

乳清과 大豆 蛋白質의 共同沈澱 特性

魏 在 峻 · 李 炯 周

서울대학교 農科大學 食品工學科

(1983년 10월 27일 수리)

Coprecipitation Characteristics of Cheese Whey and Soybean Proteins

Jae-Joon Wee and Hyong-Joo Lee

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

Abstract

As a way of utilizing cheese whey to fortify sulfur-bearing amino acids to soybean protein, whey-soybean coagulum was made from whey-soy milk mixture and optimum conditions for coprecipitation of the two proteins were determined. Mixture of whey and soymilk in 1 : 1 volume ratio was coagulated at 0.005~0.5M of CaCl_2 concentration, pH 1.5~8.0, and at 60~100°C, and absorbance at 500nm of filtrate from the coagulum was measured. Optimum conditions for the coprecipitation were 0.0125M of CaCl_2 concentration, pH 6.5~7.5, and 70~80°C which resulted in the minimum absorbance and also good physical properties of the curd.

緒 論

豆乳를 가열과 염의 첨가로 응고시켜 제조한 두부는 우리나라 식품 중 단백질의 주요 공급원으로 서 오래 전부터 널리 소비되어 왔다. 大豆 단백질은 필수 아미노산 중 라이신 함량이 비교적 높아 라이신이 부족한 곡류 단백질에 좋은 보충효과를 나타내지만 메치오닌 등 含硫黃 아미노산의 부족으로 그 질은 그다지 우수하지 못한 편이며¹⁾ 이에 대한 별다른 해결책을 찾지 못하고 있는 형편이다.

우유에서 치즈나 케이스를 제조할 때 부산물로 나오는 乳清은 우유 영양소의 절반 이상을 함유하며 필수 아미노산을 골고루 함유하고 있다.²⁾ 그러나 乳清은 수분함량이 94%에 달해 수중이나 가공이 쉽지 않고 부패하기 쉬우므로 버리는 수가 많은데 이를 폐수 처리하기 위해서는 상당한 시설과 비용을 요구하게 된다. 이러한 유청을 식품에 이용하는 방법으로는 농축 건조하여 식품성분으로 이용하거나 효모의 배양 및 발효에 사용, 또는 유당 및 유청 단백질을 분리하여 공업적으로 이용하는 것 등이 알려져 왔다.^{3~8)}

또한 유청 단백질은 良質의 동물성 단백질로서

필수 아미노산을 골고루 함유하고 있으므로 다른 식물성 단백질에 첨가시켜 식물성 단백질의 생물가를 높이는 것에 관해서도 몇 가지 연구가 보고되었다. Racotta 등은⁹⁾ pH 4.5에서 가열응고시켜 최수한 유청 단백질을 옥수수 단백질에 혼합하여 단백질 효율 2.16의 강화된 단백질을 얻었고 Rahm은¹⁰⁾ 대두 단백질에 위와 같은 방법으로 또는 超濃過로 얻은 유청 단백질을 첨가함으로써 단백질 효율의 증가 및 含硫黃 아미노산의 強化效果를 얻었다. 이와 다른 방법으로 Thompson은¹¹⁾ 유청과 대두 또는 綿實단백질 추출액을 혼합 후 pH 4.6, 온도 95°C에서 두 가지 단백질을 공동 침전시킴으로써 대두와 면실단백질의 含硫黃 아미노산 함량을 크게 높이는 효과를 얻었다. 이들 방법에서는 유청단백질의 침전에 칼슘이온을 사용치 않았으나 유청단백질의 침전은 칼슘이온과 가열에 의해서도 일어날 수 있다.^{12,13)} Hidalgo 등은¹⁴⁾ 농축 유청단백질 2% 용액을 0.03M CaCl₂ 농도에서 가열하였을 때 pH에 관계 없이 단백질의 60~70%가 침전함을 보았다.

본 연구에서는 豆乳와 乳淸의 혼합물로 부터 含硫黃 아미노산이 強化되는 두부를 얻기 위한 기초 실험으로서 大豆와 乳淸 단백질의 共同沈澱을 위한 온도, pH, 칼슘염 농도 등 最適條件을 조사하였으므로 그 결과를 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 材料 및 試藥

大豆는 시중에서 白太 품종을 구입하여 사용하였고 乳淸은 치즈 제조업체(서울우유 신갈공장)에서 얻은 甘性乳淸(sweet whey)을 4°C 이하에서 보관하며 사용하였는데 감성유청의 pH는 최초의 약 5.9에서 저장 중 약 4.5까지 떨어지므로 사용시에 豆乳의 pH인 6.6~6.7로 조정하였다. 각종 시약은 G.R. 또는 E.P. 등급의 것을 精製 없이 사용하였다

2. 大豆乳의 製造

豆乳는 원료콩 500g에 대해 증류수 5l를 사용하여 總加水量이 원료콩의 10배가 되게 하였다. 증류수 1l에 12시간 沈漬한 후 4l의 증류수를 첨가하여 마쇄한 다음 100°C에서 15분 간 증자시키고 여과하여 약 3.2l의 豆乳를 얻었다.

3. 乳淸 및 大豆蛋白質의 共同沈澱

1) 공동침전 최적조건 : 두 단백질의 침전조건

을 pH, 응고제 농도, 응고온도에 따라 달리하여 각 경우에서 얻어진 순물을 여과지(Whatman No.41)로 여과하여 여액의 흡광도를 500nm에서 측정하였다. 혼탁도가 높은 것일수록 흡광도가 높으며 가용성 물질이 더 많고 침전량은 적다고 가정하였다.

2) 공동침전 영향요소

① 유청·두유의 혼합비율 : 유청과 대두유를 부피비 1:1로 혼합하여 응고제의 농도, 혼합물의 pH, 그리고 응고온도에 따른 공동침전 최적조건 실험을 행하였다. 유청의 pH는 두유와 혼합 직전 3N NaOH를 사용하여 두유의 pH와 같은 6.6~6.7로 조정하였다.

② 응고제 : 응고제로서는 여러가지 칼슘염 중에서 용해도가 높아 농도실험에 적합한 염화칼슘을 사용하였다. 유청, 두유, 또는 1:1 혼합물을 8개의 250ml 비이커에 200ml씩 넣고 항온수조에 넣어 내용물의 온도를 80°C로 유지하였다. 각 비이커에 든 내용물을 저으면서 1.5M CaCl₂ 용액을 가하여 CaCl₂의 최종농도가 각각 0.005~0.5M 이 되게 한 다음 커드 형성이 완전히 될 때까지 방치했다. 약 20분 후 여과포로 여과한 후 압착하지 않고 3~4시간 배수시키고 나서 각각의 무게를 측정하거나 각 순물을 여과지(Whatman No. 41)로 다시 여과하여 500nm에서 흡광도를 측정하였다.

③ pH의 영향 : 유청과 두유의 1:1 혼합물 200ml씩을 13개의 250ml 비이커에 넣고 세계 교반하면서 1N HCl 또는 NaOH를 가하여 pH를 각각 1.5~8.0으로 조정하였다. 항온수조에서 혼합물의 온도를 80°C로 올린 후 앞 실험에서 얻은 염화칼슘의 최적농도인 0.0125M이 되도록 1.5M CaCl₂를 가하여 20분간 응고시킨 후 흡광도를 측정했다.

④ 온도의 영향 : 적당한 커드를 얻을 수 있는 중성 pH(6.5~7.5)에서 1:1 혼합물의 온도를 60, 70, 80, 90, 100°C로 각각 조절한 후 1.5M CaCl₂를 가하여 칼슘농도가 0.0125M이 되게 하고 각 온도에서 20분간 유지시켜 응고시켰다. 앞에서와 같은 방법으로 여액의 흡광도를 측정하였다.

4. 乳淸 및 豆乳의 分析

전고형분은 Mojonnier 방법으로,¹⁵⁾ 粗脂肪은 Chloroform-methanol 추출법으로¹⁶⁾ 측정하였다. 粗蛋白質은 micro-Kjeldahl 방법으로¹⁷⁾ 분석하였으며 蛋白質 係數는 대두단백질 5.71, 乳淸 6.38,

유청과 두유 혼합물은 6.04를 사용하였다. 환원당은 Luff-Schoorl의 방법으로¹⁹⁾ 1N 염산 가수분해 없이 정량하였고 全糖은 가수분해 후 측정하였다.

結果 및 考察

1. 乳清과 豆乳의 組成

乳清과 豆乳의 一般成分을 분석한 결과는 표 1에 나타나 있다. 전고형분 함량은 유청과 두유에서 각각 5.7, 5.8%로 비슷하였으나 그 조성에서는 큰 차이를 보였다. 즉 유청은 두유 보다 조단백과 조지방 함량이 크게 낮은 대신 환원당이나 전당의 함량은 높았다. 두유의 응고시 형성되는 커드는 주로 단백질과 지방으로 이루어지므로 이들의 함량이 낮은 乳清은 두유와의 혼합비율이 높아질수록 커드의 收率은 낮아지게 될 것이다. 유청의 환원당은 거의 대부분이 乳糖의 형태로 존재하며 일반적으로 성숙된 콩에는 환원당의 함량이 극히 낮은 것으로 알려졌으나¹⁸⁾ 본 실험에 사용된 두유 중에는 0.2%의 환원당이 검출되었다.

Table 1. Composition of cheese whey and soy milk (% w/w)

Components	Cheese whey	Soy milk
Moisture	94.2	94.3
Total solid	5.8	5.7
Crude protein	0.88	3.0
Crude fat	0.59	1.3
Reducing sugar	3.9	0.20
Total sugar	3.9	0.95
Ash	0.44	0.48

2. 共同沈澱 最適條件

1) 응고제의 종류: Tsai¹⁹⁾는 두부 응고제로 gypsum($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), CaCl_2 , glucono- δ -lactone, "bittern" 등을 써서 두부를 제조한 후 응고제 별로 두부의 물리·화학적 제반 성질을 조사하였다. 그에 따르면 같은 제조 공정으로 제조한 두부라도 응고제가 다르면 교질학적 성질, 맛 및 풍미가 달라지며 이 중 gypsum을 사용한 두부의 제품성질이 가장 우수하였다고 한다.

Lu 등은²⁰⁾ CaSO_4 이외의 여러 칼슘염 즉 CaCl_2 , calcium lactate, calcium acetate, CaCO_3 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, calcium gluconate 등을 사용

하여 두부를 제조한 후 그 품질을 비교하였다. 일반적으로 CaSO_4 는 두부 응고제로서 널리 사용되고 있으나 불용성이므로 이 염을 첨가하는 때는 기술이 필요하고 대두 커드의 품질이 때로 변하는 문제가 있으므로 Lu 등은²⁰⁾ 두부 응고제로서 calcium acetate 또는 CaCl_2 를 사용하는 것이 유리하다고 하였다. Calcium acetate와 CaCl_2 는 가용성이므로 첨가하기 쉽고 대두유와 균일하게 잘 섞여 균일한 품질의 커드를 얻을 수 있고 사용되는 염의 양도 CaSO_4 에 비해 절반 이하이면 되기 때문이다.

Wang은²¹⁾ CaSO_4 와 MgSO_4 를 비교하였다. CaSO_4 는 단백질을 천천히 응집시켜서 매끄러운 겔 같은 침전물을 형성하는 반면 MgSO_4 는 양털 같은 침전물을 즉각적으로 형성하며 결국 CaSO_4 에 의한 두부가 수분함량이 높고 더 부드러운 조직을 갖는다고 하였다.

2) 염화칼슘 농도에 따른 침전량 및 침전상태의 변화: 유청과 대두유의 1:1 혼합물을 80°C에서 염화칼슘의 농도를 변화시켜 응고시킨 후 그때 얻어진 응고물의 중량을 측정한 결과는 그림 1에 나타나 있다. 그림에서 커드의 무게는 염화칼슘의 농도에 따라 큰 차이가 없는 것으로 나타나 있다. 이것은 낮은 농도에서 얻어진 커드의 경우 응고가 불안정하여 압착을 하면 여과포 밖으로 응고물의 일부가 새어 나가므로 압착을 하지 않고 3~4시간 자연 배수만 하여 무게를 측정하였기 때문이다. 일단 칼슘이온에 의해 커드를 형성하고 나면 매우 약한 조직상태에서도 수분량이 많은 겔

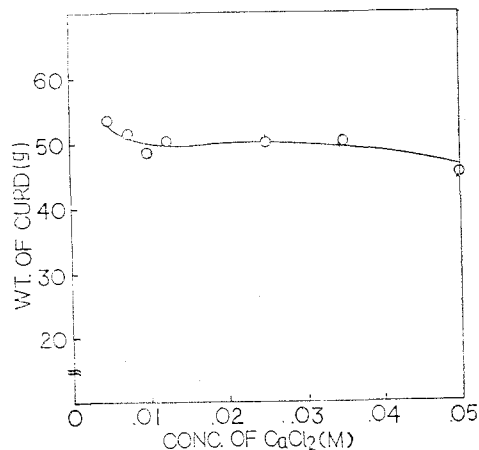


Fig. 1. Weight of non-pressed curds obtained from 200ml of 1:1 whey-soymilk mixture at different concentration of coagulant.

상태를 유지해 압착을 하지 않는 한 응고물의 증량은 큰 차이가 없었다. 따라서 염화칼슘의 농도에 따른 정확한 침전량의 변화를 알아보기 위해 침전물의 증량 대신 순물의 흡광도를 500nm에서 측정하였다.

3) 염화칼슘 농도에 따른 순물 흡광도의 변화 : 유청과 대두 단백질의 공동침전에 필요한 칼슘이온의 최적농도를 알아보기 위해 80°C로 가열된 豆乳, 乳清, 그리고 乳清·豆乳의 1:1 혼합물을 염화칼슘의 여러 농도에서 응고시켜 그 때 얻어진 순물을 여과지로 여과한 후 흡광도를 측정할 결과는 그림 2에 나타나 있다. 흡광도는 실험에 따라 그 절대값은 변하였으나 그 경향은 대체로 일치하였다. 유청만을 응고시켰을 경우에는 염화칼슘의 농도가 0.0125M까지 증가함에 따라 흡광도가

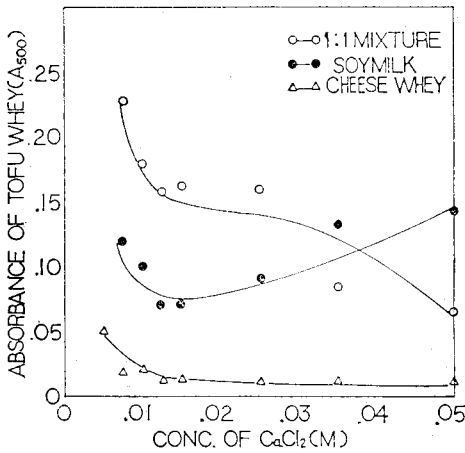


Fig. 2. Effect of calcium concentration on the coagulation of various mixtures for whey-soybean tofu.

감소하여 유청단백질이 더 잘 응고됨을 알 수 있었는데 그 이상의 칼슘 농도에서는 거의 변화가 없었다. 大豆乳를 응고시켰을 경우에는 염화칼슘의 농도 0.0125~0.015M에서 최소값을 보여 응고 최적농도로 나타났고 그 이상과 그 이하에서는 흡광도가 높아 응고가 불완전함을 알 수 있었다. 칼슘농도 0.015M 이상에서는 일단 응고된 단백질이 일부 다시 용해되어 흡광도를 높이는 것으로 생각되었다. 유청과 대두유 1:1 혼합물의 응고에서는 0.0125M까지는 흡광도가 감소하고 0.0125M에서 0.025M까지는 거의 변화가 없다가 그 이상의 농도에서는 약간 감소하였다. 흡광도가 0.025M 이상에서 약간 감소하는 원인은 더 조사

해 볼 필요가 있으리라 생각된다. 혼합물 응고의 경우 0.0125M 이상의 농도에서 얻어진 커드는 조직이 모두 치밀하고 결착력도 좋았으므로 응고에 필요한 염화칼슘 최적농도는 0.0125M로 정하였다. Obara는²²⁾ 대두유 응고의 경우 CaSO₄ 0.015~0.02M이 가장 좋다고 하였는데 이는 본 실험에서와 비슷한 결과이다.

4) pH의 영향 : 그림 3은 유청과 대두 단백질의 공동침전에 대한 영향을 알아보기 위해 유청과 대두유 1:1 혼합물의 pH를 1.5~8로 각각 조정하여 80°C로 가열하고 0.0125M CaCl₂ 농도에서 응

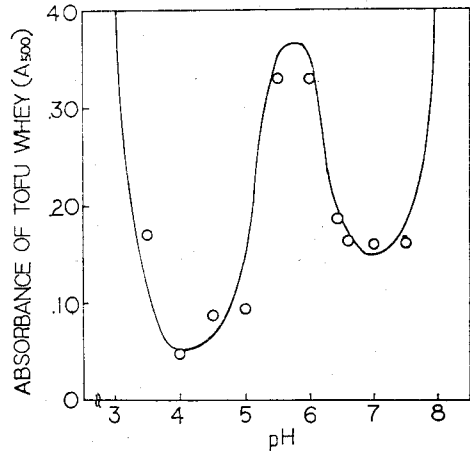


Fig. 3. Effect of pH on the coprecipitation of whey and soybean proteins in 1:1 mixture of whey and soymilk.

고시켜 얻은 순물의 흡광도를 측정할 결과이다. pH 1.5, 2.5, 8에서는 응고제를 가하여도 전혀 응고가 일어나지 않아 흡광도 측정이 불가능하였다. 그림에서 보면 pH 4.0과 7.0 부근에서 곡선의 최저점을 보여 응고가 잘 일어남을 알 수 있다. 대두 단백질과 유청 단백질의 등전점대인 pH 4~5.5에서 순물의 흡광도가 가장 낮았지만 이 때 형성되는 미세 응집물들은 서로 결착되지 않아 커드를 만들지 못하였다. pH 3.5~6 사이의 혼합물은 응고제를 가하기 전에 80°C로 가열하는 동안 微細凝集物들이 이미 형성되어 순물과 분리되기 시작했다으며 80°C에서 응고제를 가하여도 더 이상의 커드형성은 일어나지 않았다. 이것은 산과 가열에 의한 단백질의 응고현상으로 Rocotta⁹⁾, Rham¹⁰⁾, Thompson¹¹⁾이 유청 단백질을 회수하거나 유청과 식물성 단백질을 공동침전시킬 때 사용한 조건과 같다.

Smith와 Circle은²³⁾ 대두 단백질이 pH 4.2에서 최소의 용해도를 나타내 두부 제조의 최적 pH가 4~5일 것으로 예상하였다. 또한 Bau등은²⁴⁾ 脫脂大豆乳를 원심분리, 산, 또는 鹽으로 처리하여 대두 단백질을 회수하였는데 탈지대두유를 70°C로 유지하면서 CaCl₂ 농도를 0.03M로 하여 응고시킬 때 최적 pH는 4~5라고 하였다. 이와 같은 결과는 그림 3의 좌측 최저점과 같은 경향이라 하겠다. 그러나 단순한 침전이 아니고 커드를 형성시키려 할 경우 좋은 조직의 커드는 중성 pH 부근에서 얻어졌는데 pH 6.5~7.5 사이의 혼합물은 가열 중 응집현상이 없었고 가열 후 응고제를 첨가하였을 때 공동침전이 잘 되었다. 따라서 유청과 대두 단백질을 공동침전시켜 재패식 두부와 유사한 조직의 커드를 얻기 위해서는 pH 6.5~7.5에서 응고시키는 것이 가장 좋은 것으로 결론지을 수 있다.

5) 온도의 영향 : 그림 4는 1 : 1 혼합물의 pH를 6.5~7.5에 두고 가열온도를 60~100°C로 변화시킨 다음 CaCl₂ 농도는 모두 0.0125M로 하여 응고시킨 후 얻어진 순물의 흡광도를 측정한 것이다. 60°C에서는 아주 약한 조직의 커드가 형성되었는데 70~80°C에서는 조직감이 좋은 커드가 형성되었다. 90°C에서 형성된 커드는 경질이고 조직이

이²⁵⁾ 80°C를 大豆乳 응고온도로 사용한 것과 비슷한 결과이다.

3. 기타 共同沈澱 特性

乳清 蛋白質로서 아미노산 강화하기 위해 大豆 단백질과 공동침전시킬 경우에는 단순히 최대 침전량을 얻는 것 뿐만 아니라 그 때 얻어지는 커드의 조직감도 고려하여야 한다. 왜냐하면 두부 등 여러 식품에서 物性은 營養, 風味 등과 함께 매우 중요한 요소이기 때문이다. 치즈의 부산물로 얻어지는 乳清은 殺菌등의 처리를 하지 않을 경우 pH가 계속 떨어져 5.0 이하에 이르러 지는데 이같은 酸性乳清을 豆乳와 혼합해 가열할 경우 대두 단백질의 정상적인 겔 형성을 방해하며 부스러지기 쉬운 조직의 커드를 형성하게 될 것이다. 이같은 조직은 저온저장 되었거나 상온의 유청과 일단 냉각된 두유를 혼합할 때에도 형성되어 결착력과 탄력성이 적은 커드가 된다. 따라서 유청과 두유의 공동침전은 방금 제조된 뜨거운 두유에다 pH를 중성으로, 온도를 70~80°C로 조정해 놓은 유청과 혼합하여 실시해야 한다.

抄 錄

大豆 단백질에의 含硫黃 아미노산 強化源으로서 乳清단백질을 사용하기 위한 목적으로 유청과 豆乳의 혼합물로 부터 응고물을 만들고 乳清 및 大豆 단백질의 공동침전 최적조건과 특성을 조사하였다. 유청과 두유는 1 : 1 부피비로 혼합한 다음 응고제인 CaCl₂의 농도를 0.005~0.5M, pH1.5~8.0, 온도를 60~100°C로 조정하여 응고시키고 이 때 얻어지는 커드 濃液의 흡광도가 가장 낮은 조건을 결정하였다. 공동침전 최적조건은 여액의 흡광도가 낮고 그 때 얻어지는 커드의 조직감이 좋은 때로 하였다. 공동침전 최적조건은 CaCl₂ 농도 0.0125M, pH6.5~7.5, 온도 70~80°C로 나타났다.

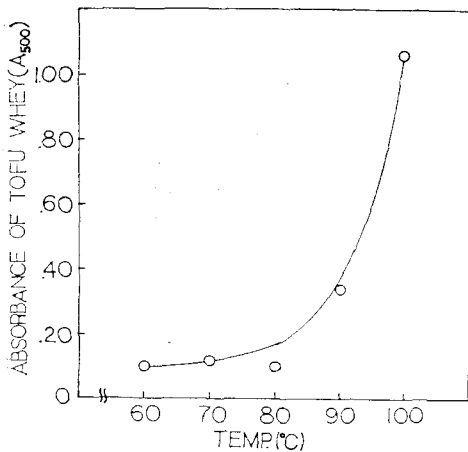


Fig. 4. Effect of temperature on the coprecipitation of whey and soybean proteins in 1 : 1 mixture of whey and soymilk.

몹시 거칠었으며 100°C에서는 용액이 비등하기 때문에 커드 형성은 불가능하였다. 따라서 최적 응고온도를 70~80°C로 결정하였는데 이것은 Tsai 등이 72°C를¹⁸⁾, Lu등은 70°C를,²⁰⁾ 그리고 Wang

參考文獻

1. Wolf, W.J.: Food Technol.26(5) : 44(1972).
2. Whitney, R.M., Brunner, J.R., Ebnor, K.E., Farrell, H.M., Josephson, R.V., Morr, C.V., and Swaisgood, H.E.: J. Dairy Sci. 59 : 795 (1976).
3. Kosikowski, F.V.: J. Dairy Sci. 62 : 1449

- (1979).
4. Mather, B.N., and Shahani, K.M.: *J. Dairy Sci.* 62 : 99(1979).
 5. Nickerson, T.A.: *J. Agri. Food Chem.* 27 : 672(1979).
 6. Ferreti, A. and Chambers, J.V.: *J. Agri. Food Chem.* 27 : 687(1979).
 7. Richert, S.H.: *J. Agri. Food Chem.* 27 : 665(1979).
 8. Kosikowski, F.V.: *Cheese and Fermented Milk Foods.* F.V. Kosikowski & Assoc. Brooktondale, N.Y. (1978).
 9. Rocotta, V., Bourges, H., Navarrette, A., and Zuckermann, J.: *J. Agri. Food. Chem.* 27 : 668(1979).
 10. Rham, O.D., Rovaart, P.V.D., Bujard, E., Mottu, F., and Hidalgo, J.: *Cereal Chem.* 54(2) : 238(1977).
 11. Thompson, L.U.: *J. Food Sci.* 43 : 790(1980).
 12. Zittle, C.A., and Dellamonica, E.S.: *J. Dairy Sci.* 39 : 514(1955).
 13. Zittle, C.A. Dellamonica, E.S., Rudd, R.K. and Custer, J.H.: *J. Amer. Chem. Soc.* 79 : 4661(1957).
 14. Hidalgo, J. and Gramper, E.: *J. Dairy Sci.* 60 : 1515(1977).
 15. Atherton, H.V. and Newlander, J.A.: *Chemistry and Testing of Dairy Products.* Avi. Westport, CT. (1977).
 16. Osborne, O.R. and Voogt, P.: *The Analysis of Nutrients in Foods.* Academic Press. London (1981).
 17. Horwitz, W. (ed) : *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.* AOAC. Wash, D.C.(1980).
 18. MacMasters, M.M., Woodruff, S. and Klass, H.: *Ind. Eng. Chem.* 13 : 471(1941).
 19. Tasi, S.J., Lan, C.Y., Kao, C.S. and Chen, S.C.: *J. Food Sci.* 46 : 1734(1981).
 20. Lu, J.Y., Carter, E. and Chung, R.A., J. *Food Sci.* 45 : 32(1980).
 21. Wang, H.L.: *Food Technol.* 21 : 797(1967).
 22. Obara, T.: *USDA Final Tech. Report.* Public Law 480, Project UR-All-(40)-26. (1968).
 23. Smith, A.K. and Circle, S.J.: *Ind. Eng. Chem.* 30(1414)(1938).
 24. Bau, H.M., Poullain, B., Beaufraud, M.J. and Debry, G.: *J. Food Sci.* 43 : 106(1978).