

칼슘 존재하에서 인산과 구연산염이 분리대두단백질의 유화 안정성에 미치는 영향

김영숙 · 염동민* · 황재관**

양산전문대학 전통조리과, *양산전문대학 식품영양과, **한국식품개발연구원

Effect of Phosphate and Citrate Salts on the Emulsion Stability of Soy Protein Isolate in the Presence of Calcium

Young-Sook Kim, Dong-Min Yeum*, Jae-Kwan Hwang**

Department of Traditional Food Preparation,

Yangsan Junior College, Yangsan-kun, Kyounghnam 626-800, Korea

**Department of Food Nutrition, Yangsan Junior College, Yangsan-kun, Kyounghnam 626-800, Korea*

***Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong,*

Bundang-ku, Songnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea

Abstract

The effect of phosphate salt (Na_2HPO_4) and sodium citrate on the emulsion stability of soy protein isolate (SPI) in the presence of calcium was investigated in terms of salt concentration and addition order. Both phosphate and citrate salts decreased the solubility of SPI despite their pH enhancing effects. Addition of calcium chloride (CaCl_2) significantly decreased ES, which showed nearly negligible at more than 3 mM CaCl_2 concentration. When Na_2HPO_4 were added in the presence of 5 mM CaCl_2 , ES greatly increased up to 20 mM concentration, above which however ES decreased. It was found that the addition order of Na_2HPO_4 and CaCl_2 affected ES. The addition of phosphate and subsequent CaCl_2 exhibited the higher ES than the reverse order. In both cases, the overall ES profile was found to be nearly similar to the solubility profile of SPI, indicating the positive relationship between solubility and emulsion stability of SPI in the presence of calcium. Similar trend to the phosphate effects on ES was also observed for sodium citrate in the presence of calcium.

Key words : Soy protein, emulsion, calcium, phosphate, citrate

서론

에멀전(emulsion)은 서로 섞이지 않는 두 액체 중 어느 하나의 액체가 다른 액체 중에 분산되어 있는 상태를 말한다^{1~3)}. 식품에서 에멀전은 물과 기름으로 이루어져 있으며, 이 때 물과 기름의 계면에 유화제가 위치하여 물과 기름의 분산상태를 안정화시킨다. 따라서 식품 에멀전의 세 주요성분은 물, 기름, 유화제이다^{4~6)}.

단백질은 자연적으로 존재하는 대표적인 천연유화제(natural emulsifiers)로서 유화과정에서 물과 기름 사이의 계면장력(interfacial tension)을 낮추어 에멀전 형성을 용이하게 한다. 또한 분산입자의 표면에 피막을 형성하거나, 표면전하(surface charge)에 의한 전기적 반발력을 제공하여 분산입자의 응집을 억제함으로써 일단 형성된 에멀전을 안정화시키는 작용을 한다^{7~9)}. 단백질의 여러 기능 특성 가운데 이러한 에멀전 형성 및 안정성에 대한 능력은 식품가공 및 저장에 있어서 매우 중요한 요소이며, 단백질을 아이스크림, 샐러드 드레싱, 육제품, 마요네즈 등과 같은 식

품에 이용할 때 매우 중요한 역할을 한다^{10~11)}.

인산은 식품 시스템에서 완충작용, pH 조절작용, 산미료, 수분결합능력, 유화안정 특성, 킬레이트제(chelating agents) 등의 다양한 기능성 때문에 각종 식품에 광범위하게 사용되고 있는 식품첨가물이다^{12~16)}. 특히 인산염은 단백질의 용해도나 구조에 영향을 미침으로써 식품의 유화 안정성을 증가시키는 것으로 알려져 있다^{17~18)}. 이같은 인산염의 유화 안정성은 주로 육제품, 치즈 등의 반고체 식품에 대하여 연구가 이루어져왔다¹⁹⁾. 한편 Hwang 등²⁰⁾의 보고에 의하면 액체상태에서 단백질의 유화 안정성은 인산염의 농도, 첨가방법 등에 의하여 큰 영향을 받는 것으로 나타난 바 있다. 구연산도 pH 조절작용, 산미료, 킬레이트제 등의 기능성을 가지고 있어 인산과 비슷한 작용을 한다^{16, 21~23)}.

칼슘은 식품에 원래 존재하거나 식품을 강화할 목적으로 첨가된다. 그런데 에멀전 식품인 경우에는 칼슘이 식품내에 존재하고 있는 단백질과 결합하여 단백질의 용해도를 급격히 감소시킴으로써 단백질의 유화특성을 저해한다²⁴⁾. 또한 칼슘과 단백질의 결합체는 액체식품의 경우 침전물을 형성하여 외관에 나쁜 영향을 주므로 제품의 상품성을 떨어뜨린다. 따라서 식품의 품질이나 안정성을 유지하면서 칼슘을 첨가할 수 있는 방법의 개발이 필요하다.

본 연구에서는 액체 에멀전에 칼슘이 존재할 때 인산염과 구연산염의 농도와 첨가방법이 단백질의 유화 안정성에 미치는 영향을 보고한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

분리대두단백질(soy protein isolate)은 탈지대두분(제일제당)으로부터 등전점 침전(isoelectric point precipitation)에 의하여 제조하였다. 탈지 대두분에 10배(v/w)의 증류수를 가하고 3 N NaOH로 pH 8.0으로 조절하여 30°C 에서 1 시간 동안 교반시킨 후 15,000 × g 으로 10분간 원심분리하여 단백질의 추출액을 얻었다. 이 추출액에 1 N HCl 을 가하여 분리대두단백질의 등전점인 pH 4.5로 조절한 후 15,000 × g 으로 10분간 원심분리하여 단백질을 침전시켰다. 이

침전물을 증류수로 세척하여 3 N NaOH을 이용하여 pH 7.0으로 맞춘 다음 동결건조하였다. Lowry 등²⁵⁾의 방법에 의하여 측정된 생산시료의 단백질 함량은 약 91%였다.

에멀전 제조에 사용된 기름은 정제대두유(제일제당)였으며, 인산염(Na_2HPO_4)과 구연산염(sodium citrate)은 Sigma사(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

2. 단백질 용해도의 측정

본 실험에서는 염의 첨가에 의한 1%(w/v) 단백질 용액의 용해도를 측정하였다. 실온에서 자석젓개로 1 시간 동안 교반시킨 1%(w/v) 단백질 용액에 일정량의 염을 첨가하여 완전히 녹인 후 22,000 × g 에서 10 분간 원심분리하여 Lowry 등²⁵⁾의 방법으로 측정된 상등액의 단백질농도를 초기 단백질농도에 대한 백분율로 나타내었다.

3. 에멀전의 제조

실온에서 자석젓개로 1 시간 동안 교반시킨 1%(w/v) 단백질 용액 90 ml에 대두유 10 ml를 가하여 전체부피를 100 ml로 하였다. 이 혼합물을 30°C 항온조에서 Sorvall Omnimixer (DuPont Instrument Co., Wilmington, DE, USA; Model 17105)를 이용하여 7,000 rpm에서 5분간 균질화시켰다. 이 때 염은 실험조건에 따라 유화전에 단백질용액에 첨가하거나 유화 후에 에멀전에 첨가하였다.

4. 유화 안정도의 측정

유화 안정도(emulsion stability: ES)의 측정은 Tornberg와 Hermansson²⁶⁾의 방법을 약간 수정하여 사용하였다. 조제된 에멀전을 20 × 110 mm 시험관에 넣고 30°C 항온실에서 2 시간 동안 정치시킨 후 주사기를 이용하여 시험관의 아랫부분에서 15 ml의 에멀전을 취하여 Gerber 법²⁷⁾으로 지방함량을 측정하였다.

유화안정도는 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$ES = F/F_0 \times 100 (\%)$$

여기서 Fo는 에멀전의 초기 지방함량이며, F는 30°C에서 2 시간 정치시킨 후에 측정된 에멀전의 지방함량이다.

결과 및 고찰

Table 1은 인산염과 구연산염의 첨가에 따른 pH와 용해도의 변화를 나타낸 것이다. 염의 첨가에 따라 pH는 증가하나 용해도는 감소하는 것을 알 수 있다. 지금까지의 연구보고에 의하면 대두단백질의 용해도는 등전점인 pH 4.5에서 가장 낮은 값을 보이며 pH가 증가함에 따라 용해도가 증가하는 것으로 알려져 있다^{28, 29)}. 이는 본 연구에서 인산염이나 구연산염을 첨가하였을 경우 pH가 증가하여도 용해도가 감소한다는 결과와는 상반된 것이다. 음이온의 인산과 구연산염은 양이온의 단백질과 결합체를 형성할 수 있다^{30, 31)}. 결과적으로 이와 같은 결합체의 형성으로 인하여 Table 1에서와 같이 염농도의 증가에 따라 단백질의 용해도가 감소된 것으로 해석된다.

Fig. 1은 칼슘첨가에 따른 pH, 용해도 및 유화안정도와와의 관계를 나타낸 것이다. 단백질 용액은 pH 7.1에서 칼슘농도가 증가함에 따라 5mM의 CaCl₂에서 pH 5.9로 약간 감소하였다. 반면에 용해도는 3 mM의 CaCl₂ 농도에서 급격한 감소를 보였다. 김 등²⁸⁾은 대두단백질의 경우 알칼리 영역에서 pH가 감소하면서 용해도가 서서히 감소하다가 pH가 약 5.5이하에서 용

해도가 급격히 감소하여 등전점(pH 4.5)에서 가장 낮은 용해도를 보인다고 보고하였다. 그러나 Fig. 1에서 나타난 바와 같이 3 mM의 CaCl₂ 농도에서의 pH는 약 6.0으로서 용해도의 급격한 감소는 pH에 의한 영향보다는 칼슘이온과 단백질의 결합에 의한 것으로 해석된다. 또한 Fig. 1에서 단백질의 유화안정도도 3 mM의 CaCl₂ 농도에서 급격히 감소하는 것으로 보아 대두단백질의 용해도와 유화 안정성이 밀접한 관계를 갖는 것을 알 수 있다.

위에서 설명한 바와 같이 에멀전의 유화 안정도가 거의 없는 5 mM의 CaCl₂에서 인산염의 농도와 첨가 방법에 따른 단백질의 용해도와 유화 안정도와의 관계를 Fig. 2에 나타내었다. 단백질 용액에 인산염을 먼저 첨가한 후 칼슘을 첨가한 경우가 그 반대의 경우보다 유화 안정도와 용해도가 더 높은 것을 알 수 있다. 인산염은 기본적으로 칼슘과 같은 2가 양이온과 결합하는 능력을 가지고 있다^{16, 32)}. 따라서 20 mM까지의 인산염 농도에서는 인산염과 칼슘의 결합작용에 의하여 칼슘이 단백질과 결합하는 것을 억제하기 때문에 유화 안정도가 증가한다. 그러나 20 mM이상의 농도에서는 인산염의 단백질 결합작용에 의하여 단백질의 용해도가 감소하면서 유화 안정도가 다시 감소하는 것으로 해석된다. 그러나 인산염이 칼슘과 결합능력이 있더라도 칼슘이 일단 단백질과 결합하고 있는 상태에서는 이러한 능력이 저하되어 Fig. 2에서 나타난 바와 같이 칼슘보다 인산염을 먼저 첨가한 경우보다 유화 안정도

Table 1. Effect of Na₂HPO₄ and sodium citrate concentration on pH and solubility

Concentration (mM)	Na ₂ HPO ₄		Sodium citrate	
	pH	Solubility (%)	pH	Solubility (%)
0	7.06	91	7.06	91
5	7.64	90	7.22	90
10	7.90	89	7.22	89
20	8.12	88	7.35	87
30	8.20	87	7.43	86
40	8.36	86	nd*	nd

* not determined

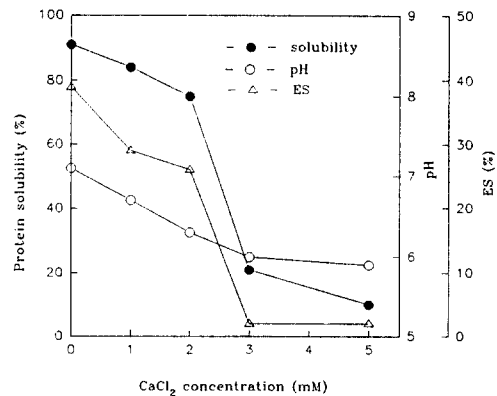


Fig. 1. Effect of CaCl₂ concentration on protein solubility, pH and emulsion stability.

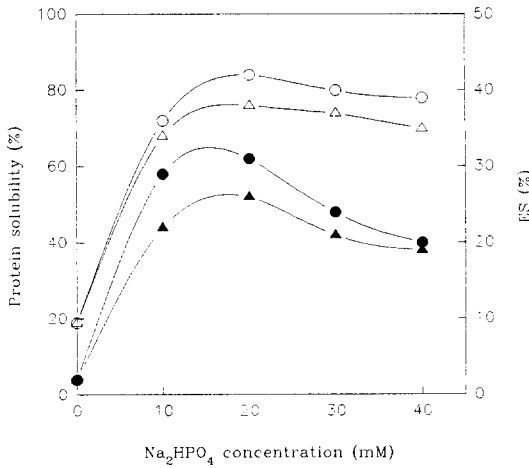


Fig. 2. Changes of emulsion stability and protein solubility by the addition method of Na₂HPO₄ at 5 mM CaCl₂ concentration.

Na₂HPO₄ → CaCl₂ : ○- ES
 ●- Solubility
 CaCl₂ → Na₂HPO₄ : △- ES
 ▲- Solubility

가 상대적으로 낮은 것을 알 수 있다.

Fig. 3은 구연산염을 30mM까지 첨가하였을 때 농도와 첨가방법의 차이에 따른 유화 안정도의 변화를 나타낸 것이다. 구연산염을 유화공정 이전에 첨가하여 에멀전을 제조한 경우에는 5 mM 첨가시 유화 안정도가 증가하다가 그 이상의 농도에서는 감소하는 것을 알 수 있다. 반면에 일단 유화 후 에멀전에 구연산염을 첨가한 경우에는 모든 농도범위에서 유화 안정도가 감소하였다. Hwang 등²⁰⁾은 인산염의 경우에도 첨가방법에 따라 Fig. 3에 나타난 경향과 비슷한 결과를 보고하였다. 이 같은 결과는 에멀전에 염을 첨가하는 경우 염농도 뿐만 아니라 첨가방법이 유화 안정성에 큰 영향을 미친다는 것을 의미한다.

Fig. 4는 5 mM의 CaCl₂ 존재하에서 구연산염을 30 mM까지 첨가하였을 때 용해도와 유화 안정도와의 관계를 나타낸 것이다. 이 때 구연산염은 칼슘보다 먼저 첨가된 것이다. 그림에서 알 수 있듯이 구연산도 전체적인 경향은 인산염 첨가효과와 유사한 것을 알 수 있

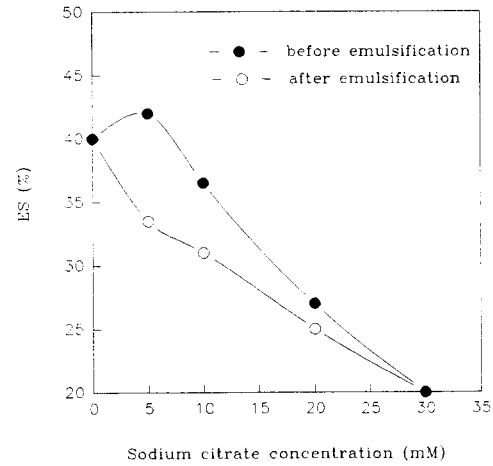


Fig. 3. Effect of concentration and addition order of sodium citrate on emulsion stability.

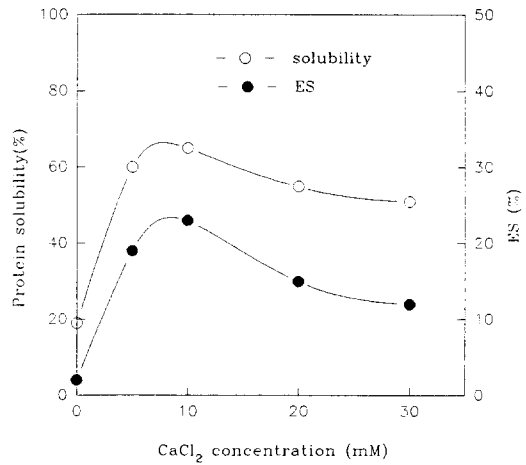


Fig. 4. Effect of sodium citrate on emulsion stability and protein solubility in the presence of 5 mM CaCl₂

다.

앞의 Fig. 2와 Fig. 4에서 유화 안정도는 단백질의 용해도와 거의 같은 경향을 보이는 것을 알 수 있다. 이는 단백질의 용해도가 에멀전의 안정성에 중요하다

는 것을 의미한다. 이와 같은 유화 안정성과 용해도와의 비례관계는 분리대두단백질에 대하여 여러 차례 보고된 바 있다.³³⁻³⁵⁾

칼슘은 매우 중요한 미량성분으로서 식품의 영양적 가치를 강화할 목적으로 종종 식품에 첨가된다. 그러나 칼슘은 식품내의 단백질과 결합하여 불용성 결합체를 형성하여 용해도를 감소시킴으로써 식품의 안정성과 품질을 저하시킨다. 이러한 경우 본 연구에서 나타난 바와 같이 인산염이나 구연산염을 사용하면 단백질의 용해도를 증가시킴으로써 유화 안정성을 향상시킬 수 있다. 그러나 이와 같은 유화 안정도는 염농도와 첨가방법에 따라 큰 차이가 나므로 최적 조건을 찾는 것이 중요하다. 특히 인산염은 종류와 그에 따른 기능성이 다양하기 때문에 인산염의 구조와 유화 안정도의 상호관계에 대한 좀 더 체계적인 연구가 필요하다.

요 약

칼슘이 존재하고 있을 때 분리대두단백질의 유화 안정성에 대한 인산(Na_2HPO_4)과 구연산염(sodium citrate)의 효과를 염농도와 첨가순서에 관하여 연구하였다. 인산과 구연산염을 첨가하였을 때 단백질 용액의 pH는 증가하였으나 용해도는 감소하였다. 칼슘(CaCl_2)을 첨가하였을 때 에멀전의 유화 안정도는 크게 감소하였으며, 3 mM 이상의 농도에서 유화 안정도는 거의 나타나지 않았다. CaCl_2 가 5 mM 존재하고 있을 때 Na_2HPO_4 를 첨가하면 20 mM 농도까지는 유화안정도가 증가하나 그 이상의 농도에서는 유화 안정도가 감소하는 경향을 보였다. 또한 Na_2HPO_4 를 먼저 첨가한 후 CaCl_2 를 가한 경우가 그 반대의 경우보다 전체적으로 더 높은 유화 안정도를 보였다. CaCl_2 의 존재하에서 구연산염을 첨가한 경우에도 인산염과 거의 비슷한 경향을 보였다. 본 연구에서는 분리대두단백질의 용해도는 유화 안정성과 밀접한 관계가 있는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Becher, P. : *Emulsions: Theory and Practice*, Reinhold Publishing Corporation, NY, pp.

95-149(1965).
 2. Petrowski, G. E. : *Adv. Food Res.*, **22**, 310 (1976)
 3. Bender, A. E. : *Dictionary of Nutrition and Food Technology*, Butterworths, London, p. 88(1982).
 4. Philips, M. C. : *Food Technol.*, **35**, 50(1981).
 5. Anjelo, A. J. : in *Food Emulsifiers*, Charalambous, G. and Doxastakis, G. (ed.), Elsevier, NY, pp. 1-8(1989).
 6. Friberg, S. E., Gourbran, R. F. and Kayali, I. H. : in *Food Emulsions*, Larsson, K. and Friberg, S. E. (ed), 2nd ed., Marcel Dekker, Inc., NY, pp. 1-40(1990).
 7. Karel, M. : *J. Food Sci.*, **38**, 756(1973).
 8. Parker, N. S. : *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, **25**, 285(1988).
 9. Kinsella, J. E. and Whitehead, D. M. : *Adv. Food Nur. Res.*, **33**, 343(1989).
 10. Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Toda, J. and Ishii, K. : *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 719 (1972)
 11. Knightly, W. H. : *Encyclopedia of Food Science and Technology*, John Wiley & Sons, Inc., NT, Vol. 2, pp. 690-697(1992).
 12. Van Wazer, J. R. : in *The Encyclopedia of Chemical Technology*, Kirk, R. E. and Othmer, D. F. (ed), Interscience Encyclopedia, Vol. 15(1968).
 13. Ellinger, R. H. : in *Phosphates as Food Ingredients*, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL (1972).
 14. Halliday, D. A. : *Process Biochem.*, **13**, 6 (1978).
 15. Sofos, J. N. : *Food Technol.*, **40**, 52(1986).
 16. Dziezak, J. D. : *Food Technol.*, **45**, 80(1991).
 17. Carpenter, J. A. and Saffle, R. L. : *Food Technol.*, **19**, 1567(1965).
 18. Saffle, R. L. : *Adv. Food Res.*, **16**, 105(1968).
 19. Van Wazer, J. R. : in *Symposium: Phosphates*

- in *Food Processing*, Deman, J. M. and Melnychyn, P. (ed), The AVI Publishing Co., Westport, CO. (1971).
20. Hwang, J. K., Kim, Y. S. and Pyun, Y. R. : *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **35**, 152(1992).
 21. Gardner, W. H. : in *CRC Handbook of Food Additives*, Furia, T. E. (ed.), 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL, Vol, 1, p. 225(1977).
 22. Blenford, D. E. : *Food Flav. Ingrid. Proc. Pkg.*, **8**, 11(1986)
 23. Duxbury, D. D. : *Food Processing*, **52**, 83(1991)
 24. Wallace, G. W. and Satterlee, L. D. : *J. Food Sci.*, **42**, 473(1977).
 25. Lowry, O. H. : *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951).
 26. Tornberg, E. and Hermansson, A. M. : *J. Food Sci.*, **42**, 468(1977).
 27. Atherton, H. V. and Newlander, J. A. : *Chemistry and Testing of Dairy Products*, The AVI Publishing Co., Westport, CO, p. 96 (1977).
 28. 김영숙, 황재관, 조은경, 이신영, 변유량 : 한국식품과학회지. **17**, 383(1985)
 29. Aoki, H., Taneyama, O., Orimo, N. and Kitakawa, I. E. : *J. Food Sci.*, **46**, 1192(1981).
 30. Steinhauer, J. E. : *Dairy Food Sanitat.*, **3**, 244 (1983).
 31. Sofos, J. N. : in *Developments in Food Preservation-5*, Thorne, S. (ed.), Elsevier, London, p. 207(1989).
 32. Ellinger, R. H. : in *CRC Handbook of Food Additives*, Furia, T. E. (ed.), 2nd ed., CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, Vol 1(1972).
 33. Kinsella, J. E. : *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **7**, 219(1976).
 34. Kinsella, J. E. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 242(1979).
 35. Voutsinas, L. P., Cheung, E. and Nakai, S. : *J. Food Sci.*, **48**, 26(1983).

(1994년 7월 2일 수리)