

## 새로운 endo-inulinase 생산 균주의 선발 및 효소의 생산

김경연<sup>2</sup> · 강수일<sup>1</sup> · 김수일<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 농업생명과학대학, <sup>2</sup>목감생명공학연구소

**초록** : 토양으로부터 inulin을 기질로 하여 중합도가 큰 oligo당으로 가수분해하는 새로운 endo형 inulinase 생산균주로, *Arthrobacter* sp. S37를 분리, 선발하였다. 본 효소의 생산은 inulin과 돼지감자 추출물에 의해 유도되었으며, 탄소원으로 1.5% 돼지감자 추출물, 유기질소원으로 1.0% yeast extract, 무기 질소원으로 0.5% NaNO<sub>3</sub>를 사용하였을 때 효소 생산이 가장 많았다. 또한 최적 배양 pH와 온도는 각각 pH 8.0과 30°C로 나타났다. 최적 배지와 최적 배양 조건하에서 배양한 결과 배양 24시간에 10.8 units/ml로 최대효소생산을 보였다(1996년 3월 18일 접수, 1996년 4월 16일 수리).

### 서 론

과당 중합체인 inulin을 가수분해하는 효소는 높은 invertase활성을 함께 보유하고있는 exo형 inulase와 invertase활성이 거의 없거나 낮은 endo형 inulase(또는 inulinase)로 구분되고 있다. 이중 inulinase는 inulin내부의 fructose β-2,1 결합을 가수분해하므로 inulooligo당으로 불리는 fructose만의 중합 oligo당과 비환원성 말단에 glucose가 부착된 fructooligo당을 생산한다.

이렇게 생산된 oligo당은 비소화성 감미료, 치아부식 방지, 장내 *Bifidus*균의 증식 등 여러가지 생리적 활성을 지니고 있어 식품, 의약품등의 첨가제로 사용되고 있다.<sup>1</sup>

<sup>4</sup> Fructooligo당은 sucrose로부터 β-fructofuranosidase를 사용, 생산하여 시판되고 있으며 inulooligo당은 inulin을 부분적으로 가수분해하여 생산할 수 있으나 아직 실용화되지 않고 있는 실정이다. Fructooligo당은 중합도가 3인 GF<sub>2</sub>가 주 성분이고 GF<sub>4</sub>의 생산은 적는데 비해 inulooligo당은 GF<sub>4</sub>보다 중합도가 큰 oligo당을 생산할 수 있으며 중합도가 클수록 장내 *Bifidus*균의 증식효과가 더 좋은것이 보고되어 inulooligo당 생산이 기대되고 있다. 효소를 이용하여 inulin으로부터 oligo당을 생산하기 위해서는 효소의 성질이 endo형이어야 하며 또한 생성된 oligo당이 계속 가수분해되어 fructose까지 생산하는 invertase 및 exoinulase의 활성을 갖지 않는 것이 중요하다.

Endo형 inulinase(2,1-β-D-fructanfructanohydrolase, EC 3.2.1.7)는 돼지감자, 다알리아, 민들레 등 식물에서 처음 분리정제되었으며<sup>5-7</sup> *Aspergillus niger*<sup>8,9</sup>, *Streptomyces chibaensis*<sup>10,11</sup>, *Pseudomonas* sp.<sup>12,13</sup>, *Aspergillus ficuum*<sup>14</sup>, *Penicillium purpurogenum*<sup>15</sup>, *Chrysosporium pannorum*<sup>16,17</sup>, *Streptomyces* sp. S56<sup>18,19</sup> 등의 일부 미생물에서 발견되었다. *Aspergillus niger*<sup>9</sup>, *Aspergillus ficuum*<sup>14</sup>, *Penicillium purpurogenum*<sup>15</sup>, *Chrysosporium pannorum*<sup>17</sup> 등에서 분

리된 inulinase는 inulin으로부터 중합도 2-5의 inulooligo당을 생산하나 동시에 fructose를 생산하는 exo형 inulase도 분비하며 *Streptomyces* sp. S56과 *Pseudomonas* sp.는 endo형 inulinase만을 생산하지만 낮은 중합도의 inulooligo당에 대한 친화성이 커 inulin을 분해할 때 fructose가 많이 생산되는 단점이 있다.

본 연구에서는 토양으로부터 낮은 중합도의 oligo당에 친화력을 갖지않는 특이적인 endo형 inulinase를 생산하는 미생물을 분리, 동정하였으며 이의 효율적 효소생산을 위한 배지조성 및 배양조건에 관한 연구를 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### Endo형 inulinase 생산균주의 분리

강원도 인제군에서 채취한 토양시료의 살균수 희석액을 inulin한천배지(inulin 1.5%, NaNO<sub>3</sub> 0.2%, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.05%, KCl 0.05%, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.0016%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05%, agar 1.8%, pH 7.0)에 도포한 후 30°C에서 3일 동안 배양하여 inulin을 이용하는 균주를 1차 선발하였다. 1차 선발된 각 균주를 1% yeast extract를 함유한 상기 조성의 inulin 액체배지에서 30°C, 3일동안 진탕배양한 후 배양상정액의 당조성을 TLC로 분석하여, 배양액내에 fructose는 검출되지 않고 oligo당이 주로 검출되는 균주를 endo형 inulinase 생산균주로 선발하였다. 선발된 균주중 inulinase 활성을 조사하여 효소활성이 높은 균주를 최종 선발하였다.

#### 균주의 동정

선발된 endo형 inulinase 생산균주는 Gram staining, endo-spore staining, acid-fast staining, catalase 및 oxidase 생성검정, 산소요구도 검정, glucose fermentation 검정을 하였으며, 균의 pleomorphism을 전자현미경으로 관찰하

찾는말 : Novel Endo-inulinase Production, *Arthrobacter* sp. S37

\*연락처

고 이 결과를 Bergey's manual of systematic bacteriology에 따라 동정하였다.

### 효소활성측정

Inulinase 활성은 inulin이 분해되어 생성되는 환원당량을 DNS시약<sup>20)</sup>을 이용하여 측정하였다. 즉, 100 mM sodium acetate buffer(pH 5.5)에 녹인 2% inulin 0.4 ml에 동일 buffer에 녹인 효소액 0.6 ml를 섞어 40°C에서 15분 동안 반응시키고 DNS시약 1 ml를 첨가한 후 100°C에서 5분간 가열하여 발색하였다. 발색된 반응액에 10 ml의 증류수를 가하여 희석한 후 550 nm에서의 흡광도를 측정하였으며 fructose를 표준당으로하여 작성한 검량곡선으로부터 생성된 환원당을 정량하였다. 효소 1 unit은 위 조건에서 1 ml 효소액이 1분간 1 μmole의 환원당을 생산하는 것으로 정하였다.

### 효소 생산 조건

효소 생산에 미치는 탄소원의 영향은 inulin 액체배지 중 유일 탄소원으로 inulin, 돼지감자추출물, sucrose, soluble starch, glucose, fructose를 각각 1.5%로 첨가, 30°C에서 48시간 배양하면서 효소생산량을 비교하여 조사하였다. 이때 사용된 돼지감자 추출물은 건조된 돼지감자 분말을 물과 1:5(w/v)의 비율로 섞고, 70°C에서 중탕으로 30분간 가열한 후 10,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 제조하였다. 유기질소원의 영향은 inulin 또는 돼지감자추출물의 액체배지 중 peptone, soybean meal, beef extract, yeast extract를 각각 1%로 첨가하여 동일 조건으로 배양하여 조사하였다. 무기질소원의 영향은 inulin 또는 돼지감자추출물을 탄소원으로, yeast extract를 유기질소원으로 사용한 액체배지 중 NaNO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>를 각각 0.2%로 첨가하여 조사하였다. 농도에 따른 영향은 탄소원으로 돼지감자추출물을 0.5~1.5%, 유기질소원으로 yeast extract를 0.5%~1.5%, 무기질소원으로 NaNO<sub>3</sub>를 0.05~1.0%가 되게 첨가하여 조사하였다. 초기 pH 및 배양 온도에 따른 영향은 조사된 최적배지에서 배지의 초기 pH를 3~10으로, 배양온도를 20~50°C로 달리하며 64시간 배양하여 조사하였다.

### 배양시간에 따른 효소생산

효소생산 최적배지 및 조건에서 선정된 배지 50 ml가 든 250 ml 삼각 플라스크에 종균배양액 0.5 ml를 접종, 30°C에서 180 rpm으로 96시간 진탕배양하면서 배양시간에 따른 효소생산량, 균생장정도(590 nm에서의 흡광도), 총당량 및 pH를 측정하였다.

### 분석 방법

TLC는 하 등<sup>19)</sup>의 방법에 따라 행하였다. 즉, silica gel plate(DC-Alufolien, Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Merck, Darmstadt, Germany)에 시료를 점적하여 n-propanol : ethyl acetate : water (2:2:1, v/v)의 전개용매로 이중 전개한 후 urea-

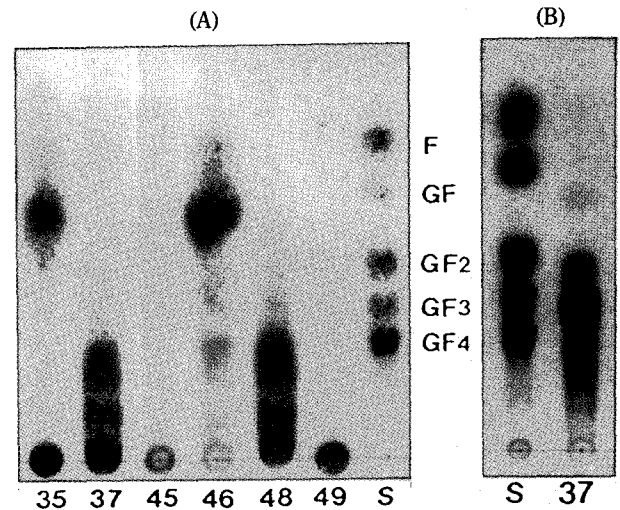


Fig. 1. Thin layer chromatogram of culture broth(A) and inulin hydrolysate reacted with culture broth of strain 37 (B)  
A: 35, 37, 46, 48, 49; strain number S: standard sugar.

metaphosphoric acid시약<sup>21)</sup>으로 발색하였다. 총당은 Weiner<sup>22)</sup>의 방법을 일부 수정한 anthrone법으로 정량하였다. 즉, 70% 황산 100 ml에 0.2 g의 anthrone을 녹여 만든 0.2% anthrone 시약 2.5 ml에 시료용액 0.5 ml을 넣고 잘 혼합한 후 100°C에서 10분가열하여 발색하였다. 발색된 반응액은 620 nm에서의 흡광도를 측정하였으며 fructose를 표준당으로하여 작성한 검량곡선으로부터 총당을 정량하였다.

## 결과 및 고찰

### Endo형 inulinase 생산균주의 분리 및 동정

10종의 토양시료로부터 inulin한천배지에서 자라는 각기 다른 종의 약 100개의 균주를 1차 선별하였고 이들을 inulin액체배지에서 배양한 후, 배양액의 당조성을 TLC로 분석하였다. 그 결과 37번과 48번 균주의 배양상정액에서 fructose는 검출되지 않으면서 중합도가 높은 올리고당이 검출되어 두 균주 모두 endo형 inulinase를 만들어내는 것으로 추정하였다(Fig. 1A). 이 중 37번 균주배양액의 inulinase 활성이 1.52 units/ml로서 48번보다 높아 37번 균주를 최종 선별하였다. 또한 37번 균주의 배양액을 효소용액으로 하여 inulin과 40°C에서 15분간 반응시키고 그 반응물의 당조성을 TLC로 검정한 결과 이 균주는 inulin으로부터 중합도가 높은 oligo당을 주로 생산하는 endo형 inulinase생산 균주로 판명되었다(Fig. 1B). 본 균주는 Gram positive로, 호기성이며 catalase는 생산하나 oxidase는 생산하지 못하고 endospore는 형성하지 않으며 glucose발효능이 없었다. 또한 균주를 12 시간과 3일간 배양하여 transmission electron microscope로 관찰한 결과 배양시간이 지남에 따라 균의 형태가 rod형에서 coccus형으로 변하는 pleomorphism이 관찰되었다(Fig. 2). 이를 통하여 본 실험에서 선별한

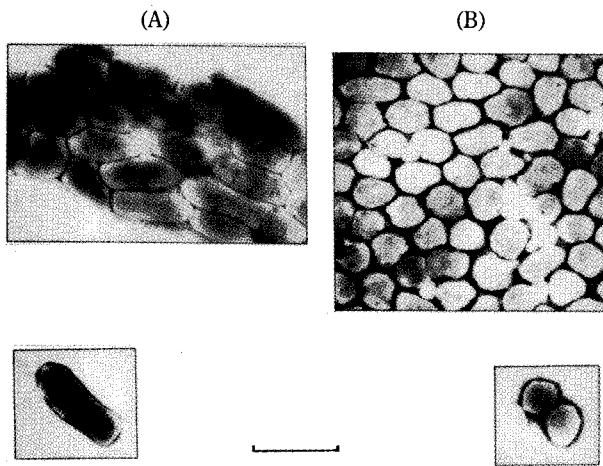


Fig. 2. Transmission electron microphotograph of the isolated *Arthrobacter* sp. S37 The bar denotes 1  $\mu$ m. A: 12 hr culture, B: 72 hr culture

균주는 *Arthrobacter*속에 포함되는 것으로 추정하였으며 본 균주를 *Arthrobacter* sp. S37으로 명명하였다.

효소 생산 조건

(1) 영양원의 영향

Endo형 inulinase 생산 균주인 *Arthrobacter* sp. S37의 효소생산 최적조건을 찾기 위하여 우선 배지의 탄소원, 유기 및 무기질소원의 조성과 농도를 달리하여 효소생산량을 조사하였다. 탄소원의 영향은 돼지감자추출물 또는 inulin을 사용할때에 배양액의 효소활성이 각각 4.6 units/ml, 1.41 units/ml인 반면, fructose, soluble starch, glucose 또는 sucrose를 사용하였을때에는 inulinase활성이 거의 나타나지 않았다(Table 1). 따라서 본 효소는 inulin에 의하여 유도, 생산되는 것으로 추정되며 이러한 성질은 *Aspergillus niger*<sup>8)</sup>의 경우만 제외하고 지금까지 보고된 모든 미생물에서 생산되는 endo형 inulinase가 유도 효소로 보고된 것과 일치하는 결과이었다.<sup>10,12,16,18)</sup>

유기질소원의 영향은 탄소원으로 inulin 또는 돼지감자추출물을 사용한 배지에 yeast extract, peptone, soybean meal 또는 beef extract를 각각 1.0% 농도로 첨가하고 균주를 접종하여 30°C에서 48시간 배양한 후 효소활성을 측정된 결과 yeast extract를 사용하였을 때 가장 높은 활성을 나타내었다(Table 1). *Aspergillus niger*<sup>8)</sup>, *Streptomyces chibaensis*<sup>10)</sup>, *Pseudomonas* sp.<sup>12)</sup>는 corn steep liquor를 사용하였을 때 효소생산량이 가장 큰 반면 *Chrysosporium pannorum*<sup>16)</sup>은 meat extract를, *Streptomyces* sp. S56<sup>18)</sup>은 본 *Arthrobacter* sp. S37에서와 같이 yeast extract를 사용하는 것이 적합하다고 보고되어 있어 균주에 따라 차이를 보여주고 있다.

무기질소원의 영향은 탄소원으로 inulin 또는 돼지감자추출물을 사용하고 yeast extract를 유기질소원으로 사용한 배지에 NaNO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>

Table 1. Effects of nutrient sources on endo-inulinase production from *Arthrobacter* sp. S37

Source	Component	Enzyme activity (units/ml)	
Carbon (1.5%)	Inulin	1.40	
	Jerusalem artichoke extract	4.60	
	Fructose	0.00	
	Soluble starch	0.00	
	Glucose	0.00	
	Sucrose	0.34	
Organic nitrogen (1%)	Yeast extract	1.40 <sup>a</sup>	4.60 <sup>b</sup>
	Peptone	0.00	3.33
	Soybean meal	0.89	3.87
	Beef extract	0.74	3.56
Inorganic nitrogen (0.2%)	NaNO <sub>3</sub>	1.40 <sup>a,c</sup>	4.60 <sup>b,c</sup>
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.44	0.00
	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.00	0.00
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.44	0.15

Organic nitrogen: <sup>a</sup>inulin; <sup>b</sup>jerusalem artichoke extract

Inorganic nitrogen: <sup>c</sup>yeast extract The culture broth was incubated at 30°C for 48 hr on the shaker.

를 0.2%씩 첨가하고 균주를 접종, 배양한 후 효소활성을 측정된 결과 NaNO<sub>3</sub>를 사용하는 것이 가장 효과적인 것으로 나타났다(Table 1). 대부분의 endo형 inulinase 생산균주는 무기질소원으로 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>와 같은 암모니아태를 선호하나 이와 달리 본 균주는 질산태를 선호하는 것으로 추정된다.

또한 탄소원으로 효소생산이 가장 많은 돼지감자추출물의 배지내 농도를 0.5~2.0%, 질소원으로 가장 적합하게 나타난 yeast extract를 0.5~1.5% 농도가 되도록 조정, 효소생산량을 측정된 결과 돼지감자추출물 1.5%, yeast extract 1.0%인 경우 효소생산량이 가장 많았다(Table 2). 이러한 조건하에서 무기질소원인 NaNO<sub>3</sub>의 적합농도는 0.2%보다 높은 0.5%로 나타났다(Table 3). 따라서 본 균주의 inulinase생산 최적배지조성은 본 실험하에서는 돼지감자추출물 1.5%, yeast extract 1.0%, NaNO<sub>3</sub> 0.5%, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.05%, KCl 0.05%, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.0016%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05%로 나타났다. 대부분 inulinase생산은 탄소원으로 inulin을 사용할때 높은 효소생산성을 나타내는 것으로 보고되고 있으나 본 균주는 inulin보다 돼지감자추출물 사용시 효소생산성이 높아 효소생산이 보다 경제적으로 생각된다.

(2) 초기 pH 및 배양온도

상기 최적배지에서 초기 pH를 3~10까지 변화시켜 효소생산성을 조사한 결과 산성 조건인 pH 3에서 pH 5에서는 효소가 거의 생산되지 않았으며 pH 7~9의 범위에서 생산량이 많았다(Table 4). 이는 세균인 *Streptomyces chibaensis*<sup>10)</sup> *Pseudomonas* sp.<sup>12)</sup>가 pH 7.0~7.5에서 효소생산성이 높은 결과와 같으며 곰팡이의 경우 산성 pH인 4.5가 적합하다고 보고하고 있다.<sup>8,16)</sup> pH 8에서 배양온도의 영향을 조사한 결과 30°C에서 가장 높은

Table 2. Effects of concentration of jerusalem artichoke and yeast extract on endo-inulinase production from *Arthrobacter* sp. S37

Yeast extract (%)	Inulinase activity (units/ml)			
	Jerusalem artichoke extract (%)			
	0.5	1.0	1.5	2.0
0.5	1.72	3.19	3.27	3.74
1.0	1.11	3.19	4.60	3.12
1.5	0.85	3.11	3.70	2.97

The medium consisted of 0.5% NaNO<sub>3</sub>, 0.05% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.05% KCl, 0.0016% FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O and 0.05% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. The culture broth was incubated at 30 °C for 48 hr on the shaker.

Table 3. Effects of concentration of NaNO<sub>3</sub> on endo-inulinase production from *Arthrobacter* sp. S37

NaNO <sub>3</sub> (%)	Inulinase activity (units/ml)
0.05	0.39
0.1	1.32
0.2	4.60
0.5	5.16
0.8	4.87
1.0	4.39

The medium consisted of 1.5 % jerusalem artichoke extract, 1.0% yeast extract, 0.05% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.05% KCl, 0.0016% FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O and 0.05% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. The culture broth was incubated at 30°C for 48 hr on the shaker.

Table 4. Effects of initial pH of culture medium on endo-inulinase production from *Arthrobacter* sp. S37

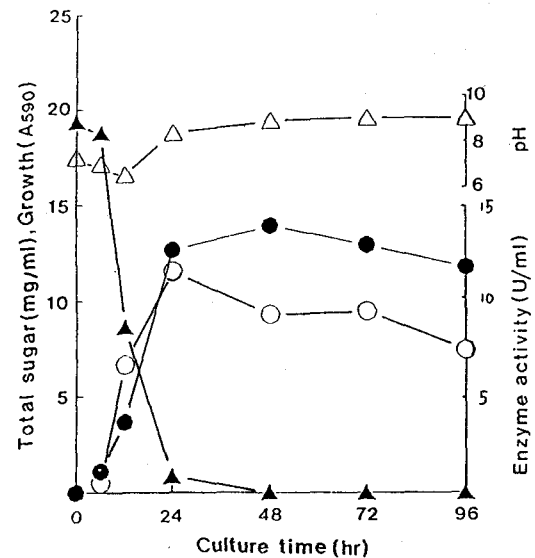
pH	Inulinase activity (units/ml)
3.0	0.00
4.0	0.00
5.0	0.07
6.0	2.56
7.0	5.20
8.0	5.34
9.0	5.05
10.0	4.68

The medium consisted of 1.5% jerusalem artichoke extract, 1.0% yeast extract, 0.5% NaNO<sub>3</sub>, 0.05% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.05% KCl, 0.0016 % FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O and 0.05% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. The culture broth was incubated at 30°C for 64 hr on the shaker.

효소생산량을 나타내었으며 그 이상의 온도에서는 급격히 감소하였다.

#### 배양시간에 따른 효소생산

효소생산 최적 배지 및 최적 배양 조건에서 배양시간에 따른 균생장정도, 총당 및 pH의 변화와 효소생산과의 관계를 조사하였다. 효소생산은 배양 12시간부터 증가하여 24시간에는 10.8 units/ml로 최고값을 나타내었고 이기간에 균생장은 급격히 증가, 24시간에서는 sta-

Fig. 3. Time course of endo-inulinase production by *Arthrobacter* sp. S37

○-○, endo-inulinase production (U/ml); ●-●, cell growth(A<sub>590</sub>); △-△, pH; ▲-▲, total sugar(mg/ml).

tionary phase에 도달하여 효소생산과 균생장증가가 정비례함을 알수 있었으며 이에 따라 총당량도 19 mg/ml에서 24시간만에 0.87 mg/ml로 급격히 감소하였다(Fig. 3). pH는 초기 pH 8에서 24시간후에는 pH 9로 증가하는것으로 나타났다. 최적조건하에서 효소생산성은 *Aspergillus niger*<sup>9)</sup>는 192시간 배양에서 20.1 units/ml, *Streptomyces chibaensis*<sup>10)</sup>는 84시간 배양에서 0.93 unit/ml, *Pseudomonas* sp.<sup>11)</sup>는 60시간 배양에서 6.6 units/ml, *Penicillium purpurogenum*<sup>15)</sup>은 72시간 배양에서 4.5 units/ml, *Chrysosporium pannorum*<sup>16)</sup>은 192시간 배양에서 115 units/ml, *Streptomyces* sp. S56<sup>18)</sup>는 96시간 배양에서 0.79 unit/ml로 보고되어 본 균주가 *Aspergillus niger*, *Chrysosporium pannorum*에 비해서는 효소 생산능이 떨어지나 중요한 최대 효소 생산에 소요되는 발효시간을 비교하여보면 *Aspergillus niger*와 *Chrysosporium pannorum*이 192시간인데 비해 본 균주는 24시간으로 현격한 차이가 있다.

#### 감사의 글

본 연구는 한국과학재단지정 농업생물신소재 연구센터 1994년도 연구 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

#### 참고 문헌

- Hidaka, K., T. Eida, T. Takizawa, T. Tokunaga and Y. 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.
3. Yamazaki, H. and N. Dilawri (1990) Measurement of growth of bifidobacteria on inulofructosaccharides, *Letters in Appl. Microbiol.*, **10**, 229-232.
  4. Yamawa, K. and Z. Tamura (1982) Search for sugar sources for selective increase of *Bifidobacteria*, *Bifidobacteria Microflora*, **1**, 39-44.
  5. Edelman, J. and T. G. Jefferd (1964)  $\beta$ -Fructofuranosidase of tubers of *Helianthus tuberosus* L., *Biochem. J.*, **93**, 148-161.
  6. Flood, A. E., P. P. Rutherford and E. W. Weston (1967) Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on enzyme systems in Jerusalem artichoke tubers and chicory roots. *Nature* **214**, 1049-1050.
  7. Rutherford, P. P. and A. C. Deacon (1972)  $\beta$ -Fructofuranosidases from roots of Dandelion (*Taraxacum officinale* Weber), *Biochem. J.*, **126**, 569-573.
  8. Nakamura, T., S. Hoashi and S. Nakatsu (1978) Culture conditions for Inulase production by *Aspergillus* (Studies on microbial inulase part VII), *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **52**, 105-110.
  9. Nakamura, T., T. Kurokawa, S. Nakatsu and S. Ueda (1978) Crystallization and general properties of an extracellular inulinase from *Aspergillus* sp. (Studies on microbial inulase part IV), *Nippon Nogei Kagaku kaishi*, **52**, 159-166.
  10. Chung, K. Y., S. O. Park and K. H. Lee (1980) A study on the inulase of *Streptomyces chibaensis* (culture conditons for the inulase production by *Streptomyces chibaensis*), *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* **23**, 211-217.
  11. Chung, K. Y., K. H. Park and K. H. Lee (1981) Purification and characterizations of *Streptomyces chibaensis* inulase, *Kor. J. Food. Sci. Technol.*, **13**, 67-73.
  12. Lee, T. K., H. C. Sung, Y. J. Choi and H. C. Yang (1987) Culture condition for inulase production by *Pseudomonas* sp., *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **15**, 176-183.
  13. Lee, T. K., Y. J. Choi and H. C. Yang (1988) Purification and properties of extracellular inulinase of *Pseudomonas* sp. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **16**, 259-264.
  14. Ettalibi, M. and C. Jacques (1987) Purification, properties and comparision of invertase, exoinulinase and endoinulinase of *Aspergillus ficuum*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 13-20.
  15. Onodara, S. and N. Shiomi (1988) Purification and substrate specificity of endo-type inulinase from *Penicillium purpurogenum*, *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2569-2576.
  16. Xiao, R. and S. Takao (1988) Inulinase from *Chrysosporium pannorum*, *J. Ferment. Technol.*, **66**, 553-558.
  17. Xiao, R., M. Tanida and S. Takao (1989) Purification and some properties of endoinulinase from *Chrysosporium pannorum*, *J. Ferment. Bioeng.*, **67**, 244-248.
  18. Ha, Y. J., E. H. Choi and S. I. Kim (1989) Production and characterization of endo-type inulase from *Streptomyces* sp. S56, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **17**, 593-599.
  19. Ha, Y. J. and S. I. Kim (1992) Purification and characterization of endoinulase from *Streptomyces* sp. S56, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 551-558.
  20. Miller, G. L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Anal. Chem.*, **31**, 426-428.
  21. Dawson, R. M. C., D. C. Elliott, W. H. Elliott and K. M. Jones (1986) In 'Data Book for Biochemical Research', 3rd Ed., 407, Oxford Univ. Press
  22. Weiner, J. (1978) Determination of Total Carbohydrate in Beer, *J. Inst. Brew.*, **84**, 222-223.

#### Production of a novel endo-inulinase from *Arthrobacter* sp. S37

Kyoung Yeon Kim<sup>2</sup>, Su-Il Kang<sup>1</sup> and Su-Il Kim<sup>1\*</sup> (<sup>1</sup>Department of Agricultural Chemistry and Research Center for New Bio-materials in Agriculture, College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea; <sup>2</sup>Mogam Biotechnology Research Institute, 341 Pojung-Ri, Koosung-Myon, Yongin-Kun, Kyonggi-Do, 449-910, Korea)

**Abstract**: A bacterial strain producing a novel endo-inulinase, hydrolysing inulin into oligosaccharides was isolated from soil and identified as *Arthrobacter* sp. S37. The enzyme production was induced by inulin and jerusalem artichoke extract. The maximum enzyme production was obtained with medium containing 1.5% jerusalem artichoke extract, 1.0% yeast extract, 0.5% NaNO<sub>3</sub>, 0.05% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.05% KCl, 0.0016% FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O and 0.05% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. The optimum temperature and pH for the enzyme production were 30°C and 8.0, respectively. Under the optimum condition, the enzyme activity in the culture broth reached at maximum, 10.8 units/ml after cultivation for 24 hours.

\*Corresponding author