

우지 Alcoholysis 반응물을 이용한 Oil-in-Water Emulsion의 포화도에 따른 산화특성 및 안정성 연구

장 화^{1,2} · 이영화³ · 신정아¹ · 이기택¹ · 홍순택^{1*}

¹충남대학교 식품공학과

²연변대학교 식품과학과

³농촌진흥청

Stability of Oil-in-Water Emulsions with Different Saturation Degrees from Beef Tallow Alcoholysis Products

Hua Zhang^{1,2}, Young-Hwa Lee³, Jung-Ah Shin¹, Ki-Teak Lee¹, and Soon-Teak Hong^{1*}

¹Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

²Dept. of Food Science and Engineering, Yanbian University, Dongbei 133000, China

³Rural Development Administration, Gyeonggi 441-707, Korea

Abstract

In this study, methyl esters with different saturated fatty acids (SFA) were prepared by urea fractionation to make an oil-in-water emulsion. Emulsion characteristics (emulsion stability and oxidative stability) of the methyl ester emulsion were then studied at different percentages of methyl ester saturation (5, 28, 39, 50, and 72%, termed Σ SFA5, Σ SFA28, Σ SFA39, Σ SFA50, and Σ SFA72, respectively). The stability of emulsions (ES) with different SFA content was 46.0 (Σ SFA5), 39.5 (Σ SFA28), 32.7 (Σ SFA39), 32.6 (Σ SFA50), and 27.3 (Σ SFA72). Results from Turbiscan showed that creaming or clarification, based on the backscattering intensity, was more pronounced with increases in the saturation degree of the emulsion. These results implied that the emulsions with lower saturation were more stable. During 30 days of storage, the lipid peroxide value increased for all emulsions, with the increase less pronounced with the increasing saturation of the emulsion: 1.880 (Σ SFA5), 1.267 (Σ SFA28), 1.062 (Σ SFA39), 0.342 (Σ SFA50) and 0.153 (Σ SFA72) mg H₂O₂/mL emulsion. In addition, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) values were significantly lower in emulsions with high saturation (4.419 mg for Σ SFA50 and 4.226 mg for Σ SFA72) than emulsions with low saturation (6.229 mg for Σ SFA5, 6.801 mg for Σ SFA28 and 6.246 mg for Σ SFA39). In conclusion, the emulsions with a higher saturation degree of methyl esters showed lower emulsion stability but better oxidation stability.

Key words: oil-in-water emulsion, methyl esters, saturation, stability

서 론

일반적으로 emulsion은 분산 형태에 따라 유중수적형인 W/O형과 수중유적형인 O/W형으로 구분하며 O/W emulsion에 오일을 재분산하여 만든 O/W/O 형과 W/O emulsion에 물을 재분산하여 만든 W/O/W 형의 multiple emulsion도 존재한다. 이때 분산된 입자 크기에 따라 macroemulsion (1~10 μ m, 유백색), microemulsion(2~100 nm, 투명한 성상)과 nanoemulsion(20~200 nm, 푸른빛)으로도 구분된다(1,2). 이들 emulsion에서도 산화가 진행되는데, 특히 수중유적형(O/W) emulsion의 산화 과정에 영향을 미치는 요인들은 emulsion을 구성하는 유지 particle의 조성과 관계가 있기도 하며, 또한 수용액상의 pH, 처리온도, ionic strength,

사용된 유허제의 성질, prooxidant의 농도 및 존재 위치, 그리고 packing parameter 등과도 연관이 있다고 알려져 있다(3-5). 한편 emulsion에서는 물과 접촉되는 지방구들의 표면적이 매우 크기 때문에 가수분해가 일어나기 쉬우므로 다른 지방질 식품이나 식용유지에 비하여 가수분해에 의한 산패가 중요시되기도 하는데, 이와 같은 산화의 정도를 알아보기 위하여 peroxide values(POV), 공액이중결합측정법(CDA) 및 2-thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)법, p-anisidine values(p-AV), 극성물질 측정법(total polar material, TPM) 등이 많이 이용된다(6-8).

Emulsion은 열역학적으로 불안정한 상태이므로 기계적인 에너지에 의해 일시적으로 안정한 미세입자로 존재할 수 있으나, 크리밍 현상, 유허입자들 간의 응집(flocculation) 및

*Corresponding author. E-mail: hongst@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6727, Fax: 82-42-821-8900

합일(coalescence)을 통하여 시간이 경과함에 따라 열역학적으로 불안정하게 된다(9). 한편 emulsion의 안정성은 외부 pH에 영향을 받기도 하는데 Gu 등(10)이 아이오타-, 람다-카라기난으로 구성된 emulsion의 안정성 연구에서는 산성(pH 3~5)인 경우 분산된 입자 분자 간에 지방구 응집과 크리밍이 발생하였으나 pH 6~7인 경우 지방구 크기 변화는 비교적 적었다고 보고하였다. 최근에 유화안정도를 평가하기 위하여 light scattering 현상을 이용하는 Turbiscan이 소개되었다. 이는 시료에 투과(transmission) 및 후방산란(backscattering) 된 빛의 양(%)을 동시에 측정하여 입자들의 이동으로 인한 particle migration(creaming, sedimentation) 현상과 분산상 입자들의 응집으로 인한 particle size variation(flocculation, coalescence) 현상을 관찰할 수 있다(11). 이 방법은 유화안정도가 우수하여 시료간의 비교 평가가 어려운 emulsion의 평가에 유용하다고 알려져 있다(12).

생리활성을 나타내는 천연물질(e.g., curcumin)은 나노기술인 microemulsion 형태로 하여 건강기능성 식품 등에 첨가·사용하는데, 이 경우 유상(oil phase)으로 이들 기능성 성분들을 녹일 수 있는 지방산 에스테르가 이용되고 있다(13). 본 실험에서는 먼저 우지를 alcoholysis 반응하여 주로 ester로 구성된 반응물을 획득하고, 이를 요소와 반응시키는 요소포접화합물 결정화법(14)을 통하여 포화도가 72.3%인 우지 alcoholysis 반응물을 획득하였다. 이후 이 반응물을 유상으로 하여 포화도가 다른 oil-in-water emulsion[5(Σ SFA5)-72%(Σ SFA72)]을 제조하여 포화도 변화에 따른 emulsion의 유화안정성 및 산화안정성 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

Emulsion 제조에 사용된 원료유는 우지 alcoholysis 반응물로서 농촌진흥청 바이오디젤 센터(전라남도 무안)에서 제공받았고, 유화제로 사용된 L- α -phosphatidylcholine(from soybean, type IV-S, ≥ 30)와 ammonium thiocyanate, barium chloride dihydrate, iron(II) sulfate heptahydrate, trichloroacetic acid, deuterated chloroform(chloroform-d, 99.9 atom% D, containing 0.1% v/v, tetramethylsilane)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였으며, 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol은 Junsei Chemical Co., Ltd.(Tokyo, Japan)로부터 구입하였다. 요소 분획 시 사용된 methanol과 hexane은 normal-grade이었고, 이외의 용매는 분석용 특급시약을 사용하였다.

우지 alcoholysis 반응물의 구성성분

우지 alcoholysis 반응물의 구성성분을 측정하기 위하여 normal-phase high performance liquid chromatography(NP-HPLC, Younglin, Anyang, Korea) 분석을 실시하였다. 검출기는 evaporative light scattering detector(ELSD,

SEDEX Model 75, Sedere, Alfortville, France)를 사용하였고 칼럼은 Hypersil BDS CPS 5 μ (250 \times 4.6 mm, Thermo Hypersil Ltd., Cheshire, UK)를 사용하였다. 검출기의 분석 조건은 Jeon과 Lee(15)의 방법을 사용하였다. 한편 핵자기공명분광기(hydrogen nuclear magnetic resonance spectrum, Bruker Advance III 600 spectrometer operating at 600.13 MHz, Bruker Corp., Karlsruhe, Germany)를 사용하여 우지 alcoholysis 반응물의 각 성분 mol%를 측정하였다. 시료를 hydrogen nuclear magnetic resonance(1 H-NMR)용 튜브에 50 mg을 채우고 700 μ L의 $CDCl_3$ 를 혼합하여 분석하였다(16).

요소 분획

우지 alcoholysis 반응물(110 g)에 메탄올(1,100 mL)과 요소(220 g)을 첨가하여 65°C water bath에서 용해시키고 2°C에서 14시간 동안 방치한 후, 감압여과 장치를 이용하여 액상 층과 요소 층으로 분리하였고 얻어진 액상 층을 separate funnel을 이용하여 200 mL 액상 층에 200 mL hexane을 첨가하여 층을 분리하였다. 이후 밀층을 버리고 증류수로 여러 번 수세하였고 anhydrous sodium sulfate column을 이용하여 hexane 층의 수분 및 불순물을 제거한 후, rotary vacuum evaporator(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)와 질소를 이용하여 용매를 제거하면서 액상 층의 우지 반응물을 추출하였다. 요소 층에 포접된 포화지방산이 많은 우지 alcoholysis 반응물을 추출하기 위하여 먼저 획득된 포접 요소 층을 증류수로 용해한 후 위에 설명한 방법으로 추출하였다. 얻어진 액상 층과 요소 층의 우지 alcoholysis 반응물의 지방산 조성은 Zhang(17)의 방법에 의하여 gas chromatograph(Hewlett-Packard 6890 series, Hewlett-Packard, Avondale, PA, USA)로써 flame ionization detector를 사용하였고, 칼럼은 SPTM-2560(biscyanopropyl polysiloxane, 100 m \times 0.25 mm i.d., 0.2 μ m film thickness, Supelco, Bellefonte, PA, USA)을 이용하여 분석하였고 실험에 사용된 유상들은 우지 alcoholysis 반응물을 요소 분획하여 액상층에서 획득한 분획물(Σ SFA5), 우지 alcoholysis 반응물을 요소 분획하여 요소층에서 획득한 분획물(Σ SFA72) 그리고 Σ SFA5 66.7 wt%와 Σ SFA72 33.3 wt%의 혼합물(Σ SFA28), Σ SFA5 50 wt%와 Σ SFA72 50 wt% 혼합물(Σ SFA39) 및 Σ SFA5 33.3 wt%와 Σ SFA72 66.7 wt% 혼합물(Σ SFA50)을 사용하였다.

Emulsion 제조

두 가지의 유화방법을 이용하여 emulsion을 제조하였다. 먼저 ultrasonic processor(Sonics & Materials Inc., Newtown, CT, USA)를 사용하여 유상 1 g과 수상으로 bis-tris buffer(pH 7) 9 mL, 0.025 g L- α -phosphatidylcholine을 첨가하고 20 kHz에서 20초 동안 처리하여 유화액을 제조하였으며, 이 유화액에 대한 emulsion activity, emulsion stability, Turbiscan test, 지방구 크기 관찰 실험을 진행하였다. 또한 실험실 규모의 고압균질기(M-110Y, Microfluidics,

Newton, MA, USA)를 사용하여 3000 psi에서 emulsion(10 wt%의 우지 alcoholysis 반응물, 0.25 wt% L- α -phosphatidylcholine, 90 wt% 20 mM bis-tris buffer, pH 7)을 제조하고 emulsion의 산화안정성을 측정하였다(18).

Emulsion stability(ES) 측정

ES 측정은 Lima와 Alegre(19)가 제시한 방법을 이용하였다. ES를 구하기 위하여 emulsion 20 μ L를 bis-tris buffer(pH 7) 5 mL로 희석하여 540 nm에서 15분 간격으로 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(centrifuge, HA1000-3, Hanil Science Industrial Co., Ltd., Gangneung, Korea)를 하여 UV-spectrophotometer(UV-1700, Shimadzu, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 시간에 따른 탁도 변화로 ES를 $d(A)/dt = -k_d(A)$ 에 의하여 계산하였고, 이 식을 미분하여 $\ln(A/A_0) = -K_d t$ (시간; k_d , 탁도 변화 상수; A, 흡광도; A_0 , 초기흡광도)를 얻고 $ES = -1/k_d$ 로 표시하였다.

터비스캔(Turbiscan)을 이용한 유화안정도 측정

유화안정도는 Turbiscan(Formulation Co., Toulouse, France)을 이용하여 측정하였다. Emulsion 시료 10 mL를 취하여 측정용기(50 mm)에 넣은 후 $28 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 유화안정도를 측정하였으며, 그 결과는 후방산란(backscattering profile, %)에 근거하여 기울기 값으로 나타내었다(20).

지방구 크기 측정

제조한 emulsion의 지방구 평균 입자 크기는 입도분석기(Mastersizer S, Malvern Instrument, Worcestershire, UK)를 사용하여 측정하였으며, 결과는 weight mean diameter(d_{43})와 volume-surface mean diameter(d_{32})로 표시하였다(21).

$$d_{43} (\mu\text{m}) = \frac{\sum d_i^4 n_i}{\sum d_i^3 n_i} \quad (n_i, \text{입자의 개수}; d_i, \text{직경})$$

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

산화안정성 측정

Lipid peroxides의 측정은 20 μ L emulsion에 3mL methanol/butanol(2:1, v:v) 용액을 가하여 섞은 후 3.9 M ammonium thiocyanate 15 μ L와 0.1 M BaCl_2 와 0.1 M FeSO_4 를 1:1(v:v)로 혼합하고 원심분리 하여 얻은 상등액 15 μ L 넣어 발색시키고, 실온에서 20분간 방치한 뒤 510 nm에서 UV-spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정하였다. Hydroperoxide의 농도는 H_2O_2 표준곡선으로 환산하였다(22). Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS value)의 측정은 200 μ L emulsion에 2% butylated hydroxytoluene(BHT)/EtOH 100 μ L와 trichloroacetic acid/thiobarbituric acid(TCA/TBA) 용액을 2 mL 가하고 90°C 수욕 상에서 30분간 가열한 다음 0°C 에서 냉각하였다. 시료를 10분간 원심분리(5,000 rpm)한 다음 상등 액의 형광광도를 UV-spectrophotometer로 532 nm에서 측정하였다. 이때 흡광도를 TBARS 값으로 표시하고, 1,1,3,3-tetraethoxypropane(TEP)

표준물질을 이용한 표준 검량곡선에 의하여 산출하였다(23).

통계 처리

실험별 결과는 SPSS(version 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test(DMRT)로 샘플 간 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

우지 반응물 조성

Fig. 1은 O/W emulsion 제조시에 사용된 우지 alcoholysis 반응물의 HPLC와 ^1H -NMR의 분석 결과를 나타내고 있는데, HPLC 크로마토그램상에서 ester와 triglycerides(TAG) 피크를 확인할 수 있었고, 이는 O/W emulsion 제조시에 사용된 우지 alcoholysis 반응물에 alcoholysis의 주반응물인 methyl ester와 alcoholysis 반응에 참여하지 않은 우지 triglyceride의 혼합물이 공존하고 있음을 의미한다(Fig. 1a). Fig. 1b는 ^1H -NMR를 이용하여 우지 alcoholysis 반응물에 공존하고 있는 methyl esters와 triglycerides의 몰비(mole ratio)를 측정한 결과를 나타내고 있다. X축은 chemical shift로써 ppm으로 표시하였는데, ^1H -NMR spectrum에서 chemical shift 3.65에 존재하는 methyl esters의 $-\text{OCH}_3$ peak와 chemical shift 5.25에 존재하는 trigly-

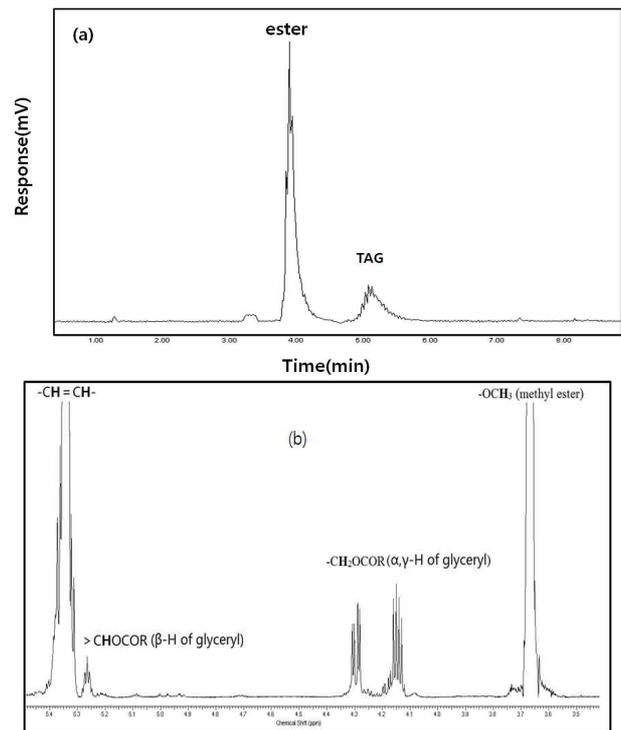


Fig. 1. HPLC and ^1H -NMR spectrum of beef tallow alcoholysis products. (a) chromatogram from the normal-phase high performance liquid chromatographic separation, (b) proton (or hydrogen) nuclear magnetic resonance spectrum.

Table 1. Fatty acid composition of the fractionation beef tallow alcoholysis products (unit: area%)

	ΣSFA5	ΣSFA28	ΣSFA39	ΣSFA50	ΣSFA72
C14:0	3.4±0.3	3.9±0.3	4.6±0.1	5.0±0.2	5.2±0.3
C14:1	3.5±0.4	2.1±0.2	1.9±0.1	1.3±0.1	0.2±0.3
C16:0	2.3±0.6	16.8±0.2	23.5±0.1	30.7±0.3	44.2±0.9
C16:1	10.4±0.9	7.3±0.0	6.3±0.1	4.9±0.2	1.6±0.1
C18:0	0.2±0.2	7.7±0.0	11.2±0.3	14.9±0.4	22.9±2.0
C18:1	67.9±3.4	53.5±0.0	44.7±0.3	37.3±0.2	23±0.2
C18:n7	8.8±1.5	6.6±0.2	5.9±0.3	4.5±0.2	2.7±0.3
C18:2	3.6±0.6	2.1±0.1	1.9±0.1	1.4±0.1	0.1±0.2
ΣSFA	5.8±1.1	28.4±0.1	39.2±0.3	50.7±0.1	72.3±0.9

ΣSFA5: Liquid part of ΣSFA50 beef tallow alcoholysis products from urea fractionation.

ΣSFA28: 66.7 wt% ΣSFA5+33.3 wt% ΣSFA72.

ΣSFA39: 50 wt% ΣSFA5+50 wt% ΣSFA72.

ΣSFA50: 33.3 wt% ΣSFA5+66.7 wt% ΣSFA72.

ΣSFA72: Solid part of ΣSFA50 beef tallow alcoholysis products from urea fractionation.

cerides의 >CHOCOR peak를 이용하여 정량분석을 진행하였다(24). ¹H-NMR를 이용한 분석질량비를 측정한 결과, 우지 alcoholysis 반응물중 methyl esters는 96.2 mol%이었고 triglycerides는 3.8 mol%이었으며, 이는 질량 %로 약 90 wt%의 methyl esters와 10 wt%의 triglycerides에 해당된다.

Table 1은 실험에 사용된 포화도가 다른 emulsion 제조 시에 이용된 우지 alcoholysis 반응물의 지방산 조성을 나타내고 있다. 요소 분획을 통하여 액상 층에서 획득한 우지 alcoholysis 반응물의 포화지방산(C14:0, C16:0, C18:0)의 합은 5.8±1.1%로써 ΣSFA5로 나타내었고, 분획 후 요소 포집 층을 물로 용해하고 추출한 우지 alcoholysis 반응물의 포화지방산(C14:0, C16:0, C18:0)의 합은 72.3±0.9%로써 이를 ΣSFA72로 나타내었다. 이후 66.7 wt%의 ΣSFA5와 33.3 wt%의 ΣSFA72를 혼합하여 28.4±0.1%의 포화지방산(C14:0, C16:0, C18:0)의 합을 가지는 반응물을 ΣSFA28로 표시하였다. 한편 50 wt%의 ΣSFA5와 50 wt%의 ΣSFA72를 혼합하였을 때 포화지방산 합은 39.2±0.3%로 이를 ΣSFA39로 표시하였고, 따라서 ΣSFA50은 33.3 wt%의 ΣSFA5와 66.7 wt%의 ΣSFA72를 혼합하여 얻은 포화도가 50.7±0.1%인 우지 alcoholysis 반응물을 나타낸다. 또한 요소 분획을 통하여 획득한 우지 alcoholysis 반응물의 총 불포화지방산 함량은 ΣSFA5(94.2%), ΣSFA28(71.6%), ΣSFA39(60.8%), ΣSFA50(49.3%) 및 ΣSFA72(27.7%)로 ΣSFA5와 ΣSFA72의 불포화지방산 함량은 66.5% 차이를 나타내었다.

Emulsion stability

Fig. 2는 총 포화지방산의 합이 5에서 72%(ΣSFA5, ΣSFA28, ΣSFA39, ΣSFA50과 ΣSFA72)인 우지 alcoholysis 반응물을 각각 1 g 취한 후, bis-tris buffer(pH 7.0) 9 mL 혼합하여 ultrasonic processor를 이용하여 제조한 O/W emulsion의 시간에 따른 탁도 변화를 emulsion stability (ES)로 나타낸 결과이다. 제조한 각각의 emulsion의 ES값은 46.0, 39.5, 32.7, 32.6 및 27.3이었는데, 포화도가 가장 낮은 ΣSFA5 emulsion은 ΣSFA39, ΣSFA50 및 ΣSFA72 emul-

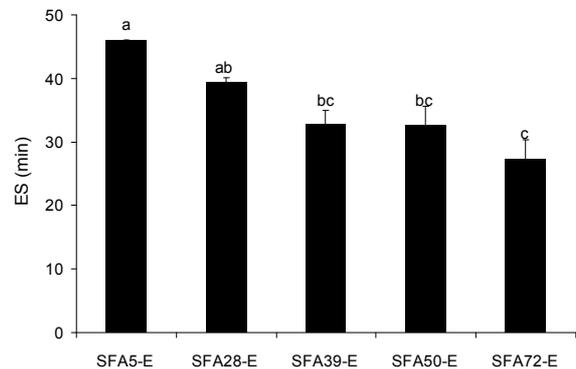


Fig. 2. Stability of emulsions made of beef tallow alcoholysis product with different saturation. SFA5-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 5% saturation; SFA28-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 28% saturation; SFA39-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 39% saturation; SFA50-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 50% saturation; SFA72-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 72% saturation. ^{a-c}Values followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$).

sion에 비하여 유의적으로($p < 0.05$) 높은 값을 보이면서 가장 높은 안정성을 나타내었으나, ΣSFA28 emulsion의 ES값과는 유의적 차이를 보이지 않았다($p < 0.05$). 반면 포화도가 가장 높은 ΣSFA72 emulsion은 ΣSFA5, ΣSFA28들의 ES값에 비하여 유의적으로($p < 0.05$) 낮은 값을 보이면서 불안정성을 나타내었으나 ΣSFA39 및 ΣSFA50의 ES값과는 유의적 차이를 보이지 않았다. 따라서 포화도가 높은 emulsion일수록 유화 안정성이 낮은 경향을 보였는데, 이를 통하여 포화도가 높은 emulsion(ΣSFA39, ΣSFA50과 ΣSFA72)들에서는 포화도가 낮은 emulsion(ΣSFA5와 ΣSFA28)들과 비교하였을 때 관찰시간이 길어질수록 particle size variation이 더 쉽게 일어나며(Table 2), 이 경우 Stokes' law에 의하여 emulsion이 더욱 불안정하여진다(25).

Turbiscan을 이용한 유화안정도

Fig. 3에서는 Turbiscan을 이용하여 ultrasonic processor

Table 2. Effect of the lapse of time on the average volume surface mean diameter (d_{32}) and weight mean diameter (d_{43}) of different saturation beef tallow alcoholysis products emulsions in ultrasonic processor

Sample	Volume surface mean diameter (μm)				Weight mean diameter (μm)			
	Storage time (days)							
	0	3	6	9	0	3	6	9
SFA5-E	0.27 ± 0.01	0.29 ± 0.00	0.28 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.43 ± 0.01	0.56 ± 0.10	0.65 ± 0.01^b	0.59 ± 0.00^b
SFA28-E	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.00	0.29 ± 0.01	0.34 ± 0.04	0.48 ± 0.00	0.71 ± 0.01	0.88 ± 0.08^b	0.75 ± 0.02^b
SFA39-E	0.29 ± 0.01	0.28 ± 0.00	0.28 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.49 ± 0.01	0.81 ± 0.11	0.72 ± 0.06^b	0.85 ± 0.04^b
SFA50-E	0.29 ± 0.01	0.30 ± 0.00	0.27 ± 0.00	0.28 ± 0.02	0.50 ± 0.01	0.66 ± 0.13	0.78 ± 0.00^b	0.65 ± 0.02^b
SFA72-E	0.27 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.48 ± 0.00	0.68 ± 0.06	3.08 ± 0.37^a	3.42 ± 0.59^a

SFA5-E: Emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 5% saturation.

SFA28-E: Emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 28% saturation.

SFA39-E: Emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 39% saturation.

SFA50-E: Emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 50% saturation.

SFA72-E: Emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 72% saturation.

^{a,b}Values followed different letter in the same column are significant different ($p < 0.05$).

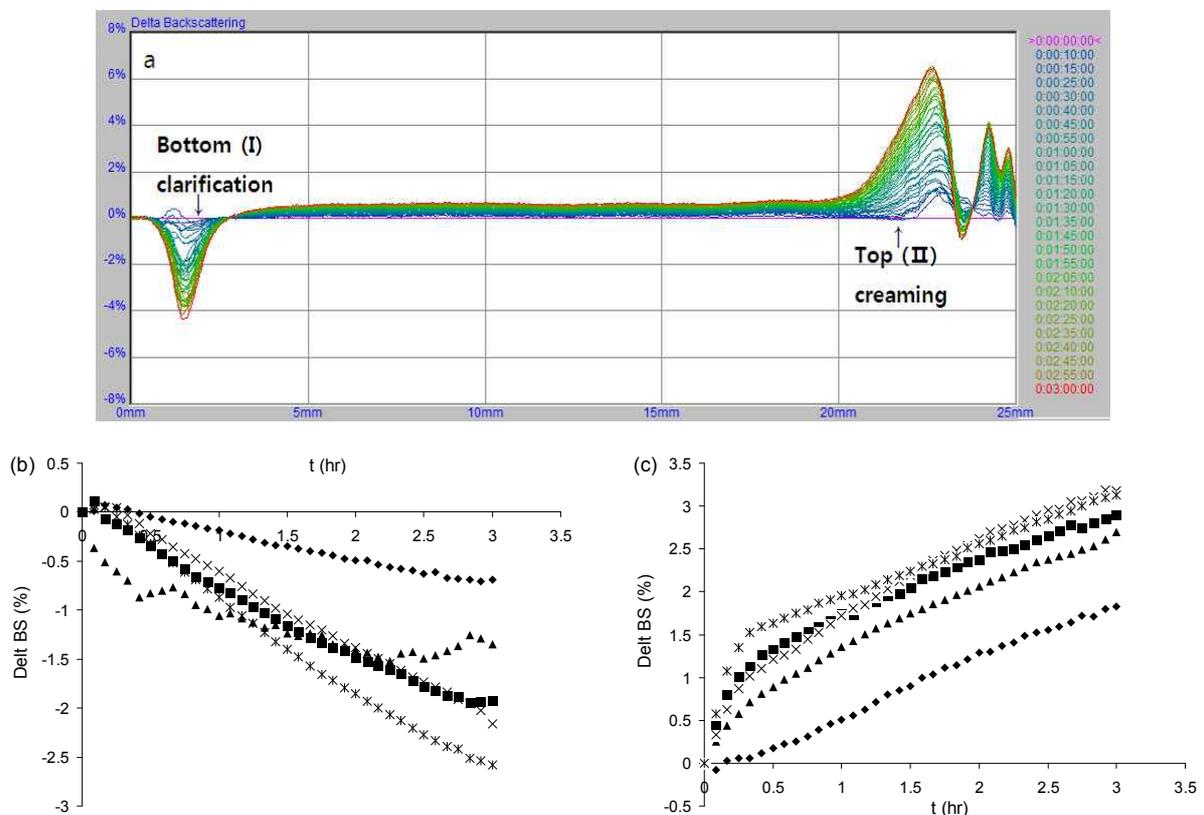


Fig. 3. Stability of emulsions with beef tallow alcoholysis products measured by Turbiscan. (a) Dispersion stability data of saturated 50% content beef tallow alcoholysis products emulsion. (b) Mean value kinetics for clarification (0~5 mm). (c) Mean value kinetics for cream (18~23 mm). SFA5-E (◆), SFA28-E (■), SFA39-E (▲), SFA50-E (×), SFA72-E (*). SFA5-E: emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 5% saturation, SFA28-E: emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 28% saturation, SFA39-E: emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 39% saturation, SFA50-E: emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 50% saturation, SFA72-E: emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 72% saturation.

로 제조한 포화도가 서로 다른 emulsion의 유효안정도를 비교하였다. Lee와 Mok(26)은 현탁상태의 입자수가 감소하면 후방산란(backscattering)의 정도가 낮아지고 이 기울기로부터 크리밍 속도 또는 clarification 속도를 평가할 수 있다고 하였다. 즉 emulsion에서는 입자밀도가 감소하여 후방산란 된 빛의 양이 감소하면 clarification이 발생하고 입자의 밀도가 증가하여 후방산란 빛의 양이 증가하면 크리밍이 발

생하였음을 의미한다. 또한 후방산란광이 약해지면 변화속도는 음(-)의 부호를 가진다. Fig. 3(a)은 50%인 우지 alcoholysis 반응물로 제조된 emulsion을 예로써 제시하고 있는데, bottom 부분(I)에서는 입자의 밀도가 감소하였기 때문에 후방산란 된 빛의 양이 약 4.3% 감소하면서 clarification이 발생한 반면, top 부분(II)에서는 입자의 밀도가 증가하였기 때문에 후방산란 된 빛의 양이 약 6.5% 증가하면서 크리밍

이 발생하였다. 한편 포화도가 다른 emulsion들로부터 bottom 부분의 유화안정도를 mean value kinetics로 평가한 결과가 Fig. 3(b)에 제시하였다. 각 emulsion 시료들로부터 bottom 부분의 기울기는 $-0.16\%/hr$ (Σ SFA5-E), $-0.53\%/hr$ (Σ SFA28-E), $-0.26\%/hr$ (Σ SFA39-E), $-0.58\%/hr$ (Σ SFA50-E) 그리고 $-0.74\%/hr$ (Σ SFA72-E)로써 포화도가 가장 낮은 시료의 emulsion의 기울기(혹은 변화속도)가 가장 낮았고, Σ SFA28 및 Σ SFA50 emulsion 시료 간에는 큰 차이를 보이지 않았으며, 포화도가 상대적으로 높은 Σ SFA72 emulsion의 기울기는 다른 emulsion 시료들보다 높은 값을 보였다. 따라서 Σ SFA5 emulsion의 안정도가 상대적으로 우수하다고 생각되어진다. 또한 이 결과는 emulsion 제조에 사용된 유상 시료의 포화도가 낮을수록 그 안정도는 커진 ES의 결과와도 유사하였다(Fig. 2). Fig. 3(c)은 시간에 따른 top 부분의 유화안정도를 mean value kinetics로 평가한 결과로써 포화도가 가장 낮은 Σ SFA5 emulsion의 분산안정성이 상대적으로 가장 우수하였다. 따라서 본 실험을 통하여 Fig. 2의 결과를 보다 구체적으로 재확인할 수 있었다.

지방구 크기

Ultrasonic processor로 제조한 포화도가 다른 emulsion의 particle size 변화를 실온에서 9일간 저장하면서 측정하였다(Table 2). Volume-surface mean diameter(d_{32})의 경우 모든 emulsion 시료에서 0.4 미만을 보이며 측정기간 동안 변화가 크지 않았으나, particle size가 큰 지방구들의 존재에 민감한 weight mean diameter(d_{43})는 저장 초기(0일)에 Σ SFA5, Σ SFA28, Σ SFA39, Σ SFA50, Σ SFA72 emulsion의 경우 각각 0.43, 0.48, 0.49, 0.50 및 0.48 μm 이었으나, 저장 3일 후 0.56, 0.71, 0.81, 0.66 및 0.68 μm 를 보이며 점차 큰 값을 나타내었다. 특히 저장 6일 후 Σ SFA72 emulsion의 d_{43} 은 3.08 μm 로서 다른 0.65 μm (Σ SFA5), 0.88 μm (Σ SFA28), 0.72 μm (Σ SFA39), 0.78 μm (Σ SFA50) emulsion의 d_{43} 과 유의적 차이를 보이면서 큰 변화를 나타내었다($p < 0.05$). 따라서 ultrasonic processor로 제조된 emulsion은 포화도에 관계없이 저장기간이 길어짐에 따라 d_{43} 이 다소 증가하는 경향을 보였는데, 특히 포화도가 가장 높은 Σ SFA72 emulsion의 저장 6일 후 particle size(d_{43})는 0일보다 약 6.4배 증가하였다. 따라서 Σ SFA72 emulsion은 포화도가 낮은 다른 emulsion들보다 응집(flocculation) 혹은 합일(coalescence) 현상이 빨리 진행되어 이와 같은 결과를 보인다고 생각된다.

한편 고압균질기를 사용하여 제조한 포화도가 서로 다른 우지 alcoholysis 반응물 emulsion의 저장 안정성 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 제조 직후 모든 emulsion 시료의 d_{32} 및 d_{43} 는 각각 0.25~0.29 μm 및 0.33~0.34 μm 범위로 ultrasonic processor로 제조한 emulsion 시료에 비하여 대체로 작은 것으로 분석되었다. 이러한 경향은 ultrasound와 고압균질기의 유화능을 비교한 Jafari 등(27)의 연구결과와 매우 유사한 것으로 유화과정 중 유화액에 가해지는 energy den-

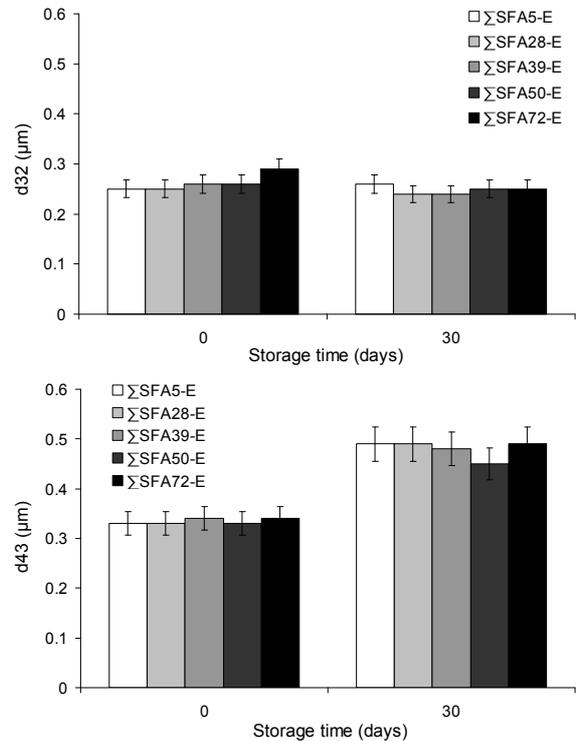


Fig. 4. Effect of the lapse of time on the average volume surface mean diameter (d_{32}) and weight mean diameter (d_{43}) of different saturation beef tallow alcoholysis products emulsions in microfluidics. SFA5-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 5% saturation; SFA28-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 28% saturation; SFA39-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 39% saturation; SFA50-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 50% saturation; SFA72-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 72% saturation.

sity(J/m^3) 차이에 기인한 것으로 추정된다. 즉 유화공정에 있어서 energy density가 높을수록 유화액 중의 지방구는 더 작게 형성되며, 따라서 고압균질기를 통한 유화는 ultrasonic processor에 비하여 energy density가 높아 유화가 더 효율적으로 이루어진다고 사료된다(27). 또한 emulsion 시료를 30일 동안 저장하였을 때 emulsion 지방구 volume-surface mean diameter(d_{32}) 변화는 0.25~0.30 μm (Σ SFA5 emulsion), 0.24~0.26 μm (Σ SFA28 emulsion), 0.23~0.26 μm (Σ SFA39 emulsion), 0.24~0.28 μm (Σ SFA50 emulsion), 0.24~0.29 μm (Σ SFA72 emulsion) 범위로 emulsion 시료 간에 변화가 크지 않았으며, weight mean diameter(d_{43})의 경우도 저장 초기(0일)에 0.33~0.34 μm 에서 저장 30일에 0.44~0.49 μm 범위로 다소 증가하였지만 emulsion 시료 간에 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서 이후의 emulsion 산화안정성 실험에는 고압균질기로 제조한 emulsion을 사용하였다.

산화안정성

고압균질기로 제조한 emulsion들을 30일간 저장하면서 hydroperoxide의 생성량을 측정된 결과를 Fig. 5에 나타내었다. Σ SFA5 emulsion의 경우 0일에 0.222 $\text{mg H}_2\text{O}_2/\text{mL}$ 를

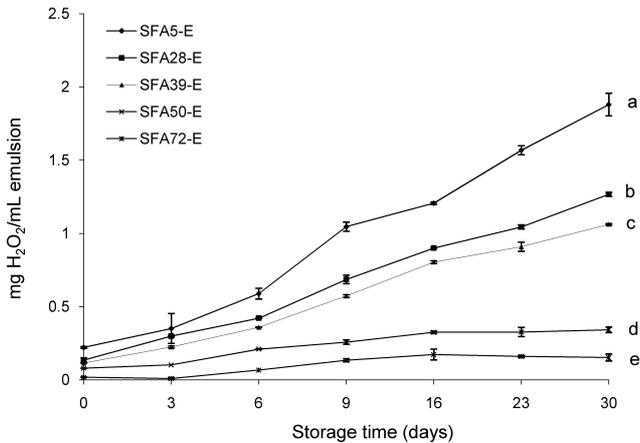


Fig. 5. Lipid peroxide formation in the emulsion. Emulsion was prepared by different saturation beef tallow alcoholysis products with 0.25% lecithin. Values are the means (\pm SD) of triplicate determinations. SFA5-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 5% saturation; SFA28-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 28% saturation; SFA39-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 39% saturation; SFA50-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 50% saturation; SFA72-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 72% saturation. ^{a-e}Values followed different letters are significantly different ($p < 0.05$).

나타냈는데 9일 후에는 1.046 mg H₂O₂/mL를 보이면서 약 5배 증가하였고, Σ SFA28과 Σ SFA39 emulsion의 경우에는 0일에 각각 0.136과 0.115 mg H₂O₂/mL를 나타내었고 9일에는 0.686와 0.573 mg H₂O₂/mL로 증가하였다. 반면 Σ SFA50과 Σ SFA72 emulsion은 0일에서 30일 동안의 hydroperoxide 함량이 0.08~0.342와 0.018~0.153 mg H₂O₂/mL를 보이며 다른 emulsion들보다 큰 변화를 보이지 않았다. 한편 30일의 hydroperoxide의 생성량은 각각 1.88(Σ SFA5), 1.267(Σ SFA28), 1.062(Σ SFA39), 0.342(Σ SFA50) 및 0.153(Σ SFA72) mg H₂O₂/mL로써 유의적 차이($p < 0.05$)를 보였고 불포화도가 높은 emulsion 시료일수록 hydroperoxide의 함량이 높아지는 것을 알 수 있었다. Fig. 6은 TBARS 값을 측정된 결과로써 9일에 Σ SFA5와 Σ SFA28은 5.337와 5.589 mg TBA/mL를 보이며 Σ SFA39(2.795), Σ SFA50(2.938) 및 Σ SFA72의 1.481 mg TBA/mL보다 높은 수치를 보였고, 23일 이후부터는 Σ SFA50과 Σ SFA72가 다른 emulsion 시료들보다 유의적으로 낮은 값을 보이며 산화 안정성이 우수하였다. Mei 등(22)의 실험결과에 의하면 농도가 같은 emulsion에서 입자크기가 작을수록 더 많은 양의 지질이 수상에 노출되므로 산화 속도가 빨라진다고 하였으나 Roozen 등(28)은 지방구 크기는 산화 속도의 영향을 받지 않는다고 하였다. 따라서 본 실험에서는 각 emulsion 시료 간에 지방구 입자크기가 서로 유사하므로 emulsion을 형성하는 유상(oil phase)의 포화도가 emulsion의 산화정도에 큰 영향을 끼친 것으로 사료되었다.

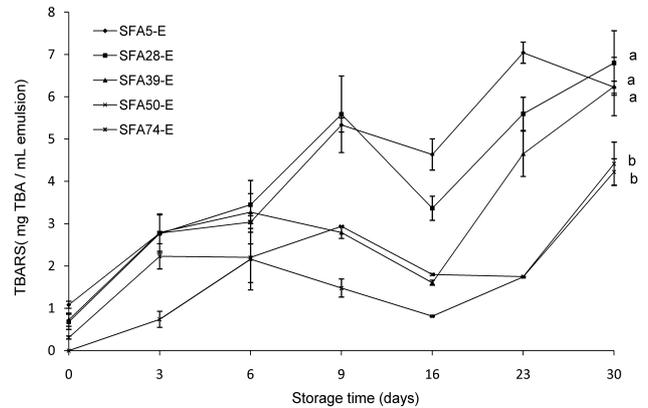


Fig. 6. Thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) values in the emulsion. Emulsion was prepared by different saturation beef tallow alcoholysis products with 0.25% lecithin. Values are the means (\pm SD) of triplicate determinations. SFA5-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 5% saturation; SFA28-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 28% saturation; SFA39-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 39% saturation; SFA50-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 50% saturation; SFA72-E, emulsion made of beef tallow alcoholysis product with 72% saturation. ^{a,b}Values followed different letters are significantly different ($p < 0.05$).

요 약

본 연구는 urea fractionation을 통하여 포화도 함량이 5.8%, 28.4%, 39.2%, 50.7%, 72.3%인 우지 alcoholysis 반응물을 제조하고, 이를 유상(oil phase)으로 ultrasonic processor 및 고압균질기를 이용하여 emulsion을 제조한 후 이에 대한 유화 안정성과 산화 안정성을 실험하였다. 유화 안정성(ES)을 관찰한 결과 ES값은 46.0(Σ SFA5), 39.5(Σ SFA28), 32.7(Σ SFA39), 32.6(Σ SFA50) 및 27.3(Σ SFA72)로써 포화도가 낮은 emulsion일수록 높은 안정성을 보였으며, Turbiscan을 이용하여 시료 emulsion의 creaming 및 clarification 특성을 조사한 결과도 ES 결과와 유사하게 나타났다. 고압균질기로 제조한 emulsion 시료에 대하여 30일간 산화특성 및 안정성 연구를 진행한 결과, 제조한 emulsion의 hydroperoxides 함량이 1.880(Σ SFA5), 1.267(Σ SFA28), 1.062(Σ SFA39), 0.342(Σ SFA50) 및 0.153(Σ SFA72)mg H₂O₂/mL로 서로 유의적 차이($p < 0.05$)를 나타내면서 불포화도가 높은 emulsion 시료일수록 hydroperoxide의 함량이 높았고, TBARS 값은 저장 30일에 6.229(Σ SFA5), 6.801(Σ SFA28), 6.246(Σ SFA39), 4.419(Σ SFA50) 및 4.226(Σ SFA72) mg TBA/mL로 Σ SFA50과 Σ SFA72가 다른 emulsion 시료보다 유의적으로($p < 0.05$) 낮은 값을 보이며 산화 안정성이 우수하였다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ

0076752012)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Nisisako T. 2008. Microstructured devices for preparing controlled multiple emulsions. *Chem Eng Technol* 31: 1091-1098.
2. Tadros T, Izquierdo P, Esquena J, Solans C. 2004. Formation and stability of nano-emulsions. *Adv Colloid Interface Sci* 108-109: 303-318.
3. Aruoma OI. 1998. Free radicals, oxidative stress and anti-oxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc* 75: 199-212.
4. McClements DJ, Decker EA. 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *J Food Sci* 65: 1270-1282.
5. McClements DJ. 2004. *Food emulsions: principles, practice and techniques*. 2nd ed. CRC press, Boca Raton, FL, USA. p 336.
6. Loh SK, Chew SM, Choo YM. 2006. Oxidative stability and storage behavior of fatty acid methyl esters derived from used palm oil. *J Am Oil Chem Soc* 83: 947-952.
7. Zhang Y, Yang L, Zu Y, Chen X, Wang F, Liu F. 2010. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chem* 118: 656-662.
8. Di Mattia CD, Sacchetti G, Mastrocola D, Pittia P. 2009. Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Res Int* 42: 1163-1170.
9. Tadros T. 2004. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. *Adv Colloid Interface Sci* 108-109: 227-258.
10. Gu YS, Decker EA, McClements DJ. 2005. Influence of pH and carrageenan type on properties of β -lactoglobulin stabilized oil-in-water emulsion. *Food Hydrocolloids* 19: 83-91.
11. Hong ST. 2008. Changes in the stability properties of methylcellulose emulsions as affected by competitive adsorption between methylcellulose and tween 20. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1278-1286.
12. Dickinson E, Williams A. 1994. Orthokinetic coalescence of protein-stabilized emulsions. *Colloids Surf A* 88: 317-326.
13. Lin CC, Lin HY, Chen HC, Yu MW, Lee MH. 2009. Stability and characterisation of phospholipid-based curcumin-encapsulated microemulsions. *Food Chem* 116: 923-928.
14. Abdullah BM, Salimon J. 2010. Optimization of process variables using D-optimal design for separating linoleic acid in *Jatropha curcas* seed oil by urea complex fractionation. *Biotechnology* 9: 362-367.
15. Jeon MS, Lee KT. 2009. Enzymatic synthesis of diacylglycerol oil from glyceryl mono-oleate and conjugated linoleic acid using a stirred-batch type reactor. *Korean J Food Preserv* 16: 246-252.
16. Kim YC, Han KH, Ryu JG. 2004. A study on the various characteristics of ultrasonic-energy-added w/o type emulsified fuel (II)-attaching importance to micro-explosion of droplet and chemical characteristics. *J Ilass-Korea* 9: 29-34.
17. Zhang H, Shin JA, Lee KT. 2011. Reduction of saturated fatty acid methyl esters of biodiesel produced from beef tallow by acetone fractionation. *J Korean Oil Chem Soc* 28: 472-481.
18. Hong ST. 2008. Competitive displacement of methylcellulose from oil-water interface by various emulsifiers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1271-1277.
19. Lima AS, Alegre RM. 2009. Evaluation of emulsifier stability of biosurfactant produced by *Saccharomyces lipolytica* CCT-0913. *Braz Arch Biol Technol* 52: 285-290.
20. Park JS, Lee YJ, Chun SS. 2010. Quality characteristics of sponge cake added with banana powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1509-1515.
21. McClements DJ. 2004. *Food emulsions: principles, practice and techniques*. 2nd ed. CRC press, Boca Raton, FL, USA. p 175-232, 461-515.
22. Mei L, McClements DJ, Decker EA. 1999. Lipid oxidation in emulsions as affected by charge status of antioxidants and emulsion droplets. *J Agric Food Chem* 47: 2267-2273.
23. McDonald RE, Hultin HO. 1987. Some characteristics of the enzymatic lipid-peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle. *J Food Sci* 52: 15-21.
24. Guillén MD, Ruiz A. 2005. Monitoring the oxidation of unsaturated oils and formation of oxygenated aldehydes by proton NMR. *Eur J Lipid Sci Technol* 107: 36-47.
25. Lee HJ, Bae JS, Lee ES, Kang HC, Lee KT, Hong ST. 2012. Emulsifying properties of surface-active substances from defatted rice bran by supercritical carbon dioxide. *Food Eng Prog* 16: 172-179.
26. Lee JY, Mok C. 2010. Dispersion stability determination of Saengshik beverage by optical methods. *Food Eng Prog* 14: 41-48.
27. Jafari SM, He Y, Bhandari B. 2007. Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *J Food Eng* 82: 478-488.
28. Roozen JP, Frankel, EN, Kinsella JE. 1994. Enzymic and autoxidation of lipids in low fat foods: model of linoleic acid in emulsified hexadecane. *Food Chem* 50: 33-38.

(2013년 2월 6일 접수; 2013년 3월 22일 채택)