

베타락토글로부린 유화액의 성질에 대한 메칠셀룰로오스 첨가의 영향

홍순택*

호원대학교 식품외식조리학부

Influence of Methylcellulose on Properties of β -lactoglobulin Emulsions

Soon-Taek Hong*

Division of Food and Culinary Science Howon University

Abstract

The influence of methylcellulose (MC) on properties of β -lactoglobulin emulsions (0.5 wt% protein, 20 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris, pH 7) was investigated by acid stability, interfacial composition, microstructure and creaming stability measurements. Changes in steady state interfacial tension have also been determined for systems composed of *n*-tetradecane and water containing both β -lactoglobulin and methylcellulose (5 mM bis-tris, pH 7, 25°C). In emulsions containing both β -lactoglobulin and MC, it was found that changes in the average droplet size were less pronounced when the emulsions were acidified, compared to those from emulsions without MC and this was correlated to the interfacial compositions. Results of the interfacial tension measurement suggested that at low MC concentrations there was the formation of a complex between β -lactoglobulin and MC and at high concentrations MC adsorbed preferentially at the oil-water interface to β -lactoglobulin. Creaming stability at pH 7 found to vary with MC concentrations. At low concentrations (i.e., 0.002-0.008%), no effect was observed, while it was decreased at medium concentrations (0.01-0.1%). At high concentrations (>0.1%), the stability tended to improve in some extent. Confocal laser scanning microscopy (CLSM) confirmed for the emulsions creamed faster that there was extensive flocculation, probably by depletion flocculation mechanism. Based on these findings, it could be concluded that MC might be used in stabilizing acidified milk drinks.

Keywords: methylcellulose, β -lactoglobulin, acid stability, emulsion, competitive adsorption

서 론

식품 유화액(food emulsions)은 흔히 2종류의 거대분자(단백질, 다당류 등)가 배합되는데 이들 분자들은 유화액 중에서 상호결합을 통하여 안정도, 유변학적 성질, 조직감 등에 지대한 영향을 미친다(Dickinson, 1988). 첨가한 다당류는 주로 증점제, 보습제(water-holding agent) 등의 기능을 담당하며, 단백질은 유화제, 거품형성의 기능을 목적으로 첨가한다(McClements, 2004). 예를 들면, 마요네스 등과 같은 수중유적형 유화액의 안정도 달성은 1차로 흡착 단백질에 의하여 이루어지고, 첨가된 다당류는(카르복시메칠셀룰로오스 혹은 잔탄검 등) 수상의 점도를 상승시켜 크리밍, 시네레시스 등을 저해하는 2차적 안정화 기작을 달성하는데 사용된다(Cao et al., 1991). 그러나 최근 연구에 의하면 사용된 다당류 종류 및 농도에 따라서 첨가된 다당

류는 유화액 안정도에 긍정적 혹은 부정적 영향을 미치는 것이 알려졌다. 즉, 카제인나트륨에 잔탄검을 첨가하여 제조한 유화액의 경우 잔탄검 첨가 농도가 낮을 때 고갈응집(depletion flocculation)에 의한 지방구 응집으로 크리밍 안정도는 낮아졌으며, 고농도로 첨가할 때 수상에 형성된 잔탄검의 그물구조로 인하여 유화안정도는 개선되었다(Hemar et al., 2001). Pallandre et al.(2007)에 의하면 음이온계 알긴산 나트륨의 첨가를 통하여 카제인 유화액의 산안정도(acid stability)가 개선될 수 있음을 보고하였으며 이는 지방구흡착카제인/알긴산 나트륨의 정전기적 결합에 의해 달성되었음을 시사하였다. 이와 유사하게 알긴산 나트륨 대신 펙틴을 사용한 연구가 수행되었으며(Tomp et al., 2004), Gu et al.(2005)은 베타락토글로부린/캡파-, 아이오타-, 람다-카라기난으로 구성된 유화액 시스템 연구를 통하여 두 분자 간에 인력이 우세할 때 (i.e., pH 3, 5) 일정한 다당류 농도 범위에서 광범위한 지방구 응집, 크리밍이 발생하였으나, 인력이 약할 경우 (i.e., pH 6) 지방구 크기의 변화는 비교적 적었음을 보고하였다.

셀룰로오스 에테르는 셀룰로오스로부터 제조한 수용성

Corresponding author: Soon-Taek Hong, Associate Professor, Division of Food and Culinary Science Howon University 727 Walha Impi, Gunsan 573-718, South Korea
Tel: 063-450-7265; Fax:
E-mail: sthong@howon.ac.kr

폴리머로서 오랜 동안 식품산업에서 사용되어왔다. 이런 겹질은 표면활성을 보유하여 물/기름 계면에 흡착하여 계면막을 형성하는 것으로 알려졌으며, 그중 메칠셀룰로오스(MC)는 알칼리 셀룰로오스를 염화메칠과 반응하여 제조하는데, 거품형성능이 우수하여 주로 유화식품(e.g., 휘핑크림, 샐러드레싱), 빵, 냉동 디저트류 등에 사용되고 있다(Zecher & Gerrish, 1997). 한편, MC의 표면활성에 대한 과학적 연구는 매우 제한된 범위에서 수행된 것으로 조사되었다. Sarkar(1984)의 연구에 의하면, 분자 내 메톡실(methoxy) 그룹의 치환 정도와 MC 용액의 계면장력과 일정한 양의 상관관계를 나타내었으며, 동일한 치환도의 경우 MC 분자의 축을 따라서 메톡실 그룹이 일정하게 치환되었을 경우 더 우수한 표면활성을 보이는 것으로 알려졌다. Arboley & Wilde(2005)는 planar air-water 계면에서 MC와 단백질간(베타카제인, 베타락토글로부린)의 경쟁흡착 현상을 연구하였는데 MC 분자가 사용된 단백질 분자 보다 표면활성이 커서 계면 흡착 단백질을 수상으로 탈착시키며, 계면 성질을 지배하는 것을 확인하였다.

전술한바와 같이 MC는 많은 유화식품에 이용되고 있는 반면, 이를 위한 과학적인 실험 결과가 매우 부족하여 대부분 경험적 결과에 의지하고 있는 실정이다. 게다가, 유화액 중에서 단백질/MC의 상호작용은 거의 연구가 되지 않은 분야이다. 따라서 본 연구를 통하여 단백질 유화액의 성질에 미치는 MC의 영향을 조사하고자 하였으며, 특히, 유화액의 안정도 특성의 변화에 강조를 두어 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

메칠셀룰로오스(Methocel A15LV, methoxyl 함량 : 30%)는 DOW Chemical(미국)로부터 제공받았으며, 베타락토글로부린, *n*-tetradecane(순도>99%), bis-tris buffer, diphenylamine, zinc sulfate heptahydrate는 Sigma 제품(미국)을 사용하였다.

유화액 제조

유화액(0.5 wt% 베타락토글로부린, 20 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7)은 실험실 규모의 고압균질기(M-110Y, Microfluidics, USA)를 이용하여 3000 psi에서 제조하였다. 먼저, MC를 DOW Chemical 회사에서 추천한 방법에 따라 bis-tris 완충액(20 mM, pH 7)에 용해하고, 여기에 베타락토글로부린을 혼합·용해하여 수상(aqueous phase)을 제조하였다. 이 수상에 *n*-tetradecane(유상)을 첨가하여 실험실용 실버슨 혼합기(LART, Siverson Machine, UK)에서 예비 유화(5000 rpm, 2 min)를 하여 예비유화물을 제조하였다. 이 예비유화물을 전술한 고압균질기를 이용하여 균질하여 유화액 제조를 완성하였다.

지방구 크기 측정

제조한 유화액의 지방구 평균 입자 크기는 입도분석기(Mastersizer S, Malvern Instrument, UK)를 사용하여 측정하였으며, 결과는 volume-surface mean diameter(d_{32})로 표시하였다.

$$d_{32} = \frac{\sum d_i^3 n_i}{\sum d_i^2 n_i}, (n_i : \text{직경 } d_i \text{ 입자의 갯수})$$

경쟁흡착 측정

유화액 중에서 단백질과 MC 분자의 경쟁흡착은 'depletion method'를 이용하여 측정하였다(Hong, 1996). MC 및 단백질을 함유하는 유화액을 제조한 후 1시간 동안 실온에 방치하고, 일정량씩 취하여 원심분리(12,000 g, 20 min)하여 serum과 크림층을 분리하였다. 분리된 serum은 주사기를 이용하여 흡입하고 filter(0.22 μ m, Millipore)로 여과한 뒤 유화액적이 없는 단백질 + MC 용액에 대하여 단백질 혹은 MC 함량을 측정하였다. 단백질 함량은 Kjeldahl 법으로 측정하였으며 MC 함량은 후술의 방법으로 측정하였다. 경쟁흡착 결과는 지방구 액적 표면에 흡착된 protein surface coverage 혹은 MC surface coverage (mass per unit area)으로 표현하였다.

$$\text{Surface coverage}(\text{mg m}^{-2}) = P \times (P_a / \text{SPS.A}) \times (D / F_m) \times 1000$$

(P : 유화액 100 g중 단백질 혹은 MC 무게, P_a : 지방구에 흡착된 단백질 혹은 MC 퍼센트, SPS.A(specific surface area) : 입도분석기를 통하여 얻은 유화액의 비표면적, D : 기름 비중, F_m : 유화액 100 g중 oil 무게).

메칠셀룰로오스 측정

MC는 비색정량법인 Kazaki & Berger(1959)의 방법에 의하여 정량하였다. 먼저 마개있는 시험관에 5 mL의 diphenylamine 시약과 2 mL의 serum 시료를 넣은 후 잘 혼합하고 이를 108°C로 유지된 oil bath에서 30 분간 가열하였다. 가열 후 즉시 찬물을 이용하여 10분간 냉각하고, 이를 흡광도 측정용 시료로 하였다. 분광광도계는 UV mini 1240(Shimadzu, Japan)을 사용하였으며 640 nm에서 시료의 흡광도를 측정하고 이를 표준 곡선과 대비하여 시료 중의 MC 농도를 산출하였다. 단백질을 함유하는 시료에 대하여는 diphenylamine 시약을 첨가하기 전에 Zinc sulfate 시약을 먼저 시료에 첨가하여 단백질을 침전시킨 후 MC 분석을 시행하였다.

계면장력 측정

표면장력계(K-10, Kruse Co, Germany)를 이용하여 planar oil-water 계면[수상 : $1 \times 10^{-6} \sim 0.3$ wt% MC 혹은 (1×10^{-3} wt% 베타락토글로부린 + $1 \times 10^{-6} \sim 0.3$ wt% MC), 5 mM bis-tris buffer, pH 7, 25, 유상 : *n*-tetradecane]의

계면장력을 Du Nouy Ring 법으로 측정하였다. 전술한 수상을 각각 제조한 후 이를 표면장력계 용기에 넣고, 수상 위에 유상을 조심스럽게 첨가하여 계면을 형성하고 이를 3시간 동안 방치하여 수상에 용해된 물질이 충분히 계면에 흡착되도록 하였다. 3시간 후 표면장력계를 작동시켜 시료의 계면장력을 측정하였다(예비 실험을 통하여 방치 시간 경과에 따른 계면장력 변화를 측정한 결과, 3시간 방치 이후에는 거의 변화가 없는 것으로 관찰됨).

Confocal Laser Scanning Microscopy(CLSM)

베타락토글로부린 유화액의 MC 첨가량에 따른 지방구 응집 경향을 확인하기 위하여 CSLM(Carl Zeiss LSM 510, Germany)를 수행하였다. 신선하게 제조한 유화액 시료를 일정량 취하고 이를 증류수로 100배 희석하여 CLSM 측정용 시료로 하였으며, 측정을 위하여 488 nm의 Ar laser를 사용하여 2000배 배율로 유화액 중의 지방구를 관찰하였다.

크리밍 안정도 측정

유화액의 크리밍 안정도는 크리밍관(id: 10 mm, length: 300 mm)을 이용하여 시각적으로 측정하였다(Yun & Hong, 2007). 신선하게 제조한 유화액의 지방구 크기를 분석한 후 일정량씩 분급하여 크리밍관에 충전하여 진동이 없는 조용한 곳에 보관하였다(실온). 크리밍 안정도는 매일 serum 분리 정도를 관찰하여 측정하였으며, 충전한 뒤 10일 후의 serum 분리 정도를 그 시료의 크리밍 안정도(mm)로 하였다.

결과 및 고찰

베타락토글로부린 + MC 유화액의 산저항성(acid stability)

Fig. 1은 베타락토글로부린 유화액 혹은 MC를 함유하는 베타락토글로부린 유화액에 대하여 pH를 변화시켰을 때 지방구 크기의 변화(d_{32})를 보여주고 있다. Fig. 1에 나타난 대로 모든 유화액은 pH가 낮아질수록 지방구 크기가 커지는 것으로 나타났으며, MC 무첨가 유화액의 경우 pH 5에서 지방구는 약 4.8 μm 로 가장 컸고, MC 첨가 유화액은 동일 pH에서 지방구 크기가 1~1.5 μm 범위로 분석되었다. 베타락토글로부린의 등전점은 pH 5.2로 알려져 있으며(Hong, 1996), 따라서 베타락토글로부린 유화액의 pH가 낮아질수록 계면에 흡착된 단백질 용해도가 감소하게 되고 결국 단백질의 응집이 발생하여 이로 인한 지방구 응집이 유도되며 지방구 크기는 증가하게 된다. 그러나 유화제로 베타락토글로부린과 MC를 함께 사용하여 유화액을 제조할 경우 pH 변화에 대한 지방구 크기의 변화는 전자에 비하여 현저하게 낮은 것으로 나타났으며 이는 MC 분자가 유화 지방구 입자에 대하여 pH 변화에 대한 일종의 ‘보호

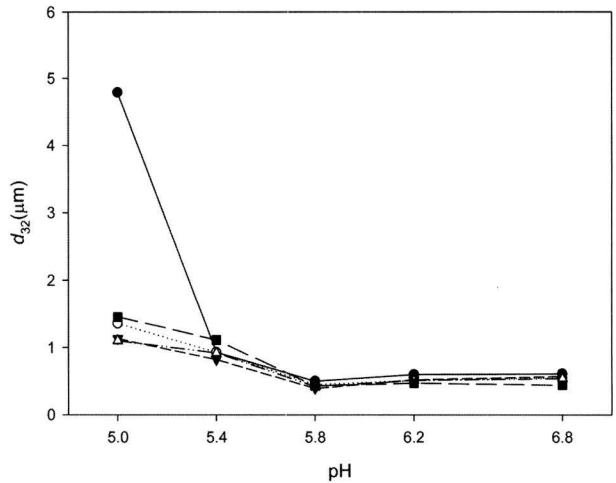


Fig. 1. Influence of MC addition on the average droplet size of β -lactoglobulin emulsions. The average droplet size was plotted against pH: ●, no MC; ○, 0.01%; ▼, 0.06%; △, 0.1%; ■, 0.3%.

효과’를 보여주고 있다고 할 수 있다. Fig. 1에서 관찰된 베타락토글로부린 + MC 유화액의 이러한 ‘산저항성’ 증진은 유화액의 계면막 조성과의 관계있는 것으로 추정되므로 경쟁흡착 현상 분석을 통하여 이의 원인을 구명하고자 하였다.

경쟁흡착 분석

표면활성이 있는 두 물질에 대한 계면에서의 결합 혹은 경쟁흡착 현상은 이들 물질의 계면 현상을 관찰함에 의하여 조사할 수 있다. Fig. 2는 *n*-tetradecane-water로 형성된 계면에 대하여 수상에 MC 단독($1 \times 10^{-6} \sim 0.3$ wt%) 및 MC ($1 \times 10^{-6} \sim 0.3$ wt%) + 베타락토글로부린(1×10^{-3} wt%)을

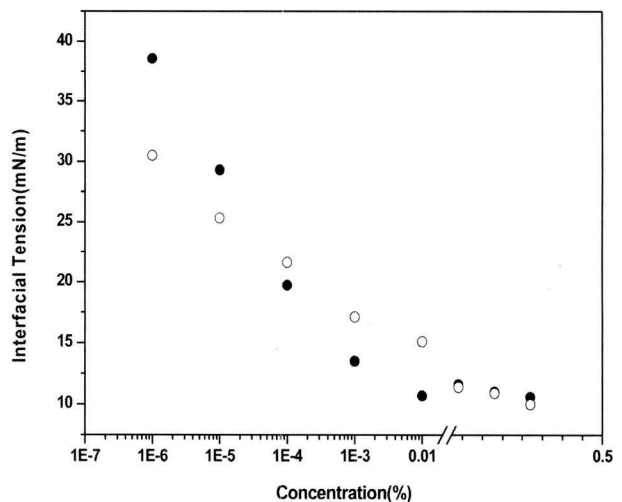


Fig. 2. Equilibrium interfacial tension at the *n*-tetradecane-water interface(5 mM bis-tris buffer, pH 7, 25°C) as a function of MC concentrations for MC only (●) and for MC + 1×10^{-3} wt% β -lactoglobulin (○).

첨가한 혼합액의 계면장력을 나타내고 있다. 계면 혹은 표면활성이 있는 물질은 계면이 형성되었을 때 이들 물질 혹은 분자가 확산기작에 의해 계면으로 이동하고, 계면에서는 이들 분자가 열역학적으로 안정한 상태로 분자구조가 변화되어 계면에 흡착되며 이 결과 계면장력은 낮아지게 된다(Dickinson, 1992). Fig. 2에 의하면 계면장력의 변화는 MC 첨가 농도에 따라 다르게 나타났는데, 즉 혼합용액 중의 MC 농도가 매우 낮은 경우(i.e., $=1 \times 10^{-5}$ wt%) 혼합용액의 계면장력은 MC 단독용액이 나타내는 계면장력보다 낮았으나, 혼합용액 중의 MC 농도가 증가함에 따라($1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-2}$ wt%) 계면장력은 MC 단독용액 보다 높게 나타났고, 고농도에서는(≥ 0.1 wt%) 혼합용액의 계면장력이 MC 단독 용액의 경우와 유사한 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 Arboley & Wilde(2005) 및 Sarker et al.(1999)의 결과와 매우 유사한 경향으로 이는 계면에서 일어나는 베타락토글로부린 분자와 MC 분자의 복합체 형성 혹은 경쟁흡착 현상으로 설명될 수 있다. 즉, MC 농도가 매우 낮은 경우(i.e., $\leq 1 \times 10^{-5}$ wt%) 베타락토글로부린/MC 분자 간에 복합체가 형성되나 복합체가 나타내는 계면장력은 상대적으로 고농도로 첨가된 베타락토글로부린에 지배를 받아 MC 단독의 경우보다 낮게 나타난다. 또한, MC 농도가 증가함에 따라($1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-2}$ wt%) 베타락토글로부린/MC 복합체 형성이 증가하고 이 결합의 결과 복합체의 표면 소수성이 감소하게 되고 따라서 혼합용액의 계면장력은 MC 단독의 경우보다 높게 관찰될 수 있다. 한편, MC를 고농도로 첨가할 경우(≥ 0.1 wt%) 베타락토글로부린과 MC의 결합은 더 이상 진행되지 못하고 (결합 가능 장소가 포화되었으므로) 계면은 두 분자 중 표면활성이 높은 분자 즉 MC(Arboley & Wilde, 2005)에 의하여 채워지게 되고 따라서 베타락토글로부린은 MC와의 경쟁에서 밀려서 수용액 중으로 이탈하게 되는 소위 '경쟁흡착' 현상이 발생하여 혼합용액의 계면장력은 MC 단독용액의 계면장력과 일치하게 된다. 한편, 베타락토글로부린/MC 복합체 형성 가능성은 Arboley & Wilde(2005)에 의하여 언급되었으며, 본 연구에도 이를 뒷받침할 수 있는 결과가 도출되었으나, 복합체 자체의 이화학적 성질에 대하여는 보다 별도로 구체적인 연구가 필요한 듯하다. 표면활성을 갖는 두 물질의 계면에서의 거동은 이와 같이 계면장력을 측정하여 구명할 수 있는데, Dickinson(1991)은 카제인나트륨 농도를 고정하고 SDS 첨가 농도를 증가하였을 때 혼합용액의 계면장력 변화를 관찰하였으며, 얻어진 결과는 본 실험과 동일하게 계면에서의 복합체 형성 및 경쟁흡착 현상으로 해석하였다.

Fig. 2의 planar oil-water interface에서 관찰된 경쟁흡착 현상이 실제 유화액에서 발생하는지 여부를 조사할 수 있는데, Fig. 3은 MC와 베타락토글로부린이 동시에 존재하는 유화액의 지방구 입자 표면에서 일어나는 MC와 베타

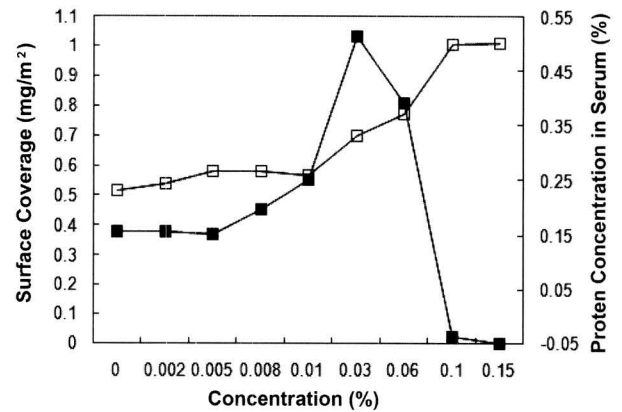


Fig. 3. Influence of MC addition on protein surface coverage in β -lactoglobulin emulsions. Protein surface coverage was plotted against MC concentrations added before emulsification: ■, protein surface coverage; □, protein concentration in serum.

락토글로부린 간의 경쟁흡착 현상을 보여주고 있다. MC를 저농도로 첨가할 경우(≤ 0.005 wt%) 지방구 표면에 흡착된 단백질 양은 MC를 첨가하지 않은 경우와 유사한 수준으로(~ 0.4 mg/m²) 유지되다가 MC 첨가 농도의 증가와 더불어 흡착 단백질 양은 급격히 증가하여 MC를 0.03 wt% 첨가할 경우 최대의 단백질 흡착량(~ 1 mg/m²)을 보였다가 다시 급격히 감소하여 MC 0.15 wt%를 첨가하였을 때 지방구 표면에는 단백질이 거의 남아있지 않은 것으로 분석되었다. 또한 MC 농도 증가에 따른 유화액의 serum 중의 존재하는 단백질 양을 검토한 결과, 위의 결과와 유사한 경향으로 분석되었다. 즉, MC 0.15 wt% 첨가 농도에서 serum 중의 단백질은 0.5%로 분석되어 첨가한 모든 베타락토글로부린은 MC와 경쟁하여 지방구 표면에 흡착되지 못하고 serum 중에 존재하는 것으로 나타났다.

Fig. 3에서 관찰된 경쟁흡착 결과는 본질적으로 Fig. 2에서 관찰한 결과와 동일한 것으로 유화액 중에 2개 이상의 표면활성 물질이 존재할 때 이 중 더 높은 표면 활성을 나타내는 물질이 낮은 활성을 보이는 물질보다 지방구 표면에 우선 흡착되게 된다(Dickinson & Woskett, 1989). 높은 표면활성을 나타내는 물질이 낮은 농도로 존재할 때 경쟁흡착 현상은 미미한 수준으로 나타나지만(≤ 0.005 wt%) 첨가량이 증가함에 따라 열세한 표면활성의 물질은 지방구 표면에 흡착되지 못하고 유화액 중의 serum 층으로 이동하게 되고 지방구 표면은 점차 높은 표면활성 물질(i.e., MC)로 채워지며, 고농도로 존재할 경우 결국 지방구 표면은 높은 표면활성을 보이는 물질로 완전히 캡슐화된다(MC 0.15 wt% 첨가 시료). 많은 연구자에 의하여 모델 유화액을 이용한 경쟁흡착 현상이 연구되었는데, 베타락토글로부린 + Tween 20 시스템(Hong, 1996), 카제인 + SDS 시스템(Dickinson, 1991), BSA + SDS 시스템(Dickinson & Woskett, 1989) 등에서 흡착 단백질이 표면활성이 높은 저

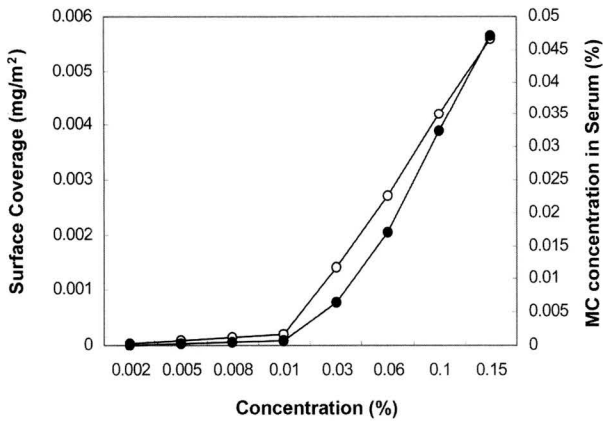


Fig. 4. Surface coverage of MC in β -lactoglobulin emulsions. The surface coverage was plotted against MC concentrations added before emulsification: ○, MC surface coverage; ●, MC concentration in serum.

분자량 유화제에 의하여 계면에서 수상으로 탈착되는 것이 관찰·보고되었다. 한편, MC 0.03 wt% 부근에서 관찰된 흡착 단백질의 급격한 증가는 동일 MC 농도에서 serum 중의 단백질량이 증가하는 사실에 근거하여 볼 때 후술하는 지방구 크기의 급격한 증가에 기인된 것으로 사료된다 (Fig. 7 참조).

Fig. 4는 베타락토글로부린 유화액에 있어서 MC 첨가 농도 변화에 따른 지방구 표면에서 MC 흡착량 변화를 보여주고 있다. MC 첨가 농도가 증가할수록 지방구 표면에 MC의 흡착량은 미미한 수준이지만 지속적으로 증가하는 것으로 관찰되었다. Fig 4의 결과는 Fig 3과 음의 상관관계를 나타내고 있는데, MC 첨가 농도의 증가와 더불어 지방구 표면에 흡착된 단백질 양은 감소하고 있는 반면, MC 흡착량은 증가하고 있다. 이 결과는 MC 첨가에 의하여 균질 공정 중 단백질 흡착이 저해되고 있음을 시사하고 있으며, 이는 전술한 바와 같이 MC의 표면활성이 베타락토글로부린보다 더 높은 것에 기인한 것으로 사료된다(Arboley & Wilde, 2005). 한편, Fig. 3 및 Fig. 4로부터 MC 농도 $2 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-2}$ wt% 범위에서는 serum 중에 단백질 및 MC 농도 변화는 미미한 수준으로 나타났으며, 이는 첨가된 MC가 지방구 표면에서 베타락토글로부린과 복합체 혹은 연합체를(associated structure) 형성하여 계면에 흡착되어 존재하고 있음을 시사하고 있다. 또한, MC 첨가 농도를 증가하였을 때($\geq 3 \times 10^{-2}$ wt%) 두 분자간의 복합체 혹은 연합체 형성 이상의 잉여 농도가 발생하고 따라서 유화액 내에 존재하는 잉여 MC 분자는 지방구 표면에서 베타락토글로부린 혹은 복합체와 경쟁하여 흡착한다(즉, 지방구 표면은 베타락토글로부린 혹은 복합체가 배제된 MC 분자로 점차 캡슐화 된다). 결론적으로 Fig. 3, 4로부터 Fig. 1에서 관찰된 베타락토글로부린 + MC 유화액의 산저항성 증가는 유화액 중 MC 농도가 증가함에 따라 계면막 조성이

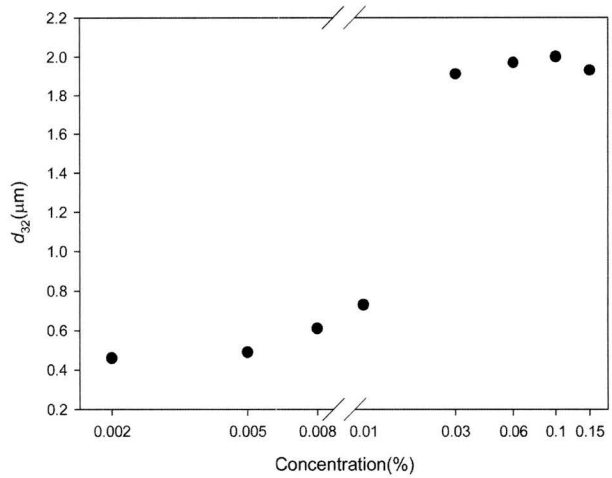


Fig. 5. Influence of MC addition on the average droplet size of β -lactoglobulin emulsions. The average droplet size was plotted against MC concentrations.

점차적으로 베타락토글로부린에서 MC로 대체되어 기인한 것으로 생각할 수 있다. MC는 비이온성의 특징을 갖는 다당류로서 용액의 pH 변화와 관계없이 기능성을 발현하며 (Zecher & Gerrish, 1997) 따라서 유화액 제조에 응용할 경우 산저항성을 부여할 수 있을 것으로 사료된다.

Confocal Laser Scanning Microscopy

Fig. 5는 MC 첨가 농도의 증가에 따른 베타락토글로부린 유화액의 평균 지방구 크기(d_{32})를 나타내고 있다. MC를 첨가하지 않은 베타락토글로부린 유화액의 경우 d_{32} 는 $0.4 \mu\text{m}$ 로 분석되었으며, MC 첨가 농도의 증가와 더불어 지방구 크기는 증가하여 MC 0.15 wt% 첨가 농도에서 평균 지방구 크기는 d_{32} 는 $1.9 \mu\text{m}$ 로 분석되었다. 이러한 증가 경향은 Sarker et al.(1999)의 BSA + MC 유화액 시스템 및 Hemar et al.(2001)의 카제인나트륨 + 잔탄 시스템을 이용하여 얻은 연구 결과와 매우 유사한 것으로 ‘고갈 기작’(depletion mechanism)에 의해 발생한 것으로 추정할 수 있다. 즉 Fig. 3, 4에서 관찰한바와 같이 MC 첨가 농도 증가와 더불어 수상 중 흡착되지 않은 베타락토글로부린 및 MC 농도가 증가하게 되고, 이들 미흡착 분자와 지방구가 서로 역동적으로 움직일 때 (브라운 운동 등) 지방구 응집이 발생하는 소위 고갈 응집(depletion flocculation)이 발생하여 유도된 것으로 사료되었다(McClements, 2004). Fig. 5에서 설명한 지방구 응집 여부를 확인하기 위하여 MC를 농도별로 첨가하여 제조한 베타락토글로부린 유화액에 대하여 confocal laser scanning microscopy를 수행하였으며 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다. MC를 첨가하지 않은 베타락토글로부린 유화액의 경우(시료 A) 응집된 지방구는 거의 발견할 수 없었으며, 0.01 wt% MC를 함유하는 시료 C에서 부분적으로 응집된 지방구가 관찰되었고, 이후 MC 첨가 농도의 증가와 더불어 응집 정도는 점차 높아져

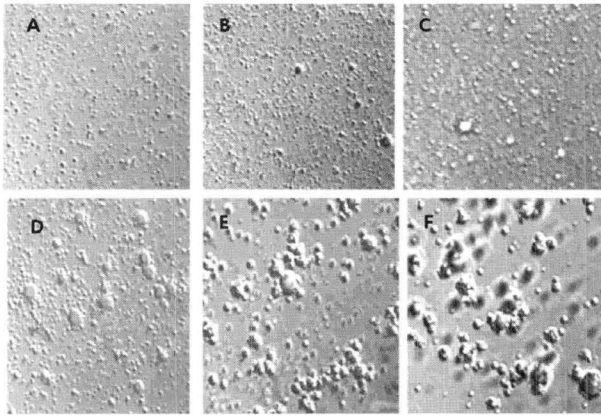


Fig. 6. Confocal micrographs of β -lactoglobulin emulsions containing MC: A, no MC; B, 0.005 wt%; C, 0.01 wt%; D, 0.03 wt%; E, 0.06 wt%; F, 0.1 wt%. The emulsions were diluted by 100-fold with distilled water before the micrographs were taken.

서 MC 0.15 wt% 함유 유화액에서(시료 F) 최대의 지방구 응집 정도를 나타내었다. 이 결과는 MC 첨가 농도 증가에 따른 지방구 크기 변화를 측정된 Fig. 5의 결과와 잘 일치하고 있으며 전술한바와 같이 지방구 응집은 미흡착 베타 락토글로부린 및 MC에 의한 고갈 기작에 의한 것으로 사료되었다.

크리밍 안정도

유화액의 불안정성을 평가하는 한 척도로 크리밍 안정도를 측정하게 되는데 일반적으로 유화액에 있어서 크리밍 속도는 Stokes 법칙에 의하여 어느 정도 추정할 수 있다. 독립하여 존재하는 지방구 한 개의 크리밍 속도는 다음과 같이 표현된다(Dickinson, 1992)

$$V_s = 2a^2(\rho_0 - \rho)g/9\eta_0$$

(V_s : 크리밍 속도, a : 지방구 반지름, ρ, ρ_0 : 분산질 및 분산매의 밀도, η_0 : 연속상의 점도).

Fig. 7은 베타락토글로부린 및 MC를 함유하는 유화액을 제조한 후 10일 후에 평가한 크리밍 안정도를 나타내고 있다. 낮은 MC 첨가 농도에서(≤ 0.008 wt%) 분리된 serum 두께는 2 mm이하의 낮은 수준으로 분석되었으며, 이후 MC 첨가 농도 증가와 더불어 유화액의 크리밍은 급격히 발생하여 MC 0.1 wt% 농도에서 크리밍이 최대로 발생하여 serum 두께는 약 50 mm 정도인 것으로 관찰되었고, MC 농도를 더욱 증가할 경우(~ 0.15 wt%) 다시 크리밍은 급격히 감소하여 약 10 mm 정도의 serum이 분리되었다. 전술한 Stokes 법칙에 따르면 크리밍 속도는 지방구 크기의 제곱에 비례하고 연속상의 점도에 반비례하는 것으로 볼 수 있다. Fig. 7에서 MC 첨가 농도가 낮을 때(≤ 0.008 wt%) 크리밍 속도가 낮게 관찰된 것은 Fig. 5에 나타난바와 같이 평균 지방구 크기가 작고 시료간 지방구 크기가

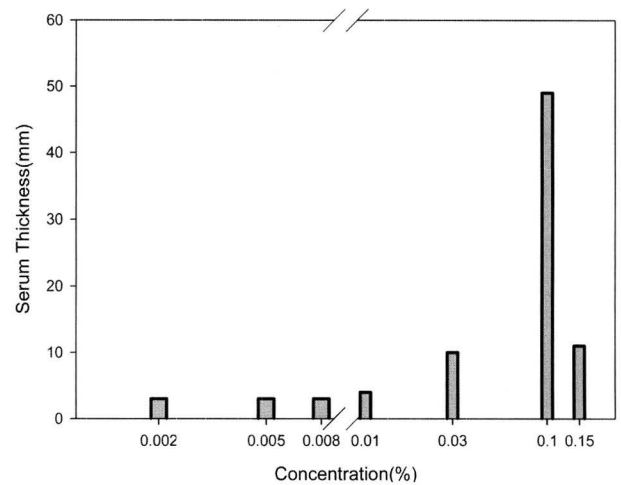


Fig. 7. Influence of MC addition on serum thickness of β -lactoglobulin emulsions. Serum thickness measured after 10 days of storage was plotted against MC concentrations added before emulsification.

비교적 유사한 것에 기인한 것으로 볼 수 있으며, MC 첨가 농도의 증가와 더불어 지방구 크기가 커지고 따라서 Stoke 법칙의 예측대로 크리밍 속도가 증가하였다. 또한, 단백질 유화제는 점성이 높은 계면막을 형성하고, 지방구 표면에서 '머리카락 구조'(hairy structure)를 형성하는 동시에 표면전하를 부여하여 유화액을 정전기적으로 안정화하는 특징을 보유하므로(Dickinson, 1992) 저농도의 MC에서 관찰된 낮은 수준의 크리밍 발생은 계면 흡착 단백질에 의한 정전기적 안정화 기작이 어느정도 기여하고 있는 것으로 사료된다.

한편, 고 농도의 MC 첨가 시료의 경우 크리밍 정도는 낮아진 것은 Sarker et al.(1999)의 보고와 같이 고농도 MC 첨가에 의한 연속상 점도의 증가에 기인한 것으로 사료되었다.

결론

베타락토글로부린 유화액의 안정도는 유화 공정 전에 첨가한 MC에 의하여 영향을 받는다. MC 첨가 농도의 증가에 따라 지방구 크기의 변화로 평가한 유화액의 산에 대한 안정도는 증가하였으며, 이는 지방구를 둘러싸고 있는 계면막 조성의 변화와 깊은 관계가 있었다. 즉 계면막의 조성이 베타락토글로부린에서 MC로 대체됨에 따라 산에 대한 안정도가 증가하는 것으로 관찰되었다. 이러한 계면막 조성의 변화는 지방구 표면에서 일어나는 베타락토글로부린과 MC 분자의 경쟁 흡착 현상에 기인한 것으로 두 분자 중 더욱 표면활성이 큰 물질이 지방구 표면에 경쟁 흡착하게 된다. 또한, 크리밍 안정도는 첨가한 MC 농도에 따라 변화하는데 낮은 농도에서는(≤ 0.008 wt%) 거의 변화가 없었고, MC 농도를 증가할 경우(0.01 ~ 0.1 wt%) 크리밍은

증가하였으며, 고 농도 첨가의 경우(>0.1 wt%) 크리밍이 개선되어 낮은 수준으로 발생하였다. 이러한 크리밍 안정도 특성 결과는 시료 유화액의 지방구 크기 변화 경향과 (i.e., 응집 정도) 일치하였으며, CLSM을 이용하여 지방구 응집 정도를 확인하였다. 결론적으로 본 연구 결과를 통하여 단백질 유화액의 산에 대한 안정도를 증가시키는 한 방편으로 MC의 사용을 고려해 볼 수 있을 것이며, 이때 유화액의 크리밍 특성을 인지하는 것이 필요하다.

감사의 글

본 연구는 호원대학교의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Arbolely J-C and Wilde PJ. 2005. Competitive adsorption of proteins with methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, **19**: 485-491
- Cao Y, Dickinson E and Wedlock DJ. 1991. Influence of polysaccharides on the creaming of casein-stabilized emulsions. *Food Hydrocolloids*, **5**: 443-454
- Dickinson E and Woskett CM. 1989. Competitive adsorption between proteins and small-molecule surfactants in food emulsions. In: *Food Colloids*. R.D. Bee, P. Richmond and J. Mingins (eds.). Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. pp 74-96
- Dickinson E. 1988. The role of hydrocolloids in stabilizing particulate dispersions and emulsions. In: *Gums and Stabilizers for the Food Industry*(Vol. 4). G.O. Phillips, D.J. Wedlock and P.A. Williams (eds), IRL Press, Oxford, UK. pp. 249-263
- Dickinson E. 1991. Competitive adsorption and protein-surfactant interactions in oil-in-water emulsions. *American Chemical Society symposium Series*, **448**: 114-121
- Dickinson E. 1992. *An Introduction to Food Colloids*. Oxford University Press. Oxford, UK.
- Gu YS, Decker EA and McClements DJ. 2005. Influence of pH and carrageenan type on properties of β -lactoglobulin stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, **19**: 83-91
- Hemar Y, Tamehana M, Munro PA and Singh MH. 2001. Influence of xanthan gum on the formation and stability of sodium caseinate oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, **15**: 513-519
- Hong ST. 1996. Influence of surfactants on properties of β -lactoglobulin emulsions and heat-treated emulsion Gels. PhD Thesis, University of Leeds, UK.
- Kanzaki G and Berger EY. 1959. Colorimetric determination of methylcellulose with diphenylamine. *Analytical Chemistry*, **31**: 1385-1385
- McClements DJ. 2004. *Food Emulsions: principles, practices, and techniques*, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Pallandre S, Decker EA and McClements DJ. 2007. Improvement of stability of oil-in-water emulsions containing caseinate-coated droplets by addition of sodium alginate. *Food Engineering and Physical Properties*, **72**: E518-E524
- Sarkar N. 1984. Structural interpretation of the interfacial properties of aqueous solutions of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *Polymer*, **25**: 481-486
- Sarkar DK, Axelos M and Popineau Y. 1999. Methylcellulose-induced stability changes in protein-based emulsions. *Colloids Surfaces. B: Biointerfaces*, **12**: 147-160
- Tomp RH, de Kruijff CG, van Eijk M and Rolin C. 2004. On the mechanism of stabilization of acidified milk drinks by pectin. *Food Hydrocolloids*, **18**: 565-572
- Yun SE and Hong ST. 2007. Isolation and investigation of emulsifying properties of surface-active substances from rice bran. *Food Hydrocolloids*, **21**: 838-843
- Zecher D and Gerrish T. 1997. Cellulose derivatives. In: *Thickening and Gelling Agents for Food*. 2nd ed. A. Imeson (ed.). Blackie Academic & Professional. London, UK. pp. 60-87

(접수 2008년 4월 7일, 채택 2008년 5월 16일)