

해양미생물 *Zoogloea* sp. 유래 고기능성 heteropolysaccharides의 물리·화학적 특성

임동준, 김종덕¹, 강양순², 공재열

부경대학교 식품생명공학부 생물화학공학연구소, ¹여수대학교 생물공학과,

²국립수산진흥원 남해수산연구소 통영분소

전화 & FAX (051) 620-6181

서 론

미생물유래 다당류는 매우 다양하며 분자량, 구성당의 종류, 결합순서, 결합양식 등과 같은 구조적 특성에 따라 여러 가지로 분류할 수 있다. 종류에 따라서는 겔 형성능, 유화안정능, 표면장력의 조절능, 물흡수능, 점착능, 유희능 등의 고유의 특이한 물리화학적 기능성을 나타낸다.

본 연구실에서 연구한 해양유래 미생물 *Zoogloea* sp. (KCCM10036)에서 생산되는 두 가지 다당류 WSP(water soluble polysaccharide), CBP(cell bound polysaccharide)¹⁾는 항종양활성²⁾, 중금속흡착능³⁾, 고정화담체재료⁴⁾로서의 기능성 등의 특징이 있다. 또한 유체특성 및 pH, 광범위한 온도범위에서 뛰어난 물성안정성은 다른 다당과 구별되는 특성으로⁵⁾, 본 연구에서는 이러한 특유의 물성을 이용하여 다양한 산업소재로의 개발을 위해 그 물리화학적 특성을 검토하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 다당류는 해양유래 미생물 *Zoogloea* sp.로부터 발효배양된 배양액으로부터 두 가지 서로 다른 다당류 WSP, CBP를 분리하고 Sepharose CL-4B(50mM phosphate buffer, pH 7.0) column chromatography로 정제 후 이용하였다.

1) 분자량검증

GPC(Gel permeation chromatography, HP 1100series)에 PSM60, 300, 3000를 이용, 1ml/min, 100 μ l 조건하에서 분리하였다. 검출기로 RI detector, mobile phase로 초순수 water를 사용하였고 표준당으로 분자량 측정 표준시료인 크기 71,400, 464,000, 2,000,000, 5,000,000의 Dextran(Sigma co.)을 기준으로 표준곡선을 작성하고 외삽법으로 분자량을 측정하였다.

2) FT-IR분석

정제된 다당을 10시간 동안 건조시킨 후, KBr를 이용, 얇은 박막을 형성시켜 사용하였다. FT-IR(Briker IFS-88, Germany)에 DT·GS, MCT detector를 이용하여 분석하였다.

3) 열적특성

DSC(Differential Scanning Calorimeter, Perkin-Elmer, USA, Pyris1) 기기를 이용 aluminum pan에 다당을 농도별 첨가하여, 20-200℃ 범위에서 N₂를 공급한 상태에서 10℃/min 간격으로 온도를 상승시켰으며 표준물질으로 Indium을 사용하였다.

4) 보수력(WHC, water-holding capacity)

WSP, CBP를 각 농도별(0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5%)로 원심분리관에 용해시켜 1min 동안 혼합하고, 1hr동안 상온 방치시킨 후, 원심분리(12,000rpm, 15min)하여 상층액을 제거하고 흡수지를 이용하여 15min동안 잔존수분을 제거하였다. 이를 건조기(110℃)에서 overnight시켰다.

5) 유화안전성

Olive oil 4ml과 D.W 6ml 혼합용액에 WSP, CBP, xanthan gum, alginate, gellan gum, Triton X-100, Tween20, 40, 80 각각을 1%(w/v) 첨가 후 2min 혼합하고 정치하며 유화안전성을 관찰하였다.

6) 응집활성

다당의 응집활성측정은 0.5%(v/v) Olive oil 10ml에 1%(w/v) CaCl₂ 0.1ml를 첨가하고 다당을 농도별로 첨가하여 10분동안 정치후 상등액 0.1ml를 취해 550nm에서 흡광분석하였으며 응집활성은 아래식으로 환산하였다.

$$\text{Flocculation activity(U/ml)} = (A - B) / A \times 100 \times \text{dilution rate}$$

A : Absorbance of reference sample B : Absorbance of reaction mixture

7) 용해성

다양한 polarity를 가진 15종의 용매 20ml에 건조된 다당 2mg을 각각 첨가하여 homogenization(20,000rpm, 10min)시켜 10분동안 정치후, spin down (13,000 rpm) 하여 상등액의 용해 당량을 Phenol-sulfuric(490nm)방법을 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

Zoogloea sp. 유래 다당의 평균분자량을 조사한 결과 WSP, CBP가 각각 4.07×10^6 , 3.43×10^6 였으며 이러한 결과는 지금까지 보고된 세균 유래 다당류 중에 큰 분자량에 속하는 것으로 나타났다(Fig. 1). 또한 생산되어 정제된 다당의 결합양식 또는 구성성분을 추정하기 위해 정제다당류의 적외선 흡수 spectrum을 조사한 결과, 당류 및 단백질에 특이적으로 나타나는 3400cm^{-1} 에서의 강한 흡수가 나타났으며 $2880\text{-}2980\text{cm}^{-1}$ 부근의 C-H stretching을 1400cm^{-1} 와 1600cm^{-1} 부근에서는 carbonyl기의 흡수가 관찰되었다. 또한 finger printer region중 $800\text{-}900\text{cm}^{-1}$ 에서의 낮은 peak는 다당류내 β -glucosidic 결합이 함유되어 있는 것으로 사료되는 결과이다(Fig. 2, 3). 또한 GPC 결과를 검토하였을 때 다른 분자량을 가진 물질이 검출되지

않고 dispersion 정도가 낮음에 따라 물질의 정제도가 높게 나타났다.

응집활성을 측정한 결과 최적활성은 0.01%(w/v) 다당첨가시에 가장 높은 효과를 나타냈으며 0.1%(w/v) 이상의 농도에서는 점진적으로 감소함을 알 수 있었다(Fig. 4). 실제 응집효과가 높은 것으로 보고된 Xanthan gum, alginate등을 대조군으로 사용한 결과 0.1%(w/v) Xanthan gum 첨가시 86.4unit/ml, 0.1%(w/v) alginate 첨가시 75.6unit/ml로 나타난 반면 WSP와 CBP 경우 0.01%(w/v)에서 99.5unit/ml, 92.9 unit/ml으로 우수한 응집력을 나타내었다.

WSP와 CBP의 각종 용매에 대한 용해도를 검토한 결과, polarity가 높은 H₂O 경우 WSP, CBP가 용해된 양이 각각 1.97, 1.428 mg/20ml 로써 98.7, 71.4%로 나타났으나 polarity가 낮아질수록 용해력은 WSP, CBP 모두 감소되어 10%미만으로 나타났다. 또한 polarity가 높은 용매보다 낮은 용매로 갈수록 CBP가 더 잘 용해되는 것으로 나타났다.

또한 보수력의 경우 대조군인 xanthan gum에 비해 WSP, CBP가 유사하거나 최대 20% 정도 높은값 을 나타냄으로써 우수한 효과가 나타났다.

유화안정능의 경우 일반적으로 화학유화제와 생물유화활성제를 선정 비교분석한 결과, gellan gum의 경우 10min 경과후 부분적으로 액층이 분리되기 시작하고 다른 유화제 경우에도 약 24시간후에는 액층이 완전히 분리됨을 알 수 있었다. CBP의 경우 144hr까지 탁월한 안정성을 보여 산업적 소재로서의 사용가능성한 것으로 사료된다. 열적특성을 조사한 결과, WSP, CBP의 융점은 각각 169.83°C, 165.63°C, enthalpy 529.78cal/g, 453cal/g로 나타났다.

참고문헌

1. Kwon KJ, Park KJ, Kim JD, Kong JY, and Kong IS (1994) Isolation of Two Different Polysaccharides from Halophilic *Zoogloea* sp. *Biotechnology Letters*, **16**(8), 783-788
2. Chang MW, Kang YS, Hong JW, Kim JD, Kong JY (1995) Production conditions of two polysaccharides from marine bacterium *Zoogloea* sp. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **10**: 518-524.
3. Kong JY, Lee HW, Hong JW, Kang YS, Kim JD, Chang MW, Bae SK (1998) Utilization of cell bound polysaccharide produced by the marine bacterium *Zoogloea* sp. New Biomaterial for metal adsorption and enzyme immobilization. *J. Marine Biotech.* **6**: 99-103.
4. Jang JH, Bae SK, Kim BJ, Ha SD, Kong JY (1998) Effects of fermentation conditions on the production of the useful polysaccharides from marine bacterium *Zoogloea* sp.. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **13**: 303-307.

5. Jang JH, Bae SK, Lim DJ, Kim BJ, Kong JY (2002) Rheological Properties of Polysaccharides Produced by Marine Bacterium *Zoogloea* sp. *Biotech. lett.* 24(4):297-301.

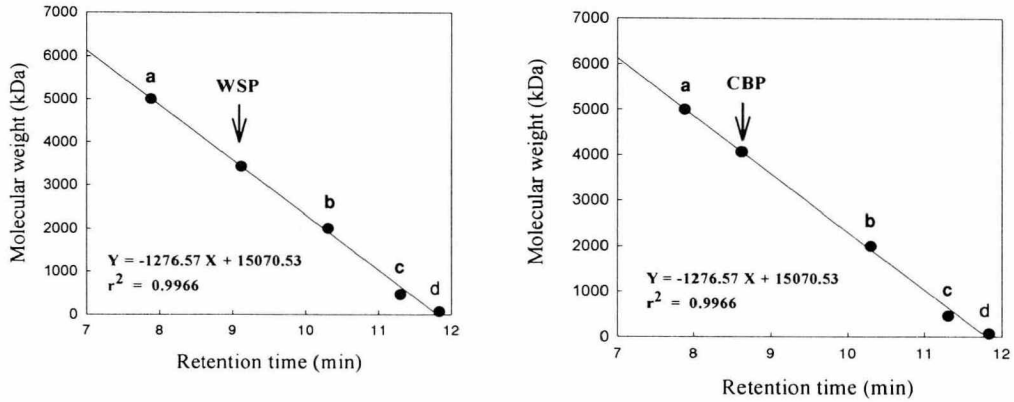


Fig. 1. Estimation of molecular weight of polysaccharide by gel permeation chromatography.
 Standard a: Dextran (Mw, 5×10^6), b: Dextran (Mw, 2×10^6), c: Dextran (Mw, 4.64×10^5), d: Dextran (Mw, 7.14×10^4)
 Flow rate: 1.0ml/min, 40°C

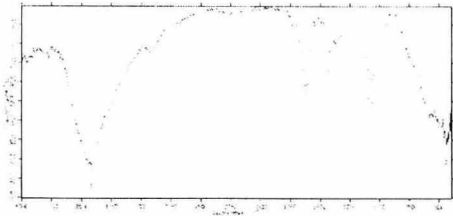


Fig. 2. Infra red absorption spectrum of the isolated water soluble polysaccharide with KBr pellet.

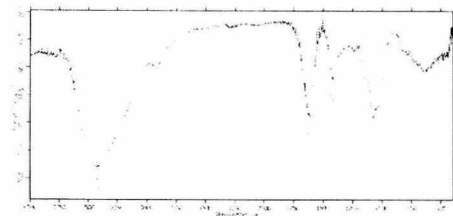


Fig. 3. Infra red absorption spectrum of the isolated cell bound polysaccharide with KBr pellet.

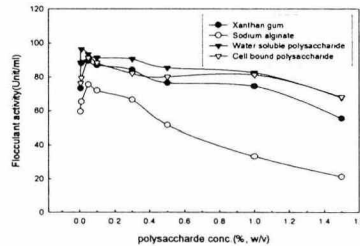


Fig. 4. Comparison of WSP, CBP, xanthan gum, sodium-alginate on Flocculation activity.