

## 새로운 endo-inulinase를 이용한 치커리 추출물로 부터 Inulo올리고당의 생산

강수일 · 김수일\*

서울대학교 농업생명과학대학 농화학과 및 농업 생물 신소재 연구 센터

**초록 :** 치커리 추출액으로부터 올리고당을 생산하기 위하여 산과 효소에 의한 가수분해를 실시하였다. 이온교환 수지를 통과한 당용액을 가수분해 시킨 결과 중합도 3~5인 올리고당의 함량은 55°C에서는 가수분해 12분에, 65°C에서는 6분에 총당의 26% 내외에 도달한 후 30분까지 거의 변하지 않았다. 30분 처리로 fructose, glucose 및 sucrose는 55°C에서는 총당의 24.6%, 65°C에서는 50.3%로 증가하고, 중합도 6 이상의 당은 총당의 49.5%, 23.0%로 각각 감소하여 산가수분해는 당중합도에 비선택적인 것으로 나타나 올리고당 생산방법으로는 부적합하였다. *Arthrobacter* sp. S37의 정제 endo-inulinase를 사용하여 치커리 추출액을 40°C에서 가수분해한 결과 18시간 가수분해물의 당조성은 inulobiose(F2)를 포함한 중합도 3~5의 올리고당이 총당의 66.1%, 중합도 6 이상이 23.0%, fructose, glucose 및 sucrose가 10.9%이었다. 가수분해된 fructose, glucose 및 sucrose 함량이 9.6%인 것을 감안하면 본 효소에 의한 가수분해는 고중합도의 당이 올리고당으로 선택적으로 전환되는 것으로 나타났다. 가수분해에 사용되는 조효소와 정제효소의 차이를 알아보기 위하여 중합도 1~2의 당들을 제거한 치커리당액을 각각 두 효소로 가수분해하였다. 정제 효소로 가수분해한 것과는 달리 조효소에 의한 18시간과 44시간 가수분해물에서는 fructose, F2 및 GF2가 검출되었으며 또한 F4의 생성이 가수분해 초기(2~8시간)에서 훨씬 빨랐다. 두 효소의 44시간 가수분해물은 총당의 72%가 올리고당이었으며 올리고당의 주요 구성당은 F2, F3, F4의 inulo올리고당으로 총당의 51.3~64.3%를 차지하였다. 따라서 endo-inulinase에 의한 가수분해는 효과적인 올리고당 생산방법으로 판단된다.(1996년 10월 29일 접수, 1996년 12월 20일 수리)

### 서 론

Fructose가  $\beta$ -2,1 연결로 중합된 올리고당은 sucrose에 fructose가 중합된 fructo올리고당과 fructose만으로 중합된 inulo올리고당으로 나눌 수 있다. 이들 중 비소화성 감미료로 여러가지 기능성이 있는 fructo올리고당은 현재 sucrose로부터 효소적 방법에 의해 생산, 이용되고 있으나 동일한 기능성을 보유하고 있는 inulo올리고당의 다량생산은 체계화 되어 있지 않다.<sup>1-4)</sup> Inulo올리고당은 fructo올리고당과 달리 이눌린을 산 또는 효소 가수분해하여 생산되는데 이때 inulo올리고당 이외에 fructo올리고당과 glucose, fructose 및 sucrose 등이 함께 생산된다.<sup>5-7)</sup> 따라서 inulin으로부터 inulo올리고당을 효과적으로 생산하기 위하여는 inulin을 부분적으로 가수분해하여 fructose나 glucose, sucrose의 생산이 적은 선택적 가수분해 방법을 개발하는 것이 필요하다. 본 연구에서는 inulin이 다량 함유된 치커리 당추출물로부터 효율적으로 올리고당을 생산하기 위하여 이미 선발된 *Arthrobacter* sp. S37 균주로부터 생산, 정제된 endo-inulinase로 치커리 당추출액을 가수분해하여 올리고당의 생산을 조사하였으며 이를 산가수분해 방법과 비교하였다.

### 재료 및 방법

#### 가수분해용 치커리 추출물의 제조

산가수분해용 치커리 추출물은 서울대학교 농업생명과학대학 농화학과 실험포장에서 재배하고 있는 품종인 Orchies Non Rcrites를 1995년 12월 21일에 수확하여 세척하고 절단한 후 마쇄와 추출과정을 거쳐 제조하였다. 시료와 온수(83°C)를 1:1(w/v)로 섞은 후 Waring blender를 사용하여 마쇄하였으며 마쇄물을 100°C에서 1시간 동안 가열하여 당을 추출하였다. 추출액을 거즈로 거른 후 여액을 12,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 상정액을 산가수분해에 사용하였으며 상정액의 pH는 5.53, 당농도는 10.6° Brix이었다. 효소 가수분해용 치커리 추출물은 강원도 인제에서 1995년 11월에 수확한 치커리로부터 산가수분해용 치커리 당추출물과 동일한 방법으로 제조하였으며 중합도(DP, Degree of Polymerization) 1~2의 당이 제거된 치커리 당액은 치커리당 추출물로부터 Bio-gel P-2 column chromatography<sup>8)</sup>를 사용하여 제조하였다.

#### Endo-inulinase의 생산 및 분리

Endo-inulinase는 김 등<sup>9)</sup>의 방법에 따라 *Arthrobacter* sp. S37로부터 생산하였다. 조효소는 균체 배양상정액을 80% ammonium sulfate 포화 침전후 0.05M Tris-HCl buffer(pH 7.5)로 녹이고 동일 buffer에 투석하여 제조하였다. 조효소액은 DEAE-cellulose ion exchange chro-

찾는말 : Inulo올리고당 생산, 치커리(*Cichorium intybus* L.), 산가수분해, Endo-inulinase, *Arthrobacter* sp. S37

\*연락처

matography로 세개의 분획으로 분리되었으며 이 중 endo-inulinase 활성 보유 분획을 모아 가수분해용 정제 효소로 사용하였다. DEAE-cellulose ion exchange chromatography는 0.05M Tris-HCl pH7.5 buffer로 평형시킨 DEAE-cellulose column(3.2 cm×14 cm)에 조효소액(1060 units, 37.9 mg protein)을 주입하고 동일 buffer로 용출한 후 0~0.5M NaCl gradient로 용출하였다. 이때 유속은 18 ml/h로 유지하였고 10분에 한 분획씩을 받아 280 nm에서의 흡광도와 효소 활성을 측정하였다.

### 효소 활성

효소활성은 50 mM Tris-HCl(pH 7.5)에 녹인 2% inulin 용액 0.4 ml에 효소액 0.6 ml를 첨가하여 50°C에서 10분 동안 반응시킨 후 환원당을 정량하여 측정하였으며 효소단위는 위 조건에서 효소액 1.0 ml가 1분에 1 μmole의 환원당을 생성하는 것을 1 unit로 하였다.

### 가수분해

#### (1) 산가수분해

치커리 당추출액을 양이온교환수지인 Amberlite 200C column (4.3×50 cm, H<sup>+</sup>, Rohm & Haas)에 주입한 후 1 bed volume/hr의 유속으로 통과시켜 얻은 용출당액을 12 ml 용량의 시험관에 8 ml씩 넣고 55°C와 65°C 수조에서 일정 시간 동안 가수분해하였으며 가수분해액의 pH를 5.3~5.9로 조정 후 HPLC<sup>10)</sup>로 당조성을 분석하였다.

#### (2) 효소가수분해

치커리 당추출액(22.6° Brix, 32.8 ml)과 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.5, 33 ml)를 섞은 후 정제효소(26.94 units/ml, 4.1 ml)를 15 units/g 총당의 비율로 첨가하여 40°C에서 44시간 가수분해하면서 시간별로 가수분해 산물의 총당량, 환원당량 및 당조성을 분석하였으며 환원당량의 총당량에 대한 백분율을 계산하여 가수분해정도를 나타내었다. 중합도 1~2의 당들이 제거된 치커리당의 가수분해에서는 Bio-gel P2 column을 통과시킨 치커리당 추출액(11.0 Brix, 1.2 ml)과 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.5, 0.237 또는 0.225 ml)를 섞은 후 조효소(31.95 units/ml, 0.037 ml) 또는 정제효소(26.94 units/ml, 0.038 ml)를 7 units/g 총당의 비율로 첨가하고 상기 조건과 동일하게 가수분해하면서 시료를 분석하였다.

### 분석 방법

총당은 fructose를 표준으로 한 anthrone법<sup>11)</sup>을, 환원당은 DNS법<sup>12)</sup>을 사용하여 정량하였다. TLC는 1-propanol : ethyl acetate : water (2 : 2 : 1, v/v)를 전개용매로 사용하여 김<sup>13)</sup>의 방법에 따라 행하였으며 high performance liquid chromatography(HPLC)는 TOSOH SC8010 HPLC로 강 등<sup>10)</sup>의 방법에 따라 행하였다. 중합도 1~2의 당들의 제거는 Bio-gel P-2 column chromatography로 강 등<sup>8)</sup>의 방법에 따라 행하였다. High pH anion exchange chromatography(HPAEC)에 의한 당조성 분석은 Waters 600S con-

troller를 사용하여 실시하였으며 당의 검출은 Waters 464 pulsed electrochemical detector(PED)를 이용하였다. Column은 CarboPac PA1(4×250 mm) column(Dionex, Sunvayle, CA94086)을 사용하였다. 당의 분리는 7분간 100 mM NaOH로 용출한 후 67분동안 NaOH와 sodium acetate를 100 : 0 mM에서 100 : 600 mM로 직선농도구배로 용출하여 실시하였으며 이때 유속은 1.0 ml/min으로 하였다. Pulse의 전위는 각각 0.3, 0.12, 0.3 초동안 0.1, 0.6, -0.8 V로 하였다. 당농도는 hand refractometer (Nippon Optical Works Co., Ltd., Japan)을 이용하여 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 산가수분해

당농도 10.6° Brix, pH 5.53인 치커리 추출액을 양이온 교환수지를 통과시켜 9.4° Brix, pH 1.67인 당용액을 얻었으며 이의 당조성은 단당이 7.4%, 중합도 2의 당이 7.4%, 중합도 3~5의 당들이 18.0%, 중합도 6이상의 당들이 67.2%인 것으로 나타났다. 이를 55°C 및 65°C에서 산가수분해하면서 시간에 따른 당조성을 HPLC로 분석한 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

올리고당인 중합도 3~5의 당함량은 55°C 산가수분해에서는 반응 12분에 총당의 26.9%, 65°C 산가수분해에서는 반응 6분에 26.0%로 최고치를 나타내었다. 이때 중합도 6이상의 당함량은 각각 54%, 52.3%로 가수분해전의 67.2%에 비하여 19.6%, 22.2%의 낮은 가수분해정도((가수분해전 중합도 6이상 당량-가수분해후 중합도 6이상 당량)/ 가수분해전 중합도 6이상 당량×100)를 보였다. 중합도 6이상인 당의 가수분해정도는 각각 가수분해 12분 및 6분 이후 가수분해 시간이 증가하면서 높아져서 반응 30분에 55°C에서는 26.3%, 65°C에서는 65.8%에 달했으나 같은 시간동안 올리고당 함량은 25~26% 내외로 별 변동이 없었고 fructose, glucose 및 sucrose로 이루어진 중합도 1~2의 당함량은 14.8%에서 55°C에서는 12분에 19.1%, 30분에 24.6%로, 65°C에서는 12분에 21.7%, 30분에 50.3%로 각각 최고 1.7배 또는 3.4배 증가하였다. 이러한 결과는 중합도 6이상의 당의 가수분해가 진행됨과 동시에 중합도 3~5의 올리고당도 중합도 1~2인 당으로 가수분해되는 것을 의미하는 것으로 이눌린을 이용한 올리고당 생산 방법으로는 산가수분해방법이 부적합한 것으로 생각된다.

### 정제 효소에 의한 가수분해

1995년 11월에 수확한 치커리의 추출액을 *Arthrobacter* sp. S37 균주로 부터 생산, 정제된 endo-inulinase로 40°C에서 44시간동안 가수분해하면서 시간에 따른 환원당량 및 당 조성변화를 조사하였다. 환원당량은 가수분해 6시간까지 급격히 증가하여 총당의 24.5%에서 66.5%에 이르렀으며 최종적으로는 76.3%에 달하여 3배 이상 증가하였다(Fig. 2).

이들 가수분해물의 당조성을 TLC로 정성 분석한 결과 반응 6시간부터 고중합도의 당들이 현저히 감소되고 반대

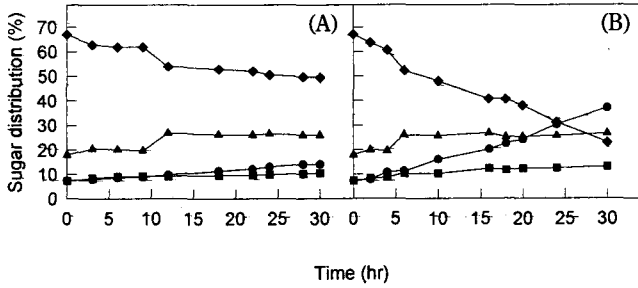


Fig. 1. Changes in carbohydrate composition of chicory extracts during acid hydrolysis at 55°C(A) and 65°C(B). ●—●, DP 1; ■—■, DP 2; ▲—▲, DP 3-5; ◆—◆, DP 6.

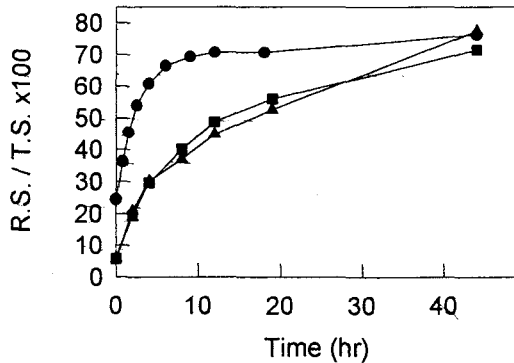


Fig. 2. Hydrolysis of chicory extracts with purified endo-inulinase (●—●) and chicory extracts without DP 1 and DP 2 with crude (■—■) and purified (▲—▲) endo-inulinase from *Arthrobacter* sp. S37.

로 가수분해 산물인 inulotriose(F3), inulotetraose(F4), inulopentaose(F5)가 크게 증가되는 것으로 나타났다(Fig. 3). 산가수분해시 증가하는 fructose 및 glucose의 양은 가수분해 18시간까지 거의 변화되지 않았고 sucrose는 생산되지 않았으나 중합도 2인 F2는 가수분해 44시간에 현저히 증가하였다.

이러한 당조성 변화를 HPAEC로 정량 분석한 결과는 Table 1에 나타내었다. 중합도 6 이상의 당은 총당의 83.5%에서 가수분해 9시간만에 46%, 18시간에는 72%가 가수분해되었으며 F2 및 중합도 3~5의 올리고당은 18시간에 총당의 66.1%에 도달하였다. 생산된 올리고당은 F3, F4, F5의 inulo올리고당 76.2%와 1-kestose(GF2), 1-nystose(GF3), 1-F-fructofuranosylnystose(GF4)의 fructo올리고당 29%로 구성되어 있었다. 산가수분해와는 대조적으로 glucose, fructose, sucrose의 함량은 9.6%에서 10.9%로 거의 변화하지 않았다.

조효소와 정제 효소의 가수분해 양상 비교

*Arthrobacter* sp. S37에서 생산되는 효소를 이용하여 치커리 추출물로부터 올리고당을 생산하는데 있어 조효소와 정제효소를 사용하는 것의 차이를 비교하기 위하여 Bio-gel P-2 column chromatography로 중합도 1~2의 당들을 제거한 치커리당액을 기질로 하고 조효소와 정제 효소를

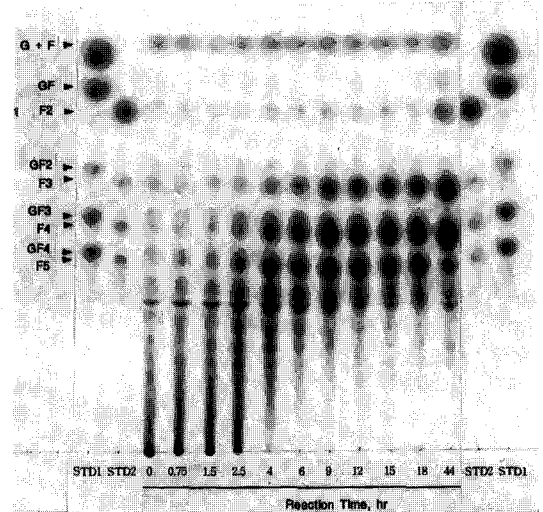


Fig. 3. Thin layer chromatogram of carbohydrates of chicory extracts hydrolysed with purified endo-inulinase from *Arthrobacter* sp. S37 STD 1 : fructose(F), sucrose(GF), 1-kestose(GF2), 1-nystose(GF3) and 1-F-fructofuranosylnystose(GF4). STD 2 : inulobiose(F2), inulotriose(F3), inulotetraose(F4) and inulopentaose(F5).

사용하여 가수분해를 실시하였다. 가수분해 정도를 환원당량으로 나타낸 결과 두 효소 간의 차이는 없었으며 18시간 가수분해로 5.9%에서 53~56%로 9배 이상 증가하였다(Fig. 2).

이들 가수분해물의 당조성을 TLC로 정성 분석한 결과 가수분해 12시간에 대부분의 고중합도의 당이 올리고당으로 전환되는 양상을 보였다. 정제 효소와 조효소의 차이는 조효소 사용시 F4의 생성 속도가 반응 초기(2~8시간)에서 정제 효소 사용할 때보다 훨씬 빠르며 또한 반응 18~44시간에서 정제 효소 가수분해물에서는 보이지 않는 중합도 1의 당 및 F2가 검출되는 점이다(Fig. 4-a, b). 이러한 차이점은 HPAEC에 의한 정량 분석에서도 확인되었다(Table 2). F4 함량은 반응 8시간에서 조효소 가수분해물의 경우 12.5%인데 비하여 정제효소에서는 5.9%이었으며, fructose와 F2는 반응 18시간에 조효소의 경우 각각 1.9%, 1.8%, 44시간에 3.1%, 5.3%이었으나 정제 효소에서는 이들이 검출되지 않았다. 또한 정제 효소 가수분해물에서는 fructose와 inulobiose(F2) 이외에 glucose, sucrose 및 GF2도 검출되지 않았다. 조효소나 정제 효소 사용에 따른 이러한 가수분해물의 당조성 차이는 정제 효소에는 inulin의 내부를 무작위 절단하는 endo-inulinase만이 존재하는 반면 조효소에는 endo-inulinase외에 inulin을 비환원 말단에서부터 fructose단위로 절단하는 exo-inulase가 포함되어 있다는 것을 의미하며 이러한 사실은 DEAE-cellulose ion exchange chromatography에 의해 분리된 분획의 효소성질을 조사함으로써 확인되었다.<sup>14)</sup> 두효소의 경우 모두 중합도 6이상의 당이 총당의 95% 이상에서 가수분해 18시간에 59% 내외로, 가수분해 44시간에 20% 내외로 되어 각각 38%와 78%가 올리고당으로 전환되었으며 올리고당의 함량은 총당의 39.1%와 79%에 달하였다. 가수분해 최종산물의 당조성을 보면 조효소의 경우 glucose, fructose가 총당

Table 1. Changes in the percentage distribution of carbohydrates during hydrolysis of chicory extracts with purified endo-inulinase from *Arthrobacter* sp. S37

Time (hr)	G	F	GF	F2	GF2	F3	GF3	F4	GF4	F5	G~GF <sup>a</sup>	F2~F5 <sup>b</sup>	≥DP6
0	3.6	5.3	0.7	1.0	0.5	2.0	0.7	1.0	0.8	0.9	9.6	7.3	83.5
6	3.6	6.2	0.9	1.5	0.7	7.2	4.2	10.9	5.6	14.2	10.7	44.2	45.1
18	3.9	6.2	0.8	1.7	1.2	16.0	6.2	18.2	6.6	16.2	10.9	66.1	23.0

<sup>a</sup>: G~GF; sum of glucose(G), fructose(F) and sucrose(GF), <sup>b</sup>: F2~F5; sum of inulobiose(F2), 1-kestose(GF2), inulotriose(F3), 1-nystose(GF3), inulotetraose(F4), 1-F-fructofuranosylnystose(GF4) and inulopentaose(F5)

Table 2. Changes in the percentage distribution of carbohydrates during hydrolysis of chicory extracts without DP 1 and 2 with crude or purified endo-inulinase from *Arthrobacter* sp. S37

Enzyme	Time (hr)	G	F	GF	F2	GF2	F3	GF3	F4	GF4	F5	G~GF	F2~F5	≥DP6
Crude	0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.3	0.6	0.5	1.2	0.8	0.8	0.0	4.4	95.6
	8	0.0	0.6	0.0	0.9	0.6	3.1	2.1	12.5	2.6	4.2	0.6	26.0	73.4
	18	0.0	1.9	0.0	1.8	1.5	5.0	3.2	21.0	1.2	5.4	1.9	39.1	59.0
	44	2.7	3.1	0.0	5.3	9.3	16.8	5.1	28.8	1.3	5.7	5.8	72.3	21.9
Purified	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.6	1.1	0.9	1.0	0.0	4.1	95.9
	8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.7	4.0	5.9	6.0	11.4	0.0	30.0	70.0
	18	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.9	4.4	11.2	6.1	12.6	0.0	41.2	58.8
	44	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	19.9	8.5	22.7	6.4	21.7	0.0	79.2	20.8

DP 1, glucose(G) and fructose(F); DP 2, sucrose(GF).

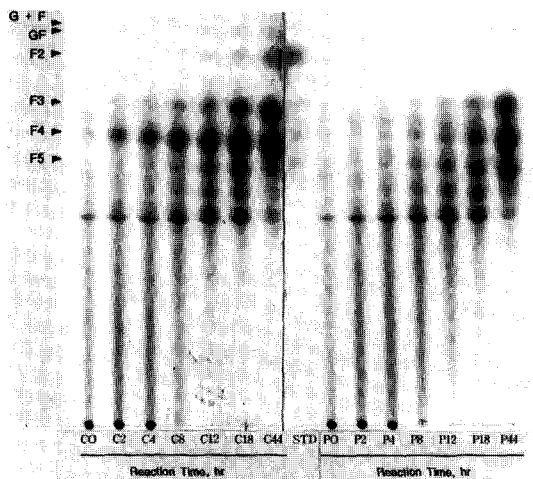


Fig. 4. Thin layer chromatogram of carbohydrates of chicory extracts without DP 1 and DP 2 hydrolysed with crude(A) and purified endo-inulinase(B) from *Arthrobacter* sp. S37. STD : Inulobiose(F2), inulotriose(F3), inulotetraose(F4) and inulopentaose(F5).

의 5.7%를 점유하나 올리고당 함량이 72.3%로 정제효소의 79.2%에 비하여 큰 차이가 없으므로 효소의 정제에 소요되는 시간 및 비용을 고려할 때 치커리 당추출물 가수분해에는 조효소의 사용도 바람직한 것으로 생각된다. 조효소의 경우 GF2, GF3 및 GF4의 fructo올리고당의 함량은 총당의 15.7%, 전체 올리고당의 21.7%, F2, F3, F4 및 F5의 inulo 올리고당의 함량은 총당의 56.6%, 전체 올리고당의 78.3% 이었고 정제효소의 경우는 GF2, GF3 및 GF4의 fructo 올리고당의 함량은 총당의 14.9%, 전체 올리고당의 18.8%, F2, F3, F4 및 F5의 inulo 올리고당의 함량은 총당의 64.3%, 전체 올리고당의 81.2%에 달하였다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 치커리 당추출물로부터

올리고당을 생산하기 위하여는 산가수분해방법보다는 본 실험실에서 개발한 *Arthrobacter* sp. S37에서 생산되는 endo-inulinase를 사용하는 것이 매우 효과적인 것으로 판단되었다.

### 감사의 글

본 연구는 1995년도 과학기술처 지원과 한국과학재단 지정 농업생물신소재 연구센터의 부분적 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

### 참고 문헌

- Hidaka, K., T. Eida, T. Takizawa, T. Tokunaga and Tashiro (1982) Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health, *Bifidobacteria Microflora*, **1**, 3-24.
- McKellar, R. C. and H. W. Modler (1989) Metabolism of fructooligosaccharides by *Bifidobacterium* sp., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **31**, 537-541.
- Yamazaki, H. and N. Dilawri (1990) Measurement of growth of *bifidobacteria* on inulofructosaccharides, *Letters in Appl. Microbiol.*, **10**, 229-232.
- Yamawa, K. and Z. Tamura (1982) Search for sugar sources for selective increase of *Bifidobacteria*, *Bifidobacteria Microflora*, **1**, 39-44.
- Norman, B. E. and B. Hojer-Pedersen (1989) The production of Fructooligosaccharides from Inulin or Sucrose Using Inulinase or fructosyltransferase from *Aspergillus ficuum*, *Denpun Kagaku*, **36**, 103-111.
- Yamazaki, H. and K. Matsumoto, (1993) In 'Inulin and Inulin-containing Crops', Fuchs, A., p65-75, ELSEVIER, Amsterdam, Netherland.

7. Vogel, M., (1993) In 'Inulin and Inulin-containing Crops', Fuchs, A., p355-357, ELSEVIER, Amsterdam, Netherland.
8. 강수일, 김수일 (1993) *Enterobacter* sp. S45에 의한 Inulin fructotransferase의 생산. 한국산업미생물학회지 **21**(1), 36-40.
9. 김경연, 강수일, 김수일 (1996) 새로운 endo-inulinase 생산 균주의 선발 및 효소의 생산, 한국농화학회지, **39**(2), 99-103.
10. 강수일, 한종인, 김경연, 오선진, 김수일 (1993) High performance liquid chromatography에 의한 fructo 및 inulo을 리고당의 정량. 한국농화학회지 **36**(4), 310-314.
11. Weiner, J. (1978) Determination of Total Carbohydrate in Beer. *J. Inst. Brew.* **84**, 222.
12. Miller, G. L., (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Anal. Chem.*, **31**, 426-428.
13. 김수일, 하영주 (1992) *Streptomyces* sp. S56이 생산하는 Endoinulase의 정제 및 특성. 한국산업미생물학회지 **20**(5), 551-558.
14. 김경연 (1995) *Arthrobacter* sp.가 생산하는 Endo형 Inulinase의 고정화. 서울대학교 석사 학위논문.

---

Production of Inulo-oligosaccharides from Chicory(*Cichorium intybus*, L.) with Endo-inulinase from *Arthrobacter* sp. S37

Su-II Kang and Su-II Kim\* (*Department of Agricultural Chemistry and Research Center for New Bio-materials in Agriculture, College of Agriculture and Life Science, Seoul National University, Savon 441-744, Korea*)

**Abstract :** For the effective production of functional oligosaccharides(DP 3-5) from inulin in chicory extracts, the acid hydrolysis and enzymatic endo-inulinase reaction were compared. Acid hydrolysis was unfavorable ; the content of oligosaccharides in total sugar increased to 26.0% for 12 min at 55°C and 24.6% at 6 min at 65°C and showed little change for 30 min. The content of high DP(DP 6) decreased from 83.5 to 49.5% and 23.0% for 30 min, respectively. Glucose, fructose and sucrose increased to 24.6% and 50.3%, respectively. Hydrolysis of chicory extracts with purified endo-inulinase from *Arthrobacter* sp. S37 was carried out at 40°C and pH 7.5 for 44 hrs. The content of high DP(DP≥6) in total sugar decreased from 83.5 to 23.0% and that of inulobiose(F2) and DP 3-5 increased to 66.1%. Glucose, fructose and sucrose were not produced. The hydrolysis of chicory extracts without DP 1 and DP 2 with crude or with purified enzyme were also carried out. In contrast to the hydrolysate of crude enzyme, that of purified endo-inulinase did not contain glucose, fructose, sucrose, F2 and 1-kestose(GF2). The content of oligosaccharides in the hydrolysate of the purified endo-inulinase were 79.2%, composed mainly of inulotriose(F3), inulotetraose(F4) and inulopentaose(F5), which shows that the enzymatic hydrolysis using purified endo-inulinase from *Arthrobacter* sp. S37 is the best method for oligosaccharides production from inulin in chicory extracts.

---

**Key words :** Production, Inulo-oligosaccharides, Chicory(*Cichorium intybus*, L.) Acid hydrolysis, Endo-inulinase, *Arthrobacter* sp. S37

\*Corresponding author