KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 12, *No.* 1 (1980)

단백질의 유체 변형성

이 철 호
고려 대학교, 식품 공학과
(1979년 12월 5일 접수)

Rheological Properties of Food Proteins

Cherl Ho Lee
Department Food Technology, Korea University
(Reieved December 5, 1979)

서 론

우리들이 사용하는 식품 중에서는 단백질을 그 식품의 물리적 성질의 바탕으로 하고 있는 것이 많다. 예를 들어 우유의 콜로이드(colloid) 안정화는 카제인에 의하여 유지되며 두부의 유연한 조직(texture)도 대두 단백질에 의한 것이다. 최근 상당한 발전을 보이고 있는 조직화 단백 식품의 제조에 있어서도 원료 단백질의 물리적 성질이야말로 전 공정을 지배하는 요소인 것이다. 더 나아가 조직화 단백 식품에 사용되는 원료 단백질의 유체 변형성을 조정함으로서 원하는대로 제품의 품질을 재단할 수 있는 것이며, 이것이 조직화 단백 식품의 다양한 이용을 가능케 하는 큰 장점이 될 수있다.

단백질 식품의 품질을 "Tailor Making"하기 위해서는 이들 식품 단백질의 유체 변형성을 분자 구조적 차원에서 이해하여야 한다. 단백질 분자의 구조적 특성과 상호 작용에 의하여 표현되는 유체 변형성을 구체적으로 파악하고 정량적 수치로 표시함으로서 단백 식품의 공업적 생산이 가능한 것이다.

理想的 분산 용액의 유체 변형성

단백질은 분자량이 수천에서 수백만이나 되는 거대한 분자로서 용액 중에 분산 상태로 존재하며 그 분자 구조, 형태, 반응성의 특수성으로 인하여 이상적 분산 용액의 성질에서 크게 벗어나고 있다. 분산 용액의 특징은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 분산질 입자가 분산매의 흐름에 거슬리는 저항을 줌으로서 용액의 점성을 증가 시킨다.

Einstein[1]은 이상적 분산 용액의 상대 점도는 입자의 기하학적 형태와 분산질의 용적비(volume fraction)에 의하여 결정됨을 밝혀냈고, 구형의 입자가 분산 되어 있는 희석 용액에서의 a_1은 2.5에 해당함을 증명하였다.

$$\eta_{rel}=\frac{\eta}{\eta_0}=1+a_1\phi$$

η_{rel} : 상대 점도(relative viscosity)
η : 분산 용액의 점도
η_0 : 분산매의 점도
a_1 : 분산 입자의 기하학적 형태 계수
ϕ : 분산질의 용적 비

이 때의 희석 용액이란 분산 입자 사이의 상호 작용이 일어나지 않는 농도이며 주로 분산질의 용적비가 0.03 이하를 가르키며 이 이상의 고농도 용액에서는 Power series로 수정치를 가산할 수 있다[2].

$$\eta_{rel}=1+a_1\phi+a_2\phi^2+a_3\phi_3+\cdots\cdots$$

분산질의 분자량과 형태는 용액의 고유 점성도(intrin-

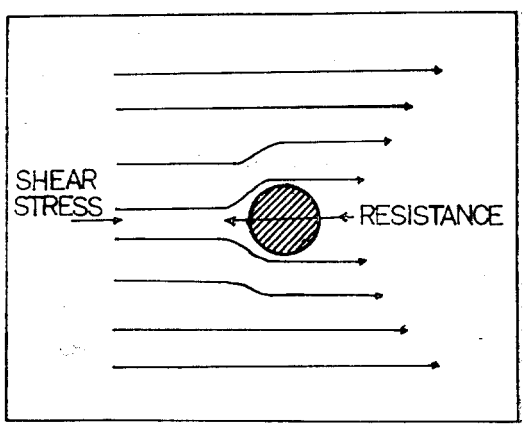

Fig. 1. Illustration of suspension viscosity

Table 1. 단백질의 유체 변형성에 영향을 주는 요소

1. 분자의 구조적 특성
   - 단백질 종류에 의한 고유 형상
   - 변성에 의한 형태 변화
2. 분자간 상호 작용
   - 농도 변화
   - Particle, aggregate의 크기

sic viscosity)를 측정 함으로서 규명할 수 있으며 Mark-Houwink 식에 의하면 다음과 같다[3].

$$[\eta]=\lim_{c\to o}\frac{(\eta-\eta_0)}{\eta_0\, c}=kM^a$$

$[\eta]$: Intrinsic viscosity
c : 분산질 농도
M : 분산질의 분자량
k, a : 상수

고유 점성도는 분산질의 분자량에 비례하며, 비례 계수 a는 분산 입자의 형태에 따라 결정되는데, 분산 입자가 견고한 구형일 때 $a=1$이며, 견고한 타원형일 때 $a=1.7\sim2.0$이 되고, 유연한 고분자 화합물에서는 $a=0.5\sim0.8$이 된다고 한다.

실제로 분산 입자의 형태를 나타내는 axial ratio를 구하려면 고유 점성도 이외에도 translational frictional coefficient나 rotational frictional coefficient와 같은 물리적 계수를 침강 실험, dielectric dispersion 실험 등에서 얻어야 한다[4]. 그러나, 고유 점성도 만으로도 분산 입자의 형태 변화와 이에 의한 유체 변형성의 영향을 정성적으로 관찰할 수 있다.

이상에서 고찰한 바와 같이 이상적 분산 용액에서 점성은 분산질의 분자량, 형태, 농도에 의하여 결정되지만 단백질 용액은 이외에도 단백질 분자의 구조적 특성과 분자간 상호 작용에 의하여 영향을 받는다(Table 1).

단백질 분자의 구조적 특성

단백질 분자의 구조적 특성은 단백질의 종류에 의한 고유 형상의 차이에 기인하는 것과 변성에 의한 형태 변화로 나누어 생각할 수 있다.

Table 2는 대두 단백질 glycinine, 우유의 β-lactoglobulin, 계란의 albumin, 근육의 collagen들의 분자 구조적 특성을 보여 주고 있다[5,6]. Glycinine의 분자량은 β-lactoglobulin이나 egg albumin 보다 10~20 배 크지만 형태를 나타내는 axial ratio는 거의 서로 비슷하여 모두 타원형의 球形 단백질임을 알 수 있다. 그러나, glycinine과 collagen은 분자량은 거의 비슷하나 axial ratio가 각각 8과 300을 나타내는 차이를 보임으로서 collagen은 섬유상 단백질(fiberous protein)임을 알 수 있다. Intrinsic viscosity는 glycinine 4.85(cm^3/g)와 collagen 1250(cm^3/g)으로서 axial ratio와 깊은 상관 관계를 나타내고 있다. 여기서 특히 중요시할 것은 加水량(hydration)인데 1g 단백질 당 0.15~0.45 g 수분의 범위로 낮은 값이고 서로 다른 단백질 간에 큰 차가 없는 것으로 나타나 있다. 이 가수량 data는 absorption isotherm이나 non-freezable 수분량을 결합수(bound water)로 보고, 측정하는 N.M.R.(nuclear magnetic resonance) 분석에 의하여 얻어진 것으로 실제 용액 중에서 단백질 분자와 함께 부유하는 solvated water와는 다른 것으로 생각된다. Edsall[4]은 hydrodynamic 측정법에 의하여 1 g 단백질에 solvation될 수 있는 수분량은 0.04~1.1 g 범위라고 발표하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 실제로 용액 중에서 단백질 분자와 함께 이동하는 물의 양은 bound water 보다 훨씬 큰 양일 것으로 생각되며 이 solvated water를 포함하는 총 체적이 실제로 단백질 용액의 유체 변형성을 결정짓는 단위라고 생각된다.

자연 상태에 있는 단백질 polypeptide chain의 3차 구조는 열, 산, 알카리, ionic strength, 기계적 힘 등의 외적 stress에 의하여 변성(denaturation)을 일으키는 동시에 그 형태가 변하게 된다. 질서있게 뭉쳐져 있던 구형의 단백질 분자는 변성에 의하여 peptide chain이 풀려 나옴으로서 random coil 형태를 취하게 되며 이로

Table 2. Hydrodynamic properties of food proteins

Characteristics	Soybean glycinine[5]	β-lactoglobulin[6]	Egg albumin[6]	Collagen[6]
M.W.	360.00	18,400	45,000	374,000
Axial ratio	8	2.5	4	300
Partial specific volume	0.708	0.751	0.748	0.71
Density	1.412	1.332	1.337	1.408
Hydration (g H_2O/g protein)	0.3	0.45	0.15	0.4
Frictional ratio	1.40	1.20	1.21	5.97
Intrinsic viscosity (cm^3/g)	4.85	3.4	4.3	1,250

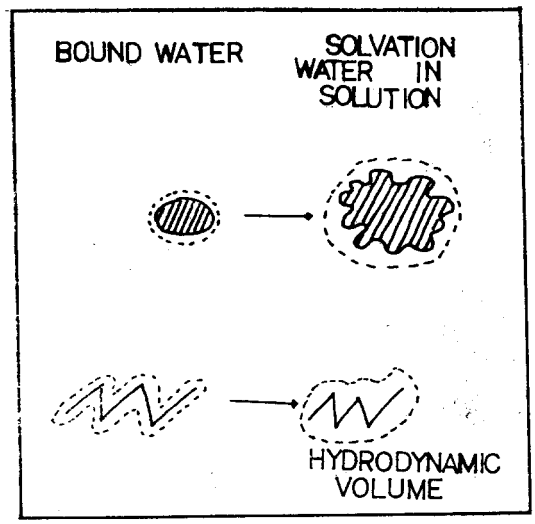

Fig. 2. Digramatic illustration of bound water and solvation water in protein molecule

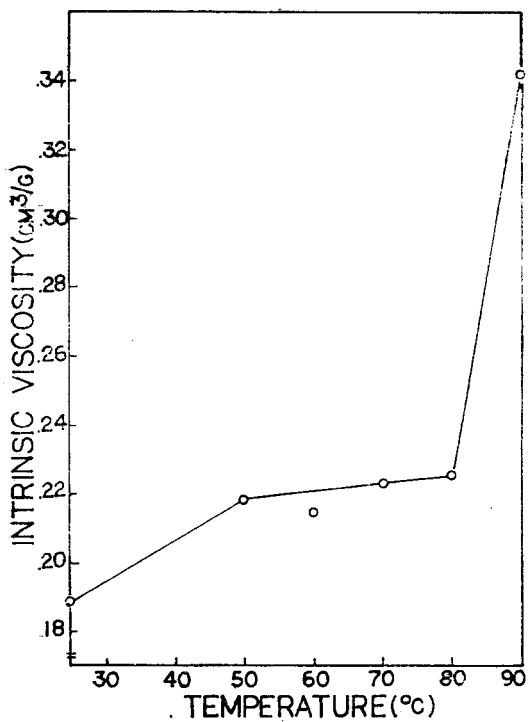

Fig. 3. Changes in the instrinsic viscosity of soybean protein isolate dispersion with heating temperature

서 단백질 분자의 axial ratio는 커지며 solvation water 량이 증가한다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 자연 상태에서 구형인 대두 단백질을 가열하면 80°C에서 급격히 intrinsic

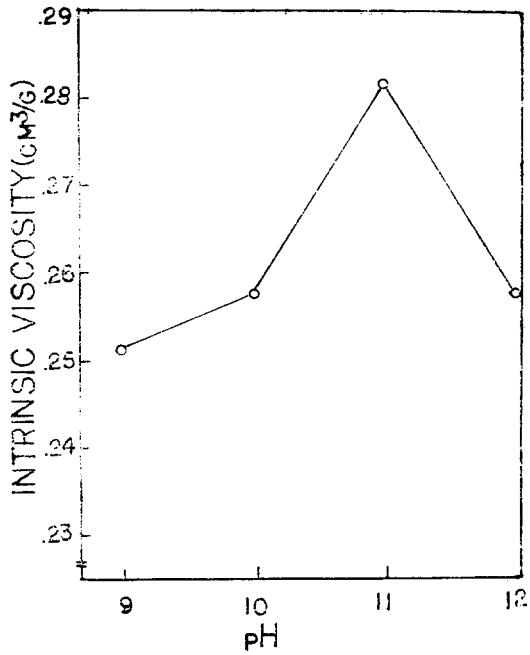

Fig. 4. Changes in the instrinsic viscosity of soybean protein isolate dispersion at alkaline pH

viscosity가 증가한다[7]. 이것은 대두 단백질이 열에 의하여 변성을 일으켜 80°C 부근에서 peptide chain이 풀려 나옴(unfolding)을 나타내고 있다.

Fig. 4는 대두 단백질의 고유 점성도가 알카리 처리에 의하여 pH 11에서 급격히 증가 하였다가 다시 pH 12에서 감소되는 것을 보여준다[7]. 이것은 알카리 처리에 의한 대두 단백질 분자의 형태 변화로 해석할 수 있다. Ishino와 Okamoto[8]에 의하면 자연 상태의 대두 단백질은 pH 11 이하에서는 여전히 구형의 분자 형태를 유지하나 pH 11 부근에서 unfolding된다. 이 때 분자 내 소수성 영역(hydrophobic domain)은 그대로 유지되어 random coil 형태를 유지한다. 그러나 pH 12 이상으로 되면 이 소수성 영역이 붕괴되고 단백질 분자의 가수 분해가 일어난다. 이러한 사실은 Fig. 4에서본 고유 점도 변화와 일치하는 것이다.

단백질 분자간 상호 작용

식품에 사용되는 단백질은 대개 그 농도가 비교적 높아 단백질 분자간의 상호 작용이 유체 변형성에 크게 영향을 줄 수 있다. 단백질 분자 간에 작용하는 힘의 종류를 요약하면 Table 3과 같다[9,10]. 단백질 분자들 사이에 작용하는 힘은 그 작용이 미치는 거리에 따라 long range force와 short range force로 나눌 수 있는데

Table 3. 단백질 분자간에 작용하는 힘의 종류

힘 의 종 류	분자내결합력 (Kcal/*mole*)	작용거리 (Å)
Long range force London-van der Waals force	1 ~ 3	3~5
Short range force Hydrogen bond	2 ~ 10	2~3
Ionic bond	10 ~ 20	2~3
Covalent bond	30 ~100	1~2
Hydrophobic association	—	—

long range force는 van der Waals attractive force가 주로 작용하며 그 작용 거리는 3~5 Å, 분자내 결합력은 1~3 Kcal/*mole*로 비교적 적은 힘이다. 그러나, van der Waals force는 선택성이 없이 분자간 접촉에 의하여 물리적 결합을 이룰 수 있는 것이므로 영향력이 크다. Short range force에는 수소 결합, 이온 결합, 공유 결합 등 화학적 반응에 의한 결합력이며 수소 결합은 van der Waals force보다 약 3배, 이온 결합은 약 10배, 공유 결합은 약 30~100배 큰 선택성 결합력을 가진다. Hydrophobic association은 단백질 분자 내의 소수성

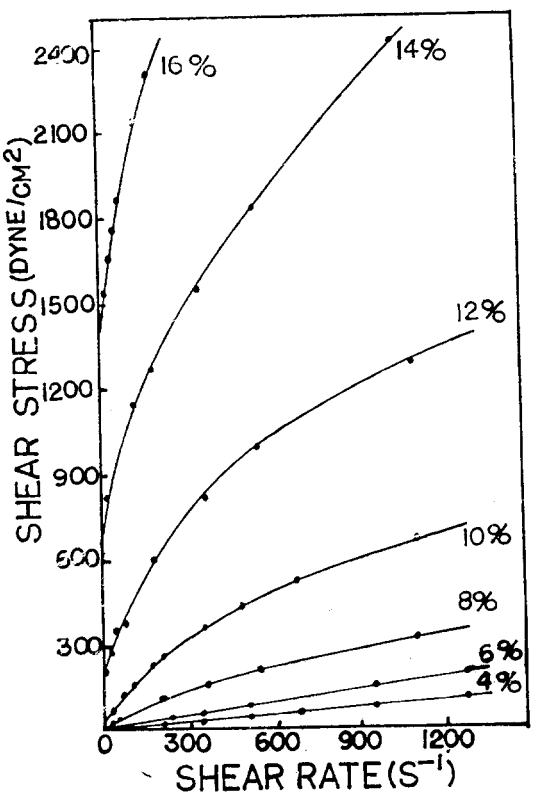

Fig. 5. Flow curves at various concentrations of soyean protein isolate in distilled water (% based on dry weight)

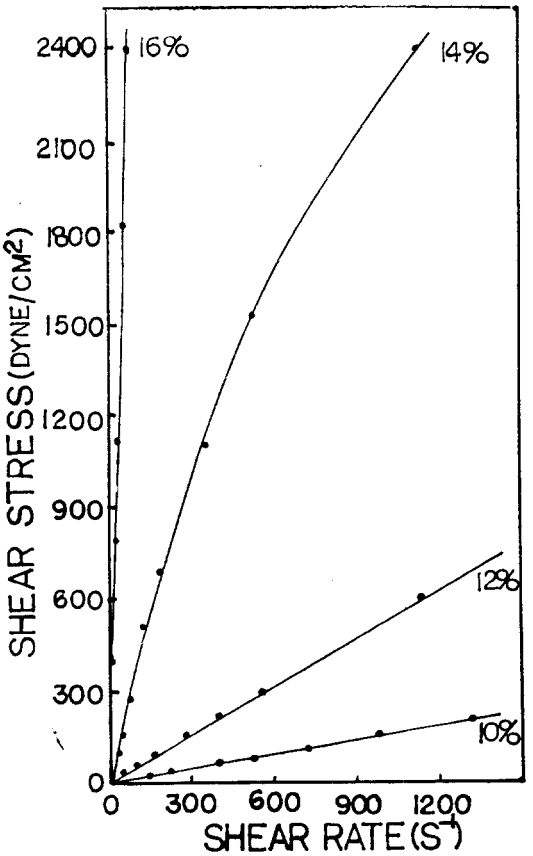

Fig. 6. Flow curves at various concentrations of caseinate dispersions in distilled water (% based on dry weight)

영역들이 친수성 분산매 속에서 구축 당하므로서 결합되는 것으로 단백질의 변성에 의한 aggregation이나 gelation에 크게 작용하는 요인으로 주목되고 있다. 이러한 여러가지 상호 작용력은 어느 일정 system에 유일하게 일어난다기 보다는 여러가지 결합력이 동시에 작용하는 것이 통례이다.

단백질의 농도가 증가함에 따라 분자간 거리가 좁혀지고 충돌 회수가 커짐으로 여러가지 결합력이 작용할 수 있게되며 이로 인하여 용액의 점도는 증가하게 되는 것이다. Fig. 5는 분리 대두 단백 용액의 유체 변형성이 단백질 농도에 따라 변함을 보여준다. 단백질 농도 4~6 %일때 용액은 Newtonian fluid인 것처럼 보이나 농도가 증가함에 따라 강한 pseudoplastic 성질을 나타낸다. 단백질 농도가 12 %를 넘어 서면서 부터 높은 yield stress를 나타냄으로서 젤과 유사한 성질을 가짐을 알 수 있다[11].

Fig. 6은 카제인 용액의 경우인데 단백질 농도가 10 %

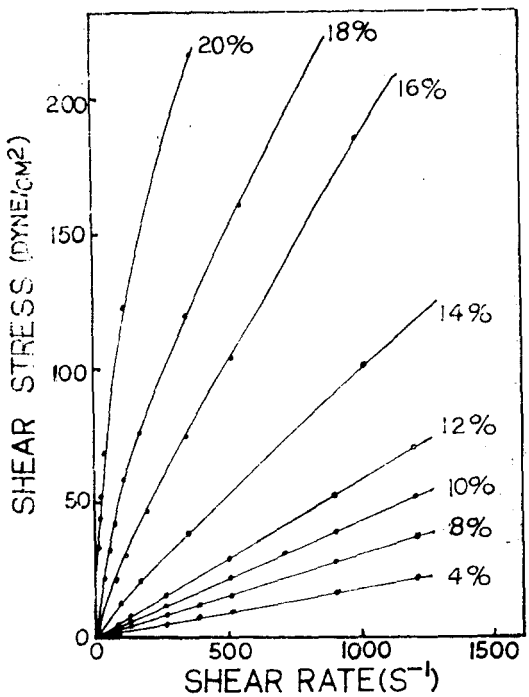

Fig. 7. Flow curves at various concentrations of WPC dispersions in distilled water (% based on dry weight)

가 되도록 Newtonian flow를 나타내나 14 %를 넘어서면 pseudoplastic 성질을 나타낸다. 카제인은 농도가 16 %가 되도록 yield stress를 나타내지 않는다[11].

Fig. 7은 whey protein의 경우인데 단백질 농도 12 %까지는 Newtonian flow를 가지나 그 이상에서는 pseudoplastic fluid가 되며 20 %에서 처음 yield stress를 나타내기 시작한다[11].

Non-Newtonian 유체 변형 모델

단백질의 non-Newtonian 유체 성질을 정량적으로 나타내기 위하여 여러가지 경험적 수식이 시도되어 왔으나 가장 널리 적용되는 것이 Power law이다[12].

$\tau = K\dot{\gamma}^n$, 여기서

τ : shear stress

$\dot{\gamma}$: shear rate

K : consistency index

n : Power law constant

Power law는 shear dependent flow 중에서 특히 pseudoplastic fluid(저어주는 속도가 클수록 묽어지는 용액)와 dilatant fluid(저어주는 속도가 클수록 점도가 증가하는 용액)에 적용할 수 있는 공식이다. Shear stress가 shear rate의 n승에 비례할 때 K는 non-Newtonian 점성을 나타내는 consistency index로 쓰이며 n은 Power law constant 혹은 flow behavior index라하여 용액이 Newtonian flow에서 얼마나 벗어나는가를 나타내는 수치이다. Power law constant(n)는 Newtonian flow에서 1이며 pseudoplastic flow에서는 1보다 적은 수, 즉 $0<n<1$, dilatant에서는 1보다 큰 수를 가지게 된다. Power law 모델에 속하는 용액은 shear rate의 변화에 따른 shear stress의 변화를 log-log scale에 표시할 때 직선을 나타내며 이때 직선이 가지는 경사도가 n이며 shear rate가 0일때 shear stress의 값이 K

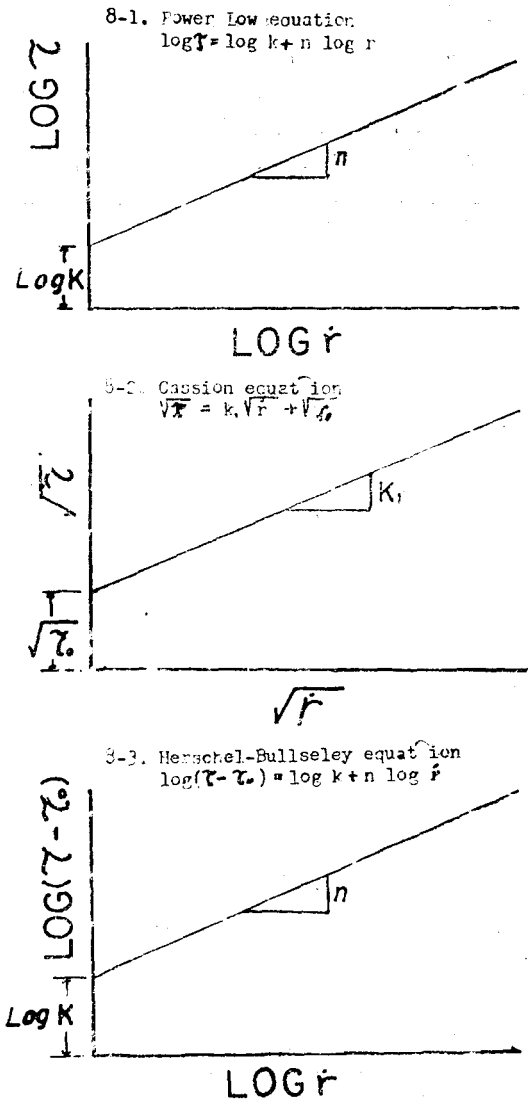

Fig. 8. Empirical methods of expressing non-Newtonian flow behavior

가 되는 것이다.

대두 단백질 용액과 같이 yield stress를 가지는 용액에 대하여는 Herschel-Bulkley 式을 적용하여 total shear stress에서 yield stress를 뺀 값이 shear rate의 n 승에 비례하게 된다. $\tau-\tau_0=K\dot{\gamma}^n$, 여기서 τ_0= yield stress이다. 이때 yield stress는 Casson式, 即 $\sqrt{\tau}=K_1\sqrt{\dot{\gamma}}+\sqrt{\tau_0}$ 로 구할 수 있다.

이것은 shear stress의 제곱근 값과 shear rate의 제곱근 값이 직선적인 상관 관계를 가지고 있을 때 shear rate의 제곱근 값이 0이 되는 점에서의 shear stress를 yield stress로 구하는 것이다.

Fig. 8은 non-Newtonian 용액의 유체 변형성을 도식에 의하여 경험적 수식으로 표현하는 방법을 나타내고 있다.

Table 4는 Fig. 5, 6, 7에서 보인 단백질 용액의 유체 변형성을 경험적 수식에 의한 유체 변형 계수로 나타낸것이다. 대두 단백질 용액은 단백질 농도 8% 이상에서 부터 yield stress를 보이며 농도가 높아짐에 따라 급격히 증가한다. Power law 常數는 농도가 높아감에 따라 급격히 감소한다. 이것은 단백질 농도가 높아감에 따라 용액은 점점 더 non-Newtonian 성질을 띄게 됨을 말해 주는 것이다. 농도 증가에 따른 급격한 yield stress의 증가로 consistency index는 비교적 서서히 증가하는 것으로 나타난다.

Table 4. The effect of concentration on the Power law constants of dispersions in distilled water

Protein	Conc. (%) by D.W.	τ_0	n	K
Promine-D	4	0	0.91	0.11
	6	0	0.85	0.33
	8	7	0.76	1.5
	10	48	0.68	7.8
	12	194	0.67	11
	14	597	0.64	25
	16	1271	0.52	62
Caseinate	4	0	0.92	0.036
	6	0	0.99	0.036
	8	0	1.01	0.062
	10	0	0.94	0.23
	12	0	0.90	1.1
	14	0	0.83	9.1
	16	0	0.82	89
	18	0	0.82	632
	20	0	0.90	2862
WPC	4	0	0.94	0.027
	6	0	0.97	0.030
	8	0	0.98	0.034
	10	0	0.95	0.059
	12	0	0.93	0.079
	14	0	0.87	0.24
	16	0	0.77	0.78
	18	8	0.77	1.1
	20	21	0.67	3.9

카제인 용액은 농도가 20 %가 되도록 yield stress를 나타내지 않으며 Power law 常數도 비교적 서서히 감소한다. 반면에 consistency index는 농도 증가에 따라 빠르게 증가함을 보여준다. Whey protein의 경우 yield stress는 20 %에서 처음 나타나며 Power law 常數는 카제인 보다 많이 감소하나 consistency index는 이주 낮은 값을 가진다. 이와 같이 경험적 모델 수식을 적용함으로서 non-Newtonian 단백질 용액의 유체 변형성을 알기 쉽게 정량적 수치로 규명할 수 있는 것이다.

단백질 Aggregate

식품 단백질은 단일 분자 상태로 용액 중에 분산되어 있는 예가 적으며 대개의 경우 두개 이상의 분자가 집합된 상태로 존재한다. 단백질 용액은 단백질 분자의 aggregate된 정도에 따라 다양한 유체 변형성을 나타낼 수 있다.

Fig. 9의 曲線 A는 분무 건조된 분리 대두 단백을 서서히 수용액에 분산시킨 것으로 최대 분산 입자의 크기가 100 μ 정도나 되는 것이다. 이 용액은 비교적 높은 점도를 나타내며 shearing 하는 시간이 경과될 수록 점도가 증가하는 rheopectic 성질을 보이고 있다[13].

曲線 B는 같은 분리 단백을 Waring blender로 3분간 攪拌 함으로서 분산 시킨 수용액으로 분산 입자의 크기는 상당히 감소 되었으며 그에 따라 점도는 낮아지고 약한 rheopectic 성질을 나타내었다.

曲線 C는 냉동 건조 시킨 분리 단백을 수용액에 분산시킨 것으로 분산 입자의 크기를 대두 단백의 protein body 크기로 본다면 10 μ 정도이며 이 때에는 거의 Newtonian flow property를 나타내고 있다.

분리 대두 단백질의 분산 입자의 크기는 기계적 힘 이외에도 수용액의 pH, 열 처리 등에 의하여도 변하는데[14], 이러한 사실은 같은 단백질 검체에서 시료의 제조 방법이 다소 차이가 날때 그 유체 변형성은 크게 달라질 수 있음을 시사하고 있다.

대두 단백질에 충분량의 Ca^{++}을 가하면 심한 aggrega-

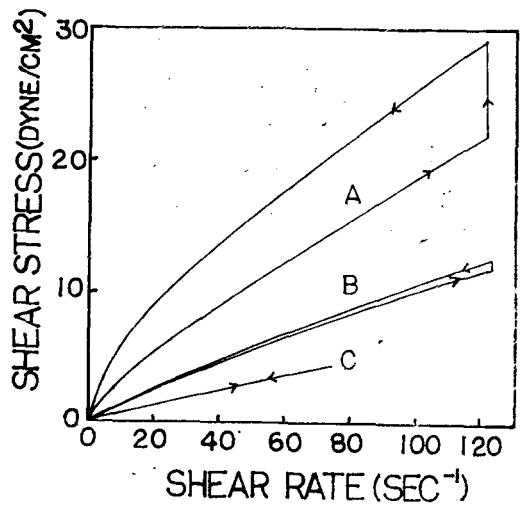

Fig. 9. The hysteresis curve for soybean protein dispersion (5%) in water prepared under different mixing conditions

A: Commercial soybean protein isolate dispersed in water by mixing at a shear rate of 100 sec^{-1} for 1 h

B: Commercial soybean protein isolate dispersed in water by mixing at a shear rate of 5,600 sec^{-1} for 3 min

C: Freeze-dried protein isolate dissolved in water by mixing at a shear rate of 100 sec^{-1} for 1 h

tion에 의하여 침전이 생기는데 소량의 Ca^{++}을 서서히 잘 저으면서 가하면 침전되지 않고 전체 용액의 점성이 증가하는 thickening effect가 일어난다[15]. 이것은 Ca^{++} bridge에 의한 protein-protein aggregation이 일정 방향으로 약한 결합을 이룬 상태에서 나타나는 유체 변형성이라고 볼 수 있다.

단백질은 용액 중의 다른 물질들과도 작용을 일으켜 그 유체 변형성에 큰 변화를 가져올 수 있다. 특히 거대 분자로 된 다른 hydrocolloid와의 작용은 실제 이용면에서 중요하게 다루어 지고 있다. Fig. 10에서 보는 바와 같이 대두 단백질 용액에 modified starch나 carrageenan을 점차적으로 가하여 열 처리를 하면 급격한 점도 증가를 보인다. 반면에 CMC나 alginate를 혼합 하였을 때에는 단백질—hydrocolloid 상호 작용에 의한 점성 증가가 크게 나타나지 않고 있다. 이것은 starch와 carrageenan이 대두 단백질과 강한 상호 작용을 일으킴으로서 분자간 bridge 형성에 의하여 점도가 급증하는 것으로 생각된다[14].

결 론

단백질은 그 분자 구조에 의한 내적 요소, 즉 분자의 크기, 고유 형태, 加水性등에 의하여 일차적 流體力學的 性質(hydrodynamic property)를 지니고 있다. 그러나, 이에 못지 않게 중요한 것은 단백질 용액이 받는 외적 요소(열, 산, 알카리, 염도, 단백질 농도 금속 이온, 다른 고분자 물질 및 기계적 힘)에 의하여 그 유체 변형성이 크게 달라질 수 있는 것이다. 단백질 용액의 유체 변형성을 분자 구조적 차원에서 이해 함으로서 용액의 점도와 기계적 성질을 원하는 대로 유도할 수 있으며 이것은 식품 제조 기술에 중요하게 사용될 수 있다. 단백질 용액의 공업적 처리를 위하여서는 그 유체 변형성을 정량적 관점에서 분석하여야 하며 여러가지 경험적 모델을 개발하여 다양한 유체 변형성을 양적으로 표시할 수 있어야 한다.

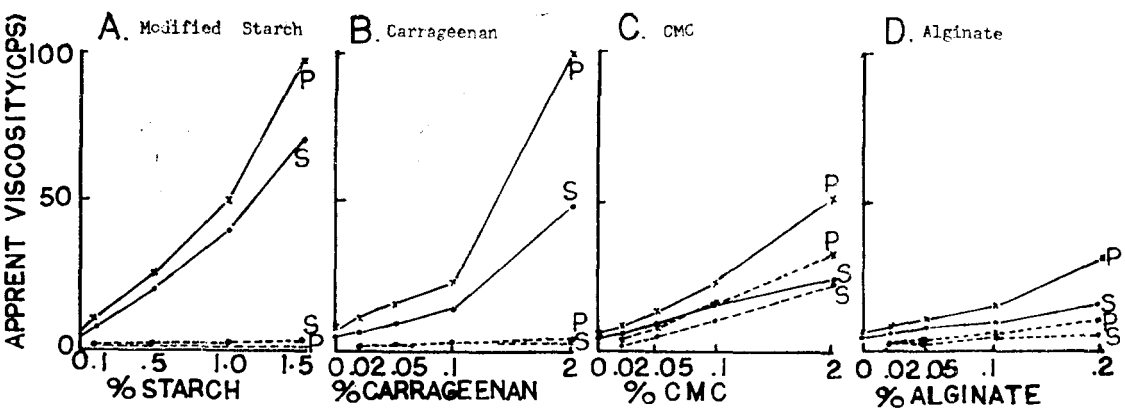

Fig. 10. The apparent viscosity of 5% soybean protein isolate dispersion with hydrocolloids

(P : Pasteurized, S : Sterilized) (—— : SPI+Hydrocolloid, ····· : Hydrocolloid only)

References

1. Einstein, A. : *Ann. Physik.* **19**, 289 (1906)
2. Lee, D. I. : *Transact. Soc. Rheol.*, 13(2), 273 (1969)
3. Frisch, H. L. and Simha, R. : *Rheology*, Ed. Eirich, F. R. Vol. 1, Academic Press, London (1956)
4. Cohn, E. J. and Edsall, J. T. : *Proteins, Amino Acids and Peptides*, Reinhold Pub. Corp., New York (1943)
5. Koshiyama, I. and Fukusima. D. : *Int. J. Pept. Protein Res.*, 8, 283. (1976)
6. Kuntz, I. D. and Kauzmann, W. : *Advances in Protein Chemistry*, Ed. Anfinsen, C. B., Edsell, J. T. and Richards., F. M., Vol. 28, 239, Academic Press, London (1974)
7. Chen, R. H. : *Mechanism of Soybean film formation*, PH. D. Thesis, M.I.T. (in press)
8. Ishino, K. and Okamoto, S. : *Cereal Chem.*, **52**, (1), 9 (1975)
9. Kitchener, J. A. : *Emulsion Science*, Ed. Sherman P., Academic Press, London, 77 (1968)
10. Johnes, R. T. : *Proteins and Their Reactions*, Ed. Schultz, H. W. and Anylemier, A. F., AVI. Wesport, U.S.A. (1974)
11. Hermansson, A. M. : *J. Texture Studies*, 5, 425 (1975)
12. Holdsworth, S. D. : *J. Texture Studies*, 2, 391 (1971)
13. Lee, C. H. and Rha, C. K. : *Food Texture and Rheology*, Ed. Sherman, P., Academic Press, London, 245 (1979)
14. Lee, C. H. and Rha, C. K. : *J. Food Sci.*, **44**, (2), 419 (1979)
15. Lee, C. H. and Rha, C. K. : *J. Texture Studies*, 7, 441 (1977)