

## 두 종류 임계 섞임체 단백질-물의 상전이 온도 근방에서 비선형 광학적 특성

조창호, 서영석, 김철민, 박종대, 이종수\*  
배재대학교 물리학과, \*배재대학교 유전공학과

## Nonlinear Optical Behavior of Binary Mixture Protein and Water near the Phase Separation Temperature

Chang-Ho Cho, Young-Seok Seo, Chil-Min Kim, and Jong-Dae Park and  
Jong-Soo Lee\*

*Dept. of Physics Paichai University*

*\*Dept. of Genetic Engineering, Paichai University*

임계 혼합물인 Lysozyme 과 물의 임계온도 근처에서 임계현상을 연구하였다. 자기유도 타원편광축회전에 의한 제3차 비선형 광학감수율을 상전이 온도 근처에서 측정하였으며, 불순물인 소금의 양의 증가는 상전이온도를 높이고 글리세롤 양이 증가함으로써 상전이 온도가 감소함을 관측하였다.

The critical behavior was studied in the mixture of lysozyme and salt water near the phase separation temperature. The 3rd order nonlinear optical susceptibility was measured through the self-induced ellipse rotation, and we observed that as the quantity of salt and glycerol increase, the phase separation temperature increases and decreases, respectively.

**Key words** : Optical susceptibility, Lysozyme, Phase separation

### I. 서 론

액체-액체 혼합물에서 일어나는 임계현상은 매우 다양하게 연구되어 실험과 이론에서 많은 발전이 있었다<sup>1</sup> 특히 상전이 물질이 유전체일 때, 상전이가 일어나는 온도 근처에서 유전체의 광학적 현상에 관해서 많은 연구가 진행 되었는데, 이는 유전을 측정<sup>2</sup>, 정전기장 유도 Kerr효과<sup>3</sup>, 빛산란실험<sup>4</sup> 등을 이용하여 수행되었다. 강력한 전기장이

나 자기장이 유전체에 가해질 때, 유전체는 유도된 비선형 광학 특성을 가지며, 임계온도 근처에서는 비선형 광학적 특성이 다른 물리적 양들과 같이 상전이 현상을 보여줄 수 있다. 이론적으로 액체-액체 혼합물에서 일어나는 상전이 현상은 방울모델(droplet model)에 의하여 잘 설명될 수 있다.(5) 비선형 유전체 효과는 가해진 정전기장에 의해서 몇 개의 추가적인 분자내부 또는 정전기장과 분자들과의 상호작용의 영향 때문인 경우가 많으며 특히 쌍극성 유전체(dipolar dielectrics)에서는 분자들의 재배치에 의한 유전율의 변화가 비선형 유전체 효과의 주된 요인이다<sup>2</sup>. 한편 전자들의

재배치와 관련된 비선형 광학 현상을 관측하기 위해서는 분자들의 재배치가 일어나기 전, 짧은 시간 동안만 전기장을 가해 주어야 하며, 펄스폭이 짧은 정전기장이거나 레이저 펄스를 사용하여 유전체에 복굴절을 유도하여 비선형효과를 관측할 수 있다.

단백질-물 로 이루어진 두 종류 액체 섞임체의 상전이 연구는 생체 조직에서 일어나는 현상과 매우 유사하여 생체의 역학 구조를 이해하는데 결정적인 단서를 제공하고 있다<sup>6</sup>. 정상적인 생체조직의 초분자, 즉 많은 분자로 형성되어 간다던가, 병리학적인 상태로 갈 때 정상적인 세포의 생리학적인 적절성과 비교검토하여 임계현상을 연구할 수 있다. 상전이가 중요한 역할을 하는 경우로 적혈구가 기형으로 형성되어가는 과정인 겸상 적혈구병(sickle-cell disease)이 있으며, 또한 포유류 동물 백내장의 진행과정에서 눈의 수정체 세포질이 혼탁하게 되는 현상도 액체-액체 상분리가 일어나는 과정으로 설명할 수 있다<sup>7</sup>.

수정체는 무게의 65%가 물이고, 35%가 단백질이며 그리고 소량의 소금으로 되어 있다. 투명한 수정체의 단백질은 90%가 결정체라 부르는 수용성 구조를 형성하고 있고, 물리학적으로 아직 알려지지 않는 알부미노이드라 부르는 수용성이 아닌 단백질이 수 % 들어있다<sup>7</sup>. 단일한 수정체 세포속의 혼합물은 유사한 두 종류의 혼합물로 생각할 수 있으며 주성분은 단백질과 물이다. 실험실에서는 온도를 내리면서 유도되는 'cold' 백내장 실험을 수행하는데, 이 실험을 통해서 포유류 동물의 백내장의 진행 과정과 단백질-물 혼합물에서 혼탁(turbidity)이 나타나는 두 종류 섞임체의 상분리 현상이 밝혀졌다<sup>8</sup>.

이 논문은 극성인 단백질과 극성인 소금물의 두 종류 섞임체를 시료로 사용하였으며 자기유도 타원편광축 회전방법에 의한 3차 비선형 광학감수율을 온도의 함수로 하여 측정하였다. 3차 비선형 광학감수율이 상전이 온도 근처에서 비선형적으로 변하여 발산됨을 보였다. 불순물을 첨가하여 상전이 온도의 변화를 광측하였다. 불순물인 소금 농도의 증가는 상전이 온도를 높이게 되고, 글리세롤 농도가 증가함에 따라서 상전이 온도가 낮아짐을 관측하였다.

**II. 자기유도 타원편광축 회전(self-induced ellipse rotation : SIER)[9]**

등방성이고 이색성(dichroism)이 없는 매질에 주파수  $\omega_1$ 인 평면파를 입사시켜 복굴절을 유도하고 여기에 주파수  $\omega_2$ 인 탐사광(probe beam)을 인가하여 얻은 비선형편극은 다음과 같이 쓸 수 있다.[10]

$$\begin{aligned}
 P_i(\omega_1) &= 6[\chi_{1122}^{(3)}(-\omega_1, \omega_1, \omega_2, -\omega_2) \\
 &E_i(\omega_1)(E_j(\omega_2)E_j^*(\omega_2)) \\
 &+ \chi_{1212}^{(3)}(-\omega_1, \omega_1, \omega_2, -\omega_2) \\
 &E_j(\omega_1)(E_i(\omega_2)E_j^*(\omega_2)) \\
 &+ \chi_{1221}^{(3)}(-\omega_1, \omega_1, \omega_2, -\omega_2) \\
 &E_i^*(\omega_2)(E_j(\omega_1)E_j(\omega_2))] \\
 &\exp(in_1\omega_1z/c) \dots\dots\dots(1)
 \end{aligned}$$

식(1)에서 전기장의 첨자 i, j는 직각 좌표의 각 방향을 나타낸다. 만일 단색광의 평면파가 z방향으로 진행한다고 가전하면 파동방정식의 샘항(source term)에 식 (1)을 대입하면 방정식을 풀어서 광 Kerr효과를 계산할 수 있다. 자기유도 효과는 유도광이 매질에서 복굴절을 유도하고 유도광 자신이 다시 탐사광이 되어 유도과 자신의 편광상태가 변하게 되는 효과를 의미한다. 식 (1)에서  $\omega = \omega_1 = \omega_2$  로 하면 다음과 같은 비선형 편극을 얻을 수 있게 된다.

$$\begin{aligned}
 P_i^{NL}(\omega) &= 3[\chi_{1122}^{(3)}(-\omega, \omega, \omega, -\omega) + \\
 &\chi_{1212}^{(3)}(-\omega, \omega, \omega, -\omega)]E_i(\omega) \\
 &E_j(\omega)E_j^*(\omega)\exp(in_1\omega z/c) + \\
 &3\chi_{1221}^{(3)}(-\omega, \omega, \omega, -\omega)(E_j(\omega) \\
 &E_j(\omega))E_i^*(\omega)\exp(inz/c) \dots\dots\dots(2)
 \end{aligned}$$

식 (2)의  $i, j$  대신  $x, y$ 를 대입하고 일반적인 원편광 좌표로 바꾸기 위하여 좌, 우선전기장 및 편극을 나타내는  $E_{\pm}=(1/\sqrt{2})(E_x \pm iE_y)$ ,  $P_{\pm}=(1/\sqrt{2})(P_x \pm iP_y)$ 로 치환하면 다음과 같다. 광학감수를 괄호 내에 표시되는 주파수는 앞으로 생략한다.

$$\begin{aligned}
 & P_{\perp}^{NL} \\
 = & 3[x_{1122}^{(3)} + x_{1212}^{(3)}] \\
 & |E_{\perp}| |E_{\perp} \exp(in \omega z/c) \\
 & + 3[x_{1122}^{(3)} + x_{1212}^{(3)} + x_{1221}^{(3)}] |E_{\perp}^2| \\
 & E_{\perp} \exp(in \omega z/c) \dots\dots\dots(3)
 \end{aligned}$$

파동방정식에 식 (3)을 대입하여 얻은 좌우선 비선형 굴절율은 유도광의 세기에 의존하여 변하게 되고 그 식은 다음과 같다<sup>10</sup>.

$$\begin{aligned}
 & \delta n_{\perp} \\
 = & \frac{2\pi}{n} 3([3\chi_{1122}^{(3)} + \chi_{1212}^{(3)}] |E_{\perp}|^2 \\
 & + 3[\chi_{1122}^{(3)} + \chi_{1212}^{(3)} + 2\chi_{1221}^{(3)}] |E_{\perp}|^2) \dots\dots\dots(4)
 \end{aligned}$$

좌, 우 비선형 굴절율에 대한 위상차는

$$\delta = (\omega/c)(\delta n_{+} - \delta n_{-})i \dots\dots\dots(5)$$

이다. 여기서  $l$ 은 시료의 길이이다. 이색성이 없고 투명한 매질에서는 입사광이 타원편광의 타원 형태는 변하지 않고 장축만 회전하게 되는데 이를 자기유도 타원편광축 회전이라 한다. 이때 타원 장축의 회전의 정도  $\theta$ 는  $E_{+}$  와  $E_{-}$ 의 위상차의 반에 해당된다.

$$\theta = \frac{6\pi\omega}{nc} x_{1221} (|E_{-}|^2 - |E_{+}|^2)l \dots\dots(6)$$

만일 복굴절을 유도하는 레이저광의 편광상태가 선형 혹은 원형편광일 때는 좌, 우선 비선형 굴절율이 같게 되 SIER 효과가 나타나지 않는다. 그러므로 이색성이 없는 매질에서 SIER 측정 실험을 할 때는 입력광을 타원편광시켜야 한다. 입력광의 세기에 따른 투과도의 변화를 유도하기 위하여 Jones 행렬을 사용하였다. 광의 진행 방향앞에

서 보았을 때 Kerr 매질의 SIER효과에 의해서 타원편광의 장축이 회전한 정도는

$$M = \begin{bmatrix} \cos \Phi & \sin \Phi \\ -\sin \Phi & \cos \Phi \end{bmatrix}$$

이다. 선형편광자와 1/4 파장판의 광 축과 이루는 각을  $\Phi$ , S 편광 방향과 P편광 방향의 신호광의 세기의 비를  $\eta$ 라 하면 아래와 같이 쓸 수 있다.[9]

$$\begin{aligned}
 \theta = & \tan^{-2}\{(\eta \cos^2 \Phi - \sin^2 \Phi) \\
 & /(\cos^2 \Phi - \eta \sin^2 \Phi)\}^{1/2} - \Phi
 \end{aligned}$$

식 (5)과 (6)로부터 제 3차 비선형 광학 감수율은 다음과 같이 쓸 수 있다.

$$\begin{aligned}
 \chi_{1221}^{(3)}(-\omega, \omega, \omega, -\omega) = & n^2 c^2 \{ \tan^{-1} \\
 [(\eta \cos^2 \Phi - \sin^2 \Phi) / (\cos^2 \Phi - \\
 \eta \sin^2 \Phi)]^{1/2} - \Phi \} / (96\pi^2 \omega l \cos \Phi \sin \Phi) \dots\dots\dots(7)
 \end{aligned}$$

이다.

### III. 실험방법 및 결과

비선형 광학 효과를 관측하기 위한 SIER 실험 장치는 Fig. 1 과 같다.

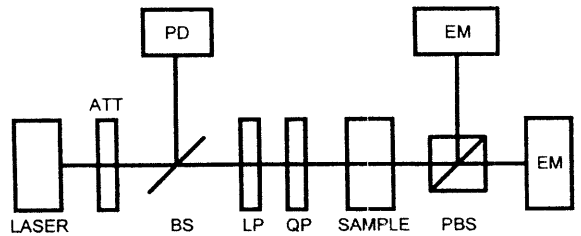


Fig. 1. Experimental Setup for the measurement of the 3rd order nonlinear optical susceptibility through self-induced ellipse rotation : ATT ; attenuator, BS ; beamsplitter, PBS ; polarized beamsplitter, LP ; linear polarizer, QP ; quarter wave plate, EM ; energy meter

레이저광을 초점거리 30 cm로 약간 집속시켜서 시료에 입사시켰다. 시료에서 나오는 광을 편광 분리기를 사용하여 S, P-편광 성분으로 분리한 이후 출력 세기의 비를 측정하였다. 광원으로는 Nd:YAG 레이저(Spectron Laser Sys. SL400)를 사용하였으며, 펄스폭은 18 ns 이고, 출력에너지는 펄스당 200 mJ 로서 에너지를 편광기와 검광기를 사용하여 줄여서 실험하였다. 선형 편광기의 방향과  $\lambda/4$  파장판의 광축과의 각을 30도로 고정하여 사용하였다. 시료를 담은 용기의 길이는 1 cm 이고 유리관의 벽에 실험한 레이저의 무반사 코팅을하여 사용하였다. 시료를 넣기전 유리광학부품의 온도에 대한 비틀림 굴곡절을 측정한 결과 본 실험의 온도범위 내에서는 거의 검출되지 않았다. 시료는 닭의 난백으로부터 추출한 lysozyme(Sigma Chem. Co.)을 소금물과 섞어서 실험의 시료로 사용하였다. 불순물인 글리세롤의 첨가는 lysozyme과 소금물의 혼합물에 첨가하여 실험하였다. Lysozyme을 소금물에 녹일 때 처음은 거품을 내며 서서히 녹으므로 시간을 두어 실온에서 녹였다. 상전이 온도가 실온인 조건이 있으므로 상전이 온도가 실온 이하의 조건을 찾아서 실온에서 혼합하였다. 실험할 때는 단백질이므로 용액의 온도 조금 아래서부터 0.1도 간격으로 상전이 온도까지 실험하였다.

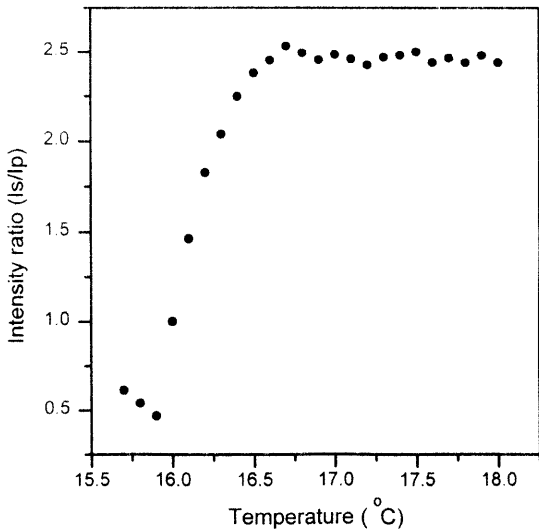


Fig. 2. Ratio of the laser intensity as the function of temperature

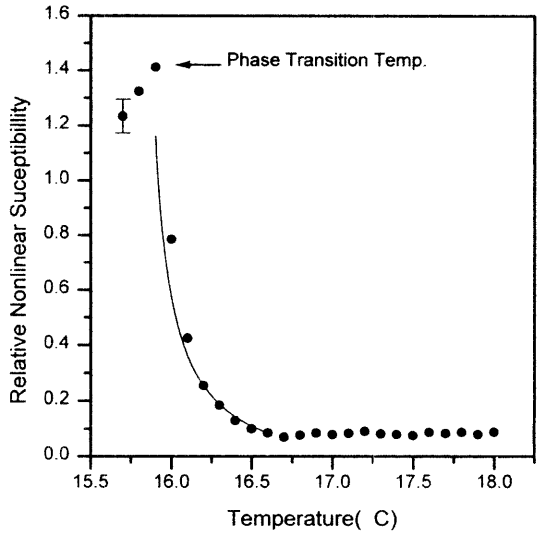


Fig. 3. The 3rd order nonlinear optical susceptibility as the function of temperature.

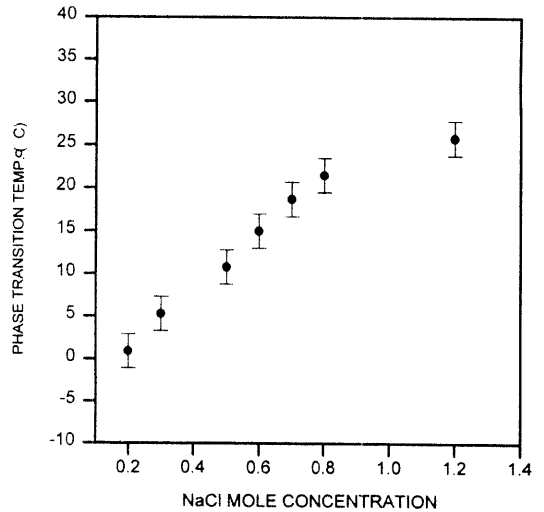


Fig. 4. The changes of the phase transition temperature as the concentration of NaCl

펄스의 반복율은 초당 1개로 하였으며, 레이저 광에 의하여 온도가 변하지는 않았다. 한 실험치는 10번 반복하여 평균치를 기록하였다. 비선형 굴절률의 비정상적인 변화는 상전이 온도 약 5도 위에서 부터 약간의 요동이 시작되어서 3도 위에서부터 변하기 시작하여서 상전이 온도에서는 발산됨이 관측되었다. 신호광의 측정온 에너지 매터(

Coherence Co. model Labmaste P10 I)를 사용하여 S와 P 편광에서 나오는 레이저 에너지를 측정하였다. Fig. 2 는 NaCl 0.7몰 pH 5.4 Lysozyme 의 물에 대한 농도가 20%인 경우 온도를 변화시키면서 P편광과 S편광에서 나오는 신호광의 에너지를 측정한 경과 그 비율이다. 상전이 온도에서 발산함을 보이고 있다. 이 실험값을 식(7)에 넣어서 3차 비선형 광학감수율을 계산하여 얻은 결과가 Fig. 3 이다. Fig. 4는 소금의 농도에 따른 상전이 온도의 변화를 나타내고 있다. 사용한 농도가 물에 대한 lysozyme 의 농도는 20% 이었고, pH는 5.4이었다. 농도가 증가함에 따라서 상전이 온도가 증가함을 보이고 있다. Fig. 5는 불순물로서 글리세롤을 첨가하였을 때 상전이 온도의 변화를 나타내고 있다. 이 때 사용한 시료는 NaCl의 농도는 0.7 몰, pH는 5.4이고, 물에 대한 lysozyme의 농도는 20%를 사용하였다. 글리세롤의 양이 증가함에 따라서 상전이 온도가 감소함을 보이고 있다. 불순물을 첨가하였을 경우 3차 비선형광학 감수율의 온도에 따라 변화하게 되는데 이때 기울기 변화율의 일반성(universality)을 조사하였으나 본 실험의 오차의 한계 내에서 변화가 없었다.

#### IV. 논 의

생체를 구성하고 있는 단백질-물 혼합물에 대한 상전이 온도 근처에서 3차 비선형 광학감수율의 비정상성에 대하여 조사하였다. 상전이 온도 근처에서 3차 비선형 광학감수율의 기울기가 평균장 이론과 거의 일치함을 보였으며, 불순물인 글리세롤을 첨가하여 3차 비선형 광학감수율을 측정하여 기울기를 조사한 결과도 마찬가지로 일치함을 보여주었다. 불순물의 종류에 따라서 소금의 양의 증가는 상전이 온도를 증가시키고, 글리세롤 양의 증가는 상전이 온도를 감소시킴이 관측되었다. 소금과 글리세롤은 단백질 용액과 서로 상호작용하여 안정화 되는 용매이다<sup>11</sup>. 소금은 표면장력을 증가시키고 약한 결합을 주며, 글리세롤은 극성 영역의 친화력을 높이게 되는 역할을 하는데 이러한 화학적 성질이 상전이에 미치는 영향을 조사 연구중이다.

#### 감사의 글

본 논문은 1996년도 배재대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 수행된 것임. 논의하는데 도움을 준 생화학과 윤철호교수에게 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

1. Mistura, L. (1973) J. Chem. Phys. 59: 4563 (1973); Hoyer, J.S. and Stell, G. (1981) J. Chem. Phys. 75: 3559.
2. Ziolo, J. (1978) Chem. Phys. Lett. 53: 345.
3. Hoyer, J.S. and Stell, G. (1984) J. Chem. Phys. 81 3200.
4. Fechner, B. (1969) Acta Phys. Pol. 36: 297.
5. Given, M., Pelah, I. and Efron, U. (1979) Phys. Lett. A48: 1; Pysuk, W. and Zbonisky, K. (1977) Chem. Phys. Lett. 52: 577.; Goulon, I., Greffe, J.L. and Oxtoby, D.W. (1979) J. Chem. Phys. 70: 4742.
6. Benedek, G.B., Clark, J.I., Serrallach, E.N., Young, C.Y., Mengel, L., Sauke, T., Bagg, A. and Benedek, K. (1979) Phil. Trans. R.

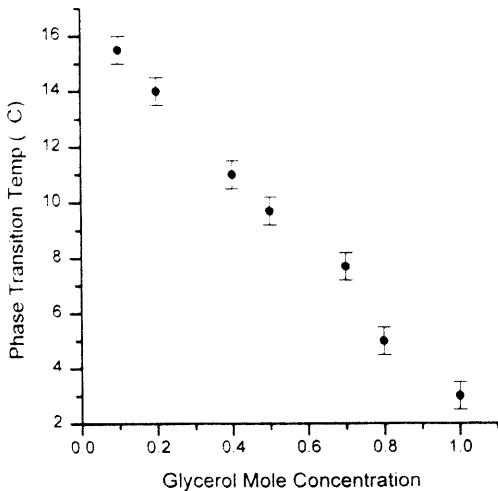


Fig. 5. The phase transition temperature as the concentration of glycerol.

- Soc. Lond. A293: 329.
7. Thomson, J.A., Schurtenberger, P., Thurston, G.M. and Benedek, G.B. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 7079.
  8. Broide, M.L., Berland, C.R., Pande, J., Ogun, O.O. and Benedek, G.B. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 5660.
  9. 조창호 (1988) 자기유도 광 Kerr 효과에 의한 비선형 광학감수율에 관한 연구. 서울대 박사 학위논문; Owyong, A. (1973) IEEE J. Quantum Electron. QE-9: 1064.
  10. Maker, P.D., Terhune, R.W. and Savage, C.M. (1964) Phys. Rev. Lett. 12: 507.
  11. Creighton, T.E. (1989) Protein Structure : 333 pp., IRL Press at Oxford Univ.
-