

# 絹 Fibroin의 酵素分解에 관한 研究

## I. 人工飼料組成에 의한 Fibroin 分解率의 差異

李龍雨\* · 宋基彥\* · 馬錫一\*\* · 南重熙\*\*

\*農村振興廳 蠶業試驗場 \*\*서울대학교 農科大學

### The Studies on Hydrolysis of the silk Fibroin by Proteolytic Enzyme, Bombyx mori

#### 1. Effect of Various Compositions of Artificial Diet for Silkworms on the Fibroin-Hydrolyzing

Yong Woo Lee\* · Ki Eun Song\* · Souck Il Mah\*\* · Joong Hee Nahm\*\*

\* Sericultural Experiment Station, O.R.D.

\*\* College of Agriculture, Seoul National University

### Summary

The study was carried out to investigate the effects of various compositions of artificial diet for silkworms on the cocoon shell fibroin-hydrolyzing with the proteolytic enzyme.

The obtained results are summarized as follows:

1. It was found that the fibroin-hydrolyzing ratio of the cocoon shell made by silkworms fed with artificial diets was lower than that of the cocoon shell made by silkworms fed with natural diet (mulberry leaf)
2. The amount of soybean meal in the artificial diet was negatively related to the sericin content of cocoon shell but it scarcely affected on the fibroin-hydrolyzing ratio.
3. The increase of sucrose in the artificial diet reduced the sericin content of cocoon shell but it didn't influence on the fibroin-hydrolyzing ratio.
4. A significant difference between male and female silkworms fed with artificial diets was found in the sericin content of cocoon shell but it was not approved in the fibroin-hydrolyzing ratio.
5. The artificial diet containing 8 per cent of mulberry leaf powder increased the fibroin-hydrolyzing ratio more than that containing 10 per cent of mulberry leaf powder or that containing 8 per cent of mulberry leaf powder and a little of methionine did.
6. The artificial diet for all instars of silkworms increased the fibroin-hydrolyzing ratio more than the artificial diet for 1st to 3rd instars and natural diet (mulberry leaf) for the rest instars did.

### I. 緒 言

人工飼料에 의한 누에 飼育은 吉田<sup>14)</sup> 등, 福田<sup>3)</sup> 등, 伊藤<sup>9)</sup> 등 (1960)에 의하여 처음으로 成功된 이래 지금까지 많은 研究가 進行됨으로서 거의 實用化 段階에 이르게 되었는데 其間 研究들은 人工飼料組成과 飼育에 관한 것들이 大部分이었다.

人工飼料育蠶繭의 諸性狀에 관한 研究로는 Hayashiya 등 (1964)<sup>6)</sup>이 人工飼料育蠶繭의 sericin과 fibroin 등의 아미노酸 組成은 桑葉育蠶의 것과 比較하여 큰 差異가 認定되지 않는다고 하였으며 人工飼料育蠶繭의 解舒에 對하여 森本 등 (1969)<sup>12)</sup>은 桑葉育蠶繭에 比하여 差異가 없지만 繭絲織도가 가늘다고 報告하였다.

有本(1972)<sup>2)</sup>는 人工飼料育蠶繭에서 造製된 生絲는 桑葉育蠶繭의 것에 比하여 強度가 약간적으며 伸度가 약간 크다고 하였고 人工飼料 育蠶繭은 綫絲中 繭絲의 異狀部 發生이 比較的 많다고 하였으며 青木等(1973)<sup>1)</sup>은 人工飼料育蠶의 sericin含量은 桑葉育蠶繭의 것에 比하여 약간 적었으며 親水性 sericin含有率도 內外繭層모두 낮은 수준이라고 報告하였다.

한편 繭質과 蛋白分解酵素에 의한 繭層 fibroin分解率과의 關係에 있어서 浦生等<sup>4)5)</sup>(1971)은 繭層fibroin酵素分解率은 蠶品種에 따라 다르고 그 品種間 差異는 遺傳的 變異에서 由來한다고 하였으며 繭層 fibroin 酵素分解率과 繭解舒率과의 사이에는 負의 相關關係( $r = -0.8^{**}$ )가 認定된다고 하였다.

一場等<sup>7)</sup>(1971)은 fibroin酵素分解率은 繭層內外에 따라 다르며 外層과 中層은 그 값이 內層에 比하여 낮고 繭綿에서는 극히 높다고 하였다.

著者등은 人工飼料育蠶繭의 諸性狀을 調査하기 위한 一環으로 強力蛋白分解酵素 Pronase-P를 使用하여 組成이 다른 各種人工飼料 育蠶繭의 fibroin酵素 分解率을 調査하므로써 몇가지 事實을 究明하였기 報告하는 바이다. 特히 本實驗을 遂行할 수 있도록 各種人工飼料育蠶繭을 提供해주신 서울大學校 農科大學 文在裕博士와 科學技術研究所 金正一 研究員께 深深한 感謝를 表하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1) 供試 繭

Soybean meal의 含量이 다른 人工飼料育蠶繭 : 基本組成人工飼料育蠶繭(A), 基本組成에 Soybean meal을 10g(B), 20g(C), 30g(D), 40g(E) 및 50g(F)씩 各各 添加한 人工飼料育蠶繭.

Sucrose含量이 다른 人工飼料育蠶繭 : 基本組成에 Sucrose를 10g(G), 20g(H) 및 30g(I)씩 各各添加한 人工飼料育蠶繭.

기타 組成이 다른 人工飼料繭 : 1~3령 人工飼料育과 4~5령 桑葉育蠶繭 ( $M_0$ ), 乾燥桑葉粉末 10%( $T_1$ )와 8%( $T_2$ ) 含有人工飼料育蠶繭,  $T_2$ 에 脂溶性 Vitamins ( $T_3$ )과 methionine ( $T_4$ )을 各各添加한 人工飼料育蠶繭

### 2) 繭層 Fibroin酵素分解率測定

各種試料繭의 繭層을 小片으로 切斷하여 0.5g씩 3區 採取한 後 Fig. 1에 準하여 各各 試驗管에 넣어 恒溫槽中에서 0.5%  $Na_2CO_3$ 溶液(試料 : 溶液 = 1 : 100)으로 40分間 ( $90 \pm 1^\circ C$ ) 精練하고 水洗後 0.05%  $Na_2CO_3$ 液으로 다시 40分間( $90 \pm 1^\circ C$ )處理하여 sericin을 除去하였다.

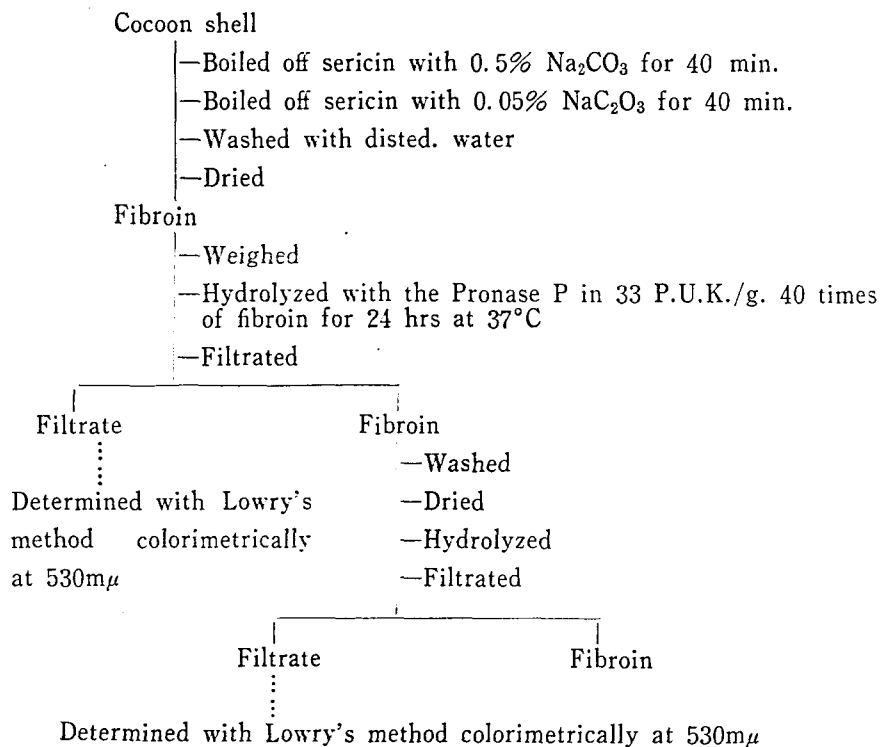


Fig. 1. Procedure for the determination of fibroin-hydrolyzing ratio with the proteolytic enzyme, Pronase-P

精練된 繭層은 數回 蒸溜水로 水洗하여 風乾한後 Dessicator에 보관하였다. 이와같이하여 sericin이 除去된 繭層 fibroin을 直示天秤을 使用 秤量하여 容量 25ml의 試驗管에 넣고 Fibroin量의 40倍의 酵素液을 37°C의 恒溫槽中에서 24時間 作用시켰다. 使用된 酵素液은 Pronase-P(日本科研化學製 35,000 P.U.K/g)를 蒸溜水 1ml 中에 33單位의 力價로 되도록 溶解한 것이다.

酵素의 作用中은 蒸發에 의한 酵素液의 濃度變化를 防止하기 위해 試驗管을 고무栓으로 封하였다. 酵素分解後는 濾紙(東洋No 2)로 濾過하고 그 濾液에 대하여 光電光度計(Mitamura Riken)을 使用하여 530 m $\mu$ 의 波長에서 Lowry 方法에<sup>11)</sup> 의해 分解된 蛋白質量을 測定하였다. 즉 0.5ml의 濾液에 加銅 alkali液 5ml을 加하고 30分間 室溫에 放置後 0.5ml의 Folin試藥을 加하여 發色시키고 그 吸光度를 測定했다.

實測値는 다시 그 測定値에서 同一하게 操作하여 測定된 酵素液單의 吸光度를 差引한 것이다. 이와같이 하여 濾過測定하고 남은 繭層 Fibroin은 蒸溜水로 洗淨한 後 乾燥하고 다시 酵素液을 加하여 24時間 作用시켜 上同한 方法으로 分解된 蛋白質量을 測定했다.

2回 測定한 平均値를 모두 同一한 操作으로 測定한 Fibroin標準曲線 (Fig 2)을 利用하여 分解率을 算出하였다.

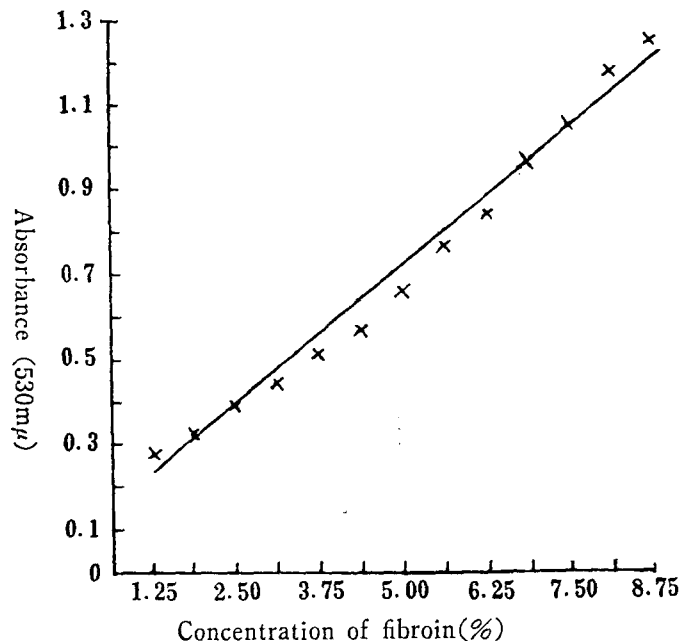


Fig. 2. Standard absorption spectrum curve of the known fibroin weight

### Ⅲ. 實驗 結果 및 考察

飼料中 soybean meal 含量을 變化시킨 6種의 人工 飼料育蠶繭과 sucrose含量을 變化시킨 3種의 人工飼料育蠶繭 및 純桑葉 育蠶繭 2種의 各 雌雄에 對한 繭層 fibroin의 酵素分解率 및 繭層 sericin含量은 Table 1에서와 같다.

人工飼料中 soybean meal含量과 繭層 sericin含有率과의 關係는 Fig 3서와같이 soybean meal含量의 增加에 따라 sericin含有率이 減少하는 負의 相關 ( $r=-0.94$ )를 보이었고 回歸方程式은  $y=-27.26+0.022x$ 이며 雌雄間에는  $우>♂$ 이었다.

伊藤 등<sup>10)</sup>(1970)은 桑葉粉末 10%含有한 人工飼料로 5齡期의 누에를 飼育한 結果 飼料中 蛋白質(soybean meal)含量의 多少가 絹生産効率에 影響을 주고 特히 添加量이 적은 경우 繭層比率이 현저히 낮다고 한것으로 보아 飼料中 soybean meal含量의 差異가 누에의 繭物質 生産活動에 影響함으로서 견층 sericin 및 fibroin의 構成比에 影響한 것으로 推測된다.

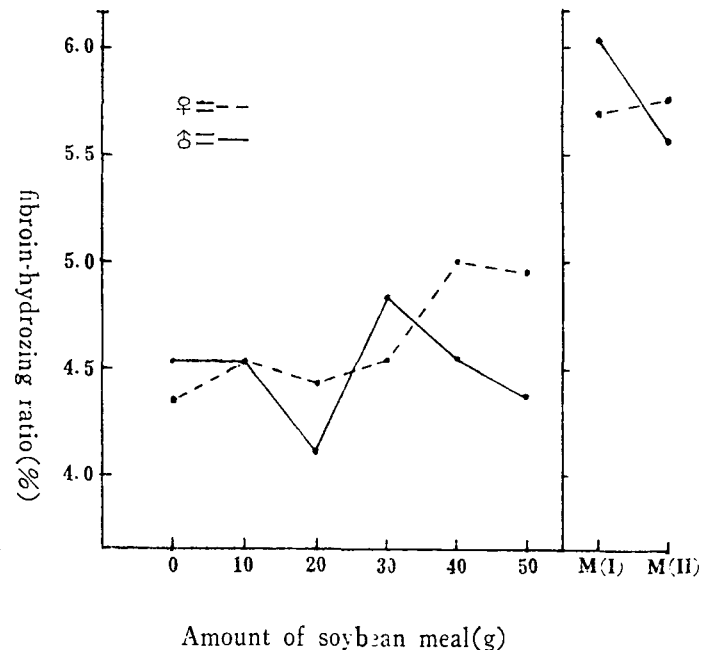
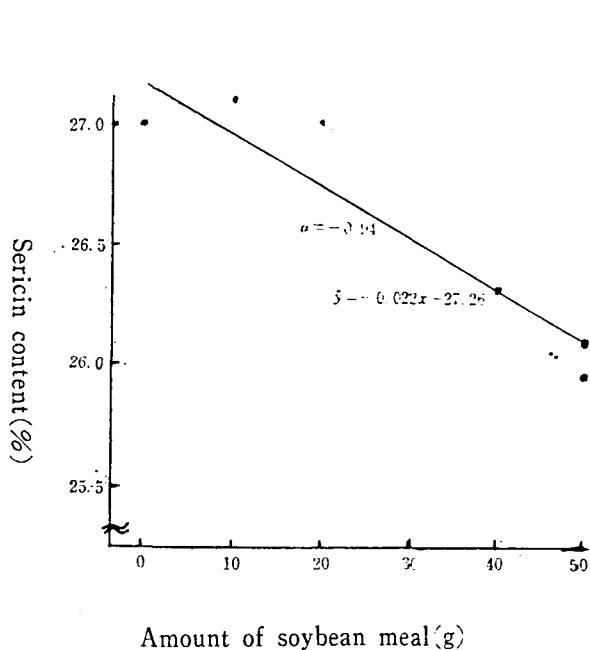
人工飼料育蠶의 繭層 sericin 含有率이 桑葉育蠶의 것에 比하여 弱간 낮은것은 青木<sup>1)</sup>(1973)의 報告와 어느 정도 一致하는 傾向이다.

人工飼料 育蠶繭의 fibroin分解率은 Fig. 4에서와 같이 soybean meal含量이 增加함에 따라 弱간 增加( $r=+0.28$ )하였으나 有意性은 없었고 桑葉育蠶繭의 것에 比하여는 현저히 分解率이 적어 略 20%程度 낮은 水準을 나타냈다. 이러한 現象을 考察하기 위하여 기존報告中이와 關係가 있는 것을 보면 다음과 같다.

**Table 1.** Effects of the level of dietary soybean meal and sucrose on the sericin content and fibroin hydrolyzing ratio of cocoon shell

Investigated Items		Amount of Soybean meal (g)					Amount of sucrose (g)			*natural diet			
		0	10	20 control	30	40	50	10	20	30	M(I)	M(II)	
Sericin content of cocoon shell (%)	♂	27.06	26.94	26.74	25.86	26.13	25.73	26.13	26.27	26.47	27.33	27.67	
	♀	26.94	27.26	27.27	27.33	26.53	26.20	27.20	27.13	26.40	26.80	26.67	
	mean	27.00	27.10	27.00	26.60	26.33	25.97	26.67	26.70	26.44	27.07	27.17	
Fibroin hydrolyzing ratio (%)	♂	I	4.50	4.25	3.63	4.50	4.14	4.25	4.06	3.56	3.75	5.82	4.94
		II	4.57	4.81	4.63	5.13	5.00	4.50	5.00	5.06	5.00	6.25	6.19
		mean	4.54	4.53	4.13	4.82	4.57	4.38	4.53	4.38	4.38	6.04	5.57
	♀	I	4.01	4.06	3.75	4.38	4.75	4.87	3.75	3.38	3.75	5.88	5.75
		II	4.69	5.00	5.13	4.69	5.25	5.06	4.63	4.4	5.06	5.48	5.70
		mean	4.35	4.53	4.44	4.54	5.00	4.97	4.19	3.91	4.41	5.68	5.73

\* natural diet: cocoon made by silkworm fed with mulberry leaf.



**Fig. 3.** Correlation between sericin content of cocoon shell and amount of soybean meal

**Fig. 4.** Relationship between amount of soybean meal and fibroin-hydrolyzing ratio

\*M(I) and M(II) : cocoon made by silkworm fed with mulberry leaf

繭層 fibroin의 酵素分解率과 繭絲의 結晶構造에 關하여 浦生等<sup>5)</sup>(1921)은 上簇溫度가 높으면 누에의 吐絲速가 빨라지고 營繭된 繭絲는 結晶性이 向上되므로서 fibroin 酵素分解率이 低下한다고 하였으며 fibroin分解率이 繭絲의 結晶性 및 繭解舒와 密接한 關係가 있다고 보고한바 있다.

人工飼料育蠶과 桑葉飼育蠶繭의 性狀比較에 關하여 繭絲織度가 人工飼料育蠶繭에서 가늘어지지만 解舒率에는 差異가 없다고한 森本等<sup>12)</sup>(1969)의 報告와 人工飼料育蠶繭絲 sericin 및 fibroin의 아미노酸 組成은 桑葉育蠶繭絲에 比하여 큰 差異가 없다고한 Hayashiya等<sup>6)</sup>(1964)의 報告가 있다.

繭絲織度와 結晶構造와의 關係에 對하여 Iizuka<sup>8)</sup>(1965)는 家蠶 17品種의 精練繭層에 對한 X-線 回折強度에 의한 結晶性을 調査한 결과 蠶品種面에서 繭絲織度와 그 結晶性과의 關係는 負의 相関이 있고 그 回歸方程式은 結晶性%(C)=50-7.0×繭絲織度(d)이며 繭絲織度가 가는 品種일수록 繭絲의 構造가 잘發達되어 있다고 하였다.

以上の 기존 研究結果에서 考察하여 볼때 人工飼料育蠶繭의 fibroin分解率이 桑葉育蠶繭의 것에 比하여 낮

은 것은 人工飼料育에 의해 家蠶의 品種特性의 細纖維化함으로서 繭絲의 結晶性이 桑葉飼育繭보다 높은데서 基因하는 것으로 推測되나 本實驗에서 確認할수는 없다.

人工飼料中 sucrose의 含量이 增加하던 繭層 sericin 含有率은 Fig 5에서와 같이 減少하는 負의 相關( $r = -0.82$ )이 認定되었고 그回歸式은  $y = -0.015x + 26.90$ 이었다. 이것은 飼料中 sucrose含量이 增加하면 繭層重이 감소하여 繭質이 不良하여진다는 文<sup>13)</sup>(1974)의 報告에 따라 sucrose含量增加와 繭層重減少가 sericin構成比에 影響을 준것으로 생각된다.

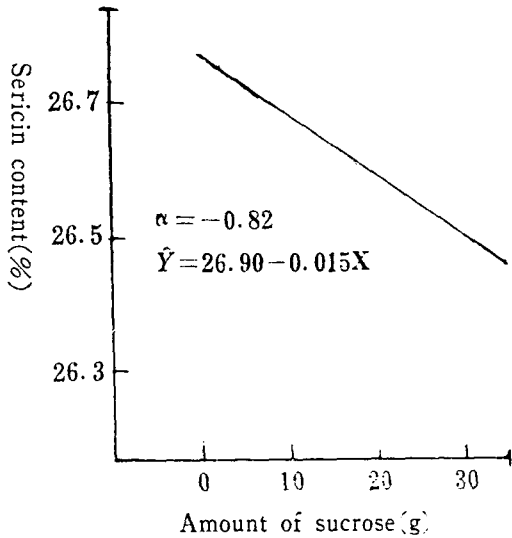


Fig. 5. Correlation between sericin content of cocoon shell and amount of sucrose

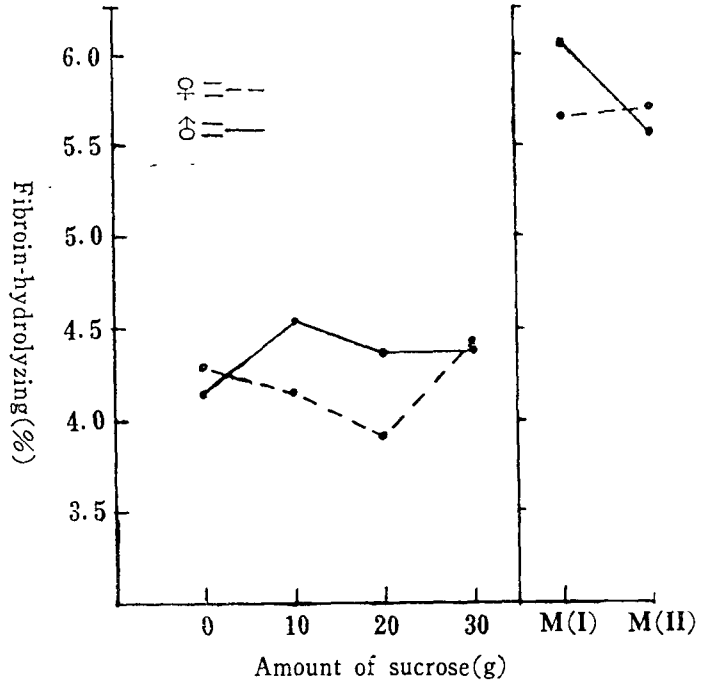


Fig. 6. Relationship between amount of sucrose and fibroin-hydrolyzing ratio

Table 2. Effects of various compositions of diet on the sericin content of cocoon shell and the fibroin hydrolyzing ratio

Various composition of diets		T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	M <sub>0</sub>
sericin content of cocoon shell	I	26.2	26.6	27.6	26.7	26.1
	II	27.5	26.8	26.8	28.0	26.8
	III	26.4	26.1	27.7	26.9	26.9
	mean	26.70	26.50	27.35	27.20	26.60
fibroin hydrolyzing ratio	I	6.37	6.28	5.82	5.69	7.22
	II	5.62	6.48	6.13	6.18	7.08
	III	5.83	6.23	6.07	5.86	7.34
	mean	5.94	6.33	6.01	5.91	7.21

Notice : T<sub>1</sub> : fed with the artificial diet containing 10 per cent of mulberry leaf powder

T<sub>2</sub> : fed with the artificial diet containing 8 per cent of mulberry leaf powder

T<sub>3</sub> : fed with the artificial diet containing 8 per cent of mulberry leaf powder and a little of fat-soluble vitamins

T<sub>4</sub> : fed with the artificial diet containing 8 per cent of mulberry leaf powder and a little of methionine

M<sub>0</sub> : fed with the artificial diet for 1st to 3rd instar and with mulberry leaf or 4th to 5th instar

繭層 fibroin의 酵素分解率과 sucrose含量과의 關係는 Fig 6에서와 같이 有意性이 없었고 桑葉育蠶의 fibroin 分解率에 比하여는 현저히 낮았다.

기타 飼料組成이 다른 人工飼料育蠶의 繭層 sericin含有率은 Table 2에서와 같이 桑葉粉末 8% (T<sub>2</sub>) 및

10%(T<sub>1</sub>) 含有區보다 T<sub>2</sub>에 脂溶性 vitamins을 添加한 T<sub>3</sub>와 methionine을 添加한 T<sub>4</sub>區에 높은 傾向이었다.

繭層 fibroin 分解率에 있어서는 Fig 7에서와 같이 桑葉粉末 8%만을 含有한 T<sub>2</sub>가 기타 人工飼料育區에 比하여 높아 5%水準에서의 統計的 有意差가 認定되었는데 이것은 T<sub>2</sub>구가 桑葉粉末 10%含有한 T<sub>1</sub>와 桑葉粉末 8%에 脂溶性 vitamins을 添加한 T<sub>3</sub> 구 및 methionine을 添加한 T<sub>4</sub>에 比하여 飼料組成面에서 不良함으로서 飼育蠶의 絹物質生産 및 吐絲營繭活動에 影響을 주게되어 繭絲의 結晶性이 低下한 것으로 推測되나 確認할 수는 없었다.

또한 1~3齡은 人工飼料育과 4~5齡은 桑葉飼育한 M<sub>0</sub>는 기타 全齡人工飼料育蠶繭에 比하여 현저히 fibroin 分解率이 높았는데 이것은 누에의 絹物質 生成期가 주로 4齡末에서 5齡期사이 인것을 고려하여 볼때 4~5齡 桑葉育은 全齡桑葉育에 比하여 絹物質 生成에는 큰 差異를 주지 않는다는 것은 쉽게 理解할 수 있다.

따라서 稚蠶期人工飼料育과 壯蠶期 桑葉飼育蠶繭은 全齡桑葉飼育繭과 마찬가지로 繭層 fibroin分解率에 있어서 全齡人工飼料育蠶繭에 比하여 현저히 낮은 水準에 있는 것으로 생각된다.

#### IV. 摘 要

人工飼料組成差異가 繭層 fibroin의 酵素分解에 미치는 影響을 究明코저 試驗한 結果는 다음과 같다.

1. 人工飼料育蠶繭의 fibroin酵素分解率은 桑葉育蠶繭에 比하여 낮은 水準에 있다.
2. 人工飼料의 soybean meal含量과 繭層 fibroin酵素分解率과는 거의 相關이 없었으나 繭層 sericin含有量과는 負의 相關이 인정되었다.
3. 人工飼料의 sucrose含量과 繭層 sericin含有量과는 負의 相關이 있었으나 繭層 fibroin酵素分解率과는 相關이 인정되지 않았다.
4. 人工飼料 育蠶繭의 雌雄別로 fibroin酵素 分解率에서는 有意差가 없었지만 sericin含有量은 雌>雄이었다.
5. 人工飼料 組成에 있어서 桑葉粉末를 8%含有한 區는 10%區와 8%區에 methionine을 添加한 區에 比하여 fibroin酵素分解率이 높았다.
6. 1齡부터 3齡까지 人工飼料와 4 및 5齡은 桑葉飼育蠶繭의 fibroin酵素分解率은 全齡 人工飼料育蠶繭에 比하여 높았다.

#### 引 用 文 獻

1. 青木一三 (1973) : 日蠶雜, 42(1), 53-60.
2. 有本肇·青木一三·林屋慶三 (1972) : 第42回 日本蠶絲 學會研究發表.
3. 福田紀文·須藤光正·樋口芳吉 (1960) : 日蠶雜 29 (1)1-3.
4. 浦生卓磨·一場靜夫 (1971) : Japan, J. Breed. Vol. 21, No. 2, 87-92.
5. 浦生卓磨·一場靜夫·宮川千三郎 (1971) : 日 蠶雜 40(1), 42-48.
6. Hayashiya, K., M. Kato and Y. Hamamura (1964) : Proc. Jap. Acad., 40, 349-350.
7. 一場靜夫·浦生卓磨 (1971) : 日蠶雜, 40(3), 221-226.
8. Iizuka, E. : Biorheology, 3, 1.
9. 伊藤智夫·田中元三 (1960) : 日蠶雜, 29(3), 191-196.
10. 伊藤智夫·向山文雄 (1970) : 蠶絲研究 Vol. 77. 76-81.
11. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Randall (1951) : J. Biol. Chem., 193, 265-275.
12. 森本彰·市川柳仁·宮林滿雄·山野井文夫·小境泰典·淺野知子 (1969) : 蠶絲研究, (73), 1-8.
13. 文在裕 (1974) : 韓國蠶絲學會誌, 16(2), 35-53.
14. 吉田德太郎·松岡道男·木村孝一 (1960) : 日蠶試報 Vol. 15(10) 543-586.