

Morphology of Regenerated Silk Fibroin

- the effects of alcohol additives on fibroin solution
and freeze drying conditions -

남진, 박영환

서울대학교 천연섬유학과

1. 서론

의류용 소재로 이용되어왔던 견을 다른 응용소재로서 이용하기 위한 연구가 이루어지고 있다. 특히, 견피브로인 단백질의 우수한 생체친화성, 흡습성, 자외선 차단력, 알코올대사촉진, 혈중콜레스테롤·혈당량저하등의 기능성을 이용하여 생체재료로서 응용하기 위한 연구가 진행되고 있다.[1] 이러한 응용소재를 개발하기 위해서는 재생견피브로인의 제조조건에 따른 구조와 형태변화를 고려해야 하는데 일반적으로 견피브로인을 산, 알칼리, 염, 효소처리 등에 의해 분자쇄절단이나 분자간 수소결합의 절단에 의해서 용해시킨 후 이를 건조, 방사 또는 다른 물질들과의 혼합을 통해서 재생용액, 분말, 필름, 젤, 섬유상등의 다양한 형태로 성형화할 수 있다.[2-3] 재생견피브로인은 random coil상의 단백질 2차구조가 유기용매, 온·습도영향, 기계적처리등에 의해서 분자쇄간 수소결합의 절단과 재형성에 의해 antiparallel β -sheet구조로 결정화를 이루게 되는데 이러한 구조전이는 재생형화된 견피브로인의 물성에 큰 영향을 미치게 된다.[4-5] 따라서 본 연구에서는 견피브로인수용액의 동결건조과정에서 첨가된 알코올의 종류와 pH변화등의 처리조건 변화에 따라 얻어지는 재생견피브로인의 형태학적 구조변화를 고찰하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1 견피브로인 수용액 제조

누에고치를 비누정련하여 얻어진 견피브로인을 $\text{CaCl}_2 : \text{H}_2\text{O} : \text{Ethanol}$ (1 : 8 : 2 몰비)이 혼합용매로 비등점에서 3시간 용해한 후 셀룰로스투석막(MWCO. 3,500)을 사용하여 증류수상에서 3일간 투석을 행하여 염을 제거한 후 견피브로인 수용액(2%(w/w))을 제조하였다.

2.2 알코올첨가

제조된 견피브로인 수용액에 메탄올, 에탄올, n-부탄올, n-옥탄올 각각 일정농도로 첨가하고 이를 -60°C 로 24시간 동결시킨 후 동결건조기를 이용 72시간동안 건조시켰다.

2.3 구조분석

2.3.1 원이색성편광분석

첨가된 알코올의 종류에 따른 건피브로인용액내 단백질의 2차구조를 분석하기 위해 Spectra Polarimeter(CD6, Jobin-Yvon, France)로 원이색성을 측정하였다.

2.3.2 주사전자현미경분석

동결건조된 재생건피브로인의 형태변화여부를 SEM(Scanning Electron Microscoph, JCM-5410LV, JEOL, Japan)으로 관찰하였다.

2.3.3 X-선회절분석

결정구조를 분석하기 위하여 X-ray diffractometer(D/Max-3C Rigaku, Japan)을 이용하여 X-선회절분석을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

Fig.1은 건피브로인 수용액에 서로 다른 종류의 알코올을 첨가한 뒤 원이색성편광분석을 통해 용액내 피브로인 분자쇄의 구조특성을 조사한 것이다. 알코올을 첨가하지 않은 재생건 피브로인은 전형적인 random coil형태로 2차구조를 이루고 있으나 메탄올을 첨가한 경우 215nm부근에서 피크가 나타나 β -구조로의 전이가 일어남을 알 수 있었으며 옥탄올의 첨가는 용액내 피브로인분자쇄의 구조에 영향을 주지 못함을 알 수 있었다. 이는 친수성이 강한 메탄올과 에탄올에 비해 소수성이 강한 옥탄올의 경우 용액속에서 emulsion상으로 존재하여 피브로인 분자쇄들에 대한 결정화 작용이 느리게 진행되기 때문에 첨가후 초기에는 용액상에서 피브로인분자쇄의 구조전이를 일으키지 못한 것으로 생각된다. 한편, 초산을 이용하여 건피브로인의 등전점부근인 pH 3.0으로 조정하였을 때에는 무처리 보다는 다소 증가된 약 200nm부근에서 피크가 나타나고 있는데 이는 단백질분자쇄가 등전점부근에서 zwitterion을 형성하여 전기적 이온반발력을 낮춤으로써 상호작용할 수 있는 가능성이 증대되어 β -구조로 전이가 이루어지지만 메탄올과 에탄올첨가로 인한 β 구조변화만큼은 이루지 못한 것으로 보인다.

무처리 건피브로인을 -60°C 로 동결건조하여 얻은 재생건피브로인은 육안관찰시 표면이 매끈하고 투명한 얇은 판상들이 적층된 sponge-like 형태로 나타났는데 SEM관찰 결과 매끈한 표면을 가진 판상으로 확인되었다.(Fig.2) 메탄올과 에탄올을 첨가하여 동결건조처리된 재생건피브로인은 쉽게 분쇄되어 구형의 흰색미세분말상을 얻을 수가 있었는데 SEM관찰 결과 수 μm 정도의 미세한 분말상들의 집합체를 이루고 있었다. 한편, 메탄올과 에탄올첨가 시료의 입자들간의 차이는 거의 없었다. 그러나 부탄올첨가 시료는 부드러운 흰색 덩어리의 집합체로 분쇄되기 어렵고 쉽게 뭉쳐지는 성질을 나타냈다. 옥탄올첨가 시료는 무처리시료 처럼 판상의 적층된 형태로 좀더 밀집된 sponge-like형태를 나타냈으나 SEM관찰 결과 가지상의 구조가 상호망상으로 엉켜있는 형태를 나타냈다. 친수성으로 결정화 작용이 빠르게 일어나게 하는 메탄올과 에탄올첨가 시료는 용액내에 random coil상으로 존재하는 건피브로인 분자쇄들이 수소결합과 소수성결합등의 상호작용이 빠르게 일어나 부분적으로 응집을 형성하는 데 반하여 강한 소수성으로 인하여 용액속에서 emulsion상으로 존재하는 부탄올과 옥탄올첨가 시료의 경우 결정화 속도가 상대적으로 낮아 용액내 피브로인 분자쇄들이 좀더

넓은 영역에서 느린 상호작용으로 결정화되어 각각 덩어리상과 가지상의 형태를 이루게 된 것으로 생각된다. 한편 pH 등전점처리 시료는 무첨가 시료와 같은 판상의 형태를 나타내고 있는 데 이는 메탄올과 에탄올첨가 시료 만큼 빠른 결정화를 일으키지는 못한 데에서 기인한 것으로 생각된다.

Fig.3은 X-선회절 결과로 무첨가시료에 비하여 메탄올과 에탄올첨가 시료는 [001]과 [201]면에 해당하는 9° 와 20° 부근에서의 피크와 [300]면에 해당하는 25° 부근에서 shoulder를 나타내 β -configuration의 Silk II 구조로 결정이 존재하고 있음을 보여주고 있다. [6] 부탄올과 옥탄올첨가시료는 20° 에서 피크를 나타내는데 옥탄올 첨가의 경우 12° 부근에서 피크를 보이고 있다. 이는 불안정한 α -helix 형태를 가진 silk I 결정구조의 [010]면에 해당하는 피크로 silk I의 구조가 어느 정도 존재하고 있으리라 추측된다. 한편, pH 3.0으로 조절된 시료는 메탄올과 에탄올첨가만큼의 결정성이 이루어지지 못했음을 보여주고 있다. 알코올 종류에 따른 결정성을 정량적으로 나타내기에는 어려우나 재생견피브로인의 X-선회절로부터 알코올첨가로 결정성이 증가되었고 메탄올과 에탄올을 첨가한 경우와 부탄올과 옥탄올을 첨가한 경우가 다른 결과를 나타내어 결정화 진행에 다소 차이가 있는 것으로 생각된다.

5. 결 론

CaCl₂ 혼합용매에 용해되어 random coil 구조를 이루고 있는 재생견피브로인 수용액은 알코올첨가와 pH-등전점 조절 후 동결건조과정을 통하여 β -sheet 구조로 전이가 일어났으며 이들의 형태는 메탄올과 에탄올첨가시는 미세한 구형의 입자상, 부탄올 첨가시는 덩어리상, 옥탄올 첨가시는 망상구조의 가지상형태를 나타냈다. 이는 첨가된 알코올의 종류에 따라 결정화거동에 차이가 일어남으로 인하여 형태학적 구조의 특징을 나타낸 것으로 생각된다.

6. 참고문헌

1. K. Sugiyam, Y. Kushima and K. Muramatsu, *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3455(1985).
2. Xuan Lu, D. Akiyama and K. Hirabayashi, *J. Seric. Sci. Jpn.*, **63**, 21(1994).
3. Masuhiro Tsukada, *JAPS*, **54**, 507(1994).
4. J. Magoshi, *Kobunshi Robunshu*, **31**, 463(1974).
5. Z. Haider Ayub, M. Arai and K. Hirabayshi, *Polymer*, **35**, 2197(1994).
6. K. Hirabaysi and R. Oki, *J. Seric. Sci. Jpn.*, **49**, 27(1980).



Figure 1. Circular Dichroism spectra of silk fibroin solutions(SFS)

- (a) Untreated SFS (b) Methanol 10%(v/v)
 (c) Ethanol 10%(v/v) (d) n-Butanol 10%(v/v)
 (e) n-Octanol 10%(v/v) (f) pH 3.0

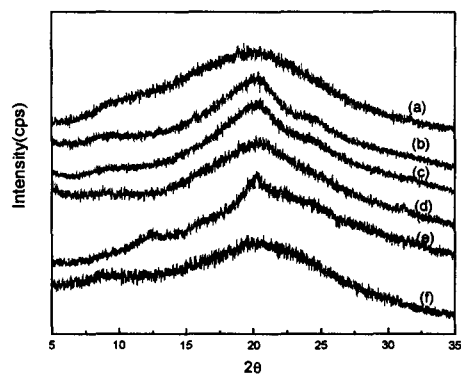
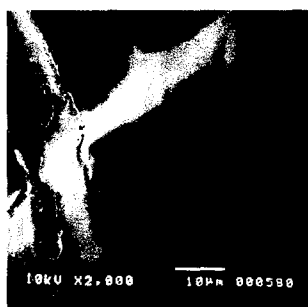
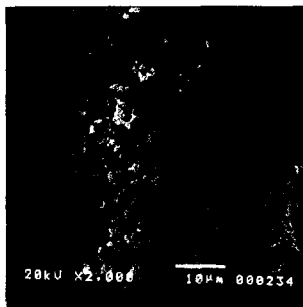


Figure 3. X-ray diffractograms of regenerated silk fibroins

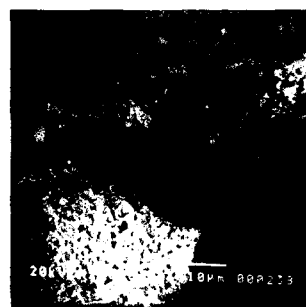
- (a) Untreated SFS (b) Methanol 10%(v/v)
 (c) Ethanol 10%(v/v) (d) n-Butanol 10%(v/v)
 (e) n-Octanol 10%(v/v) (f) pH 3.0



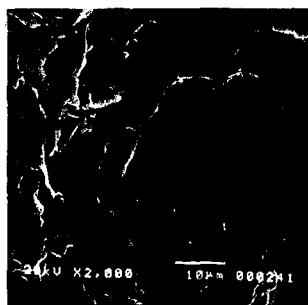
(a) Untreated SFS



(b) Methanol 10%(v/v)



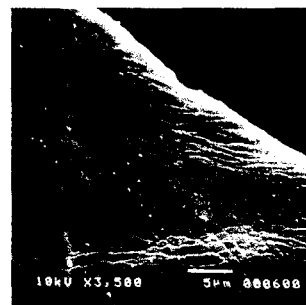
(c) Ethanol 10%(v/v)



(d) n-Butanol 10%(v/v)



(e) n-Octanol 10%(v/v)



(f) pH 3.0

Figure 2. SEM photographs of regenerated silk fibroins