



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0088492
(43) 공개일자 2016년07월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 19/04 (2006.01) C08L 1/02 (2006.01)
C12P 1/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12P 19/04 (2013.01)
C08L 1/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0007464
(22) 출원일자 2015년01월15일
심사청구일자 2015년01월15일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)
(72) 발명자
김창균
서울특별시 양천구 목동서로 70 목동2단지아파트 210-503
조이현
대전광역시 유성구 송강동 1 ~176
(74) 대리인
김윤배

전체 청구항 수 : 총 9 항

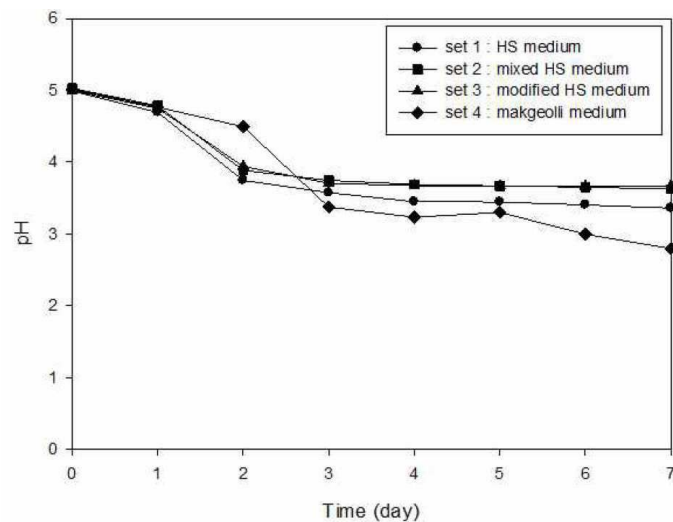
(54) 발명의 명칭 막걸리 주박을 이용한 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법 및 이에 의해 제조된 박테리아 셀룰로오스

(57) 요약

본 발명은 막걸리 주박 회석액, 탄소원 및 질소원이 포함된 배양 배지에 박테리아 셀룰로오스 생성능을 가진 박테리아를 접종하는 단계, 접종 후 호기성 조건에서 배양하는 단계 및 배양액으로부터 박테리아 셀룰로오스를 수득하는 단계를 포함하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법 및 이에 의해 제조된 박테리아 셀룰로오스에 관한 것이다.

본 발명에 따르면 폐자원인 막걸리 주박의 재이용률을 높이고 박테리아 셀룰로오스 제조비용을 절감할 수 있는 유리한 효과가 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12P 1/04 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

막걸리 주박 회석액, 탄소원 및 질소원이 포함된 배양 배지에 박테리아 셀룰로오스 생성능을 가진 박테리아를 접종하는 단계;

접종 후 호기성 조건에서 배양하는 단계; 및

배양액으로부터 박테리아 셀룰로오스를 수득하는 단계를 포함하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 막걸리 주박 회석액의 농도는 100 내지 400 g/L인 것을 특징으로 하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 막걸리 주박 회석액의 농도는 150 내지 250 g/L인 것을 특징으로 하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 박테리아 셀룰로오스 생성능을 가진 박테리아는 초산균, 진균, *아세트박터*(*Acetobacter*)속, *아그로박테리아*(*Agrobacteria*)속, *리조비아*(*Rhizobia*)속, *슈도모나스*(*Pseudomonas*)속 및 *살시나*(*Sarcina*)속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 1종 이상의 박테리아인 것을 특징으로 하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 박테리아 셀룰로오스 생성능을 가진 박테리아는 *글루콘아세트박터 실리움*인 것을 특징으로 하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 탄소원은 에탄올, 글루코오스, 수크로오스, 말토오스, 프룩토오스, 락토오스, 자일로오스, 갈락토오스, 아라비노오스, 글리세롤, 이들 성분이 포함되어 있는 전분, 전분 가수분해물 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택된 것인 것을 특징으로 하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 질소원은 효모 추출물, 소이톤(soytone), 펩톤(peptone), 트립톤(tryptone), 맥아 추출물, 콩 분말, 콩 비지 분말, 청국장 분말, 된장 분말, 암모늄염, 질산염, 우레아 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택된 것인 것을 특징으로 하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 배양 배지의 pH는 3.5 내지 6인 것을 특징으로 하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 박테리아 셀룰로오스.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 셀룰로오스의 제조 방법에 관한 것으로 더 상세하게는 박테리아를 이용한 셀룰로오스의 제조 방법 및 이에 의해 제조된 박테리아 셀룰로오스에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 셀룰로오스(cellulose)는 글루코오스가 β -1,4 결합에 의하여 이루어진 지구상에서 가장 풍부한 고분자 다당류이며, 공업적으로 중요한 자원이다. 셀룰로오스는 주로 고등식물의 주요 구성성분으로서 현재 제지, 펄프 및 방직산업을 비롯한 다양한 분야에서 사용되고 있다. 오늘날 셀룰로오스 소비의 증가로 많은 원료가 필요하지만, 그에 따라 산림이 파괴되고 이산화탄소 저장 능력이 저하되어 지구온난화를 가속시키는 문제가 발생되고 있다. 이 문제를 해결하기 위해 최근 미생물을 이용하여 셀룰로오스를 합성하는 연구가 진행되고 있다.

[0003] 미생물, 특히 박테리아에 의해 생성된 셀룰로오스는 높은 기계적 강도와 극도로 미세하고 순수한 셀룰로오스로 구성된 3차원 망상구조를 가진다. 또한, 일반적인 식물 섬유는 경우 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌 등으로 이루어져 있지만, 박테리아 셀룰로오스는 순수 셀룰로오스로만으로 이루어져 별도의 제거 과정이 필요없는 특징을 가진다. 박테리아 셀룰로오스는 생체적합성과 기계적성질이 우수하며, 밀도가 낮아서 인공피부, 인공연골, 창상보호제, 인공혈관, 화상치료제 등에 응용할 수 있는 첨단 소재로서 Biofill[®], Bioprocess[®]와 Gengifiles[®] 등은 실제로 의료용 재료로서 활용하고 있다. 또한, 이 밖에도 미용 재료, 식용 재료 및 전기·전자 재료 등 광범위한 분야에 적용될 수 있다.

[0004] 그러나 이 같은 박테리아 셀룰로오스의 우수한 특성에도 불구하고 산업적으로 이용하기 위해 해결해야 할 문제가 있다. 현재까지 박테리아를 이용한 셀룰로오스 생산은 대부분 정지배양으로 고순도의 셀룰로오스를 얻는다. 정지배양(Stationary culture)을 이용할 경우 배양시간은 1주일 이상이 소요되고 많은 노동력이 필요하므로 생산성이 많이 떨어진다. 또한 값비싼 원료로 인해 생산 단가가 높다. 이 문제를 해결하기 위해 값싼 대체 원료와 셀룰로오스 생산량을 증대시키는 방법을 찾는 것이 중요하다.

[0005] 이를 위해 선행문헌 1은 송이 분말을 이용한 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법에 관한 것으로 탄소원, 질소원 및 송이 분말을 함유하는 박테리아 셀룰로오스 제조용 배지에 박테리아 셀룰로오스 생성능을 가진 박테리아를 접종 후 호기적 조건에서 배양하여 수득하는 내용이 기재되어 있다.

[0006] 또한 선행문헌 2는 감귤을 이용한 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법에 관한 것으로 제조된 박테리아 셀룰로오스는 창상치유용 드레싱 제제로 제공할 수 있다고 기재되어 있다.

[0007] 한편, 쌀로 술을 빚은 뒤 술을 짜내고 남은 찌꺼기를 일컫는 막걸리 주박(酒粕)은 지게미라고도 하며 당분, 단백질, 섬유소, 무기질, 비타민 그리고 알코올과 유기산이 다량 함유하고 있는데 이러한 물질들은 미생물의 좋은

영양원이 되어 미생물 증식 배지로서 충분히 이용가능하다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 특허문헌 1: 대한민국공개특허공보 제10-2014-0121732호
(특허문헌 0002) 특허문헌 2: 대한민국공개특허공보 제10-2014-0034630호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명은 막걸리 제조 후 생성되는 주박을 이용하여 박테리아 셀룰로오스를 제조하는 방법 및 이에 의해 제조된 박테리아 셀룰로오스를 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명은 막걸리 주박 회석액, 탄소원 및 질소원이 포함된 배양 배지에 박테리아 셀룰로오스 생성능을 가진 박테리아를 접종하는 단계;
- [0011] 접종 후 호기성 조건에서 배양하는 단계; 및
- [0012] 배양액으로부터 박테리아 셀룰로오스를 수득하는 단계를 포함하는 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법을 제공한다.
- [0013] 상기 막걸리 주박 회석액의 농도는 100 내지 400 g/L이고, 바람직하게는 150 내지 250 g/L이고 더욱 바람직하게는 200 g/L일 수 있다.
- [0014] 상기 박테리아 셀룰로오스 생성능을 가진 박테리아는 초산균, 진균, *아세트박터*(*Acetobacter*)속, *아그로박테리아*(*Agrobacteria*)속, *리조비아*(*Rhizobia*)속, *슈도모나스*(*Pseudomonas*)속 및 *살시나*(*Sarcina*)속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 1종 이상의 박테리아일 수 있으며 다만 이에 의해 한정되지 않는다. 구체적으로 *아세트박터*속 *글루콘아세트박터 실리움*일 수 있다.
- [0015] 상기 탄소원은 에탄올, 글루코오스, 수크로오스, 말토오스, 프룩토오스, 락토오스, 자일로오스, 갈락토오스, 아라비노오스, 글리세롤, 이들 성분이 포함되어 있는 전분, 전분 가수분해물 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택될 수 있고 이에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0016] 상기 질소원은 효모 추출물, 소이톤(soytone), 펩톤(peptone), 트립톤(tryptone), 맥아 추출물, 콩 분말, 콩 비지 분말, 청국장 분말, 된장 분말, 암모늄염, 질산염, 우레아 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택수 있고 이에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0017] 상기 배양 배지의 pH는 3.5 내지 6이고 바람직하게는 5일 수 있다.
- [0018] 본 발명은 또한 상기 방법으로 제조된 박테리아 셀룰로오스를 제공한다.

발명의 효과

- [0019] 본 발명의 제조 방법에 따르면, 폐기되는 막걸리 주박을 이용하여 폐자원의 이용률을 높이고 박테리아 셀룰로오스 제조비용을 절감할 수 있는 유리한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 각 배지의 pH를 나타낸 그래프이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 각 배지의 미생물의 군체(biomass) 변화량을 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 각 배지의 글루코오스 농도(glucose concentration) 변화를 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 각 배지의 셀룰로오스 생산량(cellulose production)을 나타낸 그래프이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 각 박테리아 셀룰로오스의 X-선 회절 분석 결과 그래프이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 각 박테리아 셀룰로오스의 SEM 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 본 발명은 막걸리 주박을 이용한 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법에 관한 것이다. 값싼 원료와 셀룰로오스 생산량을 증대시키는 방법을 찾기 위하여, 본 발명의 발명자는 막걸리 주박 회석액을 이용한 최적의 방법을 연구하였다.
- [0022] 본 발명은 막걸리 주박 회석액, 탄소원 및 질소원이 포함된 배양 배지를 이용하여 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법을 제공한다. 막걸리 주박에는 당분, 단백질, 섬유소, 무기질, 비타민 그리고 알코올과 유기산이 다량 함유하고 있어 미생물의 좋은 영양원이 되어 미생물 증식 배지로서 충분히 이용가능하다.
- [0023] 막걸리 주박 회석액의 농도는 100 내지 400 g/L이고, 바람직하게는 150 내지 250 g/L이고 더욱 바람직하게는 200 g/L일 수 있다. HS 배지에서 글루코오스 농도 변화에 따른 미생물 성장 및 박테리아 셀룰로오스의 생산에 미치는 영향에 대하여 실험을 한 결과, 글루코오스의 농도가 높을수록 박테리아 셀룰로오스의 생산량이 증가하지만 15 g/L 이상에서는 큰 차이를 나타내지 않는다고 보고되었다. 막걸리 주박 20 g을 증류수 100 mL에 혼합하였을 때 글루코오스의 농도가 10 g/L가 되므로 따라서 막걸리 주박 회석액의 농도는 100 내지 400 g/L이 적절하다(조이현, 막걸리 주박을 이용한 박테리아 셀룰로오스 생성 효율 평가, 2014년, 페이지 32, 43 참고).
- [0024] 상기 박테리아 셀룰로오스 생성능을 가진 박테리아는 초산균, 진균, *아세트박터*(*Acetobacter*)속, *아그로박테리아*(*Agrobacteria*)속, *리조비아*(*Rhizobia*)속, *슈도모나스*(*Pseudomonas*)속 및 *살시나*(*Sarcina*)속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 1종 이상의 박테리아일 수 있으며 다만 이에 의해 한정되지 않는다. 구체적으로 *글루콘아세트박터 실리움*(*Gluconacetobacter xylinum*)일 수 있다.
- [0025] 상기 탄소원은 에탄올, 글루코오스, 수크로오스, 말토오스, 프룩토오스, 락토오스, 자일로오스, 갈락토오스, 아라비노오스, 글리세롤, 이들 성분이 포함되어 있는 전분, 전분 가수분해물 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택될 수 있고 이에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0026] 상기 질소원은 효모 추출물, 소이톤(soytone), 펩톤(peptone), 트립톤(tryptone), 맥아 추출물, 콩 분말, 콩 비지 분말, 청국장 분말, 된장 분말, 암모늄염, 질산염, 우레아 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택수 있고 이에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 상기 배양 배지의 pH는 3.5 내지 6이고 바람직하게는 5일 수 있다. 초기 pH에 따른 미생물 성장 및 박테리아 셀룰로오스의 생산에 미치는 영향에 대하여 실험을 한 결과, 배양액의 초기 pH를 5.0으로 조정하였을 때, 셀룰로오스 생산량이 가장 높았으며 7일 후 미생물 균체량은 0.65 g/L, 셀룰로오스 생산량은 0.48 g/L이라고 보고되었다. 또한 pH 4.0과 pH 3.5에서도 미생물 증식과 셀룰로오스 생산이 보고되었다. 하지만 pH 3.0 이하에서는 미생물이 증식하지 않았으며 박테리아 셀룰로오스도 생성되지 않는다(조이현, 막걸리 주박을 이용한 박테리아 셀룰로오스 생성 효율 평가, 2014년, 페이지 28 참고). 따라서 배양 배지의 pH는 3.5 내지 6이고 바람직하게는 5일 수 있다.
- [0028] 본 발명은 또한 상기 방법으로 제조된 박테리아 셀룰로오스를 제공한다. 본 발명의 박테리아 셀룰로오스는 cellulose I의 형태와 비슷하고, 초미세 나노섬유로 구성된 그물 모양의 구조이다. 즉 막걸리 주박 회석액이 형성된 박테리아 셀룰로오스의 형태에 큰 영향을 미치지 않는다.

[0029] 이하에서는 본 발명을 실시예, 확인 및 평가예를 들어 상세하게 설명한다. 다만, 본 발명의 권리는 하기에서 설명된 예들에 한정되지 않고 청구범위에 기재된 바에 의해 정의되며, 본 발명의 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 청구범위에 기재된 권리범위 내에서 다양한 변형과 개작을 할 수 있다는 것은 자명하다.

[0030] 실시예

[0031] 1. 박테리아 셀룰로오스 생성능을 가진 박테리아 준비

[0032] 본 실시예에서 사용한 셀룰로오스 생산 미생물 균주는 ATCC(American Type Culture Collection)사를 통해 글루콘아세트박터 자일너스(*Gluconacetobacter xylinus*, ATCC[®], 700178TM)를 구매하여 사용하였다. 분양받은 균주의 배양 방법(배지선택, 배양조건 등)은 균주 구매시 제공된 절차에 따라 진행하였다. YGC medium을 사용하였으며, 조성비는 글루코오스 50 g/L, 효모 추출물 5 g/L 및 CaCO₃ 12.5 g/L이었다. 배양에는 300 mL 용량의 삼각플라스크(동성과학)를 사용하였으며, 배지의 부피는 100 mL로 하였다. *Gluconacetobacter xylinus* 종은 호기성 미생물로 생장에 필요한 산소를 공급하기 위해 삼각플라스크 입구를 실리스토퍼로 막아 호기성 조건을 유지시켜 주었다. pH는 5.0로 조정하였고, 온도 30 °C에서 3일 동안 정치배양(JEIO TECH, IL-21)하였다. 3일 동안 배양한 균주 1 mL와 글리세롤 0.5 mL를 혼합하여 -70 °C에서 냉동보관(Ilshin, DF8514) 하였다.

[0033] 2. 막걸리 주박 회석액 준비

[0034] 인천의 ○탁주 공장에서 당일 막걸리를 제조하고 남은 주박을 제공받아서 실험을 하였다. 인천막걸리는 백미 90%, 전분당 10%를 100 °C이상의 수증기로 분해시키고, 효모와 물을 섞어 28-29 °C에서 발효시킨 후에 걸러서 만들어 진다. 이 때 거르고 남은 막걸리 주박을 증류수에 일정 비율로 희석하여 사용하였다. 막걸리 주박 혼합액을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 후 상등액을 회수하여 GF/C 여지로 여과하였다.

[0035] 3. 배지 준비

[0036] 막걸리 주박을 이용한 박테리아 셀룰로오스 생산 효율을 비교하기 위하여 회분식 실험을 진행하였다. 박테리아 셀룰로오스 생산을 위한 가장 기본적인 배지인 HS medium을 사용한 실험을 set 1, HS medium과 Modified HS medium을 50%씩 혼합하여 만든 배지를 사용한 실험을 set 2, 막걸리 회석액에 미생물이 성장 할 수 있는 영양분을 넣어 만든 배지를 사용한 실험을 set 3, 그리고 오직 막걸리 회석액만 사용한 실험을 set 4로 정하여 진행하였다. 각 set의 배지의 조성을 하기 표 1에 정리하였다.

표 1

실험군	사용배지	배지 조성
Set 1	HS medium	글루코오스 10g/L, 펩톤 5g/L, 효모 추출물 5g/L, Na ₂ HPO ₄ 2.7g/L, 유기산 1.15g/L, 막걸리 주박 회석액 1L
Set 2	Mixed medium	HS medium 50%(set 1) + modified HS medium 50%(set 3)
Set 3	Modified medium	펩톤 5g/L, 효모 추출물 5g/L, Na ₂ HPO ₄ 2.7g/L, 유기산 1.15g/L, 막걸리 주박 회석액 1L
Set 4	막걸리 medium	막걸리 회석액 1L

[0038] 4. 박테리아 셀룰로오스의 제조

[0039] 박테리아 셀룰로오스 생성 실험시 균주 접종은 상기 1에서 준비한 배양액 2 mL를 취해 12,000 rpm에서 5분간 원심분리 후 미생물이 농축되어 있는 침전물을 각 set의 배지에 접종하여 실험을 진행하였다. 실험에는 300 mL 플라스크를 사용하였으며, 각 배지의 부피는 50 mL로 하였다. 각 set의 배지는 pH 5로 맞추고, 120 °C에서 15분간 autoclave(SANYO, MLS-3780)로 멸균시켜 사용하였다. 삼각플라스크 입구는 실리스토퍼(환경테크, P-32)로 막아 호기성 조건을 유지시켰다. 삼각플라스크에 균주를 접종하고, 30 °C에서 7일 동안 incubator(Vision, VS-1203P1/P5)에서 정치배양 하였다. 실험이 진행되는 동안 셀룰로오스 막막이 공기와 배지가 만나는 표면에 형성

되었다.

[0040] **확인예**

[0041] 1. X-선 회절 분석(XRD) 결과

[0042] 실험 종료 후 박테리아 셀룰로오스의 결정화 여부를 알아보기 위해 X-선회절분석(XRD)을 실시하였다.

[0043] 배지 표면에 형성된 박막을 1N NaOH에서 2시간 동안 90 °C에서 중탕시켜 불순물을 제거하였다. 그 후 pH 7이 될 때까지 증류수로 충분히 씻은 후 50 °C에서 24시간 건조시킨 후 분석을 의뢰하였다. 각 실험에 대한 XRD 분석 결과를 도 5에 나타내었다.

[0044] 생성된 박테리아 셀룰로오스의 주요 피크 값은 14.4° , 22.8° 이었다. 모든 실험군의 XRD 그래프가 비슷한 것으로 보아, 배지의 성분은 박테리아 셀룰로오스 형태에 큰 영향을 주지 않다는 것으로 판단된다.

[0045] 2. SEM(Scanning Electron Microscope)분석 결과

[0046] 막걸리 주박 희석액을 첨가한 배지에서 생성된 박테리아 셀룰로오스의 형태학적 특징을 비교해 보았다.

[0047] 배지 표면에서 형성된 박막은 1N NaOH에서 2시간 동안 90 °C에서 중탕시켜 불순물을 제거하였다. 그 후 pH 7이 될 때까지 증류수로 충분히 씻은 후 50 °C에서 24시간 건조시킨 후 주사전자현미경(SEM)으로 촬영하였다.

[0048] SEM 분석 결과를 도 6에 나타내었다. 도 6에 나타난 바와 같이 성분이 다른 배지로부터 생성된 박테리아 셀룰로오스의 SEM 사진은 유사한 것을 알 수 있다. 박테리아 셀룰로오스는 이용된 배지가 다르더라도 모두 초미세 나노섬유로 구성된 그물 모양의 구조임을 알 수 있다. 즉 막걸리 주박 희석액이 박테리아 셀룰로오스의 형태에 큰 영향을 미치지 않다는 것을 알 수 있다.

[0049] **평가예**

[0050] 시간에 따른 pH 변화, 미생물 균체변화량 및 글루코오스 농도 변화량을 알아보기 위하여 실험 조건 별로 24시간 간격으로 시료를 채취하여 배지 표면에 생성된 박테리아 셀룰로오스의 무게를 측정하였으며 그 결과를 도 1 내지 도 4에 도시하였다.

[0051] Set 1에서 글루코오스의 농도는 매우 빠르게 감소하였고, 4일 후에는 미량만 남아 있었다. 이는 탄소원인 글루코오스를 글루콘산으로 빠르게 전환하여 에너지를 얻었기 때문이다. 이는 다른 medium보다 HS medium의 pH가 상대적으로 낮게 유지되는 것을 통하여 확인할 수 있다.

[0052] Set 4는 막걸리 주박 희석액으로만 제조된 배지에서 배양된 것으로서, 탄소원인 글루코오스와 에탄올의 농도는 풍부하지만, 미생물의 성장을 도와주는 질소원과 무기염류의 농도가 적기 때문에, 미생물 균체량이 다른 실험군에 비하여 느리게 증가하였다. 그 결과 초기 2일 동안은 글루코오스의 소비와 pH 감소량이 매우 적었다. 하지만 3일 후부터 미생물의 균체량이 매우 크게 증가하였다. 그리고 상대적으로 적은 질소원과 무기염류 때문에 탄소원인 글루코오스와 에탄올을 글루콘산과 아세트산으로 전환하여 에너지를 얻은 것으로 예상된다. 그 결과 다른 실험군들에 비하여 pH가 매우 낮게 유지 되었다.

[0053] 탄소원인 글루코오스와 에탄올이 풍부하고, 질소원과 무기염류가 다량 포함되어 있는 set 2와 set 3에서 미생물 균체량이 가장 높게 측정되었다. 특히 탄소원이 가장 풍부한 set 3에서 가장 높았다. 또한 pH는 가장 높게 유지 되었다.

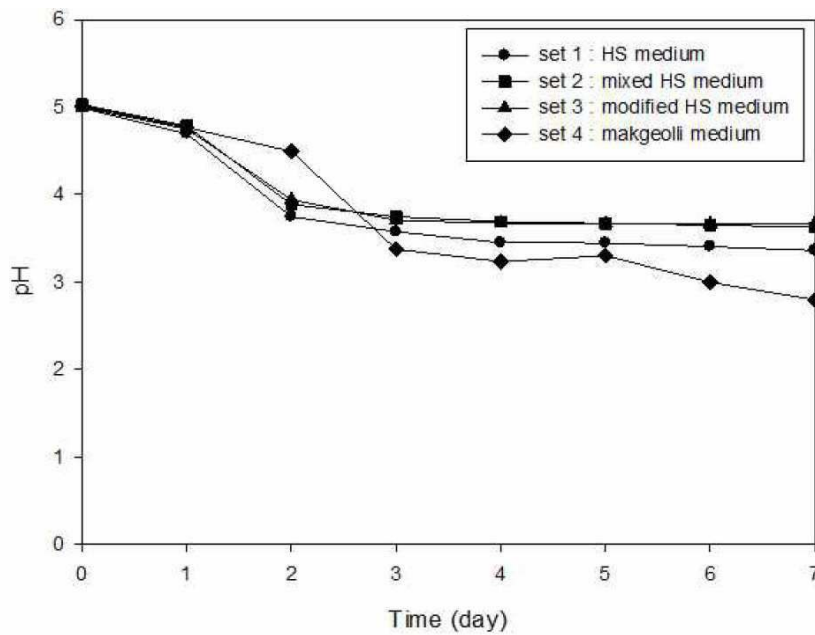
[0054] Set 3은 7일 동안 박테리아 셀룰로오스 생산량이 가장 높았다. 풍부한 질소원, 다량의 무기염류, 유기산, 에탄올이 포함되어 있기 때문으로 볼 수 있다. 실험기간 동안 박테리아 셀룰로오스 생산을 위한 적절한 pH가 유지 되었고, 미생물의 균체량 또한 매우 높았다. 초기에 박테리아 셀룰로오스의 생산속도가 set 2보다 느리지만 시간이 지나면서 점점 증가하였다. 도 3에 나타난 바와 같이, 글루코오스의 소비 속도가 set 1, set 2보다 느리다. 이는 에너지 공급을 위해 에탄올을 사용하기 때문에 더 적은 글루코오스를 소비하기 때문이다. 그 결과 더 많은 글루코오스를 박테리아 셀룰로오스 생산에 사용할 수 있어 생산량이 가장 높은 것을 알 수 있었다.

[0055] Set 2는 초기 5일 동안 셀룰로오스의 생산량이 가장 높았다. 앞선 실험에서 확인한 것처럼 배지에 포함된 에탄올이 적으면 초반에 박테리아 셀룰로오스가 많이 생성되었다. 하지만 시간이 지나면서 글루코오스를 모두 소비하게 되면 박테리아 셀룰로오스 생산도 중단되었다. 이를 통하여 배지에 포함된 에탄올의 농도를 변화시킨다면, 시간에 따른 박테리아 셀룰로오스 생산 효율을 증대시킬 수 있을 것으로 판단된다.

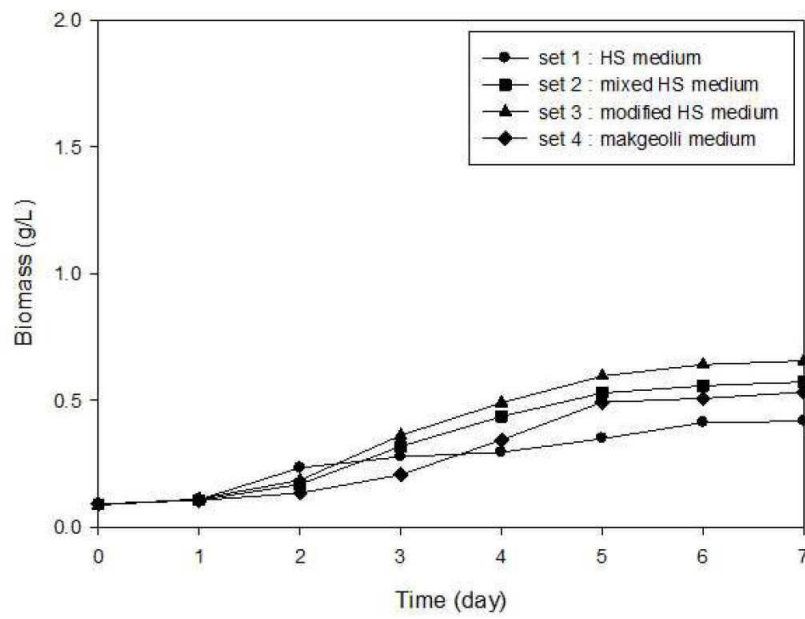
[0056] Set 4는 풍부한 탄소원에도 불구하고 박테리아 셀룰로오스 생산량이 낮았다. 이는 낮은 질소원과 무기염류 때문에 미생물 균체량이 매우 낮고, pH가 3이하로 낮게 유지되어 박테리아 셀룰로오스 생성 조건을 충족시키지 못하였기 때문인 것으로 보인다.

도면

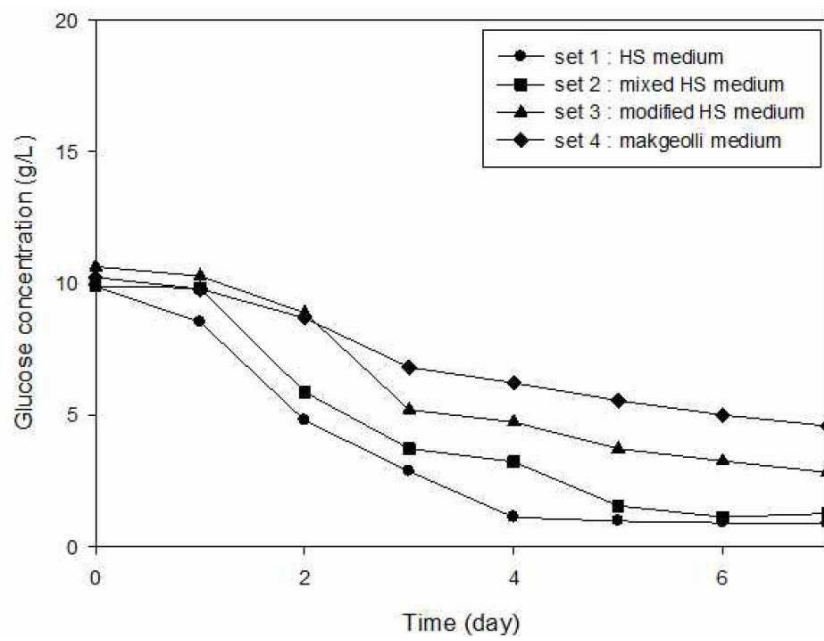
도면1



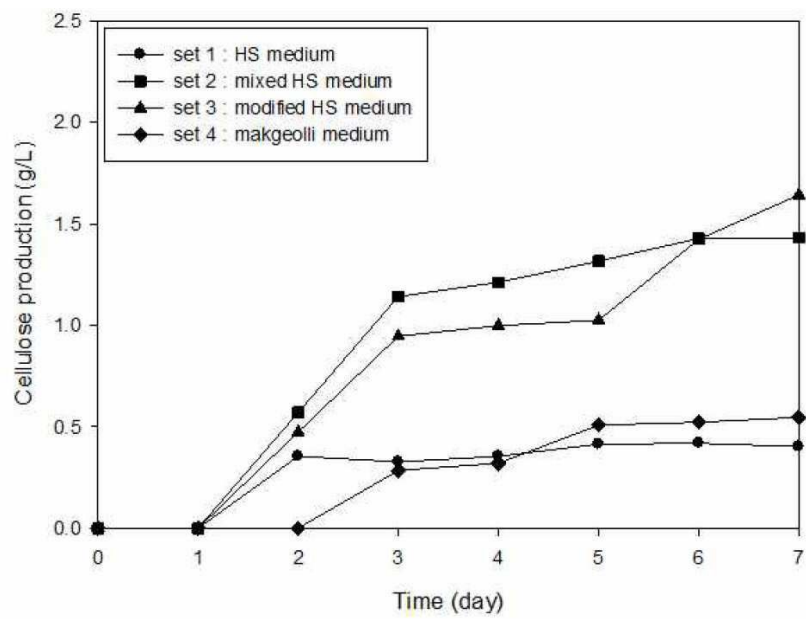
도면2



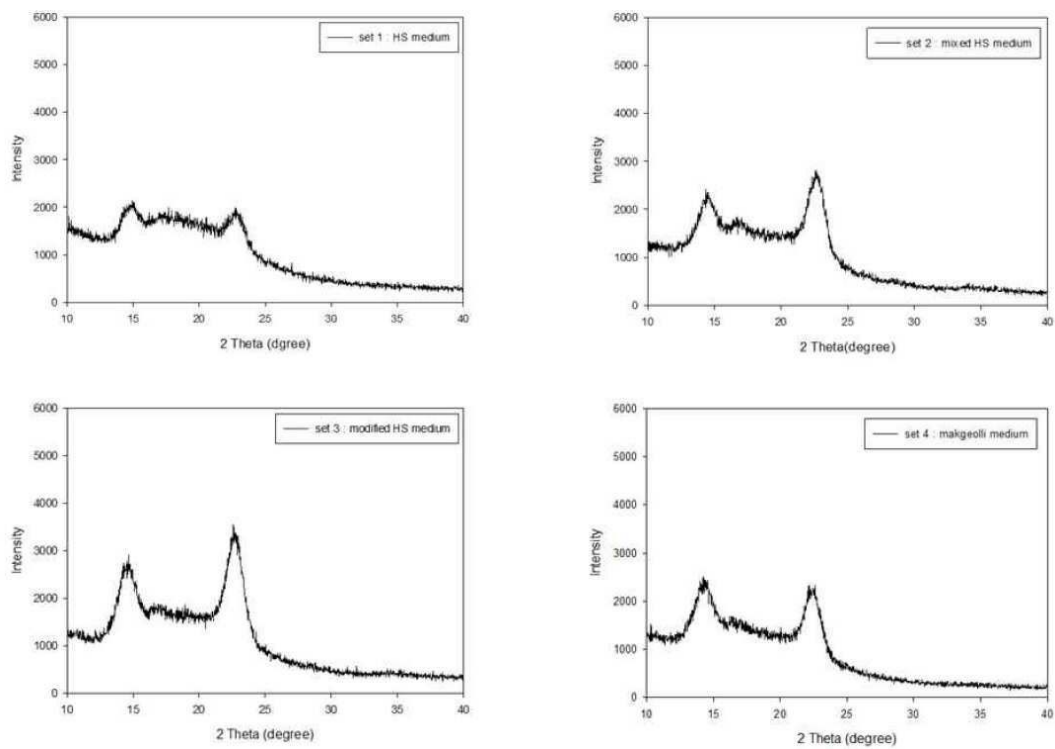
도면3



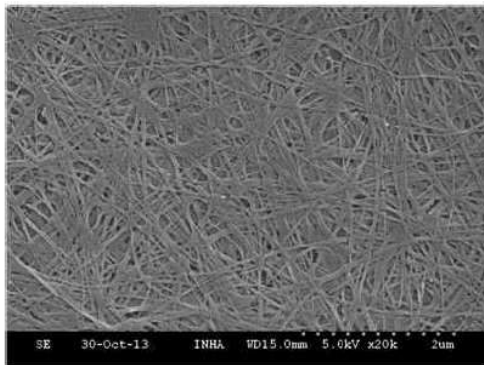
도면4



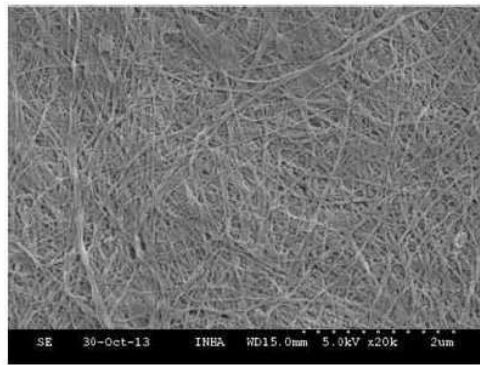
도면5



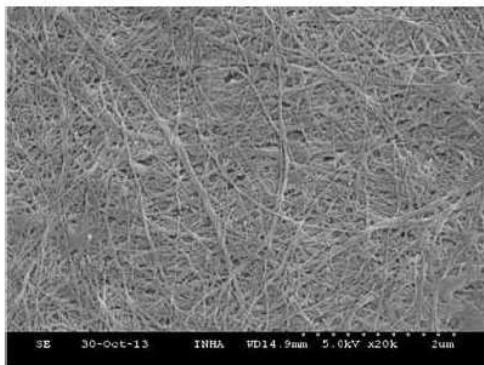
도면6



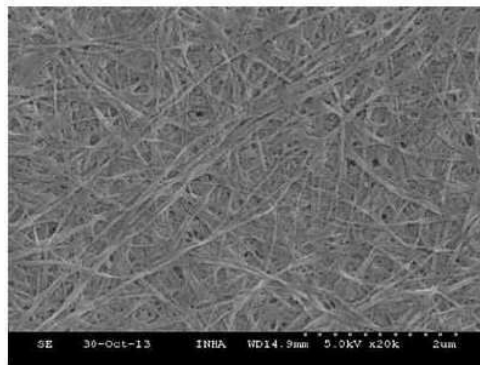
set 1



set 2



set 3



set 4