

## 분쇄마찰매체 함유 효소반응계에서의 Cyclodextrin 생성과 Cyclodextrin Glucanotransferase의 작용 Mechanism

한일근 · 이용현\*

경북대학교 자연과학대학 유전공학과

### Production of Cyclodextrin from Raw Starch in the Agitated Bead Reaction System and its Reaction Mechanism

Han, Il-Keun and Yong-Hyun Lee\*

Department of Genetic Engineering, College of Natural Sciences,  
Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

**Abstract** — Production of cyclodextrin (CD) directly from raw corn starch without liquefaction using cyclodextrin glucanotransferase (CGTase) was carried out in an agitated bead reaction system. Similar CD yield and production rate comparable with those of conventional method using liquefied starch were obtained. Especially high purity-CD in the reaction mixture without accumulation of malto-oligosaccharides was obtained. The maximum 54 g/l of CD was obtained at raw starch concentration of 200 g/l. CD yield was inversely proportional to raw starch concentration, and conversion yield was 0.48 at substrate concentration of 100 g/l. The optimal amount of enzyme (CGTase unit/g raw starch) was found to be around 6.0. Granular structure of raw starch degraded by CGTase was observed by SEM in order to investigate the enhancing mechanism, along with those of acid or alkali pretreated raw starch, amylose, and amylopectin. Kinetic constants of CGTase on raw starch in an agitated bead reaction system were evaluated, and CGTase was competitively inhibited by CD.

Amylase 계통의 효소인 cyclodextrin glucanotransferase(EC 2.4.1.19; 1,4- $\alpha$ -glucan 4- $\alpha$ -D-(1,4 glucano) transferase cyclizing: CGTase)의 작용으로 생성되는 cyclodextrin(CD)은 6~8개의 glucose 분자가  $\alpha$ -1,4-glucoside 결합으로 연결된 환상의 비환원성 malto-oligo 당이다. 현재 CD 생산에는 amylase나 CGTase로 전분을 부분액화 또는 부분환화(partial cyclization)시켜 수용성 전분으로 전환한 후 수용성 CGTase를 첨가하여 반응시키는 수용성 균일상 효소반응계를 이용한 제조공정이 주로 사용되고 있다(1-6).

이러한 수용성 액화전분-CGTase로 구성되는 균일

상 효소반응계의 경우 CD 이외에 glucose, maltose, 그리고 각종 malto-oligosaccharides 등이 다량 생성되어 CD 생성수율이 낮게 된다. 또한, 액화전분, 효소, 그리고 CD 등이 모두 수용상으로 용해 혼합되어 있기 때문에 CD의 분리정제가 어렵다.

생전분을 액화시키지 않고 그대로 사용하는 불균일상 효소반응계를 이용할 경우, 각종 oligo당의 생성이 적어져 고순도의 CD가 생성되고, 또한 불용성 생전분은 쉽게 분리되므로 수용액상의 CD의 분리정제가 간소화 된다. 또한 사용된 고가의 CGTase를 생전분질에 흡착 회수하여 재활용할 수 있는 장점이 예상된다. 그러나 생전분 입자는 amylose와 amylopectin 성분이 매우 조밀하게 배열하는 결정구조를 이루고 있으므로, CGTase의 효소작용이 어려워 CD 생성속도 및 수율이 낮아 이에 대한 개선이 필요하다.

**Key words:** Cyclodextrin, cyclodextrin glucanotransferase, raw corn starch, bioattritor

\*Corresponding author

본 연구실에서는 생전분의 효소당화시 고품의 분쇄마찰매체를 첨가 교반함으로써 생전분에 대한 amylase 계통 효소의 작용을 현저히 촉진시키는 분쇄마찰매체 함유 효소반응계에 관한 일련의 연구를 발표한 바 있다(7,8). 이는 효소의 침식작용과 분쇄마찰매체의 물리적 충격의 동시작용으로 전분입자가 많은 작은 입자로 단편화됨에 기인함을 밝힌 바 있다(9,10). 또한 CGTase의 고정화와 고정화 효소반응기에 관한 연구를 수행해 오고 있다(11-13).

본 연구에서는 *Bacillus macerans* 유래의 CGTase를 사용하여 생전분을 기질로 CD를 생성하는 효소반응에 분쇄마찰매체 함유 효소반응계를 도입하는 연구를 수행하였다. CD 생산에 적합한 최적 반응조건을 확립하였고, 생성당의 조성을 분석하고 효소반응 촉진 mechanism을 생전분의 구조적 관점에서 검토하였으며, 또한 product inhibition mechanism을 규명하였다. 이와 같은 연구는 경제적이고 효율성 높은 새로운 CD 생산공정 개발을 위한 기초적 자료가 된다.

## 재료 및 방법

### 사용효소 및 효소활성 측정

사용효소는 *Bacillus macerans*의 배양액을 농축한 산업용 CGTase(Amano, 280 units/mg of protein)로써 최적 pH는 6.0, 최적 온도는 50°C였다. pH와 온도 안정성은 각각 5.0~11.0, 50°C까지였다. 5%(w/v) 가용성 전분을 기질로 50°C, pH 6.0에서 24시간 반응 후 생성된  $\alpha$ -,  $\beta$ -, 그리고  $\gamma$ -CD의 생성비율은 1.9 : 2.6 : 1.0이었다.

CGTase의 활성은 5%(w/v) 가용성 전분용액(pH 6.0) 5.0 ml에 CGTase 0.1 ml를 첨가하여 50°C에서 1시간 반응시킨 후 HPLC로 생성된 CD를 측정하여, 시간당 1 mg의 CD를 생성시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

### 사용전분

사용전분은 옥수수 생전분(corn starch, Junsei Chemical Co.)을 주로 사용하였으며, 비교를 위하여 amylose와 amylopectin(Sigma Co.)도 병용하여 사용하였다. 또한, 생전분 100 g를 0.1 M-HCl 혹은 NaOH 용액 400 ml에 50°C에서 12시간 침지하여 입자구조를 변형시켜 사용하였다.

### 분쇄마찰매체 효소반응계에서 생전분을 이용한 cyclodextrin 생산

생전분 100 g을 20 mM maleic acid-Tris-NaOH buffer(pH 6.0) 1 l에 현탁하고 CGTase 농축액 6.0 ml(900 units)와 유리구(glass bead, 직경 3 mm, 비중 2.54) 400 g을 첨가하여 50°C에서 200 rpm으로 교반하면서 반응시켰다. 경우에 따라 상기 반응조건을 변화시키면서 실험하였다.

중자법을 이용한 CD 생산은 전분기질 100 g/l(w/v)에 *Bacillus licheniformis* 유래의  $\alpha$ -amylase(Sigma Co.) 2,200 units를 첨가하여 90°C에서 20분간 액화시킨 후 CGTase 900 units를 첨가하여 50°C에서 반응시켰다.

### Cyclodextrin의 분석

Cyclodextrin의 정량은 high pressure liquid chromatography(HPLC, Model-305, Gilson)를 사용하였고, column은 carbohydrate analysis column(Waters Co.), 용출용매는 acetonitril과 H<sub>2</sub>O(65 : 35)의 혼합용액, 용출속도 1.0 ml/min이었고, RI detector로 검정하였다.

### 생전분 입자의 미세구조의 변화 관찰

효소작용을 받은 생전분 입자를 ion coater(IR-5, Eiko Co.)로 백금으로 처리한 후, scanning electron microscope(SEM, ISI-SS 130, Ashai Co.)로 구조변화를 정시적으로 관찰하였다.

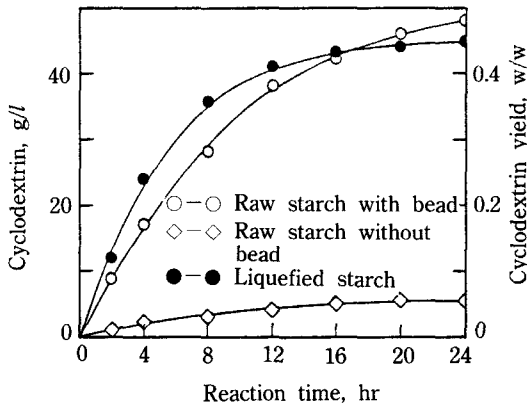
### Cyclodextrin에 의한 product inhibition

10 mM maleic acid-Tris-NaOH buffer 100 ml에 현탁한 0.5~2.0%(w/v) 생전분에 CGTase 30 units를 첨가하여, 주 생성물인  $\beta$ -CD를 첨가하지 않은 군과 초기에 0.5~2.0%(w/v)까지 변화시키면서 첨가한 군에 유리구 40 g을 첨가교반하면서 50°C에서 20분간 반응시켜 초기반응 속도를 결정하였다.

## 결과 및 고찰

### 분쇄마찰매체 함유 효소반응계에서의 cyclodextrin 생산

Fig. 1은 옥수수 생전분에 분쇄마찰매체를 첨가하여 CGTase를 반응시킨 군, 첨가하지 않고 반응시킨 군,

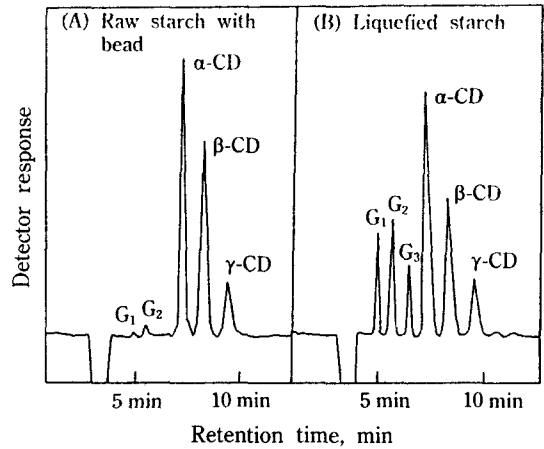


**Fig. 1.** Comparison of cyclodextrin produced from raw starch with or without bead and from liquefied starch. 100 g/l (w/v) of corn starch, 900 units of CGTase, 400 g/l (w/v) of glass bead, 200 rpm, pH 6.0, and 50°C.

그리고  $\alpha$ -amylase로 증자액화시켜 CGTase를 반응시킨 균의 생성된 CD의 농도와 생성수율을 비교하고 있다. 분쇄마찰매체를 첨가하지 않는 경우는 24시간 경과 후에도 생성된 CD의 농도는 6.0 g/l에 불과하였다. 반면 분쇄마찰매체를 첨가하여 CGTase를 반응시켰을 경우에는 24시간 경과 후, 48 g/l로써 CD 생성반응이 현저히 촉진되었다. 이를  $\alpha$ -amylase로 증자액화시킨 경우와 비교하면, 반응 초기에서 12시간까지는 CD의 생성속도가 다소 낮았으나, 곧 유사한 수준에 도달하였으며, 24시간 경과 후의 CD 생성량은 48 g/l로써 액화시켜 얻은 최대치인 45 g/l를 능가하였다(11-13).

이와 같이 CD 생성속도가 반응 초기에 액화시킨 경우보다 다소 낮은 것은 사용 CGTase의 생전분 입자에 대한 침식작용이, 액화 또는 당화용 amylase에 비하여 활성이 약하여, 전분입자의 단편화가 초기에 원활히 진행되지 못함으로써 효소가 반응할 수 있는 가용표면적이 제한되기 때문이라 사료된다. 이와 같은 문제점을 극복하고 초기 반응속도를 증가시키기 위해서는 생전분의 분해능이 우수한 새로운 형의 CGTase 탐색이 요망된다. 이와 더불어  $\alpha$ -amylase와 같은 효소의 보조 첨가, 산·알칼리 전처리에 의하여 구조변형된 전분을 사용하는 등 입자의 단편화 촉진방안에 대한 검토가 필요하다.

Fig. 2는 분쇄마찰매체 효소반응계에서 생전분을 기질로하여 생성된 수용상 반응액 중의 각종 CD와 malto-oligo 당의 농도를 HPLC로 분석한 결과이다.



**Fig. 2.** Comparison of HPLC chromatogram of cyclodextrin and sugar produced from raw starch in an agitated bead system and liquefied starch.

Fig. 2(A)에서와 같이, 분쇄마찰매체 효소반응계에서는 malto-oligo 당의 축적은 매우 적었고, 각종 CD만이 주로 생성되었다. 이는 생전분을 직접 기질로 할 때는 전분입자 표면의 oligo 당의 비환원성 말단기에서 CD 합성반응이 진행되어  $\alpha$ -1,6 glucosidic 결합의 분지점에서 종결되므로 malto-oligo 당이 생성되지 않는 것으로 추측된다(14).

반면 액화시킨 기질의 경우 Fig. 2(B)에서와 같이, CD와 함께 다량의 glucose, maltose, 그리고 각종 malto-oligo당이 함유 되어있었다. 이와 같은 당류는 전분을  $\alpha$ -amylase로 CD 합성에 적합한 DE 20 전후로 액화시키는 과정에서 생성되거나, 일부는 oligo 당의 chain 길이가 짧아 CD 합성반응에 부적절하여 이용되지 않거나, 또한 일부는 CGTase의 합성반응 중 남은 잔기 등으로 추측된다.

이와 같은 분쇄마찰매체 효소반응계에서 불용성인 생전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계를 이용한 CD 합성법은 CD만이 고순도로 생성되고, 또한 미반응 불용성 전분류는 쉽게 원심 분리될 수 있으므로, 수용액상의 CD의 분리정제가 매우 용이하게 된다. 그리고 원심분리된 미반응 불용성 전분류를 회수하여 재사용 할 경우, 생전분의 농도가 100 g/l일 때 효소반응에 사용된 전분에 대한 총 수율은 0.7로 증대되었다.

**분쇄마찰 효소반응계에서 생전분으로부터 cyclo-**

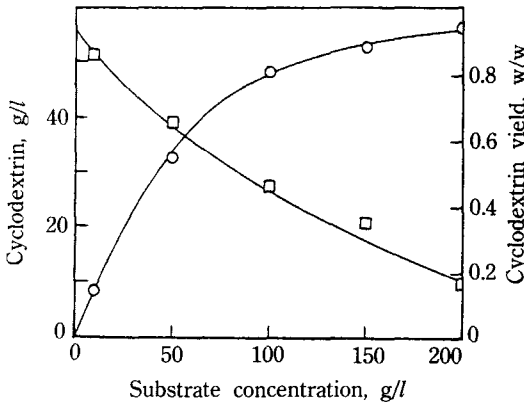


Fig. 3. Amount of cyclodextrin produced after 24 hr and cyclodextrin yield according to substrate concentration (○: amounts of CD, □: CD yield).

**dextrin 생산 조건의 검토**

**기질농도 :** Fig. 3은 기질농도의 변화에 따른 CD 생성량과 수율의 변화를 나타내고 있다. 생전분의 농도가 증가함에 따라 CD 생성량은 증가하였으며, 24시간 후의 최대 CD 생성량은 54 g/l로 생전분의 농도가 200 g/l일 때 얻어졌으며, 이보다 높은 농도에서는 오히려 감소하였다. 이는 고농도에서는 수분이 전분입자 내에 다량 흡수됨으로 효소반응 현탁액의 물성이 변화되어 분쇄마찰매체의 원활한 기계적 운동이 어려워 분쇄마찰 효과가 감소됨에 기인하는 것으로 유추된다. 반면 CD 수율은 생전분의 농도와 반비례하여 생전분의 농도가 10 g/l일 때의 0.85로부터 200 g/l일 때의 0.18로 변화되었다.

**CGTase 사용량 :** 적정 사용량을 검토하기 위하여 생전분의 농도별로 CGTase의 사용량을 변화시켜 24시간 후의 CD 생성량을 측정한 결과는 Table 1과 같다.

대부분 효소 사용량이 증가됨에 따라 CD 생성이 촉진되었다. 즉, 기질에 대한 효소 첨가량 비율( $E_0/S_0$ , unit/g substrate in 1l)이 5.0일 때까지는 계속적으로 증가하였으며, 5.0~8.0 사이에는 큰 변동이 없었다. 이는 CGTase가 작용할 수 있는 생전분 입자중의 비환원성 말단기의 양이 일정하기 때문일 것이다. 반면 8.0 이상에서는 오히려 감소하였는데, 이는 CD 생성에 관여하지 않는 여분의 CGTase가 coupling 또는 hydrolysis reaction과 같은 side reaction(14)을 일으키기 때문이라 사료된다. 따라서 적정 효소첨가량

**Table 1. Effect of the amount of CGTase at different raw starch concentration for cyclodextrin production**

Amount of CGTase(unit)	Concentration of raw corn starch %(w/v)			
	5	10	15	20
300	20.6 <sup>a</sup>	24.5	31.1	26.5
600	32.4	39.1	32.1	30.6
900	31.2	47.8	45.2	37.2
1200	31.5	47.7	52.5	48.5
1500	30.7	47.0	53.0	54.0

The reaction was carried out; 400 g/l (w/v) of glass bead, 20 mM maleic acid-Tris-NaOH buffer (pH 6.0), 200 rpm, and 50°C.

<sup>a</sup>CD produced after 24 hr (g/l)

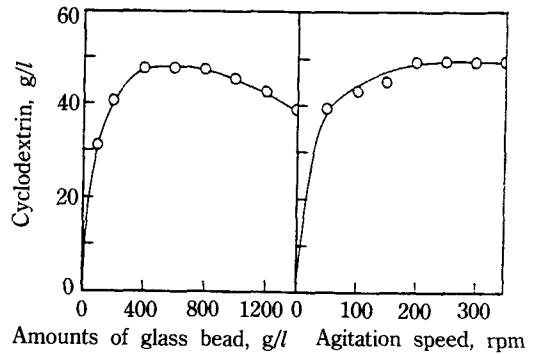


Fig. 4. Effect of the amount of bead and agitation speed as RPM on CD production from raw starch after 24 hr. 100 g/l (w/v) of corn starch, 900 units of CGTase, pH 6.0, and 50°C.

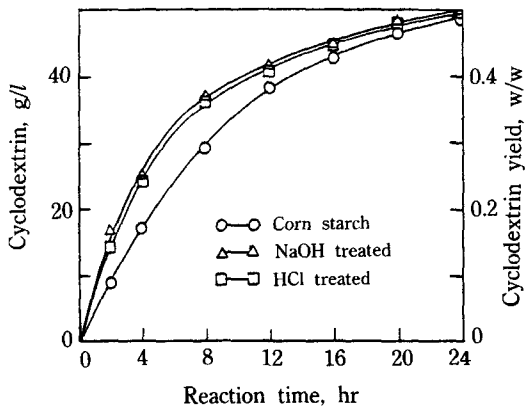
비율( $E_0/S_0$ )은 5.0~8.0 범위로 판단된다.

**분쇄마찰매체 효소반응계의 조작조건이 cyclodextrin 생성에 미치는 영향**

CD 합성에 미치는 교반강도의 영향을 실험하고자 유리구의 첨가량과 교반속도의 영향이 CD 생성에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 4와 같다. 최적 유리구의 첨가량은 400 g/l였고, 이보다 많을 때는 오히려 감소하였는데, 이는 기계적 운동량의 증가로 인한 전분입자의 급속한 붕괴로 유동성 수분이 다량 흡수되어 현탁액의 점도가 증가하여 효소반응이 적절하지 않은 상태로 변화되는데 기인한다. 또한 적절한 교반속도는 200 rpm 전후로써, 이는 본 연구실에서(7,8) 액화 및 당화 amylase로 생전분을 효소

당화시킬 때 얻은 분쇄마찰매체 첨가량 및 교반 속도와 유사한 범위를 알 수 있다.

**산·알칼리로 구조를 변형시킨 생전분을 이용한 cyclodextrin 생산**



**Fig. 5.** The amount of cyclodextrin produced and cyclodextrin yield from acid and alkali treated corn starch in an agitated bead reaction system. 100 g/l (w/v) of corn starch, 900 units of CGTase.

Fig.5는 산·알칼리로 전처리하여 전분입자의 구조를 변형시킨 생전분과 전처리하지 않은 생전분을 분쇄마찰매체 효소반응계에서 반응시켜 생성되는 CD 농도와 수율의 변화를 비교하고 있다. 전처리 하지 않은 생전분에 비하여 산·알칼리로 전처리한 전분을 기질로 사용할 경우, 초기 반응속도가 현저히 증가하였는데, 이는 산에 의하여 전분입자가 부분적으로 마쇄(maceration)되거나 분해되는 현상과 알칼리에 의하여 생전분이 팽윤되는 현상과 같은 구조적 변형(16)으로 CGTase가 작용할 수 있는 부위가 증가될 뿐만 아니라 구조적으로 쉽게 단편화 될 수 있는 상태로 전환되기 때문일 것이라 사료된다. 그러나 최종 CD 농도는 큰 차이 없이 49 g/l로 유사하였다.

**Scanning electron microscope에 의한 전분입자 구조의 변화관찰**

Fig.6은 CGTase로 반응시킨 생전분 입자를 분쇄마찰매체를 첨가하지 않은 경우와 첨가한 경우를 대비하여 SEM으로 관찰 비교한 결과이다. 분쇄마찰매체를 첨가하지 않은 군은 4시간 경과 후 비로소 전

Without bead

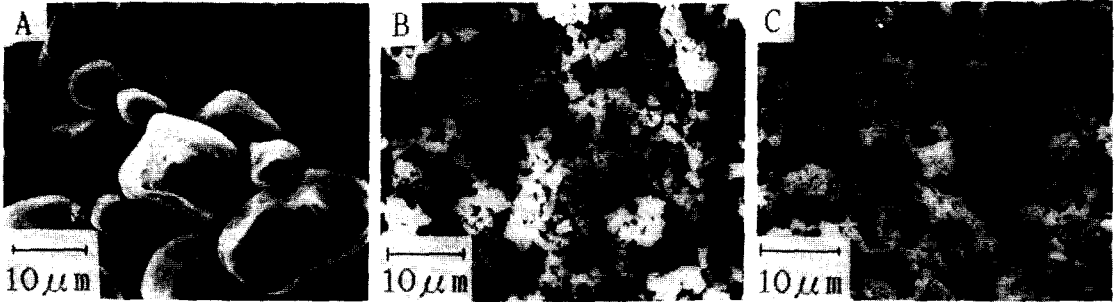


With bead



**Fig. 6.** Scanning electron microscopic photogram of granular structure of raw corn starch subjected to CGTase action. (A) (B) (C) without bead, (D) (E) (F) in an agitated bead reaction system for 4, 12, and 24 hr, respectively.

HCl treated



NaOH treated

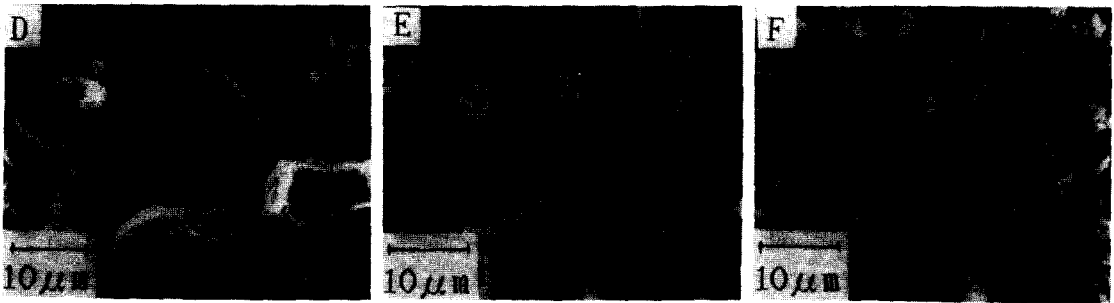


Fig. 7. Scanning electron microscopic photograph of granular structure of acid or alkali treated corn starch subjected to CGTase action.

(A) (D) steeped in 0.1 M HCl and NaOH 12 hr at 50°C, (B) (C) (D) (F) by degraded by CGTase in an agitated bead reaction system for 12 and 24 hrs, respectively.

분입자 표면에 작은 cavity가 형성되기 시작하였고 (Fig. 6(A)), 시간이 경과함에 따라 cavity가 점차 커지면서 입자의 중심을 향해 내부로 침식되었으나, 초기 전분입자의 형태는 그대로 유지하였다(Fig. 6(B), (C)). 반면 분쇄마찰 효소반응계에서는 4시간 후 입자에 큰 cavity가 형성되었고, 일부 단편화가 진행되었다(Fig. 6(D)). 그 이후 단편화가 급속히 진행되어 12시간 및 24시간 경과 후에는(Fig. 6(E), (F))에서와 같이 많은 작은 전분입자로 붕괴되었다. 이와 같은 cavity 형성 및 단편화 현상은 생전분을  $\alpha$ -amylase 또는 glucoamylase와 같은 전분당화 및 액화효소로 마찰효소반응계에서 작용에서도 관찰되는 유사한 현상으로(9,10), 단지 CGTase의 경우는 cavity 형성속도 및 단편화 속도가 비교적 늦었다.

Fig. 7은 분쇄마찰 효소반응계에서 0.1 M HCl 용액으로 12시간 침지한 전분과 0.1 M NaOH 용액으로 12시간 침지한 전분을 기질로 CGTase를 작용시킨 균의 전분입자 구조의 변화를 SEM으로 관찰한 결과이다. 산으로 전처리한 전분입자는 Fig. 7(A)와 같

이, 표면에 산 작용에 의하여 형성된 패인 층이 관찰되었고, 분쇄마찰 효소반응계에서 CGTase 효소반응시킬 경우는 Fig. 7(B, C)와 같이 짧은 시간내에 단편화 되었다.

알칼리로 전처리한 옥수수 생전분은 Fig. 7(D)와 같이, 입자구조가 무정형으로 약간 팽윤되었으나 전체적으로 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았다. 효소반응시킬 경우는 Fig. 7(E, F)와 같이 전분입자가 심하게 균열되었으며, 전처리하지 않은 경우보다 짧은 시간내에 많은 작은 입자로 단편화 되었다.

#### Amylose와 amylopectin을 이용한 cyclodextrin 생산

Fig. 8은 채상의 amylose와 분지상의 amylopectin을 분쇄마찰 효소반응계에서 반응시켜 생성된 CD의 농도를 나타내었다. Amylose의 경우 CD 생성속도가 느렸으나, 전 반응기간 동안 꾸준히 진행되어 24시간 후의 CD 생성량은 42 g/l였다. 반면 amylopectin의 경우는 반응 초기에는 amylose나 생전분보다 오히려

높았으나, 12시간 이후에서는 더 이상 증가하지 않고 35 g/l에 머물러서 대조적이였다.

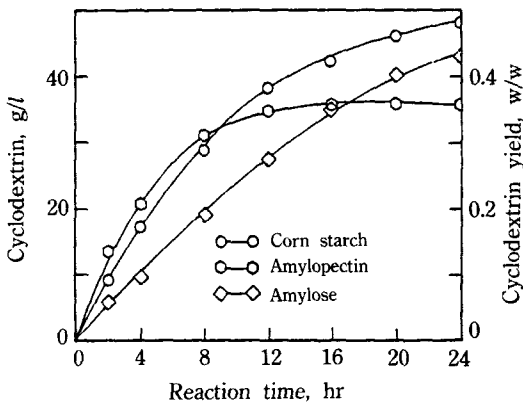
이는  $\alpha$ -1,4 결합의 잔쇄상 분자인 amylose에서는 CGTase의 작용부위인 비환원성 말단이 계속적으로 공급되므로 CD를 꾸준히 합성할 수 있는 반면, 반응 초기의 CD 생성속도가 느린 이유는 비환원성 말단의 분포량이 amylopectin에 비하여 상대적으로 적기 때문일 것이다. 또한  $\alpha$ -1,6 결합의 분지상 분자인 amylopectin의 경우 CGTase가 반응 초기에는 넓게 분포한 비환원성 말단에서 CD를 빠른 속도로 합성할 수 있

으나 CGTase는  $\alpha$ -1,6 결합을 분해할 수 없으므로 더이상 CD가 합성되지 않기 때문이라 생각된다. 이로 미루어 생전분에 비환원성 말단을 다량으로 분포시키고  $\alpha$ -1,6 결합을 제거할 수 있는 방법에 대한 연구가 요망된다.

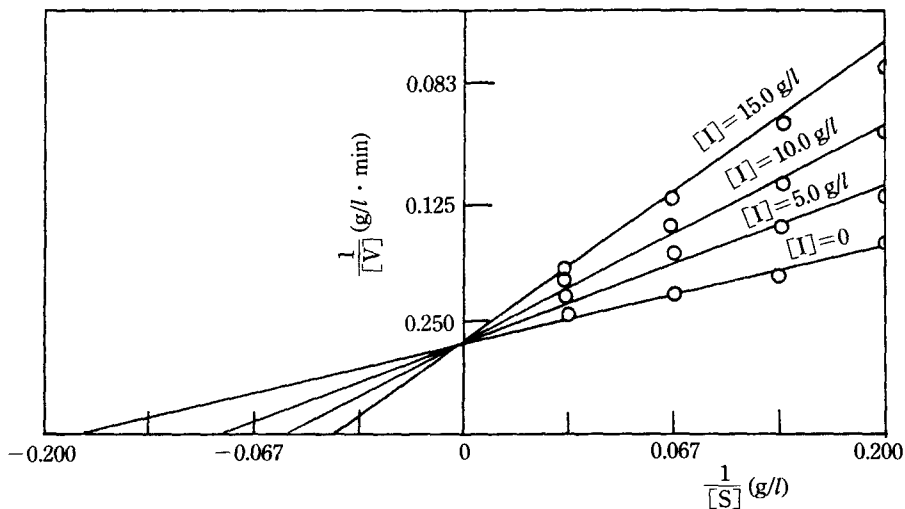
**CGTase 효소반응에 미치는 product inhibition의 영향**

분쇄마찰 효소반응계에서 생전분을 기질로 CGTase로 반응시키면서 반응초기에  $\beta$ -CD를 각종 농도로 첨가하여 반응시킨 군과 첨가하지 않은 군의 초기 반응속도(initial rate)를 측정하여 Lineweaver-Burk plotting한 결과는 Fig. 9와 같다. CD는 CGTase에 대하여 competitive한 mechanism으로 효소활성을 저해함을 알 수 있었다.

10 g/l 농도의 생전분에 CGTase 300 units을 첨가하여 20분간 반응시킨 후 생성된 CD의 농도는 3.9 g/l였다. 반면 반응 초기에  $\beta$ -CD의 농도를 5, 10, 그리고 15 g/l로 변화시키면서 첨가하여 반응시켰을 경우 생성된 CD의 농도는 각각 2.7, 2.6 그리고 2.3 g/l로써 CGTase 활성이 30~40% 저해되었다. 이는 Kenji 등(15)이 발표한 10~20% 수준보다 저해효과가 큼을 알 수 있다. CGTase의 kinetic constants는  $K_m$ 이 5.83 corn starch g/l,  $V_{max}$ 는 0.33 CD g/l, 그리고  $K_i$  값은 5.10  $\beta$ -CD g/l였다.



**Fig. 8. Comparison of amylose and amylopection for cyclodextrin production in an agitated bead reaction system.**



**Fig. 9. Lineweaver-Burk plot of the initial rate subjected to product inhibition by  $\beta$ -CD in an agitated bead reaction system; 5.0~20.0 g/l (w/v) of corn starch, 300 units of CGTase. 400 g/l (w/v) of glass bead, 200 rpm.**

## 요 약

생전분과 CGTase의 현탁액에 고품의 분쇄마찰매체 (attrition-milling media)를 첨가하여 분쇄마찰 효과를 주면서 증자액화 하지 않고 생전분에서 직접 CD를 생성 시키는 효소반응계에 관하여 연구하였다. 분쇄마찰매체를 함유하는 불용성 생전분을 원료로 한 불균일상 효소반응계에서 효소반응은 액화전분을 기질로 한 기존의 CD 효소반응과 비교하여 거의 유사한 CD 생성속도 및 수율을 얻을 수 있었으며, 특히 malto-oligo 당의 축적이 거의 없는 고순도의 CD가 얻어졌다. 최대 CD 생성량인 54 g/l은 기질의 농도가 200 g/l일 때 얻어졌고, CD 생산 수율은 생전분의 농도에 반비례하였으며, 100 g/l일 때 0.48이었다. 적정 CGTase 사용량(CGTase unit/g of substrate)은 6.0이었다. CGTase의 작용을 받은 전분입자의 구조를 SEM으로 관찰하였으며, CD 생성이 촉진되는 원인은 CGTase의 침식작용과 분쇄마찰매체의 기계적 작용의 보완효과에 따른 전분입자의 단편화 현상임을 알았다. 산·알칼리로 전처리하여 구조변형시킨 생전분, amylose, amylopectin을 기질로 한 CD 생성반응도 검토하였다. CGTase의 반응은 생성된 CD에 의해서 저해를 크게 받았으며, 저해 mechanism은 competitive inhibition이었고, 또한 kinetic constants를 평가하였다.

## 감사의 말

본 연구는 (주)양지와 한국과학재단의 우수연구센터 지원 연구비로 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Whistler, R.L., J.N. Bemiller and E.F. Paschall: *Starch-Chemistry and Technology*, 2nd ed., Academic Press, N.Y., 143 (1984)
- Hitoshi, H., K. Hara, N. Kuwahara and K. Arakawa: *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **32**, 299 (1985)
- Hitoshi, H., K. Hara, N. Kuwahara, T. Ohki and M. Ishikawa: *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **32**, 307 (1985)
- Hitoshi, H., K. Hara, N. Kuwahara and K. Ito: *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **32**, 312 (1985)
- 한국유전공학연구조합, 특허정보자료집-Cyclodextrin (유전공학기술정보 53), 한국유전공학연구조합, 서울, p.48 (1988)
- Hitoshi, H., K. Hara, N. Kuwahara, S. Sakai and N. Yamamoto: *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **33**, 29 (1986)
- 이용현, 조구형: 산업미생물학회지, **14**, 29 (1986)
- 조구형, 이용현: 산업미생물학회지, **14**, 407 (1986)
- 박동찬, 이용현: 산업미생물학회지, **18**, 260 (1990)
- 이용현, 박동찬: 산업미생물학회지, **18**, 352 (1990)
- Lee, S.H., H.D. Shin and Y.H. Lee: *J. Microbiol. Biotechnol.*, **1**, 54 (1991)
- Lee, Y.H., S.H. Lee and H.D. Shin: *J. Microbiol. Biotechnol.*, **1**, 63 (1991)
- 이용현, 이상호, 한일근: 산업미생물학회지, **19**, 171 (1991)
- Schmid, G.: *Tibtech.*, **7**, 224 (1989)
- Kenji, T., T. Tanaka, Y. Hujita and K. Nakanishi: *J. Ferment. Bioeng.*, **70**, 190 (1990)
- Shin, Y.C., Lee, S.Y., Choe, Y.K., Kim, H.S. and S.M. Byun: *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 627 (1986)

(Received March 19, 1991)