

*Lipomyces starkeyi*와 *Leuconostoc mesenteroides*의 혼합배양에 의한 올리고당과 Dextran의 생성 및 생성당의 특성 연구

허수진³ · 김도만^{1,3,4,*} · 이인수^{2,3} · 장판식⁵

전남대학교 화학공학과, ¹생물화학공학과, ²공업화학공학과, ³축매연구소,
⁴서울대학교 농업생명소재연구소, ⁵서울산업대학교 식품공학과

Development of a Mixed-culture Fermentation Process and Characterization for New Oligosaccharides and Dextran Using *Lipomyces starkeyi* and *Leuconostoc mesenteroides*. Heo, Soo-Jin³, Doman Kim^{1,3,4,*}, In-Su Lee^{2,3}, and Pahn-Shick Chang⁵. Department of Chemical Engineering, ¹Department of Biochemical Engineering, ²Department of Chemical Technology, ³The Research Institute for Catalysis, Chonnam National University, Kwang-Ju 500-757, ⁴Research Center for New Bio-Materials in Agriculture, Seoul National University, Suwon 441-744, ⁵Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Technology, Seoul 139-743, Korea—We have developed a new process for the production of new structure oligosaccharides using the mixed-culture fermentation of *Lipomyces starkeyi* KSM 22 and *Leuconostoc mesenteroides* B-512FMCM. *L. starkeyi* KSM 22 produces a novel DXAMase (an enzyme containing both dextranase and amylase activities). It hydrolyzes the soluble starch and dextran. The hydrolyzates were used as acceptors for dextranase of *L. mesenteroides* to synthesize the new oligosaccharides (NOS). In fermentation, as the concentration of sucrose was increased from 9% (w/v) to 15% (w/v), the yields of dextran (sum of dextran I, MW=66 kD, and dextran II, MW=21 kD) was increased from 12.7% to 42.5%, and NOS was increased from 3.9% to 5.2% of the theoretical, respectively. The NOS of dp (degree of polymerization) 5 and over was increased from 33.1% to 58.3% of the total NOS. The NOS showed heat resistant up to 120 °C and was stable at pHs ranged from 2 to 6. The NOS decreased the pH changes in the culture of *S. mutans*, and also showed inhibitory effects on the growth of *S. aureus* or *S. typhimurium*.

Keywords : mixed-culture fermentation, new oligosaccharides, *Lipomyces starkeyi*, *Leuconostoc mesenteroides*, acceptor.

최근 설탕의 과잉 섭취와 기존 당류의 다량 섭취로 생기는 중치, 비만, 당뇨병, 성인병 등의 문제점을 보완하기 위하여 생물공학기술을 통해 천연식품 소재의 올리고당이라는 새로운 종류의 대체 당질이 개발되고 있다[9].

체내에서 소화효소에 의해 단당으로 분해되어 흡수되는 일반 당들과는 달리 식품 소재로 사용되고 있는 올리고당은 소화효소에 의하여 쉽게 분해되지 않기 때문에 설탕에 비해 저 칼로리이며[8, 9], 대장에 있는 장내 유용세균인 비피더스균의 증식을 촉진시키는 정장작용, 정균작용과 혈당 또는 콜레스테롤의 상승억제 작용[14], 그리고 구강에서 충치의 원인인 glucan 합성을 억제하는 효과 등이 있다[9].

현재 산업적으로 생산되고 있는 다양한 올리고당들은 고분자 산물에 효소 혹은 산 가수분해하여 생산된 것과 기질 물질에 당 전이 효소를 처리하여 합성된 것들이다. 효소를

이용한 올리고당 생산은 미생물을 이용한 효소의 생산, 분리 및 회수의 공정을 거치는 번거로움과 효소활성의 손실을 감안해야 한다[2].

Kim과 Day[2]는 의료용 dextran을 생산하는 새로운 방법으로 혼합발효배양법을 개발하였는데, 이는 기존의 산업체에서 이용하는 방법에 비해 생산공정이 간단하고 수율 또한 높다[2-6]. 혼합발효배양법은 발효조 내에 2가지 균, 즉 dextran을 분해하는 dextranase(EC 3.2.1.1)를 생산하는 *Lipomyces starkeyi*와 dextran을 합성하는 dextranase(EC 2.4.1.5)를 생산하는 *Leuconostoc mesenteroides*를 함께 배양하여 원하는 크기의 작은 dextran을 생산할 수 있었다.

본 연구에서는 값싼 전분과 설탕을 이용하여 올리고당 생산시 필요한 효소를 별도로 정제하지 않고, 발효배양 과정에서 자연계에 존재하지 않는 중합도 5이상의 새로운 구조의 기능성 올리고당과 작은 크기의 의료용 dextran을 직접 합성·생산하는 공정을 개발하고자 혼합발효배양법을 활용하였고, 생산된 올리고당의 특성을 연구하였다.

*Corresponding author

Tel. 62-530-1844 Fax. 62-530-1849

E-mail: dmkim@pasteur.chonnam.ac.kr

재료 및 방법

사용균주 및 성장배지

본 연구에 사용된 *L. starkeyi* KSM 22는 *L. starkeyi* ATCC 74054를 EMS(ethyl methane sulfonate) 처리로 얻은 constitutive dextranase와 amylase 활성을 동시에 갖는 DXAMase를 생산하는 돌연변이균이며[3], *L. mesenteroides* B-512FMCM은 *L. mesenteroides* B-512FMC를 포항방사광가속기 센터의 진공자외선(VUV, Vacuum UV)을 사용하여 얻은 constitutive dextranase를 생산하는 돌연변이균이다[4]. 올리고당의 생리학적 특성을 확인하기 위해서 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 14776 그리고 *Streptococcus mutans* 6715을 사용하였고, 각각의 성장배지는 Table 1에 나타내었다.

혼합발효 배양

발효조(BL-5L, Bok Sung Engineering Co., Seoul)는 최종부피가 4l가 되도록 준비하였다. 먼저 yeast extract 5 g/l와 peptone 5 g/l, KH_2PO_4 5 g/l, mineral solution 10 ml/l 그리고 5%(w/v)의 전분을 총 부피가 3l가 되도록 준비하여 각각 121°C에서 20분간 멸균하고, *L. starkeyi* KSM 22를 5%(v/v) 접종하였다. 전분의 분해정도에 따라 40시간 후에 *L. mesenteroides* B-512FMCM 2.5%(v/v)를 접종하고, 4l 기준으로 전체 공급의 9%(w/v), 12%(w/v) 또는 15%(w/v) 농도에 해당하는 설탕을 700 ml 준비하고 살균하지 않은 상태로 연동펌프(MP-3, EYELA)를 이용하여

Table 1. The composition of media

		Components	Concentration (g/l)
1	Mineral solution(MS)	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	20
		NaCl	1
		$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1
		$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1
		$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.3
2	YS (pH 5.5, 28°C)	Yeast extract	5
		KH_2PO_4	5
		Soluble starch	10
3	LW (pH 5.5, 28°C)	Yeast extract	5
		Peptone	5
		K_2HPO_4	20
4	Nutrient broth (pH 7.0, 37°C)	Beef extract	3
		Peptone	5
5	BHI (pH 7.0, 37°C)	Brain heart infusion	37

Components were dissolved to the deionized water.

1 ml/min 속도로 발효조 안으로 공급하였다. 발효는 공급한 설탕이 올리고당을 만들고 남은 과당이 모두 소비가 되면 정지하였다.

Dextran의 분리 및 분석

발효가 끝난 후에 발효액을 원심분리(7,000×g, 10분)하여 상등액과 세포를 분리하였고, 백색 침전물(dextran I)이 보일 때까지 상등액을 저어주면서 에탄올을 43%(v/v)까지 천천히 부어주고 냉장실에 1시간 정도 보관한 후 침전물과 상등액을 분리하고, 얻은 상등액에 같은 방법으로 에탄올을 55%(v/v)까지 더 부어주어 다시 백색 침전물(dextran II)을 얻었다. Dextran I과 II는 에탄올과 아세톤을 이용하여 수분을 완전히 제거하고 분말 상태로 보관, 사용하였다.

생성된 dextran I과 II의 평균 분자량(MW)은 GPC(Gel Permeation Chromatography)를 이용하여 확인하였다. Column은 TSK-G3000PWXL 2개와 TSK-G6000PWXL (SPELCO INC.) 1개를 연결하여 사용하였으며, differential refractometer(Waters 410)로 검출하였다. 이동상으로는 초순수(0.6 ml/min)를 이용하였고, column 온도는 60°C로 일정하게 유지해 주었다.

올리고당의 회수 및 성분 분석

Dextran을 분리한 상등액 중의 올리고당은 rotary vacuum evaporator(N-N series, EYELA)로 농축하여 보관하였고, 올리고당의 성분은 표준시료를 이용하여 TLC(Thin layer chromatography)로 분석하였다. 각각의 올리고당액을 1 µl씩 취하여 Merck K5F TLC plate에 점적하여 전개용매(nitromethane : 1-propanol : water=2 : 5 : 1.5, v/v)로 두 번 전개하고 건조한 다음, 0.5%(w/v) N-(1-naphthyl)-ethylenediamine과 5%(v/v) 황산을 함유한 메탄올 발색시약으로 발색하여 올리고당의 성분을 확인하였다[7, 12, 13].

올리고당의 점성 확인

고형물의 농도가 75%(w/v)가 되도록 준비하고 항온조의 온도를 20, 40, 60 그리고 80 °C로 각각 유지한 후 Brookfield 점도계(DV-II, Brookfield Engineering Lab. Inc.)로 점도를 측정하였다[8]. 사용한 spindle과 rpm 조건은 각각 # 21과 100 rpm이었다.

올리고당의 내산성 확인

올리고당을 10%(w/v)의 농도로 준비한 후 pH를 2에서 6으로 조정하고 상온 및 60~120 °C(20 °C 간격)에서 각각 15분간 유지시킨 후 15 °C의 물로 급냉하고 변화된 올리고당의 함량을 TLC로 분석하였다[8]. 원액 중의 중합도가 1에서 3(G1-G3)인 성분의 함량을 100으로 정하고 각각의 pH에서 올리고당으로부터 유래된(G1-G3)의 함량을 고려하여 내산성을 확인하였다.

내산성(%) = 100

$$- \left(\frac{\text{열처리 후 올리고당에서 유래된 (G1-G3)의 함량}}{\text{원액 중의(G1-G3)의 함량}} \times 100 \right)$$

올리고당의 내열성 확인

올리고당을 10%(w/v, pH 6)의 농도로 준비하여 120~160°C에서 각각 30분, 60분간 처리한 후, 15°C의 물로 급냉하고 잔존 올리고당의 함량을 TLC로 분석한 후, 다음식을 이용하여 내열성을 확인하였다[8].

내열성(%) = 100

$$- \left(\frac{\text{열처리 후 올리고당에서 유래된 G1함량}}{\text{원액 당의 총함량}} \times 100 \right)$$

S. mutans의 성장에 미치는 올리고당의 영향

올리고당 첨가가 S. mutans의 성장중 배양액의 pH 변화를 억제하는지 알아보기 위하여 BHI 배지에 올리고당을 0.5%(w/v) 첨가하고, 24시간 배양한 S. mutans 6715 1%(v/v)를 접종한 후, 37 °C에서 정지배양 하면서 배양액의 pH 변화와 균성장(A₆₆₀)을 관찰하였다[8].

올리고당이 병원성 세균의 성장에 미치는 영향

S. typhimurium ATCC 14028과 S. aureus ATCC 14776의 성장에 미치는 올리고당의 영향을 알아보기 위하여 올리고당 시료 0.5%(w/v)를 첨가한 nutrient 배지에 1%(v/v) 접종하고, 37 °C에서 3일간 정지배양하였다. 균 성장 정도는 배양이 끝난 후 흡광도(A₆₆₀)로 측정하였다.

결과 및 고찰

기질 농도 변화에 따른 산물의 영향

기질 농도 변화와 dextran 생산 혼합발효배양에서 전분 기질을 5%(w/v)로 고정하고 설탕의 농도를 9~15%(w/v)로 증가하여 생산된 산물 중, 43%(v/v)의 에탄올 농도에서 침전된 dextran I의 평균 분자량은(MW) 66 kD이고 55%(v/v)의 에탄올 농도에서 침전된 dextran II의 평균 분자량은 21 kD이며, 각 dextran의 수율은 Table 2와 같다. 설탕의 농도가 증가될수록 중합도가 작은 dextran II가 dextran I에 비해 상대적으로 많이 생성되었고, 수율도 dextran I은 6.5%에서 13.4%로, dextran II는 6.2%에서 29.1%로 증가되었다. 이는 반응기에 설탕이 수용체로 작용할 전분의 분해산물에 비해 많이 공급되었기에 올리고당 생성보다는 dextran 합성을 증가시킨 결과 생각된다[1]. 그리고 분자량이 5 kD에서 100 kD인 텍스트란은 혈장대체제나 항응고제로 사용될 수 있는데[2], 본 연구 결과 생성된

Table 2. The percentage of the theoretical yield of dextrans produced by the mixed culture fermentation

Fermentation condition		Dextran(%)	
Starch conc.(%)	Sucrose conc.(%)	Dextran I	Dextran II
	9	6.5	6.2
5	12	11.2	15.7
	15	13.4	29.1

Dextran I and dextran II are dextrans prepared from 43%(v/v) and 55%(v/v) ethanol precipitation, respectively. Dextran I and dextran II have average molecular weight(MW) of 66 kD and 21 kD, respectively. The theoretical yield of dextran is 0.48 kg dextran/kg sucrose.

dextran I과 II가 이 분자량 범위에 속하므로 의료용 텍스트란의 소재로 사용 가능성이 있겠고, 이에 대한 연구는 진행 중에 있다.

기질 농도 변화와 올리고당 생산 5%(w/v)로 고정된 전분에 설탕의 농도를 9~15%(w/v)로 증가하여 공급한 혼합 발효배양에서 생산된 올리고당의 수율은 3.9%에서 5.2%로 증가하였고(Table 3), 이때 올리고당 성분은 Table 4에 나타내었다. 설탕의 농도가 증가할수록 leucrose(α-D-glucopyranosyl-(1→5)-D-fructopyranose)와 dp 5 이상의 올리고당이 각각 3.5%에서 12.5%로, 33.1%에서 58.3%로 증가하였다. 전분의 분해 산물에 비해 설탕의 공급량이 많아져서 수용체 반응에 의해 생성되는 작은 크기의 올리고당보다는 dp 5 이상의 올리고당 생산량이 증가된 것으로 생각되고[1], 본 연구는 생산하고자 한 dp 5 이상의 올리고당을 얻기 위한 조건으로 전분과 설탕의 농도를 각각 5%(w/v), 15%(w/v)로 정하였다.

올리고당의 물리적 특성

점성 확인 상업용 프락토올리고당(FOS), 상업용 혼합올리고당(MOS), 설탕(sucrose) 그리고 본 연구에서 개발된 새로운 혼합올리고당(NOS)의 온도에 따른 점도 변화를 확인하여 Fig. 1에 나타내었다. 20°C에서 새로운 혼합올리고당의 점도는 상업용 프락토올리고당(FOS), 상업용 혼합올리고당(MOS)보다 2.5배 높고, 설탕과는 비슷한 63 cps였다. 점도가 설탕과 유사하기에 식품의 성형과 맛의 조절이 용이하며 가공처리 시 취급하기가 편리하리라 기대된다.

Table 3. The percentage of the theoretical yield of oligosaccharides produced by the mixed culture fermentation

Fermentation condition		Oligosaccharides(%)
Starch conc.(%)	Sucrose conc.(%)	
	9	3.9
5	12	4.9
	15	5.2

Table 4. The composition of oligosaccharides produced by the mixed culture fermentation

Composition	Concentration(%)			MOS	FOS
	5%-9%*	5%-12%*	5%-15%*		
G1+F1	3.6	0.6	1.6	31.7	31.5
Sucrose				7.3	20.6
M2	1.7	4.0		11.6	
Leucrose	3.5	9.1	12.5		
M3	1.6	8.3	1.0		
GF2				31.7	31.0
IM2+IP3	26.2	1.5	8.8		
M4	0.5	8.9	2.5		
GF3					14.5
P3	2.5	4.1	2.4		
G4'	2.9	1.2	1.8		
GF4				1.2	1.1
M5	1.0	3.7	8.1		
IM3	17.3	1.9	3.0	1.6	
G4"+G7+P4	8.7	5.8	3.2		
IM4	6.3	4.9	7.9		
P5	1.2	2.3	2.6		
>G7	22.9	43.6	44.4	5.5	1.3

G1; glucose, F1; fructose, M2; maltose, M3; maltotriose, GF2; kestose(1^F-β-D-fructofuranosyl sucrose), IM2; isomaltose, IP3; isopanose, M4; maltotetraose, GF3; nystose(1^F-β-D-(fructofuranosyl)₂ sucrose), P3; panose, G4'; 6³-glucopyranosyl maltotriose, GF4; fructofuranosyl nystose, M5; maltopentaose IM3; isomaltotriose, G4"; 6^{1,2}-di-glucopyranosylmaltose, G7; maltoheptaose, P4; 6²-isomaltosylmaltose, IM4; isomaltotetraose, P5; 6²-isomaltotriosylmaltose, MOS; commercial mixed oligosaccharides, FOS; commercial fructooligosaccharides.

*starch concentration(%)-sucrose concentration(%) in fermenter

내산성 확인 pH 변화에 따른 새로운 혼합올리고당의 분해 정도를 각 온도별로 Fig. 2에 나타내었다. 120 °C에서 15분간 유지한 pH 5와 6의 올리고당은 전혀 분해가 되지 않아 산에 안정함을 보였고, pH 3와 pH 4에서는 2.4%, pH 2에서는 4.7% 정도 분해된 것으로 나타났다. 이러한 내산성을 갖는 올리고당의 특성은 식품첨가물로 사용하거나 산성 조건하에서 보관시 유용한 특성으로 생각된다.

내열성 확인 100 °C 이상의 고온에서 새로운 혼합올리고당의 존재율을 Fig. 3에 나타내었다. 새로운 혼합올리고당을 pH 6, 120 °C에서 60분간 처리해도 전혀 분해가 되지 않았으나 그 이상의 온도에서는 급격히 분해가 되었다. 그러나 30분간 처리한 경우에는 160 °C의 온도에서도 93%의 안정성을 보였다. 따라서 식품에 첨가하여 가열 조리시

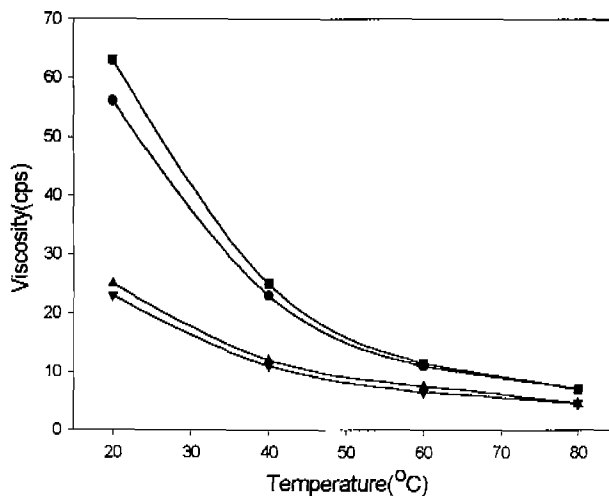


Fig. 1. The viscosity of oligosaccharides at different temperatures(°C).

● - ; Sucrose, ■ - ; NOS, ▲ - ; FOS, ▼ - ; MOS
NOS; new oligosaccharides, FOS; commercial fructooligosaccharides, MOS; commercial mixed oligosaccharides

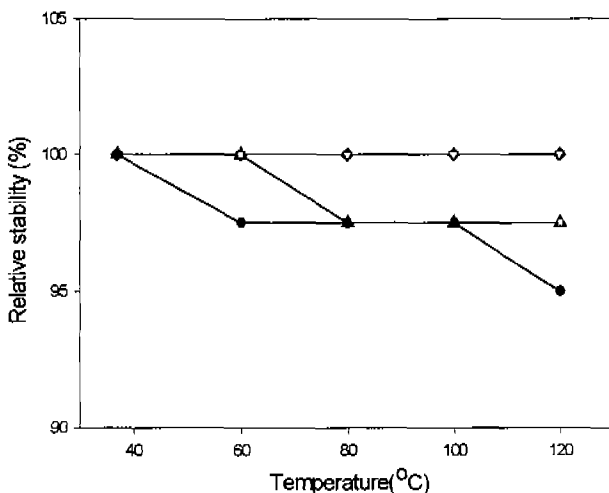


Fig. 2. The pH stability of oligosaccharides at different temperatures(°C).

● - ; pH 2, □ - ; pH 3, ▲ - ; pH 4, ▼ - ; pH 5, ◆ - ; pH 6

는 조리시간의 조정으로 올리고당 구조의 파괴율을 줄일 수 있으리라 생각된다.

올리고당의 생리학적 특성

올리고당이 *S. mutans* 성장에 미치는 영향 충치균으로 알려진 *S. mutans*은 구강 내에서 mutansucrase를 생산하며 설탕을 이용하여 insoluble glucan을 형성하고, 치태와 함께 치아 표면에 부착하여 젖산발효를 한다. 구강 내의 pH가 5 이하로 떨어지면 에나멜질의 용해도가 급격히 증가하게 되는데, 생성된 젖산이 치아의 에나멜질을 용해하여 충치를 발생시킨다[8]. *S. mutans*를 각종 당이 함유된 배지에서 배

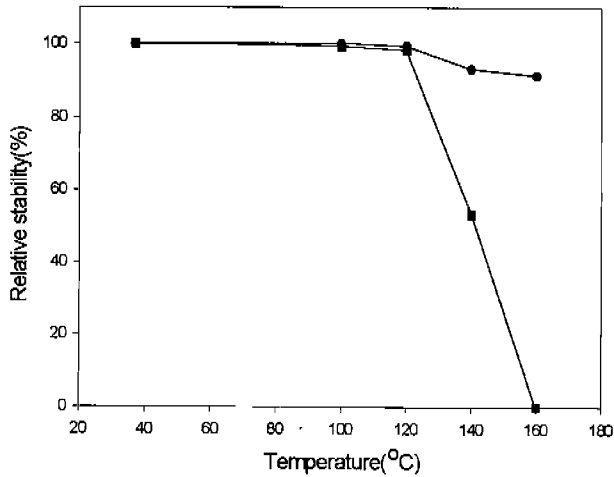


Fig. 3. The heat stability of oligosaccharides at different temperatures (°C)
 -●- ; 30 min, -■- ; 60 min

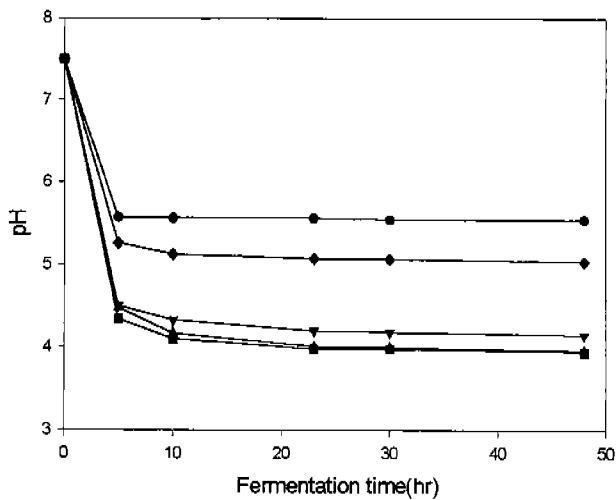


Fig. 4. The pH changes in the cultures of *Streptococcus mutans* with various sugars.
 -●- ; Control, -■- ; Glucose, -▲- ; Sucrose, -◆- ; FOS, -▼- ; NOS, Control; no sugar, FOS; commercial fructooligosaccharides, NOS; new oligosaccharides

양하면서 pH 변화를 살펴본 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 48시간 배양 후 각 배지의 pH 변화는 어떤 당도 첨가하지 않는 대조구의 경우 pH 5.5로 유지되었으나, glucose, 설탕 또는 프락토올리고당이 첨가된 *S. mutans* 배양액은 pH 4 까지 급격히 떨어짐을 확인하였다. 하지만 새로운 혼합올리고당을 첨가한 *S. mutans* 배양액은 pH 5에 도달하고 그 이하로 떨어지지 않았다. 이때 균의 성장 정도를 흡광도 (A_{660})로 확인하였고 이를 Fig. 5에 나타내었다. 대조구의 경우, 균의 성장이 0.50로 유지되었는데, 새로운 혼합올리고당을 첨가한 배지에서도 *S. mutans*의 성장 정도가 0.52로 대조구와 비슷하였고, glucose를 첨가하였을 때의 균 성장 정도 0.91보다 낮았다. 이는 새로운 혼합올리고당이 *S.*

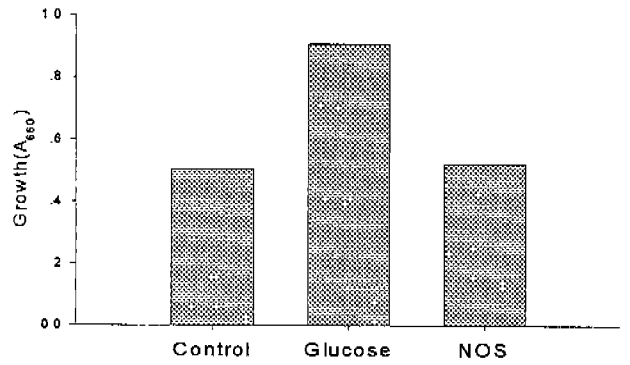


Fig. 5. The growth of *Streptococcus mutans* on glucose and new oligosaccharides.
 Control; no sugar, NOS; new oligosaccharides.

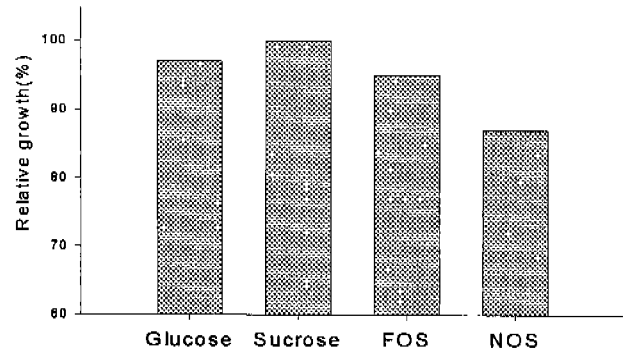


Fig. 6. The growth of *Staphylococcus aureus* on various carbon sources.
 FOS; commercial fructooligosaccharides, NOS; new oligosaccharides.

*mutans*의 성장을 억제하여 균 성장시 생성되는 산의 양이 줄어 배양액의 pH가 5로 유지되었으리라 여겨지며, 이는 새로운 혼합올리고당의 이용한 증치억제 효과를 가능하게 한다.

올리고당이 병원성 세균의 성장에 미치는 영향 *S. aureus*는 그람양성의 무포자 세균으로 공기, 물, 우유와 동물의 장관 및 호흡기 등에 광범위하게 존재하면서 enterotoxin이라는 독소를 생성하는 식중독의 원인균이다. 또한 내염성이 강하여 염장식품에서도 잘 생육하며, 반건조 식품 등과 같이 수분활성도가 낮은 식품뿐만 아니라 육·유가공품 등 거의 모든 식품에서 식중독을 일으키는 것으로 보고되어지고 있다[11]. *S. aureus*를 여러 가지 탄소원에서 각각 3일간 정지 배양하여 흡광도(A_{660})를 측정 한 후 그 성장 정도를 Fig. 6에 나타내었다. 설탕을 이용한 *S. aureus*의 성장을 100%로 하였을시 새로운 혼합올리고당을 이용한 성장 정도는 87%이었고, 프락토올리고당을 이용한 성장 정도인 95%보다 낮았다.

*S. typhimurium*는 그람 음성의 간균으로 *Enterobacteriaceae*부류에 속하는 세균이며 식수나 식품 등을 통하여 인체에 질병을 유발하는데, 특히 닭을 포함한 조류와 소, 돼

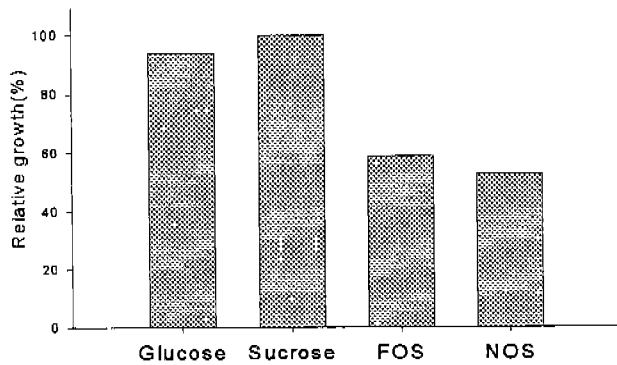


Fig. 7. The growth of *Salmonella typhimurium* on various carbon sources.

FOS; commercial fructooligosaccharides, NOS; new oligosaccharides.

지, 개, 고양이 등의 가금에서 전염성 장염을 일으키고, 이러한 가금들이 중간 매개체로 사람 식중독의 잠재적인 원인으로써 보고되어 있다[10]. *S. typhimurium*을 glucose, 설탕, 프락토올리고당 그리고 새로운 혼합올리고당을 탄소 원료로 배양하여 균 성장 정도를 660nm에서 흡광도로 측정하여 그 성장 정도를 Fig. 7에 나타내었다. 설탕을 이용한 배양에서는 *S. typhimurium*의 성장을 100%로 볼 때 glucose를 이용한 성장 정도가 94%였으나, 프락토올리고당과 새로운 혼합올리고당에서는 59%과 53%로 glucose보다 현저히 균의 성장이 낮음을 확인하였다. 이것으로 새로운 혼합올리고당을 이용하여 장내 유해한 세균인 *S. aureus*와 *S. typhimurium*의 성장률을 줄임으로써 상대적으로 장내 유용세균의 증식을 촉진시켜 정상 효과를 볼 수 있으리라 기대된다.

요 약

L. starkeyi KSM 22는 dextranase와 amylase의 활성을 모두 갖는 효소(DXAMase)를 생산하는 균으로 수용성 전분과 dextran을 분해하여 분자량이 작은 당들을 생산한다. *L. mesenteroides* B-512FMCM은 dextranase를 생산하여 sucrose로부터 glucose를 떼어내 DXAMase에 의해 이미 생성된 분자량이 작은 당들에 전달함으로써 새로운 구조의 올리고당을 합성한다. 전분의 농도가 5%(w/v)로 고정되고 설탕의 농도가 9~15%(w/v)로 증가될수록 생산된 총 dextran과 올리고당의 수율은 12.7%에서 42.5%로, 3.9%에서 5.2%로 각각 증가되었고, 그 중 중합도 5이상의 올리고당 함량이 전체 올리고당 생산량에서 각각 33.1%에서 58.3%로 증가되었다. 혼합발효배양을 통해 얻은 새로운 혼합올리고당(NOS)은 점성이 설탕과 비슷하였고, 산과 열에 안정하였다. NOS를 이용하여 충치균인 *S. mutans*을 배양하였을 때 다른 종류 올리고당인 프락토올리고당(FOS)과 혼합올리고당(MOS)과는 달리 배양액의 pH를 5.0으로 일정

하게 유지함으로써 충치발생 저해가능성을 보였다. 식중독균인 *S. aureus*와 *S. typhimurium*의 성장도 다른 종류의 당에 비해 억제되었다.

감사의 말

본 연구는 보건복지부에서 시행한 '97 보건의료기술 연구 개발사업과 농업생물신소재개발연구센터를 통한 한국과학재단의 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Baek, J. S., D. Kim, J. H. Lee, P. S. Chang, N. S. Han, and J. F. Robyt. 1998. Enzymatic synthesis of new oligosaccharides using glucansucrases. *Korean J. Soc. Food Sci.* **26**(2): 179-186.
2. Kim, D. and D. F. Day. 1994. A new process for the production of clinical dextran by mixed-culture fermentation of *Lipomyces starkeyi* and *Leuconostoc mesenteroides*. *Enzyme Microb. Technol.* **16**: 844-848.
3. Kim, D. and D. F. Day. 1995. Isolation of a dextranase constitutive mutant *Lipomyces starkeyi* and its use for the production of clinical size dextran. *Lett. Appl. Microbiol.* **20**: 268-270.
4. Kim, D., D. W. Kim, J. H. Lee, K. H. Park, L. M. Day, and D. F. Day. 1997. Development of constitutive dextranase hyper-producing mutants of *Leuconostoc mesenteroides* using the synchrotron radiation in the 70-1000 eV region. *Biotechnol. Tech.* **11**(5): 319-321.
5. Kim, D., D. Y. Jhon, K. H. Park, and D. F. Day. 1996. Mixed culture fermentation for the production of clinical quality dextran with starch and sucrose. *Biotechnol. Lett.* **18**(9): 1031-1034.
6. Kim, D., H. C. Seo, and D. F. Day. 1996. Dextran production by *Leuconostoc mesenteroides* in the presence of a dextranase producing yeast *Lipomyces starkeyi*. *Biotechnol. Tech.* **10**(4): 227-232.
7. Kim, D., J. S. Back, and J. H. Lee. 1995. Characteristics of dextranases of *Leuconostoc mesenteroides* B-1299 mutants, and enzymatic modification of amylose and pullulan. *Ann. RCNBMA* **4**: 41-57.
8. Kim, J. R., C. Yook, H. K. Kwon, S. Y. Hong, C. K. Park, and K. H. Park. 1995. Physical and physiological properties of isomaltooligosaccharides and fructooligosaccharides. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**(2): 170-175.
9. Kim, K. S. and Y. K. Chae. 1997. The effects of addition of oligosaccharide on the quality characteristics of tomato jam. *Korean J. Soc. Food Sci.* **13**(3): 348-355.
10. Kim, K. T., T. U. Kim, S. H. Yook, and U. H. Pek. 1996. Studies on the development of an enrichment method for rapid identification of *Salmonella* sp. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**(6): 647-651.

11. Kim, S. H., H. J. Sung, Y. S. Shin, D. H. Kim, and K. S. Lee. 1994. Inhibitory effect of lactic acid bacteria and its metabolites on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**(5): 644–648.
12. Remaud, M., F. Paul, and P. Monsan. 1992. Characterization of $\alpha(1 \rightarrow 3)$ branched oligosaccharides synthesized by acceptor reaction with the extracellular glycosyltransferase from *L. mesenteroides* NRRL B-742. *J. Carbohydrate Chem.* **11**(3): 359–378.
13. Tanriseven, A. and J. F. Robyt. 1993. Interpretation of dextranase inhibition at high sucrose concentration. *Carbohydrate Res.* **245**: 97–104.
14. Zakia, S. and C. Andrieux. 1997. Compared effects of three oligosaccharides on metabolism of intestinal microflora in rats inoculated with a human faecal flora. *Br. J. Nutr.* **78**: 313–324.

(Received June 10, 1999)