

ORIGINAL ARTICLE

## 초산균에 의한 환경친화적 기능성소재인 세균 셀룰로오스 생산을 위한 정치배양조건 최적화

조광식 · 이상미 · 정성윤<sup>1)</sup> · 박근태<sup>2)</sup> · 이희섭<sup>3)</sup> · 황대연 · 정영진 · 손흥주\*

부산대학교 생명자원과학대학 및 생명산업융합연구원, <sup>1)</sup>대구가톨릭대 의생명과학과,

<sup>2)</sup>부산대학교 산학협력단, <sup>3)</sup>부산대학교 생활환경대학

### Static Culture Condition for Production of Bacterial Cellulose, Environment-Friendly Functional Material, by Acetic Acid Bacteria

Kwang-Sik Cho, Sang-Mee Lee, Seong-Yun Jeong<sup>1)</sup>, Geun-Tae Park<sup>2)</sup>, Hee-Sup Lee<sup>3)</sup>, Dae-Youn Hwang, Young-Jin Jung, Hong-Joo Son\*

College of Natural Resources & Life Science, Life and Industry Convergence Institute, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

<sup>1)</sup>Department of Medical Life Science, Catholic University of Daegu, Daegu 712-784, Korea

<sup>2)</sup>Research and University-Industry Cooperation, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

<sup>3)</sup>College of Human Ecology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

#### Abstract

Bacterial cellulose (BC) has played important role as new functional material for food industry and industrial products based on its unique properties. The interest in BC from static cultures has increased steadily in recent years because of its potential for use in medicine and cosmetics. In this study, we investigated culture condition for BC production by *Acetobacter* sp. F15 in static culture. The strain F15, which was isolated from decayed fruit, was selected on the basis of BC thickness. The optimal medium compositions for BC production were glucose 7%, soytone 12%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2%, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.2%, lactic acid 0.05% and ethanol 0.3%, respectively. The strain F15 was able to produce BC at 26°C-36°C with a maximum at 32°C. BC production occurred at pH 4.5-8 with a maximum at pH 6.5. Under these conditions, a maximum BC thickness of 12.15 mm was achieved after 9 days of cultivation; this value was about 2.3-fold higher than the thickness in basic medium. Scanning electron micrographs showed that BC from the optimal medium was more compact than plant cellulose and was reticulated structure consisting of ultrafine cellulose fibrils. BC from the optimal medium was found to be of cellulose type I, the same as typical native cellulose.

**Key words** : *Acetobacter*, Bacterial cellulose, Static culture

#### 1. 서론

셀룰로오스는 지구상에서 가장 풍부하게 존재하는

천연 폴리머로서, D-글루코오스가 β-1,4 결합에 의하여 중합된 사슬 상의 다당류이다. 또한 고등식물의 세포벽 골격을 형성하는 주요 성분이자 식물체의 절반

Received 20 February, 2014; Revised 27 March, 2014;

Accepted 10 April, 2014

\*Corresponding author: Hong-Joo Son, College of Natural Resources and Life Science, Life and Industry Convergence Institute, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

Phone: +82-55-350-5544

E-mail: shjoo@pusan.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

을 차지하는 재생 가능한 물질이다(Delmer와 Amor, 1987). 셀룰로오스는 제지, 펄프, 방직 등 다양한 분야에서 실질적으로 이용되고 있는데, 주로 식물유래 셀룰로오스가 원료로 사용되고 있다(Delmer, 1987). 현재 증가하고 있는 셀룰로오스 수요를 충족시키기 위해 과도한 벌목이 이루어지고 있으며, 그에 따른 환경 문제와 원료공급 문제가 주목받으면서 대체자원에 대한 연구가 서서히 이루어지고 있다(Sutherland, 1998).

셀룰로오스는 식물뿐만 아니라 일부 조류, 균류 및 *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Rhizobium* 등의 세균도 합성할 수 있는 것으로 보고되었다(Jonas와 Karah, 1998). 식물 셀룰로오스는 펄프화 과정 중에서 리그닌 등의 불순물을 제거하기 위하여 많은 에너지와 유독 약품을 사용하는데, 이러한 화학적 방법은 비경제적이고, 환경부적합한 과정이다. 반면에 세균 셀룰로오스는 불순물이 존재하지 않는 순수한 셀룰로오스 상태로 합성되므로 환경친화적인 방법으로 고순도로 생산할 수 있다는 장점을 가지고 있다(Ross 등, 1991). 세균 셀룰로오스는 식물 셀룰로오스의 1/100~1/500 정도의 크기를 가지는 나노 구조체로 구성되어 있어 높은 결정화도와 흡습성을 가지며, 고강도 및 고탄력 등의 성질을 가지고 있다(Jonas와 Karah, 1998; Sutherland, 1998). 이러한 독특한 성질은 세균 셀룰로오스를 고부가가치 신소재로서 매우 중요한 위치에 있도록 하며, 현재 고효율 스피커 진동판, 방탄조끼, 페이퍼 디스플레이 등 다양한 용도로 이용되고 있다(Cannon과 Anderson, 1991). 또한 마스크팩, 인공혈관, 지혈대 및 창상이나 화상 피복재 등 고부가가치 의료용 소재로서의 응용가능성도 활발하게 연구되고 있다(Czaja 등, 2007; Fu 등, 2013).

*Acetobacter* 속 균주를 정치배양할 경우, 셀룰로오스는 기-액 계면에 막(membrane)의 형태로 생성된다. 따라서 셀룰로오스의 생물학적 기능은 세포를 호기적 환경으로 이동시켜 생육을 원활하게 하고, 자외선을 차단함으로써 세포를 보호하는 것으로 보고되어 있다(Williams와 Cannon, 1989).

현재까지 진행되어 온 연구들에 따르면 정치배양에 의한 세균 셀룰로오스 생산수율은 낮은 단계에 머물러 있다(Chawlat 등, 2009). 또한 정치배양은 큰 면적의 공간과 많은 노동력을 필요로 하므로 경제적 관

점에서 봤을 때 대단히 비효율적이다. 따라서 세균 셀룰로오스의 생산성을 높이기 위하여 통기배양에 의한 연구가 매우 활발하게 진행되고 있다. 그러나 통기배양에 의하여 생성된 세균 셀룰로오스는 막의 형태가 아니라 펠릿(pellet) 또는 매스(mass) 형태이므로 화상이나 창상 피복재 등 부가가치가 높은 의료용 소재로 사용하기에는 적합하지 않다(Son 등, 2000; Valla와 Kjosbakken, 1982).

세균 셀룰로오스를 지혈대, 창상피복재 또는 마스크팩으로 사용하기 위해서는 생성된 셀룰로오스를 박막의 형태로 평면 절단하는 과정이 필요하므로 두꺼운 형태의 셀룰로오스를 생성하는 것이 유리하다. 그러나 현재 세균 셀룰로오스의 건조중량 증가요인에 대한 연구는 많이 이루어져 있으나 두께 증가에 영향을 미치는 요인에 대한 연구는 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 세균 셀룰로오스 생산성이 높은 균주를 선정한 후, 정치배양에서 셀룰로오스 두께를 증가시킬 수 있는 배양변수들을 one variable at a time (OVT) 방법에 의하여 최적화함으로써 고부가가치 세균 셀룰로오스 소재 개발을 위한 기초자료를 획득하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 사용균주 및 배양조건

본 실험실에서 분리 및 동정되어 보존 중인 *Acetobacter* 속 균주(K2, K6, F5, F12, F15, V2, V7)들을 대상으로 셀룰로오스 생산성을 비교한 후, 생산성이 가장 높은 균주를 실험균주로 선정하였다. K2, K6 균주는 러시아 발효차인 콤푸차(kombucha)에서, F5, F12, F15 균주는 썩은 과일에서, V2, V7 균주는 전통식초에서 분리한 균주들이다.

균주선정과 셀룰로오스 생산성을 조사하기 위한 기본배지는 HS 배지(glucose 2%, yeast extract 0.5%, bactopectone 0.5%,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  0.675% 및 citric acid 0.115%, pH 6)이었다(Hestrin과 Schramm, 1954). 전배양은 50 ml의 기본배지가 함유된 250-ml 용량의 삼각 플라스크에 보존중인 균주를 한 백금이 싹 접종하여 30°C에서 72시간 동안 정치배양하였다. 생성된 셀룰로오스 막 속에 존재하는 세포를 유리시

키기 위하여 강하게 진탕한 후, 멸균된 거즈로 여과하였다. 유리된 세포가 함유된 여액 5%를 배지 50 ml가 함유된 100-ml 용량의 원통형 유리용기(표면적 = 10.75 cm<sup>2</sup>)에 접종하여 30℃에서 정치배양하였다. 균주선정 실험의 경우, 육안 관찰시 세균 셀룰로오스의 두께가 더 이상 증가하지 않는다고 판단된 시점인 11일까지 배양하였으며, 세균 셀룰로오스 생산성을 조사하기 위한 실험에서는 긴 배양시간을 고려하여 7일 동안 배양하였다.

## 2.2. 셀룰로오스 생산을 위한 최적조건 검토

셀룰로오스 생산을 위한 최적조건을 알아보기 위하여 각종 탄소원, 질소원, 무기염, 보조탄소원, 온도 및 pH에 따른 셀룰로오스 생산량을 조사하였다. 또한 확립된 최적조건에서 실험균주를 배양하면서 24시간 간격으로 셀룰로오스의 생산량을 측정하였다.

## 2.3. 셀룰로오스 정제 및 생산량 측정

배양액 내에 생성된 셀룰로오스 막을 회수한 후, 수도물로 세척하여 배양액 성분을 제거하였다. 세척한 막을 100 ml의 0.5 N NaOH 용액에 넣어 상온에서 12 시간 동안 처리하여 세포를 용해시킨 후, 증류수에 넣어 중성이 될 때까지 세척하였다(Embucado 등, 1996). 셀룰로오스의 생성량은 세척한 막의 두께로서 나타내었다. 이때 막의 두께는 Thickness gage (Mitutoyo Co., Japan)를 이용하여 측정하였다.

## 2.4. 셀룰로오스의 형태 관찰 및 XRD 분석

실험균주에 의하여 생성된 셀룰로오스의 미세구조와 결정구조는 Son 등(2000)의 방법에 의하여 조사하였다. 즉, 셀룰로오스의 미세구조와 결정구조는 각각 주사전자현미경(JEOL JSM-6390, JEOL TECHNIC LTD., Japan)과 X-ray Diffractometer (Rigaku III, Rigaku Corp., Japan)를 이용하여 분석하였다.

# 3. 결과 및 고찰

## 3.1. 셀룰로오스 생산균주 선정

실험균주를 선정하기 위하여 기본배지에서 11일 동안 배양한 후, 각 균주들의 셀룰로오스 생산량을 비교한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 썩은 과일에

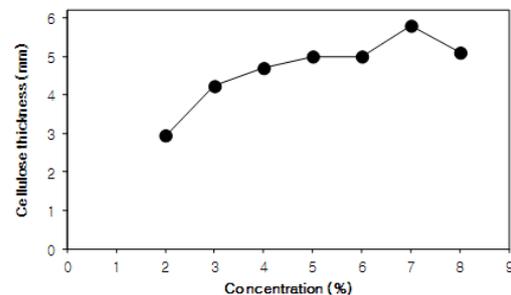
서 분리된 F15번 균주가 생성한 셀룰로오스의 두께가 5.44 mm로 가장 우수하였다. 따라서 F15 균주를 실험 균주로 선정하였다.

**Table 1.** Thickness of cellulose produced by each strain after cultivation of 11 days

Strain	Cellulose thickness (mm)
F5	3.09
F12	4.53
F15	5.44
K2	4.36
K6	2.28
V2	4.83
V7	2.35

## 3.2. 셀룰로오스 생성을 위한 최적 배지조성

탄소원의 종류가 셀룰로오스 생성능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 기본배지에 포함되어 있던 glucose를 포함한 11종의 탄소원을 각각 2%씩 첨가하여 배양한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. Glucose, sorbitol 및 fructose의 순서로 두꺼운 셀룰로오스를 생성하였으며, lactose를 첨가했을 경우에는 셀룰로오스가 전혀 생성되지 않았다. 또한 셀룰로오스 생성에는 탄소원이 필수적임을 알 수 있었다. 최적 탄소원인 glucose의 농도에 따른 셀룰로오스 생성능을 조사한 결과, 7%에서 가장 두꺼운 셀룰로오스를 생성하였으며, 그 이상의 농도에서는 셀룰로오스 두께가 감소하였다(Fig. 1). Cellulose 생성에 최적인 탄소원은 균주마다 다른 것으로 알려져 있다. 즉 *A. xylinum* IFO15606은 xylose를(Ishihara 등 2002), *A. xylinum* NCIM2526은 sucrose를(Ramana



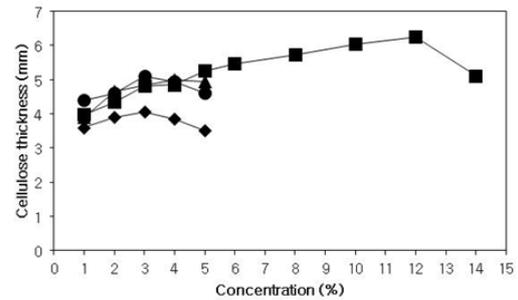
**Fig. 1.** Effect of glucose concentration on cellulose production by *Acetobacter* sp. F15.

**Table 2.** Effect of carbon and nitrogen sources on cellulose production by *Acetobacter* sp. F15

Carbon source (2%)	Cellulose thickness (mm)	Nitrogen source (1%)	Cellulose thickness (mm)
Fructose	2.33	Beef extract	4.43
Galactose	0.46	Casamino acid	0.00
Glucose	2.82	Casein enzymatic hydrolysate	3.25
Glycerol	1.53	Corn steep liquor	1.41
Lactose	0.00	Malt extract	1.24
Maltose	0.87	Bacto-peptone	0.00
Mannitol	2.35	Proteose peptone No.3	2.84
Sorbitol	2.78	Soytone	4.09
Starch	1.54	Tryptone	3.85
Sucrose	1.71	Yeast extract	3.69
Xylitol	0.98	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.00
None (control)	0.00	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.00
		None (control)	0.00

등, 2000), *A. xylinum* KU-1은 mannitol(Oikawa 등, 1995)을 이용하여 효율적으로 셀룰로오스를 생성한다고 하였다. 그러나 많은 셀룰로오스 생성균주들은 glucose를 가장 선호하는 것으로 보고(Sutherland, 1998)되어 있어 본 연구결과와 일치하였다. 한편, glucose는 셀룰로오스 생성에 필요한 에너지 공급원의 역할과 셀룰로오스 중합에 필요한 단량체로서의 역할을 한다고 알려져 있으므로 다른 탄소원보다 세균 셀룰로오스 생성에 더 효율적인 것으로 추정되었다(Toda 등 1997).

질소원의 종류가 셀룰로오스 생성능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 기본배지에 포함되어 있던 yeast extract와 bacto-peptone을 포함한 12종의 질소원을 각각 1%씩 첨가하여 배양한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. Beef extract, soytone, tryptone 및 yeast extract를 질소원으로 사용하였을 때 대체로 두꺼운 셀룰로오스를 생성하였으며, 무기질소원을 첨가했을 경우에는 셀룰로오스가 생성되지 않았다. 또한 기본배지에 함유되어 있던 bacto-peptone 역시 셀룰로오스 생성에는 전혀 영향을 미치지 못했으므로 기본배지에서 배제시켜야 함을 알 수 있었다. 질소원의 농도는 셀룰로오스 생성에 큰 영향을 미치므로(Chawla 등, 2009) 상기 각 질소원의 농도에 따른 셀룰로오스 생성량을 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같다. Beef extract와 yeast extract는 3%에서 각각 5.09 mm, 4.05 mm의 셀룰로오스를 생성하였으며, 그 이상의 농도에서는 두께가 완만하게 감소하였다. Tryptone의

**Fig. 2.** Effect of nitrogen source concentration on cellulose production by *Acetobacter* sp. F15. ● beef extract, ■ soytone, ▲ tryptone, ◆ yeast extract.

경우, 농도에 비례하여 셀룰로오스의 두께가 증가하여 4%에서 4.99 mm의 셀룰로오스가 생성되었으나 그 이상의 농도에서는 두께의 변화가 없었다. 이와 달리 soytone은 농도 증가에 비례하여 셀룰로오스 두께가 계속적으로 증가하여 12%에서 6.18 mm의 셀룰로오스를 생성하였다. 정치배양에서 셀룰로오스를 생성할 경우, yeast extract가 가장 우수한 질소원이라고 보고(Son 등, 2000; Matsuoka 등, 1996)된 바 있어 본 실험 결과와 상이하였으나 *Acetobacter* sp. V6는 soytone에서 셀룰로오스 생성능이 가장 높아 본 결과와 일치하였다(Kim 등, 2009). 한편, soytone 역시 yeast extract처럼 단순 질소성분 뿐만 아니라 다양한 아미노산, 비타민 등 미량성분이 존재하므로 셀룰로오스 생성에 효과적인 것으로 추정된 바 있다(Kim 등, 2009).

인산염의 종류와 농도가 셀룰로오스 생성능에 미

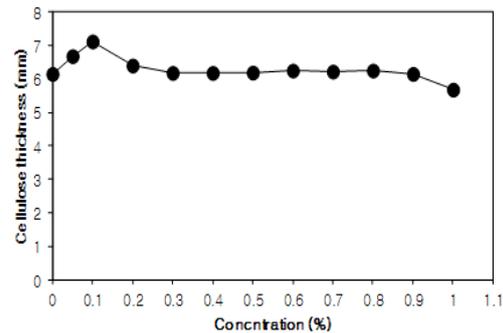
치는 영향을 알아보기 위하여 기본배지에 포함되어 있던  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 를 포함한 4종의 인산염을 각각 1%씩 첨가하여 배양한 결과,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.2%,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.2%에서 가장 두꺼운 셀룰로오스를 생성하였다(미제시).

**Table 3.** Effect of co-carbon source on cellulose production by *Acetobacter* sp. F15

Co-carbon source (0.1%)	Cellulose thickness (mm)
Acetic acid	6.85
Citric acid	6.15
Formic acid	5.10
Fumaric acid	6.20
Gluconic acid	6.30
2-Ketoglutaric acid	6.05
Lactic acid	7.26
Maleic acid	6.80
Malic acid	5.95
Oxalic acid	5.55
Pyruvic acid	6.25
Succinic acid	6.70
Tartaric acid	6.00
n-Butanol	6.80
Methanol	6.65
Ethanol	6.95
n-Propanol	6.70
None (control)	6.35

보조탄소원이 셀룰로오스 생성능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 기본배지에 포함되어 있던 citric acid를 포함한 28종의 보조탄소원을 각각 0.1%씩 첨가하여 배양한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 조사한 보조탄소원 중 acetic acid, lactic acid, maleic acid, succinic acid 및 n-butanol, methanol, ethanol을 첨가했을 경우, 보조탄소원을 첨가하지 않은 대조군(6.35 mm)보다 두꺼운 셀룰로오스가 생성되었으며, 그 중 lactic acid와 ethanol이 효율적인 보조탄소원이었다. 그러나 citric acid, formic acid, fumaric acid, gluconic acid, 2-ketoglutaric acid 등의 보조탄소원은 대조군과 비교시 오히려 셀룰로오스 두께가 감소되었다. 최적 보조탄소원인 lactic acid를 0.1% 첨가했을 경우, 가장 두꺼운 셀룰로오스가 생성되었다(Fig. 3). 한편, lactic acid와 두 번째로 셀룰로오스 생성능이 우수하였던 ethanol의 조합실험을 진행한 결과, lactic acid 0.05%, ethanol 0.3%에서 lactic acid 0.1%보다 두꺼운 셀룰

로오스가 생성되었다(미제시). 본 연구결과는 acetic acid, lactic acid, succinic acid의 첨가는 셀룰로오스 생성량을 증가시키지만 그 외 다른 유기산들은 셀룰로오스 생성량을 증가시키지 않는다는 Chawla 등 (2009)의 보고와 비슷하였다. 그러나 gluconic acid 첨가는 셀룰로오스 생성을 증가시킨다는 Park 등(1999) 보고와는 일치하지 않았다. 한편, ethanol은 세포 생육을 위한 ATP 농도를 증가시키고, pentose phosphate 경로에 관여하는 glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성을 저해함으로써 셀룰로오스의 생성량을 높일 수 있다고 보고(Naritomi 등, 1998)되었으며, lactic acid는 glucose의 대사흐름을 셀룰로오스 합성에서 tricarboxylic acid 경로로 전환시킴으로써 세포 생육을 자극하고, 결과적으로 셀룰로오스 생성량을 증가시키는 것으로 보고(Dudman, 1959)되어 있다.



**Fig. 3.** Effect of lactic acid concentration on cellulose production by *Acetobacter* sp. F15.

### 3.3. 셀룰로오스 생성을 위한 최적 배양조건

배양온도 및 초기 pH가 셀룰로오스에 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 20°C-36°C 및 pH 4-8으로 조절된 조건에서 각각 배양하였으며, 그 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 32°C 및 pH 6.5에서 가장 두꺼운 셀룰로오스를 생성하였다. 대부분의 셀룰로오스 생성균주들은 28-30°C, pH 4-7에서 셀룰로오스 생성능이 우수한 것으로 보고(Chawla 등, 2009)되어 있다. 본 실험균주는 pH 4에서 셀룰로오스를 생성하지 않았으며, pH 7.5-8 범위에서도 높은 셀룰로오스 생성능을 나타내어 이들 보고와 다소 상이하였다.

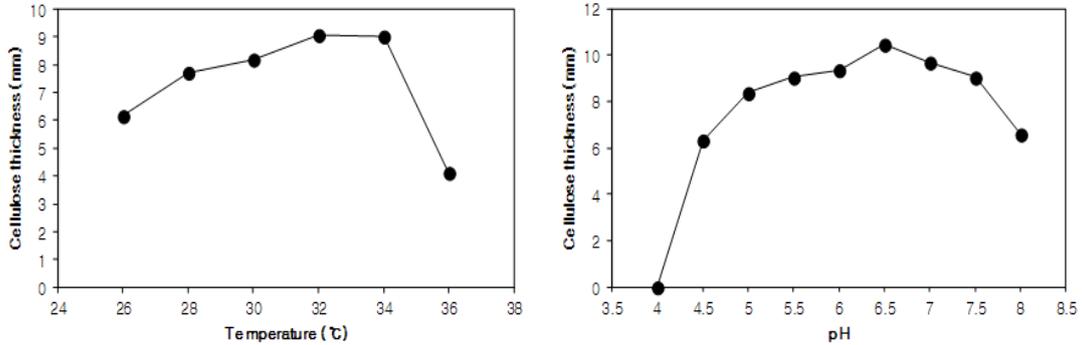


Fig. 4. Effect of temperature and initial pH on cellulose production by *Acetobacter* sp. F15.

3.4. 최적조건에서 셀룰로오스 생성

상기의 결과에 의거하여 확립된 셀룰로오스 두께를 증가시킬 수 있는 조건은 glucose 7%, soytone 12%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2%, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.2%, lactic acid 0.05%, ethanol 0.3% (32°C, pH 6.5)이었으며, 이 조건에서 희분배양을 실시한 결과는 Fig. 5에서 보는 바

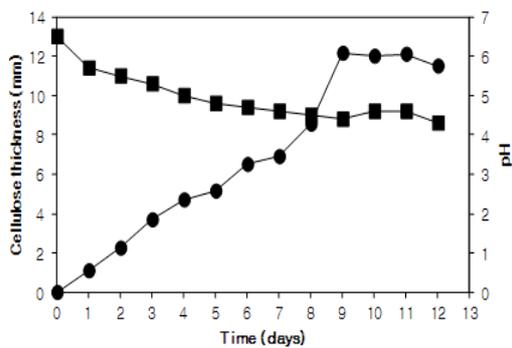


Fig. 5. Time curves of cellulose production and pH by *Acetobacter* sp. F15. ● cellulose, ■ pH.

와 같다. 셀룰로오스는 배양 1일부터 생성되기 시작하였으며, 배양시간 경과에 비례하여 두께가 증가하다가 9일 경, 최대 두께 12.15 mm를 나타내었다. 이 값은 기본배지인 HS 배지에서 생성된 셀룰로오스 두께 (5.44 mm)보다 약 2.3배 증가한 것이다.

3.5. 셀룰로오스의 형태, 미세구조 및 결정구조

셀룰로오스 막을 평면으로 얇게 절단한 시트 형태의 박막이 창상 피복재나 마스크팩 등으로 응용 가능하므로 두꺼운 셀룰로오스 막을 생성하는 것은 중요한 과제이다. Fig. 6A 및 B는 트레이(19 cm × 26 cm)를 이용하여 배양 및 생성된 셀룰로오스를 나타낸 것으로서, 흰 색의 두꺼운 막 형태임을 알 수 있다. 주사전자현미경을 이용하여 생성된 셀룰로오스 막의 미세구조를 관찰한 결과, 셀룰로오스 섬유가 거미줄 형태로 서로 얽혀 있는 3차원 망상구조이며, 그 내부에 세포가 포획되어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 6C). 이러한 망상구조로 인하여 세균 셀룰로오스는 식물 셀룰로오스보다 높은 신장강도와 영율(Young's modulus)

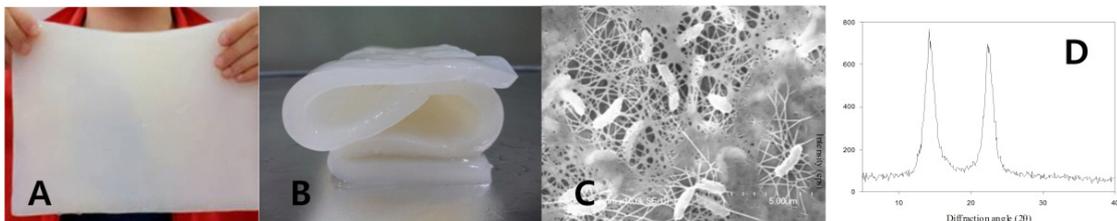


Fig. 6. Visual observation (A, B), scanning electron micrograph (C) and X-ray diffraction pattern (D) of cellulose produced by *Acetobacter* sp. F15.

을 가지는 것으로 보고되어 있다(Chawla 등, 2009). 한편, 생성된 셀룰로오스를 XRD로 분석한 결과,  $2\theta = 14.6^\circ$  와  $16.4^\circ$  에서 각각 (101)면과 ( $10\bar{1}$ )면의 회절 피크가 중첩되어 나타났으며,  $2\theta = 22.6^\circ$  에서 (002)면의 회절 피크가 나타났다(Fig. 6D). 따라서 *Acetobacter* sp. F15에 의하여 생성된 셀룰로오스는 cellulose type I의 결정구조를 가짐을 알 수 있었다.

#### 4. 결론

세균 셀룰로오스는 독특한 물성으로 인해 식품을 포함한 다양한 산업에 이용되고 있는 고분자이다. 최근 정치배양을 통하여 생성된 세균 셀룰로오스 막을 의료 및 화장품산업에 응용하기 위한 연구가 활발해지고 있다. 따라서 본 연구에서는 썩은 과일로부터 분리된 *Acetobacter* sp. F15를 실험균주로 선정하여 셀룰로오스 두께를 증가시킬 수 있는 정치배양조건을 조사하였다. 세균 셀룰로오스 두께 증가를 위한 최적 배지조성은 glucose 7%, soytone 12%,  $K_2HPO_4$  0.2%,  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  0.2%, lactic acid 0.05% 및 ethanol 0.3%이었다. 또한 초기 pH 6.5 및  $32^\circ C$ 에서 셀룰로오스 두께가 최대였다. 확립된 최적조건하에서 배양 9일 경, 최대 12.15 mm의 셀룰로오스가 생성되었으며, 이 값은 기본배지보다 2.3배 높은 것이었다. 주사전자현미경 관찰 결과, 생성된 셀룰로오스는 식물 셀룰로오스보다 더 조밀하며, 미세섬유로 구성된 망상구조임을 알 수 있었다.

#### 감사의 글

이 논문은 농림수산식품부 수산실용화학기술개발사업의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

#### 참고 문헌

Cannon, R. E., Anderson, S. M., 1991, Biogenesis of bacterial cellulose, *Crit. Rev. Microbiol.*, 17, 435-447.  
Chawla, P. R., Bajaj, I. B., Survase, S. A., Singhal, R. S., 2009, Microbial cellulose: fermentative production and applications, *Food Technol. Biotechnol.*, 47, 107-124.

Czaja, W. K., Young, D. J., Kawecki, M., Brown, Jr. R. M., 2007, The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications, *Biomacromol.*, 8, 1-12.  
Delmer, D. P., 1987, Cellulose biosynthesis, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 38, 259-290.  
Delmer, D. P., Amor, Y., 1987, Cellulose biosynthesis, *Plant Cell*, 7, 987-1000.  
Dudman, W. F., 1959, Cellulose production by *Acetobacter acetigenum* in defined medium, *J. Gen. Microbiol.*, 21, 327-337.  
Embuscado, M. E., BeMiller, N., Marks, J. S., 1996, Isolation and partial characterization of cellulose produced by *Acetobacter xylinum*, *Food Hydrocoll.*, 10, 75-82.  
Fu, L., Zhang, J., Yang, G., 2013, Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair, *Carbohydrate Polym.*, 92, 1432-1442.  
Hestrin, S., Schramm, M., 1954, Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*, *Biochem. J.*, 58, 345-352.  
Ishihara, M., Matsunaga, M., Hayashi, N., Tiller, V., 2002, Utilization of D-xylose as carbon source for production of bacterial cellulose, *Enzyme Microb. Technol.*, 31, 986 - 991.  
Jornas, R., Farah, L. F., 1998, Production and application of microbial cellulose, *Polym. Degrad. Stab.*, 59, 101-106.  
Kim, J. D., Jung, H. I., Jeong, J. H., Park, K. H., Jeon, Y. D., Hwang, D. Y., Lee, C. Y., Son, H. J., 2009, Production and structural analysis of cellulose by *Acetobacter* sp. V6 using static culture, *Kor. J. Microbiol.*, 45, 275-280.  
Matsuoka, M., Tsuchida, T., Matsushita, K., Adachi, O., Yoshinaga, F., 1996, A synthetic medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* subsp. *sacrofermentans*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 575-579.  
Naritomi, T., Kouda, T., Yano, H., Yoshinaga, F., 1998, Effect of ethanol on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture, *J. Ferment. Bioeng.*, 85, 598-603.  
Oikawa T., Ohtoti, T., Ameyama, M., 1995, Production of cellulose from D-mannitol by *Acetobacter xylinum* KU-1, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59, 331-332.

- Park, S. T., Song, T. S., Kim, Y. M., 1999, Effect of gluconic acid on the production of cellulose in *Acetobacter xylinum* BRC5. J. Microbiol. Biotechnol., 9, 683-686.
- Ramana, K. V., Tomar, A., Singh, L., 2000, Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter xylinum*, World J. Microbiol. Biotechnol., 16, 245-248.
- Ross, P., Mayer, R., Benziman, M., 1991, Cellulose biosynthesis and function in bacteria, Microbiol. Rev., 55, 35-58.
- Son, H. J., Lee, O. M., Kim, Y. G., Park, Y. K., Lee, S. J., 2000, Characteristics of cellulose production by *Acetobacter* sp. A9 in static culture, Kor. J. Biotechnol. Bioeng., 15, 573-577.
- Sutherland, I.W., 1998, Novel and established applications of microbial polysaccharides, Tibtech., 16, 41-46.
- Toda, K., Asakura, T., Fukaya, M., Entani, E., Kawamura, Y., 1997, Cellulose production by acetic acid-resistant *Acetobacter xylinum*, J. Ferment. Bioeng., 84, 228-231.
- Valla, S., Kjosbakken, J., 1982, Cellulose negative mutants of *Acetobacter xylinum*, J. Gen. Microbiol., 128, 1401-1408.
- Williams, W.S., Cannon, R. E., 1989, Alternative environmental roles for cellulose produced by *Acetobacter xylinum*, Appl. Environ. Microbiol., 55, 2448-2452.