

pH와 용존산소량이 *Aureobasidium pullulans*에 의한 pullulan의 생산성과 분자량에 미치는 영향에 대한 연구

이지현, 김정화, 김미령, 이진우*, 김성구

부경대학교 식품생명공학부 생물공학과, *동아대학교 생명자원과학부

전화 (051) 620-6188, skkim@mail.pknu.ac.kr

Abstract

The effects of dissolved oxygen and pH on the cell growth and mass production of high-molecular weight pullulan by *A. pullulans* ATCC 42023 were evaluated. For the production of commercially useful pullulan with high-molecular weight, the influence of pH control on the pullulan production and growth of *A. pullulans* was studied in batch fermentation. It was found that the productivity of high-molecular weight pullulan with pH control at 6.5 was higher than that with no pH control. The influence of dissolved oxygen on the pullulan production and growth was studied. It was found that pullulan yield and synthesis rate increased with oxygen availability.

서 론

Pullulan은 maltotriose단위를 기본으로 하여 $\alpha(1\rightarrow6)$ 결합으로 구성된 일종의 α -glucan으로 'black yeast'로 알려진 *A. pullulans*에 의해 세포외로 생산되는 다당류로 다른 다당류에서 볼수 없는 우수한 물성과 안전성을 가지고 있어 식품, 필름, 포장, 전자, 의료, 사진, 인쇄등의 재료로 이용되고, 산소 불투과성필름, 플라스틱 결착제, 코오팅제등 광범위한 분야에서 그 이용 가능성이 모색되고 있다.

현재까지 탄소원의 종류 및 농도, 질소원의 종류 및 농도, 탄소원과 질소원의 농도비율, 배지의 초기 pH, 산소공급의 영향등에 관한 연구가 이루어 졌으며 특히, 가장 중요한 변수로 pH를 들수가 있다. Catley 등은 초기 pH를 6.0~7.0으로 배양시킨 후 5.0으로 낮추는 것이 pullulan 생산에 유리하다고 보고하였으며 Heald 등은 배양액의 pH는 pullulan 생산 뿐만 아니라 미생물형태에도 영향을 미쳐서 pH 2.0~2.5에서는 균사형이 지배적이지만 pH 6.0~8.0에서는 효모형이 지배적이라고 지적한 바 있다. 또 pullulan의 분자량에도 영향을 미친다고 보고된 바 있으나 구체적인 언급은 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 pullulan 생산에서 pH를 조절하는 경우와 pH를 조절하지 않는 경우의 pullulan 생산성과 분자량에 미치는 영향을 비교하였으며 아울러 용존

산소량의 영향도 고찰하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 균주는 *Aureobasidium pullulans* ATCC 42023이며 glucose 50, K₂HPO₄ 5, NaCl 1, MgSO₄ 0.2, (NH₄)₂SO₄ 0.6, yeast extract 3 (g/l)를 기본배지로 하였다. KF-5 l fermenter를 이용하여 초기 pH 6.5, 28℃와 통기량은 0.4vum을 유지하였으며 세포 성장과 다당류 생성량을 알기위해 건중량(g/l)을 측정하였으며 분자량분포를 알기 위해 GPC system(HP-1100)을 이용하였다.

결과 및 고찰

pullulan 생산에서 pH를 조절하는 경우와 pH를 조절하지 않는 경우의 pullulan 생산성과 분자량에 미치는 영향을 비교하였다. pH를 조절하지 않았을 경우 약 20시간후 배양액의 pH는 3.5~4.7로 급격히 변화하였으며 120시간후 25.54g/l와 18.73g/l의 pullulan을 생산하여 각각 51%와 37%의 수율을 나타내었다(Table 1). pH를 6.5로 조절한 경우는 120시간후 13.62g/l와 13.10g/l의 pullulan을 생산하여 pH를 조절하지 않는 경우가 높은 생산성을 나타냄을 알 수 있다.

용존산소량이 미치는 영향을 살펴보면, pH를 조절하지않고 용존산소량을 50%이상으로 조절하면 조절하지 않은 경우보다 높은 pullulan 생산성을 보였다. 이는 교반속도를 증가시켜 산소의 전달을 증가시킴으로써 pullulan 생산을 증가시켰다는 다른 여러 보고들과 일치하였다.

Table 1.

	pH	DO	Cell		Pullulan		
			concentration (g/l)	yield (g/g)	concentration (g/l)	yield (g/g)	productivity (g/l/h)
(a)	control	control	16.86	0.34	13.10	0.26	0.11
(b)	control	No control	15.84	0.32	13.62	0.27	0.11
(c)	No control	control	14.26	0.29	25.54	0.51	0.21
(d)	No control	No control	11.27	0.23	18.73	0.37	0.16

Figure는 배양결과 생성된 pullulan의 분자량 분포를 비교한 것이다. (a)와 (b)는 pH를 6.5로 조절한 경우이며 (c)와 (d)는 조절하지 않은 경우, 생성된 pullulan을 분

자량 20만 이상과 20만 이하로 나누어 정량적으로 나타낸 결과이다. (c)와 (d)의 경우, 생성된 pullulan의 총량은 (a)와 (b)에 비하여 많은 반면에 배양시간이 경과함에 따라 pullulanase 효소의 작용으로 그 분자량이 감소함을 알 수 있다. 그리고 산업적으로 유용한 분자량 20만 이상의 pullulan은 오히려 pH를 6.5로 조절한 경우 그 함량이 많음을 알 수 있다. 이는 pH를 조절하지 않는 경우 약 20시간후 배양액의 pH가 3.5~4.7로 급격히 변화하기 때문인 것으로 생각된다. 즉, pH의 조절 유무가 pullulanase 효소작용에 미치는 영향에 기인한 것 같다.

이상의 결과로, 용존산소량의 증가로 pullulan 생산성을 향상시킬 수 있으며 pH 조절에 의해 분자량의 조절 또한 가능하여 산업적으로 유용한 고분자량의 pullulan을 대량으로 생산할 수 있으리라 생각된다.

요 약

A. pullulans ATCC 42023를 사용하여 고분자량의 pullulan을 대량생산하기 위한 연구로써, 용존산소량과 pH가 균체 성장 및 pullulan 생산에 미치는 영향에 대하여 연구하였다. pullulan의 분해 효소에 대한 저항성을 가지고 산업적으로 유용한 고분자량의 pullulan을 생산하기 위해서 pH를 6.5로 조절할 경우, 분자량 20만 이상의 high molecular weight의 productivity가 가장 높았으며 용존산소량의 증가로 pullulan productivity를 증가시킬 수 있었다.

참고문헌

- Badr-Eldin, S. M., O. M. El-Tayeb, E. G. El-Masry, O. A. Mohamad, and O. A. A. El-Rahman. 1994. Polysaccharide production by *Aureobasidium pullulans*: factors affecting polysaccharide formation. *World J. microbiol. biotechnol.* 10:423-426.
- Lacroix, C., A. LeDuy, G. Noel, and L. Choplin. 1985. Effect of pH on the batch fermentation of pullulan from sucrose medium. *Biotechnol. Bioeng.* 27: 202-207.
- Wiley, B. J., D. H. Ball, S. M. Arcidiacono, J. M. Mayer, and D. L. Kaplan. 1993. Control of molecular weight distribution of the biopolymer pullulan produced by *Aureobasidium pullulans*. *J. Environ. Polym. Degrad.* 1: 3-9.
- Ueda, S., K. Fujita, K. Komatsu, and Z. Nakashima. 1963. Polysaccharide produced by the genus *Pullularia*. *Appl. Microbiol.* 11: 211-215.
- Wiley, B. J., D. H. Ball, S. M. Arcidiacono, J. M. Mayer, and D. L. Kaplan. 1993. Control of molecular weight distribution of the biopolymer pullulan produced by *Aureobasidium pullulans*. *J. Environ. Polym. Degrad.* 1: 3-9.

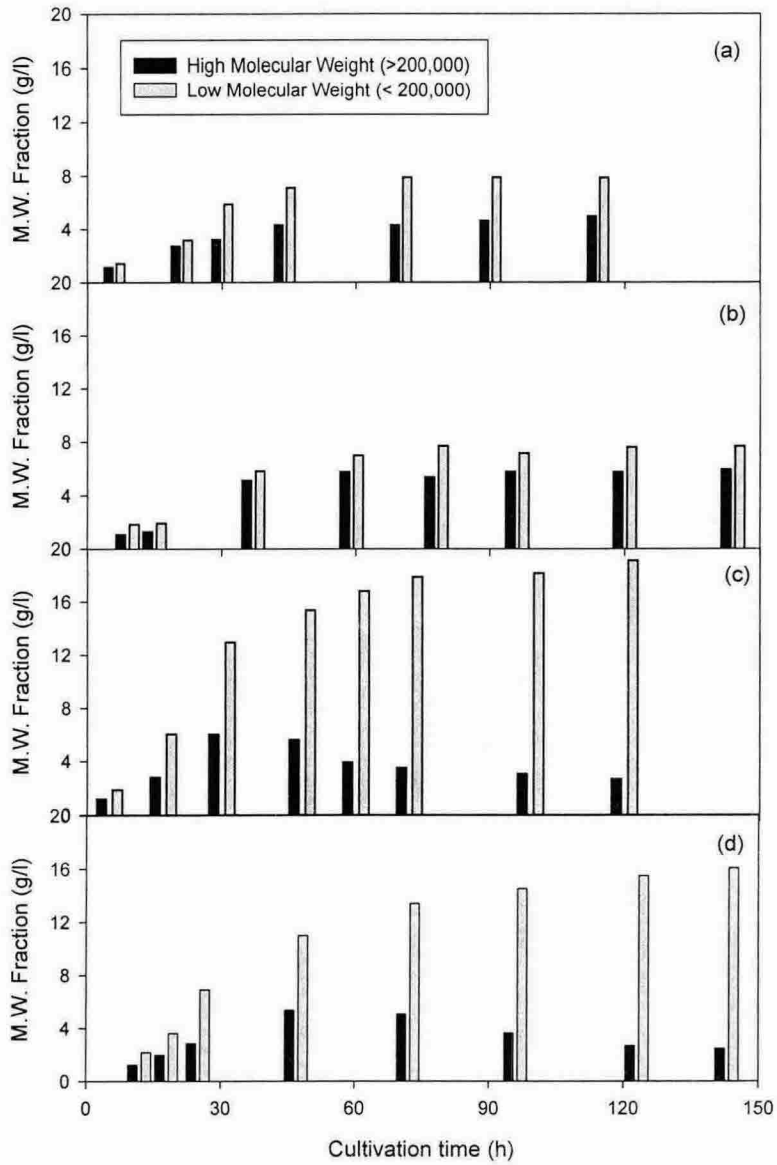


Figure. Molecular Fraction as a function of culture time.

- (a), pH control and DO control
- (b), pH control and DO no control
- (c), pH no control and DO control
- (d), pH no control and DO no control