

Streptomyces sp. NS15 배양액에 의한 α -Glucosidase 저해

백 남 수 · 김 영 만
안성산업대학교 식품공학과

α -Glucosidase Inhibition by Culture Broth of *Streptomyces* sp. NS15

Nam-Soo Paek and Young-Man Kim
Ansung National University, Ansung 456-800, Korea

Abstract

For the production of nonprotein α -glucosidase inhibitor from the *Streptomyces* sp. NS15 strain, effects of initial optimum pH, nitrogen sources, carbon sources, cationic metal ions, agitation speed and aeration rate were investigated. Initial optimum pH of medium was 7.0. The most effective nitrogen and carbon source were soybean meal 2.0%(w/v) and glucose 1.6%(w/v), respectively. The cationic metal ions had no stimulating effect on inhibitory activity of α -glucosidase except Fe^{2+} . Agitation speed and aeration rate were effective at 400rpm and 1vvm, respectively. In the jar-fermenter cultivation for 4 days under optimal culture conditions, the culture broth showed the inhibitory activity of 3,200units/ml, which is 25 times higher than that of basic medium(CYM) for porcine intestinal α -glucosidase. The inhibitory activity of α -glucosidase reached about 3,200units/ml after 4 days of cultivation and decreased gradually for a further two days.

Key words : α -glucosidase, α -glucosidase inhibitor, *Streptomyces* sp.

서 론

당뇨병은 고혈당증(hyperglycemia)의 한 증상으로 인슐린과 글루카곤의 분비상태를 교란시켜 탄수화물뿐만 아니라 단백질 및 지질대사 등 여러 대사조절 기능에 이상이 생겨 많은 질환이 나타나게 된다. 당뇨병은 인슐린 의존형과 인슐린 비의존형으로 크게 구별되며 미국의 통계에 의하면 당뇨병환자의 95%가 NIDDM에 속한다. NIDDM인 경우 뚜렷한 원인이 알려져 있지 않기 때문에 지금까지도 병의 원인에 대한 논란이 계속되고 있으며 체중조절, 식이요법, 인슐린, sulfonnyl urea제 그리고 biguanide제와 같은 치료제가 있으나 이들의 치료효과에 대해서는 많은 의문이 제기되고 있다. 따라서 부작용이 적으면서 우수한 효과를 기대할 수 있는 새로운 치료제로서 탄수화물 분해효소에 대한 저해물질의 이용 가능성이 주목되었다. 현재까지 탄수화물 분해효소 저해물질 중

에서 가장 많이 연구된 것은 α -amylase 저해제로 1933년 Chrazaszcz와 Janicki가 메밀로부터 얻은 것이 최초로 알려져 있다. 그후 밀, 흑두, 호밀, mangos 등의 식물에서 주로 단백질성 α -amylase 저해제가 발견되었으며 1970년에 Niwa 등이 *Streptomyces* 속의 미생물로부터 얻은 nojirimycin이라는 항생물질이 α -amylase, β -amylase 등에 저해하는 것으로 발표한 이래 20여종 이상의 새로운 α -amylase 저해제들이 미생물에서 발견되었다. 1977년에는 Oh-yama 등이 S-AI라는 새로운 저해성 물질을 그리고 1981년에 Itoh 등이 oligostatin, 1982년에 Namiki 등이 adiposin, 1983년에 Yokose 등이 trestatin을 보고하였다. 또한 1977년에 독일의 Muller가 발견한 acarbose (BAY g5421)는 동물실험 및 임상실험이 완료되어 1990년에 Glucobay라는 이름으로 시판되었다. 그러나 α -amylase의 경우 식사 후 췌장에서 대량으로 분비되기 때문에 이에 대응해서

Corresponding author : Nam-Soo Paek

α -amylase 저해제를 다량 투여해야 하며 장내에서는 복용한 저해제로 인해 음식을 소화시키지 못하므로 췌장에서는 더 많은 α -amylase가 분비되는 역작용이 일어나 위장 장애뿐만 아니라 다른 질병까지 유발시킬 가능성이 있는 것으로 보고되고 있다. 또한 지금까지 발견된 단백질성 α -amylase 저해제들은 장내에서 소화되어 제대로 저해효과를 나타내지 못하는 문제점이 있었다⁶⁾. 실제로 acarbose는 sulfonylurea제나 인슐린요법 치료를 받고 있는 환자에게 식사와 병행해서 경구투여했을 때 식후의 혈당량을 감소시켰으나 공복시의 혈당치에는 영향을 미치지 못하였고 설사나 배탈 등이 나타났으며 간 독성을 나타낸 보고도 있다⁷⁾. 이러한 문제점을 해소할 수 있는 방법은 전분소화의 최종단계에 작용하는 소장점막의 이당류 가수분해효소를 억제하는 비단백질성의 α -glucosidase 저해제를 이용하는 방법이 있다. 본 연구는 *Streptomyces* sp. NS15로부터 비단백질성 α -glucosidase 저해제의 생산을 위한 최적 배양조건을 확립한 결과이다.

재료 및 방법

1. 사용균주

α -glucosidase 저해제 생산균주는 본 실험실에서 토양으로부터 분리한 *Streptomyces* sp. NS15를 사용하였다.

2. 효소 및 시약

Glucose 측정용 시약인 GL-Zyme은 榮研化學에서 구입하였으며 maltose, sodium carbonate, potassium phosphate 등은 Sigma사 제품을, yeast extract, malt extract 등 배지성분은 Difco사 제품을 사용하였으며 그 밖의 모든 시약은 특급 시약을 사용하였다.

3. α -glucosidase 분리 및 활성 측정

Marshall 등⁸⁾의 방법에 따라 도살 직후의 돼지 소장에서 α -glucosidase를 분리하였다. α -glucosidase의 효소 활성은 0.02M 인산완충용액 (pH 6.8)에 10mM maltose가 함유된 기질액 1.0 ml에 α -glucosidase 효소액 100 μ l를 가하고 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시킨 뒤 0.1M sodium carbonate 1.5ml를 가하여 반응을 중지시켰다. 반응 종료액 0.5 ml에 glucose oxidase법을 이용한 glucose 측정용 시약 (GL Zyme) 1.5ml를 가하여 실온에서 10분간 반응

시킨 후 발색된 반응액을 500nm에서 흡광도를 측정하였다. 본 연구에서 효소 활성 1unit는 1분 동안에 1 μ mole의 glucose를 생산하는 효소의 양으로 정의하였다.

4. 배지 및 배양 조건

Streptomyces sp. NS15균주를 TSB배지 (tryptone 1.7%, soytone 0.3%, glucose 0.25%, NaCl 0.5%, K_2HPO_4 0.25%)에 전배양한 후 α -glucosidase 저해제 생산용 배지는 CYM배지 (corn starch 0.4%, yeast extract 0.4%, malt extract 0.1%, $CaCO_3$ 0.2%, pH 7.0)를 기본 배지로 정하고 여기에 각 질소원, 탄소원, 금속이온 등을 달리하는 배지를 사용하여 28 $^{\circ}$ C에서 3~5일간 200rpm으로 진탕 배양한 후 10,000rpm에서 5분간 원심 분리하여 균체를 제거하고 상등액을 얻었다. 이들 각각의 배양액에 대한 α -glucosidase의 저해활성을 CYM배지에서의 배양액과 비교하여 α -glucosidase 저해제율 증가를 조사하였다.

5. 발효여액의 α -glucosidase 저해 활성 측정

Streptomyces sp. NS15 균주의 배양이 종료된 배양액을 상온에서 5분간 10,000rpm으로 원심 분리한 후 상등액을 pH 3으로 조정된 다음 4 $^{\circ}$ C에서 1일간 정치 후 원심분리(10,000rpm, 10min)하였다. 상등액의 pH를 7.0으로 재조정된 다음 10분간 100 $^{\circ}$ C에서 열증탕 후 1/10 용량으로 감압 농축하였다. 여기에 100% 메탄올을 10배 처리하여 생긴 침전물을 원심분리(10,000rpm, 10min)하고 상등액을 감압 농축 후 최초의 부피가 되게 증류수로 보정한 다음 활성탄을 10% 처리하여 생긴 투명액을 α -glucosidase 저해제 시료로 사용하였다. 상기법으로 분리한 α -glucosidase는 0.02M 인산완충용액 (pH 6.8)에 1unit/ml로 희석한 것을 사용하였고 기질은 10mM maltose 용액을 사용하였다. 저해활성 측정은 효소 용액 20 μ l와 배양여액 10 μ l를 넣고 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 5분간 방치 후 기질용액 200 μ l를 가하였다. 이 반응액을 진탕 혼합 후 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시킨 다음 0.1M sodium carbonate 용액 300 μ l를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응 종료액에 glucose 정량용 시약인 GL-Zyme을 900 μ l 가하여 10분간 실온에 방치시킨 다음 500nm에서 흡광도를 측정하였으며 저해활성은 다음식에 따라 계산하였다. 1 저해단위는 돼지 소장 유래의 α -glucosidase 효소활성을 50% 저해시키는 저해제의 양으로 정하였다.

$$\text{Inhibitor ratio}(\%) = \frac{(\text{OD}_A - \text{OD}_B) - (\text{OD}_C - \text{OD}_D)}{\text{OD}_A - \text{OD}_B} \times 100$$

OD_A : OD_C에 대한 blank, OD_B : OD_D에 대한 blank

OD_C : OD_B의 대조 OD값, OD_D : 저해제의 작용에 의한 OD값

6. 배지의 초기 pH에 대한 영향

초기 pH를 5~10으로 조정된 각각의 CYM배지에 TSB배지에서 배양한 전배양액을 5%(v/v)로 접종후 3~5일간 진탕 배양하여 α-glucosidase 대한 저해효과를 조사하였다.

7. 질소원 시험

Corn starch 0.4%와 CaCO₃ 0.2% 및 malt extract 0.1%를 질소원 시험 기본배지로 하고 여기에 yeast extract, dry yeast, beef extract, peptone, soytone, soybean meal, oat meal, tryptone, tryptose, NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄, NH₄NO₃, NH₄H₂PO₄ 등 13종류의 질소원의 최종농도를 0.4%, pH 7.0으로 조정된 각 배지에 TSB배지에 배양한 NS15 균의 전배양액을 5%(v/v)로 접종 후 3~5일간 진탕배양하여 α-glucosidase에 대한 저해효과를 조사하였다. 가장 높은 α-glucosidase 저해활성을 나타내는 질소원 첨가배지에 대해서는 2차로 농도별 시험을 행하여 최적농도를 구하였다.

8. 탄소원 시험

Soybean meal 2%, CaCO₃ 0.2% 및 malt extract 0.1%를 탄소원 시험 기본배지로 하고 corn starch, glucose, lactose, potato starch, soluble starch, rhamnose, melibiose, arabinose, galactose, fructose, cellobiose, mannose, melizitose, mamtol, sorbitol, maltose, saccharose, xylose, raffinose 등 19종류의 탄소원의 최종농도를 0.4%, pH 7.0으로 조정된 각 배지에 TSB배지에 배양한 NS15 균의 전배양액을 5%(v/v)로 접종 후 3~5일간 진탕배양하여 α-glucosidase 대한 저해효과를 조사하였다. 가장 높은 α-glucosidase 저해활성을 나타내는 탄소원 첨가배지에 대해서는 2차로 농도별 시험을 행하여 최적농도를 구하였다.

9. 금속 이온 시험

Soybean meal 2%, CaCO₃ 0.2%, malt extract 0.1%, glucose 1.8%의 조성 배지에 MnSO₄, FeSO₄, CoSO₄, CuSO₄, ZnSO₄, CaCl₂, LiSO₄, MgSO₄ 등 8종류의 금속염을 최종농도가 0.005%, pH 7.0으로 조정된 각 배지에 TSB배지에 배양한 전배양액을 5%(v/v)로 접종 후 3~5일간 진탕배양하여 α-glucosidase에 대한 저해활성을 조사하였다.

10. Jar-fermenter 배양 조건

생산용 배지로 확정된 SMG배지(soybean meal 2.0%, malt extract 0.1%, glucose 1.8%, CaCO₃ 0.2%, FeSO₄·H₂O 0.005%, pH 7.0) 3ℓ를 6ℓ용 jar-fermenter(New Brunswick Scientific사 BIOFLO IIc model)에서 멸균 후 교반속도와 통기량의 변화에 따른 α-glucosidase inhibitor의 생산량을 inhibitory unit로 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 배양여액의 부분정제

각종 배지에서 3~5일간 배양한 후 원심 분리하여 얻은 상정액을 pH 3.0으로 조정된 다음 4℃에서 1일간 방치한 결과 단백질과 사용되지 않은 가용성 배지 등이 침전되는 현상을 보였으며 상정액을 10분간 100℃에서 열중탕하여 열 감수성 물질을 불활성화시켰다. 이 용액을 1/10 용량으로 감압 농축하고 여기에 100% 메탄올을 10배 처리하여 잔존하는 당과 단백질성분을 제거하고 메탄올 추출물을 감압 농축하여 메탄올을 제거후 활성탄을 10% 처리하므로써 색소 및 금속성분이 제거된 투명액을 얻었다. 이 액을 박층 크로마토그래피하여 발색시험을 한 결과 단백질과 당이 포함되지 않은 물질임을 확인하였다.

2. 배지의 초기 pH에 대한 영향

초기의 pH를 일정하게 조정된 배지에서 *Streptomyces* sp. NS15균주를 배양한 배양여액으로부터 α-glucosidase의 저해율을 조사한 결과 생육에는 차이가 없었으나 pH 6과 8사이의 4일째 배양액에서 저해율이 대체로 45% 이상 나타나므로써(Table 1) 배지 초기의 pH가 6~8범위에서는 생육과 α-glucosidase 저해제 생성에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각되며 그 중 우수한 α-glucosidase 저해효과를 보이는 pH 7.0의 조건을 배지의 초기 pH로 결정하였다.

Table 1. Effect of initial pH on α -glucosidase inhibitor production by *Streptomyces* sp. NS15

Initial pH of medium	Culture time(days)		
	3	4	5
5	39.7	42.1	40.8
6	44.5	48.0	45.6
7	44.2	48.8	47.4
8	40.3	45.4	42.1
9	40.3	41.2	41.1
10	38.8	39.2	38.8

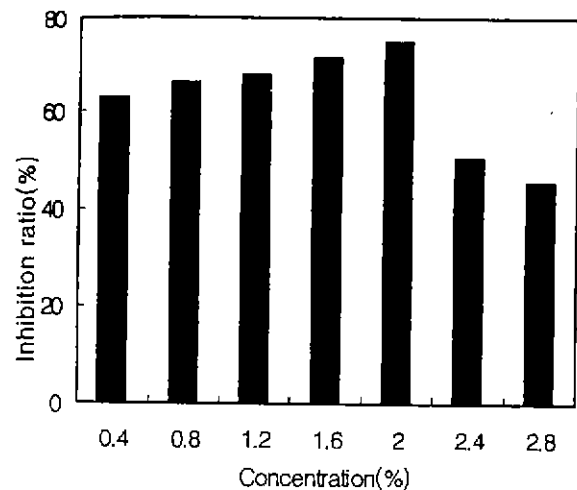
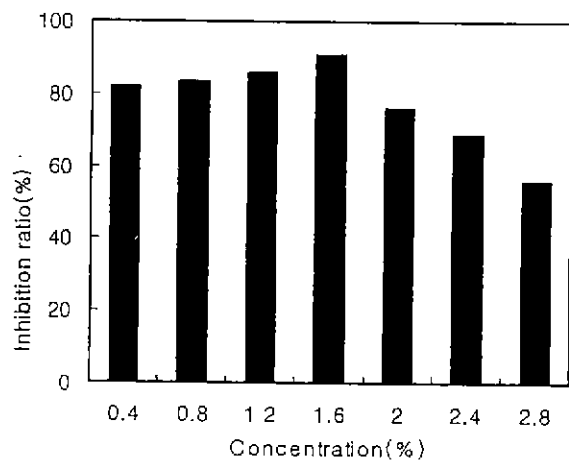
unit : inhibition ratio(%)

Table 2. Effect of nitrogen sources on α -glucosidase inhibitor production by *Streptomyces* sp. NS15

Nitrogen sources	Culture time(days)		
	3	4	5
N-basal medium	17.9	20.0	18.0
CYM medium	44.2	48.8	47.4
Yeast extract	30.1	32.8	25.9
Dry yeast	55.2	60.8	51.2
Beef extract	25.0	30.0	28.9
Peptone	26.5	32.8	30.0
Soytone	28.8	32.1	29.0
Soybean meal	60.8	63.2	63.0
Oat meal	40.1	51.7	50.5
Tryptone	31.9	35.5	30.8
Tryptose	32.6	37.8	30.6
NH ₄ Cl	42.0	53.1	53.1
(NH ₄) ₂ SO ₄	45.0	57.9	55.7
NH ₄ NO ₃	40.3	44.9	44.0
NH ₄ H ₂ PO ₄	3.3	4.3	4.3

3. 질소원의 영향

각종 질소원을 사용한 *Streptomyces* sp. NS15균주의 배양액에 의한 α -glucosidase의 저해율 결과는 Table 2와 같다. Soybean meal, dry yeast 등을 질소원으로 첨가한 4일째 배양액에서 각각 63.2%와 60.8%의 저해율을 보였고, NH₄H₂PO₄의 경우 매우 낮은 저해율을 나타내어 α -glucosidase 저해제 생성에는 적합하지 않은 질소원으로 나타났다. 사용한 질소원 중 가장 높은 저해 효과를 보인 soybean meal 첨가배지에 대해서는 농도별로 배양 시험을 한 결과 2.0% 농도로 첨가한 배지에서 4일 배양 후 기존의 CYM배지 보다 약 1.5 배 정도 증가된 75.2%의 저해율을 나타냈고 2.0% 이상 첨가 시에는 현저히 감소하여(Fig. 2) α -glucosidase 저해제의 생산용 질소원은 soybean meal 2.0%로 결정하였다.

**Fig. 1. Effect of soybean meal concentration on α -glucosidase inhibitor production by *Streptomyces* sp. NS15 in medium containing corn starch 0.4%, malt extract 0.1%, CaCO₃ 0.2% (pH 7.0).****Fig. 2. Effect of glucose concentration on α -glucosidase inhibitor production by *Streptomyces* sp. NS15 in medium containing soybean meal 2.0%, malt extract 0.1%, CaCO₃ 0.2% (pH 7.0).**

4. 탄소원의 영향

각종 탄소원을 사용한 *Streptomyces* sp. NS15균주의 배양액에 의한 α -glucosidase의 저해율은 Table 3과 같이 lactose, glucose 등을 첨가한 4일째 배양액에서 각각 79.8%와 81.8%의 저해율을 보였다. 또한 사용한 탄소원 중 가장 높은 저해 효과를 보인 glucose첨가 배지에 대해서는 농도별로 배양

Table 3. Effect of carbon sources on α -glucosidase inhibitor production by *Streptomyces* sp. NS15
unit : inhibition ratio(%)

Carbon sources	Culture time(days)		
	3	4	5
C-basal medium	40.6	52.2	49.3
CYM medium	44.2	50.8	49.0
Glucose	70.0	81.8	79.8
Corn starch	66.7	76.0	75.4
Potato starch	73.3	75.6	75.0
Soluble starch	65.0	77.6	70.9
Rhamnose	45.9	53.3	51.5
Melibiose	39.6	40.4	40.4
Arabinose	63.2	70.9	68.0
Galactose	65.4	73.3	70.1
Fructose	58.0	60.8	60.2
Cellobiose	50.0	60.1	55.5
Mannose	64.8	71.2	70.0
Melzitose	42.8	50.4	48.7
Lactose	77.9	79.8	78.3
Mannitol	49.8	56.8	55.7
Sorbitol	42.1	50.1	46.4
Maltose	67.9	76.7	70.2
Saccharose	50.0	59.3	56.3
Xylose	18.0	47.3	41.6
Raffinose	44.3	51.2	50.4
Malt extract	51.8	52.3	52.0

시험 결과 4일 배양한 1.6% 첨가 배지에서 90.8%의 저해율을 나타내므로써(Fig. 3) soybean meal 2%와 corn starch 0.4% 배지 조성에 의한 저해율보다 15.6% 정도 증가하여 상승적 효과를 얻었다. 따라서 glucose 1.6%를 α -glucosidase inhibitor 생산용 탄소원의 최적 농도로 결정하였다.

5. 금속 이온의 영향

Table 4. Effect of metal ions on α -glucosidase inhibitor production by *Streptomyces* sp. NS15

Ion	Metal	Culture time(days)		
		3	4	5
	None	86.6	90.8	88.6
Mn ⁺²	MnSO ₄ ·5H ₂ O	85.5	90.1	88.4
Fe ⁺²	FeSO ₄ ·7H ₂ O	89.8	95.7	92.2
Co ⁺²	CoSO ₄ ·7H ₂ O	86.5	89.4	87.0
Cu ⁺²	CuSO ₄ ·5H ₂ O	60.4	65.4	62.0
Zn ⁺²	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	86.7	90.2	87.0
Ca ⁺²	CaCl ₂	81.5	88.5	84.4
Li ⁺²	LiSO ₄ ·H ₂ O	76.6	87.3	82.8
Mg ⁺²	MgSO ₄ ·7H ₂ O	78.4	90.1	88.9

unit : inhibition ratio(%)

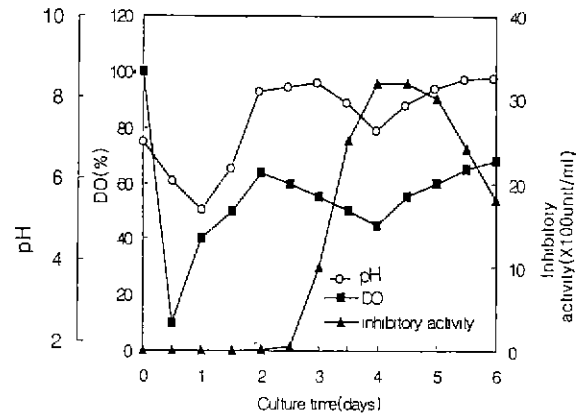


Fig. 3. Fermentation profiles for *Streptomyces* sp. NS15. The fermentation was carried out in a 6 l jar fermentor at 28°C, 1vvm and 400rpm.

각종 금속 이온을 사용한 *Streptomyces* sp. NS15 균주의 배양여액에 의한 α -glucosidase의 저해율 결과는 Table 4와 같다. Fe⁺²를 첨가하면 저해율이 약간 상승하였으나 다른 금속 이온들에 의해서는 α -glucosidase 저해제 생산에 거의 효과를 나타내지 않았으며 Cu⁺²의 경우 오히려 저해율이 감소하여 α -glucosidase 저해제의 생성을 억제하는 것으로 나타났다.

6. 최적 배지 조건

이상의 결과로부터 α -glucosidase 저해제를 생산하기 위한 배지조성은 soybean meal 2%, malt extract 0.1%, glucose 1.6%, CaCO₃ 0.2% 및 금속 염으로 FeSO₄·7H₂O 0.005%를 함유한 pH 7.0의 배지(SMG 배지)를 최적배지로 정하였으며 이러한 배지로 4일 배양 후 배양여액에 대한 저해율 효과는

Table 5. Effects of agitation on α -glucosidase inhibitor production by *Streptomyces* sp. NS15

Culture time (hours)	Agitation (rpm)			
	200	300	400	500
24	—	—	—	—
48	—	—	0.1	0.1
72	—	—	10	10
96	—	0.08	32	32
120	0.08	0.08	30	30
144	0.08	0.08	20	20
168	0.08	0.08	18	14

— : not detected, unit : inhibitory activity of porcine α -glucosidase ($\times 10^2$ unit / ml)

Table 6. Effects of aeration on α -glucosidase inhibitor production by *Streptomyces* sp. SID9135

Culture time (hours)	Air flow (vvm)				
	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
24	—	—	—	—	—
48	1	1	0.1	0.1	—
72	10	10	0.3	0.3	—
96	32	32	0.8	0.8	—
120	30	30	22	1.6	—
144	20	20	16	1.6	—
168	18	18	13	1.0	—

— : not detected, unit : inhibitory activity of porcine α -glucosidase ($\times 10^2$ unit / ml)

항상 재현성 있는 결과를 나타냈다.

7. Jar-fermenter 최적 배양 조건

플라스크 수준에서 결정된 최적 기본 배지에 대하여 jar-fermenter를 이용한 교반 속도와 통기량에 따른 배양 시험 결과 통기량 1vvm을 기준으로 하여 교반 속도를 변화시켜 배양한 경우 500rpm 이상에서는 격렬한 회전으로 균사가 파괴되는 현상을 보였고 α -glucosidase에 대한 저해율의 증가가 없었으며 200~300rpm에서는 용존산소의 부족으로 생육이 저조하였으며 배양 4일째부터 α -glucosidase 저해활성이 나타났으나 저해단위가 8.0 수준으로 400~500 rpm보다 400배 가량 적은 생산량을 보였다. 400~500 rpm에서는 배양 2일부터 생산되기 시작하여 5일 배양 후부터 저해단위가 3,200 수준으로 CYM배지를 사용한 배양액의 125 저해단위(미발표 자료)보다 25배정도 높은 저해활성을 나타내었다. 한편 배양 5일째부터 α -glucosidase에 대한 저해율이 점차 감소하

는 현상을 보임으로서 이 저해물질은 배지 내에서 다른 물질로 전환되거나 혹은 서서히 분해되는 것으로 추정되었다(Table 5). 교반속도를 400rpm으로 고정하고 통기량을 변화시킨 실험에서 1~1.5vvm에서는 거의 동일한 효과를 나타냈으나 2.5vvm 이상에서는 교반속도가 500rpm에서의 마찬가지로 균사의 손상으로 α -glucosidase 저해제의 생성을 저해하는 현상을 보였다(Table 6). 따라서 BIOFLO II jar-fermenter를 이용한 배양은 SMG배지를 사용하고 통기량을 1vvm, 교반속도는 400rpm으로 하여 96시간 동안 배양하는 조건이 가장 우수한 생산성을 보이는 것을 알 수 있었다. pH 변화 역시 용존산소의 변화와 유사한 형태를 보여 초기 24시간 동안 pH 7.0에서 pH 5.2까지 낮아진 후 급격히 상승함을 나타내었다. 이러한 현상은 완만하지만 α -glucosidase 저해제가 생성되기 시작하는 72시간 배양시기에도 나타나므로써(Fig. 4) 이 fermenter를 이용한 α -glucosidase 저해제의 생산성 증가를 위해서는 배양 초기의 산소 요구량 조절과 pH 조절에 따라 많은 영향을 미칠 것으로 예상된다.

요 약

Streptomyces sp. NS15 균주로부터 비단백질성 α -glucosidase 저해제의 생산을 위해 초기 배지의 최적 pH와 질소원, 탄소원, 금속 이온, 교반속도 및 통기량 등의 효과에 대하여 조사하였다. 배지의 초기 최적 pH는 7.0이었으며 가장 효과적인 질소원과 탄소원은 각각 soybean meal 2.0%(w/v)와 glucose 1.6%(w/v)였으며 금속이온에서는 Fe^{+2} 에서 저해활성에 있어서 약간의 상승효과를 나타낸 반면 Cu^{+2} 은 오히려 활성저하를 보였다. Jar fermentor 배양에서의 교반속도와 통기량은 각각 400rpm과 1vvm에서 효과적이었으며 최적 배지와 최적조건 하에서 4일간 배양한 배양액의 저해활성이 돼지 소장의 α -glucosidase에 대해 3,200units/ml로 기본배지(CYM)에서 보다 25배 높은 저해활성을 보였고 5일째부터는 저해활성이 점차 감소하는 양상을 보였다.

참고문헌

1. Niwa, T., Inoue, S., Tsuruoka, T., Koaze, Y. and Niida, T. : Nojirimycin as a potent inhibitor of glucosidase. *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 966-968 (1970)
2. Ohyama, K. and Murao, S. : Purification and some properties of amylase inhibitor (S-AI). *Agri.*

- Biol. Chem.*, 41, 2221-2228 (1977)
3. Itoh, J., Omoto, S., Shomura, T and Ogino, H. : Oligostatins new antibiotics with amylase inhibitory activity. *J. Antibiot.*, 34, 1424-1433 (1981)
 4. Nakami, S. and Kangouri, K. : Studies on the α -glucoside hydrolase inhibitor, ADIPOSIN. *J. Antibiot.*, 35, 1234- 1236 (1982)
 5. Yokose, K. and Ogawa, K. : New α -amylase inhibitor, Tresatins. *J. Antibiotics.*, 36. 1166-1175 (1983)
 6. 小高裕之, 松尾隆夫 : α -glucosidase inhibitor. *日本農藝化學會誌.*, 63, 217-219 (1989)
 7. Carrascosa, M., Pascual, F. and Aresti, S. : Acarbose induced acute severe hepatotoxicity. *Lancet*, 349, 698 (1997)
 8. Marshall, J. J., Sturgeon, C. M. and Whelan, W J. : Solubilization of porcine intestinal α -glucosidase and evidence for the separate identities of isomaltase and limit dextrinase. *Anal. Biochem.*, 82, 435-444 (1977)
-
- (1998년 10월 29일 접수)