

효소산업의 현황과 전망 (Ⅳ)

— 고정화 효소 —

한 문 회

한국과학기술연구소 응용생화학연구소

(1975년 4월 26일 접수)

제 6 장 고정화 효소의 생산 및 산업적 이용

고정화효소(immobilized enzyme)는 효소단백질을 물에 녹지 않는 담체(carrier)에 물리적 또는 화학적 방법으로 부착시켜서 만든 비균일 촉매 물리적매(heterogeneous catalyst)의 하나이다. 이러한 효소 유도체는 안정성과 특이성이 높기때문에 실질적으로 의학, 식품 또는 공업공정이나 폐기물 처리등에 이용되고 있다. 고정화 효소에 대하여 연구하는 목적으로는 다음 세가지를 들 수 있다.

- 1) 고정화 효소는 가용성 효소보다 공정과정에 있어서 경제적이며 이용하기가 편리하다.
- 2) 효소의 물리화학적 성질을 선택적으로 변화시킬 수 있다.
- 3) 세포막에 부착된 생체 효소 연구를 위한 모형으로 사용할 수 있다.

현재 생산되고 있는 고정화 효소가 모두 이와같은 목적으로 쓰이고 있지는 않으나 실질적으로 효소의 공업적 이용에 있어서 여러가지 장점을 보여주고 있다. 이러한 공정은 1) 효소를 반응용액에서 쉽게 회수할 수 있기 때문에 최종산물에 효소가 불순물로 남아있지 않고, 공정과정을 정확하게 조절할 수 있는것이 특징이다. 2) 효소를 회수하여 재이용할 수 있기 때문에 효소 이용공정의 경제성을 높여주고 있다. 3) 효소 이용공정의 공업화에 있어서 단식(batch) 또는 연속적 효소반응법 등을 쓸 수 있을 뿐 아니라 연속적 단계반응과정을 효율적으로 처리할 수 있는 장점이 있다. 이러한 고정화 효소의 중요성은 기본공정에 소요되는 원료,

에너지 그리고 인건비에 따라 많이 달라 질수 있으나, 실질적으로 공정의 경제성을 높일 수 있다는 점에서 각광을 받고있다. 고정화효소에 대해서는 그간 많은 연구도 되어 왔고 또 총설^{1,2,3)}도 많이 발표되었으나 이자리에서는 고정화 효소 전반에 대한 개요를 살펴보기로 하겠다.

(가) 고정화 효소의 특성

고정화 효소를 만드는데 있어서 문제시 되는 것은 효소를 불용성 담체에 부착시켰을 때 원래의 효소 활성을 얼마나 유지시킬 수 있느냐와 변형된 효소의 안정도를 얼마나 오래 지속시킬 수 있느냐 하는 점이다. 고정화 후의 효소활성의 변화는 고정화 방법 또는 효소의 종류에 따라 그 차가 심하다. 따라서 고정화 효소 제조시에 가장 적절한 방법을 선택하여 효소활성을 많이 유지시키는 것이 중요하다. 일반적으로 고정화 효소제품 활성도는 담체내의 효소함량과 비례한다. 한편 고분자 기질에 작용하는 효소, 예를들면 α -amylase와 ribonuclease와 같은 효소는 고정화시켰을 때에 활성이 떨어지는 것이 통에이다.

일반적으로 효소를 고정화시켰을 때에 원래 효소가 가지고 있는 특성, 특히 pH, 온도, 기질농도 및 저해소에 대한 성질이 달라진다. 이러한 효소 특성의 차이는 불용성 담체의 물리화학적 성질이 효소에 미치는 미환경 요소(microenvironment)의 변화 때문이라 할 수 있다⁴⁾. 따라서 고정화 효소의 특성은 사용되는 효소와 담체의 종류에 따라 달라지나 자기 효소-담체 복합체는 그 특유의 성질을 나타낸다.

- 1) 안정도 : 일반적으로 고정화된 효소는 가용성

효소에 비해서 안정도가 높다. 이러한 안정도는 사용되는 담체의 종류에 따라 저하될 수 있다. 예를 들면 papain을 collodion 막에 부착시켰을 때는 온도에 대한 안정도가 원래의 효소보다 낮으나⁵⁾, 반대로 유공 초자구에 결합시켰을 때에는 그 안정도가 오히려 높아진다⁶⁾. 이러한 온도에 대한 안정도는 담체 그 자체의 종류에 따라 달라지는지 또는 결합공정의 차이에 대한 것인지 분명치 않으나, polyacrylamide gel에 물리적인 방법으로 포착고정시킨 고정화 효소는 일반적으로 안정도의 변화가 없는 것으로 미루어 보아 효소를 고정화시켰을 경우에 생기는 온도에 대한 저항력의 변화는 효소분자와 담체사이의 화학결합의 의한 분자구조의 변화에 기인하는 것이 아닌가 생각한다.

일반적으로 저해소나 금속이온에 대한 민감도는 몇몇의 특수한 예를 제외하고는 원효소와 별 차이가 없다. 그러나 장기간 저장시의 안정도는 용액 또는 건조상태 양자간에 고정화 효소의 경우에 있어서 더 높아진다. 역시 이러한 안정도는 담체의 종류에 따라 다르지만, Weetal⁹⁾의 관찰에 의하면 고정화 효소의 저장성은 무기질 담체의 경우가 유기질 담체의 경우보다 더 양호하다. 이러한 안정도는 실제로 공업용으로 고정화 효소를 사용할 때에 장기간 연속적으로 재이용 하여야 한다는 점에서 매우 중요하다.

2) 효소 반응 속도치의 변화: 효소가 불용성 담체에 고정되었을 때에 여러가지 효소 반응속도의 양상이 달라진다. 특히 담체의 전하상태에 따라 효소 반응 속도의 최적 pH, Km치 또는 특이성이 달라진다. 효소를 전하를 띤 담체에 부착시켰을 때에 일반적으로 pH 반응곡선의 변화가 오는데 이것은 고정된 효소주위에 생기는 하전율의 변화에 의한 것이다^{4,9,10)}. 일반적으로 효소를 polyanion 담체에 고정시켰을 때는 pH 반응곡선이 알카리쪽으로 치중되며, 반대로 polycation 담체에 부착시켰을 경우에는 산성쪽으로 편중된다^{4,9)}. 양자의 경우가 다 최적 pH 근처에서 pH 반응곡선이 좁아지는 현상이 있으며, 이러한 pH 반응곡선의 변화는 반응액의 이온강도(ionic strength)를 증가시켜 담체의 화전강도를 약화시킴으로써 원래의 상태로 복구할 수 있다^{4,9)}. 이러한 pH 반응곡선의 변화는 비단 전하가 있는 담체의 경우뿐만 아니라 전하가 없는 담체에 있어서도 볼 수 있는데 이런 예는 효소작용에 의하여 생성되는 용액의 부분적 pH 변화에 의한 것이라 생각할 수 있다⁹⁾.

효소를 polyanion 또는 polycation 담체에 고정부착시켰을 경우에 효소 반응속도를 결정 해주는 효소의 하나인 Km이 증가 또는 감소하게 되는데 이것도 역시 담체와 기질간의 전하 대 전하 상호작용에 의한 것이라 해석할 수 있다^{4,11~14)}. 만일 담체와 기질의 전하가 상반할 경우에는 Km치가 떨어지나 대동할 경우에는 오히려 증가한다. ficin-CM-cellulose에서 보논바와 같이 기질용액의 유속도 Km치를 좌우하게 된다¹⁵⁾. 이것은 효소 담 복합체가 직면하는 확산층의 두께가 문제시 되기 때문이다. 이러한 기질의 확산속도는 고정화 효소층의 두께에 반비례한다. 따라서 효소 표면의 기질 농도는 유속이 낮을수록 가용성 효소의 경우보다 더 낮게 된다. 이때의 Km치는 정상치보다 높게 나타난다.

고정화 효소의 기질에 대한 특이성 변화는 별로 알려진 것이 없지만 고정화 protease의 경우에 있어서 저분자량 기질일수록 효소 활성이 높아진다는 것이 알려져 있다^{16,17)}. 말할것도 없이 고정된 효소 또는 기질 자체가 회전의 자유성을 잃기 때문에 생기는 기질 부작용의 장애에 의한 것으로 생각한다.

(나) 고정화 효소의 제조법

고정화 효소를 만드는 방법으로는 여러가지가 있는데 크게 나누어 물리적 방법과 화학적 방법이 있다. 물리적 방법으로는 1) 흡수(absorption)법과 2) 포착(entrapment)법이 있고, 화학적 방법으로는 3) 화학결합(chemical bonding)법과 4) 상호결합(cross-linking)법이 있다(Fig. 4-1).

흡수법은 가장 오래된 방법으로 20세기 초에 Nelson과 Griffin¹⁸⁾에 의하여 처음으로 시도되었다. 이들은 invertase를 활성탄에 흡수시킨 후에도 효소의 활성이 유지되고 있음을 발견하였다. 이후에 여러가지 효소의 고정화법으로 쓰여왔고, 흡수시키는 담체도 여러가지 종류로 시도한 바 있다. 예를 들면 불용성 담체로는 합성고분자 물질, 유리, 무기질, 산화금속, 그리고 여러가지 siliconol이 들어있는 물질로 bentonite, wollastinite, 또는 colloidal silica 등이 있다.

이온교환수지(ion exchange)법은 물리적 흡수법의 하나이기는 하나 위의 예와 다른점은 효소가 담체 표면에 정전기 작용¹⁹⁾에 의하여 부착하는 것이다. 이 방법은 제조방법이 간단하여 실제로 많이 쓰이고 있으며, 한 실례로 acylase를 고정화하는데 쓰이고 있다. 이 고정화 acylase는 L-amin acid의 광학적 이성체를 분리하는 공정에 쓰이고

FIG. 1 METHODS FOR THE PREPARATION OF IMMOBILIZED ENZYMES

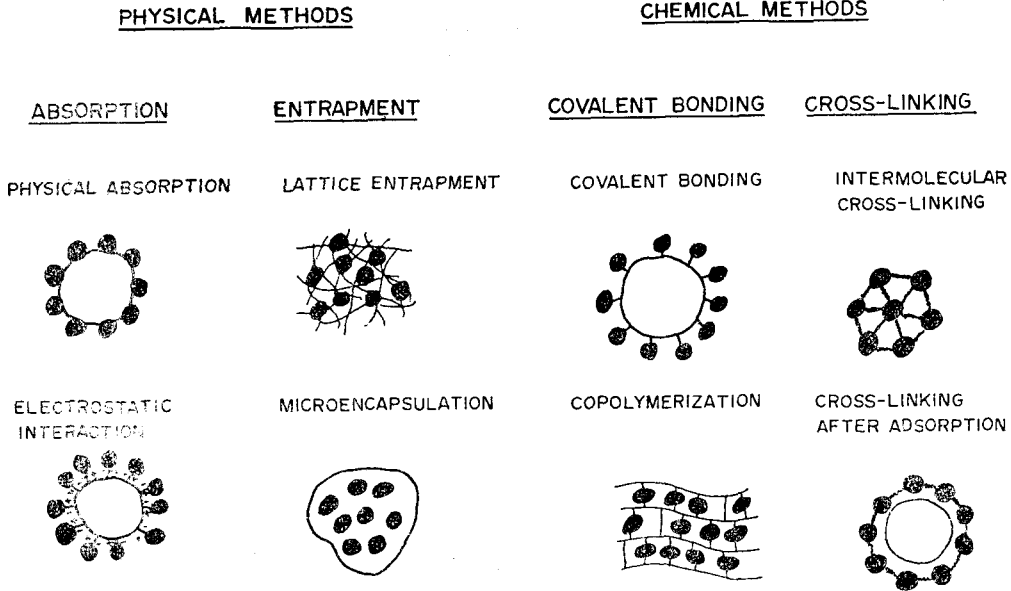


Fig. 4-1 Methods for the Preparation of Immobilized Enzymes

있다. 이온 교환수지로는 DEAE-cellulose 나 CM-cellulose 등이 많이 쓰이고 있다.

물리적인 포착으로 효소분자를 고정시키는 방법으로는 lattice entrapment 와 microencapsulation 법 두가지로 나눌 수가 있는데 전자는 polyacrylamide-gel 과 같은 고분자 화합물의 격자공간에 효소분자를 고착시키는 방법²⁰⁾이며 후자는 효소분자를 반투과 성막으로 둘러싸아서 포착시키는 방법으로 Chang²¹⁾이 L-asparaginase와 urease 를 사용하여 처음으로 만드는데 성공을 하였다. 이러한 입자의 크기는 여러가지로 1 μ 이하의 것으로부터 수 μ 에 이르기까지 있으며 또 이방법은 효소가 막으로 둘러싸여 분산되는 것을 막아주고 다만 분자량이 작은 기질이나 최종 분해산물만이 피막을 자유로히 투과할 수 있는 것이 특징이어서 의학적 이용에 시도한 바 있다.

화학 결합법은 효소를 영구적 불용체로 만드는 가장 좋은 방법이며 담체로써는 섬유소나 여러 가지 합성 고분자 물질을 쓸 수 있다²⁴⁾. 그러나 담체로써 이러한 유기물질들은 그 안정도가 낮고 미생물에 의하여 분해되기 쉽기 때문에 공업적으로 장기간 사용하는데 있어서 그 효력을 다 발휘하지 못하는 것이 단점이다. 따라서 근래에 와서는 유리입자와 같은 무기물 바탕에 결합시키는 방법이 많이 개발되었다^{22,23)}.

화학 결합의 하나로 효소를 고분자 결합의 한 부분으로 부착시키는 copolymerization 법이 있다²⁴⁾. 이방법은 ethylene diamine 으로 처리한 ethylene 과 maleic anhydride 를 중합시키는 과정에 효소와 혼합반응 시킴으로써 고분자 결합 중간중간에 효소분자를 결합 고착시키는 것이다.

다음은 bifunctional reagent 로 효소분자를 엮어 묶어서 여러개의 분자를 결합시켜 단백질의 복합체를 만드는 방법이 있다²⁵⁾. bifunctional reagent 로는 benzidine, di-isothiocyanate, glutaraldehyde 등을 쓰고 있는데 일반적으로 이방법에 의하여 만들어진 고정화 효소는 gelatin 성을 띠고 있어 취급하기가 힘든 것으로 알려져 있다. 따라서 이방법을 흡수법과 병합시켜서 씌으로써 그 난점을 해결할 수 있다. 달하자면 효소를 collidal silica 와 같은 불용성 담체에 흡수시킨 후 bifunctional reagent 로 처리해서 효소분자들이 담체 표면에 고착시키는 방법이다²⁰⁾. 이 방법은 고정화효소 제품의 사용시에 씻겨내려가는 것을 방지해 줄 뿐 아니라 안정도를 높일 수 있는 장점이 있다.

고정화 효소를 만드는 기술적 문제는 여러가지가 알려져 있고 총설^{1,3)}도 많이 발표되어 있다. 위에서 약술한 여러가지 고정화방법 중에서 어느 방법이 좋다는것을 단편적으로 말할 수는 없으나 고정화 효소 제조공정의 경제성과 편이성 및 제품

의 안정성등을 고려해서 선택 사용해야 되며, 앞으로 적절한 담체의 선택, 제품의 수율 및 안정도를 더 높일 수 있는 방법등이 개발연구 되어야 할 것이다.

(다) 고정화 효소 반응조

일반적으로 효소반응 공정에 있어서는 교반 탱크를 사용하는 단식 방법을 쓰고 있다. 고정화 효소를 사용할 경우에 있어서도 이와 마찬가지로 방법을 사용하며, 반응이 끝난 후에 고정화 효소를 원심 분리나 여과법에 의하여 반응 용액으로 부터 분리 회수할 수 있는 것이 다르다. 효소공정의 효율을 높이기 위하여 고정화 효소제를 column에 적재하여 연속적인 방법으로도 사용한다. 실제로 공업적으로 실용화되고 있는 방법은 여러가지 있으나 (Table 4-1), 이 중에서 교반탱크법과 column 법에 대하여 좀더 자세히 기술하고자 한다.

Table 4-1 고정화 효소 반응조의 종류

반응조의 형태	효 소	이 용
(1) Packed beds	Amino acylase	L-amino산 분리
	Amyloglucosidase	포도당 생산
	Invertase	서당 가수분해
	Papain	맥주 혼탁방지
	Glucose isomerase	이성화당 생산
(2) Porous sheets	Catalase	H ₂ O ₂ 제거 (우유저온 살균)
	β -galactosidase	유당 가수분해
(3) Expanded/Fluidised beds	Amyloglucosidase	포도당 생산
(4) Stirred tanks	α -amylase	전분가수분해
	Amyloglucosidase	포도당 생산
	Invertase	서당 가수분해
	Glucose isomerase	이성화당 생산

1) 교반탱크반응법 : 교반탱크 반응조는 단식법과 연속법으로 쓸 수 있다. 단식법에 있어서는 고정화 효소를 반응후에 적당한 방법으로 효소를 회수하여 재사용한다. 연속 반응법에 있어서는 물리적으로 고정화효소를 반응조에 남아 있도록하면서 반응산물만 연속적으로 여과 회수하고 다만 소모된 기질만을 연속적으로 공급한다.

이러한 교반반응조에 있어서는 교반속도와 유동 속도 등이 기질반응속도를 좌우하는데 유동속도는 물론 기질이 고정화 효소와 작용할 수 있는 시간을 결정해 주는 중요한 역할을 한다. Lilly & Sharp²⁷⁾가 CM-cellulose-chymotrypsin의 반응속도

연구에서 보여준 바와같이 교반속도도 효소 반응 속도에 영향을 미치게 되며, 이것은 고정화 효소의 경우 기질의 확산속도에 제한을 받게 되기 때문이다.

교반공정에서 문제시 되는 것은 고정화 효소의 담체자체가 물리적으로 파괴되는 것이다. 이와같은 물리적인 파괴문제를 해결하기 위하여 Weetall & Havewala²⁸⁾는 초자구에 고착시킨 효소제품을 망사속에 넣어 반응조에서 회전시킴으로써 교반시에 생기는 파괴현상을 막을 수 있었다. 또는 효소를 NiO 망에 고정시켜 반응조속에서 작동시켜 효소반응을 촉진시키는 방법도 고안되었다¹⁹⁾.

2) Column법 (또는 packed bed 법) : 이 방법은 고정화 효소를 column 내에 적재하여 일단계 또는 다단계 연속공정에 이용하고 있다. 이러한 효소 column의 취급법은 일반적으로 column chromatography 법이나 마찬가지로이다. 역시 효소의 작용효소는 반응액의 유속과 상관관계가 있으며 이러한 유속은 담체의 종류, column의 용적량, 기질용액의 점도등에 의하여 결정된다. 특히 작용기질의 분해속도도 반응액의 유출속도에 의하여 현저하게 좌우한다.

일반적으로 column 법이 교반혼합법에 비해서 생산효율(생성된 산물량/단위시간/효소단위량)이 높은 것으로 알려져 있다²⁷⁾. 그러나 column 법의 문제점은 column이 막혀서 기질용액의 유통이 나 빠진다는지 또는 column에 균열이 생겨서 효소가 작용할 사이도 없이 기질용액이 흘러내려가는 것 등이다. 이러한 예를 들어 본다면 DEAE-cellulose-amyloglucosidase 복합체를 사용하여 column 법과 연속교반법의 효율을 비교한 실험이 있는데³⁰⁾, 이 실험결과에 의하면 맥아당을 기질로 사용할 경우 column 법의 반응효율이 좋았으나 다른 기질을 사용할 경우에는 그 효율이 저하되었다. 이 결과는 결국 기질의 유출 속도가 늦어서 작용기질이 효소분자와 자유로히 반응하지 못하는 까닭이다. 따라서 고정화 효소를 실용화 할 경우에 있어서는 column 법 또는 연속교반법중에서 어느 방법을 선택할 것인가를 시험하는 것이 필요하다.

이러한 여러가지 어려운 점을 해결하기 위하여 특수반응조 및 공정이 많이 고안되었고, 이 중에서도 유동 column, fluidised bed 나 유동막 (porous sheet)법이 시도된 바 있다. 한편 반응속도가 영차원적이거나 혼합도가 문제시 될때에는 역시 교반 혼합법을 사용하는 것이 좋으며 따라서 연속적 유동 교반반응조가 유용하다. 이러한 반응공정법에

있어서는 고정화 효소를 반응액으로 부터 회수하여야 하며, 이 방법으로는 유출구 여과법^{30,31)} 이나 ultrafiltration 법³²⁾을 사용한다. 이러한 장치에 있어서는 여과막이 막히지 않도록 고안하는 것이 중요하다.

고정화 효소를 연속적으로 장기간 사용하기 위해서는 효소의 안정도를 높이는 것이 중요하며, 사용시에 유실이 적도록 유의해야 된다. 위에서도 말한 바와같이 효소의 안정도를 높이기 위해 담체의 선택이 잘 되어야 할 것이다. 고정화 효소의 장기간 사용시에 생기는 미생물에 의한 분해유실을 막기위하여 무기질 담체를 사용하거나 또는 반응액을 millipore filter 를 통과시켜 분해작용의 근원이 되는 미생물을 걸러내는 것이 좋다. 또는 반응액에 방부제를 사용하거나 고온반응을 시켜 해결할 수도 있다.

(라) 고정화 효소의 공업적 이용

위에서도 말한 바와같이 고정화 효소의 공업적 이용도가 높은것은 효소정제에 의하여 생산가가 높아진다 하더라도 효소제품을 재이용 할 수 있고 또 효소 처리의 연속화를 함으로서 경제성 및 효율성을 높일 수 있다는데 있다. 따라서 앞으로 고정화 효소의 개발연구는 효소의 산업적 이용의 폭을 넓혀주며 좀더 보편화 시키리라 예상된다. 현재 실질적으로 고정화 효소를 공업적으로 쓰고 있는 몇가지 실례를 Table 4-2에 약술하였다.

Table 4-2. 고정화 효소의 공업적 이용

효 소	Carrier	용 도
Amino acid acylase	DEAE-cellulose	DL-amino산 분리
Penicillin amidase	Triazinyl cellulose	Penicillin 변형
Amyloglucosidase	DEAE-cellulose, 초자구, Triazinyl cellulose	포도당 생산
Glucose isomerase	Polyacrylamide, 초자구	이성화당 생산
Invertase	DEAE-cellulose	서당가수 분해
α -amylase	초자구	탈호공정 포도당 생산
Protease	Cellulose; 초자구 CM-cellulose.	청등제
Trypsin	초자구	우유저장력 증가
Catalase	"	"
α -galactosidase	"	"대두 제품의 점성 제거
Lactase (β -galactosidase)	"	우유 및 whey내의 유당 가수분해

1) 단백질 가수용분해 : 식품공업에서는 단백질을 가수분해하여 생산품의 품질을 향상시키거나 또는 영양가와 맛을 높이는데 단백질 가수분해 효소를 쓰고 있다. 고정화 protease 를 쓰는 장점은 공정과정의 연속화, 효소의 재이용, 가수분해과정의 적절한 조절로서 생산품의 품질향상, 그리고 여러가지 다른 효소를 동시 또는 연쇄적으로 사용할 수 있다는 것이다. 더 나아가서는 GRAS 에 속하지 않은 효소를 이용하더라도 식품의 최종제품에 무해하다는 점도 들 수 있다.

2) 치즈생산업 : 고정화 protease 를 써서 우유를 엉기게 하는 보고가 있다. Ferrier 등은 고정화 papain 의 연속 column 을 써서 우유를 엉기는 효과를 증가시키는데 성공하였다³³⁾.

3) 포도당 생산업 : 옥수수 전분을 가수 분해하여 포도당을 만드는 산업은 효소의 공업적 이용에 있어서 가장 큰 산업의 하나이다. 고정화 amyloglucosidase 와 α -amylase 를 써서 DE95 포도당 액당을 단시간에 효율적으로 생산하는 방법이 연구되어 있다³⁵⁾. 이러한 고정화 효소를 쓰는데 있어서 문제시되는 것은 온도에 대한 안정성인데, 비교적 저온도에서 사용함으로써 고정화 효소의 활성을 오래 지속 시킬 수 있다는 것이 연구되어 실질적인 응용면에서 각광을 받고 있다. 예를들면 고정화 amyloglucosidase 를 40°~45°정도에서 처리하면 그 활성이 별로 떨어지지 않고 활성의 반감기를 2~3시간 지속 시킬 수 있는 장점이 있다. Smiley³⁶⁾는 DEAE-cellulose 나 초자구에 고착시킨 amyloglucosidase 는 가용성 효소보다 그 활성이 60 배나 증가했다는 것을 실증하였고 Corning Co. 에서는 초자구에 고착시킨 amyloglucosidase 를 써서 포도당을 생산할 수 있는 시험공장을 건설한바 있다^{36,37)}.

4) 이성화당 생산업 : glucose isomerase 를 써서 포도당을 과당으로 이성화 시켜서 이성화당 액당을 생산함으로써 설탕 대치 감미료 개발에 이바지한바 크다. 이 효소의 문제점은 세포내에 들어있기 때문에 그 분리공정이 비싸며 효소의 생산가가 높다는 것이다. 그러나 균체 고정화법의 개발과 더불어 이 효소는 널리 실용화 되었다. 고정화의 한가지 방법으로 glucose isomerase 가 들어있는 균체 전체를 간단한 열처리 또는 bifunctional reagent 처리법을 사용하고 있다. 그러나 균체를 사용하는 경우에 있어서 세포속에 들어있는 다른 효소의 작용때문에 원치않는 부산물이 많이 생기며, 단위 부피당 활성도가 작아서 다량의 효소제를 써

야하며, 또 효소의 안정도가 낮으며, 최종생산물에서 부산물인 색소와 같은 물질을 제거하는데 비용이 많이 든다는 것이다. 따라서 세포전체를 사용하면다는 것은 문제점이 많기 때문에 근래에 와서는 순수분리된 효소를 사용하여 고정화 효소를 만드는 것이 더 유용하다고 인정되어 이런 방향으로 연구가 진전되어 가고 있다^{38,39)}.

5) 포도주 및 과즙 침등 공정 : 고정화 pectinase는 포도주나 과즙 생산업에서 깨끗한 생산품을 만드는데 쓰이며⁴⁰⁾, 고정화 papain은 맥주속에 들어있는 혼탁성 단백질을 분해 제거시키는데 쓰인다⁴⁰⁾.

6) 기타 : 이외에도 일본에서는 L-amino acid acylase를 DEAE-cellulose에 부착시켜서 만든 고정화 효소로 DL-amino acid (특히 threonine 및 methionine)을 분리시키는데 사용하고 있으며⁴¹⁾. 미국, 영국등지에서는 penicillling로부터 6-amino penicillanic acid를 생산하는데 고정화 penicillin amidase를 쓰고 있다⁴²⁾.

앞으로 고정화 효소는 antibiotics나 steroid와 같은 생화학물질 생산과정에 많이 쓰일 것이 예상된다. 의료용으로 효소치료법에 쓰일 경우 효소 단백질을 혈관내에 주입시켰을 때에 생기는 면역성 또는 효소의 유실문제가 있다. 이러한 문제점을 해결하여 장기적 임상효과를 얻고자 하는 방도의 하나가 microencapsulation 기술^{21,27)}이며 실제로 임상효과를 얻고 있음이 보고되어 있다. 임상실험에 성공한 예로써는 L-asparaginase와 urease 등이 있으며 앞으로 효소 치료법의 임상적 연구가 진전됨에 따라 이 분야의 고정화 효소 산업이 각광을 받게 될 것이다.

분석용으로 쓰는 고정화 효소로 좋은 예는 혈당 또는 뇨당량을 간단히 측정하는데 쓰이는 glucose test-stick(또는 test paper)가 있는데 이 제품은 glucose oxidase와 proxidase를 여과지에 흡수 고정시켜서 만든 것이다. 근래에 와서는 고정화 효소를 이용하여 효소전극(enzyme electrode)을 개발함으로써 어떤 특수물질을 쉽게 측정하는 방법이 연구되고 있다. 이러한 효소전극⁴⁴⁻⁴⁶⁾은 이온 특이성전극이나 산소전극에 고정화 효소를 접착시켜서 만들었으며 효소작용의 분해산물을 정량적으로 빨리 측정할 수 있게 고안된 것으로 앞으로 분석용으로 널리 이용될 것이다. 이러한 효소전극의 두가지 실험을 들어보면 첫째로 urea-specific electrode가 있는데 이것은 urea가 분해해서 생성되는 NH_3 를 측정할 수 있는 NH_3 특이성 전극과

노소를 분해시키는 urease를 polyacrylamide gel에 포착시킨 고정화 효소를 연결시켜서 만든 것이다. 둘째 예로 glucose-specific electrode는 산소전극에 고정화 glucose oxidase를 접착시켜서 만든 것으로 용액속의 산소감량을 측정함으로써 포도당의 함량을 재는 방법이다.

참 고 문 헌

- 1) Silman, I. H. and E. Katchalski, *Ann. Rev. Biochem.* **35**, 873 (1966).
- 2) Barker, S. A. and R. Epton, *Proc. Biochem.* **5** (#8), 14 (1970).
- 3) Zoborsky, O. R., "Immobilized Enzymes" CRC Press, Cleveland, Ohio, 1974.
- 4) Goldstein, L., Y. Levin, and E. Katchalski, *Biochem.* **3**, 1913 (1964).
- 5) Goldstein, R., O. Kedam, J. H. Silman, S. R. Caplan, and E. Katchalski, *Biochem.* **7**, 486 (1968).
- 6) Weetall, H. H., *Science* **166**, 615 (1969).
- 7) Bernfeld, P., and R. E. Bieber, *Arch. Biochem. Biophys.* **131**, 587 (1969).
- 8) Weetall, H. H., *Biochem. Biophys. Acta* **212**, 1 (1970).
- 9) Goldstein, L., M. Pecht, S. Blumberg, D. Atlas, and Y. Levin. *Biochem.* **9**, 2322 (1970).
- 10) Goldstein, L., In "Methods in Enzymology", ed. by G. Perlman L. Lorand, Vol. 19, p. 935, Academic Press, New York, 1970.
- 11) Hornby, W. E., M. D. Lilly, and E. M. Crook, *Biochem. J.* **107**, 669 (1968).
- 12) Goldstein, L. and E. Katchalski, *Z. Anal. Chem.* **243**, 375 (1968).
- 13) Wharton, C. W., E. M. Crook, and K. Brocklehurst, *Eur. J. Biochem.* **6**, 572 (1968).
- 14) Kay, G. and M. E. Lilly, *Biochim. Biophys. Acta* **198**, 276 (1970).
- 15) Lilly, M. E., W. E. Hornby, and E. M. Crook, *Biochem. J.* **100**, 718 (1966).
- 16) Bar-Eli, A. and E. Katchalski, *J. Biol. Chem.* **238**, 1690 (1963).
- 17) Cresswell, P. and A. R. Sanderson, *Biochem. J.* **119**, 447 (1970).
- 18) Nelson, J. M. and E. G. Griffin, *J. Amer.*

- Chem. Soc.* **38**, 1109 (1916).
- 19) Tosa, T., T. Mori, N. Fuse, and I. Chibata, *Enzymologia* **31**, 214 (1966).
 - 20) Bemfoll, P. and J. Wan, *Science* **142**, 678 (1963).
 - 21) Chang, T.M.S., *Science* **146**, 524 (1964).
 - 22) Weetall, H.H., *Nature* **223**, 959 (1969).
 - 23) Weetall, H.H., *Research/Development, Corning Glass Works*, Dec. 1971 p. 18.
 - 24) Tevin, Y., M. Peht, L. Goldstein, and E. Katchalski, *Biochem.* **3**, 1905 (1964).
 - 25) Avrames, R. and T. Ternynck, *J. Biol. Chem.* **242**, 1651 (1964).
 - 26) Haynes, R. and K.A. Walsh, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **36**, 235 (1969).
 - 27) Lilly, M.D. and A.K. Sharp, *Chem. Eng. (London)* **215**, CE12 (1968).
 - 28) Weetall, H.H. and N.B. Havewala, *Biotech. Bioeng.* **14**, (1972).
 - 29) Weetall, H.H. and L.S. Hersh, *Biochim. Biophys. Acta* **206**, 54 (1970).
 - 30) O'Neill, S.P., P. Dunnill, and M.D. Lilly, *Biotech. Bioeng.* **13**, 337 (1971).
 - 31) Smiley, K.L., *Biotech. Bioeng.* **13**, 309 (1971).
 - 32) O'Neill, S.P., J.R. Wykes, P. Dunnill, and M.D. Lilly, *Biotech. Bioeng.* **13**, 319 (1971).
 - 33) Ferrier, L.K., T. Richardson, N.F. Olson, and C.L. Hioks, presented at 66th Annual Meeting of the American Dairy Science Association, Michigan State University, June, 1971.
 - 34) Wilson, R.J.H. and M.E. Lilly, *Biotech. Bioeng.* **11**, 349 (1969).
 - 35) Smiley, K.L., *Biotech. Bioeng.* **13**, 309 (1971).
 - 36) Weetall, H.H., *Research/Development, Corning Glass Work*, May 1973.
 - 37) Weetall, H.H. and N.B. Harewada, in "Enzyme Engineering" ed. by L.B. Wingard, Jr., Interscience Publishers, New York, N. Y., 1972. p. 241.
 - 38) Davis, J.C., *Chem. Eng.* **81** (#5), 52 (1974).
 - 39) 한문희, 한국식품과학회지 **6**, 241 (1974).
 - 40) Messing, R.A., *Brewers Digest* **46** (#12), 60 (1971).
 - 41) Tasa, T., T. Mori, N. Fuse, and Chibata, *Agr. Biol. Chem.* **33**, 1047 (1969)
 - 42) Self, D.A., G. Kay, M.D. Lilly, and P. Dunnill, *Biotech. Bioeng.* **11**, 337 (1969).
 - 43) Chang, T.M.S., *Inst. J.* **16**, 35 (1969).
 - 44) Guilbault, G.G. and J. Montalvo, *J. Amer. Chem. Soc.* **92**, 2533 (1970).
 - 45) Clark, L.C., Jr., in "Enzyme Engineering" ed. by L.B. Wingard, Jr., Interscience Publishers, New York, N. Y., 1972, p. 377.