J Korean Soc Food Sci Nutr
37(10), 1278~1286(2008)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2008.37.10.1278

메칠셀룰로오스/Tween 20 경쟁 흡착이 메칠셀룰로오스 유화액의 안정도 특성에 미치는 영향

홍 순 택
호원대학교 식품외식조리학부

Changes in the Stability Properties of Methylcellulose Emulsions as Affected by Competitive Adsorption Between Methylcellulose and Tween 20

Soon-Taek Hong
Division of Food and Culinary Science, Howon University, Jeonbuk 573-718, Korea

Abstract

The effect of Tween 20 addition on changes in the stability of methylcellulose (MC) emulsions (1 wt% MC, 10 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7) was investigated by creaming stability and orthokinetic stability measurements. In the case of MC emulsions containing varying amounts of oil (1~30 wt%) and no Tween 20 added, creaming stability, judged by mean migration velocity of fat globules (V_m), was found to depend on droplet size: the larger the droplet size, the worse the stability [V_m: 0.326 μm min^{-1} (d_{32}: 0.32 μm) → V_m: 0.551 μm min^{-1} (d_{32}: 0.53 μm)]. With Tween 20, creaming stability was found to be worse than the one without Tween 20, except for MC emulsion containing 0.2 wt% Tween 20. In addition, cream stability was the lowest with the lowest concentration of Tween 20 and a tendency to recover with increasing Tween 20 concentration [V_m: 0.598 μm min^{-1} (0.01 wt%)→V_m: 0.389 μm min^{-1} (0.2 wt%)] was found. From viscosity measurement for aqueous bulk phase of MC emulsions, such a change in the creaming stability was found to coincide well with the results of viscosity measurement. Therefore, it was reasonable to say that creaming stability of MC emulsions containing Tween 20 depended on MC concentration in aqueous bulk phase, which was in turn varied by competitive adsorption between MC and Tween 20 at the oil droplet surface. In case of orthokinetic stability, judged by destabilization time (t_d), it was found that the addition of Tween 20 resulted in lowered stability with more pronounce tendency at higher concentrations [t_d: 160 min (0.03 wt%)→t_d: 100 min (0.2 wt%)]. Moreover, combined with previous results, the orthokinetic stability of MC emulsions containing Tween 20 was found to be exponentially proportional to MC load. In conclusion, competitive adsorption between MC and Tween 20 may affect the stability properties of MC emulsion to varying extents, depending on the concentration of Tween 20.

Key words: methylcellulose emulsion, creaming, light scattering, orthokinetic stability

서 론

식품 유화액은 열열학적으로 불안정하여 지방구 입자간의 상호 작용을 억제할 수 있는 에너지 장벽이 없으면 제조 후 시간 경과와 더불어 크리밍, 지방구 응집, 합일(coalescence) 등의 유화 불안정화 현상이 발생한다(1). 따라서 유화 안정도는 유화 식품의 저장기간과 관련하여 중요한 품질 특성이 되며 유화액의 안정도(stability) 평가는 일반적으로 크리밍, 합일 특성 등을 조사하여 수행한다. 크리밍 안정도 평가는 유화액을 실린더에 충진하고 시간 경과에 따른 serum 층의 두께를 측정하는 전통적 방법으로부터 light scattering 현상을 이용하는 최근의 방법 등 여러 가지 방법을 통하여 수행할 수 있으며, 본 연구에서는 후자의 light scattering 법을 이용하였다. 이 방법은 많은 연구자에 의하여 콜로이드 시스템의 크리밍 안정도를 평가하는 데 사용되고 있는 방법(2-5)으로, 빛(λ=850 nm)이 유화액 시료에 조사되고 이 조사된 빛은 시료 중의 지방구 입자에 의하여 산란되며 산란된 빛의 강도는 측정 장치를 통하여 backscattering intensity 형태로 측정한다(6). 유화액의 합일에 대한 안정도는 통상적으로 orthokinetic stability 실험을 통하여 평가한다. Orthokinetic stability는 유화액을 전단력이 가해지는 shear field에서 유화 안정도를 평가하는 방법으로 유화 안정도가 우수하여 시료간에 비교 평가가 어려운 단백질 유화액 등의 평가에 흔히 사용된다(7-9). 이 방법은 크리밍과는 다르게 계면막 파괴에

E-mail: sthong@howon.ac.kr
Phone: 82-63-450-7265, Fax: 82-63-450-7237

의하여 수개 혹은 그 이상의 지방구가 합쳐지는 지방구의 합일에 대한 안정도를 평가하며 이를 통하여 얻은 정보는 유화액이 제조·유통 등 각종 shear field에 노출되는 상황에 유용하게 사용될 수 있다.

메칠셀룰로오스(이하 MC)는 알칼리 셀룰로오스를 methyl chloride와 반응하여 제조하는 다당류 에테르로서 표면활성을 보유하여 오랫동안 유화식품(e.g., 휩핑크림, 샐러드드레싱, 디저트류 등) 제조 산업 뿐 아니라, 제약 산업 등에 널리 사용되어 왔다(10). 식품 유화 산업에 있어서 MC는 주로 거품형성제, 유화제 등으로 사용되는데(10), 최근의 연구에 따르면 MC 첨가에 의하여 유화액의 안정도 특성이 변화하는 것으로 보고되었다. Sarker 등(11)은 BSA(bovine serum albumin)+MC 시스템에서 MC 첨가 농도에 따라 BSA 유화액의 크리밍 안정도가 증가 혹은 감소하였으며, 이를 계면에서의 BSA/MC 결합, 과량으로 첨가된 비흡착 폴리머에 의하여 발생하는 지방구의 응집, 즉 고갈 응집(depletion flocculation)에 의한 결과로 해석하였다. β-Lactoglobulin+MC 시스템(12)의 경우 유화액의 산안정도(acid stability)가 MC 농도의 증가와 더불어 증가하였고, 크리밍 안정도는 감소하였으며 이러한 특성 변화는 계면에서 두 물질의 경쟁흡착, 지방구의 고갈 응집(depletion flocculation)에 기인된 것으로 추정하였다. 또한, 혼합 저분자량 유화제(수용성+지용성 유화제)+기름으로 구성된 유화액 시스템에 있어서 저분자량 유화제 조합의 불균형으로 인하여 안정도가 낮아진 경우 MC 첨가에 의하여 지방구 크기가 감소하고 크리밍 안정도가 증가하였다(13).

한편, MC를 '주 유화제'로 사용하여 제조한 유화액의 제반 특성을 조사한 연구는 매우 제한적으로 수행되었으며, 특히 MC+저분자량 유화제 혼합 유화액 시스템의 안정도 평가에 대한 연구는 거의 수행되지 않았다. MC를 이용한 연구에 있어서 최종 목표는 유화시스템에 첨가되는 제반 원료와 MC와 상호 작용을 구명하고 나아가서 유화액 물성에 미치는 영향을 종합적으로 검토하는데 있으며 이를 위하여 본 연구에서는 이전의 연구(14)로부터 얻어진 MC와 저분자량 유화제 Tween 20 간의 경쟁 흡착 현상이 유화액 안정도(크리밍 안정도 및 orthokinetic stability) 특성에 미치는 영향을 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료

Methylcellulose(Methocel A15LV, 이하 MC)는 DOW Chemical(Midland, TX, USA)로부터 제공받았으며, Tween-20, *n*-tetradecane(순도>99%), bis-tris buffer는 Sigma 제품(St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

유화액 제조

유화액(1 wt% MC, 1~30 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7)은 실험실 규모의 고압균질기(M-110Y, Microfluidics, MA, USA)를 이용하여 3,000 psi에서 제조하였다. 먼저, MC를 DOW Chemical 회사에서 추천한 방법에 따라 bis-tris 완충액(20 mM, pH 7)에 용해하여 수상(aqueous phase)을 제조하였다. 이 수상에 *n*-tetradecane(유상)을 첨가하여 실험실용 Silverson 혼합기(L4RT, Silverson Machine, Chesham, UK)에서 예비유화(5,000 rpm, 2 min)를 하여 예비유화물 pre-mix를 제조하였다. 이 pre-mix를 전술한 고압균질기를 이용하여 균질하여 유화액을 제조하였다.

지방구 크기 측정

MC 유화액 혹은 orthokinetic stability 분석을 위한 유화액 지방구 평균 입자 크기는 static light scattering을 이용하는 입도분석기(Mastersizer S, Malvern Instrument, Worcestershire, UK)를 사용하여 측정하였으며(presentation code: 3NAD), 결과는 volume-surface mean diameter(d_{32}, μm)로 표시하였다(15).

$$d_{32}\ (\mu m) = \sum d_i^3 n_i / \sum d_i^2 n_i \quad (n_i: \text{입자의 개수}, d_i: \text{직경})$$

MC load 측정

지방구에 흡착된 MC 양은(MC load)는 'depletion method'로 측정하였다(14). 제조한 MC 유화액을 일정량씩 시험관에 취한 후 원심분리(12,000 *g*, 20 min)하여 수상과 크림층을 분리하였다. 분리된 수상은 주사기를 이용하여 흡입하고 filter(0.22 μm, millipore)로 여과한 뒤 유화액적이 없는 MC 용액을 분석용 시료로 하였다. MC의 함량은 비색정량법인 Kanzaki와 Berger의 방법(16)에 의하여 정량하였다. 즉 cap test tube에 5 mL의 diphenylamine과 2 mL의 serum 시료를 넣은 후 잘 혼합하고 이를 108°C로 유지된 oil bath에서 30분간 가열하였다. 가열 후 즉시 얼음물을 이용하여 10분간 냉각하고, 이를 흡광도 측정용 시료로 하였다. 분광광도계는 UV-VIS spectrophotometer(Mini 1240, Shimazu, Kyoto, Japan)를 사용하였으며 640 nm에서 시료의 흡광도를 측정하고 이를 표준 곡선과 대비하여 시료 중의 MC 농도를 산출하였다. 지방구 표면에 흡착된 MC load(mg m^{-2})는 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{MC load}(\text{mg m}^{-2}) = P \times (P_a/\text{SP.S.A}) \times (D/F_m) \times 1000 \quad (1)$$

P: 유화액 100 g 중 MC 무게, P_a: 지방구에 흡착된 MC 퍼센트, SP.S.A: 유화액의 비표면적(입도분석기로부터 얻음), D: 기름 비중, F_m: 유화액 100 g 중 oil 무게

MC 유화액 연속상의 겉보기 점도 측정

점도는 stress-controlled rheometer(CS-10, Bohlin Co., Cirencester, UK)를 사용하여 측정하였다. MC 유화액에 적량(0.03~0.2 wt%)의 Tween 20을 첨가한 후 1시간 방치하고 이를 원심분리(12,000 *g*, 20 min)하여 크림층과 serum 층을 분리하였다. 분리된 serum 층을 점도 측정용 시료로 하였으며, 이를 rheometer에 넣어 shear rate 50 s^{-1}에서 측정하였다.

크리밍 안정도 평가

크리밍 안정도는 10 wt% *n*-tetradecane을 함유하는 MC 유화액에 대하여 light scattering 방법으로 측정하였다(6). 유화액 시료에 적량(0.01～0.2 wt%)의 Tween 20을 첨가하고 잘 혼합한 후 이 MC 유화액+Tween 20 혼합시료 약 45 mL를 시료 병(dia: 27.5 mm, height: 70 mm)에 충진하여 크리밍 측정장치(Turbiscan Lab., Formulaction, I'Union, France)에 넣고 40°C 가속조건에서 24시간 동안 유화액의 크리밍 특성을 조사하였다. 결과는 크리밍 프로화일(유화액 높이에 대한 backscattering intensity) 혹은 지방구의 평균 이동 속도(V_m, μm min^{-1})로 표현하였으며 이는 측정기기의 소프트웨어(Turbisoft, Formulaction)에 의하여 측정하였다.

Orthokinetic stability 평가

Orthokinetic stability 평가는 10 wt% *n*-tetradecane을 함유하는 MC 유화액에 대하여 Silverson 혼합기(L4RT, Silverson Machine, Chesham, Bucks, UK)를 사용하여 turbulent flow 조건에서 수행하였다. 이 방법은 Lips 등의 방법(17)에 근거한 것으로 MC 유화액 70 mL에 적량(0.03～0.2 wt%)의 Tween 20을 첨가하여 잘 혼합한 후 이를 Silverson 혼합기에 넣고 9,000 rpm에서 200 min 동안 계속적으로 회전하면서 일정한 간격(15～20 min)마다 시료를 채취하여 전단력이 가해진 시간 대비 지방구 입자 크기의 변화를 측정하였다. 이 변화로부터 지방구 크기가 급속하게 증가하는 특징적인 시간 즉 '유화 불안정화 시간'(t_d, min)을 추출하였으며 이를 그 유화액의 orthokinetic stability 평가 자료로 사용하였다. 한편, 실험에 이용된 flow pattern을 추정하기 위한 Reynold number(Re)는 다음 식으로 계산하였다(18).

$$Re=(ND^2\rho)/\eta \quad (2)$$

N: 혼합기 회전 속도, D: 혼합기 직경(33 mm), ρ: 유화액 점도, η: 유화액 점도

식 (2)에 의하여 Re는 ~10^5로 계산되었으며(ρ=10 kg m^{-3}, η: 8×10^{-3} Nm^{-2} s), 따라서 본 실험은 turbulent flow 조건에서 수행되었다.

통계처리

실험결과는 SAS 프로그램(version 9.0)을 이용하여 Duncan's multiple range test로 5% 유의수준에서 유의성을 검토하였다.

결과 및 고찰

MC 유화액의 특성

Fig. 1은 MC 유화액(1% MC, 1～30 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris, pH 7)에 있어서 수용액 상에 존재하는 MC (즉 지방구 입자에 흡착되지 않은 MC) 양을 유화액 중 지방 함량의 함수로 나타내고 있다. Fig. 1에 의하면 유화액 중

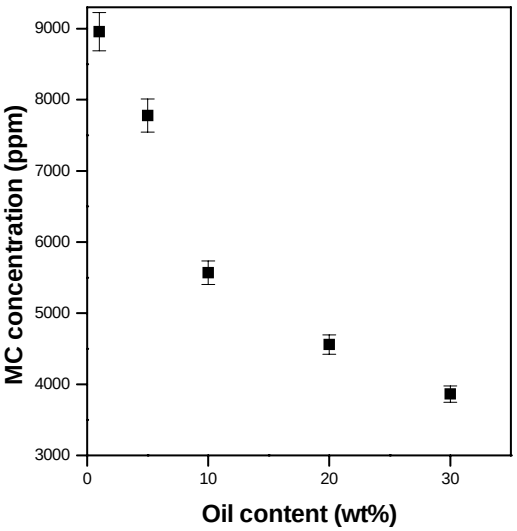

Fig. 1. Amount of MC remaining in the aqueous bulk phase of MC emulsions (1 wt% MC, 1～30 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7). Amount of MC was plotted against oil content.

지방 함량이 1 wt%일 때 첨가한 MC 전체량의 약 11%만 지방에 흡착되어 수용액 상에는 8,958 ppm의 MC가 남아있었으며, 이후 지방 함량의 증가와 더불어 흡착양은 증가하여 30 wt%를 함유하는 유화액의 경우 수용액 상에는 3,863 ppm의 MC가 존재하는 것으로 분석되었다. MC는 분자의 backbone에 치환되어 있는 methoxyl 그룹으로 인하여 표면활성을 나타내며(19), 따라서 이 부분을 중심으로 물/기름 계면에 흡착된다. Fig. 1의 결과는 유화액 중에 함유된 지방 함량과 관련이 있는 것으로, 유화액 중 지방 함량이 낮은 경우 MC가 흡착될 수 있는 장소가 상대적으로 부족하게 되고 따라서 수용액 상의 MC 양은 높게 나타난다. 그러나 지방 함량의 증가와 더불어 흡착될 수 있는 지방구 표면적이 증가하고 따라서 지방에 흡착된 MC 총량은 증가하며, 수용액 중의 MC 잔존량은 감소하게 된다. Fig. 1에서 관찰한 MC 흡착량을 지방구 표면의 단위면적당 MC양(MC load)으로 표현해 보면(Fig. 2) 유화액 중의 지방 함량이 비교적 낮은 경우(≤ 10 wt%) MC load는 1.70～1.90 mg m^{-2}의 범위로 분석되었으나 고농도의 지방을 함유할 때(≥20 wt%) MC load는 이보다 감소하여 1.51～1.59 mg m^{-2}로 나타났다. Table 1은 Fig. 1 및 Fig. 2에서 사용된 유화액의 지방구 크기를 나타내고 있다. 지방 함량 10 wt%까지는 비교적 작고 일정한 지방구 크기를 나타내었고(0.32～0.33 μm), 그 이상의 지방 함량에서는 지방구 크기가 증가하는 것으로 관찰되었다(0.52～0.65 μm). 이는 아라비아 검을 단독 유화제(10 wt%)로 사용하였을 때 고농도의 지방 함량(≥20 wt%)에서 지방구 크기가 급속히 증가한 McNamee 등(20)의 연구 결과와 정성적으로 유사한 경향으로, MC의 유화용량(emulsifying capacity)과 관련이 있는 것으로 보인다. 유화용량은 일정한 양의 유화제를 사용하여 해유화(emulsion breaking down) 혹은 상

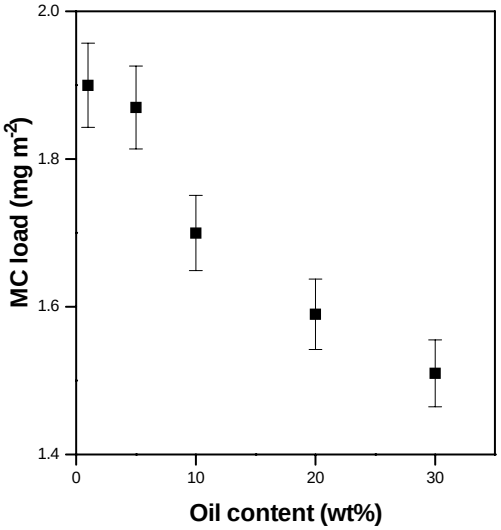

Fig. 2. Influence of oil content on MC load in emulsions (1 wt% MC, 1~30 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7). MC load (an amount of MC adsorbed at the droplet surface per unit area) was determined by using 'depletion method'.

Table 1. Average droplet diameter (d_{32}) in emulsions (1 wt% MC, 1~30 wt% *n*-tetredecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7) as a function of oil content

Oil content (wt%)	Average droplet diameter (d_{32}, μm)
1	0.32±0.02[1)a2)]
5	0.33±0.01[a]
10	0.32±0.02[a]
20	0.52±0.02[b]
30	0.65±0.02[c]

[1)]All values are mean±SD (n=3).
[2)]Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p<0.05$.

전환(phase inversion) 과정 없이 유화시킬 수 있는 최대의 기름 함량으로 정의하고 있는데(15), 실제로 유화 용량을 조사할 때 임계점에 이르기 전 유화액의 지방구가 급격히 증가하는 것이 관찰된다. 따라서 Table 1에서 기름 함량이 높은 경우(≥20 wt%) 지방구 크기가 증가한 것은 유화제로 사용된 MC 분자의 유화용량 부족에 의한 결과로 사료된다. 한편, 이러한 열세한 유화용량은 실질적으로 유화제 부족의 경우와 유사한 결과를 초래하게 되고 따라서 지방구 표면에서 MC load의 감소로 이어진다(Fig. 2).

MC 유화액의 크리밍 안정도

유화액 성질 평가는 안정도 검토, 유변학적 검토 등 여러 가지 분야로 나누어 진행하며 안정도 특성은 소비자 측면에서 유화식품의 외형, 물성 등 구매 결정에 있어서 중요한 판단 요소가 된다. 크리밍 특성의 평가는 안정도 평가의 제1단계 작업으로 볼 수 있는데, 본 실험에서는 유화액의 크리밍 안정도 평가를 위하여 light scattering 법을 사용하였다. Fig. 3(a~e)은 MC 유화액(1% MC, 1~30 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris, pH 7)의 크리밍 특성을 24시간 동안 측정하여 얻은 크리밍 프로화일 형태로 나타내고 있다. Fig. 3의 Y축은 시간에 따른 산란강도(scattering intensity) 변화, X축은 시료의 높이를 나타낸다. 크리밍이 발생하면 시료 하부의 지방구 농도는 감소되어 산란강도는 감소하고 반대로 시료 상부의 지방구의 농도는 증가하여 산란강도는 증가한다(6). MC 유화액의 지방 함량 변화에 따른 크리밍 프로화일(Fig. 3의 a~e)의 변화를 보면 지방 함량이 높을수록 시료 하부를 중심으로 산란강도 값이 점차적으로 감소하고 있는 것(음의 값이 증가하고 있음)으로 관찰되었다[30 wt% 지방함량(Fig. 3e) 제외]. 산란강도가 감소하는 것은 크리밍에 의하여 serum 층이 형성되고 있음을 의미한다. Table 2는 Fig. 3에서 관찰한 결과를 지방구의 평균 이동속도(V_m)로 표현하였으며 이는 측정기기의 소프트웨어(Turbisoft, Formulaction)에 의하여 측정하였다. 지방구 평균 이동 속도는 크리밍을 속도론적 측면에서 검토한 것으로 이동 속도가 크면 크리밍이 빠르게 진행됨을 의미한다. Table 2에 나타난 대로 지방구 평균 이동속도는 대체로 지방 함량이 높을수록 빠르게 진행되는 것으로 나타났다(30 wt% 지방함량 제외). 일반적으로 유화액의 크리밍 속도를 추정하는데 Stokes 법칙을 많이 이용하며, 다음과 같이 표현된다(21).

$$V_s = 2a^2(\rho_0 - \rho)g/9\eta_0 \quad (3)$$

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

Stokes 법칙에 의하면 크리밍 속도는 지방구 크기의 제곱에 비례하고 연속상의 점도에 반비례하므로 Fig. 3 및 Table 2의 결과는 MC 유화액 중 지방 함량 증가에 따라 지방구 크기가 증가하고(0.32→0.60 μm) 이에 따라서 Stoke 법칙에 근거하여 지방구 평균 이동속도가 증가한 것으로 판단하였다. 이러한 결과는 Durand 등(4)의 light scattering 법을 통하여 얻은 연구 결과와 정성적으로 일치하는데, Durand 등(4)은 유제품류(우유, 두유 등)에 있어서 지방구 크기의 증가와 더불어 크리밍 발생이 증가하고 산란강도가 변화하였음(시료 하부: 감소, 시료 상부: 증가)을 보고하였다. 한편, 크리밍 안정도를 전통적인 실린더를 이용하여 평가할 경우에도 지방구

Table 2. Mean migration velocity of fat globules (V_m) in emulsions (1 wt% MC, 1~30 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7) as a function of oil content

Oil content (wt%)	Mean migration velocity (V_m, μm min^{-1})
1	0.326±0.011[1)c2)]
5	0.313±0.018[c]
10	0.426±0.028[b]
20	0.551±0.061[a]
30	0.289±0.078[c]

Mean migration velocity (V_m) was obtained from Turbiscan Lab.
[1)]All values are mean±SD (n=3).
[2)]Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p<0.05$.

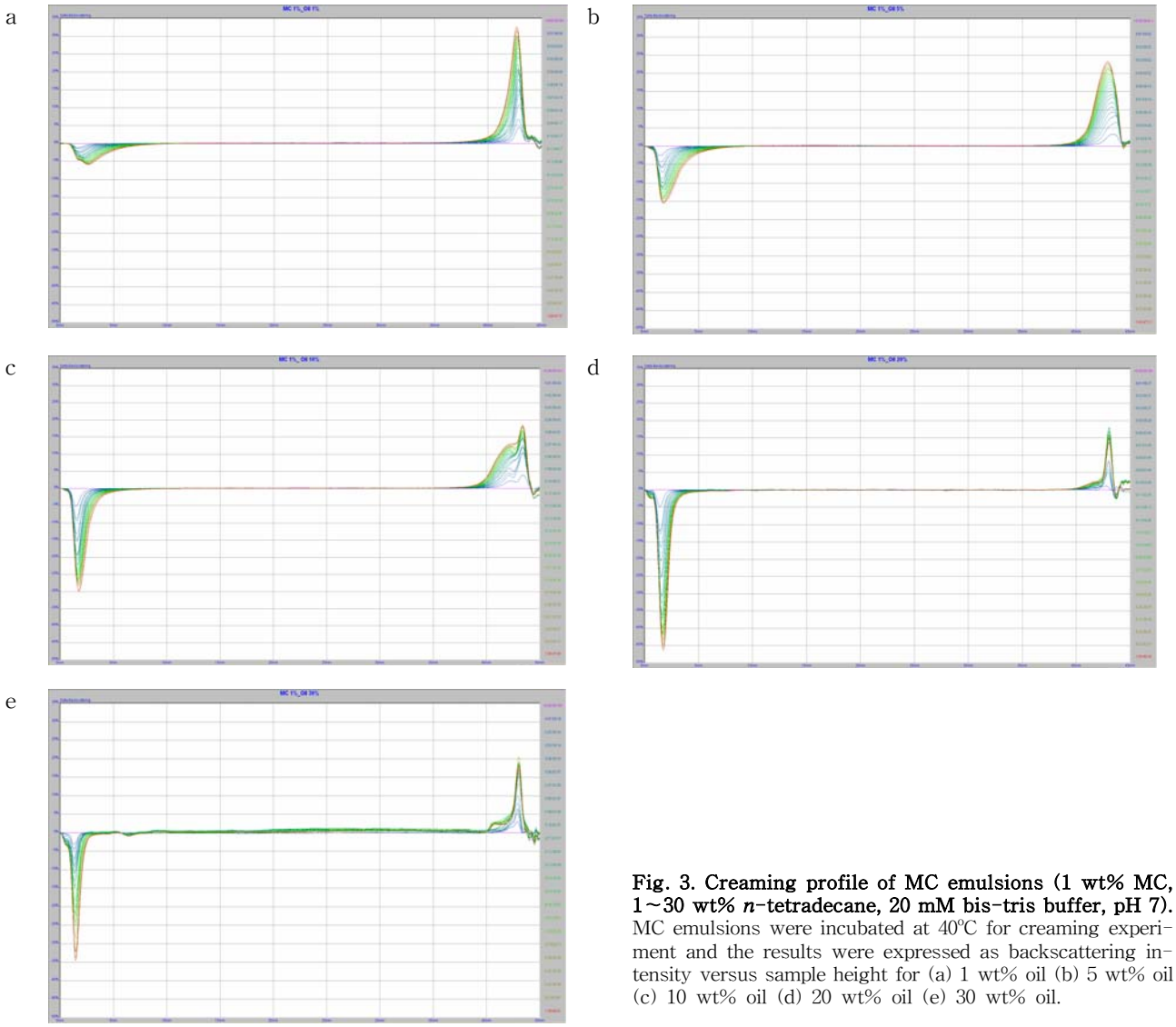

Fig. 3. Creaming profile of MC emulsions (1 wt% MC, 1~30 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7). MC emulsions were incubated at 40°C for creaming experiment and the results were expressed as backscattering intensity versus sample height for (a) 1 wt% oil (b) 5 wt% oil (c) 10 wt% oil (d) 20 wt% oil (e) 30 wt% oil.

크기와 크리밍 안정도와 일정한 관계가 있는 것이 여러 연구자에 의하여 보고되었다. Hong(12)은 β-lactoglobulin+MC 유화액 시스템에서 지방구 크기가 증가하였을 때 크리밍 안정도의 감소를 보고하였고, 또한 Gullapalli와 Sheth(13)는 혼합 저분자량 유화제(수용성+지용성 유화제)+MC 유화액 시스템에서 지방구 크기가 감소되었을 때 크리밍 안정도가 향상되었음을 보고하였다. 한편, 고농도로 지방을 첨가한 경우(30 wt%) 지방구 평균 이동속도가 낮게 측정된 것은 Fig. 3e에서 다른 시료에 비하여 두껍게 나타난 X축 두께와 연관해서 주목해 볼 필요가 있다. 이는 시료의 중간 정도 높이에서 유화액이 현저하게 응집되어 있음을 시사하는 것으로, 이 응집에 의하여 지방구간 network이 형성되고 따라서 유화 지방구의 이동 속도가 낮아진 것으로 판단하였다.

Tween 20 첨가 MC 유화액의 크리밍 안정도

실제로 MC는 국내·외에서 휩핑크림 제조에 사용하며, Tween 20은 비이온계 수용성 유화제로서 유제품(예, 커피 크림, 휩핑크림 등) 제조 등에 흔히 첨가되는데 이들 두 물질이 첨가된 유화액의 크리밍 안정도를 평가하는 것은 중요하다. Fig. 4는 MC 유화액에 저분자량 Tween 20을 첨가하였을 때 관찰되는 크리밍 안정도의 변화를 조사한 결과이다. Hong(14)의 연구에 의하면 MC 유화액에 고 농도의 Tween 20을 첨가할 경우(>0.1 wt%) 이들 두 물질은 지방구 표면에서 경쟁적으로 흡착하여 MC는 모두 수용액 상으로 이탈되는 것으로 확인되었다. 이 실험을 위하여 먼저 MC 유화액(1% MC, 10 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris, pH 7)을 제조하고 여기에 Tween 20을 농도별(0.01~0.2 wt%)로 첨가한 후 이를 크리밍 측정 장치에 넣어 24시간 동안 크리밍 프로화일을 조사하였으며, 결과는 지방구 평균 이동 속도(V_m)로 표현하였다. 유화액을 먼저 제조한 후에 저분자량 유화제를 나중에 첨가하는 방식은 경쟁흡착 실험을 할 때 자주 이용하는 방식으로 이를 통하여 유화제 첨가에 의한 지방구 크기 변화를 최소화 시킬 수 있다(실제로 유화제 첨

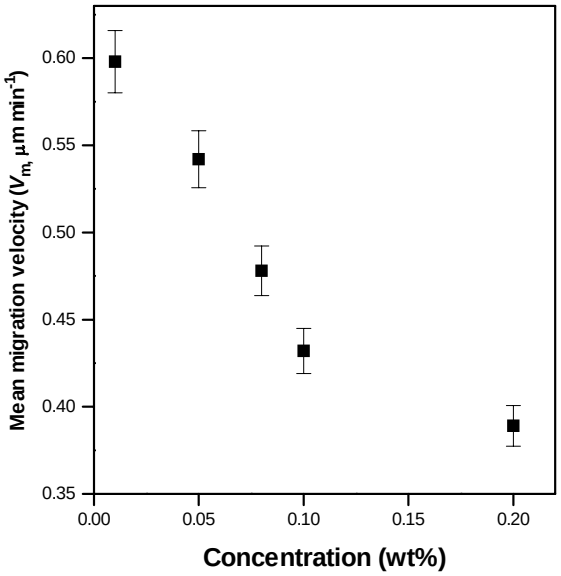

Fig. 4. Mean migration velocity (V_m) of fat globules in MC emulsions containing Tween 20 added in the range 0.01~0.2 wt%. Mean migration velocity, obtained from Turbiscan Lab, was plotted against Tween 20 concentration.

가에 의한 지방구 크기 변화는 없다). Fig. 4에 의하면 Tween 20 농도의 증가와 더불어 지방구 평균 이동 속도(V_m)는 감소하는 것(크리밍 안정도는 증가)으로 관찰되었다[0.598 μm min^{-1}(0.01 wt% 첨가)→0.389 μm min^{-1}(0.2 wt% 첨가)]. 이를 설명하기 위하여 Tween 20을 첨가한 유화액을 원심분리한 후 연속상의 점도를 측정하였으며 그 결과를 Table 3에 나타내었다. Table 3에 따르면 연속상의 점도는 Tween 20의 첨가 농도의 증가와 더불어 작은 폭이지만 증가하였으며[(3.6 cP(0.01 wt% 첨가)→7.2 cP(0.2 wt% 첨가)] 이러한 변화는 Tween 20에 의하여 계면에 흡착된 MC가 연속상으로 이탈되어(경쟁흡착) 나타난 것으로 보인다. 또한 Tween 20 첨가에 따른 수용액 상의 점도 변화를 전술한 Stokes 법칙의 점도 부문에 대입하여 얻은 '계산된 지방구 평균 이동 속도'를 포함하고 있다. 이는 0.2 wt% Tween 20 첨가 농도에서 얻은 유화 지방구 평균 이동 속도(V_m≒0.389 μm min^{-1})를 기준값으로 하여 얻은 값으로, Stokes 법칙에 의하면 지방구 크기 등 모든 요인이 동일할 경우 크리밍 속도는 오직 연속상의 점도가 변수가 되어 변화하며, 따라서 연속상 점도가 서로 다른 시료의 크리밍 속도에 있어서 상호 비교가 가능하다. 계산된 속도 값을 보면, 낮은 Tween 20 농도에서 측정치보다 다소 크지만 대체로 두 값은 잘 일치하고 있는 것으로 보인다. 따라서 Fig. 4에서 관찰된 Tween 20 첨가 농도와 더불어 증가하는 지방구 평균 이동 속도는 주로 연속상의 점도 변화에 기인한 것으로 생각할 수 있다. 한편, Tween 20을 첨가하지 않은 MC 유화액(10 wt% oil)의 지방구 평균 이동 속도는 0.426 μm min^{-1}(Table 2)로 Tween 20을 첨가한 MC 유화액의 경우보다 낮은 것으로 관찰되었다(0.2 wt% Tween 20 첨가 제외). 이는 Tween 20 첨가에

Table 3. Apparent viscosity (η_a) and calculated migration velocity (V_m) as a function of Tween 20 concentration

Concentration (wt%)	Apparent viscosity (η_a, cP)	Calculated migration velocity (V_m, μm min^{-1})
0.01	3.6±0.40[1)e2)]	0.778[3)] (0.598±0.034[4)a])
0.05	4.6±0.31[d]	0.609 (0.542±0.020[b])
0.08	5.8±0.35[c]	0.483 (0.478±0.023[c])
0.1	6.5±0.41[b]	0.431 (0.432±0.025[d])
0.2	7.2±0.45[a]	(0.389±0.017[e])

The emulsion containing Tween 20 was centrifuged to separate a serum phase. The serum was used for the determination of apparent viscosity.
[1)]All values are mean±SD (n=3).
[2)]Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p<0.05$.
[3)]Calculated migration velocity is computed based on Stokes' equation.
[4)]Values in brackets denote 'measured migration velocity' obtained from Turbiscan Lab.

의하여 MC 유화액의 크리밍이 빠르게 진행됨을 의미하는데, 전술한 바와 같이 유화제 첨가에 의하여 지방구 표면에 흡착된 MC가 수용액 상으로 이탈되며, 이 과정에 고분자 MC로 형성된 안정화막(stabilizing layer)에 의하여 발현되는 steric stabilization 기작(21-23)에 어느 정도 손상을 입어 유화 안정도가 낮아진 것으로 추정된다. 그러나 고농도(>0.1 wt%)의 Tween 20 첨가에 의하여 지방구 계면막이 Tween 20으로 대체되고 이로 인하여 수용액 상의 MC 농도가 증가하면 (점도 증가에 의하여) 크리밍 안정도는 향상된다.

Tween 20 첨가 MC 유화액의 orthokinetic stability

Fig. 5는 Fig. 4에서 검토한 Tween 20을 함유하는 유화액을 전단력이 작용하는 turbulent flow에 노출시켜 얻은 유화액의 안정도, 즉 orthokinetic stability를 전단시간(shear time)의 함수로 평가한 결과이다. 유화제를 첨가하지 않은 경우 전단력이 가해지는 초기에는(전단시간≤80 min) 지방구 크기(d_{32})에 거의 변화가 없다가(~0.41 μm) 이후 시간 경과와 더불어 서서히 증가하여 실험 시작 약 180 min에 도달하였을 때 지방구 크기가 갑자기 크게 증가하고(~10.19±0.3 μm) 다시 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 전단시간 증가에 따른 지방구 크기의 변화 경향은 모든 시료에서 정성적으로 매우 유사하게 나타났으며, 지방구 크기가 갑자기 현저하게 증가하여 최대값을 나타내는 시간을 '유화액 불안정화 시간'(t_d)으로 정의할 때, 이 유화액 불안정화 시간은 유화제 첨가 농도의 증가와 더불어 점진적으로 단축되는 것으로 관찰되었다(Table 4). 이런 변화 경향은 β-lactoglobulin+Tween 20으로 구성된 유화액 시스템(7)과는 다른 경향으로 Dickinson과 Williams(7)의 연구에서 Tween 20을 매우 낮은 농도(≤0.001 wt%)로 첨가하였을 때 유화액 불안정화 시간이 현저하게 단축되었으며(유화제 무첨가 경우의 1/7 수준), 이는 Tween 20에 의한 β-lactoglobulin 계면막의 이동성(mobility) 증가에 기인한 것으로

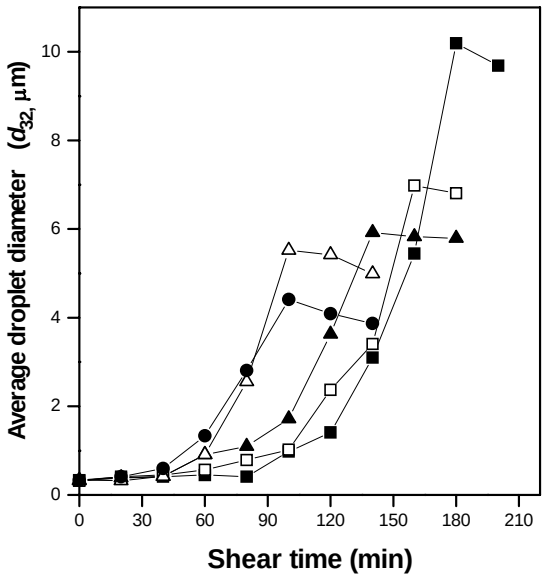

Fig. 5. Orthokinetic destabilization of MC emulsions (1 wt% MC, 10 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7) under constant conditions of shearing in the presence of Tween 20. d_{32} was plotted against shear time for various Tween 20 concentrations: ■, no Tween 20; □, 0.03 wt%; ▲, 0.05 wt%; △, 0.1 wt%; ●, 0.2 wt%.

Table 4. Influence of Tween 20 concentration on the destabilization time (t_d) of MC emulsions (1 wt% MC, 10 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris buffer, pH 7)

Concentration (wt%)	Destabilization time (t_d, min)
0	180±21.7[1)a2)]
0.03	160±20.0[b]
0.05	140±13.2[c]
0.08	110±8.6[d]
0.1	100±8.6[d]
0.2	100±5.0[d]

Tween 20 was added to the emulsion after homogenization in the range 0.03~0.2 wt% and the resultant emulsion were sheared under constant conditions for 200 min.
[1)]All values are mean±SD (n=3).
[2)]Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p<0.05$.

보고하였다(이 경우 β-lactoglobulin 계면막의 표면 전단 점도가 현저하게 감소되었음). 그러나 본 실험에서는 Tween 20 농도의 증가와 더불어 유화액 불안정화 시간의 단축이 관찰되지만 β- lactoglobulin+Tween 20 유화액 시스템에 비하여 단축 수준이 낮았으며[(0.03 wt% 유화제 첨가 t_d~160 min: 유화제 무첨가 경우의 75% 수준)] 그 정도도 점진적으로 진행되었음이 관찰되었다. 단백질 유화액에 있어서 유화안정도는 단백질이 흡착된 지방구 간 정전기적 상호 결합 및 단백질 계면막의 점성 성질에 의하여 발현되는 steric 힘 등이 조합을 이루어 달성되는 것으로 알려져 있다(21). 본 실험에서 유화제를 첨가하지 않은 MC 유화액이 유화제를 첨가한 경우보다 높은 유화액 불안정화 시간 특성을 보이는 것은 (단백질 계면막의 경우와 유사하게) 점성이 높은 MC 계면막(14)에 의하여 steric stabilization 기작이 효율적으로 작동하고 있음을 시사하는 것으로 볼 수 있다. 그러나 Tween 20 첨가 농도가 증가하면 계면에 흡착한 MC 양이 감소하고(14) 따라서 steric stabilization 정도가 낮아지며(7,24,25) 이는 유화액 불안정화 시간의 단축으로 이어지게 된다. Fig. 6은 전술한 계면 흡착량(14)과 유화액 불안정화 시간(t_d)과의 관계를 나타내고 있는데, 계면 흡착량이 증가할수록 유화액 불안정화 시간이 지수 함수적으로 증가하고 있음을 보여주고 있다. 흡착된 폴리머에 의하여 발현되는 steric stabilization 기작은 전단력이 작용하는 shear field에서 안정도 유지에 매우 효과적인 것으로, 이는 본 연구에서도 확인되었다. 따라서 MC를 유화제와 함께 병용할 때, 다른 하이드로콜로이드(예, 단백질)와는 달리 shear field에서 유화 안정도 유지에 비교적 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다. 한편, Smoluchowski orthokinetic 속도 상수 k_c는 지방구 크기가 a일 때 다음과 같이 표현된다(21).

$$k_c = 32a^3D/3W \quad (4)$$

D: 전단속도, W: 안정도 계수

따라서 Fig. 5에서 관찰된 유화액 불안정화 시간에 이르기 전 지방구 크기의 급격한 증가는 Smoluchowski 식에 의하여 속도 상수가 지방구 크기의 3제곱에 비례하기 때문이며, 전술한 MC 유화액의 긴 lag phase는 흡착된 MC에 의하여 발현되는 매우 큰 안정도(steric stabilization) 계수(W)에 의한 것으로 사료된다. 또한 Tween 20의 농도 변화와 더불어 유화액 불안정화 시간에서 관찰된 유화액 중의 지방구의 크기는 상대적으로 작아졌는데, 이는 단순히 Tween 20 첨가에 의하여 낮아진 계면장력에 기인된 것으로 판단된다(26).

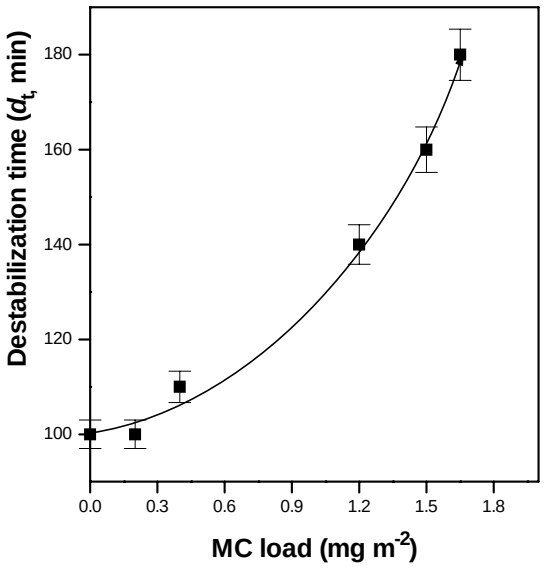

Fig. 6. Influence of MC load on destabilization time (t_d). MC load obtained from previous study (14) was plotted against t_d. The characteristic destabilization time (t_d) corresponds to the maximum rate of increase of d_{32}.

요 약

본 연구는 MC와 저분자량 유화제 Tween 20 간의 경쟁 흡착 현상이 MC 유화액(1 wt% MC, 10 wt% *n*-tetradecane, 20 mM bis-tris, pH 7)의 안정도(크리밍 안정도 및 orthokinetic stability) 특성에 미치는 영향을 구명하고자 수행하였다. 크리밍 특성 변화는 시료 유화액의 크리밍 프로화일 및 지방구 평균 이동 속도(V_m) 등을 비교하였고, orthokinetic stability는 전단시간(shear time)에 대한 지방구 크기 변화를 측정하여 평가하였다. 지방 함량을 달리하여(1～30 wt%) 제조한 Tween 20 무첨가 MC 유화액의 경우 지방구 평균 이동 속도(V_m)로 표현된 크리밍 안정도는 유화액 중 지방구 크기에 의존하는 경향을 보였다. 즉 지방구 크기가 클수록 안정도는 낮은 것으로 나타났다[V_m: 0.326 μm min^{-1} (d_{32}: 0.32 μm)→V_m: 0.551 μm min^{-1} (d_{32}: 0.53 μm)]. Tween 20을 첨가할 경우 MC 유화액의 크리밍 안정도는 Tween 20을 첨가하지 않은 경우보다 낮았고(0.2 wt% Tween 20 첨가 제외), 낮은 첨가 농도에서 가장 낮은 안정도를 보였으며, 농도가 증가할수록 안정도는 회복되는 것으로 관찰되었다[V_m: 0.598 μm min^{-1}(0.01 wt%)→V_m: 0.389 μm min^{-1}(0.2 wt%)]. MC 유화액 연속상의 점도를 측정한 결과 이러한 크리밍 안정도 변화는 연속상의 점도 변화 경향과 잘 일치하고 있었다(Stokes 법칙에 잘 따름). 따라서 Tween 20을 함유하는 유화액의 크리밍에 대한 안정도는 물/기름 계면에서 일어나는 MC/Tween 20 간 경쟁흡착에 의하여 수용액 상으로 이탈된 MC 농도에 의존되고 있음을 알 수 있었다. 유화불안정화 시간(t_d)으로 평가한 orthokinetic stability의 경우 Tween 20 첨가에 의하여 MC 유화액의 유화 안정도는 낮아졌으며, 유화제 첨가 농도의 증가와 더불어 더욱 낮아지는 경향을 보였다[t_d: 160 min(0.03 wt%)→t_d: 100 min(0.2 wt%)]. Tween 20은 계면 흡착 MC를 수용액 상으로 이탈시키므로 Tween 20을 함유한 MC 유화액의 orthokinetic stability 특성은 MC load에 지수 함수적으로 의존됨을 확인할 수 있었다. 결론적으로 MC 유화액에 Tween 20을 첨가할 경우 유화안정도에 영향을 미칠 수 있으며 그 정도는 첨가한 Tween 20의 농도에 의존되는 특성을 보였다.

감사의 글

본 연구는 호원대학교의 재정 지원으로 수행되었으며, 크리밍 안정도 평가는 Leanontech에서 도움을 주셨습니다. 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Shields M, Ellis R, Saunders BR. 2001. A creaming study of weakly flocculated and depletion flocculated oil-in-water emulsions. *Colloid Surf A* 178: 265-276.
2. Chanamai R, McClment DJ. 2000. Impact of weighting agents and sucrose on gravitational separation of beverage emulsions. *J Agric Food Chem* 48: 5561-5565.
3. Blijdenstein TBJ, van Vliet T, van der Linden E, van Aken GA. 2003. Suppression of depletion flocculation in oil-in-water emulsions: a kinetic effect of β-lactoglobulin. *Food Hydrocoll* 17: 661-669.
4. Durand A, Franks GV, Hosken RW. 2003. Particle sizes and stability of UHT bovine, cereal and grain milk. *Food Hydrocoll* 17: 671-678.
5. Sanchez CC, Rodriguez Patino JMR. 2005. Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. *Food Hydrocoll* 19: 407-416.
6. McClements DJ. 2007. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. *Crit Rev Food Sci Nutr* 47: 611-649.
7. Dickinson E, Williams A. 1994. Orthokinetic coalescence of protein-stabilized emulsions. *Colloid Surf A* 88: 317-326.
8. Williams A. 1995. Orthokinetic stability and interfacial interactions in simple and multiple emulsions. *PhD Dissertation*. University of Leeds, Leeds. p 1-55.
9. Hong ST. 1998. Orthokinetic stability of β-lactoglobulin-stabilized emulsions: effect of protein heat treatment and surfactant addition. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 3: 133-142.
10. Zecher D, Gerrish T. 1997. Cellulose derivatives. In *Thickening and Gelling Agents for Food*. Imeson A, ed. Blackie Academic & Professional, London. p 60-87.
11. Sarker DK, Axelos M, Popineau Y. 1999. Methylcellulose-induced stability changes in protein-based emulsions. *Colloid Surf B* 12: 147-160.
12. Hong ST. 2008. Influence of methylcellulose on properties of β-lactoglobulin emulsions. *Food Eng Prog* 12: 121-127.
13. Gullapalli RP, Sheth B. 1996. Effect of methylcellulose on the stability of oil-in-water emusions. *Int J Pharm* 140: 97-109.
14. Hong ST. 2008. Competitive displacement of methylcellulose from the oil-water interface by various emulsifiers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1271-1277.
15. McClements DJ. 2004. *Food Emulsions: principles, practices, and techniques*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida. p 461-513.
16. Kanzaki G, Berger EY. 1959. Colorimetric determination of methylcellulose with diphenylamine. *Anal Chem* 31: 1383-1385.
17. Lips A, Westbury T, Hart PM, Evans ID, Cambell IL. 1993. On the physics of shear-induced aggregation in concentrated food emulsions. In *Food Colloids and Polymers: Stability and Mechanical Properties*. Dickinson E, Walstra P, eds. Royal Society of Chemistry, Cambridge. p 31-42.
18. Holland FA. 1973. *Fluid Flow for Chemical Engineers*. Edward Arnold, London. p 1-38.
19. Sarkar N. 1984. Structural interpretation of the interafacial properties of aqueous solutions of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *Polym* 25: 481-486.
20. McNamee BF, O'Riordan ED, O'Sullivan M. 1998. Encapsulation and microencapsulation properties of gum arabic. *J Agric Food Chem* 46: 4551-4555.
21. Dickinson E. 1992. *An Introduction to Food Colloids*. Oxford University Press, Oxford. p 79-122.
22. Dalgleish D, Srinivasan M, Singh H. 1995. Surface properties of oil-in-water emulsion droplets containing casein and tween 60. *J Agric Food Chem* 43: 2351-2355.

23. Sun B, Wei Y, Liu S, Zhang S. 2007. Oil-in-water emulsions stabilized by hydrophobically modified hydroxyethyl cellulose: adsorption and thickening effect. *J Colloid Interface Sci* 311: 228-236.
24. Goff HD, Jordan WK. 1989. Action of emulsifiers in promoting fat destabilization during the manufacture of ice cream. *J Dairy Sci* 72: 18-29.
25. van Dam B, Watts K, Campbell IJ, Lips A. 1995. On the stability of milk protein-stabilized concentrated oil-in-water food emulsions. In *Food Macromolecules and Colloids*. Dickinson E, Lorient D, eds. Royal Society of Chemistry, Cambridge. p 215-229.
26. Walstra P. 1993. Principles of emulsion formation. *Chem Eng Sci* 48: 333-349.

(2008년 10월 6일 접수; 2008년 10월 20일 채택)