

Gluconacetobacter persimmonus KJ145를 이용한 Bacterial Cellulose 생산조건

이오석 · 장세영 · 정용진[†]

계명대학교 식품가공학과 및 전통 미생물자원 산업화 연구센터

Culture Condition for the Production of Bacterial Cellulose with *Gluconacetobacter persimmonus* KJ145

Oh-Seuk Lee, Se-Young Jang and Yong-Jin Jeong[†]

Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University and TMR Center, Daegu 704-701, Korea

Abstract

We investigated the optimal condition for production of bacterial cellulose with *Gluconacetobacter persimmonus* KJ145. For bacterial cellulose production, optimal medium composition and culture conditions were conducted to determine. Apple juice (10°Brix) medium was suitable than Hestrin & Schramm medium which is generally used for the bacterial cellulose production. When 1% pyruvate as carbon source was added to apple juice, bacterial cellulose production rose to high level. The effect of various nitrogen sources was investigated: CSL was found to be essential to high cellulose yields and the optimal CSL concentration was 10%. Optimal temperature and culture time for the bacterial cellulose production was 35°C and 16 days, respectively. At the optimal condition *Gluconacetobacter persimmonus* KJ145 produced 8.96 g/L of bacterial cellulose (dry weight), which was much higher than reported values.

Key words: *Gluconacetobacter persimmonus* KJ145, bacterial cellulose, static culture, pyruvate

서 론

Biopolymer인 cellulose는 algae(Vallonia), fungi(*Dictyostelium discoideum*) 및 *Acetobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Alcaligenes*, *Zoogloea* 등의 세균에 의해서 생산된다고 알려져 있다(1-5). 양조식초 제조과정에서 종종 피막을 형성하여 오염균으로 알려진 bacterial cellulose를 생산하는 초산균은 “곤약균” 또는 “vinegar plant”라는 이름으로 오래 전부터 알려져 왔다(4). 1886년 Brown에 의해서 이 균이 *Acetobacter xylinum*이며, 형성된 피막성분이 식물 세포벽을 구성하는 cellulose와 동일한 것으로 보고되면서(6,7) 초산균이 bacterial cellulose를 생산한다는 사실이 널리 알려지게 되었다. Bacterial cellulose를 생산하는 초산균은 *A. xylinum*, *A. pasteurianus*, *A. hanseenii* 등이 알려져 있었으나(1), 최근 16S rDNA를 이용하여 이들 초산균을 *Acetobacter*속, *Gluconacetobacter*속, *Acidomonas*속 및 *Gluconobacter*속으로 재분류하고 있다(8).

Bacterial cellulose는 호기적인 조건에서 정치 배양할 때 기체와 액체의 경계면에서 pellicle형태로 생성된다(3,4). 초산균이 생성하는 bacterial cellulose는 glucose가 β -1,4 glucoside linkage를 형성하고 있는 점에서는 식물체가 생산하

는 cellulose와 같으나 중합도에서는 다르며 lignin과 hemi-cellulose 및 기타 side chain이 결합되어 있지 않는 특성을 지닌 homopolysaccharide이다(3,4). 특히 초산균의 cellulose 생합성과 식물체의 cellulose 생합성 메카니즘이 유사한 것으로 알려지면서 *A. xylinum*을 모델로 cellulose 생합성 메카니즘에 관한 많은 연구가 진행되고 있다(9-13). 한편 생성된 bacterial cellulose는 강도, 보수성, 유화현탁안정성, 결착성 등이 좋아 다양한 용도로 활용이 가능하다(1-5,14). 실제로 필리핀에서는 코코넛 부산물을 이용하여 생산한 *nata-de-coco*를 생산수출하고 있는데 과실가공식품 수출액의 31%에 상당하는 양이며 그 중 96%가 일본으로 수출되고 있다(1). 일본에서는 bacterial cellulose의 대량 생산과 산업적 활용을 연구하기 위해서 Bio Polymer Research(BPR)사를 설립하여 체계적인 연구(15-17)를 진행해오고 있으며 실제로 음향진동판으로 제작하여 연간 10만조 이상 판매하고 있다(4).

국내에서도 Son 등(18)이 bacterial cellulose 생성 균주를 분리하여 보고한 바 있으며, Lee 등(19,20)도 *A. xylinum*을 분리하여 bacterial cellulose 생성에 최적인 배지조성을 조사하였으며, Cha 등(21)도 bacterial cellulose를 생성하는 *A. xylinum* KI를 분리하여 보고한 바 있다. Hwang 등(22)은 *A.*

*Corresponding author. E-mail: yjjeong@kmu.ac.kr
Phone: 82-53-580-5557. Fax: 82-53-580-5162

xylinum BRC5를 분리하여 최적 배지 및 배양조건에 관련된 연구 및 진탕배양 조건 등을 보고한 바 있다. 이러한 노력에도 불구하고 새로운 기능성 소재인 bacterial cellulose를 대량 생산 및 상용화하기 위해서는 보다 많은 연구자의 참여 및 활용분야에 대한 연구가 필요한 시점이다. 이러한 필요성에 따라서 본 연구자들은 재래식 감식초에서 bacterial cellulose 생성능이 우수하고 알콜내성이 비교적 높은 *Gluconacetobacter persimmonus* KJ145를 분리·동정하였다(23). 본 연구에서는 bacterial cellulose를 대량 생산할 목적으로 bacterial cellulose 생합성에 대한 사과과즙의 당도, pH, 배양온도, 탄소원, 질소원 등의 영향을 조사하여 최적 배양조건을 설정하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지조성

본 연구에는 재래적인 감식초에서 분리된 *Gluconacetobacter persimmonus* KJ145(strain No. KCCM 10354, KCTC 10175 BP)를 사용하였다(23). 종배양은 yeast extract 0.5%, peptone 0.5%, Na₂HPO₄ 0.27%, citric acid 0.115%, glucose 2.0% (pH 6.0)으로 구성된 Hestrin & Schramm(이하 HS)배지를 사용하였으며(24), bacterial cellulose 생산용 배지는 사과 농축액(50°Brix)을 4°C에 보관하면서 10°Brix로 희석하여 pyruvate 1%, corn steep liquor(CSL) 10%를 각각 첨가하여 사용하였다.

종배양 및 배양방법

종배양은 121°C에서 15분간 살균된 20 mL HS배지에 사면 배지로부터 *G. persimmonus* KJ145 한 백금이를 접종하여 30°C에서 250 rpm의 속도로 진탕·배양하였다(22). 48시간 배양 후 3,800×g의 속도로 10분간 원심분리하여 균체를 얻고, 이를 생리식염수(0.85% NaCl)로 2회 세척한 후 20 mL가 되도록 생리식염수를 가하여 재현탁하여 종배양액으로 사용하였다. 본 배양은 100 mL용 삼각플라스크에 각각의 배지를 20 mL씩 넣고 종배양액을 2%(v/v)되게 접종하여 각각의 조건에 따라 정치 배양하였다.

배양조건에 따른 영향

HS 배지 및 사과과즙 10°Brix배지에 각각 접종하여 30°C에서 6일간 정치배양한 다음 생산된 bacterial cellulose의 생산량을 비교하였으며, 초기 pH에 따른 영향은 사과과즙(10°Brix)을 0.1 N NaOH 및 0.1 N HCl를 사용하여 초기 pH를 각각 3, 4, 5, 6, 7로 조절하였으며, 초기 °Brix의 영향은 사과과즙을 각각 1, 5, 10, 15, 20°Brix로 조절하여 각각 30°C에서 6일간 정치배양하여 비교하였다. 탄소원의 영향은 사과 농축액을 10°Brix(pH 6.0)로 희석한 기본배지에 각종 탄소원을 1%(w/v)되게 첨가하여 배양하였으며, pyruvate의 최적농도는 pyruvate를 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0%(w/v)까지 각각 농도별로 첨가하고, 0.2 N NaOH를 사용하여 배지의 초기 pH

를 조절하여 정치배양한 후 조사하였다. 또한 질소원의 영향의 영향은 pyruvate 1%(w/v)을 보강한 사과과즙배지(10 brix, pH 6.0)에 각종 질소원을 0.5%(w/v)되게 첨가하여 배양하였으며 CSL농도의 영향을 조사하기 위해 사과배지(10°Brix, pyruvate 1%, pH 6.0)에 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 및 20.0 %(w/v)의 CSL을 첨가하여 정치배양한 후 각각의 영향을 조사하였다. 그리고 배양온도는 상기 실험에서 설정된 최적 배지(사과쥬스 10°Brix, 1% pyruvate, CSL 10%, pH 6.0)를 사용하여 25, 30, 35, 40, 45, 50°C에서 배양시간은 최적배지 조성 및 배양조건(사과쥬스 10°Brix, 1% pyruvate, CSL 10 %, pH 6.0, 35°C)에서 배양하면서 bacterial cellulose 생산량과 균체의 증식에 미치는 영향을 조사하였다.

배양조건

종배양은 121°C에서 15분간 살균된 20 mL HS배지에 사면 배지로부터 *G. persimmonus* KJ145 한 백금이를 접종하여 30°C에서 250 rpm의 속도로 진탕·배양하였다(22). 48시간 배양 후 3,800×g의 속도로 10분간 원심분리하여 균체를 얻고, 이를 생리식염수(0.85% NaCl)로 2회 세척한 후 20 mL가 되도록 생리식염수를 가하여 재현탁하여 종배양액으로 사용하였다. 본 배양은 100 mL용 삼각플라스크에 각각의 배지를 20 mL씩 넣고 종배양액을 2%(v/v)되게 접종하여 30°C에서 6일간 정치배양하였다.

생산량 측정

생성된 bacterial cellulose양은 Park 등(25)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 membrane 형태로 형성된 bacterial cellulose를 중류수로 충분히 세척한 후 0.25 N NaOH용액에 침지시켜 하루동안 정치한 다음 동량의 0.25 N acetic acid를 넣어 중화시켰다. 다시 중류수로 충분히 세척하여 배지성분 및 균체와 불순물을 제거한 다음 80°C dry oven에서 건조시켜 향량을 측정하였다.

균체량 측정

균체량은 Park 등(25)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉 cellulase를 5%(v/v)되게 첨가하여 50°C에서 2시간 반응시켜 membrane 형태의 bacterial cellulose를 완전히 분해한 후 UV-visible spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

pH 및 총산의 측정

pH는 pH meter(Metrohm 691, Swiss)를 사용하여 측정하였으며, 총산은 1% phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH용액으로 중화적정하여 초산함량으로 환산하였다.

결과 및 고찰

HS 배지와 사과과즙배지의 비교

Bacterial cellulose 생산용 배지와 사과과즙 배지에 대한

bacterial cellulose의 생산량을 조사한 결과, 일반적으로 많이 사용되는 HS배지에 비하여 천연배지인 사과과즙에서 bacterial cellulose가 186% 생산되었다(Table 1). 특히 HS배지에서는 아주 얇은 membrane 형태의 bacterial cellulose가 생산되었으나, 사과과즙배지에서는 탄력이 있고 두꺼운 bacterial cellulose가 생산되었다. 이러한 결과는 Ko 등(26)이 *Acetobacter xylium* GS11을 사용하여 bacterial cellulose 생산에 HS 배지보다 사과쥬스(128%), 오렌지쥬스(148%)와 coconut milk(240%)가 효과적이라고 보고된 것과 유사한 결과이며, 그 이유에 대해서는 연구된 바 없다. 다만 Ko 등(26)은 추가적인 실험없이 각종 무기물, 영양소 및 유기산의 영향일 것으로 추정한 바 있다.

초기 pH의 영향

배지의 초기 pH의 영향을 조사한 결과 Table 2와 같이 초기 pH가 6.0일 때 가장 많은 bacterial cellulose를 생산하였으며, pH 5.0에서는 67%로 감소하였다. 초기 pH에 따른 배양 후의 Brix의 변화는 그다지 크지 않았고, 총산은 1.19에서 1.72 사이였으며, 초기 pH가 4.0일 때 1.27로 가장 많은 산을 생성하였다. 이러한 결과는 Jonas와 Farah(1)가 bacterial cellulose 합성에 최적인 초기 pH는 대부분 5나 6이라고 보고한 것과 일치하였으며, Vandamme 등(2)이 pH 5.5라고 보고한 것과 유사한 결과였다.

초기 Brix의 영향

천연배지인 사과과즙배지의 Brix에 따른 bacterial cellulose 생산량을 조사한 결과 Table 3과 같이 사과과즙의 Brix가 10°Brix일 때 가장 많은 양의 bacterial cellulose가 생성되었다. 총산에 대한 Brix의 영향은 15°Brix까지는 증가하였으나 20°Brix에서는 오히려 낮아지는 경향을 나타내었다. Bacterial cellulose 생산에 미치는 Brix의 영향에 대한 연구결과는 보고된 바가 없기 때문에 언급하기 어려우나 배양 후의 Brix가 배양초기의 Brix와 큰 차이가 없어 당 이용성보다는

Table 1. Comparison of HS medium and natural apple-juice medium for production of bacterial cellulose

Medium	Bacterial cellulose (g/L)	Relative cellulose production (%)
HS medium	0.1600±0.010 ¹⁾	100
Apple juice	0.2983±0.014	186

¹⁾Values are expressed as mean±standard deviation (n=3).

Table 2. Effect of initial pH of apple-juice medium on the production of bacterial cellulose

Initial pH	Brix	Total acidity	Final pH	Relative cellulose production (%)
3	10.3	1.19	2.76	47
4	10.1	1.72	2.75	47
5	9.9	1.46	3.03	67
6	9.9	1.35	3.11	100
7	9.9	1.22	3.24	35

Table 3. Effect of sugar content (brix) of apple-juice medium on the production of bacterial cellulose

Initial °Brix	Final °Brix	Total acidity	Final pH	Relative cellulose production (%)
1	1.0	0.20	3.29	0
5	4.5	0.64	2.94	8
10	8.9	1.27	2.88	100
15	14.0	1.93	3.06	66
20	19.4	1.62	3.63	50

삼투압에 의한 초산균의 활성차이로 생각된다.

탄소원의 영향

Bacterial cellulose 생성에 미치는 탄소원의 영향을 조사한 결과 Table 4에서 보는 바와 같이 사과과즙배지에 pyruvate, lactate, ethanol, acetate를 첨가한 경우에 bacterial cellulose의 생성량이 현저히 증가하였다. 특히 pyruvate를 첨가한 경우 탄소원을 보강하지 않은 대조구에 비해 약 8배정도의 bacterial cellulose가 생산되었다. Arabinose, fructose, glucose, glycerine, citrate를 첨가한 경우에는 bacterial cellulose의 생산성에 큰 영향을 미치지 않았으며, acetaldehyde, amyl alcohol을 첨가한 경우에는 균의 생육자체가 저해를 받아서 균의 증식이 거의 일어나지 않았다. 이러한 결과는 Ramana 등(27)이 sucrose, glucose, mannitol이 bacterial cellulose 생산에 효과적이었다고 보고한 것과 다른 경향이었으며, lactate와 ethanol이 bacterial cellulose 생산을 촉진하였다 는 Naritomi 등(28,29)의 연구결과와 Matsuoka 등(30)이 lactate가 bacterial cellulose의 생성을 촉진했다는 보고와는 유사한 결과였다. 이러한 결과는 분리된 균주의 특성의 하나로 생각된다.

Pyruvate 농도의 영향

사과과즙배지에 탄소원으로 첨가되는 pyruvate의 적정농

Table 4. Effect of carbon sources on bacterial cellulose production at static culture

Carbon sources	Bacterial cellulose (g/L)	Total acidity	Final pH	Relative cellulose production (%)
None	0.40	0.85	2.86	100
Acetaldehyde*	0.00	0.26	4.64	0
Acetate	1.66	0.71	3.12	415
Amyl alcohol	0.00	0.14	5.14	0
Arabinose	0.27	0.99	2.86	68
Citrate*	0.40	1.29	2.80	100
Ethanol	2.08	0.73	3.25	520
Fructose	0.34	0.90	2.79	85
Glucose	0.35	1.13	2.75	88
Glycerin	0.38	0.81	2.80	95
Lactate*	2.18	0.73	2.92	545
Maltate	0.10	1.92	2.84	25
Methanol	0.81	0.83	3.20	203
Pyruvate	3.15	0.27	4.41	640
Succinate	0.72	0.51	3.68	180

*which was added 0.5% (w/v).

도를 조사한 결과 Fig. 1과 같이 pyruvate 1% 첨가하였을 때 bacterial cellulose의 생성량이 3.15 g로 가장 많았으며 1.5, 2.0%일 때 각각 3.01 g/L, 2.81 g/L로 pyruvate 첨가량이 많을수록 생산량이 감소하여 3%이상에서는 균의 생육이 저해되었다. 따라서 bacterial cellulose 생산에 최적인 pyruvate 농도는 1%인 것으로 나타났다. Pyruvate가 bacterial cellulose에 가장 효과적인 것은 pyruvate가 해당과정의 최종 분해산물로 각종 생체내 물질의 전구체로 사용될 뿐만 아니라 균체의 초기 증식에 관여할 것으로 추정되지만 이에 대한 보다 자세한 연구가 필요하다.

질소원의 영향

각종 질소원을 사용하여 bacterial cellulose 생산량에 미치는 영향을 조사한 결과 Table 5와 같이 corn steep liquor(CSL),

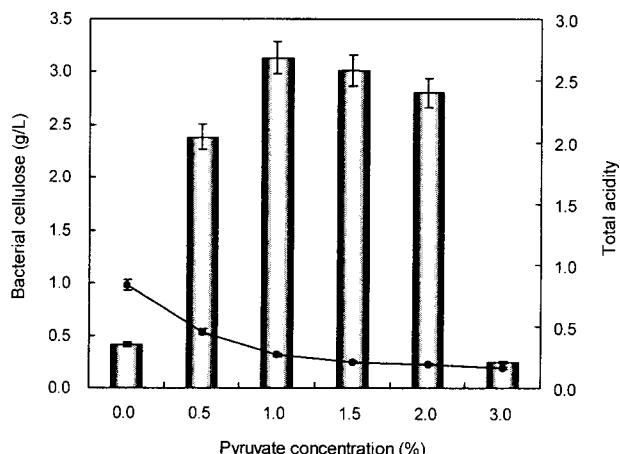


Fig. 1. Effect of pyruvate concentration on bacterial cellulose production at static culture.

Data were presented as mean \pm SD (n=3). ■, bacterial cellulose; ●, total acidity; Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter persimonus* KJ145 was 3.15 g/L, when *Gluconacetobacter persimonus* KJ145 was cultured for 6 days in a flask containing apple juice (10°Brix, pH 6.0) with various concentration of pyruvate.

Table 5. Effect of nitrogen sources on bacterial cellulose production at static culture

Nitrogen sources	Bacterial cellulose (g/L)	Total acidity	Final pH	Relative cellulose production (%)
Control ¹⁾	0.42 \pm 0.03 ³⁾	0.84	2.84	13
None ²⁾	3.15 \pm 0.05	0.27	4.41	100
Trypton	3.34 \pm 0.05	0.23	4.87	106
Peptone	2.41 \pm 0.03	0.41	4.61	76
Casamino acid	1.58 \pm 0.03	0.38	4.59	59
CSL	3.99 \pm 0.06	0.14	4.95	126
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.67 \pm 0.05	0.21	4.72	21
Yeast extract	3.42 \pm 0.05	0.20	4.92	108

¹⁾Control: apple juice medium (10°Brix, initial pH 6.0) without pyruvate and nitrogen source.

²⁾None: apple juice medium (10°Brix, initial pH 6.0) with pyruvate 1%, without nitrogen source.

³⁾Values are expressed as mean \pm standard deviation (n=3).

yeast extract, trypton^o bacterial cellulose 생성에 효과적인 질소원이었으며, CSL의 경우 질소원을 첨가하지 않은 대조구보다 최고 126%의 bacterial cellulose를 생산하였다. CSL은 해당산업에서 발생하는 부산물로 값이 싸고, 다른 질소원에 비해 bacterial cellulose 생산에 효과적이므로 bacterial cellulose 대량생산에 최적인 질소원으로 생각되었다. 이러한 결과는 CSL이 cellulose 생산에 효과적인 것이라는 Matuoka 등(30)의 연구결과와 같았다.

CSL농도의 영향

Bacterial cellulose 생산에 가장 효과적인 CSL의 적정농도를 조사한 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 CSL의 농도가 높아질수록 bacterial cellulose생산량은 증가하는 것으로 나타났으며, CSL를 10% 첨가한 경우에는 전혀 첨가하지 않은 대조구와 비교할 때 bacterial cellulose가 약 6배이상 증가하였다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때, CSL에 함유된 성분들이 bacterial cellulose생산을 촉진시키는 것으로 생각되지만 어떤 성분이 어떤 경로를 통해서 작용하는지 정확히 알 수는 없었다. 다만 Mastuoka 등(30)이 연구한 결과에 따르면 CSL 중에 포함되어 있는 lactate가 bacterial cellulose생산을 촉진하며, 특히 배양초기 균의 증식을 촉진하므로 생육을 위한 에너지 생산과 호흡쇄에 관여하는 것으로 추정된 바 있다.

배양온도의 영향

최적 배지를 사용하여 배양온도에 따른 bacterial cellulose 생성량을 조사한 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 bacterial cellulose의 최적온도는 35°C로 나타났으며, 이 때 생성량은 4.42 g/L이었다. 이러한 결과는 Jonas와 Farah(1)가 대부분의 균주는 25~30°C에서 가장 많은 양의 bacterial cellulose를 생산한다는 연구결과와 다른 경향을 나타내었는데 이는 bac-

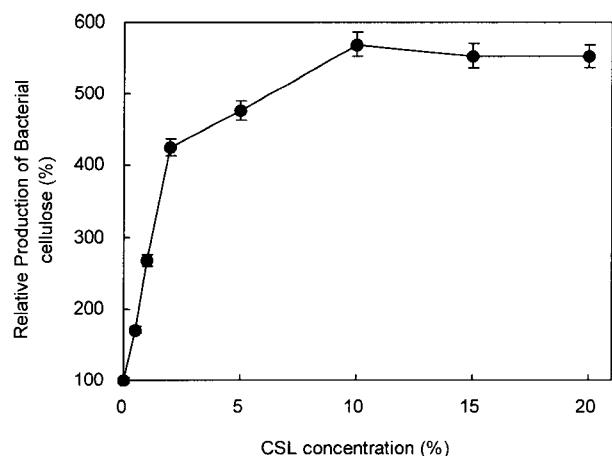


Fig. 2. Effect of CSL concentration on bacterial cellulose production at static culture.

Data were presented as mean \pm SD (n=3). Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter persimonus* KJ145 was 3.15 g/L, when *Gluconacetobacter persimonus* KJ145 was cultured for 6 days in a flask containing apple juice (10°Brix, 1% pyruvate, pH 6.0) and this bacterial cellulose production is shown as 100%.

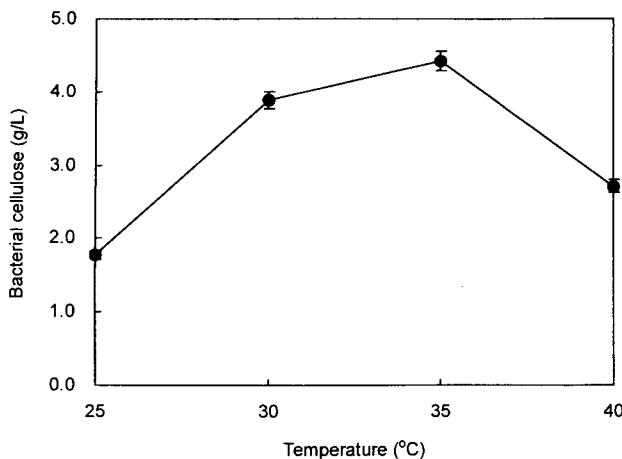


Fig. 3. Effect of temperature on bacterial cellulose production at static culture.

Data were presented as mean \pm SD ($n=3$).

bacterial cellulose 생산에 사용된 균주가 다르기 때문인 것으로 생각된다.

배양기간에 따른 균체량 변화 및 bacterial cellulose의 생성량 변화

최적 배지 및 배양온도에서 배양시간에 따른 bacterial cellulose의 생성량을 조사한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 배양 2일되면 대수기 증식기가 시작되었으며, 10일차에 거의 정지기에 도달하였다. 또한 bacterial cellulose의 생산량도 배양 2일차에 급격히 증가하기 시작하여 배양 16일차에 최대치에 도달하였다. 따라서 bacterial cellulose를 생산하기 위한 최적 배양 시간은 16일이었으며 이 때 생성되는 bacterial cellulose는 8.96 g/L이었다. 이러한 생산량은 Ishikawa 등 (31)이 보고한 9.7 g/L보다는 적은 양이었으나, Klemm과 Schumann(3)이 보고한 *A. xylinum* AX5의 8.0 g/L과 비슷한

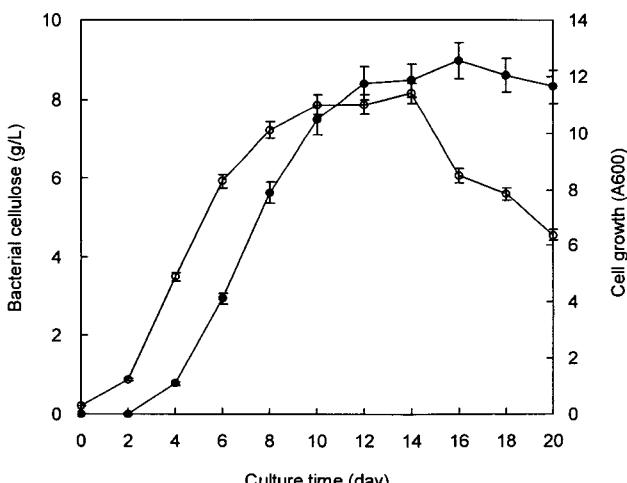


Fig. 4. Effect of culture days on bacterial cellulose production in static culture.

Data were presented as mean \pm SD ($n=3$). ●—●, bacterial cellulose; ○—○, cell mass.

양이었고, Ramana 등(27)의 5 g/L보다 많은 양이었다.

요약

Gluconacetobacter persimmonus KJ145를 사용하여 bacterial cellulose 생산에 최적 배지와 배양조건을 설정하였다. Bacterial cellulose를 생성하기 위한 최적배지로는 HS배지보다는 천연사과과즙이 더 우수한 경향을 나타내었으며, 사과과즙에 각종 탄소원을 보강한 결과 탄소원으로 pyruvate 가 적합하였다. 탄소원의 농도를 조사한 결과, 1%가 적합하였으며, 각종 질소원의 영향을 조사한 결과 CSL이 가장 우수한 결과를 나타내었다. CSL의 농도에 따른 bacterial cellulose의 생산성을 조사한 결과, 10% 농도에서 가장 좋았다. Bacterial cellulose의 생성에 미치는 배지의 초기 pH의 영향을 조사한 결과 pH 6.0에서 최적이었으며, 배양온도별 영향을 조사한 결과 35°C에서 하는 것이 최적이었다. 최적 배양조건에서 배양시간별로 생성되는 bacterial cellulose의 양을 조사한 결과 16일간 배양하는 것이 가장 좋았으며, 이 때 생성되는 bacterial cellulose의 생산량은 8.96 g/L으로 비교적 높았다.

감사의 글

본 연구는 학술진흥재단(KRF-2000-Ga0024) 및 계명대학교 RRC센터 연구비 지원으로 이루어진 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문현

1. Jonas R, Farah LF. 1998. Production and application of microbial cellulose. *Polym Degrad Stab* 59: 101-106.
2. Vandamme EJ, Baets SD, Vanbaelen A, Joris K, Wulf PD. 1998. Improved production of bacterial cellulose and its application potential. *Polym Degrad Stab* 59: 93-99.
3. Klemm D, Schumann D, Udhhardt U, Marsch S. 2001. Bacterial synthesized cellulose-artificial blood vessels for microsurgery. *Prog Polym Sci* 26: 1561-1603
4. Jeong YJ, Lee IS. 2000. A view of utilizing cellulose produced by *Acetobacter* bacteria. *Food Industry and Nutrition* 5: 22-29.
5. Lee OS, Jeong YJ. 2001. Industrial application and biosynthesis of bacterial cellulose. *Food Industry and Nutrition* 6: 10-14.
6. Brown AJ. 1886. On an acetic ferment which forms cellulose. *J Chem Soc* 49: 172-186.
7. Brown AJ. 1886. An acetic ferment which forms cellulose. *J Chem Soc* 49: 432-439.
8. Yamada Y, Hoshino K, Ishikawa T. 1997. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequence of 16S ribosomal RNA: The elevation of the subgenus *Gluconacetobacter* to the genetic level. *Biosci Biotech Biochem* 61: 1244-1251.
9. Premjet S, Shimamoto A, Ohtani Y, Sameshima K. 1999. The importance of TCA cycle related acids in bacterial

- cellulose production. *Transaction* 55: 48-53.
10. Weinhouse H, Sapir S, Amikam D, Shilo Y, Volman G, Ohana P, Benziman M. 1997. c-di-CMP-binding protein, a new factor regulating cellulose synthesis in *Acetobacter xylinum*. *FEBS Lett* 416: 207-211.
 11. Koo HM, Song SH, Pyun YR, Kim YS. 1998. Evidence that α -1,4-endoglucanase secreted by *Acetobacter xylinum* plays an essential role for the formation of cellulose fiber. *Biosci Biotechnol Biochem* 62: 2257-2259.
 12. Budhiono A, Rosidi B, Taher H, Iguchi M. 1999. Kinetic aspects of bacterial cellulose formation in *nata-de-coco* culture system. *Carbohydrate Polymers* 40: 137-143.
 13. Wong HC, Fear AL, Calhoon RD, Eichinger GH, Mayer R, Amikam D, Benziman M, Gelfand DH, Meade JH, Emerick AW, Brune R, Ben-Bassat A, Ta R. 1990. Genetic organization of the cellulose synthase operon in *Acetobacter xylinum*. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 8130-8134.
 14. Ross P, Mayer R, Benziman M. 1991. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol Rev* 55: 35-58.
 15. Toyosaki H, Naritomi T, Seto A, Matsuoka M, Tsuchida T, Yoshinaga F. 1995. Screening of bacterial cellulose-producing *Acetobacter* strains suitable for agitated culture. *Biosci Biotech Biochem* 59: 1498-1502.
 16. Kouda T, Yano H, Yoshinaga F. 1997. Effect of agitator configuration on bacterial cellulose productivity in aerated and agitated culture. *J Ferment Bioeng* 83: 371-376.
 17. Yoshinaga F, Tonouchi N, Watanabe K. 1997. Research progress in production of bacterial cellulose by aeration and agitation culture and its application as a new industrial material. *Biosci Biotech Biochem* 61: 219-224.
 18. Son HJ, Lee OM, Kim YG, Lee SJ. 2000. Isolation and identification of cellulose-producing bacteria. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 28: 134-138.
 19. Lee SJ, Yoo JS, Chung SY, Choi YL. 1997. Characterization and isolation of bacteria producing cellulose. *Agr Chem Biotech* 40: 101-106.
 20. Lee HC, Zhao X. 1996. The optimal medium composition for the production of microbial cellulose by *Acetobacter xylinum*. *Kor J Biotechnol Bioeng* 11: 550-556.
 21. Cha YJ, Park KJ, Kim DK, Chun HS, Lee BK, Kim KH, Lee SY, Kim SJ. 1994. Isolation and characterization of cellulose producing *Acetobacter xylinum* KJ strain. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 22: 571-576.
 22. Hwang JW, Lee CS, Park SH, Pyun YR. 1999. Production of high concentration cellulose by *Acetobacter xylinum* BRC5 in fed-batch culture. *Korean J Biotechnol Bioeng* 14: 284-290.
 23. Jeong YJ, Lee IS, Lee OS. 2001. Optimization of cellulose production condition by *Gluconobacter hansenii* KJ145. 11th world congress of food science and technology. p 177.
 24. Hestrin S, Schramm M. 1954. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochem J* 58: 345-352.
 25. Park SH, Yang YK, Hwang JW, Lee CS, Pyun YR. 1997. Microbial cellulose fermentation by *Acetobacter xylinum* BRC5. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 598-605.
 26. Ko JY, Shin KS, Lee JS, Choi WY. 2002. Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* G11. *Kor J Microbiol Biotechnol* 30: 57-62.
 27. Ramana KV, Tomar A, Singh L. 2000. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter xylinum*. *World J Microbiol Biotechnol* 16: 245-248.
 28. Naritomi T, Kouda T, Yano H, Yoshinaga F. 1998. Effect of lactate on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. *J Ferment Bioeng* 85: 89-95.
 29. Naritomi T, Kouda T, Yano H, Yoshinaga F. 1998. Effect of ethanol on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. *J Ferment Bioeng* 85: 598-603.
 30. Matsuoka M, Tsuchida T, Matushita K, Adachi O, Yoshinaga F. 1996. A synthetic medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* subsp. *sucrofermentans*. *Biosci Biotech Biochem* 60: 575-579.
 31. Ishikawa A, Matsuoka M, Tsuchida T, Yoshinaga F. 1995. Increase in cellulose production by sulfaguanidine-resistant mutants derived from *Acetobacter xylinum* subsp. *sucrofermentans*. *Biosci Biotech Biochem* 59: 2259-2262.

(2002년 2월 21일 접수; 2002년 6월 14일 채택)