

배지조성이 *Gluconacetobacter hansenii* PJK의 Bacterial Cellulose 생산에 미치는 영향

정재용 · 박연희 · † 박종곤

경북대학교 화학공학과

(접수 : 2003. 1. 24., 계재승인 : 2003. 4. 28.)

Effect of Medium Composition on the Bacterial Cellulose Production by *Gluconacetobacter hansenii* PJK

Jae Yong Jung, Youn Hee Park, and Joong Kon Park†

Department of Chemical Engineering, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

(Received : 2003. 1. 24., Accepted : 2003. 4. 28.)

The effect of medium composition on the production of bacterial cellulose (BC) by *Gluconacetobacter hansenii* PJK was investigated. The addition of yeast extract and peptone in the medium increased the production yield ($Y_{P/S}$) of BC. The amount of BC produced by *G. hansenii* PJK was constant if the initial pH of the medium was in the range 4.5 to 6.0. Strains from the supernatant of the culture medium produced more BC than those from inside the BC. BC production was dependent on glucose metabolism, and the addition of fructose or lactate as a carbon source converted cells to Cel⁻ mutants. Cel⁻ mutants produced by the addition of fructose or lactate to the medium caused 73% or 30% decreases in BC production, respectively. The addition of succinate, which is one of the constituents of the TCA cycle, did not affect the production of BC.

Key Words : Bacterial cellulose, *Gluconacetobacter hansenii* PJK, Cel⁻ mutants

서 론

Cellulose는 자연계에서 가장 풍부한 재생 가능 자원으로 glucose가 β -1, 4 결합에 의해 이루어진 고분자 다당류이다. 현재 제지, 펠프산업을 비롯한 다양한 분야에서 사용되고 있음을 뿐만 아니라 상업적 응용분야가 매우 넓어 그 소비량이 크게 증가되고 있다. 따라서 목재에 대한 수요도 갈수록 높아지고 있으나 원료 공급과 환경문제로 인하여 제지 대체물질의 개발에 대한 연구가 점차 대두되고 있다. Cellulose는 식물뿐만 아니라 일부 algae, fungi, 그리고 *Acetobacter*, *Agrobacteria*, *Rhizobia*, *Sarcina* 등과 같은 미생물도 합성할 수 있는 것으로 보고되었다(1). 그 중 *Acetobacter xylinum*은 진핵생물에서 발견되는 cell wall polymer가 아닌 extracellular pellicle로서 분비되는 cellulose를 대량으로 생산할 수 있으며, 특히 이러한 bacterial cellulose (BC)는 식물유래 cellulose에서는 찾아볼 수 없는 독특한 특성으로 인하여 식품으로서 뿐만

아니라 고부가가치 신소재 산업에서 매우 중요한 화제가 되고 있다(2-4). 1886년 Brown(5)에 의해서 최초 보고된 *Acetobacter* strain이 생산하는 BC는 hemicellulose, pectin, lignin 그리고 biogenetic product를 전혀 함유하지 않기 때문에(6) 유해한 by-products 없이 적은 양의 에너지와 화학물질로서 쉽게 고순도의 cellulose를 정제할 수 있다(7). 또한 그 물모양의 BC fibril 구조는 아주 큰 표면적을 가지며 높은 water retention value와 moldability 그리고 강한 인장 강도를 가진다(6, 8). BC의 이러한 우수한 물리학적 특성으로 인하여 스피커 진동판, 지혈대, 식이섬유 등의 실용화 소재로의 연구가 진행되고 있으며, 화학적으로 안정하고 독성이 낮은 특성으로 인하여 화장페드, 인공피부, 인조혈관, paint나 ink의 thickner 등에 사용되고 있다(4, 6, 9). 이상과 같이 *Acetobacter* strain이 생산하는 BC는 산업용 소재, 식품 소재 등에 다양하게 활용될 수 있으며, 특히 환경 친화적 소재라는 점은 무한한 개발 가능성과 다양성을 가지고 있다. 그러나 *Acetobacter* strain은 배양 중 shear rate를 가하게 되면 cellulose를 생산하지 않는 Cel⁻ mutation이 발생하여 BC의 생산성이 매우 낮아지게 된다(10). 따라서 이러한 문제를 해결하고 BC를 산업적 규모로 대량생산하기 위해 교반배양 하에서도 Cel⁻ mutant가 생기지 않는 유전적으로 안정한 미생물의

* Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea.

Tel : +82-53-950-5615, Fax : +82-53-950-6615

E-mail : parkjk@kyungpook.ac.kr

분리(11)와 TCA cycle에 관계되는 lactate, pyruvate, acetate를 기본배지에 첨가하여 BC의 생산량을 증가시키는 연구가 보고되었다(12, 13). 그리고 미생물의 배양조건 검토 및 운전비용을 줄일 수 있는 airlift reactor와 같은 생물 반응기에 대한 연구가 계속되어 왔으나(14-16) 산업화하기에는 여전히 생산성이 매우 낮다.

최근 본 연구실에서는 *Gluconacetobacter hansenii* PJK를 자연계에서부터 분리 및 동정하고 배양 중 shear rate가 BC 생산능에 미치는 영향을 검토한 바 있다(17). 따라서 본 연구에서는 그 후속연구로서 *G. hansenii* PJK를 이용하여 BC 생산에 영향을 미치는 배양조건 및 Cel⁻ mutant 발생에 영향을 미치는 배양조건을 조사함으로써 BC 생산성을 향상시키고자 하였다.

재료 및 방법

사용 균주 및 배지조성

Cellulose를 생산하는 균주는 Park 등(17)이 부패한 사과로부터 분리한 *Gluconacetobacter hansenii* PJK를 실험에 사용하였다. 미생물 배양을 위한 배지로는 BSH 배지 (glucose 20 g/L, yeast extract 5 g/L, peptone 5 g/L, Na₂HPO₄ 2.7 g/L, citric acid · H₂O 1.15 g/L, pH 5.0) (18)와 기본배지로 Son 등(19)이 이용한 배지(glucose 10 g/L, yeast extract 10 g/L, peptone 7 g/L, acetic acid 1.5 ml/L, succinate 0.2 g/L, pH 5.0)를 사용하였다. 균주보관을 위한 고형배지는 기본배지 조성에 agar 15 g/L를 첨가하였다.

배양조건

50 mL의 배지가 함유된 250 mL 용량의 삼각 플라스크에 고형배지에서 보존중인 균주를 백금이로 접종하여 30°C에서 24시간 동안 200 rpm으로 진탕배양 하였다. 배양액은 멸균된 mesh (38 μm)로 여과하여 균일한 세포 혼탁액을 얻은 후 세포 혼탁액 5%를 본 배양액 50 mL가 함유된 250 mL 용량의 삼각 플라스크에 접종하여 30°C에서 진탕배양 하였다.

균체량, BC의 정량 및 glucose 농도 측정

배양액 50 mL를 3580 g로 20분간 원심 분리하여 상동액을 제거한 후 증류수 세척 및 원심분리(3580 × g, 20분) 과정을 2회 거치고 항량이 될 때까지 동결건조(-50°C) 시켜 균이 포함된 BC의 건조중량을 먼저 구하였다. 그후 균이 포함된 BC에 20 mL의 0.3N NaOH를 첨가하여 5분간 끓임으로써 세포를 모두 용해시켰으며 세포가 제거된 순수 BC는 증성이 될 때까지 충분히 세척한 후 동결 건조하여 건조중량을 측정하였다. 균이 포함된 BC의 건조중량과 순수 BC의 건조중량과의 차이로 균체의 건조중량을 측정하였다. 균체의 수는 hemocytometer로 측정하였으며 glucose의 농도는 glucose reagent kit (Sigma no. 510-A)로 측정하였다.

결과 및 고찰

질소원과 acetic acid 첨가가 BC 생산에 미치는 영향

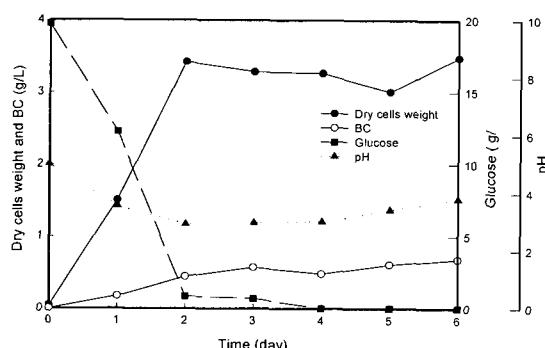
일반적으로 BC 생산을 위한 배지로는 BSH 배지가 잘 알

려져 있으나 최근 cellulose의 생산성을 향상시키기 위하여 다양한 배양조건 및 배지조성에 대한 연구가 진행되고 있다(12, 13, 16). Son 등(19)은 BSH 배지를 기초로 하여 BC 생산 최적배지를 확립한 후 *Acetobacter* sp. A9을 정차배양함으로써 BC 생산량을 약 2배 향상시킨 바 있다. 본 연구에서는 다양한 배지조성 중 BSH 배지와 Son 등(19)이 이용한 배지의 조성을 비교, 검토하고 진탕배양을 실시하여 배양 시간에 따른 균체의 성장과 BC 생산량을 조사함으로써 배지의 조성 변화가 *G. hansenii* PJK의 BC 생산에 미치는 영향을 검토하였다. 본 연구에서 사용된 균주인 *G. hansenii* PJK는 이미 분리 및 동정을 마치고 배양 중 shear rate가 BC에 미치는 영향을 검토한 바 있다(17). Fig. 1에서 보는 바와 같이 BSH 배지보다 Son 등(19)이 사용한 배지를 사용한 경우 균체의 건조중량은 약 0.68배 줄었으나 BC의 생산량은 약 2배 증가하였으며 BC의 생산수율, Y_{PS}는 약 4배 증가하였다. 본 실험에서 사용된 두 배지의 조성을 비교해보면 주 탄소원인 glucose는 BSH 배지가 2배 많으나 질소원인 yeast extract와 peptone은 Son 등(19)이 사용한 배지가 각각 2배, 1.4배 많다. 비록 BC는 glucose가 β-1, 4 결합으로 이루어진 것이나 위 실험의 결과로부터 *G. hansenii* PJK의 경우 탄소원보다는 질소원이 BC 생산에 더 많은 영향을 끼치는 것을 알 수 있으며 적당량의 질소원은 *G. hansenii* PJK가 더 효율적으로 glucose를 이용하도록 유도한다는 것을 알 수 있다. 또한 Toda 등(20)에 의하면 glucose는 대사과정을 통하여 BC의 합성에 필요한 에너지를 제공하고 동시에 BC의 종합을 위한 monomer로서 역할을 하므로 배지에 유기산인 acetic acid의 첨가는 부분적으로 BC 합성에 필요한 에너지를 제공해 주기 때문에 BC의 생산량을 증가시킬 수 있다고 보고하였다. 본 실험에서 Son 등이 사용한 배지의 성분 중에는 BSH배지와 달리 acetic acid가 포함되어 있는데 이 acetic acid가 BC의 생산량을 증가시키는데 영향을 끼친 것으로 추측된다.

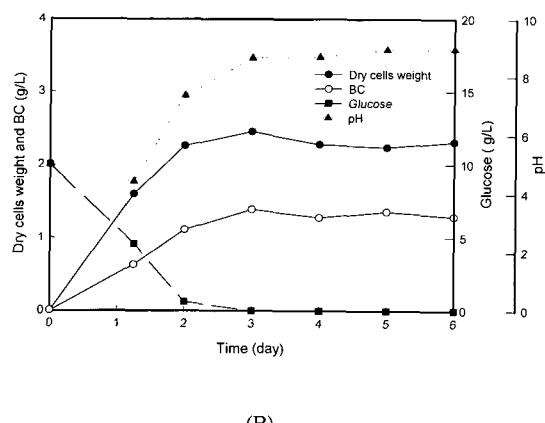
Acetic acid가 BC의 생산량을 증가시키는데 영향을 끼치는지 알아보기 위하여 Son 등(19)이 사용한 배지에서 첨가되는 acetic acid의 농도를 변화시켜 5일간 진탕 배양한 후 균체 및 BC의 생산량을 측정해 보았다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 균체의 성장과 BC의 생산량은 acetic acid의 농도가 각각 1.0%, 0.15% 일 때 최대 최대값을 나타내었다. 따라서 위 실험의 결과로부터 BC의 생산량을 높이기 위해서는 질소원 및 acetic acid가 중요한 인자로 작용한다는 것을 알 수 있으며 배지에 일정량 이상의 acetic acid가 첨가되면 BC의 생산보다는 오히려 균체의 성장에 더 많은 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다.

배양 중 pH의 변화는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 두 배지 조성 모두 다 배양시간에 따라 감소하다가 증가하는 것을 알 수 있다. 일반적으로 *Acetobacter* strain은 glucose를 탄소원으로 사용할 경우 배양 중 membrane-bounded glucose dehydrogenase에 의해 glucose 일부가 gluconate로 전환되어 배양액의 pH를 감소시키며(21) 배양시간이 더 진행됨에 따라 생성된 gluconate를 미생물이 소모하므로 배양액의 pH가 다시 증가되는 것으로 알려져 있다(19). 따라서 Fig. 1에서 보는 바와 같이 pH가 감소하다가 증가하는 것은 배양초기에는 glucose가 gluconate로 전환되었다가 배양시간이 지남에 따라

gluconate가 소모되기 때문인 것으로 추측된다. 또한 Son 등이 사용한 배지를 사용한 경우 배양액의 pH의 증가폭이 BSH 배지를 사용한 경우보다 더 큰데 이는 미생물이 성장하면서 산성을 나타내는 acetic acid를 소모하기 때문이다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 배양 5일 후 배양액의 pH는 acetic acid가 없는 경우에는 초기 pH(pH 5.0)와 거의 변화가 없는 반면 acetic acid가 있는 경우에는 pH가 1.7배 증가된 것을 알 수 있다. 따라서 배양 중 미생물에 의한 acetic acid의 소모는 배양액의 pH를 증가시킨다는 것을 알 수 있다. 그러나 acetic acid가 과량 (2.0%)으로 첨가된 경우에는 배양 5일 이후에도 미생물이 분해하지 못한 잔류 acetic acid가 배양액에 존재하기 때문에 배양액의 pH는 초기 pH와 거의 변화가 없는 것으로 추측된다.



(A)



(B)

Figure 1. Time course of cellulose production by *G. hansenii* PJK in BSH medium (A) and Son's medium (B).

초기 pH 및 접종방법이 BC 생산에 미치는 영향

배지의 초기 pH가 BC 생산에 미치는 영향을 검토하기 위해서 기본 배지의 초기 pH를 4.5-6.0로 조절하여 미생물을 5일간 배양한 후 균체 및 BC의 건조중량을 측정하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 pH 4.5-6.0 범위에서는 BC의 건조 중량이 약 1.3 g/L으로 모두 비슷한 BC 생산능을 나타내었으며 pH 6.5에서는 pH 4.5-6.0 범위에서의 BC 건조 중량보다

약 23% 감소하였다. 따라서 *G. hansenii* PJK의 BC 생산능은 pH 4.5-6.0 범위에서 초기 pH의 영향을 거의 받지 않는다는 것을 알 수 있다. Jonas와 Farah(22)에 의하면 BC 생산 균주인 *Acetobacter xylinum*에 의한 BC 생산의 최적 pH는 4-7로 보고하였고 Son 등(19)은 *Acetobacter* sp. A9의 경우 pH 6.5-8에서 높은 BC 생산능을 나타내며 pH 6.5에서 최대 BC 생산능을 나타내는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 사용된 *G. hansenii* PJK에 의한 BC 생산능은 Son 등(19)의 보고보다는 Jonas와 Farah(22)의 보고와 유사한 결과를 나타내었다.

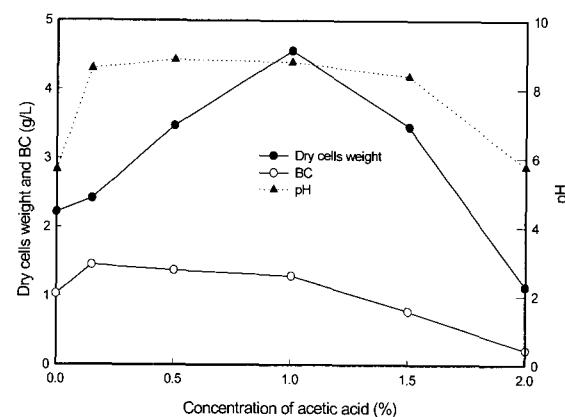


Figure 2. Effect of concentration of acetic acid on BC production by *G. hansenii* PJK. Cells were cultivated at 30 °C for 5 days.

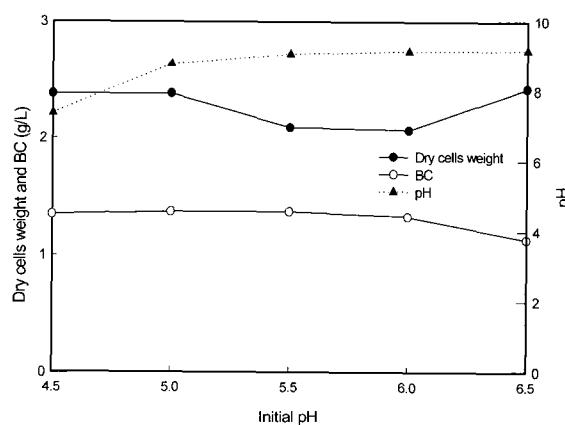


Figure 3. Effects of initial pH on BC production by *G. hansenii* PJK.

*A. xylinum*의 경우 shear stress를 가하게 되면 Cell mutation이 발생하게 되므로 이러한 mutation 발생을 최소화하기 위해서 대부분 전배양은 정치배양을 사용하였다. 즉 미생물을 3일간 정치 배양시킨 후 배양액 표면에 생성된 cellulose pellicle을 제거하고 배양액을 새로운 배지에 접종하여 진탕 및 교반배양을 실시하였다(11, 13, 16). 본 실험에서는 정치배양으로 인한 BC 생산에 소요되는 시간을 단축하기 위해서 정치배양 없이 진탕배양으로 전배양을 실시하여 BC

생산능을 확인하였다. 유체의 흐름속도 구배로 발생하는 shear stress가 BC 생산에 미치는 영향을 확인하기 위하여 고형배지에서 보관 중인 colony를 기본 배지에서 200 rpm으로 1일간 전배양한 후 상대적으로 shear stress를 많이 받게 되는 배양 상동액에 존재하는 균체와 BC의 내부에 존재하여 유체의 흐름에 의한 shear stress로부터 보호되는 균체를 새로운 배지에 접종하여 150, 200 rpm으로 5일간 진탕배양 하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 150 rpm으로 배양한 경우보다 상대적으로 물질전달이 더 원활하게 이루어지고 shear stress를 많이 받는 200 rpm으로 배양한 경우 BC의 생산량이 더 많은 것을 알 수 있다. 또한 200 rpm으로 배양한 경우 BC의 내부에 존재하는 균체보다는 배양액의 상동액에 존재하는 균체를 접종했을 때 BC의 생산량이 약 1.2배 높은 것을 알 수 있다. 배양 상동액에 존재하는 균체와 BC의 내부에 존재하는 균체의 수를 측정해 본 결과 각각 1.72×10^{11} cells/L, 0.52×10^{11} cells/L으로 배양 상동액에 존재하는 균체의 수가 약 3배 많았다. 따라서 전배양시 BC 생산에 영향을 미치는 인자는 shear stress보다는 접종되는 균체의 수와 물질전달이라는 것을 알 수 있으며 BC 내부에 있는 균체보다 배양 상동액에 존재하는 균체가 더 우수한 BC 생산능을 가진다는 것을 알 수 있다.

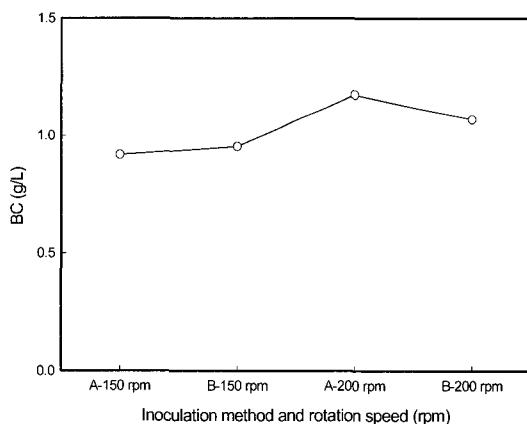


Figure 4. Effects of inoculum and rotation speed on BC production by *G. hansenii* PJK. A: Inoculum of cells from supernatant, B: Inoculum of cells from inner BC.

주 탄소원이 BC 생산에 미치는 영향

기본배지에 주 탄소원으로 glucose와 fructose를 사용하여 탄소원이 균체의 성장 및 BC의 생산에 미치는 영향을 조사하였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 glucose의 농도를 2배 높여주면 cell 및 BC의 건조중량은 증가하였으나 BC의 생산수율, Y_{PS} 는 0.1에서 0.066으로 오히려 0.66배 감소하였다. Vandamme 등(21)은 *A. xylinum*을 배양할 경우 membrane-bounded glucose dehydrogenase에 의해 glucose의 일부가 gluconate로 전환되어 배양액의 pH를 낮추고 이로 인해 BC의 생산수율이 낮아진다고 보고하였다. Glucose를 20 g/L로 침가해 준 경우 배양액의 pH는 다른 경우에 비해 약 50% 낮아졌는데 이는 미생물의 대사과정 중 과도한 gluconate가

생성되어 배양액의 pH를 감소시킴으로서 BC의 생산 수율, Y_{PS} 가 낮아진 것으로 추측된다. 일반적으로 *A. xylinum*의 경우 BC를 생산할 때는 배양기간동안 배양액이 맑은 상태를 유지하나 BC를 생산하지 않는 Cel⁻ mutant가 발생하면 배양액의 탁도가 나타나는 것으로 알려져 있으며(11), 본 연구에서 사용된 *G. hansenii* PJK도 BSH배지에서 진탕배양 후 2일이 지나면 Cel⁻ mutant가 발생하여 배양액의 탁도가 나타나기 시작한다고 보고된 바 있다(17). 탄소원으로 glucose 대신 fructose를 사용하여 배양한 경우에서도 배양액에 탁도가 났으며 배양 5일째 BC의 생산량은 약 70%나 감소하였다. Naritomi 등(23)에 의하면 *A. xylinum* subsp. *sucrofermentans* BPR3001A의 경우 fructose metabolism에 의해 BC가 생산되는 것으로 보고하였다. 따라서 위 실험의 결과로부터 *G. hansenii* PJK의 경우 fructose보다는 glucose metabolism에 의해 BC가 생산되는 것을 알 수 있으며 탄소원으로써 glucose보다는 fructose를 사용하면 Cel⁻ mutants가 발생하고 BC의 생산수율이 감소함을 알 수 있었다.

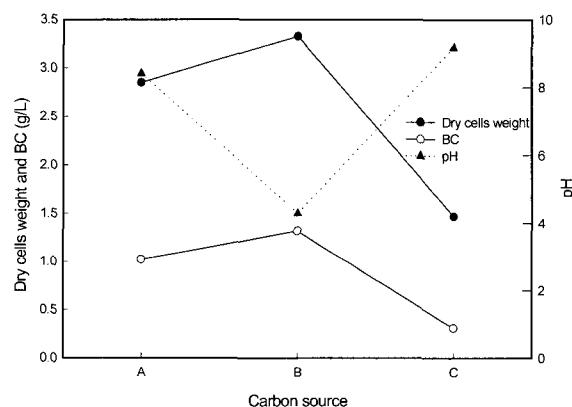


Figure 5. Effects of several substrates on BC production *G. hansenii* PJK. A: Glucose 10 g/L, B: Glucose 20 g/L, C: Fructose 10 g/L.

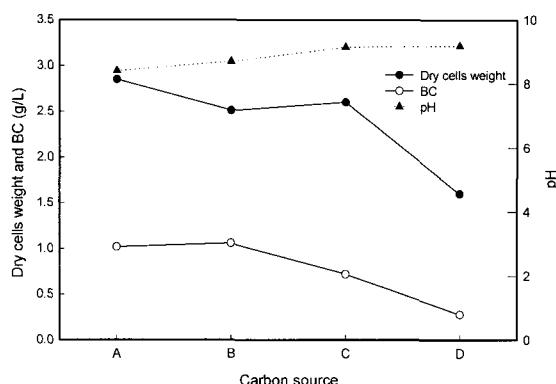


Figure 6. Effects of several substrates on BC production *G. hansenii* PJK. A: Glucose 10 g/L, B: Glucose 10 g/L + Lactate 1 g/L, C: Glucose 10 g/L + Lactate 10 g/L, D: Fructose 10 g/L + Lactate 10 g/L.

보조 탄소원이 BC 생산에 미치는 영향

Matsuoka 등(12)은 *A. xylinum* subsp. *sucrofermentans* BPR 2001의 경우 배지조성 중 탄소원으로 fructose 40 g/L 이외에 TCA cycle에 관여하는 11 mmol/L의 lactate를 첨가하여 BC의 생산성을 향상시켰으며 Son 등(19)은 *Acetobacter* sp. A9의 경우 기본배지 조성에 TCA cycle과 연계되어 있는 물질인 0.2 g/L의 succinate를 첨가함으로써 BC의 생산수율을 약 1.3배 높였다. 따라서 본 실험에서는 보조 탄소원인 lactate와 succinate가 BC 생산에 미치는 영향을 확인하였다. Figure 6에서 보는 바와 같이 기본배지조성에 lactate를 1.0 g/L (약 11 mmol/L) 첨가시킨 경우 첨가하지 않은 경우와 비교해 볼 때 BC의 생산량은 거의 변화가 없었으나 lactate를 10 g/L 첨가한 경우 BC의 생산량은 오히려 30% 감소하였으며 fructose에 lactate를 첨가한 경우에는 약 70% 감소하였다. Lactate를 10 g/L 첨가한 경우에도 배양 2일째 Cel⁻ mutant가 발생하여 배양액의 탁도가 나타나기 시작했으며 배양 5일째는 배양액이 매우 탁해졌다. 기본배지에서 배양된 미생물의 경우 배양 3일 이후부터 배양액에 탁도가 나타나기 시작하나 배양 5일째가 되어도 10 g/L의 lactate를 첨가한 경우처럼 배양액 전체를 완전 불투명하게 하지는 않았다. Matsuoka 등(12)은 배지 조성에 첨가된 lactate는 fructose의 대사흐름을 BC 합성에서 TCA cycle로 전환시킴으로써 균체의 성장이 높아지게 되고 그 결과 BC의 생산성도 증가된다고 보고하였다. 그러나 *G. hansenii* PJK의 경우 배지에 lactate의 농도가 높아지면 Matsuoka 등(12)의 보고와는 달리 Cel⁻ mutant의 발생빈도가 높아지고 Cel⁻ mutant의 성장을 촉진함으로써 오히려 BC의 생산량을 감소시키는 것을 알 수 있었다. 결과적으로 *G. hansenii* PJK는 주 탄소원으로 fructose를 사용하거나 배지조성에 lactate를 첨가해 주면 Cel⁻ mutant의 성장을 촉진시켜 오히려 BC 생산능을 감소시킨다는 것을 알 수 있었다. 기본배지에 포함되는 succinate를 농도별로 변화시켜 미생물을 5일간 배양한 후 균체 및 BC의 생산량을 측정하였다.

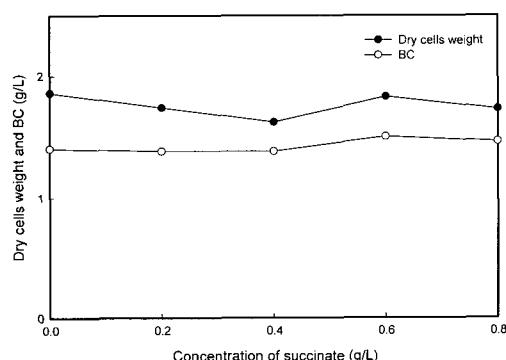


Figure 7. Effects of succinate supplemented into the medium on BC production by *G. hansenii* PJK.

Fig. 7에서 보는 바와 같이 *G. hansenii* PJK의 경우 배지에 첨가되는 succinate는 BC의 생산에 거의 영향을 미치지 않는다는 것을 알 수 있다. 또한 succinate의 농도를 변화시키더라도 배양액의 탁도는 어떠한 차이점도 관찰되지 않았다. 따

라서 TCA cycle에 위치하는 succinate는 lactate와 달리 Cel⁻ mutant의 발생 및 성장을 촉진하지 않는다는 것을 알 수 있다.

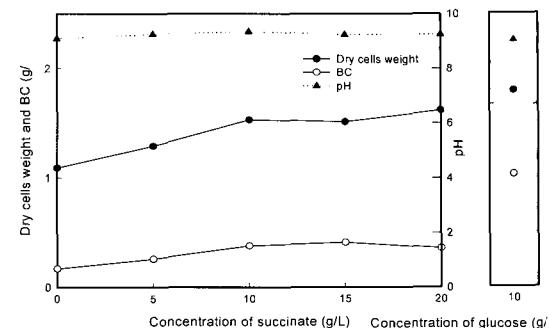


Figure 8. Effects of succinate as a carbon source on BC production by *G. hansenii* PJK.

Succinate가 BC 생산에 미치는 영향을 확인하기 위해서 배지조성 중 주 탄소원인 glucose 없이 succinate의 농도를 변화시켜 균체 및 BC의 생산량을 측정해 보았다. Fig. 8에서 보는 바와 같이 주 탄소원으로 succinate를 사용하더라도 succinate는 BC 생산에 거의 영향을 미치지 않는다는 것을 알 수 있다.

요약

Gluconacetobacter hansenii PJK의 경우 배지 조성 중 탄소원보다는 질소원 및 acetic acid가 BC 생산에 더 많은 영향을 미쳤다. 또한 BC 생산능은 pH 4.5-6.0 범위에서 배지의 초기 pH 영향을 거의 받지 않았으며 BC에 둘러싸인 균주보다 배양 상등액에 존재하는 균주의 BC 생산능이 더 우수하였다. *G. hansenii* PJK의 BC 생산은 fructose metabolism이 아닌 glucose metabolism으로 이루어지며 배지 성분 중 fructose와 lactate는 Cel⁻ mutant의 발생 및 성장을 촉진시켰으며 TCA cycle에 위치하는 succinate의 첨가는 BC 생산에 거의 영향을 미치지 않았다.

감사

이 논문은 2002년도 경북대학교 특성화사업팀(KNURT) 연구비에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

1. Delmer, D. P (1999), Cellulose biosynthesis: Exciting times for a difficult field of study, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **50**, 245-276.
2. Delmer, D. P. and Y. Amor (1995), Cellulose biosynthesis, *Plant Cell* **7**, 987-1000.
3. Yamanaka, S., K. Watanabe, N. Kitamura, M. Iguchi, S. Mitsuhashi, Y. Nishi, and M. Uryu (1989), The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose,

- J. Mat. Sci.* **24**, 3141-3145.
4. Cannon, R. E. and S. M. Anderson (1991), Biogenesis of bacterial cellulose, *Crit. Rev. Microbiol.* **17**, 435-447.
 5. Brown, A. J. (1886), An acetic acid ferment which forms cellulose, *J. Chem. Soc.* **49**, 432-439.
 6. Klemm D., D. Schumann, U. Udhard, and S. Marsch (2001), Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery, *Prog. Polym. Sci.* **26**, 1561-1603.
 7. Embuscado, M. E., J. S. Marks, and J. N. BeMiller (1994), Bacterial cellulose. II. Optimization of cellulose production by *Acetobacter xylinum* through response surface methodology, *Food Hydrocoll.* **8**, 419-430.
 8. Yoshino, T., T. Asakura, and K. Toda (1996), Cellulose production by *Acetobacter pasteurianus* on silicone membrane, *J. Ferment. Bioeng.* **81**, 32-36.
 9. Shibasaki, H., S. Kuga, F. Onabe, and M. Usuda (1993), Bacterial cellulose membrane as separation medium, *J. Appl. Polym. Sci.* **50**, 965-969.
 10. Valla, S. and J. Kjosbakken (1981), Cellulose-negative mutants of *Acetobacter xylinum*, *J. General Microb.* **128**, 1401-1408.
 11. Toyosaki, H., T. Naritomi, A. Seto, M. Matsuoka, T. Tsuchida, and F. Yoshinaga (1995), Screening of bacterial cellulose-producing *Acetobacter* strains suitable for agitated culture, *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**, 1498-1502.
 12. Matsuoka, M., T. Tsuchida, K. Matsushita, O. Adachi, F. Yoshinaga (1996), A Synthetic Medium for Bacterial Cellulose Production by *Acetobacter xylinum* subsp. *sucrofermentans*. *Biosci. Biotech. Biochem.* **60**, 575-579.
 13. Naritomi, T., T. Kouda, H. Yano, F. Yoshinaga (1998), Effect of Lactate on Bacterial Cellulose Production from Fructose in Continuous Culture, *J. Ferment. Bioeng.* **85**, 89-95.
 14. Kouda, T., T. Naritomi, H. Yano, and F. Yoshinaga (1997), Effects of oxygen and carbon dioxide pressures on bacterial cellulose production by *Acetobacter* in aerated and agitated culture, *J. Ferment. Bioeng.* **84**, 124-127.
 15. Chao, Y., T. Ishida, Y., Sugano, and M. Shoda (2000), Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* in a 50-L internal-loop airlift reactor, *Biotechnol. Bioeng.* **68**, 345-352.
 16. Chao, Y., M. Mitarai, Y. Sugano, and M. Shoda (2001), Effect of addition of water-soluble polysaccharides on bacterial cellulose production in a 50-L airlift reactor, *Biotechnol. Prog.* **17**, 781-785.
 17. Park, J. K., Y. H. Park, and J. Y. Jung (2003), Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* PJK isolated from rotten apple, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, in press.
 18. Hestrin, B., and M. Schramm (1954), Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose, *Biochem. J.* **58**, 345-352.
 19. Son, H. J., O. M. Lee, Y. G. Kim, Y. K. Park, and S. J. Lee (2000), Characteristics of cellulose production by *Acetobacter* sp. A9 in static culture, *Korean. J. Biotechnol. Bioeng.* **15**, 573-577.
 20. Toda, K., T. Asakura, M. Fukaya, E. Entani, and Y. Kawamura (1997), Cellulose production by acetic acid-resistant *Acetobacter xylinum*, *J. Ferment. Bioeng.* **84**, 228-231.
 21. Vandamme, E. J., S. De Baets, A. Vanbaelen, K. Joris, and P. De Wulf (1998), Improved production of bacterial cellulose and its application potential, *Polym. Degrad. Stabil.* **59**, 93-99.
 22. Jonas, R. and L. F. Farah (1998), Production and application of microbial cellulose, *Polym. Degrad. Stabil.* **59**, 101-106.
 23. Naritomi, T., T. Kouda, H. Yano, and F. Yoshinaga (1998), Effect of ethanol on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture, *J. Ferment. Bioeng.* **85**, 598-603.