.14		C + E	-
	NH <sub>4</sub> Cl	0.58		D + E	-
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.08	Metal ion (0.01%, w/v)	-	0.50
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-		Fe <sup>2+</sup> (FeSO <sub>4</sub> )	0.54
	Urea	-		K <sup>+</sup> (KCl)	0.58
	NaNO <sub>3</sub>	-		Zn <sup>2+</sup> (ZnSO <sub>4</sub> )	0.40
	KNO <sub>3</sub>	-		Cu <sup>2+</sup> (CuSO <sub>4</sub> )	-
Growth factor (0.1%, w/v)	-	-		Na <sup>+</sup> (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0.54
	Beef extract	0.10		Mg <sup>2+</sup> (MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O)	0.56
	Bacto soytone	0.32		Ca <sup>2+</sup> (CaCl <sub>2</sub> )	0.56
	Bacto peptone	0.18		Mg <sup>2+</sup> +Ca <sup>2+</sup>	0.54
	Polypeptone	0.08			
	Casein	-			
	Yeast extract	0.64			

Mixtures were prepared by mixing a same weight of each the sources.

The bacteria were cultivated in test tubes on a reciprocating shaker at 30°C for 50 hrs.

<sup>a)</sup>No growth.

<sup>b)</sup>Carboxymethyl cellulose sodium salt.

**Table 4.** Effects of various components in the growth of *E. coli* LI-10

Component	Conc.(%)	Cell growth (O.D 600nm)	Component	Conc.(%)	Cell growth (O.D 600nm)
Glucose	-	0.56	KCl	-	0.56
	0.1	1.00		0.01	0.64
	0.5	0.44		0.05	0.66
	1.0	0.42		0.1	0.64
	2.0	0.42		0.5	0.64
NH <sub>4</sub> Cl	-	1.18	NaCl	1.0	0.64
	0.01	1.20		-	0.54
	0.05	1.24		0.2	0.54
	0.1	1.26		0.4	0.52
	0.5	1.24		0.6	0.52
	1.0	1.16		0.8	0.52
Yeast extract	-	-	1.0	0.52	
	0.1	1.30	2.0	0.48	
	0.5	1.88	3.0	0.36	
	1.0	2.06	4.0	0.28	
	2.0	2.58			
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	1.22			
	0.01	1.28			
	0.05	1.30			
	0.1	1.40			
	0.5	1.18			
	1.0	0.96			

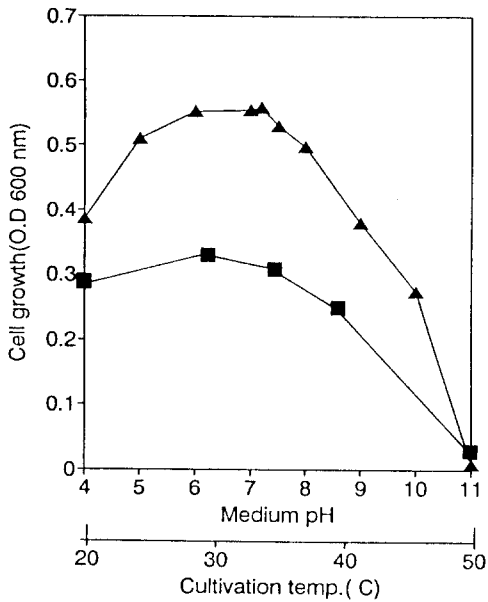
#### 4. 균체증식 최적조건

기본배지를 CMC 배지로 하여 LI-10 균주의 균체증식 최적조건을 조사한 결과는 Table 3, 4 및 Fig 4와 같다. 각종 탄소원이 균체증식에 미치는 영향을 조사한 결과(Table 3), glucose를 제외한 다른 탄소원은 균체증식이 거의 없었고 탄소원 무첨가와 비교해 볼 때 LI-10 균주는 탄소원이 증식에 거의 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 권과 정<sup>21)</sup>은 sucrose에서, 이 등<sup>22)</sup>은 glucose에서 균체증식이 가장 좋았다고 보고하였다. 균체증식에 좋았던 glucose의 농도를 0~2.0%(w/v)에서 조사한 결과는 Table 4와 같이 0.1% 첨가시에 가장 좋았다. 질소원이 균체증식에 미치는 영향을 조사한 결과(Table 3), 첨가한 질소원중에는 NH<sub>4</sub>Cl 만이 무첨가에 비해서 균체증식이 좋았으며 최적농도는 0.1% 였고(Table 4) 탄소원과 마찬가지로 질소원도 균체증식에 크게 영향을 미치지 못하였다. 권과 정<sup>21)</sup>도 질소원은 오히려 KL-6 균주의 증식을 억제한다고 보고하였다. casein을 제외한 모든 생육인자는 균체증식에 절대 필요한 것으로 나타났다 특히, yeast extract 2.0% 첨가시가 가장 좋았다(Table 3, 4). 인산염 및 이들의 혼합물(1:1, w/w)이 균체증식에 미치는 영향을 조사한 결과(Table 3),

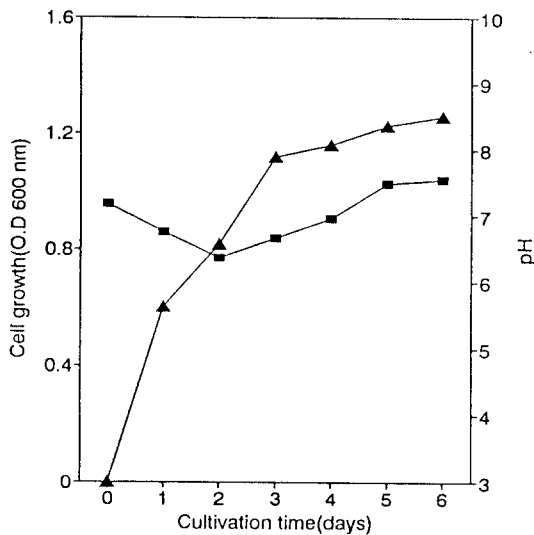
NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>와 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 단독첨가만이 무첨가와 비교했을 때 균체증식이 좋았으며 인산원 혼합시에는 오히려 무첨가시보다 균체증식을 억제하여 KL-6 균주 단독배양시와 달랐다<sup>21)</sup>. 균체증식에 가장 좋은 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>에서 최적농도를 살펴본 결과는 0.1%로 나타났다(Table 4). 금속이온 첨가는 무첨가시와 균체증식이 비슷하여 거의 영향을 미치지 못하였고 그 중 KCl 0.05% 첨가시가 가장 좋았다(Table 3, 4). NaCl이 균체증식에 미치는 영향을 조사한 결과(Table 4), 0.2% 첨가시만이 무첨가와 균체증식이 같아 NaCl 첨가는 균체증식에 영향을 미치지 못하였다. 균체증식 최적배지(glucose 0.1%, NH<sub>4</sub>Cl 0.1%, yeast extract 2.0%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%, KCl 0.05%)를 사용하여 균체증식에 미치는 pH 및 온도의 영향을 살펴본 결과는 Fig. 4와 같다. LI-10 균주는 pH 5.0~8.0까지의 비교적 넓은 범위에서 증식이 좋았으며 pH 7.2에서 가장 좋았다. 온도는 30~40°C에서 균체증식이 좋았으며 pH 및 온도의 특성은 주균주인 *Cellulomonas* sp. KL-6와 유사하였다.<sup>21)</sup>

#### 5. CaCO<sub>3</sub> 첨가효과

0.1% 이상의 CaCO<sub>3</sub> 첨가는 배양 중 산성물질은

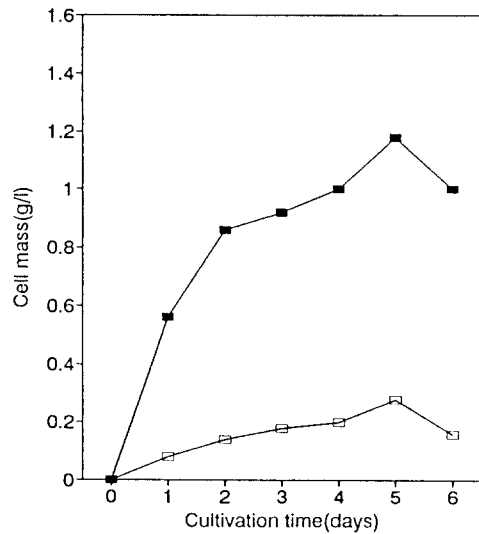


**Fig. 4.** Effect of pH and temperature on the growth of *E. coli* LI-10.  
▲-▲, pH; ■-■, temperature.



**Fig. 5.** Effect of 0.1% calcium carbonate addition on the cell growth and pH during the cultivation of *E. coli* LI-10.  
▲-▲, cell growth; ■-■, pH.

중화시켜 균체증식에 도움을 준다는 보고<sup>21)</sup>가 있어 본 실험에서도 균체증식 최적배지(glucose 0.1%, NH<sub>4</sub>Cl 0.1%, yeast extract 2.0%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%,



**Fig. 6.** The production of single cell protein during the cultivation of *E. coli* LI-10.

□-□, CMC medium(carboxymethyl cellulose sodium salt 1.0%, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1%, NaCl 0.6%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.05%, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.01%, CaCl<sub>2</sub> 0.01%, yeast extract 0.1%, pH 7.2); ■-■, Optimal medium(glucose 0.1%, NH<sub>4</sub>Cl 0.1%, yeast extract 2.0%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%, KCl 0.05%, pH 7.2)

KCl 0.05%, pH 7.2 및 온도 30°C)에 0.1%의 CaCO<sub>3</sub> 첨가가 pH 중화효과 및 그에 따른 균체증식의 변화를 살펴본 결과는 Fig. 5와 같다. CaCO<sub>3</sub>의 첨가는 배양액의 pH를 무첨가에 비해 상승, 유지시켜 pH 중화효과가 인정되었고 균체증식은 무첨가시는 배양 5일 이후부터 증식이 감소되었지만 첨가시는 배양 6일까지 증가하여 첨가효과도 인정되었다. 이와 같은 결과는 차후 벚짚등 섬유소원을 기질로 분해하여 SCP 생산시 배양액중의 pH 중화는 생산성의 증가에 도움이 됨을 알 수 있었다. 본 실험에서는 배양 후 균체의 회수시 침전된 CaCO<sub>3</sub>를 분리하기 어려워 SCP 생산시에는 첨가하지 않았다. 배와 고<sup>21)</sup>는 *Cellulomonas flavigena* KIST 321의 배양시에 pH 중화제로 0.1%의 CaCO<sub>3</sub>를 첨가하였다.

**6. SCP 생산**

균체증식 최적조건에서 LI-10 균주를 접종, 0~7일간 배양하여 SCP 생산을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. 최적배지에서의 균체량은 배양 5일째 1.18 g/l로 가장 많이 생산하였고 이는 CMC 배지에서 가장

많은 배양 4일째의 0.28 g/l 보다 300% 이상이 증가된 양으로 나타났고 앞으로 *Cellulomonas* sp. KL-6 균주와의 혼합배양시는 좀 더 많은 양의 SCP를 생산할 것으로 사료된다.

#### IV. 결 론

세균 단세포단백질(single cell protein, SCP) 투여 실험동물의 장내용물에서 균주를 분리, 선별하여 *Cellulomonas* sp. KL-6과의 혼합배양 보조균주로 이용하여 SCP 생산성을 높이고자 본 연구를 수행하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 주균주 단독배양시보다 LI-10 균주와 혼합배양시에 각각 균체증식과 효소생산이 63%와 161%가 증가되어 그 효과가 인정되었다.

2. API 20 E kit를 사용하여 최종 선별된 LI-10 균주를 동정한 결과, *E. coli*로 확인되었다.

3. Filter paper(FP) 배지에서 유리된 당을 HPLC로 확인한 결과, glucose는 검출되지 않았으며 cellobiose는 미량으로 정량할 수 없었다.

4. 0.1%의 CaCO<sub>3</sub>의 첨가가 무첨가에 비해 각 배양기간별로 pH를 상승시켜 어느정도의 균체증식을 가져와 그 첨가효과가 인정되었다.

5. 균체증식 최적조건(glucose 0.1%, NH<sub>4</sub>Cl 0.1%, yeast extract 2.0%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%, KCl 0.05%, pH 7.2 및 온도 30°C)에서 SCP는 배양 5일째 1.18 g/l를 생산하였고 이는 carboxymethyl cellulose sodium salt(CMC) 배지의 0.28 g/l보다 약 300% 이상이 증가되었다.

#### 참고문헌

- Hitchner, E. V., and J. M. Leatherwood: Use of a cellulase-derepressed mutant of *Cellulomonas* in the production of a single-cell protein product from cellulose, *Appl. Environ. Microbiol.*, 39(2), 382~386, 1980.
- 강신권, 성낙계: 감귤과피 압착액을 기질로 한 SCP 생산, *산업미생물학회지*, 17 (6), 556~562, 1989.
- 이남석, 경규항: 배추를 이용한 단세포단백질의 생산, *산업미생물학회지*, 23(5), 646~648, 1991.
- 이철호: 단세포 단백질의 식품기능성, *산업미생물학회지*, 8(3), 207~212, 1980.
- 배무, 고영희: 농산폐자원의 미생물학적 이용에 관한 연구 (제 6보) 섬유소 단세포단백 생산에서의 천연 기질의 이용성, *산업미생물학회지*, 5(1), 18~23, 1977.
- Han, Y. W., C. E. Dunlap, and C. D. Callihan: Single cell protein from cellulosic wastes, *Food Technol.*, 25(130), 32~35, 1971.
- 산업연구원: 바이오매스의 에너지 전환기술, *산업정보시리즈 제 18호*, 1~34, 1984.
- 강신권, 성낙계: 감귤과피 압착액을 기질로 한 SCP 생산, *산업미생물학회지*, 17 (6), 556~562, 1989.
- 김병홍, 배무: 농산폐자원의 이용에 관한 연구(제 9보) 섬유소 단세포단백질의 아미노산 조성 및 그의 영양학적 가치, *산업미생물학회지*, 5(4), 167~169, 1977.
- 고영희, 이계조, 배무: 농산폐자원의 미생물학적 이용에 관한 연구(제 7보) 섬유소 단세포단백질 생산의 scale up 방법의 검토, *산업미생물학회지*, 5(2), 47~52, 1977.
- 변유량, 권태완, 지규만, 김춘수: 석유탄화수소를 이용한 단세포 단백질의 생산에 관한 연구 V. 균체의 회수, 정제 및 예비 동물사육 시험, *한국식품과학회지*, 4(4), 252~258, 1972.
- Tsuchida, T., S. Miyashiro, H. Enei, and S. U-daka: Protein production in chemically defined medium by *Bacillus brevis* No.47, *Agric. Biol. Chem.*, 44 (10), 2291~2295, 1980.
- Stoppok, W., P. Rapp, and F. Wagner: Formation, location, and regulation of endo-1,4-β-glucosidases from *Cellulomonas uda*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 44(1), 44~53, 1982.
- Kim, Byung-Hong and J. W. T. Wimpenny: Fractionation of extracellular cellulase produced by *Cellulomonas* and reaction mechanisms of the isolated enzymes, *Kor. Jour. Microbiol.*, 23(1), 25~33, 1985.
- Halsall, D. M., and A. H. Gibson: Cellulose decomposition and associated nitrogen fixation by mixed culture of *Cellulomonas gelida* and *Azospirillum* species or *Bacillus macerans*, *Appl. Environ. Microbiol.* 50 (4), 1021~1026, 1985.
- Halsall, D. M., and D. J. Goodchild: Nitrogen fixation associated with development and localization of mixed populations of *Cellulomonas* sp. and *Azospirillum brasiliense* grown on cellulose or wheat straw, *Appl. Environ. Microbiol.*, 51(4), 849~854, 1986.
- Oh, D. W., R. Yang, and J. H. Yu: Studies on the utilization of alcohol distillers, waste Part III. Production single cell protein in a mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida tropicalis*, *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 4(2), 71~75, 1976.
- 윤한대, 성낙계: 폐섬유자원의 효소공학적인 이용에 관한 연구-섬유소 자화세균의 혼합배양, *산업미생물학회지*, 6(2), 51~57, 1978.
- 민태익, 변유량, 권태완: 석유탄화수소를 이용한 단세포단백질의 생산에 관한 연구(제 6보) 혼합배양균주



- 의 선정 및 배지조성의 검토, 한국식품과학회지, 6(4), 219~230, 1974.
- 20) 변유량, 민태익, 권태완: 석유탄화수소를 이용한 단세포단백질의 생산에 관한 연구(제7보) 시험공장에서 혼합배양균주의 생육조건, 한국식품과학회지, 6(4), 231~240, 1974.
- 21) 권오진, 정영건: 섬유소 분해세균의 분리 및 생리적인 특성, 한국농화학회지, 37(4), 226~233, 1994.
- 22) 권오진, 정영건: *Cellulomonas* sp. KL-6의 증식에 미치는 열처리 및 항생물질의 효과, 한국농화학회지, 37(4), 221~225, 1994.
- 23) 정영건, 권오진, 윤수홍: 벗짚을 이용한 단세포사료 생산연구, 농촌진흥청 농업과학논문집, 36, 209~222, 1994.
- 24) 권오진, 정영건: *Cellulomonas* sp. KL-6에 의한 섬유소 분해효소의 생산, 한국농화학회지, 38(6), 490~495, 1995.
- 25) 권오진, 정영건: 섬유소를 이용한 단세포단백질의 생산 및 그 이용, 한국농화학회지, 38(6), 496~501, 1995.
- 26) bioM rieux: API 20 E(V 3.2) catalogue analytical profile index, 1995.
- 27) 이희순, 민경희, 배무: *Cellulomonas* sp. CS1-1으로부터의  $\beta$ -glucosidase의 합성조절과 그의 효소학적 성질, 산업미생물학회지, 16(2), 119~125, 1988.