

Surfactant micelle이 수중유적형 유화계내의 대두유 산화에 미치는 영향

조영제* · 천성숙¹ · Eric A. Decker¹

상주대학교 식품생물공학부, ¹Dep. of Food Science, Univ. of Massachusetts

Effect of Surfactant Micelles on Lipid Oxidation in Oil-in-water Emulsion Containing Soybean Oil

Young-Je Cho*, Sung-Sook, Chun¹ and Eric A. Decker¹

Division of Food & Bioresources Engineering, Sangju National University

¹Department of Food Science, University of Massachusetts, USA

Effect of surfactant micelles on lipid oxidation was determined in soybean oil-in-water (O/W) emulsions. The concentration of ferric irons to continuous phase in the O/W emulsions was measured as a function of various Brij type and concentrations. The concentration of ferric iron in the continuous phase increased with increasing surfactant micelles concentration (0.5~2.0%) and storage time (1~7 days). At pH 3.0, the concentration of continuous phase iron was higher than at pH 7.0. Lipid oxidation rates, as determined by the formation of lipid hydroperoxides and headspace hexanal, in the O/W emulsions containing ferric iron decreased with increasing surfactant micelle concentration (0.5~2.0%). These results indicate that surfactant micelles concentration could alter the physical location and prooxidant activity of iron in soybean O/W emulsions.

Key words: soybean oil, surfactant micelles, iron, lipid oxidation

서 론

대부분의 가공 식품에서, 지방은 surfactant로 안정하게 분산되어 유화된 형태로 존재한다. 유화식품의 산화는 prooxidant의 농도, prooxidant의 존재 위치 및 유화된 지방구 경계면의 상태를 포함한 여러 요인에 의해 좌우된다⁽¹⁾.

철은 물과 기름에 가용성으로 알려져 있으며⁽²⁾, lipid radical을 생성하는 peroxide의 산화적 분해를 촉진한다^(3,4). 특히 ferric iron은 prooxidant로서 유화식품 안에 지방산화를 촉진시킬 만큼 충분히 자연적으로 존재하고 있다. Ferric iron의 가용성은 pH에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있으나^(5,6), 유화액 안에서의 존재 형태에 대해서는 잘 이해되어져 있지 않다.

수중유적형 유화액에서 유화된 지방구를 구성하지 않는 잉여의 계면활성제는 continuous phase에서 surfactant micelle을 구성하고 있으며, 이들 surfactant micelle들은 수중유적형 유화액의 지방구의 구성성분들을 지방구 바깥쪽의 continuous

phase로 녹여낼 수 있는 것으로 이해되어지고 있다⁽⁷⁾. 또한 그런 역할은 계면활성제의 형태와 농도에 좌우된다⁽⁸⁾. 그러므로 이러한 surfactant micelle에 의한 prooxidant의 전이에 의한 산화활성감소 기작으로 인해 수중유적형 유화액에서 지방산화를 저해할 수 있는 잠재력을 가지고 있다고 추측할 수 있다. 만일 surfactant micelle이 금속과 같은 그런 prooxidant의 전이에 영향을 미칠 수 있다면 이것은 지방산화를 줄일 수 있는 또 다른 방안으로 활용될 수 있을 것이다.

그러므로 본 연구에서는 prooxidant로서 ferric iron을 첨가한 대두유 수중유적형 유화액에서 surfactant micelle의 역할을 찾아보기 위하여 continuous phase로의 ferric iron의 전이 정도와 지방 산화의 변화를 살펴보았다.

재료 및 방법

시약 및 재료

Brij(Polyoxyethylene 10-lauryl ether), Brij35, Brij76, Brij700, imidazole, ferric chloride, ferrous sulfate, citric acid, ferrozine, hydroxylamine-hydrochloride, barium chloride, ammonium thiosulfate와 sodium acetate 등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입해서 사용하였고. Methanol, butanol, isooctane 및 isopropanol 등은 Fisher

*Corresponding author : Young-Je Cho, Sangju National University, 386 Gajang-dong Sangju-si, Gyeongsangbuk-do 742-711, Korea
Tel: 82-54-530-5265
Fax: 82-54-530-5269
E-mail: yjcho@sangju.ac.kr

Scientific(Fair Lawn, NJ, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 기타 시약은 특급 시약을 사용하였고, 대두유는 시중에서 구입하여 사용하였다. 초자기구는 사용하기 전에 진한황산으로 씻은 뒤 2차 증류수로 행군 후 건조시켜 사용하였다.

Ferric iron(Fe^{3+})의 첨가

500 μ M의 ferric iron(Fe^{3+})을 소량의 용매에 녹이거나 대두유에 직접 첨가한 후 용매는 질소가스를 이용하여 12시간 동안 교반하며 증발시켰다. Ferric iron의 첨가 후 14,600 g에서 10분간 원심분리 하였으며, Whatman No. 40여과지를 사용하여 여과한 후 시료로 사용하였다.

Surfactant micelle의 제조

Surfactant micelle은 다양한 Brij를 사용하여 10 mM citrate buffer(pH 3.0), 10 mM acetate-imidazole buffer(pH 7.0) 등에 분산시켜 최종 농도가 68 mM이 되게 제조하였다. Surfactant micelle은 자석교반기 위에서 micelle을 형성시키기 위해 10분간 교반 시키고 pH를 정확하게 조절하였다.

유화액의 제조

유화액은 대두유와 68 mM Brij micelle을 혼합하여 지방함량이 20%가 되게 제조하였다. 혼합액은 5T 표준 probe를 장착한 Braun-Sonic 2000 U ultrasonic generator(Braun Biotech, Allentown, PA, USA)를 이용하여 초음파 처리하여 제조하였으며, 이때 ultrasonicator의 작동조건은 power setting +250, repeating duty cycle 0.3초, operation time 90초이었다.

유화액 지방구의 크기 측정

유화액 지방구의 크기는 Horiba LA-900 laser scattering particle size analyzer(Horiba Instruments, Irvine, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 지방구의 직경은 1.4~1.6 μ m 정도였고, 이 값은 실험이 진행되는 동안 변하지 않았다.

Continuous phase의 분리

Continuous phase의 분리를 위하여, 유화액을 원심분리기(Serv-all Model RC2-B, Newtown, CT, USA)를 이용하여 14,600 g로 10°C에서 30분간 원심분리 시킨 후, 18 gauge needle을 가진 5 mL disposable syringe를 사용하여 continuous phase를 분취하였다.

Ferric iron 농도 측정

Ferric iron농도는 Fukuzawa와 Fujii의 방법⁽⁹⁾으로 측정하였다. Continuous phase 용액 1 mL에 10% hydroxylamine-hydrochloride/2 N HCl 1 mL를 첨가하여 실온에서 15분간 환원시킨 뒤, 10 mM buffer 1 mL를 첨가하고, 9 mM ferrozine 0.5 mL를 첨가한 후 10분간 방치시켜 발색시켰다. 발색 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였으며, ferric iron의 농도는 표준곡선을 이용하여 환산하였다.

Hydroperoxide의 측정

Hydroperoxide는 Shanta와 Decker의 방법⁽¹⁰⁾으로 정량 하였

다. 유화액 0.3 mL에 isooctane/isopropanol(3 : 1, v : v) 용액 1.5 mL를 가한 뒤 10초간 vortex mixer로 잘 혼합하는 과정을 3회 반복하고 1,460 g로 2분간 원심분리 시켰다. 원심분리 된 상정액을 0.2 mL 분취한 후 methanol/butanol(2 : 1, v : v)용액 2.8 mL를 가하여 잘 섞어주었다. 혼합액에 3.94 M ammonium thiocyanate 15 μ L와 72 mM ferrous용액 15 μ L를 넣어 발색시키고, 실온에서 20분간 방치한 뒤 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. Hydroperoxide의 농도는 표준곡선으로 환산하였다.

Headspace aldehyde의 측정

Headspace aldehyde는 Mancuso 등의 방법⁽¹¹⁾으로 headspace auto sampler(Hewlett-Packard 19395A)를 장착한 gas chromatography (Shimadzu GC-17, Braintree, MA, USA)로 측정하였다. 이때 auto sampler의 조건은 sample loop와 transfer line 온도는 110°C, bath 온도는 55°C, pressurization 10초, venting 10초, 그리고 injection 시간이 1분이었다. Headspace aldehyde의 분리는 65°C에서 HP methyl silicone (DB-1) fused silica capillary column으로 분리되었다. 이때 injector 온도는 180°C이었고 flame ionization detector 온도는 250°C이었다.

통계처리

모든 실험은 3반복 시행하였고, 통계분석은 5% 유의수준에서 Student's t-test⁽¹²⁾를 행하였다.

결과 및 고찰

대두유 지방구에 함유된 ferric iron의 농도 측정

대두유 지방구에 함유된 ferric iron의 농도를 측정한 결과 Fig. 1과 같이 199.63 \pm 1.63~303.52 \pm 7.73 μ M까지 대두유 지방구에 함유되어 있는 것으로 나타났으나, 용매에 따라 다소 차이가 났다. 이는 각종 용매에 따른 ferric iron의 초기용해도가 영향을 받은 것이라 생각되며, 용매 처리하지 않고 대두유에 직접 넣어준 처리구의 ferric iron 함유량은 317.08 \pm 5.53 μ M로 methanol로 처리한 용매 처리구와 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

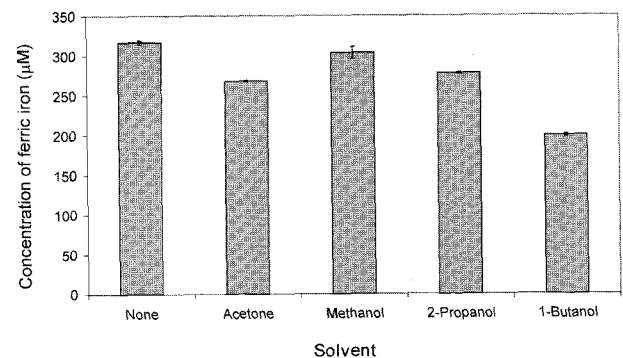


Fig. 1. The concentration of ferric iron in soybean oil droplets.

*Data markers represent average (n=3).

*standard deviation (some error bars lie within the markers).

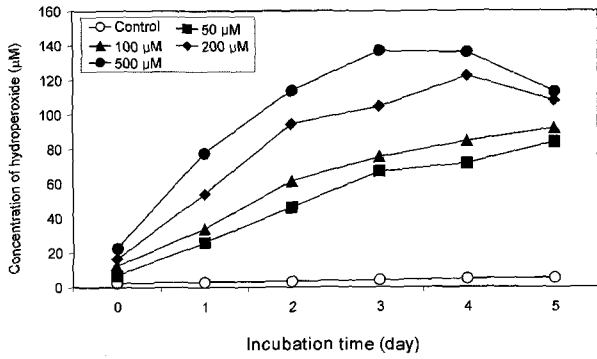


Fig. 2. Effect of concentration of ferric iron on oxidation of soybean oil-in-water emulsion.

*Data markers represent average (n=3).

*standard deviation (some error bars lie within the markers).

Ferric iron 첨가량에 따른 대두유 수중유적형 유화액의 산패도 측정

대두유에 첨가되는 ferric iron의 농도에 따른 산패정도를 측정하기 위하여 50~500 µM까지 농도를 변화시키며 ferric iron을 첨가 후 저장기간별 유화액의 hydroperoxide생성량을 측정한 결과 ferric iron의 농도가 증가할수록, 저장기간이 경과할수록 hydroperoxide의 양은 증가하는 것으로 나타났고, 특히 200~500 µM 등의 고농도 첨가시에 산화는 급속도로 일어나 각각 4일과 3일 저장 후 hydroperoxide의 생성은 최고에 도달하였으며 그 이후 hydroperoxide 생성의 감소가 관찰되었다(Fig. 2).

대두유 수중유적형 유화액으로부터 continuous phase로의 ferric iron 전이에 미치는 계면활성제 종류의 영향

대두유 수중유적형 유화액의 지방구로부터 continuous phase로의 ferric iron 전이에 미치는 Brij micelle 종류의 영향을 알아보기 위하여 다양한 Brij를 첨가하고 실온에서 1일간 저장한 후 continuous phase로 전이되는 ferric iron의 양을 측정한 결과 Table 1에서와 같이 첨가된 Brij의 head group size가 커질수록, 첨가농도가 높아질수록 continuous phase로 전이되는 ferric iron의 농도가 높아지는 것을 관찰할 수 있었으나 Brij 종류간 차이는 크지 않았다. 이 같은 결과로 보아 Brij의 head group size가 클수록 유화액이 안정해지고 surfactant micelle이 잘 형성되어 micelle 내부에 ferric iron을 결합하여 continuous phase로 위치가 이동하는 것으로 추측이 되었다. 이와 같은 결과는 Silvestre 등⁽⁷⁾이 prooxidant를 첨가한 salmon oil 함유 유화액의 산화가 계면활성제의 head group size에 의해 영향을 받는다고 보고한 것과 유사하였다.

대두유 수중유적형 유화액으로부터 continuous phase로의 ferric iron 전이에 미치는 계면활성제 농도의 영향

유지 지방구로부터 continuous phase로 ferric iron의 전이에 미치는 Brij micelle의 농도의 영향을 알아보기 위하여 잉여의 Brij를 첨가한 유화액과 Brij를 첨가하지 않은 유화액을 실온에서 7일간 저장하며 continuous phase로 전이된 ferric

Table. 1. The concentration of ferric iron in continuous phase from soybean oil-in-water emulsions

Surfactant	Added surfactant micelle (%)	Concentration of surfactant in continuous phase (%)	Concentration of ferric iron in continuous phase (µM)
Brij (C ₁₂ E ₁₀)	0	2.07	19.26 ± 0.52
	1	3.04	23.52 ± 0.71
	2	4.13	24.43 ± 0.84
Brij 35 (C ₁₂ E ₂₃)	0	2.18	19.47 ± 0.49
	1	3.19	23.92 ± 0.42
	2	4.26	24.73 ± 0.26
Brij 76 (C ₁₈ E ₁₀)	0	2.23	20.94 ± 0.23
	1	3.25	24.73 ± 0.61
	2	4.46	25.16 ± 0.53
Brij 700 (C ₁₈ E ₁₀₀)	0	2.29	21.84 ± 0.67
	1	3.34	24.62 ± 0.83
	2	4.58	25.23 ± 0.23

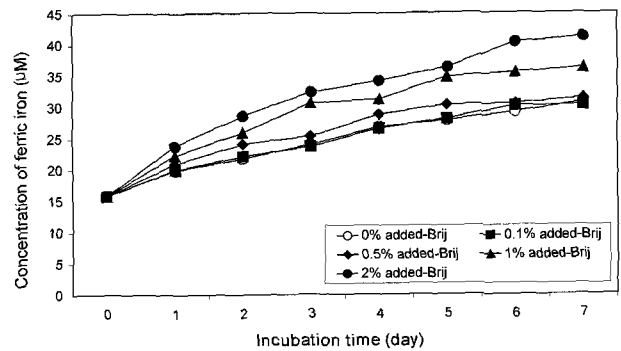


Fig. 3. Effect of added-Brij micelle concentration on the translation of ferric iron to continuous phase from soybean oil-in-water emulsion.

*Data markers represent average (n=3).

*standard deviation (some error bars lie within the markers).

iron의 양을 측정된 결과 Fig. 3에서와 같이 첨가된 Brij의 농도가 높아질수록 continuous phase로 전이되는 ferric iron의 농도가 높아지는 것을 알 수 있었다. 이는 과량 첨가된 잉여의 계면활성제가 micelle을 형성하여 continuous phase로 위치가 바뀌면서 micelle 내부에 ferric iron을 함유하고 있는 것으로 추측이 되며, 이는 유화식품에 존재하는 철이온들이 잉여의 계면활성제에 의해 그 존재위치가 변해 유지식품의 산화작용에 영향을 미칠 수 있을 것이라 판단되었다.

대두유 수중유적형 유화액으로부터 continuous phase로의 ferric iron전이에 미치는 pH의 영향

대두유 수중유적형 유화액에서 continuous phase로의 ferric iron의 전이는 Fig. 4에서와 같이 pH 3.0과 7.0에서 크게 차이가 나는 것을 알 수 있었다. 두 pH에서 모두 저장기간이 경과할수록 continuous phase로 전이되는 ferric iron의 양은 증가하였으나, pH 3.0에서 7일간 저장 시 continuous phase의 ferric iron 양은 Brij를 첨가하지 않은 실험구의 31.61 ±

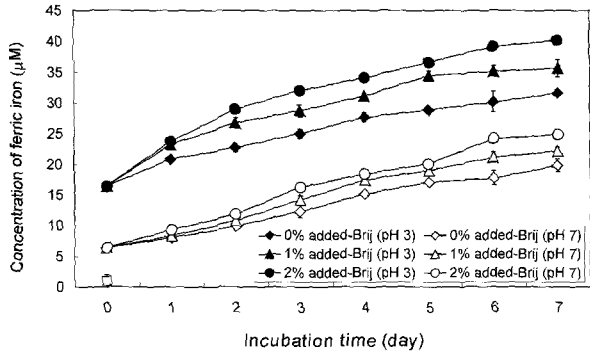


Fig. 4. The concentration of translated ferric iron to continuous phase from soybean oil-in-water emulsion.

*Data markers represent average (n=3).
*standard deviation (some error bars lie within the markers).

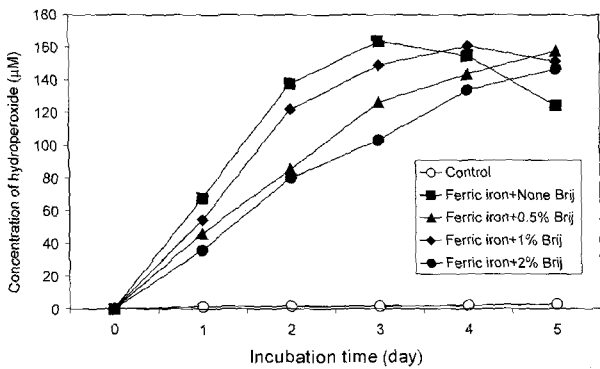


Fig. 5. The concentration of hydroperoxide from soybean oil-in-water emulsion for storage time at pH 3.0.

*Data markers represent average (n=3).
*standard deviation (some error bars lie within the markers).

0.45 μM 에 비교해 2% Brij 첨가구가 40.22 \pm 0.30 μM 로 증가하였다. pH 7.0에서 저장하였을 때에도 7일째에 continuous phase의 ferric iron의 양은 Brij를 첨가하지 않은 실험군 19.78 \pm 1.04 μM 에 비교해 2% Brij 첨가구가 24.83 \pm 0.12 μM 로 증가하였다. 저장기간 중 각 농도별 Brij micelle의 첨가에 의해 pH 3.0에서 continuous phase의 ferric iron의 양은 pH 7.0에서의 ferric iron양과 비교해서 거의 2배 가까운 ferric iron의 전이가 확인되었다. pH 3.0에서 continuous phase로 전이된 ferric iron의 양이 pH 7.0에서의 ferric iron의 양보다 많은 이유는 ferric iron이 pH 7.0에서 보다 pH 3.0에서 높은 용해성을 나타내기 때문으로 판단되었다^{(5,6)}}.

Prooxidant로 ferric iron이 첨가된 대두유 수중유적형 유화액에서 산화에 미치는 Brij micelle의 영향

첨가된 잉여의 Brij micelle에 의한 continuous phase로의 ferric iron 전이가 대두유 수중유적형 유화액의 산화적 안정성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 ferric iron이 첨가된 유화액을 제조하고 0.5~2.0%의 잉여의 Brij micelle을 첨가하여 pH 3.0과 7.0에서 저장하며 산화정도를 관찰하였으며, 산화정도는 저장기간 중의 유화액의 hydroperoxide와 headspace hexanal을 측정하였다. pH 3.0에서 0.5~2.0%까지 첨가한 Brij

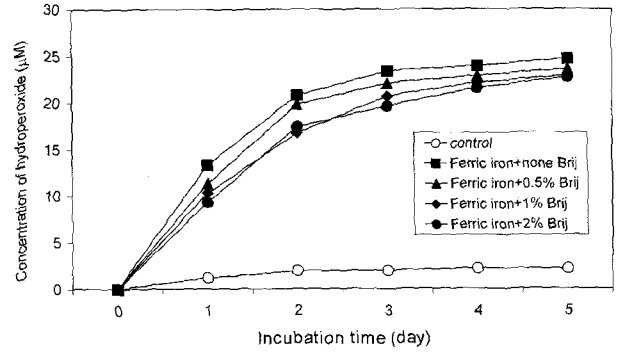


Fig. 6. The concentration of hydroperoxide in soybean oil-in-water emulsion for storage time at pH 7.0.

*Data markers represent average (n=3).
*standard deviation (some error bars lie within the markers).

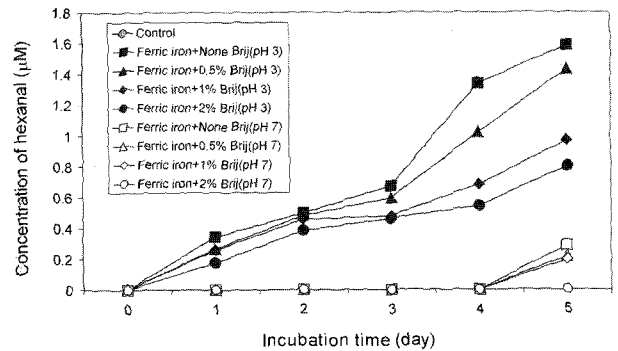


Fig. 7. The concentration of headspace hexanal in soybean oil-in-water emulsion for storage time.

micelle의 농도를 변화시키면서 유화액의 hydroperoxide와 headspace hexanal을 측정한 결과, 저장 전 기간에 걸쳐 첨가한 Brij의 농도가 높을수록 Brij를 첨가하지 않은 유화액에 비해 hydroperoxide와 headspace hexanal의 양이 낮게 측정되었다(Fig. 5, 7). pH 3.0에서 0~2.0%의 Brij micelle을 첨가한 경우, 저장 3일째 hydroperoxide의 농도는 163.62 \pm 0.71~103.24 \pm 1.53 μM 로 첨가된 Brij의 농도가 높아질수록 hydroperoxide 생성량이 줄어드는 것이 관찰되었다. 또한 pH 3.0에서 Brij 무첨가군과 0.5% 첨가군에서는 hydroperoxide형성이 각각 3일과 4일에 최대를 나타내었고, 그 이후에는 감소하는 현상이 관찰되었다. 그러나 1% 이상의 Brij micelle을 첨가한 실험군에서는 저장 5일째에서도 hydroperoxide의 수치는 계속 증가하였다.

pH 7.0에서 0~2.0%의 Brij micelle을 첨가한 경우, Fig. 6에서와 같이 저장 3일째 hydroperoxide의 농도는 23.4 \pm 0.38~19.6 \pm 0.26 μM 로 pH 3.0에서와 같이 첨가된 Brij의 농도가 높아질수록 hydroperoxide 생성량이 줄어드는 것이 관찰되었으나 저장 5일째에도 hydroperoxide의 생성은 계속 증가하였으며 pH 3.0에서와 같은 감소 현상은 관찰되지 않았다.

Headspace hexanal의 경우 Fig. 7에서와 같이 pH 3.0에서 저장기간이 경과할수록 생성되는 hexanal의 양은 증가하는 것으로 나타났으며, Brij의 첨가농도가 증가할수록 생성되는 hexanal의 양은 줄어드는 것으로 나타나 hydroperoxide의 실

험결과와 같은 경향을 나타내었다. 또한 hydroperoxide의 감소가 발생하는 저장 3~4일경에 headspace hexanal도 급격히 증가하는 것으로 나타났으며, pH 7.0에서는 저장 4일이 지나야 headspace hexanal이 생성되는 것을 확인할 수 있었다.

저장기간 중 pH 7.0에서 생성되는 hydroperoxide와 headspace hexanal의 수치가 pH 3.0보다 낮은 것은 앞의 실험결과에서 보듯이 pH 3.0에서 ferric iron의 용해도가 높아져 유화액으로부터 continuous phase로 ferric iron의 전이가 활발히 일어나고 이로 인해 대두유 수중유적형 유화액에서 산화에 관여하는 ferric iron의 양이 감소함으로써 인해 hydroperoxide와 headspace hexanal의 양이 낮은 것으로 추측하였다. 이상의 결과로 볼 때 surfactant micelle이 대두유에 작용하는 prooxidant로서 ferric iron의 전이에 영향을 미치는 것으로 확인되었으며, 이는 유화식품의 산화를 지연시키는 기작에 추가시킬 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

대두유 수중유적형 유화액의 산화에 미치는 surfactant micelle의 영향을 규명하기 위하여 수중유적형 유화액에서 continuous phase로 전이되는 ferric iron의 양을 측정하였다. Continuous phase로 전이된 ferric iron의 양은 첨가한 잉여의 surfactant micelle의 농도를 0.5~2.0%로 증가시킬수록, 저장기간이 길어질수록 증가하였다. pH 3.0에서 continuous phase로 전이된 ferric iron의 양은 pH 7.0에서 보다 높게 나타났다. Ferric iron을 함유한 대두유 수중유적형 유화액의 지방산화 정도는 hydroperoxide와 headspace hexanal을 측정하여 살펴본 결과 첨가된 계면활성제의 양이 증가할수록 산화는 감소하였다. 이상의 결과로 첨가된 계면활성제에 의해 수중유적형 유화액에서 prooxidant로 작용하는 ferric iron의 위치가 변화되어 산화를 줄일 수 있을 것으로 판단하였다.

감사의 글

본 연구는 상주대학교 산업과학기술연구소의 연구지원비로

수행되었으며 이에 감사 드립니다.

문 헌

1. McClements, D.J. and Decker, E.A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogenous food systems. *J. Food Sci.* 65: 1270-1282 (2000)
2. Mei, L., Decker, E.A. and McClements, D.J. Evidence of iron association with emulsion droplets and its impact on lipid oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 46: 5072-5077 (1998)
3. Buettner, G.R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 300: 535-543 (1993)
4. Donnelly, J.L., Decker, E.A. and McClements, D.J. Iron-catalyzed oxidation of Menhaden oil as affected by emulsifiers. *J. Food Sci.* 63: 997-1000 (1998)
5. Mancuso, J.R., McClements, D.J. and Decker, E.A. Iron-accelerated cumen hydroperoxide decomposition in hexadecane and trilaurin emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 48: 213-219 (2000)
6. Mancuso, J.R., McClements, D.J. and Decker, E.A. Ability of iron to promote surfactant peroxide decomposition and oxidize α -tocopherol. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4146-4149 (1999)
7. Silvestre, M.P.C., Wilailuk, C., Brannan, R.G., McClements, D.J. and Decker, E.A. Ability of surfactant head group size to alter lipid and antioxidant oxidation in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2057-2061 (2000)
8. Weiss, J., Coupland, J.N. and McClements, D.J. Solubilization of hydrocarbon droplets suspended in a nonionic surfactant solution. *J. Phys. Chem.* 100: 1066-1071 (1996)
9. Fukuzawa, K. and Fujii, T. Peroxide dependent and independent lipid peroxidation site-specific mechanisms of initiation by chelated iron and inhibition by α -tocopherol. *Lipids* 27: 227-233 (1992)
10. Shanta, N.C. and Decker, E.A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxides values of food lipids. *J. A.O.A.C.* 77: 421-424 (1994)
11. Mancuso, J.R., McClements, D.J. and Decker, E.A. The effects of surfactant type, pH, and chelators on the oxidation of salmon oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4112-4116 (1999)
12. Snedecor, G.W. and Cochran, G.W. *Statistical Methods*: Iowa State University Press, Ames, IA, USA (1989)

(2002년 6월 4일 접수; 2002년 9월 30일 채택)