

단백질/계면활성제 혼합계에서 기포안정성에 대한 계면조성과 분자확산

박선영 · 김명수* · 정노희 · 남기대

충북대학교 화학공학부 · *리엔산업주식회사
(2000년 5월 26일 접수 ; 2000년 6월 30일 채택)

Surface Composition and Molecular Diffusion on the Stability of Foams Formed from Protein/Surfactant Mixtures

Sun-Yeong Park, Myung-Soo Kim*, Noh-Hee Jeong and Ki-Dae Nam

School of Chem. Eng. Chungbuk Natl. Univ. Cheongju 361-763 Korea
*Lee & Bed Ind., Co. LTD., Youngin, Kyoungki, 449-820 Korea
(Received May 26, 2000 ; Accepted June 30, 2000)

Abstract : A conductimetric study of foam formed from mixture of the protein, β -lactoglobulin, and the nonionic surfactant, SML, revealed that their stability was reduced at concentrations of SML in the range 3~10mM. The interaction of SML with β -lactoglobulin was investigated by fluorimetry and a dissociation constant of $0.2\mu\text{M}$ was calculated for the complex. Surface tension studies confirmed the presence of interaction between the two components and provided evidence for the progressive displacement of β -lactoglobulin from the air/water interface with increasing SML concentration. Experiments using air-suspended microscopic thin liquid films revealed transitions in the chainage characteristics and thickness of the film at SML concentrations below that which resulted in destabilization of the foam. However, measurements of surface mobility of fluorescent-labeled β -lactoglobulin by a photobleaching method identified that a transition to a mobile system occurred at a SML concentration which correlated with the onset of instability in the disperse phase. The results would indicate that maintenance of the viscoelastic properties of the surface is paramount importance in determining the stability of interfaces comprising mixtures of protein and surfactant.

1. 서론

일반적으로 식품공업에서 거품과 유화성은 보다 분자량이 큰 단백질과 보다 적은 분자량 갖는 지질이나 세정제와 같은 계면활성제 등 두 개의 계면 활성 물질들이 주류를 이룬다. 이는 공기/물 또는 기름/물 계면에서 이루어지는 이들의 조성에 따라 생기는 일이나 분포상태는 계면성, 농도변화 및 용액과 계면에서의 상호작용에 의해 지배된다. 다시 말하면 계면에서의 화학물의 구성성분이 거품이나 유화의 안정성을 결정하는 중요한 요인이 된다. 단일과 혼합된 계면활성제의 거품의 안정성에 대한 주요인으로서 계면점도이다.¹⁾ 거품안정성의 증가는

sodium lauryl sulfate의 용액에 lauryl alcohol의 첨가에 영향이 있다고 처음으로 보고되었다.²⁾ 거품안정성의 증가는 표면점도 증가 및 표면이 차지하는 수치를 높이는 데 밀접한 관계가 있다. 이는 단백질계통의 거품안정성에 있어 기계적인 강도의 중요성을 포함하고 있는 증거이다.^{3,4)} 단백질계통의 거품안정성에 대한 연구는 계면점도와 거품안정성사이에 매우 밀접한 상호관계를 갖는다. 예를들어 이들 양쪽 변수들은 주어진 단백질에 대한 각각의 pH는 isoelectric point에 가까운 곳에서 최대값을 갖는다. 더욱이 단백질로 인하여 안정화된 거품의 결정요인으로서 흡수된 단백질 계층들과 배합된 유동적인 변수들은 매우 흥미있는 것으로 알려졌다.^{5,6)} 이런 총

들의 기계적인 특성은 표면에 흡수된 단백질 분자 사이에서 상호작용에서 얻어, 응집성과 점탄성 필름의 형성을 이루는 것이다. 이 과정은 기포가 파괴되는 것과 흡수에 따른 변형을 나타낼 수 있는 구형의 단백질들이 더욱 강화되는 것으로 본다. 이 경우에 있어서는 본질적으로 불용해성 단층이 계면에 형성되는 것이다. 거품 안정화에 있어 중요한 변수를 좀 더 정확하게 이해함에 있어서는 매우 미세한 얇은 액체막의 모형을 이루는 시스템으로 연구되었다.⁷⁾ 이 모형은 거품의 기포사이에 형성한 것들과 유사한 간단한 얇은막이다. 그리고 이에 대한 특징은 거품안정성의 중요한 결정인자이다. 비록 안정화된 계면활성제 얇은 막의 유용한 정보가 있을 지라도 단백질로 인한 막의 연구는 매우 적다.^{8, 9)} 단백질막의 형성은 용액의 조건, pH에 단백질의 안정화된 막은 다중층의 존재에 대한 것이 입증되기도 하였다. 또한 공기/물 계면에 직접 흡수된 물질의 고정된 특성을 설명하기도 하였다.¹⁰⁾ 계면활성제의 구조와 흡수된 단백질층의 기계적인 양상들 사이에서 일어나는 특성들은 단백질용액으로부터 얻어진 거품안정성과 구조를 결정함에 중요하다. 단백질로 인한 안정화된 막과 공기/물 계면에서 흡수된 작은 분자 계면 활성제의 유동성 대하여 설명되기도 하였다.^{11, 12)} 이 시스템에서 기계적인 강도는 막의 안정성 즉 거품의 안정성은 Gibbs 탄성으로부터 기본적으로 유도되고 얇은막 표면에 계면활성제 농도 변화에 야기되는 표면인장 기술기와 상관성이 있다.^{13, 14)}

2. 실험방법

2-1. 시료 및 사용기기

단백질의 일종인 bovine β -lactoglobulin(L-130), fluorescein isothiocyanate isomer I(FITC) 및 순도 높은 sucrose mono lauryl ester(SML) 등은 Sigma Chem. Co.에서 구입하여 사용하였고, 물은 증류수를 알칼리성 과망간산카리로 끓인 후 재증류하여 이온교환수지를 통과시킨 $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 에서 표면장력이 72.8dyne/cm인 것을 사용하였다. 완충용액은 pH 7.0인 sodium phosphate를 택하였고, 전도성 측정기는 Philips conductivity meter를 사용하였다.

2-2. 기포 안정성 측정

거품안정성에 관한 연구는 Kato의 측정방법¹⁵⁾, 즉 비전기 전도성측정 방법의 변형된 것을 이용하였다.¹⁶⁾ 단백질의 일종인 β -lactoglobulin과 비이온성 계

면활성제인 SML의 혼합용액의 거품측정은 직경이 8.5mm되는 작은 유리컬럼안에 2ml용액이 미세한 단일구멍을 통하여 유출되어 생겨난 거품의 비전기 전도도를 측정하므로써 결정된다. 용액이 미리 가습화된 공기흐름을 3.63ml/min을 일정하게 사용하여 5cm높이까지 거품이 일어나게 한다.

전도성은 공기분출구 위에 모세관 3.5cm의 내부벽에 대해서 포화되어 부풀어 오른 것을 두 개의 백금전극을 통하여 측정한다. 일단 거품이 미리 결정된 높이에 도달될 때 공기공급을 차단하고 전도도는 30분 동안 감지한다. 전도도 기록은 BBC 마이크로컴퓨터를 사용하여 기록되도록 하였다.

2-3. 표면흡수 측정

표면압력측정은 FITC-L-0130가 붙은 Wilhelmy dipping plate 방법¹⁷⁾을 사용하였다. 이때 사용된 모든 유리제품은 hydrofluoric/nitric acid 혼합을 가지고 세척하고 증류수의 충분한 양을 가지고 깨끗이 씻어내고 건조하여 사용하였다. 그리고 표면압 측정은 Beckman Electronic Microbalance을 사용하였고 시간에 따른 변화성은 그래프 기록기를 이용하였다.

Wilhelmy dipping plate에 단백질이 흡수되는데에서 일어나는 접촉각의 문제를 피하기 위하여 물의 표면장력을 체크하기 위하여 이용된 유리카바스립을 표면압 측정을 위하여 에탄올로 씻고 물을 적신 종이프렛트 대신 사용하였다.

실험은 포화된 습도에서 밀집된 캐비닛 안에 내부지름 11cm되는 유리그릇에 자동온도조절이 부착되어 캐비닛의 내부에 일정한 온도(20°C)가 유지되도록 하였고 공기온도의 변동은 0.4°C 보다 적도록 하였다. 일정농도의 혼합용액 50ml를 유리그릇에 붓고 표면압은 용액안에 종이프렛트를 부분적으로 적신후에 직접 감지되도록하여 측정하였다.

2-4. 형광성 FITC-L-0130 제조

β -lactoglobulin은 형광성 분자인 FITC와 공유결합적으로 결합된다. 즉 50ml NaHCO_3 완충제 pH 9.2 안에 FITC 10 molar 과잉량이 넣어져 있는 것에 같은 완충액에 β -lactoglobulin 2~5mg/ml용액을 가한다. 혼합물은 최소한 2시간 동안 실온에서 방치한다. 미반응된 형광물질은 10ml Na_2PO_4 완충용액 pH 7.0으로 조절하여 Sephadex-G-25-50컬럼($30 \times 1\text{cm}$)에 의해 분리시킨다. 이와 같이 얻어진 FITC-L-0130의 농도와 결합된 형광당의 양은 분광광도법¹²⁾에 따라 정량하였다. 이때 β -lactoglobulin 흡광도 계수는 278nm에서 $0.96\text{ml}/\text{mg} \cdot \text{cm}$ 이다.¹⁸⁾

3. 결과 및 고찰

3-1. 기포력

β -lactoglobulin이 존재할 때와 이가 존재하지 아닐 때의 SML용액의 거품거동은 초전도계 기술을 사용하여 검토하였다. SML의 일정농도 범위에 있어 전도성 감소곡선이 Fig. 1에 도시되었다. 감소곡선이 없는 4.0mM이하의 농도에서 얻을 수 있었다. 이는 거품이 형성후 매우 빠르게 사라지기 때문이다. 이는 농도가 매우 낮은 경우 거품형성이 불가능한 것을 뜻한다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 곡선 변화 형태가 4.0mM농도 이상의 농도에서 있고 그의 감소성은 지수함수이다. 이것은 검토된 가장 높은 농도에서 명확하게 나타난다. 그리고 전도성은 초기에 발생하는 거품의 양에 따라 특징지어 질수 있다. 또한 이 농도범위를 지나서 보다 낮은 농도에서 거품의 안정한 상태가 되기 전에 감소경향은 지수함수이고 평형상태를 위한 시간범위는 Fig. 1에 나타나지 아니하였지만 1~2시간 후에 이루어짐은 분명하다.

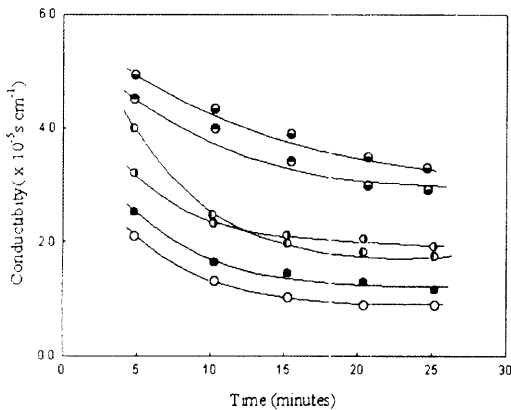


Fig. 1. Conductivity decay curves obtained from draining foams of SML at concentration. O; 4.5, ●; 6.5, ◐; 7.5 ◑; 9.0 ; 10.0 and ; 11.0mM

0.2mg/ml β -lactoglobulin의 존재하에 SML의 농도 변화에 따라 거품의 변화성은 Fig. 2에 도시되었다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 처음 2~3분안에서는 빠르게 감소하지만 그 후에는 서서히 감소되는 현상을 보여주고 있다. 이는 거품안정성이 점진적인 감소를 말해준다. SML의 4.0와 6.0mM 사이에 포함되어 있는 시료내에 관찰된 전도성은 초기에는 급경사로 감소하는 것으로 특징지어 나타난다. 전도성

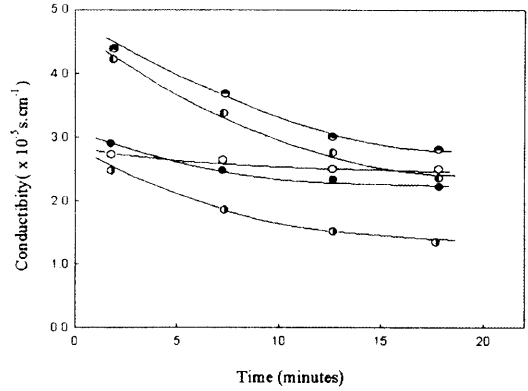


Fig. 2. Conductivity decay curved obtained from draining foams of β -lactoglobulin(0.2mg/ml) as a function of SML concentration. The molar ratio of SML : β -lactoglobulin was O; 1:1, ●; 2:1, ◐; 5:1 ◑; 8:1 and ; 10:1.

감소현상과 관찰된 거품안정성은 계면활성제의 농도변화에 따라 변한다. 이것은 곡선이 평형한 농도에서 SML의 단독의 거품으로부터 얻어진 것과 유사한 감소현상에서 거품 안정성이 점차적으로 증가함으로 특징지어진다. 7~8mM의 SML농도에서는 β -lactoglobulin 단백질 존재여부에 따른 감소곡선은 잘 구별되지 아니하였다.

비록 이 방법을 사용한 다른 연구자들의 거품의 안정성에 수직인 면을 강조하였지만 여기서는 변화성만 설명하였다. 이는 전도성 감소곡선이 SML농도의 변화성에 많은 변화성을 보여주기 때문에 혼동을 이룰 수 있을 것으로 본다.

3-2. 표면흡수

표면장력의 농도변화성은 β -lactoglobulin의 존재여부와 SML의 함수로 나타내어진다. 표면장력(γ)의 값은 이미 깨끗한 공기/물 경계면에 30분동안 흡수 후에 나타내어진다. 이 시간에 다른계(예로 얇은 막)가 이 연구에 검토된 시간체제와 가장 밀접하게 일치하는 경우만 선택하였다. 비록 γ 가 30분후에 발생되었다 할지라도 표면장력에서 단지 전체의 작은 특성이 감소하는 것에 대하여 설명하는 것은 상대적으로 그렇게 중요하지 않다. 만약 같은 시료가 교반되어 진다면 평형은 더욱 빠르게 활성화 되어 졌을 것이다. 그러나 교반이 계면에서 단백질사이에서 상호작용을 분열시킬수 있기 때문에 피하였다. 그리고 거품의 안정성이나 얇은막 연구에 있어 재생산되어 질수 없는 표면장력의 다양성을 논하였다.

표면장력은 β -lactoglobulin의 존재여부에 따라 SML농도변화에 따른 것이 Fig. 3에 도시되었다. 단백질이 없는 경우 농도증가에 따라서 표면장력은 점차적으로 감소한다. SML농도변화에 따라 감소하는 기울기는 cmc 에 가까워진다. 이론상을 cmc 의 과잉농도에서 표면장력 저하능이 나타나지 않는다. 연속적으로 감소하는 것은 30분후에나 평형이 아닌것에서 추정되어 일어나는 것이다. 그러므로 cmc 이전 농도에서 표면장력 저하능이 나타나는 것은 넓은 농도범위에서 발생하는 것으로 본다. 그리고 SML이 보다 큰 표면활성을 갖는 것은 어느정도 농도범위에서 오염을 시키지 않는다는 것을 말해준다. 표면장력 측정은 얇은막과 기포실험에서 유리한 조건이 되도록 하므로써 재생을 위하여 β -lactoglobulin 0.2mg/ml의 존재하에서 SML농도변화에 따른 표면장력도 Fig. 3에 함께 도시하였다. SML에서 β -lactoglobulin의 흡수는 표면장력에 중요한 감소를 야기시킨다. 0.7mM이상의 높은 SML의 농도에서 표면장력은 β -lactoglobulin이 존재하지 아니한 것과 동일한 표면장력을 얻는다. 이런 둘의 극단에서 표면장력은 β -lactoglobulin에 의해서 확실한 영향을 일으킨다. 표면장력이 초기에는 감소하는 경향을 가져오다 다소의 평형을 유지하다 0.3mM이후에는 β -lactoglobulin이 존재하지 아니한 경우와 일치하는 경향을 나타내었다.

SML와 β -lactoglobulin의 결합성은 Fig. 4에서 scatchard 좌표에 나타내었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 0.1 μ M의 SML/ β -lactoglobulin의 해리상수는 이 좌표의 기울기의 역수인 5.4×10^{-8} 으로 결합비율이 1:1이다.

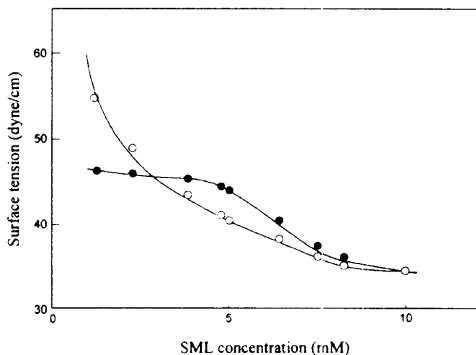


Fig. 3. The surface tension of SML solution as a function of concentration in the presence and absence of 0.2mg/ml β -lactoglobulin. The presented data were obtained after 30min adsorption. (O; SML alone, ●; SML plus 0.2mg/ml β -lactoglobulin)

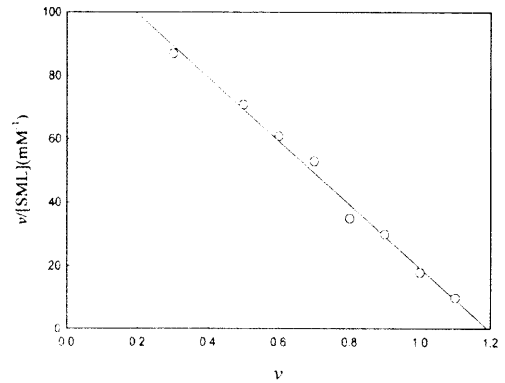


Fig. 4. Scatchard plot of the binding of SML to β -lactoglobulin : The protein concentration was kept constant through the titration at 6.4×10^{-6} M. A dissociation constant of 1.2mM was obtained from the slope.

3-3. 얇은 액체막의 특징

β -lactoglobulin과 그와 SML혼합물에 의해 안정화 된 얇은 액체막의 배수와 특징은 0.2mg/ml의 단백질 농도를 가지고 SML의 농도를 변화시키면서 막의 형성을 관찰하였다. 단독의 β -lactoglobulin용액에서 안정화된 막 bovine serum albumin과 유사한 방법¹¹⁾으로 제조하여 이를 기준으로 하였다. 얇은 액체막의 배수는 두 개의 딱딱한 표면사이에서 전형적인 흐름에서 이루어 졌다. 처음에 막의 두께를 지시하고 막의 낮은 표면과 상층으로부터 빛이 반사의 구조적 간섭과 일치하는 집중적인 뉴우톤환에 의하여 막의 표면에 가장 얇은 부분과 중앙지역에 두꺼운 것을 가진 양쪽 볼록렌즈보다 좋은 구조를 가졌다. 이를 배수처리하여 막을 통하여 서서히 두께 기울기는 뉴우톤 환이 사라지고 막이 일정하게 검은 외관을 가질때까지 더욱 얇아지게 된다. 5 μ M에 가까운 농도에 이르기까지 SML결합은 위에 설명된 배수량상보다 낮은 효과를 갖는다. 그러나 배수후 막의 마지막 외관은 검은색에서 SML의 농도가 0에서 5 μ M까지 증가하는 동안 어두운 회색으로 서서히 변한다. SML 8 μ M이상에서 궁극적인 막은 일정하게 검막이 되고 막배수는 더욱 빠르고 무질서하게 된다. 이 막배수의 거동은 계면활성제-안정화된 막에 대하여 Clark¹¹⁾가 말한바와 같이 유사하다. SML의 5~8 μ M사이에서 막배수는 두가지 다른 방법사이로 변화된다. 이런 중간농도에서 뉴우톤고리는 단지 막보다 두터운 영역에서 평평한 가장자리에 늘어진 것처럼 심하게 기울어지기 전에 일시적으로 보여지게 된 것이다.

3-4. 막두께 측정

β -lactoglobulin과 SML혼합물의 용액으로부터 늘어진 막의 평형두께는 간섭계에 의해 측정된다. 막두께는 Fig. 5에 SML농도의 변화율로써 이루어진다. 계면활성제의 부재하에서 25nm의 두께를 가진 검은 단백질 막이 형성된다. SML의 양이 5 μ M둘레에서 증가하는 것처럼 막 두께는 서서히 증가한다. 8 μ M에서 막은 β -lactoglobulin단독으로 얻어진 것 보다 적은 20nm부근의 평형두께에 도달한다. 그 후 작은 것은 14nm부근에 평형한 값에서 10 μ M부근까지 SML농도 증가를 가진 막두께는 감소한다. 5~8 μ M SML사이에서 평형두께는 막의 다른 영역에서 변화하기 쉽다. 검은 점이 발견되는 곳에서 이런 것을 통해 두께는 20nm부근이다. 그러나 어두운 회색 범위둘레에는 전형적일 35nm부근의 두께 값으로 되돌아 간다.

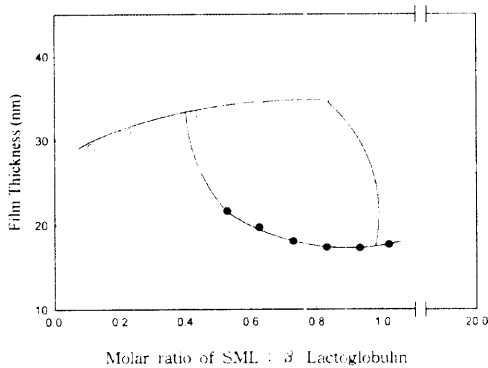


Fig. 5. A plot of the thickness of air-suspended thin liquid films formed by β -lactoglobulin (0.2mg/ml) as a function of the molar ratio of SML. (O: films or regions of film that appeared dark gray, ●: films or regions of film that were common black.)

3-5. 얇은 막의 분자유동성

FITC와 공유결합으로 붙은 β -lactoglobulin의 측면 분산은 FRAP기술을 사용하는 공기-부유된 얇은 액체막으로 조사된다.

계면흡수와 β -lactoglobulin-FITC의 얇은 액체막 특성은 표면특성이 손상되지 않는다는 것을 확실하기 위해서 시험한 것이다. 공기/물 계면에 붙여진 단백질의 흡수로부터 얻어진 표면장력 값은 자연의 β -lactoglobulin이 붙지 않은 것을 얻은 표준편향 안에 있고 배수특성과 β -lactoglobulin-FITC의 용액으로부터 늘어진 얇은 액체막의 두께는 SML의 존재여부

에서 구별 할 수 없는 것을 알았다. FITC를 가진 라벨라화한 β -lactoglobulin은 표면활성과 단백질의 특성을 형성하는 얇은 액체막은 변하지 않는다. 유리상태에 있는 얇은 막에 β -lactoglobulin-FITC의 표면분산은 SML의 존재여부에도 실험하였다. 단독의 단백질 막에 대한 FRAP의 측정은 실험시간 범위 내에 형광회복은 그리 중요치 않다. 이는 막의 공기/물 계면에 흡수된 단백질이 필수적으로 고정됨을 보여준다. 그리하여 측정되어 질수 없는 형광회복과 표면분산은 9 μ M SML까지 β -lactoglobulin-FITC를 포함하는 용액으로부터 형성된 액체막내에서 나타난다. 이에 대한 전형적인 자료는 Fig. 6에 보여주는 바와같이 어느 농도에서 막 표면에 분자유동성을 나타내는 것은 형광회복의 갑작스런 징후임을 알았다. SML 98 μ M에서 SML: β -lactoglobulin-FITC(0.9:1)의 물비가 일치하는 라벨라화된 단백질에 대한 분

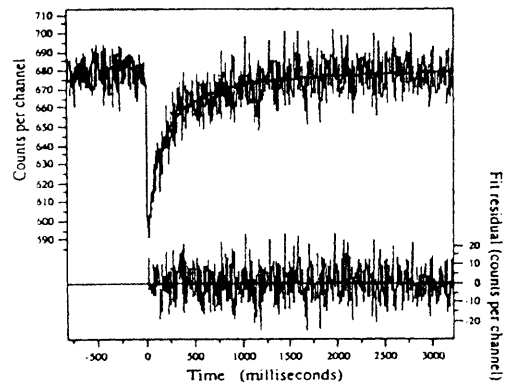


Fig. 6. Typical fluorescence recovery data obtained from an air-suspended thin liquid film formed from a solution containing β -lactoglobulin-FITC(0.2mg/ml) and SML(32.7 μ M), i.e., at a molar ratio of 3:1.

산계수는 $1.67 \times 10^{-7} \text{cm}^2/\text{s}$ 이다. SML의 양의 증가는 54 μ M의 농도에서 $3.5 \times 10^{-7} \text{cm}^2/\text{s}$ 까지 분산계수는 더욱 증가한다. 유동계서 다른 4가지 비율에서 얻어진 실험적 결과 이루어진 형광성을 Fig. 7에 도시하였다. SML일정농도 범위에서 FRAP자료분석으로 계산된 단백질에 대한 확산계수는 Fig. 8에 SML농도의 함수로 나타내었다. 10 μ M부근의 계면활성제에 단백질 유동성의 초기변화후 50 μ M SML 또는 그와 β -lactoglobulin의 물비가 5:1까지 분산계수의 등급은 보다 점차적으로 증가한다. SML보다 높은 농도에서 SML에 의해 표면으로부터 단백질의 친화에 기인되어 얇은막으로 측정할 수 있는 형광의 등급을

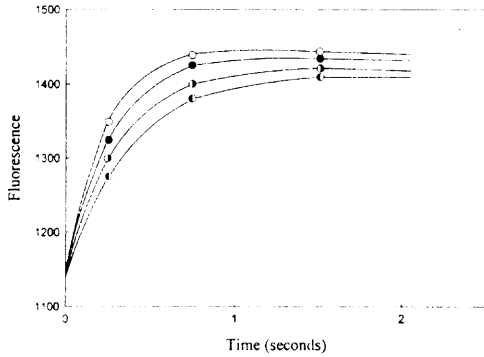


Fig. 7. A comparison of the computed fits to FRAP data obtained at different molar ratios of SML : β -lactoglobulin-FITC. Protein concentration was 0.2mg/ml. The molar ratio of SML- β -lactoglobulin-FITC and the calculated diffusion coefficients were [O: 5:1(3.5×10^{-7} cm²/s), ●: 2:1(2.55×10^{-7} cm²/s), ◐: 1.2:1 (2.11×10^{-7} cm²/s) and ◑: 0.9:(1.67×10^{-7} cm²/s) respectively.

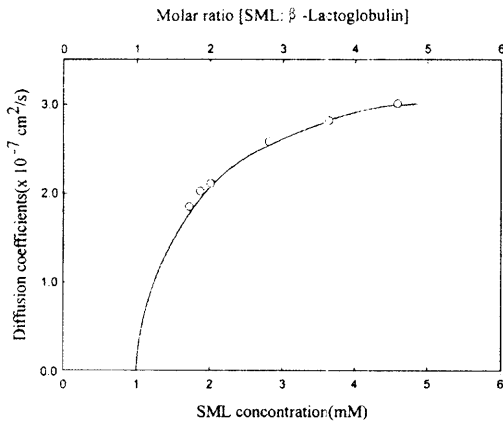


Fig. 8. A plot of calculated diffusion coefficient of β -lactoglobulin-FITC as a function of SML concentration in air-suspended thin liquid films.

얻는 것은 좀더 어려운 것으로 본다.

3-6. 종합적인 고찰

기포의 안정성은 기포의 제거와 배출의 양측면에서 고려된다. 분명히 기포가 확장되는 동안 두가지 영향을 주는 인자는 복합체나 다른 종류에 인한 것이다. 궁극적으로 이것은 임계안정성 결정의 기포에 있어 공기/물 계면에서 물질흡수의 조성과 구조에 따른다. 특히 배액의 유출에서 거품사이에 형성

된 얇은 액체막의 표면층의 측정은 매우 중요하다.

기포안정성의 중요한 변수를 이해하기 위해서 우선 두가지의 기술적 요소가 조사되어야 한다. 이는 용액의 특성 즉 얇은 액체막의 특성과 벌크상의 거품안정성의 측정등이 내포된다. 이 계통에 대한 조사는 β -lactoglobulin, 우유단백질, 비이온성 계면활성제인 SML을 포함한다. 간단히 말하면 기포와 얇은 액체막, 공기/물 계면 및 용액등에서 이러한 물질들의 거동은 조성의 변화성에 따른 것이 검토된다. 모든 실험의 결과를 비교함에 있어 0.2 mg/ml 농도의 단백질을 사용하여 pH 7.0 인산염 완충용액 10 mM에서 수행되었는데 SML의 농도가 유일한 변수이다. β -lactoglobulin의 용액으로부터 발생된 거시적인 거품등 초기의 급격한 배수액은 오랜 시간의 지속을 보여준다. 이러한 현상은 구형단백질수에 대해 기술적 영역의 사용 이전에 사용되어 왔다. 기포안정성의 변화와 배수는 기포성 용액의 증가에 대한 SML의 농도에서 관찰되었다. 안정성의 감소는 계면활성제 10 mM이상에서 보여졌지만 가장 불안정한 기포는 단백질 존재에서 거의 50 mM SML농도에서 보여 주었다. 그리하여 이 농도이상에서 거품은 안정한 농도에서 형성된 거품의 모습이 나타난다. 거품의 변화는 더욱 간단히 모델의 조성에서 같은 영역의 조사로 SML의 일정 농도범위내에서 거동함을 알 수 있다. 거품의 안정화된 단백질 안정성과 변화성에서 유변학적 매개변수의 중요성은 이미 서론에서 설명하였다. 아마도 배액의 가장 중요한 단 하나의 속도결정 요소는 빠져나갈 때의 점도의 영향인데 이것은 배출되는 거품처럼 발생하는 얇은 액체표면막의 점선이동도이다. 공기에 부유된 얇은 액체막으로 얻어진 결과는 이러한 가정을 가져왔다. 액체막에서 배수의 변화는 8 μ M이상의 15nm부근에 SML 5 μ M에서 3nm로부터 액체막두께 평형의 중요한 환원에 의해 일어난다. 이는 소의 혈청의 알부민의 안정화된 얇은 액체막에 일차로 흡수된 일차단백질층 아래에 여러층의 단백질이 존재함에 따른 증빙자료로 알 수 있었다. 이와 유사한 경우에 β -lactoglobulin에 의해 안정화된 액체막이 존재하고 이가 보다 큰 두께를 얻을 수 있게 해준다. 배액의 묘사와 얇은 액체막 두께의 변화에 대한 설명은 SML의 벌크농도 증가와 액체막의 공기/물 계면에서 조성의 변화성을 설명하여야 한다. 표면 액체막에서 발생하는 어떤 조성변화를 식별하는 것을 알기 위해 표면장력 값은 SML농도범위와 관계된 거시적인 공기/물 계면에서 하나의 인자로 나타난다. 물론 이것은 복합체로부터 두 조성간 상호작용에서 경계내에 순수한 표면장력값의 벌크 계

면장력값의 주어진 표면조성과 관련된 기복적인 양적증명은 서로 다르다. 이는 아마도 다른 벌크조성에서 SML에 의해 β -lactoglobulin의 자리바꿈의 원인은 표면조성에 따른다. 표면장력 결과는 계면활성제 70mM에서 발생된 단백질의 완벽한 치환을 나타낸다. 20mM의 표면장력 내에 SML의 농도에서 단백질 존재에 의해 지배됨을 나타내고 벌크 계면활성제의 유일한 감소량은 보다 점진적으로 나타난다. pseudo-plateau는 20mM의 SML의 확장된 단백질과 계면활성제의 혼합물에 대한 표면장력 자료로써 관측된다.^{18, 20} 이는 상호작용의 두가지 조성의 계의 특성이다. SML의 20과 70mM의 농도에서 결과는 β -lactoglobulin의 점진적인 치환과 급속한 증가를 제한한다. 이는 현탁된 얇은 액체 필름의 표면에 하나의 거시적인 공기/물 경계면을 얻는다. 그리고 나서 SML의 증가된 농도로 표면 조성의 점진적인 변화는 두께와 얇은 필름 배액에서 변화를 계산할 수 있었다. 움직이거나 움직일 수 없는 표면재료간에 변화는 아마도 표면층에 조합된 기계적 특성치를 동시에 잃고 계면활성제에 의해 응집된 단백질의 붕괴로부터 증가될 것이다. 얇은 액체 필름의 배액 특성의 관찰은 SML농도 5에서 8mM사이에서 발생된 특성치 표면유동학의 변화를 나타낸다. 이미 수행되었기에 이 영역에서 많이 움직이는 거동에 완전히 움직이지 않는 표면층의 특성으로부터 배액의 단계가 상승된다. 9mM보다 큰 농도의 SML에서 수행된 광표면실험의 곡선은 형광성의 초기단계로 완전한 개발을 보인다. 이것은 모든 표면과 내부라멜라 공간 양쪽에 β -lactoglobulin-FITC가 자유롭게 확산하고 단백질 홀로 안정된 필름으로 존속하지 않음을 보인다. SML의 농도에 형광성의 발생속도의 점진적인 증가는 계면활성제의 의한 β -lactoglobulin의 치환성으로부터 아마도 결과는 거시적 변화의 표면변화를 나타낸다.

50mM보다 큰 SML의 농도에서 얇은 막 필름으로부터 형광성의 중요한 단계검출을 더 이상 할 수 없게 한다. 이것은 표면장력값의 경우에 나타내어진 필름의 표면에서의 SML에 의한 β -lactoglobulin의 거의 완벽한 치환의 원인이다.

5와 8mM SML 필름사이에서 보통 진한회색 필름으로 "frozen"이라는 검은색점으로 불균일한 반점이 나타남이 적어진다. 검은 점 구성을 통하여 더욱 평형조건으로 얇은 액체필름의 전이는 중요하게 관찰되었다. 그리고 보다 얇은 필름에서 수행되지 않은 평형에 대한 조건을 가정한다.²¹ 이들의 두께로 구별하는 두가지 필름은 보통 검은 필름과 얇은 필름으로 제작된다. 이것은 얇은 부분의 표면에서

존재한 계면활성제의 큰 농도로써 얇은 부분에 지배적인 단백질의 두가지 부분에 다른 얇은 표면처럼 보인다. 이러한 경우 원래는 불안정적인 것이 보통인데, 검은 점들은 비교적 급속한 반응후에 조성을 기대한다. 그러나 이 경우 내부경계면의 단백질부분, 점탄성의 기계적 저항에 의해 악영향을 다른 어떠한 전파로써 나타낸다. 이에 중요한 증거는 흡수된 재료표면아래 즉시 놓인 β -lactoglobulin의 여러 층의 존재를 말해 준다. 이러한 구조들은 안정화된 단백질의 필름에 대해 알려진 큰 필름두께를 설명해주고 SML과 마찬가지로 공기/물 경계면에 응집된 단백질과 단백질의 상호작용을 방해하는 것이다. 낮은 농도의 계면활성제는 (5~8mM) 아마도 낮은 평형필름 두께값의 결과의 여러 층의 구조를 붕괴한다. 5mM부근의 농도의 SML증가로 필름의 두께가 증가함은 더욱 흥미있는 것이다. SML이 β -lactoglobulin에 결합되는 것으로 생각할 수 있다. 그리고 복합체의 상호작용 결과는 단백질 분자가 단독일 때 보다 더욱 강하다. 그러나 SML이 5mM보다 클 때 역으로 여러층의 용해의 원인이 더욱 얇게됨으로써 가능하게 된 필름의 농도때문이다.

수용성 단백질에 비이온성 계면활성제의 결합은 일반적으로 이온성 계면활성제의 경우 보다 더 많다.²¹ 결합이 발생하는 지점에 소수성 상호작용은 복합체의 조성의 중앙에 있다. 보다 높은 농도를 가진 계면활성제와 단백질주위의 조합된 결합과 비슷한 미셀조성은 비이온성 계면활성제의 낮은 cmc 수치의 계산이 이온성 계면활성제보다 더 복잡하다.²¹ β -lactoglobulin에 의해 결합한 SML의 중요한 증거는 용액의 거동에서 온다. 이 결합에 대한 연구는 1.1mM의 β -lactoglobulin/SML복합체에 대해 일정한 배열로 나타낸다. 이러한 뚜렷한 결합은 SML에 대해 β -lactoglobulin의 비결합층의 존재를 암시하고, 이것은 1:1비율의 결합을 나타내는 Scatchard그래프에 의해 제공된다. 중요한 과제는 β -lactoglobulin가 액체와 레티놀에 결합할 수 있다는 것을 보여왔고 vivo내에 비타민 A의 이동을 포함할 수 있다. 보고된 레티놀/ β -lactoglobulin복합체의 배열상수는 SML/ β -lactoglobulin복합체보다 5배정도 힘들다. 그리고 이것은 같은 쪽에 두 개의 리간드가 가능하다. 이쪽으로 β -lactoglobulin의 Trp-30의 근접함은 이 가설의 제공의 증거를 제공한다. SML 복합체의 배열상수를 사용한다면 자유 β -lactoglobulin, 자유 SML의 상대농도를 계산하여 왔다. 그리고 β -lactoglobulin/SML복합체는 0.2mg/ml의 고정된 초기의 β -lactoglobulin농도에서 용액내에 존재한다는 결과는 Fig. 9에 도시하였다.

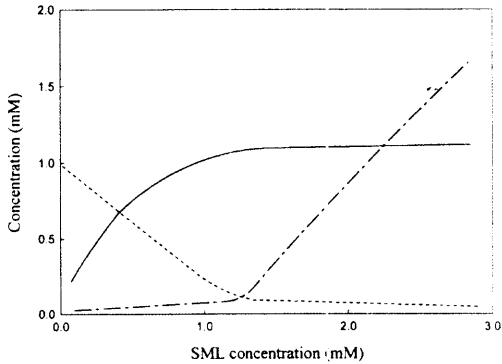


Fig. 9. The predicted concentrations of the molecular species present in mixtures of β -lactoglobulin and SML as a function of SML concentration. The total protein concentration was constant at 0.2mg/ml. A dissociation constant for the β -lactoglobulin/SML complex of 1.2mM was used, (—; β -lactoglobulin/SML complex,; noncomplexed β -lactoglobulin, - - - - -; noncomplexed SML)

이것은 탁월한 표면확산이 처음으로 검출되었을 때 전이점에서 용액의 종류의 지배적인 증거이다. 자유 SML은 모든 리간드 농도에서 높게 나타날때 용액내에 나타난다. 이것은 표면에서 단백질 분자간에 SML분자가 서로 맞물리게 함으로써 단백질-단백질간 상호작용의 환원을 포함하는 불안정한 필름을 제거하거나 단백질-단백질간 상호작용 환원과 유효성이라는 표면분열 과정이 지속되어 흡수된 단백질 분자위에 SML분자의 존재를 무시하는 것으로 본다.

정확히 이 메카니즘은 보다 높은 SML농도에서 관찰된 단백질의 표면유동성이 이 많은 영향성을 갖게 된다. 막두께의 감소성에 대한 가장 적절한 설명과 표면유동성의 표현은 현저한 단백질-리간드 화합물사이에서, 다중층과 표면양쪽에 따른다. 이것은 측면 상호작용하는 단백질-단백질 혼합물에 또는 입체의 방해 메카니즘안에 SML으로부터 일어날 수 있다. SML이 β -lactoglobulin에 의해 일어나는 가설을 설명하기 위한 직접적 증거는 표면장력 저하능에 있다. 단백질의 존재하에 2와 20mM SML사이에서 보여진, 표면장력값에 혼합물 형성의 단계가 있는 두 개의 화합물에서 일어난다.

4. 결론

넓은 범위의 농도변화에 따른 SML의 거품안정

성은 계면활성제에 의해 표면으로부터 단백질의 완벽한 치환을 일으키는 공기/물 계면에서 조성변화에 따른다. 그리하여 거품안정성의 영향은 거품배수와 같은형태로 얇은 액체막의 표면에 단백질 분자들 사이로 결합력 상호작용의 방해에 기인된다는 것을 나타내고, 얇은 막 표면의 기계적 강도의 감소의 결과를 야기시켜 작동되는 메카니즘으로 본다.

SML: β -lactoglobulin의 1:1 결합하여 형성된 화합물은 리간드되지 않은 단백질 분자들 보다 덜 강하게 상호작용을 하는 것을 나타내고 서로간 배열되는 메카니즘은 β -lactoglobulin의 치환과 공동 계면활성제처럼 행동하는 자유 SML에 의해 막 표면으로부터 β -lactoglobulin/SML혼합물 내에 이루어진다. SML의 일정농도범위에서 확산계수의 증가는 표면에서 단백질 주위에 자유 계면활성제의 결과이고 혼합물의 상호작용으로 더욱 감소하고 비교적으로 자유 SML에 의해 표면에 주요하게 자리를 차지함으로써 불연속의 혼합물의 자기확산이 이루어지고 거품안정성이 일어나는 변화이상의 SML의 농도범위는 분자응집력이 단백질-계면활성제 혼합물에 대하여 감소되는 반면에 충분한 표면 점탄성은 안정한 거품의 형성을 이루는 것은 표면 동력학의 상호관계에 있다.

참고문헌

1. D.G.Miles, L.Shedkousky and J.Ross, *J.Phys.Chem.*, **49**, 93(1945)
2. N.F.Djabbareh, Ph.D., thesis, Illinois Institute of Technology, Chicago, (1978)
3. A.K.Malhotra and D.T.Wasan, in "Thin Liquid Films, Fundamentals and Application", Surfactant Science Series (I.B.Ivanov, Ed.), Vol.29. Dekker, New York, (1988)
4. D.E.Graham and M.C.Phillips, "Proceedings, Symposium on Foams" (R.J.Akers.Ed.), p. 273, Academic Press, New York, (1976)
5. D.E.Graham and M.C.Phillips, in "Theory and Practice of Emulsion Technology" S.C.I.Symp., Brunel Univ., 1974(A.C.Smith, Ed), p75. Academic Press, New York/London, (1976)
6. A.Prins and F.Van Voorst Vader, in "Proceedings, Vth, Int. Congress on Surface Activity", Vol. II, part2, p.441. Carl Hanser

- Verag, Munich, (1973)
7. I.B.Ivanov(Ed) "Thin Liquid Films, Fundamentals and Applications", Surfactant Science Series, Vol.29 Dekker, New York (1988)
 8. D.N.Platikanov, G.P.Yampolskaya, N.I. Rangelova, G.K.Angarska, L.E.Bobrova and V.N.Iznailova, *Kolloidn. Zh.*, **42**, 893 (1980)
 9. Zdr. Lalcher, Khr. Khristov and D.Exerowa, *Colloid Palm. Sci.*, 257, 1248 (1979)
 10. D.C.Clark, M.Coke, A.R.Mackie, A.C.Pinder and D.R.Wilson, *J. Colloid Interface Sci.*, **138**, 207 (1990)
 11. D.C.Clark, R. Dann, A.R.Mackie, J. Mingins, A.C.Pinder, P.W.Purdy, E.T. Russell, L.J.Smith and D.R.Wilson, *J. Colloid Interface Sci.*, **138**, 195 (1990)
 12. M.Coke, P.J.Wilde and E.T.Russell, *J. Colloid Interface Sci.*, **138**(2), 489 (1990)
 13. D.Karchier and D.Exerowa, *J. Colloid Interface Sci.*, **77**, 501 (1980)
 14. D.Exerowa, B. Balinov and D.J.Kaschier, *J. Colloid Interface Sci.*, **94**, 45 (1983)
 15. A.Kato, A. Takahashi, N.Matsudomi and K.Kobayashi, *J. Food Sci.*, **48**, 62 (1983)
 16. D.J.Wright and J. Hemmant, *J. Sci. Food Agric.*, **41**, 361 (1987)
 17. D.C.Clark, J. Mingins, F.E.Sloan, L.J.Smith and D.R.Wilson, in "Food Emulsions and Foams" (E.Dickinson, Ed.), *R. Soc. Chem. Special Publ.* No. **58** p.110 (1987)
 18. K.Bell, H.A.Mckenzie, W.H.Murphy and D.C.Shaw, *Biochim. Biophys. Acta.* **214**, 427 (1970)
 19. E.Dickinson and C.M.Workett., "Food Colloids" *R.Soc. Chem. Special Publ.* No. 75, p.74 (1989)
 20. J.A. de Feijter, J.Benjamins and M. Tamboer, *Colloids Surf.*, **27**, 243 (1987)
 21. P.M.Kruglyakov, in "Thin Liquid Films, Fundamentals and Application," Surfactant Science. Vol.29, pp.773, Dekker, New York (1988)
 22. S.Saito, in "Nonionic Surfactants, Physical chem." p.918, Dekker, New York (1987)
 23. C.Makino, J. A. Reynolds and C. Tanford, *J. Biol. Chem.*, **248**, 4926 (1973)