

생산성 향상을 위한 유가식 배양공정

유 연 우

아주대학교 대학원 분자과학기술학과

전화 (0331) 219-2455, FAX (0331) 216-8777

유가식 배양방법은 미생물의 균체 또는 생성물을 높은 농도와 생산성으로 얻기 위한 가장 적절한 배양방법이다. 이러한 유가식 배양에 의한 *Bacillus thuringiensis*의 포자생산, *Candida magnoliae*로부터 erythritol의 생산 및 *Mortierella alpina*로부터 arachidonic acid(Ara)의 생산에 관한 연구를 수행하였다.

박테리아인 *B. thuringiensis*를 생물농약으로 이용하기 위해서는 높은 농도의 포자형성에 의한 높은 살충성의 δ -endotoxin을 생산하는 것이 중요하다. 이를 위하여 *B. thuringiensis*의 고농도 배양과 높은 수율의 포자형성을 얻기 위한 여러 가지 유가식 배양방법을 검토하였다. 실험결과에서 배양액의 최종 glucose 농도가 100 g/L이 되도록 하는 intermittent fed-batch culture 중에서 배양액의 pH가 6.8 이하가 되면 농축배지가 자동적으로 주입되는 pH-stat에서 약 80 g/L의 세포농도를 얻었으며, 이때의 최대 생존 세포 수는 1.38×10^{10} CFU/mL로서 97.8%가 포자로 전환되었다. 이러한 결과는 회분식 배양에서 보고된 최대값인 7.0×10^9 spore/mL 보다 약 2배정도 증가시킬 수 있었다.

Erythritol은 설탕의 70~80% 감미도를 갖는 4탄당 당알콜의 천연물질로서 식품첨가물로 이용되고 있다. 이러한 erythritol은 일부 효모들이 높은 삼투압 조건에서 삼투조절 물질로 생성한다. 따라서 효모인 *C. magnoliae*로부터 높은 농도와 생산성으로 erythritol을 생산하기 위한 2단계 유가식 배양공정에 대한 연구를 수행하였다. 먼저 세포정장 단계(cell growth stage)에서는 pH가 4.5 이하가 될 때마다 농축배지가 자동적으로 주입되도록 하는 pH-stat에 의한 24시간의 유가식 배양에서 75 g/L의 세포농도를 얻을 수 있었다. Erythritol의 생산단계(production stage)에서는 배양액의 glucose 농도가 400 g/L이 되도록 glucose를 powder로 첨가하여 44시간 배양에서 41%의 수율로 187 g/L의 erythritol을 얻을 수 있었다. 이때의 총 배양시간에 대한 생산성은 2.75 g/L-hr로 회분식 배양에서보다 3.6배 증가시킬 수 있었다.

곰팡이인 *M. alpina*의 고농도 배양에 의한 Ara의 생산에 대한 연구에서 50 g/L glucose와 18 g/L corn-steep powder(CSP)의 배지로부터 회분식 배양에 의하여 0.14 g/L-hr의 생산성으로 19.8 g/L의 세포농도를 얻었다. 이때의 총 지질의 함량은 균체량의 44.8% 이었으며, Ara의 함량은 총 지질의 40.5% 이었다. 반면에 최종 glucose 농도가 100 g/L이 되도록 하는 유가식 배양에서 질소원 및 pH 조절용으로 pH가 5.5 이하가 되면 14%의 암모니아 용액이 자동적으로 첨가되고 glucose는 배양액의 pH가 5.5 이상으로 상승하는 시기(배양액의 glucose 농도가 거의 zero임)에 20 g/L이 되도록 첨가해 주었다. 실험결과에서 최대 세포농도는 41.4 g/L을 얻었으며, 이때 균체의 생산성은 0.25 g/L-hr로 회분식 배양에서 보다 약 2배 향상되었다. 총 지질의 함량은 균체량의 49.7% 이고, Ara의 함량은 총 지질의 34.8% 이었다. 또한 균체의 농도를 더 높이기 위하여 최종 glucose 농도가 140 g/L이 되도록 첨가한 유가식 배양에서는 0.25 g/L-hr의 생산성으로 62.1 g/L의 세포농도를 얻었으며, 총 지질의 함량은 균체량의 64.4% 이고, Ara의 함량은 총 지질의 30% 이었다. 이와 같이 Ara의 생산을 위한 유가식 배양에 의하여 회분식 배양에서 보다 최대의 균체량은 약 3배, 생산성은 약 2배정도 증가시킬 수 있었다.