

## 다당류 레반의 점도 특성 및 열적 특성에 관한 연구

정성제 · 송기방\* · 김병용 · 전역한 · 이상기\*  
경희대학교 식품가공학과, \*생명공학연구소 응용미생물연구부

### Viscosity and Thermal Characterization of Levan

Sung-Je Jung, Ki-Bong Song\*, Byung-Yong Kim, Uck-Han Chun and Sang-Ki Rhee\*

Department of Food Science & Technology, Kyung Hee University,

\*Applied Microbiology Research Division, Korea Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST

#### Abstract

The viscosity and thermal property of levan have been investigated by using viscometer and DSC. The intrinsic viscosity of levan was 33.97 dl/g at 20°C. The highest intrinsic viscosity was obtained at pH 6.0, but a remarkable decrease in intrinsic viscosity was observed at the acidic condition of pH 2.0 and it was affected by NaCl although the effect was not as high as by pH. The flow property of levan was shown as pseudo-plastic flow. The apparent viscosity of levan increased with higher pH, NaCl and levan concentration. The maximum melting temperature and melting enthalpy were 178.4°C and 1.66 cal/g, respectively. While the enthalpy of levan solution decreased with higher pH, higher salt concentrations did not affect the enthalpy.

Key words: intrinsic viscosity, levan, DSC

## 서 론

최근 미생물 발효에 의해 생성되는 천연 고분자 다당류와 그의 유도체에 대한 많은 연구와 관심이 집중되고 있다. 미생물 유래 다당류는 분자량, 구성당의 종류, 결합순서와 방법에 따른 구조의 다양성 등에 따라 겔 형성 능력, 점도 증진 능력, 유화능력, 수분 흡수 능력, 점착 능력 등 광범위한 특성을 가지고 있다. 다당류 점도는 분자량, 당 성분의 비율, 구성 성분의 함량 변화 뿐 아니라 직선 구조 또는 분기 구조 같은 분자 구조의 형태에도 영향을 받는다(Sutherland, 1983).

천연 물질로부터 얻은 다당류는 고분자 시장에서 산업적 이용범위가 넓혀지고 있으며 식품 산업 쪽으로의 관심은 다당류의 겔 형성 능력과 관계되는 cross-linking 영역들의 구조로서, 리올로지 특성 등을 측정함으로써 그 다당류들이 갖는 기능 특성을 알 수 있으며, 이러한 기능 특성에 따라 그들의 응용이 결정되는데 식품 산업에 이용되는 다당류들은 식물, 세

균, 곰팡이, 효모 등에 의한 생합성으로 공급되고 있다(Bioinformation, 1985).

과당의 고분자인 fructan은 자연에서 과당 분자의 결합 형태에 의해 일반적으로 두 가지의 형태로 나타난다. 즉, 많은 식물에서 발견되어지는 과당분자의  $\beta(2-1)$ 결합으로 이루어진 이눌린과 *Zymomonas mobilis*가 탄소원으로 포도당, 과당을 이용한 해당과정에서 sorbitol, gluconic acid 등과 함께 생성되는 부산물인 레반은 약 300만개의 과당이  $\beta(2-6)$ 와  $\beta(2-1)$ 결합을 가진 biopolymer(Johns *et al.*, 1991)로 되어 있다.

다당류의 리올로지 특성은 중합도(degree of polymerization), 분자량 분포, 전하량 및 분포, 측쇄의 크기와 분포, 분자의 유연성 등에 의하여 영향을 받는다(황재관, 1993). 고유 점도는 분자의 크기나 유연성을 반영하는 중요한 리올로지 인자로서, 일반적으로 분자량이 클수록 고유 점도가 높으며, 결과적으로 용액의 점도가 높아지는 것으로 알려져 있다(Mitchell, 1979). 그러나 다당류의 리올로지 특성이 주로 발현되는 고농도의 시스템에서는 이와 같은 일반적 이론이 실제와 크게 벗어나는 경우가 많다. 예를 들어 전분의 경우 분자량이 훨씬 적은 아밀로오스가 아밀로펙틴 보다 훨씬 높은 고유 점도를 주며, 측쇄형 고

Corresponding author: Uck-Han Chun, Department of Food Science and Technology, Kyung Hee University, Keehung-Eup, Yongin, Kyunggi-Do 449-701, Korea

분자의 경우에는 고유점도가 직쇄형보다 낮아도 고농도에서는 측쇄간의 결합에 의하여 오히려 높은 전단점도를 나타내기도 한다(Hwang과 Kokini, 1991). 따라서 고분자의 리올로지 특성에 대한 정확한 정보는 일부 한정된 조건하에서의 측정으로 결론을 내리기는 어렵다.

본 연구에서는 식품 신소재 기능 물질로 개발하기 위한 기초적인 연구로서 여러 농도에서 레반의 점도를 측정하여 xanthan gum과 비교하였으며 DSC를 이용하여 열적 특성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

본 실험에 사용된 레반은 KIST 생명 공학연구소에서 *Zymomonas mobilis* 유래 levansucrase에 의해 생산된 것을 사용하였으며, 각 시료는 실험 24시간 전에 미리 정량하고 물을 가하여 침지시켜 수화된 것을 사용하였고 xanthan은 계성식품 주식회사의 시약을 사용하였으며 그 외의 시약은 특급 시약을 사용하였다.

### 레반의 제조 방법

레반은 *Zymomonas mobilis* 유래 levansucrase를 사용하여 1~10%의 sucrose 용액을 기질로 하여 최적 온도인 0°C에서 50 mL의 potassium phosphate buffer(pH 5.0)를 첨가하고 반응시켜 레반 현탁액을 제조하였다. Levansucrase는 기질인 sucrose의 분해 활성화와 레반을 형성하는 fructose의 (2-6)와 (2-1)결합을 이루는 활성을 지니고 있다. 수용액 상에서 현탁액으로 제조된 레반 용액에 에탄올을 가하여 레반을 침전, 수거한 후 에탄올을 제거하여 레반 결정을 제조하였다.

### 고유점도 측정

적정 온도(10, 20, 30°C)로 유지한 항온기에 capillary 점도계(Fisher Co. U.S.A)를 설치하고 여러 농도의 레반 용액(0.5~2%)을 10 mL 넣은 뒤 30분간 방치 한 후 비점도(specific viscosity:  $\eta_{sp}$ )를 측정하였고 이로부터 고유점도(intrinsic viscosity:  $[\eta]$ )를 측정하였다(김철호 등, 1998).

pH 의존성을 측정하기 위해 여러 buffer 용액(pH 2.0~10.0)에서 점도를 측정하였으며 염 농도 의존성을 평가하기 위해 0.1~2 M NaCl 농도 범위에서 고유점도를 25°C에서 측정하였다.

고유점도를 측정할 때 사용되는 일반적인 방법은

Huggins식(Morris *et al.*, 1981)과 Kraemer식(Morris and Ross-Murphy, 1981)을 주로 이용하며, 레반의 온도별, pH별, 그리고 NaCl 농도별로 고유점도를 측정하였다. 그리고 레반의 고유점도 조사에 있어서 정확성을 위하여 상대점도가 1.2~2.0, 즉 비점도가 0.2~1.0의 농도 범위에서 측정하였다(황재관, 1993). 상대점도가 1.2이하의 농도에서는 실험 오차에 의한 변동의 가능성이 높고, 상대점도가 2.0 이상의 경우는 분자간의 상호작용이 일어나 단순히 Huggins식이나 Kraemer식을 적용하기 어려웠다.

### Shear viscosity 측정

레반의 점도는 Brookfield 점도계(Model LVT, U.S.A.)를 사용하여 전단속도를 0~40(1 s<sup>-1</sup>)으로 변화시키면서 전단용력을 측정하였다. Shear viscosity 특성 값의 계산은 Power-law model(송재철과 박현정, 1995)을 사용하여 구하였다.

### Overlap parameter

Overlap parameter는 pH 6.0에서 고유점도 값의 역수로 하여 그 값을 얻었다.

$$Ch = 1/[\eta]$$

Ch = characteristic concentration

$[\eta]$  = intrinsic viscosity

### DSC 측정

사용된 DSC(DSC 7, perkin-elmer, U.S.A.)는 시료를 aluminum pan에 넣고 sample encapsulating press를 이용하여 밀봉한 후 상온에서부터 250°C 범위로 질소 기류 하에서 10°C/min로 가열하면서 측정하였으며, 이때 온도와 엔탈피는 표준 시료인 Indium (m.p. = 156.6°C, heat of fusion = 6.8 cal/g)으로 보정하였다.

열적 전이 thermogram에서 나타나는 흡열곡선의 면적으로 열량을 계산하였고 겔화의 개시온도(onset temperature:  $T_o$ ), 최고 온도(peak temperature:  $T_p$ ), 완료 온도(conclusion temperature:  $T_c$ )로 구분하여 측정하였다.

레반의 열적 특성은 농도별(1, 2%), pH별(pH 2.0~pH 10.0) 그리고 염 농도(0.1~2 M NaCl)에 따라 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 고유점도

고유점도는 생물 고분자의 형태, 크기와 모양, 분

**Table 1. Intrinsic viscosity of levan in aqueous solution at various temperatures, pH and NaCl concentrations**

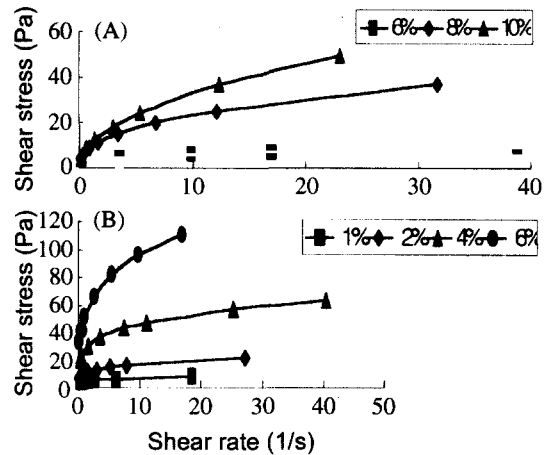
*Temperature (°C)	Intrinsic viscosity [ $\eta$ ](dl/g)	**pH	Intrinsic viscosity [ $\eta$ ](dl/g)	***NaCl (M)	Intrinsic viscosity [ $\eta$ ](dl/g)
		2	14.089		
10	42.479	4	34.873	0.1	30.58
20	33.966	6	40.511	0.5	30.69
30	21.541	8	25.086	1.0	27.477
		10	28.339	1.5	25.894

at \*pH: 6.5, \*\*temperature: 2°C, \*\*\*temperature: 25°C.

자랑, 용매와 다당류의 상호작용, overlap parameter에 좋은 지표를 제공하며, 묽은 용액에서 개개의 다당류가 차지하는 hydrodynamic volume으로도 표현된다.

Table 1에서 보듯이 온도가 증가할수록 고유점도가 감소하였으며, 10°C에서는 고유점도가 증가하여 42.479 dl/g을 나타내었고, 20°C에서의 고유점도는 33.9 dl/g 정도로서 sodium alginate와 비슷한 값을 나타내었다. 또한 pH 2.0~10.0 범위에서 고유점도를 측정할 결과 pH 6.0일 때 가장 높은 고유점도를 보였으며, 반면에 산성과 알칼리성에서는 낮은 값을 나타내었고, 산성에서 더욱 고유점도에 미치는 영향이 컸다. 이것은 강산과 강알칼리에서는  $\beta$ -(2-6)결합이 절단되어 낮은 고유점도를 나타내었기 때문이다. NaCl 농도 역시 점도에 영향을 미쳤으나 pH에 비해서 변화가 크지 않았으며, 농도가 증가할수록 고유점도는 감소 폭이 30.58 dl/g에서 25.89 dl/g로 약 15%정도로 약간 감소되었다. Saito *et al.* (1979)과 Hiura *et al.* (1984)의 연구에 의하면 일반적으로 pH 7.0 일 때의 gel 상태에서  $\beta$ -D(1-3)-linkage의 주된 사슬과 결 사슬의 질서 정연한 구조 형태로 single helix를 형성하여 이 single helix가 gel junction zone으로서 mul-tiple helix를 형성하므로 고유점도가 증가한다고 보고하였다.

고분자의 overlap 정도는 단위 용적당 분자의 수와



**Fig. 1. Flow curve of levan and xanthan gum solution at the different concentrations. (A: levan, B: xanthan).**

분자의 hydrodynamic volume, 즉 농도(c)와 고유점도 ( $[\eta]$ )에 의하여 결정된다(황재관, 1993). 따라서 분자간의 overlap 정도를 측정하는 정도로서  $c[\eta]$ 를 사용하는데 이를 coil overlap parameter 혹은 환원농도라고 부른다. 본 실험에서 묽은 용액과 농후한 용액을 구분 짓는 임계농도는 0.0247 g/dl로서 이 농도 이상에서 overlapping이 일어남을 알 수 있었다. 즉, 분자간의 상호침투에 의한 물리적 접촉으로 엉킴 현상이 나타남을 알 수 있다.

**Shear viscosity와 apparent viscosity**

레반의 유동 특성을 Power law model을 적용시킨 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 전단속도가 증가함에 따라 전단응력이 비직선적으로 증가하였으며, 이러한 결과로 보아 레반의 흐름거동이 의가소성임을 알 수 있었다. Xanthan gum은 식품에 사용되고 있는 gum물질 중 가장 의가소성이 강한 gum물질로 알려져 있다(김동훈, 1995). 이 의가소성의 성질은 입안에서의 느낌을 아주 좋게 하여 주며, 또한 식품 가공

**Table 2. Values of apparent viscosity of levan and xanthan solution**

Concentration of levan (% w/v)	Apparent viscosity (pa · s)	pH (levan)	Apparent viscosity (pa · s)	NaCl (M) (levan)	Apparent viscosity (pa · s)	Concentration of Xanthan (% w/v)	Apparent viscosity (pa · s)
6	0.9483			0.2	0.411	1	0.1847
8	0.9681	6.0	0.4627	0.4	0.3664	2	0.4741
9	1.6283	8.0	0.4403	1	0.4244	3	0.9893
10	1.9252	10.0	0.504	2	0.4526	4	4.3815

at temperature: 25°C, pH: 6.5.

Table 3. DSC thermogram values of levam

	Temperature of DSC transition (°C)			
	Onset temperature (To)	Peak temperature (To)	Conclusion temperature (To)	Enthalpy (cal/g)
pH				
2.0	147.66	151.36	153.96	473.50
6.0	143.27	149.03	157.00	470.69
10.0	149.46	150.03	155.13	403.41
NaCl (M)				
0.2	152.26	157.58	172.22	481.13
0.8	141.12	146.42	152.85	451.54
2.0	144.46	156.97	164.66	442.0

at temperature: 25°C.

시 매우 바람직한 유동성이기 때문에 xanthan gum은 이런 목적을 위해서도 각종 식품에 널리 사용되고 있다. 본 실험에서는 이러한 성질을 가진 xanthan gum과 비교하여 레반의 식품에 적용 가능성을 보고자 한다. Fig. 1에서 보는바와 같이 레반의 경우 6%의 농도에서는 shear rate를  $40(s^{-1})$ 까지 증가 시켜도 shear stress가 10(pa) 이상 되지 않았다. 그러나 xanthan gum은 같은 농도에서 shear rate  $20(s^{-1})$ 에서 120(pa)을 보였다. 10%의 고농도에서 레반의 점도는 xanthan gum 4%와 유사하게 나타났다.

레반과 xanthan gum의 농도에 따른 겔보기점도를 보면 두 시료 모두 농도가 증가할수록 증가함을 알 수 있었다. 각각의 pH와 염 농도에서의 레반의 농도는 모두 6%에서 측정하였다. pH 6.0에서의 겔보기점도는  $0.4627 \text{ pa} \cdot \text{s}$ 이었고 pH 10에서의 겔보기점도는  $0.504 \text{ pa} \cdot \text{s}$ 로서 약간 증가하였고, 염 농도에 따른 겔보기점도는 0.2, 0.4, 1, 2 M에서 각각 0.411, 0.36564, 0.4244, 0.4526  $\text{pa} \cdot \text{s}$ 로 염 농도에 의한 점도의 변화는 크게 나타나지 않았다.

### DSC에 의한 열적 특성

본 실험에서 DSC를 통한 결과는 Fig. 2에서 보는

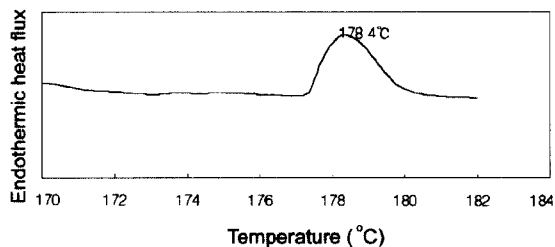


Fig. 2. Thermogram of levam by DSC.

바와 같이 레반의 최대 용점은  $178.4^{\circ}\text{C}$ 에서 나타났으며, 엔탈피는  $1.66 \text{ cal/g}$ 로 측정되었다.

pH, NaCl 농도에 따른 레반의 열적전이 흡열곡선의 측정값을 Table 3에 정리하였다. 염 농도별 엔탈피의 변화는 0.2 M일 때  $481 \text{ cal/g}$ , 0.8 M일 때  $451 \text{ cal/g}$  그리고 2 M일 때는  $442 \text{ cal/g}$ 로서 염 농도에는 현저한 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 이것은 레반의 고유점도가 염 농도에 의해 크게 영향을 받지 않은 용액 특성과 유사한 결과라 사료된다.

### 요 약

레반의 고유 점도는 pH 6.0일 때 가장 높은 값을 나타낸 반면, 산성과 알칼리성에서는 낮은 값을 나타내었다. 특히 산성에서 점도에 끼치는 영향은 더욱 컸다. 본 실험에서 묽은 용액과 농후한 용액을 구분 짓는 임계농도는  $0.0247 \text{ g/dl}$ 로서 이 농도 이상에서 overlapping이 일어남을 알 수 있었다. 레반의 유동 특성은 전단 속도가 증가함에 따라 전단응력이 비 직선적으로 증가하였으며, 이러한 결과로 보아 레반의 흐름 거동이 의가소성임을 알 수 있었다. 고분자의 용점은 온도를 가했을 때 마지막 결정 상이 사라지는 점으로 정의되며, 이 점을 지나게 되면 점성이 있는 용액이 되어 밀도, 굴절률, 열 용량, 투명도 등에 변화가 나타난다(차희숙 등, 1993).

전이온도와 엔탈피의 변화는 biopolymer의 구조형태의 변화를 의미하는 바 차희숙 등(1993)은  $\beta$ -glucan의 경우 pH 7.0 일 때 겔화온도 범위가 넓어졌으며, 엔탈피도 가장 높은 것으로 나타난 반면, 산성과 알칼리성이 강할수록 엔탈피가 감소한다고 보고하였으나 본 실험은 강산에서보다는 오히려 강염기에서

의 낮은 엔탈피( $\Delta H$ )를 보였다.

### 감사의 글

본 연구는 과학기술부지원 국책생명공학연구개발 사업 NB 0570으로 지원된 연구비에 의해 수행된 연구결과와 일부로 이에 감사를 드립니다.

### 문헌

- 김동훈. 1995. 식품 화학. 심구당, 서울, 대한민국. pp 379-400
- 김철호, 송기방, 이상기, 김병용, 전억한. 1998. *Zymomonas mobilis* 유래 levansucrase 에 의해 생산된 레반의 점도. *Food Engineering Progress* **2**(3): 217-222
- 송재철, 박현정. 1995. 식품 물성학. 울산대학교 출판부, 서울, 대한민국. pp318-321
- 차희숙, 김미옥, 구성자. 1993. DSC 에 의한 보리  $\beta$ -D-glucans[mixed-linked(1-3), (1-4)  $\beta$ -D-glucans] 의 열적 특성에 관한 연구. *Korean J. Food Sci. Technol* **25**(1): 22-27
- 황재관. 1993. 식품 물성과 압출 성형 기술 (하이드로콜로이드 용액의 리올로지 특성). 한국식품 Extrusion 연구회, 서울. pp137-162
- Bioinformation Associates. 1985. *Impact of biotechnology on the production and applications of biopolymer*. M.I.T. p13

- Hwang, J. and J.L. Kokini. 1991. Structure and rheological function of side branches of carbohydrate polymers. *J. Texture Studies* **22**: 123-167
- Johnes, M.R., P.F. Greenfield, and H.W. Doelle. 1991. By-products from *Zymomonas mobilis*. *Advances in Biochem. Eng. Biotech* **44**: 97
- Mitchell, J.R. 1979. Rheology of Polysaccharide Solutions and Gels. In *Polysaccharide in Foods*. Blanshard, J.M.V. and Mitchell, J.R. (ed.). Butterworths, London. pp51-58
- Morris, E.R., A.N. Culter, S.B. Ross-Murphy, and D.A. Rees. 1981. Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharides solutions. *Carbohydr. polym.* **1**: 5-21
- Morris, E.R. and S.B. Ross-Murphy. 1981. Chain flexibility of polysaccharides and polycoproteins from viscosity measurements. *Tech. Carbohydr. Metabol.* **B310**: 1-46
- N., Hiura, T., Nakajima, K., Kato, and Y.K. Matsuda. 1984 Alkali extraction of  $\beta$ -D-glucans from the Sclerotia of *Corticium rollei*. *Agri. biol. Chem.* **48**: 541
- Saito, H., Ohki, T. and T. Sasaki, 1979.  $\alpha$ -<sup>13</sup>C-nuclear magnetic resonance study of polysaccharide gels. molecular architecture in the gels consisting of fungal, branched (1-3)- $\beta$ -D-glucans as manifested by conformational changes induced by sodium hydroxide. *Carbohydrate Research* **74**: 227-240
- Sutherland, N.M. 1983. *Comprehensive Biotechnology*. Dellweg, H. (Ed.). Verlag Chemie gmbH, Verlin. p531