

생전분의 효소당화에서 유리구 마찰효과

최 성 현 · 김 찬 조 · 이 석 건

충남대학교 식품가공학과

Attrition Effect of Beads on Enzymatic Saccharification of Raw Starch

Seong-Hyun Choi, Chan-Jo Kim and Seuk-Keun Lee

Department of Food Science and Technology, Chungnam

National University, Taejeon 305-764, Korea

Abstract

To optimize the enzymatic saccharification of raw-starch, reaction conditions by shaking with glass beads were adapted together with α -amylase from *Streptomyces* sp. 4M-2 and amyloglucosidase from commercial source. When raw-starch was degraded by the α -amylase in shaking flask with beads (raw-starch : bead in diam. of 3mm=1 : 5 by weight) at the shaker speed of 300rpm, the saccharification rate of corn and potato starch were increased up to 88% and 69% after 30 hrs of reaction, respectively. Application of the amyloglucosidase in combination with the α -amylase enhanced the rate of saccharification: 88% of saccharification was obtained in 6 hrs for raw-corn starch under the same reaction conditions as above.

서 론

전분질의 무중자 당화는 에탄올 발효 공업에서 생산공정을 단축시키며 에너지를 절약할 수 있다.

이에 대한 연구는 생전분 분해력이 강한 균주의 개발¹⁻³⁾, 산·알칼리 처리로 전분의 구조적 변화를 야기시켜 당화시키는 방법^{4,5)}, 당화와 알콜 발효를 동시에 하는 방법^{6,7)} 등이 있다. 효소를 이용한 생전분의 당화는 장시간이 소요되며¹⁻³⁾, 전분의 산당화액을 발효기질로 사용할 때는 hydroxymethylfurfural 등으로 인하여 발효율이 저하되며⁴⁾, 알칼리에 의한 전처리는 점도가 증가하는 등의 단점이 있다⁵⁾. 한편 생전분액에 분쇄마찰매체인 유리구를 가하여 진탕시키면서 효소당화를 하면 당화속도 및 당화수율을 증가법의 경우와 유사한 수준으로 향상시킬 수 있었다는 이 등^{8,9)}의 보고가 있다.

필자 등은 감자전분에 대한 분해력이 강한

Streptomyces sp. 4M-2가 생산하는 생전분 분해 효소를 보고하였으며^{10,11)}, 이어서 전분액에 효소와 유리구를 혼합하여 진탕시켜 이 효소의 생전분에 대한 당화율을 증대시키는 결과를 얻었으므로 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재 료

純正化學(株)계 옥수수전분 및 감자전분과 *Streptomyces* sp. 4M-2균주의 배양액을 원심분리하고 그 상정액을 황산암모늄으로 염색하여 얻은 침전물을 투석 후 동결건조시킨 조효소표품과 Sigma사의 amyloglucosidase 그리고 직경 3mm의 유리구를 사용하였다.

2. 방 법

1) 전분의 총당량 측정

생전분 0.1g에 10ml의 1N-HCl을 가하여 100°C에서 3시간 가수분해시켜 NaOH로 중화한 후 생

1989년 10월 24일 수리

Corresponding author : C.J. Kim

성된 환원당을 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)법으로 정량하였다.

2) 호정화력 측정

Meda와 Chandra의 방법¹²⁾에 따라 1% 가용성 전분 0.5ml에 50mM 초산완충액(pH 5.5) 0.4ml와 적당히 희석한 조효소표품액 0.1ml를 가하고 40°C에서 5분간 반응시킨 뒤 1N-HCl을 0.5ml 가해 반응을 정지시켰으며 여기에 0.3% I₂용액(3% KI 포함) 0.1ml를 첨가 후 15ml로 희석하여 700nm에서 흡광도를 측정하였다. Amyloglucosidase의 경우는 pH 4.5인 초산완충액을 사용하여 같은 방법으로 측정하였다. 호정화력가는 40°C에서 1분간에 blue value를 10% 저하시킨 가용성 전분의 mg수로서 나타내었다.

3) 당화력 측정

호정화력 측정 때와 같이하였으나 반응시간은 10분으로 하였고 반응종료 후 DNS법으로 당을 정량하였다. 당화력가는 40°C에서 10분간에 가용성 전분으로부터 생성된 glucose의 mg수로서 표시하였다.

4) 조효소표품에 의한 당화

(1) 유리구의 첨가량별 효소반응 : 100ml 삼각플라스크에 옥수수 전분 3g, 50mM 초산완충액(pH 5.5) 10ml와 유리구를 9g에서 3g 간격으로 21g까지 각각 첨가하고 2.5%의 조효소표품액 0.2ml(당화력 66.8U)를 혼합하여 항온 회전진탕기(진폭 20mm)로 40°C에서 300rpm으로 교반시키면서 당

화시켰다.

(2) 교반 속도별 효소반응 : 유리구 첨가를 15g으로 하고 rpm을 200, 250, 300으로 각각 조정하여 당화시켰다.

(3) 감자전분의 당화 : 15g의 유리구를 첨가하고 300rpm으로 옥수수 전분 당화와 같은 방법으로 감자전분을 당화시켰다.

5) 조효소표품과 amyloglucosidase 병용효과

먼저 amyloglucosidase의 작용최적 pH를 알아보기 위해서 10%의 amyloglucosidase액 0.2ml(당화력 77.5U)를 첨가해서 pH 4.5, 5.0, 5.5에서 반응시켰다. 조효소표품의 작용최적 pH는 5.5였으므로¹¹⁾ 이 두 효소를 동시에 사용하였을 때의 pH별 당화율을 조사하였다. 즉 조효소표품액 0.2ml와 amyloglucosidase 0.2ml를 첨가한 다음 pH 4.5, 5.0, 5.5에서 반응시켰다.

또한 전분질의 고농도 당화에 효과적인 조건을 찾기 위해서 유리구 15g에 pH 5.0인 초산완충액(50mM) 10ml를 가한 후 옥수수전분을 7g 첨가(42%)한 다음 2.5% 조효소표품액 0.4ml(당화력 133.6U)와 10% amyloglucosidase액 0.4ml(당화력 155U)를 가한 回分法과 처음에 전분 3g을 가한(21%) 다음 반응을 시작하여 8시간과 24시간 후에 각각 2g(10.5%)씩 분할첨가한 방법을 비교하였다. 실험에 사용한 2.5% 조효소표품액과 10% amyloglucosidase액의 특징은 Table 1과 같다.

Table 1. Properties of the enzyme sources

Enzyme sources	Characteristic	Enzyme activity		Protein mg/ml
		Liquefying (Iodine) Units/ml	Saccharifying (DNS) Units/ml	
<i>Streptomyces</i> sp. 4M-2		1,204	334	8.456
Amyloglucosidase		8,163	387.5	7.840

결과 및 고찰

1. 유리구 첨가량

Fig. 1과 같이 옥수수전분과 유리구의 중량비가 1:5일 때 당화율이 가장 좋았으며 1:6과 1:7의 비율로 첨가했을 때는 6시간경까지의 초기 당화율은 좋았으나 시간이 경과함에 따라 1:5와 1:3의 첨가구보다 낮았다.

이와 조⁸⁾의 보고에서는 쌀보리 분말 : 유리구의

중량비가 1:2였을 때 가장 효과가 좋았다고 보고한 바 있다.

2. 교반속도의 영향

옥수수전분 : 유리구의 중량비를 1:5로 한 다음 교반속도를 달리하여 생전분의 당화율을 측정 한 결과는 Fig. 2와 같다.

교반속도를 증가시킬수록 생전분에 대한 유리구의 충격이 커져 당화율이 높았다.

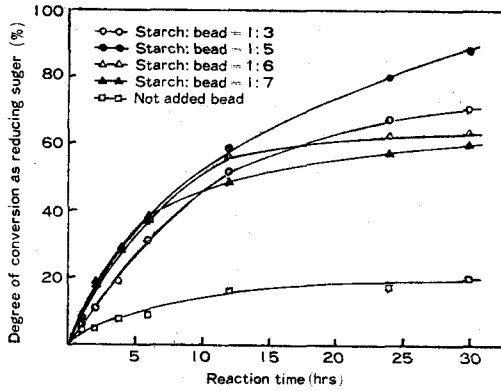


Fig. 1. Effect of the amount of beads charged in the reaction flask on the saccharification of raw corn starch by *Streptomyces* sp. 4M-2 α -amylase.

The speed of agitation was 300rpm.

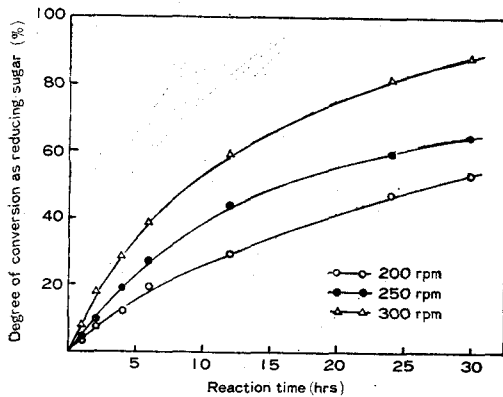


Fig. 2. Effect of agitation on the saccharification of raw corn starch by *Streptomyces* sp. 4M-2 α -amylase.

The ratio of substrate and beads in the reaction system was 1:5 by weight.

감자전분: 유리구의 중량비가 1:5이고 교반속도가 300rpm일 때의 당화율은 Fig. 3과 같다.

전분의 구조적인 차이 등으로 분해가 잘 안되는 것으로 알려진 감자전분의 당화율은 12시간까지는 옥수수전분과 거의 같았으나 그 후에는 당화율의 증가가 완만하여 30시간 후에는 옥수수전분의 당화율 88%보다 낮은 69% 정도였는데 감자전분은 분해됨에 따라 특히 점도가 증가되어 유리구의 마찰작용을 둔화시키기 때문이라고 생각된다.

3. Amyloglucosidase의 병용효과

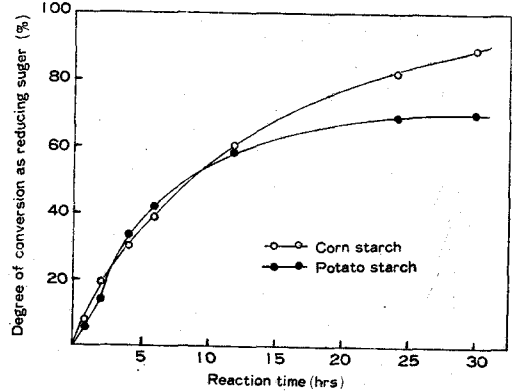


Fig. 3. The rate of hydrolysis of raw corn and potato starch by *Streptomyces* sp. 4M-2 α -amylase.

The ratio of substrate and beads in the reaction system was 1:5 by weight and the speed of agitation was 300rpm.

전보¹¹⁾에서 *Streptomyces* sp. 4M-2의 amylase는 α -amylase로 추정되었으므로 이 실험에서는 amyloglucosidase와 병용하여 그 당화율에 대한 효과를 검토하였다.

1) pH의 영향

Fig. 4와 같이 pH 5.0에서 옥수수전분의 분해가 가장 잘 되었다.

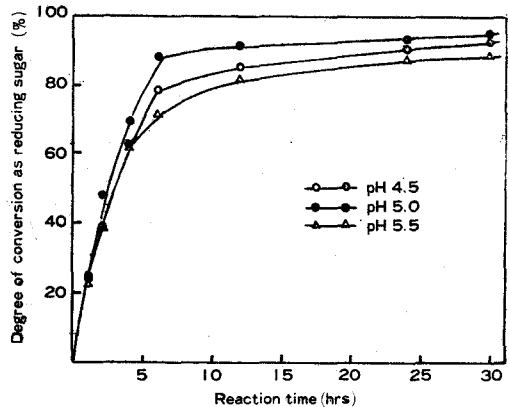


Fig. 4. Effect of pH on the saccharification of raw corn starch by *Streptomyces* sp. 4M-2 α -amylase and amyloglucosidase.

The reaction conditions were the same as previously adapted in Fig. 3.

Amyloglucosidase의 작용최적 pH는 4.5이고 *Streptomyces* sp. 4M-2의 α -amylase의 최적 pH는 5.5였기 때문에¹¹⁾ 그 사이값인 pH 5.0에서 분

해율이 가장 큰 것으로 생각된다. 가수분해율은 88%에 달하는데 6시간 정도가 소요되어서 두 효소 중 한 효소만 사용하였을 때보다 당화시간이 단축되었다.

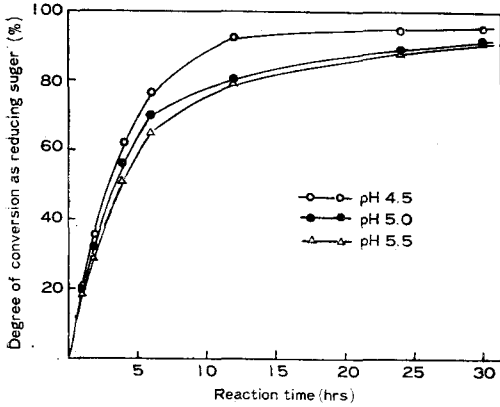


Fig. 5. Effect of pH on the saccharification of raw corn starch by amyloglucosidase.

The reaction conditions were the same as previously adapted in Fig. 3.

2) 고농도 전분의 당화

42%의 옥수수전분의 당화에서 Fig. 6과 같이 전분을 동시에 첨가한 回分法이 분할첨가법에 비하여 46시간 까지는 당화율이 높았고 그 이후는 비슷하였다.

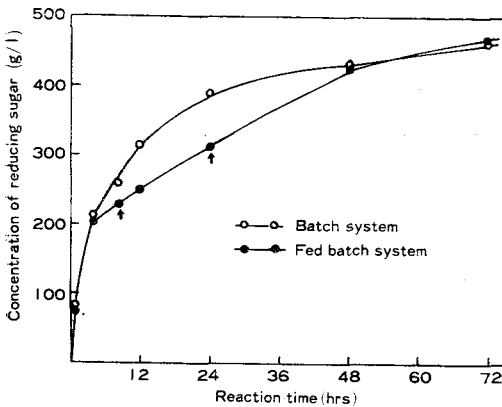


Fig. 6. Effect of the substrate feeding procedures on the saccharification of raw corn starch at a high concentration using the two enzymes.

The initial starch concentrations were 42% for the batch system and 21% for the fed batch system. The additional feedings for the fed batch system were conducted after 8 and 24 hrs at the concentration of 10.5% each.

초 록

생전분 분해효소에 의한 전분의 당화에서 유리구를 첨가시켜 회전진탕시킴으로 당화시간의 단축과 당화율의 증대에 효과가 있었다.

옥수수전분과 유리구의 중량비를 1:5로 하여 *Streptomyces* sp. 4M-2의 α -amylase를 첨가하고 300rpm으로 교반시켰을 때 30시간 후에 88%, 감자전분에서 69%의 당화율을 나타냈다. 옥수수전분에서 amyloglucosidase를 병용하였을 때는 6시간 후에 88%의 당화율을 보였다.

참 고 문 헌

1. 손천배, 박윤중 : 충남대 농기연보, 10(1) : 166 (1983)
2. Fujio, Y., P. Suyanadana, P.S. Attasampunna and S. Ueda : *Biotechnol. Bioeng.*, 26 : 315(1984)
3. 김찬조, 오만진, 이종수 : 한국산업미생물학회지, 13(4) : 329(1985)
4. Lee, S.Y., Y.C. Shin, H.S. Kim and S.M. Byun : *J. Ferment. Technol.*, 63(1) : 51(1985)
5. Shin, Y.C., S.Y. Lee, Y.K. Choe, H.S. Kim and S.M. Byun : *Biotechnol. Bioeng.*, 28 : 627(1986)
6. Matsuoka, H., Y. Koba and S. Ueda : *J. Ferment. Technol.*, 60(6) : 599(1982)
7. 배무, 이제문 : 한국산업미생물학회지, 11(3) : 181(1983)
8. 이용현, 조구형 : 한국산업미생물학회지, 14(1) : 29(1986)
9. 이용현, 조구형 : 한국산업미생물학회지, 14(5) : 399(1989)
10. 최성현, 김찬조, 오만진, 이종수 : 한국산업미생물학회지, 16(6) : 457(1988)
11. 최성현, 김찬조, 오만진, 이종수 : 한국산업미생물학회지, 17(2) : 136(1989)
12. Meda, S. and A.K. Chandra : *J. of Applied Bacteriology*, 48 : 47(1980)