

Gluconacetobacter hansenii TL-2C에 의한 Bacterial Cellulose의 Pilot 생산

정지숙 · 김종순 · 최경호[†]

대구가톨릭대학교 식품영양학과

Pilot Production of Bacterial Cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* TL-2C

Ji-Suk Jeong, Jong-Sun Kim, and Kyoung-Ho Choi[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

Abstract

This study was designed to ultimately develop a highly efficient mass production technology of bacterial cellulose isolated from the citrus gel fermented by *G. hansenii* TL-2C. Pilot equipment made with FRP vessel, length (665 mm)×width (375 mm)×height (210 mm) was developed for mass production of the citrus gel. To develop the optimal conditions for mass production of citrus gel, comprised of citrus juice (6,000 mL) diluted 100 times, containing 5% seed bacteria, 10% sucrose, and 1% ethanol, citrus juice was fermented at 30°C for 14 days, and gel productivity in pilot system was examined. BC was isolated and purified from the citrus gel, and their chemical composition and physicochemical properties were investigated.

Key words: bacterial cellulose, *Gluconacetobacter hansenii*, citrus gel, tea fungus, pellicle

서 론

Tea fungus란 *Acetobacter*를 위시하여 *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* 등의 다양한 세균류에 의하여 배양액 표면에 생성된 두터운 겔(gel) 상의 피막을 지칭한다(이하 겔로 약함). 겔은 동남아 지역에서는 콤부차(kombucha) 또는 나타 데 코코(nata de coco)라는 이름으로 전통 건강식품으로 이용되고 있으며, 화학적으로 cellulose로 구성되어 있기 때문에 bacterial cellulose로도 불린다(1,2) 겔 발효균으로 국내에서는 식초산 발효과정이나 부패한 과일 등으로부터 *Acetobacter xylinum*에 속하는 균주가 다수 분리되었으며, 근간 겔 생산 능력이 뛰어난 *A. xylinum* 과 *Gluconacetobacter hansenii* 등의 균주가 다수 분리되면서 세균성 셀룰로오스 생산 연구가 활발히 이루어지고 있다(3-6).

셀룰로오스는 자연계에 널리 존재하는 고등식물의 세포벽의 주성분으로서 β -1,4-glucose로 구성된 다당류이다. 식물 셀룰로오스는 pectin, hemicellulose, lignin 등의 다른 다당류와 혼합하여 heteropolysaccharide로 이루어져 있어 결정화도가 낮고 기계적 강도와 흡착성이 떨어진다(7). 반면, 세균이 생산하는 셀룰로오스는 일반 식물체가 생산한 셀룰로오스와 달리 pectin, hemicellulose, lignin 등의 다당류를 함유하지 않은 순수한 셀룰로오스 집합체이며, 약 0.1 μ m의

두께를 지닌 microfibril이 수소결합으로 3차원적 망상구조를 이루고 있다(8,9). 따라서 결정화도가 높고 기계적 강도와 흡착성, 보수성, 현탁 안정성, 결합성 등의 물리적인 성질이 우수하여(8,10) 식품, 화장품 및 의약품 산업의 신소재로써 널리 사용되고 있다(10-14). 1886년 Brown(15)에 의해 최초로 식초산균이 셀룰로오스를 생산하는 것으로 보고된 이후 현재까지도 일본에서는 *A. xylinum*의 gene 관련 연구(16) 외에도 폴란드, 미국 등 많은 나라에서 bacterial cellulose에 관한 특성 연구들(17-21)이 계속해서 진행되어져 오고 있다. 특히, 산업용으로는 음향기기의 진동판 소재로 개발되고 있고(22-24), 독일의 경우 인조혈관 및 화상환자용 인조피부 등의 의료용품으로 개발되고 있다(14,25,26). 또한, 최근 세균 셀룰로오스는 식품의 안정화뿐만 아니라 저칼로리 효과와 더불어 지질대사 개선 효과도 보고되고 있어 향후 기능성 식품 신소재로써 각광 받고 있다(27,28).

Coconut을 원료로 하여 생산된 셀룰로오스는 섬유질 상의 겔로 보수성이 높아 적은 양의 첨가로 식감이나 보형성이 우수한 식품을 얻을 수 있으며(27), 현재 두부, 어묵, 소세지, 국수 그리고 빵 등의 고형식품에 적용되고 있다. 필리핀을 비롯한 동남아 국가에서는 과즙이나 당밀에서 배양한 세균으로부터 생성된 셀룰로오스를 식이섬유소로서 저칼로리, 다이어트 식품 및 디저트용의 식품재료로 이용되고 있다(28). 국내에서도 다류와 과즙을 이용한 겔 생산에 관한 연구

[†]Corresponding author. E-mail: herojisuk@cu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3521, Fax: 82-53-850-3504

(29-31)가 다수 진행되고 있으나, 대부분이 균주분리 및 최적 배양조건 설정에 관한 연구(11,32-40)이며, 대량의 배양액에서의 pilot 생산 연구는 전무한 편이다.

본 실험에 사용한 시료 감귤은 제주도에서만 연간 60만 톤 이상이 생산되나 대부분이 생과로 이용되고 있는 실정으로 일부 감귤주스를 가공하기 위한 전 단계에서 감귤농축액 상태로 저장되어지고 있을뿐 가공품 개발에 의한 소비가 적다(41,42). 따라서 감귤과즙을 이용한 다양한 가공식품 및 기능성식품의 개발이 요구되고 있다. 또한, 감귤에는 L-ascorbic acid, β -carotene 및 식이섬유소를 다량 함유하고 있을 뿐 아니라 항고혈압, 항산화 및 항노화성 flavonoid 화합물을 다량 함유하고 있다(43-47). 이와 같이 영양 및 기능성이 우수한 감귤과즙을 원료로 발효 겔을 생산하고 나아가 그로부터 고기능성 셀룰로오스를 대량생산할 수 있다면 현재 전량 수입되고 있는 coconut gel을 대체할 수 있을 것이며 아울러 감귤 발효액은 산형 발효음료로서 개발할 수 있을 것이다(48-52).

따라서 본 연구는 국내산 감귤과즙을 이용하여 고기능성 세균 셀룰로오스를 대량생산하기 위해 앞서 발표한 실험결과(53,54)를 토대로 감귤과즙으로부터 citrate내성의 *Gluconacetobacter hansenii* TL-2C를 선별한 후 감귤 발효 겔로부터 산업용 신소재로써 활용가치를 높이기 위해 pilot 시설을 이용하여 대량 생산할 수 있는 방법을 개발하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 감귤농축액은 제주개발공사에서 제조한 평균당도 65° Brix의 서귀포 산 온주밀감 농축액(이하 감귤과즙으로 약함)으로, -20°C에서 저장하여 사용하였다. 감귤과즙은 100배 희석하여 사용하였으며, 희석 시에는 시판 정백당(제일제당, 한국)을 첨가한 후 당도를 10° Brix로 조정하였다. 기타 탄소원으로는 주정(95%, 풍국주정)을 사용하였다.

균주 분리용 배지

균주 분리용 배지로는 SA배지(sucrose-acetate medium)와 감귤과즙배지(citrus juice medium)를 사용하였다. SA배지의 조성은 sucrose 20 g, acetic acid 25 mL, peptone 5.0 g, vitamin mix 0.5 g 및 mineral mix 0.5 g을 증류수에 녹여 1.0 L 정용하고 이때, pH 3.9~4.0으로 조정된 후 0.75 kg/cm²에서 15분간 가압살균한 다음 실온에서 냉각시켜 사용하였다. 감귤과즙배지는 증류수에 시판 백설탕을 첨가하여 당도 9° Brix로 조정된 후 가압살균한 다음 실온에서 냉각시키고 여기에 감귤농축액 10 mL를 첨가하여 최종 당도 10° Brix가 되도록 조정된 다음 사용하였다.

감귤겔 생산을 위한 발효균 선별 및 균주 개선

감귤겔 발효용 균주인 *G. hansenii* TL-2C는 Fig. 1과 같

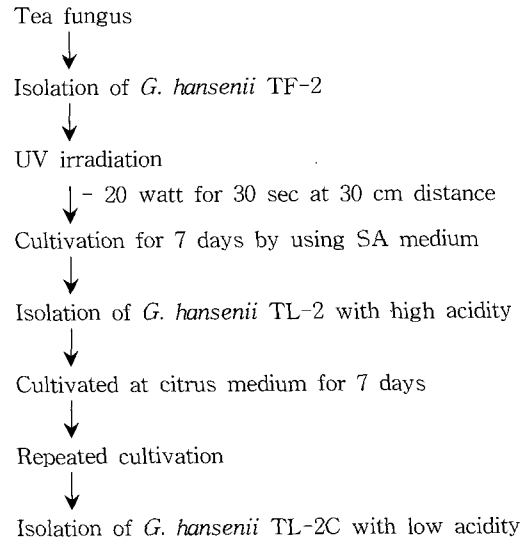


Fig. 1. Isolation procedure of mutant *G. hansenii* TL-2C from *G. hansenii* TF-2 of tea fungus.

이 분리하였다. 즉, 식초산계 음료 제조용 tea fungus로부터 분리한 겔 생성균 *G. hansenii* TF-2(55)에 UV를 조사(25 watt, 30 cm, 30 sec)하여 증식속도가 빠른 변이주 TL-2를 분리하였으며, 이를 5%의 citrate를 함유한 SA배지에 반복 배양하여 citrate 내성균 TL-2C로 개질하였다. 전 배양과정에서 과즙 표면에 형성된 두께 약 10 mm의 겔을 종균으로 사용하였으며, 균주의 겔 생성능력은 14일간의 발효 후 형성된 겔의 두께로 평가하였다.

발효시 에탄올 함량에 따른 발효성상 및 겔 생성 측정

발효병에 감귤과즙배지를 80 mL씩 분주하고 *G. hansenii* TL-2C로 생성된 종균을 5%(w/v) 접종하였다. 에탄올은 0, 0.5, 1, 2 및 5%(v/v)로 각각 첨가한 후 14일간 30°C 항온기에서 정치 배양하면서 겔 두께를 측정하였다. 이때 발효용 기로는 시중 유리제품의 음료병을 살균하여 사용하였으며, 발효병 입구는 살균 여과지(Whatman filter paper No. 2, USA) 2겹으로 덮고 고무줄로 봉하였다. 조건 검토 후 발효조 배양에서의 발효성상 및 겔 생성 측정은 감귤과즙배지에 에탄올 1%를 첨가하여 10일간 발효하면서 발효성상을 조사하였다.

발효조 충전율에 따른 겔 생성 측정

발효조에서의 감귤겔 생성력을 알아보기 위해 배양액 충전율에 따른 겔 생성 정도를 우선적으로 알아보았다. 발효조에 9° Brix의 설탕용액 5 L, 6 L 및 7 L를 준비하고 여기에 감귤과즙 1%(v/v), 종균(*G. hansenii* TL-2C) 5%(w/v) 및 에탄올 1%(v/v)를 첨가하여 30°C 배양실에서 14일간 정치 발효하였다. 이때, 종균은 믹서기(HM-330, Hanil, Korea)로 1분간 마쇄하여 분산시킨 후 접종하였으며, 충전량은 5,350 mL, 6,420 mL 및 7,490 mL로 배지의 깊이가 각각 21.5 mm, 25.7 mm, 30.0 mm이었다.

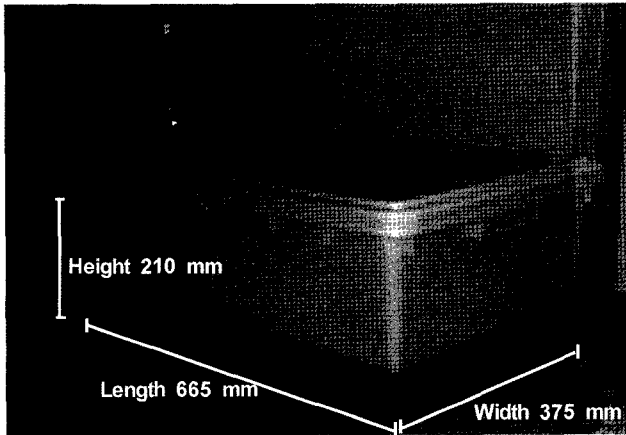


Fig. 2. Pilot production vessel of citrus gel fermented by *G. hansenii* TF-2.

FRP (fiberglass reinforced plastics) size: 665 mm (length)×375 mm (width)×210 mm (height).

변이주(*G. hansenii* TL-2C)를 이용한 감귤겔의 Pilot 생산

대형 발효조는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 모서리가 둥근 직사각형의 길이 665 mm, 넓이 375 mm, 높이 210 mm의 FRP(fiberglass reinforced plastics) 용기를 사용하였으며, 이때 통기량을 조절하기 위해 뚜껑에 직경 8 mm의 통기공 12개를 뚫어 사용하였다. 그리고 감귤겔 생산을 위한 발효용 배지의 조성은 감귤과즙 1.0%, 종균 5.0% 및 에탄올 1.0%로 배지 총량은 6,420 mL이었다.

발효액의 이화학적 조사

발효조건 설정을 위해 배양과정 중 경과일수에 따른 발효액의 pH, 총산 및 당도를 측정하였으며, 배양액을 원심분리(6000 rpm×15 min)하여 균체를 제거하고 측정에 사용하였다. pH 측정은 pH meter(Toledo 340, Mettler, Swiss)를 사용하여 측정하였으며, 총산 함량은 AOAC법(56)에 따라 삼각 flask에 시료 10 mL를 취한 다음 지시약(bromothymol blue) 2~3방울을 가하고 0.01 N 또는 0.1 N-NaOH로 중화 적정한 후 acetic acid(% w/v)로 환산하였다. 당도는 휴대형 굴절당도계(ATC-1E, Atago, Japan)로 측정하였다.

감귤겔의 물리적성상 조사

감귤겔 생성량 측정: 발효액 표면에 형성된 겔을 발효조에서 꺼내어 흐르는 물로 세척한 후 편평한 바닥에 놓고 백색 겔 부분의 두께를 눈금자로 측정하였으며, 이때 겔 두께는 mm 단위로 측정하였다.

관능적 품질 평가: 관능적 품질 평가는 지속적으로 겔 실험에 참여한 대구가톨릭대학교 식품영양학과 미생물실험실 대학원생을 대상으로 표면의 평활도, 백색도 및 이물질 부착 등을 기준으로 육안 평가하였다.

색도측정: 감귤겔의 표면 색도는 색차계(Chroma meter CR-310, Japan)를 사용하여 액과 접한 안쪽면(Bottom layer)

과 공기와 접한 바깥면(Upper layer)의 반사광 색도로 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness) 값을 3회 반복 측정하여 그 평균값을 나타내었다.

물성측정: 겔의 texture는 rheometer(Compac-100, Japan)를 사용하여 강도(strength), 경도(hardness), 응집성(cohesiveness), 탄력성(springiness), 검성(gumminess) 및 파쇄성(brittleness)을 3회 반복 측정하여 그 평균값으로 나타내었다. 시료는 18일간 배양된 겔 중 두께가 15.0 mm 이상인 것을 플라 젖은 상태의 vertical round형의 sample로 mastication test type으로 측정하였으며, 조건은 sample height 15.0 mm, sample diameter 50.0 mm, load cell(max) 10.0 kg, table speed 60 mm/min, adaptor Round-diameter 20.0 mm로 측정하였다.

통계처리

모든 데이터는 특별한 경우를 제외하고는 3회 반복 측정 후 평균치±표준편차로 나타내었으며, 평균간의 유의성 분석은 SAS package를 사용하여 분산분석(ANOVA)하고 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

감귤겔 생산을 위한 균주 분리 및 동정

감귤겔 발효용 균주는 Fig. 1과 같이 음료 발효용 tea fungus로부터 분리한 겔 생성균 *G. hansenii* TF-2에 자외선을 조사하여 증식 속도가 빠른 변이주 TL-2를 분리하였으며, 이것을 5% citrate를 함유한 SA배지에 반복 배양하여 citrate 내성균 TL-2C를 얻고 이를 감귤겔 발효균으로 사용하였다. 야생주 TF-2는 매우 작은 colony를 생성하는 호기성 세균으로서 생물학적 성상을 조사하여 1차적으로 *Acetobacter xylinum*으로 동정되었으나, 이후 균주동정에 DNA 염기서열 분석법이 도입됨에 따라 변이주 TL-2의 16S rDNA의 염기서열을 조사한 결과 한국 유전자은행이 보유한 *G. hansenii* 표준균주와 97%의 높은 유사성을 보여 *G. hansenii*로 최종 동정되었다.

*Gluconacetobacter*는 종래 *Acetobacter*로 분류되었던 균주로서, 균주동정에 DNA 염기서열 분석법이 도입된 이후 *Acetobacter*로부터 분리되었으며, 생리적인 성상이 *A. xylinum*과 거의 일치한다(57). *G. hansenii*는 식초산 발효액의 표면에서 흔히 검출되는 균주로서, Choi 등(54)도 동 균주가 감귤과즙에서 잘 증식하며 다량의 식초산과 bacterial cellulose를 생성하는 것으로 보고하였다.

겔 생성 균주의 성상 비교

야생주 *G. hansenii* TF-2는 매우 작은 colony를 생성하는 호기성 세균으로서, 증식속도가 늦고 겔과 함께 약 4%의 산(acetic acid)을 생산하였다. 반면에 TF-2에 자외선을 조

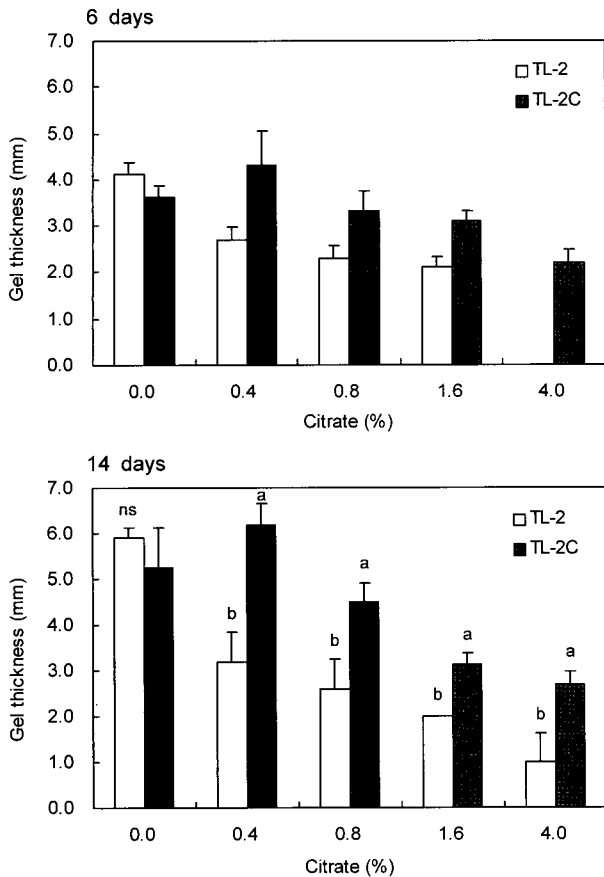


Fig. 3. Comparison of gel thickness of the citrus gel produced by *G. hansenii* TL-2 and *G. hansenii* TL-2C at 6 and 14 days according to various concentrations of citric acid. SA medium, a semi-synthetic medium, which contained sucrose and acetic acid was used in the experiment.

사하여 분리한 *G. hansenii* TL-2는 large colony를 생성하는 변이주로서 TF-2에 비하여 겔 생성능력은 높은 반면에 산 생성능력은 2%로 유의적으로 낮은 특성을 나타내었다. *G. hansenii* TF-2의 기본적 성상(29) 및 *G. hansenii* TL-2C의 탄소원 이용에 관한 특성(54)은 보고된 바와 같다.

한편 본 실험에서 재료로 사용한 감귤과즙은 citrate 함량이 높아 부득이 TL-2로부터 citrate 내성균 TL-2C를 분리하였다. SA 배지를 사용하여 TL-2와 TL-2C의 citrate 함량에 따른 겔 생성능력을 비교한 결과는 Fig. 3과 같이 발효 6일째 TL-2는 citrate 함량 4%에서는 전혀 생성되지 못하였으나, TL-2C는 2.2 mm로 생성되었으며, 발효 14일째 citrate 함량 0%에서는 TL-2와 TL-2C 사이에 유의적인 차가 없었으나, citrate 함유 시에는 TL-2C가 유의적으로 두꺼운 겔을 생성하였다. 특히, 0.4%의 citrate를 함유한 SA 배지에서 14일간 배양하면서 겔의 생성 정도를 비교한 결과는 Fig. 4와 같이, 배양 4일째부터 큰 차이를 보여 배양 14일째에는 TL-2가 두께 3.8 mm, TL-2C가 6.2 mm의 겔을 생성하였다.

발효용 감귤과즙을 사용하여 분리균들의 배양특성을 비교한 결과는 Fig. 5와 같다. 즉, *G. hansenii* TF-2의 경우

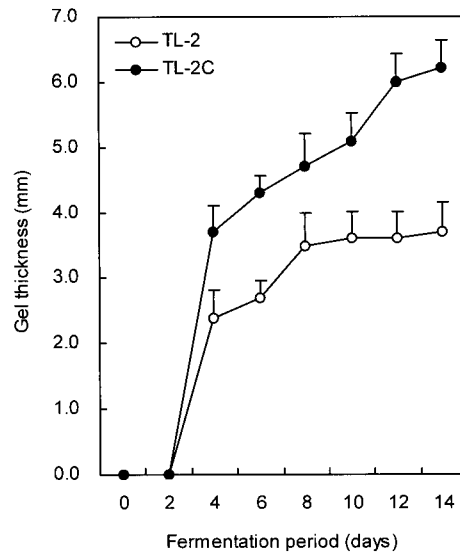


Fig. 4. Changes in the gel thickness during fermentation by mutant strains developed for gel fermentation *G. hansenii* TL-2 was a mutant which grew rapidly by forming large colonies. *G. hansenii* TL-2C was a mutant resistant against citrate and was developed from TL-2. Bacterial strains were cultivated in SA medium containing 0.4% citric acid.

pH가 가장 급격히 낮아졌으며, 산도도 급격하게 증가하여 발효 14일째에는 최고 3.70%(acetic acid로 환산)의 산을 생산하였다. 반면에 TL-2와 TL-2C에서는 산 함량이 발효 8일째 이후 1.6에서 1.9% 사이로 거의 일정하게 유지되어 안정된 함량을 나타내었다. *G. hansenii* TL-2와 TL-2C의 겔 생성능력을 비교한 결과 citrate가 함유되지 아니한 배지에서는 두 균주사이 겔 발효력에 차이가 없었으나, 감귤과즙 배지에서는 TL-2가 발효 14일째에 두께 10 mm의 겔을 생성한 반면에 TL-2C는 11 mm로 조금 더 두꺼운 경향을 나타내었다.

이상의 결과는 *G. hansenii* TL-2C가 감귤과즙배지에서 증식속도가 빠르고 산 생성량이 낮으며 두꺼운 겔을 생성한다는 점에서 우수한 발효균으로 평가되었다. 다만, 0.4%의 citrate를 함유한 SA 배지에서는 TL-2와 TL-2C 사이에 겔 생성능력에 현저한 차이가 있었으나, 비슷한 농도의 citrate를 함유한 감귤배지에서는 그 차이가 줄어들어 감귤과즙에 비하여 SA배지의 조성이 단순하여 공시균이 citrate의 영향을 받기 쉬웠던 것으로 추정된다.

에탄올 함량에 따른 발효성상 및 겔 생성 비교

유기산으로 전환되기 쉬운 탄소원을 첨가하여 발효초기에 pH를 낮춤으로 발효계의 오염을 방지하고 발효효율을 개선할 목적으로 감귤과즙배지에 저농도(0~5%)의 에탄올을 첨가하여 겔을 발효한 결과 Fig. 6과 같이 에탄올 1%와 2% 첨가구가 대조구에 비하여 현저히 두꺼운 겔이 생성되었다. 에탄올 1% 및 2% 첨가구의 겔두께는 비슷한 수준이었으나 에탄올 1% 첨가구에서 생성된 겔이 표면 평활도, 색상

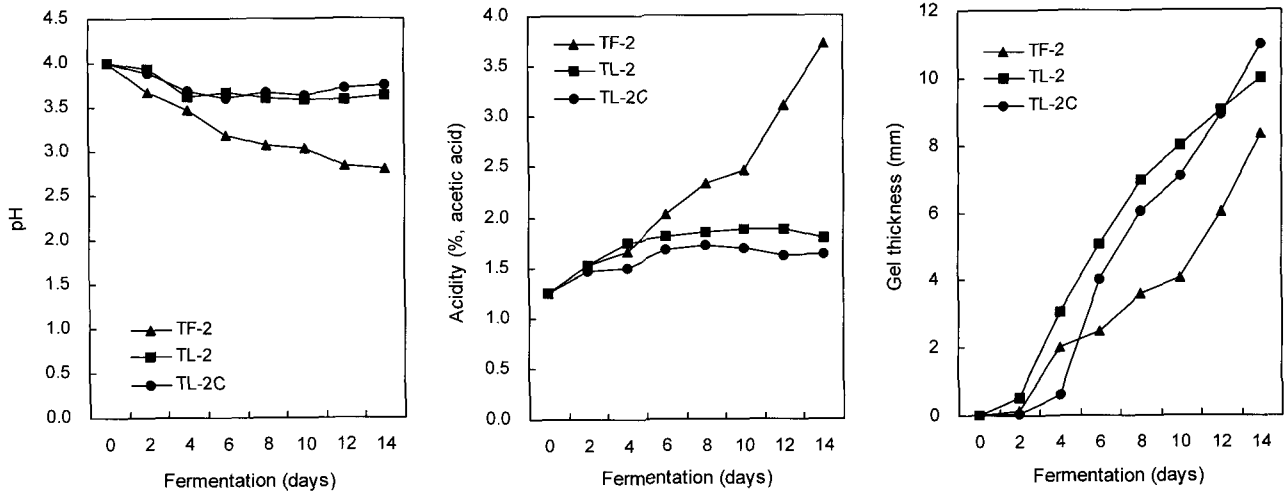


Fig. 5. Comparison of pH, acidity and gel thickness of the culture broth according to three different bacterial strains, *G. hansenii* TF-2, *G. hansenii* TL-2 and *G. hansenii* TL-2C, for the citrus gel production. The organisms were cultivated in citrus juice diluted by 6 times without supplement of any other nutrients.

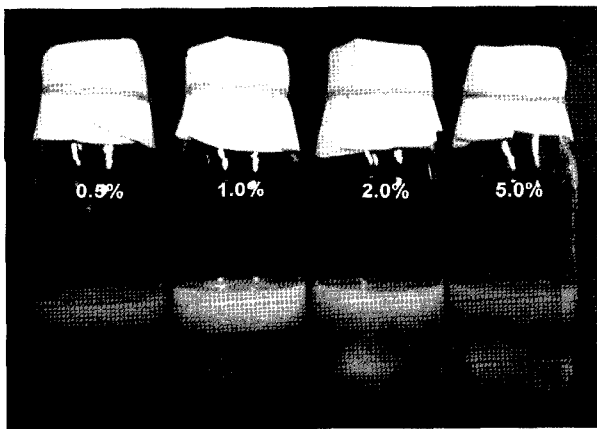


Fig. 6. Effect of ethanol addition on thickness and shape of gel after 14 days of the citrus gel fermentation by *G. hansenii* TL-2C. Values in the bottle indicate percentage (%) of ethanol added.

및 밀도 등이 2% 첨가구보다 우수하여 에탄올 1% 첨가를 표준으로 하였다.

에탄올을 첨가한 감귤과즙배지를 사용하여 발효한 경우 발효경과는 Fig. 7과 같다. 배양 2일 후부터 배양액 표면에 겔이 형성되기 시작하였으며, 이후 지속적으로 겔의 두께가 증가하여 10일째는 약 11 mm의 겔이 생성되었다. 산도는 발효개시(종균 접종) 후 지속적으로 증가하여 8일째 최대가 되었다가 이후 낮아지는 경향으로 산 함량이 약 2% 이하로 유지되었다. pH는 발효 초기의 5.6 부근에서 발효 2일째에는 pH 3.5 부근으로 급격히 낮아졌다가 이후로는 서서히 낮아지는 경향을 나타내었으며 발효 14일째에는 pH 3.0 부근에서 안정되었다. 총당은 0일째 10.9%이던 것이 발효 6일째 4.0%로 급격히 낮아졌으며, 이후로도 계속적으로 낮아졌으나 발효 14일째에도 약 3%가 발효되지 못하였다.

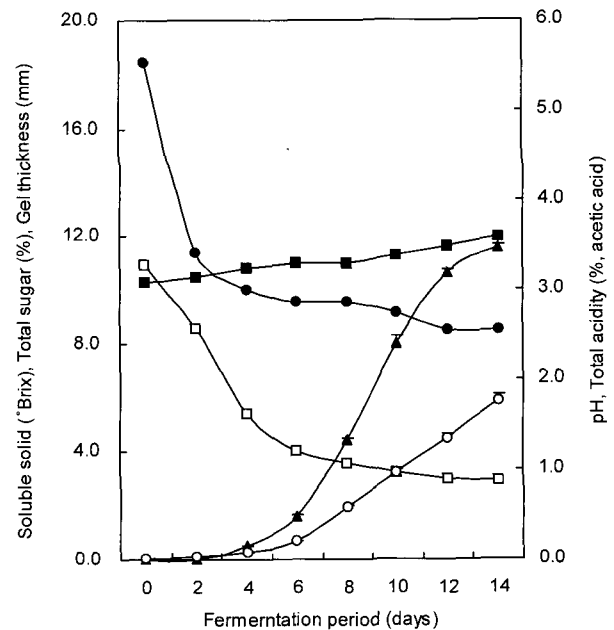


Fig. 7. Effect of ethanol addition on pH, total acidity, soluble solid, total sugar and thickness of the citrus gel fermented by *G. hansenii* TL-2C.

Culture broth contained 1.0% (v/v) ethanol of citrus juice. The gel were fermented by static culture of *G. hansenii* TL-2C at 30°C. Pellicle showed a synchronized growth in thickness with acidity increase during fermentation. Symbols are -○-, pH; -●-, total acidity; -■-, soluble solid; -□-, total sugar and -▲-, gel thickness.

이러한 bottle에서의 배양 조건을 pilot 생산에 적용할 목적으로 사각 발효조(Fig. 2)에서 설정된 조건으로 에탄올 첨가량 0, 0.5, 1, 2 및 5%로 달리하여 6 L 배양하여 겔 생성을 검토하였다. 그 결과, Table 1에서 보는바와 같이 초기 에탄올 함량에 따라 겔 생성에 상당한 차이를 나타내었다. 발효 경과 14일째 pH는 2.50~2.56으로 대조구(pH 2.51)와 비슷

Table 1. Effect of ethanol addition on pH, acidity and thickness of the gel fermented by *G. hansenii* TL-2C

Conc. of ethanol (%)	pH	Total acidity ¹⁾ (% acetic acid)	Gel thickness ²⁾ (mm)
0	2.51 ± 0.02 ^b	0.46 ± 0.03 ^d	6.67 ± 1.20 ^c
0.5	2.56 ± 0.02 ^{ab}	0.41 ± 0.02 ^d	12.50 ± 0.50 ^b
1.0	2.56 ± 0.01 ^a	0.54 ± 0.01 ^c	14.83 ± 1.00 ^a
2.0	2.52 ± 0.02 ^{abc}	0.99 ± 0.02 ^b	15.33 ± 2.50 ^{ab}
5.0	2.50 ± 0.01 ^{bc}	2.34 ± 0.13 ^a	9.50 ± 0.00 ^d

Values are mean ± SD of triplicate determinations. Values with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

¹⁾Total acidity was measured by using 0.01 N-NaOH and represented as acetic acid concentration (% w/v).

²⁾Gels were fermented by static cultivation at 30°C for 14 days.

하였으나, 산도와 겔 두께는 현저한 차이를 나타내었다. 산도는 에탄올 함량이 0%에서 5%로 증가할수록 0.46에서 2.34로 높아지는 경향이었으며, 모두 유의적인 차이를 나타내었다. 발효가 진행되는 동안 총당은 감소하는 것으로 나타났으나 굴절당도계를 이용한 당도 변화에서는 0일째 10.29°Brix에서 발효 10일째 11.27°Brix로 발효 경과일에 따라 점차 증가하는 상반된 결과를 보였다. 이는 원심분리 후에도 가라앉지 않은 미세한 겔 조각(unit)들에 의해 증가되는 결과로 보이며, *G. hansenii*를 이용한 발효액 조사시에는 굴절당도계로 당도를 측정하는 것은 부적합할 것으로 사료된다. 겔 두께는 에탄올을 첨가하지 않은 대조구(6.67 mm)에 비해 에탄올을 첨가한 비교구에서 월등히 증가하여 대조구에 비해 에탄올 0.5% 첨가시 87.41%, 1% 첨가시 122.34%, 2% 첨가시 129.84%, 5% 첨가시 42.43% 증가하는 것으로 나타났다. 겔 두께는 에탄올 1~2% 첨가시에 각각 14.83 ± 1.00 mm, 15.33 ± 2.50 mm를 생성하여 유의적인 차이가 없었으며, 5% 첨가시에는 대조구보다 두껍게 생성되었지만 비교구보다 오히려 겔 생성을 저해하는 것으로 나타나 유의적인 차이를 나타내었다. 이러한 결과는 Lee와 Zhao(6)가 *A. xylinum*을 1%의 에탄올을 첨가하여 정치배양시 겔 수율이 향상된다는 결과와 일치하는 것으로 나타났으며, Naritomi 등(58)의 에탄올 첨가 1%가 최적이라는 결과와 일치하였다. Lee와 Kim(31)의 콤포차 배양에 1~3%의 에탄올 첨가에 의한 겔

수율이 향상되었고, 그 이상에서는 저해된다는 결과와도 일치하는 것으로 나타났다. 또한 Lee 등(59)의 *G. persimmonensis* KJ145도 에탄올 2%를 첨가할 경우 겔 수율이 가장 높게 나타난 결과와도 유사하였다.

발효조 충전율에 따른 겔 생성 비교

발효조의 배양액 충전량의 범위를 검토한 결과는 Table 2와 같다. 배양액 충전율에 따른 발효액의 pH와 산도 변화에는 유의적인 차이가 없었으나, 겔 생성에는 큰 차이를 나타내었다. 겔 생산 수율은 배양액 깊이 25.7 mm가 5,312(g/mL)로 가장 높게 나타났으며 다음으로 30.0 mm(4,388), 21.5 mm(3,522) 순이었다. 따라서 충전량이 6,000~6,500 mL이면서 용액의 깊이가 25.0 mm이상 30.0 mm이하일 때가 가장 적절한 것으로 판정되었다. 이는 Jang과 Jeong(40)의 사과를 이용한 발효 결과보다 월등히 높은 수율(g/L)을 얻을 수 있었다. Son 등(60)의 1,000 mL 미만의 연구결과 배지 깊이 40.0 mm까지는 배지량이 많을수록, 깊을수록 겔의 양이 증가한다고 보고하여 30.0~40.0 mm에서 겔의 수율에 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, Krystynowicz 등(61)의 1,600 mL에서의 연구결과 또한 배지 깊이 37.4 mm까지 배지량이 많고 깊을수록 겔의 양이 증가한다고 보고하여 총량비교에서는 큰 차이가 있지만 거의 비슷한 결과를 얻을 수 있었다. 그 결과, 1 L 이상의 배양액에서도 대량의 겔을 획득할 수 있었다. 그러나 배양시 육안적 평가로는 접종 후 뚜껑을 자주 열어보면 오염의 위험성이 커지며, 배양액의 산미가 강해지는 경향을 나타내었다. 초기 겔을 덩어리로 접종시 덩어리가 가라앉아 있는 부분에는 겔 생성 균체가 많이 모여 있어 겔 생성 속도가 빨라 겔이 더 두껍게 성장하는 것을 볼 수 있었다. 또한 발효 후 생성된 겔 중 양호하지 못한 겔을 다음 접종에 사용한 경우 생성되는 겔의 품질에도 영향을 주는 것을 확인할 수 있었다. 배양량이 소량일 때에는 겔의 투명도에 큰 차이를 나타내지 않았으나, pilot 배양시에는 ethanol 함량이 많아질수록 기존의 겔 형태와 다른 물결한 덩어리 상태의 투명한 겔이 생성되었으며 발효액에서는 시큼한 냄새가 발생하여 다량의 ethanol은 겔 생성을 오히려 방해한다는 것을 알 수 있었다.

Table 2. Effect of loading volume on thickness and productivity of the gel fermented by *G. hansenii* TL-2C

Type	Loading volume ¹⁾ (mL)	Depth of solution ²⁾ (mm)	pH	Total acidity (% acetic acid)	Gel thickness (mm)	Gel productivity ³⁾ (wet gel g/L)
A	5,350	21.5	2.63 ± 0.16 ^a	0.70 ± 0.06 ^a	15.05 ± 1.06 ^c	3,522 ± 248 ^c
B	6,420	25.7	2.58 ± 0.05 ^a	0.70 ± 0.02 ^a	22.70 ± 0.92 ^a	5,312 ± 430 ^a
C	7,490	30.0	2.89 ± 0.13 ^{ab}	0.74 ± 0.09 ^a	18.75 ± 0.35 ^b	4,388 ± 82 ^b

Values are mean ± SD of triplicate determinations. Values with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

Gels were fermented by static cultivation at 30°C for 14 days. Plastic tray: 665 (length) × 375 (width) × 210 (height) mm

¹⁾Loading volume (mL) = sugar solution (mL) + citrus juice (mL) + ethanol (mL) + gel (g)

²⁾Depth of solution (mm) = {volume / (665 × 375)} × 1,000

³⁾Wet weight of the gel sized as 650 (L) × 360 (W) × 15~22 mm (H) was measured and represented as the relative weight against liter of the medium.

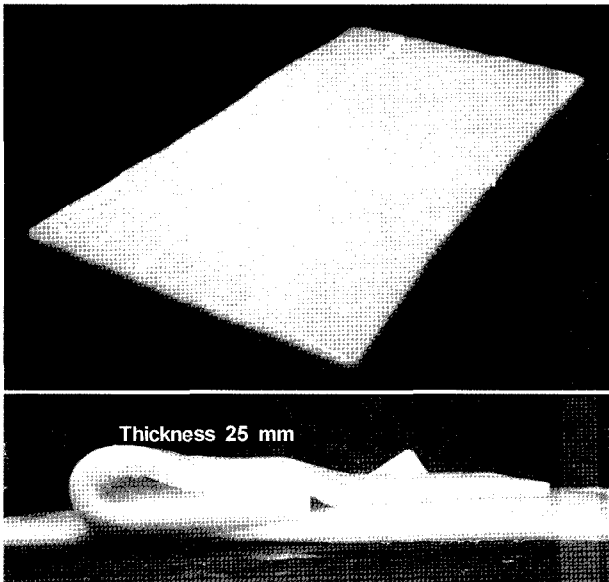


Fig. 8. Shapes of the citrus gel fermented by *G. hansenii* TL-2C for 14 days.
The size of citrus gel produced by pilot fermentation was 360 mm (L)×650 mm (W)×25.0 mm (thickness).

변이주(*G. hansenii* TL-2C)를 이용한 겔 Pilot 생산

Pilot 생산을 위한 발효조는 FRP(fiberglass reinforced plastics)로 만들었으며, 세로 375 mm, 가로 665 mm, 높이 210 mm의 모서리가 둥근 사각형태로 뚜껑에는 직경 8 mm의 구멍 12개를 뚫어 통기성을 보완하였다. 초기 에탄올 함량을 1%로 고정하였으며, 30°C 배양실에서 14일간 발효한 후 Fig. 8과 같이 360 mm(length)×650 mm(width)×25 mm(thickness) 크기의 대형 겔을 얻을 수 있었다. 이때 배양액의 산도는 0.69~0.72%(acetic acid)로 시험 발효시보다 다소 높게 생성되었다. pH는 2.54~2.61 부근으로 안정되었으나 가용성 고형분은 배양 개시 후 연속적으로 증가되었다. 배양 종료시 겔 두께는 21.4~25.0 mm로 시험 발효시와 비슷한 결과였다. Jia 등(62)의 연구 결과에 따르면 citric acid가 겔 생성을 증가시키는 요인으로 간주하고 있기 때문에 감귤 과즙은 겔 생성의 최적의 천연매지가 될 수 있을 것으로 추정되었다.

감귤겔의 물리적 성상

감귤겔 생성량 측정: 에탄올을 첨가하지 않은 대조구와 위의 결과에서 얻어진 에탄올을 최적 첨가량인 1% 첨가 시험구를 14일간 발효한 후 생성된 겔을 측정에 사용하여 기계적인 색도 및 물성을 측정된 결과는 Table 3 및 Table 4와 같다. 발효과정 중 배양액의 표면에 형성된 겔은 배양액과 거의 같은 비중을 가지고 있어 약간의 진동에 의해서도 겔이 배양액 중으로 가라앉고 발효가 정지되었으며, 발효액의 수분증발이 활발하면 겔이 잘 형성되지 않기 때문에 마개를 통한 적당한 통기상태와 수분증산을 막아주어 겔의 형성을 도울 수 있었다. 따라서 감귤겔 발효에서 발효온도, 통기상태, 진

Table 3. Effect of ethanol addition on color value of the citrus gel fermented by *G. hansenii* TL-2C

Citrus gel		Colorimetry ¹⁾	
		Control gel ²⁾	Sample gel ³⁾
Upper layer	<i>L</i>	57.38±1.90	60.28±1.34
	<i>a</i>	-1.61±0.30	-1.92±0.06
	<i>b</i>	-5.44±1.92	-7.30±0.03
Bottom layer	<i>L</i>	59.37±0.93	61.37±0.75
	<i>a</i>	-2.08±0.46	-2.35±0.24
	<i>b</i>	-3.95±0.63	-4.99±0.99

Citrus gels were harvested after 14 days of fermentation.
¹⁾A colorimeter (Chroma meter CR-310, Japan) was used in the experiment. *L* value: Degree of whiteness (white +100 ↔ 0 black), *a* value: Degree of redness (red +100 ↔ -80 green), *b* value: Degree of yellowness (yellow +70 ↔ -80 blue).
²⁾Control gel: no addition of ethanol.
³⁾Sample gel: addition of 1% ethanol.

Table 4. Rheology data of the citrus gel fermented by *G. hansenii* TL-2C

Parameter	Rheolometry ¹⁾	
	Control gel ²⁾	Sample gel ³⁾
Strength (10 ⁵ dyne/cm ²)	1.965±0.518	2.519±0.102
Hardness (10 ⁵ dyne/cm ²)	6.364±1.212	8.549±1.799
Cohesiveness (%)	38.24±14.42	44±15.33
Springiness (%)	46.01±3.38	48±1.84
Gumminess (g)	254.45±156.28	352±109.4
Brittleness (g)	120.12±80.29	168±58.45

The data were obtained after 14 days fermentation.
¹⁾A rheometer (Sun Scientific Co., Compac-100, Japan) was used in the experiment. Measurement conditions of rheometer was 15.0 mm of sample height, sample 50.0 mm diameter, 10.0 kg load cell(max), 60 mm/min table speed, round-diameter 20.0 mm adaptor.
²⁾Control gel: no addition ethanol.
³⁾Sample gel: added with 1% ethanol.

동 및 수분증발이 발효과정의 중요 요소임을 알 수 있었다.

관능적 품질평가: 겔의 육안적 품질특성은 공기와 접한 바깥면(upper layer)은 아주 매끄럽게 잘 자랐으며, 액과 접한 안쪽면(bottom layer)은 초기 믹스되어 접종된 종균의 영향으로 미비한 굴곡이 있었지만 전체적으로는 매끄러운 겔을 확보할 수 있었다.

겔은 97.32±0.07%가 수분으로 대부분 물로 이루어져 있으며, 조지방 함량은 0.64±0.08%의 극히 적은량으로 Kim (63)의 홍차발효액에서 수거된 겔의 조지방 함량 0.47±0.90%의 결과보다 조금 더 높은 수치였으나 이러한 지방은 감귤과즙 착즙시 함유된 과피의 플라베놀과 같은 정유 성분에 의한 영향으로 판단되었다.

색도: 특별한 정제처리를 하지 않고 동일한 두께의 대조구 겔과 시험구의 겔을 회수하여 기계적 색도를 비교하였다. 생성된 겔은 불투명한 흰색으로 색도는 Table 3에서 보는 바와 같이 upper layer와 bottom layer의 반사량 색도로 나타내었으며, *L*값은 시험구의 겔이 60.28 및 61.37로 대조구 (57.38 및 59.37)보다 좀 더 높은 수치를 나타내었으며, *a*값과

b값은 시험구(-1.92, -7.30 및 -2.35, -4.99)보다 대조구(-1.61, -5.44 및 -2.08, -3.95)의 겔이 높은 것으로 나타나 Kim(63)의 연구결과와는 다소 차이를 나타내었으며, 이는 발효에 이용된 부재료의 종류에 따라 차이가 있는 것으로 판단된다. Upper layer는 redness에, bottom layer는 yellowness에 더 가까운 것으로 나타났으나 육안상으로는 큰 차이는 느낄 수 없었다.

물성: 대조구 겔과 시험구 겔 간의 기계적 texture를 비교한 결과는 Table 4와 같이 강도(strength), 경도(hardness), 응집성(cohesiveness), 탄력성(springiness), 겹성(gumminess), 파쇄성(brittleness)에서 시험구 겔이 대조구보다 더 높게 나왔으며, 각각의 강도는 1.965 ± 0.518 , 2.519 ± 0.102 (10^5 dyne/cm²), 경도는 6.364 ± 1.212 , 8.549 ± 1.799 (10^5 dyne/cm²), 응집성은 $38.24 \pm 14.42\%$, $44 \pm 15.33\%$, 탄력성은 $46.01 \pm 3.38\%$, $48 \pm 1.84\%$, 겹성은 254.45 ± 156.28 g, 352 ± 109.4 g 및 파쇄성은 120.12 ± 80.29 g, 168 ± 58.45 g으로 측정되었다. 이는 시험구 겔이 빠른 속도로 생성되어 겔층과 물층 간의 간격이 조밀하여 높은 밀도를 나타낸 것으로 사료된다. 모든 texture에서 더 높은 수치가 나온 것은 Kim(63)의 연구결과와 비교했을 시 탄력성만 낮게 나왔을 뿐 나머지 성질은 전체적으로 높게 나타나 차이를 나타내었다.

Bacterial cellulose 겔을 식품재료 및 산업재료로의 응용할 시에는 물성이 중요한 요인으로 작용하므로 생산 균주 및 배양조건에 따라 생성되는 bacterial cellulose 겔의 물성 특성에 관한 연구와 조직 규명에 관한 연구가 차후 진행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 국내산 감귤과즙을 이용하여 고기능성 세균 셀룰로오스를 대량생산하기 위해 감귤과즙으로부터 감귤 내성의 *Gluconacetobacter hansenii* TL-2C를 선별한 후 pilot 시설을 이용하여 감귤겔을 대량 생산할 수 있는 방법을 개발하였다. 유기산의 약 80%가 citric acid로 내성균의 분리가 부득이한 것으로 판정되어, 겔 발효균의 모체인 tea fungus에서 *G. hansenii* TF-2를 분리, 여기에 UV를 조사하여 TL-2를 분리한 후, 감귤배지에서 반복배양하여 citrate 내성 균인 *G. hansenii* TL-2C를 분리하였다. 감귤농축액 100배 희석액에 initial sucrose 함량 10%(w/v), ethanol 1%(v/v)을 첨가한 배양액에 중균을 5%(w/v) 접종하였다. 대형 4각의 FRP 용기에 뚜껑을 덮고 과즙의 높이를 26 mm로 충전하였으며, 30°C 배양실에서 14일간 정치배양한 후 세로 360 mm, 가로 650 mm, 두께 25 mm 이상의 대형 겔을 지속적으로 생산할 수 있었다.

문 헌

- Matthysse AG, Holmes KV, Gurlits HG. 1981. Elaboration of cellulose fibrils by *Agrobacterium tumefaciens* during attachment to carrot cell. *J Bacteriol* 145: 583-595
- Robert EC, Steven MA. 1991. Biogenesis of bacterial cellulose. *Microbiol* 17: 435-447
- Ko JY, Shin KS, Yoon BD, Choi WY. 2000. Isolation and identification of *Acetobacter xylinum* GS11 producing cellulose. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 28: 139-146.
- Cha YJ, Park KJ, Kim DK, Chun HS, Lee BK, Kim KH, Lee SK, Kim SJ. 1994. Isolation and characterization of cellulose producing *Acetobacter xylinum* KI strain. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 22: 571-576.
- Ko JY, Shin KS, Lee JS, Choi WY. 2002. Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* GS11. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 30: 57-62.
- Lee HC, Zhao X. 1996. The optimal medium composition for the production of microbial cellulose by *Acetobacter xylinum*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 11: 550-556.
- Benziman M, Haigler CH, Brown Jr RM, White AR, Cooper KM. 1980. Cellulose biogenesis: polymerization and crystallization are coupled processes in *Acetobacter xylinum*. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 6678-6682.
- Chung Y, Shyu Y. 1999. The effect of pH, salt, heating and freezing on the physical properties of bacterial cellulose-nata. *International J Food Sci Technol* 34: 23-26.
- Embuscado ME, Marks JS, BeMiller JN. 1994. Bacterial cellulose. II. Optimization of cellulose production by *Acetobacter xylinum* through response surface methodology. *Food Hydrocoll* 8: 419-430.
- 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.
- Cho SH, Lee JY, Choi YS, Choi KH. 2002. Dietary effects of fiber produced from *Gluconacetobacter hansenii* on digestive tract and lipid metabolism in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 802-807.
- Sutherland IW. 1998. Novel and established applications of microbial polysaccharides. *Tibtech* 16: 41-46.
- Chung BW, Kim CY, Kang SK, Park BN. 1998. Characteristics of Korean traditional paper containing bacterial cellulose. *The Research of Industrial Technology Institute, Chonbuk National University* 29: 47-51.
- Klemm D, Schumann D, Uthardt U, Marsch S. 2001. Bacterial synthesized cellulose-artificial blood vessels for microsurgery. *Prog Polym Sci* 26: 1561-1603.
- Brown AJ. 1886. An acetic ferment which forms cellulose. *J Chem Soc* 49: 432-439.
- Bae SO, Sugano Y, Ohi K, Shoda M. 2004. Features of bacterial cellulose synthesis in a mutant generated by disruption of the diguanylate cyclase 1 gene of *Acetobacter xylinum* BPR 2001. *Apple Microbiol Biotechnol* 65: 315-322.
- Krystynowicz A, Czaja W, Wiktorowska-Jeziarska A, Goncalves-Miskiewicz M, Turkiewicz M, Bielecki S. 2002. Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. *J Ind Microbiol Biotechnol* 29: 189-195
- Greenwalt CJ, Ledford RA, Steinkraus KH. 1998. Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea kombucha. *Lebensm-Wiss u-Technol* 31: 291-296.
- Teoh AL, Heard C, Cox J. 2004. Yeast ecology of kombucha fermentation. *Int J Food Microbiol* 95: 119-126.
- Pandey LK, Saxena C, Dubey V. 2004. Studies on pervaporative characteristics of bacterial cellulose membrane. *Sep Pur Technol* 42: 213-218.
- Malbasa RV, Loncar ES, Kolarov LJ. 2001. Sucrose and in-

- ulin balance during tea fungus fermentation. *Roum Biotechnol Lett* 7: 573-576.
22. Nakagaito AN, Iwamoto S, Yano H. 2005. Bacterial cellulose: the ultimate nano-scalar cellulose morphology for the production of high-strength composites. *Appl Phys A* 80: 93-97.
 23. Sony corp. 1994. Acoustic Diaphragm and its production. *Japan Patent* 1993082107.
 24. Agency of Ind Science & Technol, Ajinomoto coinc, Sony corp. 1987. Bacterial cellulose-containing molding material having high mechanical strength. *Japan Patent* 1986085021.
 25. Fontana JD, De Souza AM, Fontana CK, Torriani IL, Moresch JC, Gallotti BJ. 1990. *Acetobacter* cellulose pellicle as a temporary skin substitute. *Appl Biochem Biotechnol* 24: 253-264.
 26. Backdahl H, Helenius G, Bodin A, Nannmark U, Johansson BR, Risberg B, Gatenholm P. 2006. Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. *Biomaterials* 27: 2141-2149.
 27. TED Case Studies. 2002. Nata de coco boom and the Philippines. BPI report. Philippines.
 28. Pszczola DE. 1997. High technology taking ingredients to a new level. *Food Technol* 51: 79-80.
 29. Choi MA, Choi KH, Kim JO. 1996. Microflora occurring in the fermentation by tea fungus. *Korean J Life Science* 6: 56-65.
 30. Choi MA, Kim JO, Choi KH. 1996. Effects of saccharides and incubation temperature on pH and total acidity of fermented black tea with tea fungus. *Korean J Food Sci Technol* 28: 405-410.
 31. Lee SP, Kim CS. 2000. Characterization of kombucha beverages fermented with various teas and tea fungus. *Korean J Food Sci Nutr* 5: 165-169.
 32. Lee OS, Jang SY, Jeong YJ. 2002. Culture conditions for the production of bacterial cellulose with *Gluconacetobacter persimmonis* KJ145. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 572-577.
 33. Kojima Y, Seto A, Tonouchi N, Tauchida T, Yoshinaga F. 1997. High rate production of bacterial cellulose in static culture strain. *Biosci Biotech Biochem* 61: 1585-1586.
 34. Ishikawa A, Matsuoka M, Tsuchida T, Yoshinaga F. 1995. Increase in cellulose production by sulfaguanidine-resistant mutants derived from *Acetobacter xylinum* subsp. *sacrofermentans*. *Biosci Biotech Biochem* 59: 2259-2262.
 35. 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.
 36. Toda K, Asakura T, Fukaya M, Entani E, Kawamura Y. 1997. Cellulose production by acetic acid-resistant *Acetobacter xylinum*. *J Ferment Bioeng* 84: 228-231.
 37. Park SH, Yang YK, Hang W, Lee CS, Pyun YR. 1997. Microbial cellulose fermentation by *Acetobacter xylinum* BRC5. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 598-605.
 38. Park ST, Song TS, Kim YM. 1999. Effect of gluconic acid on the production of cellulose in *Acetobacter xylinum* BRC5. *Korean J Microbiol Biotechnol* 9: 683-686.
 39. Ko JY, Shin KS, Yoon BD, Choi WY. 2000. Isolation and identification of *Acetobacter xylinum* CS11 producing cellulose. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 28: 139-146.
 40. Jang SY, Jeong YJ. 2005. Effect of lactate and corn steep liquor on the production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter persimmonis* KJ145^T. *Food Sci Biotechnol* 14: 561-565.
 41. 통계청. 2005. 감귤/시도별 생산량 통계자료.
 42. Chung SK, Kim SH, Choi YH, Song EY, Kim SH. 2000. Status of citrus fruit production and view of utilization in Cheju. *Food Industry and Nutrition* 5: 42-52.
 43. Lee Y, Howard LR, Villalon B. 1995. Flavonoids and antioxidant activity of fresh peppers (*Capsicum annuum*) cultivars. *J Food Sci* 60: 473-476.
 44. Kana I, Tojiro T, Yoko T, Nobuji N, Junji T. 1995. Antioxidative activity of quercetin and quercetin monoglucosides in solution and phospholipid bilayers. *Bioch Biophys Acta* 1234: 99-104.
 45. Marie Y, Jole L, Marie C, Canivenc L, Patrick R, Marc S. 1995. Heterogenous effects of natural flavonoids on monooxygenase activities in human and rat liver microsomes. *Toxicol Appl Pharmacol* 130: 73-78.
 46. Son HS, Kim HS, Kwon TB, Ju JS. 1992. Isolation purification and hypotensive effects of bioflavonoids in citrus sinensis. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 136-142.
 47. Bok SH, Lee SH, Park YB, Bae KH, Son KH, Jeong TS, Choi MS. 1999. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl CoA reductase and acyl CoA:cholesterol transferase are lower in rat fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *J Nutr* 129: 1182-1185.
 48. Park GS, An SH, Choi KH, Jeong JS, Park CS, Choi MA. 2000. Preparation of the functional beverages by fermentation and its sensory characteristics. *Korean J Soc Food Sci* 16: 663-669.
 49. Koh JB. 2000. Effect of tea fungus / kombucha beverage on serum and liver lipids metabolism in rats. *Korean J Nutrition* 33: 497-501.
 50. Koh JB, Choi MA. 1999. Effect of tea fungus / kombucha beverage on lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic male rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 613-618.
 51. Yang JO, Yoo CJ, Kim JO, Che ME. 1999. Utilization fermented tea-fungus beverage for the sports drink. *Sociol Sport J* 38: 277-293.
 52. Yang JO, Kim JO, Choi MA. 1997. The effects of consumption of tea fungus drink on the human blood composition. *Sociol Sport J* 36: 1234-1242.
 53. Choi KH, Jeong JS, Moon CH, Kim ML. 2004. Optimization of culture condition of *Gluconacetobacter hansenii* TF-2 for cellulose gel fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 176-181.
 54. Choi KH, Jeong JS, Moon CH, Kim ML. 2004. Effect of carbon source supplement on the gel production from citrus juice by *Gluconacetobacter hansenii* TL-2C. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 170-175.
 55. Park EJ. 2002. Isolation of pellicle producing bacterium in fermentation system by tea fungus and establishment of the optimum medium composition for gel production. *MS Thesis*. Catholic University of Daegu.
 56. AOAC. 1980. *Official Methods of Analysis*. 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. p 180.
 57. Kim ML, Choi KH. 2005. Sensory characteristics of citrus vinegar fermented by *Gluconacetobacter hansenii* CV1. *Korean J Food & Cookery Science* 21: 243-249.
 58. Naritomi T, Kouda T, Yano H, Uoshinaga F. 1998. Effect of ethanol on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. *J Ferment Bioeng* 85: 598-602.
 59. Lee OS, Jang SY, Jeong YJ. 2003. Effect of ethanol on the production of cellulose and acetic acid by *Gluconacetobacter persimmonensis* KJ145. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 181-184.
 60. Son HJ, Lee OM, Kim GK, Park YK, Lee SJ. 2000. Charac-

- teristics of cellulose production by *Acetobacter* sp. A9 in static culture. *Korean J Biotechnol Bioeng* 15: 573-577.
61. Krystynowicz A, Czaja W, Wiktorowska-Jezielerska A, Goncalves-Miskiewicz M, Turkiewicz M, Bielecki S. 2002. Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. *J Ind Microbiol Biotechnol* 29: 189-195.
62. Jia SR, Ou HY, Chen GB, Choi DB, Cho KA, Mitsuyasu O, Cha WS. 2004. Cellulose production from *Gluconobacter oxydans* TQ-B2. *Biotechnol Bioprocess Engineering* 9: 166-170.
63. Kim KH. 2002. Pellicle properties biosynthesized tea fungus fermentation system. *PhD Dissertation*. Catholic University of Daegu.

(2007년 7월 12일 접수; 2007년 10월 4일 채택)