

Pseudomonas aeruginosa PR3에 의한 기능성지방산 Hydroxy fatty acid 생산에 있어 배양용기 형태에 따른 영향

백가연 · 손혜란 · 김학렬[†]

경북대학교 응용생명과학부 동물공학전공
(2010년 4월 2일 접수 ; 2010년 6월 18일 채택)

Effect of Flask Type on the Production of Value-added Hydroxy Fatty Acid by *Pseudomonas aeruginosa* PR3

Ka-Yeon Baek · Hye-Ran Son · Hak-Ryul Kim[†]

*Department of Animal Science and Biotechnology,
Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
(Received April 2, 2010 ; Accepted June 18, 2010)*

Abstract : Hydroxy fatty acids have gained important attentions because of their special properties such as higher viscosity and reactivity compared to non-hydroxy fatty acids. The new bacterial isolate *Pseudomonas aeruginosa* (PR3) had been well studied to produce mono-, di-, and tri-hydroxy fatty acids from different unsaturated fatty acids. Of those hydroxy fatty acids, 7,10-dihydroxy-8(*E*)-octadecenoic acid (DOD) was produced with high yield from oleic acid by *P. aeruginosa* PR3. Mostly, the substrates used for the production of hydroxy fatty acid by microorganisms were free fatty acids or synthetic lipids. However, it is highly plausible to use vegetable oils containing oleic acid such as olive oil for DOD production by *P. aeruginosa* PR3. As a first step to address the utilization of olive oil as a substrate for DOD production, we tried to determine the effect of vessel type on DOD production from olive oil by *P. aeruginosa* PR3. Of two different flask types of normal flask and baffled-flask, baffled-flask was highly effective for DOD production with all the media tested. Maximum increase of productivity by baffled-flask represented 221% with the medium supplemented with whey powder instead of lactose. Results from this study demonstrated that vessel type and medium composition could be both significant factors for DOD production from olive oil by *P. aeruginosa* PR3.

Keywords : hydroxy fatty acid, *Pseudomonas aeruginosa*, baffled-flask, bioconversion

[†]주저자 : (E-mail : hakrkim@knu.ac.kr)

1. 서론

Hydroxy fatty acid (HFA)는 일반 지방산의 사슬에 hydroxyl 기를 갖고 있는 형태로 자연계에서 주로 식물체에서 미량으로 발견되고 있지만 HFA에 도입된 hydroxyl 기에 의해 지방산으로 하여금 높은 점성이나 반응성 등 특이한 성질을 부여하게 되어 산업적으로 다양한 분야에 이용될 수 있다[1]. HFA는 연결되어 있는 hydroxyl 기에 따라 mono-, di-, tri-hydroxy fatty acid로 분류되며 hydroxyl 기 외에 별도의 구조를 포함하는 epoxyhydroxy fatty acid나 oxo-hydroxy fatty acids 등도 포함된다. HFA의 산업적 이용분야는 농약, 의약, 고기능성 레진, 섬유소재, 생분해성 플라스틱 소재, 윤활제, 화장품, 페인트 등 다양한 산업에서 이용될 수 있으나, 현재까지는 피마자기름에서 얻어지는 ricinoleic acid, 혹은 sebacic acid 등의 HFA들이 기능성, 고효율 폴리머 합성소재로 일부 사용되고 있다.

최근의 연구결과에 의하면 HFA 중 일부가 식물병원성 곰팡이와 일부 병원성 박테리아에 대해 항균활성을 나타내는 것이 알려졌다[2-3]. 세 개의 hydroxyl 기를 갖는 TOD (12,13,17-trihydroxy-9(Z)-octadecenoic acid)는 다양한 식물병원성 곰팡이들에 대해 생장저해능력을 나타내는 것으로 알려져 있으며[4], 특히 linoleic acid로부터 생산되는 것으로 확인된 trihydroxy fatty acid의 경우는 벼의 탄저병을 일으키는 곰팡이의 생장에 대해 강한 저해능력을 갖고 있는 것으로 알려져 있다[5].

HFA의 이러한 유용성이 알려지면서 미생물을 이용한 HFA 생산에 대한 연구가 이루어져 지방산 기질로부터 HFA를 생산할 수 있는 박테리아 균주들이 다수 알려졌다.

Flavobacterium sp DS5는 oleic acid로부터 10-hydroxy-octadecadienoic acid를 생산할 수 있으며[6], *Pseudomonas aeruginosa* PR3의 경우 좀 더 넓은 범위의 기질을 사용하여 mono-, di-, tri-hydroxy fatty acid를 생산한다고 보고되어 있다[7-10].

Oleic acid를 기질로 사용할 경우 *P. aeruginosa* PR3에 의해 7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid (DOD)가 생산되는데, Fig. 1에서 보여주고 있는 것과 같이 탄소수 18개인 지방산을 기반으로 8-9 탄소 사이에 *trans* 이중결합과 *trans* 이중결합을 중심으로 양쪽에 7번 탄소와 10번 탄소에 각각 1개씩 2개의 hydroxyl 기를 가지고 있는 구조를 이루고 있다. 2개의 hydroxyl 기는 모두 S-configuration의 위치에 존재하여 2개 모두 8-9 *trans* 이중결합을 기준으로 동일방향으로 돌출되어 있는 기하학적 구조를 가지고 있다[7-8, 11]. Oleic acid로부터 *P. aeruginosa* PR3에 의한 DOD의 생산효율은 60%정도를 나타내고 있으나[7], 여러 발효조건들을 최적화함으로써 80%까지 향상시킬 수 있음이 보고되었다[12]. 또한 linoleic acid를 기질로 사용할 경우 9,12,13-trihydroxy-10(E)-octadecenoic acid (9,12,13-THOD)와 9,10,13-trihydroxy-11(E)-octadecenoic acid (9,10,13-THOD)의 혼합물로 변환되는 것이 보고되었다[13].

그동안 *P. aeruginosa* PR3에 의한 HFA 생산을 위한 기질로 oleic acid나 linoleic acid 등 지방산이 주로 이용되어 왔으나 지방산의 가격이 높아 산업적 이용에 제한요인이 되고 있다. 최근에 oleic acid를 3개 포함하는 triolein을 기질로 이용하여 DOD를 생산할 수 있음이 밝혀졌고 최적화연구를 통해 높은 효율로 DOD를 대량생산할 수 있는 기술이 개발되었다[14-15]. 이러한 결과는 DOD 생산을 위한 기질로서

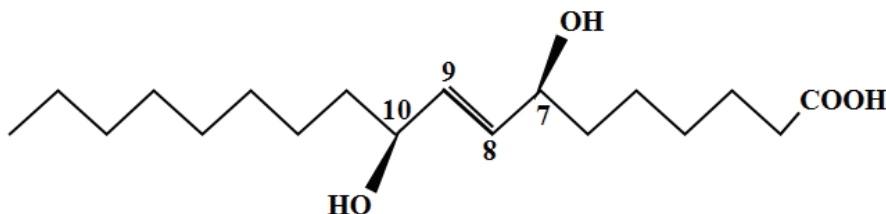


Fig. 1. Structure of 7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid (DOD)

triolein 뿐 아니라 oleic acid를 포함하는 일반 식물성오일도 기질로 이용될 수 있는 가능성이 매우 높음을 나타내주고 있다. 본 연구에서는 DOD 생산을 위한 기질로 올리브오일을 이용하는 기술을 개발하는 과정에서 발효용기형태가 DOD 생산성에 미치는 영향을 관찰하였다. Batch type 발효과정 중 발효용기의 형태는 미생물의 성장과정에서 shear force, 산소공급, 기질혼합 등에 중요한 요인으로 작용할 수 있기 때문에 이에 대한 영향을 확인하는 것은 매우 필요할 것으로 생각된다.

2. 실험재료 및 방법

2.1 실험재료

생물전환반응에 이용한 *Pseudomonas aeruginosa* NRRL B-18602 (PR3)는 미국농림부에 계시는 Hou 박사로부터 제공 받았다. 기질로 이용된 올리브 오일은 시중에서 구입한 백설 압착 올리브유를 사용하였다. Whey powder는 (주)삼익유가공에서 구입하였으며 전체 whey powder 중 lactose 함량은 38%, 조단백질 함량은 10.7%로 나타났다. Heptadecanoic acid (17:0)는 NU-Check-Prep Inc (Elysian, MN, USA)에서 구입하였다. 분석용 TLC 판 (Kieselgel 60F₂₅₄)은 Merck (Darmstadt, Germany)에서, trimethylsilylimidazole (TMSI)와 pyridine(1:4 v/v) 혼합물은 Sigma (St Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 모든 시약은 HPLC 등급을 사용했으며 추출 시 사용한 ethyl acetate는 Fisher Scientific (Waltham, MA, USA)에서 구입하였고, Petroleum ether는 J.T.Baker (Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였다. 그 외 시약들은 별도의 언급이 없는 경우 Sigma에서 구입하여 사용하였다.

2.2 생물전환반응

생물전환반응은 표준 배지 50 ml을 두 가지 형태의 삼각플라스크에 넣어 실행하였다[9]. 형태 1은 정상적인 둥근 측면 삼각플라스크이고, 형태 2는 둥근 측면 삼각플라스크의 측면을 안쪽으로 함입되도록 제작한 baffle 플라스크를 사용하였다(Fig. 2). Baffle 플라스크는 시중의 유리용기 제작소에 의뢰하여 제작하였으며 플라스크 내부의 함입된 baffle은 3개가 되도록

제작하였다. 표준배지 SM6는 0.4% glucose, 0.4% K₂HPO₄, 0.1% (NH₄)₂HPO₄, 0.1% yeast extract, 0.2mM FeSO₄(7H₂O), 0.4mM MgSO₄(7H₂O), 0.06mM MnSO₄(H₂O)를 포함하며 배지의 초기 pH는 1 N NaOH 용액을 이용하여 pH 8.0으로 조정하였다. 실험에 사용된 SM6-glucose는 표준배지를 의미하며, SM6-lactose 배지는 glucose 대신 동량의 lactose로 대체한 것이며 SM6-whey 배지는 glucose 대신 동량의 탄수화물농도를 유지하도록 whey powder로 대체한 것이다. 미생물배양은 28℃에서 shaking incubator를 이용하여 실시하였으며 회전속도는 200 rpm으로 고정하였다. DOD 생산 생물전환반응은 24시간 동안 위의 조건에서 배양된 미생물배양액에 올리브 오일 1%를 첨가하여 시작되었으며, 기질 첨가 후 필요에 따라 추가 배양시간을 조정하였다. 배양이 끝나면 2N HCl 용액을 이용하여 배양액의 pH를 2.0 이하로 낮추어 반응을 종결하고 ethyl acetate와 petroleum ether를 이용하여 생성물을 추출하였다. 추출은 먼저 배양액과 동일한 양의 ethyl acetate를 이용하여 1차 추출하고 추출액에 대하여 동일한 양의 petroleum ether를 이용하여 2차 추출한 뒤 두 용매층을 혼합하였다. 모아진 추출액의 유기용매는 rotary evaporator를 이용하여 증발시켜 제거하였다.



Fig. 2. Picture of different flasks. Left: normal erlenmeyer flask, right: baffled erlenmeyer flask.

2.3 생성물 분석

생물전환된 생성물은 TLC와 기체크로마토그래피(Gas Chromatography, GC)를 이용하여 분석하였다[9]. TLC 분석은 TLC 판에 1 μ l의 시료를 점적하고 전개용매로는 toluene : dioxane : acetic acid (79:14:7 v/v/v)를 이용하였다. Spot의 확인은 50% 황산을 이용하여 plate에 분무한 후 100 $^{\circ}$ C 오븐에서 10분 동안 가열하여 확인하였다. GC를 이용한 정량분석에는 heptanoic acid (C17:0)을 internal standard로 사용하여 나타난 peak의 넓이를 비교하여 실시하였다. GC 분석을 위해서 먼저 대략 10 mg의 분석시료에 diazomethane 1 ml을 가하여 2-3분 동안 실온에서 methylation 시킨다. Methylation 된 시료의 잔류 diazomethane과 ether를 증발시켜 제거한 뒤 TMSI와 pyridine 혼합물(1:4 v/v) 1ml을 가하고 실온에서 40분간 정치하여 TMSI 유도체를 제조하였다. 제조된 분석시료는 FID 검출기와 GC column SPB-1TM [15 m \times 0.32 mm I.d, 0.25 μ m thickness (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)] 이 부착된 Shimadzu GC-17 (Shimadzu Seisakusho, Kyoto, Japan)를 이용하여 분석하였다. GC의 오븐온도는 100 $^{\circ}$ C에서 150 $^{\circ}$ C까지는 분당 10 $^{\circ}$ C씩 증가되도록 하고, 150 $^{\circ}$ C에서 200 $^{\circ}$ C는 분당 5 $^{\circ}$ C씩 증가되도록 하며, 200 $^{\circ}$ C에서 210 $^{\circ}$ C까지는 분당 0.5 $^{\circ}$ C씩, 210 $^{\circ}$ C에서 300 $^{\circ}$ C까지는 분당 25 $^{\circ}$ C씩 증가되도록 설정하고 300 $^{\circ}$ C가 되면 10 분간 정치한 뒤 분석을 완료하도록 설정하였다. Carrier gas인 질소의 유속은 0.67 ml/min이었고 삽입부와 검출기의 온도는 270 $^{\circ}$ C와 280 $^{\circ}$ C를 유지하도록 하였다. 구조 확인을 위한 GC/MS 분석은 Hewlett Packard (Avondale, PA, USA) 5890 GC를 이용하였으며 FID 검출기 대신 Hewlett Packard 5972 series Mass Selective Detector를 사용하였다. GC column은 SPB-1TM [30 m \times 0.32 mm I.d, 0.25 μ m thickness (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)]을 사용하였고 오븐온도는 70 $^{\circ}$ C에서 170 $^{\circ}$ C까지는 분당 20 $^{\circ}$ C씩 증가되도록 하고, 170 $^{\circ}$ C에서 250 $^{\circ}$ C는 분당 5 $^{\circ}$ C씩 증가되도록 한 뒤 250 $^{\circ}$ C에서 15 분간 정치한 뒤 분석을 완료하도록 설정하였다. Carrier gas는 helium을 사용하였고 유속은 0.67 ml/min을 유지하였다. 모든 실험은 2반복으로 진행되었고 제시된 값은 평균값을 표시하였으며 그림 속 막대의 연장선은

standard error range를 표시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 생성물확인

먼저 Fig. 2에 나타난 것과 같은 두 종류의 플라스크에 SM6-glucose, SM6-lactose, SM6-whey 세 종류의 서로 다른 배지를 이용하여 24시간 *P. aeruginosa* PR3 균주를 배양한 뒤 올리브오일을 기질로 1% 첨가하여 48시간 배양하였다. 배양액으로부터 추출된 생성물을 TLC로 분석하여 본 결과 Fig. 3에서 같이 동일한 위치(점선으로 표시된 부분)에 spot이 나타나고 있는 것을 확인하였다. 나타난 spot의 크기는 처리 조건에 따라 다르게 나타났지만 동일한 위치에 나타나고 있는 것으로 볼 때 동일한 물질로 추정되었다. Spot의 상대적 크기는 baffle 플라스크를 이용한 SM6-whey 배지에서 가장 크게 나타났고 그 다음이 baffle 플라스크를 이용한 SM6-lactose 배지로 나타났다. 동일한 배지의 경우에도 정상적인 플라스크를 이용한 경우에 비해 baffle 플라스크를 이용한 경우 모두 큰 spot 크기를 보였다. 나타난 spot의 구조를 확인하기 위해 baffle 플라스크를 이용한 SM6-whey 배지의 생성물을 GC로 분석하여 보았다(Fig. 4). 분석 결과 7 분대의 retention time에 나타난 internal standard peak 외에 13 분대의 retention time에 큰 peak가 나타났는데 이 peak는 이미 확인된 DOD의 peak와 일치하였다(data not shown). 일치된 peak의 구조를 확인하기 위하여 GC/MS 분석을 실시한 결과 (Fig. 5) 정확히 DOD와 같은 구조임을 확인하였다[12].

3.2. 플라스크 형태에 따른 DOD 생산량 차이 분석

Fig. 3에서와 같이 올리브 오일을 기질로 이용했을 경우 *P. aeruginosa* PR3에 의해 생성되는 DOD의 양이 사용된 플라스크의 형태에 따라 다르게 나타나고 있으므로, 정확한 생산량의 차이를 확인하기 위해 internal standard와 GC를 이용하여 DOD 생산량을 정량분석하였다. Table 1에서 보여주고 있는 것처럼 사용된 배지의 종류와 플라스크 형태에 따라 DOD 생산량이 다르게 나타나고 있는 것을 볼 수 있다.

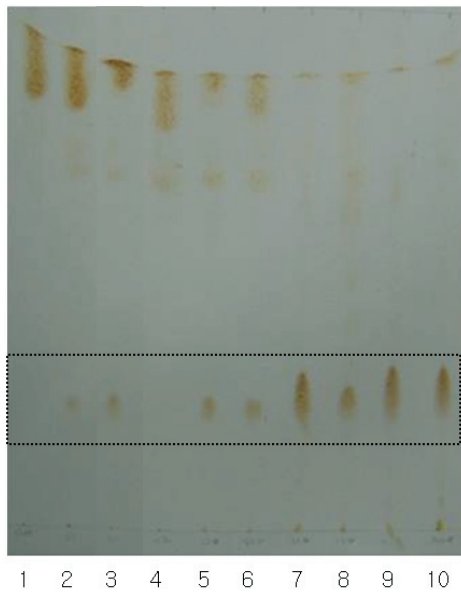


Fig. 3. Thin-layer chromatography of the crude extract produced by *P. aeruginosa* PR3 from olive oil with different medium in different flask types. Lane 1: standard olive oil, lane 2: SM6-glucose in normal flask, lane 3: SM6-lactose in normal flask, lane 4: SM6-whey in normal flask, lane 5-6: SM6-glucose in baffled-flask, lane 7-8: SM6-lactose in baffled-flask, lane 9-10: SM6-whey in baffled-flask.

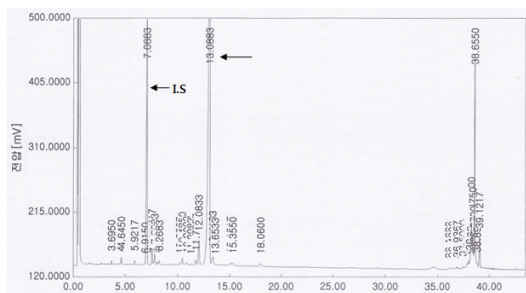


Fig. 4. Gas chromatogram of the crude extract produced from the bioconversion of olive oil by *P. aeruginosa* PR3 in baffled-flask. SM6-whey medium was used as culture medium. I.S. represented the internal standard.

일반형 플라스크의 경우 기준배지인 SM6-glucose에 비해 탄소원으로 lactose를 사용한 SM6-lactose의 경우 DOD 생산량이 63.2% 정도 높게 나타났지만 동일한 농도의 lactose를 포함하고 있는 whey powder를 사용한 SM6-whey 배지의 경우 DOD 생산량이 오히려 57.3% 정도 감소하였다. 미생물농도의 경우 기질 첨가 전 측정된 값을 비교하였을 때 기준배지에 비해 lactose 배지의 경우 오히려 51.2% 정도 감소하였고 whey 배지의 경우 47.8% 정도 감소율을 나타냈다. 이러한 사실은 *P. aeruginosa* PR3가 미생물 성장에 필요한 탄소원 혹은 에너지를 보충하기 위해 올리브오일을 이용하는 과정에서 DOD가 생성되었을 가능성이 높음을 말해주고 있다. 즉 lactose의 경우 glucose에 비해 미생물 성장에 효과적인 탄소원이 아니므로 미생물농도는 낮지만 DOD 생성량은 증가한 것으로 보인다. 그러나 whey powder의 경우는 조금 다른 양상을 보이고 있는데, 탄소원으로 lactose를 포함하고 있어 미생물농도가 낮아진 것으로 보이지만 동시에 DOD 생산량도 기준배지에 비해 낮게 나타났다. Whey powder의 경우 lactose 외에 높은 함량의 단백질을 포함하고 있으므로 이들에 의한 또 다른 영향을 받았을 것으로 추측되지만 이에 대한 구체적인 원인은 확실하지 않다.

반면 baffle 플라스크를 사용하였을 경우 사용된 배지 모두의 경우에 일반플라스크보다 DOD 생산량이 크게 증가하였다. Glucose를 사용한 기준배지의 경우 17.4%의 증가율을 보였고 lactose 배지의 경우 63.2%의 증가율을 보였으며 whey 배지의 경우 무려 9.94 배의 증가율을 나타내었다. Whey 배지의 경우 일반플라스크를 사용하였을 경우 기준배지에 비해 DOD 생산량이 57.3%로 이미 감소한 값을 보였기 때문에 baffle 플라스크를 사용한 경우 증가율이 더욱 크게 나타났지만, 일반플라스크를 사용한 기준배지에 비해서도 4.25 배의 높은 DOD 생산량을 나타냈다. 미생물농도의 경우는 사용된 배지 모두에게서 사용된 플라스크 형태에 따라 큰 차이를 보이지 않고 있다. 이러한 사실은 형태가 다른 플라스크를 사용함으로써 인해 나타나는 shear force의 증가나 혼합효율의 증가가 미생물의 성장에는 큰 영향을 주고 있지 않지만 DOD 생산에는 큰 영향을 주고 있다는 것을 말해주고 있다. DOD 생산을 위해서는 기질로 이

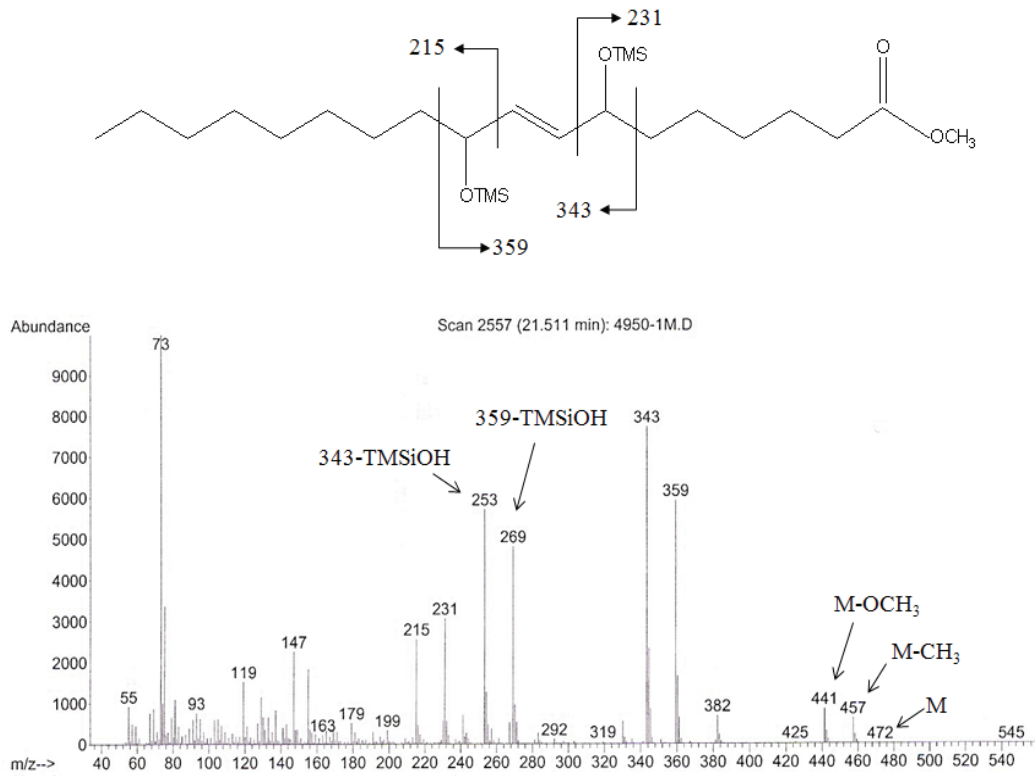


Fig. 5. Electron-impact mass spectrum of TMS-derivative of the methylated product obtained from the bioconversion of olive oil by *P. aeruginosa* PR3 in baffled-flask.

Table 1. Effect of flask type on DOD production and cell growth

Media	DOD production (mg/50ml culture)		Cell growth ^a (O.D. at 600nm)	
	Normal	Baffle	Normal	Baffle
SM6-glucose	35.1±1.5 ^b	41.2±4.7	2.25±0.15	2.30±0.12
SM6-lactose	57.3±2.6	93.5±9.1	1.10±0.05	1.05±0.10
SM6-whey	15.0±1.2	149.1±6.5	1.31±0.11	1.29±0.16

^aFinal O.D. values were calculated from multiplication of the original O.D. values by dilution factor.

^bAll values were represented with standard errors

용되는 올리브오일이 먼저 효소적 가수분해에 의해 oleic acid를 생산하고 생산된 oleic acid가 기질로 이용되는 과정을 거치게 된다[14]. 따라

서 불용성인 oleic acid가 배지 중에 균일하게 혼합되는지의 여부가 DOD 생산에 큰 영향을 줄 것으로 생각되며 이는 본 실험결과에 의해

서도 증명되고 있다. 본 연구에서는 플라스크와 같은 작은 사이즈의 용기라 할지라도 플라스크 내에 baffle을 설치한 경우 용기 내의 혼합효율이 증가하게 되어 DOD 생산성이 크게 증가한 것을 보여주고 있다.

3.3. 배양시간에 따른 각 플라스크 형태별 DOD 생성량 차이 분석

앞의 실험에서 배양용기의 형태 뿐 아니라 사용된 배지의 종류에 따라서도 DOD 생산성이 크게 차이를 나타내었으므로 사용한 배지종류에 따라 기질 첨가 후 4일까지 서로 다른 배양용기에서 배양시간에 따른 DOD 생산성을 측정하였다. 기준배지 SM6-glucose의 경우 Fig. 6에 나타난 것처럼 기질첨가 후 시간이 경과되면서 일반플라스크와 baffle 플라스크 모두 DOD 생산량이 점차 증가하였지만 일반플라스크에 비해 baffle 플라스크의 경우 증가량이 더 높게 나타났다. 배양 4일 후 일반플라스크의 최대 생산량은 94.3 mg/50 ml culture를 나타내었고 baffle 플라스크의 경우 120 mg/50 ml culture로 27.3% 정도 높은 생산성을 보였다.

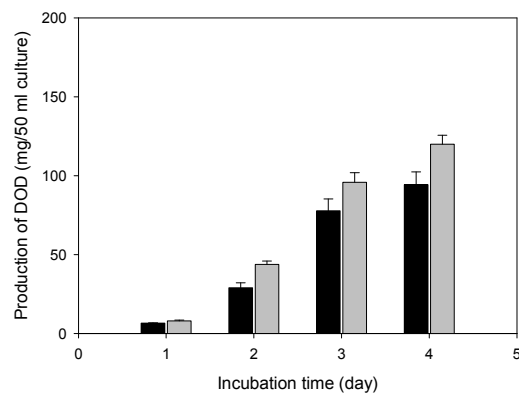


Fig. 6. Time-coursed production of DOD from olive oil by *P. aeruginosa* PR3 with SM6-glucose medium in normal (dark bar) and baffled-flask (gray bar). Olive oil (500 mg) was added to the culture at 24 h after incubation started.

SM6-lactose 배지의 경우 기준배지와는 다른 양상을 나타내었는데(Fig. 7), 배양시간이 경과하면서 일반플라스크의 경우 48시간 경과 후

DOD 생산량이 점차 감소하였지만 baffle 플라스크의 경우 72시간까지 DOD 생산량이 증가하였다가 이후 급격하게 감소하였다. 최대 DOD 생산량은 일반플라스크의 경우 71.1 mg/50 ml culture이었고 baffle 플라스크의 경우 130 mg/50 ml culture를 나타내었다. 이러한 수치는 일반플라스크의 경우 기준배지에 비해 24.6% 정도 낮은 생산성을 나타내었지만, baffle 플라스크의 경우 오히려 8.3% 정도 높은 생산성을 보여주고 있다.

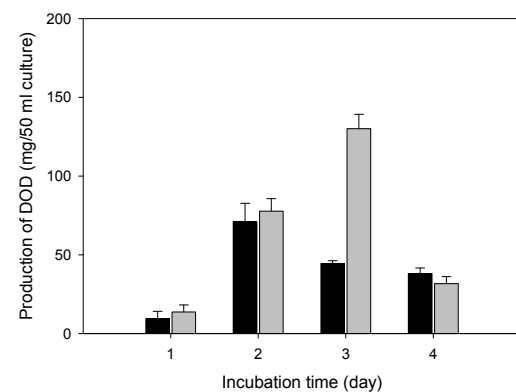


Fig. 7. Time-coursed production of DOD from olive oil by *P. aeruginosa* PR3 with SM6-lactose medium in normal (dark bar) and baffled-flask (gray bar). Olive oil (500 mg) was added to the culture at 24 h after incubation started.

SM6-whey 배지의 경우 Fig. 8에서 보여주는 바와 같이 일반플라스크의 경우 기질 첨가 후 DOD 생산량이 점차적으로 증가하면서 배양 4일 후에 최대 75 mg/50 ml culture의 생산량을 나타내었지만, baffle 플라스크의 경우 급격하게 DOD 생산량이 증가하면서 배양 후 48-72 시간 동안 162 - 166 mg/50 ml culture의 최대 생산량을 보였고 그 이후로는 점차 감소하는 양상을 보였다. 이 때의 생산량은 사용된 배지 중 가장 높은 수치임을 알 수 있다. 이러한 결과는 사용된 배지 중 SM6-whey 배지가 플라스크 형태에 따른 영향을 가장 많이 받고 있는 것을 보여주고 있다. Whey powder의 경우 lactose 뿐 아니라 다른 단백질 성분이 포함되어 있기 때문에 이들 단백질 성분에 의한 DOD

생산성 증가 효과가 나타났을 가능성이 있지만 이에 대한 연구는 별도로 이루어져야 할 것으로 판단된다. 본 연구결과로부터 DOD 생산을 위한 대량용기의 개발에 필요한 중요한 정보를 얻었으며 이를 토대로 *P. aeruginosa* PR3에 의한 DOD 대량생산 연구가 추가적으로 진행되어야 할 것이다.

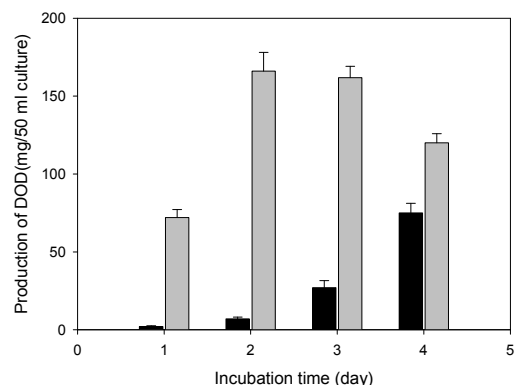


Fig. 8. Time-coursed production of DOD from olive oil by *P. aeruginosa* PR3 with SM6-whey medium in normal (dark bar) and baffled-flask (gray bar). Olive oil (500 mg) was added to the culture at 24 h after incubation started.

4. 결론

연구결과로부터 baffle에 의한 배지 내 성분의 혼합효율 증가는 비수용성 오일 기질의 혼합 뿐 아니라 다른 배지성분의 혼합에도 중요한 역할을 하고 있음을 알 수 있으며, 이러한 혼합효율의 증가는 *P. aeruginosa* PR3에 의한 DOD 생산에 직접적인 영향을 주고 있음을 알 수 있다. Glucose를 사용한 기준배지의 경우 17.4%의 증가율을 보였고 lactose 배지의 경우 63.2%의 증가율을 보였으며 whey 배지의 경우 무려 9.94 배의 증가율을 나타내었다. 이러한 사실을 통해 배지 성분 중 특정 성분이 DOD 생산에 특이적 영향을 주고 있는 경우 baffle에 의한 기질혼합효율의 증가는 DOD 생산에 상승적 효과를 내고 있음을 알 수 있다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 경북대학교 학술연구비에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1. M. O. Bagby, K. D. Calson, "Fats for the future" p. 301, R. C. Cambie, Ellis Horwood Limited and Press, Chichester, UK (1989)
2. V. K. Bajpai, S. Y. Shin, M. J. Kim, H. R. Kim, and S. C. Kang, Antifungal activity of bioconverted oil extract of linoleic acid and fractionated dilutions against phytopathogens *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea*, *Agric. Chem. Biotechnol.* **47**, 199 (2004).
3. S. Y. Shin, H. R. Kim, and S. C. Kang, Antibacterial activity of various hydroxy fatty acids bioconverted by *Pseudomonas aeruginosa* PR3. *Agric. Chem. Biotechnol.* **47**, 205 (2004).
4. C. T. Hou, and R. J. Forman, Growth inhibition of plant pathogenic fungi by hydroxy fatty acids, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **24**, 275 (2000).
5. T. Kato, Y. Yamaguchi, N. Abe, T. Uyehara, T. Nakai, S. Yamanaka, and N. Harada, Unsaturated hydroxy fatty acids, the self-defensive substances in rice plant against rice blast disease. *Chem. Lett.* **25**, 409 (1984).
6. C. T. Hou, Conversion of Linoleic Acid to 10-hydroxy-12(Z)-octadecenoic acid by *Flavobacterium* sp. (NRRLB-14859). *J. Am. Oil Chem. Soc.* **71**, 975 (1994).
7. C. T. Hou, and M. O. Bagby, Production of a New Compound, 7,10-Dihydroxy-8(E)-octadecenoic Acid from Oleic Acid by *Pseudomonas* sp. PR3. *J. Ind. Microbiol.* **7**, 123 (1991).
8. H. Kim, H. W. Gardner, and C. T. Hou, 10(S)-Hydroxy-8(E)-Octadecenoic Acid, an Intermediate in the Conversion of Oleic

- Acid to 7,10-Dihydroxy-8(E)-Octadecenoic Acid. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **77**, 95-99 (2000).
9. J. H. Bae, D. S. Kim, M. J. Suh, S. R. Oh, I. J. Lee, S. C. Kang, C. T. Hou, and H. R. Kim, Production and identification of 7, 10-dihydroxy-8(E)-hexadecenoic Acid from palmitoleic acid by *Pseudomonas aeruginosa* PR3. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **75**, 435 (2007).
 10. C. T. Hou, L. K. Nkamura, D. Weisleder, R. E. Peterson, and M. O. Bagby, Identification of NRRL Strain B-18602 (PR3) as *Pseudomonas aeruginosa* and effect of phenazine-1-carboxylic acid formation on 7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid accumulation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **9**, 570 (1993).
 11. C. T. Hou and M. O. Bagby, 10-hydroxy-8(Z)-octadecenoic acid, an intermediate in the bioconversion of oleic acid to 7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid, *J. Ind. Microbiol.* **9**, 103 (1992).
 12. T. M. Kuo, L. K. Manthey, and C. T. Hou, Fatty Acid Bioconversion by *Pseudomonas aeruginosa* PR3, *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **75**, 875 (1998).
 13. H. Kim, H. W. Gardner, and C. T. Hou, Production of isomeric 9,10,13 (9, 12, 13)-trihydroxy-11E(10E)-octadecenoic acid from linoleic acid by *Pseudomonas aeruginosa* PR3. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 109 (2000).
 14. I. A. Chang, I. H. Kim, S. C. Kang, C. T. Hou, and H. R. Kim, Production of 7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid from triolein via lipase induction by *Pseudomonas aeruginosa* PR3. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **74**, 301 (2007).
 15. I. A. Chang, J. H. Bae, M. J. Suh, I. H. Kim, C. T. Hou, and H. R. Kim, Environmental optimization for bioconversion of triolein into 7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid by *Pseudomonas aeruginosa* PR3. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **78**, 581 (2008).