

발효시간, 교반속도 및 배지조성이 *Mucor rouxii* ATCC 24905의 성장 및 키토산 생성 특성에 미치는 영향

정경화 · 김휘동 · 조정상 · 허병기
인하대학교 화공 · 고분자 · 생물공학부

The Effect of Fermentation Time, Agitation Speed, and Medium Composition on the Characteristics of Growth and Chitosan Production of *Mucor rouxii* ATCC 24905

Kyung-Hwa Jung, Hui-Dong Kim, Kyung-Sang Cho and Byung-Ki Hur
School of Chemical, Polymer, and Biological Engineering, Inha University

Abstract

In the process of fermentation of *Mucor rouxii* ATCC 24905, the effects of fermentation time, agitation speed, initial glucose concentration and N/C (the weight ratio of nitrogen source to carbon source) on the various fermentation characteristics were investigated. The fermentation characteristics considered in this work were the weight ratio of DCW (dried cell wall) to DC (dried cell), the ratio of chitosan to DCW, the composition of glucosamine and N-acetylglucosamine, the degree of acetylation, $Y_{x/s}$ (dried cell yield), $Y_{w/s}$ (dried cell wall yield), and $Y_{p/s}$ (chitosan yield). The weight ratio of DCW to DC increased to 0.19 with fermentation time up to 36 hr. The ratio of chitosan to DCW also increased slightly to 0.06 up to 24 hr. The composition of glucosamine and N-acetylglucosamine was constant regardless of fermentation time. In the range from 150 rpm to 300 rpm, the agitation speed caused the increment of $Y_{x/s}$, $Y_{w/s}$ and $Y_{p/s}$. The weight ratio of DCW to DC remained 0.185 without the influence of agitation speed. The quantity of chitosan in DCW and that of glucosamine in the chitosan showed the rising trend while the quantity of N-acetylglucosamine in the chitosan exhibited the decreasing trend. The increase in initial glucose concentration induced the reduction of $Y_{x/s}$, $Y_{w/s}$ and $Y_{p/s}$. The weight ratio of DCW to DC was between 0.175 and 0.185 irrespective of initial glucose concentration. On the other hand, the ratio of chitosan to DCW rose to 0.43 with the increase in glucose concentration. In the range of lower than 1/8 of N/C, the concentrations of biomass and chitosan increased with N/C during fermentation whereas they were found to be unchanged in that of higher than 1/8.

Key words: degree of acetylation, fermentation characteristics, dried cell wall yield, agitation speed

서 론

키토산은 생분해성 고분자로 무독성이다. 셀룰로오즈와 같이 $\beta(1-4)$ -linked glycan이나 단량체가 glucosamine(2-amino-2-deoxy-D-glucose)이다. Rinaudo(1993)는 키토산의 화학적 반응특성에 관한 연구를 통하여 많은 금속이온과 복합체를 형성한다는 연구결과를 발표하였다. McGahren(1984)과 Bartinicki-Garcia와 Nickerson(1962)은 키토산의 생리학적 특성 연구를 통하여 키토산이 상처의 회복을 촉진시키고 혈

액내의 콜레스테롤 함량을 낮추며, 면역시스템을 자극하는 등 특이한 생물, 화학적 특성을 지니고 있음을 발표하였다. 이런 특성에 의하여 키토산은 환경, 화장품, 의약, 식품, 생물공학 및 농업 등에 널리 이용되고 있다. 현재 미국을 비롯한 몇 개 국가에서는 많은 량의 키토산을 갑각류 물고기의 폐기물로부터 생산하고 있다. Rane(1993)은 갑각류 물고기는 특수한 계절에만 공급되며, 생산지역이 제한되어 있고, 갑각류의 종류 및 성장기에 따라서 생성물이 불균일하고, 키토산 생산비용이 높으며, 키토산 생산 후에 배출되는 폐기물에 의한 환경오염 등 갑각류 물고기로부터 키토산을 생산하는데는 여러 문제점들이 있다고 보고하고 있다. 이러한 문제점으로 인하여 곤충 및 구조류로부터

Corresponding author: Byung-Ki Hur, School of Chemical, Polymer, and Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

키토산의 상당량을 생산하고 있으나 원료의 확보 및 키토산 생산의 전, 후 처리 문제 등 키토산 대량생산에는 한계성을 나타내고 있다. 이런 배경으로 인하여 키토산 생산의 시간적, 공간적 제약을 해소하고 균일한 제품을 대규모로 생산할 수 있는 기술의 필요성이 널리 인식되게 되었으며 그 방안 중의 하나가 White (1979)가 제시한 미생물 대량 배양에 의한 균일한 특성의 키토산 생산이다.

미생물에 의하여 생산되는 키토산은 주로 미생물의 벽을 구성하는 성분이다. 대부분의 미생물은 조성에는 차이가 있으나 키토산을 생산하고 있다. 미생물 중 키토산을 가장 많이 생산하는 미생물 중의 하나가 곰팡이 속의 *Mucor rouxii* 균종이다. Bartinicki-Garcia (1968)는 *Mucor rouxii* 균종에는 yeast형, hyphae형, sporangiophores형 및 spores형이 있다고 보고하고 있으며, 이 중 hyphae형의 *Mucor rouxii*가 키토산을 가장 많이 생산하는 것으로 연구 발표하였다. 미생물을 이용하여 키토산을 생산하는 지금까지의 연구는 *Mucor rouxii* 균체벽의 조성 규명에 관한 Bartinicki-Garcia(1968)의 연구, 배지 조성, 운전 조건 및 발효시간을 일정하게 고정시켰을 때 생성된 키토산의 아세틸레이션 정도(degree of acetylation) 규명에 대한 Arcidiacono(1992)의 연구, 특정 성분을 첨가했을 경우에 대한 키토산 생성량의 변화 경향 규명에 대한 Knorr (1986)의 연구, 그리고 YPG 배지에서 포도당의 농도 변화가 균체 생성에 미치는 영향 규명에 대한 Bartinicki-Garcia와 Nickerson(1962)의 연구 등이 주류를 이루고 있다. 본 연구는 발효시간, 회전속도, 당농도 변화가 hyphae형의 *Mucor rouxii* 발효에서 균체벽의 생성 조성, 키토산의 생성량, 아세틸레이션 정도에 미치는 영향을 규명하는 데 목적을 두었다.

재료 및 방법

균주

본 연구에서 사용한 균주는 *Mucor rouxii* ATCC 24905이다. 한 달에 한번씩 사면배지에서 계대 배양하여 균주의 활성을 유지하였다. 키토산 생산을 위한 접종용 균주는 사면배지에서 4°C로 냉장 보관된 균주를 YM 액체배지에 접종하여 27°C 180 rpm에서 12 시간 동안 진탕 배양한 액으로 하였으며 접종량은 발효배지의 5%(v/v)로 하였다.

발효 실험

본 연구에서는 NBS사 Model Bioflow II의 발효기

를 사용하여 실험을 수행하였다. 발효 온도는 30°C, 공기 주입량은 5% vvm으로 하였다. 본 연구는 발효 시간의 변화, 교반속도의 변화, 초기 당농도의 변화, 질소원과 탄소원의 비의 변화와 발효 특성치 사이의 함수관계 규명에 중점을 두었으며 기본배지는 YPG 배지로 하였다.

발효 시간에 따른 균체의 발효특성을 규명하기 위하여 발효 시작 후 12시간 간격으로 시료를 채취하여 발효시간에 따른 건조 균체량, 건조 균체 무게에 대한 건조 균체벽의 무게비, 건조 균체 무게에 대한 키토산 무게의 비, 건조 균체벽을 구성하고 있는 키토산의 무게 조성비, 키토산 내의 glucosamine과 N-acetylglucosamine(2-acetamino-2-deoxy-D-glucose)의 조성비 등의 변화를 규명하였다.

교반 속도의 영향을 규명하기 위하여 교반속도를 150, 180, 250, 300 rpm으로 변화시켜 발효실험을 수행한 후 교반속도와 건조 균체량, 건조 균체 무게에 대한 건조 균체벽의 무게비, 건조 균체 무게에 대한 키토산 무게의 비, 건조 균체벽을 구성하는 키토산의 무게 조성비 등과 사이의 함수관계를 분석하였다.

교반속도에 대한 실험결과를 근거로 하여 초기 당농도가 발효특성치에 미치는 영향을 규명하였다. 교반속도를 300 rpm으로, 총 발효 시간을 72시간으로 고정시킨 후 초기 당농도를 10, 20, 30, 40 및 50 g/L로 변화시켜 가면서 발효실험을 진행하였다. 당농도를 제외한 나머지 조성은 YPG 배지의 조성을 사용하였다. 질소원과 탄소원의 비에 따른 영향을 알아보기 위하여 YPG배지에서 탄소원의 농도를 20 g/L로 고정시킨 후 Yeast Extract의 농도를 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 g/L로 변화 시켰다. 이 경우 교반속도는 300 rpm, 배양 시간은 48시간으로 하였다.

분석 방법

발효시간에 따라서 채취한 시료를 아스피레이터가 설치된 여과기에 부어 발효액을 걸러내고 균체만을 모은 후 증류수로 세 번 세척하여 균체에 남아있는 발효액을 완전히 제거하였다. 질량을 측정해 놓은 알루미늄 접시에 세척한 균체를 옮긴 후 80°C 건조 오븐에서 항량이 될 때까지 건조하여 균체의 건조중량을 결정하였다. 이 때 사용한 필터는 직경 4.7 cm GF/C Whatman필터였다.

건조 균체를 막자사발에서 미세하게 분쇄한 후 추출 용액(1 N NaOH:95% Ethanol=1:2)을 사용하여 95°C에서 90분간 추출한 후 상온으로 냉각시킨다. 냉각된 용액을 여과기에 부어 추출용액을 제거하고

95% 에탄올로 3번, 증류수로 3번 세척하였다. 분리된 균체벽을 80°C 건조오븐에서 항량이 될 때까지 건조하여 균체벽의 건조중량을 결정하였다.

건조중량을 결정한 균체벽의 시료를 2% HCl 수용액 20 mL에 주입한 후 90°C에서 12 시간동안 균체벽 내의 키토산을 추출한다. 추출용액을 상온으로 냉각시킨 후 원심 분리기에서 13000 rpm으로 15분 동안 원심분리하여 산에 용해되지 않는 성분을 분리시킨다. 산에 용해된 용액에 2 N NaOH를 첨가하여 pH를 10 이상으로 증가시키면 키토산이 침전된다. 원심분리기에서 13000 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 키토산을 분리한다. 증류로 세 번 세척한 후 65°C 건조 오븐에서 항량이 될 때까지 건조하여 건조 균체벽 내의 키토산 함량을 결정하였다.

키토산 내의 글루코자민 량은 Johnson (1971)이 사용한 modified Elson-Morgan법을 사용하였으며 acetylation 정도는 Muzzarelli와 Rocchetti (1985)가 사용하였던 방법을 이용하였다. 발효액내의 잔당 농도는 포도당 분석기인 GLU-11 (TOA, Japan)을 사용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

발효시간이 균체의 발효특성치에 미치는 영향

현재까지 발효시간에 따른 균체의 증가량에 관한 연구 결과는 다소 있으나 발효시간이 균체의 성분 구성비에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 찾아볼 수 없었다. 발효시간이 건조균체 무게에 대한 건조 균체벽의 무게비, 건조 균체 무게에 대한 키토산의 무게비, 건조 균체벽의 무게에 대한 키토산의 무게비, 키토산을 구성하는 글루코자민 및 N-아세틸 글루코자민의 조성비에 미치는 영향을 규명하여 보았다.

Fig. 1은 rpm을 150, 발효온도를 30°C로 고정하고 YPG 배지를 사용하였을 때 *Mucor rouxii* ATCC 24905의 발효시간에 따른 잔여 당농도, 건조 균체 농도, 건조 균체벽 농도, 키토산의 농도비를 나타내고 있다. 발효시간 36시간이 지나면 초기당이 완전히 소모되며 건조 균체, 건조 균체벽 및 키토산량의 증가가 멈추어짐을 알 수 있다. 이 실험결과로부터 발효시간과 건조 균체 무게에 대한 건조 균체벽의 무게비, 건조 균체 무게에 대한 키토산 무게비 사이의 관계를 구하여 나타낸 그림이 Fig. 2이다. 이 결과에 의하면 건조 균체 무게에 대한 건조 균체벽의 무게비는 발효 시작 후 36시간까지는 계속 증가하여 최대비 0.19를 나타내었다. 건조 균체 무게에 대한 키토산의 무게비는 발효 25시간까지는 0.06 근방까지 서서히 증가하나

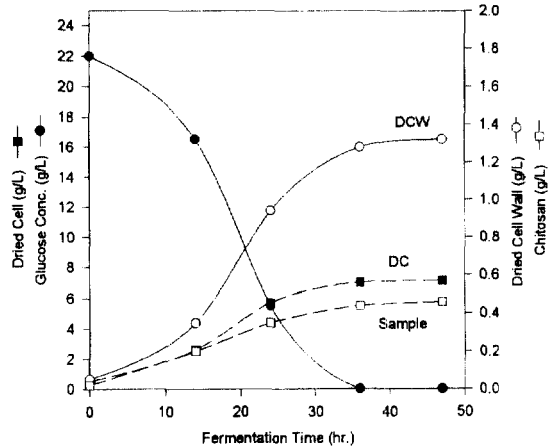


Fig. 1. The change of fermentation characteristics according to fermentation time.

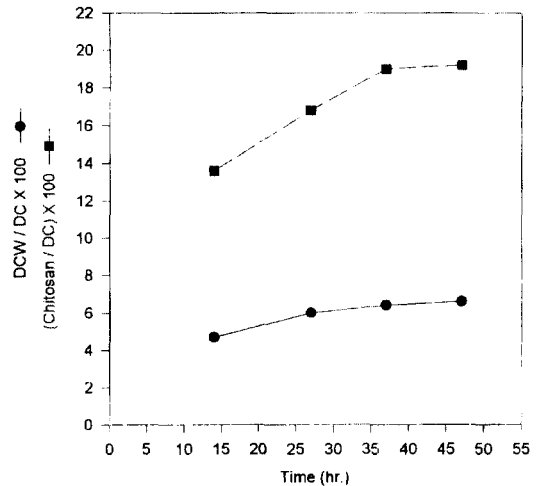


Fig. 2. Dried cell wall/dried cell and chitosan/dried cell vs. fermentation time. Initial glucose concentration; 20 g/L, rpm; 150.

25시간 이후에는 거의 증가 현상을 나타내지 않았다.

건조 균체벽을 구성하고 있는 키토산의 무게 조성비와 발효시간, 키토산을 구성하는 글루코자민과 N-아세틸 글루코자민의 무게 조성비와 발효시간 사이의 관계가 Fig. 3에 표시되어 있다. 이 결과에 의하면 *Mucor rouxii* ATCC 24905는 발효시간에 관계없이 키토산의 중량비가 일정한 균체벽을 생성하며 키토산을 구성하는 단량체 글루코자민과 N-아세틸 글루코자민의 함량도 일정하다는 것을 알 수 있다. 환언하면 *Mucor rouxii* ATCC 24905는 발효시간에 관계없이 일정한 대사 작용에 의하여 균일한 조성의 키토산을 생성할 뿐만 아니라 키토산의 무게 조성비가 일정한 균체

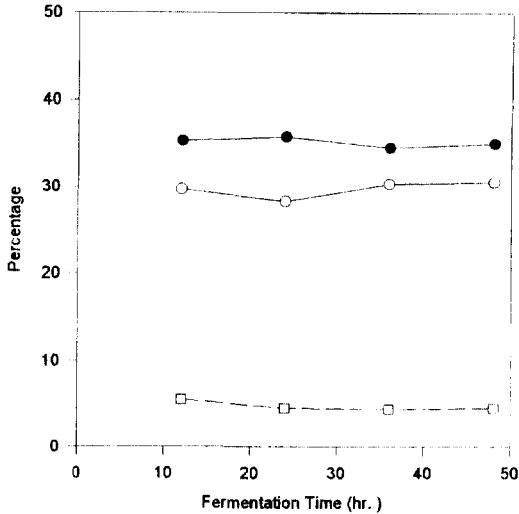


Fig. 3. Percentage of chitosan, glucosamine, and N-acetylglucosamine to dried cell wall. ●: Chitosan/DCW×100, ○: Glucosamine/DCW×100, □: N-acetylglucosamine/DCW×100.

벽을 형성한다고 해석 할 수 있다.

교반 속도가 균체의 발효특성치에 미치는 영향

발효 배지는 YPG, 발효 온도는 30°C, 발효시간은 44시간으로 고정한 후 rpm을 150, 180, 250, 300으로 변화시켜가면서 교반속도가 *Mucor rouxii* ATCC 24905의 발효특성치에 미치는 영향을 규명하여 보았다. 본 연구에서 고려한 발효특성치는 식 (1) 내지 (3)으로 표현되는 건조 균체 수율, 건조 균체벽의 수율, 키토산의 수율과 건조 균체 무게에 대한 건조 균체벽의 무게비, 건조 균체벽의 무게에 대한 키토산의 무게비, 키토산을 구성하고 있는 글루코자민과 N-아세틸 글루코자민의 무게 조성이다.

$$\text{건조 균체 수율; } Y_{XS} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad (1)$$

$$\text{건조 균체벽의 수율; } Y_{WS} = \frac{\Delta W}{\Delta S} \quad (2)$$

$$\text{키토산 수율; } Y_{PS} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad (3)$$

위 식에서,

- ΔX; 건조 균체의 증가량
- ΔS; 당의 소모량
- ΔW; 건조 균체벽의 증가량
- ΔP; 키토산의 증가량

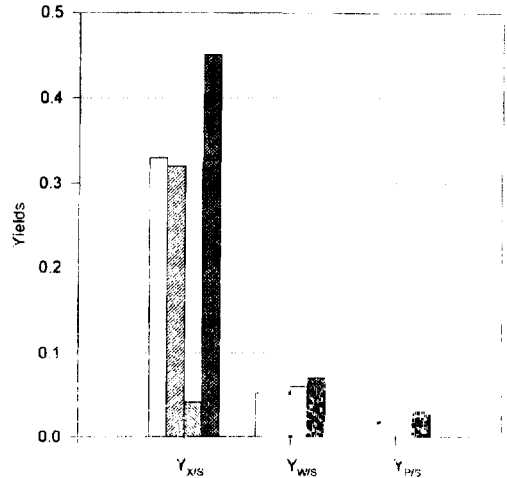


Fig. 4. Dried cell yield, dried cell wall yield, and chitosan yield to sugar consumption vs. rpm. □: 150 rpm, ▨: 180 rpm, ▩: 250 rpm, ■: 300 rpm.

교반 속도가 건조 균체, 건조 균체벽 및 키토산의 수율에 미치는 영향을 살펴보면 교반속도가 150 rpm에서 300 rpm까지 증가함에 따라 건조 균체 수율은 33%에서 45%까지 상승하였다(Fig. 4). 동일한 당 소모량이 건조 균체로 전환되는 율은 교반 속도가 증가하면 증가함을 나타낸다. 균체벽과 키토산의 수율은 교반속도가 증가하면 미세한 증가현상을 나타내었다.

교반속도가 건조 균체내의 건조 균체벽의 무게 조성비(DCW/DC), 건조 균체벽 내의 키토산의 무게 조성비(Chitosan/DCW), 키토산을 구성하는 글루코자민의 무게 조성비(Glu/Chitosan)와 N-아세틸 글루코자민의 무게 조성비(N-Acet.Glu. / Chitosan)에 미치는 영향을 나타낸 Fig. 5의 결과를 보면 건조 균체에 대한 건조 균체벽의 무게비는 교반속도에 영향을 받지 않고 0.185 근방의 값을 나타내어 균체벽은 건조균체 중량의 약 18.5%를 차지하고 있음을 알 수 있다. 반면에 건조 균체벽을 구성하는 키토산의 함량은 교반속도의 증가에 따라서 증가하는 경향을 나타내었다. 교반속도 150 rpm에서는 건조 균체벽 내의 키토산 함량이 무게비로 0.35이었던가, 300 rpm에서는 0.43까지 증가하였다. 균체벽을 구성하는 키토산의 단량체 조성을 분석하여 보면, 글루코자민이 대부분이며 N-아세틸 글루코자민은 무게 퍼센트로 12% 미만이었다. 교반속도가 150 rpm에서 300 rpm까지 증가하면 키토산내의 글루코자민 량은 무게비로 0.88에서 0.92까지 증가하는 반면 N-아세틸 글루코자민 량은 무게비로 0.123에서 0.080까지 감소하여 교반속도가 키토산 내의 글루코자민 함량을 증가시키나 다음 식 (4)로 표현되는 아

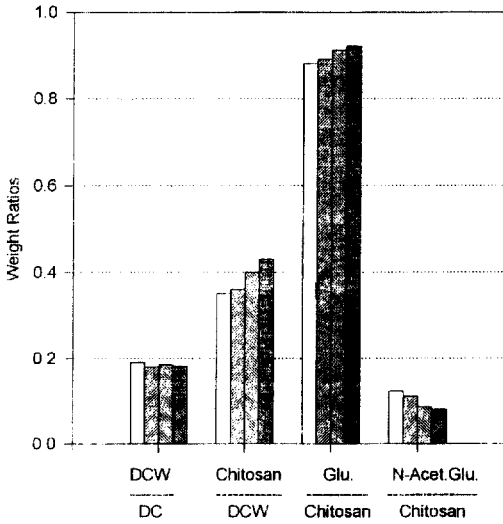


Fig. 5. Various weight ratios vs. rpm of fermenter. □: 150 rpm, ▨: 180 rpm, ▩: 250 rpm, ■: 300 rpm.

세틸화(degree of acetylation)는 낮아지는 경향을 나타내었다.

$$\text{Degree of acetylation} = \frac{\text{N-acetylglucosamine}}{\text{Chitosan}} \times 100 \quad (4)$$

아세틸화 정도가 클수록 *Mucor rouxii* ATCC 24905의 균체벽 내에 N-아세틸 글루코자민을 단량체로 하는 키틴이 많이 축적됨을 의미하며 이것을 순수 chitosan으로 전환시키기 위한 공정이 더 필요하게 된다. 교반속도 300 rpm에서의 아세틸화 정도는 8.0%로 Knorr와 Klein(1986)이 보고한 수치 8.75%와 대단히 유사한 수치이나 개로부터 생산되는 카토산에서의 아세틸화 정도 26.5에 비하여서는 대단히 낮은 수치임을 알 수 있다. 결과적으로 *Mucor rouxii* ATCC 24905의 성장과 키토산의 생성량, 그리고 아세틸화 정도는 교반속도 증가에 따른 균체의 혼합과 용존 산소농도의 증가에 영향을 받는다고 할 수 있다.

초기 당농도가 발효특성치에 미치는 영향

초기 당농도가 식 (1)에서 (3)까지의 여러 가지 수율에 미치는 영향을 분석하여 초기 당농도를 변화시켰을 때 균체 성장이 멈추는 시점에서의 당 소모량에 대한 각 종 수율을 Fig. 6에 표시하였다. 이 결과에 의하면 건조 균체 수율은 초기 당농도가 증가할수록 낮아지는 경향을 나타내었다. 초기 당농도가 10 g/L인 경우, 건조 균체 수율은 0.5 근방의 값을 나타내었으나

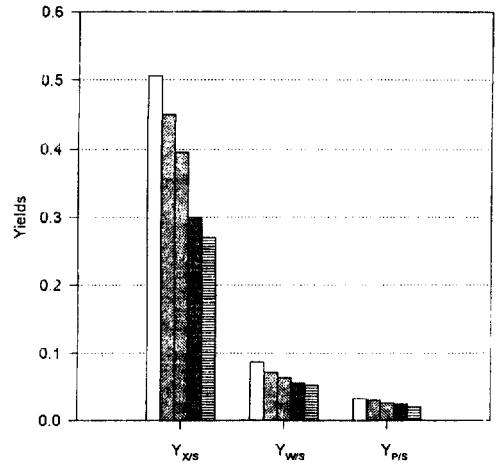


Fig. 6. Dried cell yield ($Y_{x/s}$), dried cell wall yield ($Y_{w/s}$), and chitosan yield ($Y_{p/s}$) to sugar consumption vs. initial sugar concentration (S_0). □: $S_0=10$ g/L, ▨: $S_0=20$ g/L, ▩: $S_0=30$ g/L, ■: $S_0=40$ g/L, ▤: $S_0=50$ g/L.

초기 당농도가 50 g/L까지 증가하면 0.3 이하로 감소하였다. 건조 균체벽의 수율 역시 초기 당농도가 증가하면 감소하였다. 초기 당농도가 10 g/L일 때는 건조 균체벽의 수율이 0.087이었으나 50 g/L로 초기 당농도가 증가하면 건조 균체벽의 수율은 0.052로 감소하였다. 균체벽 내에 축적되는 키토산의 생성량도 초기 당농도의 영향을 받고 있다. 당 소모량에 대한 키토산의 수율은 초기 당농도가 증가하면 감소 경향을 나타내었다. 초기 당농도가 10 g/L에서 50 g/L로 증가하면 키토산의 수율은 0.032에서 0.020으로 감소하였다.

초기 당농도가 *Mucor rouxii* 균체의 구성 성분에 미치는 영향을 보면 건조 균체량에 대한 건조 균체벽량의 무게비가 초기 당농도의 변화에 별로 영향을 받지 않음을 알 수 있다(Fig. 7). 회전속도가 300 rpm인 경우 초기 당농도가 10 g/L 내지 50 g/L의 범위에서는 균체를 구성하고 있는 균체벽의 양이 균체 단위 질량당 0.175 내지 0.185 사이의 값으로 일정하였다. 따라서 건조 균체벽을 구성하는 키토산의 양은 초기 당농도에 따라 영향을 받고 있음을 알 수 있다. 초기 당농도가 10 g/L인 경우 건조 균체벽의 단위 무게에 대한 축적되는 키토산의 무게비는 0.38이었으나 초기 당농도가 20 g/L 이상으로 증가하면 축적되는 키토산의 무게비가 0.43 근방의 값으로 일정하였다. 생성된 키토산을 구성하는 글루코자민의 함량과 N-아세틸글루코자민의 함량은 초기 당농도 20 g/L 이상에서는 초기 당농도의 영향을 받지 않았다. 반면 초기 당농도 20 g/L 이하에서는 초기 당농도 20 g/L 이상에 비하여 글루

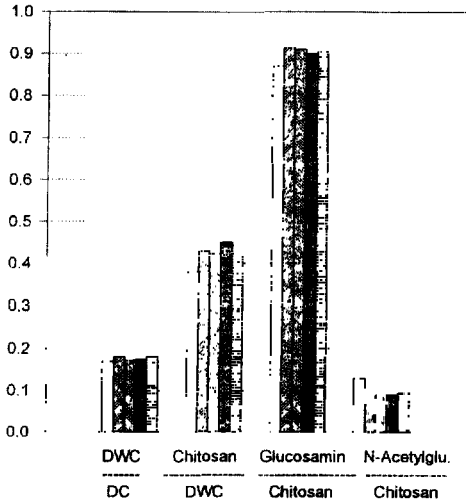


Fig. 7. Various weight ratios vs. initial sugar concentration (S₀). □: S₀=10 g/L, ▨: S₀=20 g/L, ▩: S₀=30 g/L, ▤: S₀=40 g/L, ▥: S₀=50 g/L.

코자민의 함량은 낮으나 N-아세틸 글루코자민의 함량은 높았다.

키토산내의 N-아세틸 글루코자민의 함량, 즉 아세틸레이션 정도를 낮추려면 초기 당농도를 20 g/L 이상으로 증가시켜야 하나 30 g/L 이상으로 증가시키면 건조균체의 수율이 급격히 감소하므로 초기 당농도는 20 g/L 내지 30 g/L 사이에서 결정하는 것이 바람직하다.

탄소원에 대한 질소원의 무게비가 *Mucor rouxii*의 발효 특성에 끼치는 영향

발효 온도를 30°C, 교반 속도를 300 rpm으로 고정시켜 놓은 후 기본 YPG배지로부터 탄소원을 20 g/L, 질소원을 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 g/L로 변화시킨 후 각각에 대하여 발효 실험을 수행하였다. 이 때의 각각의 탄소원과 질소원의 무게비는 각각 1/2, 1/4, 1/6.67, 1/8, 1/16, 1/32이다. Fig. 8은 발효 시간을 매개변수로 하였을 때 탄소원에 대한 질소원의 무게비가 *Mucor rouxii*의 균체 성장에 미치는 영향을 보여주고 있으며 Fig. 9는 같은 조건에서의 탄소원에 대한 질소원의 비와 *Mucor rouxii*의 chitosan생산에 대한 함수 관계를 나타내고 있다. 이 결과에 의하면 발효시간을 24시간으로 고정시켰을 때, N/C의 값이 1/6.67 이상인 경우에는 생성되는 균체와 키토산의 농도가 일정하였으나 1/8 이하에서는 N/C에 따라서 이들 값이 차이를 나타내었다. 그러나 발효시간이 증가하면 N/C의 값 1/8인 경우에 대한 균체농도와 키토산의 농도의 단위 시간당 증가량이 N/C의 값 1/6.67인 경우의 단위 시간당

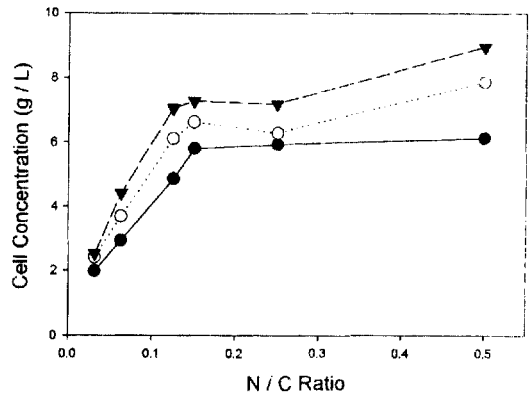


Fig. 8. Cell concentration vs. carbon source/nitrogen source with fermentation time variation. ●: 24 hr. ○: 36 hr. ▼: 48 hr.

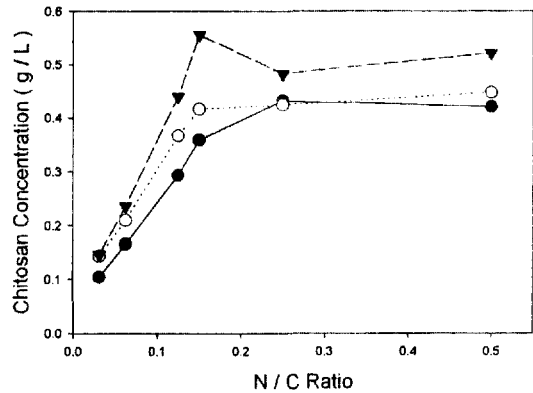


Fig. 9. Chitosan concentration vs. carbon source/nitrogen source with fermentation time variation. ●: 24 hr. ○: 36 hr. ▼: 48 hr.

증가량에 비하여 큰 값을 나타내었다. 이와 같은 경향에 의하여 발효시간이 48시간에 이르러 되면 N/C의 값 1/6.67과 1/8에 대한 균체농도와 키토산 농도값 사이에는 차이가 거의 없었다. 미생물 발효에 의한 키토산 생성에서는 가능한 질소원을 적게 사용하는 것이 경제적으로 유리하다. 따라서 *Mucor rouxii* ATCC 24905 발효에서 균체농도와 키토산의 농도를 가능한 높이고 사용 질소원의 농도는 낮추어야 하는 두 조건을 만족시키는 N/C 값은 1/8임을 알 수 있다.

결론

균주 *Mucor rouxii* ATCC 24905의 발효에서 발효시간, 교반속도, 초기 당농도 및 배지의 탄소원에 대한 질소원의 무게비가 건조 균체에 대한 건조 균체비의 무게비, 건조 균체에 대한 키토산의 무게비, 건조 균체비

에 대한 키토산의 무게비, 키토산을 구성하는 글루코자민과 N-아세틸글루코자민의 조성, 아세틸레이션 정도, 건조 균체 수율, 건조 균체벽의 수율 및 키토산의 수율 등의 발효특성치에 미치는 영향을 규명하였다.

발효시간에 따른 *Mucor rouxii*의 발효 특성치는 다음과 같았다. 건조 균체에 대한 건조 균체벽의 무게비는 발효시작 36시간까지는 최대 0.19까지 증가하였으며 건조 균체에 대한 키토산의 무게비는 발효 25시간까지는 서서히 증가하여 0.06의 값을 나타내었으나 25시간 이후에는 거의 증가하지 않았다. 반면 균체벽의 단위 질량당의 키토산 함량과 키토산을 구성하는 글루코자민과 N-아세틸글루코자민의 조성은 발효시간에 관계없이 일정하였다. 교반속도가 150 rpm에서 300 rpm으로 증가하면 건조 균체 수율, 건조 균체벽의 수율 및 키토산의 수율이 모두 증가하였다. 건조 균체에 대한 건조 균체벽의 무게비는 교반속도의 영향을 받지 않고 0.185로 일정하였다. 교반속도의 증가에 따라 건조 균체벽 내의 키토산 함량과 키토산내의 글루코자민 함량은 증가하였으나 N-아세틸 글루코자민 함량은 감소하였다. 초기 당농도를 10 g/L 내지 50 g/L 사이에서 변화시켰을 때 초기 당농도가 증가하면 건조 균체 수율, 건조 균체벽의 수율, 키토산의 수율은 모두 감소하였다. 건조 균체에 대한 건조 균체벽의 무게비는 초기 당농도에 관계없이 0.175 내지 0.185 사이의 값으로 일정하였다. 반면 건조 균체벽에 대한 키토산의 무게비는 당농도 증가에 따라 증가하였으나 초기 당농도 20 g/L 이상에서는 0.43으로 일정하였다. 탄소원에 대한 질소원의 무게비 1/8 이상에서는 생성되는 균체와 키토산의 농도가 일정하였으나 1/8 미만의 범위에서는 이 비에 따라서 균체와 키토산의 농도가 차이를 나타내었다. *Mucor rouxii* ATCC 24905 발효에서 균체 및 키토산의 농도를 가능한 높이고 질소

원의 사용량을 줄여야 하는 두 조건을 만족시키는 탄소원에 대한 질소원의 무게비는 1/8이었다.

감사의 글

본 연구는 1995년도 인하대학교 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다. 이에 감사 드립니다.

문헌

- Arcidiacono, S., and D.L. Kaplan. 1992. Molecular Weight Distribution of Chitosan Isolated from *Mucor rouxii* under Different Culture and Processing Condition. *Biotech. and Bioeng.* **39**: 281-286.
- Bartnicki-Garcia, S., 1968. Cell Wall Chemistry, Morphogenesis, and Taxonomy of Fungi. *Annu. Rev. Microbiol.* **95**.
- Bartnicki-Garcia, S. and W.J. Nickerson. 1962. Nutrition, Growth, and Morphogenesis of *Mucor rouxii*. *J. of Bacteriol.* **84**: 841-858.
- Johnson, A.R., 1971. Improved Method of Hexosamine Determination. *Analy. Biochem.* **44**: 628-635.
- Knorr, D. and J. Klein. 1986. Production and Conversion of Chitosan with Cultures of *Mucor rouxii* or *Phycomyces blakesleeanus*. *Biotech. Letters* **8**(10): 691-694.
- McGahren, M.J., G.A. Perkinson, J.A. Growich, R.A. Leese and G.A. Ellestad. 1984. Chitosan by Fermentation. *Proc. Biochem.* **19**: 88-90.
- Muzzarelli, R.A.A. and R. Rocchetti. 1985. Determination of the Degree of Acetylation of Chitosans by First Derivative Ultraviolet Spectrophotometry. *Carbohydrate Polymers* **5**: 461-472.
- Rane, K.D. and D.G. Hoover. 1993. An Evaluation of Alkali and Acid Treatment for Chitosan Extraction from Fungi. *Proc. Biochem.* **28**: 115-118.
- Rinaudo, M. and A. Domard. 1993. Solution Properties of Chitosan. *Chitin and Chitosan*. Proceedings from the 4th International Conference on Chitin and Chitosan. pp71-83.
- White, S.A., P.R. Farina and I. Fulton. 1979. Production and Isolation of Chitosan from *Mucor rouxii*. *Appl. Environ. Microbiol.* **38**(2): 323-328.