KOREAN J. FOOD & NUTR.
2(1)1~11(1989)

# 호알칼리성 *Streptomyces* sp. B-2에 의한 Glucose Isomerase 생성에 관한 연구

안태영 · 이은숙* · 송준희

대구전문대학 식품영양과
*대구전문대학 간호과

(1989. 7. 25 수리)

# A Study on the Production of Glucose Isomerase by Alkalophilic *Streptomyces* sp. B-2

An, Tae-Young, Lee, Eun-Sook* , Song, Jun-Hee

*Dept. of Food and Nutrition, Tea-Gu Junior College*
**Dept. of Nursing, Tea-Gu Junior College*

(*Received July*, 25 1989)

## ABSTRACT

Glucose isomerase (E.C.5.3.1.5) which reversibly catalyzes reaction between D-glucose and D-fructose was demonstrated in cell free extracts of alkalophilic *Streptomyces* sp. B-2 isolated from soil. The optimum temperature, pH, and pH stability were 60°C, 10.5, and 7.8, respectively.

The production of GI in xylose and yeast extract was higher than that of other carbon source and nitrogen source. The GI production was affected by $Co^{2+}$ and $Mg^{2+}$.

## I. 서 론

포도당 이성화효소(Glucose Isomerse ; GI)는 D-glucose를 D-fructose로, xylose를 xylulose로 이성화시키는 효소이다. Fructose는 glucose의 2배 정도 감미를 가진 당이며 glucose와 fructose의 중합체인 sucrose보다 감미가 1.6~1.7배 정도 강하며 sucrose보다 식품이용면에서의 만족스런 물리화학적 특성으로 인해 soft drink 등의 제조에 sucrose의 대체 감미료로 사용이 가속화되었다.

1957년 Marshall과 Kooi가 *Pseudomonas*

본 연구는 1988년도 문교부 학술연구조성비 지원하에서 이루어졌음.

*hydrophila* 에서 분리한 xylose isomerase 가 D-fructose 를 D-glucose 로 이성화시킨다는 사실을 처음으로 보고한 이래[1] 여러 학자들에 의해 광범위하게 연구되어 왔다. Marshall 이후 Tsumura, Sato, Takasaki 등이 GI 를 생성하는 미생물을 발견하고 또 이들 효소와 미생물이 산업적 생산에 적합함을 보고하였다.[2,3]

Clinton Corn Processing Company 가 일본에서 발견한 *Streptomyces* 속 균주의 상업적 가치를 인정하여 1966 년 일본정부와 협의하에 1967 년 처음으로 미국에서 효소적 방법에 의한 이성화당을 생산하였으며 이것을 계기로 GI 에 대한 연구가 활발해졌다.[4]

1970 년대에 국제 원당가격이 급등함에 따라 high fructose glucose syrup 의 수요가 늘기 시작하면 GI 에 대한 연구가 활발하게 진행되었다.

서[5] 등은 토양에서 *Streptomyces* sp. K-17 을 분리하고 반응액을 분석한 결과 glucose 에서 fructose 만을 생성한다는 사실을 발표하였다. 그후 이들은 연구를 계속하여 이 균주는 xylose 를 inducer 로 요구하지 않으며 $Mg^{2+}$이 activator 로 작용함을 밝혔다. 1976 년 정 등은 토양에서 *Streptomyces* 속을 분리하고 이중 가장 우수한 *Streptomyces* sp. K-14 (KFCC 35051) 을 선정하여 GI 생성실험을 시도하였다. 1979 년 한[6] 등은 *Streptomyces flavogriseus* 을 이용하여 보리짚을 NaOH 용액으로 처리한 hemicellulose 를 기질로 한 배양액에서 3.04 unit/ml 의 효소를 생산하였음을 보고하였다.

GI (E.C 5.3.1.5) 는 고과당시럽 (HFS) 을 제조하는데 이용되는 산업적으로 중요한 효소의 하나이다.[7] 고과당시럽은 1970 년대초 설탕가격의 폭등으로 인한 감미료의 대체재로 주로 이용되었으나 최근 그와 아울러 고과당시럽의 독특한 물성으로 식품에서의 이용이 점차 높아지고 있다.[8] GI 를 생산하는 균으로는 약 50 여종이 알려져 있으나[9] *Bacillus coagulans*[10], *Lactobacillus* sp.[11], *Actinoplanes missouriensis*[12], *Streptomyces griceolous*[13], *Streptomyces olivaceus*[14] 만이 공업적으로 이용되고 있다. 최근 유전공학적 방법으로 GI 의 생산을 증가시키려는 시도가 있었지만 실제로 이용되고 있지는 못한 실정이다.[15~18] 미생물이 생산하는 GI 에 대한 대부분의 연구는 약산성 내지 중성미생물에 의한 보고만 있을 뿐 호알칼리성 방사선균이 생산하는 GI 에 대한 보고는 거의 없다.

이에 본 실험은 호알칼리성 방사선균이 생산하는 GI 를 토양에서 분리하여 GI 생산에 영향을 미칠 수 있는 조건들을 달리하여 GI 생성의 최적 조건을 살펴보고 이렇게 생성된 GI 의 특성에 대한 몇 가지 실험을 끝냈기에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 균의 분리 및 선정

GI 를 생성하는 호알칼리성 방사선균을 전국 각지에서 채취한 토양시료로 분리하였다. 채취된 토양시료 1 g 씩을 5 ml 의 생리식염수 (0.85% NaCl 용액) 에 현탁시키고 그 부유물이 침전되었을때 상등액 0.1 ml 를 취하여 상용분리용 배지에 도말하였다.[19] 이때 배지로서 특징적인 것은 $Na_2CO_3$ 를 별도로 멸균하여 agar 가 굳기 전에 1% 수준으로 첨가하여 pH 가 10.4 정도의 알칼리성이 되게 하였다.

### 2. 균의 배양

앞에서 분리 선정한 균주는 경산 일대의 밭에서 채취한 토양시료에서 분리한 것이다. GI 생성을 위해 사용된 배지조성은 Table 1 과 같다. 배지를 250 ml 의 Erlenmeyer flask 에 25 ml 씩 넣고 살균후, 30°C 에서 50 시간 진탕 배양하였다 (120 stroke/min).

Table 1. Medium composition for isolation of glucose isomerase producing alkalophilic *Streptomyces*

| | |
|---|---|
| *Xylose | 1.0% |
| Peptone | 1.0% |
| Meat extract | 0.5% |
| Yeast extract | 0.25% |
| NaCl | 0.5% |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.05% |
| *$Na_2CO_3$ | 1.0% |
| Agar | 0.5% |
| pH | 10.5% |

*Sterilized separately

### 3. 균주의 특성과 동정

1) 균주의 동정

분리된 *Streptomyces* sp. B-2의 동정은 Shirling, Gottlieb[20]와 Nonomura[21]의 방법과 Manual of microbiological methods에 준하였다.[22] Spore의 관찰은 1% uranyl acetate로 염색해서 전자현미경으로 관찰하였다.[23]Aerial mycelium의 형태적 특성을 알아보기 위해 광학현미경(Olympus Optical, Japan)으로 1,000배 관찰하였다.

2) 배양적 특성

배양조건에 따른 균의 특성을 조사하기 위하여 oatmeal agar와 Czapek broth와 tyrosine agar를 사용하였다.

3) 생화학적 특성

① Starch의 분해능

Soluble starch 1.0%를 함유한 평판배지 중앙에 균을 접종하여 48시간 배양한 후 Lugol 액 10 ml를 부은 다음 투명대 생성여부로 판단하였다.

② Catalase test

액체 배양한 균체 소량을 10% $H_2O_2$용액에 넣어 거품의 발생 여부로 catalase 생성능을 조사하였다.

③ Gelatin 액화력

Gelatin 0.4%를 함유한 고체배지를 만들고 평판 중앙에 균을 길게 접종하여 48시간 배양한 후 mercuric chloride 15 g을 conc. HCl 20 ml에 녹여 증류수 1,000 ml와 혼합한 액 8~10 ml를 배양시킨 평판에 부은 후 투명대 생성 여부로 판단하였다.

### 4. 효소활성 측정

GI 활성은 Takasaki의 방법을 변형한 Resorcinol 법에 의하여 정량하였으며 그 과정은 Fig. 1과 같다. 즉 효소반응은 기질 1 ml와 효소용액 1 ml를 혼합해서 65°C에서 1시간 반응시킨 다음 0.5 M $HClO_4$ 2 ml를 첨가해서 효소반응을 중지시켰다. 이때 생성된 fructose는 Resorcinol 법으로 정량하였으며 표준곡선은 Fig. 2와 같다. 위와 같은 반응조건에서 효소활성도 1 unit는 1시간 동안에 1 $\mu$mole의 fructose를 생성시키는 효소의 양으로 정하였다.

### 5. Glucose isomerase 생성조건

1) pH의 영향

*Streptomyces* sp. B-2의 GI 생성에 대한 pH의 영향을 조사하기 위하여 액체배지 (Table 2)의 pH를 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11로 맞춘 다음 seed culture 2%를 접종하여 30°C에서 30°C에서 22시간 진탕배양한 후 pH에 따라 생산된 GI의 활성을 비교하였다.

2) Carbon source의 영향

Table 2와 같은 조성의 배지에서 xylose와 glucose를 제외한 것을 기본배지로 하고 탄소원으로는 molasses, xylan, lactate, sorbitol 등을 각각의 배지에 1%씩 첨가하여 GI 생성능을 조사하였다.

3) Nitrogen source의 영향

Table 2의 조성에서 peptone, yeast extract, $NH_4NO_3$를 제외한 것을 기본배지로 하고 질소원으로는 유기질소원을 사용하였다.

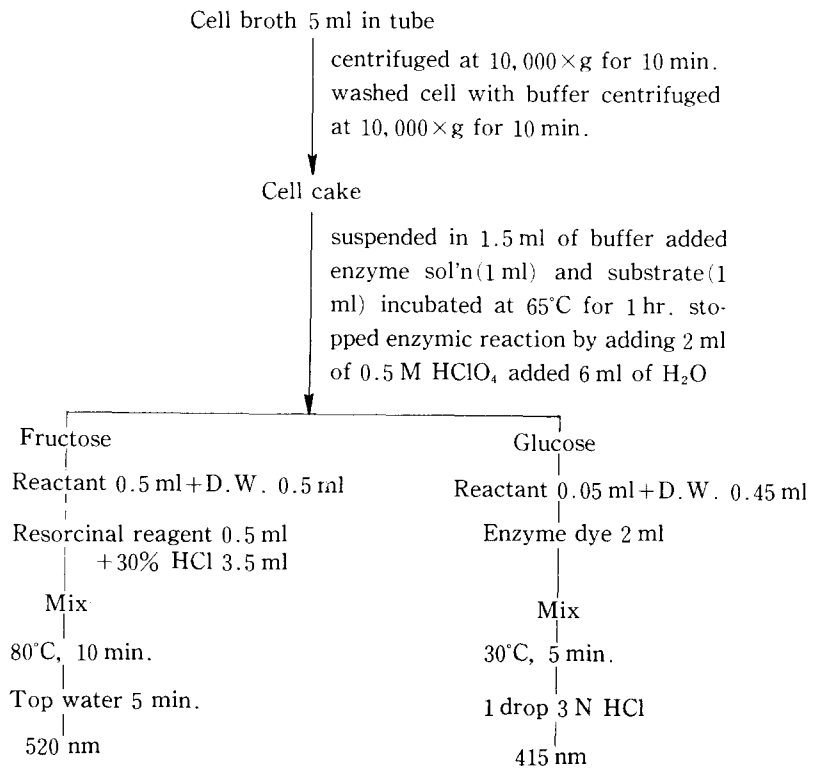


Fig. 1 Procedure for determination of glucose isomerase activity by resorcinol method. Substrate 0.05 M phosphate buffer (pH7.2)+0.05 M glucose+0.05 M $MgSO_4 \cdot 7H_2O$+1.0 mM $CoCl_2 \cdot 7H_2O$ ; Buffer, 0.15M phosphate buffer (pH 7.2) ; Resorcinol reagent, glacial acetic acid 100 ml+thiourea 0.25 g+resorcinol 0.1 g ; Enzyme dye, O-dianisidine 17.5 mg+0.1 M acetate buffer (pH 5.0) 100 ml.

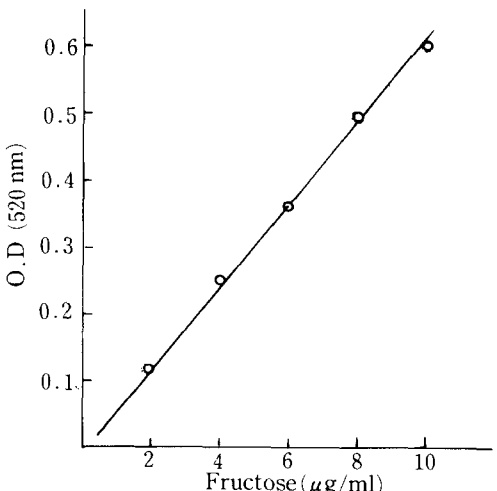


Fig. 2 Standard curve for determination of fructose by resorcinol method.

Table 2. Medium composition of the glucose isomerase formed by the alkalophilic *Streptomyces* sp. A-263.

| | |
|---|---|
| *Glucose | 4.0 |
| *Xylose | 6.0 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 1.0 |
| $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ | 0.1 |
| Peptone | 3.0 |
| NaCl | 3.0 |
| Yeast extract | 2.0 |
| $K_2HPO_4$ | 5.0 |
| *$Na_2CO_3$ | 10.0 |
| pH | 10.5 |

*Sterilized separately

유기질소원으로는 yeast extract, peptone, tryptone, soytone, casein, casamino acid, polypeptone corn, corn steep liquior, malt extract 등을 사용하였으며 유기질소원은 1%를 사용하였다.

4) Amino acid 영향

Aspartic acid, glutamic acid, serine, histidine, glycine, threonine, alanine, tyrosine, methionine, valine, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine을 0.5% 넣은 배양용 배지에서 진탕배양하여 일정한 배양액을 취하여 GI 활성도를 측정하고 660 nm에서 균의 생장도를 측정하였다.

methionine, valine, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine을 0.5% 넣은 배양용 배지에서 진탕배양하여 일정한 배양액을 취하여 GI 활성도를 측정하고 660 nm에서 균의 생장도를 측정하였다.

5) Metal ion의 영향

$CuSO_4$, $MgSO_4$, $CaCl_2$, $MnCl_2$, $FeSO_4$, $BaCl_2$, $ZnSO_4$, $CoCl_2$, $MnSO_4$를 각각 0.1%씩 첨가한 배양용 배지에서 진탕배양하여 일정한 배양액을 취한 다음 GI 활성 및 균생장도를 측정하였다.

6) Vitamin의 영향

기본 배양용 배지에 여러가지 vitamin을 0.005% 넣고 진탕 배양하여 일정한 배양액을 채취하여 Resorcinol 법에 의하여 GI 활성을 측정하고 660 nm에서 균생장도를 측정하였다. Vitamin은 biotin, Ca-pantothenate, inositol, *p*-aminobenzoic acid, pyridoxine hydrochloride, riboflavin 등을 사용하였다.

### 6. GI의 특성

1) pH stability

효소활성의 최적 pH를 알아보기 위하여 기질이 들어있는 buffer를 pH 5.5~11.0(citrate phosphate 5.5-6.5, phosphate 7.0-8.5, barbital 9.0-9.5, Tris-NaOH 10-10.5, glycine-NaOH 11.0)으로 조절하여 GI 활성을 측정하였다.

2) Reaction temperature의 영향

효소 활성의 최적온도를 알아보기 의하여 반응온도를 40°, 50°, 60°, 70°, 80°, 90°C로 맞추어서 GI의 활성을 측정하였다.

3) $Co^{2+}$의 효과

*Streptomyces* sp. B-2의 glucose isomerizing enzyme이 $Co^{2+}$에 대하여 어떤 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 $Co^{2+}$농도를 각각 달리하여 GI의 활성을 조사하여 보았다. $Co^{2+}$의 효과를 조사하기 위하여 $CoCl_2 \cdot 6H_2O$를 사용하였다. $Co^{2+}$의 농도는 0, $10^{-1}$M, $10^{-2}$M, $10^{-3}$M, $10^{-4}$M, $10^{-5}$M을 사용하였다.

4) $Mg^{2+}$의 효과

*Streptomyces* sp. B-2의 glucose isomerizing enzyme이 $Mg^{2+}$에 대하여 어떤 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 $Mg^{2+}$농도를 각각 달리하여 GI의 활성을 조사하여 보았다. $Mg^{2+}$의 효과를 조사하기 위하여 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$를 사용하였다.

5) Substrate specificity

분리된 *Streptomyces* sp. B-2의 기질 특이성

Table 3. Operation conditions of amino acid analyzer by Waters Auto-TAG

| |
|---|
| Instrument : Waters Auto-TAG |
| Conditions : |
| 1. Column : Resolve $C_{18}$ |
| 2. Mobile phase |
| A : MeOH : THF : $H_2O$ − 2 : 2 : 96(v/v) |
| B : MeOH : $H_2O$ − 65 : 35(v/v) |
| 3. Column temperature : 40°C |
| 4. Detection : Fluorescence, ex, 334 nm, ex, 425 nm |
| 5. Chart speed : 0.5 ml/min. |
| 6. Flow rate : 1.5 ml/min. |
| 7. Injection volume : OPA : 5 ml |
| Standard : 5 ml |

을 조사하기 위하여 기질로 D-glucose, D-xylose, D-ribose, D-galactose, D-mannose, D-arabinose, L-rhamnose 등을 사용하였다.

6) 정제된 glucose isomerase의 아미노산 함량측정

Water AUTO-TAG 방법으로 정량하였으며, Table 3과 같은 조건으로 동정된 chromatogram의 peak와 함께 아미노산의 함량을 구하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 균주의 특성과 동정

토양에서 분리한 *Streptomyces* sp. B-2는 Gram 양성이고 운동성이 없으며 Flagella도 없었다.

그 결과는 Table 4와 같으며 이런 특징들로 보아 이 균주는 *Streptomyces* 속에 속하는 것으로 볼 수 있다.

균의 성장의 대한 최적 pH는 10.5로 호알칼리성이었다. 균의 성장에 대한 최적온도는 60°C이었고 분리된 *Streptomyces* sp.는 액체배지에서 배양했을때 witish-gray pellicle을 형성했다.

Table 4. Morphological and curtural characteristics of the glucose isomerase producing strain

| | |
|---|---|
| Morphological characteristics | |
| Colony form | : velvety |
| Spore surface | : spiny |
| Size($\mu$) | : 1.2−1.3 |
| Aerial mass | : white gray |
| Melanoid pigment | : + |
| Flagella | : − |
| Color the pH change | : + |
| Gram staining | : + |
| Motility | : − |
| Cultural characteristics | |
| Oatmeal agar | : gray |
| Tyrosine agar | : white gray |
| Czapek broth | : pellicle, gray |
| pH and temperature for growth | |
| pH | : 10.5~10.6 |
| Temperature | : 30°C |
| Biochemical Characteristics | |
| Hydrolysis of starch | : + |
| Catalase test | : + |
| Hydrolysis of gelatin | : + |
| Protease production | : − |

Symbols are ; + : positive and − : negative.

### 2. Glucose isomerase 생성조건

Glucose isomerase 생성이 가장 좋은 배양조건을 조사하기 위하여 pH, carbon source, nitrogen source, amino acid, metal ion, vitamin 등 여러 가지의 영향에 대하여 조사를 하였다.

1) pH의 영향

*Streptomyces* sp. B-2의 성장 pH와 효소 생성은 배지에 $Na_2CO_3$를 넣어 주어 배지의 pH를 각각 pH 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11로 맞춘 다음 seed culture를 1% 접종하여 30°C에서 26시간 진탕 배양한 후 pH에 따라 생성된 GI를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다.

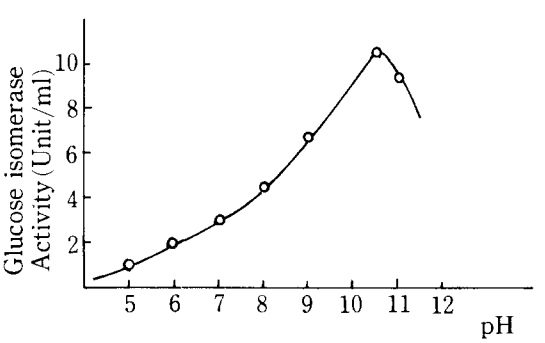


Fig. 3 Effects of pH on the glucose isomerase activity.

Fig. 3과 같이 즉 pH가 10.4~10.6 사이에 가장 왕성한 성장을 보였으며 또한 본 균주의 GI 생성도가 높은 것으로 나타났다. 따라서 이 균주는 alkalophilic 임을 보여주었다.

2) Carbon source의 영향

여러 가지 탄소원을 1% 넣은 배양용 배지에서 26시간 진탕 배양하여 일정한 배양액을 채취하고 GI 생성을 검토하였으며 결과는 Table 5와 같다.

Table 5. Effects of carbon source on the enzyme activity

| Carbon source(1%) | Enzyme activity (unit/ml) |
|---|---|
| None | 0.18 |
| Glucose | 9.8 |
| Fructose | 6.6 |
| Soluble starch | 3.4 |
| Xylose | 10.8 |
| Maltose | 1.2 |
| Rhamnose | 1.3 |
| Raffinose | 0.9 |
| Lactose | 0.6 |
| Mannitol | 0.21 |
| Sucrose | 0.16 |
| Inositol | 0.31 |

즉, 균의 성장과 GI 생성간에는 비례관계가 성립하였으며 xylose, glucose, fructose, soluble starch를 탄소원으로 사용하였을때 GI가 많이 생성되었다.

또한 xylose에서 GI 형성이 가장 높게 나타나는 것으로 보아 xylose가 inducer로 이용되고 있음을 의미한다.

Gluclse isomerase는 *in vivo* 에서 D-xylose를 D-xylulose로 이성화시키며 이는 탄소원으로써 xylose를 사용할 수 있다는 것을 뜻한다.[24]

*Streptomyces albus* YT-4, YT-5, YT-6, NRRL-5778은 wheat bran, corn hulls, corn cobs 같은 xylan 함유물질이나 xylan에서 glucoseisomerase를 생성한다.[25]

3) Nitrogen source의 영향

유기 질소원을 0.5% 농도로 배양용 배지에 넣고 seed culture를 1% 접종하여 균의 생장과 GI 생성을 측정한 결과는 Table 6과 같다.

Table 6. Effects of nitrogen source on the enzyme activity

| Nitrogen source (0.5%) | Enzyme activity (unit/ml) |
|---|---|
| Yeast extract | 13.6 |
| Corn steep liquar | 10.7 |
| Peptone | 9.9 |
| Meat extract | 2.6 |
| Soybean meal | 1.8 |
| Casein | 1.9 |
| Casamino acid | 2.0 |
| Poly peptone | 8.9 |
| $NaNO_3$ | 1.1 |
| $NH_4NO_3$ | 0.9 |
| Urea | 0.8 |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 1.4 |
| None | 0.16 |

특히 yeast extract에 의한 균의 성장과 효소의 생성이 가장 좋았다.

4) Amino acid의 영향

Glycine은 GI 생성을 증가시키는 것으로 나타났으며 결과는 Table 7과 같다.

5) Metal ion의 영향

GI 생성에 무기염류가 어떤 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 각각의 금속염을 0.05% 농도로 배양용 배지에 넣고 seed culture를 1% 접종하여 균의 성장과 GI 생성량을 측정하였으며 결과는 Table 8과 같으며 균의 성장과 GI 생성 사이에는 비례관계가 성립하였다.

$MgSO_4$, $CoCl_2$, $MnSO_4$같은 무기염류는 GI 생성을 위해 여러 가지 미생물에 의해 이용되고 있음이 보고되어 있다.[26]

Table 7. Effects of amino acids on the enzyme activity (unit/ml)

| Amino acids(0.1%) | Enzyme activity (unit/ml) |
|---|---|
| Aspartic acid | 10.3 |
| Glutamic acid | 9.8 |
| Serine | 3.2 |
| Histidine | 1.9 |
| Glycine | 11.1 |
| Threonine | 7.6 |
| Alanine | 4.4 |
| Tyrosine | 2.9 |
| Methionine | 3.6 |
| Valine | 2.1 |
| Phenylalanine | 4.9 |
| Isoleucine | 6.6 |
| Leucine | 7.1 |
| Lysine | 5.6 |
| None | 0.20 |

Table 8. Effects of metal ion on the enzyme activity

| Metal ion (0.05%) | Enzyme activity (unit/ml) |
|---|---|
| $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ | 7.3 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 10.29 |
| $CoCl_2 \cdot 2H_2O$ | 1.6 |
| $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ | 8.7 |
| $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ | 5.6 |
| $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ | 2.1 |
| $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ | 3.2 |
| $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ | 10.1 |
| $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ | 6.6 |
| None | 0.19 |

6) Vitamin 의 영향

GI 생성에는 *p*-aminobenzoic acid 가 영향을 미치는 것으로 나타났으며 나머지 대부분의 vitamin 은 별 영향이 없는 것으로 나타났다. 그 결과는 Table 9 와 같다.

Table 9. Effects of vitamins on the enzyme activity

| Vitamins | Enzyme activity (unit/ml) |
|---|---|
| Biotin | 4.8 |
| Ca-pantothenate | 3.6 |
| Inositol | 5.8 |
| Niacin | 3.4 |
| *p*-Aminobenzoic acid | 11.1 |
| Pynidoxine hydrochloride | 8.3 |
| Riboflavin | 6.7 |
| None | 4.9 |

### 3. Glucose isomerase 의 특성

1) Optimum pH

효소 활성의 최적 pH 를 알아보기 위하여 기질이 들어 있는 buffer 를 pH 5.5~11.0 으로 조절하여 GI 활성을 측정하였을때 pH 가 7.8 일때 glucose isomerase 활성이 가장 높은 것으로 나타났다.

그 결과는 Fig. 4 와 같다.

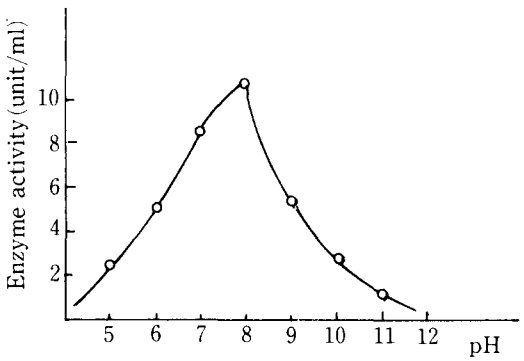


Fig. 4 Optimum pH of the enzyme

2) Reaction temperature 의 영향

GI 반응온도를 40, 50, 60, 70, 80, 90°C 로 맞추어 GI 활성을 측정한 결과 60°C 일때 가장 활성이 높게 나타났다.

그 결과는 Fig. 5 와 같다.

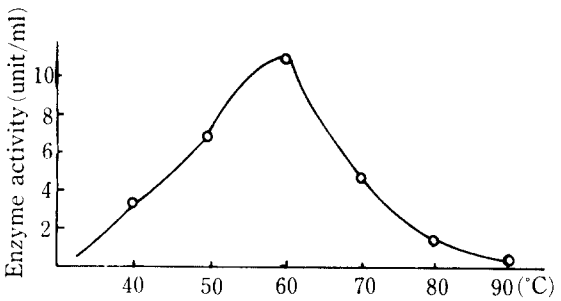


Fig. 5 Effects of reaction temperature on the enzyme activity.

3) $Co^{2+}$효과

*Streptomyces* sp. 의 glucose isomerizing enzyme이 $Co^{2+}$에 대하여 어떤 영향을 미치는가를 알아본 결과 $Co^{2+}$의 농도가 $10^{-3}$M 일때 효소 활성이 가장 높게 나타났다.
그 결과는 Table 10과 같다.

Table 10. Effects of $Co^{2+}$ on the enzyme activity

| $CoCl_2$ ion concentration | Enzyme activity (unit/ml) |
|---|---|
| 0 | 7.3 |
| $10^{-1}$ | 8.9 |
| $10^{-2}$ | 9.1 |
| $10^{-3}$ | 10.3 |
| $10^{-4}$ | 9.4 |
| $10^{-5}$ | 9.3 |

4) $Mg^{2+}$의 효과

*Streptomyces* sp. B-2의 glucose isomerizing enzyme이 $Mg^{2+}$에 대하여 어떤 영향을 미치는가를 알아 본 결과 $Mg^{2+}$농도가 $10^{-3}$M 일때 glucose isomerase의 활성이 최대로 나타났다.
그 결과는 Table 11과 같다.

5) Substrate specificity

분리된 *Streptomyces* sp. B-2의 기질 특이성을 조사하기 위하여 기질로 D-glucose, D-xylose, D-ribose, D-galactose, D-mannose, D-arabinose, L-rhamnose를 사용하였을때 D-xylose가 기질 특이성이 높게 나타났다.
그 결과는 Table 12와 같다.

Table 11. Effects of $Mg^{2+}$ on the enzyme activity

| $MgSO_4$ ion concentration | Enzyme activity (unit/ml) |
|---|---|
| 0 | 7.2 |
| $10^{-1}$ | 9.3 |
| $10^{-2}$ | 9.7 |
| $10^{-3}$ | 10.4 |
| $10^{-4}$ | 10.1 |
| $10^{-5}$ | 9.9 |

Table 12. Effects of substrates on the enzyme activity

| Substrate (0.05 M) | Enzyme activity (unit/ml) |
|---|---|
| D-Glucose | 10.8 |
| D-Xylose | 11.3 |
| D-Ribose | 6.3 |
| D-Galactose | 8.6 |
| D-Mannose | 7.9 |
| D-Arabinose | 9.8 |
| L-Rhamnose | 8.9 |

Table 13. Amino acid composition of purified glucose isomerase

| Amino acids | Contents (%) |
|---|---|
| Aspartic acid | 7.9 |
| Glutamic acid | 16.8 |
| Serine | 8.6 |
| Histidine | 8.2 |
| Glycine | 7.2 |
| Threonine | 6.2 |
| Alanine | 4.1 |
| Tyrosine | 2.1 |
| Methionine | 2.6 |
| Valine | 4.8 |
| Phenylalanine | 6.6 |
| Isoleucine | 6.9 |
| Leucine | 4.2 |
| Lysine | 8.8 |

6) 정제된 glucose isomerase의 amino acid composition

정제된 glucose isomerase의 amino acid 조성을 분석한 결과는 Table 13과 같다.

## IV. 요 약

호알칼리성 방사선균인 *Streptomyces* sp. B-2가 생산하는 포도당 이성화 효소(glucose isomerase, E.C 5.3.1.5)의 생성조건과 그 특성을 조사하였다.

Glucose isomerase(GI)는 high fructose glucose syrup과 fructose의 생산을 위해서 식품공업에서 중요시 되고 있다.

균주는 토양에서 채취한 시료에서 분리 동정한 호알칼리성 방사선균인 *Streptomyces* sp. B-2를 사용하였다.

GI 생성조건과 특성을 조사한 결과 최적 pH, 온도는 각각 10.5, 60°C이고 최적 pH는 7.8이었다.

GI 생성은 carbon source에서는 xylose, nitrogen source에서는 yeast extract가 높게 나타났으며 $Co^{2+}$, $Mg^{2+}$도 GI 생성에 영향을 미쳤다.

## V. 참고문헌

1. Marshall, R.O. and Kooi, E.R. : *Science*, **125**, 648(1957)
2. Tsumura, N., and Sato, T. : *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 648(1965).
3. Takasaki, Y. : *Agric. Biol. Chem.*, **30**, 1247(1966).
4. Takafumi, K., Kiyoshi, H., and Nobuzo, T. : *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 619(1981).
5. 서정훈, 이인구 : *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.* Vol.5, No.2, 73(1977).
6. 한윤우, W.P.Chen : 한국산업미생물학회 7, 9(1979).
7. Chen, W.P : *Process Biochemistry*, June/July, 30(1980).
8. Van Tilburg, R. Sterch Conversion Technhnology Marcel Dekker Inc, 175-236(1985).
9. Vaheriand, M. and Kauppinen : *Process Biochemistry*, July/Aug, 5(1977).
10. Danno.G, Yoshimura, S and Natake, M : *Agr. Biol. Chem.*, **31(3)**, 284(1967).
11. Yamanaka, K. : *Agr. Biol. Chem*, **27**, 271(1963).
12. Anheuser-Busch Inc. : *British Patent* 1, 399, 408(1975).
13. Sipos, T. and Hill, M : U.S.Patent 3, 708, 397(1973).
14. Brownwell, C.E. : *German Patent*, 2018058(1971).
15. Wevcha, M.G., : Stenerwald, D.L., and Brooks, K.E. : *Appl, Environ. Microb.*, **45**, 1402(1983).
16. Schhellenberg, G.D., Starthy.A., Larson, A.E., Backer, M.P., Crabb.J.W., Lidotrom, M., Hall, B.D.and Furlong, C.E., : *J. Biol. Chem.*, **259(11)**, 6826(1984).
17. Kho, Y.H. : *Kor.J. Microb. Bioeng*, **12(3)**, 253(1984).
18. Shim, M.K.and Kho, Y.H. : *The Kor.J. Microb.*, **23(3)**, 138(1985).
19. N.Tsumura : *agr. Biol. chem.*, **31**, 903(1967)
20. Shirling, E.B. and D.Gottlieb : *Int.J. Sys. Bact.*, **16**, 313(1966).
21. Nonomura, H. : *J. Ferment. Technol.*, **52**, 78(1974).
22. Society of American Bacteriologists : *Manual of microbiological methods*,

McGraw-Hill Book Co., Inc., (1957).
23. Lowry, O.H. and Janet V.Passoneau : *A flexible system of enzymatic analysis*, Academic Press, New York, 174(1972).
24. Sukane, M., Tasmura, M., and Tomimura, C. : *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 909(1978).
25. Takasaki, Y. : *Japanese Patent*, **7**, 422, 555(1974).
26. Weber, K., et al. : *Methods in Enzymology*, **26**, 3(1972).