

호알칼리성 *Streptomyces* sp. B-2의 Glucose Isomerase 생성조건

이 은 숙
경산대학교 한의예과

Formation of Glucose Isomerase from Alkalophilic *Streptomyces* sp. B-2

Eun-Sook Lee

Department of Preparatory Oriental Medicine, Kyungsan University

ABSTRACT

Studies on the glucose isomerase produced by alkalophilic *Streptomyces* sp. B-2.

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 maximum enzyme activity was found at glucose concentration 4(g/ℓ), xylose concentration 6(g/ℓ), magnesium ion 1.0(g/ℓ), yeast extract concentration 2.0(g/ℓ), peptone concentration 3(g/ℓ).

Key words: Glucose isomerase, *Streptomyces* sp. B-2.

I. 서론

포도당 이성화효소(glucose isomerase; G.I.)는 D-glucose를 D-fructose로, xylose를 xylulose로 이성화시키는 효소이다^{1,2)}. G.I.(E.C. 5.3.1.5.)는 고과당시럽(HFS)을 제조하는데 이용되는 산업적으로 중요한 효소의 하나이다³⁾. 고과당시럽은 1970년 대 초 설당가격의 폭등으로 인한 감미료의 대체재로 주로 이용되었으나 최근 그와 아울러 고과당시럽의 독특한 물성으로 식품에서의 이용이 점차 높아지고

있다⁴⁾. G.I.를 생산하는 균으로는 약 50여종이 알려져 있으나⁵⁾ *Bacillus coagulans*⁶⁾, *Lactobacillus* sp.⁷⁾, *Actinoplanes missouriensis*⁸⁾, *Streptomyces griseolous*⁹⁾, *Streptomyces olivaceus*¹⁰⁾만이 공업적으로 이용되고 있다. 최근 유전공학적 방법으로 G.I.의 생산을 증가시키려는 시도가 있었지만 실제로 이용되고 있지는 못한 실정이다.^{11~14)} 미생물이 생산하는 G.I.에 대한 대부분의 연구는 약산성 내지 중성 미생물에 의한 보고만 있을 뿐 호알칼리성 방선균이 생산하는 G.I.에 대한 보고는 거의 없다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 균주

균주는 경상 일대의 밭에서 채취한 토양에서 분리한 *Streptomyces* sp.이다. 이 균주는 G.I.를 생성하는 호알칼리성 방선균이다.

2. 균의 배양

배지로써 특징적인 것은 Na_2CO_3 를 별도로 멸균하여 1% 수준으로 첨가하여 pH를 10.5로 맞추어 알칼리성이 되게 하였다.

G.I. 생성을 위해 사용된 배지 조성은 Table 1과 같다.

3. 효소활성 측정

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

Table 1. Medium composition of the glucose isomerase by the alkalophilic *Streptomyces* sp. B-2

	(g / ℓ)
Glucose*	4.0
Xylose*	6.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.0
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	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

Separately sterilized*

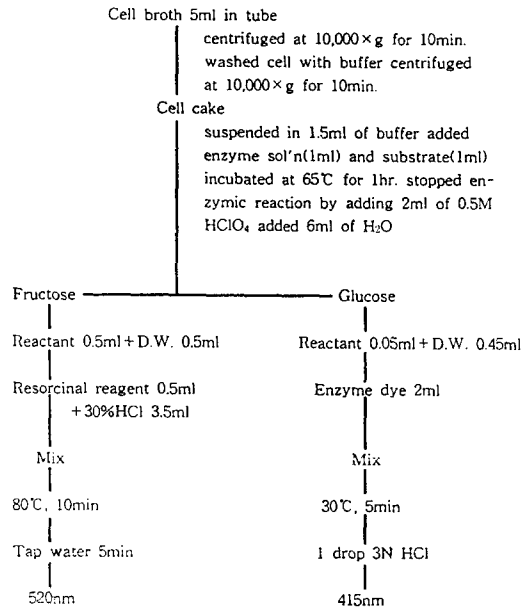


Fig. 1. Procedure for determination of glucose isomerase activity by resorcinol method. Substrate, 0.05M phosphate buffer (pH 7.2) +0.05M glucose+0.05M $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ +1.0mM $\text{CoCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ Buffer, 0.15M phosphate buffer (pH 7.2) Resorcinol reagent, glacial acetic acid 100ml +thiourea 0.25g+resorcinol 0.1g Enzyme dye, O-dianisidine 17.5mg+0.1M acetate buffer (pH 5.0) 100ml.

4. Glucose isomerase 생성조건

1) Xylose 농도의 효과

Table 1과 같은 조성의 배지에 xylose의 농도를 2-10(g / ℓ)으로 맞추어서 *Streptomyces* sp. B-2를 배양하여 glucose isomerase activity를 측정하였다.

2) Glucose 농도의 효과

Table 1과 같은 조성의 배지에 glucose의 농도만을 달리하여 *Streptomyces* sp. B-2를 배양하여 glucose isomerase activity를 측정하였다.

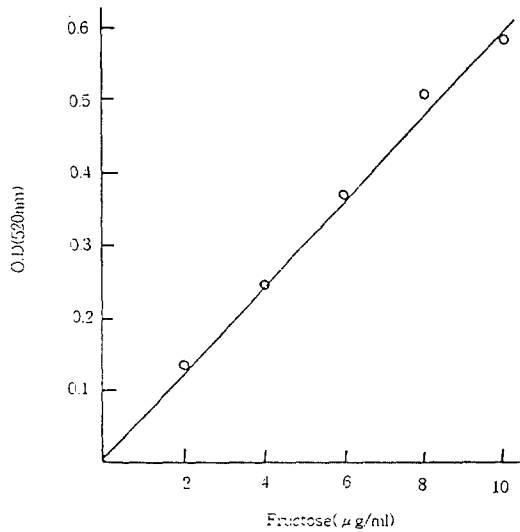


Fig. 2. Standard curve for determination of fructose by resorcinol method.

3) Magnesium ion의 영향

Streptomyces sp. B-2의 glucose isomerizing enzyme이 Mg^{2+} 에 대하여 어떤 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 Mg^{2+} 농도를 각각 달리하여 G.I.의 활성을 조사하여 보았다.

Mg^{2+} 효과를 조사하기 위하여 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 를 사용하였다.

4) Yeast extract 농도의 효과

Table 1과 같은 조성의 배지에 yeast extract의 농도를 0.5~3(g/ℓ)으로 맞추어서 *Streptomyces* sp. B-2를 배양하여 glucose isomerase activity를 측정하였다.

5) Peptone 농도의 효과

Table 1과 같은 조성의 배지에 peptone 농도를 1.0~5.0(g/ℓ)으로 맞추어서 *Streptomyces* sp. B-2를 배양하여 glucose isomerase activity를 측정하였다.

1. Glucose isomerase 생성조건

Glucose isomerase 생성이 가장 좋은 배양 조건을 조사하기 위하여 xylose, glucose, magnesium ion, yeast extract, peptone 등의 영향에 대하여 조사를 하였다.

1) Xylose concentration의 효과

Xylose 농도에 따른 G.I. 생성을 검토한 결과는 Table 2와 같다. 농도가 6(g/ℓ)일때 G.I. 생성이 최고치를 보였다.

Table 2. Effects of xylose concentration on the glucose isomerase activity

Xylose(g/ℓ)	Enzyme activity(unit/ml)
2	8.2
4	11.6
6	13.8
8	12.6
10	9.2

2) Glucose 농도의 효과

Glucose 농도가 4(g/ℓ)일때 가장 효과적이었다.

Table 3. Effects of glucose concentration on the glucose isomerase activity

Glucose(g/ℓ)	Enzyme activity(unit/ml)
1	8.6
2	9.6
4	13.4
6	10.6
8	9.8

3) Magnesium ion의 영향

Magnesium ion의 영향은 Fig. 3과 같다.

4) Yeast extract concentration의 효과

Yeast extract 농도의 효과를 알아본 결과는 Fig. 4와 같다.

III. 결과 및 고찰

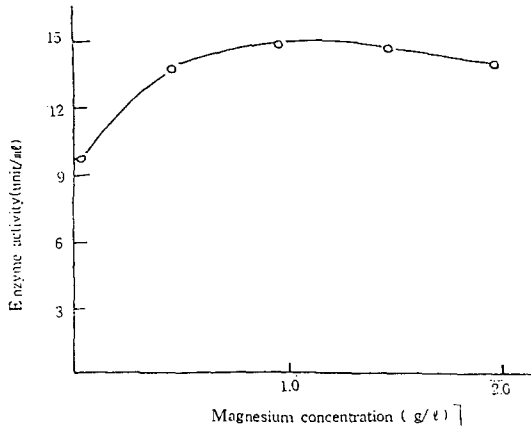


Fig. 3. Effect of magnesium ion concentration on glucose isomerase activity.

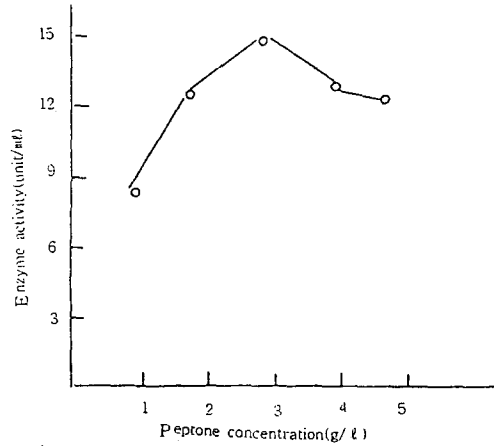


Fig. 5. Effect of peptone concentration on glucose isomerase activity.

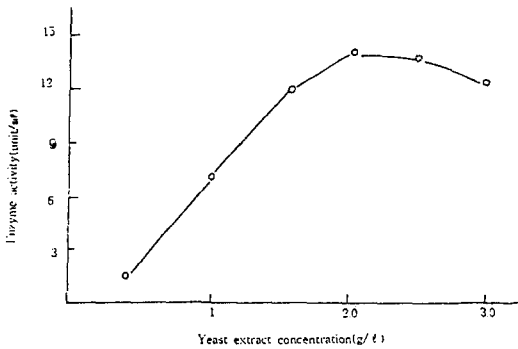


Fig. 4. Effect of yeast extract concentration on glucose isomerase activity.

5) Peptone concentration의 효과

Streptomyces sp. B-2의 glucose isomerase 생성에 대한 peptone 농도의 효과는 Fig. 5와 같다.

IV. 요약

호 알칼리성 방선균인 *Streptomyces* sp. B-2가 생성하는 glucose isomerase의 생성조건을 검토하였다.

Glucose isomerase(G.I.)는 high fructose glucose syrup과 fructose의 생산을 위해서 식품 공업에서 아주 중요시 되고 있다.

균주는 토양에서 채취한 시료에서 분리 동정한 호 알칼리성 방선균인 *Streptomyces* sp. B-2를 사용하였다.

G.I. 생성조건을 검토한 결과 xylose농도 6(g/l), glucose농도 4(g/l), magnesium ion 1.0(g/l), yeast extract 농도 2.0(g/l), peptone 농도 3(g/l)이 최적 생성조건으로 나타났다.

V. 참고문헌

- Gong, C. S., Chen, L. F. & Taso, G. T.: Biotechnol. Bioeng. 12, 833-845, 1980.
- Takasaki, Y., Kosugi, Y. & Kanbayshi, A.: Agric. Biol. Chem. 33, 1527-1534, 1969.
- Chen, W. P : Process Biochemistry, June /July, 30, 1980.
- Van Tilburg, R. Sterch: Conversion Technology Marcel Dekker Inc, 175-236, 1985.
- Vaheriand, M. and Kauppinen : Process Biochemistry, July /Aug, 5, 1977.
- Danno, G., Yoshimura, S. and Natake, M. : Agr. Biol. Chem., 31(3), 284, 1967.
- Yamanaka, K. : Agr. Biol. Chem, 27, 271, 1963.

8. Anheuser-Busch Inc. : British Patent 1, 399, 408, 1975.
9. Sipos, T. and Hill, M. : U. S. Patent 3, 708, 397, 1973.
10. Brownwell, C. E. : German Patent, 2018058, 1971.
11. Wevcha, M. G., Stenerwald, D. L., and Brooks, K. E. : Appl, Environ. Microb., 45, 1402, 1983.
12. Schellenberg, 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.
13. Kho, Y. H. : Kor. J. Microb. Bioeng, 12 (3), 253, 1984.
14. Shim, M. K. and Kho, Y. H. : The Kor. J. Microb. , 23(3), 138, 1985.