Bacillus licheniformis 1916 단백질분해효소에 의한 흰쌀당화박단백질의 물작용분해조건

리준성, 김영조

현시기 단백질분해효소생산이 활성화되고[1] 이 효소를 리용하여 단백질들을 분해하기 위한 연구가 더욱더 심화되고있다.[2-4]

우리는 단백질분해효소를 리용한 흰쌀당화박단백질의 물작용분해조건을 밝히기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

단백질분해효소로는 Bacillus licheniformis 1916의 단백질분해효소를 한외려과막으로 분리농축한것(2만U/mL)을 리용하였다.

흰쌀당화박으로는 평양어린이식료품공장의 애기젖가루생산공정에서 나오는 부산물인 흰쌀당화박을 리용하였다.

단백질의 물작용분해률은 총단백질함량에 대한 유리아미노산함량의 백분률로 계산하였으며 이때 총단백질함량은 켈달법으로, 유리아미노산함량은 포르몰법으로 측정하였다.

단백질시료분획들의 분자량은 세파덱스G-15젤탑(ϕ 1.5cm×29cm)에 시료 1mL를 10~11mL/h의 류출속도로 통과시키면서 분획별분배결수를 구하고 각이한 분자량을 가진 표준물질들(비타민 B_{12} (분자량 1 355), N-카르벤족시 α , L-글루타밀 L-티로진(분자량 444), 글루타티온(분자량 307), L-트립토판(분자량 204))들의 분배결수와 분자량사이의 표준곡선과비교하여 결정하였다.

결과 및 론의

1) 효소첨가량이 흰쌀당화박단백질의 물작용분해에 미치는 영향

흰쌀당화박단백질물작용분해에 미치는 Bacillus licheniformis 1916이 생성하는 단백질분 해효소첨가량의 영향을 보기 위하여 흰쌀당화박을 각이하게 첨가한 효소로 처리하고 물작용분해률을 측정하였다. 효소첨가량에 따르는 흰쌀당화박단백질의 물작용분해률은 그림 1과 같다.

그림 1에서 보는바와 같이 효소첨가량이 증가됨에 따라 흰쌀당화박단백질의 물작용분 해률은 점차 증가하다가 4 000U/g이상에서부터는 큰 변화가 없었다. 이때 단백질분해률은 23.1%였다.

2) 흰쌀당화박단백질의 물작용분해에 미치는 pH의 영향

흰쌀당화박단백질에 효소를 4 000U/g으로 첨가하고 pH 6.0~10.0구간에서 1mol/L NaOH

와 1mol/L HCl로 pH를 보정하면서 흰쌀당화박단백질의 물작용분해률을 측정하였다. pH에 따르는 흰쌀당화박단백질의 물작용분해률은 그림 2와 같다.

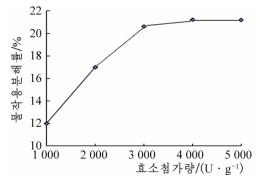


그림 1. 효소첨가량에 따르는 흰쌀당화박 단백질의 물작용분해률 pH 8, 분해온도 40°C, 분해시간 12h

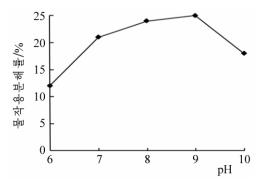


그림 2. pH에 따르는 흰쌀당화박단백질의 물작용분해률

그림 2에서 보는바와 같이 흰쌀당화박단백질의 물작용분해률은 pH 8.0~9.0의 구간에서 최대로 나타났다. 알카리성pH조건에서 흰쌀당화박단백질을 분해시키면 분해과정에 잡균오염을 막을수 있으므로 이것은 실천적으로 유리한 조건을 마련해줄수 있는 특성으로 된다고 볼수 있다.

3) 흰쌀당화박단백질의 물작용분해에 미치는 반응온도의 영향 온도에 따르는 흰쌀당화박단백질의 물작용분해률은 그림 3과 같다.

그림 3에서 보는바와 같이 온도가 높아짐에 따라 물작용분해률은 증가하다가 50℃이 상에서는 급격히 낮아졌다. 이것은 50℃이상의 온도에서 이 효소의 활성저하과정이 빨라진 다는것을 의미한다. 여기로부터 우리는 흰쌀당화박단백질분해에 적합한 온도를 45~50℃로 보았다.

4) 흰쌀당화박단백질의 물작용분해에 미치는 분해시간의 영향

시간에 따르는 흰쌀당화박단백질의 물작용분해률은 그림 4와 같다.

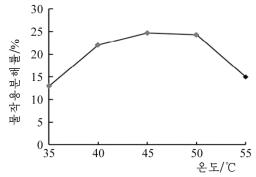


그림 3. 온도에 따르는 흰쌀당화박단백질의 물작용분해률

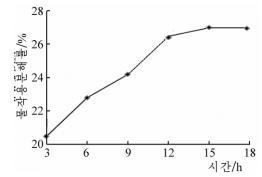


그림 4. 시간에 따르는 흰쌀당화박단백질의 물작용분해률

그림 4에서 보는바와 같이 물작용분해률은 12h까지는 급격히 높아졌으며 15h이후부터는 변화가 나타나지 않았으므로 우리는 적합한 물작용분해시간을 15h로 보았다.

5) 세파덱스G-15겔크로마토그라프법을 리용한 흰쌀당화박물작용분해물의 분자량분포결정 각이한 분자량의 표준물질들을 10mL/h의 속도로 세파덱스G-15겔탑으로 통과시키면서 분 자량과 분배결수사이 표준그라프를 작성하였다.(그림 5)

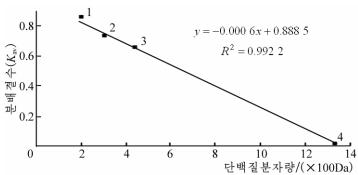


그림 5. 분자량과 분배곁수사이 표준그라프 1-L-트립토판(분자량 204), 2-글루타티온(분자량 307), 3-N-카르벤족시 α, L-글루타밀 L-티로진(분자량 444), 4-비타민Β₁₂(분자량 1 355)

다음으로 우리는 세파덱스G-15겔크로마토그라프법을 리용하여 흰쌀당화박물작용분해 물의 분자량분포를 검토하였다.(그림 6, 표)

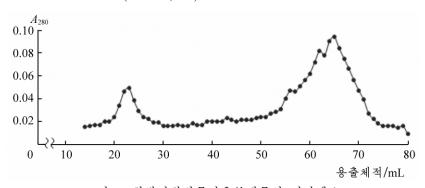


그림 6. 흰쌀당화박물작용분해물의 세파덱스 G-15껠려파크로마토그라프 탑크기 1.5×29cm, 분획속도 10~11mL/h, 분획체적 1mL

표. 세파덱스G-15겔크로마토그라프법에 의한 분자량분포결정

 구분	1 000Da이상의 상대함량/%	500~1 000Da의 상대함량/%	500Da이하의 상대함량/%
흰쌀당화박의 효소분해물	23.5±0.6	18.8±0.5	57.7±0.4
p<0.05			

그림 6과 표에서 보는바와 같이 우의 조건에서 얻은 흰쌀당화박물작용분해물에는 분 자량이 1 000이하인 펩티드가 76.5% 들어있다.

맺 는 말

Bacillus licheniformis 830 단백질분해효소를 리용한 흰쌀당화박단백질의 적합한 물작용분해조건은 효소첨가량 4 000U/g, pH 8~9, 분해온도 45~50℃, 분해시간 15h이다. 이때 얻어진 흰쌀당화박물작용분해물에는 분자량이 1 000이하인 펩티드가 76.5% 들어있다.

참 고 문 헌

- [1] Bhawang Agarwal et al.; Natural Science, 6, 5, 1, 2013.
- [2] 黄河龙; 粮食与油脂, 2, 23, 2008.
- [3] 张宝华; 河南农业大学学报, 43, 72, 2009.
- [4] 罗贵伦; 食品科学, 22, 9, 77, 2002.

주체107(2018)년 7월 5일 원고접수

Hydrolysis Condition of Saccharified Dreg of Polished Rice Using Protease from *Bacillus licheniformis* 1916

Ri Jun Song, Kim Yong Jo

The suitable condition for hydrolysis of saccharified dreg of polished rice by protease from *Bacillus licheniformis* 1916 is as follows: additive amount of protease -4~000U/g, pH $-8\sim9$, hydrolysing temperature $-45\sim50\,^{\circ}\text{C}$, hydrolysing time -15h.

The result hydrolysate contains 76.5% of peptide of which molecular weight is below 1 000Da.

Key words: Bacillus licheniformis, protease