

단백질분해효소생성균 *Bacillus licheniformis* 830의 고체배양조건에 대한 연구

박일심, 김영조, 리준성

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《생물공학, 화학을 발전시키는것은 인민들의 먹고 입는 문제를 비롯하여 인민생활을 높이는데서 매우 중요한 의의를 가집니다.》(《김정일선집》 증보판 제15권 487페이지)

단백질분해효소는 세계적으로 그 생산량이 제일 많은 효소의 한 종류로서 인민생활향상에서 매우 중요한 자리를 차지한다. 특히 단백질분해효소는 식료가공공업, 세척제공업, 가죽이김, 축산업발전에 크게 기여하고있다.[2]

단백질분해효소의 리용범위가 넓어짐에 따라 그 생성균주의 합리적인 배양방법을 확립하는것이 중요한 문제로 제기된다.

현재까지 단백질분해효소생성균주인 *Bacillus licheniformis* 830의 고체배양방법에 대하여 제기된 자료가 없는 조건에서 우리는 이 균주의 고체배양조건에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

단백질분해효소생성균으로는 *Bacillus licheniformis* 830을 리용하였다.

단백질분해효소생성균을 콩깨묵, 밀기울, 강냉이가루의 혼합배지에 접종하고 배양하여 단백질분해효소활성이 높은 기질을 선택하였다.

다음 선택한 배양기질에 각이한 농도의 염화암모니움, 류산암모니움, 질산암모니움, 노소를 첨가하여 단백질분해효소생성에 미치는 무기질소원의 영향을 검토하였다. 각이한 물기함량의 고체배양기질들에 각이한 접종량으로 균을 접종하고 각이한 온도조건에서 단백질분해효소생성균을 배양하여 단백질분해효소활성을 측정하였다. 단백질분해효소활성은 카제인을 기질로 하여 폴린시약법[1]으로 측정하였다.

결과 및 논의

1) 배지조성이 단백질분해효소의 생합성에 미치는 영향

단백질분해효소의 생성에 미치는 고체배양기질의 영향을 보기 위하여 콩깨묵, 밀기울, 강냉이가루를 각이한 비율로 섞은 배지에서 고체배양(물기 55%, 배양온도 40℃, 배양시간 3일)을 진행하고 단백질분해효소활성을 검토하였다.(그림 1)

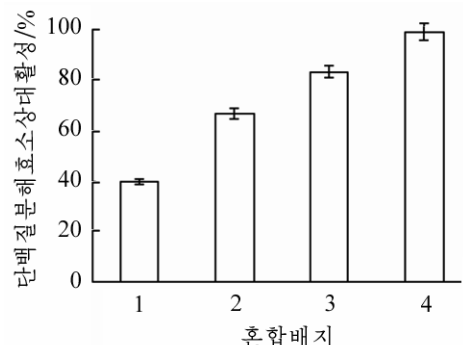


그림 1. 혼합비에 따르는 단백질분해효소활성

1-콩깨묵:밀기울=5:5, 2-강냉이가루:밀기울=5:5, 3-강냉이가루:콩깨묵=5:5, 4-강냉이가루:콩깨묵:밀기울=4:4:2

그림 1에서 보는바와 같이 강냉이가루, 콩깍묵, 밀기울의 4 : 4 : 2 혼합배지에서 단백질분해효소활성이 상대적으로 높았다. 이것은 밀기울이 단백질분해효소생성에서 중요한 작용을 한다는것을 보여준다.

2) 무기질소원의 종류가 단백질분해효소의 생합성에 미치는 영향

무기질소원의 종류와 농도가 단백질분해효소생합성에 미치는 영향을 검토하였다.(그림 2)

그림 2에서 보는바와 같이 단백질분해효소생합성에서 무기질소원으로 류산암모니움을 첨가하였을 때 단백질분해효소활성이 뚜렷하게 높았다. 또한 류산암모니움의 최적첨가농도는 0.15%라는 것을 알 수 있다.

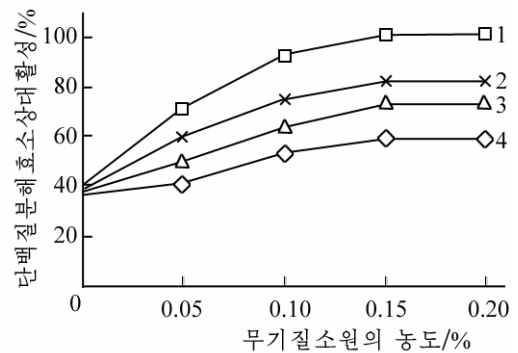


그림 2. 무기질소원의 종류와 농도가 단백질분해효소생합성에 미치는 영향
1—류산암모니움, 2—염화암모니움, 3—질산암모니움, 4—노소

3) 배양조건이 단백질분해효소의 생합성에 미치는 영향

배양온도의 영향 배양온도를 25, 30, 35, 40, 45℃로 변화시키면서 배양온도가 효소생합성에 미치는 영향을 검토하였다.(그림 3)

그림 3에서 보는바와 같이 배양온도에 따라 단백질분해효소활성은 각이하였는데 배양온도 40℃에서 최대활성을 나타냈으며 온도가 이보다 높으면 활성이 감소되었다. 이로부터 단백질분해효소생성균의 배양온도를 40℃로 정하였다.

배지물기함량의 영향 고체배지의 물기함량을 45%로부터 65%까지 5% 간격으로 변화시키면서 효소생합성에 미치는 배지물기함량의 영향을 검토하였다.(그림 4)

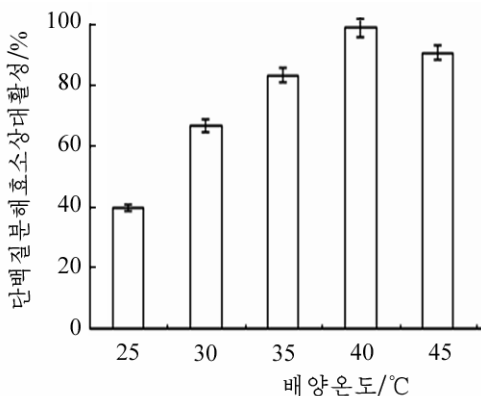


그림 3. 배양온도가 단백질분해효소생합성에 미치는 영향

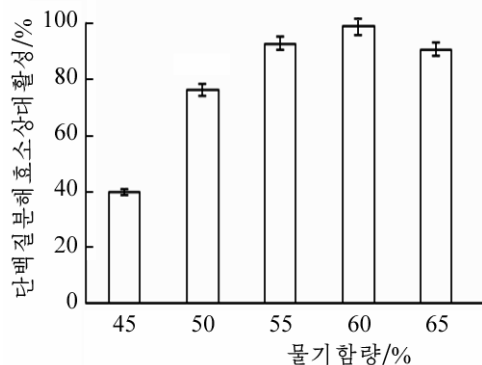


그림 4. 배지의 물기함량이 단백질분해효소의 생합성에 미치는 영향

그림 4에서 보는바와 같이 배지의 물기함량이 60%일 때 단백질분해효소활성은 최대에 이르렀다. 이보다 배지물기함량이 낮거나 높을 때에는 효소활성이 뚜렷하게 떨어졌다. 이로부터 배지물기함량을 60%로 하는것이 합리적이라고 보았다.

종균접종량의 영향 종균접종량을 0.2, 0.4, 0.8, 1.0%로 변화시키고 30℃에서 3일 배양한 후 효소활성을 측정하여 접종량이 단백질분해효소생합성에 미치는 영향을 검토하였다.(그림 5)

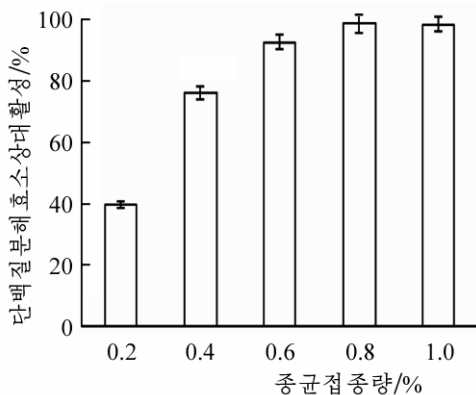


그림 5. 종균접종량이 단백질분해효소의 생합성에 미치는 영향

그림 5에서 보는바와 같이 종균접종량이 0.8% 일 때 효소활성이 최대에 이르렀으며 그 이상에서는 뚜렷한 차이가 없었다. 이로부터 효소생합성에서 최적종균접종량은 0.8%로 하는것이 효과적이라고 보았다.

맺 는 말

1) 단백질분해효소생합성을 위한 배지조성은 강냉이가루와 콩깨묵, 밀기울의 비를 4 : 4 : 2로 하고 여기에 류산암모니움을 0.15% 첨가하는것이 효과적이다.

2) 단백질분해효소생합성을 위한 최적배양조건은 배양온도 40℃, 배지물기함량 60%, 종균접종량 0.8%이다.

참 고 문 헌

- [1] Hideto Takami et al.; Appl. Microbial. Biotechnol., 30, 120, 1989.
- [2] S. H. M. Abdel-Rhman et al.; Journal of American Science, 10, 7, 62, 2014.

주체105(2016)년 12월 5일 원고접수

Solid Culture Condition of Protease Production Strain *Bacillus licheniformis* 830

Pak Il Sim, Kim Yong Jo and Ri Jun Song

The optimum solid culture conditions of protease production strain *Bacillus licheniformis* 830 are as follows: medium is made of corn powder, bean cake and bran with the ratio of 4:4:2 added by 0.15% of ammonium sulfate, culture temperature is 40℃, medium humidity is 60% and amount of seed inoculation is 0.8%.

Key words: protease, *Bacillus licheniformis*