

## Cross-flow 막모듈을 이용한 Cyclodextrins의 효소적 생산과 동시 분리

홍준기\* · 염경호†

충북대학교 공과대학 화학공학부  
(1999년 1월 14일 접수, 1999년 9월 21일 채택)

## Enzymatic Production and Simultaneous Separation of Cyclodextrins Using Cross-flow Membrane Module

Jun Ki Hong\* and Kyung Ho Youm†

School of Chemical Engineering, College of Engineering, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Chungbuk, Korea  
(Received 14 January 1999; accepted 21 September 1999)

### 요 약

Cross-flow 막모듈이 설치된 막 생물반응기를 사용하여 가용성 전분으로부터 cyclodextrins(CDs)의 효소적 생산과 동시 분리에 대한 연구를 수행하였다. 이 결과 막 반응기는 CDs를 생산 즉시 cross-flow 막모듈을 통해 연속 분리시킴으로써 CDs의 효소 저해 및 선형 maltooligosaccharide로의 전환을 억제시켜 전분의 CDs로의 전환율을 37%로 일정하게 유지시킬 수 있었다. 10%(wt/vol) 전분용액, 2 atm의 조작압력 및 600 mL/min의 순환유량 하에서 막 반응기를 24시간 동안 운전하였을 때 CDs의 막 단위 면적당 총 생산량은 약 6.7 kg/m<sup>2</sup>이었으며, 이때의  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD 각각의 생산비는 약 4.4 : 5.5 : 1이었다. Cross-flow 막모듈을 설치한 막 반응기에서의 CDs 전체의 생산량과 생산성은 dead-end 막모듈을 설치한 막 반응기의 경우보다 약 1.8-2배 증가하였다.

**Abstract** – A study on the enzymatic production and simultaneous separation of cyclodextrins(CDs) from soluble starch was performed in a membrane bioreactor equipped with the cross-flow membrane module. The conversion of starch to CDs was maintained at a constant value of 37%, since the cross-flow membrane module, in which the separation of CDs from the reaction solution was occurred, suppressed the product inhibition and the breakdown of CDs to the linear maltooligosaccharide. After the reaction for 24 hr using a 10%(wt/vol) soluble starch solution, the produced amount of total CD per unit membrane area was about 6.7 kg/m<sup>2</sup> at the operating pressure of 2 atm and the circulation rate of 600 mL/min. Under these operating conditions, the production ratio of  $\alpha$ -CD :  $\beta$ -CD :  $\gamma$ -CD was about 4.4 : 5.5 : 1. The produced amount and productivity of CDs in a membrane reactor equipped with the cross-flow membrane module were about 1.8-2 times higher than that in a membrane reactor equipped with the dead-end membrane module.

Key words: Cyclodextrin, Membrane Bioreactor, CGTase, Cross-flow Membrane Module

### 1. 서 론

Cyclodextrins(CDs)는  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopyranose 단위체가 왕관형인 비환원성 환상구조로 연결된 환형 maltooligosaccharide로써, 결합된  $\alpha$ -D-glucopyranose 단위체의 수에 따라 6개가 연결된 경우를  $\alpha$ -CD, 7개가 연결된 경우를  $\beta$ -CD, 8개가 연결된 경우를  $\gamma$ -CD라 부른다. 이들 CDs는 외부는 친수성이며, 내부는 소수성인 공동의 구조를 갖고 있으며,  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -CD 각각은 내부 공동의 크기가 서로 다르기 때문에 크기가 상이한 소수성 물질들과 선택적으로 포접 화합물(inclusion compound)을 형성한다[1, 2].

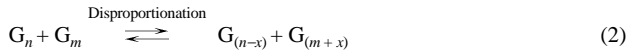
CDs는 1891년 Villiers[3]에 의해 그 존재가 최초로 알려졌으며, 1903년 Schardinger 등[4]이 *Bacillus amylobacter* 세포질로부터 CDs의 분리 및 그 구조를 연구한 이래 이에 대한 연구가 활발히 이루어지게 되었다. CDs는 휘발성 물질의 안정화, 산화방지, 광분해 물질의 보호, 소수성 물질의 용해도 향상, 식품 및 생선류의 냄새 제거, 의약품의 안정화, 소수성 물질 분리 등의 용도로 응용이 가능하고 생물체에 대한 독성이 없어, 현재 의약품 및 진단시약, 농약, 식품, 화장품, 플라스틱, 염료, 사진재료 등의 분야에 광범위하게 활용되고 있다. 최근 CDs로부터 생리활성 유도체의 합성, 생물반응시 생산성 향상을 위한 첨가제, 광학 이성질체 분리를 위한 크로마토그래피 column 충전 물로의 활용에 대한 연구도 활발히 이루어지고 있어 앞으로 그 수요가 더욱 증가할 것으로 예상된다[5-7].

CDs는 전분 분해 효소인 cyclodextrin glycosyltransferase[EC2.4.1.19, 1,4- $\alpha$ -D-glucano-4- $\alpha$ -D-(1,4-glucano)-transferase, CGTase]에 의해 전

†E-mail: khyoum@cbucc.chungbuk.ac.kr

\*Present Address: R&D Center, Hanbul Cosmetic Co., Umsung 369-830, Chungbuk, Korea

분으로부터 생성되는데, 이때 아래에 나타난 cyclization 반응[식 (1)의 정반응]과 coupling 반응[식 (1)의 역반응] 및 disproportionation 반응[식 (2)]이 경쟁적으로 일어난다[8, 9].



여기서  $\text{G}_n$ ,  $\text{G}_m$ ,  $\text{G}_{(n-x)}$  및  $\text{G}_{(m+x)}$ 는 각각  $n$ ,  $m$ ,  $n-x$  및  $m+x$ 개의  $\alpha$ -D-glucopyranose 단위체가 결합된 선형 maltooligosaccharide이며,  $\text{CD-G}_x$ 는  $x$ 개의  $\alpha$ -D-glucopyranose 단위체가 결합된 CDs를 나타낸다. CGTase는 전분을 glucosyl donor로 사용하여 경로 1의 cyclization 과정인 intramolecular transglycosylation 반응을 통해  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -CD를 생성한다. 그러나 cyclization을 통해  $n-x$ 가 1-7개인  $\text{G}_{(n-x)}$ (glucose, maltose, maltotriose, 저분자량 maltodextrin)가 생성되면 CGTase는 이들을 glucosyl acceptor로 사용하여 경로 1의 coupling과 경로 2의 disproportionation 과정인 intermolecular transglycosylation 반응을 일으켜 CDs가 선형 maltooligosaccharide로 다시 전환된다. 즉, 반응용액 중에 glucose, maltose 및 저분자량 maltodextrin이 존재하게 되면 CDs 생산이 저해되며, 또한 Kim 등[10]의 연구결과에 의하면 생성물인 CDs에 의한 CGTase의 저해도 큰 것으로 보고되어 있다.

전분으로부터 CGTase에 의한 CDs의 상업적 생산은 주로 미국과 일본을 중심으로 이루어져 왔다. 1969년 미국 Corn Products International Co.에서 CGTase를 사용한  $\beta$ -CD의 상업적 생산이 최초로 이루어졌으며[11], 그후 일본 Teijin Co.에서  $\beta$ -CD 생산을 위한 pilot plant 실험결과가 발표되면서 상업적 생산이 본격화되었다[12]. 그러나 앞서 설명한 바와 같이 전분으로부터 CDs의 효소적 생산시 생성된 CDs 및 단당과 다당이 일정 농도 값 이상으로 높아지면 생산물 저해와 CDs의 선형 maltooligosaccharide로의 분해 때문에 수율이 낮아 생산성 측면에서 문제가 있다. 따라서 CDs의 생산성을 높이기 위해서는 반응용액으로부터 CDs를 비롯한 생산물들을 생산 즉시 연속적으로 분리하는 효과적인 방법의 개발이 요구된다.

물질 분리 기법중 하나인 막분리법은 분리조작을 단시간에 효과적으로 행할 수 있으며, 열을 사용하지 않는 장점 때문에 효소, 단백질 및 생리활성 물질의 분리정제 등 특히 생물공정 및 생물분리기술 분야에 응용성이 높다[13]. 또한 막모듈을 생물반응기로 사용하는 막 생물반응기에 대한 연구도 이루어지고 있는 바, 미생물 또는 효소를 배제시킬 수 있는 막이 부착된 막모듈을 생물반응기로 사용하면 반응기 내에 미생물 또는 효소를 가두어 둘 수 있으며, 동시에 생산물을 막을 통해 즉시 연속적으로 분리해 낼 수 있어 생산물 저해를 방지할 수 있다는 장점이 있다[14].

본 연구에서는 CGTase에 의한 전분의 분해와 생성된 CDs의 분리를 cross-flow 막모듈이 설치된 막 생물반응기에서 수행함으로써 생산물 저해를 억제시키고, 동시에 반응용액으로부터 CDs를 효과적으로 연속 분리함으로써 CDs의 생산량과 생산성을 증가시키고자 하였다. 또한 지구상에서 비교적 풍부한 생물자원의 하나인 전분을 보다 부가가치가 높고 활용성이 큰 물질로 전환시키고, 고가인 CGTase를 재활용한다는 측면에서도 본 연구의 중요성이 있다. 이를 위해 가용성 전분용액을 대상으로 *Bacillus macerans* 유래의 CGTase를 사용하여 먼저 회분반응을 통해 CDs의 생산 실험을 수행하고, 다음으로 cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기에서 조작조건 변화에 따른 CDs의 생산과 연속 분리를 동시에 실험하고, 이를 회분반응 실험의 결과 및 기 발표된 논문[15]의 dead-end 막모듈이 설치된 막 반응기에서의 실험결과와 비교함으로써 CDs의 생산량 및 생산성 증가를 검토하였다.

## 2. 실험

### 2-1. 실험재료

효소인 CGTase로는 일본 Amano Pharmaceutical Co.로부터 *Bacillus macerans* 배양을 통해 생산된 액상 효소(Lot No., CGRRU11529L, 반응조건: pH 6, 온도 60 °C)를 사용하였으며, 표준 시료로서의  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD와 기질인 가용성 전분(soluble starch: SS)은 미국 Sigma Co.로부터 구입하였다. 이외의 기타 시약들은 모두 특급 시약을 사용하였다. 분리막으로는 기 발표된 논문[15]에서 최적의 분리막으로 선정된 분획분자량 10,000 달톤인 미국 Millipore Co.의 polysulfone 재질의 막을 사용하였다.

### 2-2. 실험장치

Cross-flow 막모듈이 설치된 막 생물반응기는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 용액 저장조, 효소반응이 일어나는 반응조, cross-flow 막모듈 및 막 투과액량 측정부(전자저울과 PC)의 4부분으로 구성되어 있다. 사용된 cross-flow 막모듈은 미국 Millipore Co.의 Minitan-S로 막의 유효 면적은 30 cm<sup>2</sup>이다. 일정한 반응온도(60 °C)를 유지시키기 위해 용액 저장조, 반응조 및 막모듈을 항온조 내에 설치하였으며, 반응조 내의 용액은 자석식 교반기에 의해 300 rpm의 속도로 교반시켰다.

### 2-3. 실험방법

#### 2-3-1. 회분반응 실험

가용성 전분 용액에의 최적 효소 투입량 결정과 막 생물반응기에서의 CDs 생산실험과의 비교를 위해 회분반응 실험을 수행하였다.

최적 효소 투입량은 10%(wt/vol) 가용성 전분 용액 50 mL에 전분 1 g 당 CGTase의 unit 수를 변화시켜 넣은 후, 제조회사에서 제시한 최적 반응조건(pH 6, 60 °C)에서 300 rpm의 속도로 교반하면서 반응용액 중의  $\beta$ -CD 농도를 5분 간격으로 1시간동안 측정하고, 이로부터  $\beta$ -CD 생산의 초기 반응속도를 구하여 그 값이 최대가 되는 때를 최적 효소 투입량으로 선정하였다. 이때 효소활성 1 unit는 최적활성 조건에서 10% 가용성 전분 용액 1 mL로부터 1분 동안 1 mg의  $\beta$ -CD를 생산하는 CGTase의 양으로 정의하였다.

회분반응에 의한 CDs 생산 실험은 10% 가용성 전분 용액 200 mL

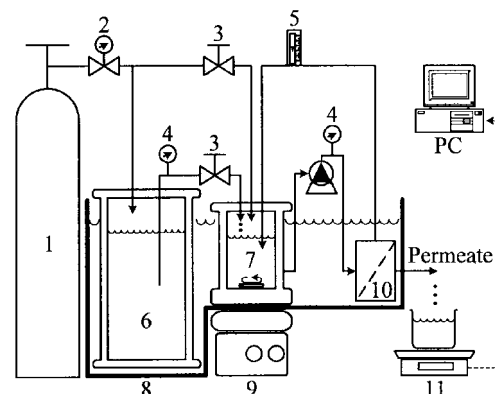


Fig. 1. System setup for membrane bioreactor equipped with cross-flow membrane module.

- |                            |                                |
|----------------------------|--------------------------------|
| 1. N <sub>2</sub> cylinder | 7. Reactor                     |
| 2. Pressure regulator      | 8. Water bath                  |
| 3. Valve                   | 9. Magnetic stirrer            |
| 4. Pressure gauge          | 10. Cross-flow membrane module |
| 5. Flow meter              | 11. Electronic balance         |
| 6. Solution reservoir      |                                |

에 최적 효소량을 투입시킨 다음 pH 6, 60 °C의 조건에서 300 rpm의 속도로 교반하면서 일정한 시간 간격으로 생성된  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -CD의 농도를 측정하여 24시간 동안 수행하였다.  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -CD의 정량은 이들 각각이 메틸오렌지, 페놀프탈레인 및 브로모크레졸 그린과 포접 화합물을 형성하는 원리를 이용하여 Lejeune 등[16], Kaneko 등[17], Kato 등[18]이 제시한 정량법을 사용하였다.

### 2-3-2. Cross-flow 막모듈을 이용한 CDs 생산 실험

가용성 전분으로부터 CDs의 효소적 생산과 분리를 Fig. 1에 나타난 cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기를 사용하여 수행하였다. 이때 질소를 이용해 용액 저장조와 반응조 및 막모듈을 원하는 압력까지 가압시켜 막을 통해 투과된 양만큼의 전분용액을 저장조로부터 반응조로 자동적으로 수송되어 반응조 내에서의 반응용액의 양을 항상 200 mL로 일정하게 유지시켰다. 반응조로부터 막모듈로의 반응용액 수송을 위해 순환펌프(DOHP 365, 화인정밀, 한국)를 설치하였다. 생성된 CDs가 함유된 막 투과액량은 전자저울(FX-3000, A&D Co., 일본)에 의해 1분 간격으로 연속 측정하여 PC에 기록하였으며, 또한 일정한 시간 간격으로 막 투과액 중의  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -CD의 누적 농도를 측정하였다. pH 6, 60 °C의 반응조건에서 실험의 조작변수로는 (1) 조작압력 2 atm 및 막모듈로 유입되는 반응용액의 순환유량 600 mL/min 하에서 전분용액의 농도를 1-20%, (2) 10% 전분용액 농도 및 600 mL/min의 순환유량 하에서 조작압력을 1-4 atm 범위로, (3) 10% 전분용액 농도 및 2 atm의 조작압력 하에서 순환유량을 400-1,000 mL/min로 변화시켜 24시간 동안 수행하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 회분반응 실험

회분실험결과 CGTase의 활성도는 34.16 unit/mL이었다. 회분반응 실험을 통해 가용성 전분 1 g 당 첨가시킨 CGTase의 unit 수 변화에 따른  $\beta$ -CD 생산의 초기 반응속도를 구하여, 그 결과를 최대값에 대한 상대활성으로 Fig. 2에 나타내었다. 이 결과 가용성 전분 1 g 당 10.25 unit의 CGTase를 첨가시켰을 때 최대의 활성을 나타내었으며, 따라서 이후의 모든 실험은 항상 전분 1 g 당 10.25 unit의 CGTase를 첨가시킨 조건에서 수행하였다.

10% 가용성 전분 용액을 대상으로 24시간 동안 회분반응 실험을 수행하여 반응시간에 따른 각 CD들 및 CDs 전체의 농도 변화를 측

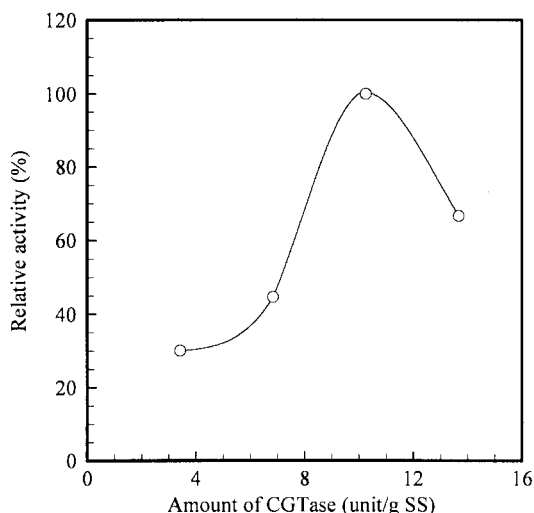


Fig. 2. Relative activity at different unit of CGTase.  
(pH 6, 60 °C, 10% SS)

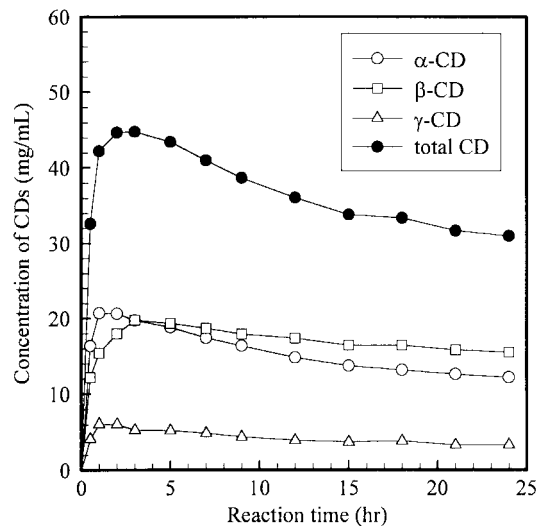


Fig. 3. Variation of CDs concentration in batch reactor.

정하여 이를 Fig. 3에 나타내었다. 이 결과 반응 개시 후 약 2시간이 경과하였을 때 각 CD들의 농도가 최대 값을 나타내었으며, 그 이후에는 반응시간이 경과함에 따라 점차 감소하였다. 이러한 결과는 생성된 CDs가 반응용액 내에 그대로 존재함으로써 CDs가 효소 활성을 저해시키거나, 또는 CDs가 효소에 의해 다시 분해되어 선형 maltotooligosaccharide로 전환되기 때문으로 사료된다[8-10]. 따라서 전분의 CDs로의 전환을 높이기 위해서는 생산된 CDs를 반응용액으로부터 생산 즉시 효소와 분리시키는 공정이 필요함을 알 수 있다.

### 3-2. Cross-flow 막모듈을 이용한 CDs 생산

#### 3-2-1. 전분농도에 따른 $\beta$ -CD 생산

조작압력 2 atm, 막모듈로 유입되는 반응용액의 순환유량을 600 mL/min으로 일정하게 유지시킨 상태에서 Fig. 1에 나타난 cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기를 사용하여 반응조에 도입되는 가용성 전분 용액의 농도(1-20%)와 반응시간에 따른 막투과량 및 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도 변화를 Fig. 4(a)에 나타내었다. 이 결과 막투과량은 전분 용액의 농도와 반응시간이 증가함에 따라 점차 감소하여 일관적인 막 분리 실험의 경향과 일치하였다. 특히 반응 개시 후 3시간 이내에서 막투과량 감소가 심하였는데, 이는 막에 의해 배제된 전분과 효소가 막표면에 누적됨으로써 발생하는 농도분극 및 막오염 현상이 반응 초기에 주로 일어나기 때문이다[13, 19]. 한편 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도는 전분용액의 농도와 반응시간이 증가함에 따라 증가하였다. Fig. 4(a)의 결과로부터 각 반응시간에서 막 단위 면적당의  $\beta$ -CD 생산량 [produced amount(kg/m<sup>2</sup>) = 특정 반응시간까지의 막 투과액량(L/m<sup>2</sup>) × 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도]을 계산하여 이를 Fig. 4(b)에 나타내었다. 이 결과  $\beta$ -CD의 생산량은 반응시간이 증가함에 따라 증가하며, 전분 용액의 농도가 10% 이상이 되면 거의 동일한 생산량을 나타내었다.

#### 3-2-2. 조작압력에 따른 $\beta$ -CD 생산

반응조에 도입되는 가용성 전분 용액의 농도를 10%, 반응용액의 순환유량을 600 mL/min로 일정하게 유지시킨 상태에서 조작압력(1-4 atm)과 반응시간에 따른 막투과량 및 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도 변화를 Fig. 5(a)에 나타내었다. 이 결과 막투과량은 조작압력이 높을수록 증가하였으며, 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도는 조작압력에 거의 영향을 받지 않았다. Fig. 5(a)의 결과로부터 각 반응시간에서 막 단위 면적당의  $\beta$ -CD 생산량을 계산하여 이를 Fig. 5(b)에 도시하였다. 이 결과  $\beta$ -CD의 생산량은 조작압력이 증가함에 따라 증가하였다.

#### 3-2-3. 순환유량에 따른 $\beta$ -CD 생산

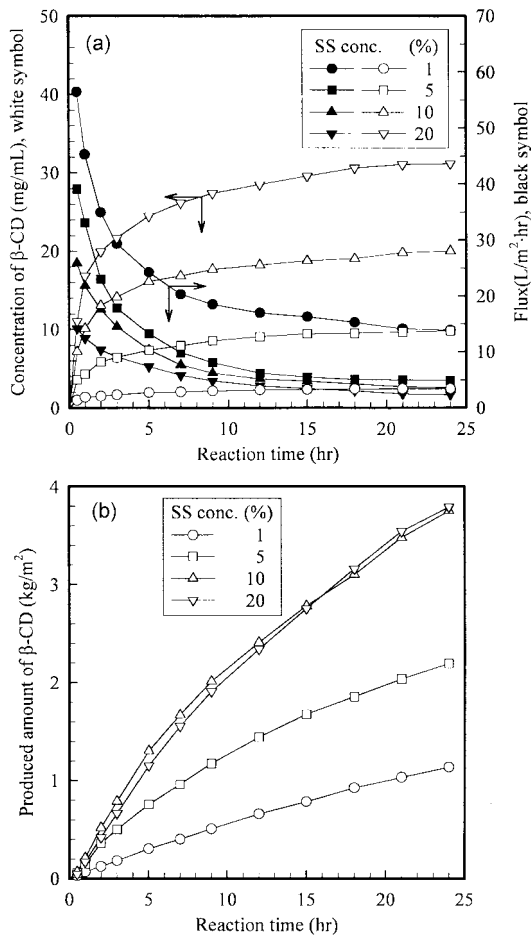


Fig. 4. (a) Flux and  $\beta$ -CD concentration in permeate and (b) produced amount of  $\beta$ -CD with change of soluble starch concentration in cross-flow membrane bioreactor.

( $\Delta P=2$  atm, circulation rate=600 mL/min)

조작압력 2 atm, 가용성 전분 용액의 농도를 10%로 일정하게 유지시킨 상태에서 반응용액의 순환유량(400-1,000 mL/min)과 반응시간에 따른 막투과량 및 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도 변화를 측정하여 Fig. 6(a)에 나타내었다. 이 결과 막투과량은 순환유량이 높을수록 증가하였는데, 이는 순환유량이 클수록 막모듈 내에서의 유속이 커져 막표면에 형성된 농도분극과 막오염이 감소하기 때문이다[13, 19]. 한편 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도는 순환유량의 영향을 거의 받지 않았다. Fig. 6(a)의 결과로부터 각 반응시간에서 막 단위 면적당의  $\beta$ -CD 생산량을 계산하여 이를 Fig. 6(b)에 도시하였다. 이 결과  $\beta$ -CD의 생산량은 순환유량이 증가함에 따라 증가하였다.

#### 3-2-4. CDs의 생산

조작압력을 2 atm, 가용성 전분 용액의 농도를 10%, 반응용액의 순환유량을 600 mL/min으로 일정하게 유지한 상태에서 cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기를 24시간 동안 운전하였을 때, 반응시간에 따른 투과액 중의 각 CD들 및 전체 CDs의 농도 변화를 Fig. 7(a)에 나타내었다. 이 결과 각 CD들의 농도는 약 3시간이 경과한 후부터 일정한 값을 유지하였으며, 이때 CDs 전체의 농도는 약 37 mg/mL이었다. Fig. 7(a)의 결과와 막투과량 측정값으로부터 각 CD들 및 CDs 전체의 생산량을 구하여 Fig. 7(b)에 나타내었다. 이 결과 cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기를 24시간 운전하였을 때 CDs 전체의 총 생산량은 약  $6.7 kg/m^2$ 이었으며, 이때의  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD 각각의 생산비

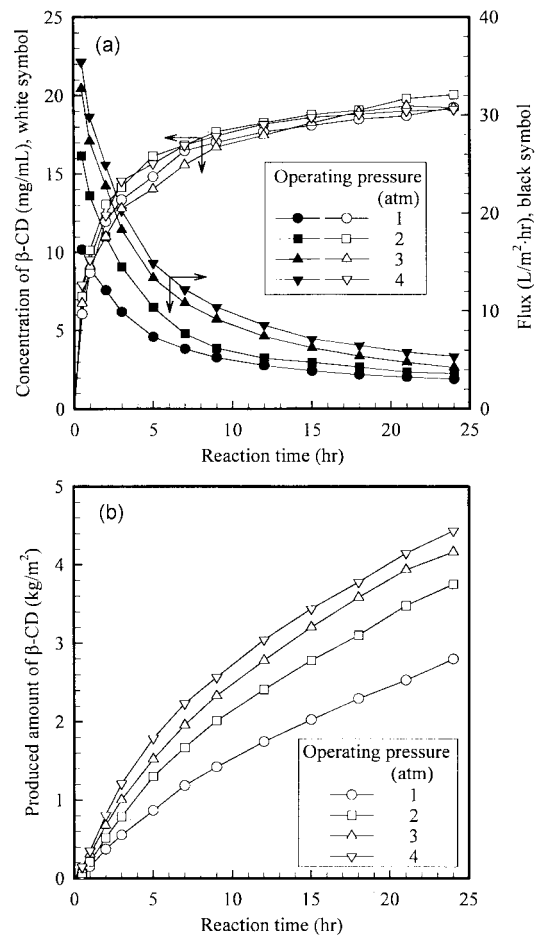


Fig. 5. (a) Flux and  $\beta$ -CD concentration in permeate and (b) produced amount of  $\beta$ -CD with change of operating pressure in cross-flow membrane bioreactor.

(10% SS, circulation rate=600 mL/min)

는 약 4.4 : 5.5 : 1로  $\beta$ -CD의 생산이 가장 많았다.

#### 3-3. CDs의 생산 비교

10% 가용성 전분 용액을 대상으로 회분 반응기 및 cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기(조작압력 2 atm, 순환유량 600 mL/min)를 사용하여 CDs를 생산할 때, 반응기에 도입된 가용성 전분의 총량과 생산된 CDs 전체의 양으로부터 각 반응시간에서의 전환율을 계산하여 이를 Fig. 8에 나타내었다. 이 계산시 막 반응기의 경우 생산된 CDs는 막을 모두 통과하고 전분과 효소는 막을 통과하지 못하므로 반응용액 중에서의 각 CD들의 농도는 막 투과액 중에서의 농도와 동일한 것으로 간주하였다[15]. 이 결과 회분 반응기의 경우는 생산된 CDs가 반응기 내에 그대로 축적되기 때문에 CDs가 효소 활성을 저해시키거나, 또는 CDs가 효소에 의해 다시 분해되어 선형 maltooligosaccharide로 변환되기 때문에 전환율이 반응 2시간 시점에서 45%로 최대 값을 나타낸 후 점차 감소하여 반응 12시간 시점 이후에는 막 반응기에서의 전환율보다 낮아졌다. 반면 cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기의 경우는 반응시간에 따라 전환율이 점차 증가하였으며, 반응 개시 10시간 시점 이후에는 전환율이 약 37%로 일정하게 유지되었다. 이는 막 반응기의 경우 생산된 CDs를 생산 즉시 막모듈을 통해 분리함으로써 생산물의 효소 저해와 효소에 의한 CDs의 선형 maltooligosaccharide로의 전환을 억제시켰기 때문으로 사료

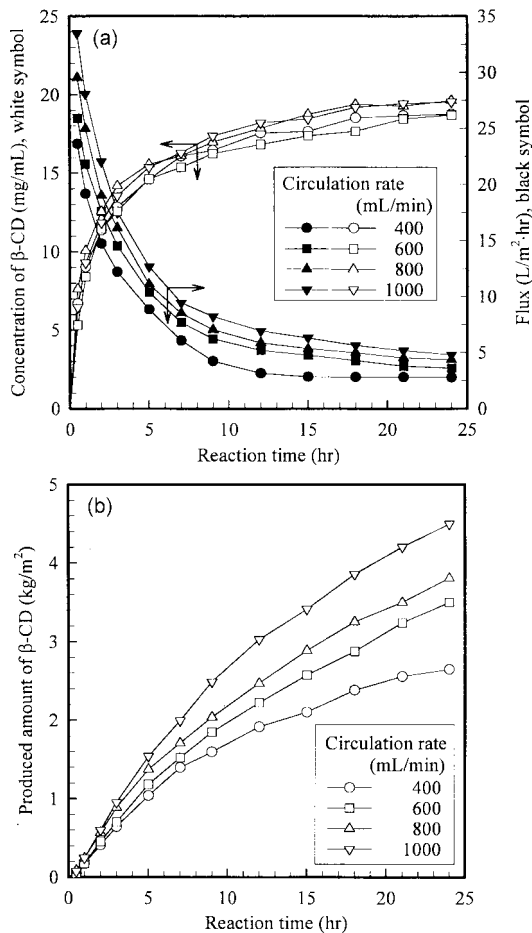


Fig. 6. (a) Flux and  $\beta$ -CD concentration in permeate and (b) produced amount of  $\beta$ -CD with change of circulation rate in cross-flow membrane bioreactor.

( $\Delta P=2$  atm, 10% SS)

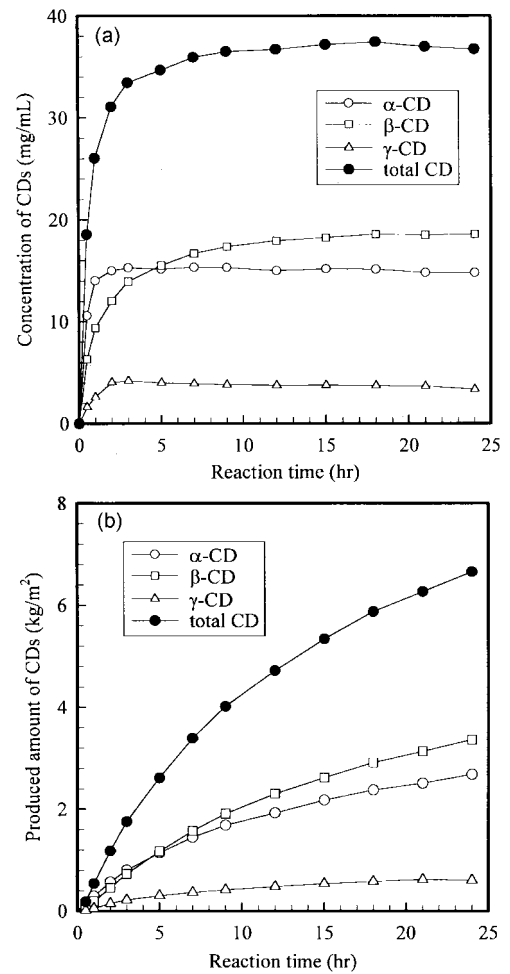


Fig. 7. (a) Variation of CDs concentration in permeate and (b) produced amount of CDs in cross-flow membrane bioreactor.

( $\Delta P=2$  atm, 10% SS, circulation rate=600 mL/min)

된다. 한편 본 연구를 통해 얻어진 가용성 전분의 CDs로의 전환율 값 30-45%는 Rendleman[20]과 Kim 등[21]이 제시한 전분의 CDs로의 일반적인 총 전환율 값 28-50% 범위에 속하였다.

본 연구의 cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기(조작압력 2 atm, 순환유량 600 mL/min)에서의 CDs 전체의 생산량과 기 발표된 논문 [15]의 dead-end 막모듈이 설치된 막 반응기(조작압력 2 atm)에서의 CDs 전체의 생산량을 비교하여 이를 반응시간에 따라 Fig 9에 나타내었다. 이 결과 전체 반응시간에 걸쳐 cross-flow 막모듈을 사용한 경우가 dead-end 막모듈을 사용한 경우보다 CDs 전체의 생산량이 약 1.8-2배 높았다. 이는 cross-flow 막모듈은 dead-end 막모듈과는 달리 반응용액이 막모듈 내로 순환되므로 농도분극과 막오염 형성을 억제시켜 막투과량을 크게 유지할 수 있기 때문이다.

또한 위의 결과로부터 막 단위 면적당의 CDs 생산성[productivity ( $kg/m^2 \cdot hr$ ) = 특정 반응시간에서의 막투과량( $L/m^2 \cdot hr$ ) $\times$ CDs 농도]을 계산하여 이를 Fig. 10에 나타내었다. 이 결과 두 종류 막모듈 모두에 대해 CDs 생산성은 반응 초기(2시간 이내)에 가장 높았고 이후 감소하였는 바, 이는 초기에는 막오염의 진행 속도보다 전환율의 증가 속도가 더 빠르며, 이후에는 전환율은 거의 일정한 값을 유지하는 반면 막오염은 계속적으로 진행되기 때문으로 사료된다. 그러나 앞서 기술한 바와 같이 cross-flow 막모듈이 dead-end 막모듈보다 농도분극과 막오염 형성을 억제시키기 때문에 더 높은 CDs 생산성을 얻을 수 있

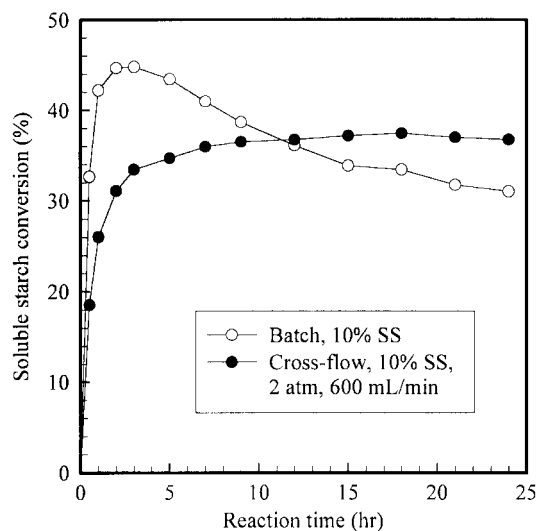


Fig. 8. Soluble starch conversion in batch reactor and cross-flow membrane bioreactor.

었다. 따라서 dead-end 막모듈보다는 cross-flow 막모듈을 설치한 막 반응기를 사용하는 것이 CDs 생산에 보다 더 유리함을 알 수 있다.

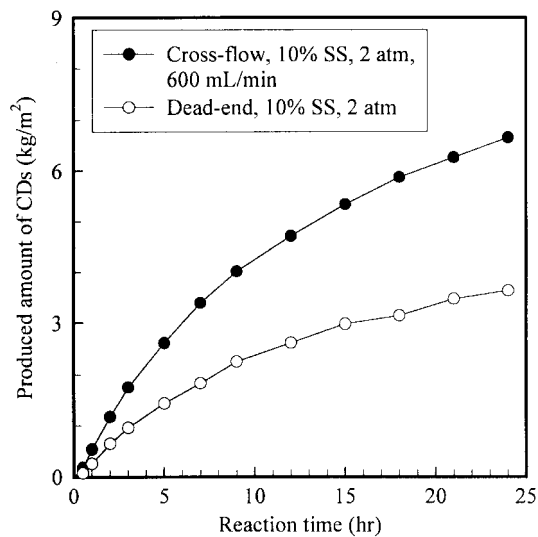


Fig. 9. Produced amount of total CD in cross-flow and dead-end membrane bioreactors.

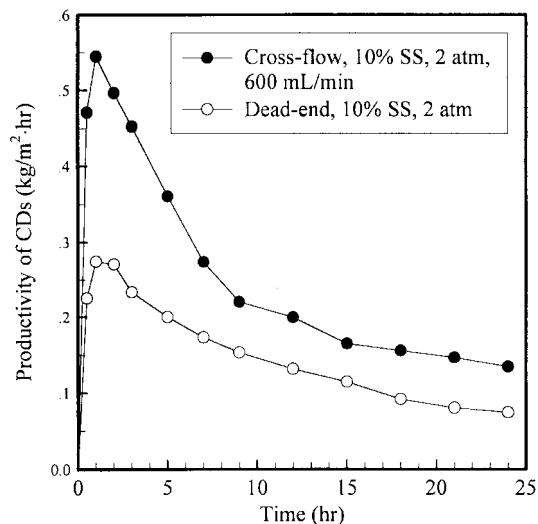


Fig. 10. Productivity of total CD in cross-flow and dead-end membrane bioreactors.

#### 4. 결 론

가용성 전분으로부터 CGTase에 의한 CDs의 생산 및 동시 분리를 cross-flow 막모듈이 설치된 막 생물반응기에서 연구한 결과 다음의 결론을 얻었다.

(1) Cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기를 사용하여 CDs의 효소적 생산과 분리를 동시에 수행함으로써 회분반응시의 단점인 생산된 CDs의 효소 저해작용과 효소에 의한 CDs의 선형 maltooligosaccharide로의 전환을 억제시킬 수 있어 전분의 CDs로의 전환율을 37%로 일정하게 유지시킬 수 있었다.

(2) Cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기에서 막 단위 면적당의  $\beta$ -CD 생산량은 조작변수인 전분용액의 농도, 조작압력 및 순환유량이 증가할수록 증가하나, 전분용액의 농도가 10% 이상이 되면 일정한 생산량을 유지하였다.

(3) 전분용액 농도 10%, 조작압력 2 atm, 순환유량 600 mL/min인 조건에서 막 반응기를 24시간 동안 운전하였을 때 막 단위 면적당의 CDs 총 생산량은 약 6.7 kg/m<sup>2</sup>이었으며, 이때의  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD 각각의 생산비는 약 4.4 : 5.5 : 1로  $\beta$ -CD의 생산이 가장 많았다.

(4) Cross-flow 막모듈이 설치된 막 반응기에서의 CDs 생산은 dead-end 막모듈이 설치된 막 반응기에서의 CDs 생산시 보다 약 1.8-2배 생산량과 생산성이 증가하였다.

#### 감 사

본 연구는 에너지관리공단의 '99년도 에너지기술 학술진흥사업으로 수행된 연구결과와 일부로서 지원에 감사드립니다.

#### 참고문헌

1. Szejtli, J.: *J. Mater. Chem.*, **7**(4), 575(1997).
2. Horikoshi, K.: *Process Biochem.*, **May**, 26(1979).
3. Villiers, A. C. R.: *Acad. Sci. Paris*, **112**, 536(1891).
4. Schardinger, F. and Untersuch, Z.: *Nahrungs-Genussmittel Gebrauchsgenstände*, **6**, 865(1903).
5. Szejtli, J.: "Cyclodextrin Technology," Kluwer, Dordrecht(1988).
6. Li, S. and Purdy, W. C.: *Chem. Rev.*, **92**, 1457(1992).
7. Lee, J. E., Choi, Y. S. and Kim, D. I.: *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **12**(1), 108(1997).
8. Rendleman, Jr. J. A.: *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **24**, 121(1996).
9. Vettler, D., Thorn, W., Brunner, H. and König, W.: *Carbohydr. Res.*, **223**, 61(1992).
10. Kim, T. J., Lee, Y. D. and Kim, H. S.: *Biotechnol. Bioeng.*, **41**, 88 (1993).
11. Corn Products Co.: "Catalogue for Cyclodextrins," 1968.
12. Mifune, A. and Shima, J.: *J. Organic Synthesis(Japan)*, **35**, 116(1977).
13. Mulder, M.: "Basic Principles of Membrane Technology," 2nd ed., Kluwer, Dordrecht(1996).
14. The Membrane Society of Korea: "Membrane Separation: Applications," Jayu Academy, Seoul(1996).
15. Hong, J. K. and Youm, K. H.: *Membrane*, **8**(3), 170(1998).
16. Lejeune, A., Sakaguchi, K. and Imanaka, T.: *Anal. Biochem.*, **181**, 6 (1989).
17. Kaneko, T., Kato, T., Nakamura, N. and Horikoshi, K.: *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **34**, 45(1987).
18. Kato, T. and Horikoshi, K.: *Anal. Chem.*, **56**, 1738(1984).
19. Youm, K. H., Fane, A. G. and Wiley, D. E.: *J. Memb. Sci.*, **116**, 229(1996).
20. Rendleman, Jr. J. A.: *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **24**, 129(1996).
21. Kim, T. J., Kim, B. C. and Lee H. S.: *Enzyme Microbial Tech.*, **20**, 506(1997).