

푸마르산 발효액을 이용한 숙신산 생산

문세권, 위영중, 윤종선, 류화원

전남대학교 응용화학공학부, 생물산업기술연구소

전화 (062) 530-1842, FAX (062) 530-1849

Abstract

In this study, succinic acid production using fumaric acid fermentation broth was investigated. We tried to produce fumaric acid from glucose by *Rhizopus oryzae* and then convert fumaric acid fermentation broth into succinic acid by *Enterococcus faecalis* RKY1. Conversion ratio of succinic acid was more than 0.90 g/g-fumaric acid. Furthermore, we optimized conditions of conversion from fermentation broth. As a result, when fumaric acid fermentation broth for succinic acid production was employed, we could decrease the amount used of glycerol and yeast extract.

서론

숙신산과 그 유도체는 식품, 의약, 화장품, 직물, 도금 및 가스세정 등에 이용되는 매우 폭 넓은 용도를 지니고 있는 화학원료이고 1,4-butanediol, tetrahydrofuran, 2-pyrrolidone, γ -butyrolactone, n-methyl-2-pyrrolidone, adipic acid, maleic anhydride 등과 같은 공업적으로 중요한 화합물을 합성하는 중간체로서 매우 가치 있는 C₄-dicarboxylic acid이다. 현재 숙신산은 n-butane을 maleic anhydride로 산화시켜 이 maleic anhydride를 maleic acid로 가수화시킨 후 수소화반응을 거쳐 숙신산이 합성되는 석유화학공정에 의해서만 상업적으로 생산되고 있어 생물공학적인 공정에 관한 연구에 관심이 집중되고 있다.

절대혐기적 세균인 *Anaerobiospirillum succiniciproducens*에 의한 숙신산 생합성¹은 고순도 이산화탄소를 공급해주어야 하고 초산이 같이 생성될 뿐만 아니라 기질 및 생성물 저해에 의해 고농도의 숙신산생산이 곤란하여 상대적으로 분리정제 비용이 증가하는 단점이 있다. 반면 통성 혐기성 박테리아 *Enterococcus faecalis* RKY1는 푸마르산으로부터 숙신산을 매우 효율적으로 전환하는 특성을 지닌 균주이다.^{2,3} 본 연구에서는 *E. faecalis* RKY1 균주를 이용하여 glucose로부터 생산된 푸마르산 발효액으로부터 숙신산을 생산하는 연구를 수행하였다. 푸마르산 발효액을 사용하였을 때의 H-공

여체와 질소원의 영향을 모색하였고 농축발효액을 사용하여 고농도의 숙신산 생성 및 저해를 살펴보았다.

재료 및 방법

사용균주

본 연구에서는 숙신산 전환을 위하여 통성혐기성세균인 *Enterococcus faecalis* RKY1을 사용하였으며 전배양 배지에서 6시간동안 배양한 후 배양액과 글리세롤을 1:1으로 혼합하여 -20℃에서 보관하였다.

배지 및 배양조건

전배양은 20 g/L fumaric acid, 18.3 g/L NaCO₃, 10 g/L glycerol, 10 g/L yeast extract, 5 g/L K₂HPO₄ 조성의 14mL의 배지를 20 mL의 바이얼에 균주 1mL을 접종하여 38℃, 200 rpm의 진탕배양기(KCM-8480 SF, Vision Co., Korea)에서 배양하였다. 본배양은 푸마르산 발효액에 질소원(0-20 g/L)과 글리세롤(0-15 g/L) 및 5 g/L K₂HPO₄를 첨가하여 50 mL의 바이얼에 40mL의 조업액으로 배양하였다.

분석 방법

푸마르산 및 숙신산은 HPLC(Waters Ltd., USA)를 이용하여 정량하였다. 컬럼은 Aminex HPX-87H ion-exclusion column(Bio-Rad Co., USA)을 38℃로 유지하였고 이동상은 0.008N H₂SO₄, 이동상 유량은 0.6 mL/min, 검출기는 UV detector(260 nm, 210 nm)를 사용하였다.

결과 및 고찰

Enterococcus faecalis RKY1의 푸마르산 발효액에서의 숙신산 생산성을 검토하고 최적 조건을 조사하였다. 발효액을 이용하였을 H-공여체 역할을 하는 글리세롤의 첨가를 현저히 줄일 수가 있었고 yeast extract 첨가량 또한 줄일 수 있었으나 큰 감소는 없었다. 이는 푸마르산 생산시 당 대사에 의해 생성되어진 H가 배지에 존재하기 때문이라고 생각되어진다. 또한 CSL 첨가의 영향에서 yeast extract의 양을 줄일 수 있었다. 고농도의 숙신산 전환을 위한 농축발효액의 생산성 및 저해의 영향은 농축발효액의 저해로 인하여 3배 이상 농축시 전환능이 현저히 떨어지는 것을 관찰할 수 있었다.

감사

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 사업 (고제번호: R05-2000-000-00175-0) 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Lee, P. C., W. G. Lee, and S. Y. Lee (2000), Batch and continuous cultivation of *Anaerobiospirillum succiniciproducens* for the production of succinic acid from whey, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **54**, 23-27
2. Ryu, H.W., J. S. Yun, and K. H. Kang (1998), Isolation and characterization of the *Enterococcus sp.* RKY1 for biosynthesis of succinic acid, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **26**(6), 545-550
3. Kang, K. H., J. S. Yun, and H. W. Ryu (2000), Effect of culture conditions on the production of succinate by *Enterococcus faecalis* RKY1, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **10**(1), 1-7.

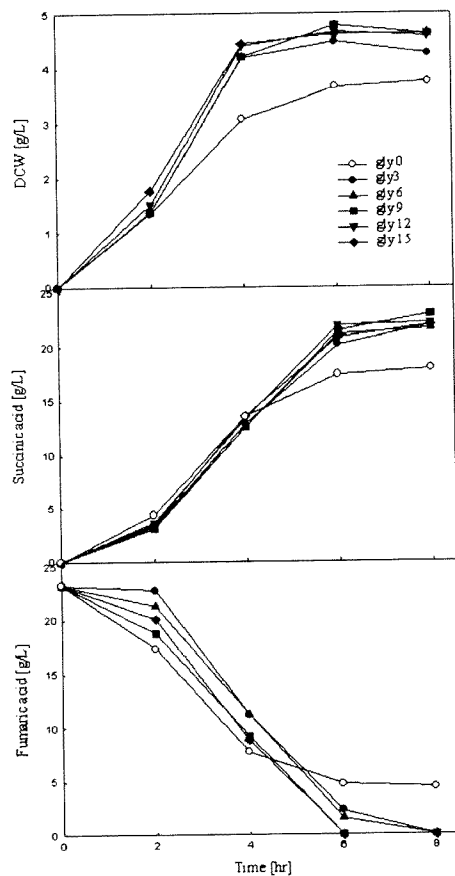


Fig. 1 Effect of glycerol on succinic acid production, fumaric acid consumption, and cell growth. 50-mL vial(40 mL medium); yeast extract, 15 g/L; K₂HPO₄, 5 g/L; initial pH, 7.

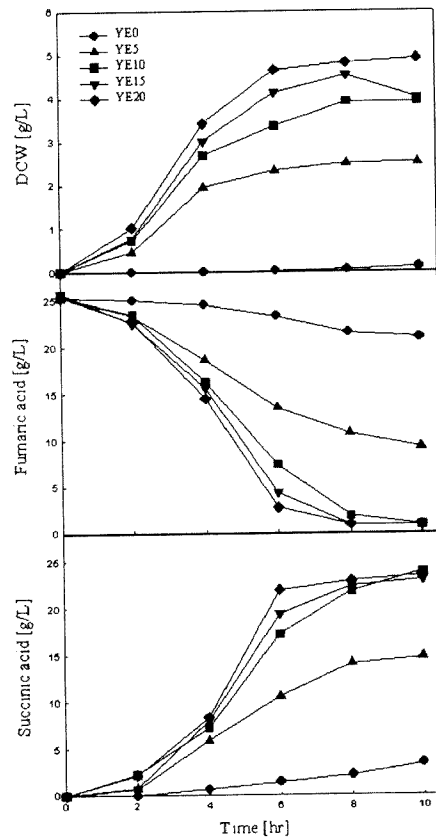


Fig. 2 Effect of yeast extract on succinic acid production, fumaric acid consumption, and cell growth. 50-mL vial(40 mL medium); glycerol, 3 g/L; K₂HPO₄, 5 g/L; initial pH, 7.