

일반강연 1-14

## 막 생물반응기를 이용한 Cyclodextrin 동족체의 효소적 생산

홍준기, 염경호

충북대학교 공과대학 화학공학부

### Enzymatic Production of Cyclodextrin Homologues Using Membrane Bioreactors

Jun Ki Hong, Kyung Ho Youm

School of Chemical Engineering, Chungbuk National University,  
Cheongju 361-763, Korea

#### 1. 서 론

Cyclodextrin(CD) 동족체(homologue)는  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD로 구분되며, 이들 각각은  $\alpha$ -D-glucopyranose 단위체 6, 7 및 8개가 비환원성 환상구조로 연결된 cyclic maltooligosaccharide의 일종으로 외부는 친수성이고, 내부는 소수성인 공동(cavity) 구조를 갖고 있다. 따라서 각 CD는 공동의 크기가 달라 다른 크기의 소수성 물질들과 선택적인 포접화합물(inclusion compound)을 형성하는 특징이 있다[1].

CD 동족체는 전분 분해 효소인 cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase)에 의해 전분으로부터 생산되는데, 반응용액 내에서의 CD 동족체 농도가 어느 한계값 이상으로 높아지면 생산물 저해와 다른 환원당으로의 분해 때문에 생산성이 감소하여 이의 효과적 생산에 어려움이 있다[2].

본 연구는 dead-end 및 cross-flow형 막 생물반응기를 사용하여 CGTase에 의한 전분의 CD동족체로의 분해반응시 생산물 저해를 억제시켜 생산성을 향상시키고, 동시에 조작조건 변화에 따른 생산물인 CD 동족체의 효과적인 연속분리 가능성을 검토하였다

#### 2. 실험

가용성 전분으로부터 CGTase에 의한 CD 동족체의 생산에 사용된 dead-end 막 모듈은 용적이 250 mL가 되도록 perspex로 제작하였으며, 모듈에 설치된 막의 유효 면적은 23.76 cm<sup>2</sup>이었다. CD 동족체의 연속 생산에 사용된 cross-flow 막모듈은 미국 Millipore Co.의 제품(Minitan-S)으로 설치된 막의 유효 면적은 30 cm<sup>2</sup>이었다. Dead-end 및 cross-flow형 막 생물반응기는

질소압을 이용해 막을 통해 투과된 부피만큼의 기질용액이 반응조로 자동적으로 수송되어 반응조 내에서의 용액의 양을 항상 200 mL로 일정하게 유지시킬 수 있도록 설계하였다.

### 3. 결과 및 고찰

일본 Amano Pharmaceutical Co.에서 구입하여 사용된 CGTase는 1.03 mg  $\beta$ -CD/mL·min의 활성도를 갖는 것으로 측정되었으며, 분획분자량 2,000, 10,000 및 30,000 달톤인 3종류 평판막에 대한 CGTase와  $\beta$ -CD의 배제도를 측정한 결과 분획분자량 10,000 달톤인 polysulfone 재질의 막이 dead-end형 및 cross-flow형 막 생물반응기에서 CD 동족체 생산에 사용될 최적의 분리막으로 선정되었다.

회분반응기에서 CD 동족체 생산 실험을 24시간 수행한 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 CD 동족체는 반응 개시 후 약 3시간까지는 생산량이 증가하였으나 그 이후에는 반응시간이 경과함에 따라 급격히 감소하였다. 이는 생성된 CD들이 효소인 CGTase의 활성을 저해(생산물 저해)시키거나, 또는 생산된 CD들이 효소에 의해 분해되어 다른 환원당으로 전환되기 때문이다[3,4]. 따라서 CGTase에 의한 CD 동족체의 생산시 생산성을 향상시키기 위해서는 CD 동족체를 반응용액으로부터 생산 즉시 분리하여 신속히 배출시키는 공정이 필요함을 알 수 있다.

Dead-end형 막 생물반응기에서의 조작 변수에 따른  $\beta$ -CD 생산 실험을 수행한 결과 막 단위면적 당  $\beta$ -CD 생산량은 기질농도와 조작압력이 증가할수록 증가하였으며, 기질농도 5 % 이상에서는 기질농도의 영향을 받지 않았다. Dead-end형 막 생물반응기에서의 CD 동족체 생산 실험을 24시간 동안 수행한 결과 Fig. 2에서 볼 수 있듯이 반응 개시 후 약 3시간이 경과한 후부터 일정한 값을 나타내어 생산물 저해작용 또는 CD 동족체의 다른 환원당으로의 전환을 관찰할 수 없었으며, 조작압력 2 atm에서 CD 동족체 총 생산량은  $3.7 \text{ kg/m}^2 \cdot \text{day}$ 이었고, 이때  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD의 생산비는 5 : 6.5 : 1로  $\beta$ -CD 생산량이 가장 높았다.

Cross-flow형 막 생물반응기에서 조작 변수에 따른  $\beta$ -CD 생산실험을 수행한 결과 막 단위면적 당  $\beta$ -CD 생산량은 기질의 농도, 조작압력, 순환유량이 증가할수록 증가하였으며, 기질농도 10 % 이상에서는 기질농도의 영향을 받지 않았다. Cross-flow형 막 생물반응기에서 CD 동족체 생산실험을 24시간 수행한 결과 Fig. 3에 나타난 바와 같이 dead-end형 막 생물반응기와 마찬가지로 생산물 저해작용 또는 CD 동족체의 다른 환원당으로의 전환을 관찰할 수 없었으며, 조작압력 2 atm, 순환유량 600 mL/min의 조건에서 CD 동족체의 총 생산량은 약  $6.7 \text{ kg/m}^2 \cdot \text{day}$ 이었다.

#### 4. 결 론

Dead-end형 및 cross-flow형 막 생물반응기에서 CD 동족체의 효소적 생산과 분리를 동시에 수행하여 회분반응 시의 단점인 생산물 저해 또는 CD 동족체의 다른 전환당으로의 분해를 방지할 수 있어 전분의 CD 동족체로의 전환율을 높일 수 있었다. 기질농도 10 %에서 조작압력 2 atm, 순환유량 600 mL/min의 조건으로 운전된 cross-flow형 막 생물반응기는 기질농도 10 %, 조작압력 2 atm으로 운전된 dead-end형 막 반응장치에 비해 약 1.8 ~ 2배 CD 동족체의 생산량과 생산성이 향상되었다.

#### 5. 참고문헌

1. Szejtli, J., "Cyclodextrin Technology". Kluwer Academic Publishers, Dordrecht(1988), pp. 1~20
2. Kitahata, S., N. Tsutama and S Okada, *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 387(1974)
3. Sakai, S., M. Kuboda, K. Yamamoto, T. Nekada, K. Torigoe, O. Ando, and T. Sugimito, *J. Jpn. Starch Sci.*, **34**, 140(1987)
4. Kaneko, T., T. Kato, N. Nakamura and K. Horikoshi, *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **34**, 45(1987)

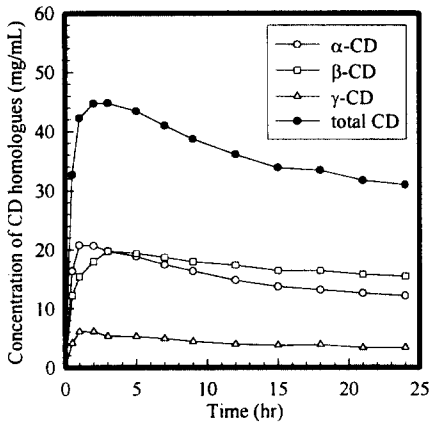


Fig. 1. Variation of CD homologues concentration with change of reaction time in batch reactor. (pH 6, 60°C, 10 % SS, 0.3 mL CGTase/g SS)

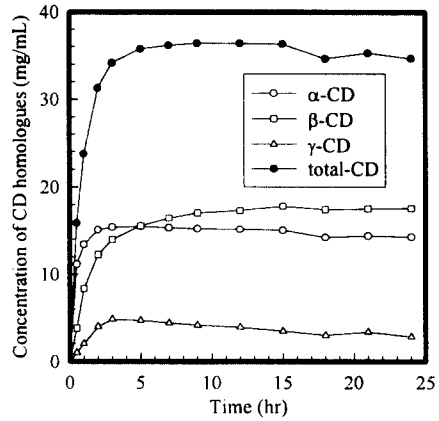


Fig. 2. Concentration of CD homologues in permeate for dead-end type membrane bioreactor. ( $\Delta P = 2$  atm, 10% SS)

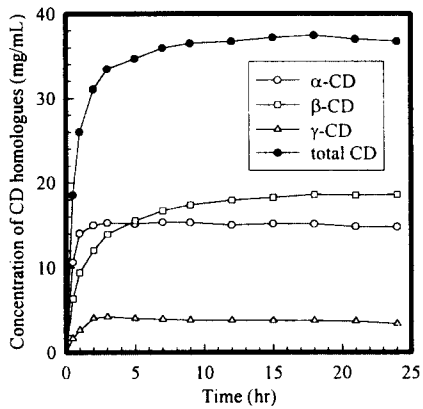


Fig. 3. Concentration of CD homologues in permeate for cross-flow type membrane bioreactor. ( $\Delta P = 2$  atm, 10% SS, circulation rate = 600 mL/min)

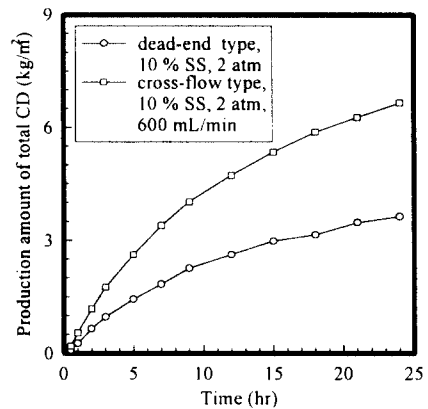


Fig. 4. Variation of production amount of total CD with change of reaction time.