

## 용해도 변화에 따른 커들란 분리공정 개발

문찬준, 이중헌\*, 권규혁  
 조선대학교 공과대학 화학공학과  
 (leejh@chosun.ac.kr\*)

Development of Curdlan Separation Process  
 with Solubility Changes

Moon Chan-Jun, Lee Jung-heon\*, Kwun Kyu-hyuk  
 Department of Chemical Eng., Chosun University  
 (leejh@chosun.ac.kr\*)

### 서론

최근 기능성 물질로서 높은 관심을 보이고 있는 미생물 다당류는 분자량, 구성당의 종류, 결합 순서, 결합양식, 결합위치 및 가지 유무등에 따라 많은 종류가 존재하며 그 특성도 다양하다.[1,2] 특히 *Agrobacterium sp.*에 의해서 생산되는 curdlan은 식품첨가제, 콘크리트혼화제, 면역증강제등으로 사용되고 있으며, 산업 분야별 응용력이 높아 그 수요가 지속적으로 증가하고 있는 다당류이다.[3-5]

미생물을 이용한 대량생산 공정은 이미 개발되어 산업적으로 이용되고 있지만 기존의 분리·정제공정인 pH swing법은 여러 후처리 공정으로 인한 curdlan 가격상승의 요인으로 작용하고 있으며[6], 많은 양의 산업폐수의 처리비용이 추가로 발생하는 문제가 있다. 또한 filter press등의 방법은 간단하나 수율이 높지 않은 실정이다.[7] 본 연구에서는 기존의 curdlan 분리공정을 개선·보완하여 경제적인 분리공정을 개발하고자 curdlan의 pH별 solubility의 상관성 및 여러 용매에서의 curdlan 분리특성등을 실험하였고, 분리변수(pH)에 따른 최종 생산물의 특성들을 비교하였으며, 실험 결과를 바탕으로 기존의 분리방법에서의 문제점들을 개선하였다.

### 본론

#### 1. 재료 및 방법

본 실험에 사용된 기기로는 Digital microscope(pcs-81x, Japan), centrifuge(MF-600, Korea), homogenizer(Heidolph, Germany)를 사용하였으며, 재료는 Curdlan (Takeda chem, Japan), Etnanol(동양), Methanol(동양), Acetone(동양)을 사용하였다.

**용매에 따른 회수율** : 기존의 pH swing방법을 개선하기 위해 새로운 용매를 이용한 분리 실험을 실시하였다. 10g/L 농도의 curdlan을 2N NaOH로 녹인 후 각각의 용매와 curdlan용액을 4:1로 혼합 후 원심분리하여 용해도차에 의한 curdlan 회수율을 실험하였다.

**Curdlan 분리를 위한 최적 NaOH 농도** : 배양액에서 1차적으로 cell과 curdlan을 분리하기 위해 사용되는 NaOH농도를 최적화 하기 위해 1N NaOH를 희석하여 각각의 농도별로 Curdlan (Takeda chem, Japan)을 첨가하여 20g/L의 curdlan용액을 제조한 후 voltex mixing하여 분리특성을 실험하였다.

**NaOH 농도변화에 따른 curdlan 용융 및 분리특성** : 배양액을 원심분리(6000rpm,

5min)하여 세포와 curdlan만을 분리한 후 1N NaOH를 희석하여 각각의 농도별로 제조한 후 test tube에 1.5ml씩 첨가하여 vortex mixing하여 curdlan을 녹인 후 NaOH 농도별 curdlan 용융 및 분리특성을 실험하였다.

**pH변화에 따른 curdlan 용해도 및 ethanol의 조성비에 따른 분리성능 및 생성물 특성**  
: 각각의 pH 별로 50ml 씩 제조한 후 0.2g의 curdlan과 pH가 각각 다른 시료 10ml를 혼합하여 20g/L의 curdlan 용액을 만들었다. Homogenizer로 2분간 mixing한 ethanol과 curdlan용액과의 혼합비에 따른 분리특성을 실험하였으며 최종 침전물은 원심분리(300rpm 20min)하여, 다시 2회 ethanol 세척 후 80°C 10시간 동안 건조하여 회수율을 측정하였다.

## 2. 결과 및 고찰

용매에 따른 curdlan 회수율

Curdlan이 알칼리 수용액상에서 녹아 점도가 상승하며, 산 첨가에 의한 중화반응으로 겔을 형성하는 특성을 이용한 pH swing 방법과 filter press를 사용하여 불순물을 제거하고 농축하는 공정을[6,7] 개선하기 위해 밀도가 낮은 용매를 사용하여 용해도차를 이용한 분리특성결과는 Figure 1에서처럼 용매로 acetone과 ethanol을 사용하였을 때 curdlan의 분리특성이 좋았고, 회수율도 거의 100%에 근접하는 것을 확인 할 수 있었다. 하지만 pH swing법은 산·염기 중화반응으로 생성되는 salt의 함유량이 높아 최종생산물의 순도에 문제가 있는 것으로 보이며, 수차례의 세척과정이 필요하다. 또한 용매로 메탄올을 사용한 경우 회수율이 낮은 문제가 있었다.

Curdlan 분리를 위한 최적 NaOH 농도

curdlan 분리공정의 첫 번째 과정으로 cell과 curdlan을 분리하기 위해서는 알칼리 용액으로 curdlan을 녹인 후 원심분리를 해야하므로, NaOH의 농도별 curdlan의 용해도 및 분리특성을 고찰할 필요성이 있다. Figure 2의 결과에서 처럼 25°C에서 NaOH의 농도에 따른 용해도는 0.1N NaOH이상일 때 curdlan이 완전용해 되었으며, 0.01N NaOH에서 약 95%정도 용해 되고 점도는 가장 높은 특성이 있었다. 그리고 0.001N NaOH에서는 약 70%정도 용해되고 나머지는 swelling 되는 현상이 있었다. 결과적으로 curdlan 분리를 위한 NaOH 농도는 0.01N이상을 유지해야 할 것으로 보인다.

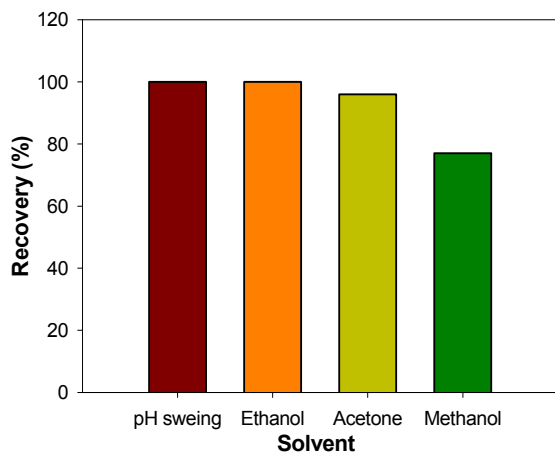


Figure 1. Recovery of curdlan with alcohol and other solution

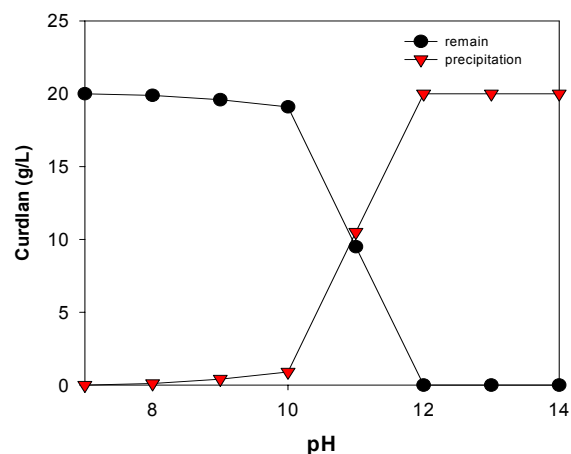


Figure 2. Effect of pH on curdlan solubility and separation

NaOH 농도변화에 따른 curdlan 용융 및 분리특성

앞서 실험한 결과를 바탕으로 실제 분리공정에서의 cell과 curdlan분리 실험에 적용한 결과 0.01N NaOH 이상에서 curdlan이 용해되기 시작했으나 분리특성이 낮았고, 0.1N NaOH에서는 완전히 용해되지만 점도가 너무 높아 cell과 curdlan이 분리가 되지 않았다. 결과적으로 실제 공정에서의 curdlan과 cell 분리를 위한 최적농도는 1N NaOH인 것으로 보인다.

Table 1. Solubility of curdlan in the different concentrations of NaOH

NaOH 농도	용융특성	점도 특성	원심분리	
			600rpm, 5min	600rpm, 10min
0.001 N	녹지않음	낮음		
0.01 N	잘 녹음	점도 보통	70% 분리	90% 분리
0.1 N	잘 녹음	점도 높음	분리 안됨	분리 안됨
1 N	잘 녹음	점도 보통	80% 분리	100% 분리

pH변화에 따른 curdlan 용해도 및 ethanol의 조성비에 따른 분리성능 및 생성물 특성

용해도차를 이용한 pH와 ethanol의 상관관계를 실험하기 위해 curdlan이 용해되기 시작하는 pH 11이상의 알칼리 수용액에서 녹인 curdlan과 ethanol 혼합비를 다르게 하여 실험한 결과 pH 13일때 curdlan용액과 ethanol이 1:0.6 (60%)이상일 때 부터 분리가 100% 되었으며, pH가 낮아지면서 혼합비는 점점 증가하여 pH 11일때는 혼합비가 1:7(700%) 일때 분리되는 특성이 있었다. pH가 높아질수록 침전되는 curdlan의 형태가 섬유상으로 되면서 pH 12에서 그 특성이 가장 뚜렷하게 나타나며, 이때 점도도 가장 높은 것이 특징이다. pH 13이상이 되면 섬유상의 밀도가 더욱 높아지면서 적은양의 ethanol에도 쉽게 침전이 일어나는 것으로 보인다.

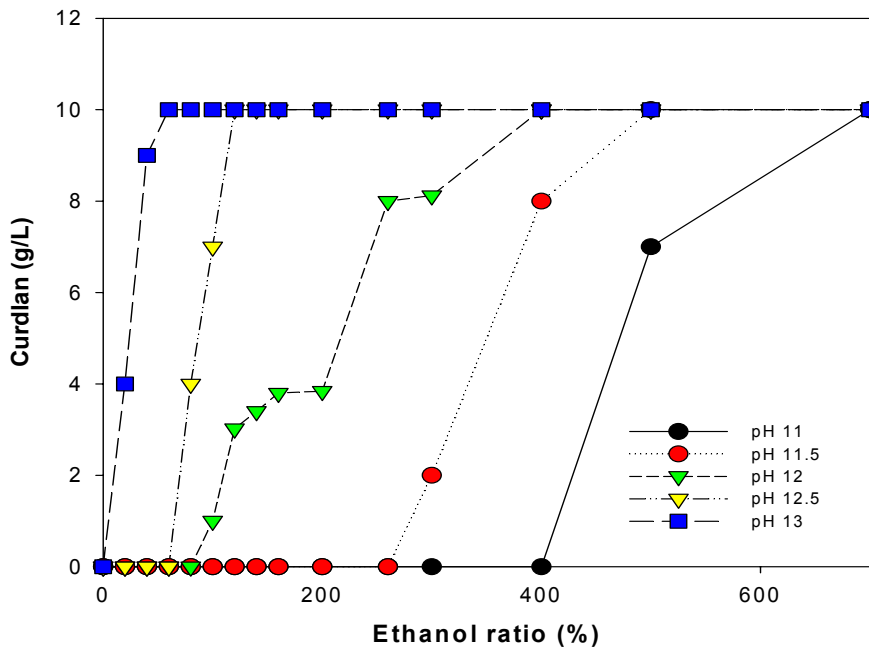


Figure 3. Ethanol ratio for separation process with various pH

## 결론

기존의 curdlan 분리공정을 개선하기 위해 용해도를 이용한 분리공정을 개발하였다. ethanol과 acetone를 용매로 사용했을 때 100%가까운 회수율을 얻을 수 있었으며, 순수한 curdlan만을 녹이기 위한 최적 NaOH농도는 0.1N 이상부터였으며, 실제 공정상에서의 cell과 curdlan을 분리하기 위한 최적 농도는 1N NaOH이다. 이러한 이유는 배양액의 pH가 5.5였기 때문에 최적 농도가 약간 차이가 나는 것으로 보인다. 또한 0.01N NaOH에서도 효율은 약간 떨어지지만 상대적으로 NaOH양이 적게 포함되어 있으므로 정제과정에서 효율이 높게 기대되는 부분이다. 마지막으로 ethanol을 사용한 curdlan분리공정에서 pH에 따른 ethanol 조성비에서는 pH가 높을수록 적은양이 소모되었으며, 이러한 특성은 curdlan분리 및 농축 정제 과정에서 긍정적인 개선점이 될 것으로 기대된다.

## 참고문헌

1. Rosenberg, E., "Microbial Diversity as a Source of Useful Biopolymer", *J. Ind. Microbiol.*, **11**, 131-137 (1993)
2. Crescenzi, V., "Microbial Polysaccharides of Applied Interest", *Biotechnol. Prog.*, **11** 251-259 (1995)
3. Lee, J. H., Shin, S. E., Rhee, K. H., " An Experimental Study on the Enhancement of Fluidity and Strength of Concrete with Curdlan", *HWAHAK KONGRAK*, **40**, 400-403 (2002)
4. Jagodzinski, P.P., Wiaderkiewicz, R., Kurzawski, G., Kloczewiak, M., Nakashima, H., Hyjek, E., Yamamoto, N., Uruy, T., Kaneko, Y., Posner, M.R., Kozbor, D., "Mechanism of the inhibitory effect of curdlan sulfate on HIV-1 infection in vitro", *Virology*, **202**, 735-745 (1994)
5. Lee, I. Y., Kim, M. K., Ryu, K. E., Choi, W. A., Rhee, Y. H., "Enhanced production of (1→3)-β-D-glucan by a mutant strain of *Agrobacterium* species", *Biochemical Engineering Journal*, **3730**, 1-6 (2003)
6. Kim, M. K., Lee, I. Y., Lee, J.H., Kim, K.T., Rhee, Y.H., Park, Y.H., "Residual phosphate cocentration under nitrogen-limiting conditions regulates curdlan production in *Agrobacterium* species", *Journal of industrial Microbiology & Biotechnology*, **25**, 180-183, (2000)
7. Chun Y.B., Shin, M.K., Kim, K.S., Lee, I.Y., Kim, K.T., Bae, Y.K., "A Study on the cleaner production technology in the production of polysaccharide", *대한 환경공학회 2003 춘계 학술연구발표 논문집, KAIST*, 5.1-3, 1475-1480 (2003)