

총진형반응기에서 고정화 Transglucosidase를 이용한 이소말토올리고당의 연속생산

안장우 · 박관화* · 서진호*

청강문화산업전문대학 식품공업과,

*서울대학교 식품공학과 및 농업생물신소재연구센터

Continuous Production of Isomaltooligosaccharides by Immobilized Transglucosidase in a Packed-bed Reactor

Jang-woo Ahn, Kwan-wha Park*, Jin-ho Seo*

Department of Food Science and Technology, Chungkang College of Cultural Industries

*Department of Food Science and Technology and Research Center
for New Bio-Materials in Agriculture, Seoul National University

Abstract

A packed-bed reactor with immobilized transglucosidase (TG) was operated to test the possibility of continuous production of isomaltooligosaccharides (IMO) and the effect of concentration and feed rate of substrate solution on the production pattern as well as operational stability. The pattern of formation of IMO was the same to the one of soluble TG. The concentrations of glucose and isomaltose produced by the packed-bed reactor were gradually decreased as the flow rates were increased regardless of the concentrations and kinds of maltose solution as substrate. Isomaltotriose showed the same tendency except 10% maltose solution. But the concentration of panose was increased and then decreased as the flow rates were increased. The maximum yield of IMO was 52.1% when 10% (w/v) solution was fed to the reactor at 2 mL/min feed rate. When each 20% and 30% (w/v) solution was respectively used at 0.5~1.0 mL/min, the maximum yields were 39.0~38.0% and 12.1~14.2%. The maximum yield was 36.3% at 0.5~1.0 mL/min when a commercial maltose product containing 20% maltose was used. The reactor was stably operated at 55°C. 85% and 65% of initial activity was maintained for 144 hours and 288 hours of operation, respectively. A reactor analysis strongly suggested an immobilized TG system could apply to continuous production of IMO.

Key words: transglucosidase, isomaltooligosaccharides, immobilization, packed-bed reactor

서 론

이소말토올리고당(isomaltooligosaccharides, IMO)의 주성분은 isomaltose, panose, isomaltotriose 등으로 α -(1→6)-glucosidic linkage를 가지고 있는 점이 특색이다. 또 효모에 의해 발효되지 않는 비발효성당으로 인체에 유익한 생리적 특성을 보인다고 알려져 있다⁽¹⁻⁵⁾. 식품소재로서도 광범위한 응용이 가능하다고 알려지면서^(6,7) 식품 신소재로서 소비도 계속 늘어나고 있는 추세이다⁽⁸⁾. 여러 식품에 미량 존재한다고 알려져 있으

나⁽⁹⁻¹¹⁾, 현재 IMO의 대량생산은 maltose를 기질로 transglucosidase (TG)의 당전이 반응에 의해 회분식으로 생산하고 있기 때문에 몇 가지 문제점이 있다. 고가의 효소를 한번만 사용하게 되어 효소의 비용이 많이 들고 soluble 효소의 안정성이 높지 않은 점과 반응시간이 길어서 연속공정에 비해 생산성이 낮다는 문제점이 있다. 따라서 고정화 효소를 적용한다면 효소의 반복사용으로 효소비용의 절감, 효소의 안정성 향상과 연속공정의 도입으로 생산성의 향상효과를 기대할 수 있다. 효소 고정화 방법과 고정화 효소의 적용에 대해서는 많은 연구자들에 의해서 보고되었고⁽¹²⁻¹⁵⁾, 올리고당 생산에 관여하는 효소의 고정화에 대해서는 exomaltotetrahydrolase⁽¹⁶⁾, xylanase⁽¹⁷⁾, *Pseudomonas stutzeri*

Corresponding author: Jin-ho, Seo, Department of Food Science and Technology, Seoul National University, Seodondong, Kwun-sun-gu, Suwon, Kyunggi-do 441-744, Korea

유래의 amylase⁽¹⁸⁾, β -glucosidase⁽¹⁹⁾, β -xylosidase⁽²⁰⁾, neo-pullulanase⁽²¹⁾, β -fructofuranosidase^(22,23)에 관한 결과가 보고되었다. 생물공정 기술은 생성물의 합성, bioconversion뿐만 아니라 생성물 회수까지를 포함한 단위 공정의 집합체라고 할 수 있고⁽²⁴⁾ 생물반응기는 원료 물질과 반응산물을 연결해 주는 연결매체이므로 가격과 제품의 품질에 큰 영향을 미치는데 고정화 효소를 이용하기 위해 많은 종류의 생물반응기가 적용되었다. 생물반응기는 운전방법과 유량의 흐름방식에 따라 크게 회분식, 반연속식, 연속식으로 구분된다⁽²⁵⁾. 연속식에는 continuous-flow stirred tank reactor (CSTR), plug flow reactor (PFR), 충전형 반응기(packed-bed reactor), 유동층 반응기(fluidized-bed reactor), tubular reactor가 있다^(25,26). 산업적으로 적용된 대표적인 것은 충전형반응기로 고정화 glucose isomerase를 이용하여 high fructose corn syrup 생산⁽²⁴⁾과 고정화된 penicillin acylase를 이용한 6-amino penicillanic acid의 생산⁽²⁴⁾이다. 그 밖에도 옥수수전분을 가수분해해서 포도당을 얻기 위한 fluidized-bed 고정화 효소반응기⁽²⁷⁾, 교반식 반응기와 airlift 반응기 비교⁽²⁸⁾, 또 다단계 생물반응기⁽²⁹⁾, airlift-packed-bed hybrid reactor⁽³⁰⁾에 대한 연구도 보고되었다. 본 연구에서는 앞서 보고된 *Aspergillus niger* 유래의 TG의 IMO 생성반응 특성⁽³¹⁾과 TG의 고정화 방법의 선점⁽³²⁾에 이어 IMO의 연속생산을 위한 bioconversion에 많이 활용되고 효율이 높다고 알려진⁽²⁶⁾ 충전형반응기의 도입과 여러 운전조건이 IMO의 생산에 미치는 영향 및 운전안정성을 조사하였다.

재료 및 방법

가용성 효소용액과 고정화 효소

본 실험에서 사용한 TG는 *Aspergillus niger*에서 유래한 효소이다. IMO를 생산하기 위해 (주)삼양제맥스에서 사용하고 있는 "Transglucosidase Amano L"을 액상으로 공급받아 사용하였다. 효소의 고정화를 위해 CNBr-activated sepharose 4B (Sigma사), 1g을 1 mM HCl로 세척하고 효소용액 0.5 mL와 0.1 M sodium acetate buffer (pH 5.0)를 첨가하여 30°C에서 60 rpm으로 교반하면서 12시간동안 담체와 결합시켰다. 담체와 효소의 결합반응을 중지시키기 위해 동일한 buffer를 용매로 하여 제조한 blocking 용액인 0.2 M glycine 용액 내로 담체를 옮겼다. Buffer로 담체를 3~4회 세척하고 동일한 buffer에 현탁시켜 4°C에 보관하여 사용하였다.

TG의 활성 측정 방법

TG의 활성측정 방법은 전보⁽³¹⁾와 같은 방법으로 측정하였다. 효소의 1 unit는 40°C, pH 5.0에서 1분에 1 mole의 panose를 생성시키는 효소의 양으로 결정하였다. 고정화 TG의 활성은 soluble TG의 그것과 동일하나 고정화 TG의 무게를 측정하여 첨가하여 반응시켰다. 효소반응에 의해 생성된 panose와 그 밖의 반응산물의 농도는 이온 크로마토그래피(Dionex사, 4000i)로부터 얻은 크로마토그램을 이용하여 분석하였다. 이온 크로마토그래피의 분석조건과 정량은 참고문헌⁽³³⁾과 동일한 방법으로 하였다.

충진형 반응기의 제조

고정화 TG를 이용하여 IMO를 연속적으로 생산하기 위해 충전형 반응기를 제조하였다(Fig. 1). 고정화 효소의 관 내부의 충전부피는 10 mL로 하였다. 기질용액의 정량공급을 위해 사용한 펌프는 HPLC용 정량 펌프(Millipore Water Associates사의 M-45)를 사용하였는데 펌프의 유량 조절가능 범위는 0.1 mL/min에서 9.9 mL/min였다. 관의 입구와 출구에는 Sep-Pak cartridge filter를 연결하였다. 기질용액은 펌프를 거쳐 55°C의 수조 내부를 지나면서, 55°C로 가열된 후 반응기내로 주입되었다. 반응기 외부는 55°C의 온수를 가열매체로 하여 항온이 유지되도록 하였다. 한편 반응기의 출구에는 내경 2 mm이고 전체 길이 400 mm인 코일 형태의 유리관이 90°C의 수조 내부에 잠겨 있도록 하여, 기질용액이 반응기 내부를 거쳐 나올 때 반응액 내로 유리될 수 있는 효소를 불활성화하기 위해 설치하였다.

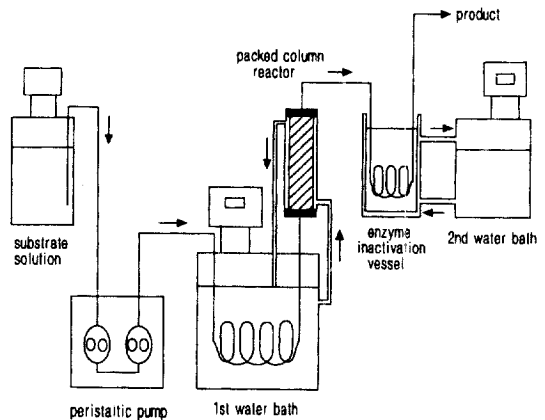


Fig. 1. Flow diagram for continuous production of isomaltooligosaccharides by the reactor packed with immobilized transglucosidase.

충진형 반응기 운전방법

충진형 반응기를 운전하기 위해서 기질용액의 가열을 위한 첫번째 수조의 온도와 관 통과후의 반응액 내의 효소를 불활성화시킬 두번째 수조의 온도를 맞추었다. 펌프를 켜서 원하는 유속으로 조절한 후 관 내부에 남아있던 기질용액이 모두 배출되어 새로운 기질용액으로 치환될 때까지 계속 용출시켰다. 정상상태의 운전을 계속하여 효소 불활성화용 유리코일을 거쳐 나온 액을 시험관에 받아 냉각시키고 알맞은 배수로 희석하여 이온 크로마토그래피로 분석하여 각 성분들을 정량하였다.

기질용액의 농도와 유속에 따른 반응산물의 조성과 생성패턴

현재 IMO 생산공정에서 원료인 maltose 농도는 약 23~25% (w/v)이므로 10%, 20%, 30% (w/v)의 기질농도와 유속에 따른 효소반응 산물의 생성패턴을 살펴 보았다.

당화액을 이용한 연속생산과 운전안정성

현재 업체에서 사용하고 있는 당화액대신 동사에서 생산되는 '썬 하이말토'제품과 'Low DE 물엿'을 입수하여 두 제품의 혼합을 통해 당화액과 유사한 고형분 비율을 갖는 조제당화액을 만들어 충진형반응기를 통해 연속운전을 실시하여 보았다. 조제당화액의 고형분 농도는 30%였으며 고형분중 maltose의 비율은 67%이어서 조제당화액중 maltose의 함량은 20%이었다. 이렇게 준비된 당화액과 충진형 반응기를 이용하여 유속에 따른 반응산물의 생성양상과 실제 생산현장과 동일한 55°C에서 0.5 mL/min로 설정하여 12일간 운전하며 장시간 운전에 따른 고정화 TG의 운전안정성을 조사하였다.

결과 및 고찰

고정화 TG의 반응시간에 따른 반응산물의 생성패턴

고정화 TG를 이용한 IMO의 연속생산에 앞서 고정화 TG를 회분식으로 기질용액과 반응시킬 경우 고정화 TG에 의해 생성되는 반응산물의 생성패턴을 추적하여 분석한 결과를 다음의 Fig. 2에 나타내었다. 이것은 soluble TG와 동일한 패턴으로 기질인 maltose는 지속적으로 감소되며 반응초기에 panose가 급격하게 생성되었다가 시간이 경과하면서 차츰 감소하는 경향을 보였다. 이러한 경향은 전보(11)에서 보고한 바대로

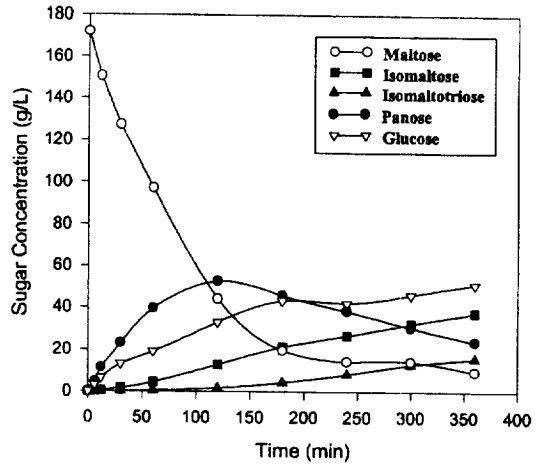


Fig. 2. Time courses of the formation of isomaltooligosaccharides from maltose by immobilized transglucosidase at pH 5.0 and 55°C (2.5 mL immobilized TG/26 mL reaction volume).

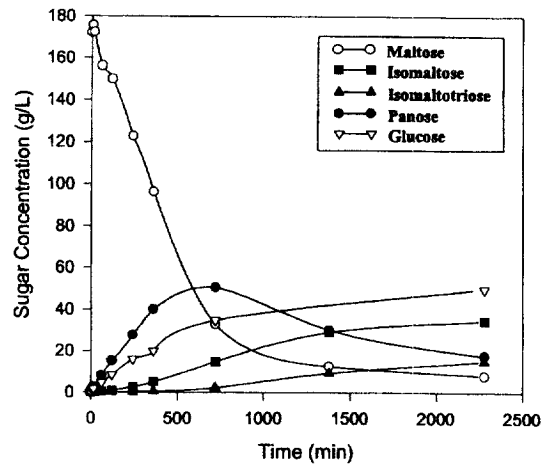


Fig. 3. Time courses of the formation of isomaltooligosaccharides from maltose by immobilized transglucosidase at pH 5.0 and 55°C (0.5 mL immobilized TG/26 mL reaction volume).

maltose로부터 TG에 의해 생성된 panose 역시 α-(1→4)-glucosidic linkage를 가지고 있기 때문에, 다시 TG에 의해 분해되어 maltose와 포도당으로 되기 때문이다. 한편 isomaltose, isomaltotriose는 시간이 경과함에 따라 일정하게 농도가 높아짐을 알 수 있었다. 이러한 패턴은 고정화 효소를 1/5 수준으로 적게 첨가하여 반응시킨 경우에도 같은 양상을 보였다(Fig. 3). 즉, 효소 첨가량이 적어지면 panose 농도가 최소에 도달하는 시간도 그만큼 늦어지게 되나 각 성분들의 전체적인

변화양상은 동일하였다.

충진형 반응기를 이용한 연속생산에서 기질용액의 농도와 유속에 따른 IMO의 생산

10% (w/v) maltose 용액을 기질로 한 경우에 기질용액의 공급유속에 따른 반응물의 생성은 다음의 Fig. 4와 같았다. 일정시간당 공급되는 유량이 많아질수록 maltose의 농도는 높아지는 반면 포도당과 isomaltose는 감소하는 경향을 보였다. 한편 panose와 isomaltotriose는 낮은 유속 조건에서는 그 농도가 낮다가 유속이 증가함에 따라 같이 증가하여 2 mL/min일 때 panose가 25 g/L, isomaltotriose가 15 g/L로 최고 농도를 보인 후에 그 이상 유속이 높아지면 다시 농도가 저하되는 양상을 보였다. 충진형 반응기에 의해 생성되는 IMO의 생성수율(%)과 전환율(%)은 다음의 식과 같이 나타낼 수 있다.

Yield (%) =

$$\frac{\text{Isomaltooligosaccharides produced}}{\text{Maltose in}} \times 100$$

Conversion ratio (%) =

$$\frac{\text{Maltose in} - \text{Maltose out}}{\text{Maltose in}} \times 100$$

기질용액이 10%일 때의 수율과 전환율을 다음의 Table 1에 나타내었다. 유속이 증가함에 따라 수율도

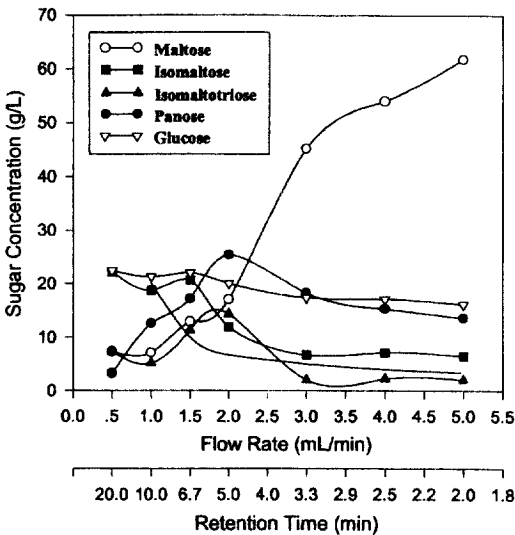


Fig. 4. Relation between the flow rate of substrate and the concentration of various products by the packed-bed reactor using 10% maltose solution as the substrate at 55°C.

Table 1. Relation between the flow rate of substrate and the yield of isomaltooligosaccharides and conversion ratio for 10% maltose solution using packed-bed reactor at 55°C

Flow rate (mL/min)	Yield (%)	Conversion ratio (%)
0.5	32.6	92.8
1.0	36.4	93.2
1.5	48.9	87.2
2.0	52.1	83.0
3.0	26.9	54.8
4.0	24.8	45.9
5.0	21.9	38.2

증가하여 유속이 2 mL/min일 때 수율이 52.1%로 최고에 도달하였다가 유속이 계속 증가하면 수율은 다시 감소하여 유속이 5 mL/min일 때 21.9%로 저하되었다. 반면 전환율을 살펴 보면 유속이 증가함에 따라 지속적으로 감소하는 경향을 보였다. 유속이 0.5~1.0 mL/min인 경우에는 92%이상의 전환율을 보이나 유속이 2.0 mL/min에서는 83.0%, 유속이 5.0 mL/min에서는 38.2%로 감소하였다. 담체에 고정화된 효소의 활성이 일정한 경우에 공급되는 기질의 유속이 낮으면 반응기 내에서 기질과 효소의 체류시간이 길어지기 때문에 충분한 반응이 일어나는 반면 공급유속이 높아지면 체류시간이 짧아 반응되지 않은 기질의 농도가 증가하게 된다.

20% (w/v) maltose 용액을 기질로 한 경우, maltose와 포도당, isomaltose의 변화양상은 기질농도가 10%이었을 경우와 동일하였다. 즉 유속이 높아질수록 반응산물의 농도가 점점 낮아졌다. 이에 비해 panose는 유속이 증가함에 따라 생성농도가 높아지다가 1.0 mL/min의 유속에서 57 g/L의 농도를 보인 후 서서히 감소되는 경향을 보였다. 또 isomaltotriose도 10%의 기질인 경우에는 panose의 증가와 더불어 같이 증가하였다가 감소하는 양상과는 달리 20%에서는 처음부터 계속 감소되었다(Fig. 5). 기질용액이 20%일 때의 수율과 전환율은 다음의 Table 2에 나타내었다. 유속이 0.5 mL/min일 때 수율은 39.0%, 전환율은 91.9%이었으나 유속이 증가함에 따라 수율은 계속 감소하여 유속이 2 mL/min일 때 수율 28.8%, 전환율 50.0%로 저하되었고 유속이 4.0 mL/min인 경우에는 수율이 14.9%, 전환율은 22.1%로 저하되었다. 유속이 1.0 mL/min일 때 panose의 농도는 유속이 0.5 mL/min일 때보다 크게 높아져서 최고농도로 생성되었으나 isomaltose나 isomaltotriose의 농도가 감소되어 IMO의 전체수율은 0.5 mL/min의 경우보다 1% 감소되었다. 기질의 농도에 관계없이 유속이 증가하면 전환율은 지속적으로 감

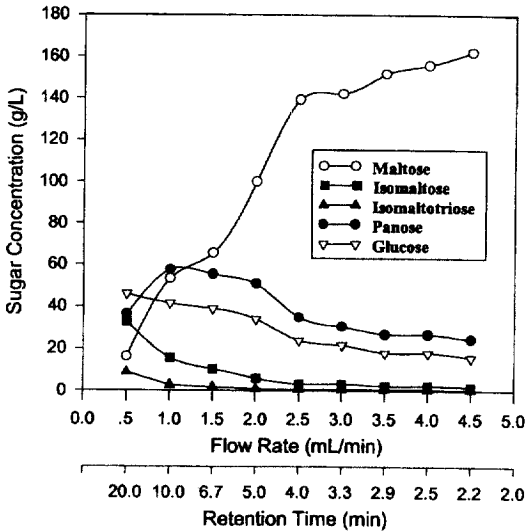


Fig. 5. Relation between the flow rate of substrate and the concentration of various products by the packed-bed reactor using 20% maltose solution as the substrate at 55°C.

Table 2. Relation between the flow rate of substrate and the yield of isomaltooligosaccharides and conversion ratio for 20% maltose solution using packed-bed reactor at 55°C

Flow rate (mL/min)	Yield (%)	Conversion ratio (%)
0.5	39.0	91.9
1.0	38.0	73.4
1.5	33.7	67.2
2.0	28.8	50.0
2.5	19.4	30.3
3.0	17.2	28.9
3.5	14.7	24.2
4.0	14.9	22.1
4.5	13.4	18.9

소하는 경향을 보였다. 이것은 반응기 내의 기질의 체류시간과 직접적으로 연관되기 때문이다. 반면에 IMO의 수율은 기질농도와 유속에 동시에 영향을 받으므로 적절한 조건을 고려하여 반응기를 운전해야 한다.

Maltose 용액의 농도가 30% (w/v)가 되면 점도가 급격하게 증가하고 반응기 내부압력이 크게 높아져 기질의 공급유속은 2 mL/min가 한계였다. 그러나 0.5 mL/min에서 2 mL/min까지의 공급유속 조건에서 진행된 실험에서도 유속이 생성물의 조성에 미치는 영향은 뚜렷하였다. 포도당, isomaltose와 isomaltotriose는 유속이 증가함에 따라 농도가 감소하였다(Fig. 6). Panose는 유속이 1.0 mL/min일 때 34 g/L로 가장 높은 농도로 생성되었고 그 이상의 유속에서는 적게 생성되었다.

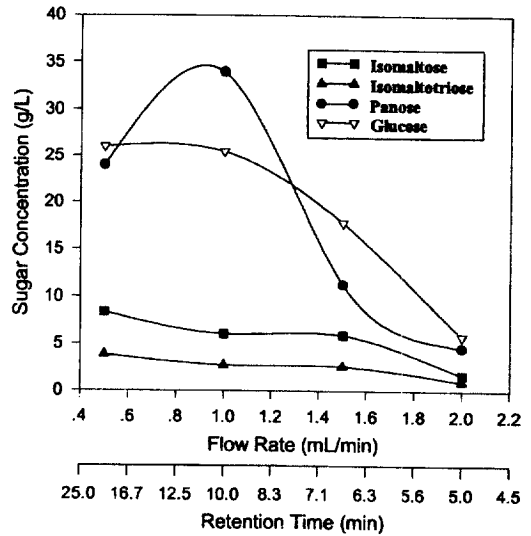


Fig. 6. Relation between the flow rate of substrate and the concentration of various products by the packed-bed reactor using 30% maltose solution as the substrate at 55°C.

기질용액이 30%일 때의 수율과 전환율은 다음의 Table 3에 나타내었다. 유속에 따른 IMO의 수율은 0.5 mL/min일 때 12.1%였고 1.0 mL/min에서는 14.2%로 나타났다. Maltotetraose 생산을 위한 고정화 exo-maltotetrahydrolase의 충전형 반응기의 운전 결과에서도 비슷한 결과를 보였다⁽⁶⁾. 즉, 10 mL/hr 이하의 유속에서는 포도당과 maltose, maltotriose의 함량이 높은 반면 10~100 mL/hr의 유속에서는 maltotetraose가 최초로 생성되었고 100 mL/hr 이상에서는 maltotetraose 이외의 모든 반응산물이 농도가 낮아지는 결과를 보여 목적하는 산물을 최고농도로 얻기 위한 최적 공급유속을 결정할 수 있었다. 이것은 기질용액의 농도에 맞는 최적 공급유속을 유지해야 함을 의미한다.

조제 당화액의 적용

조제당화액으로 실험한 결과를 다음의 Fig. 7에 나

Table 3. Relation between the flow rate of substrate and the yield of isomaltooligosaccharides and conversion ratio for 30% maltose solution using packed-bed reactor at 55°C

Flow rate (mL/min)	Yield (%)	Conversion ratio (%)
0.5	12.1	20.8
1.0	14.2	22.8
1.5	6.6	12.6
2.0	2.4	4.4

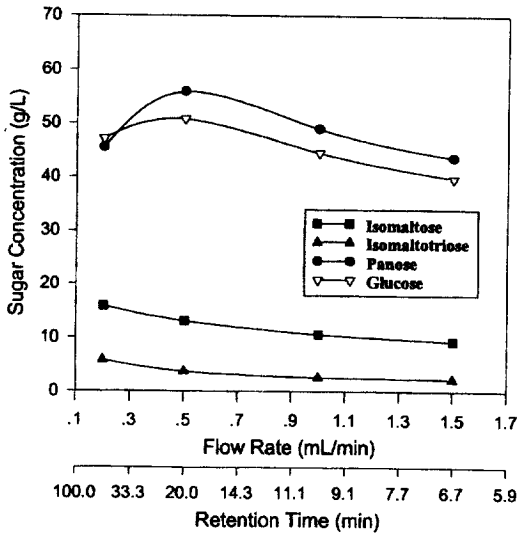


Fig. 7. Relation between the flow rate of substrate and the concentration of various products by the packed-bed reactor using 30% maltose solution as the substrate at 55°C (67% of total solids in substrate solution was maltose).

타냈는데 순수 maltose 용액을 20%로 만들어 실험한 위의 결과와는 차이를 보였다. 유속이 증가할수록 isomaltose와 isomaltotriose의 생성은 감소하였다. Panose의 농도는 공급되는 유속이 0.5 mL/min일 때 56 g/L으로 높게 생성되었다가 유속이 높아질수록 적게 생성되었다. 유속이 0.5 mL/min일 때 수율은 36.3%, 전환율은 28.6%였으나 유속이 증가함에 따라 수율은 감소하여 유속이 1.0 mL/min일 때 수율 31.1%, 전환율 16.4%로 저하되었다. 순수한 20% maltose 용액을 기질로 한 경우와 maltose 농도는 동일하나 포도당이 혼합되어 있는 조제당화액을 기질로 한 경우에 IMO의 수율에는 약간의 차이가 있었다. 예를 들어 유속이 0.5 mL/min일 때 순수 maltose 용액의 경우의 수율은 39.0%였고 조제당화액을 기질로 한 경우에는 36.3%였다. 그러나 전환율에서는 두 종류의 기질 사이에 큰 차이를 보였다. 유속이 1.0 mL/min일 때 순수 maltose 용액을 기질로 한 경우의 전환율은 73.4%였으나 조제당화액의 경우에는 16.4%였다. 이것은 조제당화액 내에 존재하는 포도당이 경쟁적 저해를 유발하였기 때문인 것으로 추측된다. TG에 대한 포도당의 경쟁적 저해에 대한 영향은 전보⁽⁶⁾에 보고한 바 있다.

반응기의 운전 안정성

충진형 반응기의 연속사용에 따른 안정성을 알아보

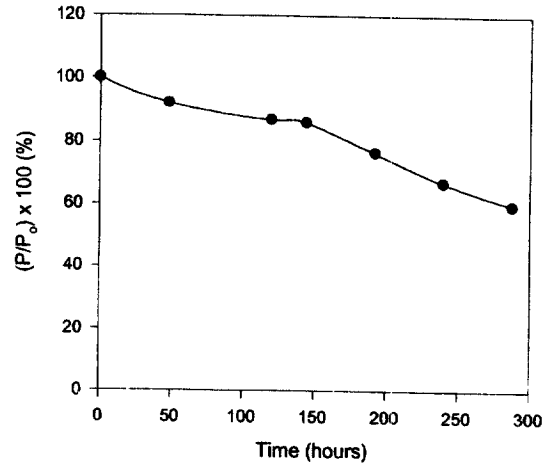


Fig. 8. Operational stability of immobilized transglucosidase in packed-bed reactor at 55°C (The ordinate was represented as a ratio of P_0 and P). P_0 : concentration of panose produced at initial reaction, P : concentration of panose produced after each reaction time

기 위해 조제당화액으로 연속운전을 실시하였다. 유속은 앞의 실험에서 높은 수율을 보였던 0.5 mL/min로 설정하여 55°C에서 12일간 운전하였다. 고정화 TG의 안정성은 초기 panose의 생성량에 대한 일정시간 경과 후의 panose 생성량의 백분율(%)로 나타내었다(Fig. 8). 고정화 TG의 안정성은 연속운전 기간동안 서서히 감소하여 144시간 경과후에는 초기활성의 85%, 288시간 경과후에는 약 65%의 활성을 유지하므로써 고정화 TG의 활성에 대한 반감기는 약 350시간으로 나타났다. 본 실험결과로 보아 IMO를 생산하기 위한 충전형 반응기의 도입 가능성이 크다고 판단되었다. 고정화 pullulanase의 운전안정성의 경우는 60°C에서 240시간 연속운전 후에 초기활성의 50%로 감소하였다고 보고한 것과⁽¹²⁾ 비교하면 본 반응기의 운전안정성과 유사한 수준이라고 할 수 있다. 이와 같이 본 실험에서 사용된 고정화 TG의 운전안정성이 비교적 좋은 이유는 효소가 공유결합법을 통하여 담체와 결합되어 있기 때문인 것으로 판단되는데 고정화 xylanase와 β -xylosidase의 운전안정성도 물리적 흡착이나 이온결합법에 의한 고정화 효소의 운전안정성보다 chitosan을 담체로 하여 공유결합으로 연결하였을 때 가장 좋았다고 보고되었다⁽¹⁷⁾. 고정화효소의 운전안정성은 기질농도에 의한 영향도 받는다고 알려져 있다. 고정화 glucoamylase와 고정화 α -amylase를 대상으로 35%와 50% corn syrup (DE 42)을 기질용액으로 하여 50°C에서 운전하였을 때 두 효소 모두 50% 기질용액으로 운전할 때 반감기

가 더 길었다고 보고하였다⁽¹⁸⁾.

요 약

고정화 transglucosidase (TG)를 이용한 충전형 반응을 만들어 isomaltooligosaccharides (IMO)의 연속생산 가능성을 살펴보고 기질용액의 농도와 유속에 따른 반응산물의 생성패턴과 운전안정성을 조사하였다. 고정화 TG에 의한 IMO의 생성패턴은 soluble TG의 경우와 동일하였다. 충전형반응기에 의해 생성된 포도당과 isomaltose의 농도는 기질인 maltose 용액의 농도와 종류에 관계없이 유속의 증가에 따라 지속적으로 감소되는 경향을 보였고 isomaltotriose 역시 10% 기질용액을 사용한 경우를 제외하고 같은 경향을 보였다. 반면, panose의 농도는 유속의 증가에 따라 증가하다가 감소하는 경향을 보였다. 기질농도가 10% 일 때, IMO의 최대수율은 2 mL/min 유속에서 52.1%였고, 20%와 30% (w/v)일 때는, 0.5~1.0 mL/min 유속에서 각각 39.0~38.0%, 12.1~14.2%의 최대수율을 보였다. 20%의 maltose를 함유한 조제당화액을 사용했을 때의 수율은 유속이 0.5 mL/min일 때 36.3%였다. 본 충전형반응기는 55°C에서 안정되게 운전되었다. 144시간 운전후에 초기 활성의 85%, 288시간 경과후에도 약 65%의 활성이 잔존하였다. 본 실험결과로 보아 IMO를 생산하기 위해 고정화 TG를 이용한 충전형반응기를 적용하는 것은 가능성이 클 것으로 예상되었다.

문 헌

- 菅野智榮: イソマルトオリゴ糖. 機能性食品と開發展望, シ-エム-ン, 東京, p89 (1988)
- Takanobu, K., Fukui, F., Takaku, H., Machida, Y., Arai, M. and Mitsuoka, T.: Effect of isomaltooligosaccharides on human fecal flora. *Bifidobacteria Microflora*, **7**, 61 (1988)
- Delzenne, N.M. and Roberfruid, M.R.: Physiological effects of non-digestible oligosaccharides. *Leswnsm. -Wiss. u. -Technol.*, **27**, 1 (1994)
- 高添一郎, 松久保隆: 口腔保健における砂糖代替糖の意義. 食品と開發, **29**, 8 (1994)
- Kaneko, T., Kohmoto, T. and Kikuchi, H.: Digestibility of isomaltooligosaccharides by rats and effects on serum lipids. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **66**, 1211 (1992)
- 김창목: 올리고당. 기능성식품의 도입과 개발동향, 산업기술정보원, 24 (1992)
- 권혁권, 육철: 이소말토올리고당의 물리화학적 특성 및 식품에서의 이용. 생물산업, **7**, 26 (1994)
- 서진호: 국내 올리고당 연구 및 개발동향. 올리고당의 기능성(한국식품과학회 심포지움), 56 (1994)
- Nunokawa, Y.: Oligosaccharides in sake. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **28**, 109 (1981)
- White, J.W. and Hoban, N.: Composition of honey. IV. Identification of the disaccharides. *Arch. Biochem. Biophys.*, **80**, 386 (1959)
- Nishino, R., Ozawa, Y., Yasuda, A. and Sakasai T.: Oligosaccharides in soy souce. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **28**, 125 (1981)
- Manolov, R.J., Kambourova, M.S. and Emanuilova, E.I.: Immobilization and properties of *Bacillus stearothermophilus* pullulanase. *Appl. Biochem.*, **18**: 409-415 (1993)
- Woodward, J.: Immobilized enzymes: Adsorption and covalent cocoupling. In *Immobilized Cells and Enzymes*, IRL Press, Oxford, Washington DC, 3 (1985)
- Mosbach, K.: Immobilization techniques. In *Methods in Enzymology IV Immobilized Enzymes*, Academic Press, New York, 11 (1976)
- Poulsen, P.B.: Current applications of immobilized enzymes for manufacturing purpose. *Biotechnol. Gen. Eng. Rev.*, **1**, Feb., 121 (1984)
- Yosida, M., Kimura, T., Ogata, M. and Nakakuki, T.: Immobilization of the exo-maltotetrahydrolase and some properties of the enzyme. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **35**, 245 (1988)
- Mohamed, A.A.: Immobilization of *Aspergillus niger* NRC 107 xylanase and β -xylosidase, and properties of the immobilized enzymes. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **38**, 69 (1993)
- Kimura, T., Ogata, M., Yosida, M. and Nakakuki, T.: Continuous production of maltotetraose using immobilized *Pseudomonas stutzeri* amylase. *Biotechnol. Bioeng.*, **32**, 669 (1988)
- Ravet, C., Thomas, D. and Legoy, M.D.: Gluco-oligosaccharide synthesis by free and immobilized β -glucosidase. *Biotechnol. Bioeng.*, **42**, 303 (1993)
- Kizawa, H., Shinoyama, H. and Yasui, T.: The synthesis of new xylosylooligosaccharides by transxylosylation with *Aspergillus niger* β -xylosidase. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 671 (1991)
- Kuriki, T., Tsuda, M. and Imanaka, T.: Continuous production of panose by immobilized neo-pullulanase. *J. Ferment. Bioeng.*, **73**, 198 (1992)
- Kim, M.H.: Production of fructooligosaccharides using immobilized β -fructofuranosidase. *Ph. D. Thesis*, Seoul National Univ., Seoul, Korea (1994)
- Hayashi, S., Tubouchi, M., Takasaki, Y. and Imada, K.: Long-term continuous reaction of immobilized β -fructofuranosidase. *Biotechnol. Letters*, **16**, 227 (1994)
- Cooney, C.L.: Bioreactors: design and operation. *Science*, **219**, 728 (1983)
- Lilly, M.D. and Dunhill, P.: Immobilized-enzyme reactors. In *Methods in Enzymology XLIV Immobilized Enzymes*, 717 (1976)
- Pitcher, W.H. Jr.: Design and operation of immobilized enzyme reactors. In *Advances in Biochem. Eng.*, **10**, 1 (1978)
- Allen, B.R., Charles, M. and Coughlin, R.W.: Fluidized-bed immobilized-enzyme reactor for the hydrolysis of cornstarch to glucose. *Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 689 (1979)
- Chang, C.M., Lu, W.J., Own, K.S. and Hwang, S.J.: Comparison of airlift and stirred tank reactors for immobilized

- enzyme reactions. *Process Biochem.*, **29**, 133 (1994)
29. Richards, A.O., Gill, I.S. and Vulfson, E.N.: Continuous enzymatic production of oligopeptides: synthesis of an enkephalin pentapeptide in a multistage bioreactor. *Enzyme Microb. Technol.*, **15**, Nov., 928 (1993)
 30. Chisti, Y., and Mooyoung, M.: Airlift bioreactors with packed beds of immobilized biocatalyst. *Trans IChmeE.*, **71**, Part C, Sep., 209 (1993)
 31. 안장우, 홍승서, 박관화, 서진호 : *Aspergillus niger* 유래의 transglucosidase의 이소말토올리고당 생성반응 특성. *한국식품과학회지*, **28**, 273 (1996)
 32. 안장우, 박관화, 서진호 : *Aspergillus niger* 유래의 transglucosidase의 고정화. *한국식품과학회지*, **29**, 320 (1997)
 33. 안장우 : *Aspergillus niger* 유래의 transglucosidase에 의한 이소말토올리고당의 생산. 서울대학교 박사학위 논문 (1995)
-
- (1997년 10월 9일 접수)