

## 이온교환수지탑을 이용한 Fructo-oligosaccharides의 분리 및 정제

윤 종 원 · 송 승 구 · \*한 정 희 · \*조 영 제 · \*이 재 흥  
부산대학교 화학공학과  
\*제일제당(주) 종합연구소

### Separation and Purification of Fructo-oligosaccharides by an Ion-Exchange Resin Column

Jong Won Yun, Seung Koo Song, \*Jeong Hee Han, \*Young Je Cho and \*Jae Heung Lee

Department of Chemical Engineering, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea  
\*R & D Center, Cheil Foods & Chemicals Inc., Kyunggi-Do 467-810, Korea

#### ABSTRACT

Separation of pure fructo-oligosaccharides from the mixed solution of glucose, sucrose and fructo-oligosaccharides was studied using a cationic ion-exchange resin column. Optimum separation conditions, i.e., temperature, feeding rate and the ratio of column vs. diameter were evaluated, which were found to be 85°C, 0.25h<sup>-1</sup> and 30, respectively. At the optimized separation conditions, high-purity fructo-oligosaccharides up to 96% was obtained and the total recovery yield was about 66% after four cycles. After the chromatographic separation, purification to remove the salts and color in pure fructo-oligosaccharides solution was successfully conducted using the mixed-bed of cationic and anionic ion-exchange resin columns.

#### 서 론

Bifidus인자, 저칼로리성, 충치예방 등을 비롯한 여러 가지 생리활성 기능을 나타내는 fructo-oligosaccharides는 1980년대부터 공업적으로 대량 생산되기 시작하면서 최근 건강 식품소재로서 그 수요가 급증하고 있는 매우 유망한 기능성 감미료이다(1, 2).

Fructo-oligosaccharides의 공업적 제조공정은 *A. niger* 또는 *A. pullulans* 기원의 효소, fructosyltransferase를 고농도 설탕에 작용시켜 생산하는데, 최종 제품의 형태는 fructo-oligosaccharides가 55~60%(w/w), 설탕 15%, 그리고 부산물인 포도당이 25~30% 정도 혼합되어 있는 시럽이다(3-16).

따라서 fructo-oligosaccharides의 기능적 장점을 이용하기 위해서는 설탕과 포도당이 제거된 순수한 제품의 개발이 필요하게 되었고, 최근 이에 대한 연구가 진행되고 있어 머지않아 고순도 제품이 상업화 될 것으로 기대된다.

Fructo-oligosaccharides의 전환율이 55~60%로 낮은 이유는 효소화학적 특성 때문인 것으로 밝혀져 있는데(11), 즉 반응부산물로 반응중에 계속 축적되는 포도당이 효소의 저해제로 작용하기 때문이다. 최근 Yun 등(13, 14)은 glucose oxidase와 fructosyltransferase를 동시에 fructo-oligosaccharides 반응에 적용한 혼합효소계를 이용하여 98%의 고순도 제품을 개발할 수 있었다고 보고하였다. 혼합효소계를 이용한 결과 glucose oxidase에 의해

포도당이 완전히 제거됨으로써 효소 저해현상이 제거되었고 그 결과 설탕이 모두 fructo-oligosaccharides로 전환되는 결과를 얻었다.

이 공정은 glucose oxidase 반응에 산소공급을 필요로 하고 고농도 설탕(50% 이상)을 반응 기질로 이용할 수 없으며 반응 부산물인 gluconic acid를 제거하여야 하는 등의 단점을 안고 있으나 고순도 fructo-oligosaccharides 생산을 위한 상업적 공정으로 충분히 응용가능할 것으로 기대된다.

전술한 혼합효소계를 이용하지 않고 순수한 fructo-oligosaccharides를 생산하기 위해서는 여러 가지 분리 정제 기술에 의존해야 하는데 설탕, 포도당 및 fructo-oligosaccharides 등의 sugar는 분자량이 크게 차이가 없을 뿐 아니라 물리화학적 특성이 서로 유사하기 때문에 통상적인 방법로는 분리 정제가 쉽지 않은 것으로 알려져 있다(17-19).

지금까지 포도당과 과당의 혼합물로부터 한 성분을 효과적으로 분리하고자 하는 연구는 몇몇 연구자들에 의해 보고되고 있는데(17, 20), 이들 단당류와 이당류 또는 본 연구에서와 같이 올리고 당류가 혼합된 당액(sugar solution)의 분리 정제에 관한 문헌은 많지 않다.

Fructo-oligosaccharides를 가장 먼저 상업화한 일본의 Meiji Seika 의 연구그룹은 이들 혼합당으로부터 fructo-oligosaccharides를 분리정제하기 위하여 공업용 이온 교환수지를 이용하였으나, 사용한 수지탑의 높이/직경 비가 120으로 scale up이 어려운 운전 조건을 보고하였다(21).

본 연구에서는 제당공업(sugar industry)에서 광범위하게 사용되고 있는 이온교환 수지탑을 이용하여 fructo-oligosaccharides 시럽으로부터 순수한 fructo-oligosaccharides를 분리, 정제할 수 있는 보다 용이한 방법을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

Fructo-oligosaccharides시럽은 제일제당(주)에서 생산된 제품(설탕 15%, 포도당 27%, fructo-oligosaccharides 58%)을 사용하였고 그외의 시약은 모두 특급 시약을 사용하였다. Diaion SK-1B, SK-1BL 및 SA-11A 등의 이온교환수지는(주)삼양사에서 생산된 공업용 수지를 사용하였다.

### 이온교환수지탑의 운전

Jacket이 부착된 높이 60cm, 내경 2.2cm의 pyrex column에 200ml의 양이온 교환수지(Diaion SK-1BL) 200ml를 충전하여 일정한 온도로 유지하고 610g/ℓ 농도로 희석된 fructo-oligosaccharides 용액을 예열된 상태로 수지탑 상부로 공급한 후 fraction collector를 이용하여 분획하였다. 순수한 fructo-oligosaccharides 성분만 함유된 용출액은 회수하고 그 이후의 분획은 다음 cycle의 feed로 공급하는 방법으로 6회 수지탑을 운전하여 단계별 회수율 및 총 회수율을 산출하였다.

### 분석

설탕, 포도당 및 fructo-oligosaccharides의 분석은 HPLC(Waters Associates Model 244, differential refractive RI 401 detector, 이동상: acetonitrile/증류수=75/25, v/v)를 사용하였고(3, 7-8, 11), 수지탑 운전의 분획에서는 TLC(Silicagel G60, Merck; 전개용매: IPA/Ethyl acetate/ Water = 4/5/1, v/v)를 병행하였다.

### 정제

이온교환수지탑 운전 중에 생성된 염을 제거하고 제품의 탈색을 위해 양이온 교환수지(Diaion SK-1B)와 음이온 교환수지(Diaion SA-11A)를 적당한 부피비로 충전된 혼합 수지탑을 이용하였다. 염의 분석은 conductivity meter(Metrohm 644 Conductometer, Swiss)를 사용하였고, 색도의 분석은 spectrophotometer(CE594 double beam spectrophotometer, Cecil, U. K.)를 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### Chromatography

전술한 조건에서 강산성 양이온 교환수지(SK-1BL)탑에 fructo-oligosaccharides 용액을 공급한 후 0.001 N NaOH 수용액을 이용하여 용출하였을 때 설탕, 포도당 및 fructo-oligosaccharides의 용출 곡선을 Fig. 2에 나타내었다. 용출 초기부터 수지탑 부피(resin volumn, RV)의 0.43RV까지의 분획에서 순수한 fructo-oligosaccharides 성분이 회수되었고 그 이후의 분획에서는 설탕, 포도당, fructo-oligosaccharides가 함께 용출되었다. 이때 0.43RV까지의 회수율은 17.6% 이었고 그 이후의 분획은 모아서 다음 cycle의 feed로 이용하였다.

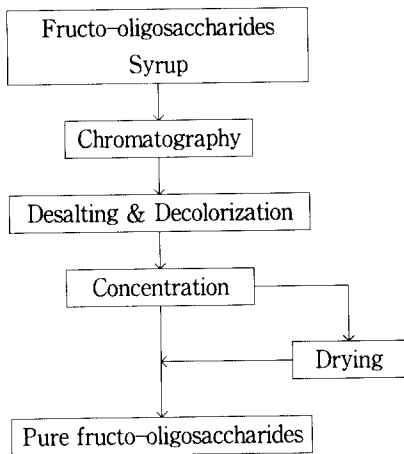


Fig. 1. Process for the production of pure fructo-oligosaccharides.

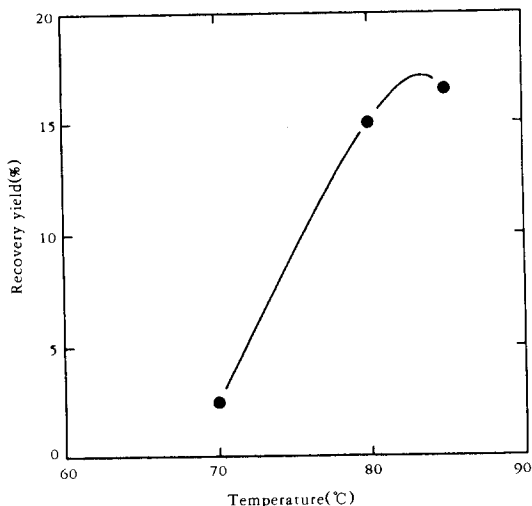


Fig. 3. Effect of temperature on the recovery yield in chromatographic separation of fructo-oligosaccharides: flow rate, SV 0.25 h<sup>-1</sup>; L/D 35.

분리시에도 온도의 영향은 매우 중요하여 80~85°C의 높은 온도가 요구되었다. 특히 70°C와 80°C 사이의 범위에서 현저한 분리율의 차이를 나타내었다. 고온일수록 분리율은 증가하겠지만 일반적으로 80°C 이상의 온도 영역에서는 당액의 착색이나 fructo-oligosaccharides의 가수분해가 일어나기 시작하므로 80°C 전후가 최적 운전 온도로 판단된다.

수지탑 운전유속의 영향

일반적으로 chromatography에서는 운전유속의 영향이 매우 중요한 인자인데, 특히 열 또는 산, 알칼리에 불안정한 물질의 경우 더욱 중요하다. Fig. 4에서 보여주는 바와 같이 fructo-oligosaccharides의 경우에도 운전유속이 0.1h<sup>-1</sup>(space velocity) 정도로 대단히 낮을 경우 분리율이 급격히 떨어졌다. 이것은 강산성 양이온 교환수지 층(bed)의 pH가 매우 낮은 영역(pH4~4.5)으로 유지되어 fructo-oligosaccharides의 상당량이 가수분해되어 절대량이 감소한 것이 하나의 원인이고, 이 결과 분리 초기부터 fructo-oligosaccharides의 분해산물인 과당이 포도당, 설탕과 함께 용출됨으로써 fructo-oligosaccharides와 효과적인 분리를 어렵게 한 요인이 되었다. 따라서 설탕, 포도당과 잘 분리되는 동시에 fructo-oligosaccharides가 분해되지 않는 체류시간

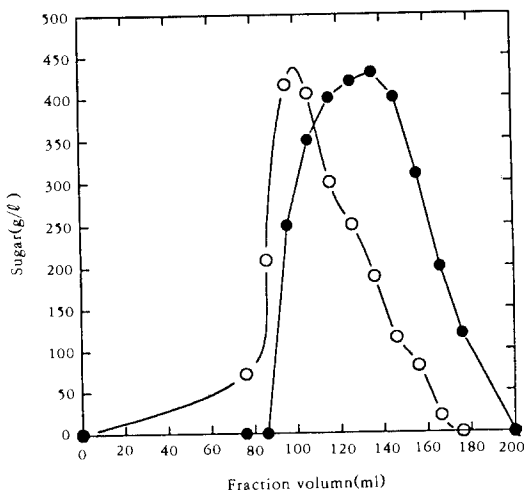


Fig. 2. Elution curves in chromatographic separation of fructo-oligosaccharides from glucose and sucrose: (○) fructo-oligosaccharides, (●) glucose and sucrose: temp, 80°C; flow rate, SV 0.25h<sup>-1</sup>; L/D 35.

온도의 영향

일반적으로 당액의 chromatography는 60~95°C 정도의 고온에서 효과적인 것으로 알려져 있는데 (19), 이것은 고온에서 당액의 점도가 급격히 낮아지고 확산속도가 크게 증가하기 때문인 것으로 생각된다. Fig. 3에서와 같이 fructo-oligosaccharides

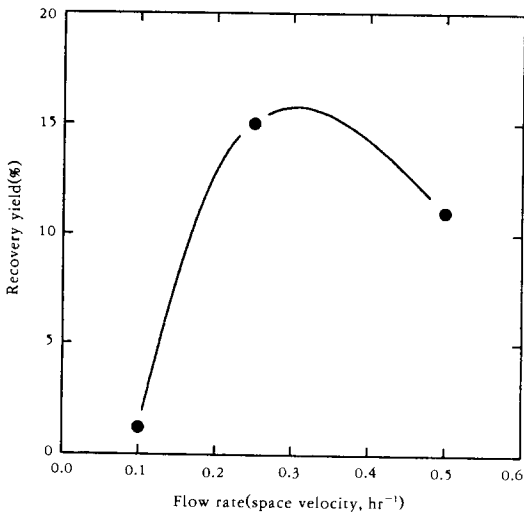


Fig. 4. Effect of flow rate on the recovery yield in chromatographic separation of fructo-oligosaccharides: temp, 80°C; L/D 35.

을 고려하여 운전유속을 결정하여야 할 것이다. 본 연구에서도 Fig. 4에서처럼 0.25h<sup>-1</sup> 전후에서 최적인 것으로 나타났다.

수지탑 높이와 직경의 비율(L/D)이 분리율에 미치는 영향

산업적으로 사용되고 있는 이온교환수지탑의 L/D는 장치설계나 설치상의 문제 등으로 대개 10 이하인 경우가 많은데(19), fructo-oligosaccharides의 분리의 경우 L/D 10 전후에서는 거의 분리가 일어나지 않았고 L/D 25~35에서 효과적이었다(Fig. 5).

총 분리율

이상의 최적화 조건에서 6회 chromatography를 수행한 결과 Fig. 6에서 나타난 바와 같이 4회까지는 거의 일정한 분리율을 보였으나 5, 6회 분리에서는 분리율이 현저하게 떨어져 4회까지 분리한 후 이온교환수지의 재생(2 M NaCl)이 필요하였다. 4회 분리까지의 회수율은 65.8%, 6회 분리까지의 회수율은 74.9%이었다.

정제

4회 분리를 행한 후 용출액 중의 염과 색소를 제

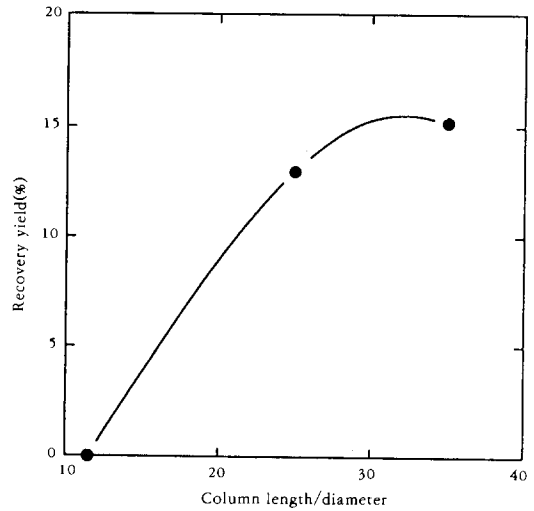


Fig. 5. Effect of column length/diameter on the recovery yield in chromatographic separation of fructo-oligosaccharides: temp, 80°C; flow rate, SV 0.25h<sup>-1</sup>.

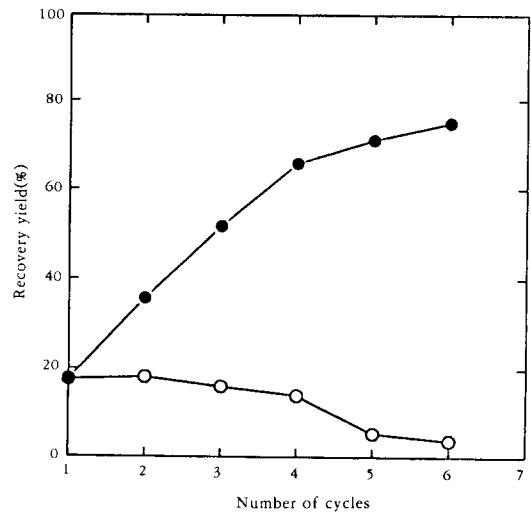


Fig. 6. Step and total recovery yield according to the number of cycles in chromatographic separation of fructo-oligosaccharides: (○) step recovery yield, (●) total recovery yield.

거하기 위하여 HCl과 NaOH로 각각 재생된 양이온 교환수지와 음이온교환 수지를 1:2의 부피비로 충전

**Table 1. Sugar composition in fructo-oligosaccharides syrup and high-purity fructo-oligosaccharides produced by chromatographic separation.**

Sugars*	Fructo-oligosaccharides	High-purity fructo-oligosaccharides
glucose	27.2	0
sucrose	14.1	3.5
GF <sub>2</sub>	31.8	50.5
GF <sub>3</sub>	20.3	33.3
FG <sub>4</sub>	6.6	12.7
n=4 Σ GF <sub>n</sub>	58.7	96.5
n=2 total	100	100

\*CF<sub>2</sub>, GF<sub>3</sub> and GF<sub>3</sub> indicate 1-kestose, nystose and fructofuranosyl nystose respectively.

한 혼상수지탑을 이용하여 염과 색소를 동시에 제거하였다. 탈염, 탈색 공정을 거친 공정액은 850g/ℓ로 농축하여 시럽상의 제품을 얻거나 동결 건조하여 분말형태의 제품을 제조하였다. 최종제품의 조성은 Table 1에서와 같이 1-kestose 50.5%, nystose 33.3%, fructofuranosyl nystose 12.7%였다.

**요 약**

간산성 양이온 교환수지를 이용하여 설탕, 포도당이 혼존되어 있는 fructo-oligosaccharides 시럽으로부터 순수한 fructo-oligosaccharides를 분리 정제하였다. 분리 조건을 최적화한 결과, 수지탑 운전 온도 80℃, 유속 0.25h<sup>-1</sup>이었으며, 수지탑의 높이와 직경의 비율은 25 이상에서 효과적이었다. 최적 조건에서 4회 분리를 수행한 결과, 분리율은 66%이었으며, 제품의 순도는 96%이었다. 분리된 fructo-oligosaccharides 용액은 양이온 교환수지와 음이온 교환수지가 함께 충전된 혼상 수지탑을 이용하여 염과 색소를 동시에 제거한 후 농축하여 최종제품을 제조하였다.

**참 고 문 헌**

1. 편집부(1989), *Food Chemicals*(Japan), Oct., 10.
2. 편집부(1990), 식품과 개발(일본), **26**(10), 23.
3. J. W. Yun, K. H. Jung, J. W. Oh and J. H.

- Lee(1990), *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **24/25**, 299.
4. H. Hidaka, M. Hirayama and M. Sumi(1988), *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 1181.
5. S. Hayashi, M. Nonokuchi, K. Imada and H. Ueno(1990), *J. Industrial Microbiol.*, **5**, 395.
6. T. Kohmoto, K. Tsuji, T. Kaneko, M. Shiota, F. Fukui, H. Takaku, Y. Nakagawa, T. Ichikawa and S. Kobayashi(1992), *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**(6), 937.
7. K. H. Jung, J. Y. Lim, S. J. Yoo, J. H. Lee and M. Y. Yoo(1987), *Biotechnol. Lett.*, **9**, 703.
8. J. W. Yun, K. H. Jung, Y. J. Jeon and J. H. Lee(1992), *J. Microbiol. Biotechnol.*, **2**(2), 98.
9. S. Hayashi, J. Kinoshita, M. Nonoguchi, Y. Takasaki and K. Imada(1991), *Biotechnol. Lett.*, **13**(6), 395.
10. S. Hayashi, K. Ito, M. Nonoguchi, Y. Takasaki and K. Imada(1991), *J. Ferment. Bioeng.*, **72**(1), 68.
11. K. H. Jung, J. W. Yun, K. R. Kang, J. Y. Lim and J. H. Lee(1989), *Enzyme Microb. Technol.*, **11**, 491.
12. J. W. Yun, Y. J. Jeon, M. G. Lee and S. K. Song(1993), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **8**(3), 266.
13. J. W. Yun and S. K. Song(1993), *Biotechnol. Lett.*, **15**(6), 573.
14. J. W. Yun, M. G. Lee and S. K. Song(1994), *J. Ferment. Bioeng.*, In press.
15. J. W. Yun, M. G. Lee and S. K. Song(1993), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **8**, 307.
16. J. W. Yun, J. S. Noh, M. G. Lee and S. K. Song(1993), *HWAHAKKONGHAK*, **31**, 846.
17. J. H. Chang and H. N. Chang(1983), *Korean J. Food Sci. Technol.*, **15**(1), 1.
18. Y. S. Ghim and H. N. Chang(1982), *Ind. Eng. Chem. Fundam.*, **21**, 369.
19. H. J. Hongisto(1977), *Intern. Sugar J.*, **79**, 100.
20. S. M. Jang, H. G. Park and H. N. Chang(1993), *HWAHAK KONGHAK*, **31**, 388.
21. 新元久 et al.(1984), 日本特許公報 昭59-179100.