

## *Bacillus polymyxa* KS-1에 의한 다당류 KS-1 생산의 발효 조건

†권기석·윤병대·\*주현규

한국과학기술연구원 생명공학연구소

\*전국대학교 농과대학 농화학과

### Cultural Conditions of Exopolysaccharide KS-1 Produced by *Bacillus polymyxa* KS-1

Gi-Seok Kwon<sup>†</sup>, Byung-Dae Yoon and Hyun-Kyu Joo<sup>\*</sup>

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, Taejeon 305-333, Korea

<sup>\*</sup>Dept. of Agricultural Chem., Kon-Kuk Univ., Seoul 133-701, Korea

#### ABSTRACT

Optimized fermentation medium and cultural conditions for the production of exopolysaccharide KS-1 with *Bacillus polymyxa* KS-1 was following as; 30g glucose, 2.5g yeast extract, 2.5g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5g NaCl, 0.3g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1g  $\text{CaCO}_3$ , 0.05g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , and 0.05g  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  in 1 liter distilled water. The exopolysaccharide production was influenced by the temperature and pH, the optimal conditions for the production of exopolysaccharide KS-1 seemed to be 30°C and pH 7.0, respectively. About 10.3g/ℓ of maximum exopolysaccharide was obtained at the initial pH 7.0, 30°C, 2vvm of aeration rate and 400 rpm of impeller speed in a jar fermentor.

#### 서 론

*Leuconostoc mesenteroides*가 생산한 dextran을 혈장대용제(1, 2)로 사용한 것을 시작으로 미생물성 다당류에 대한 연구가 활발히 전개되어 xanthan gum, pullulan 등과 같은 기능이 우수한 미생물성 다당류에 대한 기초 및 응용연구가 진행되고 있다. 최근 미생물로부터 유용물질의 생산에 대한 관심이 높아짐에 따라 기존의 합성고분자 제품을 다양한 미생물에 의해 생산되는 체외분비성 다당류(Extracellular polysaccharide, EPS)와 이의 유도체 등을 생분해성 고분자물질(Biopolymer)로 대체하기 위한 연구가 진행되고 있다(3, 4).

다당류의 생산성을 높이기 위해서는 발효배지의 조성고 그의 수반되는 환경인자를 적절히 조절함으로써 원하는 미생물성 다당류의 대량생산이 가능하며, 이러한 인자들에 의해 생산물의 순도, 화학적 성분과 분자량이 결정되어 제품의 질이 결정되게 된다.

생물고분자 합성속도는 제한 영양소에 의해 쉽게 변화되고(5, 6), 특정 영양소의 제한에 의해 생산이 정지하는 경우도 있다. 미생물성 다당류의 생산 수율은 배지내 질소원에 대한 탄소원의 비율이 높을수록 높아진다(7, 8). 또한 발효시 영향을 미치는 인자로는 온도, pH, 용존산소, 그리고 전단응력 등을 들 수 있다(9, 10, 11).

본 연구는 전보(12)에서 분리, 동정된 *Bacillus polymyxa* KS-1의 균주를 이용하여 미생물성 다당류

† Corresponding Author

를 생산하기 위한 발효배지 조성 및 조건을 조사하여 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 배양 방법

전보(12)에서 보고한 균주인 *Bacillus polymyxa* KS-1을 이용하여 증류수 1 liter당 glucose 30g, yeast extract 2.0g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.5g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g, 그리고  $\text{CaCO}_3$  0.1g을 첨가한 배지를 기본배지로 하여 배양하였으며, 이때 배양온도 및 초기 pH는 30°C와 pH 7.0으로 조절하여 36시간 배양한 액을 전배양액으로 사용하였다.

### 점도 측정

각 조건에서 얻어진 배양액의 점도는 Brookfield viscometer(LVF type, spindle No. 3, U. S. A.)를 사용하여 조사하였으며, 단위는 cP(centipoise)로 표시하였다.

### 다당류 생산, 균체생육 및 균체량 측정

본 균주가 생산하는 다당류의 양을 조사하기 위해 배양액을 50ml conical test tube에 25ml 되게 분취한 뒤 Brookfield viscometer의 spindle No. 3을 이용하여 점도를 측정하고 그 배양액을 적당히 희석하여 원심분리한 뒤 상등액을 취해 차거운 ethanol원액(98%)을 2배수(배양액:EtOH=1:2, v/v)되게 혼합하여 얻어진 다당류를 105°C에서 향량이 될 때까지 충분히 말린 후 평량을 하여 생산된 다당류의 양으로 결정하였으며, 균의 생육정도는 배양액을 적당히 희석하여 UV spectrophotometer(Shimadzu)를 이용하여 660nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였으며, 균체량은 일정량의 배양액을 취해 점성이 없을 때까지 증류수로 희석한 후 원심분리하여 얻은 침전물을 채취하여 105°C에서 3시간 말린 후 평량하여 균체량을 결정하였다.

### 발효조

다당류 생산을 위한 배양시 Elermeyer flask를 사용하여 각각의 조건에 따른 배양효과를 비교하였으며, Jar fermentor(2-L, B. Braun, Germany)를 사용하여 다당류생산에 미치는 통기효과 및 교반효과 그리고 시간별 변화되는 양상을 조사·관찰하였다.

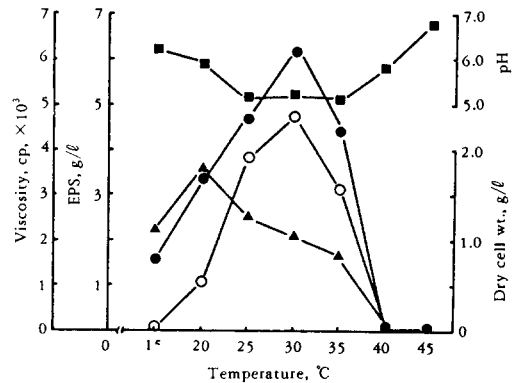


Fig. 1. Effect of temperature on the production of Exopolysaccharide KS-1 and cell growth.

●:EPS, ○:viscosity, ▲:dry cell wt., ■:pH

## 결과 및 고찰

### 배양 온도의 영향

미생물성 다당류 생산을 위한 발효시 온도조절은 중요한 인자가 된다. 따라서 *B. polymyxa* KS-1 균주에 의한 다당류 생산시 최적온도를 검토한 결과는 Fig. 1과 같았다.

본 균주에 의한 다당류 생산의 최적온도는 30°C였고, 40°C 이상에서는 균체증식이 되지 않는 결과를 얻었다.

현재 상업적으로 생산하는 미생물성 다당류 생산 균주들의 최적온도는 28~32°C로서 대부분 중온균으로 보고(13, 14)된 것과 일치하였으며, 적정온도가 25°C인 *Pseudomonas* sp.(15)의 경우와 수중의 enteric bacteria에서는 더 낮은 온도에서 다당류 생산성 증가를 보인 반면, *Pseudomonas aeruginosa*는 37°C에서 점도가 높은 다당류를 생산한다고 보고하였다(16).

Xanthan gum 생산을 위한 최적 배양조건 설정시 가장 중요한 인자로서 배양온도를 지적하였으며, 25°C의 경우에는 xanthan gum 생산 균주의 증식은 좋았지만 30°C에서는 xanthan gum의 생합성 속도가 빠르다고 보고하였다(17).

### 초기 pH의 영향

초기 pH는 미생물성 다당류 생산에 중요한 인자로서 배지내 pH를 조절하지 않는 경우에는 균체증식은 중지되며, 이로 인하여 다당류 생산이 감소되는 요인이라고 보고되었다(8). 초기 pH를 4.0~9.0

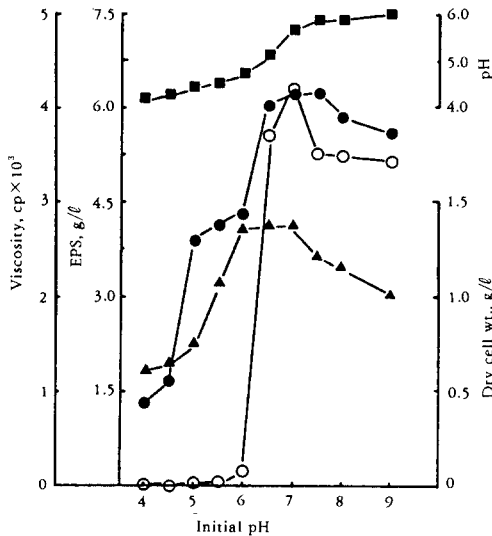


Fig. 2. Effect of initial pH on the production of exopolysaccharide KS-1 and cell growth.

● : EPS, ○ : viscosity, ▲ : dry cell wt., ■ : pH

의 범위에서 pH의 영향을 조사한 결과, Fig. 2와 같이 균체증식은 pH 6.0~7.0의 범위에서 가장 빨랐으며, 다당류 생산은 pH 6.5~8.0 사이의 중성 및 약알칼리성 범위에서 생산량이 높았다.

다당류 생산에 있어서의 적정 pH는 미생물의 종류에 따라 다르나 일반적으로 적정 pH는 중성으로 보고(18)된 것과, 본 실험 결과가 거의 일치하는 경향을 보이는 것은 사용된 균주가 *Bacillus* sp. 균으로서 그 생리적 성질이 유사하기 때문인 것으로 사료된다. 한편 pullulan의 경우 균체증식은 낮은 pH에서 그리고 다당류 생산은 높은 pH에서 얻는 2단계 발효공정이 제안된 경우도 있다(19).

탄소원의 영향

탄소원은 미생물에 의해 생산되는 다당류의 생합성과 물성에 영향을 미치는 것으로 알려졌다(20). *B. polymyxa* KS-1으로부터 미생물성 다당류 생산을 위한 최적 탄소원을 조사하기 위해 기본배지에 각종 탄소원의 농도를 3.0%(w/v)되게 첨가하여 72시간 배양한 결과는 Table 1과 같았다. Table 1에서와 같이 균주는 5탄당, 6탄당 그리고 이당류인 sucrose, lactose 등 비교적 넓은 범위의 탄소원을 이용하였으나, 유기산 이용은 용이하지 않았다. 일반적으로 다당류 생산을 위한 탄소원은 glucose가 좋은 탄소원으로 보고(21)한 결과와 일치하였다. 한편 *Alcali-*

Table 1. Effect of carbon sources for the production of exopolysaccharide by *Bacillus polymyxa* KS-1.

C-source	Final pH	*EPS(g/l)	**DCW(g/l)	Viscosity(cp)
Xylose	5.74	1.52	1.93	50
Glucose	5.66	4.20	1.89	4,000
Mannose	6.30	1.35	1.86	240
Sucrose	6.19	3.79	1.51	3,900
Maltose	5.73	2.85	1.95	2,120
Lactose	6.20	2.34	2.41	920
Mannitol	6.15	3.10	2.05	3,500
Glycerol	6.78	0.79	1.89	25
Sorbitol	7.16	0.58	0.60	30
Glucanate	8.44	2.98	1.57	2,300
Acetate	7.08	—	—	—
Citrate	7.10	—	—	—
Malate	7.21	—	0.69	—
Lactate	6.74	—	0.48	—
Propionate	6.98	—	0.51	—

Basal medium: Carbon source 30g, yeast extract 2g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5g, NaCl 0.5g, CaCO<sub>3</sub> 0.1g/l in distilled water. pH was adjusted to 7.0.

\*EPS: exopolysaccharide, \*\*DCW: dry cell weight.

*genes faecalis*(22), *Aeromonas hydrophila*(23), 그리고 *Xanthomonas campestris*(24) 등의 경우에는 이당류인 sucrose가 다당류 생산에 효과적인 탄소원이라고 보고되었다. 이러한 결과는 균주의 특성으로부터 오는 결과라고 사료된다.

Glucose 농도에 따른 영향

탄소원 농도는 이들 탄소원이 미생물성 다당류로의 전환효율에 영향을 미치는 요소가 된다고 보고하였다(25). 전술한 바와 같이 탄소원 중에서 다당류 생산량이 가장 높은 glucose를 사용하여 liter당 10~60g까지 첨가한 배지에서 배양시 균체증식 및 다당류 생산량을 조사하였다. Fig. 3에서와 같이 *B. polymyxa* KS-1이 생산하는 다당류에 대한 glucose 농도는 liter당 10~20g 첨가된 배지에서 균체증식은 다른 농도에 비해 높게 나타났으며, 다당류 생산은 liter당 10~30g까지는 증가하였으나 그 이상의 농도에서는 거의 일정하였다.

Fig. 3에서와 같이 점도는 다당류 생산량에 비례하는 경향을 보였으며, 배양액의 pH는 저농도의 glucose농도에서 하강하다가 다당류 생산이 거의 중

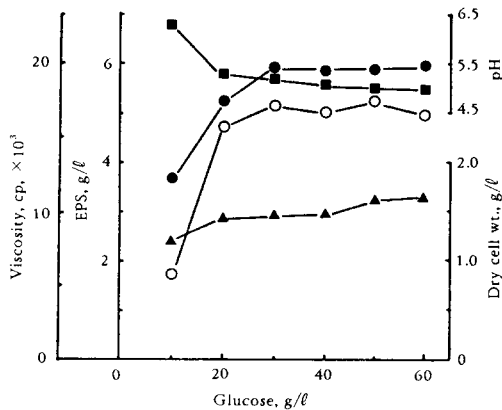


Fig. 3. Effect of glucose concentration on the production of exopolysaccharide KS-1 and cell growth.

●:EPS, ○:viscosity, ▲:dry cell wt., ■:pH

지되는 농도에서는 일정하게 유지되었다. 이러한 점을 미루어 보아 생산된 다당류에 부산물로 유기산이 다소 함유하는 것으로 추측되어진다.

일반적으로 미생물성 다당류 생산을 위한 탄소원의 최적농도는 사용한 균주에 따라 liter당 10~80g 정도의 넓은 범위로 이용되고 있음이 보고되었다(22, 24). 또한 xanthan gum 생산은 sucrose나 glucose 농도를 liter당 40g되게 사용하여 높은 양의 다당류를 생산하였으며(24), pullulan 생산에 있어 sucrose 농도는 분자량에 영향을 미친다고 보고하였다(26). 다당류 생산성이 좋은 것으로 조사된 glucose의 농도를 liter당 30g으로 하여 이하의 실험에 사용하였다.

#### 질소원의 영향

미생물성 다당류 생산을 위한 효소의 생합성과 미생물 증식에 중요한 인자(18)로 작용하는 질소원의 영향을 보기 위해 탄소원으로 glucose가 liter당 30g을 첨가한 기본배지에 각종 질소원을 최종농도가 liter당 2g 되게 첨가하여 *B. polymyxa* KS-1의 다당류 생산 및 균체증식에 미치는 영향을 조사하였다. Table 2에서와 같이 균체증식에는 peptone, tryptone, beef extract와 yeast extract 등의 유기질소원이 효과적이었으며, 다당류 생산량은 yeast extract에서 가장 높게 나타나 이는 yeast extract에 존재하는 미량 영양성분의 효과로 사료된다. 또한 무기질소원 중에서는 (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO에서 높은 균체증식

Table 2. Effect of nitrogen sources on the exopolysaccharide production by *Bacillus polymyxa* KS-1.

N-source(2g/l)	Final pH	*EPS(g/l)	**DCW(g/l)	Viscosity(cP)
Yeast extract	5.42	4.05	1.37	4200
Tryptone	4.97	3.47	1.73	3480
Peptone	5.15	3.01	3.21	2060
Beef extract	5.71	3.44	1.44	1060
(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	4.12	0.82	0.34	62.5
(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO	4.85	2.96	3.59	1680
NH <sub>4</sub> Cl	4.13	0.65	0.64	80
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	4.25	0.54	0.59	155
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4.23	2.31	0.44	1440

Basal medium: Glucose 30g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5g, NaCl 0.5g, and CaCO<sub>3</sub> 0.1g/l in D. W. pH was adjusted to 7.0.

\*EPS:exopolysaccharide, \*\*DCW:dry cell weight.

과 다당류 생산량을 보였다. 이는 *B. polymyxa* KS-1에 의한 다당류 생산에서 질소원 이용시 NH<sub>4</sub>태 보다는 NH<sub>2</sub>의 이용이 용이한 것으로 사료된다.

#### Yeast Extract의 농도에 따른 영향

질소원은 미생물성 다당류 생산에 필요한 인자이지만 질소원이 과량일 때는 탄소원에 의한 다당류의 균체외로의 분비를 감소시킨다고 보고하였다(18). 높은 다당류 생산을 위해 질소원 중 yeast extract를 각각의 농도별로 첨가하여 그 효과를 조사한 결과, Fig. 4에서와 같이 yeast extract의 농도 중 liter당 2.5g 첨가시 다당류 생산량이 가장 높았으며, 농도의 증가와 더불어 생산량은 오히려 감소하였다. 이때 배양액 중 pH는 농도의 증가와 더불어 상승하였으며 균체 증식도 농도의 증가와 더불어 증가하는 결과를 보였다. 이미 보고(14, 27)된 많은 연구에 의하면 미생물성 다당류 생산을 위한 최적 C/N 비가 10~40 정도로 보고되어 있으며, 본 실험에서 얻은 결과는 liter당 최적농도인 2.5g 첨가시 C/N 비가 12로서 이와 유사하였다. Iwamuro 등(14)은 yeast extract가 *Porodisculus pendulus* 균주에서 다당류 생산을 증가시켰으나, liter당 4.0g 이상의 yeast extract를 첨가시 다당류 생산은 더 이상 증가되지 않음을 보고하였다. 그외 미생물 다당류 생산을 위한 여러 가지 무기염류에 대한 효과를 조사한 결과는 본고에서는 나타나지 않았다.

이상의 결과들로부터 *B. polymyxa* KS-1을 이용

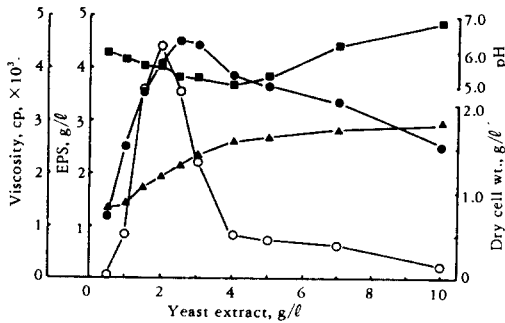


Fig. 4. Effect of yeast extract concentration on the production of exopolysaccharide KS-1 and cell growth  
 ● : EPS, ○ : viscosity, ▲ : dry cell wt., ■ : pH.

Table 3. Composition of optimized medium for the production of exopolysaccharide by *Bacillus polymyxa* KS-1.

Component	Concentration (g/l)
Glucose	30.0
Yeast extract	2.5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.5
NaCl	0.5
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.3
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.05
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.05
CaCO <sub>3</sub>	0.1

Initial pH and temperature were conducted to 7.0 and 30°C, respectively.

한 다당류 생산시 최적배지 조성은 Table 3과 같았으며, 이하의 실험에서 다당류 생산 배지로 활용하였다.

Jar Fermentor에서의 배양학적 특성  
 통기효과

다당류의 의가소성(pseudoplasticity)과 높은 점성을 보이는 다당류는 그 생산성을 높이기 위해서는 배양액 내의 효율적인 산소전달을 위해서 적절한 통기 및 교반이 필요하다(28, 29).

*B. polymyxa* KS-1 균주를 2-liter jar fermentor (B. Braun, Germany)에서 배양할 때 초기 산소분압은 30~40% PO<sub>2</sub>를 유지하다가 배양 후 12시간째 거의 0으로 떨어진다. 이때 균체 주위에 생긴 다당류의 점성에 의해 산소가 결핍됨에 따라 균체

Table 4. Effect of aeration rate for the production of exopolysaccharide by *B. polymyxa* KS-1 in a jar fermentor.

Aeration (vvm)	pH	*EPS (g/l)	**DCW (g/l)	viscosity (cP)
0.5	5.54	2.24	1.33	571
1.0	5.44	2.37	1.58	1750
1.5	5.43	4.74	1.62	2540
2.0	5.22	5.83	1.52	5080
3.0	5.28	6.39	1.79	7720

\*EPS : exopolysaccharide, \*\*DCW : dry cell weight.

증식과 다당류 생산에 필요한 산소의 공급이 극히 제한되어지며, impeller 주위에만 배양액의 유동이 일어나는 channelling 현상이 일어난다(30).

교반속도를 200rpm으로 고정하고, aeration rate를 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 및 3.0vvm으로 조절하여 72시간 배양한 후 *B. polymyxa* KS-1이 생산하는 다당류와 균체량 및 pH 등을 조사한 결과는 Table 4와 같았다. Table 4에서와 같이 다당류 생산량 및 균체량은 통기량이 증가할수록 증가하였으며, 통기량 3.0vvm일 경우는 1.0vvm의 경우에 비해 약 90% 이상의 다당류 생산량이 증가되었으나, 균체량은 다당류 생산량의 증가수준에는 미치지 못하나 다소 증가하는 경향으로 보아 *B. polymyxa* KS-1을 이용한 다당류 생산시 통기량이 생산량에 크게 영향을 미치는 것으로 사료된다. 그러나 *B. polymyxa*에 의한 levan 생산의 경우 높은 교반속도와 공기공급은 다당류 생산을 저해한다고 보고(31)한 반면, xanthan gum 생산균주에서는 산소 uptake rate를 제한할 경우 생산되는 다당류의 분자량이 감소되고 낮은 점도를 보인다고 보고(32)하였다.

교반효과

*B. polymyxa* KS-1균주를 이용하여 1vvm으로 공기를 공급하고 이때 교반속도를 100, 150, 200, 300 및 400rpm으로 조절하여 72시간 배양한 후 생산되는 다당류 생산량, 균체량 및 최종 pH를 조사한 결과 Table 5와 같았다.

Table 5에서와 같이 균체증식은 교반속도가 증가할수록 양호하였으며, 다당류 생산량도 교반속도의 증가에 비례하여 증가되었다. 또한 교반속도를 400rpm 이상으로 조절할 경우 다당류 생산량은 더 이상 증가하지 않았다. 이러한 이유는 다당류 생산이 어느 수준을 넘으면 점성의 증가에 따라 channelling 현상으로 배지내 물질이동이 되지 않아 더

Table 5. Effect of impeller speed for the production of exopolysaccharide by *B. polymyxa* KS-1 in a jar fermentor.

Speed (rpm)	pH	*EPS (g/ℓ)	**DCW (g/ℓ)	Viscosity (cP)
100	5.49	4.11	0.93	220
150	5.09	5.18	1.05	2810
200	4.98	5.85	1.13	3110
300	5.32	6.63	1.13	3070
400	5.43	7.53	1.23	4170

\*EPS:exopolysaccharide, \*\*DCW: dry cell weight.

이상 증가하지 않는 것으로 추측되어진다. 이와 같은 결과로 보아 다당류 생산에 있어 교반이 매우 중요한 인자임을 알 수 있었다. Jarman 등(33)은 *Azotobacter vinelandii*에 의해 alginate 생산시 낮은 교반속도에서 생산량이 증가하였다고 보고하였으며, Lawford 등(34)은 교반속도를 증가시켜 산소의 전달을 증가시킴으로써 다당류 생산을 증가시켰다고 보고하였다. 한편 pullulan 생산균인 *Aureobasidium pullulans*의 경우 교반속도에 따라 균주의 형태 및 생산되는 다당류의 분자량이 변화하며, 배양액의 물성 변화에도 영향을 끼친다는 보고(35)에서 교반속도를 조절함으로써 생산되는 다당류는 그 특성이 다르다고 보고하였다. 그러므로 다당류 생산은 미생물 종류에 따라 적절한 산소농도 및 교반속도가 조절되어야 할 것으로 추측된다.

#### 배양시간에 따른 다당류 생산

전술한 바와 같이 Table 3의 최적 배지조성으로 배지를 조제하여 fermentor의 배양 최적조건을 통기량 2vvm, 교반속도 400rpm으로 하여 시간에 따른 다당류 생산 및 균체증식 정도를 조사하였다. Fig. 5에서와 같이 배양시간의 경과에 따라 다당류 생산량이 증가되는 현상을 보였으나 배양 72시간 후에는 증가되지 않고 일정하게 유지되는 결과를 얻었다. 최적조건에서의 배양액 liter당 약 10.3g의 다당류 생산량이 얻어졌으며, 배양 60시간까지는 균체증식이 일어났으나 그 이후에는 glucose가 잔존함에도 불구하고 증식 정도가 미약하였다. 이러한 이유는 전술한 바와 같이 배양액의 높은 점성에 의한 산소 전달이 원만히 이루어지지 않아 균체가 glucose 이용률이 낮아짐으로써 배양액 내에 잔존함에 따라 다당류 생산의 증가가 이뤄지지 않는 것으로 사료된다. 이러한 문제점을 보완하기 위해서는 fermentor를 설계할 때 점성이 높은 배양액에서도 효율적인

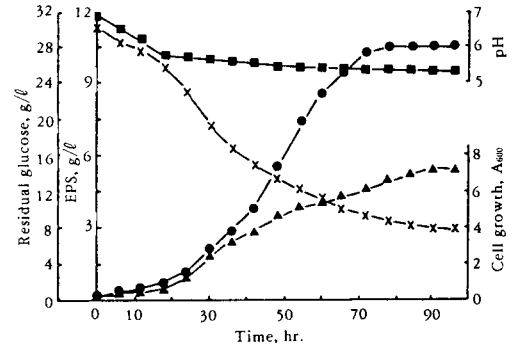


Fig. 5. Time course on the exopolysaccharide produced by *Bacillus polymyxa* KS-1 at optimized fermentation condition

● : EPS, × : residual glucose, ▲ : cell growth, ■ : pH. Fermentation condition: agitation 400rpm, aeration 2vvm.

산소전달이 일어나도록 고안되어야 한다.

따라서 보다 높은 다당류 생산을 위해서는 다당류의 물성을 고려하여 적합한 인자 즉, 가장 중요한 인자인 배지내 산소전달이 제대로 되게끔 통기량 및 교반속도 조절, 그리고 impeller 형태의 변형(36, 37) 등 다각적인 연구 결과에 따라 적절한 fermentor의 개발이 되어질 때 주어진 기질에서 산소전달이 잘 이루어져 당의 이용성을 높임으로써 다당류 생산량을 높일 수 있을 것이며 이로 인하여 산업적인 생산이 가능할 것으로 추정된다.

#### 요 약

토양으로부터 분리 동정된 균주인 *Bacillus polymyxa* KS-1을 이용하여 이들이 생산하는 미생물성 다당류 KS-1의 생산을 위한 배지 및 배양조건을 조사하였다.

다당류 KS-1의 생산을 위한 배지의 조성은 증류수 1 liter당 glucose 30g, yeast extract 2.5g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.5g, NaCl 0.5g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.3g, CaCO<sub>3</sub> 0.05g, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05g, 그리고 MnSO<sub>4</sub> · 4H<sub>2</sub>O 0.05g이 첨가된 배지에서 높은 점성 및 다당류 생산을 얻을 수 있었으며, 이때 배양조건은 초기 pH와 배양온도는 각각 7.0과 30℃에서 다당류 생산이 가장 좋은 것으로 조사되었다. 또한 이상의 최적조건에서 발효조를 이용한 경우 통기량 및 교반속도를 각각 2vvm과 400rpm으로 조절하여 배양한 경우

생산량은 liter당 약 10.3g의 다당류 KS-1이 얻어졌다.

### 참고문헌

- I. W. Sutherland and D. C. Ellwood (1979), In "Microbial Technology", A. T. Bull, D. C. Ellwood and C. Ratledge (eds.), Cambridge University Press, SGM Symp. Ser. 29, 107.
- M. Glicksman (1982), Food hydrocolloides, pp. 125-149. CRC Press, 1.
- C. L. Brierly, D. P. Kelly, K. J. Seal and D. J. Best (1985), In "Biotechnology", I. J. Higgins, D. J. Best and J. Jones. (eds.), pp. 186-204, Blackwell Scientific Pub., Oxford.
- E. Galindo, G. Salcedo, C. Flores and J. Ramirez (1993), *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **9**, 122.
- I. W. Davison (1978), *FEMS Microbiol. Lett.*, **3**, 347.
- L. Deavin, T. R. Jarman, C. J. Lawson, R. C. Righelato and S. Slocombe (1977), *American Chemical Society Symp. Ser.*, **45**, 14.
- J. F. Wilkinson (1958), *Bacteriol. Rev.*, **22**, 46.
- I. W. Sutherland (1979), In "Microbial polysaccharides and polysaccharase." R. C. W. Berkeley, G. W. Gooday and D. C. Ellwood. (eds.), Academic Press, 1-34.
- R. A. Moraine and P. Rogovin (1966), *Biotechnol. Bioeng.*, **8**, 511.
- M. A. J. Finkelson and A. Vardanis (1982), *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 483.
- J. M. Tanzer, W. I. Wood and M. I. Krichevsky (1970), *J. Gen. Microbiol.*, **58**, 34.
- G. S. Kwon, H. K. Joo and T. K. Oh (1992), *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 34.
- S. Mitsuda, N. Miyata, T. Hirota and T. Kikuchi (1981), *Hakkokogaku Kaishi.*, **59**, 303.
- Y. Iwamuro, M. Murata, K. Kanamuru, Y. Mikami and T. Kasaki (1981), *Agri. Biol. Chem.*, **45**, 635.
- F. Congregado, I. Estanol, M. J. Espuny, M. C. Fuste, M. A. Manresa, A. M. Marques, J. Guinea and M. D. Simmonpujol (1985), *Biotechnol. Lett.*, **7**, 883.
- C. S. Wise, R. J. Dimler, H. A. Davis and C. E. Rist (1955), *Anal. Chem.*, **27**, 33.
- C. H. Shu and S. T. Yang (1990), *Biotechnol. Bioeng.*, **35**, 454.
- A. G. Williams and J. W. T. Wimpenny (1977), *J. Gen. Microbiol.*, **102**, 13.
- C. Lacroix, A. LeDuy, G. Noel and L. Choplin (1985), *Biotechnol. Bioeng.*, **27**, 202.
- K. Marshall and H. Weigel (1980), *Carbohydr. Res.*, **83**, 321.
- J. M. Sarkar, G. L. Hennebert and J. Mayaudon (1985), *Biotechnol. Lett.*, **7**, 631.
- T. Harada, T. Yoshimura, H. Hidaka and A. Koreeda (1965), *Agri. Biol. Chem.*, **29**: 757-762.
- S. Ueda, F. Momii, K. Osajima and K. Ito (1981), *Agri. Biol. Chem.*, **45**, 1977.
- P. Souwand A. L. Demain (1979), *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 1186.
- J. F. Kennedy and I. J. Bradshaw (1984). Progress in Industrial Microbiology, M. E. Bushell (ed.), *Elsevier*, **19**, 319.
- Y. Miura, H. Arima and S. Ueda (1977), *Hakkokagaku Kaishi.*, **55**, 80.
- W. A. Corpe (1964), *J. Bacteriol.*, **88**, 1433.
- C. L. Margaritis, D. P. Kelly, K. J. Seal and D. J. Best (1985), Microbial polysaccharides, In "Comprehensive Biotechnology", M. Moo-Yong(ed), **3**, Pergamon Press, New York, 1005.
- G. W. Pace and R. C. Righelato (1980), In "Advances in Biochemical Bioengineering", A. Fletcher (ed.), **15**, pp. 41-70, Springer-Verlag.
- R. A. Moraine and P. Rogovin (1973), *Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 225.
- Y. W. Han and M. A. Claeke (1990), *J. Agri. Food Chem.*, **38**, 393.
- I. S. Suh, H. Herbst, A. Schumpe and W. D. Deckwer (1990), *Biotechnol. Lett.*, **12**, 201.
- T. R. Jarman, L. Deavin, S. Slocombe and R. C. Righelato (1978), *J. Gen. Microbiol.*, **107**, 59.
- H. Lawford, J. Keenan, K. Phillips and W.

- Orts (1986), *Biotechnol. Lett.*, **8**, 145.
35. B. McNeil and B. Kristiansen (1987), *Biotechnol. Lett.*, **9**, 101.
36. H. Funahashi, H., K. I. Hirai, T. Yoshida and H. Taguchi (1988), *J. Ferment. Technol.*, **66**, 103.
37. H. Funahashi, K. I. Hirai, T. Yoshida and H. Taguchi (1988), *J. Ferment. Technol.*, **66**, 355.