

비지분해 균주의 분리 및 비지 가용화 배지의 최적화

김선영 · 전만기* · 이신영
강원대학교 바이오산업공학부, *(주)풀무원

Isolation of the Tofu-Residue Solubilizing Microorganism and Optimization for Solubilization of Tofu-Residue.

Sun-Young Kim, Moan Gyi Jeon* and Shin-Young Lee

School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University
*Pulmuone Co. Ltd.

Abstract

Among the microorganisms of twenties species isolated from the compost and soil, an alkali tolerant *Bacillus* sp. was chosen as a strain of tofu-residue solubilization. The alkali tolerant *Bacillus* sp. showed the high values of soluble solid matter and protein yield in the mineral salts media containing no carbon and nitrogen source. The optimal composition of the mineral salts medium was determined by 3-D response surface methodology and were obtained at 1.33% of $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1.66% of KCl and 2.19% of $KH_2PO_4 : K_2HPO_4$ (1:1) in the medium for maximum soluble solid matter and 1.08% of $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.48% of KCl and 1.58% of $KH_2PO_4 : K_2HPO_4$ (1:1) in the medium for maximum protein yield. Under these conditions, the maximum values of the soluble solid matter and protein yield were 53.79 g/L and 87.12%, respectively.

Key words: alkali tolerant *Bacillus* sp., soluble solid matter, protein yield

서 론

비지(tofu-residue)는 대두로부터 비발효성 식품인 두부 또는 두유를 제조할 때 생산되는 부산물로, 대두 건물 중량의 20~30%나 생산된다.

하지만 비지는 약 80% 이상의 수분을 함유하여, 부패되기 쉽고, 운반과정 중에도 변질되므로 유효이용에의 제약이 뒤따른다. 따라서 일부만이 요리나 가축의 사료로 이용되고 있을 뿐, 대부분은 폐기처분되고 있는 실정이라서 유용자원의 손실을 초래할 뿐 아니라 환경오염의 측면에서도 문제점을 야기하고 있다(Kim and Sohn, 1994).

그 동안 비지처리법으로는 비지를 그대로 소각,

매립 및 투기하여 처리하는 방법, 물리적·기계적인 방법에 의해 건조한 후 식품소재로의 첨가나 산업소재로 응용하는 방법, 압착 및 압출 과정을 거쳐 식품 및 산업소재 첨가제로 응용하는 방법, 그리고 비지를 마쇄하여 또는 건비지를 발효의 기질로서 이용하는 방법 등 20여 방법이 모색되었다. 하지만 비지의 낮은 용해도와 그에 따른 기능적 특성의 열악함으로 아직도 기대 이상의 효과를 얻지 못하고 있는 실정이다(Chae *et al.*, 1998).

따라서 비지의 재활용이나 자원화를 위한 보다 효율적인 처리 방법의 심도 있는 연구의 필요성이 매우 높은 실정이다.

이와 관련하여 비지의 주 문제점은 불용성이므로 이의 효율적인 가용화가 한 대안이 될 수 있다는 관점에서 일부 미생물이나 이의 효소 처리 방법이 점차 주목을 받았다. 비지를 발효 기질로 이용하는 방법에서는 주로 *Aspergillus*와 같은 곰팡이류에 의한 고체발효가 수행되었는데, 장시간의 발효기간과

Corresponding author: Shin-Young Lee, School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.
Phone: +82-33-250-6273 Fax: +82-33-243-6350
E-mail: sylee@kangwon.ac.kr

가용화 수준이 낮은 문제점이 지적되고 있다. 또 효소 처리에 의한 비지의 가용화 연구도 *Aspergillus* 나 *Fusarium* 등 곰팡이 유래의 효소를 이용하여 비교적 널리 연구, 보고되었으나(Godfrey *et al.*, 1983; Chung *et al.*, 1990; Sharma *et al.*, 1983; Hara *et al.*, 1982; Lee, 1984; Kawahara, 1994), 아직도 가용화 수준은 매우 미흡한 실정이다.

따라서 효율적으로 비지의 이화학적 특성을 변화시켜 그 용도를 확대시키기 위해서는 보다 우수한 비지의 분해 균주 탐색 및 이에 대한 가용화 조건의 확립이 필요하다.

본 연구에서는 이상의 관점으로부터 비지의 가용화가 우수한 분해 균주를 분리하였다. 또 이 균주를 이용하여 비지의 가용화를 위한 배지조성 및 최적화를 검토하였으며, 이로부터 비지의 재활용 또는 자원화를 위한 산업적 응용의 기초 자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 비지는 두부 생산 중 부산물로 얻어지는 비지로, 춘천시 H 두부 공장으로부터 구입하였으며, 10 mesh 체를 통과시켜 냉동저장(-72°C) 하면서 실험에 사용하였다.

분해균주의 탐색

보존 중인(4°C) 균주 20여종을 대상으로 증류수에 3% (w/v) 비지와 2% (w/v) agar를 첨가한 후, 2N NaOH로 pH 7 및 10으로 조정하여 멸균(121°C, 15분)하였다. Petri dish에 부어 냉각시킨 후 백금이로 접종하고 30°C에서 5일간 배양하여 colony 형성이 높은 균주를 1차 검색하였다. 1차 검색된 균주를 대상으로 pH를 7~12로 조정하여 액내 진탕배양하면서 비지의 가용화율을 측정하여 2차 검색하였고, 가용화율이 높은 균주를 선정하였다.

배양방법

사면 배지에서 보존하였던 균주를 30°C에서 12시간 배양하였으며, 이 균체를 배지 100 mL를 함유한 500 mL 삼각 flask에 백금이로 1회 접종하고 30°C에서 48시간 진탕 배양하여 종균 배양액으로 사용하였다. 본 배양은 증류수에 3% (w/v) 비지를 첨가한 배지 50 mL를 함유한 250 mL 삼각 flask에 종균

배양액을 5% (v/v) 접종한 후 30°C에서 100 rpm으로 5일간 진탕 배양하였다.

가용성 고형분량 및 단백질 수율 측정

비지 가용성 고형분량의 측정은 배양액을 원심분리(10,000 rpm, 15분)한 후, 미리 항량을 구한 용기에 담아 70°C에서 12시간 건조한 후, desiccator에서 항량이 될 때까지 방치하면서 건조중량을 측정하였다. 가용성 고형분량(soluble solid matter)과 단백질 수율(protein yield)은 다음의 식 (1) 및 (2)에 의해 각각 계산하였다.

$$\text{Soluble solid matter (g/L)} = A \times (1000/S) \quad (1)$$

여기서 A는 상등액의 건조중량(g)이고, S는 상등액의 채취량(mL)이다.

$$\text{Protein yield (\%)} = [W_1 \times P_1 / (W \times P_0)] \times 100 \quad (2)$$

여기서 P_0 는 원료의 초기 단백질 농도(%)이고, P_1 은 원심분리 상등액의 단백질 함량(%), W는 채취한 가수분해물의 중량(g), W_1 은 원심분리 상등액의 중량(g)이다.

비지의 가용화(%) 측정

비지의 가용화는 원심분리 후 상등액을 제거하고 잔존 비지를 취하여 70°C에서 12시간 건조한 다음, 배양시간 경과에 따른 비지의 무게 감소를 측정하고 다음 식 (3)을 사용하여 산출하였다.

$$\text{Solubilization (\%)} = \frac{D_0 - D_1}{D_0} \times 100 \quad (3)$$

여기서 D_0 는 초기 건조 중량(g)이고, D_1 은 시간경과후의 건조중량(g)이다.

비지 가용화 배지 조성의 영향 검토 및 최적화

배지조성의 영향 검토: 배지조성은 증류수에 3% (w/v)의 비지를 첨가하고 121°C에서, 15분간 멸균한 후 2N NaOH로 pH를 10으로 조정하여 기본배지로 사용하고, 타 탄소원, 질소원 및 무기염류의 첨가 영향을 조사하여 검토하였다. 즉, 탄소원의 영향은 기본배지에 glucose, fructose, maltose, starch, sucrose를 1% (w/v)의 농도로 첨가하여 멸균한 후에 2N NaOH로 pH를 10으로 조정하였다. 종균배양액 5% (v/v)를 접종하고 30°C에서 5일간 진탕배양 한 후 가용성 고형분량(g/L) 및 단백질 수율(%)을 측정하

여 검토하였다. 질소원의 경우는 기본배지에 선정된 탄소원을 첨가하고 polypeptone, yeast extract, malt extract의 유기질소원과 (NH₄)₂SO₄, (NH₄)₂HPO₄, NaNO₃의 무기질소원을 각각 0.5% (w/v)되게 첨가하여 2 N NaOH로 pH를 10으로 조정 한 다음 탄소원의 경우와 마찬가지로의 방법으로 검토하였다. 무기염류의 경우도 기본배지에 MgSO₄ · 7H₂O, KCl, KH₂PO₄, K₂HPO₄, MnSO₄ · 5H₂O, NaCl의 무기염류를 0.1% (w/v)되게 첨가하여 2 N NaOH로 pH를 10으로 조정 한 다음, 역시 마찬가지로의 방법으로 검토하였다.

배지 조성의 최적화: 배지 조성의 최적화는 배지 조성 검토결과 선정된 무기염류 첨가량(X₁, X₂, X₃)을 독립변수로 하고, 가용성 고형분량(Y₁) 또는 단백질 회수율(Y₂)를 종속변수로 하여 Table 1과 같이 16개의 처리조합으로 이루어진 중심 합성 계획법(Sung, 1991)에 따라 실험하였고, 그 결과를 반응표면분석(response surface analysis)하였다. 이 때, 반응

Table 1. Values of independent variables and treatment conditions by the central composite experimental design for soluble solid matter of tofu-residue

| Variables | Level | | | | |
|---|-------|-----|-----|-----|-----|
| | -2 | -1 | 0 | 1 | 2 |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O, w/v% (X ₁) | 0 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 |
| KCl, w/v% (X ₂) | 0 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 |
| KH ₂ PO ₄ : K ₂ HPO ₄ (1:1), w/v% (X ₃) | 0 | 0.7 | 1.4 | 2.1 | 2.8 |

| Exp. No. | Coded value | | | Experimental value | | |
|----------|----------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|----------------|
| | X ₁ | X ₂ | X ₃ | X ₁ | X ₂ | X ₃ |
| 1 | -1 | -1 | -1 | 0.5 | 0.5 | 0.7 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | 1.5 | 0.5 | 0.7 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | 0.5 | 1.5 | 0.7 |
| 4 | -1 | -1 | 1 | 0.5 | 0.5 | 2.1 |
| 5 | 1 | 1 | -1 | 1.5 | 1.5 | 0.7 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 1.5 | 0.5 | 2.1 |
| 7 | -1 | 1 | 1 | 0.5 | 1.5 | 2.1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 1.5 | 1.5 | 2.1 |
| 9 | 2 | 0 | 0 | 2.0 | 1.0 | 1.4 |
| 10 | -2 | 0 | 0 | 0 | 1.0 | 1.4 |
| 11 | 0 | 2 | 0 | 1.0 | 2.0 | 1.4 |
| 12 | 0 | -2 | 0 | 1.0 | 0 | 1.4 |
| 13 | 0 | 0 | 2 | 1.0 | 1.0 | 2.8 |
| 14 | 0 | 0 | -2 | 1.0 | 1.0 | 0 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 1.0 | 1.0 | 1.4 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 1.0 | 10 | 1.4 |

표면 모형은 다음 식 (4)의 2차 다항회귀 모형을 적용하였으며, 반응표면의 회귀분석은 SAS program을 사용하였다(SAS, 1988).

$$Y(1) = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i \leq j}^k \beta_{ij} X_i X_j$$

여기서 k는 독립변수의 수, X_i는 독립변수, Y는 종속변수이며, β₀, β_i, β_{ij}는 각각 중심점에서의 회귀 계수, 선형계수 및 2차 interaction 계수이다.

본 실험(Table 1)의 경우 3개의 독립변수를 사용하였으므로, k 값은 3이며, X₁, X₂, X₃는 각각 MgSO₄ · 7H₂O, KCl 및 KH₂PO₄ : K₂HPO₄ (1:1, v/v)를 나타낸다. 또, 각 독립변수의 수준을 5로 하고 -2~+2 범위의 code value를 갖도록 선형화하였으며, 각 실험 자료에 대한 분산분석(ANOVA; Analysis of Variance)과 잔차를 구하였다.

한편, 정상점(stationary point)은 2차 회귀에 의해 산출한 상수값(β)으로부터 반응식을 얻은 후, 이 식을 미분하여 얻었으며, 이때 독립변수와 종속변수의 상호관계는 ANOVA로 검정하였다.

결과 및 고찰

비지가용화 균주의 선정

미생물에 의한 비지 가용화를 검토하기 위하여 비지를 유일한 탄소원으로 한 서로 다른 pH (7 및 10)의 agar 배지에 토양 및 퇴비로부터 순수 분리한 20여종의 보존 균주(Hong and Lee, 1999)를 접종하고 30°C에서 5일 동안 배양한 후 균체의 colony 형성 여부를 관찰하였다. 그 결과 Fig. 1에서와 같이 *Alcaligenes* sp., *Enterobacter* sp. 및 alkali tolerant *Bacillus* sp.의 3종 균주가 colony를 형성하였다.

pH 7과 10의 배지에서 *Alcaligenes* sp.는 colony가 미미하게 형성되었지만, *Enterobacter* sp.와 alkali tolerant *Bacillus* sp.는 pH 7과 10의 고체 배지에서 각각 양호한 colony를 형성하였다. Table 2는 pH 7-12의 고체 배지에서의 *Enterobacter* sp.와 alkali tolerant *Bacillus* sp.의 생육을 나타낸 것으로 두 종의 균주 모두 pH 10에서 colony 형성이 우수하였다. 따라서, pH 7과 10으로 조절 한 액체 배지에서 *Enterobacter* sp.와 alkali tolerant *Bacillus* sp.의 비지 가용화율을 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 2와 같다.

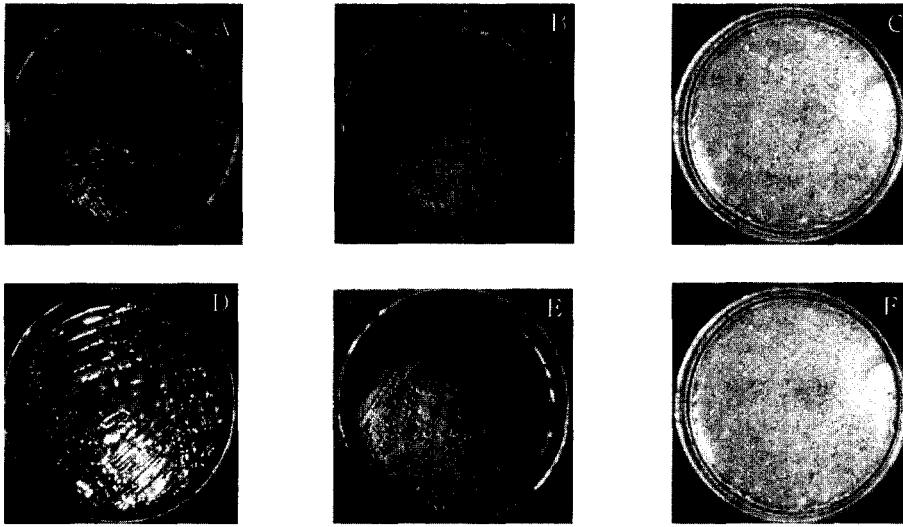


Fig. 1. Photographic views of various microorganisms grown in tofu-residue medium with different pHs. A : pH7 Alkali-tolerant *Bacillus* sp. B : pH7 *Enterobacter* sp. C : pH7 *Alcaligenes* sp. D : pH10 Alkali-tolerant *Bacillus* sp. E : pH10 *Enterobacter* sp. F : pH10 *Alcaligenes* sp.

Table 2. Growth of *Bacillus* sp. and *Enterobacter* sp. in tofu-residue medium with different pHs

| Strains | pH | | | | | |
|-------------------------|----|---|----|----|----|----|
| | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| <i>Bacillus</i> sp. | + | + | ++ | ++ | + | - |
| <i>Enterobacter</i> sp. | + | + | + | ++ | + | - |

* ++ : Good growth, + : Moderate growth, - : No growth

pH 10의 alkali tolerant *Bacillus* sp.가 *Enterobacter* sp.보다 비지 가용화율이 높게 나타났으므로 alkali tolerant *Bacillus* sp.를 비지의 가용화 균주로 최종 선정하였다.

이 균주는 별도로 진행된 연구결과, *Bacillus licheniformis* NBL420으로 동정되었으며, cellulase, xylanase, amylase 및 chitosanase를 포함한 많은 가수분해효소를 분비하는데, 특히, 새로운 bifunctional cellulase-chitosanase activity를 나타낸다(Hong *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 1991).

비지 가용화에 미치는 배지조성의 영향

각종 당류를 탄소원으로 하여 비지만의 기본배지에 각 1%(w/v)를 첨가하고 가용성 고형분량(g/L) 및 단백질 수율(%)을 측정된 결과는 Fig. 3-(a)와 같다.

모든 탄소원의 첨가구에서 대조구보다 낮은 가용성 고형분량(g/L)을 나타내어, 탄소원의 첨가는 균

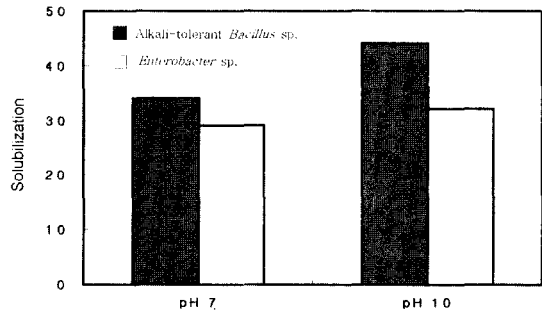


Fig. 2. Solubilization (%) of tofu-residue (3%, w/v) after 72 hrs of liquid cultivation in basal medium with pH of 7 and 10.

체의 생육 및 가용성 고형분량(g/L)을 저해하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 *Enterobacter* sp.의 경우 glucose의 첨가 농도가 0.5%일 경우 가용성 고형분량이 좋았다는 Kawahara(1994)의 보고와는 다른 결과로, 균주의 차이에 기인하는 것으로 생각되었다.

각종 유기 및 무기 질소원이 가용성 고형분량(g/L) 및 단백질 수율(%)에 미치는 영향을 검토한 결과(Fig. 3-(b))에서는, 무기질소원이 유기질소원보다 약간 높은 가용성 고형분량(g/L)을 나타내지만, 대조구와의 차이는 미미하게 나타났다. *Aspergillus niger*(Kim *et al.*, 1994)와 *Enterobacter* sp.(Kawahara, 1994)의 경우, NaNO₃ 1%에서 가용성 고형분량 수

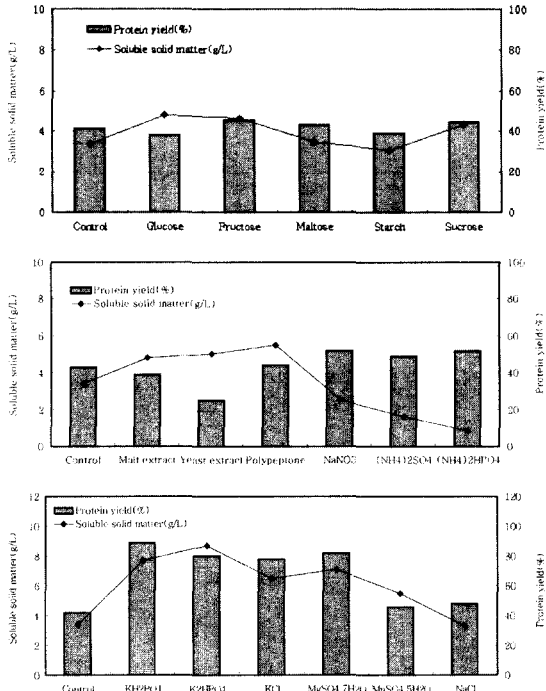


Fig. 3. Effect of various carbon sources (a), nitrogen sources (b) and mineral salt (c) sources on soluble solid matter and protein yield during tofu-residue fermentation.

율이 좋았다는 보고와는 달리, 본 균주는 탄소원과 마찬가지로 질소원도 비지의 단백질 수율(%) 및 가용성 고형분량(g/L)에 영향을 주지 않는 것으로 판단되었다.

한편, 비지의 가용성 고형분량(g/L) 및 단백질 수율(%)에 미치는 무기염류의 영향을 검토한 결과 (Fig. 3-(c))에서는 $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ 및 NaCl 첨가구는 대조구와 비슷한 결과를 나타내었지만 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KCl, KH_2PO_4 및 K_2HPO_4 첨가구는 대조구보다 좋은 가용성 고형분량(g/L)을 나타내었다.

따라서 비지 가용화 균주로 선택된 alkali tolerant *Bacillus* sp.는 탄소원과 질소원이 배제된 무기염류 배지에서 가장 높은 가용성 고형분량(g/L)을 나타낼 수 있었다.

배지 조성의 최적화

상기 실험 결과로부터 선정된 무기염류의 최적 농도를 알아보기 위하여 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KCl 및 $KH_2PO_4 : K_2HPO_4$ (1:1)의 세 가지 요인을 독립변수(X_1, X_2, X_3 또는 X_{11}, X_{22}, X_{33})로 하고, 무기염류 첨가량을 종속변수로 하여 반응표면분석법(Sung,

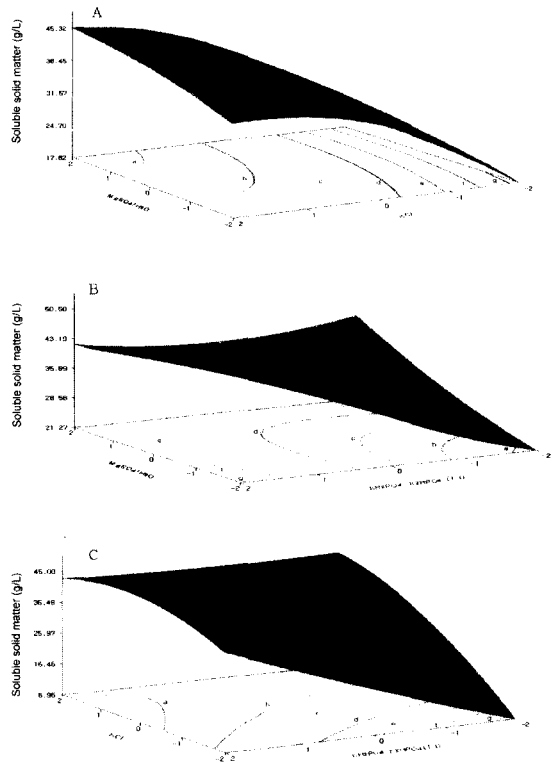


Fig. 4. Contour map and 3-D response surface for the effect of $MgSO_4 \cdot 7H_2O/KCl$ (A), $MgSO_4 \cdot 7H_2O/KH_2PO_4 : K_2HPO_4[1:1]$ (B) and $KCl/KH_2PO_4 : K_2HPO_4[1:1]$ (C) on soluble solid matter (g/L).

A; a: 19.19, b: 23.32, c:27.45, d:31.57, e:35.70, f:39.82, g: 43.95 B; a:22.73, b:27.12, c:31.50, d:35.89, e:40.27, f: 44.65, g:49.04 C; a: 8.85, b: 14.56, c:20.26, d:25.97, e:31.68, f: 37.39, g:43.10

1991)으로 가용성 고형분량, Y_1 (g/L) 및 단백질 수율, Y_2 (%)의 최적 조건을 검토하였다.

대체적으로, 무기염류의 농도가 높은 경우 가용성 고형분량(g/L)의 값이 높게 나타난 반면, 낮은 농도 일 때는 단백질 수율(%)이 높게 나타났다. Fig. 4는 각각 가용성 고형분량(g/L)에 미치는 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 와 KCl(X_1, X_2), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 와 $KH_2PO_4 : K_2HPO_4$ (1:1) (X_1, X_3) 및 KCl과 $KH_2PO_4 : K_2HPO_4$ (1:1) (X_2, X_3)의 3-D 등고선도이다. 정상점은 모두 saddle point이어서 최대 값은 조합된 농도보다 높거나 낮은 농도에서 존재하는 것으로 판단되었다. 자료로서 나타내지는 않았으나 단백질 수율(%)의 경우도 이와 비슷한 경향을 보였다.

다중 회귀분석한 결과, 2차 회귀식에 적합하였으며, 가용성 고형분량의 최적 점은 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 1.33, KCl은 1.66, 그리고 $KH_2PO_4 : K_2HPO_4$ (1:1)는

2.19이었으며, 추정값은 53.79 g/L이었다. 반면, 단백질 회수율의 정상점은 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 1.08, KCl은 0.48, 그리고 $KH_2PO_4 : K_2HPO_4(1:1)$ 는 1.58이었으며, 추정값은 87.12%이었다. 또 비지의 가용성 고형분량(Y_1) 및 단백질 회수율(Y_2)의 2차 회귀식을 사용하여 나타낼 수 있었다.

$$Y_1 = 37.087^{**} + 1.603X_1 + 5.423X_2^{**} + 3.524X_3^{**} - 0.285X_1^2 + 0.681X_1X_2^{**} - 1.891X_1X_3 - 1.442X_2^{**} - 1.826X_2X_3^{**} + 0.065X_{33}^2 \quad (p < 0.05, R^2 = 0.9146)$$

$$Y_2 = 24.046^{**} + 12.932X_1^{**} + 6.34X_2^{**} + 10.252X_3^{**} + 9.916X_1^2 + 8.035X_1X_2^2 - 0.897X_1X_3 + 10.262X_2^2 + 10.262X_2X_3 - 0.763X_{33}^2 \quad (p < 0.05, R^2 = 0.9968)$$

한편, 이들 종속변수 변량에 대한 독립변수의 영향을 분산분석(ANOVA)한 결과는 Table 3 및 4와 같다.

가용성 고형분량(g/L)의 상관계수(regression coefficient) 제공합은 816.64, 잔차(error)의 제공합은 76.22, 회귀계수는 0.9564이었고, 유의수준을 검정하는 F-값도 7.14로 1%이내($p > 0.99$)에서 유의성을 나타내었다. 또한 단백질 회수율의 상관계수 제공합은 3580.14, 잔차(error)의 제공합은 11.54, 회귀계수는 0.9564이었고, 유의수준을 검정하는 F-값도 206.74로 1%이내($p > 0.99$)에서 유의성을 나타내었다.

한편, 최적 점에서의 soluble solid matter와 protein yield의 X_1, X_2, X_3 의 농도 조합으로 배지를 조제하여 72시간 배양한 결과, Fig. 5 및 6에서와 같이

Table 3. ANOVA table for soluble solid matter of tofu-residue

| Factor | Square sum | Degree of freedom | Square mean | FO |
|------------|------------|-------------------|-------------|--------|
| Regression | 816.64 | 9 | 90.738 | 7.14** |
| Error | 76.22 | 6 | 12.704 | |
| Total | 892.87 | 15 | | |

RR = 0.9146, R = 0.9564

Table 4. ANOVA table for protein yield of tofu-residue

| Factor | Square sum | Degree of freedom | Square mean | FO |
|------------|------------|-------------------|-------------|----------|
| Regression | 3580.18 | 9 | 397.798 | 206.74** |
| Error | 11.54 | 6 | 1.924 | |
| Total | 3591.73 | 15 | | |

RR = 0.9968, R = 0.9984

34.1 g/L의 soluble solid matter와 82.2%의 protein yield를 나타내었다. 따라서 protein yield는 추정값(87.12%)과 거의 일치하였으나 soluble solid matter는 추정값(53.79 g/L)의 약 66% 수준이었다.

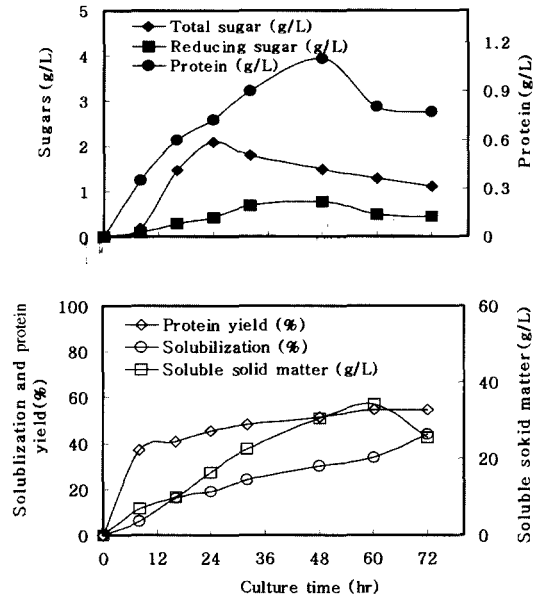


Fig. 5. Comparison of various constituents during the culture of alkali tolerant *Bacillus* sp. in medium for maximum soluble solid matter.

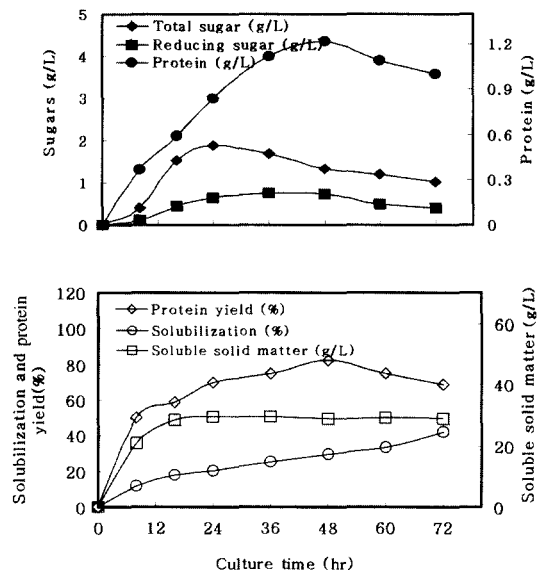


Fig. 6. Comparison of various constituents during the culture of alkali tolerant *Bacillus* sp. in medium for maximum protein yield.

요 약

비지를 유일한 탄소원으로 한 서로 다른 pH(7 및 10)의 agar 배지에 토양 및 퇴비로부터 순수 분리하여 보관중인 20여종의 균주를 대상으로 2차의 screening 과정을 거쳐 우수한 비지 가용화 균주로 알칼리 내성 *Bacillus* sp.를 선정 후 최적 배지조성을 검토한 결과, 탄소원과 질소원이 배제된 무기염류 배지에서 가장 높은 가용성 고형분량(g/L) 및 단백질 회수율(%)을 나타내었다. 또, 이에 대한 최적 배지 조성을 반응 표면 분석법으로 조사한 결과, 가용성 고형분량(g/L)은 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1.33, KCl 1.66%, $KH_2PO_4 : K_2HPO_4$ (1:1) 2.19%, 그리고 단백질회수율(%)은 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1.08%, KCl 0.48%, $KH_2PO_4 : K_2HPO_4$ (1:1) 1.58%일 때 각각 53.79 g/L 및 87.12%의 최대값을 나타내었다.

문 헌

- Chae, H.J., M.J. In and J.D. Lee. 1998. Production of protein supplement from soymilk residue by combined use of enzymes and microorganisms. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **41**(2): 73-77
- Chung, S.H. and K.H. Park. 1990. Preparation of plant cell wall lytic enzymes from *Fusarium moniliforme* and protoplast isolation from plant leaf and cell suspension cultures. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.* **18**(2): 148-153
- Godfrey, T. and J. Reichet. 1983. The application of enzyme in industry. In *Industrial Microbiology*, vol. **9**, pp. 340, The Nature Press, New York
- Hara, T., Y. Fujio and S. Ueda. 1982. Production of polygalacturonase by *Aspergillus niger* cultured in the medium containing mandarin orange peel. *Nippon Shokuhin Kagyo Gakkaishi.* **29**(9): 538-542
- Hong, O.P. and S.Y. Lee. 1999. Composting of organic wastes by solid state fermentation reactor. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**(4): 311-319
- Hong, I.P., H.K. Jang, S.Y. Lee and S.G. Choi. 2003. Cloning and characterization of a bifunctional cellulase-chitosanase gene from *Bacillus licheniformis* NBL420. *J. Microbiol. Biotechnol.* **13**(1): 35-42
- Kawahara. 1994. Recycles of food industry's wastes by using enzyme from bacteria. *Nippon Jozokyoikaishi* **89**(5): 355-363
- Kim, K.S., E.H. Park, Y.B. Choi, K.C. Kim, S.H. Lee and H.S. Sohn. 1994. Solubilization of tofu-residue using multi-enzyme derived from *Aspergillus niger* CF-34. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**(5): 484-489
- Kim, K.S. and H.S. Sohn. 1994. Characterization of tofu-residue hydrolyzing carbohydrase isolated from *Aspergillus niger* CF-34. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**(5): 490-495
- Lee, G.J. 1984. Changes in carbohydrate composition during the fermentation of soybean curd residue with enzyme. *Korean Biochem.* **17**(1): 44-50
- SAS. 1998. Statistical analysis system. property software (Release 6.03ed.). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA
- Lee, S.Y., B.S. Lee, W.C. Shin, I.B. Kwon and J.H. Yu. 1991. Isolation and characterization of biopolymer producing alkali-tolerant bacterial strain. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**: 161-166
- Sharma, A. and R. Joseph. 1983. Studies on the application of plant cell wall degrading enzymes from *Aspergillus terreus* and *Neurospora crassa*. *Biotechnol. Lett.* **5**(7): 481-486
- Sung, N.G. 1991. *SAS/STAT: Analysis regression*, pp. 201-238, The Jayu-Academy Press, Seoul, Korea