

Calcium Hydroxide에 의한 Silk의 정련

정양숙* · 김정호 · 배도규
경북대학교 천연섬유학과

Degumming of Silk by Calcium hydroxide

Yang Sook Jung, Jeong Ho Kim and Do Gyu Bae
Natural Fiber science, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

ABSTRACT

Silk was treated with calcium hydroxide for degumming at different treatment times, temperatures and $\text{Ca}(\text{OH})_2$ concentration to optimize degumming conditions in this thesis. After degumming, soluble and insoluble sericin were separated and then the soluble sericin was characterized by measuring the average degree of polymerization (D.P.), lysinoalanine (LAL) content, DSC, and by amino acid analysis. And degummed silk fibroin was characterized by measuring tenacity and SEM. Degumming loss was increased by increasing the treatment time and temperature until about 30 minutes. After then, a slight difference was found along with treatment times at the $\text{Ca}(\text{OH})_2$ concentrations of 0.07% and 0.1% solutions. After degumming, insoluble sericin ratio on degumming solution was increased by increasing treatment temperature at $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.04% solution. At the concentration $\text{Ca}(\text{OH})_2$ of 0.07%, a soluble ratio was almost 100% regardless of treatment time and temperature. At the beginning of treatment, insoluble ratio was high at $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.1% solution but it was decreased by increasing treatment time. At the $\text{Ca}(\text{OH})_2$ concentration of 0.04%, D.P. of soluble sericin was maintained as a constant value of 10 at 100°C although treatment time was increased. However, at 80°C and 90°C, it was hard to prepare a soluble sericin having a constant D.P. by increasing treatment time. At the $\text{Ca}(\text{OH})_2$ concentration of 0.07%, D.P. was almost 10 irrespective of treatment temperature and time. Soluble sericins with high D.P. of 20~30 were obtained at 0.1% and 100°C. LAL was not detected in soluble sericin. As the results of amino acid analysis, it showed that $\text{Ca}(\text{OH})_2$ degumming reduced the contents of hydroxy amino acids like Ser., Thr. and Tyr.. In DSC analysis of soluble sericin, endothermic peak by thermal deformation and pyrolysis showed at 189°C and at 299°C, respectively. The tenacities of degummed silk were 15~30% lower than that of raw silk. And it was decreased with increasing treatment time. From the morphological study, the thickness of degummed silk fibroin became thinner by increasing degumming loss. The roughness of a silk fibroin surface was appeared as treatment concentration was increased.

Key words : Silk, Sericin, Degumming, Calcium hydroxide, Average degree of polymerization

서 론

견사는 피브로인과 세리신으로 구성된 단백질 섬유로서 견사 특유의 부드러운 촉감과 독특한 광택을 가지고 있고 타 섬유에 비하여 심미성이 뛰어나 고급 의류용 소재로 사용되고 있다.

최근에는 화학 기술의 발달로 인해 견이 섬유소재뿐만 아니라 응용 목적에 따라 여러 형태로 가공하여 다양한 용도로 사용하려는 연구가 활발히 진행되고 있다(배, 1994). 그 중 식용 실크분말, 실크 화장품, 실크 비누 등은 상품으로 이미 실용화되어 있다. 이와 같이 견은 종래의 의류용 소재로서 뿐만 아니라 첨단 신소재용으로도 수요가 날

로 증가하고 있는 실정이다.

특히 피브로인에 대한 비의류용 분야로의 응용기술이 많이 개발되어 오고 있다. 平林 등(1993)은 피브로인 분말 상태로는 흡습·방습성이 우수하여 분자량 6만 정도의 견은 피부의 수분을 일정하게 하는 보습효과와 자외선을 흡수하는 성질이 있어 파운데이션이나 크림 등의 화장품으로 사용할 수 있고, 열과 압력을 가해 성형하면 고형화물이 얻어지는데 접착제인 MMA(methyl methacrylate)나 GMA(glycidyl methacrylate)를 혼합 성형하면 인공뼈로 이용 가능하며(玉田, 1998), 용액 상으로는 실크 드링크, 젤 상태로는 젤리, 필름상으로는 인공혈관으로 사용 가능하며, β화된 견은 생체 적합성이 좋아 인공피부에도

*Corresponding author. E-mail: jys7808@hotmail.com

응용이 가능한데 키토산과의 복합 막이 최고 우수하다고 하며(박, 1998; 平林, 1993), 올리고 펩타이드(분자량 : 200~500)는 콜라게나제 생성작용이 있어 피부의 노화방지 효과가 있을 것으로 추정하고 있다(Minoura *et al.*, 1990).

이와같이 견은 약 75%의 피브로인과 25%의 세리신이 라는 물리화학적 특성이 다른 상이한 단백질로 이루어져 있는데 이를 이용하기 위해서는 각각의 특성을 잘 고려하여 그에 적합한 용도로 사용되어질 필요가 있다. 이 중에서도 세리신을 이용하고자 할 때에는 견사를 물리·화학적 방법으로 피브로인과 세리신을 분리하여 이를 정제하여 사용하는 방법이 있다.

일반적으로 견은 제직 전이나 제직 후에 정련을 하여 세리신을 제거하는데, 일반적인 정련 방법은 용매인 물에 비누를 넣은 약 알칼리 상태에서 정련을 함으로써 정련 후 세리신만을 분리하는 기술을 확립하기 어려워서 현재 까지 이를 수거하여 사용하지 못하고 폐수로 버려져 왔었다. 이러한 정련방법에 의하면 정련액중의 세리신은 일부 가수분해되어 세리신 분자가 저분자화되어 세리신의 회수가 곤란하게 된다. 그러나 고온 고압의 상태에서 정련을 하게되면 약제를 사용하지 않고 정련을 하여 순수한 세리신 수용액을 얻을 수 있다(加藤, 1988). 정련된 세리신 용액을 수용성과 난용성으로 분리하여 분말화하면 이 자체로도 필요한 용도의 소재로 사용할 수 있다. 세리신은 4종류의 층상으로 존재하는데 외층부터 세리신I, 세리신II, 세리신III, 세리신IV라고 부르며, 세리신I과 세리신II의 일부는 수용성이고, 세리신II의 일부와 세리신III과 세리신IV는 난용성이다. 전체 세리신중 난용성은 약 30%인데(監澤, 1991) 필요시에 이를 가수분해하여 분자량별로 분리 하게되면 다양한 용도의 소재로 사용할 수 있을 것이다. 실크 가수분해 방법에는 산 가수분해(Chen *et al.*, 1991; Lu *et al.*, 1996; 김·배, 1999), 효소 가수분해(Chen *et al.*, 1995; Jung & Bae, 2000; 김·배, 2000b)가 주로 이루어지며 알칼리 가수분해(김, 1997; 김·배, 2000a)에 관해서도 보고 되어있다.

피브로인의 경우 아미노산 함량중 글리신이 43.7%, 알라닌이 28.8%, 세린이 11.9%, 티로신이 5.1%로 이들만도 전체의 90%에 이르나, 세리신은 세린이 33.43%, 아스파라긴산이 16.71%, 글리신이 13.49%, 티로신이 9.74%등으로 피브로인과 비교해 상당한 차이를 보이며(Gulrajani, 1993), 기존의 피브로인에서도 나타나듯이 세린과 글리신은 콜레스테롤 수치를 낮추고, 알라닌은 간 기능을 도와 알코올 대사를 촉진한다고 알려져있다(平林 등, 1991). 세린과 아스파라긴산이 많은 세리신은 친수성이 좋아 화장품 기초 재료와 분말을 이용하여 섬유 가공용 기능제로도 사용된다(山本, 1995).

아직까지 세리신에 대한 연구는 피브로인에 비해 다양하지는 않지만 정련 후 세리신을 수거하여 비의류용으로 사용할 수 있다면, 환경 문제가 되는 폐수도 줄이고 실크 전체의 1/4이나 점하면서도 폐기되어 버리는 세리신에서 피브로인을 대체하여 고부가가치를 재창출하는 소재로 사용할 수 있을 것으로 생각된다. 아미노산의 조성이 피브로인과는 다르므로 기존의 피브로인이 갖지 못했던 특성들을 세리신에서 찾을 수 있을 것이며, 피브로인의 장점도 세리신을 이용하여 함께 응용하는 것도 가능할 것이다.

실제로 세리신은 그 화학구조상 보습성(Vogeli *et al.*, 1993), 주름살 방지(Engel *et al.*, 1987), 항산화 및 피부 멜라닌의 생합성과 여러 음식물의 부패 반응의 원인이 되는 tyrosinase의 활동을 억제하는 것으로 연구 보고되어 있다(Kato *et al.*, 1998). 이런 특성으로 인하여 화장품, 의약품 및 식품 첨가용 소재로 활용될 수 있을 것으로 기대어진다. 또한 세리신은 딱딱한 촉감을 갖는 것이 각질층의 아미노산 조성구와 유사하기 때문에 피부 친화성이 높은 것으로 알려져 있으며(Rainer *et al.*, 1993) 합성섬유의 섬유가공제로의 응용가능성도 검토되고 있다(Kato & Yasuta, 1999; 한·배, 1999).

최근 세리신의 응용연구가 활발하게 진행되고 있지만 이러한 연구의 출발이 되는 순수 세리신의 확보는 아직 정립되지 않은 실정이다. 이에, 본 실험에서는 알칼리 제거가 용이하여 쉽게 순수한 세리신을 얻을 수 있는 calcium hydroxide를 사용하여 정련하였다. 적정 정련 조건을 알아보기 위해 처리시간과 온도 및 농도에 따른 연감율을 알아 보았으며 정련후 세리신을 수용성과 난용성으로 분리하여 수용성 세리신의 평균 중합도를 측정하였고 알칼리 처리에 의해 생성될 수 있는 LAL(lysinoalanine)을 정량하기 위해 HPLC(high-performance liquid chromatography)분석을 하였다. 그리고 Amino acid 분석, DSC(differential scanning calorimetry), SEM(scanning electron microscope), 강도 측정을 통하여 calcium hydroxide에 의한 정련이 세리신과 피브로인에 미치는 영향도 함께 알아보았다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 생사의 준비

시료는 생사(21중 2합)를 사용하였다.

시료의 무게는 무수량으로 측정하여 사용하였다.

2) 시약

본 연구에 사용된 시약은 특급의 것을 사용하였다.

Acetic Acid (Duksan Pharmaceutical Co., Ltd)

Acetonitrile (Merck KGaA, Darmstadt, Germany)

Calcium Hydroxide (Aldrich Chemical Co.,Inc)
 Citric Acid (Duksan Pharmaceutical Co., Ltd)
 Hydrochloric Acid (Duksan pure chemical Co.,LTD)
 LAL (N ε-DL-(2-amino-2-Carboxyethyl)-L-Lysine,
 Dihydrochloride, 95% pure, Sigma Chemical Co.)
 Ninhydrin (BDH Laboratory Supplies Pode,BH15 LTD)
 Filter paper (Whatman, 5C)
 Phosphate Buffer (Aldrich Chem. Co.)
 Sodium Borate(Duksan Pharmaceutical Co., Ltd)
 Sodium Hydroxide (Duksan Pharmaceutical Co., Ltd)

2. 방법

1) Ca(OH)₂에 의한 정련

여러 조건 중 적정 정련 조건을 찾기 위해 다음과 같은 실험을 하였으며 연감율을 식 (1)과 같이 구하였다.

$$\text{연감율(\%)} = \frac{\text{정련 전의 실의 무게} - \text{정련 후의 실의 무게}}{\text{정련 전의 실의 무게}} \times 100(\%) \quad (1)$$

1-1) 처리시간, 온도 및 농도에 따른 연감율 시료를 아래와 같은 조건으로 처리한 후 연감율을 식 (1)과 같은 방법으로 구하였다.

생 사 : 1.0 g
 처리 온도 : 80, 90, 100°C
 Ca(OH)₂ 농도 : 0.01, 0.04, 0.07, 0.1% (w/v) solutions

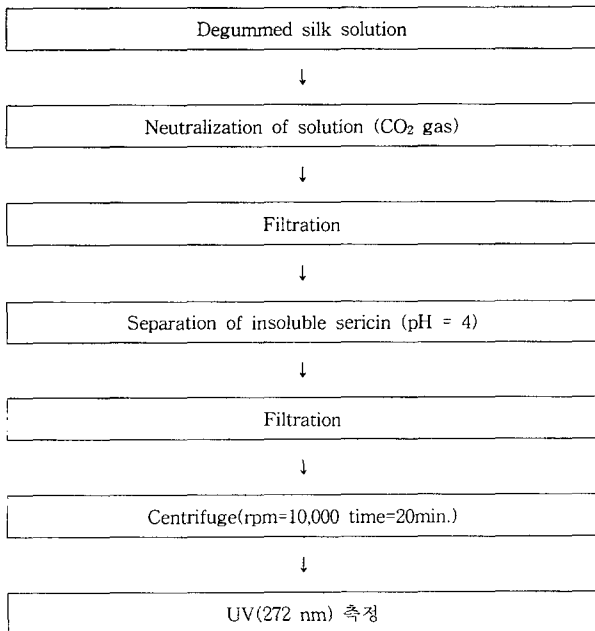


Fig. 1. Flow chart of separation of soluble sericin and insoluble sericin.

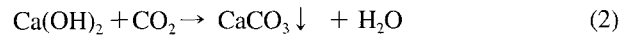
처리 시간 : 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4시간
 용비 = 1:40

1-2) 정련된 액의 수용성 세리신과 난용성 세리신 분리 정련된 액은 CO₂로 중화 시킨 후 acetic acid를 사용하여 pH=4로 조정하여 난용성 세리신과 수용성 세리신을 분리하였다.

2) 기기분석

기기 분석용 시료는 아래의 조건으로 준비하였다.

정련 후 용액은 CO₂ gas를 투입하면서 교반하여 Ca(OH)₂를 중화·침전시켰다. 이때의 화학 반응식은 식(2)와 같다.



이 용액을 다시 filter paper로 여과하여 침전물을 제거하고, 수용성 세리신을 분리한 후 여과하고 원심분리한 후에 동결건조하여 각각 분말을 얻었다. 이 분말은 dessicator에 넣어 보관하였으며 기기 분석시에 사용하였다.

2-1) 말단기 정량에 의한 평균 중합도

말단기 정량은 ninhydrin으로 반응시켜 정량하는 방법으로 구하였으며 완전 가수 분해액은 수용성 세리신 분말 각 0.1 g을 6N HCl 10 ml를 첨가하여 110°C oven에서 24시간 가수분해한 후 rotary evaporator(LABO ROTA B 300X0300 R.)로 여과, 감압 건조, 수세, 건조 후 증류수

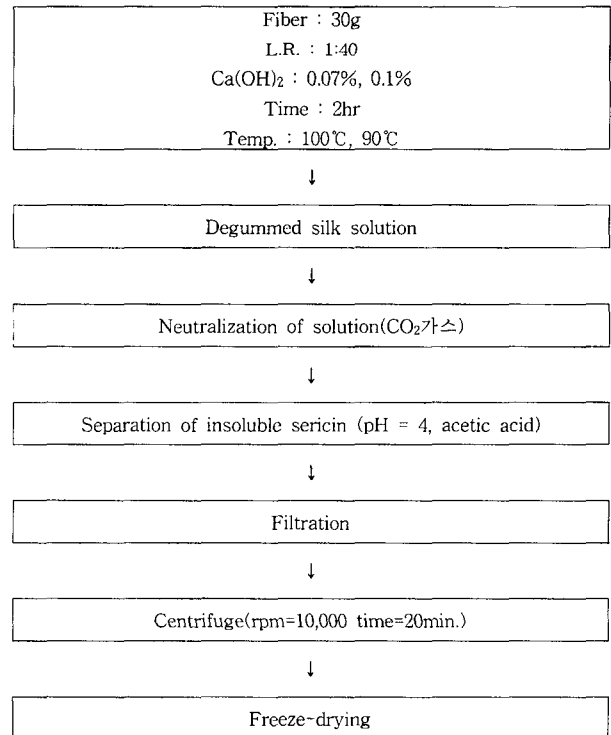


Fig. 2. Flow chart of sample preparation for instrumental analysis.

를 첨가하여 10 ml로 정용하여 ninhydrin반응 시켜 흡광도를 측정하여 완전 가수분해된 세리신의 mol 흡광도 기준으로 하였다.

UV-spectrophotometer(Beckman, DU 650)를 394nm에서 흡광도를 측정하였고 ninhydrin반응시 완전 가수분해액은 증류수를 첨가하여 0.1% 농도로 하고 Ca(OH)₂로 정련한 액 4 ml, 1% ninhydrin sol'n 4 ml을 첨가하여 10 ml로 정용하여 vial에 넣고 밀폐한 후 100°C에서 30분간 처리하였다.

평균중합도는 식 (2)와 같은 방법으로 구하였다.

$$\text{평균 중합도} = \frac{\text{완전 가수분해한 용액의 mol량 흡광도}}{\text{가수분해한 용액의 mol량 흡광도}} \quad (2)$$

2-2) HPLC에 의한 LAL 정량

알칼리 가수 분해시 생성될수 있는 LAL(Lysinoalanine) 물질을 확인하기 위해서 LAL표준물질과 시료의 가수분해물을 준비하였다. 가수분해물 각 0.25 g을 ampule에 담아 6N HCl 25 ml를 첨가하고 질소 가스를 충전한 후 110°C에서 22시간 가수분해하였다. 그 다음 12N NaOH용액으로 pH 9를 맞추고 증류수를 첨가하여 25 ml의 볼륨 플라스크에서 묽히고 0.45 μm syringe membrane filter로 여과하고 20 μl를 HPLC에 주입하였다.

2-3) 아미노산 분석

수용성 세리신 분말 1 g을 ampule에 담아 6N HCl 10 ml를 첨가하고 진공 감압하여 산소를 완전히 제거한 후 밀봉하여 110°C oven에서 24시간 가수분해하여 실온에서 냉각하였다. 그 다음 염산을 감압 건조하고 증류수로 2회 세척하여 건조 시켰다. 건조시킨 시료를 구연산 완충액 (pH 2.2)으로 용해하고 여과한 다음 10 ml로 정용하여 0.45 μm membrane filter로 여과한 뒤 자동 아미노산 분석기 (Pharmacia Biotech, Co, Biochrom20)로 분리 정량하였다.

2-4) DSC 분석

열적거동을 알아보기 위하여 DSC(Universal V1 11A TA instruments)분석을 하였다. 승온 조건은 10°C/min., 분석 온도는 50~350°C에서 분석하였다.

2-5) 인장강도 측정

Ca(OH)₂로 정련한 시료를 인장강도 측정기(Shimadzu

Autograph AGS-500A)를 사용하여 인장강도를 측정하였다. 각 처리조건마다 5개의 sample을 만들어 측정하였으며 5개의 평균값을 이용하였다. 이 때 시료의 측정길이는 2 cm, load range 10, 시험편의 인장속도는 30 mm/min이었다.

2-6) 정련건의 표면 관찰

Ca(OH)₂로 정련한 시료를 금으로 코팅한 후 주사전자현미경(Hitachi, S-570)으로 촬영하여 섬유의 표면을 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. Ca(OH)₂에 의한 정련

1-1) 처리시간, 온도 및 농도에 따른 연감율

그림 3, 4, 5, 6은 각 처리조건에 따른 연감율을 나타낸

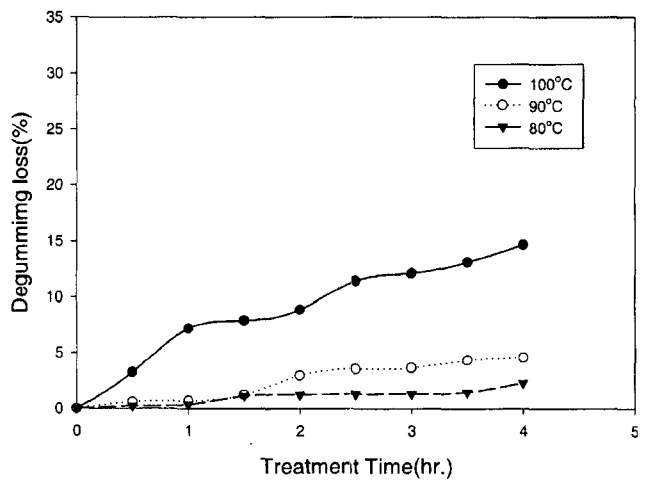


Fig. 3. Effects of treatment time and temperature on the degumming loss. Ca(OH)₂ concentration : 0.01% solution.

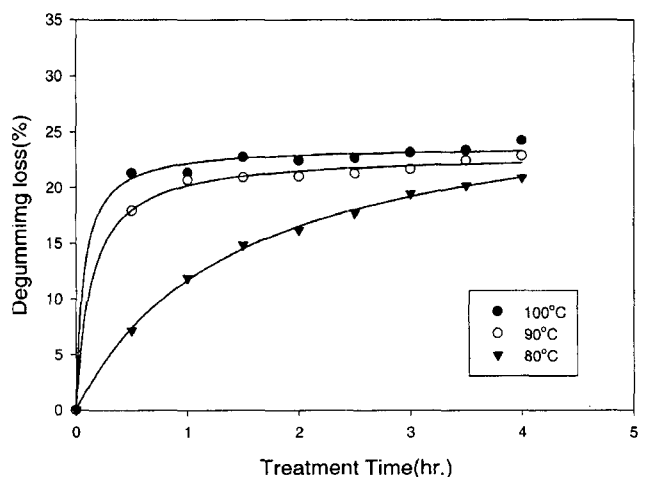


Fig. 4. Effects of treatment time and temperature on the degumming loss. Ca(OH)₂ concentration : 0.04% solution.

Table 1. Operating conditions for LAL analysis by HPLC

Items	Conditions
Instrument	Bechman, System Gold
Column	C18 (4 μm) (3.9×150 mm)
Eluent	Acetonitril + Phosphate buffer (pH 7.0) = 35+65 (v/v %)
Flow Rate	1 ml/min.
Detector	UV detector
Injection volume	20 μl

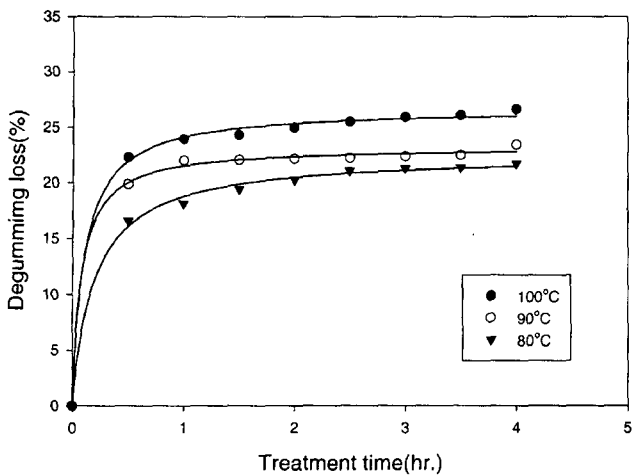


Fig. 5. Effects of treatment time and temperature on the degumming loss. Ca(OH)₂ concentration : 0.07% solution.

것으로서 처리시간, 온도 및 농도를 증가시킬수록 연감율이 증가하는 경향을 나타내었다. 그림 3은 Ca(OH)₂ 농도 0.01%일 때 처리시간과 처리온도에 따른 연감율을 나타내고 있다. 처리시간이 증가할수록 연감율이 증가하는 경향을 보이고 있으며 100°C, 4시간 처리에서도 연감율이 15%로 완력이 되지 않아 이러한 정련 조건에서는 회수될 수 있는 세리신양도 적을 것으로 예상된다.

그림 4는 Ca(OH)₂ 농도 0.04%일 때의 연감율을 나타낸 것으로서 처리시간 및 온도의 증가에 따라 연감율도 증가하는 경향을 보이고 있으며 처리온도 90°C와 100°C의 경우 1시간 처리 이후에는 연감율의 증가폭이 크지 않았다.

그림 5는 Ca(OH)₂ 농도 0.07%일 때의 연감율을 나타낸 것으로서 처리시간 1시간 이후에는 처리온도에 관계없이 연감율의 증가폭이 미미하게 나타났다. 100°C, 2시간 처리의 경우 25%의 연감율을 나타내어 거의 완력이었고 그 이상의 처리시간에서는 25%이상의 연감율을 보여 약간 과련된 것으로 추정된다.

그림 6은 Ca(OH)₂ 농도 0.1% 일 때로 처리 온도 90°C의 경우 2시간 처리에서 연감율이 25%로 나타났다. 그 이상의 처리시간에서는 약간 과련된 것으로 보이며 100°C의 경우 1시간 처리 이상에서부터 과련이 일어나는 것으로 보인다.

1-2) 수용성 세리신과 난용성 세리신의 분리

세리신은 물이나 알칼리에 대한 용해속도 및 단백질 분해효소에 의한 분해 속도의 차이가 다른 4층으로 되어 있는데 용해 또는 분해되기 쉬운 순서대로 외층에서 내층으로 세리신 I, II, III, IV라고 부르며, 이중 세리신 I, II는 비교적 용해되기 쉬운 부분이고 세리신 III, IV는 난용성이며 가장 안쪽에 있는 세리신 IV는 물뿐만 아니라 알

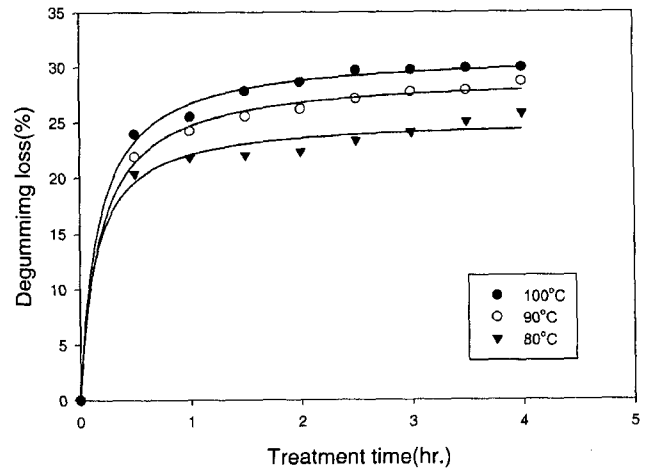


Fig. 6. Effects of treatment time and temperature on the degumming loss. Ca(OH)₂ concentration : 0.1% solution.

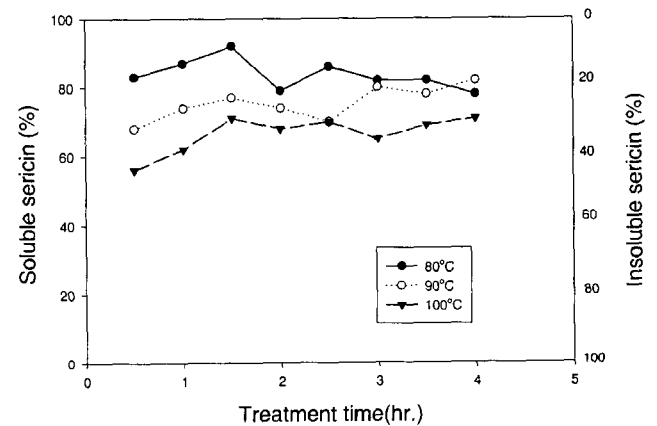


Fig. 7. Separation of insoluble and soluble sericin on the degummed silk solution treated with various condition. Ca(OH)₂ concentration : 0.04% solution.

칼리에도 난용의 성질을 나타내는 특성이 있다.

그림 7, 8, 9는 처리조건에 따른 수용성·난용성 세리신의 비율을 나타낸 것으로서 Ca(OH)₂ 농도 0.04%일 때의 그림 7에서는 처리온도가 높을수록 난용성 세리신의 비율도 증가하는 것을 알 수 있다. 이것은 처리온도가 높을수록 용출되기 어려운 세리신 III, IV 부분이 더 용출되어 나오기 때문이라고 사료된다. 처리온도 90°C와 100°C에서는 처리시간이 증가할수록 수용성 세리신의 비율도 증가함을 알 수 있다. 이러한 이유로서는 처리시간의 경과에 따라 수용성 및 난용성 세리신의 용출속도에서 수용성 세리신의 용출속도가 상대적으로 더 크기 때문이라고 고려된다.

그림 8은 Ca(OH)₂ 농도 0.07%일 때의 결과로서 처리온도와 관계없이 처리 시간이 증가함에 따라 수용성 세리

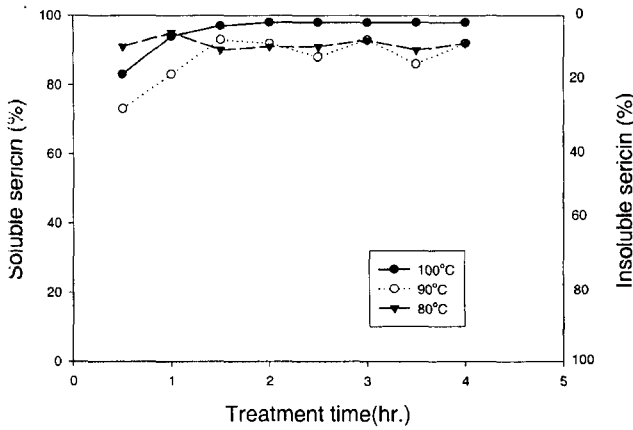


Fig. 8. Separation of insoluble and soluble sericin on the degummed silk solution treated with various condition. Ca(OH)₂ concentration : 0.07% solution.

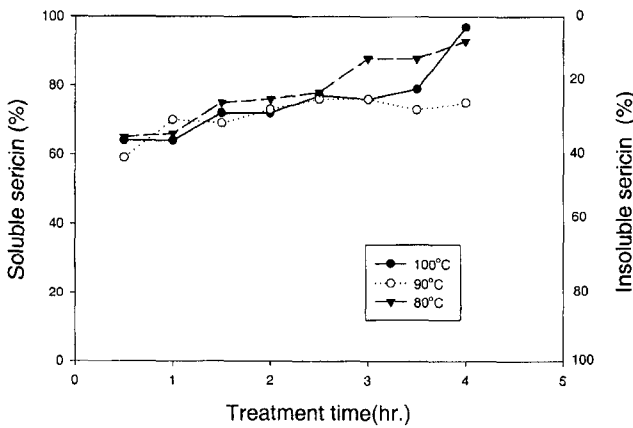


Fig. 9. Separation of insoluble and soluble sericin on the degummed silk solution treated with various condition. Ca(OH)₂ concentration : 0.1% solution.

신의 비율이 증가하다 2시간 이후에는 일정해지는 경향을 보이고 있는데 이러한 결과는 처리시간 2시간 이후에는 수용성 세리신의 용출이 더 이상 일어나지 않는 것에 기인한 것으로 고찰된다.

그림 9는 Ca(OH)₂ 농도 0.1%일 때의 결과로 처리시간에 따라 수용성 세리신의 비율이 계속해서 증가하고 있는 것을 보여주고 있다. 이러한 결과는 앞의 처리시간 1시간 이후에서는 연감율이 크게 증가하지 않는다는 연감을 경향과 함께 고려해 볼 때 난용성 세리신의 가수분해로 수용성화가 진행되어 수용성 세리신의 비율이 증가되는 것으로 고찰된다.

2. 기기분석

2-1) 말단기 정량에 의한 평균 중합도

정련 후 정련 액에서 수용성 세리신을 분리한 후 수용

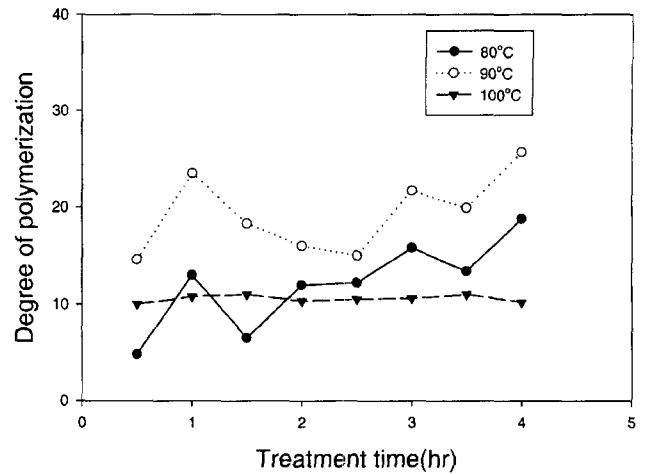


Fig. 10. Effects of treatment time and temperature on the average degree of polymerization. Ca(OH)₂ concentration : 0.04% solution.

성 세리신의 평균 중합도를 측정된 결과를 그림 10, 11, 12에 나타내었다.

그림 10은 Ca(OH)₂ 처리농도 0.04%에서 처리온도와 시간에 따른 평균 중합도를 나타낸 그림으로, 처리온도 80°C와 90°C의 경우 처리시간의 경과에 따라 평균 중합도가 불규칙하게 나타났으나 100°C의 경우는 처리시간이 증가하여도 평균중합도 거의 일정한 평균 중합도를 나타내었다.

처리온도 80°C와 90°C의 경우, 처리시간이 증가함에 따라 세리신은 외측부분부터 계속해서 용출되어 나오고 미리 용해된 수용성 세리신도 계속 분해가 진행되고 있는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 처음 용출되어 나올 때의 수용성 세리신은 큰 분자량을 갖는다고 볼 수 있으며 가수분해 진행에 따라 분자량이 점차 작아지는 것으로 생각된다. 이러한 상황에서는 가수분해 속도와 용해속도의 속도비에 의해 평균분자량이 결정된다. 이러한 관점에서 80, 90°C에서의 평균분자량의 불규칙성은 이 속도비가 불규칙하기 때문인 것으로 고찰된다.

100°C의 경우 처리시간이 증가하여도 평균 중합도 값이 10정도로 거의 일정하게 나타나는 것은 용출에 의한 고분자성 수용성 세리신은 공급되지 않고 기 용해된 수용성 세리신이 가수분해되어 저분자화된 결과로 추론된다. 또한 이 조건에서는 평균 분자량값 10이하로 가수분해되기는 어렵다고 보여지며 이러한 이유로 시간이 경과되더라도 거의 일정한 값을 나타내는 것으로 생각된다.

그림 11은 처리농도 0.07%일 때의 결과로서 처리 시간 1시간 이상에서는 처리온도에 관계없이 평균 중합도가 10 정도로 거의 일정한 값을 나타내었다. 이것 또한 그림 10에서 100°C의 결과를 고찰한 것과 비슷한 이유라 사료된다.

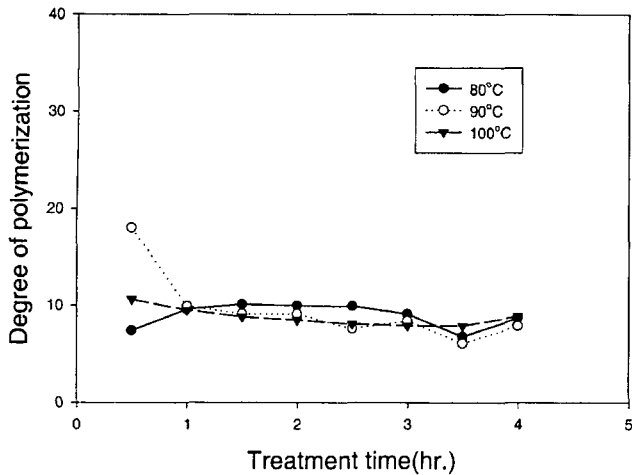


Fig. 11. Effects of treatment time and temperature on the average degree of polymerization.
Ca(OH)₂ concentration : 0.07% solution.

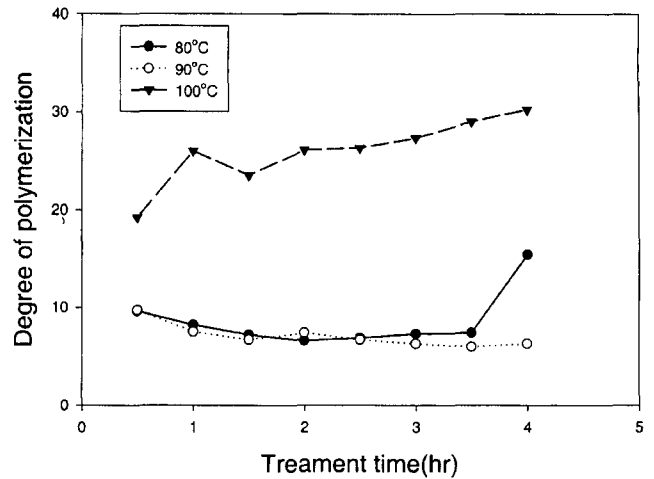


Fig. 12. Effects of treatment time and temperature on the average degree of polymerization.
Ca(OH)₂ concentration : 0.1% solution.

그림 12는 처리농도 0.1%일 때의 평균 중합도를 나타낸 것으로서, 처리 온도 80°C와 90°C에서는 Ca(OH)₂ 0.07%에서와 비슷한 결과를 나타내고 있지만, 처리온도 100°C의 경우 평균 중합도가 20~30으로 다른 처리조건에 비해 상당히 높은 값을 나타내고 있다. 이러한 이유로서는 100°C 처리의 경우 가수분해에 의해 수용성 세리신의 저분자화가 일어날 뿐 아니라 용출된 난용성 세리신의 가수분해가 활발하게 진행되어 이에 의한 새로운 고분자성 수용성 세리신의 공급에 의한 결과로 보여진다.

이상의 결과로 볼 때 Ca(OH)₂ 정련시 정련 조건만 잘 조절한다면 일정한 평균 중합도를 가지는 수용성 세리신을 얻을 수 있을 것이라 기대된다.

2-2) HPLC에 의한 LAL 정량

단백질로 이루어진 세리신은 Ca(OH)₂와 같은 알칼리제로 가수분해할 경우 단백질의 관능기 간에 상호반응이 일어나게 되며 이는 단백질의 질에 직접, 간접적으로 영향을 미친다. 이러한 결과는 소화율과 아미노산 이용율을 떨어뜨리는데 결정적 역할을 한다(Hurrell & Carpenter, 1977). 이 때 모든 아미노산들이 균일하게 영향을 받지 않으며 특히 free amino group을 지닌 아미노산으로 lysine은 그의 free -NH₂-group 때문에 가장 많이 손상되는 아미노산으로 알려져 있다. lysine의 손상은 알칼리 처리나 또는 70°C이상에서 가열시 cross-linking형의 LAL이 형성된다. 이는 lysine과 dehydroalanine의 작용에 의해 생성되는데 활성을 지니는 dehydroalanine이 cross-linkage 생성물인 LAL을 만든다(Finot, 1983).

따라서 세리신을 식품으로 이용하고자 할 때 LAL의 정량이 필수적이라 할 수 있다. LAL을 측정하는 방법으로

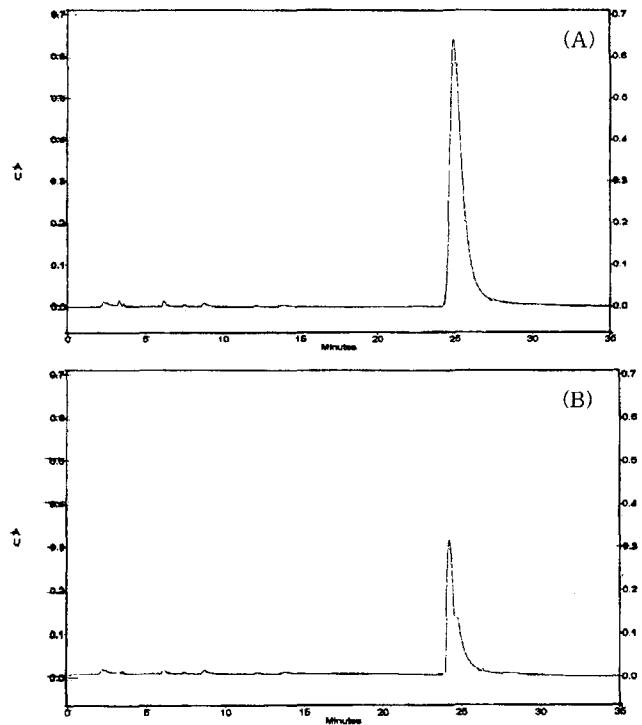


Fig. 13. HPLC chromatogram of the LAL standard.
(A) : LAL 50ng, (B) : LAL 100ng.

는 Ion-Exchang Chromatography, GC/MC, HPLC를 이용하는 방법이 알려져 있다.

그 중 본 실험에서는 HPLC를 사용하여 LAL standard와 Ca(OH)₂ 0.07%, 90°C, Ca(OH)₂ 0.1%, 100°C에서 정련된 수용액에서 얻어진 수용성 세리신에 포함되어 있는 LAL을 정량하였다.

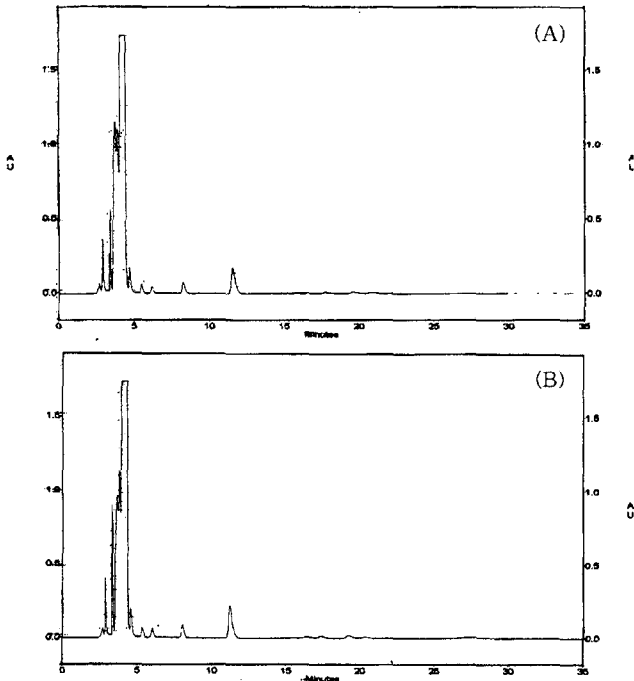


Fig. 14. HPLC chromatogram of the soluble sericin. (A) : Ca(OH)₂ 0.07%, 100°C, 2 hr. (B) : Ca(OH)₂ 0.1%, 90°C, 2 hr.

그림 13은 LAL standard를 나타낸 그림으로 100 ng, 50 ng의 농도가 다른 LAL의 피크가 25분대에서 나타나는 것을 알 수 있다.

하지만 그림 14의 수용성 세리신에서는 25분대의 피크가 인정되지 않아 LAL물질이 존재하지 않는 것을 확인할 수 있었다.

이러한 결과 Ca(OH)₂로 정련한 세리신을 식품에 사용할 때 LAL에 대한 영향은 없을 것이라 사료된다.

2-3) 아미노산 분석

세리신은 약 18종의 아미노산으로 구성되어 있는데 그 중 hydroxyl group을 갖는 Ser., Tyr., Thr.의 아미노산이 40%정도를 차지하고 있다.

표 2는 Ca(OH)₂로 정련된 세리신의 아미노산 분석 결과로 열탕으로 분리한 세리신의 아미노산 조성비와 비슷하였으나 Ser., Tyr., Thr.의 함량이 적게 나타난 것을 확인할 수 있다.

단백질 알칼리 가수분해는 단백질의 일부 hydroxyl group을 파괴하는 것으로 알려져 있는데(Asquith, 1977) 본 실험의 Ca(OH)₂에 의한 정련에서도 hydroxyl group이 파괴된다고 볼 수 있으며 이러한 결과로 hydroxyl group을 가지고 있는 Thr.과 Ser. 및 Tyr.의 함량이 적었고 그로 인해 Gly.과 Ala. 등의 기타 다른 아미노산의 양이 상대적으로 많은 것으로 추론된다.

Table 2. Amino acid compositions of the soluble sericins (unit : mol%)

	standard*	(A)	(B)
Asp.	16.71	16.34	16.89
Thr.	9.74	6.75	7.02
Ser.	33.43	27.78	28.39
Glu.	4.42	4.61	4.82
Pro.	0.68	0.00	0.00
Gly.	13.49	22.37	21.71
Ala.	5.97	7.18	6.79
Cys.	0.15	0.86	0.68
Val.	2.75	3.68	3.62
Met.	0.04	0.58	0.44
Ile.	0.72	0.76	0.82
Leu.	1.14	1.06	0.96
Tyr.	2.61	1.00	0.95
Phe.	0.53	0.19	0.26
His.	1.30	0.85	0.87
Lys.	3.30	2.08	2.18
Arg.	3.10	4.00	3.60
total	100	100	100

*: 남, 1984.

(A) : Ca(OH)₂ 0.07%, 100°C, 2 hr.

(B) : Ca(OH)₂ 0.1%, 90°C, 2 hr.

이와 같이 정련 조건은 정련에 의해 탈락되는 세리신의 아미노산 조성에도 영향을 줄 수 있음을 알 수 있다.

2-4) DSC 분석

Ca(OH)₂ 0.07%, 100°C와 0.1%, 90°C에서 2시간 정련한 후 얻어진 수용성 세리신 분말의 열적 거동을 알아보기 위하여 DSC 분석을 행하였다.

그림 15에서 보면 수용성 세리신의 DSC curve에서는 114°C, 189°C, 299°C 부근에서 세 개의 흡열 피크가 나타났다.

114°C의 피크는 수분 증발에 의해 생긴 흡열 피크이며 299°C에서 생긴 피크는 세리신의 분해에 의해 나타난 흡열 피크라 보여진다.

일반적으로 분말화된 세리신은 170°C에서 수소결합 파괴에 의해 유리전이가 일어나고 205°C에서 수소결합의 재배열에 의해 결정화가 일어난다고 하였고(Kaplan, 1994) 이들의 피크는 시료의 종류 및 가열 속도에 따라 다소 이동이 되는 것으로 알려져 있다.

그림 15에서의 189°C부근의 흡열피크는 세리신의 열변성에 기인한 것으로 약간 저온쪽으로 이동된 것을 확인할 수 있는데 이는 얻어진 수용성 세리신에서는 분자간 수소결합을 할 수 있는 가능성이 감소되어 열변성 피크가 저온쪽으로 이동된 것으로 보여진다. 아미노산 분석결과에서 수소결합을 할 수 있는 hydroxyl group을 가진 아미노산들의 조성비가 감소한 것으로 보아 수소결합에 기인하는 이 피크가 낮은 온도쪽으로 형성하는 것과 무관하지 않을 것으로 사료된다.

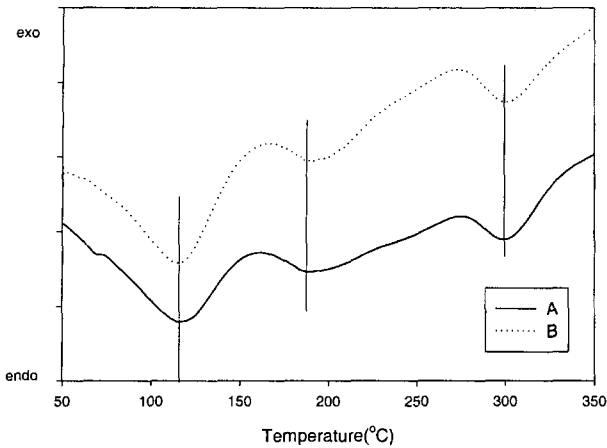


Fig. 15. DSC thermograms of soluble sericin powders obtained by degummed solutions. (A) : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.07%, 100°C, 2 hr. (B) : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.1%, 90°C, 2 hr.

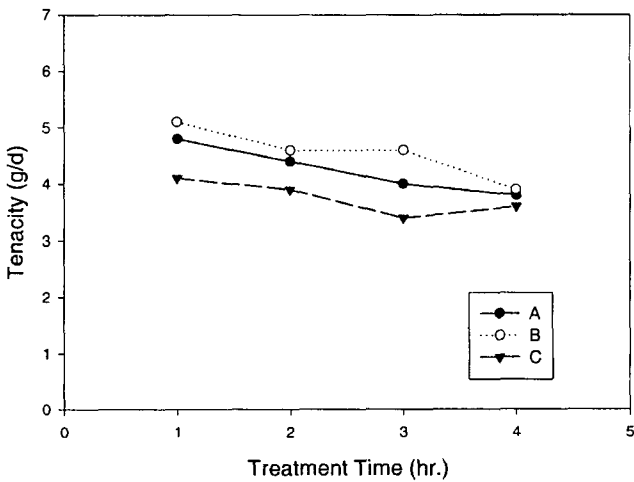


Fig. 16. Tenacity of degummed silk by various condition. (A) : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.07%, 100°C. (B) : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.1%, 80°C. (C) : $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.1%, 90°C.

그리고 연감율은 비슷하지만 처리조건이 다른 A와 B의 DSC curve를 비교하면 처리조건이 다름에도 불구하고 그 거동에서는 큰 차이를 보여주지 않고 있다.

2-5) 인장강도의 측정

견사의 강도는 다른 섬유에 비하여 크며, 생사는 품종, 제사방법에 의하여 다소의 차이가 있으며 생사를 정련하면 15~30%의 강도가 감소하여 평균 3.3~3.9g/d이다(장, 1996).

그림 16은 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 농도 0.1%, 80°C와 0.07%, 100°C 그리고 0.1%, 90°C에서 정련된 견사의 강도를 나타낸 그림으로서 처리시간이 길어질수록 강도가 감소하는 경향을 보이고 있으며 연감율은 비슷하지만 처리조건에 따라서 강도는 약간 차이가 나는 것을 확인할 수 있다.

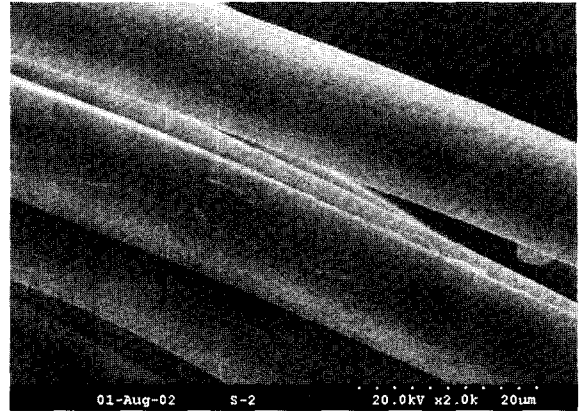


Fig. 17. Scanning electron micrograph of raw silk.

1시간 정련했을 때의 강도는 처리농도와 온도가 0.07%, 100°C의 경우 5.1g/d이고 0.1%, 80°C의 경우 4.8g/d이며 0.1%, 90°C일 경우엔 4.1g/d였다. 정련 전 생사의 강도(5.7g/d)와 비교했을 때 견사의 강도는 대략 15~30% 감소했음을 알 수 있었다.

그림 5, 6에서는 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 농도 0.07%, 0.1%일 때, 처리시간 1시간 정도만으로도 21.8~24.2%의 연감율을 나타내며 1시간 이상 처리를 하더라도 연감율은 큰 상승을 보이지 않는 것을 나타내고 있는데, 강도는 처리시간이 길어질수록 감소함을 알 수 있었다. 특히 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 농도 0.07%, 100°C에서 처리된 정련 견사가 이와 비슷한 연감율을 보이는 0.1%, 90°C에서 처리한 정련 견사보다 강도가 큰 것을 알 수 있다.

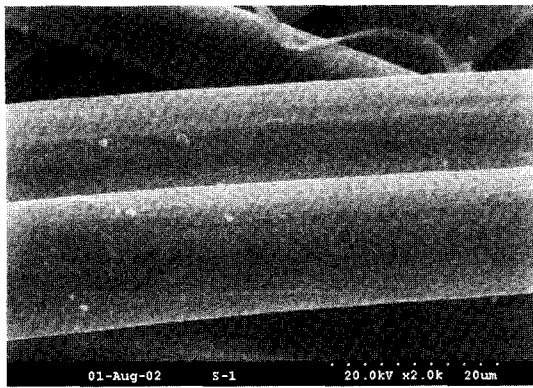
이는 강도에 미치는 정련 조건 중에서 처리온도 및 시간보다는 알칼리 농도가 더욱 중요한 역할을 하는 것으로 판단된다. 그리고 알칼리 정련으로 인한 급격한 강도의 감소는 보이지 않는 것으로 사료된다.

2-6) 정련 견의 표면 관찰

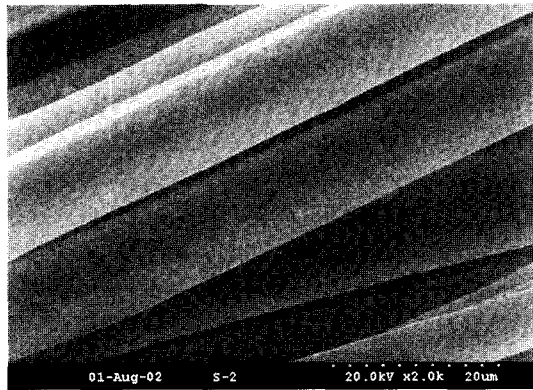
견사는 무수한 microfibril 구조의 다발로 되어 있는 fibril 이라고 하는 미세섬유의 집합체이므로 정련이 과도하거나 또는 물리적 작용을 강하게 받을 때 미세섬유는 분리되어 강도를 저하시킬 뿐만 아니라 섬유 표면에 광택의 이상이 생겨 품질을 저하시킬 수 있다.

그러므로 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 에 의한 정련 후 섬유 표면의 관찰을 통해 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 정련에 의한 섬유 표면의 상태를 알아볼 필요가 있다.

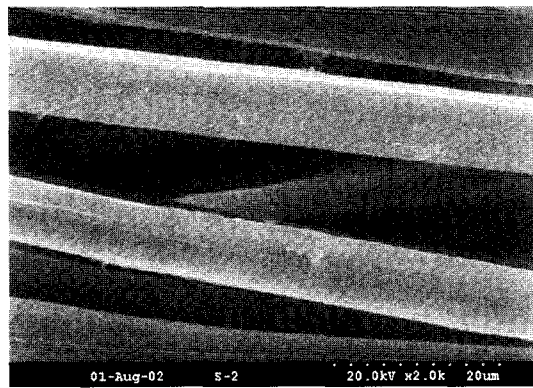
그림 18의 (a)~(c)는 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 농도 0.07%, 100°C에서, 그림 19의 (d)~(f)는 0.1%, 80°C에서, 그림 20의 (g)~(i)는 0.1%, 90°C에서 각각 30분, 2시간, 4시간 처리한 후의 견사의 SEM사진을 나타낸 것이며 대조구인 처리전의 생사를 그림 17에 나타내었다. 각각의 연감율은 (a)-23.83%, (b)-26.31%, (c)-27.73%, (d)-21.86%, (e)-24.79%, (f)-25.24%,



(a)



(b)

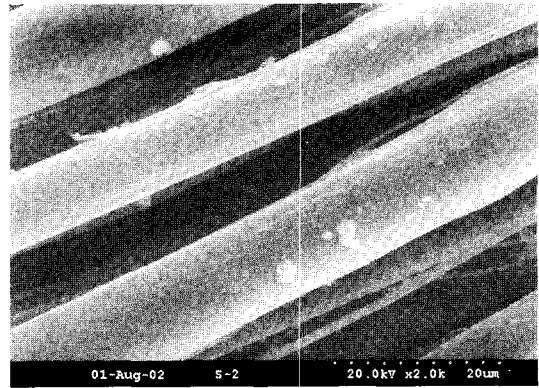


(c)

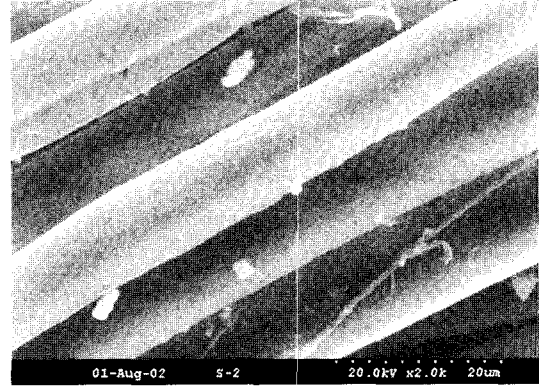
Fig. 18. Scanning electron micrographs of silk fibroin. (a), (b), (c) : Ca(OH)₂ 0.07%; 100°C; 0.5, 2, 4 hr.

(g)-23.59%, (h)-23.79%, (i)-27.54% 이었다.

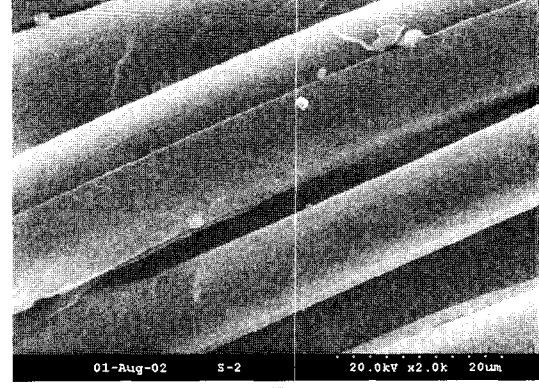
전체적으로 연감율이 증가함에 따라 실의 굵기가 가늘어짐을 확인 할 수 있었다. 그림 18의 정련 견을 생사와 비교했을 때 정련 후 표면 상태에 있어 큰 차이가 없는 것을 알 수 있었다. 그림 18과 20에서 (c)와 (i)의 경우 연감율은 비슷하지만 (c)에 비해 (i)가 섬유표면이 매끄럽지 못한 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 섬유 표면의 손상이 알칼리 처리농도에 큰 영향을 받는다는 것을 시



(d)



(e)



(f)

Fig. 19. Scanning electron micrographs of silk fibroin. (d), (e), (f) : Ca(OH)₂ 0.1%; 80°C; 0.5, 2, 4 hr.

사해 준다. 그리고 과도한 정련으로 인한 fibril구조의 분리는 인정되지 않았지만 표면이 약간 거칠게 나타났다.

calcium hydroxide에 의한 silk의 정련에서는 쉽게 알칼리를 제거하여 순수한 세리신을 얻기가 용이하였으며 정련 조건만 잘 조정한다면 분자량 분포가 좁은 수용성 세리신을 얻을 수 있을 것이라 기대되며 알칼리 정련에서도 정련견의 강도 감소나 표면의 손상은 없는 것으로 사료되었다.

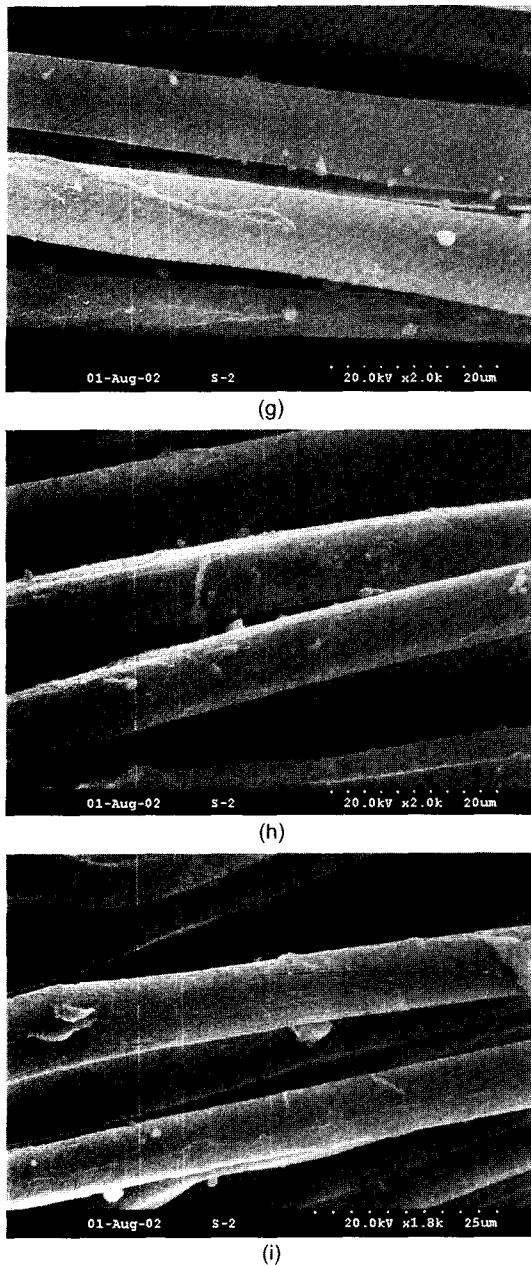


Fig. 20. Scanning electron micrographs of silk fibroin. (g), (h), (i) : Ca(OH)₂ 0.1%; 90°C; 0.5, 2, 4 hr.

적 요

본 논문에서는 Ca(OH)₂로 Silk를 정련하기 위해 처리 온도, 농도 및 시간별로 처리하여 적정 정련 조건을 알아 보았다. 정련 후 세리신을 수용성과 난용성으로 분리하여 수용성 세리신의 평균분자량을 측정하였고 기기분석을 통하여 세리신의 특성을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 연감율은 처리농도, 온도 및 시간을 증가시킬수록 증가하는데 Ca(OH)₂ 처리농도가 0.07%, 0.1%일 때에는 처

리시간이 길어져도 연감율에 큰 변화를 보이지 않았다.

2. 정련액의 수용성·난용성 세리신의 비율은 Ca(OH)₂ 농도가 0.04%일 때에는 처리 온도가 높을수록 난용성 세리신의 비율도 높게 나타났고, 0.07%일 때에는 처리 온도 및 시간에 관계없이 수용성 세리신의 비율이 거의 100%를 나타냈다. 0.1%일 때에는 처리 초기의 난용성 세리신의 비율이 높으며 시간이 증가할수록 수용성 세리신의 비율도 증가하였다.

3. 평균 중합도 측정 결과 처리 농도 0.04%, 처리 온도 100°C의 경우 10정도의 일정한 평균 중합도 값을 가지며 80°C, 90°C의 경우는 시간이 증가함에 따라 평균 중합도가 불규칙하게 나타났다. 0.07%의 경우 온도와 시간에 관계없이 10정도의 일정한 값을 나타내고 있으며 처리농도 0.1%일 때 온도 100°C의 경우 평균중합도가 20~30으로 높은 값을 나타내고 있다.

4. 정련후 수용성 세리신의 LAL 정량 결과 정련액에는 LAL 물질이 존재하지 않는 것을 확인할 수 있었다.

5. 아미노산 분석 결과 Hydroxy amino acid인 Thr.과 Ser. 및 Tyr.의 함량이 적었고 나머지는 상대적으로 많았다.

6. 수용성 세리신 분말의 DSC 분석 결과 열변성에 의한 흡열피크가 189°C 부근에서 나타났고, 열분해 피크는 299°C부근에서 나타났다.

7. Ca(OH)₂ 정련된 견사의 강도는 생사의 강도보다 15~30% 정도 감소하였고, 처리 시간이 길어질수록 강도가 감소하는 경향을 나타내었다.

8. 정련견의 표면 관찰 결과 연감율이 증가함에 따라 실의 굵기가 가늘어짐을 확인할 수 있었으며 처리 농도가 증가함에 따라 섬유 표면이 거칠게 되어있음을 알 수 있었다.

참고문헌

- Asquith R. A. (1977) Chemistry of Natural Protein Fibers, plenum press, 66-69.
- 배도규 (1994) 실크의 非衣類用 이용, **36**(2), 182-185.
- Chen K., R. Takano, and K. Hirabayashi (1991) Production of soluble fibroin powder by hydrolysis with hydrochloric acid and physical properties, *J. Seric. Sci. Jpn.*, 60(5), 358-362.
- Chen K., Y. Umeda, and K. Hirabayashi (1995) Enzymatic hydrolysis of silk fibroin, *J. Seric. Sci. Jpn.*, 65(2), 131-133
- Engel W., *et al.* (1987) Eigenschaften eines sericinhaltenen puffernden shampoos. *Arztl Kosmetol*, **17**(2), 91-110.
- Finot P. A. (1983) Lysinoalanine in food proteins, *Nutr. Abs. Rev.*, **53**, 67.
- Gulrajani MI (1993) Chemical processing of silk, Rajkamal Electric Press, 64-65.
- 한대만, 배도규 (1999) 실크 세리신을 이용한 폴리에스터르의 캐직 가공, *韓蠶學誌*, **41**(3), 185-195.
- 平林 潔, 陳 開利, 勢旗 毅 (1991) 絹の食品化, *蠶絲科學と技術*.

- 30(1), 42~45.
- 平林 潔, 秋山 大二郎, 陳 開利 (1993) 絹利用の多目的展開, 蠶絲科學と技術., 32(12), 24~27.
- Hurrell R. F., K. J. Carpenter (1977) Nutritional significance of crosslink formation during food precessing, Plenum, New york, 86B, 225.
- 장병호, 하원식, 김영양(1996) 섬유재료학, 형설출판사, 235-237.
- Jung H. Y., D. G. Bae (2000) Enzymatic hydrolysis of insoluble silk sericin by alcalase, Korean. J. Seric. Sci., 42(1), 48~57.
- Kato Norihisa , S. Sato, A. Yamanaka, H. Yamada, N. Fuwa, and M. Nomura (1998) Silk Protein, Sericin, Inhibits Lipid Peroxidation and Tyrosinase Activity, Biosci. Biotechnol. Biochem., 62(1), 145-147.
- Kato, H., K. Yasuta (1999) Modification of Polyester fabrics with Silk Sericin fixed with Resin Finishing, J. Seric. Sci. Jpn., 68(1), 73~76.
- Kaplan D., W. W. Adams, B. Farmer, and C. Viney (1994) Silk polymers (Materials science and biotechnology), maple press, 211~221.
- 加藤 弘 (1988) 絹纖維の加工技術とその應用, 纖維研究社, 34~35.
- 김남정, 배도규 (1997) 견 피브로인의 알칼리 가수분해, 韓蠶學誌., 39(2), 197~202.
- 김정호, 배도규 (1999) 불용성 세리신의 산 가수분해, 韓蠶學誌., 41(1), 48~53.
- 김정호, 배도규 (2000a) 불용성 세리신의 알칼리 가수분해, 韓蠶學誌., 42(1), 31~35.
- 김정호, 배도규(2000b) 불용성 세리신의 효소 가수분해, 韓蠶學誌., 42(2), 104~108.
- Lu Ailin, M. Arai, and K. Hirabayashi (1996) Production of tussah silk powder by hydrochloric acid hydrolysis, J. Seric. Sci. Jpn., 65(5), 393~394.
- Minoura, N., M. Tsukada and M. Nagura (1990) Physicochemical properties of silk fibroin membrane as a biomedical materials, Biomaterials, 11, 430~434.
- 남중희(1984) 견직물학, 동광서림, 15.
- 박영환(1998) 견피브로인을 이용한 최근 소재개발 동향, 韓蠶學誌., 40(2), 203~212.
- Rainer V., M. Jurg, and B. Rolf (1993) Sericin Silk Protein (Unique structure and properties), Cosmetics & Toiletries, 108, 101~108.
- 監澤和男 (1991) 染色任上加工技術. 地人書館, 149~153.
- 玉田 靖 : 絹絲 利用し人工腱, 靱帶用素材の開発, 蠶絲の光, 51(7), 18~19
- Voegeli, R., et al (1993) Cosmetics & Toiletries. 108, 101.
- 山本 和秀(1995) 人にやさしい纖維と加工., 纖維社, 273~276.