韓蠶學誌 42(1), 31~35(2000)
Korean J. Seric. Sci.
< 論 文 >

# 불용성 세리신의 알칼리 가수분해

김정호 · 배도규

경북대학교 천연섬유학과

# Alkali Hydrolysis of Insoluble Sericin

Jeong Ho Kim and Do Gyu Bae

*Natural Fiber Science, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea*

**ABSTRACT**

When insoluble sericin was hydrolyzed by treatment of NaOH solution, the solubility was increased with higher treatment temperature and longer treatment time. Whereas it was decreased in addition of $NaHSO_3$. As the results of electrophoresis in sericin powder obtained by the NaOH treatment, a distinguishable band was not confirmed. Average degree of polymerizations(A.D.P.) of sericin hydrolyzed by NaOH solutions were about 19.6~22.1 and average molecular weight(M.W.) were about 2,200~2,500. The longer hydrolysis time increased the whiteness of sericin powder. As the results of amino acid analysis, the contents of Thr., Tyr., and Ser. were decreased in NaOH hydrolysis as compared to HCl hydrolysis. In DSC analysis, thermal deformation and pyrolysis peak located at near 230°C and 320°C, respectively.

**Key Words** : insoluble sericin, soluble sericin, NaOH hydrolysis, degree of polymerization

## 서 론

견 성분중 정련과정에서 제거되는 세리신은 회수되어 정제·분말화가 가능하고, 이를 섬유 가공제(山本, 1995) 및 기타 가공제(Kato *et al.* 1998)로 사용하려는 연구가 수행되어 왔다. 2종의 세리신 중 불용성 세리신을 적당한 조건에서 가수분해하면 적절한 크기의 분자량으로 만들 수 있을 것이며, 이렇게 제조된 세리신은 다양한 용도로 응용이 가능할 것으로 생각되어 본 연구에서는 전보의 산 가수분해(김·배, 1999)와 효소가수분해에 이어 알칼리 가수분해에 대한 본 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

불용성 세리신은 전보(김·배, 1999)와 같은 방법으로 얻었으며, 알칼리 가수분해를 위하여 가성소다(NaOH)를 사용하였으며, 가성소다 및 기타 시약은 특급 이상의 것을 사용하였다.

가성소다 가수분해 시 여러 조건중 용해도가 가장 높은 최적 조건을 찾기 위해 다음과 같은 실험을 하였다. 용해도는 식 (1)과 같이 구하였다.

$$\text{용해도}(\%) = \frac{\text{가수분해 전 무게} - \text{가수분해 후 불용해물의 무게}}{\text{가수분해 전 무게}} \times 100 \quad (1)$$

### 1. 가성소다 농도에 따른 용해도

2 g의 불용성 세리신 분말을 욕비 1:50, 가성소다는 분말의 0.1, 0.3, 0.5, 0.7%, 처리온도는 95°C에서 각각 3, 6, 9, 12, 15시간 처리하여, 가성소다 농도와 처리시간 변화에 따른 용해도를 식 (1)과 같은 방법으로 구하였다.

### 2. $NaHSO_3$ 첨가 처리시의 용해도

2 g의 불용성 세리신 분말을 욕비 1:50, 가성소다는 분말의 0.3%, 처리온도는 95°C, 처리시간은 3, 6, 9, 12, 15시간, $NaHSO_3$ 농도를 각각 분말의 1, 3, 5, 7, 9%로 첨가하여 처리 시간의 변화와 $NaHSO_3$의 첨가 변화에 따른 용해도를 구했다.

### 3. 처리온도 변화에 따른 용해도

2 g의 불용성 세리신 분말을 욕비 1:50, 가성소다는 분말의 0.3%, 처리온도는 각각 65, 75, 85, 95°C로 조절하고,

**Table 1.** The sample I.D. of soluble sericin obtained by various treatment times

| Sample I.D. | Treatment times with NaOH solution |
|---|---|
| IN | Insoluble sericin |
| N1 | 3 hr. |
| N2 | 9 hr. |
| N3 | 15 hr. |

$NaHSO_3$를 분말의 3% 첨가하여 6시간 가수분해하여 처리온도 변화에 따른 용해도를 구했다.

각종 기기 분석용 시료는 아래와 같은 조건으로 가수분해하였다.

Sericin powder : 40 g

온도 : 95°C

욕비 = 1 : 20

처리시간 : 3, 9, 15 hr.

NaOH 농도 : 0.5% sol'n

$NaHSO_3$ 농도 : 3% *o.w.s.(on the weight of sericin)*

가수분해 후 염산 수용액을 사용하여 세리신 수용액의 pH를 7로 조절한 후, 염산 가수분해(김 · 배, 1999)와 같은 방법으로 원심분리하고 동결건조 하여 각종 분석을 행하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 가성소다 가수분해

일반적으로 단백질의 등전점이 pH 7 이하인 경우에는 산 조건에서보다 알칼리 조건에서 가수분해가 촉진된다. 세리신은 등전점이 pH 4 부근으로 알려져 있기 때문에(小松, 1980) 알칼리는 산보다 더 낮은 당량 농도에서 비슷한 정도의 가수분해 정도를 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 불용성 세리신의 가수분해시 가성소다 농도 및 처리시간에 따른 용해도는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 처리시간이 길고 처리농도가 높을수록 증가하였다. 가성소다 농도 0.3% 이상에서는 용해도 차가 크지 않은 것으로 나타났다.

한편, 산이나 알칼리 조건에서 단백질을 가수분해 할 때에는 황변 발생을 피할 수 없다. 황변 발생은 주로 단백질의 산화에 기인하는 경우가 많다. 그래서 가수분해 시 황변방지를 위해 환원제인 $NaHSO_3$를 첨가하여 처리온도 및 시간 변화에 따른 용해도를 알아보았다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 처리시간이 경과할수록 용해도가 증가하였다. 반면에 $NaHSO_3$를 첨가하면 용해도는 감소하게되는데 첨가량 1% 이상에서는 그 정도가 미미한 것으로 나타났다.

Fig. 3의 처리온도에 따른 용해도를 보면 처리온도가 상승할수록 용해도가 증가함을 볼 수 있으며, 급격한 기울기로 보아 가성소다 가수분해 시 처리온도가 용해도에 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

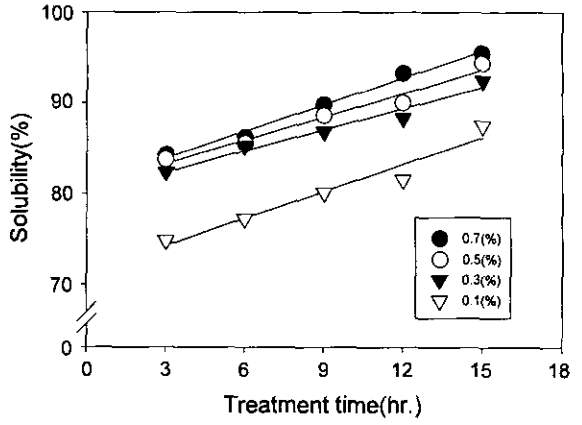


**Fig. 1.** The effects of treatment time and NaOH concentrations on the solubility of insoluble sericin.

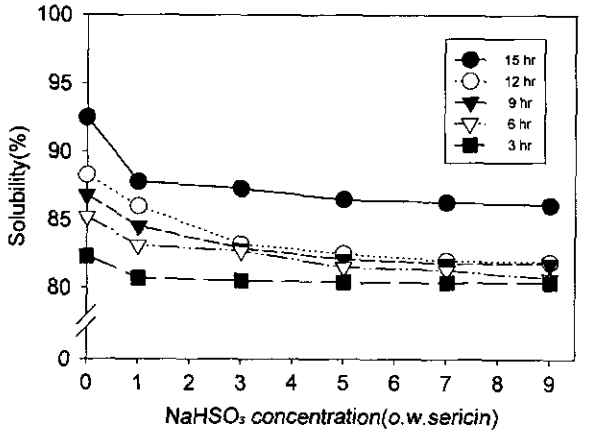


**Fig. 2.** The effects of treatment time and $NaOH_3$ concentrations in *NaOH solution on the solubitity of insoluble sericin.*

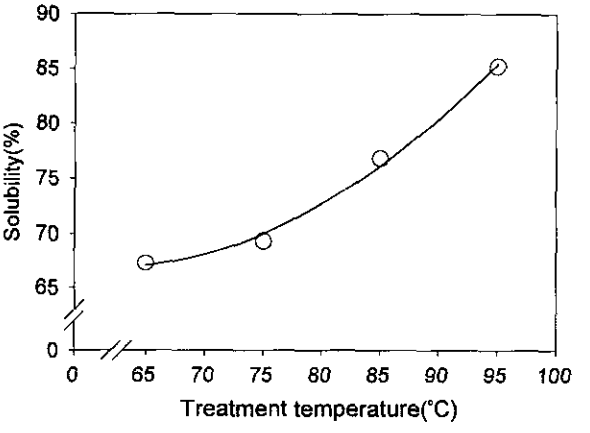


**Fig. 3.** The effects of temperature in NaOH treatment on the solubility of insoluble sericin.

### 2. SDS 전기영동

조건에 따라 제작된 수용성 가수분해물로 전기영동을 실시하고 그 결과를 Fig. 4에 나타냈다. 가성소다 가수분해된 세리신은 넓은 영역에서 균일하고 진하게 분포되어

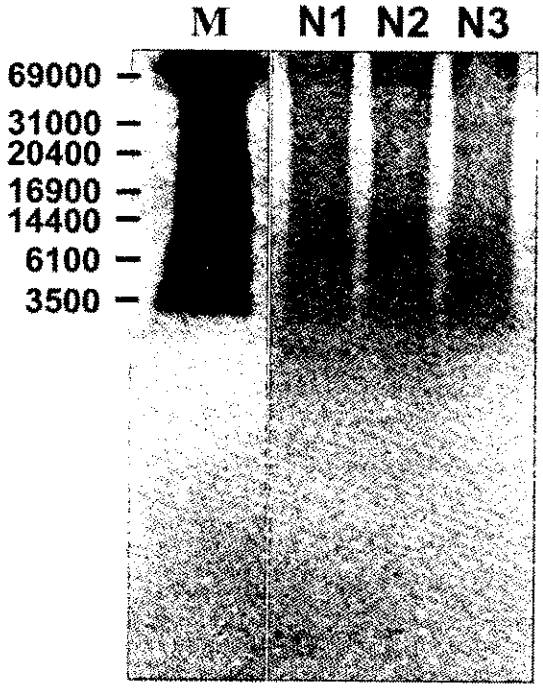


**Fig. 4.** 15% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis.
M : Standard protein markers (Promega, M.W.:3.5~31KDA) and albumin

있었으며 특정한 band를 발견할 수 없었다. 전보(김 · 배, 1999)와 같이 lower buffer를 수거하여 Ninhydrine으로 반응시킨 결과 역시 발색하였으며, 산 처리와 효소 처리한 것과 비교해 발색정도가 약한 것으로 보아 알칼리 처리 시 3,500 이하의 저분자는 다른 두 가수분해 시보다 적게 함유되어 있는 것을 확인할 수 있었으며, 상대적으로 가수분해 방법에 따라 다른 두 처리보다 가성소다 가수분해 시에 분자량이 큰 수용성 세리신이 더 많이 함유되어있을 것으로 추정된다.

### 3. 말단기 정량에 의한 평균 중합도

가성소다 가수분해 시 평균 중합도는 Fig. 5에서 보는 바와 같이 19.59, 19.80, 22.10순으로 처리시간이 경과할수록 오히려 증가하는 것으로 나타났다. 불용성 세리신의 분해는 비결정 부분을 중심으로 펩타이드 결합을 끊어 초기에는 작은 분자량과 큰 분자량의 세리신이 함께 공존하게 된다. 이것을 여과하게되면 분자량이 작은 것은 여과가 되나 분자량이 큰 것은 여과지에 걸리게 된다 따라서 처리 시간이 경과될수록 여과지를 통과하지 못했던 분자량이 큰 것도 분해가 되고 작은 것도 계속 분해가 되어 여과를 하게되면 여과지를 통과할 정도의 큰 분자량을 가진 펩타이드와 작은 분자량의 펩타이드 및 아미노산이 여과지를 투과하게되어 평균분자량은 오히려 증가하게되는 것으로 고찰할 수 있다. 평균 분자량을 전보와 같은 방법(김 · 배, 1999)으로 구한 결과 2,201, 2,229, 2,481 정도로 나타났다.

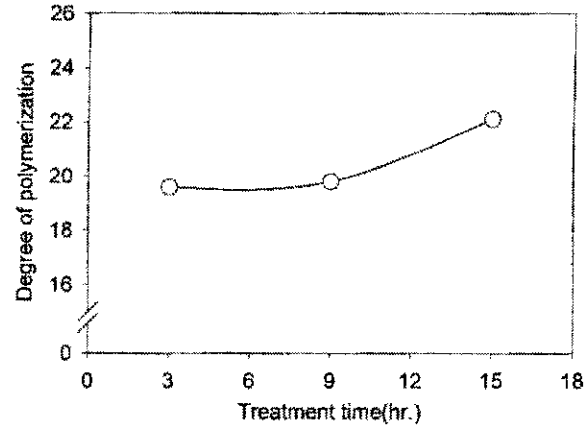


**Fig. 5.** The effects of the NaOH treatment time on the A.D.P of hydrolyzed sericin powders.

전기 영동상에서 염색정도가 넓은 영역에 분포되어 있고, 3,500 이하의 분자량이 존재하는 것과 평균 분자량이 2,000대 이상에서 나온 것으로 보아, 가성소다 가수분해는 낮은 분자량에서부터 큰 분자량을 가진 분자들이 서로 혼재되어 있는 것을 다시 한번 확인할 수 있었다.

### 4. 백 도

Fig. 6에서 보는 바와 같이 $NaHSO_3$를 첨가한 가성소다 가수분해 시 백도는 시간이 경과할수록 증가하다가 감소하는 경향이 나타나는데, 이는 $NaHSO_3$의 표백 효과(김, 1996)에 의해 시간이 지날수록 백도가 커지며, 처리 시간이 9시간 이후에는 첨가된 $NaHSO_3$가 완전히 분해되어 더 이상의 표백효과가 없어지고 가수분해된 세리신이 다시 산화되기 때문에 백도가 약간 감소하는 것으로 추론된다.

### 5. 아미노산 분석

단백질 가수분해시 가성소다 처리는 단백질의 일부 말단기를 파괴하는 것으로 알려져있다. 특히, Hydroxyl group을 파괴하는 것으로 알려져 있는데(Asquith, 1977), 본 실험에서도 가성소다 가수분해한 것은 Thr.과 Ser. 및 Tyr.의 함량이 적었고, 그로 인해 Gly.과 Asp. 및 Ala. 등의 기타 다른 아미노산의 양이 상대적으로 많았다. NaOH는 펩타이드 분자쇄의 serine과 tyrosine 잔기에 배위하여 분자 사이의 수소 결합을 절단함으로써 팽윤, 분산되는 과정을 거쳐 마지막으로 이들 잔기 일부를 분해시키는 것으로 볼 수 있다.

### 6. DSC 분석

여러 가지 가수분해 방법에 의해 얻어진 수용성 세리신 분말의 열적 거동을 알아보기 위하여 DSC 분석을 행하

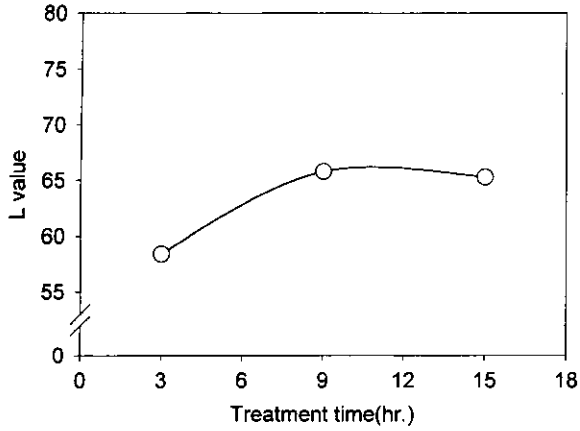


**Fig. 6.** The effects of NaOH treatment time on the whiteness of hydrolyzed sericin powders.

**Table 2.** The composition of amino acids of sericins (unit:mol%)

| Amino Acid | N1 | N2 | N3 | IN |
|---|---|---|---|---|
| Asp. | 18.35 | 18.17 | 18.80 | 15.14 |
| Thr. | 7.13 | 7.21 | 7.20 | 9.91 |
| Ser. | 25.44 | 25.62 | 25.86 | 33.78 |
| Glu. | 5.21 | 4.89 | 5.16 | 3.37 |
| Pro. | 0.90 | 0.85 | 0.81 | 0.57 |
| Gly. | 20.03 | 20.66 | 21.41 | 16.34 |
| Ala. | 6.06 | 5.85 | 6.17 | 5.06 |
| Cys. | 0.45 | 0.00 | 0.00 | 0.24 |
| Val. | 4.78 | 5.03 | 4.75 | 3.76 |
| Met. | 0.89 | 0.76 | 0.15 | 0.40 |
| Ile. | 1.50 | 1.38 | 0.94 | 0.98 |
| Leu. | 2.64 | 2.26 | 1.89 | 1.73 |
| Tyr. | 0.00 | 0.00 | 0.68 | 3.97 |
| Phe. | 2.20 | 2.22 | 1.91 | 1.01 |
| His. | 1.82 | 2.05 | 1.76 | 1.59 |
| Lys. | 2.58 | 3.04 | 2.52 | 2.14 |
| Arg. | 0.00 | 0.59 | 0.69 | 0.64 |
| Total | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |

였다.

Fig. 7의 가성소다 가수분해된 세리신 분말의 DSC곡선을 보면, 세리신의 열변성 peak로 알려져 있는 230°C 부근의 흡열 peak가 저온 쪽으로 이동되어 있음을 알 수 있다. 이 열변성 peak는 수소결합과 깊은 관계가 있는 것으로, 아미노산 분석 결과에서 나타났듯이 수소결합을 할 수 있는 아미노산의 함량이 대조구보다 적은 것에 기인한 것과 가수분해 결과로 분자량이 적어짐으로써 나타나는 수소결합을 위한 영역의 감소가 보다 저온 쪽에서 열변성 peak를 나타낸다고 생각된다. 330°C 이상에서 열분해 peak가 나타나 대조구에 비해 높은 열분해 온도를 갖는 것으로 확인됐다. 이러한 이유는 아미노산 조성의 차이에 기인하는 것으로 보여진다. 즉, 알칼리 가수분해물의 아

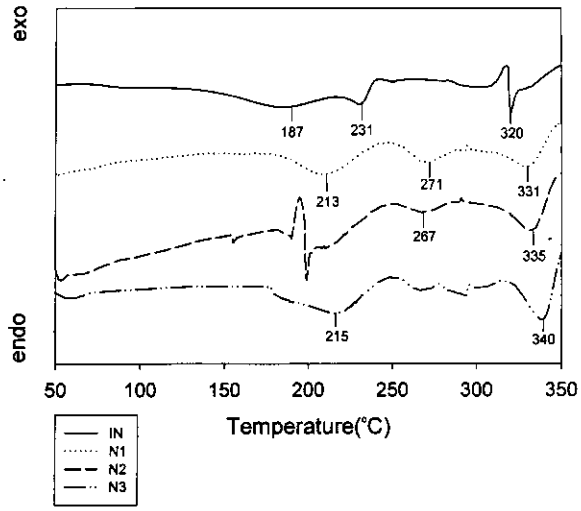


**Fig. 7.** DSC thermogram of sericin powders hydrolyzed by NaOH treatment depending on various times.

미노산 조성 중에서는 열분해 온도가 낮은 ser.(열분해 온도 : 228°C)(김등, 1997)의 함량이 약 25.5%로 대조구인 불용성 세리신의 33.8% 보다 월등히 적으며, 비교적 열분해 온도가 높은 val.(열분해 온도 : 315°C), leu.(열분해 온도 : 294°C), ala.(열분해 온도 : 297°C)의 함량은 대조구보다 많기 때문에 보다 높은 온도에서 열분해가 일어난다고 생각된다. 또한 알칼리 처리시간이 길어질수록 더욱 더 고온 쪽으로 이동하였는데 이러한 이유도 마찬가지로 가수분해된 펩타이드의 조성과 관계가 깊다고 추론된다. 한편, 가수분해 처리시간 3 hr., 9 hr.에서는 271°C와 267 °C에서 대조구에는 없던 새로운 약한 흡열 peak가 출현하였는데 대조구와 알칼리 가수분해 처리구와의 아미노산 조성 차이로 인하여 열분해 peak가 고온 쪽으로 이동한 것과 열변성 peak가 저온 쪽으로 이동한 것, 이 두 peak 사이에 약한 peak가 하나 더 출현 한 것을 종합해 볼 때, 알칼리 가수분해는 일반적으로 펩타이드의 말단결합부터 가수분해하는 것으로 추정할 수 있으며(Asquith, 1977), 가수분해 결과 분자량이 아주 작은 것들과 큰 것들이 혼재해 있을 것으로 사료되며, 이러한 견해로 볼 때 분해물에도 다양한 크기의 sequence를 갖는 펩타이드가 혼재되어 있는 것으로 추론된다.

## 적 요

불용성 세리신을 가수분해하기 위해 가성소다로 가수분해하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 가성소다 가수분해 시 가성소다의 농도가 0.3% 이상에서는 용해도가 소폭으로 증가하였고, 처리 온도가 높을수록 용해도도 점진적으로 증가하였다. $NaHSO_3$ 첨가 처리 시 처리시간이 경과할수

록 용해도도 증가하였지만, 첨가농도가 증가하면 용해도는 오히려 감소하였으며 3% 이상 첨가 시에는 용해도 차가 거의 없었다. 전기 영동 실험 결과 분자량 분포는 넓은 범위에서 전체적으로 골고루 분포되어 있음을 알 수 있었다. 평균 중합도 측정 결과, 가성소다 가수분해 시는 처리 시간이 경과할수록 증가하여 19.6~22.1정도였는데 이를 분자량으로 환산하면 2,200~2,500정도가 된다. 백도는 $NaHSO_3$의 첨가로 향상시킬 수 있었다. 아미노산 분석 결과 가성소다 가수분해한 것은 Thr., Tyr., 및 Ser.의 함량이 적었고 나머지는 상대적으로 많게 나타났다. DSC의 분석에서는 불용성 세리신은 230°C 부근의 열변성 peak와 320 °C 부근에서 열분해 peak가 나타났는데, 가성소다 가수분해물은 열변성 peak는 저온 쪽으로, 열분해 peak는 고온쪽으로 이동되었으며 두 peak 사이에 새로운 peak가 하나 더 관찰되었다.

## 참고문헌


Asquith R. A. (1977) Chemistry of Natural Protein Fibers, plenum press, 66-69.

小松計一 (1980) 續絹絲の構造, 北條舒正編, 395-411.

Kato Norihisa, Sato Seiji, Yamanaka Atsusshi, Yamada Hideyuki, Fuwa Naozumi, and Nomura Masakazu (1998) Silk Protein, Sericin, Inhibits Lipid Peroxidation and Tyrosinase Activity, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**(1), 145-147.

김병희 외 15인 (1997) 이화학사전, 한국사전연구사, 1604.

김인규 (1996) 신정련표백, 문운당, 151.

김정호, 배도규 (1999) 불용성 세리신의 산 가수분해, 韓蠶學誌, 41(1), 48-53.

山本 和秀 (1995) 人にやさしい纖維と加工., 纖維社, 273-276.