

Alcaligenes eutrophus 균주의 성장과 Poly- β -hydroxybutyrate 생합성에 대한 속도론

이용우 · 유영재*

서울대학교 공과대학 화학공학과

Kinetics for the Growth of *Alcaligenes eutrophus* and the Biosynthesis of Poly- β -hydroxybutyrate

Lee, Yong-Woo and Young-J. Yoo*

Department of Chemical Engineering, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract — It is very important to have a good kinetic model which considers the effects of both ammonium and glucose for the control and optimization of the poly- β -hydroxybutyrate (PHB) fermentation. A kinetic model for the growth of *Alcaligenes eutrophus* and the biosynthesis of PHB under both ammonium and glucose limitation was proposed. Growth rate of residual biomass was expressed as a function of concentrations of residual biomass, glucose and ammonium having glucose inhibition. PHB production rate was expressed as a function of concentrations of residual biomass, glucose, ammonium and PHB content having ammonium and product inhibitions. Novel approaches were made to estimate the parameters in the model equations which considered two limiting substrates. Model parameters were evaluated by graphical and simplex methods. The proposed kinetic model fitted the data very well.

Poly- β -hydroxybutyrate(PHB)는 특정 영양분이 고갈되었을 때, 미생물이 탄소원과 에너지원으로서 체내에 축적하는 물질이다. PHB의 독특한 성질인 생분해성이 기존 석유화학 고분자의 난분해성으로 인한 환경문제들을 해결할 수 있다는 점 때문에 관심을 끌게 되었고, 그 외에도 생체적합성, 압전효과, 기체차단성, 광학적 활성이 있고 다른 고분자와 공중합이 용이하여 새로운 고분자를 만들 수 있는 가능성이 때문에(1) 매우 유용한 물질로 알려지게 되었다. PHB의 이러한 성질들을 이용하면 농약의 서방제, 수술용 솜이나 봉합사, 압력감지 장치, 가스밀폐 용기, 이성질체를 분리하는 크로마토그래피, 그리고 새로운 공중합 고분자의 재료 등으로 이용 가능하다.

PHB를 대량 생산하기 위한 생물공정을 개발하기

위해서는 적합한 공정의 선정과 공정에 대한 최적화 및 제어가 요구되는데 이 때 세포성장 및 PHB생산에 대한 타당한 모델속도식이 필요하다. Heinze와 Lafferty(2)는 PHB를 생합성하는 세포가 암모늄을 대사하는데 2가지 다른 기작(3, 4)이 존재함을 알고 비생체 성장속도(specific growth rate of residual biomass)를 각 기작에 대한 생체 성장속도의 합으로 된 질소원 기질농도의 함수로 표현되었고, PHB 생성속도는 PHB가 생체 성장속도에 비례하여 생성되다가 질소원이 고갈되어 생체 성장이 중단되었을 때에 세포내에 급격히 축적되는 것을 고려하여 성장 관계(growth associated)식과 비성장 관계(nongrowth associated)식의 합으로 된 속도식으로 나타내었다. Asenjo와 Suk(5)은 메탄을 탄소원으로 하여 PHB를 생합성하는 *Methanotroph* 균주에 대하여 세포내에 축적할 수 있는 최대 PHB농도가 존재한다고 가정하여 생성물저해와 질소에 의한 저해를 고려한 PHB 생성속도식을 제시하였다. Mulchandani와 Luong(6)

Key words: PHB, *Alcaligenes eutrophus*, biopolymer, glucose effect, ammonium effect

*Corresponding author

은 세포저해(cell inhibition)가 있는 세포 성장속도식을 제시하였고, PHB 생성속도식을 Luedeking-Piret 모델로 표현하였다. Luong 등(7)은 Mulchandani와 Luong(6)이 제안한 세포 성장속도식에 기질 저해를 고려하여 개선된 속도식을 제안하였다.

지금까지 세포성장과 PHB 생성속도식에 관한 연구는 주로 질소원 한 성분에 대한 속도식을 제시하는 것이 대부분이었다. 본 논문에서는 *Alcaligenes eutrophus* 균주의 성장과 PHB합성에 미치는 포도당과 암모늄농도의 영향에 대한 실험결과(8)를 근거로, 탄소원과 질소원 두 가지 기질의 제한을 받는 경우에 대한 세포 성장속도식과 PHB 생성속도식을 제시하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

PHB를 생합성하는 균주로서 포도당을 탄소원으로 이용하는 *Alcaligenes eutrophus* (NCIB 11599)를 사용하였다. 배지의 조성은 탄소원으로 포도당, 질소원으로 염화암모늄(NH₄Cl)을 사용하였고 MgSO₄ 0.1 g/l, KH₂PO₄ 2.5 g/l, Na₂HPO₄·12H₂O 4 g/l, NaHCO₃ 1 g/l, 미량금속이온 100 μl/l로 하였다. 미량금속이온 농도는 Siegel과 Ollis(9)의 조성대로 사용하였다. 포도당은 Sigma, 그 외는 Duksan, Junsei, Nakarai 등의 제품을 사용하였다.

배양

플라스크 배양은 250 ml-삼각플라스크를 사용하였고 균주를 100 ml의 멸균된 배지에 접종하여 진탕배양기에서 150 rpm, 35°C의 조건에서 배양하였다. 회분식 배양은 5 l-발효조를 사용하였고 배양용량은 2 l로 하였다. 공기용량은 1 vvm, 배양온도는 35°C, 교반속도는 400 rpm 그리고 pH는 6.8~7.0을 유지하였다.

분석

세포농도는 660 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에 의하여 환산하였다. 포도당농도는 DNS 방법(10), 암모늄농도는 Berthelot 반응을 이용한 방법(11)을 사용하였다. PHB농도는 Ward와 Dawes(12)가 제안한 disk assay법을 사용하여 측정하였다.

수치해석 및 묘사

모델속도식의 계산은 Runge-Kutta 방법을 이용하였고 오차범위는 1.0×10^{-4} 로 하였다. 매개변수 값을 구하기 위하여 simplex method를 이용한 EUREKA software(Borland Co.)를 사용하였다.

결과 및 고찰

비생성속도에 미치는 포도당 및 암모늄농도의 영향

세포(X)는 단백질과 혼산을 포함하는 촉매적 활성을 가진 생체(R, residual biomass)와 PHB(P)로 구분할 수 있다. 따라서 생체농도는 세포농도와 PHB 농도의 차($R = X - P$)로 계산되고 세포 성장속도는 생체 성장속도와 PHB 생성속도의 합으로 나타낼 수 있다.

이미 보고된 바와 같이(8) 회분식 배양에서 초기 포도당농도가 높을수록 생체 성장속도와 PHB합성 속도는 억제되지만 최종 생체농도와 건조세포농도에 대한 PHB 축적비는 높아진다. 또한, 초기 암모늄농도가 낮을수록 최종 생체농도와 PHB농도는 낮지만 최종 PHB 축적비는 증가한다. 따라서 생체 성장속도와 PHB 생성속도는 포도당과 암모늄농도의 영향을 받고 있음을 알 수 있으며 이를 모델식에서 고려하였다.

비생체 성장속도에 미치는 암모늄농도의 영향 : 포도당농도가 일정한 조건에서 비생체 성장속도에 미치는 암모늄농도만의 영향을 보기 위하여 초기 포도당농도가 20 g/l이고 초기 염화암모늄농도가 0.5, 1.0, 2.0 g/l인 조건에서 배양한 실험데이터로부터 포도당농도가 각각 10, 15, 18 g/l일 때 암모늄농도에 따른 비생체 성장속도를 계산하여 Fig. 1(a)에 나타내었다. 한 조건의 회분식 배양 실험결과에서 1개의 테이타만을 얻을 수 있기 때문에 테이타 수가 제한되었으나 비생체 성장속도는 암모늄에 의한 기질저해를 받지 않음을 알 수 있었다. 이는 Asenjo와 Suk(5)이 비생체 성장속도를 질소기질농도 함수로 된 Monod식으로 표현한 것과 일치하고 Bitar와 Underhill(13)도 최근에 *A. eutrophus*의 비세포 성장속도가 암모늄기질에 의한 저해작용이 없는 Monod식을 따름을 실험으로 확인하였다.

비생체 성장속도에 미치는 포도당농도의 영향 : 암모늄농도가 일정한 조건에서 비생체 성장속도에 미

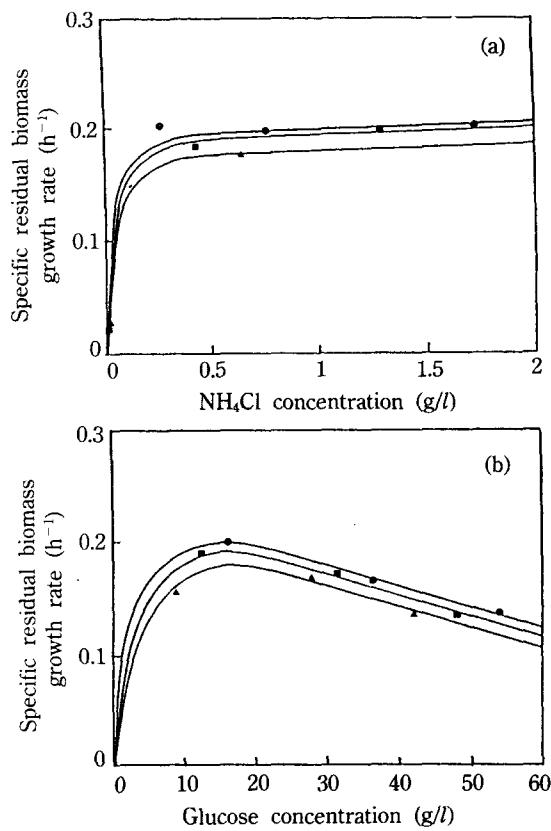


Fig. 1. (a) Specific growth rate of residual biomass as a function of NH₄Cl concentration for various glucose concentrations. Glucose concentration: 10(▲), 15(■), 18(●) g/l.
(b) Specific growth rate of residual biomass as a function of glucose concentration for various NH₄Cl concentrations. NH₄Cl concentration: 0.5(▲), 1.0(■), 1.5(●) g/l

치는 포도당농도만의 영향을 보기 위하여 초기 염화암모늄농도가 2 g/l이고, 초기 포도당농도가 20, 40, 60 g/l인 조건에서 배양한 실험데이터로부터 염화암모늄농도가 0.5, 1.0, 1.5 g/l일 때 포도당농도에 따른 비생체 성장속도를 각각 계산하여 Fig. 1(b)에 그 결과를 나타내었다. 비생체 성장속도가 최대가 되는 포도당농도가 존재하며 포도당농도가 그 이상이 되면 기질저해 때문에 비생체 성장속도가 감소하였다.

비PHB 생성속도에 미치는 포도당농도와 PHB 축적비의 영향 : 포도당농도와 축적비가 비PHB 생성속도에 미치는 영향을 알아보기 위하여 암모늄이 고갈된 영역에서 포도당농도에 따른 비PHB 생성속도를 계산하여 Fig. 2(a)에 나타내었다. 축적비가 일정할 때

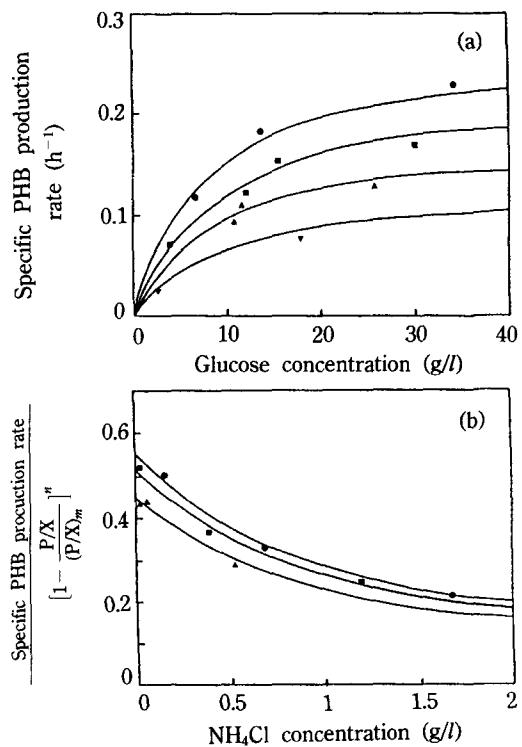


Fig. 2. (a) Specific PHB production rate as a function of glucose concentration for various PHB contents when NH₄Cl was completely consumed. PHB content: 60(●), 65(■), 70(▲), 75(▼)% of dry cell weight.
(b) Specific PHB production rate divided by product inhibition term as a function of NH₄Cl concentration for various glucose concentrations. Glucose concentration: 10(▲), 15(■), 18(●) g/l

포도당농도가 증가할수록 비PHB 생성속도가 증가하였으며 포도당농도 증가에 따른 기질저해 현상은 관찰되지 않았다. 또한, 포도당농도가 일정할 때는 PHB 축적비가 증가할수록 비PHB 생성속도가 감소하였으므로 비PHB 생성속도는 생성물에 의한 저해가 있음을 알 수 있었다. 이는 Asenjo와 Suk(5)이 PHB농도가 낮은 초기 정체기에서 PHB 축적속도가 가장 빠르고 배양시간이 경과하면서 PHB 농도가 최대값에 접근할 수록 느려진다는 실험결과와 일치한다.

비PHB 생성속도에 미치는 암모늄농도의 영향 : 비PHB 생성속도에 대한 암모늄농도만의 영향을 보기 위하여 초기 포도당농도가 20 g/l이고 초기 염화암모늄농도가 0.5, 1.0, 2.0 g/l인 조건에서 배양한 실험데이터로부터 포도당농도가 각각 10, 15, 18 g/l일 때 암모늄농도에 따라 비 PHB 생성속도를 생성물저해

향으로 나눈 값, $v/[1 - (P/X)/(P/X)_m]^n$ 을 계산하여 Fig. 2(b)에 나타내었다. Fig. 2(b)에서 알 수 있듯이 포도당농도가 일정할 때 암모늄농도가 낮을수록 $v/[1 - (P/X)/(P/X)_m]^n$ 값은 높았고, 암모늄농도가 일정할 때 포도당농도가 높을수록 $v/[1 - (P/X)/(P/X)_m]^n$ 값은 높았다. 이로부터 암모늄은 PHB생성에 저해작용을 힘을 알 수 있었다. 이는 Schlegel 등(14)이 질소원이나 인이 고갈될 때 *A. eutrophus* 균주의 단백질합성과 성장이 억제되면서 PHB가 세포내에 축적된다고 하였고 Heinzle과 Lafferty(2)가 *A. eutrophus* 균주 내에 PHB가 축적될 때 암모늄에 의한 PHB 생성저해 작용이 있다고 한 것과 일치한다.

제안된 모델속도식

실험 및 데이터분석 결과로부터 (1)~(5)식과 같은 모델속도식을 제안하였다. 세포 성장속도는 (1)식과 같이 생체 성장속도와 PHB 생성속도의 합으로 나타내었다. 생체 성장속도는 (2)식과 같이 생체농도에 비례하고 암모늄농도에 제한을 받으며 포도당에 의한 기질저해가 있는 Monod식으로 나타내었다. PHB 생성속도는 (3)식과 같이 생체농도에 비례하고 포도당농도에 영향을 받으며 암모늄에 의한 기질저해와 생성물저해가 있는 식으로 나타내었다.

생성물저해식은 Asenjo와 Suk(5)이 Monod형태, 지수형태, 시간지연형태 그리고 점근식형태로 표현하였다. 그들은 그 이상 증가하지 않는 최대 PHB농도 (P_{max})를 가정하여 생성물저해식을 점근식으로 나타낸 식이 가장 적합하다고 하였다. 그러나 세포농도가 증가하면 최대 PHB 농도도 증가할 수 있기 때문에 저자는 최대 PHB 농도보다 최대 PHB 축적비($(P/X)_{max}$)가 생성물저해를 점근식으로 표현하는데 타당한 것으로 보았고 최대 PHB 축적비에 대한 점근식형태로 생성물저해를 나타내었다.

포도당 소모속도는 탄소원이 생체와 PHB를 생합성하고(2) 세포의 활성을 유지하는데 필요하기 때문에(15), (4)식과 같이 PHB 생성속도와 생체 성장속도에 비례하고 maintenance energy가 존재하는 식으로 표현하였다. 암모늄 소모속도는 생체 성장속도에 비례한다고 보고(2, 5), (5)식과 같이 나타내었다.

$$\frac{dX}{dt} = \frac{dR}{dt} + \frac{dP}{dt} \quad (1)$$

$$\frac{dR}{dt} = \mu_m R \left(\frac{G}{K_G + G + G^2/K_{GI}} \right)^n \left(\frac{N}{K_N + N} \right) \quad (2)$$

$$\frac{dP}{dt} = v_m R \left(1 - \frac{P/X}{(P/X)_m} \right)^n \left(\frac{G}{K_{GP} + G} \right) \left(\frac{K_I}{K_I + N} \right) \quad (3)$$

$$\frac{dG}{dt} = - \frac{1}{Y_{RG}} \frac{dR}{dt} - \frac{1}{Y_{PG}} \frac{dP}{dt} - mR \quad (4)$$

$$\frac{dN}{dt} = - \frac{1}{Y_{RN}} \frac{dR}{dt} \quad (5)$$

매개변수 추정

전체 13개 매개변수 중 PHB 생성속도식과 기질 소모속도식에 관계된 8개 매개변수는 아래의 (6)~(13)식과 같이 포도당이나 암모늄농도 또는 PHB 축적비 중 2개의 변수를 고정하고 (3)식이나 (4)식을 한 변수에 대한 직선식으로 정리한 뒤 테이터를 지나는 직선의 기울기와 절편으로부터 구하였고 세포 성장속도식에 관계된 μ_m , K_G , K_{GI} 그리고 K_N 은 도식적으로 구할 수 없었기 때문에 simplex method를 이용하여 구하였다.

암모늄이 고갈되고 PHB 축적비가 일정할 때 (3)식은 (6)식과 같이 Lineweaver-Burk plot 형태로 표현할 수 있다.

$$\frac{R}{dP/dt} = \frac{1}{v} = \frac{K_{GP}}{v_p} \frac{1}{G} + \frac{1}{v_p} \quad (6)$$

여기서

$$v_p = v_m \left(1 - \frac{P/X}{(P/X)_m} \right)^n \quad (7)$$

Fig. 3(a)에 PHB 축적비가 건조세포 무게의 60, 65, 70, 75%일 때 $1/v$ 와 $1/G$ 의 관계를 나타내었다. (6)식으로부터 기울기와 절편의 비가 K_{GP} 이고, 그 값은 Fig. 3(a)에 의하여 8.05 g/l이었다.

포도당과 암모늄농도를 고정하고 앞에서 구한 K_{GP} 를 (3)에 대입하여 다시 정리하면 (8)식과 같은 직선식을 얻을 수 있고, 이 식의 기울기와 절편으로부터 n 과 v_m 을 구할 수 있다(Fig. 3(b)).

$$\ln \frac{v}{G/(K_{GP} + G)} = \ln v_m + n \ln \left(1 - \frac{P/X}{(P/X)_m} \right) \quad (8)$$

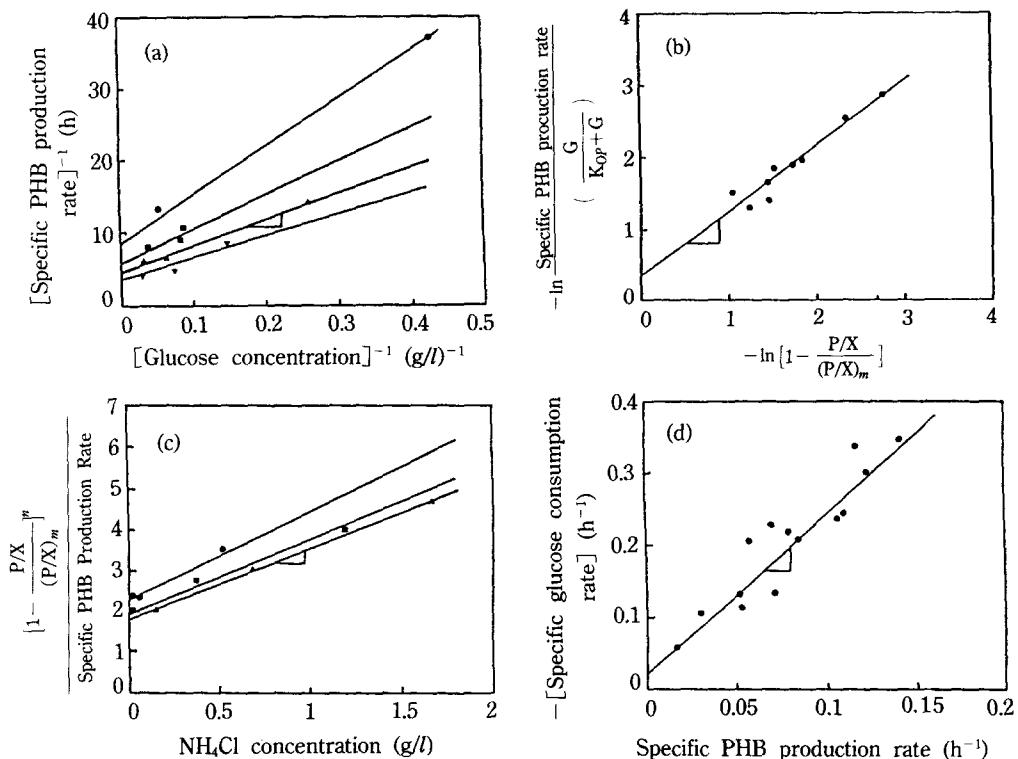


Fig. 3. Evaluation of kinetic parameters in the proposed model.

(a) Evaluation of K_{GP} (PHB content: 0.6(▼), 0.65(▲), 0.7(■), 0.75(●)). (b) Evaluation of n and v_m , (c) Evaluation of K_I (glucose concentration: 10(●), 15(■), 18(▲) g/l), (d) Evaluation of $Y_{P/G}$ and m .

포도당농도를 고정하고 앞에서 구한 K_{GP} , n , v_m 을 (3)식에 대입하여 정리하면 (9)식과 같은 직선식이 유도된다. 이 식의 기울기와 절편의 비로부터 K_I 를 구할 수 있다(Fig. 3(c)).

$$\frac{A}{v} = \frac{1}{v_G K_I} N + \frac{1}{v_G} \quad (9)$$

여기서

$$A = \left(1 - \frac{P/X}{(P/X)_m}\right)^n \quad (10)$$

$$v_G = v_m \left(\frac{G}{K_{GP} + G} \right) \quad (11)$$

암모늄이 고갈된 영역에서 $dR/dt=0$ 인 경우에 (4)식을 다음과 같이 기울기가 $1/Y_{P/G}$ 이고 절편이 m 인 직선식으로 나타낼 수 있다. 이 관계식의 기울기와 절편으로부터 $Y_{P/G}$ 와 m 을 구할 수 있다(Fig. 3(d)).

$$-\frac{dG}{R dt} = \frac{1}{Y_{P/G}} v + m \quad (12)$$

앞에서 구한 $Y_{P/G}$, m 값을 (4)식에 대입하여 정리하면 (13)식과 같은 원점을 통과하는 직선식을 구할 수 있다. 이 식의 기울기로부터 $Y_{R/G}$ 를 구한다.

$$-\frac{1}{R} \frac{dG}{dt} - \frac{1}{Y_{P/G}} v - m = \frac{1}{Y_{R/G}} \mu \quad (13)$$

그리고 $Y_{R/N}$ 은 $dR/dt=0$ 인 영역에서 암모늄 소모속도와 생체 성장속도의 비로부터 구할 수 있다.

지금까지 계산된 매개변수들을 정리하여 Table 1에 나타내었다. 제안된 모델식에서 최대 비생체 성장속도는 0.20 h^{-1} 인데 Siegel과 Ollis(15)가 기체기질(H_2 , O_2 , CO_2)로 *A. eutrophus*를 산소나 수소를 제한한 조건에서 배양하였을 때 계산된 최대 비세포 성장속도(0.3 h^{-1})보다 적었다. Asenjo와 Suk(5)은 Siegel과 Ollis(5)의 실험데이터로부터 $v_m=0.33\text{ h}^{-1}$ 으로 정하

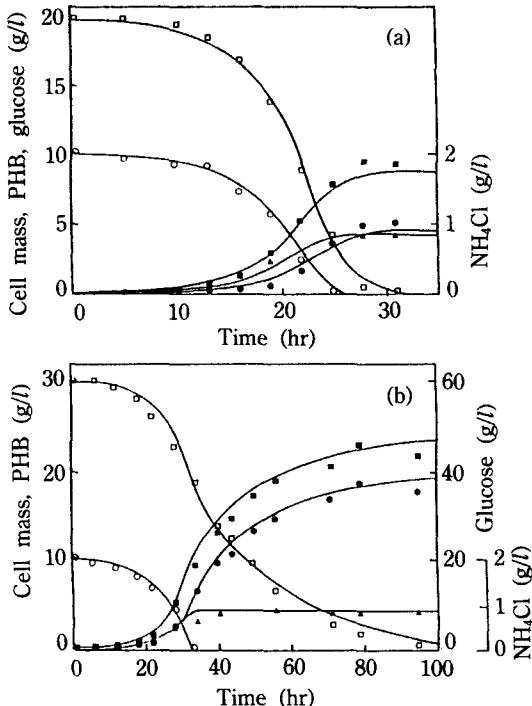
Table 1. Estimated parameter values used for the proposed kinetics

Parameter	Value	Remarks
μ_m	0.56 (h^{-1})	Estimated
v_m	0.70 (h^{-1})	Graphical
K_G	14.45 (g/l)	Estimated
K_{GI}	19.15 (g/l)	Estimated
K_N	0.06 (g/l)	Estimated
K_{GP}	8.05 (g/l)	Graphical
K_I	1.04 (g/l)	Graphical
(P/X) _m	0.85 (g/g)	Assumed
n	0.89	Graphical
$Y_{P/G}$	0.45 (g/g)	Graphical
$Y_{R/G}$	0.47 (g/g)	Graphical
$Y_{R/N}$	2.11 (g/g)	Graphical
m	0.01 (h^{-1})	Graphical

였는데, 본 연구에서 계산된 값($0.70 h^{-1}$)보다 적었다. Maintenance energy(m) 값에 대하여는 Siegel과 Ollis(15)가 수소나 산소를 제한한 상태에서 각각 0.002 g H₂/l/h, 0.2048 g O₂/l/h임을 보고하였는데, 포도당에 대해서는 알려진 바 없다. 문헌에 견조세포 무게의 80%까지 PHB가 축적되었다고 하였고(13), 실험으로도 81%까지 PHB를 축적시킬 수 있었기 때문에 (P/X)_{max}를 0.85로 가정하였는데 변수의 민감도는 매우 적은 것으로 나타났다. Bitar와 Underhill(13)은 *Alcaligenes eutrophus* H16 균주의 성장속도식에서 질소원 기질이 NH₄Cl인 경우에 실험으로부터 N_N값(0.058 g/l)을 구하였는데 본 연구에서 구한 값(0.06 g/l)과 매우 일치하였다. Asenjo와 Suk(5)은 메탄을 기질로 PHB를 생합성하는 *Methanotroph* 균주의 경우 K_I와 n을 각각 0.02 g/l, 0.5로 하였는데 본 연구에서 *A. eutrophus* 균주의 경우에는 각각 1.04 g/l, 0.89로 나타났다. 여기서 K_I는 최대 PHB 생성속도의 1/2 이 되는 암모늄농도를 나타낸다.

모델식의 타당성 검토 및 응용

지금까지 계산된 매개변수들을 모델속도식에 대입하여 실험결과와 어느정도 일치하는지 확인하기 위하여 Fig. 4에 모사결과와 실험결과를 비교하여 나타내었다. Fig. 4(a)는 초기 포도당농도가 20 g/l이고 초기 염화암모늄농도가 2 g/l인 조건에서 배양한 결과인데 생체농도에 대한 모사곡선은 실험데이타와 잘

**Fig. 4. Comparison of the experimental data with simulation results (cellmass(■), residual biomass(▲), PHB(●), glucose(□), NH₄Cl(○)).**

(a) Initial glucose concentration=20 g/l (b) Initial glucose concentration=60 g/l, initial NH₄Cl concentration=2 g/l

일치하였지만 PHB농도 곡선은 지수성장기에서는 실험데이타 보다 다소 낮게, 정체기에서는 실험데이타 보다 다소 높게 묘사되었다. 기질농도 곡선은 포도당이나 암모늄 모두 실험결과와 잘 일치하였다. Fig. 4(b)는 초기 포도당농도가 60 g/l이고 초기 염화암모늄농도가 2 g/l인 경우인데 생체농도 곡선은 실험결과 보다 일찍 정체기에 도달하였지만 정체기에서의 생체농도는 일치하였다. PHB농도 곡선은 실험결과 보다 약간 높게 묘사되었고 그에 따라 세포농도도 실험결과 보다 높게 묘사되었다. 포도당농도는 배양초기에는 실험결과 보다 약간 높게 묘사되었지만 배양 후반기에는 낮게 묘사되었다. 암모늄농도는 실험결과와 잘 일치하였다. 전체적으로 볼 때 모사결과는 실험결과와 부분적으로 차이는 있지만 실험결과와 잘 일치하였고 비슷한 경향을 나타내었다.

제안된 모델속도식은 PHB를 생성하기 위한 유가 배양 공정 및 2단 연속배양 공정의 각 단계에서의

최적 포도당과 암모늄농도를 계산하여 공정을 최적화하고 제어하는데 매우 효과적일 것으로 기대된다. 또한 질소원 및 탄소원과 같은 2가지 기질을 고려하는 모델링과 모델식에서의 다변수 추정에 본 연구방법을 응용할 수 있다.

사용기호

A	: Constant defined in eq. (10)
G	: Glucose concentration (g/l)
K _G	: Saturation constant for glucose in residual biomass growth rate (g/l)
K _{Gl}	: Inhibition constant for glucose in residual biomass growth rate (g/l)
K _{GP}	: Saturation constant for glucose in PHB production rate (g/l)
K _I	: Inhibition constant for NH ₄ Cl in PHB production rate (g/l)
K _N	: Saturation constant for NH ₄ Cl in residual biomass growth rate (g/l)
m	: Maintenance energy (h ⁻¹)
N	: NH ₄ Cl concentration (g/l)
n	: Exponent in eq. (3)
P	: PHB concentration (g/l)
(P/X) _m	: Maximum PHB content (g PHB/g cell)
R	: Residual biomass concentration (g/l)
X	: Cell mass concentration (g/l)
t	: Time (h)
Y _{P/G}	: PHB yield based on glucose (g/g)
Y _{R/G}	: Residual biomass yield based on glucose (g/g)
Y _{R/N}	: Residual biomass yield based on NH ₄ Cl (g/g)
μ	: Specific growth rate of residual biomass (h ⁻¹)
μ_m	: Maximum specific growth rate of residual biomass (h ⁻¹)
v	: Specific PHB production rate (h ⁻¹)
v _G	: constant defined in eq. (11)
v _m	: Maximum specific PHB production rate (h ⁻¹)
v _p	: constant defined in eq. (7)

요약

Poly- β -hydroxybutyrate(PHB) 발효를 제어하고 최적화하는데 포도당과 암모늄농도의 영향을 고려한 적합한 모델속도식이 매우 필요하다. 포도당과 암모늄 두 기질의 제한을 받는 *Alcaligenes eutrophus* 균주의 성장과 PHB 생합성에 대한 모델속도식을 제안하였다. 생체 성장속도는 포도당에 의한 기질저해가 있는 생

체농도와 포도당농도 그리고 암모늄농도의 합수로 나타내었다. PHB 생성속도는 암모늄과 생성물 저해가 있는 생체농도, 포도당농도, 암모늄농도 그리고 PHB 축적비의 합수로 나타내었다. 두 가지 제한기질을 고려한 모델식의 매개변수를 결정하기 위하여 새로운 방법이 시도되었다. 모델식의 매개변수들은 도식적 방법과 simplex method로 구하였고 제안된 모델속도식은 실험데이터와 잘 일치하였다.

감사의 말

본 연구는 1989년도 한국과학재단의 기초연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Holms, P.A.: *Phys. Technol.*, **16**, 32 (1985)
2. Heinzle, E. and R.M. Lafferty: *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **11**, 8 (1980)
3. Kavanagh, B.M. and J.A. Cole: *Continuous culture* (Dean, A.C.R., D.C.Ellwood, C.G.T. Evans and J. Melling, eds.) Ellis Horwood, Chichester, Vol. 6, 184 (1976)
4. Müller, P.J., Ivanova II and F. Bergter: *Z. Allg. Mikrobiol.*, **17**, 221 (1977)
5. Asenjo, J.A. and J.S. Suk: *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, No. 15, 225 (1985)
6. Mulchandani, A. and J.H.T. Luong: *Biotechnol. Bioeng.*, **32**, 639 (1988)
7. Luong, J.H.T., A. Mulchandani and A. Leduy: *Enz. Microb. Technol.*, **10**, 326 (1988)
8. Lee, Y.W. and Y.J. Yoo: *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **18**, 607 (1990)
9. Siegel, R.S. and D.F. Ollis: *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 764 (1984)
10. Miller, G.: *Anal. Chem.*, **31**, 426 (1959)
11. Srienc, F., B. Arnold and J.E. Bailey: *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 982 (1984)
12. Ward, A.C. and E.A. Dawes: *Anal. Biochem.*, **52**, 607 (1973)
13. Bitar, A. and S. Underhill: *Biotechnol. Lett.*, **12**, 563 (1990)
14. Schlegel, H.G., G. Gottschalk and V. Bartha: *Nature*, **191**, 463 (1961)
15. Siegel, R.S. and D.F. Ollis: *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 764 (1984)

(Received February 25, 1991)