

韓國產 蠶繭에서 分離된 微生物에 關한 研究 (第 II 報)

李 相 元 · 李 喆 俊

<三育大學 · 高麗大學>

(蠶繭에서 分離된 Bacteria 의 Enzyme activity)

The studies on microbe isolated from the cocoon in Korea

S.W. Lee, C.J. Lee.

Korea Union Colle. Ko Ryo Univ.

Summary

There are two fold aims in this experimental study.

The aim is to investigate the bacteria which produce the high activity enzyme on the cocoon for utilization to the textile and the industry.

The other is to protect against the bacteria that damage silk protein during storage.

The results are summarized as follows:

1. Among the isolated bacteria from the cocoon, No 4 strain had the high activity of the α -amylase.

But this strain had not been identified.

The results of experiment is shown in the table II.

2. Among the isolated bacteria from the cocoon, No 11 strain had the high activity of the protease on substance of the casein.

The results of the experiment is shown in the table II.

3. The bacteria which had the high activity of the degumming effect of the sericin, the part of the operation for 7 days was higher part of the operation for 3 days.

The results of the experiment are indicated in Fig I and Fig II.

I. 緒 論

近來 製藥工業을 비롯한 紡織 皮혁부분 등 많은 產業界에 Enzymen 이 利用되어 微生物을 產業에 利用하는 產業微生物分野가 크게 發展을 이루게 되었다.

著者는 前報⁽¹⁾에서 分離同程한 12 Strain 의 Bacteria 를 酵素學的으로 研究하여 各各의 微生物이 生産하는 Enzyme 의 性能을 究明하여 이것을 Sericin 精練工業에 利用코져 하였고 또한 이 分離菌中에서 食品工業에 有用한 微生物을 選擇트록 試圖하였다. 1939 年 片桐 中

濱⁽²⁾은 日本產 蠶繭으로부터 18 種의 細菌을 分離하였다. 1939 年 片桐, 中濱⁽³⁾은 分離된 18 種의 Bacteria 中 2 種의 Bacteria 를 形態 生理의 實驗結果 Bacillus Cereus 임을 同程報告하였다. 1940 年 片桐 中濱⁽⁴⁾은 Bacillus Cereus 의 Sericin 分解作用은 可溶性 酵素에 依하여 行하여짐을 證明하고 이 Enzyme 를 Degummase 라고 命名하였다.

Degummase 는 Sericin A, Sericin B 에는 影響이 있고 Fibroin 에는 影響이 없음을 報告하였다. 1943 年 片桐 中濱은⁽⁵⁾ Bacillus cereus와 Bacillus Robutus 의 peptone 水溶液에서 各各 Degummase 와 Thermodegummase 를 얻고 이 酵素劑는 生絲에 강한 Sericin 分解作用 을 가짐을 報告하였다.

1957 年 中濱 令原⁽⁶⁾은 紡績原料의 酵素精練에 有用한 好氣性 細菌種과 嫌氣性 細菌 1 種에 對하여 分類菌株의 菌學的 性質을 研究報告하였다.

本實驗을 遂行함에 있어 始終 아낌없는 激勵을 하여 주신 李培成 博士任과 崔炳熙 博士任 朴啓仁 先生任에 深深한 謝意를 드리며 南重熙 學兄 洪承喆 閔泰益 學兄 李道秀 學兄 實驗室에서 수고한 李相仁 君에게 感謝를 드리는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 使用 菌株

1967 年 分離同程하여 保管中인 菌株를 使用하였다. 菌株는 Nutrient agar slant 上에서 數次 階代하여 냉장고內에서 保管하였다.

實驗에 使用前 時間 간격으로 連三回 階代 培養하여 實驗에 供하였다.

實驗에 使用한 菌株는 Table I 과 같다.

2. 液化型 Amylase 의 力價測定^(7,8)

α -Amylase 力價測定用으로는 100 ml 의 三角 flask 에

Table I. Species of Strain.

Number of Strain	Species of Strain	
No 1	Bacillus	Subtilis Variation
No 2	Bacillus	Stearothermophilus
No 3	Bacillus	Circulan
No 4	Bacillacea	
No 5	Bacillus	thuringiensis
No 6	Bacillus	thuringiensis
No 7	Bacillus	brevis
No 8	Bacillus	Subtilis Variation
No 9	Bacillus	Cereus Variation
No 10	Bacillus	brevis
No 11	Bacillus	Cereus Variatiion

각각 pH 7.0 으로調節한 Nutrient broth 를 50 ml씩 넣고 이 三角 flask 를 Autoclave 에서 15^{lb} 의 壓力으로 30 分間 處理하였다.

Nutrient Agar Slant 를 培地로 37.C에서 24時間 培養된 Strain 을 白金耳로 同量 接種後 37°C로 調節된 incubator 에서 48時間 incubation 시켰다.

培養液을 滅菌 flask 에 여과시킨 후 여과液에 1%의 toluol 을 3 滴加하여 實驗에 供하였다.

力價測定方法으로는 終來부터 使用되고 있는 Wohlgemuth 에 依한 沃度法⁽⁸⁾을 使用하였다. 卽 基質液으로는 0.1%, 1%의 可溶性 澱粉液을 使用 各 作用液에 N/10 沃度液을 1 滴씩 加하고 赤紫色이 나타나는 最高稀釋 試驗管의 酵素量을 計算하여 그 力價를 求하였다.

$$D_{30}^{40} \frac{1\% \text{ Soluble Starch Solution}}{\text{酵素液의 所要 cc}} \times \text{稀釋倍數}$$

作用條件은 各 酵素液을 倍數로 稀釋한 試驗管列에 基質液 5 ml씩을 加하고 40°C의 恒溫水槽에서 30 分間 作用시킨 다음 일단 冷水中에서 冷却시킨 다음 上記式

으로 測定하였다.

3. Protease 의 力價測定^(7,9)

上記 α-Amylase 力價測定에서와 같이 接種여과液을 만들어서 실험에 供하였다.

力價測定 方法은 Fuld-Gross 法에⁽⁹⁾ 依하였다.

卽 基質液으로 0.1%의 Casein 液을 使用하여 各 作用液에 酢酸·酒精混合液(酢酸 1 ml+96% Alcohol 50 ml + 증류수 49 ml) 6 滴을 滴下하여 혼탁이 일어나지 않는 最高稀釋·試驗管의 酵素量을 計算하여 各 原液 1 ml 이 分解한 0.1% Casein 液의 ml 數로 力價를 表示하였다.

作用條件은 各 基質液에 2 ml의 各 酵素液을 加하고 38°C의 恒溫水槽에서 1時間 作用시킨 다음 일단 冷水中에서 冷却하여 上記 方法으로 測定했다.

4. Sericin 分解 效果^(3, 10)

서울大學校 農科大學에서 保管中인 生絲를 試料로 各 各 無水量 5 gr 內外로 Sample 을 採取하였다. pH 7.0 으로 調節한 Nutrient broth 를 500 ml 三角 flask 에 200 ml씩 分注하고 各 flask 에 試料 silk 를 침적했다. 三角 flask 를 15^{lb}로 20 分間 Autoclaving 한 다음 各 flask 에 nutrient slant 에 接種 37°C에서 24時間 incubation 된 No 5·No 6·No 8·No 11 strain 을 白金耳를 使用 1. loopful씩 接種한 후 37°C로 調節된 incubator 에서 3: 日間, 7 日間 incubation 시켰다.

incubation 도중 1日 3回 各반시켰다. 處理後 生絲를 꺼내어 45°C의 溫水에 數回 흔들어 세척해서 Dry Oven. 에서 乾燥後 生絲檢査所의 Electric Conditioning Oven 에 서 乾燥 無水定量하여 Sericin 含量을 求하였다.

III. 實驗結果

1. 分離菌株의 α-Amylase Activity 를 測定한 結果는 다음 Table II와 같다.

2. 分離菌株의 Protease Activity 를 測定한 結果는 다음 Table II와 같다.

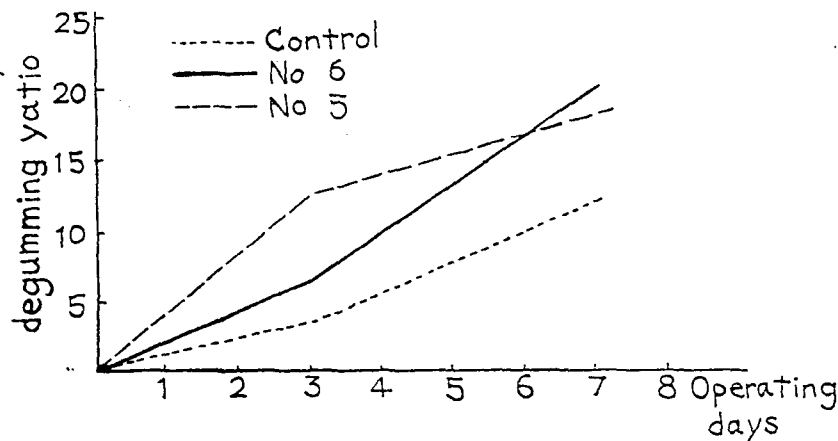


Fig 1. No. 5, No. 6, Degumming effect of sericin

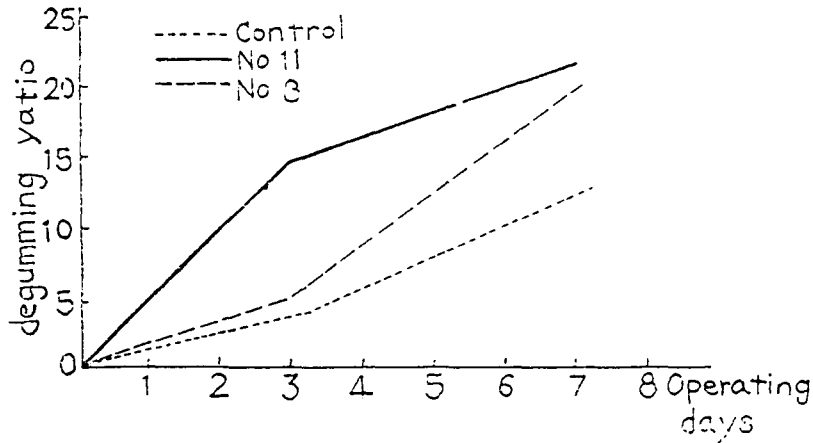


Fig II. No. 7, No. 11 : Degumming effect sericin

Table II: The Enzyme activity of isolates

SN	E	α -Amylase	Protease	SN	E	α -Amylase	Protease
1		5	2	7		0	0
2		10	2	8		10	16
3		0	0	9		0	2
4		40	0	10		5	0
5		10	16	11		20	32
6		5	16				

E: Enzyme

S.N: Strain Number

3. Sericin 精練效果

가. 分離菌株들 中 No 5, No 6 Strain 의 raw silk에 대한 精練實驗 結果는 다음 Fig I과 같다.

나. 分離菌株中 No. 11, No. 8 strain 의 raw silk에 대한 精練實驗結果는 다음 Fig II와 같다.

IV. 考 察

1. 分離菌株의 液化型 Amylase 力價測定에 關한 實驗은 Nutrient broth 를 使用 細胞外 酵素를 여과 Wohlgenuth 法에 依하여 그 activity 를 測定한 結果 No. 2, No 5, No. 8 strain 은 力價 10 으로 나타났고 No. 11 strain 은 activity 20 으로 No. 4 strain 은 40 으로 나타났다. No. 4 strain 의 力價가 제일 높게 나타났다

2. protease 力價測定은 培養液을 여과 細胞外 酵素를 基質 Casein 으로한 Fuld-Gross 法에 依하여 測定한 結果 No. 5, No. 6, No. 8 이 力價 16 으로 나타났고 No. 11 strain 이 力價 32 로 제일 높은 力價를 기타냈다. 이들 No. 4 strain 과 No. 12 strain 은 細胞內 酵素를 抽出하여 精製하면 力價가 높은 有用酵素를 生産할 수 있을 것을 예상하며 차기 과제에 미루는 바이다.

3. Sericin 精練에 關한 實驗은 培養後 3일에는 No. 11

Strain 區가 14.58% No. 5 strain 은 12.44% 로 좋은 效果를 나타냈으나 Fig I, II에서 보는 바와 같이 No. 6 strain 과 No. 8 strain 區는 Control 區와 別트 차이가 많지 않았다.

培養後 7일에는 No. 11 區가 21.8%로 높은 精練效果를 나타냈으며 No. 5 區는 18.09% No. 6 區는 19.8% No. 8 區는 19.1%로써 處理時間이 경과함에 따라 精練比率이 變化되는 것을 알 수 있다.

Control 區에서는 3일 후에 3.2% 7일 후에는 12.3%로써 精練效果가 있었던 것은 加壓殺菌과 37°C에서의 處理效果일 것으로 사료된다. 이와 같은 raw silk 의 精練에 微生物을 利用하는 문제와 조건에 있어서의 酵素利用問題는 그 意義가 크므로 앞으로의 研究과제인 것이다.

引用文獻

1. S.W. Lee & C.J. Lee; The studies on microbe isolated from the Cocoon in Korea (1967) Vol VII page 53-65.
2. 片桐, 中濱: 醱酵精練에 關한 研究 日農化誌 13 권 11책 (1939) page 1007-1016.
3. " 13 권 11책 (1940) page 1017-1022.
4. " 14 권 3책 (1940) 243-247.
5. " 17 권 3책 (1943) page 195-170.
6. 中濱, 今原 " 31 권 6책 (1957) page 363-366.
7. Hand book of Microbiology., page 1207-1224.
8. Wohlgenuth J Grundriss der Ferment method Berlin J Springer page 304.
9. Rona p pra kt: kum der physiologischenchem Erster Teil Fermentation (1931) page 284-285.
10. B.H.Choe: The Filature (1965) page 168-182.