

*Streptomyces lincolnensis*에 의한 Lincomycin 생산에 소포제의 영향

의유리, 이미자, 정연호*, 전계택**, 정용섭

전북대학교 응용생물공학부, 강원대학교 식품·생명공학부*, 강원대학교 생명과학부**

전화 (0652) 270-2571, Fax (0652) 270-2572

Abstract

The effect of three antifoam agents: PPG(polypropylene glycol), PEG(polyethylene glycol) and CA-110(aquous emulsion with 16% silicon oil component), was examined on the lincomycin production during cultivation of *S. lincolnensis*. Both PEG and PPG were effective in foam depressing during the flask cultures. As a result, the lincomycin production was enhanced upto about 400 mg/L in a optimized medium (OP-1) containing PEG or PPG. In contrast, the effect of antifoam agents in flasks was not remarkable for the various initial concentrations ranging from 0.5 g/L to 5 g/L with the basic medium(UP-1). But the lincomycin production in small fermentor showed the great different results in comparison with that in flasks under the same conditions. The lincomycin productions in small fermentor were 325 mg/L and 130 mg/L respectively for the following initial PPG concentrations, 0.5 g/L and 1 g/L.

서론

단백질, 1차대사산물과 2차대사산물의 생산을 위한 미생물 배양시 생성되는 거품은 성공적인 발효에 중요한 역할을 하지만, 소포제를 이용하여 배양배지의 거품억제를 다룬 연구는 거의 없다¹. 통기 속도와 물리적 특성에 관련되는 거품은 발효시 발생되어 많은 문제를 나타낸다². 거품 억제를 위해 여러 가지 소포제를 이용하고 있는데 순수한 소포제를 이용하는 경우도 있지만, Koch와 그의 동료는 silicone/PPG 혼합용액의 효과를 발표하였다¹. 본 연구에서는 PPG, PEG 및 CA-110의 소포제와 0.5~5 g/L의 농도 변화에 따른 Lincomycin 생산에 미치는 영향을 플라스크와 발효조에서 실험하여 비교하였다.

재료 및 방법

본 연구에서 사용한 균주는 *S. lincolnensis* IMSNU 20232(ATCC 25466)이다. 종배양을 위한 배지의 성분은 glucose monohydrate 10 g/L, yeast extract 10 g/L, casitone 5 g/L로 이루어졌다. 기본 생산배지(UP-1)는 soluble starch 40 g/L, sugar cane molasses 20 g/L, corn-steep liquor 10 g/L, peptone water 10 g/L, CaCO₃ 4 g/L로 구성되어 있다. Lincomycin 생산을 위한 플라스크에서 배지 선정에 대한 실험 결과 최적화한 배지(OP-1)는 soluble starch 45 g/L, sugar cane molasses 15 g/L, peptone water 13.33 g/L, NaNO₃ 6.67 g/L, CaCO₃ 4 g/L이다. UP-1과 OP-1에 첨가된 소포제로서 PPG(polypropylene glycol 2000), PEG(polyethylene glycol 2000), CA-110(16% silicone oil)을 사용하였다. 균체농도는 건조균체질량(Dry cell weight)을 이용하여 측정하였고, 배양액 중의 잔류당은 DNS 방법에 따라 spectrophotometer로 분석하였다. Lincomycin 농도는 HPLC를 사용하였고, 플라스크 배양한 실험 결과를 통계처리하여 분석하였다.

실험결과 및 고찰

플라스크배양에서 소포제 첨가가 Lincomycin 생산에 미치는 영향

UP-1배지의 경우 Lincomycin 농도가 크게 증가하지 않았지만, OP-1배지에서는 CA-110을 제외하고 PPG, PEG는 상대적으로 높은 Lincomycin 생산농도를 나타내었다. 소포제를 농도를 달리하여 첨가한 결과 PPG 0.5 g/L의 Lincomycin 생산농도가 402 mg/L로 무처리구에 비해 30% 높은 농도였다. 그러나 Duncan 방법에 따른 통계처리 결과 농도간의 차이는 크지 않았으며, PPG 0.5 g/L가 Lincomycin 생산에 적절한 것으로 판단되었다.

Table 1. The effect of antifoam sorts and contents on the Lincomycin production

종류	함량(g/L)	Dry cell weight	pH	Lincomycin conc.*	
		(g/L)		(mg/L)	
기본 배지 (UP-1)	PPG	0.5	10.53	8.54	312.9
		1	11.93	8.42	316.8
		2.5	11.84	8.60	309.4
		5	11.32	8.59	223.1
	PEG	0.5	11.39	7.51	264.4
		1	11.54	7.61	229.0
		2.5	11.39	8.28	370.4
		5	9.89	8.58	331.5
	CA-110	0.5	11.13	7.80	311.4
		1	11.86	7.86	189.0
		2.5	11.80	8.08	369.3
		5	10.98	8.16	291.7
최적 배지 (OP-1)	PPG	0.5	10.58	8.16	402.2
		1	11.20	8.24	371.1
		2.5	12.53	8.07	351.4
		5	12.51	8.09	387.5
	PEG	0.5	10.87	7.75	347.5
		1	11.36	7.76	394.6
		2.5	10.76	7.85	344.4
		5	10.83	7.71	395.3
	CA-110	0.5	9.73	7.82	270.1
		1	11.23	7.64	311.9
		2.5	11.48	7.64	283.3
		5	10.71	7.82	246.4
control		9.72	8.34	305.0	

*n.s(non-significant)

플라스크와 발효조에서 통기가 Lincomycin 생산에 미치는 영향

발효중 용존 산소가 균체성장과 Lincomycin 생산에 미치는 영향을 실험하여 결과를 Fig. 1에 나타내었다³. 250 mL의 플라스크에 다양한 부피를 분주하여 실험한 결과 배양 부피가 30~200 mL로 증가함에 따라 배양후 최종 균체량과 Lincomycin 생산농도는 감소하는 경향을 보였다. 배양부피가 30 mL인 경우 약 200 mg/L의 Lincomycin 생산농도를 나타내었고, 발효액의 부피가 증가하면 Lincomycin 생산농도는 감소하여 50 mg/L이하를 나타내었다.

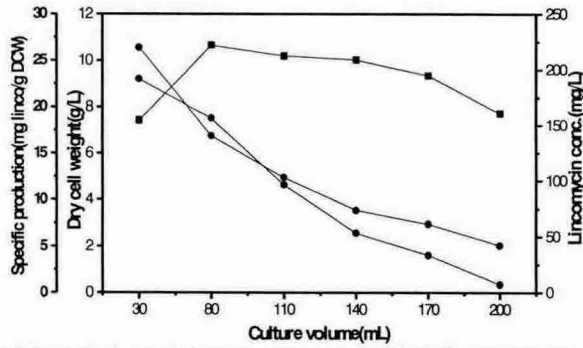


Figure 1. The effect of culture volume in 250 mL flasks on cell growth and Lincomycin production by *S. lincolnensis*

■- Dry cell weight; ●- lincomycin conc.;
○- specific production

발효조에서 교반속도를 400으로 조절하여 결과를 Fig. 2에 나타냈다. 미생물의 지수성장기인 10 hr부터 72 hr까지 용존산소는 낮게 유지되었으며, 배양액은 초기에 연한 갈색에서 3일 이후 색이 점점 진해지면서 점도도 증가하였다. 최종 발효액은 거의 검은색에 가까운 색상을 나타냈다. Lincomycin 농도는 계속 증가하여 10 일째 약 70 mg/L로 최고에 달했고, 다시 감소하여 60 mg/L를 유지하였다. Fig. 3은 300 rpm으로 교반하여 12일간 배양한 결과로서 낮은 용존산소를 10~120 hr까지 유지하였다. 균체량은 120 hr까지 10 g/L이었고, 서서히 감소하여 발효 말기에는 5 g/L로 유지되었다. Lincomycin 농도는 계속 증가하여 12일에 약 150 mg/L로 최대값을 나타내었고, 400 rpm의 경우보다 2.5배 정도 증가하였다. 교반 속도가 증가하면 Lincomycin 생산성과 균체량이 감소하는 경향을 보였으며, 이러한 감소는 교반속도를 증가시킴에 따라 전단응력의 증가와 다양한 발효조건 변화에 기인한 것으로 판단된다.

발효조에서 소포제 첨가에 따른 Lincomycin 생산에 미치는 영향

OP-1배지에 소포제를 첨가하지 않고 실험할 경우 많은 거품으로 인해 발효기간 중 다량의

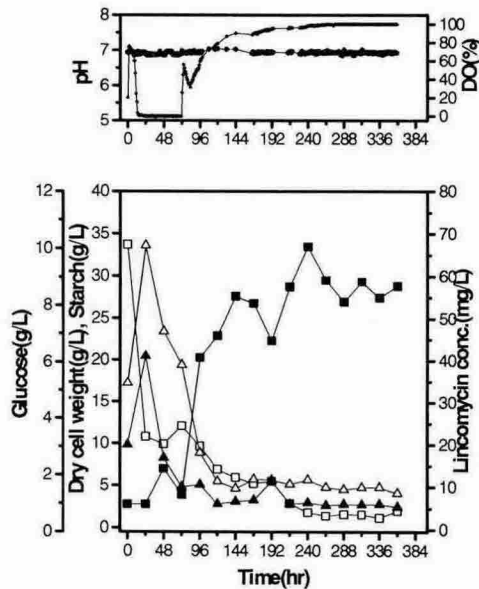


Figure 2. Time course of lincomycin fermentation in 400 rpm by UP-1 (pH 7.0). □-, Dry cell weight; ■-, lincomycin concentration; △-, starch; ▲-, glucose; ●-, pH; ◇-, DO.

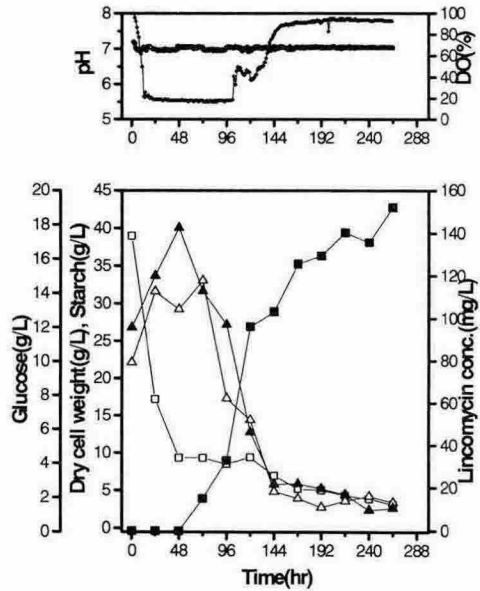


Figure 3. Time course of lincomycin fermentation in 300 rpm by UP-1 (pH 7.0). □-, Dry cell weight; ■-, lincomycin conc.; △-, starch; ▲-, glucose; ●-, pH; ◇-, DO.

소포제가 사용되게 된다. 이 영향으로 Lincomycin 생산이 억제되는 현상과 탄소원의 이용이 원활하지 못함이 관찰되었다(자료 미제시). 생성되는 거품 조절을 위해 배지에 PPG 양을 0.5, 1과 5 g/L로 첨가하여 300 rpm, 1 vvm, pH 7.0 조건하에 14일 배양하여 그 중 0.5와 1 g/L의 결과를 Fig. 4, 5에 나타냈다. 기본배지를 이용한 발효 실험 결과와 비슷한 탄소원 소비 경향을 보였으며, Lincomycin 생산은 소포제 0.5 g/L가 1 g/L보다 48 hr 빨리 시작되었고, 지속적으로 증가되어 2.5배 높은 324 mg/L의 최대값을 나타내었다. 당의 소비는 서서히 감소하여 240 hr 이 후에는 낮은 농도를 나타내었고, 균체량은 약 10 g/L를 유지하다가 탄소원이 고갈됨에 따라 약간 감소하였다.

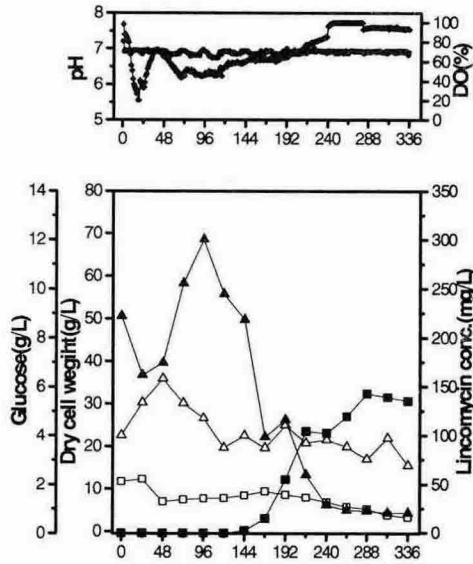


Figure 4. Time course of lincomycin fermentation in 300 rpm by OP-1 add PPG 1 g/L (pH 7.0)
 -□-, Dry cell weight; -■-, lincomycin conc.;
 -△-, starch; -▲-, glucose;
 -●-, pH; -◇-, DO.

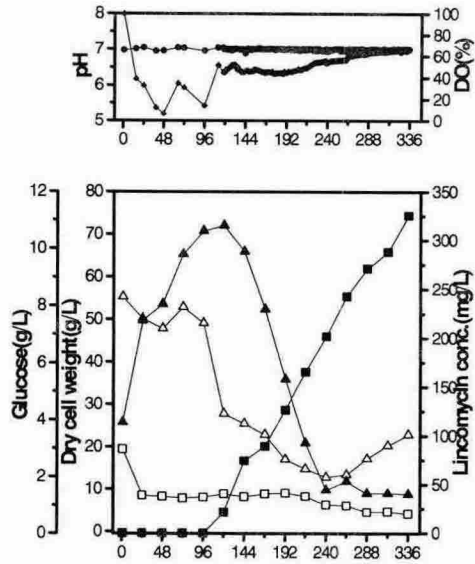


Figure 5. Time course of lincomycin fermentation in 300 rpm by OP-1 add PPG 0.5 g/L (pH 7.0)
 -□-, Dry cell weight; -■-, lincomycin conc.;
 -△-, starch; -▲-, glucose;
 -●-, pH; -◇-, DO.

요약

S. lincolnensis 배양시 나타나는 거품의 문제를 해결하기 위해 UP-1과 OP-1배지에 소포제 종류를 PPG, PEG 및 CA-110을 첨가하여 실험하였다. OP-1배지를 이용한 플라스크 배양의 경우 PPG와 PEG 각각 402 mg/L, 394 mg/L로 높은 Lincomycin 생산농도를 나타내었으나, UP-1배지의 경우 대조구에 비해 Lincomycin 생산농도는 큰 차이가 없었다. 두 가지 배지에서 소포제 농도의 변화에 대한 Lincomycin 생산을 통계처리한 결과는 실험한 농도 범위에서 큰 차이를 나타내지 않았다. 충분한 산소공급은 Lincomycin 생산에 필수적이고, rpm의 변화에 따른 실험 결과 300 rpm의 경우 가장 효과적이었다. 발효조에서 PPG 농도 5, 1, 0.5 g/L를 첨가하여 발효한 결과 상당한 차이를 나타내었다. Lincomycin 생산을 위한 소포제로서 PPG가 가장 좋았으며 농도는 0.5 g/L가 적절하였다.

참고문헌

1. V. Koch et al. (1995), Process Biochemistry, 30(5), 435~446.
2. M. W. Fowler (1982), Prog. Ind. Microbiol. 16, 207~229.
3. S. Kim et al. (1999), J. Microbial. Biotechnol. 9(5), 548~553.