

## *Acetobacter xylinum* GS11에 의한 미생물 셀룰로오스의 생산

고정연\* · 신공식<sup>1</sup> · 이종수<sup>2</sup> · 최우영<sup>3</sup>

\*한국과학기술원 생물과학과, <sup>1</sup>충북대학교 첨단원예기술개발연구센터,  
<sup>2</sup>배재대학교 유전공학과, <sup>3</sup>충남대학교 농화학과

**Production of Bacterial Cellulose by *Acetobacter xylinum* GS11.** Ko, Jung-Youn\*, Kong-Sik Shin<sup>1</sup>, Jong-Soo Lee<sup>2</sup>, and Woo-Young Choi<sup>3</sup>. \*Department of Biological Sciences, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Taejon, 305-701, Korea, <sup>1</sup>Research Center for the Development of Advanced Horticultural Technology, Chungbuk National University, Cheongju, 361-763, Korea, <sup>2</sup>Department of Genetic Engineering, Paichai University, Taejon, 302-735, Korea, <sup>3</sup>Department of Agricultural Chemistry, Chungnam National University, Taejon, 305-764, Korea – Productivity of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* GS11 was investigated in the several culture conditions. In various carbon sources, others with the exception of glucose were not found to be effective for cellulose production, and 2% was better in yield than other concentration of glucose. Yeast extract and soytone among several organic nitrogens were effective, but inorganic nitrogen sources tested were not efficient for cellulose production by *A. xylinum* GS11. The effects of various inorganic salts, amino acids and vitamins were also investigated: MgSO<sub>4</sub>, phenylalanine and  $\alpha$ -tocopherol gave the cellulose yield of 1.5, 1.4 and 1.4 fold, respectively, compared with basal medium. In our experiment, cellulose production by *A. xylinum* GS11 added with 10% coconut milk and 0.5% liginosulfonate in basal medium, was the most efficient among the several material sources employed here, and these were 2.2 and 2.1 fold, respectively.

**Key words:** *Acetobacter xylinum* GS11, Bacterial cellulose, Coconut milk, Liginosulfonate

셀룰로오스는 고분자 다당류이며 고등식물의 주요 구성 성분으로, 펄프 및 일부 산업자원으로 중요한 역할을 하고 있다. 셀룰로오스의 생산은 육상식물 뿐만 아니라 초산균도 생산한다고 밝혀진[2] 이 후 *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* 및 *Achromobacter*속 등 다양한 미생물종에서 생산하는 것으로 보고되었다[13,17,18]. 그 중에서 초산균인 *Acetobacter*속이 셀룰로오스 생산성이 가장 우수한 것으로 나타났으며, 지금까지 미생물 셀룰로오스(bacterial cellulose)의 연구대상이 되고 있다[8,12,14].

식물의 셀룰로오스는 일반적으로  $\beta$ -1,4-glucan에 헤미셀룰로오스와 리그닌을 포함하는 heteropolysaccharide로 이루어져 있는 반면, 미생물 셀룰로오스는 99%이상이 순수한  $\beta$ -1,4 glucan 결합의 셀룰로오스로 microfibril이 수소결합하여 3차원적 망상구조를 이루고 있다[22]. 이에 따라 섬유결정도, 습윤성, 흡수성 및 고강도, 고탄력성 등의 특성을 가지고 있어서 음향, 방위, 의료 등의 다양한 산업에 응용, 개발되고 있다[1,10]. 또한 최근에는 신 소재로서 새롭게 부각되고 있으며[14], 난소화성, 고점성을 이용한 식이섬유로

가치성이 높게 평가되고 있다[24].

*A. xylinum*을 이용한 미생물 셀룰로오스 생산은 배양조건 및 배양환경에 따라 크게 달라질 수 있는데, Park 등[14] 및 Matsuoka 등[12]은 corn steep liquor (CSL)의 고분자 복합유기물의 첨가, Premjet 등[15, 16]은 목재 부산물인 고분자 CP powder (commercial sulfonate pulping waste fraction)의 첨가에 의해 셀룰로오스 생산성을 높였으며, Ishikawa 등[8] 및 Toda 등[21]은 다양한 배양조건에 따라 셀룰로오스 생산성을 검토한 바 있다. 또한 Ross 등[19]은 *A. xylinum*은 정치배양하면 pellicle 형태의 셀룰로오스를 형성하나, 교반배양할 경우 셀룰로오스를 형성하지 않는 돌연변이체(cellulose negative mutant; Cel-)가 나타나는 특성을 확인하였다. 그러므로, 셀룰로오스의 산업적 규모의 대량생산을 위해서는 생산력이 우수한 균주의 분리, 배양적 문제의 해결, 배양조건 및 배양환경에 의한 셀룰로오스 생산성 연구가 이루어져야 할 것으로 생각한다. 본 연구자들 [10]은 미생물 셀룰로오스 연구를 위해 전국 각 지역의 전통 식초로부터 셀룰로오스 생산성이 우수한 균주를 분리하여 *A. xylinum*으로 동정하고 그 배양특성을 조사한 바 있다.

따라서 본 연구는 그 후속연구로서 *A. xylinum* GS11을 이용하여 다양한 배양조건에서 미생물 셀룰로오스의 생산성을 검토하였다.

\*Corresponding author  
Tel. 042-869-2662, Fax. 042-869-2610  
E-mail: jyko@kaist.ac.kr

## 재료 및 방법

### 균주 및 사용배지

균주는 Ko 등[10]이 전국의 전통식초로부터 분리한 *Acetobacter xylinum* GS11을 실험에 사용하였다. 배지로는 Hestrin & Schramm(HS)[3]배지 [glucose 20 g (Junsei), yeast extract 5 g (Difco), peptone 5 g (Difco), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.7 g, citric acid 1.15 g, DW 1L, pH 5.0]를 기본 배지로 사용하였으며, 필요에 따라 acetic acid를 첨가하여 초기 pH를 조정하였다.

균주 배양은 먼저 LB 한천사면배지에서 보관중인 균주를 1백금이 취하여 HS 액체배지에서 48시간 전배양하였다. 이후 500 mL 삼각 플라스크에 100 mL의 HS 액체배지를 채우고 전배양한 균액을 0.1%가 되도록 집중하여 30°C에서 각 배양조건에 따라 5~7일간 정지배양(static culture)하였다.

### 배양조건

배양조건에 따른 *A. xylinum* GS11의 셀룰로오스 생산에 미치는 영향을 검토하기 위하여 HS 배지를 기본으로 하여 각 실험을 실시하였다.

탄소원은 단당, 이당, 다당, 알콜류 및 유기산 등을 기본 배지의 glucose 대용으로 하여 각각 2%로 첨가하였으며, 질소원에 있어서도 또한 기본배지의 질소원을 배제하고 유기질소원은 0.5%를, 무기질소원은 0.05%를 각각 첨가하여 7일간 배양한 후 셀룰로오스 생산성을 검토하였다. 무기염류는 기본배지에 각 종 무기염원을 1 mM로 첨가하여 7일간 배양하였다. 또한 아미노산 및 비타민의 첨가 효과를 살펴보기 위해 0.2 µm 필터로 살균한 후 아미노산은 기본배지에 0.05%, 비타민은 2.5 µg/mL로 처리하여 7일간 배양하여 셀룰로오스 생산성을 측정하였다.

과즙의 첨가가 셀룰로오스 생산에 미치는 영향을 검토하고자 각종 과채류의 주스를 비교한 후 선택된 사과, 오렌지, 당근, 코코넛 밀크 및 녹차 등을 본 실험에 사용하였다. 과즙은 시판되고 있는 100% 주스 (농협)를 구입하여 기본 배지에 각각 10% 농도로 첨가하여 검토하였으며, 또한 코코넛 밀크의 경우 시판 주스 외에 필리핀 Instafood corporation 제품(Brix 10.5°, pH 6.6)을 구입하여 원액과 이를 증류수로 90, 80, 50%로 희석하고 pH를 기본배지와 같은 5.0으로 하여 그 자체를 배양 배지로 사용하였다. 상기 조건은 7일간 배양하고 셀룰로오스의 생산성을 검토하였다.

또한, 목재 펄핑 공정 후 얻어지는 부산물인 고분자 ligno-sulfonate가 셀룰로오스 생산성에 미치는 효과를 검토하고자 일본 TCI사의 시약용 lignosulfonate를 구입하여, 기본배지에 0.2, 0.5 및 1.0%의 농도로 처리하고 7일간 배양한 후 셀룰로오스 생산성을 검토하였다.

### 균체량 및 셀룰로오스 생산량 측정

균체량은 배양액 이외에 셀룰로오스 pellicle 내에 균체가 잔존하고 있기 때문에 이를 분리하기 위하여 pellicle과 배양액을 homogenizer로 잘게 마쇄하고 Whatman No. 2지로 여과하였다. 이 여액을 분광광도계 (Shimadzu UV-120-02)를 사용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다.

셀룰로오스 함량은 Ko 등[10]의 방법으로 실시하였다. 먼저 생산된 셀룰로오스 pellicle은 증류수로 표면을 2~3차례 세척하고, 10배량의 2% NaOH를 가하여 1시간 동안 수조에서 끓인 후 증류수로 세척하였으며, acetic acid 용액을 가하여 중화시켜 다시 증류수로 세척하였다. 이렇게 얻어진 셀룰로오스는 105°C의 dry oven에서 완전히 건조하고 무게를 측정하여 생산량을 구하였다. 또한 생산성 비교를 위해서 측약된 방법으로 pellicle을 중화한 후 증류수로 세척하고 덧쉬로 pellicle 표면의 수분을 완전히 제거한 후 무게를 측정하여 대조구와 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 탄소원의 영향

각종 탄소원을 첨가하고 배양하여 셀룰로오스의 생산성을 검토한 결과 Table 1에 나타낸 바와 같이 대조구로 사용한 glucose보다 더 효과적인 탄소원은 없었으며, fructose와 glycerol이 각각 대조구 수율의 82, 75%로 다른 탄소원보다는 양호하였다. Masaoka 등[11]도 glucose를 대조구로 하고 fructose를 사용하였을 때 92%, glycerol인 경우 93%의 생산성을 보였으며, 이외의 탄소원의 경우 효과를 보이지 않아 본 균주와 같은 결과를 나타내었다. 또한 Jonas 등[9]의 여러 보고를 종합한 결과 *Acetobacter*속에 의한 셀룰로오스 생산을 위해서는 glucose와 fructose가 가장 효과적인 탄소원인 것으로 나타났다. 또한 *Acetobacter*는 탄소원으로 glucose를 흡수하기 전 gluconic acid로 전환시켜 흡수하는데 [10,14] 배지내에 직접 gluconic acid를 탄소원으로 첨가하거나, 다른 유기산을 첨가할 경우 약한 양성 효과를 나타냈으며, glucose의 첨가 시 더 빠른 소비가 일어나는 것을 확인하였다[4].

탄소원 중 생산성이 가장 좋은 glucose를 농도별로 처리하고 7일간 배양하였을 때 2%에서 가장 효과적이었다 (Fig. 1). 그러나 2% 이상의 고농도에서는 장기간 지속적 배양시 점차 셀룰로오스의 생산성이 높아지는 경향을 나타내었다 (data not shown). Park 등[14]도 1~2%의 탄소원 농도가 가장 효과적인 셀룰로오스 생산성을 나타냈다고 보고한 바 있다. 한편 배양일을 늘렸을 때 Dudman[3]은 30일 정도의 긴 배양에서는 5% glucose 농도가 가장 높은 셀룰로오스 생산성을 나타냈다고 하였다. 이러한 경향은 대부분의 배양중에서 탄소원의 증가시 나타내는 현상으로 탄소원의 농도가 높은 경우 탄소원이 짧은 배양기간 내에 고

**Table 1. Effects of carbon sources on the production of cellulose by *Acetobacter xylinum* GS11**

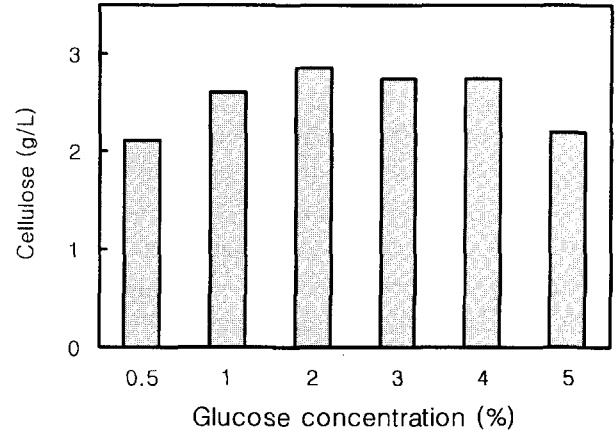
Carbon source	Cell growth (OD <sub>660nm</sub> )	Cellulose yield (%)*
<b>Monosaccharides</b>		
glucose	0.56	100
fructose	0.53	82.0
galactose	0.14	10.3
mannose	0.19	11.8
xylose	0.25	16.2
arabinose	0.12	9.6
ribose	0.21	12.5
<b>Disaccharides</b>		
lactose	0.22	10.3
sucrose	0.35	34.6
maltose	0.27	13.2
<b>Polysaccharides</b>		
dextrin	0.18	13.0
inulin	0.29	14.0
soluble starch	0.17	8.3
corn starch	0.45	45.3
potato starch	0.31	19.1
indulin	0.14	6.0
lignin	0.18	7.7
CMC	0.12	4.2
<b>Alcohols</b>		
sorbitol	0.37	22.8
adonitol	0.23	12.0
glycerol	0.49	75.0
mannitol	0.44	58.9
xylitol	0.20	8.1
ethanol	0.39	30.0
<b>Organic acid</b>		
citric acid	0.11	5.2
gluconic acid	0.40	33.1
lactic acid	0.10	3.5
maleic acid	0.13	1.2
acetic acid	0.09	(-)
formic acid	0.07	(-)

\*Glucose was set as 100% yield. (-) means that no cellulose production occurred.

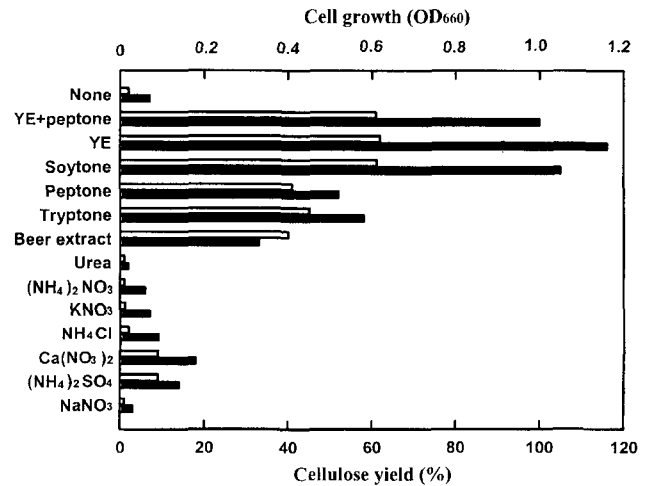
갈되지 않고, 지속적으로 영양원으로 이용되기 때문에 생각된다.

**질소원의 영향**

기본배지에 유기질소와 무기질소원을 첨가하였을 때 Fig. 2에서 보는 바와 같이 본 균주의 생육 및 셀룰로오스 생산을 위해서는 무기질소원의 영향은 거의 없었으며, 유기질소원은 효과적인 것으로 나타났다. 유기질소원은 yeast extract를 단독으로 사용했을 경우가 기본배지에 peptone과 yeast



**Fig. 1. Effects of glucose concentration on the production of cellulose by *A. xylinum* GS11.**



**Fig. 2. Effects of nitrogen sources on the cell growth and cellulose production by *A. xylinum* GS11. Closed bars, cells growth; open bars, cellulose yield.**

extract를 혼용 처리한 경우보다 1.15배의 생산성을 나타내어 가장 좋은 증진효과를 나타냈으며, 또한 soytone도 1.07배로 양호한 질소원으로 나타났다. 이와 같은 결과로는 Matsuoka 등[12] 및 Park 등[14]도 yeast extract가 우수한 질소원이라고 보고한 바 있다. 이는 yeast extract가 단순한 질소원으로서 뿐만 아니라 그 중에 함유된 각종 미량 성분이 생육인자로서 작용하기 때문으로 보인다.

**무기염류의 영향**

각종 무기염류의 검토 결과 Fig. 3과 같이 MgSO<sub>4</sub>가 대조와 비교하여 1.54배의 셀룰로오스 생산성 증진효과를 보여 가장 효과적인 무기이온으로 나타났으며, CaCl<sub>2</sub> 및 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 등도 각각 1.38, 1.32배의 증가를 보였다. Fig. 3의 나타난 결과를 종합하여 검토해 보면 Mg, Ca, Na, K 및 Mn 이온 순으로 셀룰로오스 생산성을 촉진시키는 것으

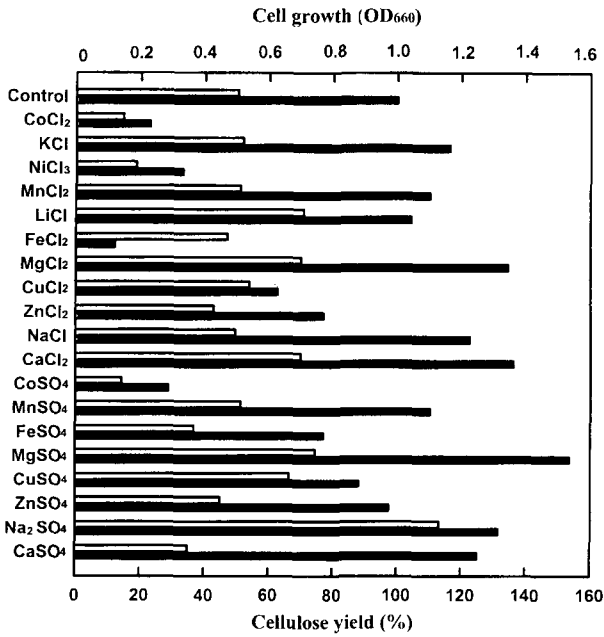


Fig. 3. Effects of inorganic salts on the cell growth and cellulose production by *A. xylinum* GS11. Closed bars, cell growth; open bars, cellulose yield.

로 나타났다. Ross 등[20]은 셀룰로오스 생합성 조절 과정에서 Mg<sup>2+</sup>와 Ca<sup>2+</sup>는 cellulose synthase를 활성화형으로 전환시켜 주는 cyclic di-GMP의 생산을 촉진하며, 또한 UDP-glucose를 셀룰로오스로 전환시킬 때 촉매로 작용한다고 하였다. 따라서 배지 중에 이들 이온의 첨가는 셀룰로오스 생산에 중요한 것으로 생각되며, Matsuoka 등[12]의 경우 *A. xylinum*의 배양 시 기본배지에 MgSO<sub>4</sub>를 비롯한 다양한 무기염을 첨가하여 배양하는 것으로 나타났다.

아미노산 및 비타민의 영향

아미노산은 glycine을 제외한 모든 첨가구에서 생산성이 높게 나타났으며(Fig. 4), 이 중 phenylalanine, cysteine 및 histidine의 경우가 각각 대조구의 1.42, 1.35, 1.24배의 생산량을 나타내었다. Matsuoka 등[12]은 *A. xylinum* subsp. *sacrofermentans* BPR2001의 배양 시 methionine을 포함한 14종류의 아미노산 혼합 처리가 가장 좋은 생산성을 나타냈으며, methionine의 단독 처리도 이와 비슷한 생산성을 보였다. 또한 여기서 methionine을 제외한 아미노산 혼합 처리는 가장 낮게 나타내어 아미노산 중 methionine이 셀룰로오스 생산을 촉진한다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 methionine을 첨가했을 때 대조구에 비해 1.03배의 생산성을 나타내어 다른 경향을 보였다. 또한 각종 아미노산과 질소원이 풍부한 corn steep liquor(CSL)을 위의 아미노산 혼합처리와 비교하였을 때 더 좋은 생산 결과를 나타냈으며, CSL의 셀룰로오스 생산에 대한 효과적인 영향은 Park 등[14]도 보고한 바 있다. 이와 같이 *Acinetobactor*에 의한

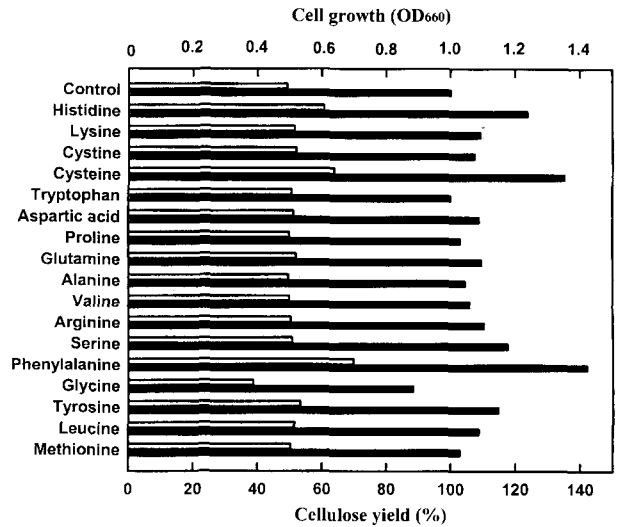


Fig. 4. Effects of amino acids on the cell growth and cellulose production by *A. xylinum* GS11. Closed bars, cell growth; open bars, cellulose yield.

셀룰로오스 생산에 있어 아미노산의 첨가는 효과적인 것으로 생각된다.

비타민은 α-tocopherol의 첨가 시 대조구와 비교하여 1.4배로 가장 높은 생산성을 보였으며, pyridoxin, biotin 및 folic acid의 처리도 양호한 셀룰로오스 생산성을 나타냈다. Ishikawa 등[8]의 경우 p-aminobenzoic acid(PABA), biotin, niacin, hesperitin 및 pyridoxin 등의 순으로 생산성을 보고하여 본 실험과 약간의 차이를 보였지만 전반적으로 같은 경향을 나타내었다. 그러므로 비타민의 첨가는 셀룰로오스 생산을 위해 효과적이라 생각된다.

과즙 및 lignosulfonate의 영향

셀룰로오스의 생산성 향상을 위해 기본배지인 HS 배지에 상품화된 각종 과즙(apple, grape, pineapple, carrot, coconut milk 및 green tea)의 효과를 조사한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 당근이나 녹차는 셀룰로오스 생산을 위해 효과적이지 않았으나, 코코넛 밀크 및 오렌지 주스의 첨가구에서 대조구에 비해 셀룰로오스의 수율이 각각 2.2배 및 1.5배로 향상되었으며, 이 중 코코넛 밀크의 경우는 본 실험에서 얻어진 가장 높은 결과를 나타내었다. 또한 가공되지 않은 코코넛 밀크 원액과 이를 희석하여 그 자체를 배지로 사용하였을 경우에 원액이 2.0배의 수율을 나타냈으며, 희석함에 따라 점차 수율이 떨어졌으나 코코넛 밀크의 효과는 다른 처리구의 경우보다 두드러지게 나타났다. 셀룰로오스 생산을 위해 과즙 처리에 대한 연구가 보고된 바 없기 때문에 이의 효과에 대하여 언급하기 어려우나, 코코넛 밀크의 경우 각종 무기물, 영양소 및 유기산이 풍부한 것으로 잘 알려져 있어서, 식물조직배양에서는 새로운 조직의 유기 및 생장을 위해 촉진제로써 일반적으로 사용되고 있

**Table 2. Effects of addition of various juices on the production of cellulose by *A. xylinum* GS11**

Media broths	Purified cellulose (dry wt g/L)(%)	Pellicle (wet wt g/L)	Final pH
HS medium*	2.67(100)	28.3	3.09
+10% apple juice**	3.43(128)	32.8	3.13
+10% orange juice	3.96(148)	41.9	3.15
+10% carrot	2.38(89)	16.7	3.19
+10% coconut milk	6.43(240)	54.1	3.09
+10% green tea	2.13(80)	16.2	3.23
Coconut milk***	5.45(204)	50.2	2.59
90%****	4.90(184)	47.4	2.53
80%	4.36(163)	43.1	2.51
50%	3.63(136)	35.5	2.92

Cell were statically cultivated for 7 d at 30°C in the Hestrin Schramm (HS) \*which was used as the basal medium. \*\*Several commercial juices were added with the concentration of 10% in the basal medium. \*\*\*Coconut milk (Instafood Corporation, Brix 10.5°, pH 6.5, philippines) was directly used as culture medium, and \*\*\*\*90, 80 and 50% coconut milk diluted with water.

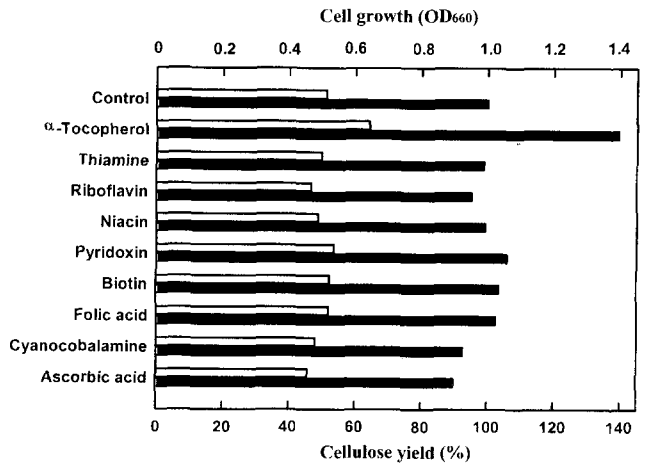
**Table 3. Effects of liginosulfonates on the cellulose production by *A. xylinum* GS11**

Medium	Purified cellulose (dry wt g/L)(%)	pellicle (wet wt g/L)	Final pH
HS medium*	2.67(100)	28.3	3.09
+0.2% liginosulfonate**	4.09(153)	42.8	3.10
+0.5% liginosulfonate	5.74(215)	56.3	2.89
+1.0% liginosulfonate	2.14(80)	17.5	3.20

Cell were statically cultivated for 7 d at 30°C in the Hestrin Schramm (HS)\*, which was used as the basal medium, and \*\*Liginosulfonates were added with 0.2, 0.5 and 1.0% in the basal medium.

다[7]. 따라서 *A. xylinum* GS11에 있어서도 코코넛 밀크의 풍부한 영양적 요소에 의해 셀룰로오스의 생성을 촉진하는 것으로 생각된다.

목재의 펄핑 과정에서 부산물로 얻어지는 liginosulfonate는 고분자물질이며 생리촉진작용을 가지고 있는 것으로 밝혀지고 있다[15,16]. 따라서 이러한 고분자 다당체가 *A. xylinum*의 셀룰로오스의 수율에 효과를 나타내는지를 검토하기 위하여 기본 배지에 첨가한 결과 Table 3에 나타낸 바와 같이 0.5%의 liginosulfonate를 첨가했을 때 2.1배의 생산성을 향상시켰다. 또한 0.2%를 처리한 경우에도 1.5배의 생산성을 나타내었다. 그러나 농도를 증가시킨 경우 오히려 대조구 보다 생산성이 낮아지므로 liginosulfonate의 첨가는 0.5% 범위가 가장 효과적인 것으로 나타났다. Inaba 등[6]은 목재 펄핑과정에서 얻어진 CP powder(commercial sulfonate pulping waste fraction)등의 처리결과 고분자 물질 중 당-황화합물과 저분자의 리그닌-당 복합물에 의해 식용버섯과 곰팡이에 있어서 균사체와 자실체의 형성을 위한



**Fig. 5. Effects of vitamins on the cell growth and cellulose production by *A. xylinum* GS11. Closed bars, cell growth; open bars, cellulose yield.**

주요 성분이었으며, 고분자 liginosulfonate 분획은 효과를 나타내지 않았다고 밝힌 바 있다. 그러나 Premjet 등[15, 16]은 CP powder를 분자의 크기별로 분획하여 처리한 결과 저분자의 당을 배제한 liginosulfonate를 포함하고 있는 고분자 기질 분획에서 대조구와 비교하여 3배 정도의 수율을 얻을 수 있었으며, 탄수화물과 저분자 기질 분획에서는 효과를 보이지 않았기 때문에 고분자 분획이 셀룰로오스 생산을 위해 효과적이라고 하였다. 본 실험에서는 고분자 분획의 주요 성분이 liginosulfonate이기 때문에 시약용 liginosulfonate를 처리한 결과 셀룰로오스 생산성을 높일 수 있어 고분자 liginosulfonate가 *A. xylinum*에 의해 미생물 셀룰로오스의 생산성을 높이는데 효과적이라는 것을 확인할 수 있었다.

**요 약**

*Acetobacter xylinum* GS11 균주를 이용하여 다양한 배양조건에서 미생물 셀룰로오스의 생산성을 검토하였다. 탄소원으로 glucose 이외에 첨가한 기질은 영향이 없었으며, 2% glucose 농도 범위에서 셀룰로오스 생산량이 2.8 g/L로 가장 양호한 것으로 나타났다. 질소원은 YE와 soytone 등의 유기질소원 첨가가 효과적이었으나, 무기질소원의 효과는 나타나지 않았다. 무기염류 및 아미노산의 첨가는 대부분 효과적이었으며, 이 중 무기염류는 MgSO<sub>4</sub>가 1.5배, 아미노산은 phenylalanine이 1.4배의 셀룰로오스 생산성을 나타냈다. 비타민은 α-tocopherol의 첨가 시 1.4배의 생산성을 보였다. 또한 기본배지에 Coconut milk와 0.5%의 liginosulfonate의 첨가가 대조구와 비교하여 각각 2.2, 2.1배의 셀룰로오스의 생산성을 나타내어 실험 처리 중 가장 효과적이었다.

## REFERENCES

1. Benziman, M., C. H. Haigler, R. M. Brown Jr., A. R. White, and K. M. Cooper. 1980. Cellulose biogenesis; polymerization and crystallization are coupled processes in *Acetobacter xylinum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**:6678–6682.
2. Brown, A. J. 1886. An acetic ferment which forms cellulose. *J. Chem. Soc.* **49**: 432–439.
3. Dudman, W. F. 1959. Cellulose production by *Acetobacter acetigenum* in defined medium. *J. Microbiol.* **21**:327–337.
4. Geyer, U., D. Klemm, and H. P. Schmauder. 1994. *Acta Biotechnol.* **14**:261.
5. Hestrin, S. and M. Schramm. 1954. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*: I. Micromethod for the determination of cellulose. *Biochem. J.* **56**: 163–166.
6. Inoba, K., T. Yoshida, T. Mitsunaga, and T. Koshijima. 1993. *Mokuzai Gakkaishi.* **39**:710.
7. Ishii, Y., T. Takamal, M. Goi, and M. Tanaka. 1998. Callus induction and somatic embryogenesis of *phalaenopsis*. *Plant Cell Reports* **17**:446–450.
8. Ishikawa, I., M. Matsuoka, T. Tsuchida, and F. Yoshinaga. 1995. Increase in cellulose production by sulfaguanidine-resistant mutants derived from *sucrofermentans*. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**:2259–2262.
9. Jonas, R. and L. F. Farah. 1998. Production and application of microbial cellulose. *Polymer Degradation and Stability* **59**:101–106.
10. Ko, J. Y., K. S. Shin, B. D. Yoon, and W. Y. Choi. 2000. Isolation and identification of *Acetobacter xylinum* GS11 producing cellulose. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **28**: 139–146.
11. Masaoka, S., R. Ohe, and N. Sakota. 1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. *J. Ferment. Bioeng.* **75**:18–22.
12. Matsuoka, M., T. Tsuchida, K. Matsushita, O. Adachi, and F. Yoshinaga. 1996. A synthetic medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* subsp. *sucrofermentans*. *Biosci. Biotech. Biochem.* **60**:575–579.
13. Matthyse, A. G. 1983. Role of cellulose fibrils in *Agrobacterium tumefaciens* infection. *J. Bacteriol.* **154**: 906.
14. Park, S. H., Y. K. Yang, J. W. Hwang, C. S. Lee, and R. Pyun. 1997. Microbial cellulose fermentation by *Acetobacter xylinum* BRC5. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 598–605.
15. Premjet, S, Y. Ohtani, and K. Sameshima. 1993. High bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* ATCC 10245 in a new culture medium with a sulfite pulping waste fraction. *Transaction.* **50**: 124–128.
16. Premjet, S., Y. Ohiani, and K. Sameshima. 1994. The contribution of high molecular lignosulfonate to the powerful bacterial cellulose production system with *Acetobacter xylinum* ATCC 10245. *Transaction* **50**:458–463.
17. Reuber, T. L. and G. C. Walker. 1993. Biosynthesis of succinoglycan, a symbiotically important polysaccharide of *Rhizobium meliloti*. *Cell* **74**:269–280.
18. Robert, E. C. and M. A. Steven. 1991. Biogenesis of bacterial cellulose. *Microbiol.* **17**:435–447.
19. Ross, P., R. Mayer and M. Benziman. 1991. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol. Rev.* pp. 35–58.
20. Ross, P., H. Weinhouse, Y. Aloni, D. Michaeli, P. Weinberger-Ohara, R. Mayer, S. Boon, and M. Benziman. 1987. Regulation of cellulose synthesis in *Acetobacter xylinum* by cyclic diguanylic acid. *Nature* **325**:279–281.
21. Toda, K. T. Asakura, M. Fukaya, E. Entani, and Y. Kawamura. 1997. Cellulose production by acetic acid-resistant *Acetobacter xylinum*. *J. Ferment. Bioeng.* **84**: 228–231.
22. Yamanaka, S., K. Watanabe, N. Kitamura, M. Iguchi, S. Mitsuhashi, Y. Nishi, and M. Uryu. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. *J. Mat. Sci.* **24**: 3141–3145.
23. Yoshinaga, F. 1996. Development of production process and application of biocellulose, a new material. *Bioscience and Industry* **54**:22–25.

(Received Sep. 8, 2001/Accepted Dec. 8, 2001)