

## 응집 처리한 *Alcaligenes eutrophus* 균체로부터 poly(3-hydroxybutyrate)의 회수

조경숙 · 홍은화 · 류희욱<sup>1</sup> · 장용근<sup>2\*</sup>

이화여자대학교 환경공학과, <sup>1</sup>숭실대학교 환경·화학공학과,  
<sup>2</sup>한국과학기술원 화학공학과 및 생물공정연구센터

**Recovery of Poly(3-hydroxybutyrate) from the Coagulated Cells of *Alcaligenes eutrophus*.** Cho, Kyung-Suk, Eun-Wha Hong, Hee Wook Ryu<sup>1</sup>, and Yong Keun Chang<sup>2</sup>. Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea, <sup>1</sup>Department of Chemical and Environmental Engineering, Soong Sil University, Seoul 156-743, Korea, <sup>2</sup>Department of Chemical Engineering and BioProcess Engineering Center, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Taejon 305-701, Korea - The effects of the pre-treatment with coagulants on the recovery efficiency of poly (3-hydroxybutyrate, PHB) synthesized in *Alcaligenes eutrophus* were investigated. Al-base or Fe-base coagulants, and the dispersion method of 30% hypochlorite solution and chloroform were used as coagulants and PHB recovery method, respectively. The recovery efficiency of PHB from the cells harvested with Al-base coagulants at the range from 0 to 1000 mg-Al/L was similar to that from cells harvested without the coagulants. At these conditions, the concentrations of residual aluminium in the purified PHB were below 250 mg-Al/kg-PHB, indicating the effect of residual aluminum on the characteristics of the purified PHB can be insignificant. When the dosage of coagulants was over 1000 mg-Al/L, the PHB recovery remarkably decreased with increasing the coagulant dosage. However, the PHB recovery could be enhanced by the use of 50% hypochlorite solution instead of 30% hypochlorite solution. Even though the reduction of PHB recovery efficiency was not found by using Fe-base coagulants, the purified PHB was stained pale red due to residual iron, These results suggest that the use of Al-base coagulants did not exert bad influence on neither PHB recovery efficiency and PHB purity.

**Key words:** poly (3-hydroxybutyrate), recovery process, coagulation, *Alcaligenes eutrophus*

난분해성 석유화학 폐플라스틱의 대량 발생에 따른 환경오염 문제의 해결책의 하나로 생분해성 플라스틱에 관한 관심이 증대해지고 있다. 생분해성 플라스틱은 물이나 토양 등의 다양한 환경하에서 미생물에 의해 분해되는 플라스틱을 말하며, 생분해성 플라스틱의 소재로는 전분, cellulose 및 그 유도체, polyhydroxyalkanoates (PHA), polylactide 및 aliphatic polyester 등이 사용될 수 있다. 이 중 PHA는 미생물이 탄소원과 에너지원으로 생체 내에 축적하는 물질로, 기존의 석유화학 플라스틱과 물성이 유사하고, 호기적 환경에서는 이산화탄소로 혐기적 환경하에서는 메탄으로 완전히 분해되기 때문에 이를 대량으로 생산하여 상용화하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다[9, 13, 14, 28]. 다양한 형태의 PHA 화합물 중에서 가장 널리 알려져 있는 물질은 poly(3-hydroxybutyrate, PHB)이다. 최근에는 고농도 세포 배양

기술 개발로 생분해성 플라스틱을 생산하는 대표적인 균주인 *Alcaligenes eutrophus*를 이용하여 배양액 1L당 최고 270 g-dry cell weight(DCW)까지, PHB는 230 g/L까지 생산 가능하게 되었다[28]. 영국의 ZENECA사에서는 *Alcaligenes eutrophus*와 기질로 포도당과 propionic acid를 이용하여 poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)를 대량 생산하여 Biopol이라는 상표로 판매하고 있다[5, 6]. 당밀이나 돈사폐수와 같은 값싼 기질이나 폐기물을 이용하여 PHA를 생산하여 생산단가를 낮추고자 하는 연구들도 진행되었다[7, 19]. 또한, 유전자 재조합 기술을 도입하여 PHA 생산 균주 혹은 생산하지 못하는 균주에 PHA 합성에 관련된 유전자를 넣어 균주 개량을 시도하고 있으며, 이용 가능한 기질의 종류를 다양하게 하기 위해서 다양한 기질을 활용할 수 있는 유전자를 cloning 하는 연구들이 시도되고 있다[15, 17, 23, 29, 30]. 한편, PHA 생산기술을 상용화하기 위해서는 균주 개량 및 대량 생산 기술의 개발과 더불어, 배양액으로부터 PHA를 저 비용, 고효율로 회수·정제 할 수 있는

\*Corresponding author  
Tel. 82-42-869-8812, Fax. 82-42-869-8800  
E-mail: ykchang@sorak.kaist.ac.kr

down stream 공정의 개발이 필요하게 된다.

배양액으로부터 PHA를 회수·정제하는 공정은 배양액으로부터 균체분리, 세포파괴와 debris 분리, 농축, 전처리와 일차분리, 고순도 정제 등 일련의 공정들로 구성되어 있다. 회수·정제 공정에 있어서 중요한 것은 PHA를 회수한 후 PHA의 용용성과 안정성이 유지될 수 있는 방법을 사용해야 하는 것이다. 배양액으로부터 균체를 분리하는 방법으로 가장 보편적으로 사용되고 있는 방법은 원심분리방법과 여과방법이다[18, 20-22]. 일반적으로 미생물 균체는 크기가 작고 물과 비슷한 밀도를 가지므로 균체 부유액의 침전속도가 매우 느리다[22]. 배양액으로부터 균체를 효율적으로 분리하기 위해서 균체의 입경 크기와 밀도를 증가시키고 유체의 밀도와 점도를 감소시키는 coagulation과 flocculation 전처리과정이 필요하게 된다. 균체는 음의 표면전하를 가지고 있으므로 양이온 응집제를 첨가하면 균체 콜로이드입자의 부유상태가 불안정화되어 뭉침을 형성하는 coagulation 현상이 일어난다[22]. 또한, 균체 입자 자체 혹은 응집된 입자간의 충돌이 촉진되어 입자 크기가 커지게 되는 flocculation이 일어난다[22]. 생분해성 플라스틱을 생산하는 *A. eutrophus*의 배양액에 응집제를 첨가하여 균체를 응집시킨 후, 원심분리법으로 응집 처리한 균체를 회수하는데 소요되는 에너지는 응집제를 첨가하지 않은 경우에 소요되는 에너지의 3-11%정도에 불과한 것으로 밝혀져, 회수단가를 낮출 수 있음을 알 수 있었다[8, 26, 27]. 또한, 여과법에 의해 균체를 회수하는 경우에도 배양액을 응집제로 전 처리하면 여과효율이 상당히 향상됨을 알 수 있었다[8, 26, 27].

분리된 균체로부터 PHA를 회수하는 방법으로는 chloroform, methylene chloride, propylene carbonate 및 dichloroethane과 같은 유기용매를 이용하는 용매추출법[2, 4, 16, 25]과 hypochlorite[3, 24]나 수용성의 효소[12]를 이용하는 digestion법 등이 있다. Hahn 등은 기존의 chloroform을 사용하는 용매추출법과 sodium hypochlorite를 사용하는 digestion법의 장점을 동시에 이용하기 위해 위의 두 가지 용매를 함께 사용한 dispersion법을 제안하였다[10, 11]. 균체는 친수성이고 PHA는 소수성이기 때문에 수용액상에서 sodium hypochlorite에 의해 균체가 파괴되고, 균체로부터 유출된 PHA가 chloroform상으로 용해되므로 dispersion법을 이용하여 분자량의 감소 없이 순도 높은 PHA를 회수할 수 있었다.

본 연구에서는 *A. eutrophus* 배양액에 Al계와 Fe계 응집제를 첨가하여 응집 처리한 후 분리한 균체로부터 chloroform과 sodium hypochlorite digestion법으로 poly(3-hydroxybutyrate, PHB)를 회수하여, PHB 회수율과 순도에 미치는 응집제의 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### A. *eutrophus*의 배양

*Alcaligenes eutrophus*(NCIMB 11599) 균주를 60 L 발효기에서 유가식 배양을 하였다. 접종액을 배양하기 위한 배지 조성은 다음과 같았다: Glucose, 10 g/L;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.5 g/L;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 9 g/L;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 1 g/L;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.2 g/L; 미량 금속 용액, 1 mL. 미량 금속 용액은 5N HCl용액 1 L에  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  10 g,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  2g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.25 g,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.5 g,  $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.0 g,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  0.1 g,  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2 g을 녹여 조제하였다. 유가식 배양에 사용한 초기 배지의 조성은 glucose, 20 g/L;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 4.44 g/L;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 4 g/L;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1.2 g/L; citric acid, 1.7 g/L; 미량 금속 용액, 10 mL/L 이었다. 초기 배지의 부피는 18 L로 하였고, 800 g/L의 glucose 용액을 주입하면서 연속 배양하였다. 배양액의 pH는 28% 암모니아수와 5N HCl를 이용하여 6.8로 조절하였다. 최종적으로 얻어진 배양액의 균체농도는 164 g/L이었다.

### 응집제

본 연구에서는 3종류의 Al계 응집제와 2종류의 Fe계 응집제를 사용하였다. Al계 응집제로 황산반토( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ : 8%)와 고분자화된 폴리염화수산화규산알루미늄 (polyaluminium hydroxide chloride silicate(AlaSib(OH)cCl<sub>d</sub>,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  17%; PACS) 및 polyaluminium hydroxide chloride(Ala(OH)bCl<sub>c</sub>·xH<sub>2</sub>O),  $\text{Al}_2\text{O}_3$  17%; Hi-PAX)를 사용하였다. 고분자화된 PACS와 Hi-PAX (silicate를 함유하지 않음)의 염기도는 45-50%범위였으며, 밀도는 1.39이었다. 철계 응집제로  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 과 무기 고분자 응집제인 Ferix-3( $\text{FeCl}_x\text{OH}_y$ ,  $x+y=3$ )를 사용하였다.

### 응집 처리한 균체로부터 PHB의 회수

배양액에 응집제를 첨가하여 균체를 응집시키는 실험은 100 mL의 비이커를 이용하여 수행하였다. 10 N NaOH 용액으로 pH를 11-12로 맞춘 세포배양액 25 mL를 넣은 비이커에 적절한 농도의 응집제를 첨가하고 1분간 금속교반 후 3분간 완속교반 하였다. 응집 처리한 세포배양액 10 mL을 15 mL 원심관에 담아 45×g에서 10분간 원심 분리하였다. 원심분리 후 얻어진 균체(1.25 g 건조중량)에 chloroform 50 mL과 sodium hypochlorite 50 mL를 넣었다. Sodium hypochlorite는 증류수로 희석하여 30, 35, 40, 45 및 50% (v/v)의 농도로 조절된 희석용액을 사용하였다. 상기의 혼합용액을 30℃에서 90분간 교반한 후, 8,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 PHB가 용해되어 있는 chloroform층을 회수하였

다. 회수한 chloroform 용액을 70% methanol 용액에 부어 PHB를 침전시키고, 여과하여 얻은 PHB입자를 70℃에서 5시간 건조시킨 후 중량을 측정하였다.

회수된 PHB의 순도는 Cho 등[6]의 방법에 의해 전처리한 후 가스크로마토그래피(5890, Hewlett Packard, U.S.A.)를 이용하여 분석하였다. 또한, 회수된 PHB 중의 잔류 Al과 Fe의 농도는 유도결합 플라즈마 원자 방사분광기(Plasma 40, Perkin Elmer, U.S.A.)에 의해 분석하였다.

정제 PHB에 함유된 잔류 Al의 용출량을 조사하였다. 정제 PHB를 사용하여 만든 두께 2 mm의 필름(7 cm×7 cm)과 PHB 분말 2.3 g을 각각 200 mL의 0.1 N HCl 용액에 넣고, 200 rpm, 30℃에서 진탕 시켰다. 일정한 시간 간격으로 용액을 채취하여 용액중의 Al의 농도를 변화 측정하였다. 용출액의 Al 농도는 DR/4000 spectrophotometer(Hach Co., U.S.A.)를 사용하여 표준 발색법(Aluminum method)에 의해 522 nm에서 측정하였다.

### 결과 및 고찰

#### PHB 회수율에 미치는 응집제 첨가량의 영향

균체로부터 PHB를 회수하는 방법으로 methylene chloride, propylene carbonate, dichloroethane 및 chloroform 등의 용매를 이용하는 추출법이 사용될 수 있으나, 이 방법은 처리용액의 점성이 높아져 PHB가 아닌 순수세포물질 제거하기 어려운 단점이 있다[28]. 또한, sodium hypochlorite를 이용하여 PHB를 회수하는 방법은 sodium hypochlorite에 의해 PHB가 분해되어 저분자화되는 문제점이 있다[11]. 이러한 문제점을 극복하기 위해 제안된 방법이 sodium hypochlorite와 chloroform의 혼합용액을 이용하는 dispersion 방법인데[10, 11], 본 연구에서는 이 방법을 이용하여 응집 처리한 균체로부터 PHB를 회수하였다.

PHB 회수율에 미치는 응집제 첨가량의 영향을 Fig. 1과 2에 나타내었다. PHB 회수에 사용된 sodium hypochlorite 용액의 농도는 30% 이었다. Al계 응집제의 경우(Fig. 1), 응집제 첨가량이 증가할수록 PHB 회수율은 완만하게 감소하였다. 무기 고분자응집제인 Hi-PAX와 PACS에서 응집제 첨가량에 따른 PHB 회수율 감소가 현저하게 나타났다. *A. eutrophus*의 배양액을 응집시키기 위해 사용되는 응집제의 첨가량범위는 PACS와 Hi-PAX의 경우는 1000 mg-Al/L이하이고,  $Al_2(SO_4)_3$ 의 경우는 2000 mg-Al/L이다[20]. 이러한 응집제 첨가량 범위 내에서의 각각의 응집제에 있어서의 PHB 회수율을 비교해 보면, 응집제 처리를 하지 않고 PHB를 회수한 대조군과 거의 유사한 PHB 회수율(평균 82%)을 얻을 수 있었다. 즉, 실제로 사용하는 응집제 농도 범위 내에서는

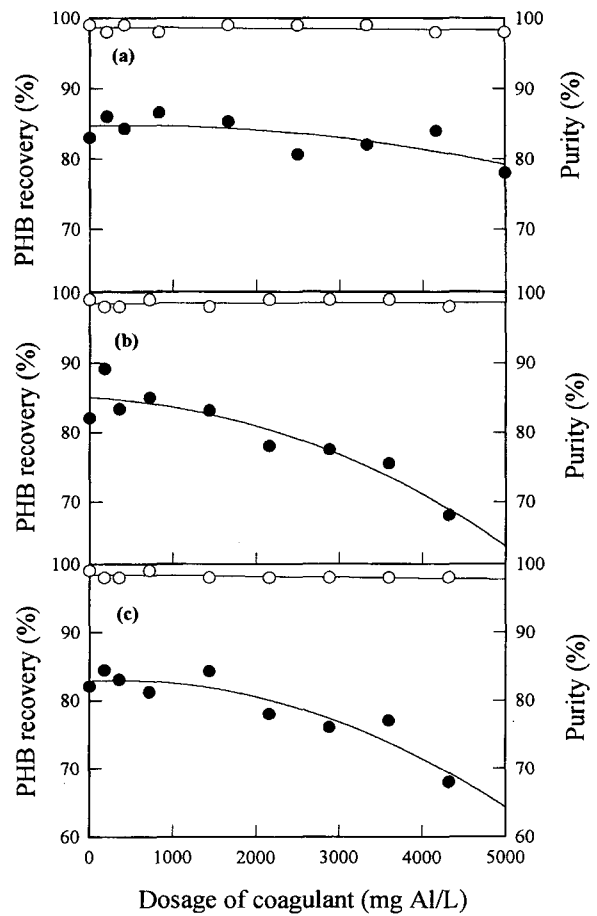


Fig. 1. Effect of Al-based coagulants dosage on recovery and purity of PHB (30% sodium hypochlorite). (a)  $Al_2(SO_4)_3$ , (b) PACS, (c) Hi-PAX. ●, recovery; ○, purity.

응집제의 사용으로 인해 PHB 회수율이 저하되지 않는 것을 알 수 있었다.

Fe계 응집제를 사용했을 경우(Fig. 2), 응집제의 첨가량이 증가할수록 PHB 회수율이 약간 저하되긴 했지만, 높은 응집제 첨가량에서도 비교적 높은 PHB 회수율을 얻을 수 있었다. 무기응집제인  $Fe_2(SO_4)_3$ 를 11,000 mg-Fe/L의 고농도로 첨가하여도 약 79%의 PHB 회수율이 얻어졌다. 50~200 g-DCW/L의 *A. eutrophus* 균체를 응집시키기 위한 Fe계 응집제의 첨가량은 1000 mg-Fe/L 이하이다. 따라서, Fe계 응집제를 첨가하는 것은 PHB 회수율에 거의 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다.

한편, Al계 및 Fe계 응집제로 응집 처리한 균체로 회수한 PHB의 순도는 응집제의 첨가량에 관계없이 98% 이상으로, 응집제의 사용은 PHB의 순도에 아무런 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

#### PHB 회수율에 미치는 sodium hypochlorite 농도의 영향

Fig. 1과 2에 도시한 바와 같이 Al계 응집제의 첨가량

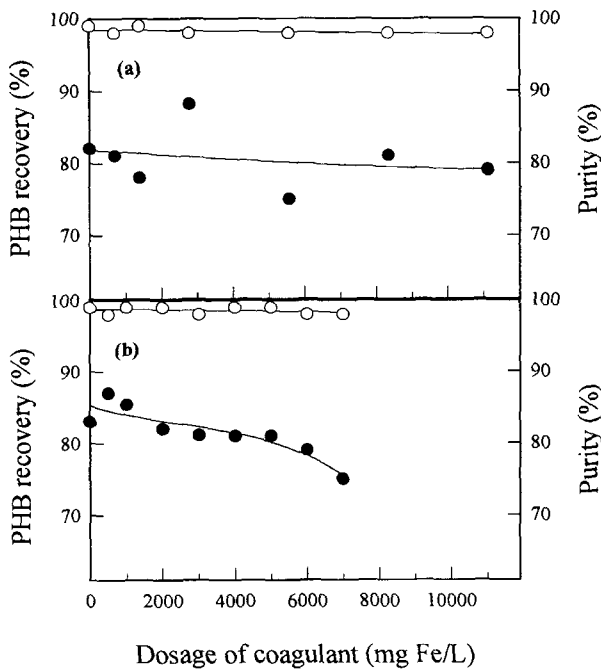


Fig. 2. Effect of Fe-based coagulants dosage on recovery and purity of PHB (30% sodium hypochlorite). (a)  $Fe_2(SO_4)_3$ , (b) Ferix-3. ●, recovery; ○, purity.

이 증가하면 PHB 회수율이 현저하게 저하되었다. 응집제를 과량 사용하였을 경우 PHB 회수율에 미치는 sodium hypochlorite의 농도의 영향을 조사하였다. *A. eutrophus*의 배양액에 2,160 mg-Al/L의 Hi-PAX를 첨가하여 응집 처리한 균체를 30, 35, 40, 45 및 50% sodium hypochlorite 용액으로 처리하여 얻은 PHB회수율과 순도를 Fig. 3에 도시하였다. 30% sodium hypochlorite 용액을 사용한 경우에는 PHB 회수율이 78%에 불과하였으나, PHB 회수율은 sodium hypochlorite의 농도가 증가

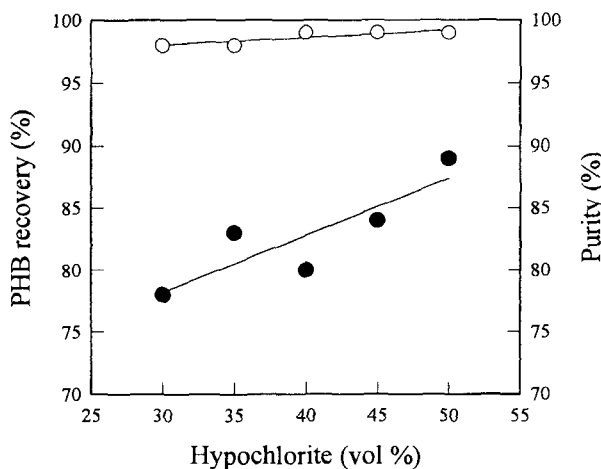


Fig. 3. Effect of sodium hypochlorite concentrations on recovery and purity of PHB (Hi-PAX: 2160 mg Al/L). ●, recovery; ○, purity.

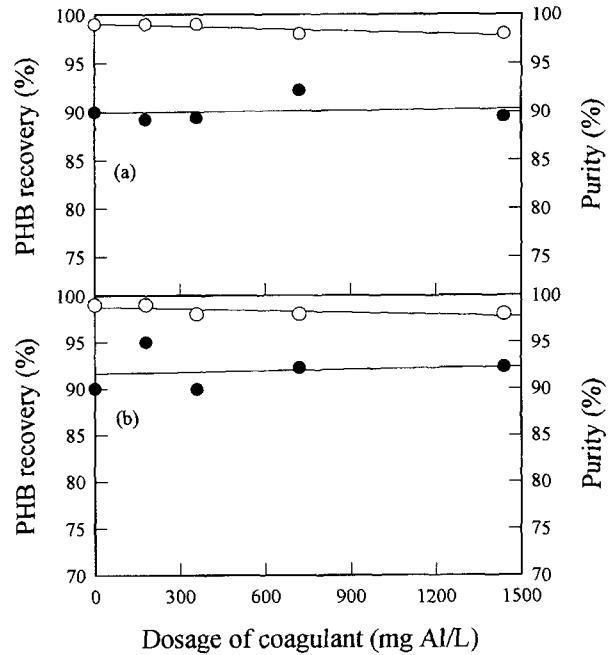


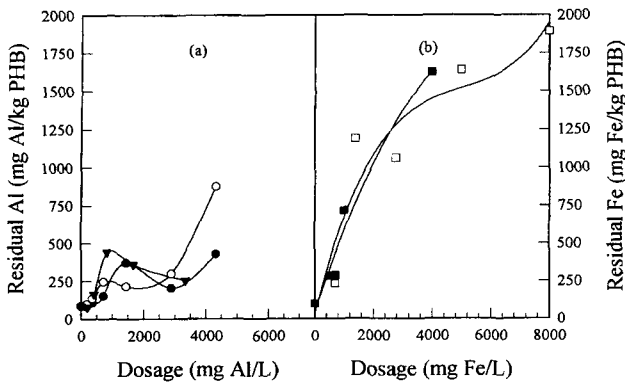
Fig. 4. Effect of Al-based coagulant dosage on recovery and purity of PHB (50% sodium hypochlorite). (a) PACS, (b) Hi-PAX. ●, recovery; ○, purity.

할수록 증가하여 50% sodium hypochlorite 용액을 이용하면 90%의 PHB 회수율을 얻을 수 있었다. 한편, 회수된 PHB의 순도는 sodium hypochlorite의 농도에 관계없이 98%이상으로 매우 높은 순도를 가진 PHB를 얻을 수 있었다.

50% sodium hypochlorite 용액을 사용하여 1,500 mg-Al/L 이하의 응집제 첨가량 범위에서 응집제 첨가량에 따른 PHB 회수율을 비교하였다(Fig. 4). PACS 및 Hi-PAX의 응집제의 종류와 첨가량에 상관없이 PHB 회수율과 순도는 각각 90%와 98% 이상이었다. 이상의 결과들을 살펴 볼 때 응집제의 사용량이 적은 경우에는 (1,000~1,500 mg-Al/L), sodium hypochlorite 용액의 농도에 관계없이 응집제의 첨가가 PHB 회수에 영향을 미치지 않음을 알 수 있다.

회수된 PHB의 잔류 Al 및 Fe 농도

응집 처리한 균체로부터 회수한 PHB의 잔류 Al 및 Fe 농도를 측정된 결과를 Fig. 5에 도시하였다. 응집제를 첨가하지 않은 배양액으로부터 회수한 균체에서 추출한 PHB 중의 잔류 Al 및 Fe 농도는 각각 86 mg-Al/kg-PHB 및 100 mg-Fe/kg-PHB이었다. 응집제를 첨가하지 않은 경우에도 정제 PHB에 Al과 Fe가 검출되는 것은 사용된 용매로부터 기인되는 것으로 사료된다. Al계 응집제에서 (Fig. 5-a), 첨가된 응집제의 첨가량이 1000 mg-Al/L이하의 범위에서는 무기 고분자 응집제인 PACS와

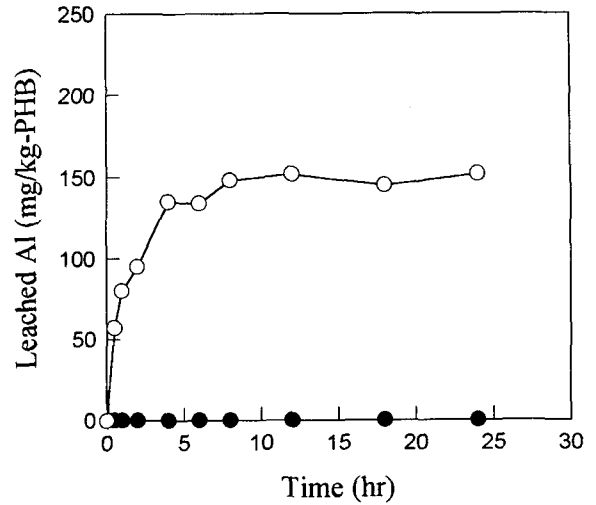


**Fig. 5. Residual Al and Fe concentration in purified PHB.** (a) Al-based coagulants, (b) Fe-based coagulants. ▲, Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>; ●, PACS; ○, Hi-PAX; ■, Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>; □, Ferix-3.

Hi-PAX를 사용했을 경우 잔류 Al의 양은 250 mg-Al/kg-PHB 이하이었다. 반면에, 무기 응집제인 Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>의 경우 잔류 Al의 농도가 450 mg-Al/kg-PHB로 약 1.8배 높았다. Fe계 응집제의 경우, 응집제 첨가량에 따른 잔류 Fe의 농도는 응집제의 종류에 관계없이 거의 유사한 값을 나타내었다. Fe계 응집제의 사용 첨가량 범위는 1000 mg-Fe/L 이하이므로 회수된 PHB의 잔류 Fe 농도는 750 mg-Fe/kg-PHB 이하이었다.

정제 PHB에 함유된 Al과 Fe는 미량 함유되어 있기 때문에 성형성이나 물성에 영향을 미치지 않았다. 그러나, Al계 응집제와는 달리 Fe계 응집제를 사용하여 회수한 PHB는 옅은 붉은 색으로 착색되는 문제점이 있었다. 따라서, 응집제를 이용한 세포의 회수와 PHB의 정제 공정에 적합한 응집제로는 응집효율, 잔류 Al과 Fe 및 정제 PHB의 색상 등을 고려할 때 Fe계 보다는 Al계 응집제가 바람직 한 것으로 사료된다.

생분해성 고분자의 활용가능성이 높은 용품들로는 쓰레기 봉투, 쇼핑 백, 식품 보관용 필름용기, 낚시나 등산 및 야외 레저용품, 세제용기, 화장품 용기, 농업용 필름 및 유아용품 등이다. 장난감과 같은 유아용품이나 의료 용 또는 식품보관 등에 사용되는 경우를 제외하고는 정제 PHB에 함유된 미량의 Al이 큰 문제가 되지 않는 것이다. 용액을 담아놓는 용도로 PHB를 사용하는 경우에는 액상으로 잔류 Al이 용출될 가능성이 있다. 따라서, 정제 PHB를 이용하여 성형된 플라스틱 제품에서의 Al 용출량을 산성 용액에서 조사하였다. 2 mm 두께의 필름과 PHB 분말을 각각 0.1 N HCl 용액에 첨가하여 시간에 따른 Al의 용출량을 측정하였다(Fig. 6). PHB 분말에서는 용출 4시간만에 약 100 mg-Al/kg-PHB가 용출되었고, 8시간 이후에는 약 150 mg/kg-PHB이 용출되었고, 더 이상의 Al이 용출되지 않는 것이다. 이는 PHB에 함유된 Al의 약 60%가 용출된 것이다. 반면에, PHB 분말과는 달리 성형 제품인 PHB 필름에서는 Al이 용출되지 않았



**Fig. 6. Acid leaching of Al from purified PHB powder and film.** ○, powder; ●, film.

다. 결론적으로, 정제 PHB에서의 잔류 Al가 성형플라스틱 제품에 영향을 미치지 않기 때문에 본 연구에서 제안한 바와 같이 배양액을 응집 처리하여 균체를 회수하고, 회수균체로부터 PHB를 정제하는 공정의 활용이 가능하다 할 수 있다.

### 요 약

생분해성 고분자인 poly(3-hydroxybutyrate, PHB)를 생산하는 *Alcaligenes eutrophus*의 배양액에 응집제를 첨가하여 회수한 균체로부터 용매추출법에 의한 PHB 회수와 순도에 미치는 응집제의 영향을 조사하였다. 응집제는 Al계 3종류와 Fe계 2종류를 사용하였다. 균체로부터 PHB는 30%로 회석한 hypochlorite 용액과 chloroform 혼합용액을 이용하여 추출·회수하였다. Al계 응집제들의 경우, 응집제의 첨가량이 1,000 mg-Al/L 이하의 농도에서는 PHB 회수율이 응집제를 첨가하지 않은 경우의 회수율(82%)과 거의 비슷하였고, 1000 mg-Al/L 이상의 농도에서는 응집제 첨가량이 증가함에 따라 PHB 회수율이 감소하였다. PHB 추출에 사용한 hypochlorite 용액의 농도를 50%로 증가시키면, 응집제를 2000 mg-Al/L까지 높은 농도로 첨가하여도 90% 이상의 PHB 회수율을 얻을 수 있었다. 회수된 PHB의 순도는 응집제의 종류와 용량에 관계없이 98% 이상으로 매우 높았다. Fe계 응집제의 경우, 응집제의 용량은 PHB의 회수율에 거의 영향을 미치지 않았으나, 회수된 PHB 중의 잔류 Fe의 농도가 높았고, 잔류 Fe에 의해 정제한 PHB가 옅은 적색으로 착색되었다. 세포의 회수와 PHB의 정제 공정에 적합한 응집제로는 응집효율, 잔류 Al과 Fe 및 정제 PHB의 색상 등을 고려할 때 Fe계 보다는

A1계 응집제가 적합하였다.

### 감사의 말

본 연구는 1997년도 과학기술처 G7 선도기술과제 연구비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. Anonymous. 1990. Biodegradable plastics hits the production line. *News Scientist* **126**: 36.
2. Baptist, J. N. 1962. Process for preparing poly- $\beta$ -hydroxybutyric acid. U. S. Patent 3,044,942.
3. Berger, R., B. A. Ramsay, J. A. Ramsay, C. Chavarie, and G. Braunegg. 1989. PHB recovery by hypochlorite digestion of non-PHB biomass. *Biotechnol. Tech.* **3**: 227–232.
4. Brandl, H., R. A. Gross, R. W. Lenz, and R. C. Fuller. 1990. Plastics from bacteria and for bacteria: poly( $\beta$ -hydroxyalkanoates) as natural, biocompatible, and biodegradable polyesters. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **41**: 77–93.
5. Byrom, D. 1987. Polymer synthesis by microorganisms: technology and economics. *TIBTECH* **5**: 246–250.
6. Cho, K. S., H. W. Ryu, and C. H. Park. 1996. Production of polyalkanoates from swine wastewater. *J. Korea Soc. Environ. Eng.* **18**: 1259–1270.
7. 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. *Biotechnol. Lett.* **19**: 7–10.
8. Cho, K. S., H. W. Ryu, J. W. Kwak, H. W. Chung, and Y. K. Chang. 1998. Cell separation from high density culture broths of *Alcaligenes eutrophus* by using Al-based coagulants. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* (in press).
9. Doi, Y. 1990. *Microbial Polyesters*, VCH, New York.
10. Hahn, S. K., Y. K. Chang, and S. Y. Lee. 1995. Recovery and characterization of poly(3-hydroxybutyric acid) synthesized in *Alcaligenes eutrophus* and recombinant *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**: 34–39.
11. Hahn, S. K., Y. K. Chang, B. S. Kim, and H. N. Chang. 1994. Optimization of microbial poly(3-hydroxybutyrate) recovery using dispersions of sodium hypochlorite solution and chloroform. *Biotechnol. Bioeng.* **44**: 256–261.
12. Holmes, P. A. and G. B. Lim. 1990. Separation process. U. S. patent 4,910,145.
13. Kim, B. S., S. C. Lee, S. Y. Lee, H. N. Chang, Y. K. Chang, and S. I. Woo. 1994. Production of poly-3-hydroxybutyric acid by fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus* with glucose concentration control. *Biotechnol. Bioeng.* **43**: 892–898.
14. Kim, B. S., S. C. Lee, S. Y. Lee, H. N. Chang, Y. K. Chang, and S. I. Woo. 1994. Production of 3-hydroxybutyric-co-3-hydroxyvaleric acid by fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus* with substrate control using on-line glucose analyzer. *Enzyme Microbiol. Technol.* **16**: 556–561.
15. Kim, B. S., S. Y. Lee, and H. N. Chang. 1992. Production of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate by fed-batch culture of recombinant *Escherichia coli*. *Biotechnol. Lett.* **14**: 811–816.
16. Lafferty, R. M., B. Korsatko, and W. Korsatko. 1988. Microbial production of poly- $\beta$ -hydroxybutyric acid, pp. 135–176. In H. J. Rehm and G. Reed (eds), *Biotechnology*, vol. 6b. VHC, Weinheim.
17. Lee, S. Y., K. S. Yim, H. N. Chang, and Y. K. Chang. 1994. Construction of plasmids, estimation of plasmid stability, and use of stable plasmids for the production of poly(3-hydroxybutyric acid) in *Escherichia coli*. *J. Biotechnol.* **32**: 203–211.
18. Mateus, M., J. A. L. Santos, and J. M. S. Cabral. 1992. Membrane separation processes, pp. 177–222. In J. F. Kennedy and J. M. S. Cabral(eds), *Recovery Processes for Biological Materials*. Wiley, New York.
19. Page, W. J. 1992. Production of polyhydroxyalkanoates by *Azotobacter vinelandii* UWD in beet molasses culture. *FEMS Microbiol. Rev.* **103**: 149–158.
20. Pinheiro, H. and J. M. S. Cabral. 1992. Centrifugation, pp. 133–175. In J. F. Kennedy and J. M. S. Cabral(eds), *Recovery Processes for Biological Materials*. Wiley, New York.
21. Pinheiro, H. and J. M. S. Cabral. 1992. Filtration, pp. 67–95. In J. F. Kennedy and J. M. S. Cabral(eds), *Recovery Processes for Biological Materials*. Wiley, New York.
22. Pinheiro, H. and J. M. S. Cabral. 1992. Sedimentation, pp. 97–131. In J. F. Kennedy and J. M. S. Cabral(eds), *Recovery Processes for Biological Materials*. Wiley, New York.
23. Pries, A., A. Steinbuchel, and H. G. Schlegel. 1990. Lactose and galactose utilizing strains of poly(hydroxyalkanoic acid) accumulation *Alcaligenes eutrophus* and *Pseudomonas saccharophila* by recombinant DNA technology. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **33**: 410–417.
24. Ramsay, J. A., E. Berger, B. A. Ramsay, and C. Chavarie. 1990. Recovery of poly- $\beta$ -hydroxybutyric acid granules by a surfactant hypochlorite treatment. *Biotechnol. Tech.* **4**: 221–226.
25. Ramsay, J. A., E. Berger, R. Voyer, C. Chavarie, and B. A. Ramsay. 1994. Extraction of poly-3-hydroxybutyrate using chlorinated solvents. *Biotechnol. Lett.* **8**: 589–594.
26. Ryu, H. W., K. S. Cho, J. W. Kwak, and Y. K. Chang. 1998. Effect of Fe-based coagulants on cell separation efficiency from *Alcaligenes eutrophus* culture. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* (in press).
27. Ryu, H. W., K. S. Cho, Y. K. Chang, and H. N. Chang.

1996. Cell separation from high cell density broths of *Alcaligenes eutrophus* by using a coagulant. *Biotechnol. Techniques* **10**: 899-904.
28. Ryu, H. W., S. K. Hahn, Y. K. Chang, and H. N. Chang. 1997. Production of poly(3-hydroxybutyrate) by high cell density fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus* with phosphate limitation. *Biotechnol. Bioeng.* **55**: 28–32.
29. Steinbuchel, A. and P. Schubert. 1989. Expression of the *Alcaligenes eutrophus* poly( $\beta$ -hydroxyalkanoic acid) synthetic pathway in *Pseudomonas oleovorans*. *Arch. Microbiol.* **153**: 101–104.
30. Timm, A., D. Byrom, and A. Steinbuchel. 1990. Formation of blends of various poly(3-hydroxyalkanoic acid) by a recombinant strain of *Pseudomonas oleovorans*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **33**: 296–301.

(Received January 30, 1998)