

# Chapter 14. 응용미생물공업

- 알코올 제조
- 유기산 제조
- 정미성 뉴클레오타이드 제조
- 비타민, 호르몬, 의약품 제조
- 향생물질 제조
- 백신 제조
- 효소 제제
- 미생물 단백질 생산
- 폐수처리
- 기타

# I. 알코올 제조

포도당 → 에탄올 (92g, 이론적 생산) + 이산화탄소  
발효성 당 : 글루코스, 프락토스, 말토스, 슈크로스  
공업적 원료 : 고구마, 폐당밀, 쌀, 타피오카, 쌀보리, 겉보리

## 1. 폐 당밀에서 알코올 제조

- 발효 배지조건 : 당 농도(15~20%), 황산암모늄, 과인산석회, pH 5~6
- 살균(110°C, 60분), 발효온도(30~33°C, 2~3일간)
- 발효효모 : *Saccharomyces formosencis*
- 발효후의 알코올 : 8~10%, 알코올 정류탑에서 분리, 정제

## 2. 녹말질 원료에서 알코올 제조

- ✓ 녹말 → 산 당화 법, 효소 법 → 발효성 당 조제
  - 산 당화법 : 묽은 염산(0.3~0.5%, 3~4 기압, 40~60분 가열분해)

### 1) Amylo 법

- *Mucor delemar* (곡류), *Rhizopus japonicus* (고구마) 속의 곰팡이를 사용하는 알코올 발효법

# I. 알코올 제조

## 2) 코오지법

- 당화효소로써 밀기울에 흑국균 등의 곰팡이를 번식시켜 코오지를 만든 후 익힌 녹말원료에 5~10% 첨가하여 당화시키는 방법

## 3) Amylo 액체국 절충법

- 아밀로법은 당화력은 강하나 녹말을 액화하는  $\alpha$ -amylase 가 약하고, 코오지법은 당화력은 조금 약한 것이 결점으로 두 가지 방법을 병용하는 절충법이 많이 이용

## 3. 최근의 기술개발

- 1) 전분의 무증자 당화 : 생전분 분해효소 이용
  - *Aspergillus sp.*, *Bacillus circulans*, *Streptococcus bovis* 등
- 2) 고정화 효모에 의한 연속발효
- 3) 세균에 의한 알코올 발효 : *Zymomonas mobilis*
  - 효모에 비하여 비증식률, 당대사속도, 에탄올 생성속도 등이 높으나, 균체생성률은 낮고, 주정 수율이 우수, *Z. mobilis* 혐기적으로 증식
- 4) Cellulose에서의 직접 발효
- 5) 유전공학의 응용

## II. 유기산 발효

### 1. 초산 (acetic acid) 발효

#### 1) 초산균

- 생육 및 산의 생성속도가 빠르며 수율이 높고 내산성
- 초산 외의 방향성 물질을 생성하고, 초산을 산화하지 않아야 한다
- *Acetobacter aceti, Acet. Acetosum, Aceti. oxydans, Aceti. rancens*

#### 2) 초산발효 기작

- 호기적조건 : 에탄올 → 아세트알데히드 → 초산
- 혐기적조건 : 2 에탄올 → 2 아세트알데히드 → 초산 + 알코올
- 초산산화 :  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$

#### 3) 생산방법

- ① 정치법(orleans process) : 발효통을 사용
  - 대패밥, 목편, 톨크 등을 채워 공기 접촉면적을 넓혀준다
  - 수율이 낮고 기간도 길다
- ② 속양법(generator process) : 발효탑을 사용
  - Frings 속초법, 대패밥을 상부까지 채운다
- ③ 심부배양법(submerged aeration process)
  - 원료와 초산균 혼합물에 공기를 주입교반하여 급속히 발효덧을 초산화

## 2. 글루콘산( gluconic acid) 발효

포도당을 산소(1/2 mol)로 산화하여 생성

글루콘산은 구연산과 젖산의 대용으로 산미제 및 피혁공업에 사용

### 1) 생산균

- 곰팡이 : *Aspergillus niger*, *Asp. Oryzae*, *Penicillium chrysogenum*  
*Pen. perpurogenum*.

- *Aceto. gluconicum*, *Aceto. Oxydans*, *Gluconobacter*, *Pseudomonas*

### 2) 발효기작

- D-glucose  $\rightarrow$  D-glucono- $\delta$ -lactone  $\rightarrow$  D-gluconic acid  
Glucose oxidase 비효적인

## 3. Lactic acid 발효

### 1) 젖산균

① *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pedicoccus*, *Leuconostoc*

② 젖산은 L-형이 인체에 이용된다.

2) 젖산생성 : 5탄당과 6탄당이 이용

- ① 정상젖산발효 (homo lactic acid fermentation) : 당으로부터 젖산만 생성
  - 생성균 : *Lac. delbruckii*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*
- ② 이상젖산발효 (hetero lactic acid fermentation) : 당으로부터 젖산 + 부산물
  - 생성균 : *L. fermentum*, *L. heterohiochii*, *Leuconostoc mensentroides*

3) 젖산생성조건

- 10% 당농도, pH 5.5-6.0, 온도 45-50°C: 소비당의 80-90%의 젖산생성

4. Citric acid 발효

구연산은 식품과 의약품에 사용, 산미료, 특히 탄산음료에 사용

1) 생산균

- *Aspergillus niger*, *Asp saitoi*, *Asp awamori*

2) 구연산 생성기작

- Acetyl-CoA + Oxaloactic acid → citrate

3) 구연산 생산조건

- ① 강한 호기적 조건, 강한 교반, 수율(106.7%)
- ② 당농도 : 10-20%, 무기영양원 : N, P, K, Mg, 황산염
- ③ 최적온도 : 26-35°C, pH : 3.4-3.5

## 5. 호박산 (succinic acid) 발효

호박산은 식품조미료, 향료 및 염료공업에 사용

- 1) 생산균 : *Mucor rouxii*, *E. coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Brevi. flavum*
- 2) 호박산(숙신산) : TCA 회로의 역방향, 수율(30%)

## 6. Fumaric acid 발효

합성수지의 원료, aspartic acid의 제조에 사용

- 1) 생산균 - *Rhizopus nigricans*, *Asp. Fumaricus*, 수율(60%)

## 7. Propionic acid 발효

향료, 곰팡이 억제제, 치즈숙성에 관여

- 1) 생산균
  - ① *Propionibacterium freudenreichii*, *Prop. shermanii*
  - ② succinic acid → propionic acid.

## 8. 사과산(malic acid) 발효

- 1) 생산균 - *Asp. flavus*, *Lac. brevis*
  - fumaric acid → malic acid
  - 산미성분, 독특한 향미를 가지고 있으며, 천연에 존재하는 것은 L-형

# III. 아미노산발효

아미노산은 단백질을 구성하는 기본화합물이다

## 1. 아미노산 발효형식

### 1) 직접법

- 야생균주에 의한 방법

✓ ex) glutamate, valine, alanine, glutamine

- 돌연변이주(영양요구변이주)에 의한 방법

✓ 미생물 돌연변이원 : UV, Co<sup>60</sup>

### 2) 전구체의 첨가법

- 전구체를 첨가하여 대사의 방향을 조절하여 목적하는 아미노산 발효

✓ ex) isoleucine, threonine, tryptophan, aspartic acid

### 3) 효소적방법

- 특정기질에 효소를 작용시켜 아미노산 발효

✓ ex) aspartic acid, tyrosine, phenylalanine



## 2. Glutamic acid 발효

### 1) 생산균

- *Corynebacterium glutamicum*, *Brev. flavum*, *Brev. Lactofermentum*  
*Microb. ammoniaphilum*, *Brev. thiogentalis*

### 2) 생 산

- Glutamic acid 의 축적은 통기량, pH, NH<sub>3</sub>의 양, acetic acid 양에 영향
- biotin 의 양에 큰 영향을 받음

## 3. Lysine 발효

### 1) 생산균

- *Corynebacterium glutamicum*, 으로부터 UV, Co60 에 의하여 homo serine 영양 요구 변이주를 만들어 사용

### 2) 발 효

- One stage process : 변이주를 직접 발효시켜 lysine생산  
(탄소원 : 폐당밀, 질소원 : 암모늄염)
- Two stage process : E. coli의 lysine 영양요구 변이주로 다량의 diamino pimelic acid를 생산 (1단계)
- 탄소원 : glycerol, 질소원 : ammonium phosphate
- *Aerobacter aerogenes* 균체의 diaminopimelate decarboxylase에 의하여 diamino pimelate를 탈탄산시켜 lysine 생산(2단계)

## IV. 핵산발효

### 1. 핵산과 정미성분

핵산관련물질 : 5'-IMP, 5'-GMP, 6-hydroxy-5'purine nucleotide가 정미성을 가짐  
Msg(mono sodium glutamate)에 소량 첨가 함으로써 감칠맛이 더욱 상승

- ① Nucleoside, 염기에는 정미성을 가진 것이 없고, nucleotide만이 정미성분을 가진다
- ② purine계 염기만이 정미성이 있고, pyrimidine계의 것은 정미성이 없다.
- ③ 당은 ribose나 deoxyribose에 관계없이 정미성을 가진다.
- ④ 인산은 당의 5'의 위치에 있지 않으면 정미성이 없다
- ⑤ purine 염기의 6의 위치 탄소에 -OH가 있어야 정미성이 있다

### 2. 정미성 핵산물질의 생산방법

RNA를 미생물효소로 분해하는법/ 발효와 합성을 결합하는법/ 직접발효법(de novo)

#### (1) RNA를 미생물효소로 분해하는 법

##### 1) 제조과정

- ① Candida 속 효모를 배양시키면 RNA를 함유한 효모균체가 된다
- ② 효모 RNA를 5'-phosphodiesterase로 RNA를 분해하면 AMP, GMP, UMP, CMP가 생성
- ③ GMP는 직접조미료로 사용, AMP는 adenilate deaminase로 deamination시켜 IMP를 얻어 조미료로 사용

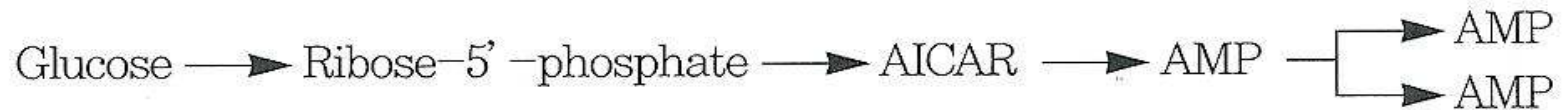
(2) RNA 분해효소 생산균 : *Penicillium citrinum*, *Streptomyces aureus*

# IV. 핵산발효

## (2) 발효와 합성을 결합하여 조제

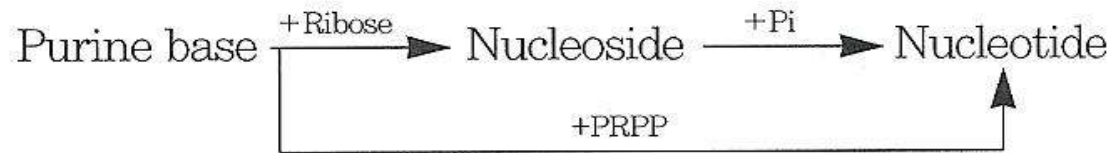
### 1) 제조공정 - de novo 합성 / Salvage 합성

#### ① de novo 합성계 [신합성]



※ AICAR(5-amino-imidazolcarboxydiamide riboside)

#### ② Salvage 합성계 [재합성회로]



※ PRPP(5'-phosphoriboxyl-1-pyrophosphate)

### (3) 직접발효법

1) Feedback 저해효과를 제거

2) 생성된 nucleotide 분해효소 활성을 약화(phosphatase, nucleotidase)

3) 균체내에서 생성된 nucleotide를 균체외로 분비 촉진

ex) 사용균주 : *Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium ammoniagenes*

# V. 미생물에 의한 효소생산

효소생산

효소생산미생물 : 세균, 방선균, 곰팡이, 효모, 조균류, 자낭균류

## 1. 효소의 생산방식 : 고체배양과 액체배양

1) 액체배양법 - 통기배양과 정치배양

✓ 통기배양은 잡균의 오염이 적고, 배양조건조절이 용이, 생산량이 높다

2) 고체배양법

- Tray method, 회전드럼식

- 온도관리 중요, 고농도효소회수

## 2. 효소의 분리 정제 :

1) 코지에서의 효소추출 : 코오지 분쇄, 연속추출장치 이용

2) 균체에서 효소의 추출

① 자가소화법 : 균체에 ethyl acetate, toluene 첨가 → 자가소화(20 ~ 30°C)

② 동결 용해법 : Dry ice 동결 건조 후, 용해, 원심분리(세포조각제거)

③ 초음파처리법 : 초음파로 균체 파괴(10 ~ 60KHz)

④ 기계적 파괴법 : homogenizer 이용

⑤ 건조균체의 조제 : 아세톤을 가한 후 건조, 동결균체를 동결건조

## V. 미생물에 의한 효소생산

효소생산

### 3) 효소의 정제

- 유기용매에 의한 침전, 염석에 의한 침전, 이온교환 chromatography, 특수침전(등전점 침전, 특수시약에 의한 침전), gel 여과, 전기영동, 초원심분리기 등

### 3. 고정화 효소(효소의 고체 촉매화)

담체에 효소를 물리,화학적 방법으로 부착시켜 만든 고정화 효소를 이용

#### 1) 담체결합법 : 불용성의 담체에 효소를 결합시키는 법

- ① 공유결합법 : Diazo법/ peptide 법/ Alkyl 화법
- ② 이온결합법 : 이온교환담체(DEAE-, CM-, TEAE-cellulose, Sephadex, Dowex 50 등) + 효소 → 이온결합
- ③ 물리적 흡착법 : 담체(활성탄, 산성백토, kaolinite) + 효소단백질 → 물리적 흡착

#### 2) 가교법(cross linking method)

- 2 개의 관능기를 가진 시약에 의하여 효소단백질 자체를 가교화시켜 고체촉매화

#### 3) 포괄법(entrapping method)

- 효소자체는 결합반응을 일으키지 않는다
- 격자형 : gel의 가는 격자중에 효소를 삽입하는 격자형
- microcapsule 형 : 반투막성의 polymer의 피막으로 효소를 피복시키는

## 4. 효소생산

- 1) 균주선별 : 효소의 활성이 높은 균주 screening
- 2) 효소의 특징 : 최적온도, pH, 열안정성
- 3) 배지조성과 배양조건
- 4) 구성효소와 유도효소
- 5) 배양법
  - 액체배양법 : 통기배양법과 정치배양법
  - 고체배양법 : 국상자법, 퇴적배양법, 회전 drum 식 배양법

## 5. 미생물 효소제제 생산

### 1) Amylase

- \* 종류 :  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase, glucoamylase, pullulanase
  - \* 기질 : Starch (amylose + amylopectin), glycogen
  - \* 기능 :  $\alpha$ -1,4-glucoside,  $\alpha$ -1,6-glucoside 결합을 가수분해
- ①  $\alpha$ -amylase (endoamylase)
    - $\alpha$ -1,4-glycosidic bond를 randomly(임의적으로) 가수분해
    - 전분의 점도는 급격히 저하
    - 분해산물 : dextrin, maltose, 소량의 glucose
    - 타액, 침액, 맥아 등에 존재
    - *Bacillus subtilis*, *Aspergillus*에 많이 존재

## V. 미생물효소제제 생산

### 효소생산

- ※ 세균 amylase -  $\text{Ca}^{2+}$ 의 첨가에 의해서 효소의 내열성은 증가된다.
  - ※ 곰팡이 amylase - 내산성 amylase를 생산 (pH 2.0) 한다.
- ②  $\beta$ -amylase (당화형 amylase)
- 전분의  $\alpha$ -1,4-glycosidic bond를 비환원성 말단부터  $\beta$ -형의 맥아당을 생산한다.
  - $\alpha$ -1,6 결합의 분기점에 이르러 작용이 정지된다.
  - 환원당은 증가, 점도는 잘 저하되지 않고, 요오드반응은 적갈색
- ※ 세균의  $\beta$ -amylase 는 식물  $\beta$ -amylase 보다 내열성이 높고 최적 pH 는 7.0이다.
- ③ Glucoamylase (당화형 amylase)
- 전분의 비환원성 말단에서 포도당 단위로  $\alpha$ -1, 4 bond 및  $\alpha$ -1, 6 결합을 분해하는 exo-형의 효소다.
  - 생산균 : *Aspergillus niger*(전분을 70-80% 분해)  
*Rhizopus delemar*(전분을 100% 분해)

## V. 미생물효소제제 생산

## 효소생산

### ④ Isoamylase (pullulanase, R효소)

- Amylopectin, glycogen의  $\alpha-1, 6$  결합을 특이적으로 분해하여 직쇄의 dextrin을 생산한다.
- 요오드 반응에서 적자색에서 청색으로 변한다.
- isoamylase 는 효모에서 처음 발견,
- 식물의 isoamylase를 R-enzyme 이라고 한다
- *Aerobacter aerogenes* 효소는 pullulan에 작용하여 pullulanase라고 불린다

### ⑤ Cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase)

- *Bacillus marcerans*에서 처음 발견
- 전분에 작용하여  $\alpha-1,4$  결합을 분해  
[Cyclization]

Cyclodextrin 생성(포도당 6-8개로 구성)  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD

### 2) Cellulase

Cellulose의  $\beta-1,4$  glucoside 결합을 가수분해

$\beta-1,4$  glucanase (cellulase)

Cellobiose + glucose 생성



## V. 미생물효소제제 생산

- endo- $\beta$ -1,4 glucanase : Cx
- exo- $\beta$ -1,4 glucanase C (cellobiohydrolase) : C1
- $\beta$ -glucosidase (cellobiase)
- \* **Carboxy methyl cellulose (CMC) : 수용성 cellulose**  
가수분해효소 : CMC ase (Cx 효소)
- \* 불용성 cellulose 분해효소 : C1 효소
- \* Cx + C1 complex는 상승적으로 불용성 cellulose를 분해

### 3) Hemicellulase

- \* Hemicellulase는 식물의 세포벽에 존재하며, 알칼리로 추출되는 다당류의 총칭
- \* Xylanase, galactanase, mannase, arabinase의 4종류로 분류한다.

### 4) Invertase (sucrase, saccharase)

- \* Sucrose  $\rightarrow$  glucose + fructose

#### Invertase

- 1)  $\beta$ -Fructosidase : fructose 측에서부터 절단
- 2)  $\alpha$ -glucosidase : glucose 로 부터 절단

## V. 미생물효소제제 생산

### 5) Lactase ( $\beta$ -galactosidase)

- \* Lactose  $\rightarrow$  glucose + galactose  
 $\beta$ -galactosidase

### 6) Melibiase ( $\alpha$ -galactosidase)

- \* Melibiose, raffinose, stachyose같은 당류의  $\alpha$ -galactoside를 가수분해 효소

### 7) Naringinase

- \* Naringin : 감귤류의 쓴맛의 주성분

↓ naringinase

Rhamnose + naringenin-7-glucoside(prunin)

↓  $\beta$ -glucosidase

Glucose + naringenin

### 8) Hesperidinase

Hesperidin : 밀감류에 존재, 비타민 P, 의약용으로 사용, 통조림 조제시 백탁의 원인

Hesperidinase : Hesperidin의 Rhamnose-glucose( $\alpha$ -1,6결합을 가수분해)

### 9) Protease

- ① 최적 pH 또는 작용 pH에 의한 분류
  - 산성, 중성, 알칼리성 protease로 분류
- ② 작용위치에 의한 분류
  - Endopeptidase (proteinase)
  - exopeptidase : 말단의  $\alpha$ -amino 기,  $\alpha$ -carboxyl 기에 작용
- ex) aminopeptidase, carboxylpeptidase, dipeptidase
- ③ 활성화 양식에 따른 분류
  - Serine protease : serine 잔기가 효소 활성화에 관여
  - Thio protease : thio 기가 관여
  - 금속 protease : 효소활성에 금속이 관여

#### ◎ 미생물 protease

- ① 곰팡이 protease : 산성(pH3) 중성(pH6-7), 알칼리성(pH8-10)
- ② 세균 protease : 중성, 알칼리성 protease 가 존재
  - Subtilisin : *Bacillus subtilis*의 protease
- ③ 방사선균 protease
  - *Streptomyces griseus* : 배지중에 protease를 대량으로 생산
  - 최적 pH 7-8,  $\text{Ca}^{2+}$ 에 의해 안정화

## 5. 미생물효소제제 생산

### 10) 미생물 응유효소

- \* Rennet : 송아지에서 얻어진 protease
  - 우유 단백질을 응고시키는 데 사용
- \* 최근 미생물 응유효소개발 : *Endothia parasitica*

### 11) Pectinase

- \* Protopectinase : 불용성의 천연 pectin을 가용성 pectin
- \* Pectin esterase : pectin의 methyl ester를 분해 pectic acid 생산
- \* **Polygalacturonase : pectin의  $\alpha$ -1, 4결합을 분해 end-과 exo-형 생산**

### 12) Lipase : Lipid $\rightarrow$ fatty acid + glycerol

- \* **용도 : 소화제, 세제, 지방산제조, 유제품에 작용**

### 13) Glucose oxidase : Glucose 산화 $\rightarrow$ gluconolactone + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생산

### 14) Glucose isomerase : D-Glucose $\rightarrow$ D-Fructose

- \* **용도 : 제과, 제빵, 통조림**

### 15) Catalase : 과산화 수소를 분해

### 16) Tannase : Tannin의 ester 결합을 분해, 홍차, 맥주의 혼탁방지

### 17) Penicillinase : penicillin의 $\beta$ -lactam 환의 peptide 결합을 분해

## VI. 미생물의 균체 생산

### 1. 식·사료 효모

#### 1) 원료

- 탄소원 : 폐당밀, 아황산펄프폐액, 목재 당화액, 낙농폐액, **n-paraffin**

#### 2) 균류

- *Endomyces, Hansenula, Saccharomyces, Candida, Torulopsis, Oidium* 속
- *Candida utilis, Torulopsis utilis, Torulopsis utilis* Var. major

#### 3) 배양

- 질소원 : 암모니아수, 요소, 과인산석회, KCl, MgSO<sub>4</sub> 등의 무기염 첨가
- 산소 요구량이 크다, **Waldhof형 발효조에서 배양**

#### 4) 영양적 가치

- 아황산펄프폐액원료 : **단백질, 비타민, 당류, 무기물이 풍부**
- 단백질 함량 : *Saccharomyces* (42-53%), *Torulopsis utilis*(50%)
- lysine 함량이 높다, 소화율 80%

#### 5) 미생물 균체성분

- 성분 : 단백질, 지질, 탄수화물, 핵산, 회분, 비타민 (수분, 70 - 80%)
- 핵산성분 : 정미성 nucleotide 생산에 이용
- 균체성분 : 미생물의 배지조성, 배양조건, 생육시기 등에 따라 변한다.

## 6) 단백질자원으로서의 미생물 균체

- 미생물 단백질 이용 : 아미노산의 강화에 의한 단백질 영양효율의 개선
  - 장점 : 증식속도 빠르고, 생산효율이 높고 공업적 생산 가능, 기후조건의 영향을 받지 않는다.
  - 원료가 경제적이어야 하고, 원료에 따른 적합한 균주 선정
  - 적당한 배지조성, 배양장치, 배양방법 및 회수공정 등이 확립
- ① 아황산펄프폐액
    - 약 3%의 발효성 당 함유
    - 효모제조 원료로 활용, 폐액처리(BOD의 저하)의 목적 달성
  - ② 석유계 탄화수소
    - 단백질 함량이 많고 균체의 분리가 용이한 효모가 공업적으로 유리
  - ③ Methane
    - 천연가스의 주성분, 순수한 상태로 균체 생산 가능
  - ④ Methanol
    - naphtha, methane, 천연가스 등을 원료로 합성
    - 현재 SCP 생산을 위한 가장 중요한 기질의 하나
  - ⑤ Ethanol - 균체이용의 안정성을 고려
  - ⑥ 셀룰로오스
    - 천연자원, 목재 폐기물, 폐신문지로부터 cellulose가 SCP 및 에탄올의 생산에 이용

# VI. 미생물 균체 생산

## 2. 빵효모 생산

### 1) 원료

- 폐당밀 : 사탕수수당밀 > 사탕무우 당밀
- 보리 : 종효모 배양에 사용(폐당밀 : 보리 = 9 : 1)
- 맥아근 : asparagine 함유 → 술덧의 여과를 도와주는 원료
- 무기질(부원료) : 황산암모늄, 암모니아수, 요소 등을 첨가

### 2) 균주 - *Saccharomyces cerevisiae*

### 3) 배양

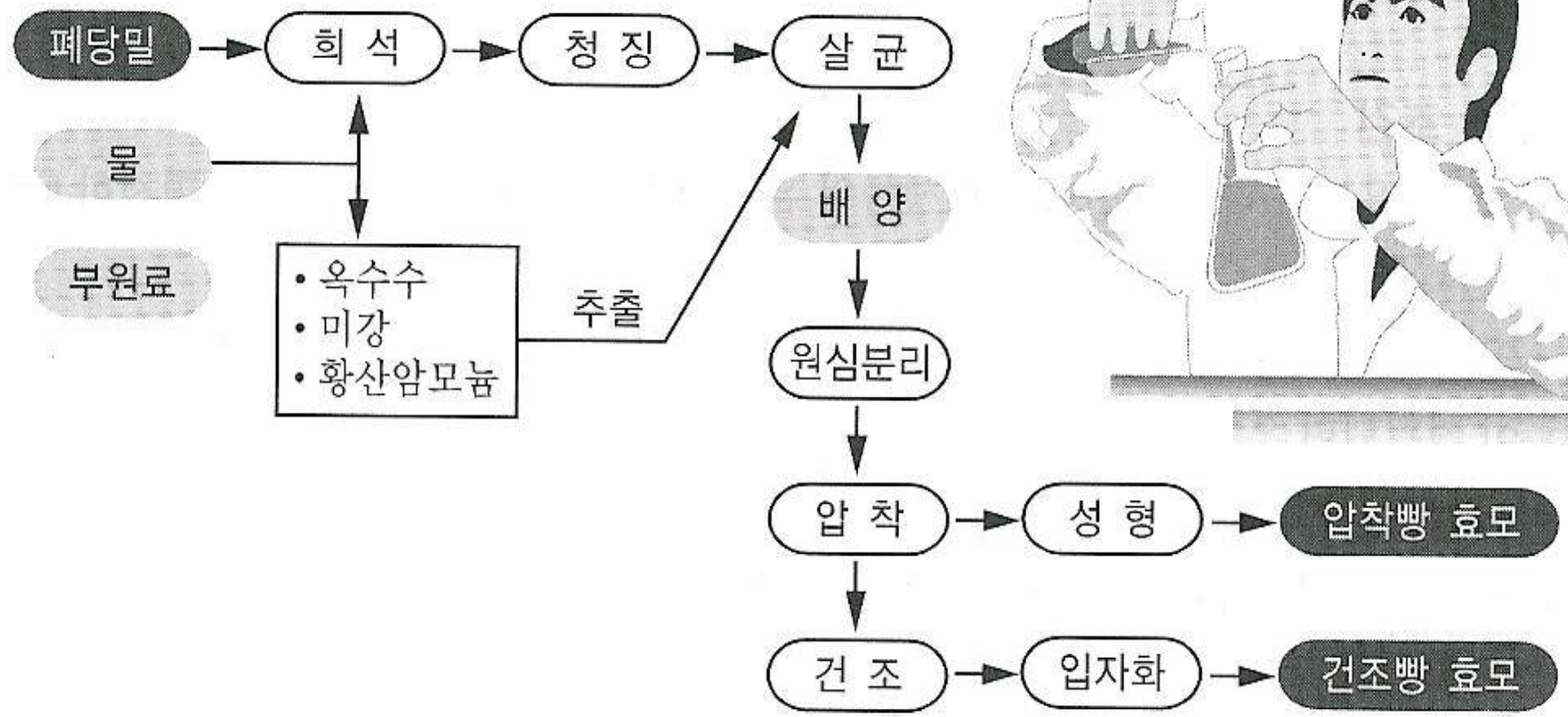
- 충분한 공기 공급
- 배양온도 : 25 ~ 26°C, 30°C 이상 증식저해
- 잡균오염방지 : pH 4 ~ 5로 일정하게 유지

### 4) 효모의 분리

- 배양액 원심분리 : 3000 rpm, 10 min
- 균체 → 압착, 탈수 → 성형(물, 레시틴, 식물성기름, 지방산 에스테르)
- 빵효모의 수분함량 : 66 ~ 68%, 0 ~ 4°C 냉장고에 저장

# VI. 미생물 균체 생산

## 빵효모 제조과정





### 3. 미생물 유지

#### 유지미생물

	균 명	원 료	배 양 법	유지함량 (건물량%)	유지 생산율(%)
세 균	<i>Nocardia</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	n-Paraffin n-Paraffin	심부배양 심부배양	78 -	57 5.3
효 모	<i>Trichosporon pullulans</i> <i>Candida reukauffii</i> <i>Lipomyces starkeyi</i> <i>Rhodotorula gracilis</i> <i>Cryptococcus terricolus</i>	당밀, 펄프 폐액 포도당, 당밀 포도당 포도당 포도당	정치또는심부배양 심부배양 심부배양 심부배양 심부배양	31~45 8~25 50~63 61~79 71	10~12 1~15 12~13 15~21 23
불완전균	<i>Geotricum candidum</i> <i>Eusarium lini</i> <i>Fusarium bulbigenum</i>	Whey 펄프폐액 포도당	정치배양 심부배양 심부배양	25~42 50 25~50	12~19 12~15 8~15
사상균	<i>Penicillium spinulosum</i> <i>Asperillus nidulans</i> <i>Mucor circinelloides</i>	자당 포도당, 자당 포도당	심부배양 심부배양 심부배양	63.8 61 46~65	16.1 17.2 10~14
녹조균	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	CO <sub>2</sub>	-	85	-

#### 2) 유지생산조건

##### ① 질소원의 농도와 C/N 비

- 질소화합물이 많으면 단백질함량이 높고, 탄수화물농도가 높으면 유지축적 증가

##### ② 충분한 산소공급

##### ③ 온도 : 미생물의 생육최적온도와 일치

##### ④ pH : 미생물의 종류에 따라 다르다 ex) 효모류 : 3.5 ~ 6.0

##### ⑤ 염류 : Na, K, Mg, SO<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub> 등의 이온비 조절 → 유지함량증대

##### ⑥ 기타 : ethanol, acetic acid 유지의 함량을 증대, 비타민 B 그룹요구주도 있음

## 4. 단세포 녹조류 균체 생산

- ✓ 태양에너지 이용하여 CO<sub>2</sub>를 고정하고 질소, 무기질 등을 동화하여 증식하는 독립영양균
- ✓ 우주항공식품으로 연구, 배기가스 등에 의한 공해오염방지에 이용

### ※ Chlorella 배양 : 옥외에서 배양, 실내의 탱크에서 배양

- pH 5 - 7(하루 1회 조절), 25°C
- CO<sub>2</sub> 공급과 동시에 교반이나 순환에 의해서 조류의 침강 방지
- 배양지의 깊이 10~15cm, 농도 0.1~0.5%
- 클로렐라가 배양되면 일정시간마다 원심분리하고 다시 배양기로 보낸다
- 식·사료의 강화용으로 유용(단백질, 지방, 비타민 함유량이 높다)

## 5. 식용버섯

### 1) 성분 :

- 수분 70~95%, 5~30%가 고형물, 단백질, 조지방, 탄수화물 존재  
버섯의 맛과 자실체 형성에 중요한 역할

### 2) 생리상태 - 다른 생물로부터 영양분 섭취

- 활물기생균 : 송이버섯
- 사물기생균 : 표고, 느타리, 목이, 팽이 등의 버섯

### 3) 버섯의 배지 : 원목, 톱밥, 볏짚, 퇴비

### 4) 자실체의 발생과 환경조건

- 버섯의 포자발아 → 1차 균사와 다른 1차 균사와 융합 → 2차 균사 형성  
→ 생육, 적당한 온도,
- 수분, 광선 등의 환경조건에 두면 자실체 형성

### 5) 식용버섯의 생산 : 봄과 가을 2번 발생하여 수확, 수년간 생산이 가능

## VII. 미생물의 특수한 이용

### 1. 폐수처리

#### ◎ 폐수의 오염도

- BOD (biochemical oxygen demand, 생화학적 산소요구량) : ppm  
: 미생물에 의해서 폐수중의 유기물이 분해될 때 소비되는 산소량  
20 °C에서 5일간 배양 분해하여 측정
- COD (chemical oxygen demand, 화학적 산소요구량)

#### ◎ 폐수처리법

- 물리적 처리법, 화학적 처리법
- 생물학적 처리법 : 호기적 처리법, 혐기적 처리법

#### ◎ 호기적 처리법

##### ① 활성오니법

- 응집상태의 호기적 미생물군(활성오니)을 이용하여 유기물 분해, 처리 → 오니를 침전 → 상등액을 방류
- 대도시하수처리장, 제약·식품공장, 처리가 어려운 폐수

##### ② 살수여상법 - 폐수 중의 유기물이 흡착되어 정화

##### ③ 혐기적 처리법 - 유기물 농도가 높은 폐수(BOD 5000-50,000)처리에 이용

- 먼저 혐기적 처리법으로 전처리 후 활성오니법으로 처리

## VII. 미생물의 특수한 이용

### 2. 미생물 정련 (Bacterial leaching)

미생물을 이용하여 품위가 낮은 광석으로부터 유용한 금속을 용출시켜 효과적으로 회수하는 것

### 3. 미생물 분해

유기합성, 석유화학 등으로부터 합성된 신규물질을 미생물에 의해 분해

1) 중성 세제 - 직쇄형구조를 가진 alkyl benzene sulfonate(LAS) 사용

2) 농 약

3) 기타의 물질 - 유해물질(phenol, cyan), 합성고분자물질(PVC, PVA), 발암성 원인물질(아민류)

### 4. 미생물 살충제 (Microbial insecticide)

나무나 농작물에 자라는 해충을 선택적으로 죽이는 미생물

### 5. 바이오센서 (Biosensor)

각종의 생체물질이 가지는 분자식별기능을 이용해서 화학물질을 예측하는 기구와 장치 ex) 효소센서, 면역센서, organelle sensor 등

### 6. 미생물화학전지 (Microbial fuel cell)

간단한 유기, 무기화합물을 영양원으로 하고 미생물의 작용에 의하여 기질의 화학에너지를 얻어 이것을 전기에너지로 변환하도록 한 것

## VIII. 비타민, 호르몬, 의약품제조

### 1.비타민 및 호르몬 제조

#### 1) 비타민 B2(리보플라빈, riboflavin)

① 기능 : 전자전달계에 작용

② 생산방법

- 화학합성법(20%)

- 반합성법 : glucose → D-ribose (*Bacillus pumilus*)

D-ribose에서 리보플라빈 합성

- 직접발효법 : 자낭균류 (*Eremothecium ashbyii*,  
*Ashbya gossypii*) 플라빈을 균체내에 축적

#### 2) 비타민 B12

① 기능 : 동물의 성장에 필요하며 악성빈혈의 인자

② 생산방법 : 고등식물이나 동물에서 합성되지 않음

- 생산균주 : *Pseudomonas denitrificans* (60mg/L)

*Propionibacterium shermanii* (30-40mg/L)

### 3) 비타민 C (L-ascorbic acid)

- ① 기능 : 의약품, 산화방지제 등
- ② 생산방법 : D-glucose → D-sorbitol → *Acetobacter suboxydans*  
→ L-sorbose → → L-ascorbic acid

### 4) 지베렐린 (gibberellin)

- ① 기능 : 식물호르몬의 일종으로 식물의 성장과 성숙을 촉진  
종자의 휴면을 깨는 작용
  - ② 생산 균주 : *Gibberella fujikuroi* (곰팡이)
- 표 9-8 주요식물조절제 (p 423 참조)**

### 5) 스테로이드 호르몬

- 성호르몬, 부신피질 호르몬 (탄수화물, 무기질 대사조절에 중요)
- 관련 균주 : *Rhizopus, Streptomyces, Septomixa, Athrobactor*

### 6) 덱스트란(dextran)

- ① 기능 : 수혈시 혈장 증량제로 사용, 그 황산 ester는 혈액응고 방지제
- ② 생산방법 : *Leuconostoc mensesntroides*를 설탕이 함유된 배지에 배양

## 2. 항생물질의 제조

곰팡이, 방선균, 세균, 지의류, 동물, 식물 등이 만드는 항생물질은 8,000종 이상이 보고, 대부분이 유해하여 실용화 되고 있는 것은 13종

### 1) 항생물질의 공업화 방식

- ① 생산균의 분리 : 분리용 배지에서 배양한 후 콜로니를 분리
- ② 항균력시험 : 검정균에 대하여 clear zone이 형성되는 균을 선별
- ③ 독성시험 : 실험동물을 이용하여 경구투여, 정맥주사, 피하주사 등으로 독성의 유무 조사
- ④ 중간공업시험 : 배양조건 및 항생물질 추출방법 연구
- ⑤ 공업생산법 : 대량생산 및 항생제의 분리 정제한다

### 2) 주요 항생물질과 그 제조

- ① 페니실린 - 최초로 공업화된 항생물질) : *Penicillium chrysogenum*
- ② 스트렙토포마이신 - 그람음성균 및 결핵균에 유효 : *S. griseus*
- ③ 테트라사이클린 - 광범위 항생물질 : *S. aureofaciens, S. rimosus*
- ④ 클로람페니콜 - 그람음성, 양성 외에 리케차에 유효 : *S. venezuelae*
- ⑤ 카나마이신 - streptomycin과 구조유사 : *S. kanamyceticus*
- ⑥ 농업용항생물질 - blasticidin S 도열병 항균력 : *S. grieseochromogenes*
- ⑦ 항암성 항생물질 - 대부분은 인체에 독성 : bleomycin(피부암, 식도암)에 특효, 암화학요법의 길을 개척, *Streptomyces verticillus*



### 3. 백신제조(vaccine)

백신은 미생물의 균체나 그 생산물을 재료로 하여 만들어지며, 인체에 접종하면 특이적인 면역이 생기므로 질병감염예방의 목적으로 사용

1) 백신제조에 사용되는 미생물의 종류에 따라 :

- 세균 백신, 리케차 백신, 바이러스 백신

2) 백신의 형태에 따라 불활화 백신과 생 백신

- 불활화 백신 : 면역원으로서의 성질을 잃지 않는 조건으로 미생물 균체를 formalin 등의 약제나 저온 가열 등의 물리적 방법으로 처리한 제제

- 생 백신 : 사람에게 대한 병원성만 잃은 채 면역력을 가지고 있는 미생물이 살아 있는 제제

➤ Toxoid 란 : 미생물이 만든 독소를 그 면역원성에 변화를 주지 않게 처리하여 무독화시킨 제제

3) 백신제조과정

배양준비 → 접종 배양 → 균체(또는 독소) 수집 → 농축, 정제, 불활성화 등 가공  
→ 백신 원액 → 역가조정 → 분주 → 저장 → 제품

국가검정

국가검정 선발시험