

보리와 맥아화학

윤 계 남

<조선맥주 공장장>

임 응 규

<서울農大 副教授>

② Globulin fraction

Globulin fraction은 다른 단백질 fraction 보다 더욱 많은 관심을 끌어 왔다. 그리고 이것의 연구에 의해 Albumin 발견에 도움이 되었다. Quensel과 Svedberg(1938)은 각각 다른 농도를 갖는 소금물용액에 의해 보리가루에서 염에 녹는 물질을 추출하고 초원심분리하여 이들 추출물이 "polydisperse"라는 것을 밝혔다. globulin은 투석에 의하여 염과 간단한 질소화합물을 제거하면 침전되고 초원심분리에 의해 4개의 뚜렷한 침전경계를 형성한다. 이러한 것을 만드는 구성물은 α - β - γ - δ -globulin라 불린다.

이러한 분리의 상세한 특징과 조제에 대한 고찰에 의해 각각 다른 황산암모늄에 의한 침전과 투석의 조합에 의해 Quensel은 위의 globulin 분리에서 풍부한 단백질부분을 얻을 수 있었다는 것이 확신했다 그리고 주성분이 침전상수와 황산상수에 기초를 둔 분자량에 의해 밝혀졌다. (표 15-20)

Süverbon et al (1944)와 Danielsson(1949)는 Quensel의 방법을 사용하여 다른 곡물의 globulin구성물과 곡물의 다른 부분에 있는 이러한 단백질의 분포를 비교하였다. 그리고 밀의 배는 침전상수(δ -7)가 γ -globulin과 거의 비슷한 단순한 globulin(sirnphe globulin)을 가지고 있다는 것이 밝혀졌고 밀의 그 단

백질과 보리의 γ -globulin은 유사한 성분이라는 결론을 내렸다.

보리에 있어서 γ -globulin은 배에만 존재하고, α 와 β -globulin은 내배유에만 존재한다. 그렇지만 Pool과 Schooter(1955a)는 확산에 관한 자료를 기초로 하여 밀의 단백질은 동질이 아니며 보리의 globulin과 밀의 globulin은 유사한 물질이 아니라는 결론을 내렸다.

반면에 Danielsson(1949)는 β -globulin을 가지고 있는 것은 보리 뿐이라는 것을 증명했고, 보리입의 여러가지 globulin의 소재를 밝혔다.

β -globulin은 높은 함량(Ca 2.0%)과 맥주Chill-haze의 특성에 의해 특징지어진다. 그런데 β -globulin과 chill-haze는 맥주에 있어 가열(heating)과 냉동을 할 때 비슷한 작용을 하며 β -globulin은 haze와 밀접한 관계가 있다고 생각된다.

비교적 큰 유황함량(sulphur content)은 또한 Quensel이 실험한 것 같이 15%의 포화 황산암모늄을 써서 추출물(extract)를 계속적으로 침전시켜 얻은 고도로 정제된 단백질의 특성이다(Jensen 1952). Jensen이 분리한 β -globulin은 초원심분리 분석시의 작용특성에서 보아 순수한 것이라 생각되었으나 전기영동분석에 의하면 아직까지도 순수하지 않다고 밝혀진다.

표 19 보리 단백질의 성질

단백질	침전상수	확산상수	분자량	등전점	Electrophoretic Mobility ($\text{cm}^2\text{sec.}^{-1}\text{v}^{-1}\times 10^5$)	여러농도의 황산암모니아에 의한 침전
α -Globulin	2.5	7.4	29,000	5.0	4.2—4.6	40—70%
β -Globulin	6.2	—	100,000	4.9	4.2—4.6	0—15
γ -Globulin	8.3	4.4	166,000	5.7	4.3	
δ -Globulin	12.0	—	300,000	—		40—70
Albumin	4.5	6.5	34,000	5.8		45
Hordein	2.0	6.5	28,000	—		30—70
Glutelin	—	—	—	7.1		
α -Amylase	—	—	59,500	5.8		22—45
β -Amylase	45.0	—	54,000	5.8	2.1	{ 32—55(barley) 35—57(malt)

그럼에도 불구하고 Jensen은 Moore와 Stein(1948, 1949)의 방법에 기초를 둔 보리단백질(표 15—21)의 Amino산의 확실한 분석법을 책으로 만들었다. 보리의 전체 globulin의 미생물학적인 분석에 의거하여 이들 숫자와 Folkes와 Yemm(1956)이 산출한 수치와 비교할 때 (표 15—21) β -component는 전체 globulin과 상당히 큰 차이가 있다. 그런데 Cystine, Cystein, Methionine, Proline의 함량은 상당히 높았고, arginine, alanine, 그리고 glycine의 함량은 전체 단백질 함량보다 상당히 낮았다. 다른 globulin도 이러한 차이 때문에 β -globulin과는 상당한 차이가 있는 구성을 하고 있음이 틀림없다고 생각된다.

염에 녹는 보리의 질소화합물중에 Quensel의 처음의 α, β, γ -globulin분리는 황산암모늄에 의해 26%만이 침전되고 0.15—0.40의 포화도에서 침전되는 fraction C는 44%이며 나머지 30%는 수용성인 fraction이다. 완전포화의 황산암모늄에 의해 침전되는 질소는 처음 saline추출물에 존재하는 질소의 52.6%밖에 되지 않는다. Quensel의 분리에 대한 전기영동분석(electrophoretic analysis)에 의해 이들은 성질이 서로 다르다는 것이 밝혀졌고 다른 많은 구성물이 존재하는(표 15—20) 주요 globulin에 있는 전기이동용성을 선정할 수 있다는 것이 밝혀졌다. 이렇게 얻어진 핵산과 PH7.7이상에서 등전점을 갖는 다른 것은 amino산의 구성면에서 단백질 분해효

표 20 보리에 있는 β -globulin의 Amino산의 구성물 (Jensen, 1952)

Amino Acid Analysed (cf. Table XVIII, p. 498)	g. Amino Acid Residue per 100g. protein	g. Amino Acid per 100g. Protein	N% of Protein N
Amide-ammonia	-0.14	2.5	11.8 ^a
α -Alanine	5.2	6.5	6.4
Arginine	2.4	2.7	5.4
Aspartic acid	7.6	8.8	5.8
Cystine+cysteine	8.0	9.4	6.8
Glutamic acid	15.7	17.8	10.6
Glycine	3.2	4.2	4.9
Histidine	1.5	1.7	2.8
Isoleucine	2.7	3.2	2.1
Leucine	9.5	11.0	7.3
Lysine	1.8	2.1	2.5
Methionine	2.9	3.2	1.9
Phenylalanine	4.2	4.7	2.5
Proline	11.2	13.3	10.1
Serine	3.6	4.3	3.6 ^a
Threonine	5.0	5.9	4.3 ^a
Tryptophane		3.8 ^b	
Tyrosine	7.7	8.5	4.1
Valine	8.1	9.5	7.1
총 value	100.16	119.3	100.0

^aThe amounts of serine and threonine were corrected for 10% and 5% decomposition on hydrolysis respectively. Amide-ammonia was corrected accordingly.

^bCalculated from spectrophotometric data on the original protein.

표 21 저울에서 Alcohol과 금속염에 속한 침전에 의해 보리의 Saline 추출물로부터 얻은 Fraction의 분석

-5°C에서 20% Ethanol에 침전 N%			Rising Mobility (cm. ² sec. ⁻¹ v ⁻¹ ×10 ⁵) of Components numbered												
			1	2a	2b	3	4	5	6	7	8	9	9b	10	11
Fraction I	Na ⁺ 0.04M pH5.2	Zn ⁺⁺	14.9	+0.3			2.1	2.9	3.7	4.6	5.2	6.0	6.7		11.9
Fraction II	0.04M	0.02M	10.3	+1.8	0.0	1.7	2.4	3.0	3.8	4.6			7.0	10.9	12.2
Fraction III	0.04M	0.02M	3.3	+0.5	0.5								6.0		
Fraction IV	0.04M	0.02M	0.4		0.5								5.7		

고리활자의 Mobility는 주요 구성을 언급한다.

소인 papain과 유사하나 분리의 구성물이 중복되어 있기 때문에 황산암모늄을 분류하여 염분추출물에 있는 단백질의 수를 아는 것은 불가능하다.

그렇지만 cohen et al(1950)과 Schmid(1953)에 의해 고안된 철장을 사용하는 방법을 써서 alcohol과 염으로 saline추출물을 침전시켜 얻은 I-IV의 분리로부터 더욱 확실한 이해가 가능하게 되었다. 이러한 방법으로 한분리에 응축되어 있는 물질의 group(III, 표 15-22)와 peptide의 특징을 갖는다고 생각되는 물질의 group뿐만 아니라 적어도 6개의 주요 구성물과 8개의 미소구성물이 확인되었다.

황산암모늄과 에타늄금속염에 의해 보리 gum의 분류가 모든 단계에서 침전되었다. 그러나 두번째 분류에서 보리 gum은 더욱 용이하게 단백질로부터 분리되었다. 표 15-22에서와 같이 마지막 두 분리는 일반적으로 gum의 특성이 되는 많은 비단백질 물질(mono-protein material)을 가지고 있다.

Pool과 Shooter(1955c)와 그 이전의 연구자들의 연구결과를 비교하면 구성물 7(표 15-22)은 α와 β-globulin과 같은 유동성을(mobility) 가지고 있고 구성 6은 γ-globulin과 비슷한 것 같으나 δ-globulin에는 유동성에 관한 자료가 없다는 것을 알 수 있다 하나의 혹은 2a와 2b의 물질인 다른 것은 거의 등

전단백질과 일치한다는 것이 Kent와 Mache boeuf(1949)에 의해 밝혀졌다. 그리고 이것은 아마도 albumin이라고 생각된다. PH가 7.70이상에서 등전인 구성 1은 아마 pauain과 같은 식물의 단백질 분해효소와 같은 부류에 속하는 것 같다. 반면 구성은 Ayräpää and Nihlén(1954)가 β-amylase에서 산출한 것과 거의 같은 유동성(mobility)을 갖으며 Albumin이라고 생각된다. 또 구성 9는 Wallis et al(1950)이 측정 한 것 같이 5.2-6.0×10⁻⁵cm².sec⁻¹.V⁻¹의 유동성을 가지므로 albumin이라 생각된다. 그러나 보리에서는 아주 적게 존재한다.

보리의 어떤 염에 녹는 단백질 분리에 대한 Amylase의 작용에 의해 전에는 amylase를 Albumin이라 생각했지만 β-amylase만이 Albumin에 속하며 α-amylase는 globulin에 가깝다는 것이 밝혀졌다. 맥아의 albumin의 상이성은 순화된 β-amylase 분리의 구역전기이동법에 의해 밝혀진 것 같이 효소적으로 활성이 있는 물질에까지 확장된다. 그럼에도 불구하고 Waldschmidt-Leitz와 Brutscheck(1955)는 Osborne(1895)법에 의해 얻은 각각의 보리의 분리는 본질적으로 독특한 말단아미노산 단위를 가지고 있다고 생각되었다. 이러한 단위효소에 의한 방법에 의해서도 발견되었고, 단백질의 dinitro (Phenylation

표 22 보리와 맥아로부터의 단백질 fraction의 End-group.

Protein Fraction	(보리)		(맥아)		Analysis by
	Amino end-group	Carboxyl end-group	Amino end-group	Carboxyl end-group	
Albumin-globulin			Phenylalanine Tyrosine	α -Alanine Glutamic acid Glycine Leucine Lysine Threonine? Histidine?	Davies and Harris(1956)
Albumin	Serine				
Globulin	Glycine				Waldschmidt-Leitz and Brutscheck (1955)
Hordein	Isoleucine				
	Glutamic acid	Threonine			Biserte et al. (1955)
	Leucine	Valine			
	Phenyl-alanine	Leucine Alanine			
Glutelin			Phenylalanine Tyrosine	α -Alanine Glutamic acid Glycine	Davies and Harris, (1956)
			Phenylalanine Tyrosine	Glycine α -Alanine Leucine Lysine	
잔유단백질			Phenylalanine Glycine	Glutamic acid Arginine? Threonine?	

을 사용하는 Sanger법에 의해서도 발견되었다)는 globulin의 경우에는 glycine에서 발견되었고 albumin과 hordein의 경우에는 serine과 isoleucine에서 발견되었다. (표 15-23).

그렇지만 Bisert et al (1955)는 hordein이 몇가지 즉 glutamic acid, leucine phenylalanine의 amino end-group를 가지고 있고, 또한 하나 이상의 carboxyl end-group 즉 threonine, valine, leucine, trace of alanine을 가지고 있다는 것을 발견했다. 확실히 Albumin으로 분류되었던 보리의 결정형 β -amylase는 amino 말단기로 serine이 아닌 lysine과 phenylalanine을 가지고 있다.

이러한 증거로 보아 보리단백질의 각각의 군의 相異性은 물리화학적 성질 뿐만아니라 화학적인 성질

에 의한 것으로 생각된다. 확실히 맥아에 있어서 유사한 단백질 분리는 많은 말단기를 가지고 있으나 (표 15-23). 초원심분리에 의한 Saline추출물의 겔사에 의해 (a) 유럽의 8나라에서 재배된 한 품종 (Kenia)의 표본 (b) 같은 조건에서 자란 다른 품종의 보리(Gold, Kenia Carlsberg, Earl) 사이의 단백질의 구성의 차이를 밝힌 Jensen의 연구를 상기할 필요가 있다.

이러한 환경적 품종적 차이는 다른 group의 단백질 사이의 양적인 균형을 명백히 제한하지만 초원심분리에 의한 분석에 의하면 단백질의 질적 성질을 제한하지는 않는다. 각각의 단백질의 구성이 유전적으로 제한된다는 사실을 이미 알고 있었기 때문에 후자와 같은 발견은 놀라운 것이 못되며 보리의 한 품

중에서 나온 단백질의 말단기는 같은 것으로 예측된다.

이렇게 하여 우리는 다음과 같은 실험적결과를 얻을 수 있다.

(1) 위의 말단기결정의 다른 결과를 사용한 보리의 품종적 차이에서 온다.

(2) 보리의 품종이 다르더라도 같은 조건하에서 생육하면 단백질 구성의 양은 별 차이가 없다.

③ The Albumin fraction

보리의 전체 수용성단백질의 검사는 Kent and Mache boeuf(1949), Jensen(1953), Scriban(1951), Biserte and Scriban(1953), Rondelet and Lontie(1953)에 의해 되었다. Jensen은 Ammonium Sulphate에 의해 물에 의한 보리의 염용성분리의 투석에 의해서도 용액 속에 남는 단백질을 침전시킨다. 침전물의 초원심분리에 의한 분석에서 침전물은 α - β -그리고 γ -globulin의 단백질과 항상 같은 침전상태를 갖는 단백질을 가지고 있다고 밝혀졌다.

그러나 이러한 물질들이 용액에 남는 globulin으로 구성되어 있는지 혹은 실제로 Albumin으로 구성되어 있는지는 확실하지 않다. 이러한 수용성물질의 양은 globulin의 양보다 많다. 이것 때문에 이 물질들이 용액 속에 남는다고 생각된다. 그리고 침전행동(Sedimentation behaviour)은 서로 다르다.

염에 녹는 단백질의 전기이동에 의한 분석에서 비록 그것은(천천히 움직이는 성분) 이들(globulin)과 같이 침전되긴 하지만 이 농도가($1 \times 10^{-5} \text{cm}^2, \text{sec}^{-1} \text{v}^{-1}$) globulin보다는 상당히 작은 천천히 움직이는 성분의 존재가 밝혀졌다. 앞에 말한 바와 같이 이 물질은 일반적인 Albumin의 두 Group(A, B)로 구별되며 전기이동법에 의해 분리되는, 그러나 더 이상 분해되지 않는 성분 2의 일종과 같은 것으로 생각된다.

비알부민의 분리는 Globulin의 분리보다 쉽지 않다. 그러나 Danielsson and Sandegren(1947)은 Quensel의 방법에 의해 얻은 보리의 extract를 완전 투석시키고 이것을 다시 황산암모늄에 의해 침전시

키고 이 침전물을 다시 투석시켜서 Albumin을 분리했다. (The protein sedimented as a single but rather diffuse boundary in the centrifuge, and contained β -amylase 표 15-20 activity) 그 단백질은 초원심 분리에서 확산경계가 아닌 단일물로 침전했고 β -amylase의 작용을 가지고 있었다. 표 15-20) α -amylase는 Albumine 보리와 Globulin의 특성과 더욱 유사 했지만, β -와 α -amylase의 작용을 가지고 있었다. 이렇게 하여 Albumin 부분은 분자량이 54,000(Danielsson 1948)이라는 것을 알았다. 그러나 모든 Albumin 분리는 달랐다. 더우기 어떤 단백질이 Albumin이냐라는 데는 학자들마다 그 의견이 각각 달랐다.

Durrum(1951)가 사용한 다른 방법 continuous electrophoresis on paper에 의해 이 문제의 궁극적인 해결이 가능했다. 반면에 Rondelet and Lontie(1953)은 이 방법으로는 전에 사용했던 전기이용에서와 같은 정도의 분리 밖에 할 수 없다고 밝혔지만 반면에 Cooper and Poblock(1957)은 cellulose 분말에서 구역 전기 이동법과 관계되는 방법을 써서 맥아로부터 β -amylase의 작용을 갖는 여러 가지 단백질 성분을 분리했다. 더우기 Mac William and Harris(1957)은 염이나 pH기울기 있는 Alumina를 써서 맥아의 다른 탄수화물과 Amylase를 분리하였다. 이러한 후자의 과정은 여러 면에서 Desreux(1949)와 Zahn(1952)에 의해 이루어진 연속적인 추출에 의한 과정과 비슷하다. 그런데 이것은 Rondet와 Lontie(1953)에 의해 보리전분 분석에 사용되었다. Rondet와 Lontie는 또한 Protein-saccharide 복합물의 형성의 범위를 줄이기 위해 glycine를 사용하는 새로운 단백질 추출 순서를 사용했다. 더욱이 그들은 찻질을 벗긴 보리를 사용하여 polyphenol에 의해 protein을 분리 하는데 있어 중간 방해물 피했다. 그런데 최근에 어떤 leucoanthocyanin은 찻질이 벗어진 곡물에서도 존재한다는 것이 밝혀졌다.

Albumin의 전기이동법에 의한 분리를 방해하는 phytin은 Calcium acetate나 Calcium hydroxide에

의한 침전에 의해 제거되었다. 그러나 이 과정에서 albumin의 어떠한 종류는 phytin과 같이 소멸되었다. polysaccharide는 수성의 방법에 의한 추출에 의해 보리로부터 제거되었고 Albumin은 염분추출물로부터 pH 8.3의 완충 용액 0.5M 용해된 Calcium acetate에 의해 정량적으로 분리되었다. 그렇지만 이러한 조건 하에서 단백질은 위에서 말한 것 처럼 칼슘염에 의한 침전에 의해 phytin은 소실되고 용액에 남는다. 이 물질은 양전기를 띄고 있고 전기이동법에서 음극쪽으로 이동한다.

단백질 혼합물을 다루는 개선된 방법이 계속 고안되고 있다. 그 예로써 Carboxy methyl allulose상의 Chromatography에 의한 옥수수 globulin과 밀의 gluten의 분별 분류는 주목할 만한 것이다. 보리의 albumin의 불 분류(sub-fractionation)는 황산

암모늄에 의한 계속적 추출, Sucrose gradient에서의 전기이동법, PVC에서의 전기이동법 그리고 다시 Carboxy Methyl Cellulose상의 Chromatography에 이루어 졌다. basic DEAE-Cellulose상의 Chromatography에 의한 다른 방법도 있다. 그럼에도 불구하고 globulin과 함께 Albumin은, 저장단백질인 hordein과 glutelin과는 달리, 보리의 세포질의 단백질로 분류되었다. 그러므로 그들은 (Globulin, Albumin) 식물세포에서 수많은 구조적, 생화학적 기능을 하고 있음이 틀림없다. 호모와 같은 단순한 단세포 생물에서도 수많은 단백질이 존재한다는 것을 생각하면 상당히 다양한 기능을 하는 보리 곡물의 단백질 구성물이 지금까지 하고 있는 간단한 분석에 의하여 쉽게 구명 된다고 생각하는 것은 매우 고지식한 생각이다.

<다음호에 계속>

보리짚에서 감미료 생산

KAIST에 하면 응용화학연구소 韓文熙박사팀은 크실리톨의 前驅體인 크실로오스(Xylose)를 짚등의 廢棄物을 효소加水分解하여 높은 純度와 收率로 생산하는 과정과 이것을 생물학적 또는 화학적 방법에 의해 환원시키는 工程을 거쳐 크실리톨을 회수하는데 성공했다는 것이다.

韓 박사팀은 이 工程을 거쳐 1톤의 보리짚에서 약 1백 50kg의 크실리톨회수를 할 수 있다고 밝히고 있다.

크실리톨은 糖度가 설탕과 동일하며 人體代謝과정에서 인슐린을 필요로 하지 않아 당뇨병환자에게 영양과 甘味를 공급할 수 있는 장점이 있으며 含有된 영양분을 口腔미생물이 이용할 수 없어 충치예방에 탁월한 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 이 크실리톨은 버찌·딸기등 天然漿果類에도 함유되어 있다.

KAIST가 개발한 工程에 의하면 크실리톨 生産원가는 톤당 약 3천 5백 달러로 「핀란드」 생산원가에 비해 절반수준으로 생산이 가능하다는 것이다.