

(서울대학교 文理科大學 化學科) (4287. 7. 5. 受理)

5. Protopectinase 의 특異性에 關하여

金 泰 鳳

On the Specificity of Bacterial Protopectinases

It was pointed out by Katagiri and Nakahama that the useful retling bacteria acted selectively on vegetable fiber materials and also they proposed that this selectivity was based on the specificity of protopectinase of the bacteria, and that the two characters might have certain parallel relation with each other.

The result of the further experiments carried out by the author with mulberry-tree bark also confirmed the selectivity of some kinds of retling bacteria, but found no remarkably different action on protopectin from mulberry-tree bark. Accordingly no parallel relation between the selectivity of the retling bacteria and the specificity of the protopectinase was identified.

Dept. Chem.,
Coll. of Lib. Arts & Sci.,
Seoul National University.

Tai Bong Kim.

이 研究의 契旨는 이미 大韓化學會 第 1 回 年會 (1948 年 9 月) 席上에서 講

演하였다. 그리고 本誌 第 2 號에 그 論文을 發表하고자 投稿하였으나 事變으로 因하여 原稿는 勿論 實驗資料조차 없이 지고 말았다. 著者로서는 아직 이 研究 結果를 發表할 必要性을 느끼는 바이나 지금 實驗方法 및 結果를 具體적으로 報告할 수는 없고 여기서는 다만 著者の 記憶을 더듬어서 確實한 實驗結果 만을 要約하여 報告하고자 한다.

1. 研究 目的

大麻 苧麻들과 같은 植物性靱皮纖維原料를 粘練하는 方法으로서는 從來 醱酵法이 많이 쓰이고 있다. 지금까지 여러 사람들에 의하여 粘練效果가 顯著的 소위 有用微生物이 多數 純粹分離되어 近年에 이르러서는 在來의 自然腐化法 대신에 이러한 純粹分離菌을 利用한 소위 純粹醱酵法이 工業적으로도 實施되고 있다. 이러한 植物纖維原料를 粘練하는 主目的은 말할 것없이 그속에 包含되어 있는 pectin 質을 除去하는데 있다. 從來 이 pectin 質 除去作用을 酵素化學的見地에서 研究한 結果가 여러 사람들에 依하여 報告되어 있는데, 片桐 및 中濱⁽¹⁾은 그들이 純粹分離한 苧麻 大麻 亞麻 黃麻 kenaf 의 粘練菌 11 種을 써서 實驗한 結果 이들의 pectin 質 除去作用이 原料

纖維의 種類에 따라 각각 選擇的이며 이와같은 選擇은 粘練菌의 protopectinase 作用의 特異성에 基因하는 것으로 이 選擇性和 protopectinase 의 特異性과는 相關성이 있음을 指摘하였다. 著者は 桑皮에 對하여 各種類의 粘練菌을 써서 實驗하여 이러한 事實의 有無를 檢討하고자 하였다.

II. 實驗方法

(1) 桑皮의 純粹發酵粘練實驗——純粹分離한 桑皮粘練菌(一種의 micrococci) 大麻粘練菌(一種의 Bacillus) 苧麻粘練菌(一種의 bacillus) 을 써서 從來의 方法에 準하여 桑白皮를 純粹發酵法으로 粘練하여 原料 및 醱酵處理後의 纖維속에 들어있는 pectin 質을 定量하여 粘練效果를 比較하였다. 醱酵液으로서 1% peptone water 를 썼다. 그리고 pectin 質은 Nanji and Norman 法으로 Co-pectate 로서 定量하였다.

(2)

(a) 基質의 分離——Ehrlich 法에 의하여 粉碎한 桑白皮를 前處理한 다음 끓는 물로 抽出한 溶液을 減壓 蒸發시켜 protodectin (赤褐色粉末) 을 얻었다 한편 이것을 弱한 鹽酸으로 處理하여 Pectinic acid (淡黃色粉末) 와 同時에 aralan (白色粉末) 을 얻었다.

(3) Protopectinase 및 pectinase 作用의 比較實驗——片桐 및 中濱法에 準하여 實施하였다. 즉 각 粘練菌을 1% peptone water 에 最適溫度 最適 pH 에 서 一定期間培養한 後 이것을 遠心分離하여 얻은 菌體를 數回 물로써 씻은 다음 蒸溜水에 suspend 한 것을 酵素試料

로서 使用하였다. 이 때 얻어진 菌體量에 比例하여 蒸溜水의 量을 調整하였다. 한편 上記 桑皮 protopectin 은 각 粘練菌의 最適 pH 에 相當하는 acetate buffer solution 에 녹여 여기에 上記 酵素試料 및 少量의 toluene 을 넣고 最適溫度에서 一定期間 作用시킨 後 菌體 및 殘存 protopectin 을 除去한 濾液의 還元力을 Bertrind 法으로 測定하여 $KMnO_4$ 標準溶液의 滴定 c. c. 數로써 protopectinase 作用을 比較하였다. 이와같은 方法으로 각 粘練菌의 最適 pH 最適溫度에서 pectinic acid 에 대한 pectinase 作用을 比較하였다 그리고 同時에 作用前의 基質溶液과 同量의 基質을 鹽酸으로 完全히 加水分解한 溶液의 還元力을 測定하였다. 이러한 結果로써 각 粘練菌의 protopectinase 및 pectinase 의 作用率을 算出하는 한편 이 作用率과 原料에 대한 粘練菌의 粘練效果사이의 相關關係 有無를 檢討하였다.

III. 實驗結果 및 考察

以上 實驗한 바에 의하면 桑皮粘練菌은 다음 各種類의 粘練菌보다 桑皮에 대하여 훨씬 큰 粘練效果를 가지고 있었으며 이와 比例하여 pectin 質 除去率도 顯著的한 差異가 있음을 알았다. 그러나 protopectinase 및 Pectinase 의 作用率은 三者間에 거의 差異를 볼 수 없었으며 基質溫度 醱酵量 作用時間 그밖에 作用條件을 달리한 여러가지의 경우에 대하여 거듭 實驗을 하여 보았으나 三者의 protopectinase 및 pectinase 作用率은 거의 같았다.

즉 이 실험에 있어서도 亦를 醱酵精練作用의 選擇性은 確證할 수 있었다. 唯의 pectin 質은 纖維原料의 種類에 따라 相異함은더러 原料 속에는 精練菌의 發育 乃至 醱酵作用은 促進 또는 阻害하는 成分이 混在하고 있는 것으로 推測되며 (著者는 많은 純粹醱酵實驗은 結果 이렇게 推測할 수 있는 實驗的根據를 얻었다) 또 소위 有用菌이라는 것은 어떤 特定한 纖維原料의 自然醱酵夜에서 가장 精練效果가 큰 菌을 人工的으로 純粹分離한 것으로 말하자면 이러한 有用菌은 그 纖維原料에 대하여 가장 『適合한』 菌이라고 말할 수 있다. 이러한 事實로써 미루어 보아 純粹醱酵實驗에 있어서 精練菌이 選擇性을 나타내는 당연한 일이라고 생각된다. 그러나 이 選擇性을 단순히 protopectinase 의 作用에만 因하는 것이라고는 結論할 수 없다. 現在 pectin 質의 構造는 아직 不分明한 點이 많고 따라서 소위 "pectic enzymes" 의 定義 그 作用機構에 대하여서도 아직 定說이 없다 Protopectin, pectinic acid 및 protopectin, pectinase 라는 말을 來 쓰이고 있는 것과 같은 뜻으로 解釋한다면 精練過程에 있어서 protopectinase가 큰 役割을 하리라고 생각되지만 다른 pectic enzymes 또한 精練作用과 密接한 關聯性을 가지고 있을 것으로 推測된다.

더욱히 片桐 및 中濱가 提案한 方法은 理論적으로 矛盾이 있다 그들이 protopectinae 의 基質로서 使用한 物質은 엄밀히 말하면 protopectin 이 아니고 실은 溶解性을 가진 소위 "hydratopectin"

이며 이것은 pectic acid, araban, 그밖에 不純物을 包含한 一種의 混合物이다. 그러므로 이것은 protopectinase 의 基質이라고 말할 수 없고 도리어 pectinase, arabanase 의 基質이라고 생각하는 것이 妥當할 것이다. 그리고 그들은 菌自體를 醱酵試料로서 使用하였는데 이 때 주어진 實驗條件下에서는 여러가지의 要因이 酵素作用에 대하여 影響을 끼치게 될 것이다.

따라서 還元力의 差異로써 protopectinase 作用의 特異性을 云謂하는 것은 速斷일 것이다. 事實上 著者가 實驗한바에 의하면 還元力의 差異를 볼 수 없었으며 片桐 및 中濱가 指摘한 바와 같이 가령 精練菌사이에 還元力의 差異가 있었다고 하더라도 이는 protopectinase 의 特異性에 의한 것이 아니라 다른 要因에 基因하는 것으로 생각된다. 精練菌의 protopectinase 作用은 組織化學的方法에 의하지 않고서는 正確히 比較할 수 없을 것이다.

이 研究는 주로 1942 년 1 월부터 약 2 년間 著者가 日本京都帝國大學 片桐研究室에서 한 것이다. 당시 始終 懇曲히 指導하여준 片桐教授 및 많은 助言을 하여준 北原教授 그리고 이 研究를 함에 있어서 많은 便理를 보아준 同教室員諸位에게 이 機會에 謝意를 表하는 바이다.

Literatures Cited :

- (1) 片桐 and 中濱 日本農藝化學會誌 16 1940 1151.
- (2) Ehrlich and Schubert, Biochem. Z., 203 (1928) 543.
- Ehrlich, Abderhalden's Handb. d. Biolog. Arbeitsmeth., Abt. IV, Teil 2, S. 2406