

## Applications of Extracellular Polysaccharide p-m10356

Hee-Jung Park<sup>1</sup>, Hyong-Ju Kim<sup>2</sup>, Chang-Moon Lee<sup>2</sup>, Jin Kim<sup>3</sup>, Hong-Kum Lee<sup>4</sup>,  
Joung- Han Yim<sup>4</sup>, Ki-Young Lee<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Material & Biochemical Engineering,

<sup>2</sup>Interdisciplinary Program of Biomedical Engineering,

<sup>3</sup>Interdisciplinary Program of Perfume and Cosmetics, Chonnam National University,

<sup>4</sup>Korea Ocean Research & Development Institute,

<sup>5</sup>Faculty of Applied Chemical Engineering, Chonnam National University.

TEL: +82-62-530-0327, FAX: +82-62-530-1869

### Abstract

The extracellular polysaccharide...(EPS) has been used in a wide variety of industrial applications because of gel formation, emulsion stability, control of the surface tension, water absorption and film formation etc. In this study, inhibitory activity on tyrosinase and inhibitory activity on angiotensin converting enzyme...(ACE) are determined. UV adsorption wavelength, beads formation of EPS were investigated. In the result, in 1%(w/v) EPS concentration, EPS had inhibitory activity of 71.8% on tyrosinase and inhibitory activity of 61.5% on angiotensin converting enzyme in 1.5% EPS concentration. Adsorption wavelength of EPS was UV-B,C . Beads based on EPS were prepared by w/o emulsion method and the shape of EPS beads observed by SEM was spherical and uniform.

### Introduction

미생물 및 미세조류의 EPS는 겔 형성능, 유화안전능, 표면장력의 조절능, 물흡수능, 점착능, 윤활능 및 필름형성능 등의 광범위한 기능성을 갖고 있어, 식품의 대용물 및 각종 산업의 소재로 이용되고 있다.<sup>1)</sup> 최근에는 drug delivery system이나 화장품의 미백제로도 사용이 가능하여 신 바이오 소재로서 산업적 잠재력이 크며, 미생물을 이용한 발효법에 의해 대량 생산할 수 있어 유망한 산업소재로서의 가능성을 보여주고 있다. 본 실험에 사용한 EPS인 m10356은 무색소 하헬라 제주엔시스 96CJ10356의 변이주 m10356에 의해 생산되는 세포외 다당류이다.

본 연구에서는 p-m 10356의 tyrosinase 저해활성과 angiotensin converting enzyme 저

해 활성, UV 흡수 파장을 살펴보고 beads를 제조하여 drug delivery system으로 사용 가능성을 살펴보았다.

## Materials and Methods

**Materials** 정제된 EPS(p-m10356)는 한국해양연구원으로부터 기증받아 사용하였고, tyrosinase, soybean oil, hippuryl-his-leu, lung acetone powder 및 acetic acid 는 Sigma Chemical Co.(USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 시약은 1급 제품으로 정제 없이 사용하였다.

**Inhibitory activity on tyrosinase** 0.1~1.5%(w/v) EPS에 L-tyrosine을 첨가하고 여기에 tyrosinase를 첨가하여 37°C에서 반응시킨 후 얼음물에 넣어 반응을 종결시켜 저해 정도를 475 nm에서 흡광도를 측정해 계산하였다.

**Inhibitory activity on ACE** Lung acetone powder를 sodium borate buffer에 가한 후 원심분리하여 상등액을 취해 조효소 액으로 하고, 여기에 hippuryl-his-leu 100  $\mu$ L 와 0.5, 1.0, 1.5%(w/v) EPS 30  $\mu$ L를 가하여 37°C에서 incubation한 후, hippuric acid량을 228 nm에서 흡광도를 측정해 계산하였다.

**UV adsorption activity** 0.1%(w/v) EPS를 200~600 nm의 파장에서 spectrophotometer(UV-160, Shimadzu, Japan)를 이용하여 측정하였다.<sup>3)</sup>

**Preparation of EPS microspheres by emulsion method** Soybean oil(30 ml)에 2.0%(w/v) EPS(3 ml) 용액을 넣은 후, 강하게 교반하여 w/o emulsion을 형성하였다. 교반을 지속하면서 이 용액에 acetic acid (15 ml)를 첨가하고 일정 시간경과 후, 원심분리를 통하여 생성된 beads를 회수, 이를 diethyl ether를 이용하여 세척한 후, 50°C에서 건조시켰다.<sup>4)</sup>

**Morphology** 제조된 EPS beads의 형태는 scanning electron microscope (SEM)를 이용하여 관찰하였다.

## Results and discussion

**Inhibitory activity on tyrosinase** EPS 농도의 증가에 따라 저해 활성은 점차 증가하는 경향을 보이고 1.2%(w/v) 이상의 농도에서는 70%이상의 저해활성을 나타내었다 (fig. 1). 이러한 결과는 EPS가 melanin의 합성을 억제하여 피부의 색소침착을 억제할 수 있음을 나타낸다.

**Inhibitory activity on ACE** EPS 1.5%(w/v) 농도에서 60% 정도의 저해활성을 보인다 (fig. 2). 이 결과는 인체에 질병이 발생하면 국부적으로 발생하는 혈관구경의 변화를 일으키는 물질인 angiotensin을 형성하는 효소를 저해함으로써 혈관 변형에 의해 발병할 수 있는 심근경색이나 심부전등의 성인병 치료 및 예방에 응용될 수 있음을 나타낸다.

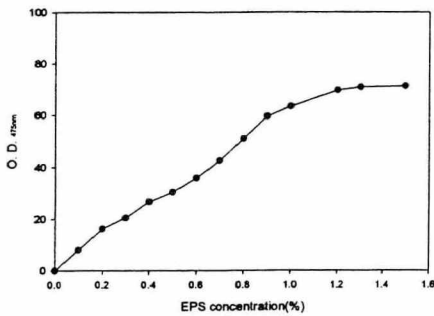


Fig. 1. Inhibitory activity on tyrosinase with various concentration of EPS.

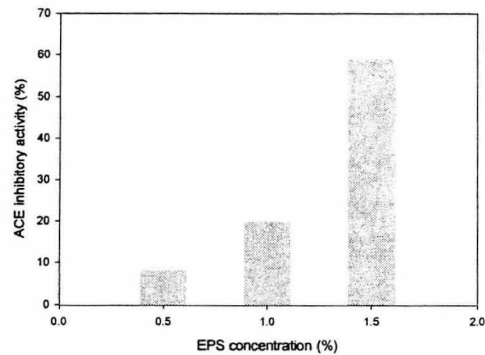


Fig. 2. Inhibitory activity of EPS on ACE.

**UV adsorption activity** UV-C(200~290 nm)와 UV-B(290~320 nm)에 걸쳐서 특징적인 흡수 peak를 보이고 있으며 UV-A(320~400 nm)영역에서는 약한 흡수를 보이는 것으로 확인되었다. 이런 경향은 UV-B와 UV-C의 피부침투를 저해하는 자외선 차단제의 원료로서 활용이 가능할 것으로 보인다.

**Morphology** EPS bead의 형태는 fig. 3에 나타내었다. 제조한 입자를 관찰한 결과, 구형의 형태를 확인할 수 있었고, 입자의 크기는 약 150 $\mu$ m 정도였다.

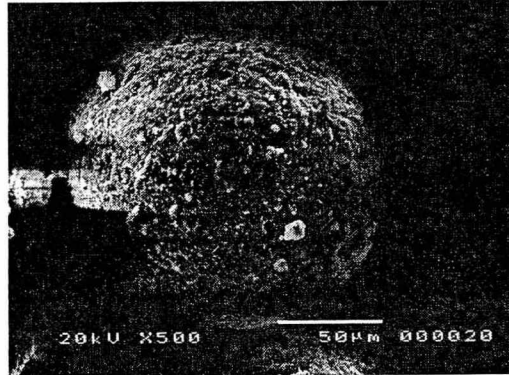


Fig. 3. SEM photograph of EPS bead.

### Summary

tyrosinase 저해 활성 실험 결과 1.2%(w/v) 이상의 농도에서 70% 이상의 저해를 나타내 색소침착에 대한 기능성 화장품 원료로 사용이 가능할 것으로 보이며, ACE 저해 활성 실험에서 1.5% 농도에서 60% 가량의 저해활성을 보여 혈관 변형 치료 및 예방에 효과가 있을 것으로 기대된다. UV 흡수능에서는 UV-B, UV-C의 영역에서 흡수 경향을 나타내며 자외선 차단제의 원료로 사용이 가능할 것으로 기대되며, 또한 bead 형성능을 가지고 있어 약물전달체로서 이용 가능성이 기대된다.

### References

1. Ganesh Kumar C., Han-Sung Joo, Jang-Won Choi, Yoon-Moo Koo, and Chung-soon Chang, Purification and characterization of an extracellular polysaccharide from haloalkalophilic *Bacillus* sp. I-450(2004), *Enzyme and Microbial Technology*, 673-681.
2. I. W. Sutherland, Extracellular polysaccharides(1983), *In Biotechnology*, 3, 533-574.
3. Leiv Oyehaug, Erik Plahte, Dag I. Vage, and Stig W. Omholt, The Regulatory Basis of Melanogenic Switching(2001), *J. theor. Biol.* 215, 449-468
4. D. Poncelet, V. Babak, C. Dulieu, A. Picot, A physico-chemical approach to production of alginate beads by emulsification-internal ionotropic gelation(1999), *Col. and Sur. A*, 155, 171-176.
5. D.W. Cushman and H.S. Cheung, spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung(1971), *biochem. pharm.*, 27(6), 1637-1648.