

## 염산처리 작잠견사의 가수분해거동

권해용 · 이광길 · 이용우 · 여주홍 · 엄인철\*

농업과학기술원 잠사곤충부, \*서울대학교 농업생명과학대학

### Hydrolysis Behaviour of *Antheraea pernyi* Silk Fiber Treated with HCl

Hae Yong Kweon, Kwang Gill Lee, Yong Woo Lee  
Joo Hong Yeo and In Chul Um\*

Department of Sericulture and Entomology, National Institute of Agriculture and Technology,  
Suwon 441-100, Korea

\*College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon, 441-744, Korea

#### ABSTRACT

Hydrolysis rate and activation energy of *Antheraea pernyi* silk fiber treated with HCl were examined. Thermal decomposition temperature and surface morphology were also investigated by using differential scanning calorimeter and scanning electron microscope. As the concentration of hydrochloric acid and the treatment temperature increased, the hydrolysis occurred more rapidly. The activation energy of *Antheraea pernyi*, 74.0 kJ/mol, was higher than that of *Bombyx mori*, 58.1 kJ/mol. As the concentration of hydrochloric acid increases, the activation energy of *Antheraea pernyi* decreased from 74.0 kJ/mol to 62.0 kJ/mol. The shape of acid-resistance fraction of *Antheraea pernyi* became more destroyed and was transformed from fiber to powdered form with an increase of hydrolysis rate. The thermal decomposition temperature of *Antheraea pernyi* was 360.8°C until the hydrolysis rate was 81.8 wt%, but it decreased to 347.0°C when the hydrolysis rate was 93.8 wt%.

Key words : *Antheraea pernyi* fiber, Hydrolysis rate, Activation energy, Thermal decomposition temperature

#### 서 론

작잠(*Antheraea pernyi*)은 가잠(*Bombyx mori*)에 대하여 중속특이성을 나타내는 대표적인 섬유 생산 곤충이며 작잠견사는 가잠견사와 더불어 오래전부터 의류용소재로서 널리 이용되어 왔다. 작잠견사와 가잠견사는 아미노산 조성 및 함량에 다소 차이가 있으며(Fraser and MacRae 1973, Kweon and Park 1994) 특히 결정구조를 이루고 있는 아미노산의 sequence가 작잠피브로인의 경우에는 ala-ala sequence로 이루어져 있으나(Shaw and Smith 1961) 가잠견피브로인

의 경우에는 gly-ala sequence인 것으로 알려져 있다(Lucas *et al.* 1958). 이러한 화학적 차이에 의하여 가잠견사와 작잠견사는 물리적, 화학적 성질이 상이하다.

한편, 작잠견피브로인의 40% 이상을 차지하는 알라닌은 알콜대사를 촉진시켜 숙취를 해소시키며 알콜로 인한 간의 손상을 예방하는 효과가 있는 것으로 보고되어 있으며 글라이신은 혈중 콜레스테롤치를 낮추는 효과가 있고 타이로신은 치매증상을 예방하는 효과가 있는 것으로 알려져 있으므로(Sugiyama *et al.* 1985, 岸本 1973, 文 1987) 작잠견피브로인은 기능성 식음료 소재, 의약품 소재 등으로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

작잠견피브로인을 기능성 식음료 또는 의약품 소재로 개발하기 위해서는 작잠피브로인을 가수분해하

본 논문은 '98 농촌진흥청 박사후 연수과정 연구비 지원에 의하여 수행된 연구의 일부입니다.

여 저분자화하여야한다. 작잠견피브로인은 가잠견피브로인에 비하여 화학적 안정성이 우수한 것으로 알려져 있으며, 작잠견피브로인을 비섬유용 기능성 소재로 응용하기 위한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 최근에 작잠견사를 가수분해하여 얻은 유리아미노산 조성의 변화 및 분자량분포에 대한 보고(Lu *et al.* 1996)가 있으나 작잠견피브로인을 비섬유용 기능성 소재로 응용하기 위한 유용한 자료로 활용될 것으로 기대되는 산처리 조건에 의한 가수분해 속도상수, 활성화에너지 등 가수분해 반응에 대한 기초적인 연구 결과는 보고된 바가 없다.

따라서 산처리 조건에 따른 작잠견사의 가수분해 속도상수, 활성화에너지 등 가수분해거동을 살펴보기 위하여 염산의 처리농도, 온도, 시간 등의 변화에 따른 작잠견사의 가수분해율을 측정하였다. 또한 가수분해율의 증가에 따른 작잠견사의 분해과정을 살펴보기 위하여 주사전자현미경 관찰을 행하였으며 가수분해잔류물의 열안정성을 평가하기 위하여 시차열분석을 행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

단백질 분해효소(Alcalase 2.5L Novo Industri Co.)를 사용하여 효소정련법에 의하여 정련한 연감울이 13%인 중국산 작잠견사를 실험재료로 사용하였다.

### 2. 산 가수분해

작잠견사의 가수분해 거동을 살펴보기 위하여 염산 수용액(1~6 N)의 처리온도 및 시간을 변화시켜가면서 가수분해율을 측정하였으며 처리 용비는 1:200으로 행하였다. 염산 처리에 따른 가수분해율을 계산하기 위하여 무처리 작잠견사의 건조무게와 처리후 작잠피브로인의 건조 무게를 측정하였다. 처리후 작잠견피브로인의 무게는 염산처리후 3G3 유리여과기에 여과된 불용물의 건조무게로 하였다. 가수분해율은 다음 식 (1)에 의하여 계산하였다.

$$\text{가수분해율 (wt\%)} = \frac{\text{처리전 작잠사의 건조 무게 변화}}{\text{처리전 작잠사의 건조 무게}} \times 100 \quad (1)$$

### 2. 표면형태 관찰

가수분해율의 증가에 따른 작잠견사의 형태 변화를 관찰하기 위하여 시료를 금으로 코팅한 후 일본 Jeol사의 JSM 5410LV 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope)으로 관찰하였다.

## 3. 시차열분석

가수분해 잔류물의 열적 안정성을 살펴보기 위하여 미국 TA Instrument사의 DSC TA 2910을 이용하였으며 질소기류하에서 10°C/min의 승온속도로 50~450°C의 온도범위내에서 시차열분석을 행하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 염산의 농도에 따른 가수분해율

견사단백질의 산가수분해반응은 단백질 주쇄의 절단에 의하여 나타나며 처리하는 산의 농도, 온도, 시간에 의하여 그 반응정도가 결정된다. 작잠견사에 처리하는 염산의 농도에 따른 가수분해율을 그림 1~3에 나타내었다. 묽은 염산(1 N)으로 처리한 작잠견

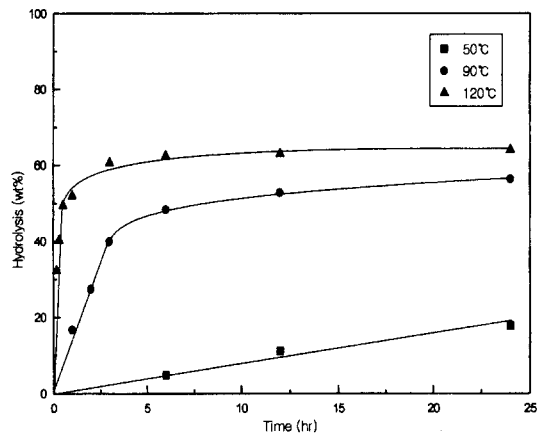


Fig. 1. Hydrolysis curve of *Antheraea pernyi* silk fiber treated with 1N HCl at various temperature.

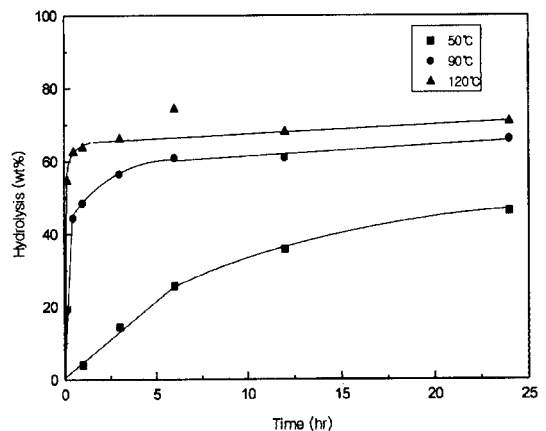


Fig. 2. Hydrolysis curve of *Antheraea pernyi* silk fiber treated with 3N HCl at various temperature.

사의 가수분해율은 그림 1에서 보는 바와 같이 가수분해온도가 높을수록 초기 가수분해속도가 증가하는 경향을 보였으며, 120°C에서 24시간 이상 처리한 경우에도 65 wt% 정도의 가수분해율을 보여 묽은 염산에 대하여 안정한 부분이 35 wt% 정도인 것으로 나타났다. 또한 염산 처리온도가 낮을수록 가수분해율이 낮아져 50°C에서 염산을 처리한 경우에는 20 wt% 정도의 가수분해율을 보였다.

그림 2는 3 N 염산으로 처리할 경우 작잠견사의 가수분해곡선을 나타낸 것이다. 염산 처리온도가 50°C 인 경우에는 50 wt% 정도의 가수분해율을 나타내었으나 120°C로 처리한 경우에는 70 wt% 정도의 가수분해율을 나타내었다. 그림 3은 6 N 염산으로 처리하여 얻은 가수분해곡선이다. 120°C의 가수분해조건에

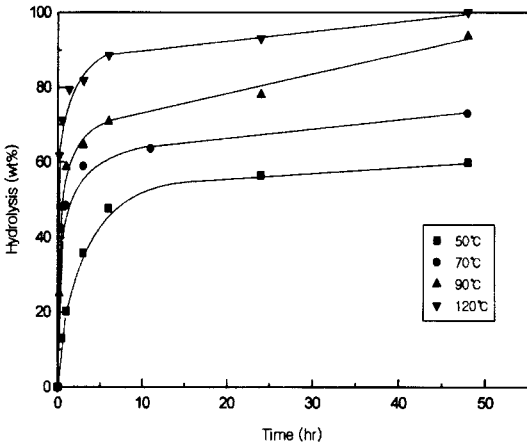


Fig. 3. Hydrolysis curve of *Antheraea pernyi* silk fiber treated with 6N HCl at various temperature.

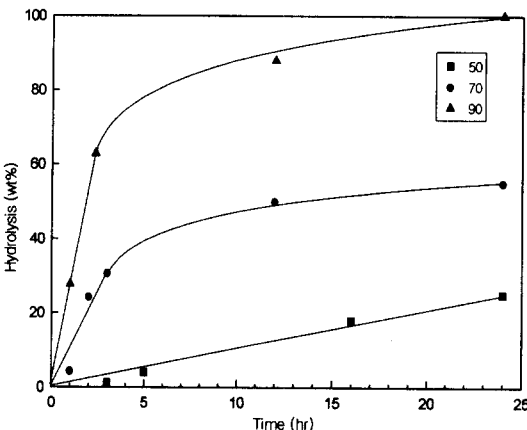


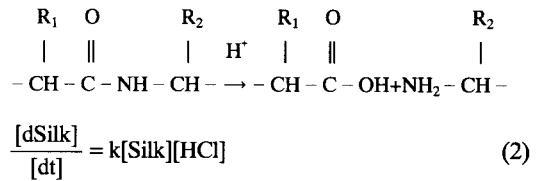
Fig. 4. Hydrolysis curve of *Bombyx mori* silk fiber treated with 1N HCl at various temperature.

서는 100 wt%에 가까운 가수분해율을 보였으나 저온(50°C)으로 염산을 처리한 경우에는 고농도(6 N)의 염산으로 처리하여도 55 wt% 정도의 가수분해율을 보였다. 따라서 작잠견사에 처리하는 염산의 농도 및 온도가 높을수록 작잠견사의 초기 가수분해속도와 최종 가수분해율이 높은 것으로 나타났다.

작잠견사의 가수분해거동을 가잠견사의 가수분해거동과 비교하기 위하여 가잠견사의 가수분해곡선을 그림 4에 나타내었다. 그림 4에서 보는 바와 같이 초기 가수분해 속도는 작잠견사(그림 1)에 비하여 빠른 것으로 나타났으며 장시간(24시간) 처리후의 가수분해율도 작잠견사에 비하여 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 가잠견사가 작잠견사에 비하여 화학적 안정성 및 열안정성이 낮기 때문인 것으로 생각되므로 작잠견사와 가잠견사의 산가수분해에 대한 반응속도상수 및 활성화에너지값을 아래와 같이 계산하였다.

2. 반응속도상수 및 활성화에너지

견피브로인의 가수분해반응은 아래의 화학식으로 나타낼 수 있으며, 시간에 따른 작잠견사의 가수분해율은 식 (2)과 같이 견피브로인과 염산의 농도항으로 나타낼 수 있다.



작잠견사에 대한 염산 처리액의 용비를 1:200 으로 조절하였으므로, 염산의 농도가 가수분해반응 전반에 걸쳐 거의 변화가 없는 무한속으로 간주할 수 있으므로 가수분해율과 가수분해 속도상수는 다음 식 (3)과 같이 견사의 감량율로 나타낼 수 있다.

$$\frac{W_0 - W_1}{W_0} = k[HCl]_0 t \tag{3}$$

식 (3)에서 W<sub>0</sub>와 W<sub>1</sub>은 각각 가수분해 반응전 작잠견사의 건조 무게 및 가수분해 반응후 작잠견사의 건조 무게를 나타낸다.

염산의 농도 변화에 따른 작잠견사 및 가잠견사의 가수분해곡선(그림 1~4)에서 보는 바와 같이 산가수분해 초기에는 가수분해율이 반응시간에 따라 직선적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 실험에 사용한 염산의 농도는 이미 알고 있으므로 식 (3)에 의하여 가수분해 속도상수를 구하였다.

**Table 1.** Hydrolysis rate of silk fiber treated with HCl

Types of silk	Concentration of HCl	Temperature (°C)	Hydrolysis rate (/M hr)
<i>A. pernyi</i>	1 M	50	0.007
		90	0.168
		120	0.989
	3 M	50	0.014
		90	0.296
		120	1.091
6 M	50	0.034	
	70	0.141	
	90	0.428	
<i>B. mori</i>	1 M	50	0.008
		70	0.043
		90	0.093

표 1은 식 (3)에 의하여 계산된 가수분해 속도상수를 나타낸 것이다. 작잠견사의 경우 같은 농도의 염산으로 처리하는 경우에는 가수분해온도가 증가함에 따라 가수분해 속도상수가 증가하였으며 또한 처리하는 염산의 농도가 증가할수록 가수분해 속도상수가 증가하는 경향을 보였다.

작잠견사의 가수분해 속도상수는 온도가 증가할수록 증가하는 경향을 나타내므로 가수분해반응 속도상수의 온도의존성은 Arrhenius 식에 의하여 나타낼 수 있다(Atkins 1986).

$$k = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \text{ 또는 } \ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (4)$$

여기서 A : pre-exponential factor

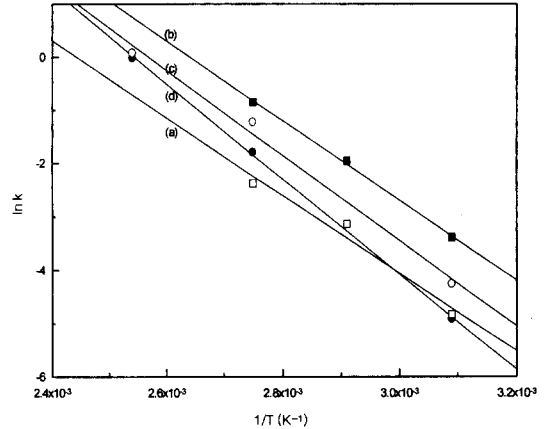
$E_a$  : 활성화에너지

R : 기체상수

T : 절대온도

염산의 농도 변화에 따른 가수분해반응의 활성화에너지값을 살펴보기 위하여 Arrhenius plot을 도시하여 그림 5에 나타내었으며 Arrhenius plot의 기울기로부터 가수분해반응의 활성화에너지 및 pre-exponential factor를 계산하여 표 2에 나타내었다.

염산의 농도가 1 M 일 때 가잠견사와 작잠견사의 활성화에너지값을 비교하여 보면 가잠견사의 활성화에너지값은 58.1 kJ/mol 로서 작잠견사의 74.0 kJ/mol 보다 매우 낮았으며 이러한 활성화에너지값의 차이는 같은 농도의 염산을 처리할 경우 가잠견사가 작잠견사보다 빠르고 쉽게 가수분해반응이 일어난다는 것을 의미한다. 가잠견사가 작잠견사에 비하여 가수



**Fig. 5.** Arrhenius plot of *Antheraea pernyi* and *Bombyx mori* silk fiber treated with hydrochloric acid. (a) *Bombyx mori* 1 N, (b) *Antheraea pernyi* 1 N, (c) *Antheraea pernyi* 3 N and (d) *Antheraea pernyi* 6 N.

**Table 2.** Arrhenius parameters of hydrolysis reaction

Parameter	<i>Antheraea pernyi</i>			<i>Bombyx mori</i> (1 M)
	1 M	3 M	6 M	
$E_a$ (kJ/M)	74.0	66.3	62.0	58.1
A (/M hr)	$7.1 \times 10^9$	$7.0 \times 10^5$	$3.7 \times 10^8$	$5.1 \times 10^7$

분해반응이 빠르게 나타나는 것은 가잠견사와 작잠견사의 아미노산 조성, 고차구조, 탄닌 등 유기 및 무기물의 함량 등의 차이에서 비롯되는 것으로 생각되며 특히 결정부위를 이루고 있는 가잠견사의 gly-ala 결합이 작잠견사의 ala-ala 결합보다 산에 대한 저항성이 약하기 때문이거나 분자간의 결합력이 약한 것으로 생각된다.

또한 산의 농도가 증가함에 따라 작잠견사의 활성화에너지값이 74.0 kJ/mol에서 62.0 kJ/mol로 감소하였으며 이는 산의 농도가 증가함에 따라 가수분해반응이 빠르게 진행되는 것을 의미한다.

### 3. 표면형태 관찰

산가수분해 반응후 작잠견사의 형태를 육안으로 관찰한 결과 가수분해율의 차이에 따라 섬유상에서 분말상으로 변하는 것을 알 수 있었으므로 가수분해율이 작잠견사의 표면형태에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 주사전자현미경 관찰을 행하여 그림 6에 나타내었다. 가수분해율이 17.7 wt%인 경우(그림 6(a))에는 작잠견사는 섬유상의 형태를 유지하였으며 섬유표면상의 손상이 거의 눈에 띄지 않았으나 가수분해율이 49.5 wt% 이상으로 증가할 경우에는 육안으로 관찰할 경우 작잠견



Fig. 6. SEM photographs of acid-resistance fraction of *Antheraea pernyi*. (a) degree of hydrolysis 17.7 wt%, (b) 49.5 wt% and (c) 62.5 wt%

사의 형태가 섬유상에서 분말상으로 바뀌었으며 이를 전자현미경으로 확대하여 본 결과 산가수분해에 의한 표면형태의 손상이 매우 심하게 나타나 섬유축 방향으로 균열이 심하게 나타나고 섬유형태가 깨어져 있음을 관찰할 수 있었다(그림 6(b)). 또한 62.5 wt% 정도 가수분해될 경우에는 섬유축방향의 길이가 10 µm 정도의 크기를 가진 미세분말상을 얻을 수 있었다(그림 6(c)).

#### 4. 시차열분석

견피브로인의 열 안정성은 화학적 조성, 결정영역과 비결정영역의 함량 및 배향성 등에 의하여 결정된다. 작잠견사를 염산으로 처리하면 산에 대한 저항성이 약한 부분이 먼저 분해되는 것으로 생각되므로 가수분해율의 변화에 따른 작잠견피브로인의 열 안정성을 살펴보기 위하여 시차열분석을 행하였으며 그 결과를 그림 7에 나타내었다.

그림에서 보는 바와 같이 가수분해율이 48.6 wt% 인 경우에는 356°C 부근에서 β-sheet 구조의 열분해에 기인한 흡열피크가 나타났으며 338°C 부근에서 shoulder peak가 나타났다. 가수분해율이 65.7 wt%, 81.8 wt%에서는 열분해 흡열피크가 다소 높은 온도로 이동하여 360°C 부근에서 나타났으며 93.8 wt%에서는 열분해 흡열피크가 346°C 부근으로 이동하였다.

작잠견사의 모델화합물로 사용되는 poly(L-alanine), 작잠견사, 배향성이 낮은 작잠견피브로인의 열분해 흡열피크는 각각 380°C 부근, 365°C 부근, 355°C 부근에서 나타난다고 보고되어 있다(Tsukada et al. 1987, Kweon 1998, Tsukada et al. 1994).

염산으로 처리하여 얻은 작잠견피브로인의 시차열분석 결과에 의하면 가수분해율이 48.6 wt%일 경우에는 338°C 부근에서 shoulder peak으로 나타나는 열안정성이 낮은 부분이 나타났으며, 65.7 wt% 이상으로 가수분해율이 증가하게 되면 열안정성이 낮은 부분은 제거되고 결합력이 강한, 즉 산에 대한 저항성이 강한 부분만 남게 되므로 열분해 특성 peak가 single peak의 형태로 나타나게 된다. 또한 360°C 부근의 열분해 흡열피크는 배향성이 낮은 β-sheet 구조에 기인

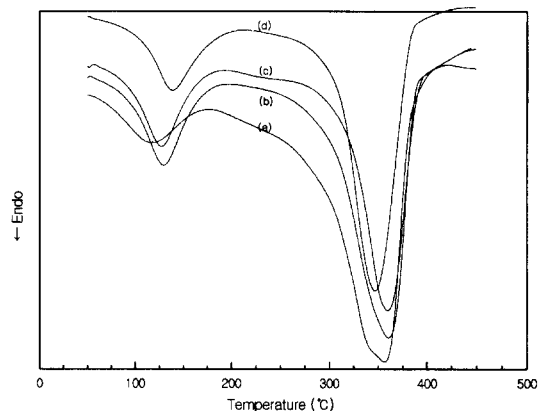


Fig. 7. DSC thermograms of acid-resistance fractions of *Antheraea pernyi* silk fibroin treated with HCl. (a) degree of hydrolysis 48.6 wt%, (b) 65.7 wt%, (c) 81.8 wt% and (d) 93.8 wt%.

하는 것으로 산처리에 의하여 작잠견피브로인의 배향성이 흐트러져서 나타난 현상으로 생각되며 이는 그림 6의 결과와 잘 부합한다. 가수분해율이 90 wt% 이상으로 증가하면  $\beta$ -sheet 구조가 파괴되면서 열분해온도가 낮아지는 것으로 생각된다.

## 적 요

작잠견사를 염산으로 처리하여 가수분해속도상수, 활성화에너지 등 가수분해거동을 살펴보았다. 또한 산처리에 의한 작잠견사의 분해과정을 살펴보기 위하여 산 가수분해 반응후 작잠견피브로인의 표면형태 관찰 및 시차열분석을 행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 처리한 염산의 농도와 온도가 증가할수록 가수분해 속도가 빠르게 나타났으며 작잠견사가 작잠견사에 비하여 가수분해속도가 빠른 것으로 나타났다.

2. 가수분해 반응의 활성화에너지를 계산하여 본 결과 작잠견사(58.1 kJ/mol)에 비하여 작잠견사(74.0 kJ/mol)에서 높은 값을 나타내었으며 작잠견사에 대한 염산의 처리농도가 증가함에 따라 활성화에너지는 74.0 kJ/mol에서 62.0 kJ/mol로 감소하였다.

3. 가수분해율이 50 wt% 이상으로 증가함에 따라 염산으로 처리된 작잠견사의 형태는 섬유상에서 미분말상으로 변화하였다.

3. 작잠견사의 가수분해율이 증가함에 따라  $\beta$ -sheet 구조에 기인한 열분해 피크의 온도가 높아져 360.8°C로 증가하였다가 가수분해율이 93.8 wt%에서는 열분해 흡열피크가 347.0°C로 감소하였다.

## 인용문헌

Atkins, P. W.(1986) "Physical Chemistry", 3rd ed.

Oxford University Press, Oxford. pp 698-701.

文 豊(1987) 마우스의 급성알코올성肝障害에對するアラニンとオルニチン投與による保護作用の機序. 慈惠醫大誌, **102**:1231-1241.

Fraser, R.D.B. and T.P. MacRae(1973) "Conformation in Fibrous Proteins", Academic Press, New York and London, p 301.

岸本 康(1973) "生命を作る物質", 講談社, 東京. pp 220-226.

Kweon, H. Y. and Y. H. Park(1994) Structural Characteristics and Physical Properties of Wild Silk Fibers; *Antheraea pernyi* and *Antheraea yamamai*. *Korean J. Seric. Sci.*, **36**: 138-146.

Kweon, H. Y.(1998) Ph. D. Thesis, Seoul National University, Suwon.

Lu, A., M. Arai, and K. Hirabayashi(1996) Production of tussah silk powder by hydrochloric acid hydrolysis. *J. Seric. Sci. Jpn.*, **65**: 392-394.

Lucas, F., J.T.B. Show, and S. G. Smith(1958) *Adv. Protein Chem.*, **13**: 107.

Shaw, J. T. B. and S. G. Smith(1961) Comparative Studies of Fibroins IV. The Composition and Structure of Chemically Resistant Fractions from some Silk Fibroins. *Biochim. Biophys. Acta*, **52**: 305-318.

Sugiyama, K., Y. Kushima, and K. Muramasu(1985) Effect of sulfur-containing amino acid and glycine on plasma cholesterol level in rats fed on a high cholesterol diet. *Agric. Biol. Chem.*, **49**: 3455-3461.

Tsukada, M., M. Nagura, and H. Ishikawa(1987) Structural Changes in Poly(L-Alanine) Induced by Heat Treatment. *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, **25**: 1325-1329.

Tsukada, M., G. Freddi, Y. Gotoh, and N. Kasai (1994) Physical and Chemical Properties of Tussah Silk Fibroin Films. *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, **32**: 1407-1412.