

고용존산소 농도에서의 산소내성 *Pseudomonas aeruginosa* 돌연변이주 M-10의 성장거동

이항우

영남대학교 생물학과

본 연구를 통하여 활성슬러지중의 주요 세균인 *Pseudomonas aeruginosa*를 이용한 생장 특성과 세포 생장에 있어서의 고DO 농도의 영향에 대한 특성을 이용, 폐수처리계의 응용성을 조사하였다. 그 결과, 본 균은 DO 농도의 증가에 따라서 세포 수율은 14배 정도 감소되는 것으로 나타났다. 또한 세포 수율의 감소는 압력의 증가에 의한 것이 아니라 DO 농도의 증가에 의한 것으로 나타났다. 이러한 사실을 바탕으로 낮은 DO 농도에서도 세포 수율의 감소효과를 가질 수 있는 변이주를 변이원 NTG 농도 100 µg/ml, 30°C, 1시간 처리하여 얻은 다음 D-cycloserine에 의한 농축배양을 통해 목적 변이주를 얻었다. 이 목적 변이주에 대한 세포 수율은 DO 농도의 증가에 따라 감소하는 경향을 나타내었으며 그 수율은 DO 농도 36 ppm에서 야생주에 비교할 때, 약 55%의 감소율을 나타내는 것으로 보아 종래의 폭기방식을 채용할 경우에도 슬러지량을 충분히 감소시킬 수 있을 것으로 기대된다.

Key words □ growth, high dissolved oxygen, mutant, *Pseudomonas aeruginosa*

활성슬러지법(Activated Sludge Method)을 이용하는 폐수처리계에 있어서 슬러지량을 감소시키는 것은 커다란 과제의 하나로서 지적되어왔다. 이러한 점을 감안한 예로써 ICI사는 Deep Shaft를 이용한 심층폭기법(Deep Aeration System) 내지는 순산소첨가법(Pure Oxygen Aeration System)으로 폐수처리의 성능을 향상시켜 슬러지량을 감소시킨 예는 널리 알려져 있으며, 현재 각종 폐수처리장에서 널리 이용되고 있다. 하지만 심층폭기법에서는 반응조 하부의 압력이 수압으로 인해 5~10 기압에 달하는 것도 있으며, 용존산소(dissolved oxygen; DO) 농도는 반응조의 수압에 비례하여 50~60 ppm에 달하는 것이며, 따라서 이러한 반응조에서의 미생물 세포는 고압, 고DO 농도 하에서 생장하게 되고, 슬러지량은 이러한 조건에서 생장한 세포량에 비례하는 것으로 보여진다. 그러나, 현재까지 고압, 고DO 농도 하에 있어서의 미생물의 생장특성을 검토한 연구는 흔하지 않지만(1, 2, 3), 세균, 효모, 사상균을 통해 고DO 농도 하에서의 생장특성을 검토해 본 결과, 고DO 농도 조건하에서는 세포 수율(cellular yield)이 상당히 떨어지는 경향이 있다는 사실은 이미 보고되어져 있다(4, 5, 6, 7).

이러한 사실을 바탕으로 본 연구는 석유폐수처리계의 활성슬러지 중의 주요 세균의 하나인 *Pseudomonas aeruginosa*의 고압, 고DO 농도 하에서의 생장특성 및 폐수처리계의 응용성에 대하여 약간의 결과를 얻은 바 소개하고자 한다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지조성

널리 분포된 석유 combinart의 폐수처리장 활성슬러지중에서 분리한 *Pseudomonas aeruginosa*를 본 실험에 사용하였다. 사용 배지로서는 일반적인 세포생산배지, 발효생산용 배지에 비해 탄소원의 농도가 낮지만, 이것은 폐수처리를 대상으로 하는, 합성 폐수의 조성과 거의 일치하는 배지로서 포도당 0.5%, 약간의 무기염류와 미량의 beef extract로 구성되어 있다(Table 1).

배양방법

종배양: 흡광도 측정이 가능한 가지 달린 500 ml진탕 플라스크에 멸균된 배지 50 ml에 사면배지로부터 균을 집중한 뒤, 30°C, 125 rpm, 7 cm-stroke의 조건에서 진탕배양을 하였다.

일반배양: 배양장치의 개략을 Fig.1에 나타내었다. 발효조로서는 working volume 1.3 l의 것을 가지고 공기, 산소 또는 공기-산소, 공기-질소의 혼합가스를 발효조에 공급하여 6 atm(abs.)까지의 여러 가지 압력 및 산소 분압하에서 배양을 행하였다. 공

Table 1. Composition of culture medium

Component	Content
Glucose	5.0 g
KH ₂ PO ₄	1.5 g
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	3.0 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.3 g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	3.0 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	50 mg
Meat extract	10 mg
Distilled water	1,000 ml

*To whom correspondence should be addressed
Tel: 053-810-2374, Fax: 053-816-7365
E-mail: hwlee@yucc.yeungnam.ac.kr

급가스의 유량은 가압하는 것으로 인해 체적이 변화함으로 어떠한 압력조건에서도 표준상태로 환산하여 1 vvm이 되도록 제어하였다.

배양조건으로는 우선 working volume 1.3에 접종농도 (OD660 nm)를 0.1이 되도록 접종하고 30°C, 1,000 rpm, pH 7.3을 유지하면서 각종 산소농도에서 배양하였다.

변이주 선별법(1.3)

NTG에 의한 변이처리: 변이처리를 위한 세포배양은 종배양과 동일조건에서 행한다. 이때 균체 농도는 0.1이 되었을 때 배양액 5 ml를 0.22 μm 여과막으로 여과한 뒤 균체를 모은다. 모여진 균체는 Tris buffer(pH 7.0)로 3회 닦은 뒤, NTG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)을 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 용해시킨 Tris buffer에 현탁하고 30°C에서 60분간 변이처리를 하였다.

D-cycloserine에 의한 농축배양: 변이처리한 균현탁액을 다시 여과, 집균한 후 Tris buffer로 닦은 뒤, 종배양과 동일한 방법으로 대수증식기(OD=0.1)까지 증식하는 변이발현배양을 한다. 이 발현배양액을 새로운 배지에 접종하고(OD=0.05) 순산소만을 공급하여 종배양과 동일한 방법으로 세포 농도가 0.1정도까지 되었을 때, D-cycloserine(최종농도 250-300 $\mu\text{g/ml}$)을 첨가하여 7시간 진탕배양을 하면서 목적으로하는 변이주만을 남기는 농축배양을 하였다. 농축배양 후, 배양액 30 ml를 원심분리(10,000 rpm, 10 min)하여 얻어진 세포를 증류수로 3회 세척한 다음, 30 ml 증류수에 현탁하여 희석한 뒤, 액체배지와 동일 성분 0.5% 한천을 첨가한 배양기에서 48시간 평판배양을 하였다. 또한 위에서 서술한 방법을 되풀이하는 2차농축배양을 하여 2차 평판배양을 하였다.

Replica법: 1, 2회의 농축배양을 한 평판배지에서 얻어진 콜로니 중에서 작은 콜로니를 접종침에 묻혀 준비된 agar 평판 2개에 접종하고 이들 평판을 공기 및 순산소중에서 각각 48-72 시간, 30°C에서 배양하였다.

변이주 확인법: 평판배지에서의 콜로니 형성과정 중에서 공기 중에서는 순산소 중에서는 생장하지 않는 콜로니를 선택하여 이를 본 실험의 유망주로 보고 이들 콜로니를 한천사면배지에 접종하여 보관하였다. 유망변이주는 면전을 한 플라스크와 순산소를 공급한 플라스크에 접종하여 종배양과 동일방법으로 진탕배양하여 세포 수율을 측정하였다.

분석방법

세포농도의 측정: 진탕배양에서의 세포 농도는 흡광도 측정용까지 달린 플라스크로 분광광도계(Hiranuma EPO-B Type, 660 nm)에서 흡광도를 측정하였다. 배양시의 세포 건조중량은 2회에 걸친 원심분리(9,000 rpm, 10 min)와 증류수 세척을 걸쳐 105°C, 12시간 건조시킨 후, 데시케이터에 보관하면서 항량이 될 때까지 측정하였다. 한편, 발효조에서의 세포 농도 측정은 배양액을 채취하여 희석배수에 따라 희석한 후, 분광광도계(Hitachi Model 100-10, 660 nm)에서 흡광도를 측정하고, 또 배양경과에 따라 적당한 시기와 배양종료 시에 건조중량을 측정하였다.

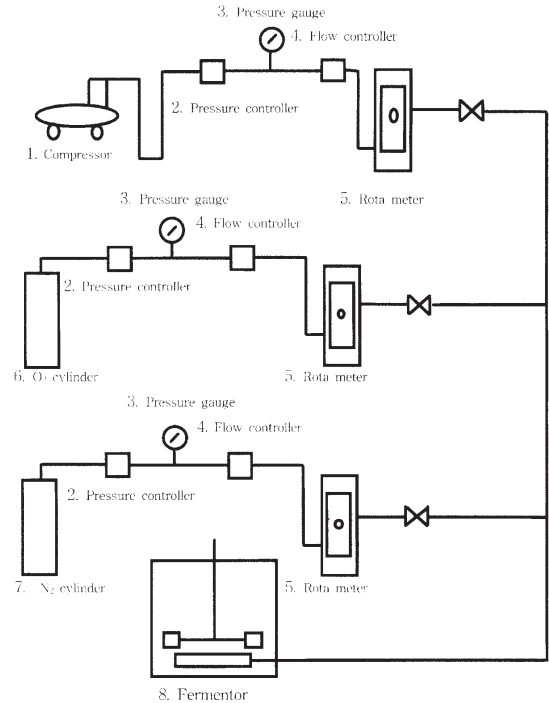


Fig. 1. Schematic diagram of the cell growth fermentor.

포도당농도의 측정: 배양액을 원심분리하고 상등액에 대해 변형된 Somogy-Nelson법(9)에 의해 포도당 농도를 측정하였다.

결과 및 고찰

*Pseudomonas aeruginosa*의 생장특성에 미치는 DO 농도의 영향

세포수율: *Pseudomonas aeruginosa*를 발효조(Fig. 1)에서 배양하고 세포 수율에 미치는 각종 용존산소의 영향으로써 여러 가지 DO 농도 및 각종의 압력에서 비교, 검토하였다(Fig. 2). 우선 공기를 공급, 상압에서 배양 10시간에 글루코오스는 전부 소비되고 세포 농도는 2.2 g/l에 달했다. 이때 DO 농도는 상압에서 공기를 공급하고 있기 때문에 DO 농도로는 7.5 ppm 정도이지만 세포의 소비에 따른 DO 농도의 저하는 약 1 ppm 정도에 지나지 않는다. 한편, 공기를 공급하여 6기압의 기압조건에서 배양한 경우(Fig. 3), 배양 11시간에 세포 농도는 1.8 g/l에 달해 Fig. 2의 결과와 비교하면 약 20%정도 세포 수율이 감소하였다. 이에 따른 DO 농도는 6기압의 가압에서 행하였기에 45 ppm 정도였으나, 세포의 산소소비에 따른 DO 농도의 저하는 실재상 무시할 수 있는 정도의 수치였다. 이상 예시한 것과 같이 산소-공기의 혼합가스를 공급한 경우를 포함한 다른 조건의 DO 농도에서도 세포의 산소 소비에 따른 DO 농도의 저하는 높아도 수 ppm 정도에 지나지 않는 것으로 미루어 배양에 있어서의 DO 농도는 각 조건에서의 포화DO 농도에서 배양된

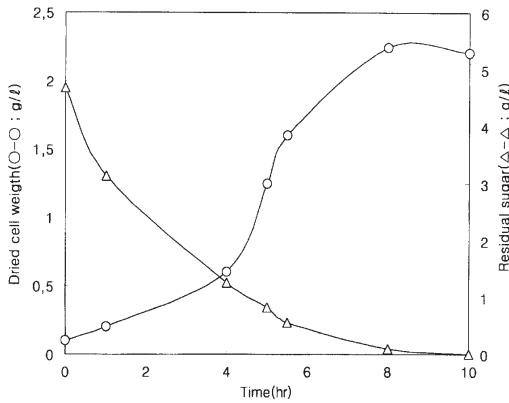


Fig. 2. Time course of growth of *P. aeruginosa* under the supply of air the normal pressure.

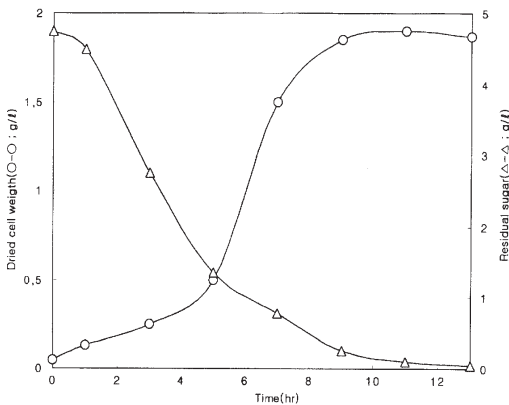


Fig. 3. Time course of growth of *P. aeruginosa* under the supply.

것으로 간주된다. Fig. 2와 Fig. 3에서 확인된 바와 같이 압력 또는 DO 농도의 증가에 따른 세포 수율의 감소현상에서 감소 원인은 압력에 의한 것인가 DO 농도의 증가에 의한 것인가를 파악하여 Fig. 4에 나타내었다. 그 결과, DO 농도 7.5 ppm의 경우 세포 수율은 0.43, 36 ppm(상압에서 순산소를 공급한 경우와 공기를 공급하여 5기압으로 가압한 경우의 동일 DO 농도)의 경우 0.39였으며, DO 농도가 증가함에 따라 세포 수율은 현저히 감소하여 90 ppm(Fig. 4에서 공기 73%, 산소 27%의 혼합가스 공급하여 6기압으로 가압한 경우)의 경우에는 0.06까지 감소하였다. 상압과 가압의 결과를 비교한 바, 가압조건에 있어서 만이 비로소 세포 수율이 감소된다는 것이 확인되었다. 이러한 결과로부터 각종의 압력 하에서 각각의 공기-산소 혼합가스를 공급하여 얻어진 세포 수율에 대한 결과가 DO 농도의 증가에 대해 한가지 곡선사이에 분포하여 감소하고 있는 경향으로 보아 세포 수율의 감소는 압력 그 자체에 의한 것이 아니라 DO 농도의 증가에 의한 것이라 본다.

최대비 증식속도(Maximum specific growth rate: μ_{max})

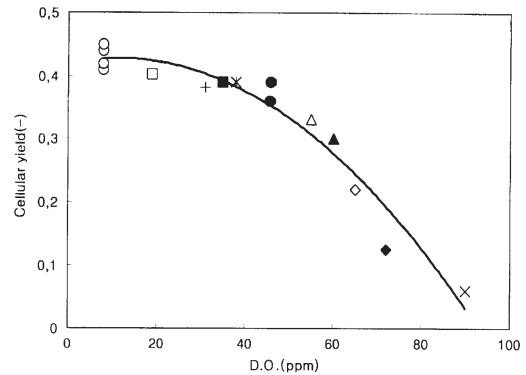


Fig. 4. Effect of dissolved oxygen concentration on cellular yield.

Symbols	Pressure (atm)	Composition of supplied gas
○	1.0	Air
*	5.0	Air
●	6.0	Air
□	1.0	Air+O ₂ (37%)
+	1.0	Air+O ₂ (78%)
■	1.0	O ₂
△	6.0	Air+O ₂ (5%)
▲	6.0	Air+O ₂ (9%)
◇	6.0	Air+O ₂ (12%)
◆	6.0	Air+O ₂ (16%)
×	6.0	Air+O ₂ (27%)

Fig. 5에는 세포의 최대비 증식속도(μ_{max})에 대한 DO 농도의 영향을 나타내었다. 세포 수율의 경우와 동일하게 DO 농도의 증가에 따라 μ_{max} 는 감소하는 경향으로 미루어 생장활성에 DO 농도가 영향을 미치는 것으로 본다.

변이주의 유도

앞에서 설명한 배양결과로부터 DO 농도가 높은 심층폭기방식이나 순산소 첨가방식에 따른 활성슬러지법은 슬러지량의 감소라는 점에서 유효한 방법으로 알려져 있기 때문에 상압 하에서의 DO 농도에서 세포 수율이 낮은 변이주의 유도가 가능하다면 종전부터 사용되어지고 있는 폭기방식에서도 슬러지량이 충분히 감소시킬 수 있으리라 보는 바, 이 목적에 부합하는 변이주의 유도를 행하였다.

NTG의 농도: 우선, 변이원으로는 사용하고저 하는 NTG 특성의 하나로서 NTG작용 후 세포의 생존율이 비교적 높은 NTG 농도에서도 충분히 변이가 일어나는 특성을 가지고 있다. 또한 생존율이 수%이하가 나올 수 있는 NTG 농도에서 변이주를 유도한 경우, 살아남은 세포는 높은 확률로 변이가 일어나지만 생존율이 낮기 때문에 얻을 수 있는 변이주는 그 수가 적으므로 최종적으로 얻으려고 하는 변이주의 숫자라는 측면에서

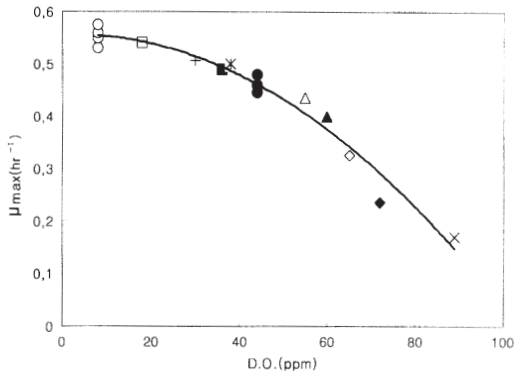


Fig. 5. Effect of dissolved oxygen concentration on maximum specific growth rate, μ_{\max} . Symbols are referred as in Fig. 4.

생각할 때, 생존율이 10~20% 정도 될 수 있도록 하는 변이원의 농도조절이 일반적인 변이조작이다. 또 변이원을 작용시킬 때, pH는 얻을 수 있는 변이주의 숫자에도 큰 영향을 미친다고 알려져 있다. 우선 NTG 처리 조건을 확립하기 위하여 멸균수 및 생리식염수에 NTG를 녹인 결과, 이들 수용액 속에서는 녹기 어려운 점을 발견하여 Tris-maleic acid(pH 7.0)로 본 변이원을 용해시킨 다음, 본 균주에 적용시켰을 때, 생존율도 안정적이었으며 재현성도 좋은 결과가 도출되었는 바, NTG 농도를 30~150 $\mu\text{g/ml}$ 의 범위에서 30°C, 1시간 변이처리를 하여 생존율을 검토하였다. 그 결과 NTG농도가 100 $\mu\text{g/ml}$ 전후에서 생존율은 10~20% 정도를 나타내었다(Fig. 6).

농축배양: NTG 처리를 한 세포는 다시 증식을 시작할 때, 변이가 발현할 가능성을 가지고 있다. 그러나 발현배양에서 미변이주도 함께 증식하기 때문에 변이주만을 선택적으로 얻을 수는 없다. 여기에서 발현배양 후 미변이주는 우선적으로 증식하고 변이주는 증식하지 않는 조건하에서 배양을 하고 또 증식

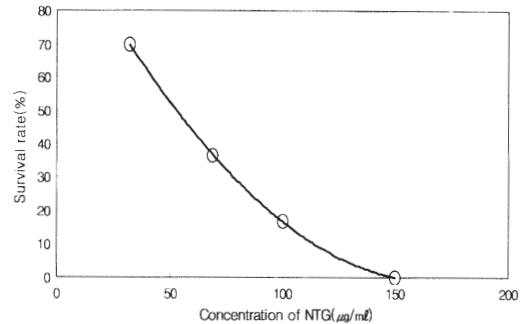


Fig. 6. Effect of NTG concentration on cell survival rate.

세포에만 작용해서 세포를 사멸시키는 항생물질을 사용한다면 변이주는 높은 확률로 남게 될 것이다. 따라서, 이와 같은 배양 조건 및 항생물질의 선택은 목적으로 하는 변이주를 얻기 위해 매우 중요한 수단이라 본다. 우선 배양조건으로는 순산소를 공급함으로 인해 세포증식을 억제시키고, 항생물질로는 세포벽 합성 저해 작용을 갖는 penicillin(100 $\mu\text{g/ml}$), bacitracin(50 $\mu\text{g/ml}$), D-cycloserin(250 $\mu\text{g/ml}$) 및 단백질합성 저해 작용을 갖는 dihydrostreptomycin을 사용하여 각각의 농도에 대하여 농축배양을 하였다. 그 결과, 각종 항생물질을 처리한 농축배양에서 8,000여개의 콜로니를 분리하였다. 이렇게 하여 얻어진 콜로니에서 Replica법에 의해 목적으로 하는 변이주를 선택하였다. 우선 고DO 농도하에서 세포 수율이 떨어지는 콜로니는 외관상의 생장이 나쁘든가 성장하지 않는 특성을 가지게 됨으로 공기 및 순산소 중에서 배양한 평판에서 공기 중에서는 생장을 하지만 순산소 중에서는 성장하지 않는 콜로니를 목적 변이주로 선택하였다. 이러한 조건을 만족할 수 있는 콜로니는 D-cycloserine을 처리한 것에서 10개의 콜로니만이 얻어졌다(Table 2).

변이주의 확인: 얻어진 10개의 변이주에 대해 세포 수율을

Table 2. Cell yields of *P. aeruginosa* mutants

No.	Replica(1st)		Replica(2nd)		Cellular yield					
					1st		2nd		3rd	
	Air	O ₂	Air	O ₂	Air	O ₂	Air	O ₂	Air	O ₂
Control	+	+	+	+	0.30	0.25	0.29	0.24	0.30	0.25
1.	+	-	+	-	0.24	0.29	0.22	0.20	0.28	0.28
2.	+	-	+	-	0.24	0.18	0.27	0.24	-	-
3.	+	-	+	-	0.26	0.27	0.23	0.26	-	-
4.	+	-	+	-	0.24	0.24	0.29	0.27	-	-
5.	+	-	+	-	0.19	0.21	0.25	0.25	-	-
6.	+	-	+	-	0.26	0.27	0.22	0.22	0.30	0.29
7.	+	-	+	-	0.25	0.28	-	-	-	-
8.	+	-	+	-	0.28	0.28	-	-	-	-
9.	+	-	+	-	0.23	0.20	0.25	0.23	-	-
10.	+	-	+	-	0.21	0.15	0.23	0.15	0.19	0.16

+, Growth; -, No growth.

측정할 목적으로 진탕배양을 하였다. 우선 10개의 변이주에 대해 면전을 하고 공기 중에서 진탕배양을 플라스크와 순산소를 공급하면서 진탕배양을 한 플라스크의 세포 수율을 비교 검토한 결과(Table 2), No. 1~No. 9의 변이주의 세포 수율은 공기 중에서 배양한 경우, 야생주보다 약간 감소하지만 순산소를 공급한 경우와 비교하면 수율의 차이가 보이지 않았다. 이러한 사실에 비해 No. 10 변이주의 세포 수율은 공기 또는 순산소를 공급한 어느 경우에도 야생주에 비교하여 그 수율은 낮은 것이 확인되었다. 이와 같은 결과로부터 No. 10 변이주(*Pseudomonas aeruginosa* M-10)는 본 연구의 목적에 부합되는 변이주로 판단되어 발효조에서의 성장 거동에 대해 검토하였다.

변이주 M-10의 성장 특성에 미치는 DO 농도의 영향

변이주 M-10의 세포 수율에 미치는 DO 농도의 영향: 얻어진 변이주 M-10은 플라스크배양의 결과에서 36 ppm 정도의 DO 농도(상압 하에서 순산소를 공급한 경우에 대응함)에서 세포 수율은 충분히 감소하는 것으로 생각되기 때문에 DO 농도의 상한을 36 ppm까지의 범위에서 증식특성을 검토하였다. 대표적인 예로서 공기를 공급하고 상압을 유지(DO 농도 7.5 ppm)한 배양결과를 Fig. 7에 나타내었다. 배양 9시간만에 당은 거의 소비되고 최대 세포 농도는 2 g/l에 달하였다. 이러한 결과는 Fig. 2

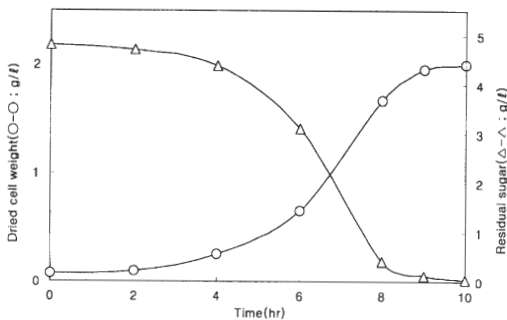


Fig. 7. Time course of growth of *P. aeruginosa* M-10 under the supply of air at the normal pressure.

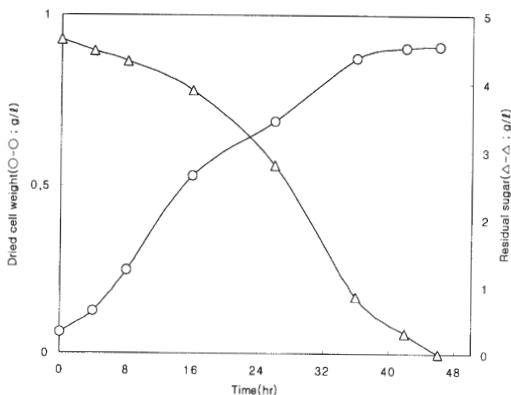


Fig. 8. Time course of growth of *P. aeruginosa* M-10 under.

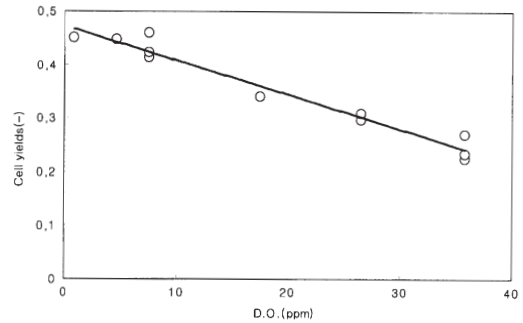


Fig. 9. Effect of dissolved oxygen concentration on cell yields of *P. aeruginosa* M-10.

에서 나타난 야생주의 배양 결과와 비교하면 동일한 결과로 나타나는 바, 낮은 DO 농도에서는 변이주로서의 특성을 발휘하지 못하는 것으로 나타났다. 한편, 대조적 실험으로서 36 ppm의 DO 농도에서 배양한 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 배양경과 48 시간에 당은 전부 소비되고 최대 세포 농도는 0.85 g/l이었다. 이러한 결과를 공기 중에서 증식특성과 비교하면 세포 농도는 약 40% 정도 감소하여 DO 농도의 영향을 받아 변이주로서의 특성을 잘 나타내고 있는 것으로 판단되었다. 다음으로 이와 같은 특성을 지닌 M-10 변이주의 세포 수율에 미치는 DO 농도의 영향을 Fig. 9에 나타내었다. M-10의 세포 수율은 DO 농도가 7.5 ppm(상압에서 공기를 공급한 경우에 대응) 정도까지는 0.43으로 야생주와 거의 비슷하여 변이주의 특성을 살펴 볼 수 없었지만 DO 농도가 18 ppm(상압에서 공기-산소의 혼합가스를 공급한 경우)일 때는 0.34를 나타내었으며 DO 농도가 36 ppm(상압에서 순산소를 공급한 경우에 대응)일 때, 야생주의 세포 수율이 0.42 정도인데 비해 M-10의 세포 수율은 0.23 정도로 저하하여 변이주로서의 특성을 충분히 나타내었다.

이상의 결과로부터 폐수처리에 적용시킬 경우 M-10과 같이 DO 농도가 수십 ppm 정도에서도 세포 수율을 충분히 감소시킬 수 있는 변이주를 이용한다면 심층폭기방식 내지는 가압방

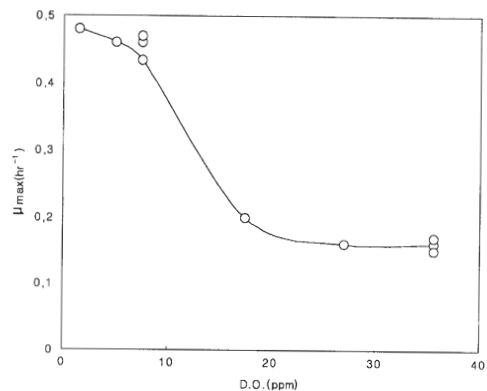


Fig. 10. Effect of dissolved oxygen concentration on maximum specific growth rate, μ_{\max} , of *P. aeruginosa* M-10.

식을 채용하지 않고도 종래의 폭기조에서 슬러지량을 감소시킬 가능성을 시사하는 것으로 생각된다.

M-10 변이주의 최대비 증식속도(μ_{max})에 미치는 DO 농도의 영향: Fig. 10에는 변이주의 μ_{max} 에 미치는 DO 농도의 영향을 나타내었다. 이 그림에서 보는 바와 같이 DO 농도의 증가에 따라 μ_{max} 는 감소하는 경향을 나타내고 있지만 DO 농도가 36 ppm일 때, 야생주의 μ_{max} 는 0.5/hr정도인 것에 비해 M-10의 μ_{max} 는 0.15/hr로서 대단히 적었다. 또한 야생주는 DO 농도의 증가에 따라 세포 수율은 감소하지만 배양시간은 별로 길지 않는 것에 비해(DO 농도 60 ppm일 때, 세포 수율 0.29, 배양시간 12시간), M-10은 거의 같은 세포 수율 0.3이 얻어졌다. 그러나 DO 농도 27 ppm의 경우, 배양시간이 29시간으로 매우 길어지는 것으로 나타나, M-10에 미치는 DO 농도의 영향과 야생주에 미치는 DO 농도를 비교하면 서로 다른 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Ishida, T., S. Seto, T. Osawa, and S. Yamamoto. 1966. Isolation of auxotrophic mutants of *Pseudomonas aeruginosa* by dihydrostreptomycin. *Hakkougougaku* **44**(5), 203-209.
2. Kataoka, H., S. Sato, S. Mukataka, A. Namiki, and K. Yoshimura. 1986. Effects of periodic change in the pressure and dissolved oxygen concentration on the incubation characteristics of

- Pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnol. Bioeng.* **28**(7), 663-667.
3. Kyowahakko Tokyo Institute. 1987. Manual of Microbiology Experiment, p131-163. Koudansha-scientific, Japan.
4. Mauersberger, S., R. N. Matyashova, H. G. Muller, and A. B. Losinov. 1980. Influence of the growth substrate and the oxygen concentration in the medium on the cytochrome-p450 content in the *Candida guilliermondii*. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **9**, 285-294.
5. Oura, E. 1974. Effect of aeration intensity on the biochemical composition of baker's yeast. I. Factors affecting the type of metabolism. *Biotechnol. Bioeng.* **16**(9), 1197-1212.
6. Oura, E. 1974. Effect of aeration intensity on the biochemical composition of baker's yeast. II. Activities of the oxidative enzymes. *Biotechnol. Bioeng.* **16**(9), 1213-1225.
7. Sato, S., S. Mukataka, H. Kataoka, and J. Takahashi. 1984. Effects of pressure and dissolved oxygen concentration on growth of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Ferment. Technol.* **61**(1), 71-75.
8. Sato, S., H.W. Lee, S. Mukataka, and J. Takahashi. 1987. The characterization of *Pseudomonas aeruginosa* under high oxygen concentration. *Hakkougougaku*. **65**, 109-112.
9. Spiro, R.G. 1966. Analysis of sugars found in glycoprotein. In E. F. Newfield and V. Ginsburg(ed.), *Methods in Enzymology*. p. 8. Academic Press, New York.

(Received November 18, 1999/Accepted December 13, 1999)

ABSTRACT : Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Growth under High Dissolved Oxygen Concentration : Selection of the High Dissolved Oxygen Resistant Mutant *Pseudomonas aeruginosa* M-10.

Hang Woo Lee(Department of Biology, College of Science, University of Yeung Nam, Kyoungsan, Kyungbuk 712-749, Korea)

The effect of dissolved oxygen(DO) concentration on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* and its mutant M-10 was studied the growth kinetics and the possibility of waste treatment for reducing the amount of excess sludge. Different DO concentrations on the growth of wild type *Pseudomonas aeruginosa* affected to cellular yields, decreasing with increasing DO concentrations. Under these conditions, the maximum 14 folds decrease of cellular yield was achieved at 90 ppm DO levels by supplying air gas. From the reactor, high DO resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa* strain were screened, being able to reduce their cellular yields under low DO concentration. The optimum mutation conditions were obtained by the treatment of NTG mutagen at 30°C for 1 hr. The growth characteristics of the selected mutant M-10 showed the same as the wild type growth kinetics. However, cellular yields are significantly decreased to 55% compared with those of wild type under DO 36 ppm concentration. The maximum specific growth rate of the mutant remarkably decreased when DO concentrations increased. We, therefore, expect the application of the mutants to waste treatment for reducing excess sludge.