

단세포단백질 생산을 위한 혼합배양의 생육조건

이해경¹ · 정영건¹ · 권오진*

*한국원자력연구소, ¹영남대학교 식품가공학과

초록 : Mouse의 대장에서 분리된 *E. coli* LI-10 균주를 보조균주로 하여 *Cellulomonas* sp. KL-6과 혼합배양한 결과, 균체증식은 주균주와 보조균주를 1:1(v/v)의 비로 혼합하였을 때 가장 좋았다. 혼합배양은 주균주 단독배양보다 균체증식을 63% 정도로 증가시켰으며 두 균주의 분포도는 10:1 비율로 KL-6 균주가 주로 분포되어 있었다. 0.1%의 CaCO₃의 첨가는 무첨가에 비해 각 배양기간별로 pH를 상승시켜 어느정도의 균체증식을 가져왔다. Filter paper 배지에서 혼합배양시, 본 균주들은 cellobiose를 월등하게 많이 생산하였으나 glucose는 검출되지 않았다. 균체증식 최적배지에서 4일간 혼합배양하였을 때, 1.0 g/l의 균체량을 생산하여 기본배지인 CMC 배지에서 생산한 균체량보다 53% 정도가 증가되었다.(1996년 7월 9일 접수, 1996년 9월 2일 수리)

서 론

단세포단백질(single cell protein, SCP)을 생산하여 새로운 단백질자원으로 개발하고자 하는 필요성이 증대되고 있다.¹⁻⁵⁾ 그러나 섬유소는 그 구조가 lignin과 결합되어 효소분해가 어려워 발효기질로 이용하는데는 검토, 개발할 난제가 많다. 권과 정⁶⁾은 *Cellulomonas* sp. KL-6 균주로 볶짚을 물리·화학적 전처리로 효소분해를 촉진하여 1.63 g/l의 SCP를 생산하여 어느정도 산업화의 가능성을 시사한 바 있다. 또한 하나의 균주를 사용한 단독배양에서는 균 특유의 대사과정을 가지므로 생리적 능력이 제한되어 섬유소를 분해하여 SCP 생산하는데는 한계가 있다.⁷⁾ 이러한 문제는 배양과정에서 각기 보완될 수 있는 기능을 지닌 두 종류 이상의 균주를 혼합배양하면 해결될 수 있으리라 생각된다. 이러한 혼합배양의 유용성은 여러 연구자들^{8,9)}에 의해 인정되었지만 혼합배양의 기작은 미생물 사이의 상호작용(neutralism, commensalism, mutualism, competition, amensalism, parasitism, predation)이 매우 복잡하여 기본적인 특성을 아직까지 정확하게는 규명하지 못하고 있다.

이에 본 연구는 SCP를 경제적인 수준까지 생산하여 사료단백질로서 이용성을 높히기 위한 목적으로 *Cellulomonas* sp. KL-6와 본 균주가 생산한 SCP가 투여된 mouse의 대장에서 분리한 *E. coli* LI-10¹⁰⁾을 혼합배양하여 SCP 생산과 그 조건들을 조사하였다.

재료 및 방법

공시균주

주균주는 자연계에서 분리하여 생리적 특성 및 SCP 생산성 등이 규명된⁶⁾ 섬유소 분해세균인 *Cellulomonas* sp. KL-

6을 사용하였고 보조균주는 mouse의 대장(large intestine)에서 분리된 *E. coli* LI-10¹⁰⁾을 사용하였다.

균주의 혼합비

주균주와 보조균주를 1 백금이 따서 10 ml의 carboxymethyl cellulose sodium salt(CMC) 배지에 각각 접종하여 30°C에서 50시간 진탕배양한 다음 이것을 seed culture로 사용하여 새로운 10 ml의 CMC 배지에 각각의 seed culture 액(10⁸~10⁹ CFU/ml)을 1:1, 1:2, 1:5, 2:1 및 5:1(v/v)의 비율로 혼합, 접종하고 30°C, 50시간 배양한 후, 600 nm에서 흡광도값으로 균체증식을 측정하여 최적혼합비를 조사하였다. CMC 배지는 CMC 10.0 g, (NH₄)₂SO₄ 1.0 g, NaCl 6.0 g, KH₂PO₄ 0.5 g, K₂HPO₄ 0.5 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.1 g, CaCl₂ 0.1 g, yeast extract 1.0 g을 1 liter의 증류수에 녹여 pH 7.2로 조정하여 사용하였다.

균주의 분포상태

주균주와 보조균주의 seed culture액을 10 ml의 CMC 배지에 혼합, 접종하여 6일간 배양한 후 동일배지의 평판에 생성된 총균수와 colony의 특징(주균주 : 노란색, 보조균주 : 흰색)으로 관찰한 두 균주의 분포를 각각 조사하였다. 이 때 균주의 접종비은 최적혼합비로 하였다.

유리당의 동정

CMC 배지의 CMC 대신 1×6 cm의 filter paper(FP, Whatman No. 1)를 넣은 FP 배지에서 유리된 glucose를 확인하기 위하여 FP 배지에 주균주와 보조균주를 혼합, 접종하고 이를 30°C에서 50시간 진탕배양하였다. 배양액을 여과하고 10,000×g에서 원심분리한 후, 상동액만을 Mixed bed resin TMD-8(Sigma, USA)에 통과시켜 용출액

찾는말 : Single cell protein(SCP), *Cellulomonas* sp. KL-6, *E. coli* LI-10, Mixed culture, Cell mass.

*연락처자

100 ml를 모아 농축시키고 농축액 10 ml을 0.2 µm membrane filter와 C₁₈ sep-pack cartridge에 차례로 통과시켜 이중 20 µl를 HPLC(Young-In HPLC 9500 system)에 주입하여 유리당을 분석하였다. 이때 분석조건은 column, Rezex RNM-carbohydrate (300×7.8 mm); detector, RI (RID-6A, Shimazu); mobil phase, water; flow rate, 0.4 ml/min; injection column, 20 µl; range, 8×10⁻⁶ RIU; temperature, 75°C를 사용하였다.

균체증식 최적조건

CMC 배지 10 ml에 탄소원, 질소원, 생육인자, 인산원, 금

속이온, NaCl, pH 및 온도 등을 달리하여 주균주 및 보조균주를 혼합, 접종하여 30°C에서 50시간 배양 후 600 nm에서의 흡광도로 균체증식에 미치는 영양요구성과 배양조건을 조사하였으며 또한 혼합배양 중 생성된 산성물질을 중화하기 위해 0.1%의 CaCO₃를 첨가하여 그 효과도 살펴보았다.

균체량 측정

균체증식 최적배지 200 ml가 들어 있는 Erlenmyer flask에 주균주와 보조균주를 혼합, 접종하여 각 배양기간별 균체량을 조사하였다. 균체량은 배양액을 0.45 µm의 membrane filter로 여과한 후 95°C에서 24시간 건조하여 건조균체량으로 표시하였다.

결과 및 고찰

균주의 혼합비

주균주인 *Cellulomonas* sp. KL-6과 보조균주인 *E. coli* LI-10의 혼합배양시 두 균주의 혼합비를 조사하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 혼합비는 1:1(v/v)에서 가장 좋은 결과를 보였으며 각 균주의 단독배양결과와 비교하였을 때 약 2배 정도의 균체증식 효과가 있었고 이후, 본 실험은 이 혼합비를 적용하였다. 오 등⁸은 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Candida tropicalis*의 최적 혼합비를 1:1(v/v)로 보고하였다.

균주의 분포상태

CMC 배지에서 주균주와 보조균주를 1:1(v/v)로 혼합하여 균체증식에 미치는 영향과 이에 따른 배양액의 pH를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 혼합배양 3일째가 균체증식이 가장 좋았으며 이는 보조균주 단독배양시 4일째에 균체증식이 가장 좋았던 것보다 균체증식이 빠른것으로 혼합배양시 배양초기에 주균주인 KL-6이 보조균주인 LI-10의 증

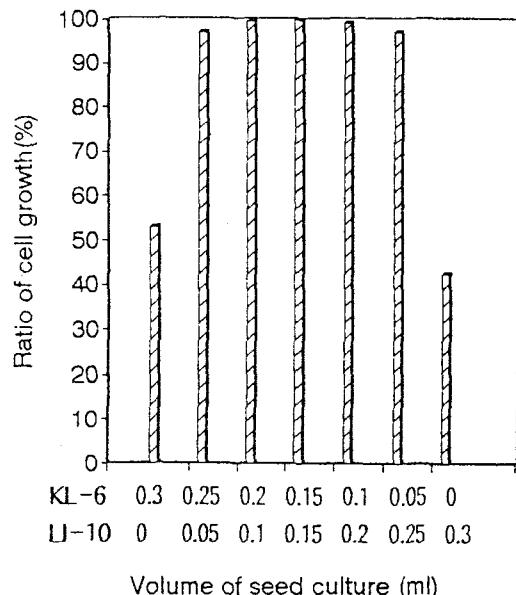


Fig. 1. Effect of mixing ratio of *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10.

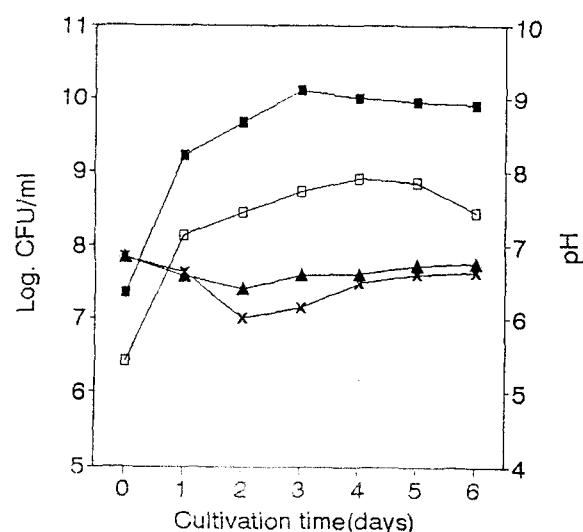


Fig. 2. Changes of the cell growth and pH of *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10 in single and mixed culture. Cell growth: ■—■, Mixed culture; □—□, *E. coli* LI-10. pH: ▲—▲, Mixed culture; ×—×, *E. coli* LI-10.

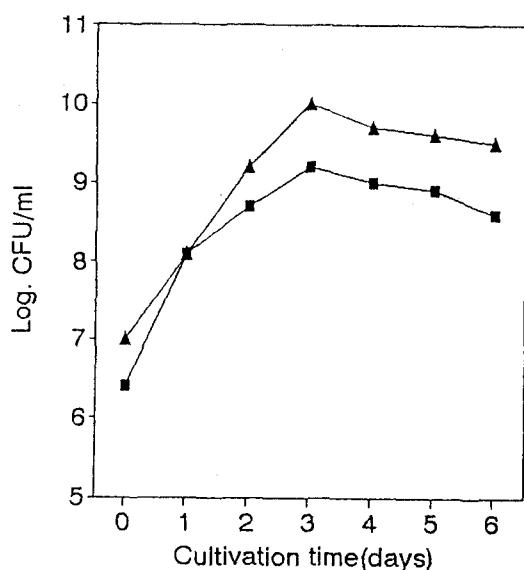


Fig. 3. Incidence of the cells of *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10 in mixed culture. ▲—▲, *Cellulomonas* sp. KL-6; ■—■, *E. coli* LI-10.

식에 도움을 준것으로 생각된다. 혼합배양액에서의 pH는 배양 2일째 6.0 부근으로 떨어졌고 그 후 증가하여 배양 6일째는 배양전의 pH까지 올라감을 알 수 있었고 보조균주의 단독배양시 보다 배양액의 pH가 다소 높았다. 권과 정¹¹⁾은 주균주 단독배양시 배양 3일째에 $\approx 10^9$ CFU/ml, pH 5.0로 보고하였다. 혼합배양시 주균주 및 보조균주의 분포 상태는 Fig. 3과 나타난 바와 같이 배양 1일째부터 10 : 1 정도로 주균주가 주로 분포되어 있었다.

유리당의 동정

FP 배지에서 유리된 당을 HPLC로 확인한 결과는 Table 1과 같다. 주균주와 보조균주의 단독 및 혼합배양액

에서 glucose는 검출되지 않았고 cellobiose 만이 각각 검출되었다. 일반적으로 천연섬유소는 C₁ 효소에 의하여 직쇄상의 섬유소로 절단되고 이것은 C_x 효소에 의해 급속하게 저분자화되어 cellobiose로 되며 마지막에는 β -glucosidase의 작용에 의해 glucose까지 분해되어지는데, 본 실험의 결과는 혼합배양으로 cellobiose까지의 분해는 향상되었으나 glucose 단위로 분해하는 β -glucosidase는 주균주(0.09 unit/ml)¹²⁾와 보조균주(0.07 unit/ml)¹³⁾의 단독배양의 경우와 같이 균체외로 분비가 미약하여 검출되지 않은 것으로 생각된다. Gokhale와 Deobagkar¹⁴⁾는 *Cellulomonas* sp.에서, 이 등¹⁵⁾은 *Cellulomonas fimi*에서 균체외 β -glucosidase 활성이 없다고 보고하였다.

Table 1. Contents free sugar in the *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10. (mg/100 g SCP)

Strain	Glucose	Cellobiose
KL-6	-	0.159
LI-10	-	trace
KL-6+LI-10	-	3.845

-, Not detected.

Table 2. Effect of various nutritional sources on the growth of *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10 in mixed culture.

Source	Component	Cell growth*	Source	Component	Cell growth
Carbon (1.0%, w/v)	Glucose	0.62	Phosphate (0.05%, w/v)	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (A)	1.14
	Xylose	0.84		NaH_2PO_4 (B)	0.72
	Arabinose	-		Na_2HPO_4 (C)	1.16
	Rhamnose	0.06		K_2HPO_4 (D)	0.76
	Fructose	-		KH_2PO_4 (E)	0.82
	Galactose	0.08		A+B	1.16
	Sucrose	0.80		A+C	0.68
	Lactose	0.04		A+D	0.16
	Maltose	0.08		A+E	0.34
	Cellobiose	0.06		B+C	0.68
	Raffinose	-		B+D	-
	CMC	0.04		B+E	0.40
Nitrogen (0.1%, w/v)	-	1.20		C+E	0.94
	NH_4Cl	1.26		D+E	-
	NH_4NO_3	0.42	Metal ion (0.01%, w/v)	-	1.14
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.86		$\text{Fe}^{2+}(\text{FeSO}_4)$	0.56
	Urea	0.84		$\text{K}^+(\text{KCl})$	1.20
	NaNO_3	0.84		$\text{Zn}^{2+}(\text{ZnSO}_4)$	0.60
	KNO_3	-		$\text{Na}^+(\text{Na}_2\text{SO}_4)$	1.10
Growth factor (0.1%, w/v)	Glycine	-		$\text{Cu}^{2+}(\text{CuSO}_4)$	-
	-	0.44		$\text{Mg}^{2+}(\text{MgSO}_4)$	1.28
	Bacto soytone	1.04		$\text{Ca}^{2+}(\text{CaCl}_2)$	0.84
	Bacto peptone	0.76		$\text{Mg}^{2+}+\text{Ca}^{2+}$	1.22
	Polypeptone	0.74			
	Casein	0.56			
	Yeast extract	1.28			
	Beef extract	0.56			

* Numbers represents turbidity of the cultural medium measured at 600 nm.

Mixtures were prepared by mixing same weight of each sources.

The bacteria were cultivated in test tubes on a reciprocating shaker at 30°C for 5 hrs.

- : No growth.

Table 3. Effect of various component on the growth of *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10 in mixed culture.

Component	Conc.(%)	Cell growth	Component	Conc.(%)	Cell growth
Glucose	0.1	2.06	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01	1.30
	0.5	1.04		0.05	1.24
	1.0	0.86		0.1	1.22
	2.0	0.82		0.5	1.12
NH_4Cl	0.01	1.34	NaCl	1.0	1.08
	0.05	1.30		-	1.22
	0.1	1.26		0.2	1.24
	0.5	1.22		0.4	1.40
	1.0	1.20		0.6	1.16
Yeast extract	0.1	1.36	KH ₂ PO ₄	0.8	1.16
	0.5	2.00		1.0	1.16
	1.0	2.38		2.0	0.98
	2.0	2.80		3.0	0.78
KH ₂ PO ₄	0.01	1.30		4.0	0.60
	0.05	1.32			
	0.1	1.34			
	0.5	1.24			
	1.0	1.04			

sucrose 첨가시가 가장 좋았고 galactose 첨가시는 오히려 균체증식을 억제하는 것으로 보고하였다. 균체증식이 가장 좋았던 glucose의 농도를 0.1~2.0%(w/v)에서 검토한 결과는 Table 3과 같이 0.1% 첨가시에 가장 좋았다.

(2) 질소원의 영향

질소원이 균체증식에 미치는 영향을 조사한 결과(Table 2), NH_4Cl 첨가만이 균체증식에 필요한 것으로 나타났고 다른 질소원들은 균체증식을 완전히 저해하거나 영향을 미치지 못하였다. 균체증식 최적농도는 Table 3에서와 같이 각 농도에서 차이는 거의 없었으나 0.01% 첨가시가 더 좋았다. 이와 같은 결과는 주균주 단독배양에서는 질소원 첨가가 균체증식을 억제한다는 보고¹¹⁾와는 상이한 결과로 나타났다.

(3) 생육인자의 영향

첨가한 생육인자중에서 yeast extract와 Bacto-soytone을 첨가한 경우에만 무첨가와 비교하였을 때 약 3배의 균체증식을 가져왔으며 그 중에서도 yeast extract 2.0% 첨가시가 가장 좋았다(Table 2, 3). 그러나 yeast extract 0.5% 첨가시에도 균체증식에 차이가 없어 차후 SCP 생산시의 원자질감면에서나, Thather와 Wood¹⁶⁾ 및 한¹⁷⁾이 균체증식에 필요한 최소량의 yeast extract는 CMC 이용에 도움을 주고 균주의 자가소화를 막아 생육인자로 적당하다고 보고한 바 있어 본 실험에서도 이를 고려하여 0.5%를 최적농도로 하였다.

(4) 인산염의 영향

NaH_2PO_4 와 KH_2PO_4 단독첨가만이 무첨가와 비슷한 균체증식을 보였으며 인산염의 혼합물(1 : 1, w/w)에서는 단독첨가시보다 균체증식이 적어 주균주의 단독배양결과¹¹⁾와 상반되게 나타났다. 균체증식이 가장 좋은 KH_2PO_4 에서 최적농도는 0.1%로 나타났다(Table 2, 3).

(5) 금속이온의 영향

금속이온 중에는 Mg^{2+} 와 K^+ 이온 및 Mg^{2+} 와 Ca^{2+} 이온 혼

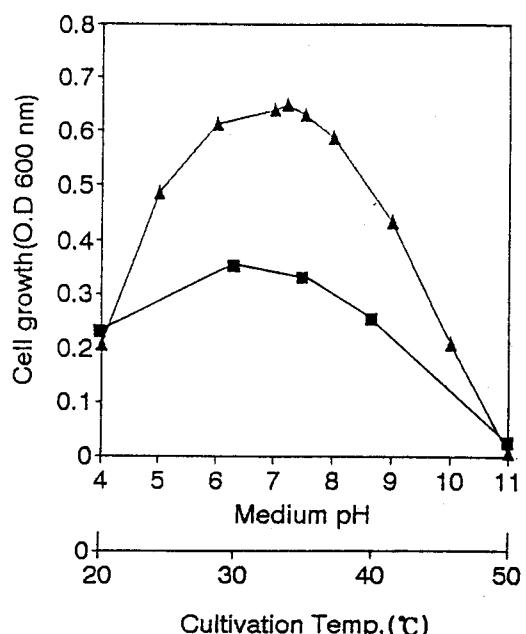


Fig. 4. Effect of pH and temperature on the growth of *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10 in mixed culture. ▲—▲, pH; ■—■, temperature.

합물 첨가구에서는 무첨가에 비해서 균체증식이 다소 좋았으며 Cu^{2+} 이온 첨가시는 균체증식이 없었고(Table 2), 균체증식에 가장 좋았던 Mg^{2+} 이온에서의 최적농도는 Table 3에서 보는 바와 같이 0.01%로 나타났다.

(6) NaCl의 영향

NaCl이 균체증식에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 0.4%의 NaCl 첨가시에만 무첨가와 비교해서 균체증식이 좋았으며 그 이상의 농도에서는 균체증식을 억제하여 주균주 단독배양에서의 최적농도 0.8%¹¹⁾ 보다 NaCl 요구량이 적었다.

(7) pH 및 온도의 영향

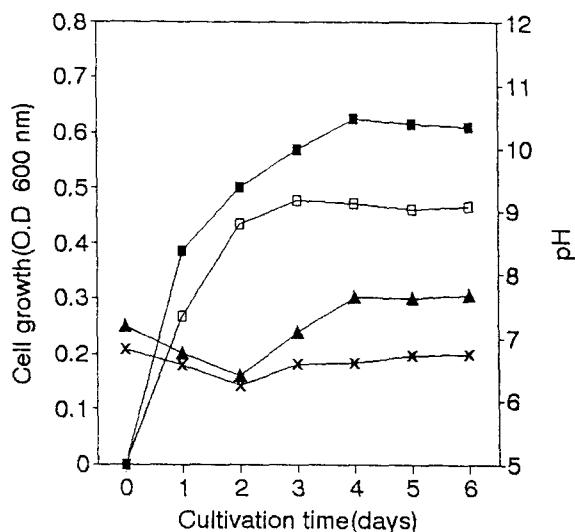


Fig. 5. Effect of calcium carbonate addition on the cell growth and pH of *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10 in mixed culture. Cell growth: □—□, 0% CaCl_2 ; ■—■, 0.1% CaCl_2 . pH: ×—×, 0% CaCl_2 ; ▲—▲, 0.1% CaCl_2 .

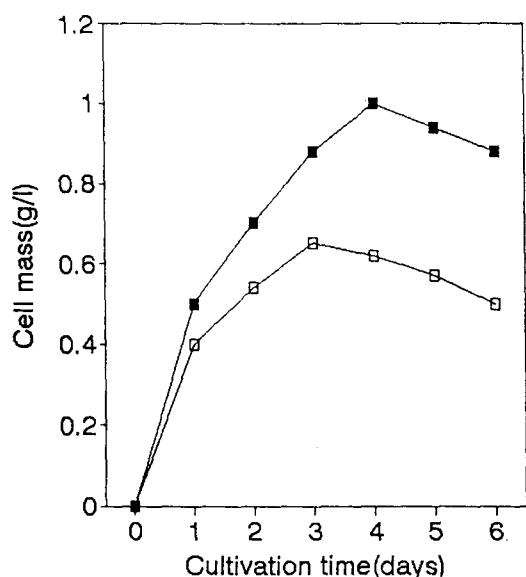


Fig. 6. The production of SCP of *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10 in mixed culture. ■—■, Optimal medium; □—□, CMC medium.

혼합배양액에서 균체증식에 미치는 pH 및 온도의 영향을 살펴본 결과는 Fig. 4와 같다. 본 균주들은 pH 6.0~8.0까지의 비교적 넓은 범위에서 증식이 좋았으며 pH 7.2에서 가장 좋았다. 온도는 30~35°C에서 균체증식이 좋았다.

CaCO_3 첨가효과

주균주 단독배양시 중화제로 0.1%~1.0%의 CaCO_3 를 첨가하여 어느정도 증가된 균체증식이 보고¹¹⁾된 바 있다. 본 실험의 혼합배양에서도 배양액의 pH 증가는 균체증식에 미치는 영향을 조사하였다. CMC 배지에 0.1%의 CaCO_3 첨가가 무첨가에 비해 배양 3일째부터 pH를 상승, 유지시켜

그 증화효과가 나타났으며 또한 균체증식도 배양 4일째까지 비례적으로 증가시켜 첨가효과가 어느정도 인정되었다 (Fig. 5). 그러나 CaCO_3 첨가는 배양 후 생산된 균체(SCP)만을 수거시에 침전된 CaCO_3 를 완전히 분리하기 어려워 본 실험에서 SCP 생산시 균체증식 최적배지에는 첨가하지 않았다. 그러나 증화효과가 인정된 이상, 차후 효과적인 중화방법의 개발이 필요함을 알 수 있었다. 배와 고¹²⁾도 pH 중화제로 0.1%의 CaCO_3 를 첨가하여 균체증식의 상승효과를 보고하였다.

배양기간별 균체량

Fig. 6은 균체증식 최적배지(glucose 0.1%, NH_4Cl 0.01%, yeast extract 0.5%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01%, NaCl 0.4%, pH 7.2 및 온도 30°C)에 주균주와 보조균주를 혼합, 접종하여 각 배양기간별 균체량을 살펴본 것이다. 균체증식 최적조건에서는 배양 4일 째에 1.0 g/l의 균체를 생산하여 기본배지의 배양 3일째의 0.65 g/l 보다 약 53% 정도의 균체량을 증가시켰다. 오 등⁸⁾과 윤과 성⁹⁾도 혼합배양으로 균체량 증가를 보고하였다.

참 고 문 헌

- Hitchner, E. V., and J. M. Leatherwood (1980) Use of a cellulase-derepressed mutant of *Cellulomonas* in the production of a single-cell protein product from cellulose, *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 382-386.
- 산업연구원 (1984) 바이오매스의 에너지 전환기술, 산업정보시리즈 제 18호, 1-34.
- 강신권, 성낙계 (1989) 감귤파피 암착액을 기질로 한 SCP 생산, 산업미생물학회지, **17**, 556-562.
- 이남석, 경규항 (1991) 배추를 이용한 단세포단백질의 생산, 산업미생물학회지, **23**, 646-648.
- 이철호 (1980) 단세포 단백질의 식품기능성, 산업미생물학회지, **8**, 207-212.
- 권오진, 정영건 (1995) 섬유소를 이용한 단세포단백질의 생산 및 그 이용, 한국농화학회지, **38**, 496-501.
- Halsall, D. M., and A. H. Gibson (1985) Cellulose decomposition and associated nitrogen fixation by mixed cultures of *Cellulomonas gelida* and *Azospirillum* species or *Bacillus macerans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, 1021-1026.
- Oh, D. W., R. Yang, and J. H. Yu (1976) 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**, 71-75.
- 윤한대, 성낙계 (1978) 폐섬유자원의 효소공학적 이용에 관한 연구-섬유소 자화세균의 혼합배양, 산업미생물학회지, **6**, 51-57.
- 권오진, 양성호 (1996) 세균 단세포단백질(SCP) 생산을 위한 보조균주의 분리와 그 효과, 한국환경위생학회지, **22**, 투고중.
- 권오진, 정영건 (1994) 섬유소 분해세균의 분리 및 생리적인

- 특성, 한국농화학회지, **37**, 226-233.
12. 권오진, 정영건 (1995) *Cellulomonas* sp. KL-6에 의한 섬유소 분해효소의 생산, 한국농화학회지, **38**, 490-495.
 13. 전진경, 권오진, 정영건 (1995) 섬유소 분해균주간의 symbiosis에 의한 효소생산, 한국위생과학회지, **1**, 55-64.
 14. Gokhale, D. V., and D. N. Deobagkar (1989) Differential expression of xylanases and endoglucanases in the hybrid derived from intergeneric protoplast fusion between a *Cellulomonas* sp. and *Bacillus subtilis*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2675-2680.
 15. 이희순, 민경희, 배무 (1988) *Cellulomonas* sp. CS1-1으로 부터의 β -glucosidase의 합성조절과 그의 효소학적 성질, 산업
 - 미생물학회지, **16**, 119-125.
 16. Teather, R. M., and P. J. Wood (1982) Use of congo red-polysaccharide polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen, *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 777-780.
 17. 한윤우 (1978) Cellulose 기질에서 *Cellulomonas flavigena*의 생장에 대한 영양요구성, 산업미생물학회지, **16**, 155-160.
 18. 배무, 고영희 (1977) 농산폐자원의 미생물학적 이용에 관한 연구 (제 6보) 섬유소 단세포단백 생산에서의 천연기질의 이용성, 산업미생물학회지, **5**, 18-23.

Growth conditions of symbiosis for production of single cell protein

Hae-Kyoung Lee¹, Yung-Gun Chung¹ and Oh-Jin Kwon²(*Department of food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, PO Box 105, Yusung, Taejon 305-353, Korea; ¹Dept. of Food Science & Technology, College of Agriculture and Animal Science, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea)

Abstract : Experiments were carried out to find possibility of economic production of SCP in mixed culture by *Cellulomonas* sp. KL-6 and *E. coli* LI-10. The best cell growth was obtained at the ratio of 1 : 1(v/v) in mixed culture. When these strains were mixed culture, cell growth was increased to about 63%, compared with those of single culture of strain KL-6. It was found that the majority of the population during growth in mixed culture consisted of strain KL-6. CaCO₃ added to the medium as the ratio of 0.1% was enhanced medium pH. Cell growth increased in that circumstances. These strains produced much amounts of cellobiose, but glucose was not detected in filter paper medium. When these organisms were cultured under the optimal medium for 4 days, cell mass was produced 1.0 g/l. The results showed the increase of cell mass up to 53% than those produced in CMC medium.

*Corresponding author