

## 막-효소 반응기를 이용한 Cyclodextrin의 생산

홍준기·염경호\*

충북대학교 공과대학 화학공학부  
(1998년 8월 21일 접수, 1998년 10월 14일 채택)

### Production of Cyclodextrin using Membrane-Enzyme Reactor

Jun Ki Hong and Kyung Ho Youm\*

School of Chemical Engineering, College of Engineering, Chungbuk National University,  
Cheongju 361-763, Chungbuk, Korea

(Received August 21, 1998, Accepted October 14, 1998)

**요 약 :** 가용성 전분으로부터 CGTase 효소에 의한 Cyclodextrin(CD) 동족체의 생산 실험을 dead-end형 막모듈을 설치한 막-효소 반응기에서 수행하였다. 회분 반응기에서의 CD 동족체 생산시 생산물 저해작용 및 생산된 CD의 다른 환원당으로의 분해에 의해 반응시간에 따른 전분의 CD 동족체로의 총 전환율이 최대 45 %를 나타내었다가 급격히 감소하였다. 반면 분획분자량 10,000 달톤의 분리막이 설치된 막-효소 반응기에서의 CD 동족체 생산시 CD 동족체를 생산 즉시 반응기로부터 막을 통해 연속 분리할 수 있어 총 전환율이 35 %로 일정하게 유지되었다. 10% 전분용액 및 2 atm 조작압력하에서 막-효소 반응기를 24시간 운전하였을 때 CD 동족체의 누적 생산량은 약 3.7 kg/m<sup>2</sup>이었다.

**Abstract :** A study on the bioconversion of soluble starch to cyclodextrin(CD) homologue by CGTase was performed in the membrane-enzyme reactor equipped with a dead-end type membrane module. In the batch reactor, the total conversion of soluble starch to CD homologue was decreased rapidly from a maximum value of 45 % with increasing reaction time due to the product inhibition and breakdown of CD homologue to the reducing sugars. However, in the membrane-enzyme reactor, the total conversion of soluble starch was maintained at a constant value of 35 % throughout the reaction, since the membrane(MWCO = 10,000) promptly separated CD homologue from the reaction mixture. After the reaction for 24 hr in the membrane-enzyme reactor using a 10 % soluble starch solution, the cumulative production amount of CD homologue was about 3.7 kg/m<sup>2</sup> at the operating pressure of 2 atm.

### 1. 서 론

Cyclodextrin(CD) 동족체(homologue)는  $\alpha$ -D-glucopyranose 단위체가 비환원성의 환상구조로 연결된 cyclic maltooligosaccharide의 일종으로서, 결합된  $\alpha$ -D-glucopyranose 단위체의 수에 따라 6개가 연결된 경우를  $\alpha$ -CD, 7개가 연결된 경우를  $\beta$ -CD, 8개가 연

결된 경우를  $\gamma$ -CD라 한다. CD 동족체의 외부는 친수성이고, 내부는 소수성인 공동(cavity) 구조를 갖고 있으며,  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -CD 각각은 공동의 크기가 다르기 때문에 서로 크기가 다른 소수성 물질들과 선택적으로 포접 화합물(inclusion compound)을 형성하는 특징이 있다[1-3].

이러한 구조적 특징으로 인해 CD 동족체는 휘발성

물질의 안정화, 산화방지, 광분해성 물질의 보호, 수용액상에서 소수성 물질의 용해도 향상, 식품 및 생선류의 나쁜 냄새나 맛의 제거, 불안정한 의약품의 안정화, 소수성 물질 분리 등의 용도로 응용이 가능하고 생물체에 대한 독성이 없어, 현재 의약품 및 진단시약, 농약, 식품, 화장품, 염료, 사진재료 등의 분야에 광범위하게 활용되고 있다. 최근 CD 동족체를 이용한 생리활성 유도체의 합성, 생물반응기 생산성 향상을 위한 첨가제로서의 활용에 대한 연구도 활발히 이루어지고 있어 앞으로 그 수요가 더욱 증가할 것으로 예상된다 [4-8].

CD 동족체는 전분 분해 효소인 cyclodextrin glycosyltransferase(EC 2.4.1.19; 1,4- $\alpha$ -D-glucano-4- $\alpha$ -D-(1,4-glucano)-transferase, CGTase)에 의해 전분으로부터 생산되는데, CGTase를 분비하는 미생물의 기원에 따라 CD 동족체 생산의 최적 활성을 나타내는 pH, 온도 및 각 CD의 생산율이 다른 것으로 알려져 있다[3,7-9].

다른 생물제품 생산에서와 마찬가지로 CGTase에 의해 전분으로부터 생산된 CD 동족체는 반응용액 내에서의 농도가 어느 한계값 이상으로 높아지면 생산물 저해와 CD 동족체의 다른 환원당으로의 분해가 일어나 생산성이 감소하며, 또한 반응용액으로부터 CD 동족체를 효과적으로 분리하기가 어렵다[8-10]. 따라서 CD 동족체의 생산성을 높여 저렴하게 대량 생산하기 위해서는 반응용액으로부터 CD 동족체를 생산 즉시 연속적으로 분리하는 기술의 개발이 필요하다.

물질 분리정제 기법중 하나인 막분리법은 에너지 소모가 적고, 분리조작을 단시간에 효과적으로 행할 수 있다는 장점 때문에 최근 널리 연구되고 있다. 1748년 Nollet가 막을 통한 물질이동의 개념을 처음 제안한 이래 합성막은 효소, 단백질 및 생리활성 물질의 분리정제, 생체 모의 막, 바이오 센서 등 특히 생물공정 및 생물분리기술 분야에서의 활용성이 높다 [11]. 또한 막모듈을 생물반응기로 사용하는 막 생물반응기(membrane bioreactor)에 대한 연구도 이루어지고 있는데, 미생물 또는 효소를 배제시킬 수 있는 막이 부착된 막모듈을 생물반응기로 사용하면 반응기 내에 미생물 및 효소를 가두어 둘 수 있어 생물반응을 지속시키면서 동시에 생산물을 막을 통해 즉시 연속적으로 분리해 낼 수 있다는 장점이 있다[12].

본 연구는 CGTase에 의한 전분의 분해 반응과 생산된 CD 동족체의 분리를 막-효소 반응기를 사용하여 수행함으로써 생산물 저해를 억제시켜 생산성을 향상시키고, 동시에 반응용액으로부터 CD 동족체를 효과적으로 연속 분리하는데 목적이 있다. 이를 위해

회분 반응기 및 막-효소 반응기에서 조작조건 변화에 따른 CGTase에 의한 전분으로부터 CD 동족체의 생산 실험을 수행하여 생산성 향상을 비교 검토하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 실험재료

효소인 CGTase로는 일본 Amano Pharmaceutical Co.에서 *Bacillus macerane*의 배양을 통해 생산된 pH 6, 온도 60°C에서 최적의 활성을 나타내는 것으로 알려진 액상의 효소(Lot No., CGRRU11529L)를 사용하였으며[13], CD 동족체 표준 시료  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD와 기질인 가용성 전분은 미국 Sigma Co.로부터 구입하였다. 이외의 기타 시약들은 모두 특급 시약을 정제없이 사용하였다. 분리막으로는 Table 1에 나타난 바와 같이 분획분자량(molecular weight cut-off; MWCO)이 각각 2,000, 10,000 및 30,000 달톤인 3종류 평판막을 사용하였다.

**Table 1.** Characteristics of Membranes

Designation	Mem #1	Mem #2	Mem #3
Material	Cellulose Acetate	Polysulfone	Polyethersulfone
Structure	Asymmetric	Asymmetric	Asymmetric
MWCO(Da)	2,000	10,000	30,000
Manufacturer	Osmonics Co., USA	Millipore Co., USA	Samyang Co., Korea

### 2.2. 막-효소 반응기

CD 동족체의 효소적 생산과 분리에 사용된 dead-end형 막모듈의 상세도를 Fig. 1에 나타내었다. 이 막모듈은 총 용적이 250 mL가 되도록 설계하여 perspex로 제작하였으며, 막의 지지체로서 polypropylene 재질의 다공판을 모듈 하단에 설치하였다. 이때 모듈에 설치된 막의 유효 면적은 23.76 cm<sup>2</sup>이었다.

막-효소 반응기는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 용액 저장조, 막모듈 및 투과액량 측정부(전자저울 및 PC)의 3부분으로 구성되어 있다. 이 장치는 질소압을 이용해 기질용액이 들어 있는 용액 저장조와 기질과 CGTase가 혼합된 반응용액이 들어 있는 막모듈을 원하는 압력까지 가압시킬 수 있고, 막을 통해 투과된 부피만큼의 기질용액이 저장조로부터 막모듈로 자동적으로 수송되어 막모듈 내에서의 반응용액의 양을 항상 200 mL로 일정하게 유지시킬 수 있도록 설계하

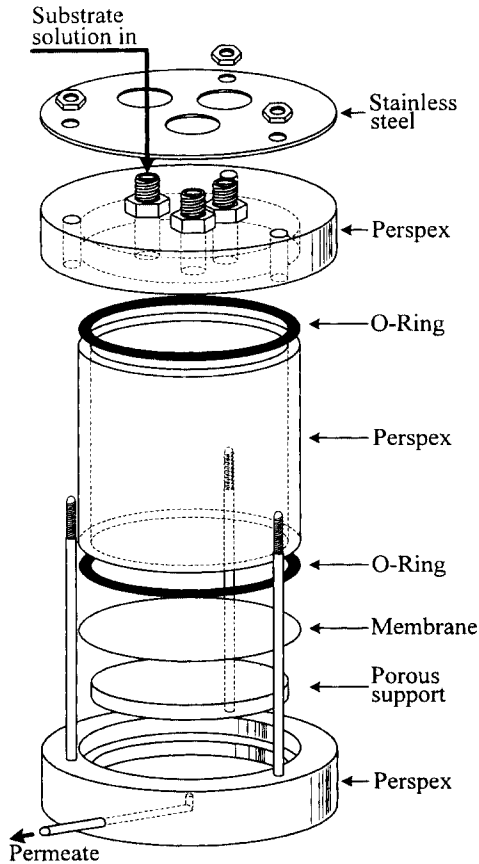


Fig. 1. Exploded view of a dead-end type membrane module.

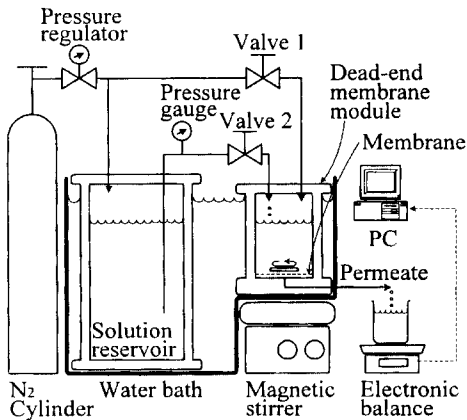


Fig. 2. System setup for membrane-enzyme reaction

었다. CD 동족체가 함유된 막 투과액은 전자저울 (FX-3000, AND Co., 일본)에 의해 1분 간격으로 연속 측정하여 PC에 기록하였다. 또한 용액 저장조와 막모듈을 항온조 내에 설치하여 반응 도중 항상 일정한 온도가 유지되도록 하였으며, 막모듈 내의 반응용액은 자석식 교반기에 의해 300 rpm의 속도로 교반시켜 주었다.

### 2.3. 실험방법

#### 2.3.1. 분리막 선정

막모듈에 사용될 최적의 막을 선정하기 위해 Table 1에 나타난 3종류 분리막에 대한  $\beta$ -CD, CGTase 및 가용성 전분의 배제도를 측정하였다. 배제도 측정 실험은 Fig. 1의 막모듈을 사용하여 dead-end 한외여과 방식으로 측정하였는바, pH 6, 온도 60°C의 조건에서 막모듈에 농도 0.5 % (wt/vol)인  $\beta$ -CD, CGTase 및 가용성 전분 용액을 각각 200 mL 넣은 다음, 2 atm의 조작압력에서 2시간 동안 막여과 실험을 행한 후 투과액의 농도( $C_p$ )와 공급액의 농도( $C_b$ )를 각각 측정하여 계산하였다. 이때 막에 의한 각 용질의 배제도는 다음 식으로 계산하였다.

$$Rejection(\%) = \left(1 - \frac{C_p}{C_b}\right) \times 100 \quad (1)$$

#### 2.3.2. 회분 반응기에서의 CD 동족체 생산

막-효소 반응기에서의 CD 동족체 생산에 대한 비교를 위한 기준(control experiment)으로 활용하기 위해 회분 반응기에서의 CD 동족체 생산에 대한 실험을 수행하였다. 실험은 효소의 최적 활성조건(pH 6.0, 60°C)에서 10 % (wt/vol) 가용성 전분 용액에 일정량의 효소를 투입(0.3 mL CGTase/g starch)시킨 100 mL의 반응용액을 대상으로 반응시간에 따라 생성된  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -CD의 농도를 측정하여 24시간 동안 수행하였다.

#### 2.3.3. 막-효소 반응기에서의 CD 동족체 생산

Fig. 2에 나타난 막-효소 반응기를 사용하여 가용성 전분으로부터 CD 동족체의 생산 및 생성된 CD 동족체의 연속 분리 실험을 수행하였다. 이때 분리막으로는 배제도 측정 실험을 통해 결정된 최적의 분리막을 사용하였다. 막-효소반응 실험의 조작변수로는 1) 조작압력 2 atm 하에서 기질용액의 농도를 1 ~ 20 % (wt/vol)로, 2) 10 % 기질용액 하에서 조작압력을 1 ~ 4 atm으로 변화시켜 24시간 동안 수행하였다. 이때 효소는 항상 1 g의 가용성 전분 당 0.3 mL를 투입하였다.

### 2.4. 분석방법

CD 동족체의 정량은  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD가 각각 메틸오렌지, 페놀프탈레인, 브로모크레졸 그린과 포접 화합물을 형성하는 원리를 이용하여 정량하는 Lejeune 등 [13], Kaneko 등[14], Kato 등[15]이 제시한 방법을 사용하였다. CGTase의 정량은 Bradford 법[16]을 이용하여 UV/Vis 분광광도계(UVIKON 860, 미국, Kontron Instruments Co.)로 흡광도를 측정한 후 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 미리 작성된 검량선으로부터 정량하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 최적 분리막

막-효소 반응기에 사용될 최적의 분리막을 선정하기 위해 Table 1에 나타난 분획분자량이 서로 다른 3종류 분리막을 대상으로  $\beta$ -CD, CGTase 및 가용성 전분 각각에 대한 배제도를 측정하여, 그 결과를 Table 2에 나타내었다.

이 결과 3종류 분리막 모두에 대한  $\beta$ -CD의 배제도는 9% 이하로서  $\beta$ -CD는 3종류 막 모두를 잘 투과하는 것으로 판단되었다. 또한 CGTase와 가용성 전분의 Mem #1과 Mem #2에 의한 배제도는 93% 이상으로서 거의 투과하지 못하였으나, Mem #3에 의한 배제도는 약 50%로서 CGTase와 가용성 전분의 반정도가 투과하였다. 따라서 Mem #3은 본 연구의 막-효소 반응기에 사용이 불가능하였다.

이상의 결과로부터 Mem #1과 Mem #2는 막-효소 반응기에 모두 사용이 가능하나 유사한 용질 배제도 조건이라면 막 투과량(flux)이 큰 막을 사용하는 것이 보다 유리하므로 분획분자량 10,000 달톤인 poly-

**Table 2.** Rejections of  $\beta$ -CD, CGTase and soluble starch by membranes

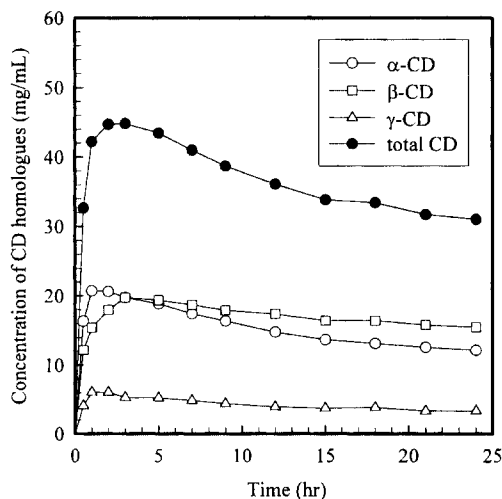
Solute	Membrane Type	Rejection (%)
$\beta$ -CD	Mem #1	2.9
	Mem #2	2.9
	Mem #3	9.2
CGTase	Mem #1	97.7
	Mem #2	97.5
	Mem #3	47.2
Soluble starch	Mem #1	93.2
	Mem #2	95.1
	Mem #3	58.7

sulfone 재질의 Mem #2를 최적의 분리막으로서 선정하였다.

### 3.2. 회분 반응기에서의 CD 동족체 생산

CGTase의 최적 활성조건에서 10% 가용성 전분용액을 대상으로 회분 반응실험을 24시간 동안 수행하여, 생산된 CD 동족체의 반응시간에 따른 농도변화를 측정하여 이를 Fig. 3에 나타내었다.

이 결과 반응 개시 후 약 2시간이 경과한 후 CD 동족체의 농도는 최대 값을 나타내었으며, 그 이후에는 반응시간이 경과함에 따라 각 CD들의 농도가 점차 감소하였다. 이처럼 회분 반응시 반응시간이 경과함에 따라 각 CD들의 농도가 최대가 되었다가 다시 감소하는 이유는 생성된 CD들이 효소인 CGTase의 활성을 저해(생산물 저해)시키거나, 또는 CD들이 효소에 의해 다시 분해되어 다른 환원당으로 전환되기 때문이다 [7,13,14]. 따라서 CGTase에 의한 CD 동족체의 생산시 생산성을 향상시키기 위해서는 CD 동족체를 생산 즉시 반응용액으로부터 신속히 분리시키는 공정이 필요함을 알 수 있다.



**Fig. 3.** Variation of CD homologue concentration with change of reaction time in batch reactor. (pH 6, 60°C, 10% starch, 0.3 mL CGTase/g starch)

### 3.3. 막-효소 반응기에서의 CD 동족체 생산

#### 3.3.1. 기질농도에 따른 $\beta$ -CD 생산

조작압력 2 atm의 상태에서 분획분자량 10,000 달톤의 분리막이 설치된 Fig. 2에 나타난 막-효소 반응기를 사용하여 반응기에 도입되는 가용성 전분 용액의

농도(1 ~ 20 %)와 반응시간에 따른 막 투과량 및 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도 변화를 측정하여 Fig. 4에 나타내었다.

이 결과 막 투과량은 기질용액의 농도와 반응시간이 증가함에 따라 점차 감소하여 일반적인 한외여과 실험의 경향과 일치하였다. 특히 반응 개시 후 3시간 이내에서의 막투과량 감소가 심하였는데, 이는 막에

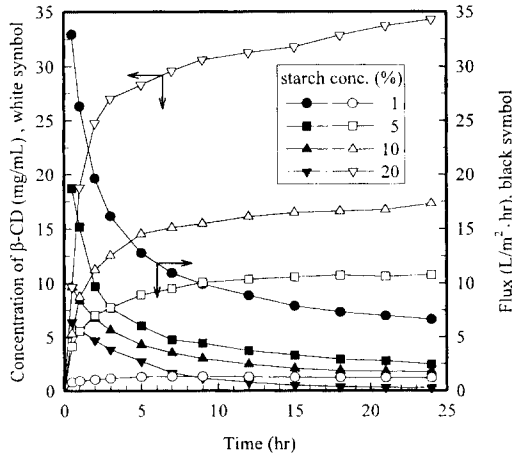


Fig. 4. Variation of flux and  $\beta$ -CD concentration in permeate with change of starch concentration and reaction time in membrane-enzyme reactor. ( $\Delta P = 2$  atm)

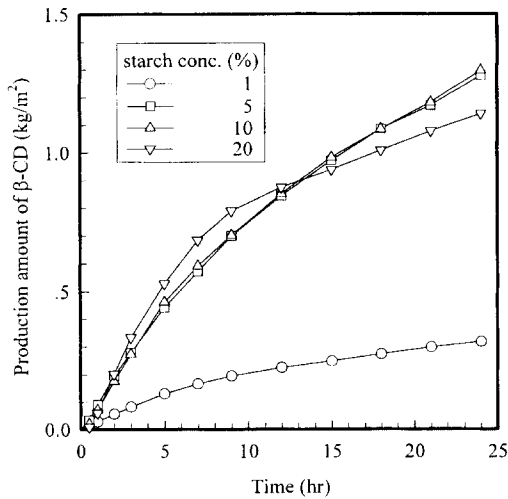


Fig. 5. Variation of cumulative production amount of  $\beta$ -CD with change of starch concentration and reaction time in membrane-enzyme reactor. ( $\Delta P = 2$  atm)

의해 배제된 전분과 효소가 막표면에 누적됨으로써 발생하는 농도분극 및 막오염 현상이 반응 초기에 주로 일어나기 때문으로 사료된다[17,18]. 한편 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도는 기질용액의 농도와 반응시간이 증가함에 따라 증가하며, 특히 반응 초기에 급격히 증가하였다.

Fig. 4의 결과로부터 각 반응시간에서의 막 단위면적 당  $\beta$ -CD의 누적 생산량[cumulative production amount( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) = 막 단위 면적당의 누적 투과액량( $\text{L}/\text{m}^2$ )  $\times$   $\beta$ -CD 농도]을 계산하여 이를 Fig. 5에 나타내었다. 이 결과  $\beta$ -CD의 누적 생산량은 반응시간이 증가함에 따라 증가하며, 기질용액의 농도가 5% 이상이 되면 거의 동일한 생산량을 나타내었다.

### 3.3.2. 조작압력에 따른 $\beta$ -CD 생산

반응기에 도입되는 가용성 전분 용액의 농도를 10%로 일정하게 유지시킨 상태에서 조작압력(1~4 atm)과 반응시간에 따른 막 투과량 및 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도 변화를 측정하여 이를 Fig. 6에 나타내었다. 이 결과 막 투과량은 반응시간이 증가함에 따라 점차 감소하며, 조작압력이 높을수록 증가하였다. 한편 투과액 중의  $\beta$ -CD 농도는 반응시간이 증가함에 따라 증가하나, 조작압력에는 거의 영향을 받지 않았다.

Fig. 6의 결과로부터 각 반응시간에서의 막 단위면적 당  $\beta$ -CD 누적 생산량을 계산하여 이를 Fig. 7에 나타내었다. 이 결과  $\beta$ -CD의 생산량은 조작압력이 증가함에 따라 증가하였다.

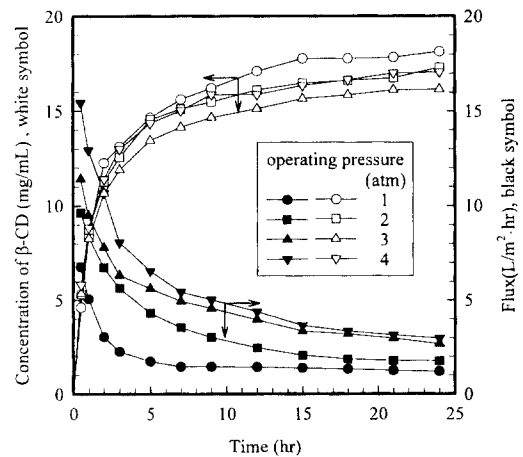


Fig. 6. Variation of flux and  $\beta$ -CD concentration in permeate with change of operating pressure and reaction time in membrane-enzyme reactor. (10% starch)

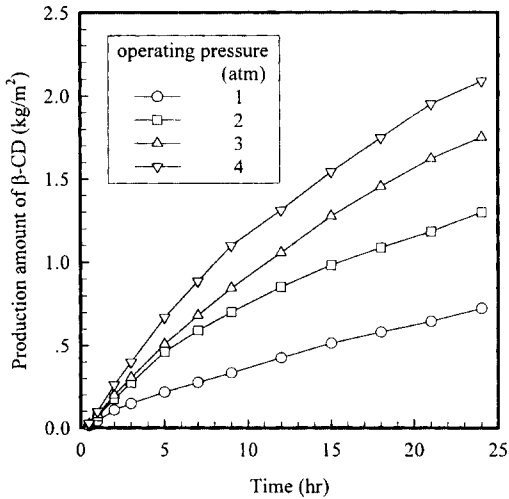


Fig. 7. Variation of cumulative production amount of  $\beta$ -CD with change of operating pressure and reaction time in membrane-enzyme reactor.(10 % starch)

### 3.3.3. CD 동족체 생산

조작압력 2 atm 및 10 %의 가용성 전분 용액으로부터 CGTase에 의한 CD 동족체의 생산 실험을 24시간 동안 수행하여, 반응시간에 따라 측정된 투과액 중 각 CD들의 농도 변화를 측정하여 Fig. 8에 나타내었다.

이 결과 투과액 중의 각 CD들의 농도는 반응 개시 약 3시간이 경과한 후부터 일정한 값을 유지하였는바, 이때의 CD 동족체 전체 농도는 약 35 mg/mL이었다. Fig. 8에 나타난 결과와 측정된 투과액량 값으로부터 CD 동족체의 누적 생산량을 계산하여 이를 Fig. 9에 나타내었다. 이 결과 조작압력 2 atm 상태에서 막-효소 반응기를 24시간 운전하였을 때 CD 동족체의 총 누적 생산량은 약 3.7 kg/m<sup>2</sup>이었으며, 이때의  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD 각각의 생산비는 5 : 6.5 : 1로서  $\beta$ -CD의 생산이 가장 많았다.

### 3.4. 회분 반응기와 막-효소 반응기의 비교

10 % 가용성 전분 용액을 대상으로 회분 반응기와 막-효소 반응기(조작압력 2 atm)에서의 CD 동족체 생산시 반응시간에 따른 반응기에 투입된 가용성 전분의 총량에 대한 CD 동족체의 총 전환율을 계산하여 이를 Fig. 10에 나타내었다. 이 계산시 막-효소 반응기의 경우 생산된 CD 동족체는 막을 모두 투과하므로 투과액 중의 CD 동족체 농도는 반응용액 중의 농도와 동일하다고 가정하였다.

이 결과 회분 반응기의 경우는 생산된 CD 동족체가

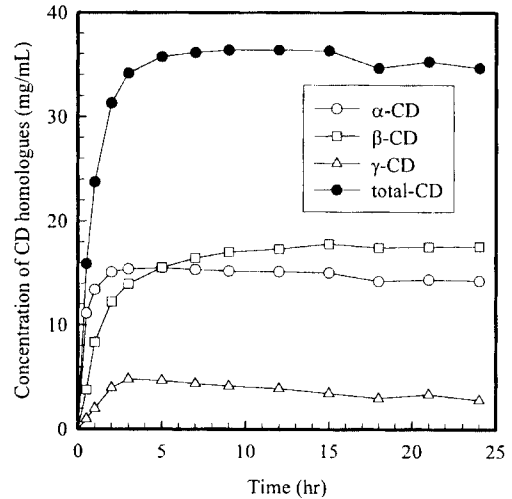


Fig. 8. Concentration of CD homologue in permeate with change of reaction time in membrane-enzyme reactor. ( $\Delta P = 2$  atm, 10 % starch)

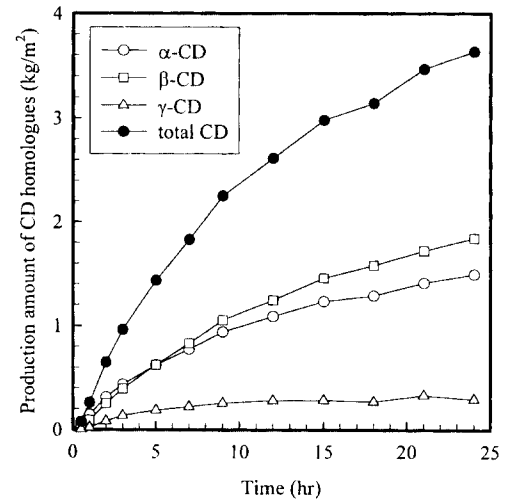


Fig. 9. Cumulative production amount of CD homologue with change of reaction time in membrane-enzyme reactor. ( $\Delta P = 2$  atm, 10 % starch)

반응기 내에 그대로 축적 되기 때문에 생산물 저해 또는 CD 동족체의 다른 전환당으로의 분해가 일어나 CD 동족체의 전체 농도와 총 전환율이 반응 개시 약 2시간 시점에서 최대 값(약 45 mg/mL 및 45 %)을 나타낸 후 급격히 감소하였으나, 막-효소 반응기의 경우는 CD 동족체를 생산 즉시 막을 통해 분리해 낼 수 있어 반응 개시 3시간 시점 이후에는 CD 동족체의

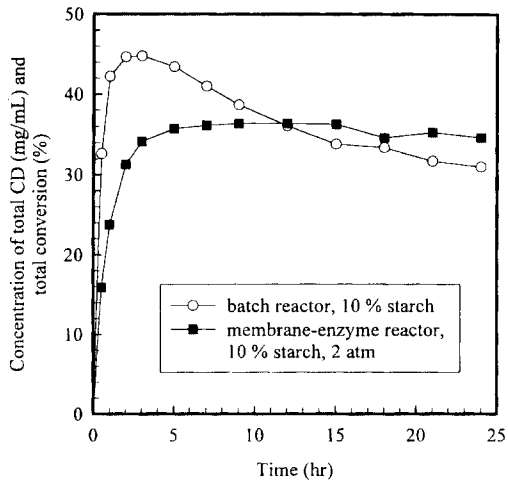


Fig. 10. Variation of total CD concentration and total conversion with change of reaction time.

농도와 총 전환율이 약 35 mg/mL 및 35 %로 거의 일정하게 유지되었고, 반응 개시 12시간 이후에는 회분 반응기에서의 농도 및 총 전환율보다 높아졌다. 즉, 막-효소 반응기는 CD 동족체를 생산과 동시에 막을 통해 반응용액으로부터 분리해 낼 수 있으므로 회분 반응시의 단점인 생산물 저해 또는 CD 동족체의 다른 전환당으로의 분해를 방지할 수 있어 전분의 CD 동족체로의 전환을 높일 수 있다.

#### 4. 결론

가용성 전분으로부터 CGTase에 의한 CD 동족체의 효소적 생산을 dead-end형 막모듈이 설치된 막-효소 반응기에서 수행한 결과 막-효소 반응기는 CD 동족체의 생산과 분리를 동시에 행할 수 있어 회분 반응시의 단점인 생산물 저해와 생산물의 다른 환원당으로의 분해를 방지함으로써 전분의 CD 동족체로의 총 전환율을 35 %로 일정하게 유지시킬 수 있었다.

막-효소 반응기에서 막 단위면적 당  $\beta$ -CD의 누적 생산량은 기질용액의 농도와 조작압력이 증가할수록 증가하나, 기질용액의 농도가 5 % 이상이 되면 일정한 수준을 유지하였다. 조작압력 2 atm, 기질용액 농도 10 %인 상태에서 막-효소 반응기를 24시간 동안

운전하였을 때 CD 동족체의 총 누적 생산량은 약 3.7 kg/m<sup>2</sup>이었다.

#### 참고 문헌

- Szejtli, J., *J. Mater. Chem.*, **7**(4), 575(1997)
- Li, S. and W. C. Purdy, *Chem. Rev.*, **92**, 1457 (1992)
- Horikoshi, K., *Process Biochem.*, May, 26(1979)
- Shaw, P. E. and C. W. Wilson, *J. Food Science*, **48**, 646(1983)
- Shaw, P. E. and B. S. Buslig, *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 837(1986)
- Hirayama, F., N. Hirashima, K. Abe, K. Uekama, T. Ijitsu and M. Ueno, *J. Pharm. Sci.*, **77**(3) 233 (1988)
- Sakai, S., M. Kuboda, K. Yamamoto, T. Nekada, K. Torigoe, O. Ando, and T. Sugimoto, *J. Japan Soc. Starch Sci.*, **34**, 140(1987)
- Hwang, J. B., S. H. Kim, T. K. Lee and H. C. Yang, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, **18**(6), 578(1990)
- Lee, K. J., *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, **21**(3), 256(1993)
- Kitahata, S., N. Tsutama and S. Okada, *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 387(1974)
- 한국막학회, "막분리 기초", 자유아카데미, 서울 (1996)
- 한국막학회, "막분리 응용", 자유아카데미, 서울 (1996)
- Lejeune, A., K. Sakaguchi and T. Imanaka, *Anal. biochem.*, **181**, 6(1989)
- Kaneto, T., T. Kato, N. Nakamura and K. Horikoshi, *J. Japan Soc. Starch Sci.*, **34**, 45(1987)
- Kato T. and K. Horikoshi, *Anal. Chem.*, **56**, 1738 (1984)
- Bradford M. M., *Anal. Biochem.*, **72**, 248(1976)
- Reihanian H., C. R. Robertson, and A. S. Michaels, *J. Memb. Sci.*, **16**, 237(1983)
- Youm K. H., A. G. Fane and D. E. Wiley, *J. Memb. Sci.*, **116**, 229(1996)