

수용액 중에서 발린류의 해리상수

黃正儀[†] · 郭永佑 · 鄭在元 · 吉千興

경북대학교 기초과학연구소

(1990. 7. 23 접수)

The Dissociation Constants of Valines in Aqueous Solution

Jung-Ui Hwang[†], Yong-Woo Kwak, Jae-Won Jung, and Chon-Ho Kil

Research Institute of Basic Science, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

(Received July 23, 1990)

요 약. 수용액 중에서 발린과 노발린의 두 가지 해리상수를 온도와 압력을 변화시키면서 전도도법으로 측정했다. 이들 해리상수로부터 열역학적 성질들을 계산하여 해리반응의 특성을 알아보았다. 아미노산의 종류 즉, 아미노기의 위치나 사슬의 길이, 치환기의 종류에 따라 해리도가 어떤 영향을 받는가 하는 것을 Hammett식을 이용하여 검토했고 이것을 CNDO/2법으로 계산한 분자내 원자의 알짜 전하와 비교 검토하였다.

ABSTRACT. The dissociation constants of valine and norvaline in aqueous solution were measured by conductometric method in various temperatures and pressures. The properties of the dissociation reaction were discussed in term of the thermodynamic properties of reaction. These substituted effects on the dissociation reaction were discussed on the points of Hammett relation and net charge of the O and N-atom calculated from CNDO/2 method respectively.

서 론

아미노산의 여러 가지 성질 중에서 산 또는 염기로서의 성질은 대단히 중요한 성질 중의 한 가지이다. 산 또는 염기의 성질은 아미노산의 종류 즉 아미노기의 위치(α 또는 β 등), 치환기의 크기나 종류($H_2NR'COOH$ 에서 R') 등에 의해서 정해진다.

그래서 아미노산의 해리도와 종류와의 상관관계를 아는 것은 아미노산을 이해하는데 중요한 자료가 된다. 이와 같은 중요성 때문에 아미노산의 산이나 염기로서의 성질을 다룬 연구는 수없이 많이 이루어져 있다. 그러나 해리도나 해리상수와 아미노산의 종류 또는 구조와의 상관관계를 계통적으로 다룬 연구는 그렇게 많지 않다. 이들 해리반응의 온도와 압력의존성을 알면 아미노산의 성질을 더욱 잘 알 수 있다. 해리반응의 온도에 대한 영향은 비교적 많이 다루어져 있으나 압력의 영향은 거의 다룬 바 없다.

아미노산의 해리반응을 계통적으로 다룬 예를 보

면 Walborsky 등은² 아미노산의 ω 위치에 플루오르를 치환하면 해리도가 증가한다는 것을 밝힌 바 있으며, King 등은³ 메톡시알라닌의 해리도는 치환기가 치환될 때 증가함을 밝혔고, N-아실⁴이나 N-카바모일아미노산의⁵ 해리상수는 아미노산의 사슬의 길이와 상관됨을 밝힌 바 있다. Wyman 등은⁶ 치환기가 α , β 등과 같이 해리되는 기에서 멀어지면 해리도는 감소한다고 보고한 바 있으며, Ley나⁷ McInnes은⁸ 이들 관계를 수식화하여 나타내기도 하였다. Greenstein은⁹ 이들 관계를 더욱 구체화하고 법칙화하였다. 저자들은¹⁰ 이들 관계를 재검토한 바 있으며 아미노산도 치환기 상수를 정해서 Hammett식과 같은 식으로 나타내고 반응상수에 대해서 논한 바 있다.

해리도의 온도에 대한 영향은 온도범위가 넓은 때는 Harned 등에¹¹ 의한 식으로 표시하면 더욱 잘 맞는다. King과⁵ May 등은¹² 해리상수의 온도의존성을 조사하여 이들 관계를 확인하고 해리엔탈피를

조사하였다. 저자들도 몇 가지 아미노산에 대하여 그 해리상수를 측정하고 해리엔탈피를 조사한 바 있다^{10,13}.

본 연구에서는 아미노산 중에서도 그의 해리도가 상온 상압에서만 측정되어 있는 발린과 노발린의 해리상수를 온도와 압력을 변화시키면서 측정하고 그의 온도와 압력의 영향을 알아보았으며 치환기의 구조에 대한 영향을 알아보았다. 또 이미 측정된 아미노산과 더불어 Hammett의 반응상수의 영향도 알아보았으며 더우기 이들 아미노산의 해리도가 구조와 어떤 상관관계가 있는지 알아보기 위해서 CNDO/2법으로 계산한 분자내의 원자의 알짜 전하와의 상관관계를 알아보았다.

Idoux 등은¹⁴ n-치환 알킬아미드의 분자내 전자의 알짜 전하와 Taft의 편극성 치환기상수와의 상관관계를 밝힌 바 있다. Yonezawa 등은¹⁵ 치환 벤젠에서 σ 값이 전자밀도와 직선관계가 있음을 밝힌 바 있으며, Taft 등도¹⁶ 치환기 상수와 편극률 사이에 직선관계가 있음을 보고한 바 있다.

실험 및 계산

실험에 필요한 시약은 Aldrich사 특급시약을 그대로 사용하는 대신 중성염은 HCl과 NaOH로 적정하여 중화점을 정하였다. 해리상수의 측정은 전보^{10,13}에서의와 같이 고압에 적용이 용이한 Winkelblech의 중성염법을 택했으며, 측정온도는 15~35°C 사이에서 5°C 간격으로 측정했고 압력은 1~2500 bar 범위에서 500 bar 간격으로 측정했다. 측정용 전도도셀은 유리셀에 백금을 봉입하고 백금극을 도금하여 사용했다. 전도도셀을 고압용기내에 설치하고 전극을 연결한 후 압력을 가하고 항온조로 온도를 조절하여 측정에 임했다. 전도도는 Rhode Schwarz사의 전도도 브릿지로 측정했다.

산성염 또는 염기성염의 전도도 Λ_{salt} 와 과량의 아미노산을 가하여 염의 해리를 억제시킨 염의 전도도 $\Lambda_{oversalt}$ 및 같은 농도의 HCl 또는 NaOH의 전도도 Λ_{HCl} 또는 Λ_{NaOH} 를 측정하면 해리도 α 가 계산되고 해리상수가 계산된다.

알짜 전하의 계산은 기하학적 구조의 최적화가 가능한 CNDO/2 컴퓨터 프로그램을¹⁷ 사용하여 가장

안정한 상태에서 전자밀도 및 쌍극자 모멘트를 구하였다. 사용한 컴퓨터는 대우 16비트 AT이며 입력 자료는 X선 회절법에 의한 자료를^{18,19} 사용하여 최적화시켰고 계산은 NH_3^+RCOOH 형태의 분자에 대해 계산을 하였다.

결과 및 고찰

25°C, 1기압에서 측정된 노발린의 해리상수를 예로 보면 다음과 같다.

$$\begin{aligned}C^\circ &= 2.00 \times 10^{-3} \text{ mol/l} \\ \Lambda_{HCl} &= 419.6 \text{ Mho cm}^2 \\ \Lambda_{salt} &= 340.7 \text{ Mho cm}^2 \\ \Lambda_{oversalt} &= 117.8 \text{ Mho cm}^2\end{aligned}$$

위의 값으로부터 해리도 α , K_1 및 pK_1 를 구하면 다음과 같다.

$$\begin{aligned}\alpha &= \frac{\Lambda_{salt} - \Lambda_{oversalt}}{\Lambda_{HCl} - \Lambda_{NaOH}} \\ &= \frac{340.7 - 117.8}{419.6 - 117.8} = \frac{222.9}{301.8} = 0.739\end{aligned}$$

$$K_1 = \frac{\alpha^2 C^\circ}{1 - \alpha} = \frac{1.09 \times 10^{-3}}{0.261} = 4.18 \times 10^{-3}$$

$$pK_1 = 2.38$$

이와 같이 하여 측정된 발린과 노발린의 pK 값을 Table 1, 2에 나타내었다. Table에서 알 수 있는 바와 같이 발린의 해리상수 K_1 은 온도가 높아지면 감소하고(pK 값은 증가) 압력이 높아지면 증가한다. 그러나 노발린은 온도나 압력이 증가하면 해리상수는 커진다. 그러나 해리상수 K_2 는 발린이나 노발린에서 모두 온도가 높거나 압력이 낮을 때 큰 해리상수 값을 가진다.

본 연구에서의 측정된 값을 문헌치와 비교해 보면 노발린의 pK_1 값은 25°C에서 2.36, 2.318¹ 등으로 보고되어 있으나, 본 연구에서는 2.38이었고 pK_2 값은 9.72, 9.806 등이었으나 본 연구에서는 9.79이었다. 발린에서는 pK_1 이 2.32, 2.286 등이고 본 연구에서는 2.29였고, pK_2 값은 9.62, 9.718 등이나 본 연구에서는 9.58로 대체적으로 실험오차 범위내에서 일치하였다.

Table 1. pK_a values of valine at various temperatures and pressures

a) pK_1

P(bar)	Temp.(°C)				
	15	20	25	30	35
1	2.29	2.29	2.29	2.31	2.31
500	2.20	2.22	2.23	2.24	2.24
1000	2.12	2.15	2.16	2.17	2.17
1500	2.07	2.08	2.09	2.10	2.11
2000	2.00	2.02	2.03	2.04	2.05
2500	1.93	1.97	1.98	1.99	2.00

b) pK_2

P(bar)	Temp.(°C)				
	15	20	25	30	35
1	9.92	9.75	9.58	9.44	9.30
500	9.92	9.77	9.61	9.47	9.33
1000	9.93	9.79	9.63	9.50	9.35
1500	9.95	9.81	9.66	9.53	9.38
2000	9.96	9.84	9.68	9.55	9.40
2500	9.96	9.85	9.71	9.58	9.41

Table 2. pK_a values of norvaline at various temperatures and pressures

a) pK_1

P(bar)	Temp.(°C)				
	15	20	25	30	35
1	2.41	2.38	2.38	2.37	2.37
500	2.35	2.33	2.32	2.31	2.30
1000	2.28	2.25	2.24	2.24	2.24
1500	2.21	2.20	2.19	2.18	2.17
2000	2.14	2.14	2.13	2.13	2.11
2500	2.12	2.11	2.10	2.09	2.08

b) pK_2

P(bar)	Temp.(°C)				
	15	20	25	30	35
1	10.07	9.91	9.79	9.62	9.50
500	10.18	9.93	9.79	9.65	9.52
1000	10.22	10.05	9.90	9.74	9.59
1500	10.32	10.15	9.98	9.83	9.66
2000	10.37	10.19	10.03	9.87	9.70
2500	10.38	10.21	10.05	9.89	9.74

보통 산의 해리는 온도가 증가하면 해리도가 커지는 것이 원칙이지만 발린의 K_1 에서와 같이 해리도가 감소하는 경우도 있다. N-아실이나 N-카바모일 아미노산은 20°C 또는 35°C에서 해리도가 가장 크고 온도가 더욱 낮거나 높으면 감소한다^{4,5}. 발린은 20°C에서 가장 큰 해리상수(K_1)를 가지는 것 같다.

압력이 높아지면 K_1 은 모두 증가하나 K_2 값은 감소한다. 이는 K_1 은 카르복실기의 해리이고 K_2 는 공액산인 아미노기의 해리라는 것을 감안하면 수긍되는 사실이다¹³.

해리도의 온도에 따른 관계는 Harned와 Robinson의 식으로^{11,20} 표시하면 잘 맞는다.

$$pK = A/T + B + CT \quad (1)$$

반응의 특성을 더욱 상세히 알아보기 위하여 반응의 열역학적 특성을 계산하여 Table 3, 4에 실었다. Table 3은 발린에 대한 것이고 Table 4는 노발린에 대한 값이다. 발린의 K_1 에 대한 반응엔탈피는 음의

Table 3. Thermodynamic properties for the dissociation reaction of valine

a) pK_1

P(bar)	Props.			
	ΔH°	ΔS°	ΔG°	ΔV°
	(kcal/mol)	(e.u/mol) at 25°C	(kcal/mol) at 1000 bar	(cc/mol)
1	-0.37	-11.73	3.13	15°C -8.2
500	-0.78	-12.85	3.04	20°C -7.6
1000	-0.90	-12.91	2.95	25°C -7.5
1500	-0.81	-12.28	2.85	30°C -7.9
2000	-1.02	-12.74	2.77	35°C -8.1
2500	-1.19	-13.04	2.70	

b) pK_2

P(bar)	Props.			
	ΔH°	ΔS°	ΔG°	ΔV°
	(kcal/mol)	(e.u/mol) at 25°C	(kcal/mol) at 1000 bar	(cc/mol)
1	12.58	-1.64	13.07	15°C 1.0
500	12.02	-3.56	13.11	20°C 2.1
1000	11.79	-4.02	13.13	25°C -2.9
1500	11.55	-4.96	13.18	30°C -3.4
2000	11.47	-5.74	13.20	35°C -2.7
2500	11.17	-6.44	13.24	

Table 4. Thermodynamic properties for the dissociation reaction of norvaline

a) pK₁

P(bar)	Props.				
	ΔH° (kcal/mol)	ΔS° (e.u/mol) at 25°C	ΔG° (kcal/mol) at 1000 bar	ΔV° (cc/mol)	
1	0.54	-9.06	3.24	15°C	-6.4
500	0.97	-7.31	3.15	20°C	-6.8
1000	-0.73	-7.78	3.05	25°C	-7.0
1500	-0.72	-7.78	2.97	30°C	-7.0
2000	-0.66	-7.51	2.90	35°C	-7.4
2500	-0.81	-6.84	2.85		

b) pK₂

P(bar)	Props.				
	ΔH° (kcal/mol)	ΔS° (e.u/mol) at 25°C	ΔG° (kcal/mol) at 1000 bar	ΔV° (cc/mol)	
1	11.42	-6.10	13.34	15°C	8.5
500	12.94	-6.20	13.36	20°C	8.4
1000	12.76	-1.96	13.50	25°C	-7.4
1500	13.34	-0.74	13.62	30°C	-7.3
2000	13.50	-0.62	13.68	35°C	-6.2
2500	13.00	-0.21	13.71		

값이다. 즉, 앞에서 설명한 것과 같이 온도가 증가하면 해리가 감소하는 것을 뜻한다. 그러나 K₂에서는 ΔH° 가 상당히 큰 양의 값을 나타낸다. 문헌값은 $\Delta H^\circ(K_1)$ 이 1기압에서 -300 cal/mol로 나와 있으며 본 연구의 값과 유사하다(-370 cal/mol).

엔트로피 변화는 K₁에 대해서 -(6~13) e.u/mol 정도의 값을 가지며, K₂에서는 -(0~7) e.u/mol 정도의 작은 값을 가진다. 즉 해리에 따른 분자나 용매의 배열의 차이가 그다지 크지 않음을 뜻한다.

반응의 부피변화를 보면 K₁에서는 부피가 감소하며 ΔV° 는 -(6~8 cc/mol) 정도의 값을 가지지만 K₂에서는 $\Delta V^\circ = 1\sim 8$ cc/mol로서 양의 값을 가지며 부피가 증가하고 있다¹⁰. 이와 같은 해리반응에 대한 열역학적 성질의 변화는 다른 아미노산의 경우와 비교할 때 큰 차이가 없고, 일반 유기반응에서 -COOH기의 해리나 -NH₃⁺기의 해리의 성질을 그대로 가지고 있다고 볼 수 있다.

Table 5. Pressure dependence of Hammett parameter, ρ for the dissociation reaction of some amino acids at 25°C

a) for K₁

ρ_1	=0.2067	$r=0.9999$
ρ_{500}	=0.1990	$r=0.9999$
ρ_{1000}	=0.1863	$r=0.9988$
σ_1	-0.45(alanine)	-0.55(glycine)
	-0.55(leucine)	-0.60(tryptophane)
	-6.25(β -alanine)	-8.60(aminobutyric acid)
	-0.16(valine)	-0.58(norvaline)

b) for K₂

ρ_1	=0.0776	$r=0.9986$
ρ_{500}	=0.0796	$r=0.9983$
ρ_{1000}	=0.0856	$r=0.9879$
σ_1	-0.5(alanine)	1.0(glycine)
	2.5(leucine)	5.5(tryptophane)
	-5.3(β -alanine)	-8.7(aminobutyric acid)
	2.5(valine)	-0.2(norvaline)

아미노산의 종류에 따른 구조적인 특성을 알아보기 위해서 Hammett의 법칙을 적용하여 보았다. Hammett 상수를 Table 5에서와 같이 임의로 선정하고 반응상수의 압력의 영향을 조사하여 보았다.

Hammett의 관계는 비교적 잘 성립하고 상관계수(r)가 높게 나타났으며, 이 때 치환기상수 값은 아미노산의 특성을 나타낸다고 볼 수 있다. 반응상수 ρ 는 압력이 높아지면 K₁의 경우는 벤조산에서와 같이 감소하였고²¹, K₂에서는 증가하였다²². 이와 같은 사실은 이미 저자들이 지적한 바와 같이 해리 반응에서 하전 분리 즉, 부피변화와 상관된다고 해석된다.

아미노산의 분자종 즉 아미노산의 아미노기의 위치, 사슬의 길이, 구조 등과 해리상수와 어떤 관계가 있느냐 하는 것을 좀더 알아보기 위해서 CNDO/2 법으로 MO계산을 하여 Table 6에 나타내었다. 해리와 상관 있다고 생각되는 카르복실기의 산소와 아미노기의 질소원자의 알짜 전하를 계산하여 해리상수와 상관관계를 알아보았다. 또, 분자의 쌍극자 모멘트도 나타내었다. 카르복실기의 해리는 산소원자의 알짜 전하와 관계되고 아미노기의 해리는 수

Table 6. The net charge of atoms and dipolemoment of amino acids calculated by CNDO/2 method

	pK ₁	pK ₂	O(net charge)	N(net charge)	Dipole moment	Total energy(eV)
norvaline	2.38(2.36)	9.79(9.72)	-0.2325	-0.0113	15.73	-2533.64
valine	2.29(2.34)	9.58(9.62)	-0.2356	-0.0184	15.36	-2533.48
alanine	2.34(2.34)	9.79(9.69)	-0.2381	-0.0058	15.59	-2060.19
4-aminobutyric acid	4.03(4.02)	10.48(10.40)	-0.2500	-0.0099	27.95	-2296.96
6-aminocaproic acid	(4.43)	(10.75)	-0.2575	-0.0040	39.94	-2770.35
			r=0.9468	r=0.9117 (alanine 제외)	r=0.9606(pK ₁) r=0.9703(pK ₂)	

()는 문헌치.

소가 붙어있는 질소원자의 알짜 전하와 상관되리라고 생각된다. pK₁과 산소의 알짜 전하(r=0.9468), pK₂와 질소원자의 알짜 전하(r=0.9117) 등의 상관관계로 보면 상관계수가 좋지 않으나 관계가 있음을 알 수 있다.

즉, O원자의 알짜 전하가 음으로 커지면 pK₁이 큰 값을 가지고 N의 알짜 전하가 커지면 pK₂값은 작아진다. 또 치환기상수와(σ)와 알짜 전하의 관계도 마찬가지로 상관관계가 있으나 좋은 상관관계가 성립하지는 않았다. Idoux 등은 아세트아미드에서 Yonezawa 등은 치환벤젠에서 치환기상수와 분자내 원자의 알짜 전하와 상관관계가 있음을 주장했으나 여기에서는 좋은 관계를 얻지못했는데 이는 비교한 자료가 적었고, 아미노산 단분자에 대해 계산했으나 실재는 용액 중에서 용매와 상호작용하는 용매화 효과 때문으로 생각된다. 알짜 전하와 pK 또는 σ값 사이의 상관관계는 좋지않았으나 pK와 분자의 쌍극자 모멘트 사이에는 오히려 좋은 직선성이 성립했다. 이와 같은 관계는 Kirkwood와 Westheimer의 식인²³, ΔpK와 쌍극자 모멘트의 관계식 (2)로 설명할 수 있다.

$$\Delta pK = \frac{e\mu \cos\theta}{2.3 kT R^2 D_{eff}} = \left(\frac{\mu \cos\theta}{R^2} \right) \left(\frac{e}{2.3 kT D_{eff}} \right) \quad (2)$$

식 (2)에서 ΔpK와 쌍극자 모멘트(μ)는 직선관계가 성립할 것이라고 예측할 수 있으며, 식 (2)를 ρ, σ의 관계를 나타내면 식 (3)과 같다.

$$\Delta pK = \sigma \cdot \rho \quad (3)$$

식 (2)와 (3)을 감안하면 쌍극자 모멘트(μ)와 σ도 직선관계가 있을 것이라는 것을 예측할 수 있다.

본 연구는 문교부 기초과학육성 연구비의 지원으로 이루어졌으며 이에 깊은 감사로 드립니다.

인 용 문 헌

1. J. P. Greenstein and M. Winitz, "Chemistry of Amino Acids", Vol. 1, Robert Krieger Pup. Co. New York, U.S.A., 1984.
2. H. M. Walborsky and J. H. Lang, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 4314(1956).
3. E. J. King, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 3575(1960).
4. E. J. King and G. W. King, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 1089(1956).
5. E. J. King, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 6020(1956).
6. J. Wyman and T. L. McMeekin, *J. Am. Chem. Soc.*, **55**, 908(1933).
7. H. Ley, *Ber.*, **42**, 354(1909~1910).
8. O. A. McInnes, *J. Am. Chem. Soc.*, **50**, 2587(1928).
9. J. P. Greenstein, *J. Biol. Chem.*, **96**, 499(1932).
10. J. U. Hwang, Y. U. Kwak, and J. W. Jung, *J. Korean Chem. Soc.*, **33**, 343(1989).
11. H. S. Harned and R. A. Robinson, *Trans. Faraday Soc.*, **86**, 973(1940).
12. M. May and W. A. Felsing, *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 406(1951).
13. J. U. Hwang, W. B. Lee, J. K. Choe, and H. S. Lee, *J. Korean Chem. Soc.*, **31**, 395, 400(1987).
14. S. K. Knudson and J. P. Idoux, *J. Org. Chem.*, **44**, 520(1979).
15. T. Yonezawa, *et al*, "Introduction to Quantum

- Chemistry", p. 178, Kagakudojin, Kyoto, 1974.
16. R. W. Taft, M. Taagepera, J. L. M. Abboud, J. F. Wolf, D. J. DeFree, W. J. Hehre, J. E. Bartmess, and R. T. McIver, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 7765(1978).
 17. QCPE Program No. 389, Indiana Univ., Chemistry Dept., U.S.A.
 18. J. Donohue, *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 949(1950).
 19. L. E. Sutton, "Table of Interatomic Distances and Configuration in Molecules and Ion", Eyre and Spottiswoode Ltd, London, 1958.
 20. Harned and Robinson, "The Physical Chemistry of Electrolytic Solution" p. 508~514 Reinhold, New York, N.T. 1943.
 21. A. Fischer, B. R. Mann, and J. Vaughan, *J. Chem. Soc.* 1093(1961).
 22. J. U. Hwang, *Bull. Korean Chem. Soc.* **8**, 237 (1987).
 23. Kirkwood J. G. and F. H. Westheimer, *J. Chem. Phys.* **6**, 506, 513(1938).