

## 유기산 및 포도당 혼합배지에서 *Azotobacter vinelandii* UWD의 성장 및 PHBV 생산에 대한 용존산소의 영향

†박 장 호

경희대학교 화학공학과, 환경연구소  
(접수 : 1998. 8. 19., 게재승인 : 1998. 11. 11.)

## Effect of Dissolved Oxygen on the Growth of *Azotobacter vinelandii* UWD and Production of PHBV in the Mixture of Organic Acids and Glucose

Chang-Ho Park†

Department of Chemical Engineering and Institute of Environmental Science, Kyung Hee University,  
Yongin-Si, 449-701, Korea

(Received : 1998. 8. 19., Accepted : 1998. 11. 11.)

In both 7L and 20L fermentor experiments the level of dissolved oxygen (D.O.) strongly affected growth and PHBV production of *Azotobacter vinelandii* UWD. A higher D.O. increased carbon substrate consumption rate and cell growth rate with a similar residual biomass production. However, a lower D.O. was a much better condition for PHBV production. In a 20L fermentor experiments controlled at 5% D.O. cell growth rate was about twice faster ( $0.555 \text{ hr}^{-1}$  and  $0.260 \text{ hr}^{-1}$  at the acid and the glucose phase, respectively) with an equal amount (4.5 g/L) of residual biomass production. However, PHBV content in the cells (62.3 wt%) increased 17.3 times at 1% D.O.

Key Words : dissolved oxygen, aeration, *Azotobacter vinelandii* UWD, PHBV

### 서 론

미생물이 생산하는 생분해성 플라스틱중 polyhydroxybutyrate-valerate(PHBV)는 성장에 필요한 영양소중 탄소원은 충분히 존재하지만 미생물이 그 체내에 합성 축적하는 polyester 구조의 저장 물질이다(1). 본 연구는 이 PHBV를 돼지분뇨등 유기산이 풍부한 폐기물을 처리하며 생산하는 기술을 개발하고자 하는 노력의 일환이다. 기존의 PHBV를 생산하기 위하여 흔히 사용되어온 영양소 제한법은 돼지분뇨중에 질소, 인 등의 각종 영양소가 많이 들어있어서 적합하지 않고, 영양소 제한 없이 균형된 세포생장과 동시에 PHBV를 축적하는 미생물인 *Azotobacter vinelandii* UWD는 이를 위한 유용한 균주이다(2).

많은 균주들의 경우 산소 제한은 PHBV 생산을 증가시키며 (1) *Azotobacter*의 일종인 *A. beijerinckii*의 경우에도 산소 제한하에서 다량의 PHB를 생산하였다(3). *A. vinelandii* UWD는 균형된 성장을 하면서도 PHBV를 합성하는 것으로 알려져 있는

데 이것이 가능한 이유는 이 합성과정이 NADH oxidase의 결핍을 보충하여 환원력을 소모시키기 때문이다. *A. vinelandii* UWD는 또한 전자 전달체인으로 전자가 들어갈 수 있는 부위가 여러개 존재하는 고도의 효율적인 호흡계를 가진 것으로 알려져 있어(4, 5) 산소가 세포의 성장과 PHBV 생산에 미치는 효과를 연구하는 것이 필요하다. *A. vinelandii* UWD에 의한 PHB 생산이 산소제한을 요구하지는 않으나 산소공급이 낮을 때 PHB의 수율이 높은 것으로 알려져 있다(6). 그러나 이 결과는 플라스크내 매지의 부피에 따라 산소 공급의 조건을 설정한 실험 데이터를 근거로 한 것이기 때문에 발효조 규모의 생산에는 유용하지 못하다. 본 연구에서는 7 L 및 20 L 발효조를 이용하여 용존산소(D.O.)를 조절하면서 통기가 *A. vinelandii* UWD의 세포생장과 PHBV 생산에 미치는 영향을 연구하였다.

### 재료 및 방법

#### 균 주

등결 건조된 *Azotobacter vinelandii* UWD(ATCC 53799)를 American Type Culture Collection으로부터 구해서 Burk 배지(6)에 적용 배양시킨 후 고체배지로 옮겼다. 균주는  $30^\circ\text{C}$  조건에서 배양시키고 일주일에 한 번씩 계대하였다.

† Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, Kyung Hee University, Yongin-Si 449-701, Korea  
Tel. (0331) 201-2531, Fax. (0331) 202-1946  
e-mail : chpark@nms.kyunghee.ac.kr

생장 배지

제한 배지를 사용하여 *A. vinelandii* UWD를 탄소원으로 acetic acid 3.75g/L, propionic acid 1.10g/L, butyric acid 1.30g/L 및 포도당 30g/L를 함유한 변형된 Burk 배지에서 생장 시켰다. 이 탄소원의 농도는 돼지분뇨를 2배로 희석한 용액에 30g/L의 포도당을 혼합한 것에 해당한다. 변형된 Burk 배지는 1.47mM  $KH_2PO_4$ , 4.60mM  $K_2HPO_4$ , 0.81mM  $MgSO_4$ , 0.58mM  $CaSO_4$ , 18.0  $\mu$ M  $FeSO_4$ , 1.0  $\mu$ M  $Na_2MoO_4$  그리고 42.0  $\mu$ M  $FeC_6H_5O_7$ 을 포함하고 있다. pH는 고압 멸균한 후에 7.3으로 조절하였다. 각종 시약은 Sigma에서 구입하였다. Run 1과 run 2에서 초기 암모늄 농도는 48mM 이었고 최종 농도는 각각 7.7mM, 0.5mM 이었다. 또한 run 3과 run 4에서 초기 암모늄 농도는 59.2mM 이었으며 420mmole의 암모늄이 포도당 소모기 중간에 추가되어 최종 암모늄 농도는 각각 20.1mM, 22.8mM로 질소 제한이 없는 조건에서 실험을 수행하였다

7L 발효기 System

날개 4개로 구성된 교반 터빈 3개와 3개의 baffle을 갖춘 7L top drive 발효기 (한국발효기)가 이 연구에 사용되었다. 발효기 공정은 486 microcomputer에 Labtech Notebook software를 이용하여 조절하고 데이터를 수집하였다(Figure 1). 배지온도는 물 순환 펌프, 전기히터 그리고 온도조절기를 갖춘 항온 수조속에 발효기를 놓음으로써 30°C를 유지하였고 pH는 2N KOH 또는 2N  $H_2SO_4$ 의 주입이 조절되는 컴퓨터에 의해 자동으로 7.3으로 유지되게 하였다. 거품은 자동 액체 수위 조절기를 사용하여 10%의 실리콘 antifoam 용액을 주입하여 조절하였다. DO는 갈바니 산소전극으로부터 신호를 이용하여 컴퓨터 시스템에 의해 조절되고 데이터가 수집되었다. Borkowski와 Johnson

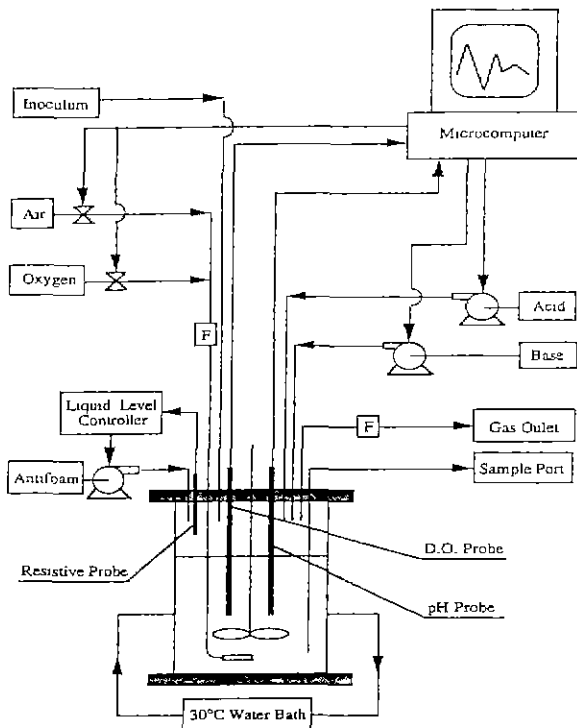


Figure 1. Diagram of 7 liter fermentor system. F: 0.2  $\mu$ m filter; D.O.: dissolved oxygen.

방법(7)에 따라 2mil의 테프론막을 지닌 산소전극을 조립하였다. 두 가지 조건에서 발효를 수행하였는데 첫째실험(run 1)은 D.O. 조절없이 공기를 3 L/min(1 vvm)의 일정속도로 sparging하였다. 둘째 실험(run 2)에서는 D.O.를 10%로 조정하고 이를 유지하기 위해서 공기 흐름 속도는 3L/min로 고정시키고 추가로 필요한 산소는 PID 조절기를 이용하여 세포의 산소요구량에 따라 0~2.5L/min의 범위에서 Side-Track III 질량흐름 조절기 (Sierra Instruments)를 Labtech Notebook software의 PID 조절 기능과 연결하여 공급하였다. 교반 속도는 500rpm로 유지되었다

20L 발효기 System

날개 4개로 구성된 교반 터빈 3개와 3개의 baffle을 갖춘 20 liter bottom drive 발효기(Biolafitte, Inc.)가 사용되었다(Figure 2). 발효기의 내부압력은 출구에 있는 수동 압력조절 장치에 의해 18.9 psi로 유지되었다. 발효기 온도는 자동 온도 조절 장치를 이용하여 jacket에 온도가 조절된 물을 순환시켜 30°C로 유지하였다. Gel이 충전되고 멸균가능한 pH 전극으로 pH를 측정하였다. pH는 6N KOH 또는 3N  $H_2SO_4$ 의 투입을 조절하는 proportional pH 조절 module에 의해 자동적으로 7.3에 조절되었다. 거품은 발효기 상판에 장치된 resistive probe에 연결된 증폭 조절 module을 이용하여 silicon based antifoam (Union Carbide, SAG471) 10%(w/v) 용액을 자동적으로 추가하므로써 조절하였다. 통기는 공기에 의해서만 이루어졌다. 살균된 공기는 발효기의 바닥으로 들어가 교반축에 붙어 있는 회전 sparger를 통해 배지 속으로 분산되었다. 발효기 바깥쪽으로 나가는 공기는 배지의 증발을 막기 위해 찬물을 이용한 순환 응축기로 응

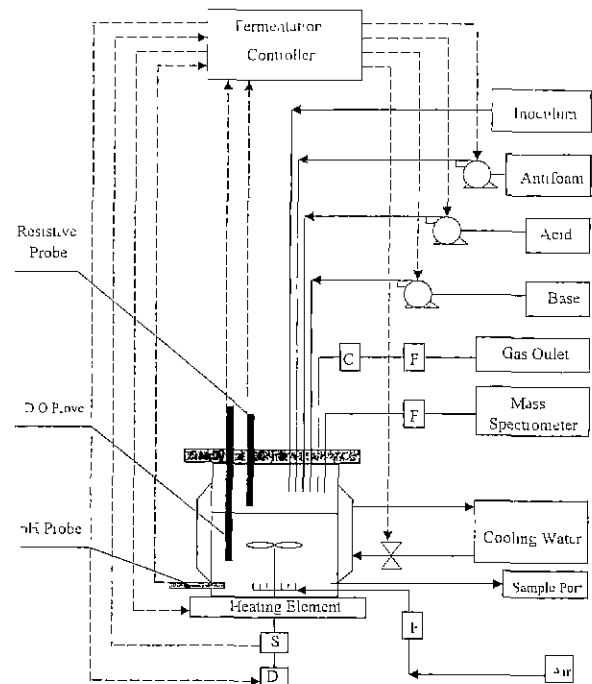


Figure 2. Diagram of 20 liter fermentor system. F: 0.2  $\mu$ m filter; C: condenser; S: agitation speed sensor; D: propeller driver; D.O.: dissolved oxygen. Solid lines: pipings; dashed lines: cables and control lines.

측되었다. D.O.는 Borkowski와 Johnson 방법(7)을 이용하여 제작된 산소전극에 의해 측정되었다. D.O.는 산소 전극으로부터 입력된 신호를 이용하여 PID 조절기에 의해 조절하였다. 정해진 값으로부터 실제 D.O.가 벗어난 정도에 따라 PID 조절기는 속도 조절 potentiometer를 작동시켜 agitation 속도를 자동적으로 증가 또는 감소시켰다. 공기흐름 속도는 수동으로 조절하였다. 발효기의 멸균은 *in-situ* 증기 멸균 시스템을 이용하였다. D.O 전극의 0% 눈금은 멸균 후 발효기로부터 모든 공기가 제거된 후에 얻고, 100% 눈금은 한시간 동안 14 L/min 의 공기 흐름 속도로 배지를 sparging하고 700 rpm 으로 모든 눈금이 안정될 때까지 교반한 후 얻었다.

#### On-line 데이터 수집 시스템

pH, D.O., 교반속도 그리도 온도는 여러 개의 analog to digital, digital to analog 측정과 조절 시스템을 감시하는 컴퓨터로 조절되었다. 이 시스템은 RS 232 인터페이스를 통해서 IBM AT ASYST 패키지과 통신하였다. Asyst Monitoring과 Control Package를 사용해서 on-line 데이터를 얻었다.

#### 시료 분석

발효 공정동안 세포생장, 기질소비, 생성물을 분석하기 위해 1~2 시간 간격으로 시료를 채취하였다. 7L 와 20L 발효조로부터 35cc 무균 주사기를 이용하여 10mL씩 두 개의 시료를 시료구를 통해 취하여 즉시 원심 분리하였다. 원심분리하는 동안 시료 한 방울을 1,000배 배율의 phase contrast 현미경을 이용해서 관찰하고 620nm에서 optical density(O.D)를 측정하였다. 발효 후 씻어서 말려진 모든 건조 시료는 100°C oven에서 24~48시간 건조시킨 후 무게를 측정하였다. 건조 시료들은 건조세포량을 결정한 후 PHBV 분석에 사용되었다.

#### 포도당 농도 분석

고정화 효소막(YSI 2365 glucose(dextrose) membrane)이 설치된 포도당 분석기(Yellow Spring Instrument Co.)로 포도당 농도를 측정하였다.

#### PHBV 분석

PHBV는 acid propanolysis 법(8)으로 분석했다. 이 방법은 propanol과 염산을 이용한 가수분해와 transesterfication에 근거하고 있다. 가스크로마토그래피로 분석하기 위하여 PHBV를 단량체로 분해한 후 propyl ester로 전환시켰다. Flame ionization detector (FID)가 장착된 GC(HP 5890)를 사용하였고 benzoic acid(Sigma)를 internal standard로 이용하여 PHBV를 분석하였다. 칼럼은 DB-wax가 충전된 silica capillary 칼럼(Chrom Tech)을 사용했다. 칼럼규격은 길이 30m, 내경 0.32mm, 두께 0.5 $\mu$ m이었다. Oven 온도는 초기 60°C에서 0.5 분 동안 유지한 후 10°C/min으로 최종 200°C까지 증가시켰다. Oven 온도를 이 값에서 5분 동안 유지하였다. 주입구 온도는 200°C이고 검출기 온도는 225°C이었다. 칼럼 head 압력은 14.9 psi이며 운반기체로 헬륨(50 psi)을 사용하였다. 검출기에는 수소(19 psi)와 공기(40 psi)를 사용하였고 시료는 1 $\mu$ 를 주입하였다.

#### 유기산 농도 분석

유기산 농도의 분석은 시료 0.5mL에 0.5N HCl 0.5mL를 첨가한 후 PHBV 분석과 동일한 조건에서 동일한 GC(HP 5890)를 사용하였다. Internal standard로 hexanol 0.2g(Sigma)과 진한 염산 40mL를 증류수에 가하고 그 부피를 1000mL로 조정하여 사용하였다.

#### 암모늄 분석

시료 상등액내의 암모늄 농도는 암모니아 전극(Orion Research Inc.)을 pH meter(Orion Research Inc.)에 연결하여 mV를 측정하여 얻었다. 표준물질은 분석등급 NH<sub>4</sub>Cl과 nitrogen-free 탈이온수를 이용하여 준비하였다. 5mL의 표준용액 또는 시료를 함유하고 있는 10mL 튜브에 ISA용액(Ionic Strength Adjuster, 5M NaOH, 0.05M disodium EDTA, 10% methanol and color indicator로 구성되어있음) 100 $\mu$ L (2% v/v)를 가했다.

## 결과 및 고찰

#### 7L 발효기를 이용한 통기실험

7L 발효기를 이용한 두 실험에서 D.O가 세포생장 및 PHBV 생산에 미치는 영향이 Table 1에 요약되어 있다. Run 1의 경우 1 vvm의 통기로 D.O.가 유기산 소모기에는 0~5%이었고 포도당 소모기에는 0%로 감소하였다. Run 2의 경우 세포의 밀도가 낮은 유기산 소모기에는 D.O를 10%로 유지할 수 있었으나 포도당 소모기에는 산소공급이 세포의 요구량을 충족하지 못하여 실제 D.O.는 1~2%로 낮아졌다. 전반적으로 run 2의 D.O.는 run 1 보다 높았다.

매지내의 D.O.가 높은 경우(run 2) 탄소기질의 소모속도가 빨랐다(Figure 3a and 4a). 탄소를 전량 소모하는데 소요된 시간이 run 1의 경우 57시간 인데 비하여 run 2는 28시간으로 단축되었다. 세포는 유기산 소모기와 포도당 소모기로 구분되는 diauxic 형태로 성장하였다. 탄소기질 소모를 두 소모기로 나누어 보면 유기산을 소모하는데 걸린 시간이 20시간(run 1)에서 15시간(run 2)으로 5시간정도 단축된데 비하여 포도당 소모기에

Table 1 Effect of aeration on cell growth and PHBV production in a 7 L fermentor (RM = residual biomass)

Run		Run 1	Run 2
Aeration condition		3 L/min	%D.O. set point = 10%
Actual D.O. level (% of air saturation)	Acid phase	0-5	10
	Glucose phase	0	1-2
Yield <sub>RM/carbon sources</sub> (g/g)	Acid phase	0.142	0.149
	Glucose phase	0.076	0.086
Specific growth rate of RM (hr <sup>-1</sup> )	Acid phase	0.165	0.190
	Glucose phase	0.075	0.180
Final PHBV wt%	Acid phase	33.37	28.73
	Glucose phase	65.10	52.45
Yield <sub>PHA/carbon sources</sub> (g/g)	Acid phase	0.078	0.067
	Glucose phase	0.203	0.129

소요된 시간은 37시간(run 1)에서 13시간(run 2)으로 크게 단축되었다

세포의 생장도 D.O.가 높을 때 더 빠른 속도를 나타내었다(Figures 3b and 4b). Run 2의 유기산 소모기와 포도당 소모기의 비생장속도가 각각  $0.190\text{hr}^{-1}$  및  $0.180\text{hr}^{-1}$  인데 비하여 run 1은 각각  $0.165\text{hr}^{-1}$  및  $0.075\text{hr}^{-1}$  로 낮았다.

발효가 종료되었을 때 residual biomass(RM, 세포 총중량에서 PHBV를 제외한 질량)는 두 실험 모두 약 3g/L로 유사하였다. 유기산 소모기간에 RM 생산 수율은 D.O.의 영향을 거의 받지 않아 run 2(0.149 g RM/g acids) 와 run 1(0.142 g RM/g acids)이 유사하였다 반면 포도당 소모기간에는 RM 생산 수율이 D.O.가 높은 run 2의 경우가 (0.086 g RM/g glucose) run 1의 경우(0.076 g RM/g glucose) 보다 13% 높았다.

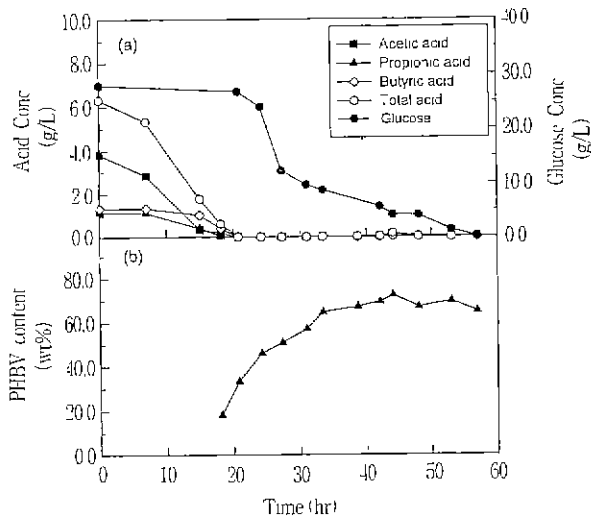


Figure 3. Growth and polymer production of *A. vinelandii* UWD in a 7 liter fermentor with 3L/min air flow rate(1 vvm) and no D.O. control(run 1). (a) carbon substrate utilization; (b) PHBV production

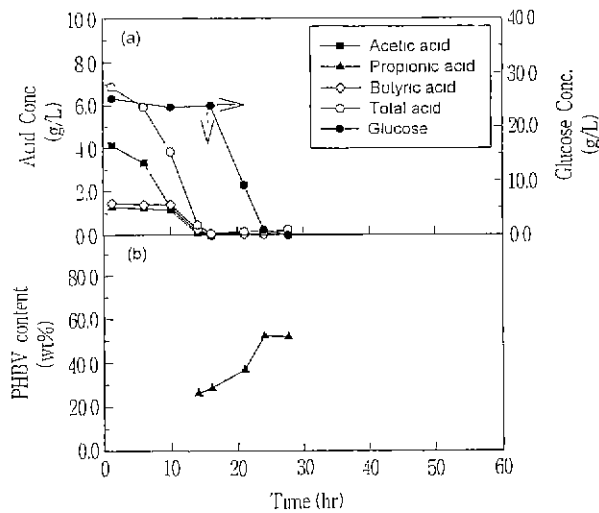


Figure 4. Growth and polymer production of *A. vinelandii* UWD in a 7 liter fermentor with a mixture of air(3 L/min) and oxygen controlled by a PID controller(run 2). (a) carbon substrate utilization; (b) PHBV production.

세포내의 PHBV 함유량은 D.O. 농도가 높을수록 불리하여 D.O. 농도가 높은 run 2의 경우 52.45wt%로서 run 1의 함유량인 65.10wt% 보다 낮았다(Figure 3c and 4c). 유기산 소모기간을 별도로 보았을 때도 D.O. 농도가 높을수록 PHBV 생성이 적었다. 탄소원으로부터의 PHBV 수율 또한 D.O. 농도가 높은 경우(run 2)가 불리하였다. 유기산을 소모하는 기간에는 run 2의 PHBV 수율은 0.067 g PHBV/g acids로서 run 1의 0.078 g PHBV/g acids보다 낮았다. 포도당 소모기간에도 run 2의 PHBV 수율은 (0.129 g PHBV/g glucose) run 1의 0.203 g PHBV/g glucose보다 낮았다 PHBV를 제외한 RM의 생산은 D.O. 농도에 영향을 거의 받지 않았다.

두 실험에서 동일한 양의 탄소원이 전량 소모되었으나 높은 D.O. 농도(run 2)에서는 PHBV 생성이 불리하여 결국 총건조중량(PHBV+RM)이 감소하게 되었다. 이는 높은 D.O. 농도에서는 호흡활동의 증가로 인해 더 많은양의 탄소원이  $\text{CO}_2$ 로 전환되어 소모되었기 때문으로 사료된다.

### 20L 발효기를 이용한 통기실험

D.O. 농도를 보다 일정하게 조절하면서 D.O. 농도가 세포생장과 PHBV 생성에 미치는 영향을 20L 발효조에서 확인하였다(Table 2). Run 3와 run 4는 D.O. 농도를 각각 1% 와 5%로 유지하였고 다른 발효조건들은 동일하게 하였다. 질소원의 고갈을 피하기 위해서 420mmol의 염화 암모늄을 포도당 소모기간에 첨가하여 암모늄 농도가 30 mmol이 되게하였다. Run 3과 run 4의 D.O. 농도의 차이는 4%에 불과하지만 발효결과는 크게 다르게 나타났다(Figures 5 and 6)

배지내의 D.O. 농도가 높은 경우(run 4) 탄소기질 소모속도가 빨랐다(Figures 5a and 6a). 탄소원을 전량 소모하는데 소요된 시간이 Run 3의 경우 28시간인데 비하여 Run 4는 20시간으로 단축되었다. 세포는 유기산 소모기와 포도당 소모기로 구분되는 diauxic 형태로 생장하였다. 탄소기질 소모를 두 기간으로 나누어 보면 유기산을 소모하는데 걸린 시간이 20시간(run 3)에서 15시간(run 2)으로 5시간 정도 단축되었고 포도당소모에 소요된 시간은 8시간(run 3)에서 5시간(run 4)으로 단축되었다.

세포의 생장도 배지의 D.O. 농도가 높을 때 더 빠른 속도를 나타내었다(Figures 5b and 6b). Run 3의 유기산 소모기와 포도당 소모기의 비생장속도가 각각  $0.248\text{hr}^{-1}$  및  $0.127\text{hr}^{-1}$ 인데

Table 2. Effect of aeration on cell growth and PHBV production in a 20 L fermentor. (RM = residual biomass)

Run		Run 3	Run 4
% D.O. level		1%	5%
Yield <sub>RM/carbon sources</sub> (g/g)	Acid phase	0.165	0.170
	Glucose phase	0.115	0.110
Specific growth rate of RM ( $\text{hr}^{-1}$ )	Acid phase	0.248	0.555
	Glucose phase	0.127	0.260
Final PHBV wt%	Acid phase	26.2	3.7
	Glucose phase	62.3	3.6
Yield <sub>PHA/carbon sources</sub> (g/g)	Acid phase	0.073	0.008
	Glucose phase	0.266	0.004

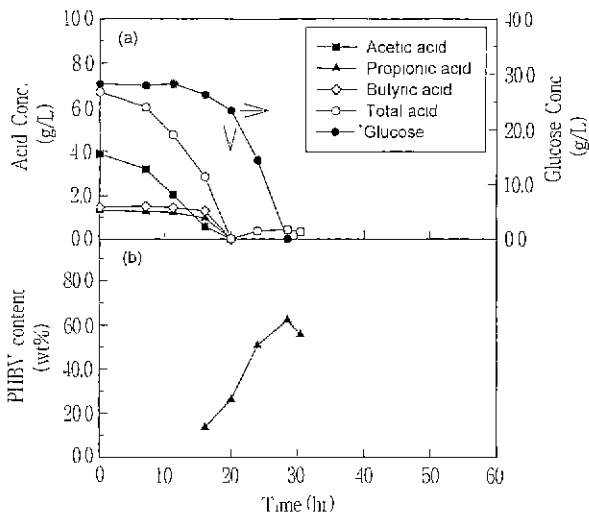


Figure 5 Growth and polymer production of *A. vinelandii* UWD in a 20 liter fermentor with D.O. setting at 1% (run 3). (a) carbon substrate utilization; (b) PHBV production.

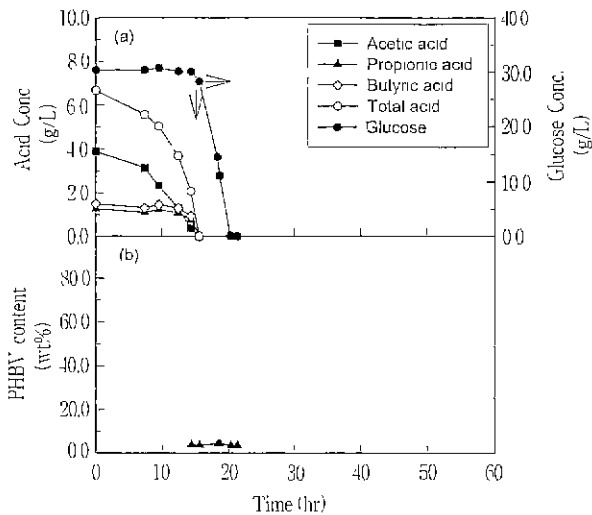


Figure 6. Growth and polymer production of *A. vinelandii* UWD in a 20 liter fermentor with D.O setting at 5%(run 4) (a) carbon substrate utilization; (b) PHBV production

비하여 run 4는 각각  $0.555 \text{ hr}^{-1}$  및  $0.260 \text{ hr}^{-1}$ 로 증가하였다 발효가 종료되었을 때 RM은 두 실험 모두 약 45g/L로 유사하였다. RM 생산 수율은 D.O.의 영향을 거의 받지 않아 유기산 소모기간에는 0.170 g RM/g acids (run 4)와 0.165 g RM/g acid(run 3)로 유사하였고 포도당 소모기간에도 0.110 g RM/g glucose(run 4)와 0.115 g RM/g glucose(run 3)로 유사하였다.

세포내의 PHBV 함유량은 D.O. 농도가 높을수록 크게 감소하였다(Figures 5c and 6c). D.O. 농도가 낮은 run 3의 함유량이 62.3wt%이었으나 run 4의 경우 3.6wt%로 크게 감소하였다. 유기산 소모기간만을 별도로 보았을 때도 D.O. 농도가 높을수록 PHBV 생성이 적었다. 탄소원으로부터의 PHBV 생산수율 또한 D.O. 농도가 높은(run 4) 경우가 크게 불리하였다. 유기산을 소모하는 기간에는 run 4의 PHBV 수율은 0.008 g PHBV/g

acids로서 run 3의 0.073 g PHBV/g acids보다 훨씬 낮았다. 포도당 소모기간에도 run 4의 PHBV 수율(0.004 g PHBV/g glucose)은 run 3의 0.266 g PHBV/g glucose보다 크게 낮았다. PHBV를 제외한 RM의 생산은 D.O. 농도에 영향을 거의 받지 않았다.

두 실험에서 동일한양의 탄소원이 전량 소모되었으나 높은 D.O. 농도(run 4)에서는 PHBV 생성이 크게 불리하여 결국 총 건조중량증량이 감소하게 되었다. 이는 높은 D.O. 농도에서는 호흡활동의 증가로 인해 더 많은 양의 탄소원이  $\text{CO}_2$ 로 전환되어 소모되었기 때문으로 사료된다.

20L 발효조 실험 결과는 전체적으로 7L 발효조 실험 결과와 동일하였다. D.O. 농도가 높을수록 탄소기질을 빨리 소모하여 세포의 비성장속도는 증가하였으나 RM의 양은 유사하였다. D.O. 농도는 세포내의 PHBV 함량(wt %) 및 PHBV 수율에 큰 영향을 주었으며 20L 발효조 실험에 의하면 D.O.를 1%로 유지하였을 때가 5%로 유지하였을 때에 비하여 PHBV 함량은 17.3배 PHBV 수율은 9.1배 유기산 소모기간) 혹은 66.5배 (포도당 소모기간)로 크게 증가하였다 세포생장은 D.O.가 높을 때 유리하긴 하지만 PHBV 생성이 더 중요하기 때문에 *A. vinelandii* UWD 에 의한 PHBV 생성시 D.O.를 낮추는 것이 유리하다고 판단된다. 비록 *A. vinelandii* UWD 가 영양소 제한 없이 균형된 세포생장과 동시에 PHBV를 축적한다고 알려져 있지만(6) 본 실험 결과로 보아 D.O. 농도가 PHBV 생성에 큰 영향을 미칠 수 있다는 것을 확인하였다.

실험결과 높은 D.O. 농도에서 비산소전달속도(specific oxygen transfer rate)가 증가되고 이때 세포는 호흡속도를 증가시켜 환원력의 많은 부분이 PHBV합성보다는 산소에 의해 산화됨으로 인해 PHBV 생산이 감소하는 것으로 해석될 수 있다. 또한 biomass 수율이 D.O. 농도에 의해 그다지 영향을 받지 않은 것은 전자수용체가 이렇게 바뀐다 할지라도 탄소원으로부터 에너지 생성은 계속되기 때문이라고 생각된다

요 약

7L 및 20L 발효조를 이용한 배양실험에서 용존산소(D.O.)의 농도는 *Azotobacter vinelandii* UWD의 성장 및 PHBV 생산에 큰 영향을 미쳤다. D.O.가 높을 때 탄소원 소모속도와 세포 성장속도가 증가하였으나, PHBV를 제외한 균체량(RM, residual biomass)은 변화가 없었다. PHBV 생성에는 낮은 D.O.가 훨씬 유리하였다. 20L 발효조를 이용하여 PHBV 생산실험을 DO 1% 와 5% 에서 수행한 결과 RM 양은 4.5g/L로 동일하였으나 세포 생장은 D.O. 5%에서 2배 빠르고(유기산 소모기와 포도당 소모기에 각각  $0.555 \text{ hr}^{-1}$  과  $0.260 \text{ hr}^{-1}$ ) 세포내의 PHBV 함량은 D.O. 1%일 때 62.3wt%로 D.O. 5%일 때에 비해 17.3배가 더 높았다

감 사

본 연구는 한국과학재단의 '96 핵심전문 연구과제(과제번호 : 961-1105-031-2)의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다. 논문작성을 도와준 생물화학실험실 김태웅군과 유형덕 군에게 감사한다.

## 참 고 문 헌

1. Doi, Y. (1990), Microbial Polyesters, VCH Publishers, New York.
2. Cho, K.-S., H.W. Ryu, C.-H. Park, and P.R. Goodrich (1997), Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) from swine waste liquor by *Azotobacter vinelandii* UWD, *Biotech Lett.*, 19, 7-10.
3. Jackson, F.A. and E.A. Dawes (1976), Regulation of the tricarboxylic acid cycle and poly- $\beta$ -hydroxybutyrate metabolism in *Azotobacter beijerinckii* grown under nitrogen or oxygen limitation, *J. Gen. Microbiol.*, 97, 303-312.
4. Ackrell, B. A. C., S. K. Erickson, and C. W. Jones (1972), The Respiratory-chain NADPH Dehydrogenase of *Azotobacter vinelandii*, *Eur. J. Biochem.*, 26, 387-392.
5. Chung, A. E. (1970), Choice of Substrate in Polyhydroxybutyrate Synthesis, *Spec. Publ. Soc. General Microbiol.*, 21, 161-168.
6. Page, W. J., and O. Knosp (1989), Hyperproduction of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate during Exponential Growth of *Azotobacter vinelandii* UWD, *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 1334-1339.
7. Borkowski, J.D. and M.J. Johnson (1967), Long-lived Steam Sterilizable Membrane Probe for D.O. Measurements, *Biotech and Bioeng.*, 9, 635-639.
8. Riis, V., and W. Mai (1988), Gas Chromatographic Determination of poly-3-hydroxybutyric Acid in Microbial Biomass after Hydrochloric Acid Propanolysis, *J. Chromatogr.*, 445, 285-289.