

## 알긴산 분해 미생물(*Bacillus Licheniformis*) 분비효소의 정제 및 특성

어명희 · 주동식 · 김옥선 · 최용석 · 조순영  
강릉대학교 동해안해양생물자원연구센터

### 서론

당질 특히 올리고당이 혈청지질, 급만성 독성 및 변이원성에 대한 영향, bifidobacteria의 활성화에 미치는 효과, 생체 조절인자로서의 효과 및 장내 세균군의 개선, 변비, 항콜레스테롤 효과(菅野 智榮, 1989) 등 다양한 기능성을 가지고 있는 것으로 밝혀지면서 많은 연구가 행해지고 있다(富田旁男 et al., 1992). 근년까지 올리고당에 관한 연구는 주로 육상 식물 다당류를 대상으로 널리 이루어졌으며, 이들 육상 식물 다당류 유래 올리고당 중 일부는 공업적으로 대량 생산되어 식품 분야 등에 이용되고 있다(待永泰市 et al., 1989). 그러나, 해조 다당류를 원료로 한 올리고당 제조에 관한 연구는 국내외에서 일부만 행해 졌으며, 국내에서는 주 등(1996)이 효소 분해 알긴산 올리고당을 제조하여 항혈전성 등의 기능성을 본 연구에가 있을 뿐이다. 더욱이 아직 효소분해 제품화가 되어 나오지 않고 있는데, 이것은 고효성 알긴산 분해 효소 분비 미생물이 발견되지 않은 것이 주요 원인이라 사료된다. 이에 저자들은 고효성 알긴산 분해 효소 분비 미생물을 해수, 조간대 해조, 흙 등을 대상으로 탐색해 본 결과 고효성의 균주 *Bacillus Licheniformis* 를 분리하였고, 본 연구에서는 이 미생물이 분비하는 효소를 정제, 그 특성을 살펴보았다.

### 재료 및 방법

효소의 활성 측정 : 효소정제 과정중의 단백질 희분의 검색은 분광광도계로 280nm에서의 흡광도를 측정하였고, 단백질 농도는 Lowry 등의 비색법에 의해 측정하였다. Somogyi-Nelson법에 의해 환원당을 측정하여, 효소 1unit는 1분간에 1  $\mu$ mole의 환원당을 생산하는 효소량으로 정의하였다.

효소의 정제 : 최적 생육 및 분해 활성 조건에서 배양한 균을 원심분리, membrane 여과, 아세톤침전, 투석, 한외여과 농축, chromatography 및 전기영동 등으로 정제를 행하였다.

효소의 특성 : Davis의 Disc-PAGE에 의하여 순도 검정을 한 후, Laemmli의 방법에 따라 분자량을 측정하였다. 정제효소 0.1~0.2ml에 대해 활성 최적 pH, 온도 및 반응시간 조건을 구명하였다.

효소의 안정성 : 정제효소를 pH 4.0~11.0까지의 잔류 활성과 0~80℃까지의

잔류 활성을 측정하여 안정성을 시험하였다.

효소 활성에 미치는 첨가물의 영향 : NaCl 농도, 금속이온( $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  등), 화학약제(L-cysteinen, dithiothreitol, o-phenanthroline, TLCK, EDTA, TPCK, NEM)에의 영향에 대해 조사하였다.

그 외 효소 농도 및 기질 농도에 따른 효소 활성과 다당류(soluble starch, carageenan, carboxymethyl cellulose, pectic acid 및 dextrin)에 대한 정제효소의 분해 활성을 측정하였다.

## 결과 및 요약

*Bacillus Licheniformis*가 생산하는 효소는 pH 7.0, 온도 35°C에서 최대 활성을 보였고, pH 6미만, pH 9이상의 영역에서는 상당히 불안정하였다. 또한, 40°C 이상의 온도에서는 활성이 급격히 저하하였다. 효소 반응에 있어서 NaCl이 첨가되지 않을 경우 활성이 미약하게 나타났으며 NaCl 0.4M 농도에서 최대의 활성을 보였다.  $Ba^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $NH^+$ 에 의해서는 활성이 저해됨을 알 수 있었고, 반면에  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Ca^{2+}$ 에 의해서는 활성이 증가함을 알 수 있었다. 효소 반응에 있어서 화학약제에 대한 첨가물의 영향으로서는 DTT와 o-phenanthroline에 의해서는 활성이 증가됨을 보였으며, EDTA에서는 현저하게 활성이 저하되었다. 또한 S-S 결합 절단제인 2-mercaptoethanol에 의해서는 활성이 약간 저하됨을 보였다. 효소에 있어서 Km은 0.14%, Vmax는 0.20u/mg이었다. 또한 알긴산에 대해서는 매우 강하게 분해 활성을 나타낸 반면 알긴산 이외의 다른 다당류에 대해서는 거의 분해능을 보이지 않았다.

## 참고문헌

- 菅野 智榮. 1990. イソマルトオリゴ糖の性状と食品への應用. *New Food Industry* 32(10): 28-32.
- 富田旁男·黃田 馬. 1992. 微生物による天然多糖から有用オリゴ糖の生産. *化學と生物* 30(3): 170.
- 待永泰市. 1989. 糖質酵素機能開發と有用カルコ糖の生産. *化學と生物* 27(1): 76
- 주동식·이정석·박중제·조순영·김희경·이용호. 1996. 효소분해에 의한 알긴산 올리고당류의 제조. *한국식품과학회* 28(1): 146