

CGTase의 대량생산을 통한 CD생산공정의 최적화

정일형, 서효진, 김성구

부경대학교 생물공학과

서론

Cyclodextrin(CD)의 산업화에 필요한 응용기술의 개발에 대해서는 주로 식품과 의약품 관련 산업에서 활발히 진행되고 있다. 실 예로 밀감 주스 시럽의 경우, 밀감 성분중 hesperidin이라는 flavonoid 배당체가 석출되어 시럽을 혼탁 시키는 원인이 된다. 시럽 혼탁을 방지하기 위해 β -CD를 첨가하여 난용성물질인 hesperidin을 포집하여 용해도를 증가시키므로 제품의 질을 개량하고 있다. 또 β -CD를 0.5% 첨가함으로써 쓴맛의 주성분인 naringin이나 limonine을 포집 제거하여 주스의 쓴맛을 제거하고 있으며 커피 제조공정에서도 γ -CD를 첨가하여 caffeine-free 커피를 제조하고 있다. 산화되기 쉬운 식품을 분말화 하는 경우 공기와의 접촉 면적이 증대되어 더욱 산화가 촉진되는데 CD에 포집시키면 공기로부터 접촉을 방지하므로 양질의 분말 식품을 얻을 수 있다. 의약품 제조 공업에서는 지용성 비타민이나 스테로이드 호르몬, 강심배당체 등의 난용성 약물을 CD에 포집 결합시켜 용해도를 증가시킴으로써 약물의 생체이용효율(Bioavailability)을 극대화하고 있다. 이와 같이 CD는 식품, 의약, 농업, 화학공업 등 여러 분야에 응용이 가능한 화합물이나 아직은 생산단가가 높아 그 사용이 제한되어 있는 실정이다. 그러므로 고정화 CGTase의 대량 생산 및 효소의 효율적 반복 사용과 반응조건의 조절 및 공정의 연속화 등을 통하여, 수용성 CGTase를 이용하는 것보다 생산공정의 효율을 개선함으로써 CD를 대량생산하고자 한다. 이에 수용성 CGTase를 이용한 CD의 합성시 야기되는 고가인 CGTase의 일회사용으로 인한 대량 소모 및 생성된 CD조성의 불균일성에 따른 분리정제의 어려움 등에 관한 문제점도 본 연구에서 수행되는 고정화 시스템의 개발에 따른 고정화 효소/균체 공정 이용으로 효소 사용 극대화와 반응 기질인 전분의 recycle에 의한 전환 효율의 극대화로 생산 cost를 절감 할 수 있다.

재료 및 방법

CGTase 생산 균주의 성장 곡선 및 CGTase activity를 측정하기 위해 *Bacillus subtilis* NA1/pTB523을 선택하였다. Main culture는 seed culture액 5%를 CGTase 생산배지에 접종하여 37°C, pH 7.2, 200rpm의 조건 하에서 48시간 동안 배양, 매 3시간마다 배양액을 취하여 660nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고, CGTase activity 측정하기 위해 Methyl orange 법을 사용하였다.

균체 및 CGTase 고정화를 위한 담체로서 DEAE-sephadex A-50, Amberlite IRA-900 선정하였으며, 이 담체들이 ion charge를 띠게 하기 위해 0.5N HCl에 mixing을 한후, 0.5N NaOH에 다시 mixing을 하였으며, ion charge를 띤 담체들을 50mM Phosphate buffer(pH6.0, pH7.0)에 보관하여 사용하였다.

결과 및 요약

CGTase 생산균주(*Bacillus subtilis* NA1/pTB523)의 성장곡선 및 활성 그리고, 각 담체에 고정화 된 CGTase의 활성을 각각 그림 1과 그림 2에 나타내었다.

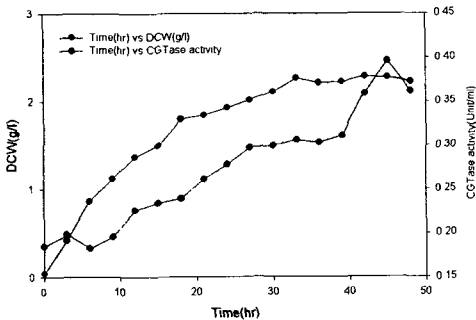


그림 1. 균주의 성장 곡선 및 CGTase 활성

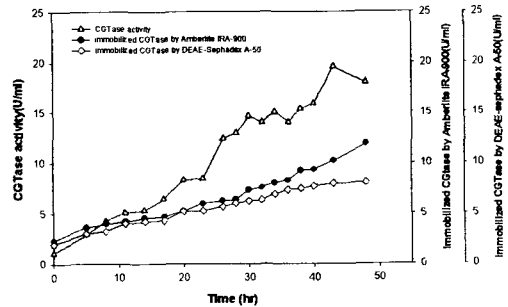


그림 2. 담체 종류에 따른 효소 활성

고정화되지 않은 CGTase의 경우, 활성이 최대 0.4(unit/ml)이었으며, 생산균주에서 분리하여 정제한 후, 각각의 담체에 고정화한 결과, Amberlite IRA-900의 경우, 활성이 최대 14.0(unit/ml)였고 DEAE-Sephadex A-50의 경우는 활성이 최대 9.0(unit/ml)이었다.

참고문헌

강희정, 채기수, 선우양일. 1995. 호알칼리성 *Bacillus* sp. C-21에 의한 Cyclodextrin Glucanotransferase의 생산. Korea J. Food & Nutrition 3: 253-261