

## *B. amyloliquefaciens* 세포 성장에 미치는 포도당 및 부산물 농도의 영향에 관한 연구

차 월 석 · 김 중 균\* · 김 중 수\*\*

조선대학교 공과대학 화학공학과

\*이리농공전문대학 식품공업과

\*\*이리농공전문대학 화학공업과

## Effects of Concentration of Glucose and By-product on the Growth of *Bacillus amyloliquefaciens* 23350

Wol Suk Cha, Chong Kyun Kim\* and Jong Soo Kim\*\*

Dept. of Chemical Engineering, Chosun Univesity

\*Dept. of Food Engineering, Iri National College of Agriculture & Technology

\*\*Dept. of Chemical Engineering, Iri National College of Agriculture & Technology

### ABSTRACT

In this study, an attempt was made to investigate optimum cell growth and products by *Bacillus amyloliquefaciens* 23350 in batch culture by varing carbon soures. Maximum dry cell density increased with the increase of initial glucose concentration. maximum dry cell density was obtained with the highest value of 5.2g/ℓ at 30g/ℓ of initial glucose concentration. By adding acetic acid at 20g/ℓ of initial glucose concentration, the cell growth rate decreased with the increase of initial acetic acid concentration. Among the various carbon sources, maximum  $\alpha$ -amylase production was obtained with 225unit/ml at 10g/ℓ of initial glucose concentration. Optimum production of  $\alpha$ -amylase was obtained with 376unit/ml at 2g/ℓ of initial acetic acid concentration and 20g/ℓ of initial glucose concentration. By 10g/ℓ of initial glucose concentration, both good maximum specific cell growth rate and maximum  $\alpha$ -amylase production rate were obtained. In view of the results studied optimum production and specific production rate of  $\alpha$ -amylase, acetic acid was initially added 2~4g/ℓ with 20g/ℓ of initial glucose concentration in batch culture.

### 서 론

생물공학의 발달에 따라 많은 재조합 미생물 및 일반 미생물에 의한 생물공학 제품이 산업화되고 있다. 미생물을 이용하여 경제성이 있는 생물공학 제품을 생산하기 위해서는 미생물을 고농도 배양하는 것과 미생물에 의한 제품의 비생산속도(specific

production rate)를 향상 시키는 것이 필요하다. 미생물을 고농도로 배양시키기 위해서는 많은 연구가 수행되고 있는데 현재까지 Yeast 및 *E. coli*에 대하여서는 많은 연구 결과가 보고되고 있다(1-4).

또한 여러 미생물 중 Yeast 및 *E. coli* 외에 산업적으로 중요한 것의 하나는 *Bacillus*이다. *Bacillus*는 효소를 생산하며 세포 밖으로 분비하는 특성이 있어

최근  $\alpha$ -amylase, Protease,  $\alpha$ -galactosidase 등의 효소 및 치료제 목적의 재조합 단백질의 생산에 많이 이용되고 있다(5).

이러한 효소들 중  $\alpha$ -amylase(E. C. 3211, 1,4- $\alpha$ -D-glucanohydrolase)는 전분의  $\alpha$ -D-1,4-glucosidic linkage을 무작위로 분해할 수 있는 효소로서 전분을 기질로 사용하여 포도당 제조, 양조, 기타 제약 및 섬유공업 등 여러 산업적 공정에 널리 이용되고 있다. 그리고 *Bacillus* 종에 의해서 생산되는  $\alpha$ -amylase는 열에 안정하며 공업적으로 유용하게 응용되고 있다(6).

그리고 *Bacillus* 종들의 특성적 연구들을 보면 *Bacillus licheniformis*(7)와 *B. stearothermophilus*(8)는 maltose와 녹말을 사용하면 높은 효소활성을 얻을 수 있으며 glucose를 이용할 때 낮은 효소활성을 나타낸 것으로 알려졌다. *B. amyloliquefaciens*의 경우에 높은 효소 활성도는 maltose와 glucose 대신에 전분을 사용하는 경우에서 얻어진 것으로 알려졌다(9).

*B. stearothermophilus*(10)에 의한  $\alpha$ -amylase 합성은 성장 중간에 관찰된 반면 *B. subtilis*(11)와 *B. amyloliquefaciens*(12)에 의한  $\alpha$ -amylase 합성은 성장단계와 postlog 성장단계 끝에 생합성된 것으로 알려졌다.

$\alpha$ -amylase 생산 양상에 대해서는 *B. amyloliquefaciens*의 경우 대수 성장기(log-growth phase) 이후에서 크게 증가된 생산 속도를 얻었고 대부분의  $\alpha$ -amylase가 분비되었을 때에는 사용된 탄소원(glucose, maltose, starch)에 무관하였다는 보고가 있다(12). 그러나 Coleman 등(13)은  $\alpha$ -amylase합성이 이러한 억제에 의해서 영향을 받는다기 보다는 핵산 전구체 풀(nucleic acid precursor pool)의 크기에 의해서 조절된다고 주장하였다. 그러나 그의 이론의 약점은 Schaeffe 등(14)에 의해 지적되었듯이 성장 유전자(growth gene)와 외부 효소구조 유전자(exo-enzyme structural gene)의 표현인 비유사성(dissimilarity)에 대해서는 언급을 하지 않았기 때문에 리보솜(ribosome) 합성과 관계없는 많은 유전자들이 성장중에 나타나는 것을 설명하지 못하고 있다.

그리고 *Bacillus* 종의 product 중 가장 중요한  $\alpha$ -amylase 생성은 그 기작에 대해서는 여러 방향으로 연구되고 있다. 즉 효과적인 생산 및 그 수율을 높이기 위한 기본조건, 합성 및 분비를 조절하는 효소의 생합성 기구에 대해 연구가 되어지고 있으며(8, 11,

15-17), 저해제에 관해서는 Yoo 등(18)은 "*Bacillus amyloliquefaciens*로부터  $\alpha$ -amylase의 이동"에 관한 연구에서 acetate, lactate, propionate가 저해성을 갖는다고 제시했고, Norman(19)은 기질로서 glucose 및 maltose를 이용하여 *Bacillus amyloliquefaciens*를 성장시킬 수 있고 이로부터  $\alpha$ -amylase 생합성을 유도할 수 있다고 하였다.

위와 같이 *Bacillus* 종들을 이용하여  $\alpha$ -amylase 생성 가능 및 그 특성들에 대해서는 여러 사람들에 의해 많이 연구가 되고 있으나, 그 세포의 성장조건과  $\alpha$ -amylase의 수율을 증가시키기 위한 방법 등이 미비한 실정이다.

그러므로, 본 연구에서는 포도당의 농도에 따라 *Bacillus amyloliquefaciens*의 성장과 생성물 및 저해제와의 관계를 조사하였다.

## 실험재료 및 방법

### 균 주

본 실험에 사용된 균주는 한국과학기술원 부설 유전공학센터에 있는 균주보관기관으로부터 분양받은 *Bacillus amyloliquefaciens*(ATCC 23350)를 사용하였으며, nutrient agar 배지를 사용한 agar slant 상에서 4°C의 냉장고에 보관하여 사용하였고, 1개월마다 1회씩 계대 배양하였다.

### 배지 및 배양

균체의 배양에 사용된 표준배지의 조성은 Table 1과 같으며 탄소원으로는 glucose를 사용하였고 포자 상태인 균주의 발아를 돕기 위하여 유기질소원으로 yeast extract를 사용하였다.

질소원과 탄소원은 고농도에서 갈색반응을 일으켜

Table 1. Composition of the media used throughout the study.

Agar medium(g/l)	Growth medium(g/l)	Production medium(g/l)
Nutrient agar 23.5	Glucose 10.0	Carbon source 10.0
	Yeast extract 1.0	Yeast extract 1.0
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0.1	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0.1
	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.1	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.1
	sodium citrate 0.5	Sodium citrate 0.5
	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.5	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.5
	CaCl <sub>2</sub> 0.1	CaCl <sub>2</sub> 0.1
	FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.1	FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O 0.1
	MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O 0.1	MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O 0.1

\* pH=7.0

미생물의 성장을 저해하고 또한 고농도의 인산염은 금속염들과 침전을 형성하므로 glucose와 yeast extract,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 를 서로 분리하여 250ml 용량 삼각 플라스크에 200ml을 취한 후 121°C, 15psi, 30min 간 멸균한 뒤 clean bench 내에서 충분히 식힌 후에 nutrient agar slant에서 보관한 *Bacillus amyloliquefaciens* 1 백금이를 접종하여 shaking incubator에서 37°C, 170rpm으로 48시간 배양 후 4°C 냉장으로 옮겨 보관하여 사용하였다.

배지에 사용된 시약은 glucose, yeast extract는 Difco제를  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , sodium citrate,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  등은 Junsel Co.의 것을 사용하였다.

### 회분식 배양

5l Jar Fermentor(한국발효기)에 Table 1의 배지를 3l 사용하였으며, 그 성분 중 탄소원인 glucose 농도를 각각 5g/l, 10g/l, 20g/l, 30g/l로 하고, glucose 농도 20g/l에 저해제로 acetic acid를 1g/l, 2g/l, 3g/l, 4g/l, 5g/l씩 가한 후 균주 배양액 25ml를 각각 접종하여 37°C, 170rpm, pH 7, 통기속도는 1vvm을 유지하면서 발효를 시켰으며, pH 7로 유지하기 위해서 1M-NaOH 용액을 사용하였다.

### 세포농도

세포농도는 분광광도계(Bausch & Lomb, Spectronic 20)를 이용하여 발효액 시료의 흡광도를 650nm에서 측정하여 미리 구한 표준곡선에 의하여 건조세포농도를 환산하였으며, 표준곡선은 시료를 100ml씩 채취하여 원심분리하여 상등액을 제하고 증류수로 침전물을 세 차례 씻은 뒤 건조오븐에서  $107 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 24시간 건조한 뒤 측정하였다.

### $\alpha$ -amylase 활성(activity)

$\alpha$ -amylase 활성은 starch-iodine method(20)에 의하여 측정하였다. 배양액을 10,000rpm으로 10분간 원심분리한 후 상등액 0.5ml를 채취하여 0.04M pH 5.9 potassium phosphate 완충용액과 전분 기질 용액을 1:1로 혼합한 용액 5ml에 첨가하여 25°C에서 25분간 반응시켰다. 0.1M HCl용액 5ml를 가하여 반응을 정지시킨 후 이 혼합물 0.5ml에 5ml의 iodine 용액을 첨가하여 발색시킨 후 660nm에서 흡광도를 측정하여 활성을 구하였다. 여기서  $\alpha$ -amylase의 활성은 다음식에 의하여 구하였다.

$$\text{Activity}(\text{unit/ml}) = D \frac{R_0 - R}{R_0} \times 100$$

여기서  $R_0$ 는 효소에 존재하지 않는 substrate-iodine complex의 흡광도이며, R은 시료 혼합물의 흡광도이고, D는 시료의 희석 비율이다.

### 탄소원 및 생성물 농도측정

Glucose, acetic acid, lactic acid, propionic acid 과 methanol의 농도는 fermentation monitoring column(BIO-RAD)이 부착된 HPLC(Waters 440)를 사용하여 측정하였으며, 용리액은 0.001 M- $\text{H}_2\text{SO}_4$ , column의 온도는 65°C, 유량은 0.8ml/min, 시료는 20 $\mu\text{l}$ 를 주입하여 RI detector를 이용하여 분석하였다.

### 결과 및 고찰

#### 탄소원에 따른 세포의 밀도 및 비성장속도

*Bacillus amyloliquefaciens*의 성장과 탄소원 농도와의 관계를 알아보기 위하여 탄소원인 glucose를 5g/l, 10g/l, 20g/l, 30g/l 농도로 변화시켜 발효조에서 회분식 배양한 결과 세포농도에 미치는 영향은 Fig. 1, 2, 3, 4와 Table 2에서 보는 바와 같이 최대 건조세포농도는 초기 glucose 농도가 증가할수록 증가하는 경향성을 나타냈으며, 초기 glucose 농도가 30g/l 일 때 5.2g/l로 가장 높았다. 같은 조건 하에서 윤(21)에 의한 이당류인 maltose와 비교하였을 때 초기 maltose 농도 10g/l에서 2.15g/l로 단당류인 초기 glucose 농도 5g/l와 20g/l에서 2.2~2.4g/l와 비슷하였다. 최대 균체수율  $Y_{x/s}$ 는 초기 glucose 농도가 30g/l 일 때 0.52g/l로 가장 높았으며, 이당류인 윤(21)의 초기 maltose 농도 10g/l 일 때 0.65g/l로서 단당류인 glucose보다 높았다.

세포의 최대 비성장속도는 초기 glucose 농도가 10g/l 일 때 0.1239( $\text{hr}^{-1}$ )로 가장 높았고, 초기 glucose 농도가 5g/l에서 0.0902( $\text{hr}^{-1}$ ), 20g/l에서 0.0973( $\text{hr}^{-1}$ ), 30g/l에서 0.527( $\text{hr}^{-1}$ )이었으며 이 단당류인 윤(21)의 초기 maltose농도 10g/l에서 0.242( $\text{hr}^{-1}$ )로서 단당류인 glucose보다는 높았다.

또한 초기 glucose 농도 20g/l에 성장 저해제로서 acetic acid 1g/l, 2g/l, 3g/l, 4g/l, 5g/l를 첨가하여 회분배양한 결과 세포밀도에 미치는 영향은 Fig. 5, 6, 7, 8, 9와 Table 3에서 보는 바와 같이 최대 건조세포농도는 초기 acetic acid농도가 증가할

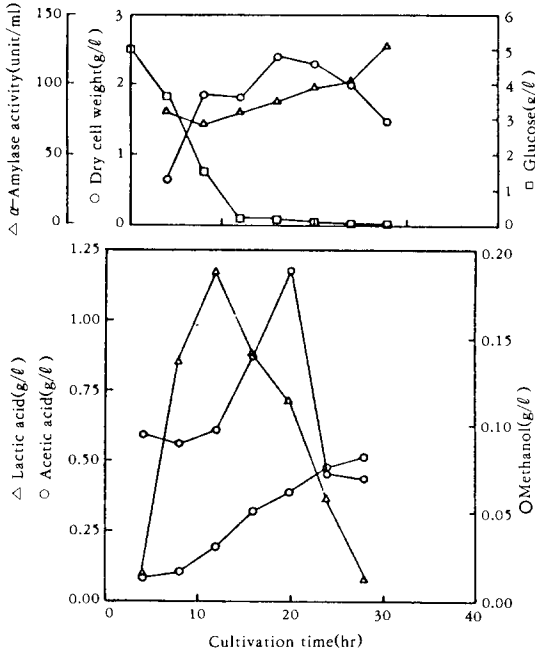


Fig. 1. Cell growth and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture at 5g/l of glucose concentration.

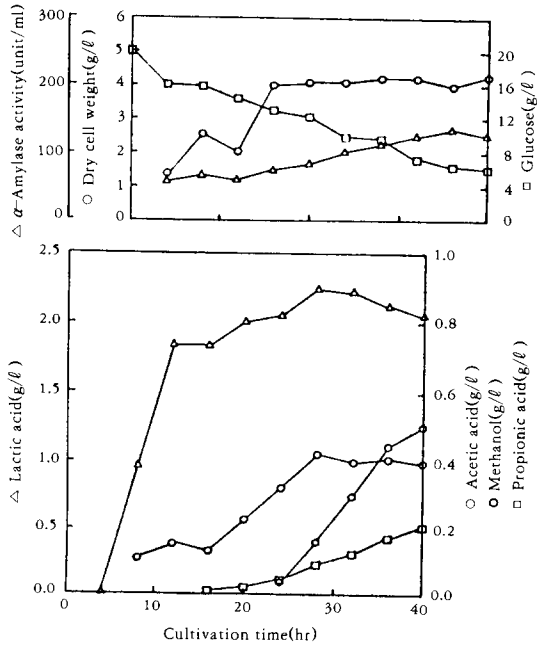


Fig. 3. Cell growth and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture at 20g/l of glucose concentration.

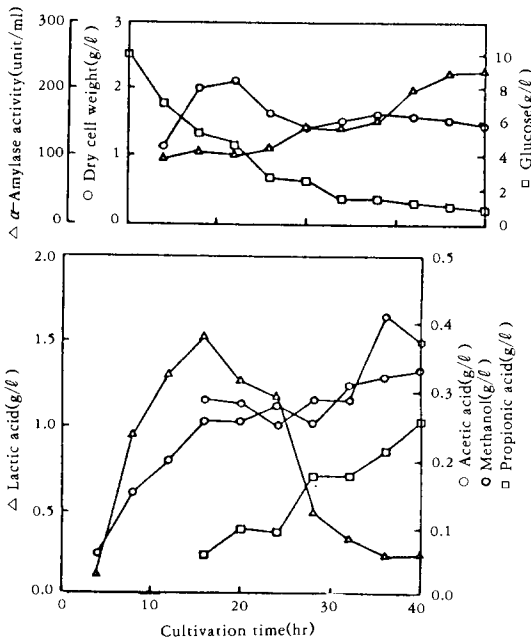


Fig. 2. Cell growth and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture at 10g/l of glucose concentration.

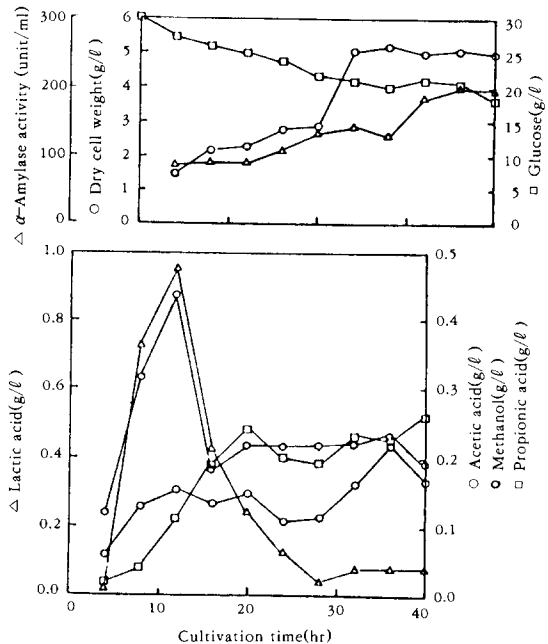


Fig. 4. Cell growth and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture at 30g/l of glucose concentration.

Table 2. Specific growth rate( $\mu$ ) and products of *Bacillus amyloliquefaciens* on various carbon source concentrations in batch culture.

Carbon source (g/l)	X <sub>max.</sub> (g/l)	E <sub>max.</sub> (g/l)	max. lactic acid(g/l)	max. acetic acid(g/l)	max. propionic acid(g/l)	max. methanol (g/l)	$\mu_{max.}$ (hr <sup>-1</sup> )	$\nu_{max.}$ (unit/mg hr)	Y <sub>X/S</sub> (g/g)	Y <sub>E/S</sub> (unit/mg)
Glucose 5	2.4	127	1.18	0.52	—	0.18	0.0902	1.2755	0.50	25.49
Glucose 10	2.2	225	1.55	0.34	0.33	0.41	0.1239	2.3493	0.41	25.63
Glucose 20	4.3	138	2.24	0.42	0.21	0.50	0.0973	0.7761	0.32	10.24
Glucose 30	5.2	202	0.95	0.22	0.26	0.43	0.0527	1.0073	0.52	22.44

수폭 감소하였으며, 저해제를 넣지 않은 초기 glucose 농도 20g/l 일 때 4.3g/l 보다는 0.5g/l 이상 감소하였다. 최대 균체수율 Y<sub>X/S</sub>는 초기 acetic acid 농도가 3g/l 일 때 0.53g/g으로 가장 높았고, 세포의 비성장속도는 초기 acetic acid 농도가 3g/l 일 때 0.0520(hr<sup>-1</sup>)로 가장 높았다. 이와 같이 기본 배지에 저해제로 acetic acid를 첨가하였을 때 회분식 배양의 경우 건조세포밀도가 낮은 것은 Maiorella (22)에 의하면 acetic acid가 세포막을 통한 phosphate 전달을 화학적 간섭에 의해 방해하여 세포성

장을 저해한다고 하였다.

탄소원에 따른  $\alpha$ -amylase의 활성 및 비생성속도  
탄소원 농도에 의한 *Bacillus amyloliquefaciens*의 최대  $\alpha$ -amylase 생산은 Fig. 1, 2, 3, 4와 Table 2에서 보는 바와 같이 초기 glucose 농도 10g/l 일 때 225unit/ml로 가장 높았고, 이당류인 윤(21)의 초기 maltose 농도 10g/l 일 때 215unit/ml가 단당류의 초기 glucose 농도 10g/l 일 때를 제외한 나머

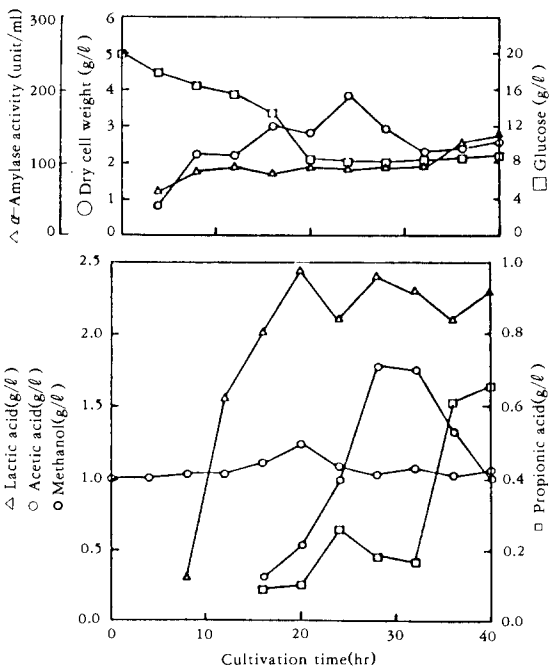


Fig. 5. Cell growth and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture at 20g/l of glucose and 1g/l of initial acetic acid concentration.

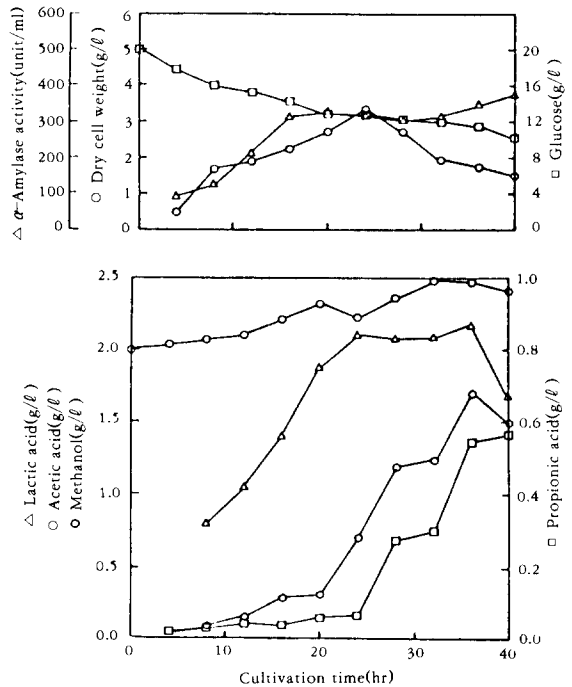


Fig. 6. Cell growth and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture at 20g/l of glucose and 2g/l of initial acetic acid concentration.

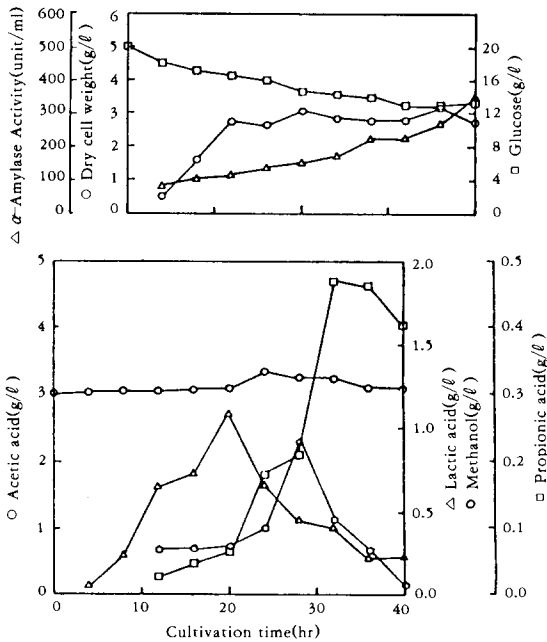


Fig. 7. Cell growth and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture at 20g/l of glucose and 3g/l of initial acetic acid concentration.

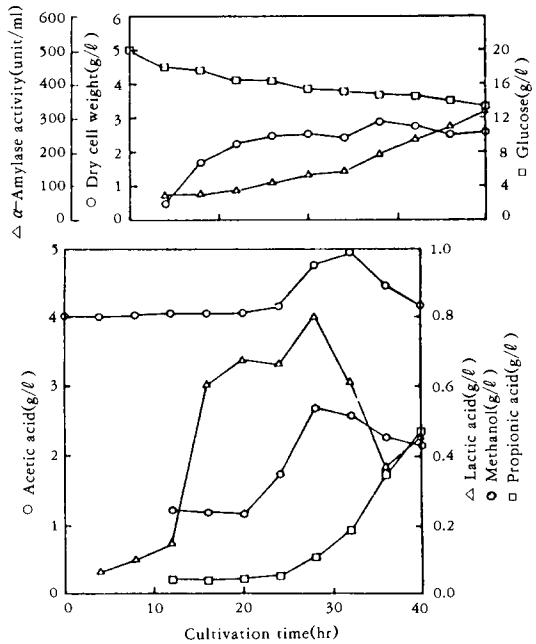


Fig. 8. Cell growth and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture at 20g/l of glucose and 4g/l of initial acetic acid concentration.

지 glucose보다는 높았다. 최대 효소수율  $Y_{E/S}$ 는 초기 glucose 농도가 10g/l 일 때 25.63unit/mg로 가장 높았다.  $\alpha$ -Amylase의 최대 비생성속도는 초기 glucose 농도가 10g/l 일 때 2.35unit/mg-hr으로 가장 높은 것으로 보아 초기 glucose 농도가 10g/l 일 때 최적 비생성속도임을 알 수 있었는데, 최대 효소수율과 최대 비생성속도는 초기 glucose 농도가 낮을 때가 높을 때보다 증가함을 나타냈다.

또한 Fig. 5, 6, 7, 8, 9와 Table 3에서 보는 바와 같이 glucose 농도 20g/l 에 저해제로 acetic acid 를 첨가하여 배양한 경우 최대  $\alpha$ -amylase 생산은 초기 acetic acid 농도가 증가함에 따라 증가하여 초기 acetic acid 농도가 2g/l 일 때 376unit/ml로 가장 높았으며, 저해제로 acetic acid를 첨가하지 않았을 때 보다 2.72배 이상 높았다. 최대 효소수율  $Y_{E/S}$ 도 초기 acetic acid 농도가 증가할수록 증가하여 초기 acetic acid 농도가 3g/l 일 때 55.11unit/mg으로 가장 높았다.  $\alpha$ -Amylase의 최대 비생산속도 또한 초기 acetic acid 농도가 증가할수록 증가하여 초기 acetic acid 농도가 4g/l 일 때 3.1744unit/mg-

hr로 가장 최대가 되는 것으로 보아 최적의  $\alpha$ -amylase 생산, 효소수율 및 비생성속도를 얻기 위해서는 약간의 acetic acid를 첨가하여 회분식 배양을 행해야 할 것으로 생각되어진다.

#### 탄소원 농도에 따른 Acetic acid, Lactic acid, Propionic acid 및 Methanol 생성

Fig. 1, 2, 3, 4와 Table 2에서 보는 바와 같이 회분식 배양 중 탄소원 농도에 따른 *Bacillus amyloliquefaciens*에 의해 생성되는 최대 acetic acid, lactic acid, propionic acid 및 methanol 생성은 초기 glucose 농도가 증가함에 따라 대부분 증가하였으며, 초기 glucose 농도가 20g/l 일 때 각각 0.42g/l, 2.24g/l, 0.21g/l, 0.50g/l 가 생성되었다. 탄소원에 따른 생성물의 최대 생성량은 lactic acid가 가장 많고, methanol, acetic acid, propionic acid 순으로 생성되었으며, 초기 glucose 농도가 30g/l 일 때는 생성량이 급격히 감소되었는데 이것은 배양 중 세포가 자라면서 초기 glucose 농도 20g/l 이하는 시간이 경과함에 따라 탄소원은 거의 다 소모가

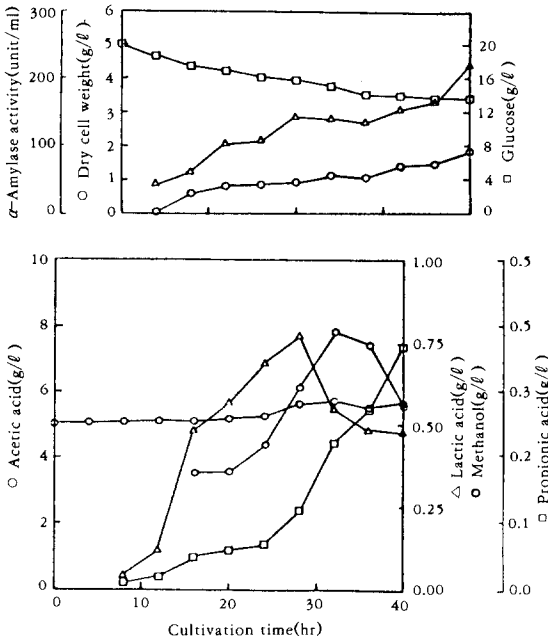


Fig. 9. Cell growth and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture at 20g/l of glucose and 5g/l of initial acetic acid concentration.

Table 3. Specific growth rate( $\mu$ ) and products of *Bacillus amyloliquefaciens* in batch culture on 20g/l of glucose and changes of initial acetic acid concentrations.

Carbon source (g/l)	X <sub>max.</sub> (g/l)	E <sub>max.</sub> (g/l)	max. lactic acid(g/l)	max. acetic acid(g/l)	max. propionic acid(g/l)	max. methanol (g/l)	$\mu_{max.}$ (hr <sup>-1</sup> )	V <sub>max.</sub> (unit/mg-hr)	Y <sub>x/s</sub> (g/g)	Y <sub>e/s</sub> (unit/mg)
Glucose(20)+AcOH(1)	3.8	139	2.45	1.25	0.64	1.78	0.0476	0.7059	0.38	12.08
Glucose(20)+AcOH(2)	3.4	376	2.12	2.49	0.57	1.71	0.0500	2.8991	0.47	41.05
Glucose(20)+AcOH(3)	3.2	345	1.09	3.36	0.47	0.94	0.0520	2.4583	0.53	55.11
Glucose(20)+AcOH(4)	2.9	318	0.81	4.92	0.35	0.53	0.0476	3.1744	0.51	52.09
Glucose(20)+AcOH(5)	1.8	238	0.75	5.70	0.37	0.78	0.0516	2.8205	0.30	37.06

저해제로 acetic acid를 첨가하여 실험을 행하여야 할 것으로 생각한다.

요 약

회분식 배양을 통해 탄소원으로 초기 glucose 농도를 5g/l, 10g/l, 20g/l, 30g/l로 변화시키고, 초기 glucose 농도 20g/l에 저해제의 초기 acetic acid 농도를 1g/l, 2g/l, 3g/l, 4g/l, 5g/l로 변

되었지만, 초기 glucose 농도가 30g/l의 경우 40시간 이후에는 다 소모가 되지 않고 glucose 농도가 18g/l로 계속 유지되는 것으로 보아 세포성장시 탄소원 농도의 소모에 기인되어진다.

또한 Fig. 5, 6, 7, 8, 9와 Table 3에서 보는 바와 같이 glucose 농도 20g/l에 저해제로 acetic acid를 첨가하여 배양한 경우 초기 acetic acid 농도가 증가할수록 최대 lactic acid, propionic acid 및 methanol 생성량이 대부분 감소하였으며, acetic acid를 첨가하지 않은 초기 glucose 농도 20g/l와 비교하였을 때 propionic acid 생성량은 비슷하였지만 lactic acid 및 methanol 생성량은 절반 정도 감소하였다.

전체적으로 보면 *Bacillus amyloliquefaciens* 23350 균주의 최대 건조세포밀도는 초기 glucose 농도가 증가할수록 증가하였고, 저해제로 acetic acid를 첨가하면 세포의 성장이 감소하였다. 최대  $\alpha$ -amylase의 생산을 위한 탄소원 농도는 초기 glucose 농도 10g/l이었으며, 배양 기질 중 초기 acetic acid 농도가 2g/l일 때가 최적인 것으로 생각되어지며 비세포성장속도와  $\alpha$ -amylase의 비생성속도는 초기 glucose 농도가 10g/l일 때 최적이었다. 또한 더 좋은 결과를 얻기 위해서 초기 glucose 농도를 10g/l와 최적의 maltose 농도를 결정한 다음

화시키면서 *Bacillus amyloliquefaciens* 23350 균주를 이용하여 최적의 세포성장과 생물량 생산을 얻기 위한 배양을 시도하였다. 최대 건조세포밀도는 초기 glucose 농도가 증가할수록 증가하였고, 저해제로 acetic acid를 첨가하면 세포의 성장이 감소하였다. 탄소원 중 최대  $\alpha$ -amylase의 생산은 초기 glucose 농도 10g/l일 때 225unit/ml이었으며, 배양 기질 중 초기 acetic acid 농도가 2g/l일 때가 376unit/ml이었고, 최대 비세포성장속도와 최대  $\alpha$ -amylase

의 비생성속도는 초기 glucose 농도가 10g/ℓ 일 때 0.1239(hr<sup>-1</sup>)과 2.34930unit/mg-hr로 최적이었다. 최적의 α-amylase 생산 및 비생성속도를 얻기 위해서는 저해제로서 초기 acetic acid 농도를 2~4g/ℓ 정도 첨가하여 배양을 행하여야 한다.

### 사용기호

$X_{\max}$  : maximum dry cell concentration(g/ℓ)  
 $E_{\max}$  : maximum enzyme activity(unit/ml)  
 $\mu_{\max}$  : maximum specific growth rate(hr<sup>-1</sup>)  
 $\nu_{\max}$  : maximum specific enzyme production rate (unit/mg-hr)  
 $Y_{X/S}$  : Cell growth yield coefficient based on glucose uptake(g/g)  
 $Y_{E/S}$  : Enzyme production yield based on glucose uptake(unit/mg)

### 감 사

본 연구는 조선대학교 학술조성연구비 지원으로 이루어진 것으로 이에 감사를 드립니다.

### 참고문헌

1. S. Aiba, S. Nagai and Y. Nishizawa(1976), *Biotechnol. Bioeng.*, **18**, 1001.
2. G. Williams(1986), *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 631.
3. J. C. Fieschko, et al.(1987), *Biotechnol. Bioeng.*, **29**, 1113.
4. N. Shimizu, et al.(1988), *J. Ferment. Technol.*, **66**, 187.
5. Y. H. Yoo, T. W. Cadman, J. Hong and R. T. Hatch(1988), *Biotechnol. Bioeng.*, **31**, 426.
6. K. L. Kindle(1983), *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **8**, 153.
7. N. Saito and K. Yamamoto(1975), *J. Bacteriol.*, **121**, 848.
8. N. E. Welker and L. L. Campbell(1963), *J. Bacteriol.*, **86**, 1202.
9. J. Fukumoto, T. Yamamoto and D. Tsuru (1957), *Nature*, **180**, 438.
10. N. E. Welker and L. L. Campbell(1963), *J. Bacteriol.*, **86**, 681.
11. G. Coleman(1967), *J. Gen. Microbiol.*, **49**, 421.
12. G. Coleman and M. A. Grant(1966), *Nature*, **211**, 306.
13. G. Coleman and W. H. Elliot (1962), *Biochem. J.*, **83**, 256.
14. P. Schaeffer(1969), *Bacteriol. Rev.*, **33**, 48.
15. J. Fukumoto, T. Yamamoto, D. Tsuru and K. Ichikawa(1957), In: Proc. Intern. Symp. Enz. Chem., Tokyo and Kyoto, **2**, 479.
16. J. Fukumoto, T. Yamamoto and D. Tsuru (1957), In: Proc. Intern. Symp. Enz. Chem., Tokyo and Kyoto, **2**, 366.
17. S. Yuki and Y. Ueda(1968), *Jpn. J. Genet.*, **43**, 21.
18. Y. J. Yoo, T. W. Cadman, J. Hong and R. T. Hatch(1988), *Biotechnol. Bioeng.*, **31**, 357.
19. B. E. Norman(1981), In: Enzyme and Food processing(Ed. Birch, G. G., Brakeborough, N. & Parker, K. J.), Applied science publishers pp. 15.
20. Y. J. Yoo, J. Hong and R. T. Hatch(1986), Comparison of α-amylase activities from different assay methods, *Biotechnol. Bioeng.*, in press.
21. 윤무영(1988), 서울대학교 대학원 화학공학과 석사학위 논문.
22. B. Maiorella, H. W. Blanch and C. R. Wilke (1984), *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 1155.