

벼의 α -Glucosidase에 의한 Ascorbic acid로부터 Ascorbic acid-2-Glucoside의 생산

김성균, 황기철, 방원기*

고려대학교 자연자원대학 응용생명환경화학과

초 록 : Ascorbic acid로부터 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid (AA-2G)를 생산하기 위하여, transglucosylation 활성을 가지는 발아미의 α -glucosidase를 효소원으로 이용하였다. 시험한 6 품종의 벼중에서 일품벼의 α -glucosidase 활성이 125.0 unit/ml로 가장 높았으며, 발아후 3일째에서 최대 비활성 8.52 unit/mg protein을 보였다. 일품벼의 조효소액을 이용한 AA-2G 생산에 있어서 glucose 공여체로는 maltose가 가장 좋았으며, maltose와 ascorbic acid의 최적 농도는 각각 125 mM와 175 mM이었다. α -Glucosidase 농도는 100 unit에서 가장 좋았으며, 효과적인 완충용액은 sodium citrate였고, 최적 농도는 100 mM이었다. 최적 pH 및 반응온도는 각각 5.0과 60°C이었다. 상기의 최적 반응조건 하에서 35분 반응후에 ascorbic acid로부터 108.43 μ M/unit의 AA-2G가 생산되었으며, 전환율은 ascorbic acid에 대해 6.2%였다. (1999년 12월 6일 접수, 2000년 1월 17일 수리)

서 론

Ascorbic acid는 1920년대 후반 Szent-Gyorgyi에 의해 처음 결정으로 분리된 물질로서 대부분의 동·식물에서는 glucuronic acid pathway를 통해 D-glucose나 D-galactose로부터 합성되지만, 인간을 비롯한 일부 고등동물에서는 합성되지 못한다.^{1,2)} Ascorbic acid는 항괴혈 활성, 세포 생육 및 항체 형성과 백혈구 식균 활성에 대한 촉진 효과 등^{3,5)}이 있다고 알려져 있어 의약품, 식품, 화장품 등에 광범위하게 이용될 수 있다. 그러나, ascorbic acid는 수용액 상태에서는 매우 불안정하여 dehydro-ascorbic acid로 빠르게 산화되므로, 주사나 경구 투약과 같은 의학분야에서 응용하기 어려울 뿐 아니라 산업적 이용에도 많은 제한을 받는다.^{1,6)}

따라서, 여러 가지 성분이 포함되어 있는 액체 의약품, 식품, 화장품에서 ascorbic acid의 안정성을 높이기 위해 ascorbic acid-2-sulfate, ascorbic acid-2-phosphate 등과 같은 여러 가지 유도체들을 생산하는 화학적, 효소적 방법이 개발되었는데,^{7,8)} ascorbic acid의 glucose 유도체인 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid(이하 AA-2G로 略記)는 1990년 Norio 등⁹⁾에 의해 쥐 소장의 α -glucosidase를 통해 처음 생산되었다. AA-2G는 수용액 상태에서 열, 산소, 금속이온의 작용, ascorbate oxidase에 의한 산화적 분해에 매우 안정하고 생리학적 활성이 매우 높다.⁹⁾

AA-2G는 ascorbic acid와 마찬가지로 항괴혈 활성, 인간의 피부 섬유아세포에서 collagen 합성과 섬유아세포 증식, 항체 생산 증진을 촉진할 뿐만 아니라,¹⁰⁾ 인간의 상피세포가 태양 빛에 자연 노출됨으로써 자외선에 의해 손상되는 것에 대해 광보호 효과가 있다.¹¹⁾

AA-2G의 생산법으로는 화학합성법과 효소를 이용한 방법이 있다. 그러나 화학합성법의 경우 복잡한 과정과 장시간이 소요되므로,¹²⁾ 이를 극복하기 위해 효소를 이용한 방법들이 연구되었다. 현재 AA-2G를 생산한다고 보고된 효소로는 cyclomal-todextrin glucanotransferase [EC 2.4.1.19]와 α -glucosidase [EC 3.2.1.20]가 있다. 이들중 α -Glucosidase는 말단의 비환원성 α -1,4-결합의 α -D-glucose 단위를 가수분해하는 효소로 반응조건에 따라 AA-2G 합성뿐 아니라 가수분해함으로써 생리적 활성을 가질 수 있도록 한다.^{9,13)}

본 연구에서는 AA-2G를 생산하기 위하여, 쌀의 종자를 발아시켜 α -glucosidase의 활성을 지니는 조효소액을 추출하고, 부분 정제한 조효소액을 효소원으로 하여 ascorbic acid와 glucose 공여체로부터 AA-2G를 생산하기 위한 최적 반응조건을 검토하였다.

재료 및 방법

범시

우리나라에서 재배되고 있는 화성벼, 남강벼, 남평벼, 동진벼, 대안벼, 일품벼를 농촌진흥청에서 제공받아 사용하였다.

시약

본 실험에 사용한 L-ascorbic acid, thiourea는 Showa Chemical사(Japan)의 특급시약을 사용하였으며, maltose는 Difco 사(Michigan, USA)의 시약을 사용하였다. 조효소액 추출을 위한 Triton X-100, 2-mercaptoethanol은 Merck사(USA)로부터 구입하였고, α -glucosidase 활성 측정을 위한 시약인 p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNPG), p-nitrophenol(PNP)은 Sigma Chemical사(USA)의 특급시약이었으며, 단백질 정량시 사용한 BCA Protein Assay Reagent A, B는 Pierce사(Illinois, USA)의 시약이었다. AA-2G는 일본 Okayama University로부터 제공받아 사용하였으며, 그 밖의 일반시약은 모두 Showa

찾는말 : ascorbic acid, ascorbic acid-2-glucoside, α -glucosidase, rice seed

*연락처 : Tel : 02-3290-4030, Fax : 02-925-1970

E-mail : agrchem@kucncx.korea.ac.kr

Chemical 및 Kanto Chemical사, Sigma Chemical사의 특급 및 일급 시약을 사용하였다.

범씨의 발아

범씨를 1% sodium hypochlorite로 10분간 소독한 후 증류수로 세척하고 수분을 충분히 함유하고 있는 모래를 깔 묘상에 범씨를 파종한 후 범씨가 마르지 않도록 매일 수분을 보충해주면서 30°C에서 3-4일간 배양하였다.

발아미로부터 조효소액의 추출

발아미로부터 α -glucosidase 활성이 높은 조효소액을 추출하기 위하여 유화제를 이용한 방법¹⁴⁾을 사용하였다. 유화제를 이용한 조효소액의 추출은 쌀과 뿌리를 제거한 발아미를 액체 질소에 넣어 동결한 후 분쇄기로 파쇄하고, 파쇄한 발아미 1g을 유화제 추출 혼합액(50 mM sodium carbonate buffer, 1 M NaCl, 2 mM 2-mercaptoethanol, 1% Triton X-100, pH 9.0) 5 ml을 사용하여 추출하였다. 추출액을 원심분리(10,000×g, 20분)한 후 상등액을 취하여 Amicon XM50 membrane을 이용하여 탈염한 후 100 mM sodium acetate buffer (pH 5.3) 1 ml를 첨가하여 회수하였다.

α -Glucosidase 활성 측정

α -Glucosidase의 활성은 Brian 등¹⁴⁾의 방법에 따라 50 mM sodium succinate buffer(pH 4.2)에 1 mg/ml의 농도가 되도록 p-nitrophenol- α -D-glucopyranoside (PNPG)를 용해시킨 반응혼합액 1 ml과 조효소액 100 μ l를 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후 2 M의 NaHCO₃ 100 μ l를 첨가하였다. 생성된 p-nitrophenol(PNP)의 양은 420 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. α -Glucosidase의 1 unit는 pH 4.2, 37°C에서 1 μ mol PNPG가 1 μ mol p-nitrophenol로 전환하는데 요구되는 효소량으로 정의하였다. 비활성은 1 mg의 단백질당 효소 활성의 unit 수로 정의하였다.

발아미 조효소액에 의한 AA-2G 생산

발아미 조효소액에 의한 AA-2G 생산은 50 unit의 조효소액을 50 mM L-ascorbic acid, 50 mM maltose, 100 mM sodium acetate buffer(pH 5.3)에 1 ml가 되도록 첨가한 후, 60°C의 압소에서 1시간동안 반응시킨 후 AA-2G를 분석하였다.

AA-2G 정성 및 정량분석

AA-2G의 정성 및 정량분석을 위하여 Norio 등⁹⁾의 방법에 따라 high performance liquid chromatography(HPLC)를 이용하여 분석하였다. 상기 반응액중 200 μ l을 취하여 동량의 chloroform을 첨가하고, 12,000×g에서 10분 동안 원심분리한 후, 그 상등액을 분석용 시료로 사용하였다. 시료의 분석은 TSP HPLC system(TSP사)을 사용하였는데, LUNA C18 컬럼 (250 mm×4.6 mm, Phenomenex Corporation)과 이동상으로 0.1 M KH₂PO₄-phosphoric acid(pH 2.0)를 사용하였으며, flow rate는 0.7 ml/min으로 하였고 240 nm의 UV detector를 사용하여 분석하였다. 표준물질로서 순수한 AA-2G를 사용하여 같은 머무

름 시간의 peak를 비교하였다.

단백질 정량

단백질은 bicinchoninic acid (BCA) method¹⁵⁾로 562 nm에서의 흡광도를 측정하여 정량하였다. 단백질의 양은 표준 단백질 bovine serum albumin을 사용하여 구한 표준곡선을 이용하여 계산하였다.

결과 및 고찰

α -Glucosidase 활성이 높은 품종의 선별

우리나라에서 재배되는 품종의 벼 중에서 α -glucosidase 활성이 높은 품종을 선별하기 위하여, 벼를 발아시켜 조효소액을 추출하여 실험하였다. 즉, 각 품종의 벼를 파종한 후 30°C 항온 배양기에서 배양하여 발아 4일 후에 수확하고 유화제인 Triton X-100을 이용한 추출법에 의해 조효소액을 추출하여 α -glucosidase의 활성과 비활성을 측정하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 동진벼, 일품벼, 화성벼의 α -glucosidase 활성이 높았으며, 특히 일품벼의 경우 다른 품종보다 α -glucosidase 활성, 비활성 및 효소의 양이 더 높았다. 또한, Ascorbic acid의

Table 1. Comparison of α -glucosidase activity in rice varieties

Varieties	Activity (unit/ml)	Protein (mg/ml)	Specific activity (unit/mg · protein)
<i>Oryza savita</i> L. cv. Namgangbyeo	70.17	11.68	6.01
<i>Oryza savita</i> L. cv. Nampyeongbyeo	85.59	12.06	7.10
<i>Oryza savita</i> L. cv. Daeanbyeo	82.79	13.13	6.31
<i>Oryza savita</i> L. cv. Dongjinbyeo	93.14	13.09	7.12
<i>Oryza savita</i> L. cv. Ilpumbyeo	125.03	14.71	8.50
<i>Oryza savita</i> L. cv. Hwaseongbyeo	97.90	14.24	6.88

Rice seeds were grown for 4 days at 30°C after germination.

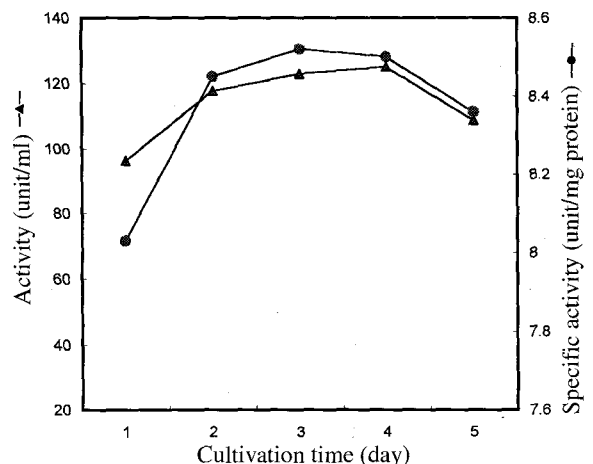


Fig. 1. Comparison of α -glucosidase activity on different cultivation time.

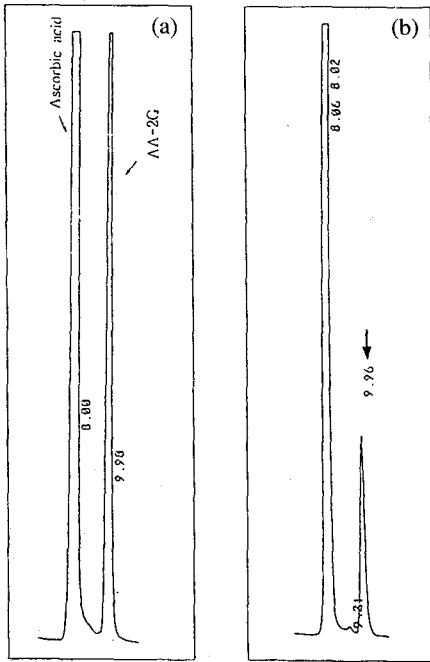


Fig. 2. HPLC chromatogram of ascorbic acid and AA-2G in reaction mixture. (a)Standard ascorbic acid and AA-2G(2-O-α-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid) (b)Reaction mixture.

2번 위치에 위치 특이적 transglucosylation을 갖는 α-glucosidase 활성이 최대인 발아미를 수확하기 위하여 발아후 시간 경과에 따른 α-glucosidase의 활성 및 비활성 변화를 조사하였는데, Fig. 1에서 보듯이 α-glucosidase 활성은 발아후 4일째에서 최대인 125.03 unit에 도달하였고, 비활성은 3일째에서 8.52 unit/mg protein으로 가장 높았다. 그러나, 2-4일째의 활성과 비활성은 거의 변화가 없었으므로 이후의 실험에서는 비활성이 가장 높은 일품벼의 배양후 3일째 된 발아미를 수확하여 ascorbic acid에서 AA-2G 생산을 위한 효소원으로 사용하였다.

AA-2G의 확인

본 실험에서 발아미로부터 추출한 조효소액에 의해 생성된 AA-2G는 LUNA C18 컬럼을 이용한 high performance liquid chromatography(HPLC)에 의해 정성적으로 확인하였다. Fig. 2에서 보듯이 AA-2G 표준시료와 같이 9.9분대의 잔류시간을 나타내어 생성물이 AA-2G임을 확인할 수 있었다.

Table 2. Effect of glucose donors on AA-2G production

Glucose donor	AA-2G (μM/unit)
Maltose	13.6
Dextrin	5.5
Starch	1.3
Sucrose	-

Reaction was carried out for 30 minutes at 60°C in reaction mixture containing 100 unit of crude extract, 1.71% of glucose donor, 50 mM of ascorbic acid and 100 mM of sodium acetate buffer (pH 5.3).

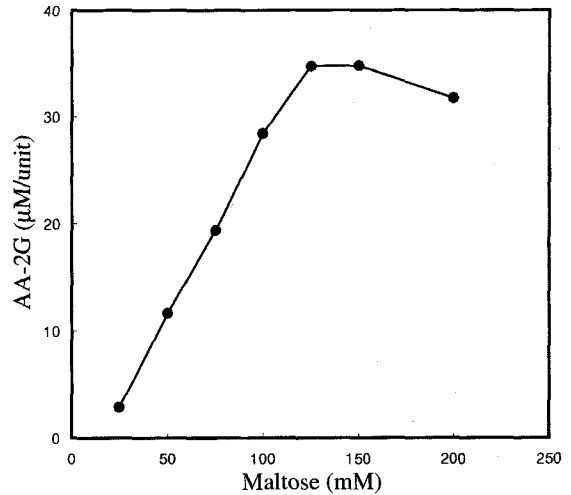


Fig. 3. Effect of maltose concentration on AA-2G production. Reactions were carried out for 30 minutes at 60°C in reaction mixture containing 100 unit of α-glucosidase, 50 mM of ascorbic acid and 100 mM of sodium acetate buffer (pH 5.3).

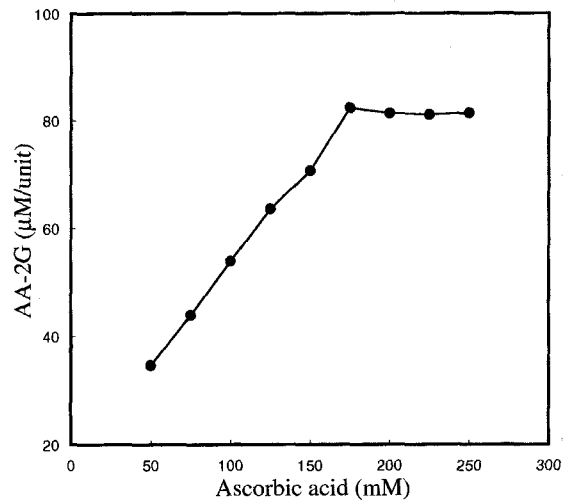


Fig. 4. Effect of ascorbic acid concentration on AA-2G production. Reactions were carried out for 30 minutes at 60°C in reaction mixture containing 100 unit of α-glucosidase, 125 mM of maltose and 100 mM of sodium acetate buffer (pH 5.3).

Glucose 공여체에 따른 AA-2G의 생산

AA-2G의 생산에 미치는 여러 가지 glucose 공여체들을 조사하였다. Table 2에서와 같이 maltose가 13.6 μM/unit로 생산량이 가장 높았고, glucose 공여체로 sucrose를 이용할 경우에는 AA-2G가 생산되지 않았다. 따라서 이후의 실험에서는 glucose 공여체로서 효소 1 unit당 생산량이 가장 높은 maltose를 사용하였으며, AA-2G의 glucose 공여체인 maltose의 농도를 25 mM에서 200 mM까지 변화시키면서 AA-2G 생산에 미치는 효과를 조사한 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 AA-2G의 생산량은 maltose 농도가 125 mM에 이르기까지는 34.7 μM/unit로 증가하였으며, 그 이상의 농도에서는 소량 감소하는 결과를 보였는데 이는 효소가 기질에 의해 저해를 받는 것으로 생각된다. 따라서 이후의 실험에서는 maltose의 농도를 125 mM로 고정하여 사용하였다.

Table 3. Effect of α -glucosidase concentration on AA-2G production

α -Glucosidase(unit)	concentrationAA-2G(μ M/unit)
10	13.9
25	14.6
50	27.9
75	45.5
100	86.4
200	80.2
300	83.7

Reactions were carried out for 30 minutes at 60°C in reaction mixture containing 125 mM of maltose, 175 mM of ascorbic acid and 100 mM of sodium acetate buffer (pH 5.3).

Table 4. Effect of different buffers on AA-2G production

Buffers	AA-2G(μ M/unit)
Sodium acetate	86.5
Sodium citrate	107.0
Sodium succinate	75.5
Citrate-phosphate	94.9

Reactions were carried out for 30 minutes at 60°C in reaction mixture containing 100 unit of α -glucosidase, 125 mM of maltose, 175 mM of ascorbic acid and 100 mM of various buffers (pH 5.3). All buffers were adjusted to pH 5.3.

AA-2G 생산에 미치는 ascorbic acid 농도의 영향

본 실험에서는 maltose 농도를 125 mM로 고정하고, AA-2G 생산 기질로 이용되는 ascorbic acid 농도를 50 mM부터 250 mM까지 변화시키면서 ascorbic acid의 농도 변화가 AA-2G 생산에 미치는 영향을 관찰하였다. Fig. 4에서와 같이 175 mM까지 ascorbic acid의 농도가 증가할수록 AA-2G의 생산량은 증가하여 175 mM에서 86.1 μ M/unit에 이른 후, 그 이상의 농도에서는 더 이상 증가하지 않고 거의 일정하게 유지되었다. 따라서, ascorbic acid의 농도는 175 mM로 결정하였다.

AA-2G 생산에 미치는 조효소액 농도와 완충용액의 영향

본 실험에서는 maltose와 ascorbic acid의 농도를 각각 125 mM, 175 mM로 고정하고 발아미로부터 추출한 조효소액을 Table 3에서 보듯이 변화시키면서 효소의 농도 변화가 AA-2G 생산에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 Table 3에서 보듯이 100 unit까지는 생산량이 계속 증가하였고, 100 unit 이상의 농도에서는 변화를 보이지 않았다. 따라서 이후의 반응에 사용하는 조효소액의 농도를 100 unit로 고정하였다. 그리고, AA-2G 생산에 미치는 완충용액의 영향을 조사하기 위하여 100 mM 완충용액 4 종류를 사용하여 실험하였다. Table 4에서와 같이 sodium citrate 완충용액을 이용할 경우 107 μ M/unit로 가장 우수하였으며, 완충용액의 최적농도는 25 mM에서 125 mM 까지 변화를 주어 실험한 결과 Fig. 5에서 보는 바와 같이 AA-2G의 생산은 sodium citrate 농도가 100 mM일 때 106 μ M/unit로 가장 좋았다. 따라서 이후의 실험에선 100 mM sodium citrate buffer를 완충용액으로 사용하였다.

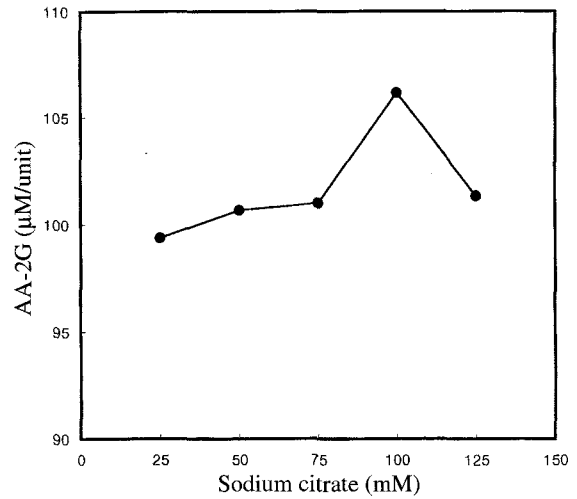


Fig. 5. Effect of buffer concentration on AA-2G production. Reactions were carried out for 30 minutes at 60°C in reaction mixture containing 100 unit of α -glucosidase, 125 mM of maltose, 175 mM of ascorbic acid and sodium citrate buffer (pH 5.3).

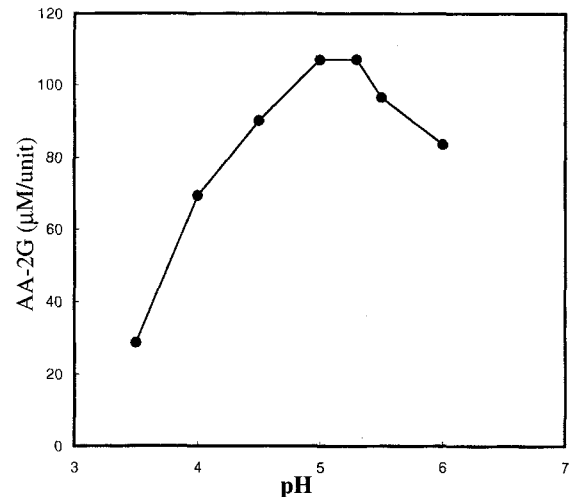


Fig. 6. Effect of pH on AA-2G production. Reactions were carried out for 30 minutes at 60°C in reaction mixture containing 100 unit of α -glucosidase, 125 mM of maltose, 175 mM of ascorbic acid and 100 mM of sodium citrate buffer.

AA-2G 생산에 미치는 초기 pH와 반응 온도의 영향

완충용액의 초기 pH가 AA-2G 생산에 미치는 영향을 알아보기 위하여, sodium citrate buffer의 완충범위인 pH 3.5에서 6.0까지 pH를 변화시켜 실험을 수행한 결과, Fig. 6에서 보는 바와 같이 초기 pH 5.0에서 AA-2G 생산량이 106 μ M/unit로 가장 높았고, 그 이후에는 pH가 증가할수록 급격히 감소하였다. 따라서 이후의 실험은 초기 pH를 5.0으로 고정시켜 사용하였다. 또한, 반응 온도가 AA-2G 생산에 미치는 영향을 알아보기 위하여 반응 온도를 30°C부터 70°C까지 변화시켜 가면서 AA-2G 생산의 변화를 관찰하였다. Fig. 7에서 보듯이 60°C까지는 온도가 증가할수록 생산량이 증가하여 60°C에서 106 μ M/unit로써 최고치를 나타냈으며, 이후에는 온도가 증가할수록 생산량이 감소하였다. 따라서 반응 온도는 60°C로 고정하였다.

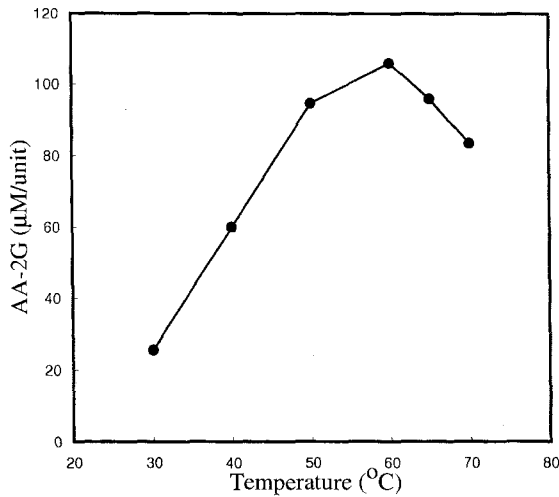


Fig. 7. Effect of temperature on AA-2G production. Reactions were carried out for 30 minutes in reaction mixture containing 100 unit of α -glucosidase, 125 mM of maltose, 175 mM of ascorbic acid and sodium citrate buffer (pH 5.0).

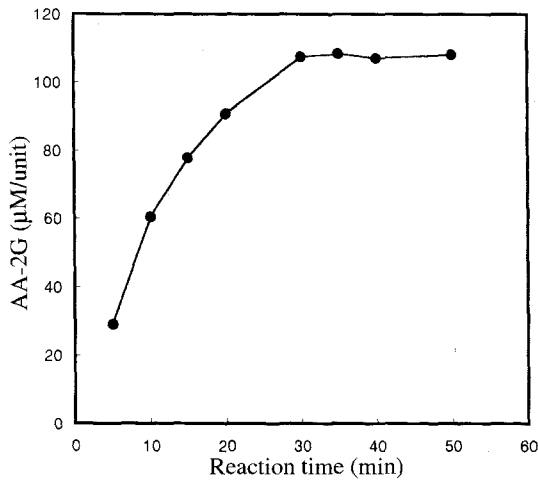


Fig. 8. Time course of AA-2G production. Reaction was carried out for 60 minutes at 60°C in reaction mixture containing 100 unit of α -glucosidase, 125 mM of maltose, 175 mM of ascorbic acid and sodium citrate buffer (pH 5.0).

AA-2G 생산의 경시적 변화

상기의 실험 결과들로부터 얻어진 최적 조건하에서 발아미의 조효소액에 의한 125 mM의 maltose와 175 mM의 ascorbic acid로부터 AA-2G 생산의 경시적 변화를 Fig. 8에 나타내었다. Fig. 8에 나타낸 바와 같이 생산량이 반응시간 30분까지 빠르게 증가되었으며, 이후 거의 일정하게 유지되는 경향을 보였다. 반응 35분 후에 3.67 g/L가 생산되어 최대 생산량을 보였으며, 이것은 효소 1 unit 당 108.43 μ M이 생산된 결과로 전환율은 기질로 이용된 ascorbic acid에 대한 이론적 몰비로 6.2%였다.

감사의 글

본 연구는 1997년도 과학기술처 선도기술과제(BNS81480-

754-2)의 위탁연구로 수행되었으며, 연구비지원에 감사드립니다. 그리고, 본 연구를 수행하는데 필요한 표준물질인 AA-2G를 제공해 주신 Itaru Yamamoto 박사(Okayama Univ., Japan)께도 감사드립니다.

참고 문헌

1. Mark, L. and Morita, K. (1985) Ascorbic Acid in Endocrine Systems. *Vitamins and Hormones* **42**, 2-64.
2. Gabor, B., Braun, L., Csala, M., Puskas, F. and Mandl, J. (1997) Ascorbate Metabolism and its Regulation in Animals. *Free Radical Biology & Medicine* **23**(5), 793-803.
3. Lawrence, J. M. (1984) In 'Handbook of Vitamins', p. 199-244. Marcel Dekker. U.S.A.
4. Marks, J. (1985) In 'A Guide to the Vitamins. Their Role in Health and Disease', 2nd ed., p. 137-144, Medical and Technical Publishing Co. Ltd., Great Britain.
5. Burn, J. J., Rivers, J. M. and Machlin, L. J. (1987) Third Conference on Vitamin C. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **498**, 1-533.
6. Kiyoko, T. and Ito, M. (1977) Effects of Metal ions and Flavonoids on the Oxidation of Ascorbic acid. *Chem. Pharm. Bull.* **25**, 3218-3225.
7. Paul, A. S., Liang, Y. T., Lee, C. H., Hosoney, R. C. and Deyo, C. W. (1974) Synthesis and Stability of L-Ascorbic 2-sulfate. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1**, 1220-1224.
8. Fugio, T., Maruyama, A. and Koizumi, S. (1989) Enzymatic Preparation of Ascorbic acid-2-phosphate. *Eur. Pat. Appl.* EP 319130.
9. Norio, M., Suga, S., Fujii, K., Goto, K. and Yamamoto, I. (1990) Formation of a stable Ascorbic acid 2-glucoside by Specific Transglucosylation with Rice seed α -glucosidase. *Agric. Biol. Chem.* **54**(7), 1697-1703.
10. Itaru, Y. and Muto, N. (1992) Bioavailability and Biological activity of L-Ascorbic acid 2-O- α -glucoside. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 161-164.
11. Miyai, E., Yanagida, M., Akiyama, J. and Yamamoto, I. (1996) Ascorbic acid 2-O- α -glucoside, a Stable form of Ascorbic acid, Rescues Human Keratinocyte Cell Line, SCC, from Cytotoxicity of Ultraviolet Light B. *Biol. Pharm. Bull.* **19**, 984-987.
12. Itaru, Y., Muto, N., Nagata, E., Nakamura, T. and Suzuki, Y. (1990) Formation of stable L-Ascorbic acid α -glucoside by Mammalian α -glucosidase-catalyzed Transglucosylation. *Biochim. Biophys. Acta.* **1035**, 44-50.
13. Norio, M., Ban, Y., Akiba, M. and Yamamoto, I. (1991) Evidence for the in vivo Formation of Ascorbic acid 2-O- α -glucoside in Guinea pigs and Rats. *Biochem. Pharmacol.* **42**, 625-631.
14. Brian, K. T. and Skadson, R. W. (1996) Molecular cloning and Characterization of a Gibberellin-inducible, putative α -glucosidase gene from Barley. *Plant Molecular Biology* **30**, 229-241.
15. Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H. and Provenzano, M. D. (1985) Measurement of Protein using Bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* **150**, 76-85.

Production of Ascorbic acid-2-Glucoside from Ascorbic acid with Rice α -Glucosidase

Sung-Kyoon Kim, Ki-Chul Hwang, and Won-Gi Bang*(*Department of Agricultural Chemistry, Korea University, Seoul 136-701, Korea*)

Abstracts : For the enzymatic production of 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid (AA-2G) from ascorbic acid, rice seed was used as the source of α -glucosidase having transglucosylation activity. Among six rice varieties, cultivated in Korea, α -glucosidase activity of *Oryza sativa* L. cv. Ilpumbyeo was the highest with 125.03 unit/ml and it had maximum specific activity with 8.52 unit/mg protein when rice seeds were grown for 3 days after germination. For the production of AA-2G using crude extract of *O. sativa* L. cv. Ilpumbyeo, maltose was most effective glucose donor. The optimum concentration of maltose and ascorbic acid were 125 mM and 175 mM, respectively. The optimum concentration of α -glucosidase was 100 unit. The most effective buffer was 100 mM sodium citrate. The optimum pH and temperature were 5.0 and 60°C, respectively. Under the optimum condition, 108.43 μ M/unit of AA-2G was produced from ascorbic acid after 35 minutes of reaction, which corresponds to 6.2% of conversion ratio based on the amount of ascorbic acid used.

Key words : ascorbic acid, ascorbic acid-2-glycoside, α -glucosidase, rice seed

*Corresponding author