

## 단백질의 염산물작용분해에서 룰속단계

심 명 수

경애하는 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《대학에서는 사회주의강국건설에서 나서는 리론실천적, 과학기술적문제들을 원만히 해결하며 기초과학부문을 발전시키고 첨단과학기술분야를 개척하는데 중심을 두고 과학연구사업을 진행하여야 합니다.》

19세기 전반기부터 대부분의 단백질구성아미노산들이 천연단백질의 염산물작용분해물에서 발견된것만큼 단백질의 염산물작용분해의 력사는 거의 200년에 달한다고 볼수 있다. 오랜 력사에도 불구하고 단백질의 염산물작용분해에는 아직 애매한 과학기술적문제들이 남아있으며 그가운데서도 중요한 문제의 하나는 룰속단계이다.

지금까지 단백질의 염산물작용분해는 그림 1과 같은 경로로 이루어진다고 보고있으나 이 경로의 요소단계들에 대한 반응운동학적해석은 심화되지 못하였다.

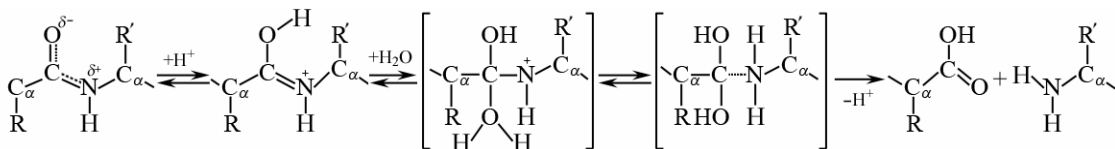


그림 1. 단백질의 염산물작용분해경로[2]

그것은 단백질의 염산물작용분해에서 반응온도가 가열방법에 따라 제약되는 사정과 관련된다. 대기압조건에서 염산은 농도가 20.22%(5.55mol/L)일 때 108.5℃의 최고끓음점을 나타낸다. 그러므로 대기압조건에서 일반적인 가열방법을 리용하여 단백질의 염산물작용분해를 진행하는 경우 온도는 염산의 끓음특성과 관련하여 염산농도를 20.22%로 보장할 때 최고 108.5℃로 주어진다. 이로부터 단백질의 염산물작용분해법은 일반적으로 단백질재료를 20% 염산에 넣고 24~72h동안 《끓이는》 조작 또는 《110℃에서 가열하는》 조작으로 알려져져있다.[7, 8]

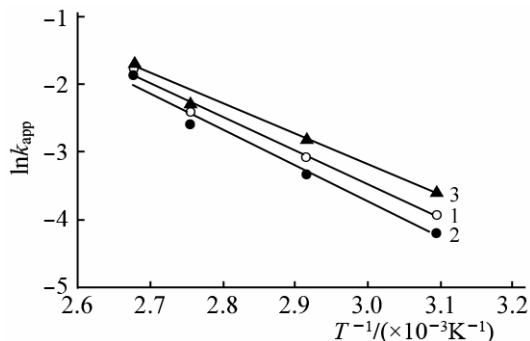


그림 2. 20% 염산을 리용하여 50~100℃에서 여러가지 케라틴재료들을 염산물작용분해할 때 작성된 아레니우스그라프[1]  
1—머리카락, 2—돼지털, 3—닭털

지금까지 50~100℃에서 여러가지 단백질들의 염산물작용분해에 대하여 작성된 아레니우스그라프들에서는 뚜렷한 꺾임점이 없다.(그림 2) 이것은 그림 1에 모순되며 룰속단계에 대하여 전혀 론의할수 없게 한다. 더우기 그림 2로부터 계산된 활성화에너지는 머리카락과 돼지털, 닭털에서 각각 36.8과 40.6, 32.4kJ/mol로서 화학반응의 활성화에너지범위(41.8~418kJ/mol)에서 가장 낮은 수준이다.

1990년대부터 단백질의 염산물작용분해에는 초고주파가열이나 포화수증기가열이 적용되어 반응온도가 120~150℃까지 높아지고 반응시간이 20~60min으로 단축[3, 6]되는 비약적인

성과가 이룩되었다. 그런데 단백질의 염산물작용분해에 초고주파가열을 적용할 때에는 염산증기의 배출로 인한 공해와 설비부식을 막기 위하여 밀폐그릇[12]을 리용하며 포화수증기가열을 적용할 때에는 일반적으로 대기압보다 높은 압력을 필수적으로 조성한다. 그러므로 단백질의 염산물작용분해에서 초고주파가열이나 포화수증기가열을 적용할 때 반응온도와 함께 반응압력도 높아진다. 때문에 단백질의 염산물작용분해경로에 대한 운동학적해석에서는 아직까지 초고주파가열이나 포화수증기가열에 의하여 확장된 온도범위에는 의거하지 않고 일반가열에 의하여 주어지는 50~100°C의 온도범위에만 의거하였다.

단백질의 염산물작용분해에서 반응경로에 대한 운동학적해석을 50~100°C에 국한시키면 요소단계의 수와 톨속단계를 밝힐수 없으며 가열의 필요성은 물론 가열방법을 개선하여 이룩된 반응속도증가도 설명하기 어렵다.

론문에서는 지금까지 단백질의 염산물작용분해에 적용한 초고주파가열방법과 포화수증기가열방법의 특성들에 근거하여 50~150°C에서 반응경로에 대한 운동학적해석을 심화시켰다.

## 재료와 방법

모든 론의를 20% 염산을 리용하여 머리카락의 케라틴을 물작용분해하는 경우에 귀착시켰다.

50~100°C에서의 겔보기반응속도상수( $k_{app}$ )값들은 20% 염산과 일반가열에 의하여 머리카락을 물작용분해할 때 결정된 선행연구자료[1]의 값을 그대로 리용하였다. 110°C에서의  $k_{app}$  값은 20~36% 염산을 리용하여 102~122°C에서 머리카락을 물작용분해한 선행연구자료[10]의 값을 리용하여 계산하였다.[1, 4] 121°C(포화수증기가열)에서의  $k_{app}$  값은 110°C(일반가열)와 121°C에서의 최적물작용분해시간비례[3]에 근거하여 110°C에서의 아미노태질소농도변화[1]를 121°C에서의 반응과정으로 변환한 다음 그로부터 계산하였다. 150°C(2.45GHz 초고주파가열)에서의  $k_{app}$  값은 110°C(일반가열)와 150°C에서의 최적물작용분해시간비례[6]에 근거하여 110°C에서의 아미노태질소농도변화[1]를 121°C에서의 반응과정으로 변환한 다음 그로부터 계산하였다.

용액반응에서 고압 및 초고압의 응용실패들[9, 11]에 근거하여 초고주파가열과 포화수증기가열을 적용한 단백질의 염산물작용분해에서 압력의 효과를 평가하였다.

## 결과 및 론의

### 1) 110°C에서 $k_{app}$ 값

102~122°C에서 머리카락의 케라틴을 염산물작용분해한 선행연구[10]에서는 물작용분해 시간에 따르는 아미노산농도변화를 114°C에서 28% 염산을 사용할 때에만 제시하였다.(그림 3)

단백질의 염산물작용분해에서는 아미노산이나 펩티드의 생성(물작용분해)과 생성물의 손실(분해)이 함께 이루어지기때문에 반응시간에 따르는 아미노산농도변화가 봉우리로 모양으로 주어진다. 그림 3의 ㄱ)와 ㄴ)는 염산농도가 28%이하로 낮아질수록 이 봉우리의 위치(극대점에 해당한 물작용분해시간)가 10h이후로 이동하고 그 모양(극대점량쪽의 경사)이 밋밋해지며 염산농도가 28%이상으로 높아질수록 이 봉우리의 위치가 10h이전으로 이동하고 그 모양이 뾰족해진다는것을 암시한다. 또한 그림 3의 ㄴ)와 ㄷ)는 물작용분해온도가 114°C

이하로 낮아질수록 이 봉우리의 위치가 10h이후로 이동하고 그 모양이 밋밋해지며 물작용 분해온도가 114°C이상으로 높아질수록 이 봉우리의 위치가 10h이전으로 이동하고 그 모양이 뾰족해진다는것을 암시한다.

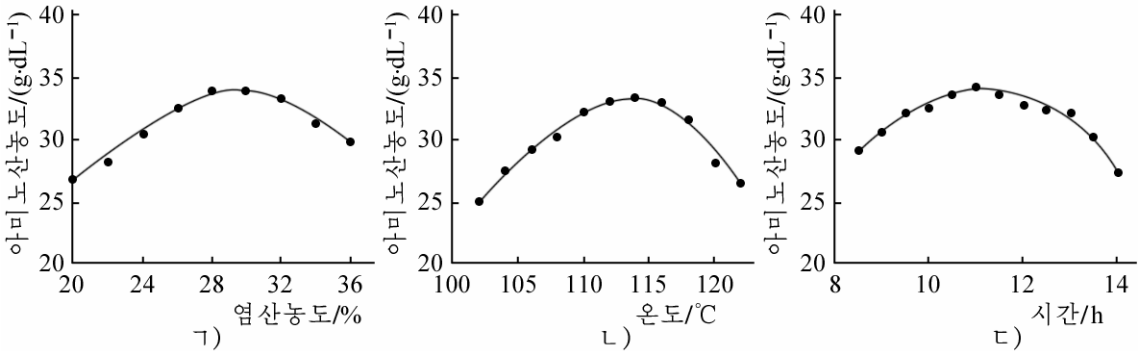


그림 3. 머리카락의 케라틴을 염산물작용분해할 때 아미노산농도변화[10]

가) 114°C, 10h, 나) 28% 염산, 10h, 다) 114°C, 28% 염산

한편 염산농도나 물작용분해온도별로  $k_{app}$ 를 결정하는데서는 이 봉우리의 높이가 일정하다고 가정할수 있는데 그 근거는 첫째로,  $k_{app}$ 의 결정에서는 이 봉우리의 극대점보다 훨씬 앞에 있는 실험점들을 선택하여 리용한다는것, 둘째로, 단백질의 염산물작용분해에서 아미노산들의 생성속도는 그 손실속도보다 훨씬 빠르다는것(표 1), 셋째로, 그림 3의 자료들은 모두 같은 기질초기농도에서 주어졌다는것이다.

표 1. 20% 염산을 리용하여 닭알흰자위리조질을 물작용분해할 때  
유리형아미노산의 생성속도(H)와 손실속도(L)의 비(H/L)[4]

| No. | 아미노산 | H/L   | No. | 아미노산 | H/L   | No. | 아미노산  | H/L    |
|-----|------|-------|-----|------|-------|-----|-------|--------|
| 1   | Glu  | 353   | 7   | Val  | 2 330 | 13  | Lys   | 768    |
| 2   | Gly  | 576   | 8   | Ile  | 290   | 14  | Arg   | 340    |
| 3   | Ser  | 176   | 9   | Leu  | 543   | 15  | Met*  | 46 200 |
| 4   | Thr  | 190   | 10  | Tyr  | 1 233 | 16  | CYA** | 62.5   |
| 5   | Asp  | 321   | 11  | Phe  | 526   |     |       |        |
| 6   | Ala  | 1 121 | 12  | His  | 3 056 |     |       |        |

\* 메티오닌술폰으로 검출, \*\* 시스테인으로부터 생성된 시스테인산으로 검출, CYA: 시스테인

우리는 이러한 관점에서 그림 3으로부터 20% 염산을 리용하여 110°C에서 머리카락을 염산물작용분해할 때 반응시간에 따르는 아미노산농도변화와 아미노산농도변화를 추정하고 그로부터  $k_{app}$ 를 결정하였다.

선행연구자료[10]를 반영하는 단인자회귀모형 다항회귀법으로 그림 3의 자료들을 반영하는 실험식들을 작성하였다.(표 2)

표 2. 20% 염산을 리용하여 머리카락을 물작용분해한  
선행연구자료를 리용하여 추정한 실험식들\*

| 실험자료     | 실험식  | 추정조건  | $R^2$   | 식번호 |
|----------|--|---|---------|-----|
| 그림 3의 가) | $y = -3.388 \cdot 8 \times 10^{-3} x_1^3 + 0.200 \cdot 2 x_1^2 - 2.841 \cdot 5 x_1 + 30.513$ | $x_2 = 114^\circ\text{C}, x_3 = 10\text{h}$ | 0.971 0 | (1) |

| 실험자료     | 실험식   | 추정조건                            | $R^2$  | 식번호 |
|----------|---|---------------------------------|--------|-----|
| 그림 3의 ㄴ) | $y = -2.3407 \times 10^{-3} x_2^3 + 0.7123 x_2^2 - 71.186 x_2 + 2359.6$ | $x_1 = 28\%, x_3 = 10h$         | 0.9718 | (2) |
| 그림 3의 ㄷ) | $y = -3.6985 \times 10^{-2} x_3^3 + 0.5343 x_3^2 + 2.0288 x_3 - 3.9629$ | $x_1 = 28\%, x_2 = 114^\circ C$ | 0.9710 | (3) |

\*  $x_1, x_2, x_3, y$  는 각각 염산농도(%)와 온도( $^\circ C$ ), 시간(h), 물작용분해액의 아미노산농도(g/dL)임.

114 $^\circ C$ 에서 20% 염산을 리용할 때 물작용분해시간에 따르는 아미노산농도변화 식 (1)에 따르는  $y$  값들을 식 (3)에 따르는  $y$  값들과 극대값이 일치하도록 수정하고 수정한  $y$  값들에 대응하는  $x_3$  값들을 식 (3)에 의하여 거꿀추정하였다.(표 3)

표 3. 114 $^\circ C$ 에서 염산농도별 물작용분해결과에 해당하는 물작용분해시간의 거꿀추정

| 염산농도<br>/% | 물작용분해 10h만에 분해액속의<br>아미노산농도/(g·dL <sup>-1</sup> ) |       | 물작용분해시간추정 |       |
|------------|---|-------|-----------|-------|
|            | ㄱ   | ㄴ     | ㄷ         | ㄹ     |
| 20         | 26.65   | 26.37 | 7.680h    | 1.339 |
| 28         | 33.52   | 33.17 | 10.281h   | 1.000 |

ㄱ: 식 (1)을 리용하여 얻은 회귀값, ㄴ: 식 (1)에 의한 추정극대값(33.955g/dL)이 식 (3)에 의한 추정극대값(32.603g/dL)에 일치되도록 결수 0.9896(=33.603/33.955)을 곱한 값, ㄷ: ㄴ에 대하여 식 (3)을 리용하여 거꿀추정한 값, ㄹ: 염산농도가 28%일 때의 ㄷ값을 염산농도가 20%일 때의 ㄷ값으로 나눈 값

반응시간들에 1.339(표 3의 ㄹ)를 곱하는 방법으로 114 $^\circ C$ 에서 28% 염산을 리용할 때의 아미노산농도변화(그림 3의 ㄷ))를 114 $^\circ C$ 에서 20% 염산을 리용할 때의 아미노산농도변화로 변환하였다.(그림 4)

그림 4의 곡선 2에 대한 다항회귀식은 다음과 같이 주어졌다.

$$y = -1.3938 \times x_3^3 + 0.2284 x_3^2 + 2.5925 x_3 - 9.3898 \quad (R^2 = 1, x_1 = 20\%, x_2 = 114^\circ C) \quad (4)$$

110 $^\circ C$ 에서 20% 염산을 리용할 때 물작용분해시간에 따르는 아미노산농도변화 식 (2)에 따르는  $y$  값들을 식 (4)에 따르는  $y$  값들과 극대값이 일치하도록 수정하고 수정한  $y$  값들에 대응하는  $x_3$  값들을 식 (4)에 의하여 거꿀추정하였다.(표 4)

그림 4의 곡선 2에 해당하는 모든 반응시간들에 1.119(표 4의 ㄹ)를 곱하여 20% 염산을 리용할 때 114 $^\circ C$ 에서의 아미노산농도변화를 110 $^\circ C$ 에서의 아미노산농도변화로 변환하였다.(그림 5)

110 $^\circ C$ 에서 20% 염산을 리용할 때 물작용분해시간에 따르는 아미노산농도변화 단백질구성 아미노산잔기들의 평균분자량 111.14[7]에 근거하여 아미노산의 평균분자량을 129로 볼 때 그림 5로부터 물작용분해시간에 따르는 아미노산농도변화( $y_{aN}$ )변화를 구하였다.(그림 6의

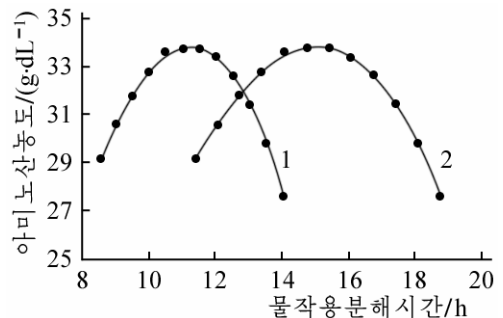


그림 4. 114 $^\circ C$ 에서 머리카락을 염산물작용 분해할 때 염산농도별로 추정된 물작용 분해시간에 따르는 아미노산농도변화 1, 2는 각각 염산농도가 28, 20%일 때

곡선 1)

표 4. 20% 염산을 리용할 때 반응온도별 물작용분해결과에  
해당한 물작용분해시간의 거꿀추정

| 온도/℃ | 물작용분해 10h만에 분해액속의<br>아미노산농도/(g·dL <sup>-1</sup> ) |        | 물작용분해시간추정 |       |
|------|---|--------|-----------|-------|
|      | Γ   | Λ      | ㄷ         | ㄹ     |
| 110  | 32.135  | 32.715 | 13.465h   | 1.119 |
| 114  | 32.207  | 33.806 | 15.067h   | 1.000 |

Γ: 식 (2)를 리용하여 얻은 회귀값, Λ: 식 (2)에 의한 추정극대값(33.213g/dL)  
이 식(4)에 의한 추정극대값(33.813g/dL)에 일치되도록 결수 1.018 0(=33.813/33.213)  
을 곱한 값, ㄷ: Λ에 대하여 식 (4)를 리용하여 거꿀추정한 값, ㄹ: 114℃에서  
의 ㄷ값을 110℃에서의 ㄷ값으로 나눈 값

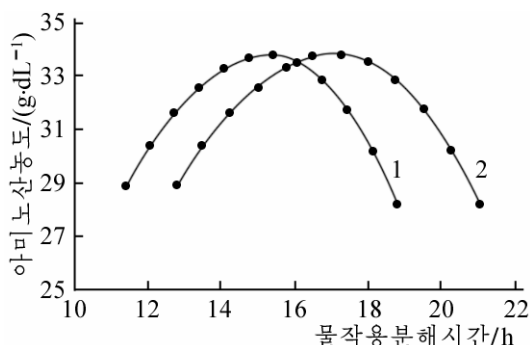


그림 5. 20% 염산을 리용하여 머리카락을  
염산물작용분해할 때 반응온도별로  
추정된 물작용분해시간에 따르는  
아미노산농도변화

1, 2는 물작용분해온도가 각각 114, 110℃일 때

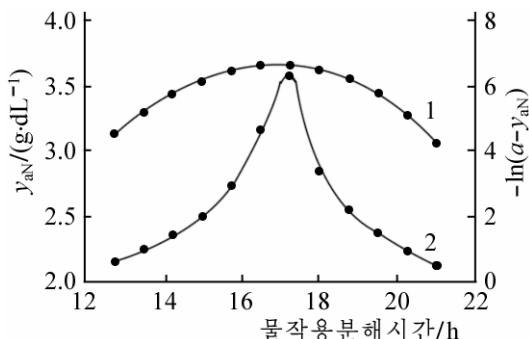


그림 6. 110℃에서 20% 염산을 리용하여 머리카락을  
염산물작용분해할 때 물작용분해시간에  
따르는 아미노산농도( $y_{aN}$ )변화(1) 및

$-\ln(a - y_{aN})$  변화(2)

$a = 3.669 \text{ g/dL}$ : 1의 극대값

110℃에서 20% 염산을 리용할 때  $k_{app}$  값 그림 6에서 물작용분해시간에 따르는  $y_{aN}$  및  $-\ln(a - y_{aN})$ 의 증가와 감소는 각각 아미노산의 생성(물작용분해)과 분해(손실)를 의미한다.[4]

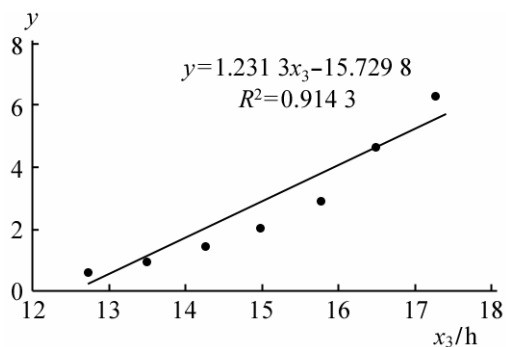


그림 7. 110℃에서 20% 염산을 리용하여  
머리카락을 염산물작용분해할 때  
결보기반응속도상수( $k_{app}$ )값결정  
 $x_3$ : 물작용분해시간,  $y$ :  $-\ln(a - y_{aN})$

그림 6의 곡선 2에서 물작용분해시간에 따라  $-\ln(a - y_{aN})$  값이 증가하는 부분의 경사도는 최소  
두제곱법에 의하여 1.231 3으로 계산되었다.(그림 7)  
따라서 20% 염산을 리용할 때 110℃에서의  
 $k_{app}$  값은 1.231이다.

## 2) 121℃에서 $k_{app}$ 값

선행연구[3]에서는 20% 염산을 리용하여  
110℃에서 16h동안 방치하는것이 아니라 30~  
60min동안 고압증기(0.102MPa, 121℃)처리하면 단  
백질과 펩티드를 완전히 물작용분해할수 있다고  
결론하였다. 이에 따라 110℃에서의 일반가열에 의  
한 물작용분해시간 16h에 121℃에서의 포화수증  
기가열에 의한 물작용분해시간 30min 또는 60min

을 대응시키면 110°C에서의 물작용분해자료(그림 6)가 121°C에서의 포화수증기-염산물작용분해자료로 변환된다.(그림 8)

그림 8의 자료를 110°C에서와 똑같은 방법으로 계산한 결과 20% 염산을 리용할 때 121°C에서의  $k_{app}$  값은 19.70~39.40이다.

### 3) 150°C에서 $k_{app}$ 값

선행연구[6]에서는 20% 염산을 리용할 때 아미노산조성을 분석하는 단백질시료들에 있어서 150°C의 2.45GHz 초고주파-염산물작용분해는 110°C에서 24h동안 가열하는 전통적인 염산물작용분해에 비할바없이 빠른 방법으로서 대부분의 펩티드결합들을 끊어버리는데 가장 적당한 물작용분해시간은 10~30min이라고 결론하였다. 이에 따라 110°C에서의 일반가열에 의한 물작용분해시간 24h에 150°C에서의 초고주파가열에 의한 물작용분해시간 10min 또는 30min을 대응시킬 수 있다. 다시말하여 110°C에서 20% 염산을 리용한 머리카락의 물작용분해자료(그림 6의 곡선 1)가 150°C에서의 초고주파-염산물작용분해자료로 변환된다.(그림 9)

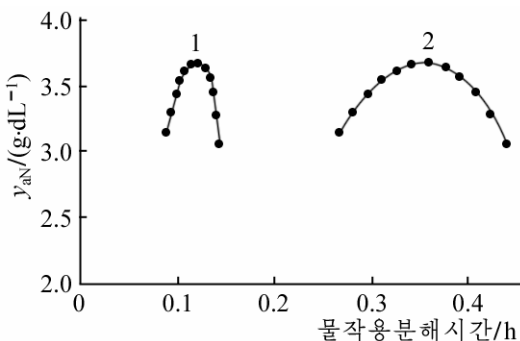


그림 9. 20% 염산을 리용하고 초고주파(2.45GHz, 150°C)가열을 적용하여 머리카락을 염산물작용분해할 때 물작용분해시간에 따르는 아미노산농도변화

1, 2는 110°C에서의 일반가열 24h에 대응하는 150°C에서의 초고주파가열시간이 10, 30min일 때

용하면 반응온도가 110°C보다 높아지는 동시에 반응계의 압력도 2~4배 높아진다. 따라서 110°C보다 높은 온도에서 단백질을 염산물작용분해할 때 온도증가와 함께 압력증가도  $k_{app}$  값에 영향을 미친다고 보는것이 정확하다.

과도상태이론에 의하면 활성화복합물의 형성속도가 기체반응인 경우 압력의 2제곱에 비례한다. 과도상태이론은 기체반응을 위주로 전개되고 반응물이 기체상태인 반응을 설명하는데는 적합하다. 단백질의 염산물작용분해는 일반적으로 용액상태로 진행되며 염화수소기체속에서 진행되는 경우[7]는 매우 드물다. 따라서 액체반응을 위주로 하는 단백질의 염

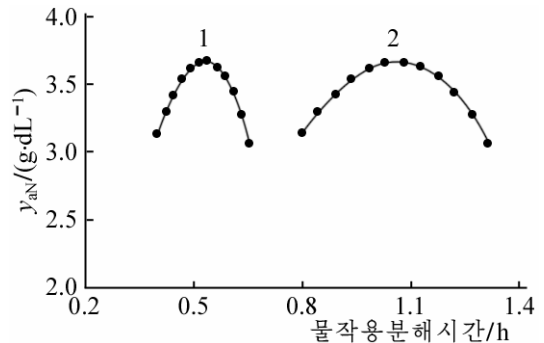


그림 8. 20% 염산을 리용하고 포화수증기(0.102MPa, 121°C)가열을 적용하여 머리카락을 염산물작용분해할 때 물작용분해시간에 따르는 아미노산농도변화  
1, 2는 110°C에서의 일반가열 16h에 대응하는 포화수증기가열시간이 각각 30, 60min일 때

그림 9의 자료도 110°C에서와 똑같은 방법으로 계산한 결과 20% 염산을 리용할 때 150°C에서의  $k_{app}$  값은 59.10~177.3이다.

### 4) 50~150°C에서 $k_{app}$ 값의 반응온도의존성

여러가지 가열방법들에 의하여 주어진  $k_{app}$  값들을 종합하는 근거 단백질의 포화수증기-염산물작용분해[3]에서는 0.10MPa의 포화수증기를 리용하여 반응온도를 121°C로 높이므로 압력이 0.20MPa로 높아진다. 단백질의 초고주파-염산물작용분해[6]에서는 밀폐형반응용기[12]를 리용하므로 반응온도가 150°C까지 높아질 뿐아니라 압력도 0.31~0.44MPa까지 높아진다. 결국 단백질의 염산물작용분해에서 일반가열 대신 초고주파가열이나 포화수증기가열을 적

용하면 반응온도가 110°C보다 높아지는 동시에 반응계의 압력도 2~4배 높아진다. 따라서 110°C보다 높은 온도에서 단백질을 염산물작용분해할 때 온도증가와 함께 압력증가도  $k_{app}$

산물작용분해에 과도상태리론이 절대적으로 부합된다고 보기 어렵다.

더우기 선행연구에서는 단백질의 초고주파-염산물작용분해에 0.31~0.44MPa의 압력이 조성되었지만 압력에 비하여 온도가 단백질의 초고주파물작용분해에서 더 중요한 지표로 된다고 지적[6]하였다. 이보다 더 낮은 0.2MPa의 압력이 조성된 포화수증기-염산물작용분해[3]에서도 형편은 같을것이다.

한편 밀짚과 물의 혼합물(고액비 1/10)에 2~5MPa의 CO<sub>2</sub>기체를 투입할 때 반섬유소의 물작용분해속도상수( $k_{app}$ )값이 1.4배로 높아졌다.[9] 또한 식품을 방온도 또는 보다 낮은 온도에서 200~1 000MPa의 고압 및 초고압으로 처리하면 가열하거나 랭동할 때보다 그 품질이 뚜렷이 개선되었는데 그 원리는 고압 및 초고압이 단백질의 1차구조를 파괴하지 않으면서 2차구조를 안정화하고 3차구조와 4차구조를 변화시킴으로써 식품의 품질에 부정적 영향을 미치던 효소들을 불활성화시키는데 있다.[11] 이러한 자료들은 단백질의 염산물작용분해와 같은 용액반응에서 압력을 대기압의 불과 몇배정도나 높여서는 반응의 속도나 차수가 유의하게 변화되지 않는다는것을 시사한다.

결국 20% 염산을 리용하고 단백질의 농도(또는 함량)를 일정하게 보장하는 조건에서 단백질의 염산물작용분해에 여러가지 가열방법들을 적용할 때 압력이 0.1~0.5MPa범위에서 변화되어도  $k_{app}$  값의 변화는 거의나 온도에만 의존한다고 볼수 있다.

아레니우스그래프의 작성과 해석 여러가지 가열방법들에 의하여 50~150℃에서 결정된  $k_{app}$  값들을 종합하였을 때  $k_{app}$  값들은 100~150℃에서 급격히 증가하였으며 아레니우스그래프에서는 2개의 꺾임점들이 나타났다.(그림 10)

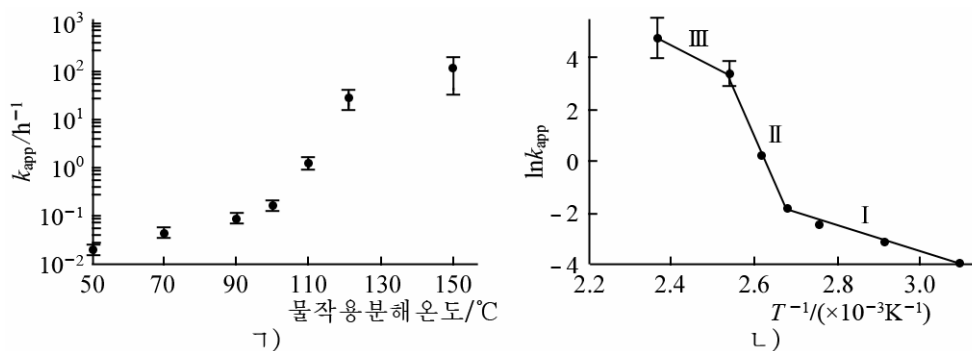


그림 10. 20% 염산을 리용하여 머리카락을 염산물작용분해할 때 반응온도에 따르는  $k_{app}$  변화(㉠)와 아레니우스그래프(㉡)

아레니우스그래프에서 꺾임점들을 경계로 주어지는 3개의 직선부분들( $R^2=0.985\sim1.000$ )에 의하여 계산된 활성화에너지( $E_a$ )와 잣음도인자( $A$ )들은 뚜렷이 차이났다.(표 5)

표 5. 20% 염산을 리용하여 머리카락을 물작용분해할 때 50~150℃에서 작성한 아레니우스그래프에 대한 해석

| 부분* | 온도/ $^{\circ}C$ | $E_a/(kJ \cdot mol^{-1})$ | $A$                  |
|-----|-----------------|---------------------------|----------------------|
| I   | 50~100          | 41.0                      | 139                  |
| II  | 100~121         | 301.8                     | $2.45 \cdot 10^{41}$ |
| III | 121~150         | 66.3                      | $1.8 \cdot 10^{10}$  |

\* 그림 10의 ㉡)

아레니우스그래프의 직선부분들에 대응하는 요소단계 아레니우스그래프의 II 부분(그림 10의 L))은 A값이 다른 부분들에 비할바없이 큰데 이것은 100~121°C에 해당된다.(표 5) 단백질의 염산물작용분해에서 A값이 커지자면 적당한 온도가 보장되어 우선 단백질분자가 재료로부터 용해되고 완전변성되어 펩티드단위가 매질에 로출되어야 하며 다음으로 펩티드단위의 수소결합이 대대적으로 해리되어야 한다. 단백질은 일반적으로 50~100°C에서 열변성되지만 그 결과가 결코 단백질의 완전변성이나 가용화가 아니라는것을 누구나 잘 알고 있다. 물의 수소결합은 50°C에서도 약 절반이 남아있으며 끓음점인 100°C에서도 적지 않게 남아있다. 펩티드단위의 수소결합도 형편은 마찬가지일것이다. 가장 보편적인 멸균법인 고압증기멸균에서 조작온도는 110~121°C이다. 케라틴을 주성분으로 하는 여러가지 털재료들을 알카리성매질에서 가용화할 때 가장 합리적인 온도는 100~115°C였다.[5] 이로부터 아레니우스그래프의 II 부분은 반응경로(그림 1)의 첫단계인 프로톤화를 반영한다고 볼수 있다.

아레니우스그래프의 III부분(그림 10의 L))은 A값이 비교적 큰데 이것은 121~150°C에 해당된다.(표 5) 121~150°C에서는 100~121°C에서 수소결합 해리된 펩티드단위들이 다시 수소결합에 참가하기 어렵다. 그리고 일단 프로톤화된 펩티드단위에서는 동적공액효과에 의하여 물의 부가와 펩티드결합의 약화가 가역적으로 일어난다. 이로부터 아레니우스그래프의 III부분은 반응경로(그림 1)의 다음단계인 물의 부가 및 펩티드결합의 약화를 반영한다고 볼수 있다.

아레니우스그래프의 I 부분(그림 10의 L))은 A값이 다른 부분들에 비할바없이 작는데 이것은 50~100°C에 해당된다.(표 5) 물이 부가되고 펩티드결합이 약화된 펩티드단위는 비가역적으로 프로톤을 내놓으면서 새로운 카르복실말단과 아미노말단을 형성한다. 다른 요소단계들이 가역적인 반면에 이 요소단계가 비가역적이라는것은 다른 요소단계들에 비하여 이 요소단계에서 A값이 작아진다는것을 의미한다. 이로부터 아레니우스그래프의 I 부분은 반응경로(그림 1)의 마감단계인 펩티드결합의 분해를 반영한다고 볼수 있다. 이 판단은 아레니우스그래프의 세 직선부분들 가운데서 2개에 해당하는 요소단계들이 반응경로(그림 1)에서 판정된것만큼 나머지가 마감단계뿐이라는 단순한 사고에도 부합된다.

단백질의 염산물작용분해에서 툴속단계 반응경로(그림 1)에 있는 3개의 요소단계들 가운데서 가장 큰  $E_a$ 값(표 5)은 펩티드단위의 프로톤화에서 주어졌다. 따라서 단백질의 염산물작용분해에서는 펩티드단위의 프로톤화가 툴속단계로 된다.

단백질의 염산물작용분해에서 판정된 툴속단계의  $E_a$ 값은 화학반응의  $E_a$ 값범위(40~400kJ/mol)에서 상당히 높은 수준에 있다. 이것은 단백질의 염산물작용분해에서 가열의 필요성과 의의를 뚜렷이 해준다. 이것은 또한 일반가열대신 초고주파가열이나 포화수증기가열을 적용할 때 반응시간이 대폭 단축되는 근본원인이 염산의 끓음특성에 구애됨이 없이 충분히 높은 반응온도가 보장되는데 있다는것을 보여준다.

## 맺 는 말

1) 단백질재료(머리카락)의 함량을 일정하게 보장하고 20% 염산을 리용하는 단백질의 염산물작용분해에 일반가열이나 초고주파가열, 포화수증기가열을 각기 적용한 선행연구자료들을 0.1~0.5MPa의 압력변화효과를 무시하면서 종합할 때  $k_{app}$  값의 온도의존성분석범위는 50~150°C로 확장된다.

2) 단백질의 염산물작용분해경로에서  $E_a$ 값은 펩티드단위의 프로톤화단계와 물의 부가 및 펩티드결합의 약화단계, 펩티드결합의 분해단계에 대하여 각각 301.8과 66.3, 41.0kJ/mol이며 펩티드단위의 프로톤화단계가 툴속단계로 된다.



## 참 고 문 헌

- [1] 김광무 등; 화학과 화학공학, 5, 35, 주체90(2001).
- [2] 민병훈 등; 화학전서 9(유기화학 산소유도체), 김일성종합대학출판사, 410~412, 1996.
- [3] M. Badadani et al.; J. Chromatogr., B 847, 2, 267, 2007.
- [4] A. J. Darragh et al.; Anal. Biochem., 236, 199, 1996.
- [5] M. T. Holtzapple et al.; US 20100202936A1, 2010.
- [6] L. Joergensen et al.; J. Chromatogr., A 706, 1-2, 421, 1995.
- [7] E. Marconi; J. Agric. Food Chem., 48, 3348, 2000.
- [8] D. L. Nelson et al.; Lehninger Principles of Biochemistry, W. H. Freeman & Company, 77~112, 2013.
- [9] F. M. Relvas et al.; J. of Supercritical Fluids, 99, 95, 2015.
- [10] 韩国防 等; 化学世界, 41, 9, 496, 2000.
- [11] 刘世献 等; 食品科学, 21, 12, 171, 2000.
- [12] 赵建幸 等; 氨基酸和生物资源, 17, 3, 29, 1995.

주체109(2020)년 10월 5일 원고접수

### Rate Determining Step in the Hydrolysis of Protein Using Hydrochloric Acid

*Sim Myong Su*

There are the precedent data that severally applied common heating, microwave heating or saturated steam heating to the hydrolysis of protein using 20% hydrochloric acid and keeping content of protein material constant. Neglecting the effects of pressure variation of 0.1~0.5MPa, I synthesized these data, so that the analytical range for a temperature dependence of apparent rate constant ( $k_{app}$ ) were extended with 50~150°C. In a pathway of the hydrolysis of protein using hydrochloric acid, the values of activation energy were 301.8, 66.3 and 41.0kJ/mol respectively to the protonization step of peptide unit, the step of water addition and peptide bond attenuation and the cleavage one of peptide bond, respectively, therefore, the protonization step of peptide unit will be the rate determining one.

Keywords: protein, activation energy, rate determining step