

감식초로부터 분리한 *Acetobacter xylinum*에 의한 미생물 섬유소 생산

고명석, 윤영미, 한지혜, 이은미, 정봉우, 이현철*
전북대학교 화학공학부, 한려대학교 신소재공학과*
전화 (063) 270-2309, FAX (063) 270-2306

Abstract

We isolated cellulose-producing bacteria from persimmon vinegar(Korea traditional fermentation food). Some of these strains were selected for cellulose production in agitation culture. On the other hand, it was also found that strains suitable for static culture production were not necessarily suitable for agitation culture. Therefore we estimated the cellulose production of these isolates in static culture. To determine nutritional requirement for the production of bacterial cellulose, several nutrients as carbon source, nitrogen and mineral salt were tested.

서론

*Actobacter xylinum*는 균체 밖으로 셀룰로오스를 생산한다고 알려져 있으며, 이를 미생물 셀룰로오스라고 한다. 이러한 미생물 셀룰로오스는 식물 유래의 셀룰로오스와 달리 초미세 섬유 망상구조, 고순도, 높은 결정성 및 배양성 등 독특한 물리적인 특성을 가지고 있어 기능성 소재로서의 전망이 밝다.¹⁾ *A. xylinum*은 호기적 조건에서 정지배양하면 배양액 표면에 투명한 필상 물질(pellicle)을 형성한다.

정지배양은 산업적인 관점에서 볼 때 배양시간이 길며 노동력이 많이 드는 단점이 있으며,²⁾ 교반배양은 전단력에 의해 셀룰로오스를 생성하지 못하는 Cel⁻(cellulose negative) 돌연변이를 만드는 유전적인 특성을 가지고 있어 생산성이 떨어진다.³⁾ 이에 교반배양 시, 유전적으로 안정한 균주의 선발 및 변이주를 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.⁴⁾

본 연구에서는 감식초로부터 분리한 셀룰로오스 생산균주 중에서 합성능력이 우수한 균주를 분리했으며, 플라스크 배양을 통해 pH와 탄소원 및 질소원의 영향을 살펴보고 배양조건을 최적화 하였다.

재료 및 방법

균주 및 세균배양

본 실험에서 사용된 균주는 자연계(감식초)로부터 분리·동정한 *Acetobacter xylinum*이다. 기본배지로는 HS배지를 사용하였으며, 이를 기준으로 탄소원과 질소원의 종류와 농도를 실험목적에 따라 변화시켰다. 우선 전배양은 500ml 플라스크에 100ml HS배지를 넣고 균주를 활발히 증식시키기 위해 Cellulase(from *Trichoderma viride*)를 첨가하여 30℃, 120rpm에서 2일 교반배양하였다. 배양액을 12,000rpm으로 원심분리한 후 상등액을 제거하고 동량의 새로운 HS배지에 현탁시켜 집중액으로 사용하였다. 본배양은 250ml 삼각플라스크에 50ml HS

배지를 넣고 전배양에서 만든 접종액을 3.0% 접종한 후 30℃로 5일간 정치배양하였다.

셀룰로오스 정제

배양액을 20분 동안 8,000 rpm으로 원심분리(MODEL CF-15, VISION CO.)하고 증류수로 세척해서 남아있는 배양액 성분을 제거한다. 원심분리로 침전된 셀룰로오스를 0.1N NaOH에 침지시킨 후 100℃에서 20분 동안 끓여 균체를 제거한다. 다른 불순물들을 제거하기 위해 증류수로 3번 이상 반복해서 세척한다. 정제된 셀룰로오스는 진공건조기에서 8시간, 80℃로 향량이 될 때까지 건조한 후 무게를 측정하였다.

결과 및 고찰

탄소원으로 glucose, fructose, sucrose를 각각 2.0 % 첨가하여 배양하였을 때 glucose일 때 가장 생산성이 우수하였으며 glucose 농도의 변화(0.5~4.0 %)에 따라서 살펴본 결과 glucose가 1.0 % 첨가되었을 때 수율이 0.31g/g으로 가장 수율이 우수하였다. 이는 pH의 저하 및 기질저해에 의한 것으로 판단된다. 질소원으로 효모추출물, CSL, Bacto peptone, malt extract로 배양한 결과 효모추출물이 비교적 우수하였으며 효모추출물과 Bacto peptone이 각각 3.0, 0.5 %일 때 가장 생산량이 많았다(Fig. 1). 효모추출물에 Bacto peptone이 첨가될수록 생산량이 줄어들었다. Fig. 2에 나타낸 바와 같이 CSL도 우수한 대체 질소원이었다.

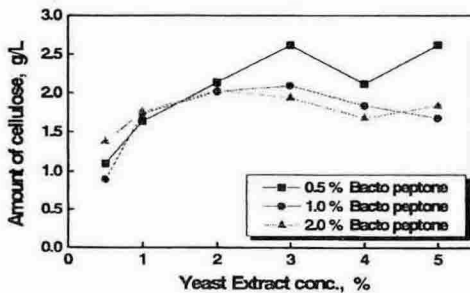


Fig. 1 Effects of Bacto peptone and yeast extract concentration on the production of cellulose.

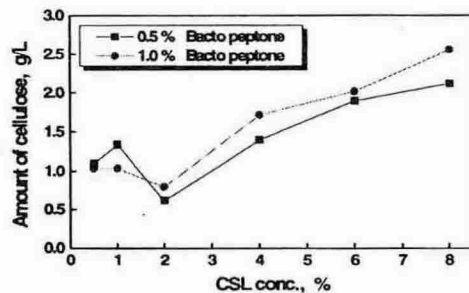


Fig. 2 Effects of peptone and corn steep liquor concentration on the production of cellulose.

참고문헌

- 1) P. Ross, R. Mayer, and M. Benziman, Cellulose biosynthesis and function in bacteria, *Microbiological Reviews*, 55 (1), 35-58, 1991.
- 2) Y. Kojima, A. Seto, N. Tonouchi, T. Tsuchida, and F. Yoshinaga, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 61 (9), 1585-1586, 1997.
- 3) Valla S., and Kjosbakken J., Cellulose-negative mutants of *A. xylinum*, *J. Gen. Microbiol.*, 128, 1401-1408, 1982.
- 4) A. Ishikawa, N. Tonouchi, T. Tsuchida, and F. Yoshinaga, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 62 (7), 1388-1391, 1998.