

Production of fumaric acid using rice bran

Se-Kwon Moon, Jong-Sun Yun, and Hwa-Won Ryu

Faculty of Applied Chemical Engineering,

Institute of Bioindustrial Technology, Chonnam National University

Tel :+82-62-530-1842, FAX : +82-62-530-1849

Abstract

In order to optimize the culture medium for fumaric acid production using newly isolated fungi, we investigated the effects of various carbon sources and nitrogen sources. When rice bran as nitrogen source was used, the effects of trace elements (phosphate, magnesium, zinc, and iron) on fumaric acid production were also investigated. When initial glucose of 50 g/L and rice bran was employed, maximum fumaric acid was produced without addition of magnesium, zinc, and iron.

서 론

푸마르산은 이중결합과 두 개의 카르복실 그룹을 가지고 있는 특이한 화학구조 때문에 에스테르화 및 중합과 같은 화학합성을 위한 좋은 기질로 이용되고 있으며, L-aspartic acid, L-alanine 그리고 L-malic acid와 같은 산업적으로 유용한 화합물의 생산을 위한 중요한 원료 물질이다. 또한 식품공업과 제약산업, 제지공업 등에서 이용되고 있으나 벤젠의 산화에 의해 생성되는 말레산의 산-축매 이성질화에 의해 푸마르산을 생산하고 있기 때문에 그 이용에 있어서 많은 제약을 받고 있다. 그러므로 푸마르산의 생물학적인 생산, 즉 박테리아를 이용한 말레산으로부터 생물전환에 의한 생산과 곰팡이를 이용한 생산 등이 연구되어지고 있다.

본 연구에서는 푸마르산의 생산을 위해 비타민, 철분, 인 등 각종 미네랄이 풍부한 농업가공의 부산물인 미강(rice bran)을 이용하여 질소원 및 형태론적인 면을 고찰하고자 하였으며 그 생산 및 배지의 조건을 최적화하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 연구에서는 현미로부터 분리한 호기성 곰팡이를 사용하였으며, PDA배지에

접종하여 35°C의 항온배양기에서 5일간 배양한 후 멸균증류수로 현탁하여 사용하였으며 보관은 현탁액과 글리세롤을 1:1로 혼합한 후 -20°C에서 보관하였다.

배지 및 배양조건

포자 획득을 위한 고체배지는 PDA(potato dextros agar)배지를 사용하였으며 액체배지는 Tsao 등¹의 배지를 기본배지로 하여 본 실험에서 사용한 균주를 최적화하였다. 배양 조건은 250 mL 플라스크를 이용하여 100 mL의 조업액에 현탁액(8×10^5 spores/mL) 0.3%를 접종하여 35°C, 200 rpm의 진탕배양기(KCM-8480 SF, Vision Co., Korea)에서 배양하였다.

분석방법

푸마르산은 샘플에 염산을 첨가하여 80°C에서 칼슘을 제거한 후 HPLC(Waters Ltd., USA)를 이용하여 정량하였다. 컬럼은 Aminex HPX-87H ion-exclusion column(Bio-Rad Co., USA)을 38°C로 유지하였고 이동상은 0.008N H₂SO₄, 이동상 유량은 0.6 mL/min, 검출기는 UV detector(260 nm)를 사용하였다. 환원당과 글루코스의 정량은 DNSA와 Glucose oxidase-peroxidase 분석법을 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

푸마르산의 배지 최적화를 위하여 질소원, 탄소원의 종류 및 초기 탄소원 농도와 질소원 농도의 영향을 살펴보았다. 또한 미강을 질소원으로 사용하였을 때 곰팡이 생장 및 푸마르산 생산에 많은 영향을 미치는 인산, 마그네슘, 아연, 철분의 첨가 영향을 살펴보았으며 산 생산에 중요한 영향을 미치는 pH를 조절하기 위해 첨가되는 CaCO₃의 첨가에 따른 pH의 변화를 살펴보았다.

최적 탄소원은 글루코스였지만 프락토스, 말토오스, 전분을 충분히 기질로 이용할 수 있었고 특히, 전분의 이용은 앞으로 산업적 이용 가능성을 보여주었다. 질소원으로서 미강을 이용할 때 농도는 매우 중요하다. 너무 많은 미강의 첨가는 푸마르산 생산보다 균 생장에 기질을 소비하는 것을 볼 수가 있었다. Table. 1은 미강을 이용한 산 생산에 있어서 첨가되는 성분(인산, 마그네슘, 아연, 철분)의 영향을 나타낸 것이다. 미강을 이용하더라도 인산의 첨가는 필수적인 것이고 마그네슘, 아연, 철분은 크게 영향을 미치지 않는 것을 알 수가 있었다. 또한 미강의 이용으로 발효에 적합한 균사의 형태를 쉽게 만들 수가 있었다.

감 사

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

참고문헌

1. Zhou, Y., J. Du and G.T. Tsao, "Mycelial pellet formation by *Rhizopus oryzae* ATCC 20344."(2000), *Appl. Biochem. Biotechnol.* **84-86**, 779-789.

Table 1. Effect of phosphate, magnesium, zinc, and iron on fumaric acid production using rice bran.

Trial	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄ ·7H ₂ O	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	FeSO ₄ ·7H ₂ O	Residual glucose [g/L]	Fumaric acid produced [g/L]
1	O	O	O	O	6.19	22.49
2	O	O	O	×	7.09	22.72
3	O	O	×	O	8.56	21.69
4	O	×	O	O	7.35	21.76
5	×	O	O	O	11.45	7.78
6	O	O	×	×	7.67	22.71
7	O	×	O	×	6.51	22.30
8	O	×	×	O	10.85	21.33
9	×	O	O	×	15.16	8.28
10	×	O	×	O	10.80	6.65
11	×	×	O	O	11.64	9.49
12	O	×	×	×	12.02	19.84
13	×	O	×	×	10.42	7.77
14	×	×	O	×	17.66	8.21
15	×	×	×	O	21.44	6.34
16	×	×	×	×	17.47	8.58

※ culture condition ; 250-mL flask containing 100 mL of medium at 35C, 200 rpm, for 5 days; initial glucose, 50 g/L; rice bran, 5 g/L; CaCO₃, 15 g/L.

※ O, added ; ×, not added.