

견단백질의 포화수증기-희염산물작용분해물에서 유기질소화합물조성

심 명 수

위대한 수령 김일성동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《과학자, 기술자들은 우리 나라에 있는 원료와 연료를 최대한으로 동원하여쓰기 위한 연구사업에 힘을 넣어야 합니다.》(《김일성전집》 제77권 261페이지)

제사 및 방적공정에서 나오는 건가공부산물은 섬유제품생산에는 리용하기 어렵지만 여러 분야에 리용할수 있는 단백질재료이다. 그런데 견단백질은 견고한 경단백질이므로 그대로는 리용할수 없으며 물리적인 변성이나 화학적인 물작용분해[5, 6]를 통하여 용해성과 소화성을 부여하여야 한다.

우리는 건가공부산물을 포화수증기-희염산물작용분해[1, 2]하였을 때 얻어지는 물작용분해물의 유기질소화합물조성에 대하여 검토하였다.

재료와 방법

제사 및 방적공정의 부산물을 선별하여 잡물질을 없애고 물기함량이 8~10% 되도록 자연건조하여 견단백질재료로 리용하였다. 견단백질을 선행연구방법[1, 2]으로 포화수증기-희염산물작용분해하였다.

물작용분해물의 아미노태질소를 포르몰적정법으로 정량하였다. 견단백질의 물작용분해물은 리용한 재료의 총질소량에 대한 물작용분해물 아미노태질소량의 백분율로 결정하였다.

물작용분해물의 유리형아미노산조성은 기체크로마토그래프법으로 분석하였으며 펩티드조성은 총질소량과 아미노태질소량에 의한 계산과 리보뉴클레아제A와 바찌트라핀, 글루타디온(GSSG), 글루타디온(GSH)을 분자량표준물질로 리용하는 세파덱스 G-25겔탑크로마토그래프법으로 분석하였다.

물작용분해물의 비아미노태유기질소화합물은 부식토에서 분리한 후민산과 비리그노폴보산, 리그노폴보산을 표준물질로 리용하는 가시선흡수스펙트럼법으로 분석하였다.

결과 및 논의

1) 물작용분해물의 일반적특성

물작용분해물은 견단백질재료 1.0kg당 (9.35 ± 0.56) L 생성되였다.

물작용분해물에는 섬유모양의 잔여물이 전혀 없었고 간장과 류사한 냄새가 났다. 물작용분해물은 방온도에서 몇h후에 약간의 침전물(검은밤색)과 투명한 상등액(황갈색)으로 갈라졌다. 상등액의 근자외선 및 가시선흡수스펙트럼은 그림 1과 같다.

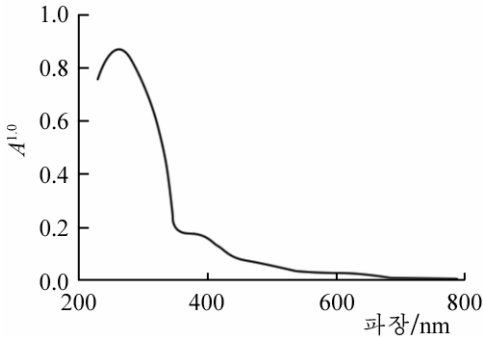


그림 1. 건단백질의 포화수증기-희열산
물작용분해물의 근자외선 및 가시선
흡수스펙트럼
시료희석 40배, 대조는 증류수

물작용분해물의 상등액에서 염산농도는 $(0.87 \pm 0.04)\text{mol/L}$, 아미노태질소농도는 $(0.615 \pm 0.043)\text{g/dL}$ 였다. 약간의 침전물을 무시할 때 물작용분해물에서 건단백질의 물작용분해물은 $(39.4 \pm 1.6)\%$ 였다.

류사한 조건에서 닭털을 포화수증기-희열산 물작용분해할 때 닭털단백질의 물작용분해물은 55~59%[2]였다. 물작용분해물의 차이로 보아 닭털단백질보다 건단백질이 상대적으로 물작용분해가 어렵다고 볼수 있으며 그 원인은 닭털과 견에서 단백질의 존재상태가 완전히 다르기때문이라고 볼수 있다.

2) 물작용분해물의 유리형아미노산조성

물작용분해물에 대한 기체크로마토그래프분석에서는 16가지 유리형아미노산들이 확인(그림 2)되었으며 그 총농도는 2.63g/dL였다.

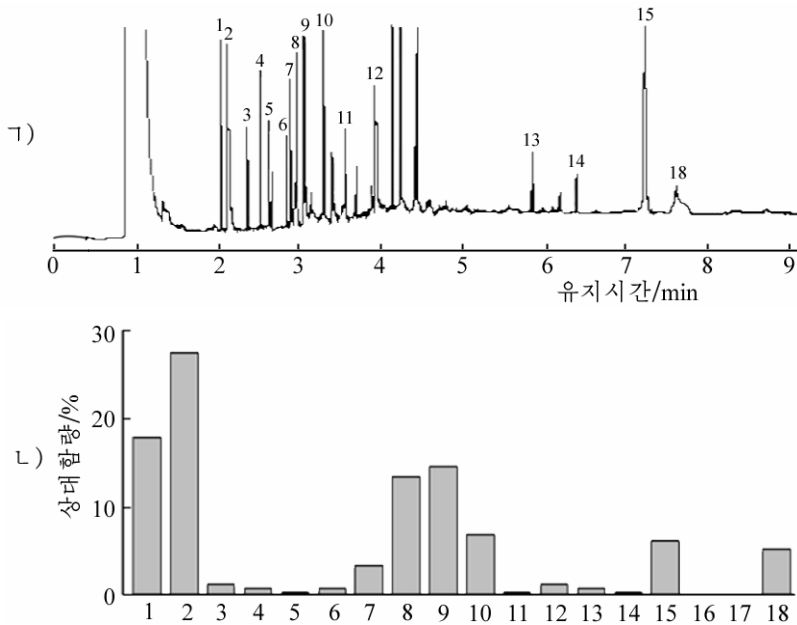


그림 2. 건단백질의 포화수증기-희열산물작용분해물의
유리형아미노산조성분석결과

ㄱ) 기체크로마토그램, ㄴ) 아미노산별상대함량;

1-Ala, 2-Gly, 3-Val, 4-Leu, 5-Ile, 6-Pro, 7-Thr, 8-Ser,
9-Glu, 10-Asp, 11-Met, 12-Phe, 13-Lys, 14-His,
15-Tyr, 16-Trp, 17-시스틴, 18-Arg

물작용분해물에서 함량이 뚜렷하게 높은 유리형아미노산은 Gly(27%), Ala(18%), Glu(15%), Ser(13%), Asp(7%), Tyr(6%), Arg(5%)였다.

건단백질의 Gly(45%)와 Ser(12%)는 혈액속의 콜레스테롤함량을 낮추고 Ala(30%)는 알콜

대사를 촉진하며 Tyr(6%)는 치매증을 예방한다. 이로부터 림상에서 견단백질을 아미노산원천으로 리용하고있으며 《식용명주》도 개발되였다. 주목되는것은 견단백질과 그것의 포화수증기-회염산물작용분해물에서 Gly, Ala, Ser, Tyr의 상대함량이 류사한것이다. 견단백질의 물작용분해물이 높지 못한(39%)데도 불구하고 상대함량이 류사한것은 단백질의 물작용분해에서 프로톤촉매작용의 특이성이 낮기때문이라고 볼수 있다. 이 류사성은 포화수증기-회염산물작용분해법이 견단백질의 리용에서 효과적인 수단으로 될수 있다는것을 의미한다.

견가공부산물의 주성분은 견피브로인이다. 이로부터 우리는 물작용분해물에서 유리형아미노산의 몰함량을 단백질1차구조자료기지(PIR)에 제시된 견피브로인의 1차구조자료[3, 4]와 비교하였다.(그림 3)

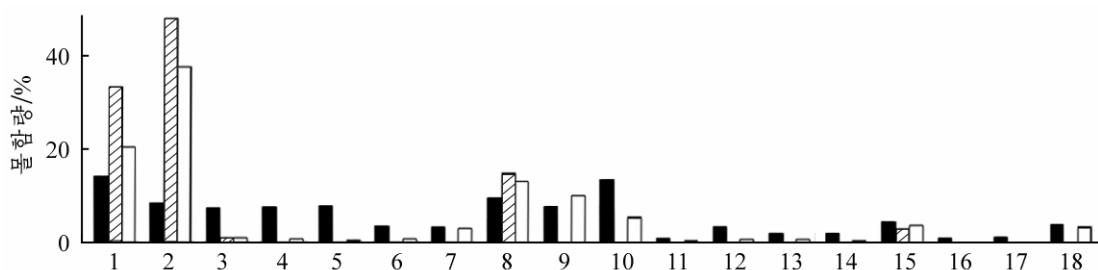


그림 3. 견단백질의 포화수증기-회염산물작용분해물에서

유리형아미노산의 몰함량

■—견피브로인의 가벼운사슬선구체(A33407), ▨—견피브로인(S01844), □—물작용분해물;
1—Ala, 2—Gly, 3—Val, 4—Leu, 5—Ile, 6—Pro, 7—Thr, 8—Ser, 9—Glu+Gln, 10—Asp+Asn,
11—Met, 12—Phe, 13—Lys, 14—His, 15—Tyr, 16—Trp, 17—Cys, 18—Arg

그림 3에서 보는바와 같이 견단백질에서 잔기함량이 높은 아미노산들의 대다수가 물작용분해물의 유리형아미노산조성에서도 그 함량이 높다. 한편 Ala를 제외한 소수성아미노산들이 견단백질에서 잔기함량이 높아도 물작용분해물의 유리형아미노산조성에서는 그 함량이 아주 낮다. 이러한 결과는 프로톤 그자체가 친수성이 강한것만큼 단백질의 염산물작용분해에서 프로톤이 촉매작용특이성이 낮다고 하여도 친수성아미노산들에 의하여 이루어진 펩티드결합에 대하여 보다 우선적으로 작용한다는것을 보여준다.

3) 물작용분해물의 펩티드조성

물작용분해물 1L를 얻는데 물기함량이 9%정도인 견단백질재료 107g이 리용되었으므로 물작용분해물의 견단백질초기함량은 97.4g/L이다. 아미노산분자량과 펩티드에서 아미노산잔기분자량의 차이를 고려하면서 물작용분해물의 상등액에서 매 유리형아미노산의 농도를 해당한 견단백질농도로 환산하면 21.7g/L이다. 부반응이 없다고 보면 견단백질 97.4g(100%) 가운데 21.7g(22.3%)은 아미노산으로, 75.7g(77.7%)은 펩티드로 물작용분해되어 물작용분해물 1L에 존재한다고 볼수 있다.

물작용분해물의 상등액에 들어있는 아미노태질소화합물은 유리형아미노산과 펩티드이다. 그런데 포르몰적정법으로 결정한 아미노태질소의 총농도는 0.615g/dL이고 유리형아미노산조성에 따라 계산된 유리형아미노산들의 아미노태질소농도는 0.356g/dL이다. 때문에 펩티드의 아미노태질소농도는 0.259g/dL이다.

포르몰적정법으로 분석되는 아미노태질소는 펩티드 1분자당 1개이다. 그러므로 질소의

원자량을 고려하여 아미노산질소농도를 펩티드농도로 환산하면 0.185mol/L이다.

결국 물작용분해물에서 견단백질함량 75.7g/L에 펩티드농도 0.185mol/L가 대응된다. 그리고 물작용분해과정에는 펩티드 1분자당 물 1분자가 부가되므로 물작용분해물에서 펩티드의 평균분자량은 $427(=75.7/0.185+18)$ 이다. 한편 아미노산의 평균분자량은 1 100여가지 단백질들에서 아미노산출현빈도를 고려할 때 128.3이다. 이에 따르면 물작용분해물에서 펩티드의 아미노산평균잔기수(축합도)는 $3.7(=(427-18)/(128-18))$ 이다.

물작용분해물의 상등액에 대한 세파덱스 G-25겔탐크로마토그램(그림 4)에서 $A_{280}^{1.0}$ 값은 용출체적이 72mL일 때부터 뚜렷이 증가하였다. 분자량표식물질들의 용출자료(그림 5)에 의하면 72mL의 용출체적에 해당하는 분자량은 2 100이다. 물작용분해물에서 확인(그림 2)된 유리형아미노산들과 시스틴의 분자량은 75~240이다. 그러므로 물작용분해물의 상등액에 들어있는 펩티드의 분자량은 240~2 100범위안에 있다고 볼수 있다.

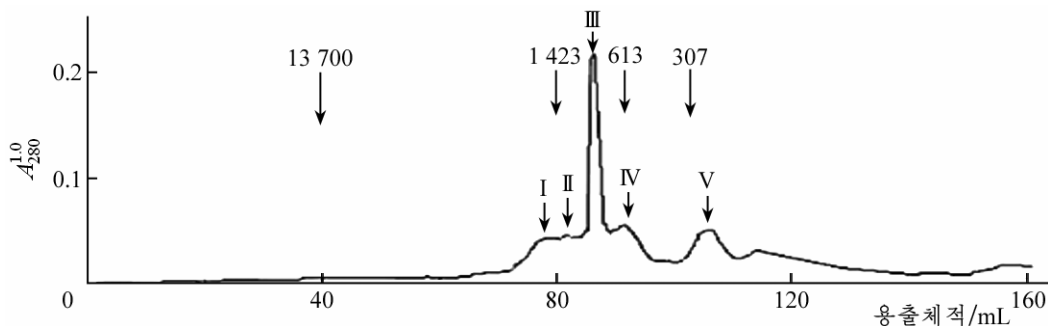


그림 4. 견단백질의 포화수증기-회염산물작용분해물에 대한 세파덱스 G-25겔탐크로마토그램

13 700-리보누클레아제A, 1 423-바찌트라핀, 613-GSSG, 307-GSH;

탐 ϕ 1.6×55cm, 용출액(증류수)의 용출속도 0.12mL/min

그림 4에서 240~2 100의 분자량범위에 해당하는 용출체적은 72~108mL이며 이에 해당하는 $A_{280}^{1.0}$ 값의 변화를 세밀하게 조사해보면 용출체적이 79, 83, 88, 93, 107mL인 위치에 각각 봉우리들이 있다. 이로부터 견단백질의 물작용분해물에 존재하는 펩티드의 분자량은 250~1 370으로, 축합도는 아미노산의 평균분자량을 고려할 때 2~11로 결정되었다.(표)

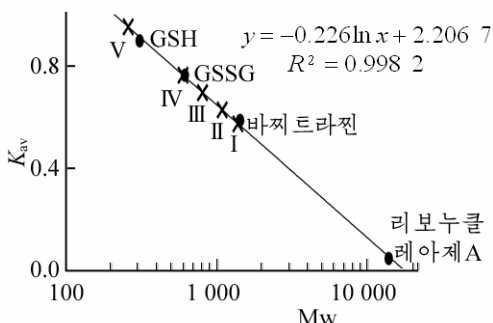


그림 5. 세파덱스 G-25겔탐(ϕ 1.6cm×55cm) 크로마토그램에 대한 해석

표. 세파덱스 G-25겔탐크로마토그램에서 견단백질기원의 펩티드해석

봉우리	V_e /mL	K_{av}	$\ln Mw$	Mw	축합도
I	79	0.574	7.226	1 374	10.7
II	83	0.628	6.987	1 082	8.4
III	88	0.695	6.688	803	6.3
IV	93	0.763	6.390	596	4.6
V	107	0.952	5.553	258	2.0

$K_{av} = (V_e - V_0)/(V_{gel} - V_0)$, V_{gel} 은 겔체적(110.6mL), V_0 은 배체체적(36.5mL), V_e 는 용출체적

4) 물작용분해물의 비아미노래질소화합물

견단백질로부터 생성된 저분자펩티드나 유리형아미노산들은 가시선을 흡수하지 않는다. 그러나 견단백질의 물작용분해물은 뚜렷한 황갈색을 띠며 400~700nm에서 부식토로부터 분리한 후민질성분들과 유사한 빛흡수스펙트르를 나타냈다.(그림 6) 이것은 포화수증기-희열산물작용분해과정에도 일정한 부반응이 일어나며 그 생성물은 부식토의 후민질성분과 유사한 비아미노래유기질소화합물일수 있다는것을 의미한다. 다시말하여 견단백질의 물작용분해물에는 색을 띠는 비아미노래질소화합물이 부반응생성물로 포함되어있다는것을 의미한다.

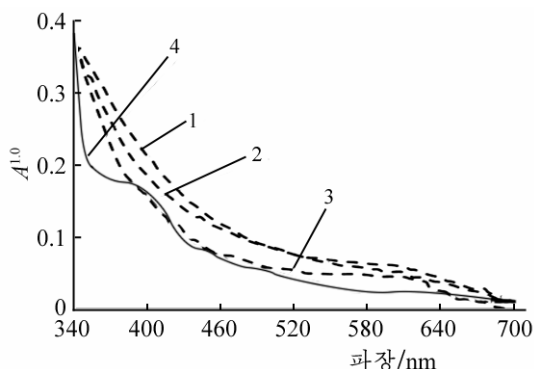


그림 6. 견단백질의 포화수증기-희열산물작용분해물 및 부식토의 유기질소성분들의 가시선흡수스펙트르
1-후민산, 2-비리그노폴보산, 3-리그노폴보산, 4-견단백질의 물작용분해물

자외선과 가시선의 경계과장인 300~400nm에서의 차이는 견단백질에 들어있는 펩티드들과 유리형아미노산들의 자외선흡수특성이 부식토의 후민질성분들과 크게 차이난기때문이라고 볼수 있다.

맺 는 말

포화수증기-희열산물작용분해법으로 제사 및 방적공정에서 나오는 견가공부산물 1kg 으로부터 평균 9.35L의 물작용분해물이 생성된다. 이때 견단백질의 22%는 유리형아미노산으로, 78%는 펩티드로 전환된다.

물작용분해물에서 유리형아미노산의 종류는 16가지이고 총농도는 2.63g/dL이며 상대함량이 높은것은 Gly(27%), Ala(18%), Glu(15%), Ser(13%), Asp(7%), Tyr(6%), Arg(5%)이다. 물작용분해물에서 펩티드의 분자량은 250~1 370이며 아미노산잔기수는 2~11(평균 3.7)이다.

물작용분해물에는 묽은염산(0.87mol/L)과 함께 후민질과 유사한것으로 인정되는 황갈색의 부반응생성물도 포함되어있다.

참 고 문 헌

- [1] 심명수 등; 조선민주주의인민공화국 발명특허, No. 50561, KP-08-546, 주체98(2009).
- [2] 심명수; 생물학, 2, 1, 주체101(2012).
- [3] K. Yamaguchi et al.; J. Mol. Biol., 210, 127, 1989.
- [4] K. Mita et al.; J. Mol. Biol., 203, 917, 1988.
- [5] M. K. Trivedi et al.; Int. J. Nut. Food Sci., 5, 1, 1, 2016.
- [6] Hala Ali Abdel-Salam; Am. J. Biosci., 2, 2, 70, 2014.

Composition of the Organic Nitrogen Compounds in Silk Proteins Hydrolysate by the Saturated Steam Heating and Dilute Hydrochloric Acid

Sim Myong Su

Using the saturated steam heating and dilute hydrochloric acid hydrolysis method, average 9.35L of the hydrolysate is produced from 1 kg silk processing wastes in reeling and spinning. At that time 22% (w/w) of silk protein is converted into free amino acids, and 78% (w/w) of them into peptides.

There are 16 kinds of free amino acids in the hydrolysate, and their total concentration is 2.63g/dL, among them Gly (27%), Ala (18%), Glu (15%), Ser (13%), Asp (7%), Tyr (6%) and Arg (5%) are relatively abundant. The molecular weights and amino acid residue number of peptides in the hydrolysate are 250 to 1 370 and 2 to 11 (average 3.7) respectively.

The hydrolysate also contains dilute hydrochloric acid (0.87mol/L) and the yellow brown byproducts which are acknowledged as humus analogues.

Key words: silk protein hydrolysate, amino acid, low molecular weight peptide