

우유의 Gel化에 關한 動力學的 研究 (제1보)

李 根 泰

釜山水産大學 食品工學科
(1985년 10월 20일 수리)

Kinetic Studies of Milk Gelification (Part 1)

Keun-Tai LEE

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608, Korea

(Received October 20, 1985)

The dynamic mechanical properties of milk gel were examined as function of temperature, concentrations of milk and enzyme. The real and imaginary parts of the complex rigidity G' and G'' were measured at 2% strain and 5 rad/s of frequency.

The results showed that the rigidity of milk gel was dependent on the concentration of milk (C) in such a way that $\sqrt{G'} \propto C$. It was found that gel point (t_g) was dependent on the concentration of milk as $t_g \propto C$, and on the concentration of enzyme as $t_g \propto 1/(E)$. The activation energy of enzymatic reaction stage and coagulation stage were 21.1 ± 5.8 kcal/mol and 26.4 ± 1.14 kcal/mol, respectively.

서 론

식품의 rheological properties에 관한 연구는 여러가지의 방법으로 시도되어 왔으며 많은 발전을 거듭하고 있다. 특히 치즈의 제조는 발효식품 중에서도 가장 활발한 연구가 계속되는 분야로써, 이와 관련하여 우유의 gel化에 관한 체계적인 연구가 많이 이루어졌다¹⁻⁹⁾.

Scott Blair와 Oosthuizen¹⁰⁾은 응유효소에 의한 우유의 gel化 과정에서 초기 단계인 우유중의 casein과 효소의 반응을 Ostwald 점도계를 이용하여 동력학적으로 해석하려 시도하였으며, Scott Blair와 Tuszy'nski¹¹⁾는 Torsionmeter를 이용하여 반응기구를 해석하였다. Garnier¹²⁾는 생화학적 방법으로 전반적인 gel化 반응의 mechanism을 밝혔으며, Boussemaer¹³⁾는 Instron을 사용하여 탄성의 변화를 측정하여 반응 mechanism을 수식화 하였다.

Scott Blair¹⁴⁾는 우유 및 혈액의 응고현상을 수식화하여 다음과 같은 model 방정식을 제안하였다.

$$G' = G'_{\infty} \exp(-\frac{t}{\tau})$$

Douillard¹⁵⁾ 역시 우유의 coagulation 현상에 대해

여 다음과 같은 model 방정식을 제안하였다.

$$G' = G'_{\infty} [1 - \{ \exp(-K(t-t_0)) \}]$$

그러나 상기의 두 model 방정식들이 우유의 gel化 반응에서 효소분해 반응속도 정수와 그 다음 단계인 coagulation 속도정수와와의 관계를 밝히지는 못하고 있다.

또한 지금까지의 대부분의 보문들이 점성이나 탄성만으로써 해석하고 있으나 우유의 gel化 과정이 thixotropic하다는 점을 고려한다면 점성이나 탄성만으로써 우유의 gel化를 고찰한다는 것은 상당한 문제점을 내포하고 있다고 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 이러한 문제점을 고려하여 최근에 개발된 Dynamic mechanical法에 의한 gel의 rigidity의 변화를 측정하여 우유의 gel化 과정에 있어서 우유의 농도, 효소의 농도 및 온도 등이 반응속도에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 우 유

본 실험에 사용한 우유는 Nilac de Nizo社(Ho-

Table 1. Operating specification of RFR-7800

| | | |
|--------------|--|--|
| | Dia. of inner cylinder, R ₁ | 24 mm |
| | Dia. of outer cylinder, R ₂ | 26 mm |
| | R ₁ /R ₂ | 0.932 |
| | Height of cylinder | 55 mm |
| Steady mode | minimum angular rotation | 10 ⁻³ rad/s |
| | maximum angular rotation | 100 rad/s |
| | minimum shear rate | 1.2 × 10 ⁻² s ⁻¹ |
| | maximum shear rate | 1.2 × 10 ⁻³ s ⁻¹ |
| | minimum torque | 0.01 g/cm |
| | maximum torque | 10 g/cm |
| Dynamic mode | minimum frequency | 0.01 rad/s |
| | maximum frequency | 500 rad/s |

lland)의 저온 살균 skim milk를 5°C 이하의 냉장 고에 보관하여 필요에 따라서 일정 농도의 CaCl₂ 용액에 재조합 하여 사용하였다. 또한 반응중 오염을 막기 위하여 용액 1 l 당 300 mg의 NaN₃를 첨가 하였으며 재조합 우유의 pH는 6.4로 고정 하였다.

2. 응유효소(rennin)

실험에 사용한 효소는 HANSEN 社의 분말형 효소로서 0.02 mol/l 의 Sodium acetate 용액에 16 wt% 로 용해 시킨후 Berridge 法¹⁶⁾에 의하여 효소의 활성을 측정하였다. 즉 Berridge test 결과 71 U.P. 인 효소를 활성 저하를 방지하기 위하여 저온실에 보관하여 실험 직전에 일정 비율로 희석하여 사용하였다.

3. 측정장치

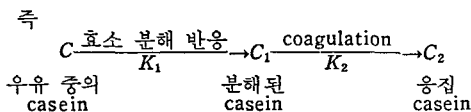
시료의 rheological properties를 측정하기 위하여 Rheometric fluids rheometer (RFR 7800, Rheometrics INC. U. S. A.)를 사용하였다.

즉 cone-plate, plate-plate 및 동심원통형의 세가지 선택이 가능한 구조의 장치로써 본 실험에서는 동심원통형을 사용하였으며 이 장치의 특성은 Table 1 과 같다.

4. 반응속도정수의 산출

효소 첨가에 의한 우유의 gel 化 반응은 두가지 반응으로 구분할 수 있다.

즉 반응초기에 있어서 효소에 의한 우유 중의 κ-casein 의 분해반응과 분해된 κ-casein 의 물리적 응집과정으로 나눌수 있다.



본 실험에서는 각 반응의 속도정수를 산출하기 위하여 Boussemaer¹³⁾의 도식법을 사용하였으며 이렇게 추정된 값을 simplex method에 의하여 재조정 하였다.

실험 방법

우유의 gel 化 과정에서 rigidity(G')를 측정하기 위하여 NILAC de NIZO 社가 제시한 시료 우유의 재조합 최적조건에 의하여 반응 24 시간 전에 skim milk 일정량을 45°C 의 10 mM CaCl₂ 용액에 용해 시킨후 거품이 생기지 않도록 조심스럽게 교반하여 30±0.1°C 의 항온수조에 24 시간 정치하였다. 효소를 첨가하기 5 분전에 시료를 반응온도로 예열하고 일정량의 효소를 첨가하여 약 20 초 동안 교반하여 Rheometric fluids rheometer 의 cylinder 에 주입하였다. rigidity 의 측정조건은 우유의 gel 化 과정을 파괴하지 않는 범위내에서 최대전단율을 측정 한 결과 2%로서 본 실험에서는 2%의 전단율을 사용하였으며, 전단속도는 rigidity 의 實數值(G')와 虛數值(G'')의 비율이 최소인 전단속도를 측정 한 결과 5 rad/s 으로 본 실험에서는 2%의 전단율과 5 rad/s 의 전단속도를 측정조건으로 결정하였다.

한편 gel 化 시작시간(t_g)은 측정장치의 유효측정 가능범위에서 G' 값이 증가하기 시작하는 시간을 t_g 로 정하였다.

반응이 진행되는 동안 수분의 증발 및 표면경화현상을 방지하기 위하여 액체 paraffine 으로 시료의 표면을 덮었다.

결과 및 고찰

응유효소를 첨가한 우유의 gel 化 과정에서 rigid-

Table 2. Influence of milk and enzyme concentrations and temperature on the rigidity and reaction rate constant

| Milk % | Ca ⁺⁺ mM | Enzyme ml/l | Temp. °C | G' Pa | G'' Pa | K1 10 ⁻³ /min | K2 10 ⁻² /min | tg min |
|--------|---------------------|-------------|----------|-------|--------|--------------------------|--------------------------|--------|
| 10 | 10 | 0.01 | 30 | 94.6 | 20 | 4.455 | 0.841 | 200 |
| 10 | 10 | 0.02 | 30 | 111.4 | 21 | 4.877 | 1.422 | 110 |
| 10 | 10 | 0.05 | 30 | 106.9 | 21.5 | 6.912 | 2.419 | 40 |
| 10 | 10 | 0.10 | 30 | 121.8 | 23.7 | 5.555 | 2.837 | 25 |
| 10 | 10 | 0.15 | 30 | 119.3 | 22.5 | 7.338 | 3.753 | 11 |
| 10 | 10 | 0.20 | 30 | 119.3 | 22.7 | 7.62 | 3.814 | 11 |
| 10 | 10 | 0.50 | 30 | 112.8 | 22.4 | 8.164 | 5.041 | 0.2 |
| 4 | 10 | 0.2 | 30 | 10.9 | 2.4 | 4.120 | 1.463 | 2.2 |
| 6 | 10 | 0.2 | 30 | 36.6 | 8.3 | 5.848 | 1.718 | 6.5 |
| 8 | 10 | 0.2 | 30 | 77.4 | 16.3 | 5.053 | 2.736 | 8.8 |
| 12 | 10 | 0.2 | 30 | 172.8 | 30.7 | 6.579 | 3.792 | 12.8 |
| 14 | 10 | 0.2 | 30 | 230.9 | 37.3 | 4.179 | 2.622 | 15.6 |
| 10 | 10 | 0.2 | 25 | 124.5 | 23.8 | 2.922 | 1.450 | 19 |
| 10 | 10 | 0.2 | 35 | 106.5 | 23 | 14.460 | 7.769 | 7.5 |
| 10 | 10 | 0.2 | 40 | 88.8 | 22 | 29.590 | 16.220 | 6 |

ity의 변화에 미치는 우유의 농도, 효소의 농도 및 온도의 영향을 검토한 결과는 Table 2와 같다.

(a) Skim milk 농도의 영향

반응에 미치는 skim milk 농도의 영향을 고찰하기 위하여 본 실험에서는 10 mM의 CaCl₂ 용액에 4, 6, 8, 10, 12 및 14%로 skim milk를 재조합 하였으며, 첨가 효소의 농도는 준비된 16 wt% 효소를 재조합 우유 1 l당 0.2 ml로 첨가하였고, 우유의 pH는 6.4, 반응온도는 30°C로 고정 하였다. Table 2에서 보는바와 같이 평형상태의 rigidity(G'_∞), K₁, K₂ 및 t_g의 값은 우유농도의 영향이 큼을 알 수 있다.

즉 Fig. 1에서 반응시간에 따른 G' 값의 변화를 볼 수 있으며, 우유의 농도에 대한 G'_∞의 증가현상을

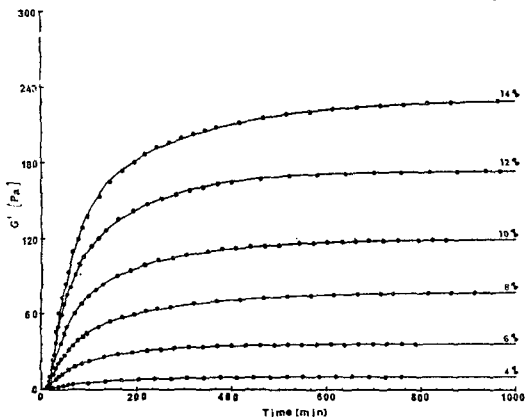


Fig. 1. Variation of G' as a function of time.

확인할 수 있다.

Johnston¹⁷⁾은 G'_∞ 값은 우유농도의 제곱에 비례한다고 보고 하였으며, Boussemaer는 (G'_∞)^{1/2}은 우유농도에 비례한다고 보고하였다. 그러나 본 실험의 결과는 Fig. 2에서와 같이 Boussemaer의 결과와 일치하였으며, 우유의 임계농도(C₀)는 0.694±0.26g/100ml였다.

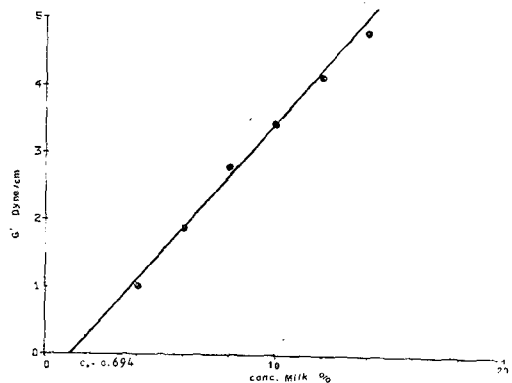


Fig. 2. Influence of concentration milk on the G'.

즉 10 m mol의 Ca⁺⁺을 함유한 재조합 우유에 0.2 ml/l의 16%(wt) 효소를 첨가하여 30°C로 반응시키는 경우 gel化가 가능한 최소농도는 6.94±2.6 g/l임을 나타낸다. 또한 우유의 농도가 증가 할수록 gel化 시작시간(t_g)은 늦어지고, G' 값이 평형에 달하는 시간 역시 길어짐을 알 수 있다. Fig. 3의 결과 gel化 시작시간(t_g)은 우유농도에 정비례 하며 직선의 기울기는 0.1±0.002 min/g임을 알 수 있다.

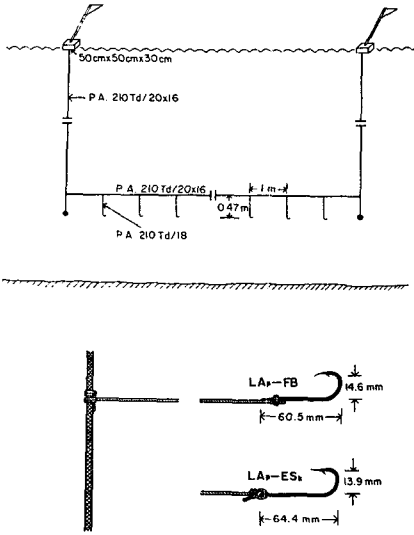


Fig. 7. Schematic diagram of modified Alaska pollack longline.

5. 實驗方法

實驗에 使用된 揚繩 풀리는 鑄鐵製의 V-홈 풀리로 직경이 24 cm, 홈의 內角은 34° 이다. 實驗에서는 揚繩速度를 5, 9, 11, 15, 20, 24 m/min의 6段階로 하고 각 速度段階에서 1차 分離 電磁石의 磁力를 電原 電壓 10 V 단위로 調節하여 變化시키고, 그 때의 낚시 分離率을 구하였다. 그리고 脫落率은 原因에 따라 磁力의 不足에 의한 脫落과 모릿줄과 아릿줄의 엉킴에 의한 脫落으로 나누어 分析하였다.

結果 및 考察

1. 電磁石의 磁力과 分離性能

電磁石의 磁束密度는 鐵心과 코일의 種類 및 電原에 따라 달라지게 되며, ^{9,10} 1차 分離 電磁石의 磁束密度를 電壓에 따라서 測定한 結果를 Fig. 8에서 나타내었다. 이 그림에서 磁束密度는 電壓이 增加됨에 따라 일정하게 增加하여 130 V 일때 482 gauss 까지 되었다.

한편 電壓이 一定한 경우 磁極面으로부터의 거리에 따른 磁束密度는 透磁率을 μ_0 , 전류를 I , 거리를 r 이라 할 때 $B = K \frac{\mu_0 I}{2r^3}$ 의 關係에 있고, 本 實驗에서도 비슷한 傾向을 나타내었다.

2차 分離 電磁石은 1차 分離 電磁石과는 달리 직류 電原 磁石으로서 Fig. 9에서 나타낸 바와 같이 電

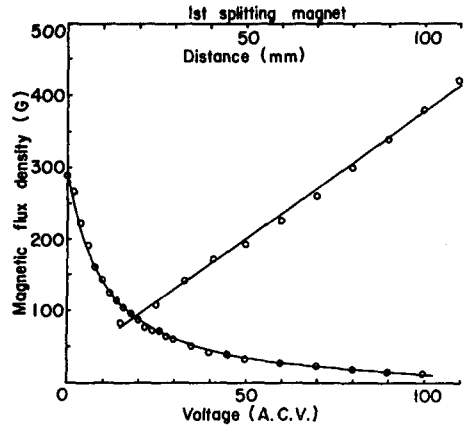


Fig. 8. The characteristics of the first splitting electric magnet.

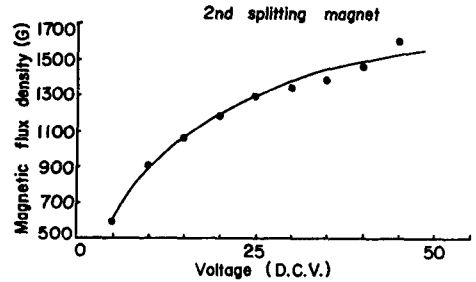


Fig. 9. The characteristics of the second splitting electric magnet.

壓의 增加에 따라 磁束密度도 增加하나, 電壓 25 V 이상에서는 增加率이 둔화되어 磁氣飽和가 나타나는 것으로 보였다.

電磁石으로 낚시를 分離시키기 위해서는 우선 電磁石의 磁力으로 낚시를 吸引하여야 한다. 磁束密度 B 와 吸引力 F 와의 關係는 낚시의 단면적을 $A(m^2)$ 透磁率을 μ_0 ($\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} \text{ newton/amt}^2$)라고 하면 $F = \frac{AB^2}{2\mu_0} (N/m^2)$ 으로 나타내어진다.

이 式에 따르면 무게가 약 1g 되는 명태낚시와 광어낚시를 吸引하기 위한 磁束密度는 70 gauss 정도가 된다. 그러나 이 磁束密度는 停止狀態에 있는 낚시만을 磁石에 붙이는데 必要한 最小의 磁束密度이다.

실제의 分離 實驗에서는 낚시의 무게에 아릿줄의 무게가 더하여지고, 낚시 자체도 運動을 하게 되며, 또한 낚시가 吸引되는 1차 分離 磁石의 첫 부분은 分離 裝置의 構造上 磁石과 낚시와의 거리가 낚시 폭의 1.5배 정도 멀어져야 되므로, 낚시가 제대로 分離되려면 훨씬 더 큰 磁束密度가 必要하다.

한편 Arrhenius 式

$$K = A \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) \text{ 또는 } \ln K = \ln A - \frac{E}{RT}$$

에 의하면 효소반응과정과 coagulation 과정에서의活性化 Energy는 절대반응온도의 역수와 반응속도 정수의 관계에서 구할 수 있다.

Fig. 6, Fig. 7에서活性化 Energy는 효소반응과정에서는 $21.1 \pm 5.8 \text{ kcal/mol}$ (상관계수=0.9726, 오차범위 5%)로써 Boussemaer의 17 kcal/mol 과 근사한 값이나 Garnier의 7.4 kcal/mol , Tuszyński²⁰⁾의 8.1 kcal/mol 과는 상당한 차이를 나타낸다. 또한 coagulation 과정에서는 $26.4 \pm 1.14 \text{ kcal/mol}$ (상관계수=0.991, 오차범위 5%)로써 Boussemaer의 $34 \pm 18 \text{ kcal/mol}$, Tuszyński의 38.7 kcal/mol 과 약간의 차이를 나타내고 있으나 오차범위를 감안한다면 본 실험의 결과가 보다 신빙성이 있을 것으로 생각된다.

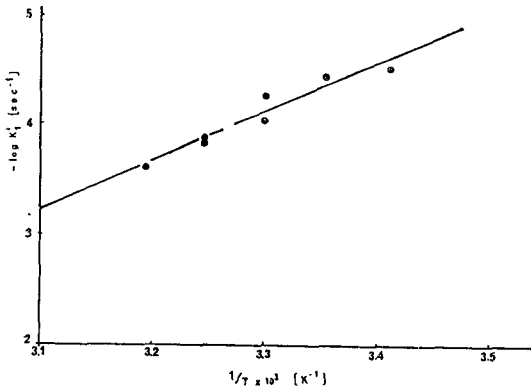


Fig. 6. Variation of K_1 as a function of temperature.

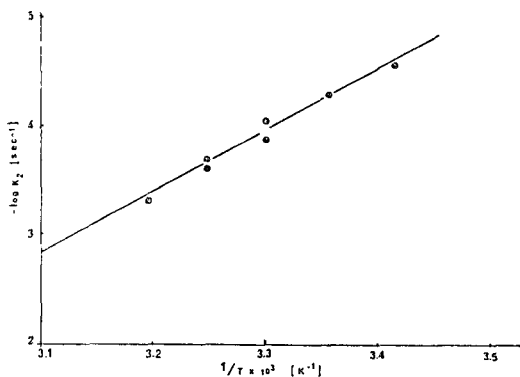


Fig. 7. Variation of K_2 as a function of temperature.

결 론

응유효소의 첨가에 의한 우유의 gel 化 반응에서의

rheological properties를 Dynamic mechanical 法에 의하여 측정하여 반응의 mechanism을 고찰한 결과는 다음과 같다.

1. gel 化 시작시간(t_g)은 우유농도에 비례하며 효소농도에 역비례한다.

2. 효소분해 반응속도는 우유의 농도가 증가할수록 감소하며 효소농도가 증가할수록, 반응온도가 상승할수록 증가한다.

3. coagulation 속도는 효소의 농도에는 거의 무관하며 우유농도가 증가할수록 약간 감소한다.

4. 효소분해반응과정의活性化 energy는 $21.1 \pm 5.8 \text{ kcal/mol}$ 이었으며 coagulation 과정의活性化 energy는 $26.4 \pm 1.14 \text{ kcal/mol}$ 이었다.

인 용 문 헌

- Burgess, K. J. 1978. Measurement of the firmness of milk coagulum. *J. Sci. Technol.* 2, 129-134.
- Dalgleish, D. G. 1980. Effect of milk concentration on the rennet coagulation time. *J. Dairy Res.* 47, 231-235.
- Darling, D. F. 1981. Derivation of mathematical model for the mechanism of casein micelle coagulation by rennet. *J. Dairy. Res.* 48, 189-200.
- Smith, A. G. and H. C. Bradley. 1935. The diphasic aspect of curdling of milk by rennin. *Science* 82, 467-470.
- Steinsholt, K. 1973. The use of an Instron Universal Testing Instrument in studying the rigidity of milk during coagulation by rennin. *Milchwissenschaft* 28, 2, 94-97.
- Storry, J. E. and G. D. Ford. 1982. Some factors affecting the post clotting development of coagulum strength in renneted milk. *J. Dairy Res.* 49, 469-477.
- Surkov, B. A., I. I. Klimovski and V. A. Krayushkin. 1982. *Milchwissenschaft* 37(7), 393-395.
- Traodo dela Fuente, B. and R. Frentz. 1969. Etude thrombélastographique de la coagulation du lait par la présure; action de la température et de la concentration en calcium. *Le Lait* 457, 371-393.

9. Tarodo de la Fuente, B., C. Alais and R. Frenz. 1969. Etude de la coagulation du lait par la présure et de la synérèse du coagulum par la méthode thrombélustographique. *Le Lait* 487, 400-416.
10. Scott Blair, G.W. and J.C. Oosthuizen. 1961. A viscosimetric study of the breakdown of casein in milk by rennin and rennet. *J. Dairy. Res.* 28, 165-173.
11. Scott Blair, G.W. and W.B. Tuszyński. 1967. Dimensionless form of the double logarithmic equation relating shear stress to shear rate as applied to slowly coagulating milk. *Nature* 216, 367.
12. Garnier, J. 1963. Etude de la l'action de la présure sur la caseine par la méthode titrimétrique à pH constant. Comparaison avec d'autres méthodes. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 3, 1, 71-90.
13. Boussemaer, J. P. 1981. Contribution à l'étude de la gélification du lait sous l'action de la présure; Aspects rhéologiques. Thèse de Docteur l'universite de Paris XI.
14. Scott Blair, G.W. and J. Burnett. 1963. An equation to describe the rate of setting of blood and milk. *Biorheology* 1, 185-191.
15. Douillard, R. and B. Bibadeau-Dumas. 1970. Détermination avec la caséine k de l'activité protéolytique de la présure, de la pepsine de porc et des pepsines bovines. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 52, 12, 14299.
16. Berridge, N.J. 1952. Determination of the activity of rennet. *Analyst. Lond.* 77, 57.
17. Johnston, D.E. 1984. Application of polymer cross-linking theory to rennet-induced milk gels. *J. Dairy. Res.* 51, 91-101.
18. Tokita, M., H. Futakuchi., R. Niki., S. Arima and K. Hikichi. 1983. Dynamic mechanical properties of milk and milk gel. *Biorheology* 20, 1-10.
19. Berridge, N.J. 1942. The second phase of coagulation by rennet. *Nature* 149, 3772, 194-195.
20. Tuszyński, W.B. 1971. A kinetic model of the clotting of casein by rennet. *J. Dairy. Res.* 38, 115.