

## Extrusion시킨 팽윤 전분을 기질로 한 새로운 Maltose 생산법

이용현\* · 김동선 · 신현동 · 박진서  
경북대학교 자연과학대학 유전공학과

### A Novel Method for Production of Concentrated Purity Maltose Using Swollen Extruded Starch

Lee, Yong-Hyun\*, Dong-Sun Kim, Hyun-Dong Shin and Jin-Seo Park

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

**Abstract** — A novel method for production of concentrated purity maltose using swollen extruded corn starch was investigated. Degree of gelatinization of extruded starch suitable for maltose formation was found to be around 70%. The optimal amount of enzyme was 400 unit fungal  $\alpha$ -amylase per g of starch, and the reaction time was 12 hours. At extruded starch concentration of 300 g/l(w/v), maltose concentration and content were reached up to 220 g/l(w/v) and 77%(w/w), respectively. The maltose forming reaction was also successfully proceeded at high starch concentration of 700 g/l(w/v), however, the conversion yield and content were decreased. By the addition of extruded starch by fed-batch wise, the maltose concentration, purity, and conversion yield could be improved up to 465 g/l(w/v), 70%(w/w), and 0.63, respectively. The investigated maltose production process seems to have many potential advantages over the conventional process utilizing liquefied starch, and the feasibility for industrial application needs to be evaluated.

Maltose는 2분자의 glucose가  $\alpha$ -1,4 glycosidic bond로 결합된 이당류로서, 당도는 설탕의 30~40% 정도이며, 부드러운 감미, 저흡습성, 비결정성 등 특성이 있어 현재 감미료로써 널리 이용되고 있다(1-3). Maltose는 옥수수전분을 원료로 하여 고순도의 분말로 제조되거나 또는 maltose syrups으로 만들어지고 있으며, maltose syrup은 maltose, glucose, 그리고 dextrose equivalent(DE) 값에 따라 HMS(high maltose syrup), EHMS(extreme high maltose syrup), 그리고 HCS(high conversion syrup)으로 구분된다(4).

현재 maltose 생산에 주로 이용되고 있는 방법은 증자액화법으로, 먼저 30~40%의 생전분에 내열성  $\alpha$ -amylase를 첨가하여 90°C ~ 100°C 에서 증자와 동시에 반응시켜 DE 12~20 정도로 액화시킨 후, 얻어진 액화전분에 각종 maltose 생성효소를 첨가하여 24~72시간 반응시켜 제조하는 2단계 증자액화-당화 공정이 사용되고 있다(5-7).

이와 같은 기존의 공정은 증자 및 농축과정에서 다량의 에너지가 소모되며, 당화시간이 길고, 생성된 maltose가 액화전분과 수용상태로 혼합되어 있어 분리정제가 복잡하며, 액화전분의 점도 때문에 고농도로 첨가할 수 없어 고농도 maltose이 어렵고, 또한 maltose의 농축과정이 요구되는 등 단점이 있다.

이와 같은 결점을 보완하기 위해서 본 연구실에서는 분쇄마찰매체 함유 효소반응계를 이용하여 생전분으로부터 직접 maltose를 생산하는 새로운 무증자 maltose 생산공정을 연구한 바 있다(8, 9). 또한 extrusion시킨 팽윤 전분을 이용한 cyclodextrin의 직접생산에 관한 연구를 수행한 바 있다(10, 11). Extrusion은 전분질의 전처리 및 가공에 많이 이용되고 있으며, 그 효용성을 감안할 때 maltose의 생산에도 적절히 이용될 수 있을 것이다.

본 연구는 extrusion시킨 팽윤 전분을 함유한 불균일상 효소반응계를 이용하여 고순도의 maltose를 고농도로 생산하기 위한 기초연구이다. 먼저 maltose 생산에 적합한 구조를 갖는 extruded 전분을 검토하였고, 효소반응조건을 최적화하였으며, 고농도 maltose 생산을 위한 fed-batch식 기질 첨가법을 검토하

**Key words:** Maltose production, insoluble extruded starch, fungal  $\alpha$ -amylase, process, high purity concentrated maltose

\*Corresponding author

였다. 또한 extruded 전분을 이용한 maltose 생산공정의 효용성을 기존의 액화전분을 기질로 한 경우와 비교 평가하였으며, 고농도, 고순도 maltose 생산에 적합한 extrusion시킨 팽윤 전분을 기질로 한 새로운 maltose 생산법을 제시하였다.

## 재료 및 방법

### 사용효소

사용효소는 *Aspergillus oryzae* 유래의 산업용 효소인 Fungamyl(1,100 unit/mg protein, fungal  $\alpha$ -amylase, Novo, Co.)였으며, 효소 활성은 1%(w/v) 가용성 전분용액(pH 5.0) 2.0 ml에 효소 희석용액 0.2 ml를 첨가하여 40°C에서 10분간 반응시킨 후 생성된 환원당을 측정하여 분당 1  $\mu$ mole maltose equivalent를 생성하는 효소량을 1 unit로 하였다. 효소액 중의 soluble protein 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Lowry법(12)으로 측정하였다.

보조첨가효소로서 *Bacillus licheniformis* 유래의 전분액화형 효소인  $\alpha$ -amylase(680 unit/mg protein, Sigma Co.)와 *Bacillus* 유래의 debranching 효소인 Promozyme(4.4 unit/mg protein, pullulanase, Novo Co.)를 사용하였다. 이때  $\alpha$ -amylase 1 unit은 1%(w/v) 가용성 전분을 기질로 pH 4.0, 40°C에서 분당 glucose equivalent 1  $\mu$ mole을 생성하는, 그리고 Promozyme 1 unit은 pullulan으로부터 분당 maltotriose equivalent 1  $\mu$ mole을 생성하는 효소량으로 하였다.

### 사용전분

Extruded 전분은 옥수수 생전분(raw corn starch, 수분함량 12%)을 아래에 기술한 extruder를 이용하여 각종 조건에서 처리하여 얻어진 것을 사용하였으며, 경우에 따라 생전분 및 액화전분을 사용하였다. 액화전분은 옥수수 생전분 300 g/l(w/v)를 0.05 M phosphate buffer(pH 6.0) 용액 50 ml에 현탁한 후  $\alpha$ -amylase를 0.1 unit/g starch가 되도록 첨가하여 90°C ~ 100°C에서 10분 동안 반응시킨 후 가열하여 효소를 실활시켜 제조하였으며, DE는 7~14였다.

### Extruder의 구조

사용한 extruder는 자가발열형 단축형 extruder (autogenous single screw extruder)로서, barrel의 직경은 36.0 mm였고, screw는 직경이 30.0 mm, 길이 243 mm로서 L/D(length/diameter)의 비율은 8.1이었다.

### 전분의 extrusion 처리

옥수수 생전분을 각각 수분함량 12, 15, 18, 20, 그리고 25%로 평형화시킨 후 single screw extruder에서 screw와 사출구의 간격을 2.7 mm로 유지하면서 원료를 300 g/min 속도로 사입하면서 extrusion시켰다. 경우에 따라 screw 회전속도를 150, 200, 250, 그리고 300 rpm으로 변화시켰으며, 얻어진 extruded 전분을 건조한 후 분말화시켜 사용하였다.

### 전분의 호화도 측정

호화도는 Wootton등(13)의 방법에 따라, 분말시료를 20 g/l로 현탁하고 3,000×g로 10분간 원심분리한 후 얻어진 상등액을 100배 희석한 후, iodine 용액(4.9% KI, 1% I<sub>2</sub>)을 1%(v/v) 첨가하여 600 nm에서 흡광도(A)를 측정하였다. 완전 호화된 전분은 전분 시료를 0.5 M KOH 용액에 20 g/l가 되게 현탁하고 5분간 실온에서 방치하여 제조하였으며, 원심분리한 상등액을 중화한 후 상기와 같은 조건에서 흡광도(A<sub>0</sub>)를 측정하였다. 호화도(%)는 (A/A<sub>0</sub>)×100를 이용하여 계산하였다.

### Maltose 생성 효소반응

Extruded 전분의 효소반응은 전분을 300 g/l(w/v)가 되도록 0.05 M acetate buffer(pH 5.5)용액 50 ml에 현탁시킨 후 fungal  $\alpha$ -amylase를 40 unit/g starch 상당량 첨가하여 항온진탕장치에서 250 rpm으로 교반시키면서 50°C에서 반응시켰다. 경우에 따라 상기 반응조건을 변화시켰다. 반응액 1 ml를 6,000×g에서 10분간 원심분리하고 얻어진 상등액을 HPLC 시료로 사용하였다.

액화전분의 당화는 위에서 얻어진 DE 7~14인 액화전분 300 g/l(w/v)를 0.1 N HCl로 pH 5.5로 조절하고 fungal  $\alpha$ -amylase를 40 unit/g starch가 되도록 첨가하여 50°C, 250 rpm에서 반응시켰다.

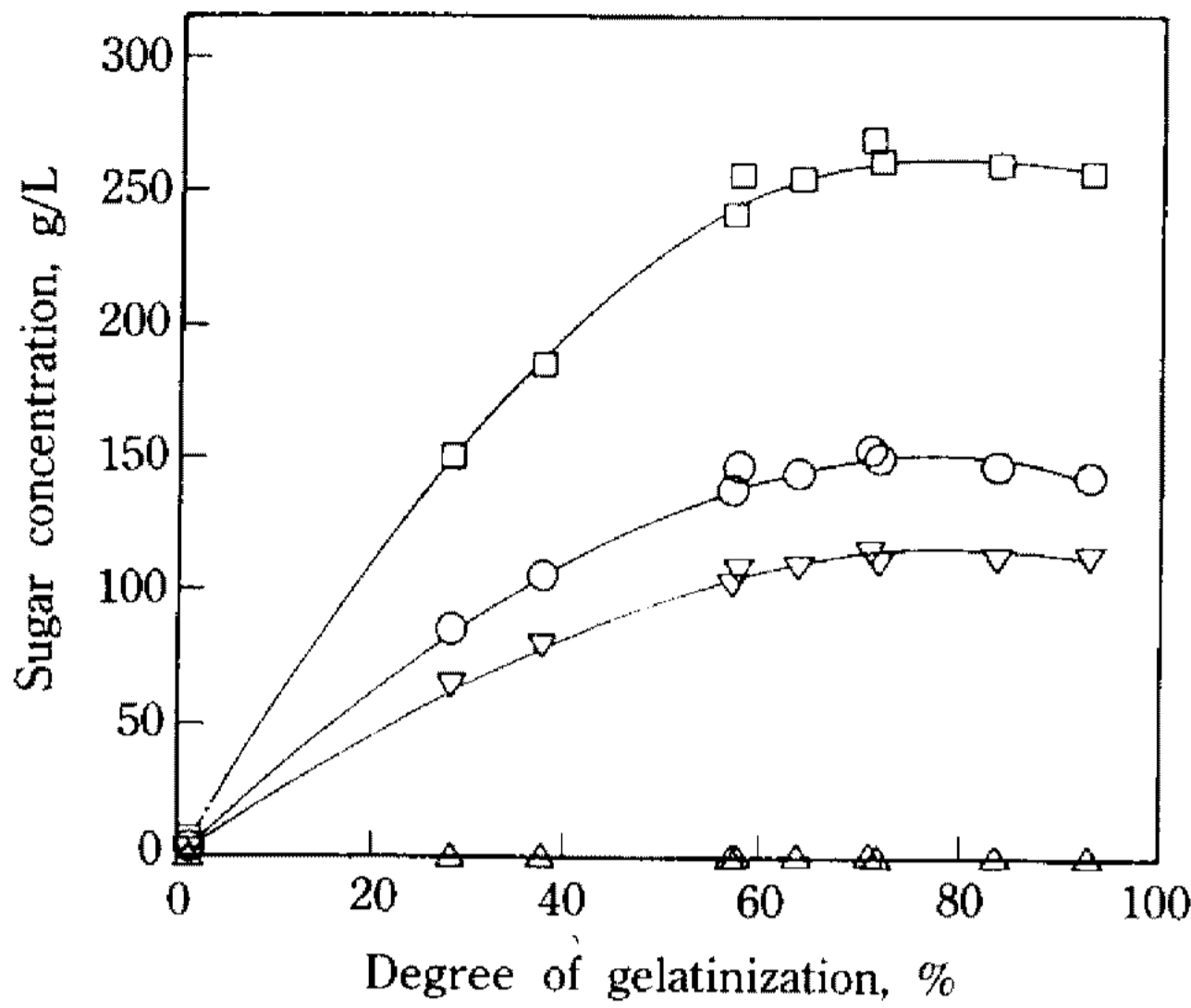
### Maltose 및 생성당 분석

Maltose의 정량 및 생성당 조성은 HPLC(Gilson Co.)를 사용하였다. Column은 Cosmosil 5-NH<sub>2</sub> column(Nacalai Technique Co.), mobile phase는 65대 35의 acetonitrile/water, mobile phase의 유속은 1 ml/min, 그리고 당검출은 RI detector를 사용하였다.

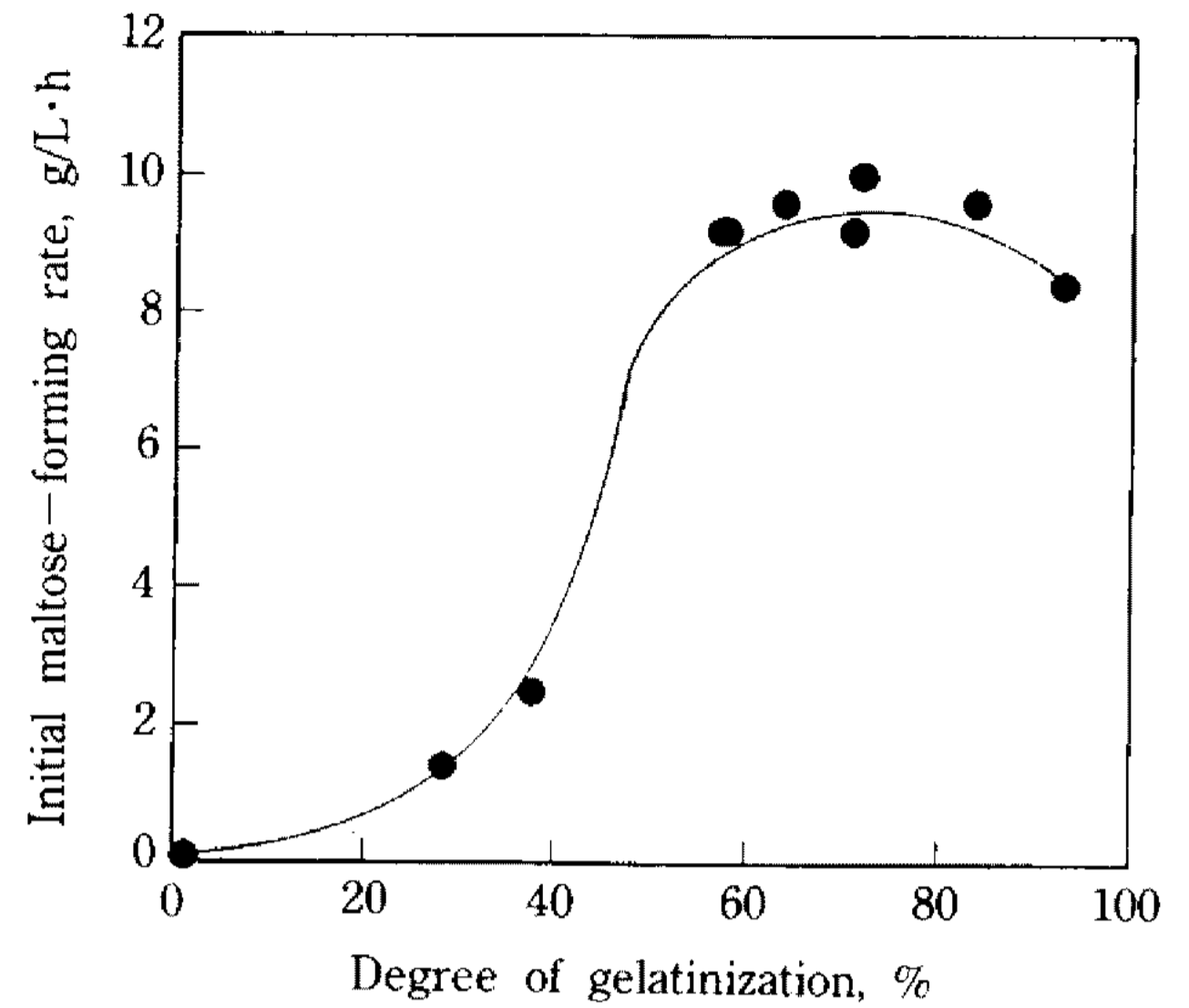
## 결과 및 고찰

### Extruded 전분을 이용한 maltose 생산

Extruded 전분을 이용한 maltose 생산의 효용성을



**Fig. 1. Sugar profiles produced from extruded starch of different degrees of gelatinization.** Conditions; 300 g extruded corn starch/l, 40 unit fungal  $\alpha$ -amylase/g starch, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5), 50°C, 250 rpm, and after 24 hours.  $\square$ ; total sugar,  $\circ$ ; maltose,  $\nabla$ ; maltooligosaccharides,  $\triangle$ ; glucose.



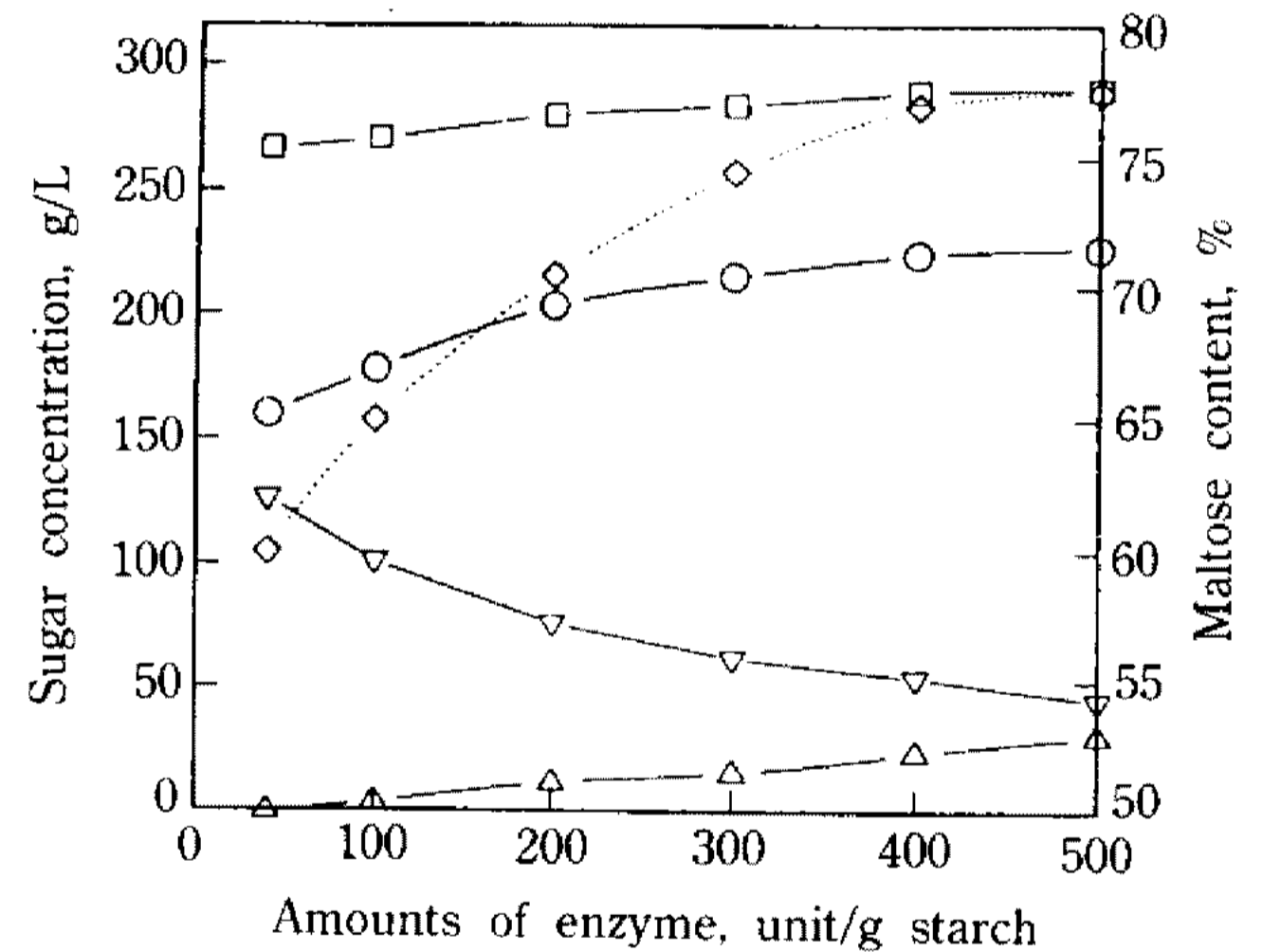
**Fig. 2. Initial rate of maltose formation of extruded starch of different degrees of gelatinization.** Conditions; 300 g extruded corn starch/l, 40 unit fungal  $\alpha$ -amylase/g starch, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5), 50°C, and 250 rpm.

검토하기 위하여 호화도가 1.25인 생전분과 호화도가 37.9에서 92.9%인 각종 extruded 전분을 기질로 24 시간 효소반응시켰으며, 첨가한 extruded 전분의 농도는 300 g/l(w/v), maltose 생성효소인 fungal  $\alpha$ -amylase의 첨가량은 전분 1g당 40 unit였다. Fig. 1은 24 시간 효소반응 후 생성된 maltose, glucose, 그리고 maltooligosaccharides의 농도와 이들의 합인 총생성당의 농도를 측정된 결과이다(Fig. 1).

Maltose 생성은 호화도가 60%에 이를 때까지는 호화도에 비례하여 점차적으로 증가하였으며, 농도는 149 g/l(w/v)에 이르렀다. 또한 호화도가 60~80%인 extruded 전분을 사용할 경우에는 큰 변화가 없이 149~153 g/l(w/v)를 유지하였으며, 호화도가 80% 이상일 때에는 maltose 생성은 다소 감소하는 경향을 보였다. 한편 maltooligosaccharides의 생성에 미치는 호화도의 영향은 maltose의 경우와 유사한 경향을 보였으며, glucose 생성은 거의 감지되지 않았다.

또한 Fig. 2는 각종 호화도의 extruded 전분을 기질로 한 maltose의 초기 생성속도를 나타낸 결과이며, 호화도가 증가함에 따라 증가하여 maltose 생성량과 유사한 경향을 보였으며, 호화도 70%에서 10.1 g/l·h로 최대값을 보였다.

이와 같은 현상은 호화도가 60% 이하인 extruded 전분은 전분입자가 충분히 팽윤되지 못하여 효소가 작용할 수 있는 가용표면적이 적기 때문일 것이며, 반면 호화도 80% 이상에서는 전분입자가 과다하게



**Fig. 3. Effect of the amounts of fungal  $\alpha$ -amylase on sugar production and maltose content from extruded starch.** Conditions; 300 g extruded corn starch/l, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5), 50°C, 250 rpm, and after 24 hours.  $\square$ ; total sugar,  $\circ$ ; maltose,  $\nabla$ ; maltooligosaccharides,  $\triangle$ ; glucose,  $\diamond$ ; maltose content.

팽윤되어 있어 다량의 수분을 흡수하며, 또한 반응액의 점도가 너무 높아 효소반응을 저해하기 때문으로 사료된다. 따라서 maltose 생산에 적합한 extruded 전분의 호화도는 70% 전후로 판단된다.

**Extruded 전분을 기질로 한 maltose의 생산조건 검토**

**효소 사용량** : Fig. 3은 효소 사용량의 영향을 검토

코져 fungal  $\alpha$ -amylase를 전분 1g당 40 unit에서 500 unit까지 첨가하여 24시간 반응 후 생성된 maltose, glucose, maltooligosaccharides, 총생성당 농도, 그리고 maltose의 순도를 나타낸 것이다.

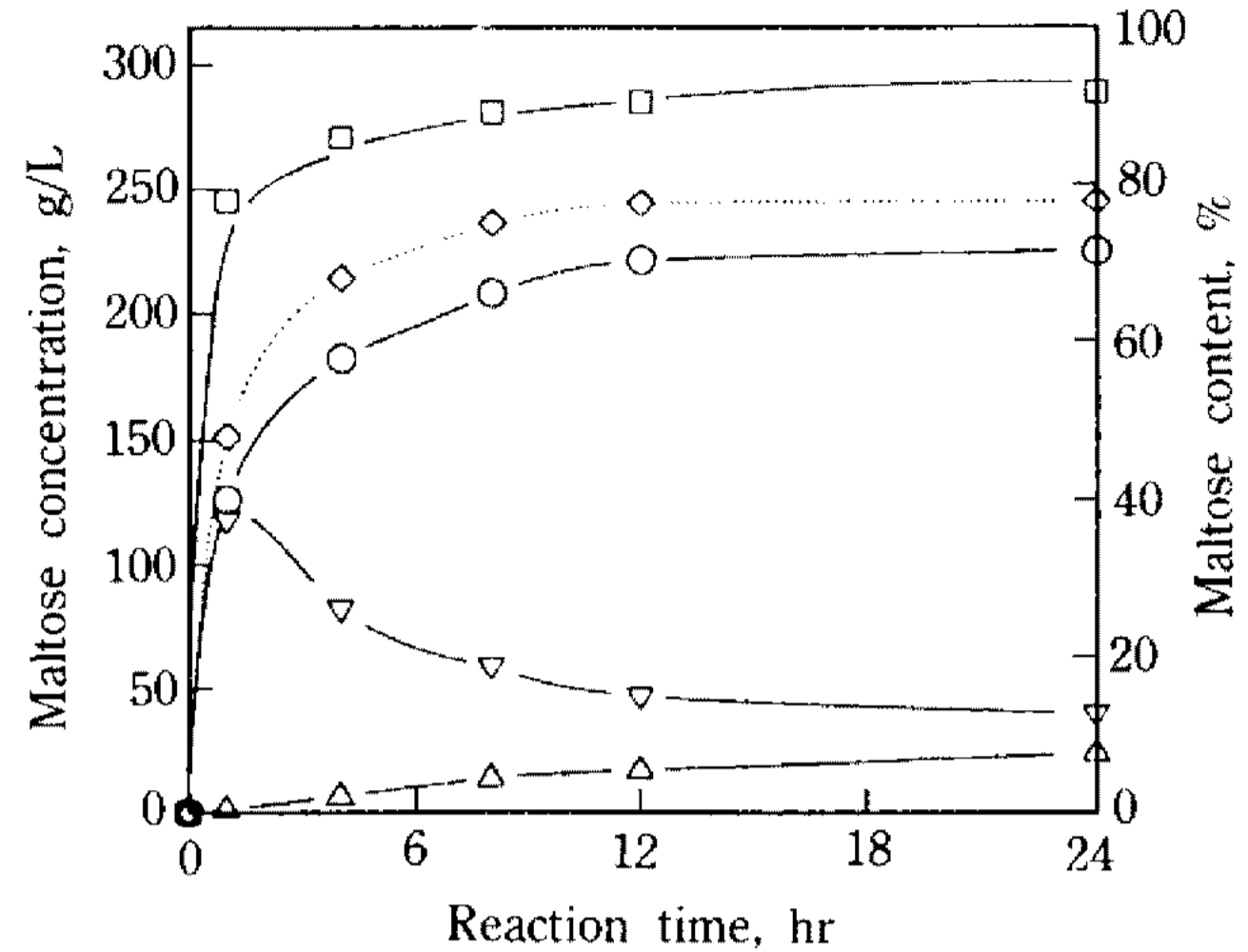
효소 사용량이 전분 1g당 40 unit일 때의 maltose 농도는 162 g/l(w/v)였으며, 400 unit로 증가됨에 따라 생성된 maltose의 농도도 비례하여 증가하여 223 g/l(w/v)에 이르렀다. Maltose 순도도 점차 증가하는 경향을 보였으며, 400 unit 첨가시에는 77%(w/w)에 이르렀다. 반면 maltooligosaccharides의 농도 및 함량은 효소 사용량이 증가됨에 따라 급격히 감소하는 경향을 보였으며, 40 unit에서는 각각 108 g/l(w/v)와 41%(w/w)였고, 400 unit에서는 각각 42 g/l(w/v)와 14%(w/w)였다. 한편 glucose는 효소 첨가량이 증가함에 따라 다소 증가하는 경향을 보였으며, 100 unit 첨가할 때부터 생성되기 시작하여 400 unit 첨가시에는 24 g/l로 증가하였으며, 함량은 8%(w/w)에 이르렀다.

한편 400 unit 이상 효소를 첨가했을 경우에는 maltose 농도 및 순도에는 큰 변화가 없는 반면 maltooligosaccharides의 농도 및 함량은 감소하는 경향을 보였고, glucose의 농도 및 함량은 계속 증가하는 경향을 보였다. 따라서 extrusion시킨 팽윤 전분을 기질로 한 maltose 생산에 적합한 효소 사용량은 전분 1g당 400 unit 정도로 판단된다.

이와 같은 효소 첨가량은 기존의 액화전분을 기질로 한 maltose 생산공정(14)에서 첨가되는 효소량인 40~200 unit에 비해 다소 많은 양이다. 이는 extruded 전분이 불용상태로 현탁되어 있어 액화전분을 기질로 한 경우와는 달리 효소반응이 팽윤된 전분입자의 표면에서 진행되므로 maltose를 효과적으로 생산하기 위해서는 다소 과량의 효소를 첨가함이 필요함을 알 수 있었다.

**반응시간에 따른 maltose 순도의 변화:** Maltose 순도는 반응시간에 따라 maltooligosaccharides와 glucose의 함량이 급속히 변화함으로 매우 민감하게 변한다. 따라서 고순도의 maltose를 생산하기 위해서는 적절한 반응시간의 결정이 필요하다. Fig. 4는 반응시간에 따른 maltose, glucose, maltooligosaccharides, 총생성당의 농도와 maltose의 순도의 변화를 측정된 결과이며, 이때 extruded 전분농도는 300 g/l(w/v), fungal  $\alpha$ -amylase를 첨가량은 전분 1g당 400 unit였다.

Maltose 순도는 반응시간이 경과함에 따라 점차 증가하여 반응 12시간 후에 최대치인 77%(w/w)에 도달하였으며, 이때의 maltose 농도는 220 g/l(w/v)였다. 그러나 그 이후에는 큰 변동이 없고 24시간 후



**Fig. 4. Progress of maltose formation reaction from extruded starch during extended reaction time.**

Conditions; 300 g extruded corn starch/l, 400 unit fungal  $\alpha$ -amylase/g starch, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5), 50°C, and 250 rpm. □; total sugar, ○; maltose, ▽; maltooligosaccharides, △; glucose, ◇; maltose content.

각각 78%(w/w)와 223 g/l(w/v)이었다. 한편 glucose는 반응초기부터 생성되기 시작하여 12, 24시간 후 각각 17, 24 g/l(w/v)였고, maltooligosaccharides는 반응초기에 급속히 생성되었으나, 그 후 감소하여 12, 24시간 후 각각 47, 40 g/l(w/v)였다.

따라서 적절한 효소반응시간은 12시간 정도로 사료되며, 이는 증자액화공정에서 maltose 생산에 소요되는 시간인 24~72시간에 비하여 매우 짧은 시간으로 maltose 제조에 소요되는 반응시간을 크게 줄일 수 있는 가능성을 제시하고 있다.

**보조효소첨가:** Table 1은 debranching 효소인 pullulanase와 전분 액화효소인  $\alpha$ -amylase를 보조적으로 첨가한 결과이다. 이때 fungal  $\alpha$ -amylase는 액화전분을 기질로 하는 증자법에서 사용하는 수준인 전분 1g당 100 unit와 extruded 전분의 적정 수준인 400 unit으로 구분하고, pullulanase는 액화공정에서  $\alpha$ -D-(1,6)-glycosidic bond를 분해하여 maltose 수율을 높이는데 사용하는 양인 전분 1g당 0.41 unit, 그리고  $\alpha$ -amylase는 전분의 액화시 첨가하는 양인 14.9 unit을 첨가하였다.

Fungal  $\alpha$ -amylase를 100 unit을 첨가하여 12시간 반응시켰을 때의 maltose, glucose, maltooligosaccharides의 농도가 각각 161, 0, 101 g/l(w/v)로 maltose의 순도는 61%(w/w)였으며, 400 unit 첨가시에는 각각 220, 17, 47 g/l(w/v), 그리고 77%(w/w)였다. 한편 fungal  $\alpha$ -amylase 100 unit에 pullulanase를 보충첨가하였을 경우 maltose, glucose, maltooligosacchari-



**Table 1. Effect of supplemental addition of pullulanase and  $\alpha$ -amylase on the maltose formation from extruded starch**

Enzyme	G1	G2	$\geq$ G3	TS	MC(%)
F(100)	0	161	101	262	61
F+P	0	190	88	278	68
F+ $\alpha$	0	182	91	273	67
F+P+ $\alpha$	0	183	82	265	69
F(400)	17	220	47	284	77
F+P	17	221	44	282	78
F+ $\alpha$	18	218	42	278	78
F+P+ $\alpha$	20	224	51	295	76

Conditions; 300 g extruded corn starch/l, 100 unit fungal  $\alpha$ -amylase/g starch, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5),  $[Ca^{2+}]$ ; 50 ppm, 50°C, 250 rpm, and after 12 hours. F; Fungal  $\alpha$ -amylase, P; Pullulanase(0.41 unit/g starch),  $\alpha$ ;  $\alpha$ -amylase(14.9 unit/g starch), TS; total sugar(=G1+G2+ $\geq$ G3), MC; maltose content.

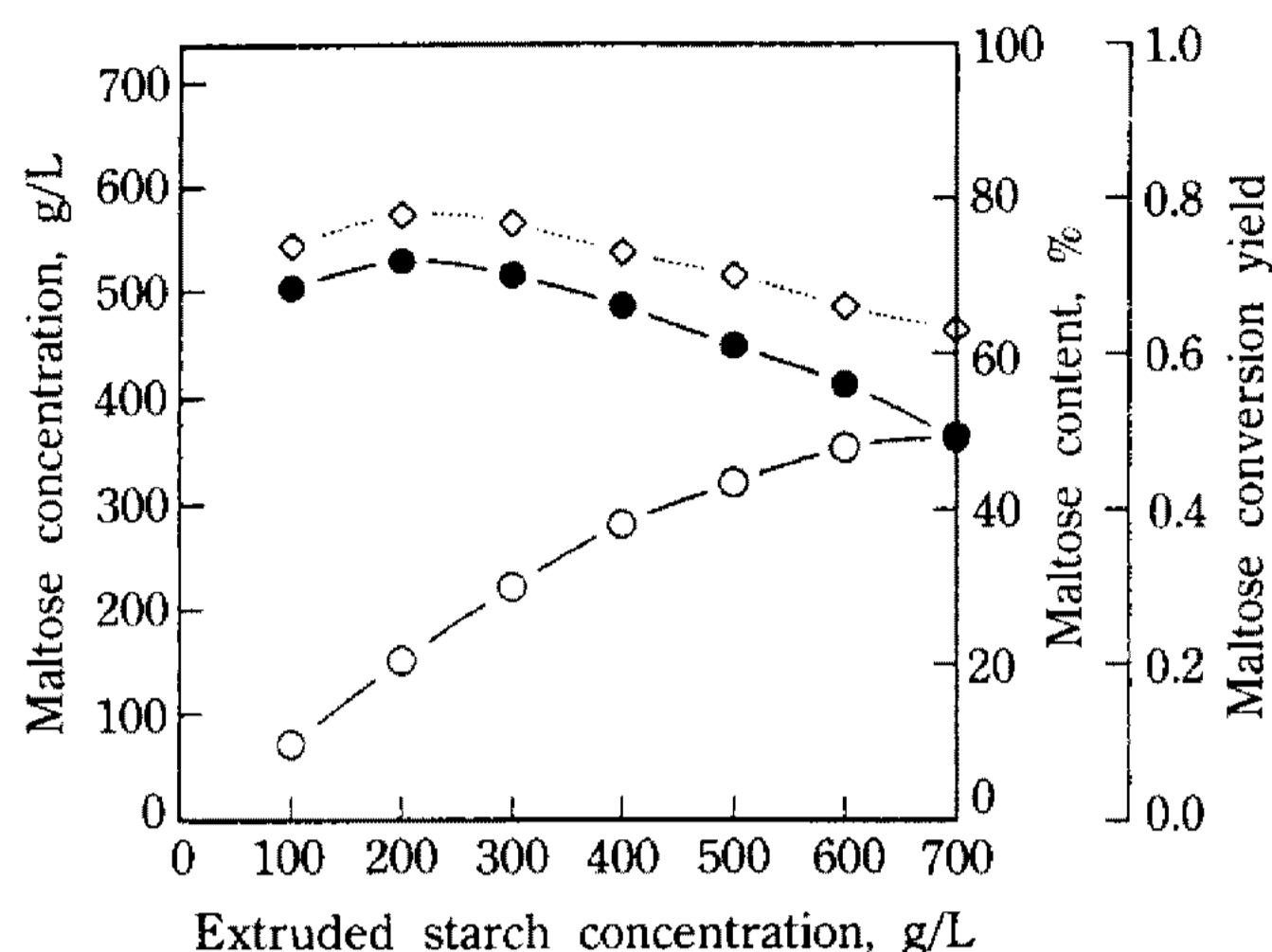
des의 농도가 각각 190, 0, 88 g/l(w/v)로 maltose 순도는 68%(w/w)였으며,  $\alpha$ -amylase를 보충첨가할 경우에는 각각 182, 0, 91 g/l(w/v), 그리고 67%(w/w)로서 두 경우 모두 maltose 농도 및 순도가 다소 증가하였다. 또한 pullulanase와  $\alpha$ -amylase를 동시에 보충첨가할 경우는 각각 183, 0, 82 g/l(w/v), 그리고 69%(w/w)로서 각 보조효소를 단일첨가했을 경우와 큰 차이가 없었다.

반면 fungal  $\alpha$ -amylase를 전분 1 g당 400 unit 첨가할 경우 효소의 보충첨가의 영향은 적었다. 따라서 extruded 전분으로부터 고농도, 고순도 maltose 생산은 fungal  $\alpha$ -amylase만을 적절한 수준으로 첨가하는 것이 더욱 효과적일 것으로 판단된다.

#### Extruded 전분의 고농도 첨가에 의한 maltose 생산

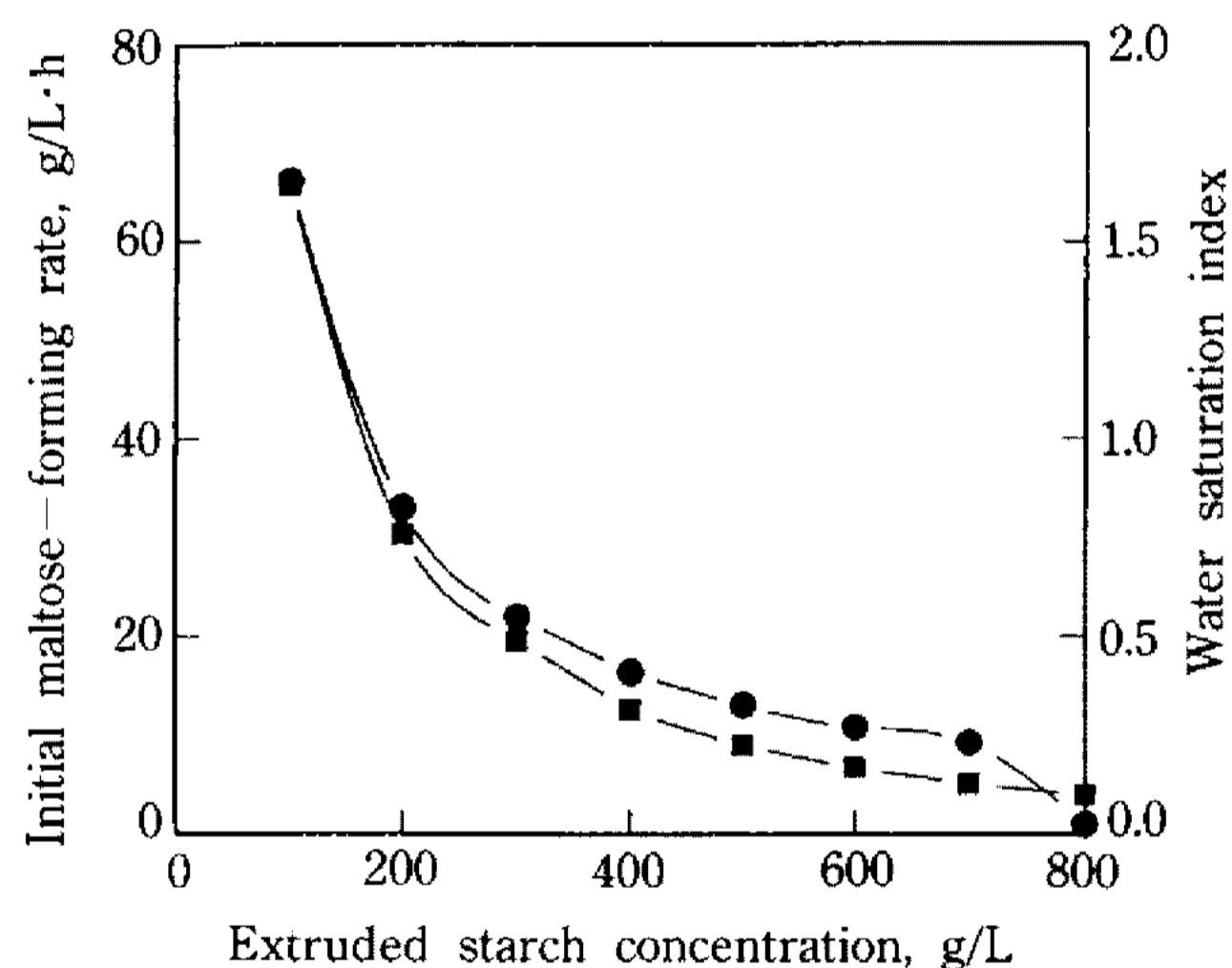
Extruded 전분은 액화전분과는 달리 현탁상태로 존재하므로 반응액의 점도가 낮아 고농도로 첨가하여도 반응액의 유동성이 유지되어 원활한 효소반응이 가능하다. 따라서 extruded 전분을 100에서 700 g/l(w/v)라는 고농도까지 첨가하여 12시간 반응시켜 생성된 maltose 농도, 순도, 그리고 사용전분에 대한 전환율을 검토한 결과는 Fig. 5과 같다. 사용한 효소는 fungal  $\alpha$ -amylase로서 전분 1 g당 400 unit로 고정하였다.

Extruded 전분의 농도가 증가됨에 따라 maltose 농도는 증가하였으며, 전분 700 g/l(w/v)의 경우 363 g/l(w/v)라는 고농도의 maltose를 생성할 수 있었다.



**Fig. 5. Effect of the amounts of extruded starch on maltose production in heterogeneous enzyme reaction system.**

Conditions; 400 unit fungal  $\alpha$ -amylase/g starch, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5), 50°C, 250 rpm, and after 12 hours.  $\circ$ ; maltose concentration,  $\diamond$ ; maltose content,  $\bullet$ ; maltose conversion yield.



**Fig. 6. Initial maltose-forming rates and water saturation index at different amounts of extruded starch.**

Conditions; 400 unit fungal  $\alpha$ -amylase/g starch, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5), 50°C, and 250 rpm.  $\bullet$ ; initial maltose-forming rate,  $\blacksquare$ ; water saturation index(=weight of liquid/(WAI $\times$ weight of extruded starch)).

그러나, maltose 순도는 전분농도가 200 g/l(w/v)일 경우 최대치인 78%(w/w)이었고 700 g/l(w/v)일 경우에는 63%(w/w)로 감소하였다. 또한 사용전분에 대한 maltose 전환율은 각각 0.72, 0.49로 현저히 감소되었으며, 이는 전분 첨가농도의 변화에 따른 반응액의 유동성의 변화에 기인한다.

Extruded 전분 첨가농도에 따른 효소반응액의 유동성을 검토하기 위하여 첨가농도에 따른 수분포화도

지수(water saturation index)와 초기 maltose 생성 속도를 측정 비교한 결과는 Fig. 6과 같다. 반응액 중량값에 대한 첨가된 extruded 전분이 흡수할 수 있는 최대수분량, 첨가된 extruded 전분 건조중량에 수분흡수도 지수(WAI)를 곱한 값의 비인, 수분포화도 지수는 전분의 첨가농도가 100에서 700 g/l(w/v)로 증가됨에 따라 1.64에서 0.13로 감소되어, 반응액 중의 유동성 수분이 크게 감소함을 알 수 있었다. 또한 초기 maltose 생성속도 역시 66.0 g/l·h에서 9.4 g/l·h로 감소하였다. 이와 같은 문제점은 기질을 fed-batch식 또는 continuous식으로 첨가함으로써 극복할 수 있으리라 예상된다.

**Fed-batch식 전분 첨가에 의한 고농도 maltose의 고농도 생산**

Extrusion시킨 팽윤 전분을 고농도로 첨가하면 반응액 중의 유동성 수분이 현저히 감소하여 maltose 생성속도 및 수율이 감소하게 되므로 고농도 maltose 생산을 위해서는 기질을 반응 경과에 따라 나누어 첨가하는 fed-batch식 전분 첨가에 대한 검토가 필요하다. Fig. 7은 extruded 전분을 fed-batch식으로 나누어 첨가한 경우(B)와 batch식으로 일시에 첨가하였을 경우(A)와 비교한 결과이다. Fungal  $\alpha$ -amylase의 첨가량은 전분 1g당 400 unit로 고정하여 초

기에 전량 첨가하였고, batch의 경우 전분 700 g/l(w/v)를 일시에 첨가하고, fed-batch의 경우에는 초기에 200 g/l(w/v), 또한 1, 2, 그리고 3시간 경과 후 각각 200, 200, 그리고 100 g/l(w/v)를 첨가하여 24시간 반응시켰다. Fed-batch식 기질 첨가의 경우 24시간 반응 후 maltose 생성농도가 batch식의 401 g/l(w/v)에 비해 증가되어 465 g/l(w/v)로 크게 향상되었는데, 이는 전분을 분할 첨가하여 주므로써 반응액 중의 잔유전분의 양이 감소하여 유동성이 크게 향상되었기 때문이다.

한편 Table 2는 24시간 반응 후 각 생성당 조성, maltose 전환율, 그리고 생산성을 비교 검토한 결과이다. 생성당 중의 maltose 함량은 fed-batch식의 경우 70%(w/w)로 batch식의 67%(w/w)에 비해 향상되었고, maltose 전환율 및 생산성은 fed-batch식의 경우 각각 0.63, 19.4 g/l·h로서 batch식의 0.55, 16.7 g/l·h에 비해 크게 향상되어 fed-batch식 효소반응은 고농도 maltose의 고농도 생산에 적합한 방법으로 생각된다.

**Extruded 전분을 이용한 maltose 생산법과 증자액화전분을 이용한 생산법의 비교**

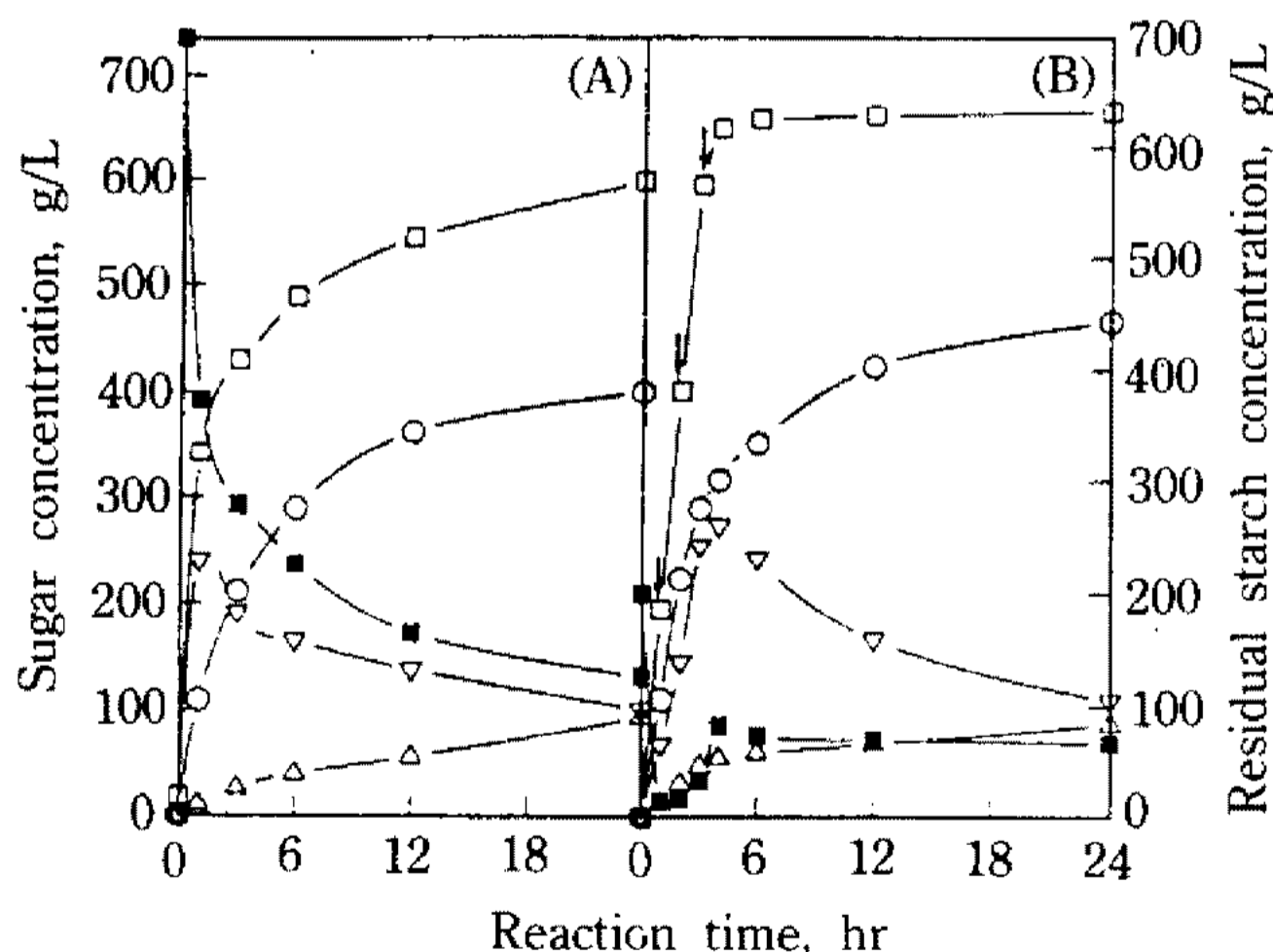
Extruded 전분을 이용한 maltose 생산법을 기존의 증자액화전분을 이용한 생산법과 비교하기 위하여 전분 첨가농도를 300 g/l(w/v)로 고정하고 fungal  $\alpha$ -amylase를 전분 1g당 400 unit 첨가하여 12시간 반응시켜 얻은 결과를 비교한 결과는 Table 3와 같다.

Extruded 전분의 경우 maltose 순도 및 농도는 각각 77%(w/w), 220 g/l(w/v)로서 액화전분의 65%(w/w), 185 g/l(w/v)에 비해 월등히 향상되었다. 또한 glucose 및 maltooligosaccharides의 함량은 각각 6%

**Table 2. Comparison of various sugar contents and maltose conversion productivity on maltose forming reaction at high concentration of extruded starch by batch-wise and fed-batch-wise feedings**

	Batch	Fed-batch
Maltose content(%)	67	70
Maltooligosaccharides content(%)	17	17
Glucose content(%)	16	13
Maltose conversion yield	0.55	0.63
Maltose conversion productivity(g/l·h)	16.7	19.4

Batch conditions; 700 g extruded corn starch/l, 400 unit fungal  $\alpha$ -amylase/g starch, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5), 50°C, 250 rpm, and after 24 hours. Fed-batch conditions; the initial, second, third feeding 200 g/l, and the fourth feeding 100 g/l after 0, 1, 2, and 3 hours, respectively.



**Fig. 7. Comparison of progress of reaction at high extruded starch concentration by batch-wise(A) and fed-batch-wise feedings(B).**

Batch conditions; 700 g extruded corn starch/l, 400 unit fungal  $\alpha$ -amylase/g starch, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5), 50°C, and 250 rpm. Fed-batch conditions; the initial, second, third feedings of 200 g/l, and the fourth feeding of 100 g/l after 0, 1, 2, and 3 hours, respectively. □; total sugar, ○; maltose, ▽; maltooligosaccharides, △; glucose, ■; residual starch. Arrow indicates the fed-batch feeding time.

**Table 3. Overall comparison of heterogeneous enzyme reaction using insoluble extruded starch and conventional enzyme reaction using liquefied starch**

	Insoluble extruded starch	Liquefied starch
Maltose content(%)	77	65
Maltooligosaccharides content(%)	17	31
Glucose content(%)	6	4
Concentration of maltose(g/l)	220	185
Half reaction time(h)	0.8	1.4
Overall productivity(g/l·h)	18.3	15.4

Conditions; 300 g corn starch/l, 400 unit fungal  $\alpha$ -amylase/g starch, 0.05 M acetate buffer(pH 5.5), 50°C, 250 rpm, and after 12 hours.

(w/w), 17%(w/w)로서 액화전분의 4%(w/w), 31%(w/w)에 비하여 glucose 함량은 약간 높은 반면 maltooligosaccharide 함량은 매우 낮은 당조성을 보였다.

또한 maltose 생산 속도도 크게 증가되어 최대 maltose 농도의 반이 생산되는데 소요되는 시간( $t_{1/2}$ )은 extruded 전분의 경우 0.8 h로서 액화전분의 1.4 h에 비해 크게 단축되었다. 이와 같은 당화시간의 단축은 기존 공정에서 장시간 당화시킴으로 인하여 발생하는 미생물 오염 또는 불필요한 reversion products의 생성을 억제할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 전체적인 생산성은 18.3 g/l·h로 15.4 g/l·h에 비해 향상되어 효율성이 높은 maltose 제조법임을 알 수 있었다.

#### Extruded 전분을 기질로 한 maltose 생산공정의 평가

기존의 maltose 생산 공정의 대략은 생전분 건조 중량 30~40%(w/v) 유액에 내열성  $\alpha$ -amylase를 첨가하여 90~100°C 에서 약 20분간 처리하여 DE 12~20 증자액화시킨 후, 115~120°C 로 승온시켜 효소를 실효하고, maltose forming amylase를 첨가하여 50°C 에서 24~72시간 반응시켜 maltose를 생성시키고, 이를 농축, 분리, 정제, 건조하는 과정을 거쳐 maltose 분말 또는 maltose syrup 형태로 가공한다.

반면 extruded 전분을 기질로 한 maltose 생산공정은 기존의 공정과는 달리 전분을 증자액화하는 대신 extrusion시키고 구조변형된 팽윤 전분 30~70%(w/v) 유액에 maltose forming amylase를 첨가하여 12~24시간 반응시켜 maltose를 생성시킨 후 반응액을 분리, 정제하여 maltose 분말 또는 maltose syrup으로 제조한다.

Extruded 전분을 이용한 maltose 제조공정은 기

존의 공정에 비교하여 다음과 같은 장점이 예상된다. 즉 전분의 전처리가 extrusion으로 대체되어 증자액화공정에 비해 에너지를 절감할 수 있으리라 기대되며, 또한 전분을 최대 70%(w/v)까지 첨가하여 maltose를 고농도로 생산할 수 있으며, 또한 반응액 중에 maltose의 순도가 향상되었다. 또한 불용성 잔류전분은 원심분리와 같은 단순한 조작만으로 제거할 수 있을 뿐만 아니라 생성된 maltose의 농도와 순도가 높아 분리정제가 용이한 장점도 예상된다.

반면 효소반응이 입자의 표면에서 진행되기 때문에 maltose forming 효소를 다량 첨가하여야 하는 문제점이 있었다. 그러나 extrusion시킨 팽윤 전분을 기질로 한 maltose 생산공정은 증자액화전분을 기질로 한 기존의 2단계 maltose 생산공정에 비해 많은 장점이 있어 산업적 활용을 위한 반응장치, scale-up, 그리고 경제성 분석과 같은 후속 연구가 요망된다.

## 요 약

Extrusion시킨 팽윤 전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계를 이용한 maltose 생산공정을 도출하기 위한 기초연구를 수행하였다. Maltose 생성에 적합한 extruded 전분의 호화도는 70% 전후였다. 반응조건을 검토한 결과 사용효소인 fungal  $\alpha$ -amylase의 첨가량은 전분 1g당 400 unit였고, 적정 반응시간은 12시간이었다. 또한 extruded 전분을 700 g/l(w/v)와 같은 고농도로 첨가하여 maltose를 고농도로 생산할 수 있었으나 반응액의 유동성이 감소되어 maltose 전환율 및 순도는 감소하였다. 이를 해결코져 extruded 전분을 fed-batch식으로 첨가하여 24시간 후 maltose 농도 및 순도를 각각 465 g/l(w/v), 70%(w/w)까지 증가시킬 수 있었다. 또한 extrusion시킨 팽윤 전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계를 이용한 maltose 생산공정을 기존의 액화전분을 기질로 한 공정과 비교 검토하였으며, 새로운 maltose 생산공정을 도출하였다.

## 감사의 말

본 연구는 한국과학재단지원 농업생물신소재연구센터 1993년 연구비지원에 의한 것으로 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Solminska, L. and G. Starogardzkd. 1986. Studies

- on the application of maltogenic amylase in the production of maltose containing syrup. *Starch/Starke*. **38**: 205-210.
2. 한국유전공학연구조합. 1988. 신감미료의 개발동향. *유전공학* **25**: 71-75.
  3. Saha, B.C. and J.G. Zeikus. 1987. Biotechnology of maltose syrup production. *Process Biochem.* **June**: 78-82.
  4. Saha, B.C. and J.G. Zeikus. 1989. Improved method for preparing high maltose conversion syrups. *Biotechnol. Bioeng.* **34**: 299-303.
  5. Maeda, H. and G.T. Tsao. 1979. Maltose production. *Process Biochem.* **July**: 2-5.
  6. Sakai, S. 1981. Production and usage of maltose. *J. Jap. Soc. Starch Sci.* **28**: 72-78.
  7. Hidaka, H. and T. Kono. 1981. On various methods of maltose production. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.* **28**: 79-86.
  8. 이용현, 박진서. 1991. 분쇄마찰 효소반응계에서 fungal  $\alpha$ -amylase를 이용한 생전분의 직접전환에 의한 maltose 생산. *산업미생물학회지* **19**: 290-295.
  9. 이용현. 1991. 분쇄마찰매체 함유 효소반응계에서의 생전분의 maltose로의 직접전환. *미생물과 산업* **17**: 22-27.
  10. 이용현, 박동찬. 1991. Extrusion 전분을 기질로 한 불균일상 효소반응계에서의 cyclodextrin의 효소합성. *산업미생물학회지* **19**: 514-520.
  11. Lee, Y.H. and D.C. Park. 1992. Direct synthesis of cyclodextrin in a heterogeneous enzyme reaction system containing insoluble extruded starch. Pp. 127-129. In S. Furusaki, I. Endo, R. Matsuno (eds.). *Biochemical Engineering for 2001*, Springer-Verlag, Tokyo.
  12. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
  13. Wooton, K.W., C. Weeden, and N. Munk. 1971. A rapid method for the estimation of starch gelatinization in processed food. *Food Technol.* **23**: 612.
  14. Novo Co. 1990. Novo enzymes for starch industry. *Enzyme Catalogue*. Denmark.

(Received January 26, 1994)