

팽윤 Extrusion 전분을 기질로 한 불균일상 효소 반응계에서 Cyclodextrin 생성반응의 수치적 해석

조명진 · 박동찬 · 이용현*
경북대학교 자연과학대학 유전공학과

Kinetic Modeling of Cyclodextrin Forming Reaction in a Heterogeneous Enzyme Reaction System using Swollen Extrusion Starch

Myung-Jin Cho, Dong-Chan Park and Yong-Hyun Lee*

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

Abstract — A kinetic model of the cyclodextrin formation in a heterogeneous enzyme reaction system using swollen extrusion starch as substrate was derived emphasizing the structural features of extrusion starch. The degree of gelatinization, the ratio of accessible and inaccessible portion of extrusion starch, adsorption of CGTase on swollen starch, the structural transformation during reaction, and product inhibition caused by produced CDs were considered in deriving kinetic model. Various kinetic constants were also evaluated. The derived kinetic equation was numerically simulated, which result showed that the derived kinetic equations can be used to predict the experimental data reasonably well under the various experimental conditions. Kinetic model can be utilized for the optimization of enzyme reactor and the process development for CD production from swollen extrusion starch.

Cyclodextrin(CD)은 cyclodextrin glucanotransferase(EC 2.4.1.19 ; CGTase)의 cyclization 반응에 의하여 생성되는 비환원성 maltooligosaccharide로서 각종 화합물과 inclusion complex를 형성하며, 물성 개선, 안정성 향상 등의 효과를 얻을 수 있는 전분 유래의 기능성 oligo 당으로서 다양한 분야에서 광범위하게 응용되고 있다.

본 연구실에서는 분쇄마찰매체함유 불균일상 효소 반응계에서 생전분을 기질로 한 CD 생산과 extrusion시킨 팽윤 α 화 전분을 기질로 한 불균일상 효소 반응계를 이용한 CD 생산에 관한 일련의 연구를 수행한 바 있다(1-4). 생전분 또는 팽윤 전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계를 이용한 CD 생산법은 액화 또는 부분환화 전분을 사용하는 균일상 효소반응계를 이용하는 기존의 CD 생산법에 비하여 CD 생성반응 속도가 유사하며, 수율이 향상되고, 특히 반응액중 oligo 당의 함량이 적고 미반응 잔류전분을 쉽게 제

거할 수 있어 CD의 분리정제가 매우 용이한 등 많은 장점이 있어 산업적 활용이 기대되는 새로운 고효율 CD 생산법임을 보고한 바 있다.

팽윤 extrusion 전분을 기질로 한 CD 생산법을 산업적으로 적용하기 위해서는 적절한 효소반응기의 개발과 생산공정의 최적화가 필요하다. 이를 위해서는 효소반응을 적절히 기술할 수 있는 kinetic model의 수립이 필수적으로 요망된다. 전보(5)에서는 kinetic equation을 유도하기 위한 전단계 연구로서 CD 생성반응의 mechanism을 전분의 구조적 특성을 중심으로 규명한 바 있다. 그 결과 호화도가 팽윤 전분의 구조적 특성을 나타내는 가장 중요한 지표로 사용될 수 있으며, 팽윤 전분은 활성 부분과 효소 작용이 어려운 비활성 부분으로 존재하였고, 반응에 따른 전분입자의 구조적 변형을 관찰하였으며, CGTase의 팽윤 전분에 대한 흡착양상을 검토하였다. 또한 각종 CD의 저해양상을 규명하여 α -CD가 저해성이 가장 높고 inhibition mechanism은 competitive임을 알았다.

본 연구에서는 위의 결과를 토대로 팽윤 extrusion 전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계에서 CD 생

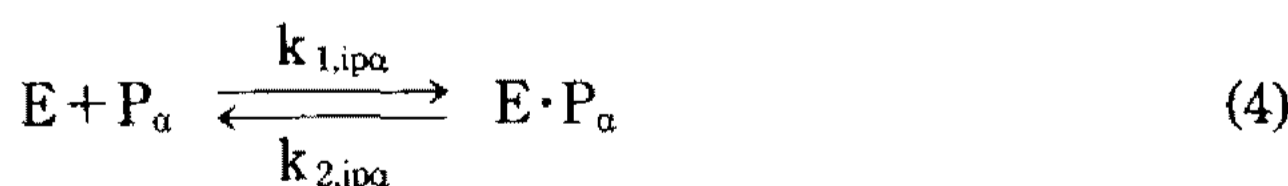
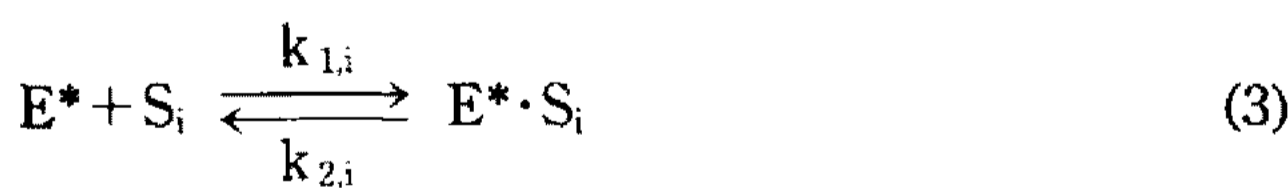
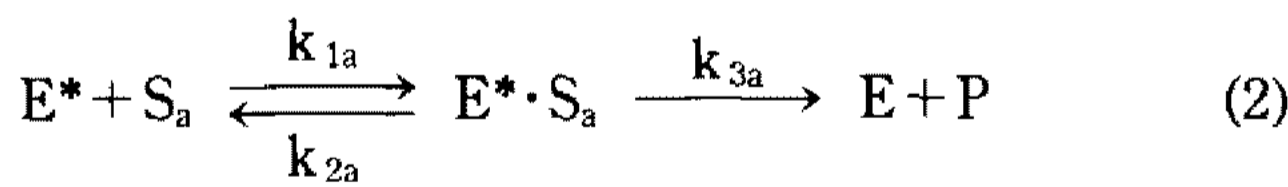
Key words: Cyclodextrin, swollen extrusion starch, cyclodextrin glucanotransferase, heterogeneous enzyme reaction system, kinetic modeling
*Corresponding author

성반응을 기술할 수 있는 kinetic model을 전보(5)에서 관찰한 팽윤전분의 구조적 특징을 중심으로 유도하였다. 그리고 반응식중의 각종 상수들을 평가하였으며, 유도된 kinetic equation을 팽윤 전분의 농도, 효소량, 호화도를 변화시키면서 CD 생성반응의 진행양상을 이론적으로 계산하여 실험치와 비교, 그 효용성을 평가하였다. 이와같은 연구는 팽윤 전분을 기질로 한 CD 생산 효소반응기의 최적화 및 생산공정의 개발에 활용될 것이다.

Kinetic Model의 유도 및 반응상수의 평가

Kinetic Model의 유도 Kinetic model을 유도하기 위하여 전보(5)의 결과를 토대로 다음과 같은 가정을 설정하였다. 먼저 1) 팽윤 전분(S_0)은 CGTase의 작용을 받을 수 있는 활성 부분(S_a)과 효소 작용을 받기 어려운 비활성 부분(S_i)으로 구성되며 이는 팽윤전분의 대표적 구조적 특성인 호화도(Ω)와 밀접한 상관관계에 있다. 2) 반응은 팽윤 전분 표면에 흡착된 CGTase에 의하여 수행되며 CGTase는 흡착상태(E^*)와 비흡착상태(E)로 존재한다. 3) 팽윤 전분은 반응이 진행됨에 따라 구조적으로 분해되기 어려운 상태(Φ)로 변형된다. 그리고 4) CGTase 작용은 competitive inhibition mechanism으로 각종 CD에 의해서 저해를 받으며 특히 α -CD의 저해작용이 크다.

이를 기초로 다음과 같은 반응 mechanism을 설정하였다. 여기서 CGTase는 $E(=E+E^*)$, 팽윤 전분은 $S(=S_a+S_i)$, CGTase와 팽윤 전분간의 복합체는 $ES(=E^*S_a+E^*S_i)$, 전체 CD($=\alpha$ -, β -, 및 γ -CD)는 P , 그리고 α -CD는 P_α 로 표시하였다.



Eq. (1)의 CGTase 흡착양상은 불용성 cellulose에 관한 연구를 수행한 Lee 등(6-9)과 Ryu 등(10, 11)의 연구와 같이 Langmuir-type adsorption isotherm으로

표현하였으며, 여기서 θ_E 는 효소가 흡착된 기질 표면의 분획, E^*_{max} 는 효소의 최대 흡착량, 그리고 K_E 는 흡착상수이다. 낮은 효소 농도($K_E E \ll 1.0$)하에서는 Eq. (6)은 $\theta_E = K_E E$ 또는 $E^* = K_E E^*_{max} E = K E$ 와 같이 된다(11). 여기서 K 는 팽윤 전분에 흡착된 효소와 용액중의 비흡착 효소의 분포 계수와 유사한 의미를 갖는다. 특히 Ryu(10) 등에 의하면 초기 효소 농도(E_0)가 0.5 mg protein/ml보다 매우 적을 때 타당성을 갖게 된다.

$$\theta_E = \frac{E^*}{E^*_{max}} = \frac{K_E E}{1 + K_E E} \quad (6)$$

위에서 도출한 효소반응 mechanism을 기초로 팽윤 전분을 기질로 한 CD 생성반응을 기술할 수 있는 반응속도식들을 불용성 기질을 활성과 비활성의 이중구조로 파악 수식화한 Ryu 등(11)의 방법과 불용성 기질의 결정구조, 효소흡착량, 그리고 반응에 따른 기질의 불활성화를 고려하여 수식화한 Lee 등(6-9)의 방법을 사용하여 kinetic equation을 유도하였다. 또한 α -CD에 의한 competitive inhibition을 고려하여 다음과 같은 Eq. (7)을 유도하였다.

여기에서 $V_{max} = k_{3a} \cdot E_0$, $K = (k_{ad}/k_a) = (E^*/E)$, K_a 는 팽윤전분의 활성부분(S_a)에 대한 Michaelis-Menten 상수, K_{is} 는 비활성부분(S_i)에 대한 Michaelis-Menten 상수, K_{ipa} 는 저해상수이며 K_A , K_{IS} , $K_{IP\alpha}$ 는 각각 효소흡착을 고려한 K_a , K_{is} , K_{ipa} 의 apparent 값, 그리고 Γ 는 초기 팽윤 전분의 불활성 부분과 활성부분의 비(S_i/S_a)를 나타낸다.

$$R_{iCD} = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_A(1+\Gamma)(1+[P_\alpha]/K_{ISa}) + (1+(K_A/K_{IS}) \cdot \Gamma)[S]} \quad (7)$$

$$\text{where } K_a = \frac{k_{2a} + k_{3a}}{k_{1a}}, \quad K_A = \frac{K}{1+K} K_a$$

$$K_{is} = \frac{k_{1,i}}{k_{1,i}}, \quad K_{IS} = \frac{K}{1+K} K_{is}$$

$$K_{ipa} = \frac{k_{1,ipa}}{k_{2,ipa}}, \quad K_{IP\alpha} = \frac{K}{1+K} K_{ipa}$$

$$\Gamma = \frac{[S_{i,0}]}{[S_{a,0}]}$$

기질인 팽윤 전분은 효소반응이 진행됨에 따라 효소의 작용이 어려운 구조로 변환된다. 이러한 팽윤 전분의 구조적 변환에 따른 CD 생성속도의 감소는 불용성 전분에 대한 연구등을 수행한 이와 박(12), 박 등(13)이 한 방법을 이용하여 초기 팽윤 전분의 분

해속도($R_{1,CD}$)와 일정시간 반응 후 얻어진 잔유 기질의 분해속도($R_{2,CD}$)의 비로 정의하여 다음 Eq. (8)과 같이 Φ 로 표시하였다.

$$\Phi = \frac{R_{2,CD}}{R_{1,CD}} = 1 - X^n = 1 - \left(\frac{[CD_t]}{[S_o]}\right)^n \quad (8)$$

$$= 1 - (1 - [S]/[S_o])^n$$

따라서 팽윤전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계에서 생성된 CD의 양을 나타내는 반응속도식은 Eq. (7)과 Eq. (8)을 조합하여 다음과 같이 변형된다.

$$R_{tCD} = \Phi \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_A(1+\Gamma)(1+[p_\alpha]/K_{IS\alpha}) + (1+(K_A/K_{IS}) \cdot \Gamma)[S]} \quad (9)$$

한편 팽윤 전분질의 extrusion에 의한 구조변형 정도의 지표인 호화도와 팽윤 전분의 활성 부분과 비활성 부분비와의 상관관계는 전보(5)에서 분석한 것과 같이 다음과 같이 나타낼 수 있다. 여기서 Ω 는 팽윤 전분의 초기 호화도, 그리고 Γ 는 초기 팽윤 전분의 불활성 부분과 활성부분의 비($S_{i,o}/S_{a,o}$)를 나타낸다.

$$\Omega = \frac{[S_{a,o}]}{[S_{i,o}]} = 2.532 \times 10^{-2} \cdot \frac{1}{\Gamma} + 15.514 \times 10^{-2} \quad (10)$$

따라서 팽윤 전분은 효소반응을 받을 수 있는 부분(S_a)과 효소작용을 받을수 없는 부분으로(S_i)으로 구성되어 있으며, 이러한 구조적 특징을 대표하는 호화도를 고려한 효소반응식은 Eq. (9)과 Eq. (10)을 조합하여 다음과 같이 표시된다.

$$R_{tCD} = \Phi \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_A(1+\pi/(\Omega-a))(1+[p_\alpha]/K_{IS\alpha}) + (1+(K_A/K_{IS}) \cdot (\pi/(\Omega-a)))[S]} \quad (11)$$

$$\text{where } R_{tCD} = \frac{V''_{max} \cdot [S]}{K''_m(1+[p_\alpha]/K_{IS\alpha}) + [S]} \quad (12)$$

$$K''_m = \frac{K_A(1+(\pi/(\Omega-a)))}{1+(K_A/K_{IS})(\pi/(\Omega-a))} \quad (13)$$

$$V''_{max} = \frac{\Phi \cdot V_{max}}{1+(K_A/K_{IS})(\pi/(\Omega-a))} \quad (14)$$

또한 CD 생성 반응은 주 생성물인 α -CD에 의해 competitive inhibition를 받으며, α -CD의 생성량을 기술할 수 있는 수식이 필요하다. α -CD 생성반응은 위에서와 같은 방법으로 유도될 수 있으며 다음과 같이 표현할 수 있다.

$$R_{\alpha-CD} = \frac{V''_{max,\alpha} \cdot [S]}{K''_{m,\alpha}(1+[p_\alpha]/K_{IS\alpha}) + [S]} \quad (15)$$

$$\text{where } K''_{m,\alpha} = \frac{K_{A,\alpha}(1+(\pi/(\Omega-a)))}{1+(K_{A,\alpha}/K_{IS})(\pi/(\Omega-a))} \quad (16)$$

$$V''_{max,\alpha} = \frac{\Phi \cdot V_{max,\alpha}}{1+(K_{A,\alpha}/K_{IS})(\pi/(\Omega-a))} \quad (17)$$

종합적으로 팽윤 전분을 이용한 불균일상 효소반응계에서 CD 생성반응은 위에서 유도한 Eq. (9), (11), (12), 그리고 (15)로 나타낼 수 있다.

반응상수

유도된 반응식의 각종 상수는 실험적으로 평가하여 전보(5)에 보고한 바 있으며 그 결과를 Table 1에 종합하였다. Table 1에는 호화도에 따른 전체 CD 생성의 최대 반응속도(V''_{max}), Michaelis-Menten constant(K''_m), α -CD 생성의 최대 반응속도($V''_{max,\alpha}$), Michaelis-Menten constant($K''_{m,\alpha}$), 그리고 기질의 비활성과 불활성 부분의 비(Γ)를 나타내고 있다. 또한 α -CD에 의한 product inhibition constant($K_{IS\alpha}$), 그리고 비흡착 효소량에 대한 흡착된 효소량(E^*/E)을 나타내는 흡착상수(K)는 각각 4.62 α -CDg/ml, 1.39이었다 (5).

Table 1. The kinetic constants for CD production reaction evaluated from different degree of gelatinization of swollen extrusion starch (5)

Degree of gelatinization, %	K''_m , g/l	V''_{max} , g/l·min	$K''_{m,\alpha}$, g/l	$V''_{max,\alpha}$, g/l·min	Γ (S_i/S_a)
41.56	8.06	0.2532	5.42	0.1722	9.72×10^{-2}
44.51	7.42	0.2781	5.22	0.1804	8.92×10^{-2}
51.67	6.44	0.3225	5.30	0.2039	7.00×10^{-2}
58.09	5.62	0.3472	5.22	0.2112	6.10×10^{-2}
63.52	5.03	0.3510	4.60	0.2645	5.05×10^{-2}
76.01	4.85	0.3281	5.50	0.2608	4.19×10^{-2}

반응식의 계산 및 평가

유도된 Eq. (8), (10), 그리고 (12)~(17)을 계산변수인 호화도(Ω), 기질농도(S_0), 효소농도(E_0) 등을 변화시키면서 fourth order Runge-Kutta integration method(14)를 활용하여 계산하였다.

재료 및 방법

사용효소

사용효소는 *Bacillus macerans* 유래의 산업용 CGTase(Amano Co., specific activity; 60 unit/mg of protein)를 사용하였다. CGTase의 활성은 5%(w/v) 가용성 전분용액(pH 6.0) 1.0 ml에 CGTase 용액 0.02 ml(protein conc.; 2.5 mg/ml)을 첨가하여 50°C에서 30분간 반응시킨 후 생성된 CD량을 측정하여 결정하였으며, 분당 1 mg의 CD를 생성시키는 효소의 양을 1 unit로 정하였다.

팽윤 전분의 제조

Extrusion 처리한 팽윤 옥수수 전분을 기질로 사용하였으며 extruder의 조작조건은 전보(5)에서 보고한 바와 같으며, 팽윤 전분질의 호화도는 41.56~76.01% 범위에 있었다.

전분의 호화도 측정

호화도는 Wootton 등(15)의 방법에 따라 측정하였으며, 분말시료를 20 g/l로 현탁하여 3,000×g로 10분간 원심분리한 상등액을 100배 희석한 후, iodine 용액(4% KI, 1% I₂)을 1%(v/v) 첨가하여 600 nm에서 흡광도(A)를 측정하였다. 비교를 위하여 완전 호화된 시료를 0.5M KOH 용액에서 20 g/l가 되게 현탁하고 5분간 상온에서 방치하여 완전히 호화시킨 후, 원심분리한 상등액을 중화하여 위와 같은 조건으로 흡광도(A₀)를 측정하여 호화도(%), $A/A_0 \times 100$ 를 계산하였다.

팽윤 Extrusion 전분을 이용한 Cyclodextrin 생성 반응

팽윤 extrusion 전분 10~100 g/l을 20 mM Tris-maleic acid-NaOH buffer에 현탁시키고 CGTase 0.1 unit/g starch를 첨가하여 50°C에서 200 rpm으로 교반하면서 반응시켰다. 경우에 따라 호화도가 다른 전분, 팽윤 전분 첨가량, 그리고 사용효소량을 변화시켰다.

분석방법

Cyclodextrin은 high performance liquid chromatography(HPLC, Model-305, Gilson Co.)를 이용하여 정량분석하였다. HPLC는 column; Cosmosil 5NH₂ packed column(Nacalai Co.), 용출용매; acetonitrile/H₂O(65:35), 용출속도; 1.0 ml/min, 그리고 RI detector로 분석하였다. 가용성 단백질량은 Bradford법(16)으로 측정하였다.

결과 및 고찰

반응시간에 따른 팽윤 전분과 CD 농도의 변화

Fig. 1은 호화도가 63.52%인 팽윤 extrusion 전분 100 g/l와 효소 0.1 unit/g starch를 혼합하여 반응시키면서 팽윤 전분, 총 CD, 그리고 α -CD의 농도변화를 관찰한 결과이다. 여기에서 선들은 유도된 반응식으로 계산한 이론치이며 기호들은 실험치를 나타내고 있다. 팽윤 전분농도와 CD의 농도변화는 전기간을 통하여 매우 잘 일치하였고, 특히 반응초기에 그 변화를 잘 나타내고 있다. 그러나 8시간 이후 CD 농도의 이론치가 실험치보다 약 10% 전후 높은 값을 나타내어 과다 예측하는 경향을 보였는데 이는 생성된 CD가 CGTase의 부반응인 CD를 개환하여 당수용체에 당분자를 전이하는 coupling 반응, oligosaccharide의 분자쇄를 조절하는 disproportionation 반응, 또는 CD

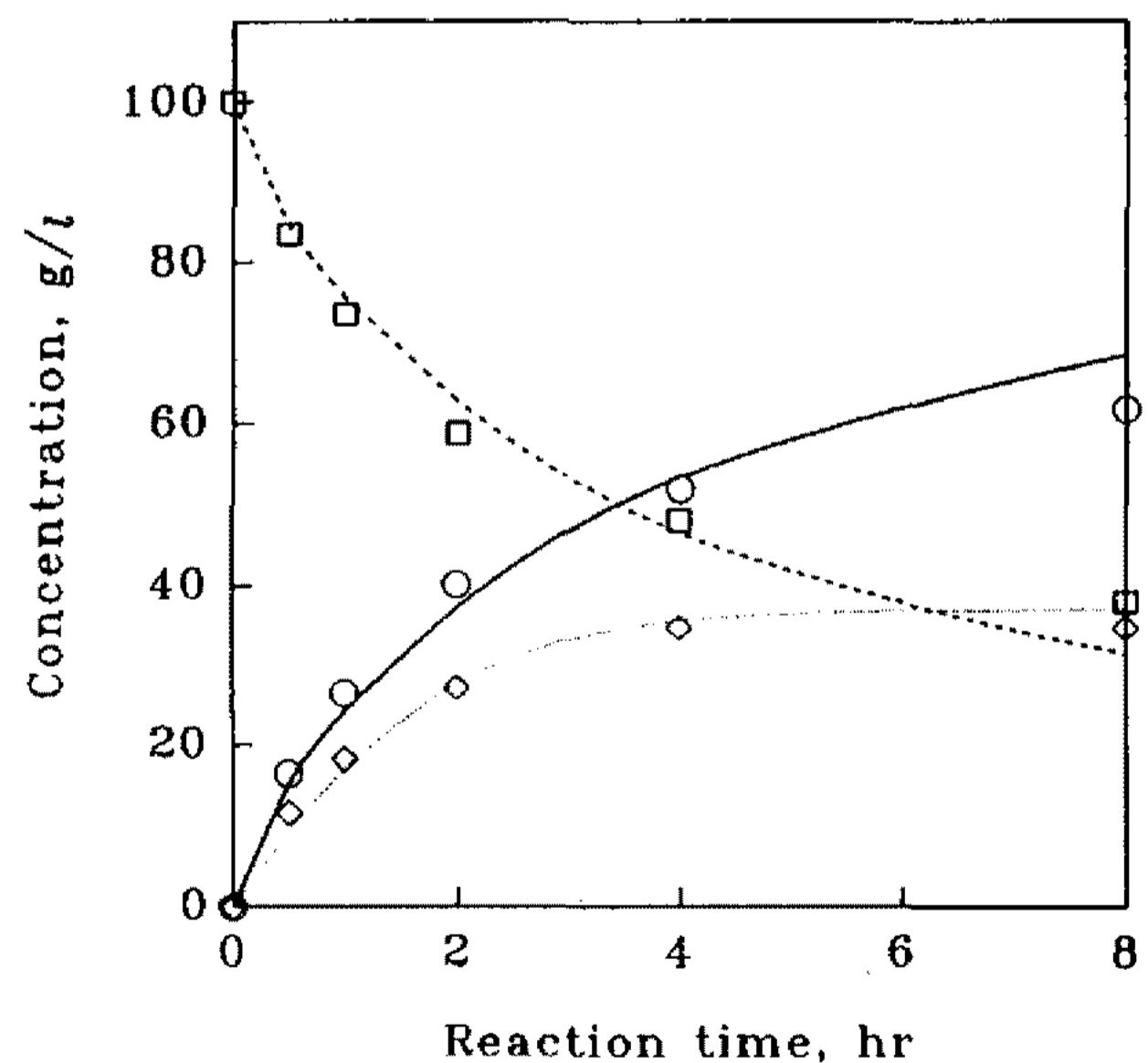


Fig. 1. Comparison of theoretical and experimental data for changes of cyclodextrin and residual starch concentrations during enzyme reaction.

100 g/l (w/v) of swollen starch, 0.1 unit of CGTase/g starch, pH 6.0, 50°C, and 200 rpm.

Line, theoretical curve; symbol, experimental values —○—; total CD, ···◇···; α -CD, ---□---; residual swollen starch

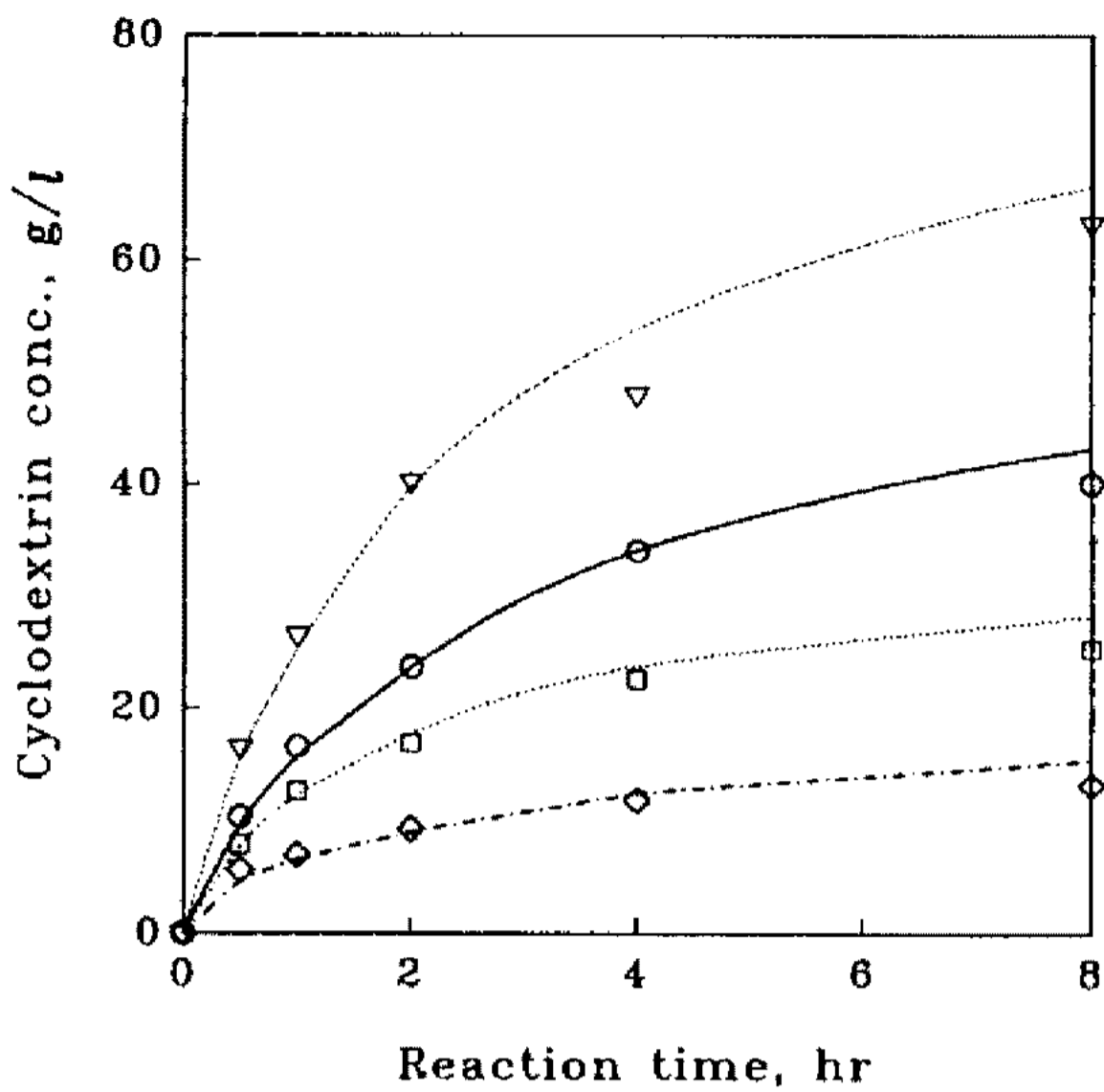


Fig. 2. Comparison of theoretical and experimental data for cyclodextrin production carried out at different concentrations of swollen starch.
 0.1 unit of CGTase/g swollen starch, pH 6.0, 50°C, and 200 rpm.
 Line, theoretical curve; symbol, experimental values
 ---◇---; 25, ---□---; 50, ---▽---; 75, ---○---; 100 g/l (w/v) of swollen starch.

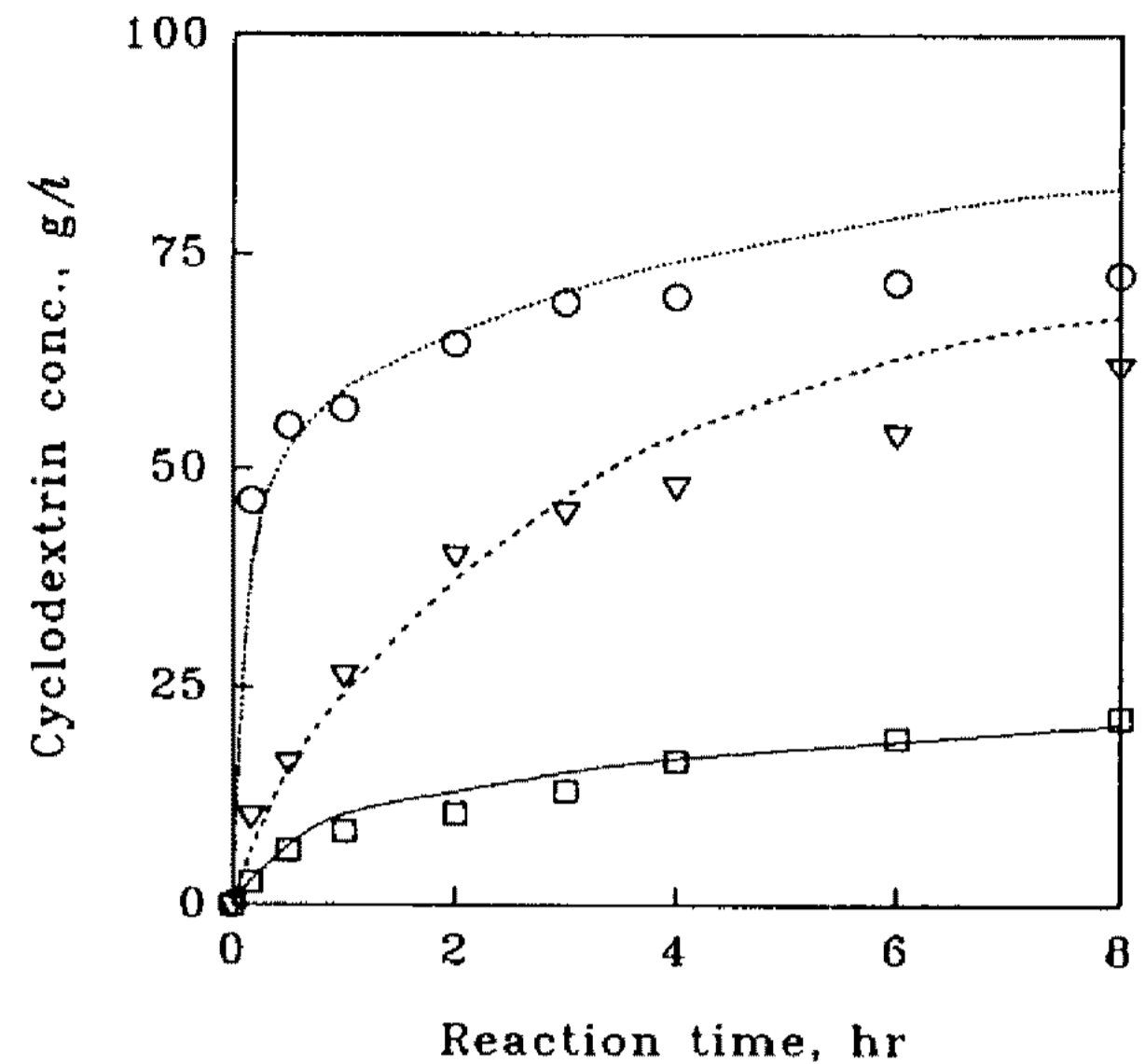


Fig. 3. Comparison of theoretical and experimental data for cyclodextrin production carried out at different CGTase concentrations.
 100 g/l (w/v) of swollen starch, pH 6.0, 50°C, and 200 rpm.
 Line, theoretical curve; symbol, experimental values
 ---□---; 0.01, ---▽---; 0.1, ---○---; 1 unit of CGTase/g swollen starch.

가수분해와 같은 다양한 부반응에 의하여 소비되거나 또는 8시간 전후하여 생성될 수 있는 최대의 CD 농도에 도달되기 때문으로 판단된다.

팽윤 전분의 농도 따른 CD 생성양상

Fig. 2는 호화도가 63.52%인 팽윤 extrusion 전분 농도를 25, 50, 75, 그리고 100 g/l로 변화시키면서 효소 0.1 unit/g starch를 혼합하여 반응시킨 후 얻어진 CD 생성량의 이론치와 실험치를 비교한 결과이다. 유도된 반응식은 팽윤 전분의 농도에 따른 CD 생성량을 전반적으로 잘 예측할 수 있었다. 그러나 전분 농도가 100 g/l에서부터 약간의 실험치와 차이가 발생하였는데, 이는 전보(5)에서 관찰한 것과 같이 팽윤 전분을 고농도로 첨가하면 반응액 중에 수분을 다량 흡수하여 반응 현탁액의 점도가 상승되어 효소의 작용이 원활하지 않게 되는 것으로 사료된다.

효소량에 따른 CD 생성양상

Fig. 3는 호화도가 63.52%인 팽윤 extrusion 전분을 100 g/l로 고정하고 첨가 CGTase량을 0.01, 0.1, 그리고 1.0 unit/g starch를 혼합하여 반응시키면서 생성된 CD 량을 이론치와 실험치를 비교한 결과이다. 유도된 반응식들은 효소량에 따른 CD 생성량은 전반적으로 잘 예측할 수 있었다.

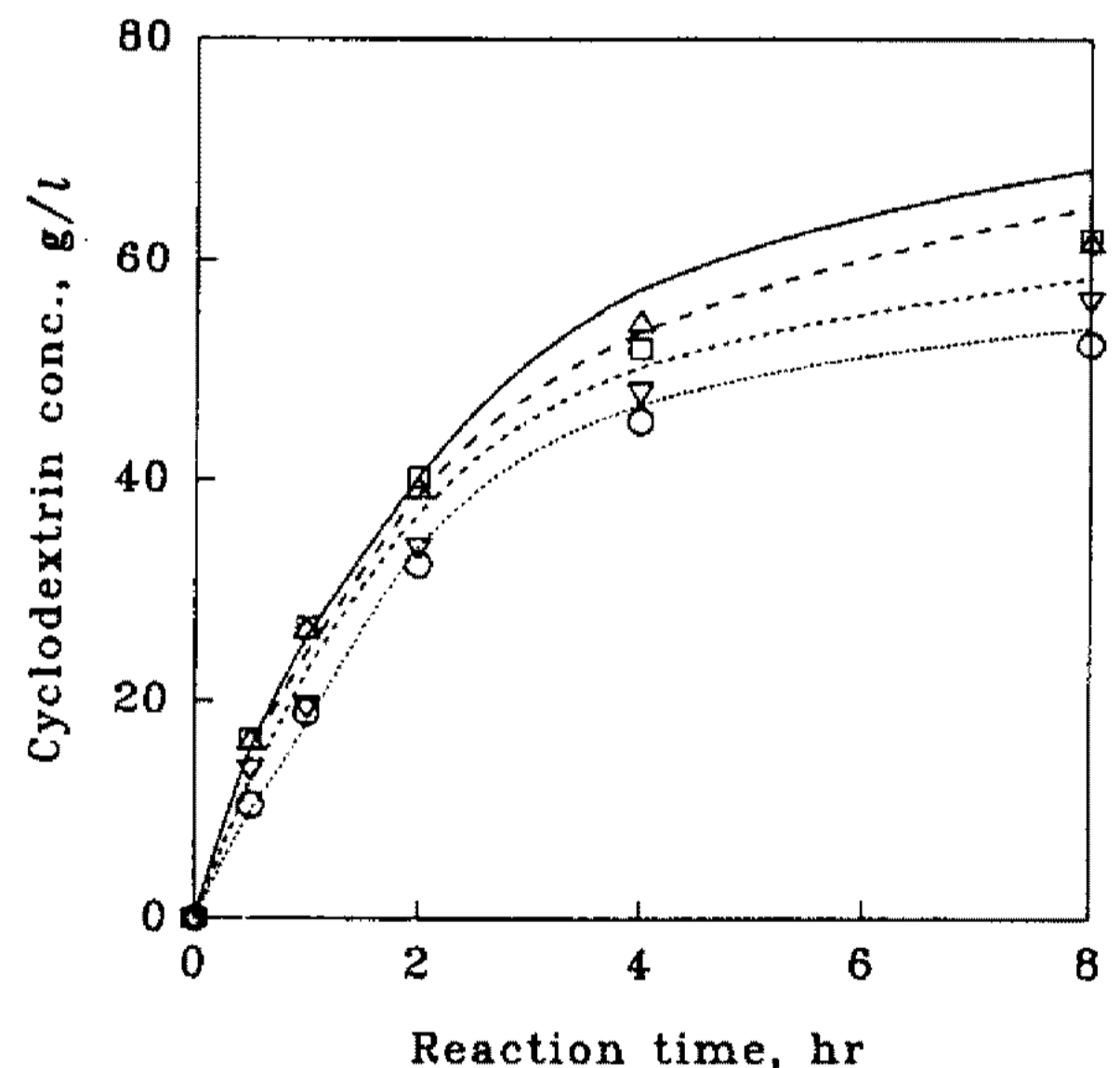


Fig. 4. Comparison of theoretical and experimental data for cyclodextrin production utilizing different degree of gelatinization of swollen starch.
 100 g/l (w/v) of swollen starch, pH 6.0, 50°C, and 200 rpm.
 Line, theoretical curve; symbol, experimental values
 Initial degree of gelatinization: ---○---; 41.56, ---▽---; 51.67, ---□---; 63.52, ---△---; 76.01%

팽윤 전분 호화도에 따른 CD의 생성양상

호화도 41.56~76.01%인 팽윤 전분 100 g/l와 효소 0.1 unit/g starch를 혼합하여 효소반응시키면서 CD

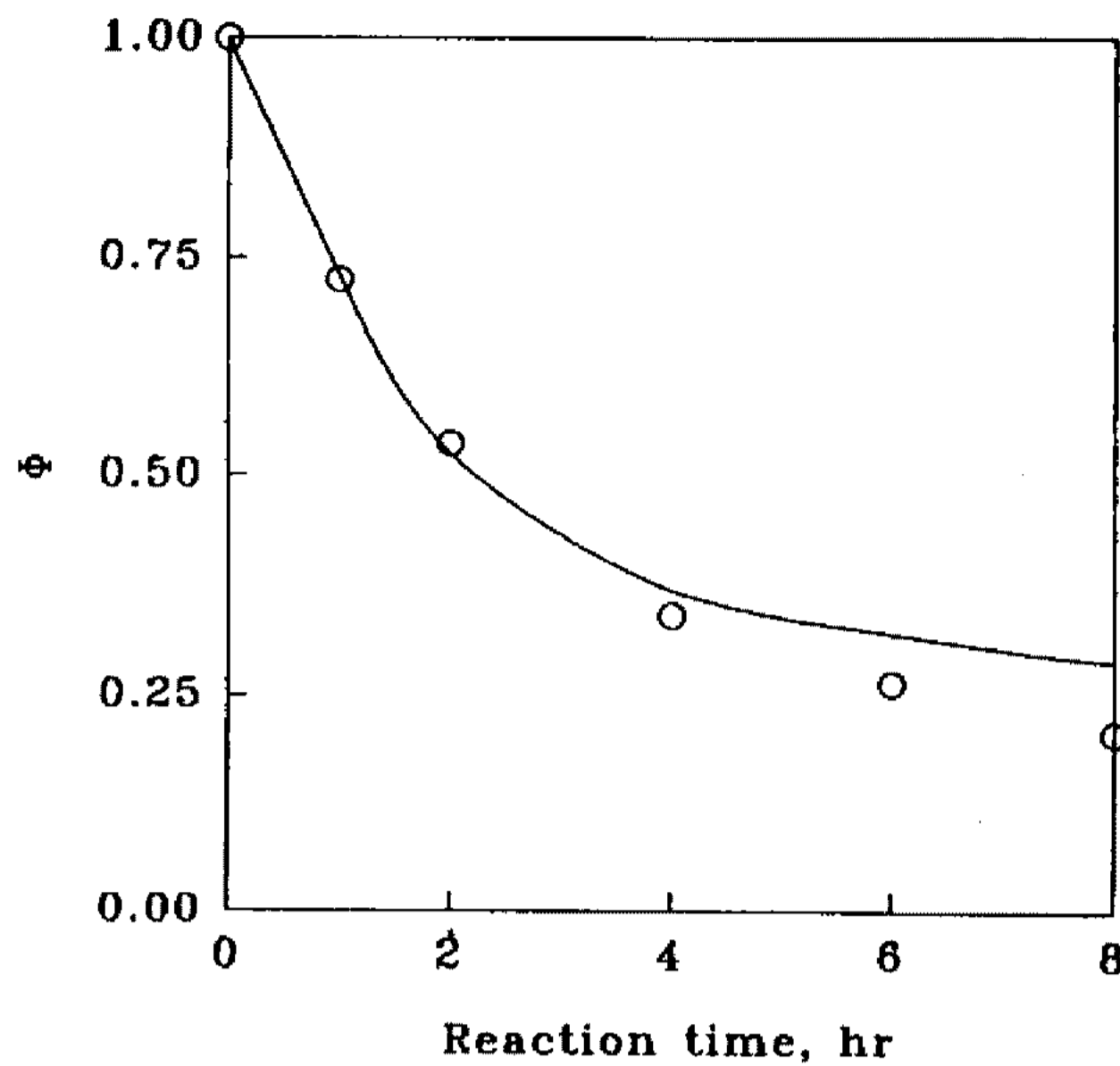


Fig. 5 Predictability of structural transformation parameter (Φ) during cyclodextrin forming reaction.
100 g/l (w/v) of swollen starch, 0.1 unit of CGTase/g swollen starch, pH 6.0, 50°C, and 200 rpm.
Line, theoretical curve; symbol, experimental values

생성량을 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 호화도가 다른 팽윤 전분을 기질로 한 CD 생성반응은 이론치와 실험치간에 전기간을 걸쳐 비교적 잘 일치하여 kinetic equation이 팽윤 전분의 구조적 특성을 잘 반영할 수 있음을 보여주고 있다. 호화도 70% 이상에서는 이론치가 실험치보다 다소 높게 예측하는 경향을 보였는데 이는 전보(5)에서 관찰한 바와 같이 과대 팽윤된 전분입자가 다량의 수분을 흡수하여 반응액의 점도가 증대되어 효소작용이 저해받기 때문이다. 따라서 CD 생성반응은 호화도가 70% 이하에서 수행함이 타당하며, 호화도의 적용범위를 넓히기 위해서는 호화도에 따른 반응액의 점도변화등을 고려한 반응식의 변형이 요망된다.

반응시간에 따른 팽윤 전분질의 구조변화 양상

팽윤 전분은 효소반응이 진행됨에 따라 효소의 작용을 받기 어려운 구조로 변환되며 이러한 변환정도의 지표인 Φ 값을 계산하여 실험치와 비교한 결과는 Fig. 5와 같다. 전반적으로 실험치와 이론치가 잘 일치하였으며, 6시간 이후부터는 다소 과다 예측하는 경향을 나타내었다. 실제 팽윤 전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계에서 기질의 구조를 급격히 단편화시키면서 효소반응이 이루어지고, 팽윤전분내의 불활성 부분의 존재, product에 의한 효소작용의 저해, 그리고 효소의 부반응 등으로 인하여 효소가 더 이상 팽윤 전분에 작용할 수 없는 상태가 되어 실험치에서 상

대적으로 이론치보다 속도가 더 빨리 감소되기 때문에 이론적으로 계산한 결과에서는 이러한 현상이 고려되어 있지 않기 때문에 사료된다.

요 약

팽윤 extrusion 전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계에서 cyclodextrin(CD) 생성반응을 수치적으로 해석하기 위하여 연구하였다. 팽윤 전분의 구조적 특성을 나타내는 가장 중요한 지표로 사용될 수 있는 호화도를 중심으로, 활성과 비활성 부분으로 구성된 이중 구조, cyclodextrin glucanotransferase(CGTase)의 흡착, 효소반응에 따른 구조적 변환, 그리고 생성된 CD에 의한 competitive inhibition mechanism을 반영한 kinetic equation을 유도하였고 반응상수를 평가하였다. 유도된 kinetic model의 효용성을 팽윤전분의 농도, 호화도, 효소량 등을 변화시키면서 계산하여 이를 실험치와 비교 평가하였다. Kinetic model은 팽윤 전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계에서의 CD 생성반응을 효과적으로 표현할 수 있었으며, CD 생산 효소반응기 및 생산공정의 최적화에 활용된다.

감사의 말

본 연구는 한국과학재단 지원 농업생물신소재연구센터 1995년 연구비로 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- 이용현, 박동찬. 1991. Extrusion 전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계에서의 cyclodextrin 효소합성. *산업미생물학회지* 19: 514-520.
- Lee, Y.H. and D.C. Park. 1992. Direct synthesis of cyclodextrin in a heterogeneous enzyme reaction system containing insoluble extruded starch. *Biochemical Engineering for 2001*. S. Furusaki, I. Endo, R. Matsuno (eds). Pp.127-129, Springer-Verlag, Tokyo.
- 이용현, 박동찬. 1993. 구조변형시킨 불용성 전분(질)을 이용한 불균일상 효소반응계에서의 사이클로덱스트린 효소 합성방법. 특허공보 B1-3178. 대한민국 특허청.
- 한일근, 이용현. 1991. 분쇄마찰매체 함유 효소반응계에서의 cyclodextrin 생성과 cyclodextrin glucanotransferase의 작용 mechanism. *산업미생물학회지* 19: 163-170.
- 이용현, 조명진, 박동찬. 1995. 팽윤전분을 기질로 한

- cyclodextrin glucanotransferase의 cyclodextrin 생성반응 mechanism. *산업미생물학회지* **23**: 000-000 (인쇄중).
6. Lee, Y.H. and L.T. Fan. 1982. Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose; analysis of initial rate. *Biotechnol. Bioeng.* **24**: 2383-2406.
 7. Lee, Y.H., M.M. Gharpuray, and L.T. Fan. 1982. Economic optimization of reactors for the enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* **12**: 121-138.
 8. Lee, Y.H. and L.T. Fan. 1983. Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose; analysis of extended hydrolysis times. *Biotechnol. Bioeng.* **25**: 939-966.
 9. Fan, L.T. and Y.H. Lee. 1983. Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose; derivation of a mechanistic kinetic model. *Biotechnol. Bioeng.* **25**: 2707-2733.
 10. Ryu, D.D.Y. and S.B. Lee. 1982. Enzymatic hydrolysis of cellulose: effects of structural properties of cellulose on hydrolysis kinetics. *Enzyme Engineering.* **6**: 724-732.
 11. Ryu, D.D.Y. and S.B. Lee. 1982. Effect of compression milling on cellulose structure and on enzymatic hydrolysis kinetics. *Biotechnol. Bioeng.* **24**: 1047-1067.
 12. 이용현, 박진서. 1989. 무증자 전분당화용 분쇄마찰매체함유 효소반응기의 조작조건과 동력소모의 검토. *산업미생물학회지* **17**: 349-357.
 13. 박동찬, 백승걸, 이용현. 1994. 생전분을 당공여체로 한 stevioside의 당전이 반응의 동력학적 해석. *한국생물공학회지* **9**: 108-114.
 14. IMSL. 1989. *The IMSL Library*, Int Math. Stat. Library, Huston.
 15. Wootton, K.W., C. Weeden, and N. Munk. 1971. A rapid method for the estimation of starch gelatinization in processed food. *Food Technol.* **23**: 613.
 16. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Chem.* **72**: 248-256.

(Received 9 December 1994)