

乳清 및 豆乳 혼합액에서의 단백질 콜로이드 안정성

孫 東 和 · 李 炯 周

서울대학교 농과대학 식품공학과
(1986년 3월 12일 수리)

Stability of Protein Colloids in the Mixture of Cheese Whey and Soy Milk

Dong-Hwa Shon and Hyong-Joo Lee

Department of Food Science and Technology, College of Agriculture
Seoul National University, Suwon, Korea

Abstract

To investigate effectors on the colloidal stability of whey and soybean proteins, characteristics of tofu-gel formation, effects of heat treatment and salt composition on the colloidal stability, and effects of heat treatment on storage stability were analyzed. When experimental tofus were made from the mixture of whey and soybean, the calcium in the whey precipitated the soy proteins, and disrupted the gel formation, which resulted in the curd of poor texture. In the heat treatment at 60~100°C, whey and the whey proteins dialyzed against distilled water were readily precipitated at over 70°C, but the mixture of whey and soy extract as well as soy extract were stable at the range of temperature. The proteins of soy extract, whey dialyzed against sodium phosphate buffer, and the mixture were stable at the same heat treatment, and this suggested that phosphates in the soy extract stabilize specially the whey proteins. Soy proteins were easily destabilized by adding CaCl₂ (0.005~0.07M) at 80°C and 70~85% of the proteins in soy extract and the mixture were precipitated, while only 30~55% of the proteins in whey dialyzed against distilled water were destabilized at the same conditions. Storage stability at 4°C of the mixture was increased when the mixture was treated at 63°C and lower temperature.

서 론

대두의 가공시 유청을 혼합 사용함으로써, 대두 단백질의 제한아미노산¹⁾인 함유황아미노산을 유

청단백질로 강화시킬 수 있고 이것이 유청이용의 또 한 가지 방법이 될 수 있다는 것은 잘 알려진 바와 같다.^{2,3)}

따라서 유청과 대두의 혼합물을 여러가지 식품에서 이용하려는 가능성이 모색되어 왔으며 그 등

안 유청단백질을 첨가한 대두단백 인조육 제조²⁾, 유청 첨가 두유^{4,5)} 및 요구르트의 제조,⁶⁾ 그리고 유청 및 대두단백질의 공동침전을 이용한 두부나 치즈 등의 제조⁷⁻¹³⁾ 등에 관한 연구 보고가 있었다.

본 실험실에서는 유청을 두유에 혼합하고 가열 처리하면 용액의 안정성에 변화를 주고, 칼슘염 첨가에 의한 유청단백질 강화두부 제조 시 커드의 형성에도 영향이 있음을 보고 한 바 있다.⁷⁾

이 현상에는 유청 및 두유의 열처리 시 단순히 염류평형의 변화에 의한 영향 이외에 유청단백질과 대두단백질간의 상호작용이 관련되어 있을 것으로 예상된다. 또한 이들의 상호작용은 가공처리 시 그 조건에 따라 유청·두부 혼합물의 단백질 안정성이나 두부 및 치즈 제조시의 겔 형성 등에 영향을 미치므로써, 식품의 종류에 따라 유리하거나 불리한 면으로 작용될 수 있을 것으로 생각된다.

본 실험에서는 유청 및 대두 단백질의 상호작용을 구명하기 위한 기초실험으로서 유청의 처리에 따른 두부제조특성과 처리를 달리한 유청 및 두유 그리고 혼합용액의 단백질콜로이드 안정성 등을 조사하였으므로 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재 료

감성유청은 치즈제조업체(서울우유)에서 얻어 냉장보관 하면서, 사용시에 두유의 pH인 6.7로 조정하였다. 유청은 서울대부속목장에서 얻은 신선한 원유를 Mckenzie¹⁴⁾의 방법에 따라 상온에서 케이션을 제거하고 N NaOH를 첨가하여 pH6.7로 조절하였으며 필요에 따라 투석하였다. 유청단백질은 pH 4.6의 유청을 증류수에 투석하여(24시간, 4회교환) 냉동건조 하였다. 탈염유청분말은 화란 Domo사 제품을 사용하였다. 대두는 시중에서 백태 품종을 구입하였다. 탈지대두는 대두를 50°C에서 건조시키고 증피제거 및 분쇄후 n-Hexane으로 지방을 제거하여 풍건하였다. 대두추출물은 탈지대두에 20~40배(v/w)의 증류수나 완충액을 첨가하여 상온에서 2시간 교반후 원심분리(4000×g, 30분)하여 상정액을 필요에 따라 투석하였다. 대두 단백질은 Obara와 Kimura¹⁵⁾의 방법에 따라 탈지대두를 증류수로 이중 추출한 후 증류수에 투석하여(24시간, 4회교환) 냉동건조하였다. 유청 및 대두추출물에는 NaN₃(0.02%)를 첨가하였다. 케

이션은 C.P 등급(Junsei)을, 그의 각종 시약은 G.R 또는 E.P 등급을 정제없이 사용하였다.

2. 유청성분을 혼합한 두유로 부터의 두부제조

대두 100g을 수도물 또는 감성유청의 일정량에 12시간이상 침지한 다음 수도물, 감성유청, 탈염유청, 카세인, 유당등의 용액을 가하여 침지에 사용한 액량과 나중 첨가한 용액의 총량이 1l가 되도록 하였다. 침지된 대두와 용액의 혼합물을 믹서로 5분간 마쇄후 100°C에서 10분간 끓인 다음, 여과천으로 걸러 두유를 얻었다. 두부는 두유를 70~80°C로 유지하면서 CaCl₂ 용액을 0.0125M¹⁷⁾ 되게 첨가하여 교반후 15분간 방치한 다음 여과천에 부어 상압하에서 2시간 순물이 빠져 나오게 하였다.

3. 가열 및 CaCl₂ 농도에 대한 단백질 콜로이드의 안정성 시험

가열에 의한 안정성시험은 유청, 대두추출물, 유청과 대두추출물의 1:1 혼합용액(단백질 1%이하, w/v)을 각각 10ml씩 시험관에 넣어 항온수조에서 60~100°C의 일정온도에 도달시키고 15분간 방치한 후 흐르는 수도물에 주냉시켜 원심분리(1,000×g 10분)하여 상정액의 단백질을 micro-Kjeldahl 방법으로 정량하였다. CaCl₂ 농도에 대한 안정성시험은 80°C에서 각각의 시료용액에 1.5M CaCl₂ 용액을 가하여 최종농도가 0.00~0.07M 되도록 하고 교반후 15분간 방치하여 역시 Kjeldahl 법으로 단백질을 정량하였다. 질소계수는 대두: 5.71, 유청: 6.38, 혼합물: 6.05로 계산하였다. 한편 가열 및 CaCl₂ 처리후 얻어진 용액의 혼탁도를 500nm에서의 흡광도¹⁸⁾로 측정하여 이값을 Kjeldahl 법으로 얻은 단백질 량과 비교하였다.

4. 열처리를 달리한 유청 및 두유혼합물의 저장안정성시험

열처리된 유청 및 두유혼합물의 시료들을 4°C에서 각기 0~6일간 보관후, 원심분리(1,000×g, 10분)하여 상정액의 단백질 함량을 위와 같이 정량하였다.

결과 및 고찰

1. 유청 및 두유 혼합물로 부터 두부 제조시 겔 형성 특성

유청을 두유와 혼합하여 두부를 만든 경우와는 달리, 유청에 대두를 침지시킨 후 두부를 만들면 커드가 형성되지 않음이 예비실험에서 관찰되었는데 유청성분이 단백질의 겔 형성에 영향을 미친 결과로 추정되었다. 본 실험에서는 대두의 침지 및 두유에의 유청 첨가 방법을 달리하여 두부를 제조할 때 각각의 겔 형성특징을 조사하였는데 Table 1은 그 결과를 보여주고 있다. 처리 1은 일반적인 두부 제조과정으로 비지로 빠져나가는 양이 가장 적었고, 커드의 형성이 가장 양호하였는데 이때 커드의 중량이 적게 나타난 것은 커드의 경도가 커 단단한 커드를 형성했기 때문이다. 두유를 제조할때 첨가용액의 각각 100% 및 80%에 해당하는 양을 감성유청으로 하여 두부를 만든 처리구 2와 4에서는 비지의 양이 증가한 반면 커드가 형성되지 않았는데 이때 대두단백질은 겔 형성을 하지않고 대부분 침전되어 비지중에 나간 것으로 보인다. 감성유청을 30%만 혼합한 경우(처리 5), 커드의 중량은 오히려 늘어났지만 압착하지 않았으므로 수분이 많이 함유된 몹시 무른 커드가 형성되었다. 그리고, 소량의 감성유청에 먼저 침지하는 경우(처리 3)가 후첨하는 경우(처리 5)보다 비지의 양도 적고 커드의 형성도 비교적 양호하였다. 감성유청에 함유된 염의 영향을 보기 위해 탈염유청을 사용한 경우(처리 6)는 처리 4에

비하여 비지의 량도 훨씬 줄고 커드의 형성도 양호하였다. 이는 유청중에 함유된 칼슘이온 등의 영향으로 혼합가열시 침전을 많이 형성하므로써 비지로 빠져나가는 단백질이 많아지고 이어서 그 두유에 CaCl₂를 첨가하더라도 단백질이 커드를 형성하기에 적합하지 못한 상태로 되었음을 추측할 수 있다. 소량의 카제인을 첨가한 처리구 7에서는 유청성분을 첨가했을 때 보다 겔 형성이 양호하였으나 두유만을 사용했을 때 보다는 커드의 경도가 떨어졌다. 유청대신 유당을 첨가한 경우(처리구 8), 두유만을 사용했을 때와 비교해 커드의 경도외에는 큰 차이가 없었는데 이는 유청에 의한 겔 형성억제가 유당에 의한 것이 아님을 나타내고 있다. 이상의 결과를 종합하면 Schmidt와 Morris¹⁶⁾의 보고와 같이 겔 형성은 단백질간의 상호작용이 크게 영향을 미치고, 또한 지방이나 탄수화물 및 염이 관여되는데, 특히 두부의 커드 형성에는 염의 영향이 매우 큼을 알 수 있었다.

2. 유청 및 대두 단백질의 콜로이드 안정성

1) CaCl₂ 첨가에 따른 상정액의 혼탁도 변화 : 유청과 두유의 혼합에 의한 침전형성도를 알아보기 위하여 유청, 두유의 혼합액에 CaCl₂첨가 농도를 달리하고, 80°C에서 15분간 처리하였을 때 상정액의 혼탁도를 측정된 결과는 Fig. 1에 나타

Table 1. Gelation Characteristics of whey-soy milk mixture during the manufacturing of whey-soy tofu.

No.	Treatment		Wt. of soaked soybean (g)	Vol. of soy milk (ml)	Wt. of residue (g)	Wt. of soy curd ¹⁾ (g)	Firmness of curd ²⁾
	Vol. of soaking soln. (ml)	Vol. of added soln. (ml)					
1	H ₂ O 1,000	—	216	820	98	178	+++
2	Whey 1,000	—	.	700	158	—	—
3	Whey 300	H ₂ O 700	193	700	122	293	++
4	H ₂ O 200	Whey 800	230	700	221	—	—
5	H ₂ O 700	Whey 300	196	700	137	429	+
6	H ₂ O 300	DMW ³⁾ 700	.	830	126	280	++
7	H ₂ O 300	Casein soln ⁴⁾ 700	.	820	122	229	++
8	H ₂ O 300	Lactose soln ⁵⁾ 700	204	745	108	199	++

1) Not pressed/from dry soybean 100g
 2) +++, hard; ++, medium; +, soft; -, no curd
 3) Demineralized whey soln. (prot. 0.8%, pH 6.7)
 4) Casein 0.12%, pH 6.7
 5) Lactose 4%, pH 6.7

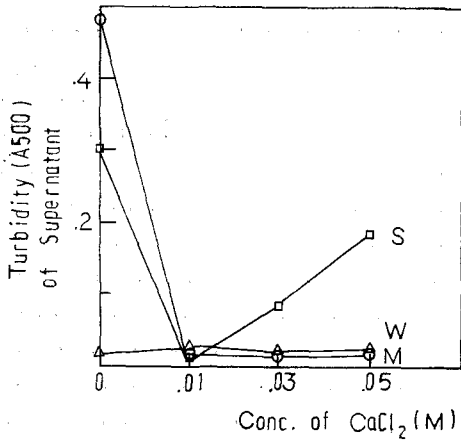


Fig. 1. Effect of the CaCl₂ concentration on the turbidity of the supernatant of the whey, soy extract, and 1 : 1 mixture of the two after heat treatment at 80°C for 15min (W: whey, S: soy extract, M: the mixture).

나 있다. 그림에서 대두추출물은 CaCl₂의 첨가로 상정액의 혼탁도가 급격히 감소했다가 증가하는 반면, 유청의 경우는 거의 변화가 없고 혼합물의 경우는 CaCl₂ 첨가량은 처리에서 혼탁도가 아주 높았다가 CaCl₂의 첨가로 매우 급격히 감소하여 계속 유지되는 현상을 보였다. 그러나, 이 때 측정 한 혼탁도는 단백질량과 반드시 일치하지는 않았고, CaCl₂를 첨가않았을 때에도 가열에 의하여 혼합용액의 안정성에 변화가 있음을 알았다. 따라서 다음 실험에서는 열처리를 전혀 받지않은 시료를 사용하여 여러가지 처리에 따른 용액의 안정성 변화를 상정액의 단백질량을 통하여 살펴 보았다.

2) 가열 및 CaCl₂ 농도에 대한 유청 및 대두 단백질 용액의 안정성 변화: 유청단백질의 열안정성은 화학적인 방법에 비하여 원심분리방법으로 측정하였을 때, 약간 높게 나타남이 보고된 바 있는데¹⁷⁾ Fig. 2.A는 열처리에 따른 유청, 대두추출물 및 혼합물의 상정액중 단백질함량 변화를 최초함량에 대한 백분비로 나타낸 것이다. 25~100°C처리온도에서 대두추출물의 단백질함량은 변화가 크지 않으나 유청의 경우는 변화가 커 100°C에서 60%가 침전됨을 보여주고 있다. 그런데 혼합물을 열처리않았을 때 상정액의 단백질함량이 0.65%로 혼합않은 용액의 경우(각각 0.80%)에 비하여 감소된 것은 유청에 함유된 칼슘이온 등

의 영향으로 대두단백질이 침전되었기 때문으로 생각된다. Fig. 2.B는 인산나트륨완충액(pH 6.98, μ=0.1)에 투석한 유청과 이 완충액으로 추출한 대두추출물 및 혼합물에 대한 것으로 대두추출물의 경우 열안정성이 Fig. 2.A에서 보다 다소 감소한 반면 유청의 경우 열안정성이 거의 변화없음을 나타내었는데, 이는 인산이 유청단백질의 가열시 S-S 교환에 의한 단백질구조를 안정화시킨다는 보고¹⁸⁾와 일치한다. 또한 Kenkare등¹⁷⁾은 pH 4.7의 유청을 인산염완충액에 투석하면 거의 완전히 열안정성이 유지된다고 하였는데 pH 6.7의 유청을 같은 처리하였을 때에도 열안정성이 그대로 유지되었다. 이는 colloidal calcium phosphate가 용액중에 존재하더라도 인산염에 의하여 유청단백질의 열안정성이 유지됨을 알 수 있다. Fig. 2.C는 대두추출물, 증류수에 투석한 유청 및 혼합물에 대한 것으로 pH 6.7의 유청을 증류수에 투석하면 투석 전보다 열안정성이 감소한 반면(100°C 처리시, 36%→20%), 혼합물의 열안정성은 매우 높게 나타났다. 이는 유청을 증류수에 투석함으로써 잔존하는 칼슘이온이 많이 제거되었고 두 용액의 혼합시 대두추출물중 인산염의 영향으로 유청단백질의 열안정성이 증가되었기 때문으로 생각된다. 한편 증류수에 투석한 유청과 증류수에 투석한 대두추출물 및 혼합물의 열안정성은 모두 매우 낮아 100°C처리시 각각 21%, 40%, 28%였다(Fig. 2.D). 이는 염이 거의 존재하지 않는 상태에서는 대두단백질의 열안정성도 낮으며 혼합물의 열안정성에도 큰 변화를 주지 못함을 알 수 있다.

Fig. 3은 대두추출물, 증류수에 투석한 유청 및 혼합물의 CaCl₂ 0.00~0.07M 농도에 대한 단백질 안정성의 변화를 80°C(15분)에서 조사한 것으로 대두추출물과 혼합물은 결과 불안정화되어 70~85%의 단백질이 침전되었으나 증류수에 투석한 유청중의 단백질은 30~55%만 침전되었다. Fig. 1에서 CaCl₂ 무첨가 시 혼합물중 상정액의 혼탁도가 매우 높게 나타났으나 그림 2의 실험중 그 단백질농도(0.60%)는 혼합않은 용액의 경우(0.76, 0.46%)에 비하여 그 중간값을 보이고 있었는데, 이 불일치는 혼합가열로 인하여 유청중의 칼슘이온 등이 개입된 단백질간의 상호작용을 유발함으로써 응집(aggregation)을 일으키고 이에 생성된 가용성응집물(soluble aggregate)들이 상정액중에 존재함으로써 혼탁도를 높였다고 생각된다. 그리

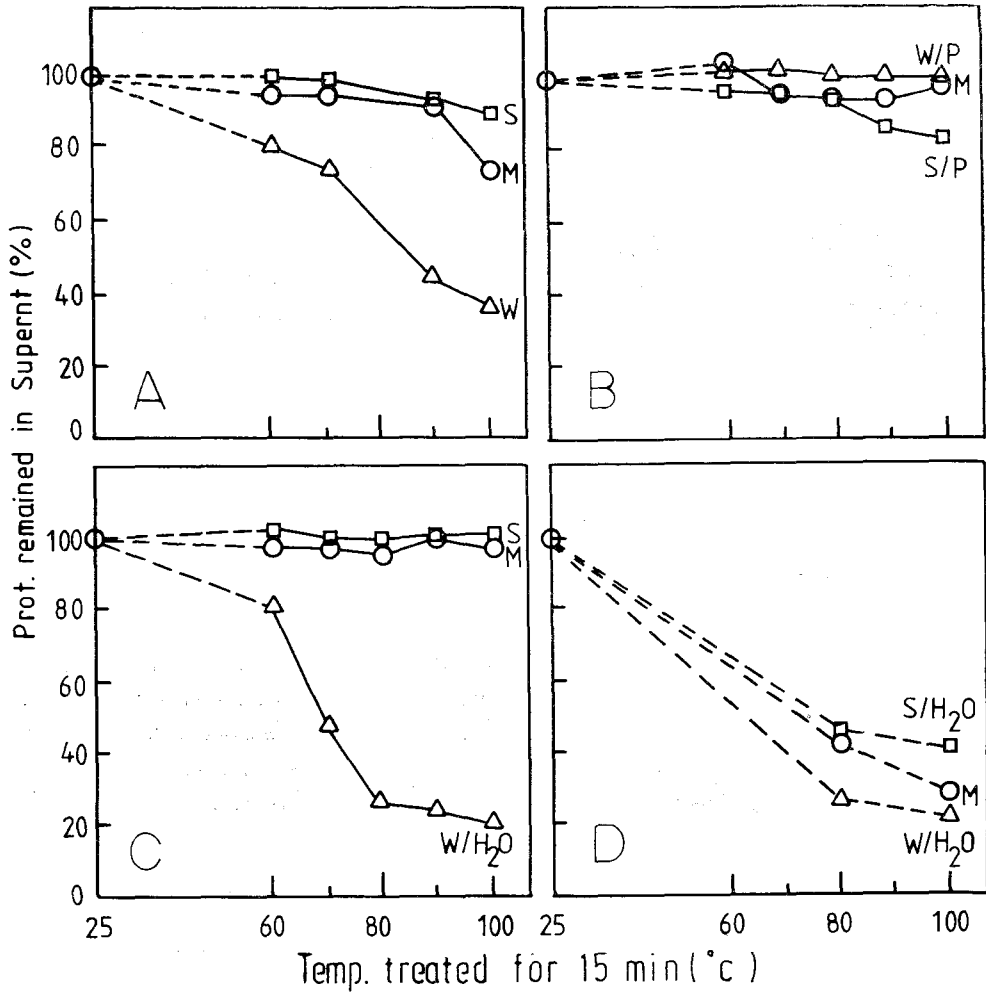


Fig. 2. Effect of heat treatment on the amount of proteins remained in the supernatant of whey, soy extract, and mixture of the two (W: whey, W/P: whey dialyzed against sodium phosphate buffer, W/H₂O: whey dialyzed against distilled water, S: soy extract, S/P: soy extract dialyzed against phosphate buffer, S/H₂O: soy extract dialyzed against distilled water, M: 1:1 mixture of the two in each experiment).

고 대두의 경우 증류수에 투석시키더라도 phytic acid가 완전히 제거되지 않으며¹⁹⁾ 칼슘과 phytic acid는 대두단백질과 함께 complex를 형성하므로²⁰⁾ phytic acid가 두 단백질간의 상호작용에 미치는 영향은 더 연구를 요한다.

이상의 결과를 종합하면 두 단백질의 콜로이드 안정성을 비교하였을 때, 상대적으로 높은 대두 단백질의 열안정성은 대두추출물중의 인산염존재에 기인하고, 유청의 낮은 열안정성은 칼슘염이 많이 함유된 때문이며, 혼합에 의한 증가는 대두

추출물중의 인산염이 단백질의 안정성을 높이는 쪽으로 염류평형을 바꾸기 때문이라고 생각된다. 건조대두중 염의 조성에서 칼슘(0.24%) : 인(0.78%)의 비율이 0.31인데 비하여,¹¹⁾ 유청중 칼슘(1.32%) : 인(0.50%)의 비율이 2.64로¹⁷⁾ 높은 점이 이를 뒷받침해 주고 있다. 또한, 대두단백질은 첨가된 CaCl₂에 의하여 극히 불안정한 반면 유청 단백질은 상대적으로 안정하다고 하겠다.

3) 열처리를 달리한 유청혼합두유의 저장안정성 : 앞의 실험에서 용액중 염류평형이 두 단백질

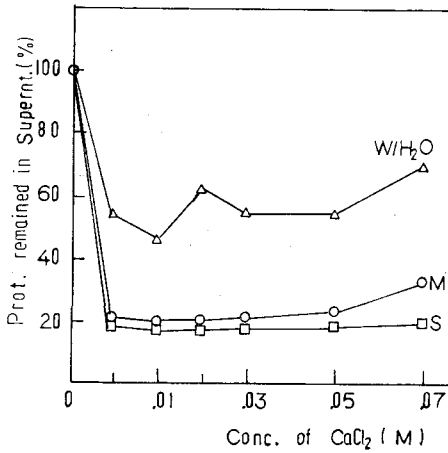


Fig. 3. Effect of the CaCl₂ concentration on the amount of proteins remained in the supernatant of whey, soy extract, and mixture of the two after heat treatment at 80°C for 15min(W/H₂O: whey dialyzed against distilled water, S: soy extract, M: mixture of the two).

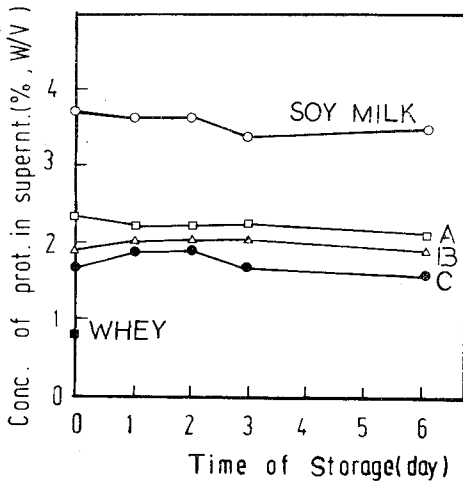


Fig. 4. Stability of proteins in the mixture of whey and soymilk pretreated at different temperatures during the storage at 4°C. (A: soymilk at 63°C for 30min, B: the same mixture as in A was heated to 95°C, C: soymilk at 95°C was mixed with whey heated to 95°C).

의 안정성에 크게 영향을 끼침을 보았는데, 이 열류평형이 열처리에 의해 상당히 변화됨은 특히 우유에서 잘 알려져 있다. Fig. 4는 열처리를 달리 한 유청과 두유를 혼합하여 냉장보관시 단백질의

안정성이 어떻게 변하는가를 보여주고 있다. 유청은 70°C 이상에서 열안정성이 급격히 감소하므로 유청단백질의 열변성을 최소화하기 위해 상법 두유를 63°C로 유지하고 여기에 저온장시간 살균법(63°C, 30분)으로 열처리한 유청을 첨가한 경우(처리A) 용액의 안정성은 매우 양호하였다. 저온 열처리한 유청과 두유를 혼합후 다시 95°C로 높였다가 냉각시킨 경우(처리B)의 안정성은 유청의 온도를 95°C로 높인 직후 95°C의 두유와 혼합냉각한 경우(처리C) 보다 오히려 높았다. 이는 첫째, 유청을 저온에서 예열시 용해성 인산칼슘이 콜로이드상태로 변하여, 용해성 및 이온성 칼슘의 농도가 다시 감소한 점²¹⁾과 둘째, 유청 및 두유의 혼합가열시 단백질 등의 상호작용에 기인한 것으로 생각된다.

요 약

유청 및 대두단백질의 상호작용을 구명하기 위한 기초실험으로서 유청, 대두 이들로 부터 추출한 유청 및 대두단백질을 가지고 두부의 겔 형성 특성, 가열처리 및 염류조성이 콜로이드 안정성에 미치는 영향, 열처리가 저장안정성에 미치는 영향등을 조사하였다. 유청과 대두의 혼합물로서 두부를 제조했을 때 유청중에 함유된 칼슘 등 염류는 대두단백질을 침전시키므로써 두 단백질의 겔 형성을 방해하거나 커드의 조직을 나쁘게 하였다. 60~100°C의 열안정성시험에서 유청과 증류수에 투석한 유청의 단백질은 70°C 이상에서 급격히 침전하기 시작하였다. 대두추출물과 그 혼합물의 경우에는 모두 거의 안정하였다. 인산나트륨용액에 투석한 유청, 대두추출물 및 혼합물의 경우에는 같은 열처리에서 모두 안정하여, 대두추출물중 인산염의 존재가 특히 유청단백질을 안정화하는 것으로 나타났다. CaCl₂ 0.005~0.070M 농도 범위의 칼슘염 첨가에 의하여 증류수에 투석한 유청단백질은 30~35%만 침전되었으나 대두단백질은 쉬 불안정화되어 대두추출물 및 혼합물중 70~85%의 단백질이 침전되었다. 유청 및 두유혼합물의 4°C 저장안정성은 63°C의 저온에서 열처리했을 경우가 고온에서 처리한 경우보다 향상되었다.

참 고 문 헌

1. Smith, A.K. and Circle, S.J.: Soybeans: Chemistry and Technology, Avi. Pub. Co., Westport, p.208 and p.75(1978).
2. De Rham O., Van de Rovaart, P., Bujard, E., Mottu, F. and Hidalgo, J.: Cereal Chem., 54 : 238(1977).
3. Renner, E: Milk and Dairy Products in Human Nutrition, W. Gmbh. Volkswirtschaftlicher Verlag, München, p.109(1983).
4. Holsinger, V.H., Sutton, C.S., Vettel, V.E., Allen C. and Talley, F.B.: J. Dairy Sci. 60 : 1841(1977).
5. Patil, G.R. and Gupta, S.K.: Indian J. Dairy Sci., 35 : 362(1982).
6. Kanda, H.: Process Biochem., 11 : 23(1976).
7. 김정환, 이형주 : 한국식품과학회지, 16 : 285 (1984).
8. 김정환, 이형주 : 한국식품과학회지, 17 : 213 (1985).
9. 위재준, 이형주 : 한국농화학회지, 26 : 119 (1983 A)
10. 위재준, 이형주 : 한국농화학회지, 26 : 205 (1983 B).
11. Aguilera, J.M. and Kosikowski, F.V.: J. Dairy Sci., 61 : 1538(1978).
12. Peng, A.C.: U.S. Patent, 4,105,803(1978).
13. Thompson, L.U. J. Food Sci., 43 : 790(1978).
14. McKenzie, H.A.: Milk Proteins: Chemistry and Molecular Biology, Academic Press, New York, Vol. 2, p.90(1971).
15. Obara, T. and Kimura, M.: J. Food Sci. 32 : 531(1967).
16. Schmidt, R.H. and Morris, M.A.: Food Technol., 38(5) : 85(1984).
17. Kenkare, D.B., Morr, C.V. and Gould, I.A.: J. Dairy Sci., 47 : 947(1964).
18. de Wit, J.N. and Klarenbeek, G.: J. Dairy Sci., 34 : 483(1951).
19. Smith, A.K. and Racks, J.J.: J. Am. Chem. Soc., 79 : 633(1957).
20. Saio, K., Koyama, E. and Watanabe, T.: Agr. Biol. Chem., 31 : 1195(1967).
21. Hilgeman, M. and Jenness, R.: J. Dairy Sci. 34 : 483(1951).
22. Iwabuchi, S. and Yamauchi, F.: J. Food Sic., 49 : 1289(1984).
23. Jenness, R. and Koops, J.: Neth. Milk & Dairy J., 16 : 153(1962).