

해양세균 *Zoogloea* sp.로부터 유용 다당류의 생산에 미치는 발효조건 영향

장재혁·배승권·김봉조·¹하순득·[†]공재열

부경대학교 생물공학과, ¹동경대학교 응용생명공학과

(접수 : 1998. 2. 12., 게재승인 : 1998. 5. 7.)

Effects of Fermentation Conditions on the Production of the Useful Polysaccharides from Marine Bacterium *Zoogloea* sp.

Jae-Hyuk Jang, Seoung-Kwon Bae, Bong-Jo Kim, ¹Soon-Duck Ha, and Jae-Yul Kong[†]

Dept. of Biotechnology & Bioengineering, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

¹Dept. of Applied Biotechnology, The University of Tokyo, Yayoi 1-1-1 Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

(Received : 1998. 2. 12., Accepted : 1998. 5. 7.)

The fermentation conditions for the maximal production of the useful polysaccharides(water soluble polysaccharide and cell bound polysaccharide) from marine bacterium *Zoogloea* sp.(KCCM 10036) were investigated with a 5 L jar fermentor. The maximal production of these polysaccharides was obtained under the conditions of initial pH 7.8, 30°C, 400 rpm of agitation speed, 2 vvm of aeration rate, 10%(w/v) of inoculum size and 2.5%(w/v) of glucose substrate and 10.38 g/L of total polysaccharide was produced. Apparent viscosity of the culture broth was increased with the production of these polysaccharides and the maximum value was reached to 22,500 cp.

Key Words : *Zoogloea* sp., polysaccharide, fermentation, optimal condition

서론

미생물이 생산하는 다당류는 그 다양한 종류 및 기능 특성으로 말미암아 학문적으로나 산업적 응용의 측면에서 대단히 흥미로운 연구대상이 되고 있다. 미생물 유래 다당류의 공업적 생산과 이용에 관한 연구로서는 *Leuconostoc mesenteroides*가 생산하는 dextran이 혈장증량제로 개발된 이래(1), *Xanthomonas campestris*가 생산하는 xanthan gum(2), *Aureobasidium pullulans*가 생산하는 pullulan(3), *Zoogloea ramigera*가 생산하는 zooglan(4, 5)등을 대표적인 예로 들 수 있으며, 그 밖에도 다수의 연구가 보고되어 있다. 이러한 미생물 유래 다당류는 구성당, 분자량, 화학적 구조등과 같은 특성의 차이에 의해 많은 종류가 존재하고 있으며, 다양한 물성 및 기능성을 지니고 있기 때문에 식품, 의약품 및 화학공업 등의 각종 산업분야에서 유화제, 응고제, gel 형성제, 필름 형성제, 흡착제, 안정제, 집착제 등과 같은 용도로 광범위하게 이용되고 있다. 또한 근래에 들어서는 미생물 유래 다당류가 지니는 항암활성이 확인되어 새로운 의약품으로서의 개발 가능성이 기대될 뿐만 아니라(6), 생물학적 오수 처리시에 다당류의 중금속 흡착기능을 이용한 환경문제에

의 응용연구 역시 보고되고 있다(7). 이와 같이 미생물 유래 다당류가 크게 주목되고 있는 주요한 이유로서는 우선 이들이 지니는 독특한 기능성을 들 수 있으나, 그밖에도 기존에 알려져 있는 식물 및 해조류 유래의 다당류와는 달리, 발효조를 이용한 연속배양에 의해 공업적 대량생산이 가능하며, 더욱이 생산된 다당류의 분리 및 회수가 용이하다는 잇점을 지니고 있기 때문이다. 최근에 들어서는 유전공학적 기법을 이용한 고생산성 변이균주 및 새로운 기능을 지닌 다당류의 개발에 관한 연구가 보고되고 있는 등 고부가가치를 지닌 새로운 바이오 소재로서의 기능 및 용도 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(8).

한편, 우리나라의 연안으로부터 고점질성 다당류를 생산하는 새로운 해양세균 *Zoogloea* sp.(KCCM 10036)가 분리되어, 기존에 알려져 있는 육상유래 *Zoogloea* sp.와는 다른 세균학적 특성을 지닌 새로운 균주임이 밝혀졌으며, 특히 서로 다른 두 종류의 다당 즉, water-soluble polysaccharide(WSP)와 cell-bound polysaccharide(CBP)를 생산하는 특성을 지니고 있음이 확인되었다(9,10). 이들 다당류에 관한 지금까지의 연구 결과, Meth A 세포를 이용한 *in vitro* 및 *in vivo* 실험으로부터 WSP와 CBP는 종양세포에 대해 성장저해와 같은 항종양 활성을 나타내었으며(11), 이들 다당류를 회수가 용이한 bead의 형태로 만들어 각종 중금속에 대한 흡착능을 조사한 결과에서는 납, 크롬, 철 등과 같은 중금속에 대하여 뛰어난 흡착능을 보였다(12). 또한, 효소의 고정화 담체로서의 이용 가능성을 기존의 alginate와 비교 검토한 결과, CBP의 효소에 대한 높은 안정성이 확인되어 고정화 담체로서의 이용이 기대되고 있다(12). 이와

[†] Corresponding author : Dept. of Biotechnology & Bioengineering, Pukyong National University, 599-1 Daeyeon-dong, Nam-gu, Pusan 608-737, Korea
Tel : 051-620-6181, Fax : 051-620-6181
e-mail : kongjy@dolphin.pknu.ac.kr

같이 *Zoogloea* sp.(KCCM 10036)가 생산하는 WSP와 CBP는 그 성질이 독특하여 각종 산업분야에서 다양한 용용이 가능한 잠재력이 큰 새로운 바이오 소재로 평가 되고 있다.

따라서 본 연구에서는 이처럼 뛰어난 기능을 지닌 유용 다당류의 대량생산과 산업적 이용을 위한 기초단계로서, 우선 실험실 규모의 발효조를 이용한 균주배양을 시도함과 동시에 유용 다당류의 생산성 향상을 위한 발효 배양조건을 검토하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

본 실험에서는 한국연안의 해수로부터 분리된 해양세균 *Zoogloea* sp.(KCCM 10036)을 사용하였으며, 균주배양을 위한 기본배지로서는 부산 국립수산진흥원으로부터 제공 받은 멸균 자연해수 1 L에 glucose 10 g, peptone 5 g, NH_4NO_3 0.0016 g, Na_2HPO_4 0.008 g을 첨가한 변형 해수배지(pH 7.8)를 사용하였다(10). 균주는 기본배지에 1.5%(w/v)의 agar를 첨가한 고체배지상에 접종시킨 후 30°C의 incubator에서 12시간 배양한 다음 4°C의 냉장고에 보관하였으며, 1주일마다 계대배양을 행하였다.

발효조 배양

발효조 배양을 위한 전배양 단계에서는 보존용 고체배지상의 단일 colony를 60 mL의 기본배지가 담겨 있는 baffle flask(250 mL)에 접종하여, 30°C, 180 rpm에서 12시간동안 진탕배양하였으며, 이를 전배양액으로 사용하였다. 발효조 배양에서는 5 L jar fermentor(한국발효기, KF-500; working volume, 3 L; 온도, 30°C; 초기 pH, 7.8)를 사용하였으며 교반속도, 통기량, 전배양액의 접종농도 및 탄소원으로 사용된 glucose 농도 등을 달리 하여 배양 실험을 행한 후, 생산된 다당류의 양으로부터 최적 배양조건을 구하였다(11,12).

다당류 및 균체의 정량

본 균주가 생산하는 다당의 생산량을 구하기 위해 장 등(10)의 연구에 따라, 발효배양 후 50 mL의 배양액에 동량의 증류수를 첨가하여 희석한 후, 4°C, 9,000 rpm에서 30분간 원심분리한 후 그 상등액으로부터는 WSP, 침전물로부터는 CBP를 분리하여 미리 무게를 달아둔 호일컵에 넣어 110°C dry oven에서 항량이 될 때까지 충분히 건조시킨 후 정량된 WSP와 CBP의 합으로부터 전체 다당 생산량을 구하였다. 또한, 균체량은 CBP 분리후 얻은 pellet을 증류수로 세정한 후 다당과 동일한 방법의 의해 건조중량으로부터 구하였다.

Glucose 소비량의 측정

배양액을 원심분리하여 얻어진 상등액을 취하여 DNS(3,5-dinitrosalicylic acid)법(13)으로 반응시킨 후, spectrophotometer(Ultrospec 3000, Pharmacia Biotech.)로 흡광도($\lambda=500$ nm)를 측정하여 잔존 glucose량을 구하였으며, 이로부터 소비량을 환산하였다.

배양액의 점도 측정

배양과정중의 배양액의 점도 변화를 조사하기 위해 Brookfield viscometer(Model DV-II+)를 사용하여 겔보기 점도 측

정을 하였다. Spindle은 SC4-21을 사용하였으며, 온도는 30°C, 전단속도 0.93 sec^{-1} 에서 배양액의 점도를 측정하였고, 단위는 cp(centipoise)로 표시하였다.

결과 및 고찰

발효조를 이용한 초기 발효배양

WSP와 CBP의 최대 생산 조건을 구하기에 앞서, 온도 30°C, 초기 pH 7.8, 교반속도 300 rpm, 통기량 2 vvm, 점중량 2%(w/v), glucose 농도 1%(w/v)를 초기 조건으로 하여 기초배양실험을 행하였다(Figure 1). 그 결과 균체 성장과 동시에 다당이 생산되기 시작하여, 최종적으로는 총 5.6 g/L의 다당이 생산되었으며, 이 때 배양액의 겔보기 점도는 최대 11,000 cp였다. 또한 배양액의 pH는 초기 배양시 균체의 성장기 동안 약간 저하하다가 정지기 부터는 다시 상승하는 경향을 보였다. 일반적으로 초기 pH는 미생물 유래 다당류의 생산에 관련된 중요한 인자로서 배양 기간중 pH를 조절하지 않는 경우에는 균체 증식과 다당류 생산을 저해하는 것으로 보고되어 있다(14). 그러나 본 균주의 경우에는 배양기간동안 pH를 7.8로 일정하게 조절하였을 때 오히려 균체 성장과 다당생산이 감소하는 경향을 나타내었다(data not shown). 따라서 이후의 배양실험에서는 배양중의 pH는 조절하지 않은 상태에서 초기 pH만을 7.8로 맞추어 실험을 행하였다.

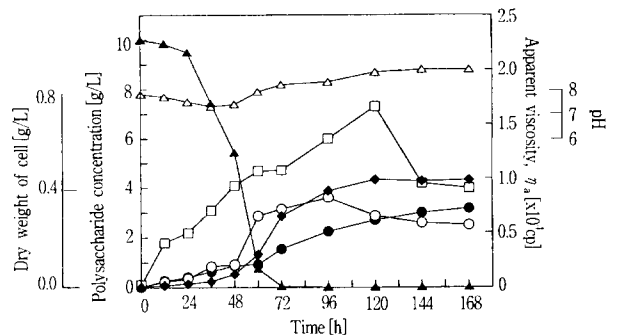


Figure 1. Time course on the polysaccharides production by *Zoogloea* sp. (Agitation speed of 300 rpm).

- △- pH
- WSP
- Cell mass
- ▲- Glucose
- CBP
- ◆- Apparent viscosity of culture broth

교반속도의 영향

교반속도는 발효배양중 산소전달율(oxygen transfer rate)에 영향을 미칠 뿐만 아니라 미생물이 이용할 수 있는 배지내의 각종 영양원 전달에도 크게 영향을 미치게 된다(15). *Azotobacter vinelandii*에 의한 alginate 생산시는 낮은 교반속도에서 다당생산량이 증가하였다는 보고(16)가 있는 반면, pullulan 생산균인 *Auerobasidium pullulans*와 Xanthan gum 생산균인 *Xanthomonas Campestris*의 경우는 교반속도의 증가에 따른 산소전달을 용이하게 함으로써 다당생산을 증가시켰다는 보고도 있다(17,18). 이와 같이, 미생물의 종류에 따라 최적교반속도에는 차이가 있을 뿐만 아니라, 교반속도의 차이는 다당류의 생산량 및 그 특성에까지 영향을 미치게 된다(15, 16). 이에 본 실험에서는 교반속도를 200, 300, 400, 500 rpm으로 조절하여 발효배

양에 의해 생산되는 다당 생산량의 변화를 조사하였다(Figure 2). 그 결과, 교반속도의 증가에 따라 균체량의 증가는 거의 없는 반면(data not shown), 다당류의 생산량은 교반속도에 비례하여 증가하였다. WSP와 CBP의 총 생산량은 교반속도 400 rpm에서 최대의 값(7.36 g/L)을 보였으며, 이때의 WSP와 CBP는 각각 3.73 g/L와 3.63 g/L가 생산되었다. 그러나, 교반속도가 500 rpm 이상의 조건에서는 기포의 과다 발생으로 인해 생산된 다당류가 발효조 내부벽면에 부착되는 등 분리·회수되지 않는 양이 증가하였으며, 기포제거를 위해 소포제를 첨가하였을 경우에는 균체로부터의 다당류 생산량이 오히려 감소하는 경향을 보였다. 한편, 교반속도가 배양중의 용존산소량에 미치는 영향에 대해서도 조사하였다(Figure 3). 통기량 2 vvm의 조건하에서 초기 용존산소량을 10 ppm으로 조절한 후 실험을 행한 결과, 용존산소량은 배양시간의 경과에 따른 균체의 증가와 함께 초기에는 급격히 감소한 후, 배양시간 72시간까지는 낮은 값을 보였으나, 교반속도가 높을수록 용존산소량은 상대적으로 높게 나타났다. 따라서, 본 균주의 경우에는 교반속도의 증가에 따른 용존산소량이 높을수록 다당류의 생산량이 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 초기값보다 감소하였던 용존산소량은 균체의 성장에 정지기에 들어서는 72시간 이후부터는 점차적으로 증가하여,

120시간 이후에는 교반속도에 비례하여 높은 값을 보였던 용존산소량이 오히려 교반속도에 반비례하는 결과를 나타내었다. 이는 배양액중에 생산된 고점질성 다당류가 산소전극 표면에 부착, 막을 형성함으로써 산소량 측정의 방해요인으로 작용한 결과로 사료되며, 그 방해 정도는 다당류의 생산량이 많을수록 크게 나타났다.

통기량의 영향

미생물을 이용한 발효배양시의 통기량은 교반속도와 더불어 생산량 증가를 위한 중요한 인자로 작용한다. 본 연구에서는 서로 다른 특성을 지닌 WSP와 CBP의 생산량 변화를 조사하기 위한 목적으로, 통기량을 충분한 조건(2 vvm)과 제한된 조건(0.2 vvm)으로 나누어 각 조건하에서의 생산량 변화를 비교검토하였다(Figure 4). 일반적으로 세포의 다당류의 생산균주는 충분한 산소공급하에서 다당류의 생산량이 높은 것으로 알려져 있다. 그러나, 본 실험에서 사용한 균주의 경우, 생산되는 WSP와 CBP는 발효조내에 공급하는 통기량의 변화에 따라 각각의 생산량이 상반되는 결과를 나타내었다. 즉, WSP는 통기량이 2 vvm인 경우에 생산량이 증가하는 반면, CBP는 0.2 vvm인 경우에 상대적으로 증가하였다. 이는 본 그림에서는 나타나지 않

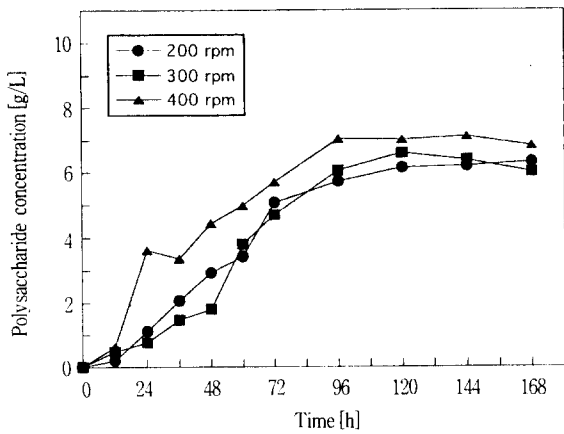


Figure 2. Effect of agitation speed on the production of total polysaccharides (Initial pH 7.8, 30°C, Inoculum size 2%).

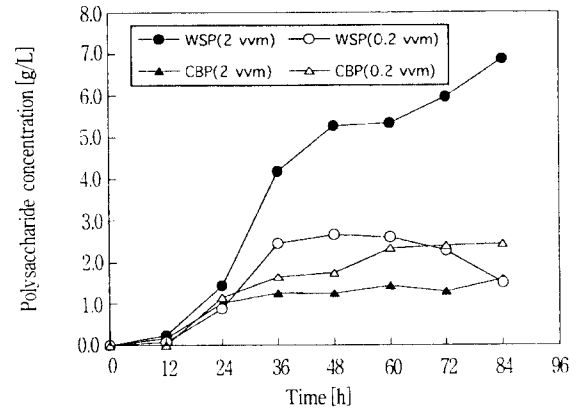


Figure 4. Effect of aeration rate on the production of WSP and CBP (Initial pH 7.8, 400 rpm, 30°C, Inoculum size 2%).

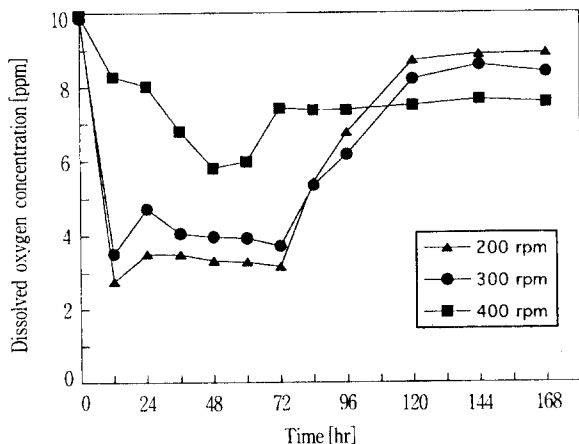


Figure 3. The dissolved oxygen concentration dynamics during batch fermentation at the various agitation speed.

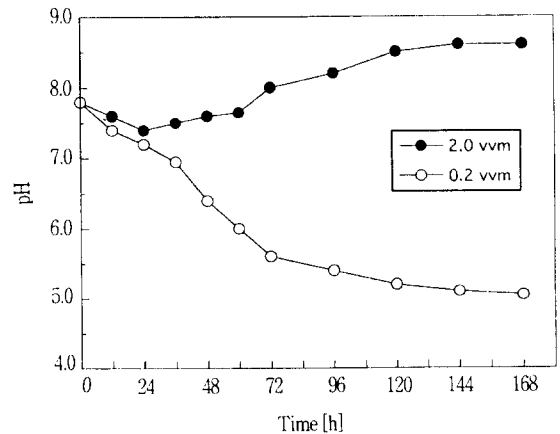


Figure 5. Changes of pH under different aeration rates in the fermentation broth.

았으나 통기량이 0.2 vvm인 조건에서 균주의 성장율이 보다 높게 나타난 실험결과로부터, 통기량이 제한된 조건하에서 본 균주는 다당생산보다는 균주의 성장이 보다 활발하게 일어나고 이로 인해 세포벽에 부착된 CBP의 생산량도 역시 증가된 것으로 사료된다. 따라서 WSP와 CBP의 서로 다른 기능 특성을 고려하여 볼 때, 필요에 따라 통기량을 조절함으로써 각각의 선택적인 차별생산이 가능할 것으로 기대된다. 한편, 통기량의 차이에 따른 다당 생산량 및 균주 성장의 변화는 배양액의 pH에도 영향을 미치게 되어, 통기량이 2 vvm인 경우에는 염기성으로, 0.2 vvm인 경우에는 산성으로 변화함을 알 수 있었다(Figure 5). 특히, 0.2 vvm의 조건에서 배양액의 pH가 산성으로 변화하는 것은 용존산소의 부족으로 인해 균체로부터 생산되는 유기산의 증가에 의한 영향인 것으로 사료된다(19, 20).

접종량의 영향

발효 배양시에 전배양액의 접종량이 다당류의 생산량에 미치는 영향을 조사하였다(Figure 6). 그 결과, 접종량이 10%(v/v)인 경우에, 다당류의 생산은 9.48 g/L로 최대값을 보였으며, WSP와 CBP는 각각 5.06 g/L와 4.42 g/L가 생산되었다. 또한, 접종량이 10% 이상(20%)일 경우에는 과도한 균체농도로 말미암아 다당류의 생산량이 오히려 감소하였다.

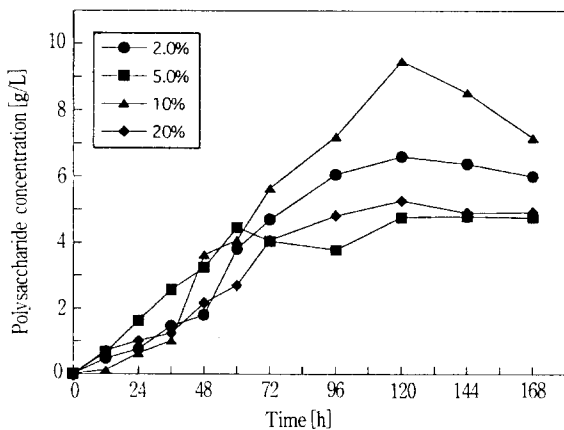


Figure 6. Effect of inoculum size on the production of total polysaccharides (Initial pH 7.8, 400 rpm, 2 vvm, 30°C).

Glucose 농도의 영향

지금까지의 *Zoogloea* sp.를 이용한 다당류 생산에 관한 다수의 연구결과로부터, 최적 탄소원으로서는 주로 glucose를 사용한 것으로 보고되어 있다(5). 본 실험에서 사용한 균주의 경우에도 앞서 조사한 연구결과에서 WSP와 CBP의 생산에 있어 glucose가 최적탄소원임이 확인되었다(9,10). 따라서, 그 첨가농도에 따른 다당류의 생산량 변화를 조사하였다(Figure 7). WSP와 CBP의 총생산량은 glucose 농도 2.5%(w/v)에서 가장 높게 (10.38 g/L) 나타났으며, 5%(w/v)의 농도에서는 오히려 과도한 glucose 농도에 의한 기질 저해로 다당류의 생산량이 감소하였다. 일반적으로 미생물에 의한 다당 생산에서 탄소원의 최적농도는 1~8%(w/v) 정도의 넓은 범위에서 이용되고 있음이 보고되어 있다(21). Xanthan gum 생산의 경우 sucrose나 glucose를 4%(w/v) 이내로 사용하여 많은 양의 다당류를 생산하였으

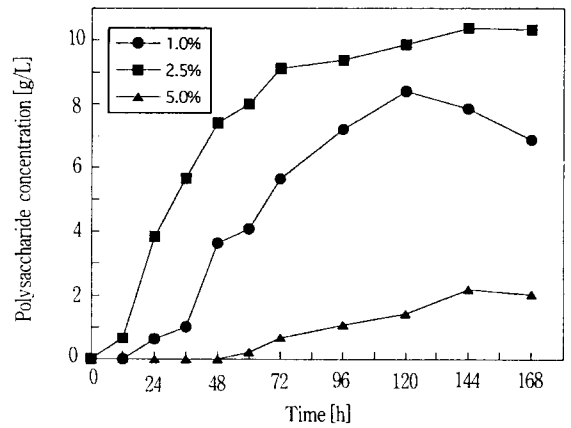


Figure 7. Effect of glucose concentration on the production of total polysaccharides (Initial pH 7.8, 400 rpm, 2 vvm, 30°C, Inoculum size 10%).

며(2,18), zooglan 생산의 경우 2.5%(w/v) 이하의 다소 낮은 농도에서 이루어 진다고 보고하였다(4, 5). 본 균주의 경우에도 비교적 낮은 탄소원 농도에서 다당류의 생산량이 높게 나타났음을 확인하였다.

최적조건하에서 발효배양

WSP와 CBP의 생산량 증가를 위해 지금까지 조사한 각종 배양조건을 토대로 교반속도 400rpm, 통기량 2 vvm, 접종량 10%(v/v), glucose 농도 2.5%(w/v), 초기 pH 7.8, 30°C의 조건하에서 발효배양한 결과를 Figure 8에 나타내었다. WSP와 CBP의 총 생산량은 10.38 g/L로 초기 배양조건에서의 생산량에 비해 약 2배 가량이 증가하였으며, 배양액의 겔보기점도 역시 약 2배 가량의 증가(22,500 cp)를 보였다. 또한 최대생산량을 얻기까지의 소요되는 배양 시간도 96시간에서 72시간으로 상당히 단축되었다. 한편, 균체량의 경우에는 48시간까지 균주의 성장속도가 급격히 증가하였음에도 불구하고 총균체량의 값이 초기 배양조건에 비해 오히려 약간 감소하는 경향을 보였다. 이는 교반속도 400 rpm, 통기량 2 vvm의 조건하에서는 다당류의 총

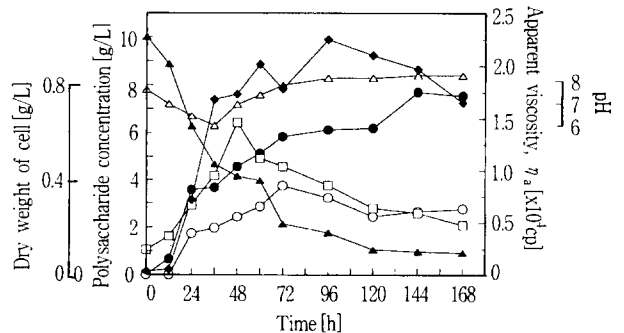


Figure 8. Time course on the polysaccharides production by *Zoogloea* sp. under the optimized fermentation condition (400 rpm, 2vvm, Inoculum size 10%, Glucose 2.5%).

- △- pH
- WSP
- Cell mass
- ▲- Glucose
- CBP
- ◆- Apparent viscosity of culture broth

생산량이 초기배양조건에 비해 증가하는 반면 초기배양보다 용존산소량의 농도가 높은 조건(400 rpm > 300 rpm)속에서는 균체의 성장이 상대적으로 낮았던 실험결과로부터 설명될 수 있다. 또한, 점도항상성이 뛰어난 WSP의 생산량 증가로 인해 배양액중의 점도가 높아짐으로써 균체로의 산소전달등의 물질전달이 일부 저해되는 것도 총균체량이 감소한 원인으로 사료된다.

요 약

본 연구에 사용된 해양세균 *Zoogloea* sp.(KCCM 10036)는 두가지의 다당류(water soluble polysaccharide, WSP; cell bound polysaccharide, CBP)를 생산하며, 이들은 항종양활성, 중금속흡착능, 고정화담체로서의 이용가능성 등 산업적 잠재력이 큰 바이오 소재로 기대되고 있다. 따라서 이들의 대량생산을 위한 기초단계로서, 5 L의 발효조를 이용한 WSP 와 CBP의 최적생산조건을 검토하였다. 그 결과, 초기 pH 7.8, 배양온도 30℃에서 교반속도 400 rpm, 통기량 2 vvm, 종균점종량 10%, glucose 농도 2.5%의 조건하에 이들 다당류의 총생산량은 10.38 g/L로 최대값을 보였다. 또한, 다당류의 생산과 더불어 배양액의 점도 역시 증가하여 최대 22,500 cp의 겔보기 점도값을 나타내었다.

감 사

본 연구는 1996년도 교육부 학술연구조성비(생물화학공학 H-3) 및 일부 1997년도 교육부 학술연구조성비(기초과학 BSRI-97-4410)에 의해 수행된 연구결과입니다. 이에 깊이 감사를 표하는 바이며, 저자중 배승권 박사는 한국과학재단 지원에 의한 박사 후 연수과정생으로 본 연구에 참여하였습니다.

참 고 문 헌

- Aspinall, G. O. (1982), The Polysaccharides, Vol. II, 446-447, Academic press, New York.
- Flores, F., L. G. Torres, and E. Galindo (1994), Effect of the Dissolved Oxygen Tension during Cultivation of *Xanthomonas campestris* on the Production and Quality of Xanthan Gum, *J. Biotechnol.*, **34**, 165-173.
- Catley, B. J. (1980), The Extracellular Polysaccharide, Pullulan, Produced by *Aureobasidium Pullulans* : Relationship between Elaboration Rate and Morphology, *J. Gen. Microbiol.*, **120**, 265-268.
- Parson, A. B., and P. R. Dugan (1971), Production of Extracellular Polysaccharide matrix *Zoogloea ramigera*, *Appl. Microbiol.*, **21**, 657-661.
- Noberg, A. B., and S. O. Enfors (1982), Production of Extracellular Polysaccharide by *Zoogloea ramigera*, *Appl. Microbiol.*, **44**(5), 1231-1237.
- Endo, A., O. Hayashida, and S. Murakawa (1983), Mutastein, A New Inhibitor of Adhesive-Insoluble Glucan Synthesis by Glucosyltransferase of *Streptococcus Mutans*, *J. Antibiotics(Tokyo)*, **36**(3), 203-207.
- Norberg, A. B., and H. Persson (1984), Accumulation of Heavy-Metal Ions by *Zoogloea ramigera*, *Biotech. and Bioeng.*, **115**, 239-246.
- Aspinall, G. O. (1982), The Polysaccharides, Vol. I, 1-5, Academic press, New York.
- Kwon, K. J., K. J. Park, J. D. Kim, J. Y. Kong and I. S. Kong (1994), Isolation of Two Different Polysaccharides from Halophilic *Zoogloea* sp., *Biotechnol. Lett.*, **16**(8), 783-788.
- 장명웅, 강양순, 홍종욱, 김종덕, 공재열 (1995), 해양세균 *Zoogloea* sp.로부터 두종류의 polysaccharide 생산조건, *한국생물공학회지*, **10**(5), 518-524.
- 장명웅, 김광혁, 공재열 (1995), *Zoogloea* sp.의 다당체가 Meth A 세포에 의한 종양형성억제 효과, *한국생명과학회지*, **5**(2), 81-89.
- Kong, J. Y., H. W. Lee, J. W. Hong, Y. S. Kang, J. D. Kim, M. W. Chang and S. K. Bae (1997), Utilization of Cell-Bound Polysaccharide Produced by the Marine Bacterium *Zoogloea* sp. - New Biomaterial for Metal Adsorption and Enzyme Immobilization, *J. Marine Biotechnol.*, In Press.
- 福井作藏 (1969), 還元糖の定量法, 學會出版センター, 19-22.
- Sutherland, I. W. (1979), Microbial Polysaccharides and Polysaccharase, Academic Press, 1-34.
- Wecker, A., and U. Onken (1991), Influence of Dissolved Oxygen Concentration and Shear Rate on The Production of Pullulan by *Aureobasidium pullulans*, *Biotechnol. Lett.*, **13**(3), 155-160.
- Jarman, T. R., L. Deavin, S. Slocombe, and R. C. Righelato (1978), *J. Gen. Microbiol.*, **107**, 59.
- Moscovici, M., C. Lonescu, C. Oniscu, O. Fotea, P. Protopopescu, and L. D. Hanganu (1996) Improved Exopolysaccharide Production In Fed-Batch Fermentation of *Aureobasidium pullulans*, with Increased Impeller Speed, *Biotechnol. Lett.*, **18**(7), 787-790.
- Fernando F., L. G. Torres, and E. Galindo (1994) Effect of the Dissolved Oxygen Tension During Cultivation of *X. campestris* on the Production and Quality of Xanthan Gum, *J. Biotechnol.*, **34**, 165-173.
- 권기석, 윤병대, 주현규 (1995) *Bacillus polymyxa* KS-1에 의한 다당류 KS-1 생산의 발효조건, *한국생물공학회지*, **10**(4), 441-448
- 손홍주, 이상준 (1996) *Pseudomonas* sp. HJ로부터 Polyhydroxyalkanoate 대량생산을 위한 유가식 배양, *한국생물공학회지*, **11**(2), 201-210
- 孔在烈, 全洪基 (1996) 微生物工學, 東和技術.