

물리적 분쇄에 의한 세리신 분말의 특성

이광길 · 권해용 · 이용우 · 여주홍 · 우순옥 · 조종수¹ · 김기호²
농업과학기술원 잠사곤충부, ¹서울대학교 농업생명과학대학, ²(주)바이오랜드 중앙연구소

Characteristics of Silk Sericin Powder Prepared by Mechanical Treatment

Kwang Gill Lee, HaeYong Kweon, Yong Woo Lee, Joo Hong Yeo, Soon Ok Woo,
Chong Su Cho¹, and Ki Ho Kim²

Department of Sericulture and Entomology, NIAST, RDA, Suwon 441-100, Korea
¹College of Agriculture and Life Science, Seoul National University, Suwon 441-711, Korea
²Bioland Ltd., Chonan 330-860, Korea

ABSTRACT

Silk sericin powder was prepared by mechanical treatment from cutted-cocoon extract of *Bombyx mori* silkworm. The physical and structural characteristics of sericin powder were investigated by instrumental analysis. The solubility of sericin powder was decreased nearly half of sericin lyophilized. Amino acid analysis showed that arginine content was decreased from 3.72% to 0.03~0.07%. XRD showed that molecules of sericin were somewhat regularly arranged by mechanical treatment. On the other hand, FT-IR showed the molecular vibration of silk sericin was not induced by mechanical treatment. Thermal properties also did not changed.

Key words : sericin, powder, mechanical treatment, solubility, structure

서 론

천연단백질 중의 하나인 세리신은 누에고치실의 20~30%를 차지하며 고치실의 표면을 피복하고 있으므로 외부의 자극으로부터 피브로인을 보호하는 것으로 알려져 있다. 세리신을 구성하고 있는 주요 아미노산 조성은 세린, 아스파르트산, 알라닌 순이며 수산기, 카르복실기, 아미노기 등 반응성 아미노산이 비교적 많이 포함되어 있다. 세리신은 아미노산 조성상 세린의 함량이 높아 뛰어난 보습효과(Voëgeli *et al.* 1993), 주름살 방지(Engel *et al.* 1987), tyrosinase 활성 억제 작용(Kato *et al.* 1998), 혈당 강하 및 알콜대사 촉진 효과(Lee *et al.* 2001), 그리고 아연, 철, 마그네슘, 칼슘 등과 킬레이트를 형성하여 이들 금속류의 체내 흡수를 촉진하는(Sasaki *et al.* 2000) 것으로 알려져 있으므로 세리신 단백질을 포함하는 비누, 입욕제, 화장품 등 피부친화형 소재로의 응용 가능성이 매우 높을 것으로 기대된다.

정련과정에서 제거된 세리신을 회수한 후 UF 막을 이용하거나 세리신 응집제를 이용하는 방법, 전해수를 이용한 세리신 회수법 등이 현재 연구되고 있으나 정련폐수로부터 세리신을 회수하는 방법은 아직 미흡한 실정이다(Fabiani *et al.* 1996, Kim *et al.* 2001, 배 2001). 따라서 세리신 회

수를 목적으로 하는 정련은 정련제를 전혀 사용하지 않는 고압정련법이 가장 많이 이용되고 있는 것으로 알려져 있다.

천단백질 분말은 식음료 소재, 화장품 등 미용소재, 그리고 의약품 소재로 활용할 수 있을 것으로 기대되므로 최근 가잠 및 작잠 피브로인 분말에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있으나(Chen *et al.* 1991; Choi & Nahm 1995; Kweon *et al.* 1999) 천단백질의 중요 성분 중의 하나인 세리신 분말에 대한 연구는 앞으로 좀 더 연구되어야 할 실정이다.

또한 세리신은 매우 불안정하여 여러가지 환경 변화에 따라 쉽게 변성되는 것으로 알려져 있으나 물리적 분쇄방법의 차이에 따른 화학적 구조 또는 conformation의 변화에 대하여 아직 연구 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 고온고압법에 의하여 분리된 세리신을 물리적으로 분쇄 처리하여 얻은 세리신 분말의 구조 특성 및 열 특성에 대하여 실험한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 세리신의 제조

실험에 사용한 세리신 용액은 절각견을 110°C에서 액비 1:30의 조건으로 8시간 동안 처리한 후 동결건조하여 제조하였다.

2. 세리신 분말의 제조 및 형태 관찰

동결건조한 세리신을 가정용 믹서기, 볼밀, 울트라밀(Ultra Centrifugal Mill ZM 100, Glen Mill Inc., NJ, USA) 등을 사용하여 물리적으로 파쇄하여 세리신 분말을 제조하였다. 세리신 분말은 Polaron SC7620 sputter coater로 백금 코팅한 후에 주사전자현미경(LEO 1420VP)을 사용하여 그 형태를 관찰하였다.

3. 구조 특성 분석

3.1. 아미노산 조성 분석

물리적으로 파쇄하여 제조한 세리신 분말의 아미노산 조성 변화를 살펴보기 위하여 시료 5 mg을 1 ml의 6 N 염산에 녹인 후 membrane filter(0.25 μm)로 여과하여 아미노산 분석용 시료로 사용하였다. 아미노산 조성분석은 Amersham Pharmacia Biotech Co.의 Biochrom 20 plus Amino Acid Analyzer (Sweden)를 사용하여 분석하였다.

3.2. X-선 회절 분석

X-선 회절분석은 Bruker Co.(Germany)의 소각과 광각 X-선 산란분석기(model: GADDS)를 사용하여 40 kV, 30 mA의 조건하에서 Cu Kα 단색광으로 측정하였다.

3.3. 적외선 분광분석

Midac Co.(USA)의 적외선 분광분석기(Model M series)를 사용하여 KBr pellet법으로 적외선 분광분석을 행하였다.

3.4. 시차열분석

세리신 분말의 열적 성질을 관찰하기 위하여 시차열분석기(DSC TA 2910, TA instruments, USA)를 사용하여 50 ml/min의 질소 기류 하에서 50~400°C의 온도범위에서 10°C/min의 승온 속도로 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 세리신 분말 제조 및 형태 관찰

1.1. 세리신 분말 제조

세리신 분말의 제조방법에 따른 수율과 용해도를 표 1에 나타내었다. 동결건조한 세리신을 가정용 믹서기, 볼밀, 울트라밀을 사용하여 분쇄한 세리신 분말의 수율은 60% 정도되었으며 물에 대한 용해도는 50% 정도 되었다. 일반적으로 동결건조한 세리신은 90% 이상 물에 용해되는 것으로 알려져 있으나(Lee *et al.* 2001) 물리적으로 분쇄 처리한 세리신의 용해도는 크게 떨어졌다. 이러한 용해도의 변

Table 1. Yield and Solubility of Sericin Powder according to the Mechanical Treatment Conditions

Sample I.D.	Treatment Condition	Yield (%)	Solubility (%)
Mixer	10 min	60	53.4
Ball	14000 ipm, 5 min	63	54
Ultra	200 rpm, 90 min	56	52.2

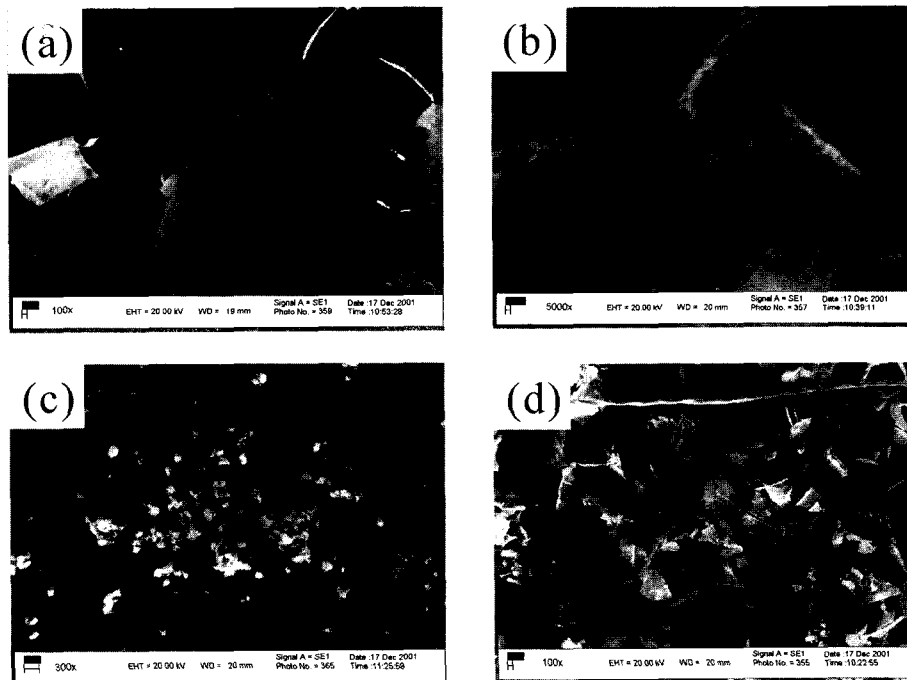


Fig. 1. SEM photographs of (a) sericin sponge and sericin powder prepared by (b) ultramil, (c) ball mill, and mixer (d).

화는 물리적 처리에 따른 세리신의 구조 특성 변화에 기인할 것으로 사료되므로 세리신 분말의 형태를 관찰한 후 아미노산 조성분석, 적외선 분광분석, X-선 회절분석, 열분석 등 기기분석을 행하였다.

1.2. Morphology

실크 세리신 분말의 형태를 관찰하여 그림 1에 나타내었다. 고온고압을 이용하여 추출하여 동결건조한 세리신은 스폰지상으로 관찰되며 미세구조를 현미경으로 관찰하면 그림 1(a)와 같이 판상구조가 여러장 겹쳐 있는 형태를 띄고 있다. 동결건조한 세리신을 가정용 믹서기, 볼밀, 울트라밀 등을 사용하여 분쇄하여 얻은 분말은 그림 1(b),(c),(d)에서 보는 바와 같이 10 μm 정도의 미세한 분말상으로 얻어졌다. 분말의 크기는 처리시간을 조절함으로써 조절이 가능하다.

2. 세리신 분말의 구조 특성 분석

2.1. 아미노산 조성분석

물리적 분쇄 처리에 의하여 얻어진 세리신 분말은 물에 대한 용해도가 낮은 것으로 나타났으므로 물리적 분쇄과정이 세리신 단백질의 1차구조에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 아미노산 조성분석을 행하여 표 2에 나타내었다. 표 2에서 보는 바와 같이 세리신 분말의 아미노산조성은 제조방법이 달라도 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 특이한 것은 염기성 아미노산인 아르기닌의 함량이 물리적 처리에 의하여 많이 감소한 것으로 나타나 세리신 분말의 용해도 저하와 깊은 관련이 있는 것으로 생각된다. 따라서 물리적 처리에 따른 세리신 분말의 아르기닌 함량 감소와 세리신 단백질의 구조 특성과의 관계를 살펴보기 위하여 X-선 회절 분석 및 적외선 분광분석을 행하였다.

2.2. X-선 회절 분석 및 적외선 분광 분석

X-선 회절분석법은 기계적 분쇄 과정에서 나타나는 세리

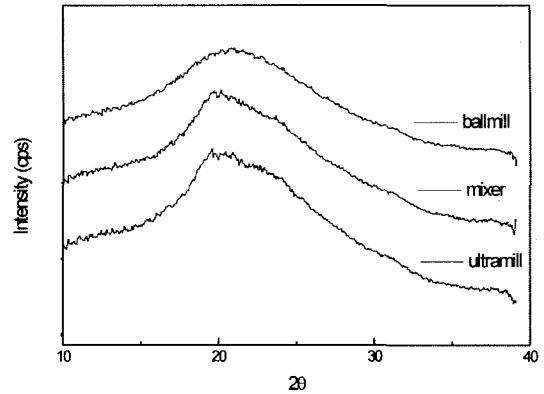


Fig. 2. X-ray diffractograms of sericin powder.

Table 3. Typical Diffraction Peaks of Silk Sericin

Sample	Ball	Mixer	Ultra	Nahm (1974)	Tsukada (1979)
Spacings (Å)	4.25	4.50 3.77	4.50 3.77	4.84 3.63	4.67

신 분자의 규칙성의 변화를 관찰하기에 매우 유용한 방법이다. 그림 2은 세리신 분말의 X-선 회절 곡선을 나타낸 것이며 표 3은 X-선 회절 곡선상의 피크를 정리한 것이다. 대개 열수 처리한 후 동결건조한 세리신 스폰지의 회절은 매우 약하여 잘 관찰되지 않으나 2θ = 18.77° 부근에서 4.72Å에 해당하는 피크를 볼 수 있다. 볼밀을 사용하여 분쇄한 세리신 분말은 2θ = 20.87°에서 면간격 4.25Å의 넓은 회절 피크를 보여주고 있으나 가정용 믹서기를 사용하여 제조한 세리신 분말은 2θ = 19.7와 23.6° 부근에서 면간격 4.50과 3.77Å에 해당하는 회절 피크를 나타내었다. 면간격 4.5Å 부근에서 관찰되는 회절 피크는 세리신의 특성 피크로서 분자간 수소결합방향에 대응하는 회절 피크이다.

Nahm(1974)은 Mosher법으로 추출한 세리신은 4.84, 3.63Å의 회절 피크를 보이는 것으로 보고하였으며, Tsukada(1979)는 세리신 A와 세리신 B는 2θ = 19° 부근에서 4.67Å에 해당하는 회절 피크가 관찰된다고 보고하였다. 또한 물이나 알콜 등 용제에 의하여 결정이 형성된 세리신은 3.7Å 부근에서 회절 피크를 나타내는 것으로 보고되고 있다(Tsukada 1983; Lee et al. 2002). 따라서 가정용 믹서기나 볼밀, 울트라밀을 사용하여 제조한 세리신 분말을 구성하는 분자들은 물리적, 기계적 압력에 의하여 발생하는 열과 압력에 의하여 부분적으로 결정화가 진행되거나 분자구조의 규칙적인 배열이 좀 더 조밀하게 이루어진 결과로 생각된다.

그림 3은 물리적 처리법에 의하여 제조된 세리신 분말의 적외선 분광곡선이다. 세리신 분말은 1652, 1530, 1240

Table 2. Amino Acid Compositions of Silk Sericin Protein

Amino acid	Sericin	Ultra	Mixer	Ball
Asp	13.88	13.81	15.09	14.07
Thr	8.08	8.40	7.63	8.23
Ser	16.86	16.24	20.87	17.64
Glu	5.45	5.81	5.41	5.41
Gly	14.82	14.41	16.27	15.50
Ala	5.31	5.41	4.31	5.63
Val	3.41	3.52	3.28	3.36
Met	0.22	0.21	0.18	0.18
Leu	2.11	2.14	1.79	2.01
Tyr	2.77	2.87	2.38	2.77
Phe	0.50	0.50	0.40	0.47
His	1.72	1.80	1.63	1.68
Lys	3.92	4.16	3.85	3.85
Amm	10.67	9.99	10.74	10.27
Arg	3.72	0.03	0.07	0.03
Totals	93.44	89.30	93.90	91.10

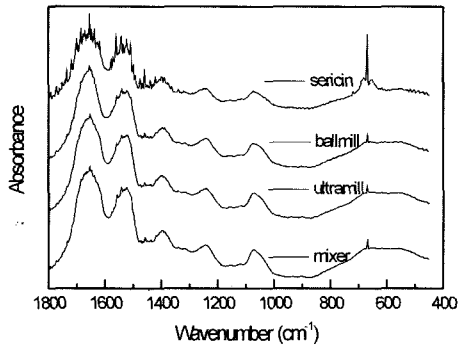


Fig. 3. FT-IR spectra of silk sericin powder.

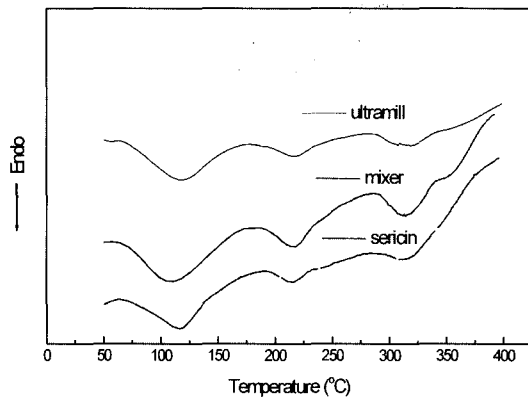


Fig. 4. DSC thermograms of sericin powder.

cm⁻¹ 부근에서 각각 amide I, II, IV의 흡수대를 나타내어 random coil 구조로 이루어져 있었으며, 물리적 분쇄에 따른 세리신 분말의 conformation의 변화는 관찰되지 않았다.

2.3. 세리신 분말의 열 특성

물리적 분쇄에 의하여 제조된 세리신 분말의 열 특성을 살펴보기 위하여 시차열분석을 행하여 그림 4에 나타내었다. 열수추출 세리신 스폰지는 217°C와 313°C에서 열분해 흡열피크를 보였으며 가정용 믹서기나 울트라밀을 사용하여 제조한 세리신 분말 역시 열수추출 세리신과 같은 온도에서 열분해 흡열피크를 나타내었다.

세리신의 시차열 특성은 Hirabayashi *et al.*(1976)과 Tsukada(1978)에 의하여 많은 연구가 행하여졌다. 그들의 결과에 의하면 물에 잘 녹는 이용성 세리신은 220~230°C 부근에서, 난용성 세리신은 250~260°C에서 흡열피크를 보 이면서 분해된다고 하였다. 또한 정련폐수에서 응집제를 사용하여 회수한 세리신 덩어리는 220°C, 270°C, 325°C에서 열분해 흡열피크를 나타내어 이용성 세리신과 난용성 세리 신이 혼재하는 것으로 나타난다고 보고되어 있다(Kim *et al.* 2001).

이러한 열 특성은 위에서 살펴본 X선 회절곡선의 결과

와 상이한 특성을 나타내고 있다. X선 회절곡선과 열분석 과의 기기분석상의 차이는 세리신 분말의 구조 특성을 해석 하는 데 새로운 가능성을 보여주고 있다. 즉, 세리신 스폰 지로부터 물리적 분쇄에 의하여 얻어지는 세리신 분말은 물 리적 분쇄가 이루어지는 동안 열과 압력에 의하여 부분적으 로 결정화되거나 분자구조가 조밀하게 됨에도 불구하고 열 적 특성에 영향을 미칠 정도로 세리신의 미세구조에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

적 요

고온고압법으로 추출한 세리신을 동결건조한 후 가정용 믹서기, 볼밀, 울트라밀 등 을 사용하여 물리적으로 분쇄하여 제조한 세리신 분말의 구조 특성을 살펴보기 위하여 아 미노산 조성 분석, 적외선 분광분석, X선 회절분석, 열분 석 등을 행한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 물리적 방법으로 분쇄하여 제조한 세리신 분말의 수율은 60% 정도였으며 물에 대한 용해도는 50% 정도로 대 조로 사용한 세리신 스폰지(98%)에 비하여 낮은 값을 나타 내었다.
2. 물리적 분쇄조건에 따라 세리신 분말의 크기를 조절할 수 있었다.
3. 세리신 분말의 아미노산 조성을 분석한 결과 물리적 방법으로 분쇄하여 제조한 세리신 분말의 염기성 아미노산 인 아르기닌의 함량이 대조(3.73)에 비하여 0.03~0.07로 현 저하게 낮은 값을 나타내었다.
4. X선 회절 분석 결과 물리적 분쇄에 의하여 세리신 분자의 규칙성에 영향이 있는 것으로 나타났으나, 적외선 분광 특성이나 시차열특성에는 큰 영향을 미치지 못하였다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업비 지원에 의해 수행 되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- 배기서 (2001) 전해수를 이용한 견섬유의 정련과 그 정련폐액으로 부터의 세리신 회수방법. 대한민국 공개특허 2001-079066.
- Chen K., R. Takano, K. Hirabayashi (1991) Production of soluble silk fibroin powder by hydrolysis with hydrochloric acid and physical properties, *J. Seric. Sci. Jpn.*, **60**: 358-362.
- Choi, H. K. and J. H. Nahm (1995) Preparation and structural characteristics of silk fibroin powder and film, *Korean J. Seric. Sci.*, **37**: 142-153.
- Engel, W., *et al.* (1987) Eigenschaften eines sericinhaltenen puffernden shapoo. *Arztl Kosmetol*, **17**(2): 91-110.

- Fabiani C., M. Pizzichini, M. Spadoni, and G. Zedda (1996) Treatment of waste water from silk degumming processes for protein recovery and water reuse, *Desalination* **105**: 1-9.
- Hirabayashi K, S. Yasumura, Y. Sato, and M. Arai (1976) Thermal analysis of sericin, *J. Seric. Sci. Jpn.* 339-402.
- Kato, K., S. Sato, A. Yamanaka, H. Yamada, N. Fuwa, and M. Nomura (1998) Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity, *Biosci. Biotechol. Biochem.*, **62**: 145-147.
- Kim, Y. D., H. Y. Kweon, and S. O. Woo (2001) Collecting method of silk sericin from degumming water and its characteristics, *Korean J. Seric. Sci.*, **43**(1): 37-40.
- Kweon, H. Y., K. G. Lee, and Y. W. Lee (1999) Characteristics of Tussah (*Antheraea pernyi*) silk fibroin powder prepared by HCl and NaOH, *Korean J. Seric. Sci.*, **41**(1): 54-60.
- Lee, K. G., J. H. Yeo, Y. W. Lee, H. Y. Kweon, and J. H. Kim (2001) Bioactive and Skin-compatible Properties of Silk Sericin. *Korean J. Seric. Sci.*, **43**(2): 109-115.
- Lee, K. G., H. Y. Kweon, J. H. Yeo, S. O. Woo, C. S. Cho, K. H. Kim (2002) submitted in Journal of Applied Polymer Sciences.
- Nahm, J. H. (1974) Studies on the Physical and chemical denatures of cocoon bave sericin throughout silk filature processes, *Seri. J. Korea* **16**(1): 21-48.
- Sasaki, M., H. Yamada, and N. Kato (2000) Consumption of silk sericin elevates intestinal absorption of zinc, iron, magnesium, and calcium in rats, *Nutrition Research* **20**: 1505-1511.
- Tsukada, M. (1978) Thermal decomposition behavior of sericin cocoon, *J. Appl. Polym. Sci.*, **22**: 543-554.
- Tsukada, M. (1979) Structural properties of silk sericin extracted by Mosher's method, *J. Seric. Sci. Jpn.*, **48**: 301-306.
- Tsukada, M. (1983) Conformational analysis of silk sericin preliminary thermal treated in the presence of organic solvents or water, *J. Seric. Sci. Jpn.*, **52**: 157-159.
- Voegeli, R., et al. (1993) *Cosmetics & Toiletries*, **108**: 101.