미생물적 발효에 의한 Levan의 제조와 그 특성

목 차

Ⅰ. 서 론
Ⅱ. 자연에서의 존재(occurence)
Ⅲ. 생합성(biosynthesis)
Ⅳ. 화학구조와 특성
Ⅴ. Levan생산
Ⅵ. Levan의 이용

한 윤 우
U.S. Agricultural Research Servise
Southern Regional Research Center.
New Orleans, La 70179

Ⅰ. 서 론

산업계에서는 많은 양의 천연 다당류가 사용되고, 다당류의 새로운 공급원을 끊임없이 찾고 있다. 최근에는 미생물 발효에 의해 다당류를 생산하는 쪽으로도 연구가 진행되고 있다. 예로서 dextran과 xanthan gum을 들 수 있다. 이것들은 *Leuconostoc mesenteroides*와 *Xanthomonas campestris*에 의해 각각 발효제조된다. 최근 설탕산업에서는 저가의 대체 감미료로 사용되는 high fructose corn syrup의 도입에 의해 심한 경쟁에 직면해 있어 꾸준히 설탕으로부터 고가 제품을 찾고 있다.

Levan은 과당의 천연중합체인 fructan이다. 천연 fructan에는 두 종류가 있는데 $\beta(2-6)$ 결합체인 Levan과 $\beta(2-1)$ 결합체인 inulin이 있다. Levan은 대부분의 자당이 $\beta(2-6)$ 결합을 가지는 polyfructan의 속명이며 더 학술적인 이름은 $(2-6)$-β-D-fructan이다. 저분자량의 levan과 inulin(M.W.<5000)는 많은 식물에 저장 탄수화물의 형태로 존재하나, 고분자량의 levan은 미생물에 의해 생산된다. 미생물이 생산하는 levan은 dextran같이 설탕가공시 오염되어 당액의 점도를 높이기 대문에 설탕제조업에서는 바람직하지 못한 부산물로 여겨왔다. Levan의 존재는 19세기 말에 벌써 알려졌고,[1] levan이라는 이름은 dextran의 유사어로 통용되어 왔다. 이 보고서는 자당(sucrose)으로부터 세균적 발효에 의해 생산되는 levan의 제조과정과 제품의 특성을 조사보고한다.

Ⅱ. 자연에서의 존재 (Occurence)

많은 미생물들이 세포벽에 붙은 막낭(cell wall) 또는 생장매체(growth medium)에 분비하는 점액상의 세포외 다당류를 생성한다. 이러한 물질은 균체의 자체방어나 식품저장용으로 형성된다. 토양 미생물, 특히 *Bacillus sp.*가 주로 levan을 생산하나 어떤 구강세균도 levan을 생산하여 인간의 치석에 축적하며 몇 종의 효모와 곰팡이도 이를 생산한다.[2,3,4] 표 1은 levan을 생산하는 미생물을 나타낸 것이다.

Levan은 또한 어떤 외떡잎 식물에서도 발견되며, inulin은 주로 쌍떡잎 식물에서 발견된다. Levan과 inulin은 다 같은 fructan으로 밀접하게 연관되어 있으나 결합구조와 특성이 다르다. 식물성 levan은 phleins라 불리며 세균성 levan보다 분자량이 적고 여러 식물조직에 분포되어 있으나 잎에는 소량 존재하고, 뿌리, 구근, 덩이줄기, 뿌리줄기와 숙성된 열매에서 많은 양이 발견된다. Levan의 양은 추위 한발시에 증가하나

표 1. Levan을 생산하는 미생물

Microorganism	References
Acetobacter pasteurianus	4
Actinomyces viscosus	37
Achromobacer sp.	30
Aerobacter aerogenes	38
Aerobacter leavnicum	11, 12
Arthrobacter ureafaciens	21
Azotobacter chroococum	22
Bacillus amyloliquefaciens	14
Bacillus megaterium	12
Bacillus mesentericus	12
Bacillus polymyxa	22, 31
Bacillus subtilis	15, 21, 22, 14
Corynebacterium levaniformans	15
Corynebacterium beticola	12
Gluconobacter oxydans	12
Leuconostoc mesenteroides	39
Pseudomonas sp.	39, 40
Rothisdent ocariosa	39
Streptococcus salivarius	2, 3, 39
Xanthomonas sp.	15, 40
Zymomonas mobilis	39, 40
Yeast	40
Aspergillus sydawi	4
Aspergillus versicolor	4

식물에서 levan의 존재는 전분의 유무나 C_3와 C_4 식물과도 상관관계가 없다.[5,6,7] 식물의 표면에서 흔히 보는 물집현상(water-soaked appearance)은 오염된 세균에 의해 형성된 levan에 기인한다.[8] Levan은 식물의 근권에서 수분의 보유와 토양의 결합을 돕는 역할도 한다.[9]

Ⅲ. 생합성 (Biosynthesis)

1. 효소 (levansucrase)

Levan의 생합성에는 자당에 특이성을 보이는 세포외 효소인 levansucrase(sucrose-6-fructoslytransferase)를 필요로 한다. Levan의 생합성에 관한 대부분의 연구는 *Bacillus substilus, Aerobacter levanicum*과 *Streptococcus salivarius*로 부터 얻은 효소를 사용해 왔다. 이들 효소는 철저히 정제되었고, 작용방식도 상세히 알려져 있다.[10,11,12,13,14] *B. substilis*의 levansucrase는 유도(inducible), 세포외 효소인데 *A. levanicum*의 효소는 구성(constitutive), 세포내 효소이다.[15] Levansucrase가 주요사슬인 $\beta(2-6)$과 가지 $\beta(2-1)$ 결합을 합성하는 하나의 효소인지 여러개의 효소 복합체인지 불확실하다. 전분이나 dextran 생성시와 같이 levan 사슬은 전달체(donor)에서 성장하는 수용체(acceptor) 분자로 hexosyl기를 하나씩 반복해서 옮기면서 단계적으로 성장한다.[16,17,18]

$$n\ C_{12}H_{22}O_{11} + HOR \rightleftarrows H(C_6H_{12}O_5)+n(C_6H_{12}O_6)$$
Sucrose Acceptor Levan Glucose

Levansucrase는 성장하는 levan사슬의 비환원성 과당말단기의 C_6 수산기에 fructofuranosyl기를 단계적으로 첨가하는 작용을 한다. 자당으로부터 중합체 성장 개시단계의 원리가 명확하게 이해되지는 않았으나 이 효소는 아래와 같이 두 단계의 쉽게 가역적인 초기단계와 뒤이어 일어나는 비가역적인 단계의 반응을 촉매하는 것으로 생각된다.

$$fru\text{-}R + enz \rightleftarrows fru\text{-}enz + R$$

$$fru\text{-}enz + acceptor \rightarrow fru\text{-}acceptor + enz$$

기질분자(substrate molecule)의 aldoside 부분은 효소결합기에 의해 대치되고 이 levan의 전구체(precursor)가 aldose와 ketose로 부분적인 분해를 일으킬 때 생성되는 에너지로 levan 합성시 필요한 에너지를 충당하는 것으로 추측된다. 모든 levan 형성체계는 transfructosylation의 생성물로 과당과 일련의 소당류(oligosaccharides)를 생산한다. 그러므로 levan의 생산량은 이용되는 자당의 약 20~30% 또는 유용한 과당의 40~60% 정도이다. 효소는 Michaelis 상수가 0.02에서 0.06M로서 전달기질로 자당을 이용한다.[15] 자당에서의 levansucrase의 최적 pH는 5.0~6.0이고, pH 4.4와 7.5에서 활성은 pH 6.0에서의 속도의 반이다.[15,19] 효소의 활성은 pH 5.0에서 며칠간 안정하나, 37℃에서 그 활성을 점차적으로 잃어가며 100℃에서

는 완전히 활성을 잃는다. 금속(예 Fe^{2+}, Al^{3+}, Zn^{2+})의 첨가는 온도에 따른 효소의 안정성을 증가시킨다.[15]

자당의 가수분해와 과당의 중합화는 동시에 일어나기 때문에 levan합성에서 정확한 평형위치를 측정하기는 어려우나 평형에서 자당에 대한 levan의 비는 역반응이 나타나지 않기 때문에 일반적으로 1.0보다 큰 것으로 생각된다.

Levan의 최고생산량은 이론적 최대값의 62% 정도로 보고되었다.[17] Levan의 존재는 levansucrase 형성시 필수적인 것은 아니나 levan 합성체계에 이미 형성된 primer의 첨가는 중합화의 속도를 가속하며 최종생산량을 증가시키고 균일한 중합도는 일반적으로 인온세기에 의해 조절되며, levan의 효소적 합성은 adapter (preformed primer)가 존재하지 않는데서도 일어날 수 있다. *B. subtilis*의 levansucrase는 상온보다 낮은데서 더 효과적으로 levan을 합성한다.[21]

2. 특이성 (specificity)

Levansucrase의 특이성은 D-fructose 뿐만 아니라 기질의 aldose 간기에 의존하므로 sucrose, raffinose와 전화당에 작용한다.[17] 말단 과당은 일반적으로 효소활성을 위해 필요한 것으로 알려져있으나 말단과당을 가진 어떤 기질은 levan 생산에 적당치 못하다. 이 효소는 말단 fructofuranose기를 가진 일반당이나 다른 기질(예 : fructose, phosphate methylfructoside inulin)을 이용하지 못한다. Raffinose로부터 levan의 생성량은 자당에서 생산되는 것의 1/3 정도이다. Raffinose가 기질로 이용될 때 생산물은 levan, melibiose와 과당이며 자당과 galactose는 생성되지 않는다. 포도당이 끝인 일련의 2.6 - 결합의 다당류는 levan합성에 사용될 수 있다.[16] 그러나 levanbiose, levantriose나 levantetraose는 수용기로 사용되지 못하는 것으로 알려져 있다. 또한 *B. subtilis*의 levansucrase 포도당에서 약간의 친화성을 가지나 과당에는 친화력이 없다.

3. 효소 작용의 억제 (enzyme inhibition)

Levansucrase에 의해 자당으로부터 levan의 형성은 여러가지 당류와 당알콜에 의해 억제된다. 억제는 당과 배양체, 예를 들어 포도당, methyl D-glucoside와 C_2의 configuration이 D-glucose와 유사한 것들에 의해 일어난다. 그러나 C_2 configuration이 포도당과 다른 D-mannose, D-fructose나 D-mannitol 같은데에서는 억제가 일어나지 않는다.[16] 포도당에 의한 levansucrase 활성의 억제는 포도당농도의 함수로 16% 포도당농도에서 levan 생성이 완전히 억제된다.[22] 포도당의 억제효과는 포도당의 농도가 과당의 농도에 상대적으로 적어질때 점차 감소된다. 그러므로 포도당의 억제효과는 포도당이 자당의 포도당부분과 효소에 대한 경쟁현상으로 여겨진다.

4. 가수분해 (hydrolysis)

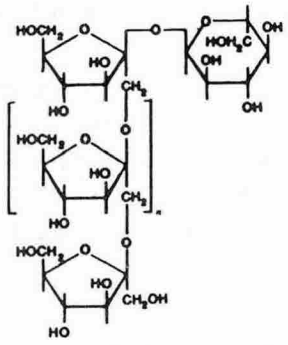
많은 levan형성 미생물들은 가수분해 효소인 levanases를 동시에 생산한다.[22] 예를들면 *Pseudomonas, Azotabacter, Aerobacter, Serratia, Bacillus*와 *Clostridium*들이 levanases를 생산하며, 또 levansucrase 자체도 특정조건하에서 가수분해를 일으키는 것으로 여겨진다. Levan의 효소적합성의 역반응의 간접적 증거는 있으며 그러한 효소분해의 성질에 대해 거의 알려진 것도 없다. *B. subtilis*의 levansucrase는 작은 levan을 가수분해하는데 이 가수분해 작용은 분자사슬 분기점에서 멈춘다.[12] Inulin, inulobiose, inulotriose나 methyl-D-fructofuranoside는 levanases에 의해 가수분해되지 않으나 이들 기질은 inulinase나 yeast invertase에 의해 분해된다. 이러한 가수분해적 활성은 많은 levan 제조시 최종산물이 단일종의 고분자 중합체인 경우보다는 이종 단사슬 다당류가 있는 것으로 짐작할 수 있다.

Ⅳ. 화학 구조와 특성 (Chemical Structure and Properties)

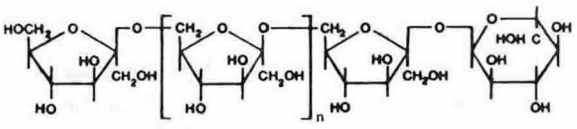
1. 화학 구조 (chemical stuture)

Levans은 사슬의 끝에 D-glucosyl 잔기를 갖는 β(2-6) 결합에 의해 연결된 D형 과당의 중합체이다. 이들은 자당의 유도체로 여겨지는 일련의 동질의 소당류와 다당류로 구성된다. Levan과 inulin은 일반적으로

G-F-(F)n 구조식으로 나타내어진다. 그림 1에 levan과 inulin의 화학구조가 나타나있다.



a. Inulin (F2–1F2–1F2–1F2–1G)



b. Levan (F2–6F2–6F2–6F2–1G)

그림 1. Inulin (a)과 levan (b)의 화학구조.

Levan의 구조는 $\beta(2-6)$의 수직선 사슬로 나타내어지나 어떤 세균성 levan은 $\beta(2-1)$의 결합에 의해 분기된다. 분기사슬은 일반적으로 짧고 때때로 하나의 과당잔기로 구성된다. 체외 효소로서 합성된 levan의 구조는 생체에서 생산된 것과 유사하나 길이가 다르다. 체외효소에서 생산된 levan의 평균 사슬길이는 10—12단위체로 되어있는 반면 생체에서의 경우 사슬길이가 더 길어 때때로 분자량이 몇백만을 넘는 것도 있다. 여러 생체에서 생산하는 levan의 구조는 유사한 것으로 알려져 있으며, 단지 중합도가 다른 것으로 나타나있다.

Levan은 furanose 형태로 존재하는 몇 않되는 탄수화물의 천연적 중합체의 하나로 이 구조적 특성은 levan의 수용성에 큰 영향을 미친다. 더우기 대부분의 저장 다당류의 비교적 단단한 pyranose고리(ring)와 비교하여 furanose 고리의 유연성은 전체 fructan 분자에 부가적인 특성을 부여한다.[23,24]

2. 특성 (properties)

Levan의 조성과 특성은 미생물이 자라는 환경적 요인에 크게 의존한다. Levan의 일반적인 특성은 dextran과 유사한 점이 많으며 이는 좌선성, 무정형 또는 결정형이며 물에 녹고 alcohol에 의해 침전된다. Levan은 inulin보다 물에 더 잘 녹는데 이러한 levan의 높은 용해도는 $\beta(2-6)$ 결합의 특성에 기인한다. Levan은 비환원성이며 yeast invertase와 amylase의 작용에 의해 가수분해되지 않으나 산에 의해 쉽게 가수분해된다. 이들은 전분특유의 요오드(iodine) 반응에 의한 녹색을 나타내지 않으나 HCl에 의하여 자색을 나타내어 과당을 포함하지 않는 다당류로부터 levan을 구별할 수 있다.[25] Levan의 분자량과 점도는 생산하는 미생물에 따라 매우 다양하다. 일반적으로 수용액에서 levan의 점도는 여러가지 염이 존재할 때 뚜렷하게 증가하나 온도가 증가함에 따라 점도는 감소된다.[26]

Levan의 생리적인 특성으로는 전염(infection)과 탄저(necrosis)의 촉진, 종양(tumor) 억제와 자극, 그리고 세포 독성물질의 세포투과성 증가를 들 수 있다.[12,27] 전염은 분자량이 큰 (M.W.>10^7) levan만이 촉진하며, 이러한 효과는 중합체가 분해할 때 잃게 된다. 천연 levan은 혈청학적으로 활성이 있으며 항체 생산을 유도하나 정체된 levan은 항원성이 없다.

3. *Bacillus polymyxa* levan의 조성과 특성

B. polymyxa 균주에 의해 생산된 levan은 약 98% 과당으로 되어 있다.[31] 이 levan은 실온에서 물에 쉽게 녹으며 농도를 더 증가시키면 교질(colloid)로 변한다. Levan은 0.5% oxalic acid에서 15분간 가열하면 쉽게 가수분해되는데 이는 fructofuranose구조의 특성 때문이다. Levan형성의 최초분자는 자당으로 말단의 포도당이 levan사슬에 존재하기 때문에, 고분자 levan에서는 말단기의 적은 부분을 차지하는 소량의 포도당은 관찰하기가 어렵다.

5% 수용액의 crude levan을 Sephacryl gel permeation chromatography에 통과시키면 뚜렷한 하나의 peak를 가진다. 이는 약 2×10^6의 분자량에 해당된다. 장기간의 발효(10일 내외)와 효소체계에서 가수분해 활성이 없을 때 생산된 levan은 분자량 분포가 일정하다. 생산된 levan의 수용액은 pH 4.5에서 36시간 동안

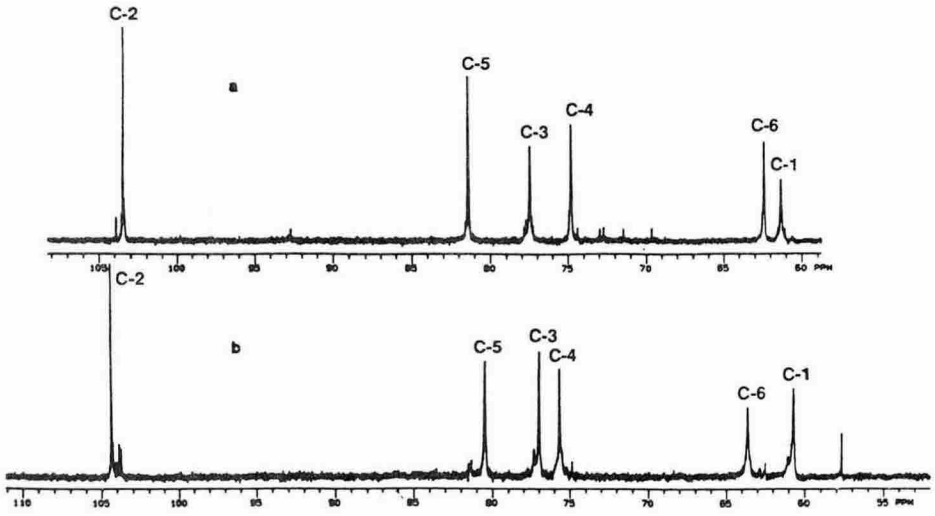


그림 2. Inulin (a)와 levan (b)의 ^{13}C-NMR spectrum (spectra by Ellzey).

은 안정하다. *B. polymyxa* levan의 광활성도 $[\alpha]^{24}$는 −40에서 −50이다.

Levan과 inulin의 ^{13}C-NMR peaks를 비교해 보면 levan의 peak는 6개의 주요 공명이 104.2, 85.5, 77.0, 75.7, 63.6과 66.7ppm에서 나타나고 있다. T^4 anomeric peak는 levan과 inulin 모두 104ppm에 있고 1차 탄소(C_1과 C_6)는 inulin에 더 가깝게 나타나 있고, 고리탄소(C_3, C_4와 C_5)는 levan에 더 가깝게 나타나 있다. 세균성 levan의 적외선 분광은 984 cm^{-1} 에서 특징적인 약한 peak를 보이는 것 이외에는 inulin과 유사하다. Levan은 918, 860과 803, 반면 inulin은 933, 872와 813에서 적외선 흡수 peak를 가진다.[28]

Methyl화 분석에 의하면 *B. polymyxa*에서 얻은 levan은 71%가 β(2-6) 결합(1,2,4-trimethyl-D-fructose), 13%~se), 13%가 1,2 또는 6위치에 분기를 가지는 것(3,4-dimethyl-D-fructose)으로 나타나 있다. 분기는 β(1-2) 결합의 C_1 위치와 β(2-6) 직선 잔기에서 일어난다.[29] 다른 미생물에 의해 생산되는 levan도 약 5-20% 분기를 가진다.[30] *B. polymyxa* 다당류는 낮은 점도와 의가소성(pseudoplasticity)을 가지며, 자당이나 포도당에서 자랐을 때 가장 점도가 높고 xylose에서 자랐을 때 가장 낮다.

4. 분석 방법 (analytical methods)

1) Levan

Levans은 ketose에 특이한 비색정량법 (thiobarbituric acid method와 acid resorcinol color reagent method)을 이용하여 분석해서 이들을 과당 함유량으로 표현한다.[31] 산가수분해에 의한 환원력의 변화도 이용할 수 있으며, 가수분해물의 과당 함유량은 광회전도로 결정한다. 발효혼합물에서 유리당(free sugar)과 levan은 cellulose gel filtration column을 통과시켜 분리한다. 소량의 levan과 dextran의 혼합물은 편광계(polarimeter)를 통과시키고, 자동 resorcinol-thiourea test를 하여 분석할 수도 있다.

직접적으로 levan을 측정하는 방법은 HPLC을 이용하는 것이 가장 편리하다. Levan과 유리당은 양이온 교환 column에서 쉽게 분리되며, levan 생성체계나

levan 가수분해물의 짧은 사슬성분은 paper와 thin layer chromatography를 이용하여 분리한다. Levan의 위치는 levan에 특이한 시약(resorcinol HCl, napthoresorcinol HCl, urea HCl, urea metaphosphoric acid나 dimedon(5,5 dimethyl-1, 3-cyclohexane dione))을 분무하여 확인한다.[15,32] 또 발효용액에서 levan은 ethanol이나 isopropanol의 첨가에 의해 형성된 침전물의 무게를 측정하여 추정할 수도 있다.

Levan의 구조는 여러가지 기계적 방법에 의해 분석한다. 적외선 분광기는 작용기의 분석과 중합체 구조를 조사하는데 이용된다. Levan의 적외선 분광은 독특한 띠를 가져 levan을 분석할 수 있고, 다른 다당류로부터 levan을 분리할 수도 있게 한다.[22]

D-fructofuranosides는 열에 약하고 분석에 적당한 유도체를 만드는 동안 분해하기 때문에 ^{13}C-NMR 분광의 이용은 polyfructan의 결합형태를 결정할 수 있는 유용한 방법이다.[33,34] Levan과 inulin의 ^{13}C-NMR 분광은 6개의 주요공명을 나타내며 그 특성으로 이들 두 물질을 구별하는데 유용하다. 이러한 연구는 결합형태(linkage type)와 분기정도를 알 수 있으나 면역학적인 연구에 중요한 곁사슬(side chain)의 길이는 알 수 없다. Myeloma immunoglobulin을 이용하는 면역학적 분석 방법으로 levan을 분석하는 방법과 Concanavalin A을 써서 levan과 linulin을 침전시켜 이를 구별하는 방법도 있다.

2) Levansucrase

Levansucrase는 자당으로부터 levan을 생성하고 용매에 포도당을 축적하는 효소이다. 따라서 levansucrase의 검정은 반응혼합물에서 유리포도당(free glucose)의 양으로 나타낸다. 반응 조건은 포도당 형성속도가 효소의 양에만 의존하도록 하고, 반응 후 끓는 완충용액으로 희석하여 반응을 종결시킨다. 유리당은 포도당 산화방법이나 Somogyi-Nelson 방법으로 결정한다. 이 방법은 배양액내의 세포축출물이나 세포내의 levansucrase의 측정에 이용할 수 있다. 그러나 이 방법은 포도당을 배지로한 배양액내의 효소의 활성을 측정하는데는 적합하지 않다. 이 때 levan primer을 반응액에 첨가하면 좀 더 균일한 결과를 얻을 수 있다. Levan의 생산량은 배양조건에 따라 많이 다르기 때문에 levan측정을 효소의 활성측정에 이용할 수는 없다.

V. Levan의 생산

체외 다당류(exopolysaccharides)의 생성은 대부분 호기성 수침발표(aerobic submerged fermentation)에 의해 생산된다. 미생물에 의한 다당류의 생산을 발효의 정도에 따라 높은 점도의 용액을 만들게 되며 발효조건도 사용하는 미생물에 따라 다르다.

그림 3에 *B. polymyxa*를 써서 levan을 생산하는 과정을 소개한다.

B. polymyxa(NRRL B-18475 균주)는 4~16% 자당용액에서 자랄 때 많은 양의 다당류를 생산한다. 발효시 효모추출물(yeast extract)의 첨가는 levan의 산량을 높이고 자당량은 8~15%일 때 가장 많다. 이 균체는 자당을 levan으로 전환하고 성장매체에 포도당을 축적한다. 그러므로 발효가 진행됨에 따라 자당의 양은 떨어지고 levan이 증가하게 되며 포도당, 소량의 과

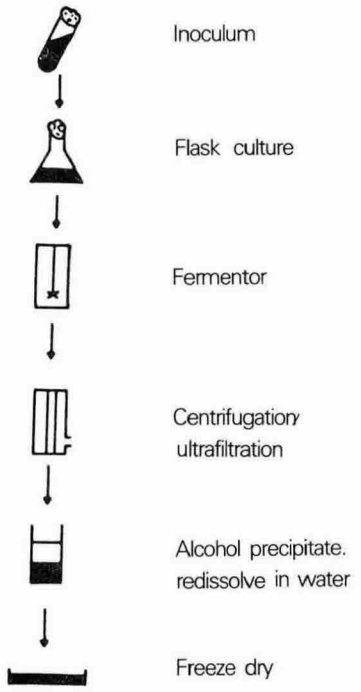


그림 3. *Bacillus polymyxa (NRRL B-18475)*에 의한 levan의 생산과정.

당과 확인되지 않은 약간의 저분자량의 발효산물을 생산한다. 성장매체의 pH는 산생성으로 7.0에서 4.7로 급격히 떨어지게되는데 levansucrase의 최적 pH가 5.5~7.0이고 생성된 levan이 낮은 pH에서 분해되기 때문에 levan생산에서 pH를 5.5 위로 유지하는 것이 중요하다. 균의 생장과 levan의 생산을 위한 적정한 온도는 약 30℃이다.

발효액중에 공기의 주입은 levansucrase의 생합성에 중요하며 levan의 생산은 배양액을 완만하게 진탕했을 때 현저하다. 반면 격렬한 교반과 공기주입은 levan의 생산을 억제한다. 자당의 농도가 높은 경우 합성된 levan의 평균분자량은 낮아진다.

Levan은 배양액에 ethanol이나 isopropanol을 첨가하여 침전시켜 회수한다. 생산물의 생성량과 굳기(consistency)는 첨가되는 alcohol의 양에 따라 다르다. Levan은 매체의 1.2배의 alcohol에서 침전하기 시작하여 생성량은 약 1.5배에서 최대이다. 비율을 더 증가하면 levan이 굳어져 생산물이 덜 유동적이게 된다. Levan의 침전에 필요한 alcohol의 양은 levan농도에 관계없이 ion농도에 좌우된다. 그러므로 발효액을 사전에 농축하면 alcohol을 절약할 수 있다. 미생물적 다당류를 생산하는 데 있어 사용한 alcohol을 증류하는 것이 가장 큰 비용중의 하나이다. 대부분의 세균세포, 비 발효당과 다른 용해성 물질이 수용성 alcohol상에 녹아있으나, 원심분리로 미리 세균세포를 제거하면 순수한 levan을 얻을 수 있다. 발효액 중에 있는 미생물은 lytic enzyme을 써서 제거할 수도 있다. 생산물은 침전과 물에 용해시키는 것을 반복하고, 투석(dialysis)과 한외 여과(ultrafiltration)로 더 정제한다. 최종 생산물은 냉동건조나 진공건조 시켜 얻어지는 백색의 점착성 물질이다. *B. polymyxa*는 10일동안 발효하면 100 g 자당에서 25 g 의 levan을 얻을 수 있다. 이는 이론 최대치(theoretical maximum)의 약 50% 정도이다.

Ⅵ. Levan의 이용

1. 산업적 이용 (industrial gums)

많은 양의 천연다당류가 공업적으로 쓰여지고 있으며 이들의 특성은 점도 부여, 물과 기름에서의 용해성, 분산특성(suspending properties), 물성적 특성(rheological properties), 염과 계면 활성제와의 융화성(compatibility with salts and surfactants), 열, 산과 알칼리에 대한 안정성, 필름형성, 물과 화학 물질의 보유력(holding capacity)과 생리적 활성 등을 포함한다. 상업적 다당류는 물에 용해되거나 물에 분산된 교질용액이다. 이들의 수용성 분산은 항상 부유(suspending), 분산(dispersing)과 안정화(stabilizing) 특성을 지니고 있어 음식을 유화 emulsifing하고 안정화(stabilizing) 시키는데 이용할 수 있다.

천연다당류는 그들의 물리적 특성을 변화시킬 수 있다. 저가 다당류를 변형해서 더 비싼 다당류의 대체물질로 만들 수 있다. 일반적으로 중성다당류는 매우 소량의 중성이나 이온 형태의 치환기를 도입하여 당의 특성을 현저하게 변화시킬 수 있다.

다당류는 물리화학적 특성, 생산가, 조성과 공급의 일관성, 다른것과의 대체 가능성과 인체의 유해여부 등이 산업적 이용시 고려해야할 요소이다.

2. 혈장 증량제 (blood plasma extender)

세균성 dextran은 혈장 대용물로 이용되어 왔는데, 증량제(extender)는 고분자량의 다당류를 일부 가수분해하여 분자량이 25,000에서 200,000 범위내의 물질을 얻기위해 가수분해물을 methanol로 분획(fractination)하여 얻어진다.[36] Levan은 세균성 dextran과 물리화학적 특성이 유사하기 때문에 혈장 증량제로 levan의 사용이 고려되고 있다. 천연 levan을 1~3% 정도 가수분해하여 분자량이 30,000과 100,000 사이가 되도록 pH 3.2에서 가수분해한다. 이 가수분해물을 중화시킨 후 다당류 분획은 ethanol 농도를 증가시켜 침전을 형성케하여 회수한다. Levan을 가수분해하면 일련의 소당류와 levulans을 생산하는 데 이중 어떤 것은 혈장 증량제로 사용될 수 있다. 혈액내로 주입된 levan은 체내에서 서서히 제거되어 독성을 가지지 않기 때문에 dextran이나 다른 혈장증량제와 같이 쓰일 수 있을 것이다.[22] 그러나 분자량이 큰 천연 levan은 면역성(serological activity)이 있어 동물세포에서 항체를 유발하나 가수분해했거나 정제된 levan은 이

런 항체 유발성은 없다.[17]

3. 감미료 (sweeteners)

Levan은 과당의 중합체이기 때문에 이것의 가수분해물 감미료나 감미료의 전구체로 사용할 수 있다. Inulin은 가수분해하여 과량의 과당즙을 생산할 수 있다. 돼지감자를 산이나 효소로 가수분해하여 산되는 과당을 침전, 정제하여 만들어진 과당액은 적당한 농도로 농축 혹은 희석해서 사용한다. 이때 효소를 쓰는 것이 산을 쓰는 것보다 유리한 점이 많다. 효소를 쓰면 생산량이 더 많고 품질도 더 좋은 것을 얻을 수 있다. 미생물 levan을 산가수분해하면 일련의 $\beta(2-6)$ fructofuranosyl oligosaccharides를 생산한다(di-, tri- and tetramer). 이들의 단맛과 영양적 가치는 아직 연구되지 않았으나, 이들의 특성은 neosugar (fructooligosaccharide)나 비영양적 감미료와 유사한 것으로 예상된다. Neosugar는 *Aspergillus sp., Fusarium sp*와 *Aureobasidum pullulans*같은 곰팡이의 fructosyltransferase의 작용에 의해 과당으로부터 만들어진다. Neosugar는 과당의 반 정도의 단맛으로 좋은 맛을 가지나 체내에서 소화흡수되지는 않는다.

4. 기타용도 (other applications)

Levan은 유화제(emulsifier), 부형제(formulation aid), 안정제와 증점제(stabilizer and thickener), 표면처리제(surface finishing agent), 캡슐화보조제(encapsulating agent), 향과 방향성분의 운반체로 사용 가능하다. 필름표면의 온과립 상태를 향상시키기 위해 사진 유화액에 levan을 첨가하는 방안도 제안된 바 있으며, cross-linked levan을 제조하여 gel filtration의 분자체로 사용할 수도 있다. 또한 낮은 점도와 높은 용해성을 지닌 미생물 levan은 아라비아 gum의 대체 물질로도 이용할 수 있다.

참 고 문 헌

1. Lippmann, E. O. 1881. *Chem. Ber.* **14**, 1509.
2. Higuchi, M., Iwami, Y., Yamada, T., and Araya. S. 1970. *Arch Oral. Biol.* **15**, 585.
3. Manly, R. S., and Richardson, D. J. 1968. *J. Dent. Res.* **49**, 1080.
4. Loewenburg, J. R., and Reese, E.T. 1957. *Can. J. Microbiol.* **3**, 643.
5. Meier, H., and Reid, J.S.G. 1982. *Encycl. Plant Physiol., New Ser*, 13A.
6. Shiomi, N., Yamada, J., and Izawa, M. 1976. *Agric. Biol. Chem.* **40**, 567.
7. Bender, M. M., and Smith, D. 1973. *J. Br. Grassi. Soc.* **25**, 97.
8. Gross, M., and Rudolph, K. 1988. *J. Phytopathol.* **120**, 9.
9. Webley, D.M., Duff, R.B., Bacon, S.D., and Farmer, V. C. 1965. *J. Soil. Sci*, **16**, 149.
10. Bauer, S., and Brisk, R. 1979. *Isr. J. Med.* **15**, 95.
11. Elisashvili, V.I. 1984. *Appl. Biochem. Microbiol.* **20**, 253.
12. Feingold, D. S., and Gehatis, M. 1957. *J. Polym. Sci.* **23**, 783.
13. Fouet, A., Arnaud, M., Klier, A., and Rapoprt, G. 1984. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **119**, 795.
14. Mantsala, P., and Puntala, M. 1982. *FEMS Microbiol. Lett.* **13**, 395.
15. Dendonder, R. 1966. *Methods Enzymol.* **8**, 500.
16. Hestrin, S., Shilo, M., and Feingold, D. S. 1954. *Br. J. Exp. Pathol.* **35**, 107.
17. Hehre, E. J. 1955. *Methods Enzymol.* 1, **178**.
18. Sato, S., Koga, J. H., and Inoue, M. 1984. *Charbohydr. Res.* **134**, 293.
19. Kiss, S. 1968. *Rev. Roum. Biol., Ser. Bot.* **13**, 434.
20. Mattoon, J. R., Holmlund, C. E., Schepartz, S. A., Vavra, J. J., and Jhonson, M. J. 1955. *Appl. Microbiol.* **3**, 321.
21. Tanaka, T. Oi. S., and Yamamoto, T. 1980. *J. Biochem.* **87**, 297.
22. Hestrin, S., and Goldblum, J. 1953. *Nature* **172**, 1046.
23. Hirdt, E. L. 1957. *Proc. Chem. Soc. London.* **193**.

24. Marchessault, R. H., Bleha, T., Deslendes, Y., and Revl, J. T. 1980. Can. *J. Chem.* **58**, 2415.
25. Pontis, H. G., and Del Campillo, E. 1985, In "*Biochemistry of Storage Carbohydrates in Green Plants*"(P. M. Deyand R. A. Dixon, eds.), p. 205. Academic Press. New York.
26. Kang, H. S., and Cottrell, I. W. 1979. In "*Microbial Technology*"(H. J. Peppler and D. Perlman, eds), 2nd Ed., Vol. 1, p. 417. Academic Press, New York.
27. Shilo, M. 1959. *Annu. Rev. Microbiol.* **13**, 255.
28. Han, Y. W., and Clarke, M. A. 1989. *J. Agric. Food Chem.*(in press).
29. Barker, S. A., and Stephans, R. 1954. *J. Chem. Soc.* 4550.
30. Lindburg, B., Lonngren, J., and Thompson, J.L. 1973. *Acta Chem. Scand.* **27**, 1819.
31. Percheron, F. 1962. *C. R. Hebd Seances Acad. Sci.* **255**, 2521.
32. Forsyth, W. G. C. 1950. *Biochem.* **46**, 125.
33. Shimamura, A., Tsuboi, K., Nagase, T., Tsumori, H., and Mukasa, H. 1987. *Carbohydr. Res.* **165**, 15
34. Seymour, F.R., Knapp, R.D., and Jeanes, A. 1979. *Carbohydr. Res.* **72**, 222.
35. Goldstein, I. J., and So, L. S. 1965. *Arch. Biochem. Biophys.* **111**, 407.
36. Hines, G. H., McGhee, R. M., and Shurter, R. A. 1953. *Ind. Eng. Chem.* **45**, 692.
37. Pabst, M. J. 1977. *Infect. Imun.* **15**, 518.
38. Srinivasan, S., and Quastel, J. H. 1958. *Br. J. Exp. Pathol.* **67**, 141.
39. Avigad, G. 1968. *Encyl. Polym. Sci. Technol.* **8**, 711.
40. Fuchs, A. 1959. Ph. D. Thesis, Rijksuniv., Leiden.