

醱酵乳製品에서의 쓴맛 펩타이드

서울대학교 農科大學 李 炯 周

I. 序 論

우리 俗談에 “말 많은 집은 장맛도 쓰다”라는 것이 있다. 이는 물론 不必要한 말을 너무 많이 하지 말라는 뜻이겠으나 實際로 쓴맛이 나는 간장이나 된장은 우리 周圍에서 가끔 볼 수 있는 것이다. 또한 쓴맛은 醬類食品에서만 나타나는 것이 아니라 蛋白質을 含有한 모든 醱酵食品에서 생길 수 있으며 치즈 등 醱酵食品도 例外는 아니다.

乳製品의 醱酵過程을 概略적으로 살펴 보면 우선 乳糖은 加水分解되어 glucose와 galactose로 되며 이들은 다시 lactic acid, CO₂, ethanol, acetic acid, diacetyl, acetaldehyde 등으로 代謝된다.

牛乳脂質은 lipase, esterase 등에 의해 加水分解되어 脂肪酸을 形成하고 이들은 다시 β oxidation, decarboxylation, reduction 過程을 거쳐 β keto

acid, methyl ketones, alcohol 등으로 代謝된다. 쓴맛 펩타이드는 蛋白質 分解過程 中에 形成되는데 그림 1은 醱酵乳製品에서의 蛋白質 代謝를 要約해 놓은 것이다.

즉 케이스인 등의 牛乳蛋白質은 凝乳酵素나 乳酸菌이 分泌하는 protease에 의해 펩타이드로 分解되며 이들은 다시 여러 微生物로부터의 peptidase에 의해 아미노산으로 分解되고 代謝되는 것이다. 이 때 蛋白質 分解가 잘못 調節되면 쓴맛 펩타이드가 많이 形成되거나 蓄積되어 製品에 쓴맛을 주게 되는 것이다. 모든 醱酵製品에서는 風味가 重要視되기 때문에 쓴맛은 品質에 큰 影響을 미칠 수가 있으며 따라서 쓴맛 펩타이드의 特性이나 形成機作, 調節方法 등을 아는 것은 重要的 일이라고 하겠다.

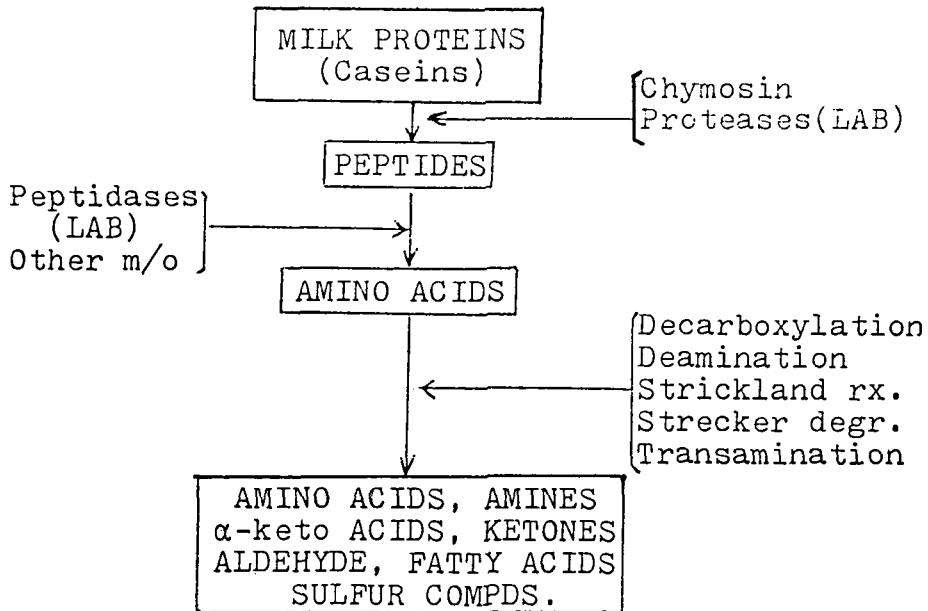


그림 1. 醱酵乳製品에서의 蛋白質 分解過程

II. 쓴맛 펩타이드의 特性

쓴맛 펩타이드는 分子量이 200~3,000 程度로서 이에 含有된 아미노산의 수는 2-30가량 된다. 그러나 이 정도 分子量의 펩타이드가 모두 쓴맛을 내는 것은 아니다. 쓴맛 펩타이드의 定義에 대하여 모든 사람의 意見이 一致되는 것은 아니나 일반적으로 valine, leucine, isoleucine, proline, tyrosine, phenylalanine과 같은 疎水性 아미노산의 含量이 많다는 것에는 異論이 없다.^{7, 17, 23)} 그의 pyrrolidonecarboxylic acid나¹⁹⁾ pyroglutamic acid가^{1, 23)} 쓴맛을 내는 物質이라고 보고된 예도 있다.

쓴맛 펩타이드에는 確實히 疎水性 아미노산의 含量이 많으므로 펩타이드를 構成하고 있는 아미노산의 平均疎水度를 알면 펩타이드의 쓴맛 여부를 알 수 있을 것이다. 이 때 어느 한 아미노산의 疎水度는 그 아미노산의 물과 에타놀 등에서의 溶解度 값에서 計算할 수 있다.²⁰⁾ 예를 들어 페닐알라닌의 물과 에타놀에서의 溶解도가 각각 N_{H_2O} 와 N_{EtOH} 이라면 페닐알라닌 1몰을 水溶液에서 에타놀 溶液으로 移轉시키는데 필요한 자유에너지는 식(1)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\Delta F_t = -RT \ln \frac{N_{EtOH}}{N_{H_2O}} \quad (1)$$

위 식에서 ΔF_t 는 移轉 자유에너지이다. 또한 하나의 아미노산은 骨格에 해당하는 glycine 構造와 나머지 側鎖(side chain)로서 構成되어 있으므로 식(2)가 成立된다.

$$\Delta f_{tr} = \Delta F_t - \Delta f_t \cdot \text{glycine} \quad (2)$$

식(2)에서 Δf_{tr} 은 側鎖의 移轉 자유에너지, ΔF_t 는 아미노산의 移轉 자유에너지, $\Delta f_t \cdot \text{glycine}$ 은 glycine의 移轉 자유에너지이다. 표 1은 위와 같이 計算된 각 아미노산의 移轉 자유에너지 값을 보여 주고 있다.

또한 n 개의 아미노산을 가진 펩타이드의 平均疎水度(Q)는 식(3)과 같이 나타낼 수 있다.

$$Q = \frac{\sum \Delta f_{tr}}{n} \quad (\text{cal} \cdot \text{res}^{-1}) \quad (3)$$

(res : amino acid residue)

Ney¹⁰⁾는 平均疎水度 값이 1300 cal·res⁻¹미만인 펩타이드는 쓴맛을 내지 않고 1400 cal·res⁻¹ 이상이면 쓰며 펩타이드 내에서의 아미노산 結合順序는 쓴맛에 影響을 주지 않는다고 提案하였는데 이것은 「네이

TABLE I
Hydrophobicity of the side chains of amino acids

	After Tanford ΔF_t (cal)	After Nozaki and Tanford ΔF_t (cal)
Tryptophan	3000	3400
Isoleucine	2970	
Tyrosine	2870	2300
Phenylalanine	2650	2500
Proline	2600	
Leucine	2420	1800
Valine	1690	1500
Lysine	1500	
Methionine	1300	1300
Alanine	730	500
Arginine	730	
Histidine		500
Glutamic acid	550	
Aspartic acid	540	
Threonine	440	400
Serine	40	-300
Glycine	0	0
Asparagine	-10	
Glutamine	-100	

TABLE II
Average hydrophobicities of several proteins

	Q (cal res ⁻¹)
casein	1605
zein	1480
soy protein	1540
meat protein	1300
collagen	1280

의 法則]이라고도 알려져 있다.

표 2는 몇 가지 蛋白質의 平均疎水度 값을 나타낸 것이다.¹⁵⁾ 표에 의하면 casein, 옥수수 蛋白質인 zein, 大豆 蛋白質이 1400 cal·res⁻¹ 이상의 값을 가져 加水分解 時 쓴맛 펩타이드를 形成할 可能性이 많음을 보여주고 있다.

現在까지 아미노산의 結合順序가 알려진 쓴맛 펩타이드는 200여 種類가 되며 이들은 天然物에서 分離되거나 人工적으로 合成된 것 들이다. 이들 중 平均疎水度 값이 1300 cal·res⁻¹ 미만인 것은 몇 개에

不過한 것으로 나타나” 네이의 法則은 大部分 잘 들어 맞는 것을 알 수 있다. 케이신의 分解에서 生成된 쓴맛 펩타이드도 30여 種類로 나타나 있는데 疎水性 아미노산의 含量이 많은 β 케이신에서 특히 많이 由來되고 있다.^{2, 4, 9, 22)}

Ⅲ. 쓴맛 펩타이드의 形成 機作

쓴맛 펩타이드의 形成에 대하여는 몇 가지 機作이 提示되어 있는데 여기서는 그 중 세 가지만 紹介하기로 한다.

첫째는 Czulak⁴⁾의 提案으로서 그에 의하면 쓴맛 펩타이드는 주로 레닛에 의해 케이신이 分解될 때 生成되는데 乳酸菌 中 “non-bitter” Streptococci 는 이 펩타이드를 分解해 쓴맛을 없애지만 “bitter” strain은 이들을 分解하지 못해 쓴맛을 낸다는 것이다. 그 후 이 假說은 몇 사람들에 의해서도 支持를 받았으며 특히 Sullivan과 Jago^{16, 19)} 는 non-bitter strain의 境遇 쓴맛 펩타이드를 分解하는 pyrrolidone peptidase가 있는데 비해 bitter strain의 경우는 그렇지 않다고 하였다. 그러나 그 후 pyrrolidone peptidase가 bitter와 nonbitter strain 모두에서 發見되었으며 또한 α_s -케이신을 chymosin 만으로 處理한 境遇에도 쓴맛 펩타이드가 生成되지 않거나 반대로 케이신을 乳酸菌 만으로 處理한 때에도 쓴맛이 생기는 등이 機作에 의해서 說明되지 못하는 예가 보고 되었다.

둘째 假說은 Gordon과 Speck⁶⁾ 에 의한 것으로서 쓴맛 펩타이드는 레닛이 아니라 乳酸菌에 의해서 生産된다고 하는 것이다. 즉 이들에 의하면 케이신이 레닛에 의해 分解될 때 生成되는 펩타이드는 高分子量의 것으로서 쓰지 않으며 이들 펩타이드가 다시 乳酸菌 protease에 의해 分解될 때 一部가 쓴맛 펩타이드로 된다는 것이다. 따라서 케이신을 레닛 없이 bitter strain만으로 處理해도 쓴맛이 생길 수 있으며 bitter strain이라는 것은 蛋白分解力價가 높은 菌이라는 것이다. 一般的으로 bitter strain에서 蛋白分解力이 높은 것은 잘 알려져 있다.

세번째는 Lowrie 등¹³⁾ 의 意見으로서 쓴맛 펩타이드가 乳酸菌에 의해 生成되기는 하나 strain은 별로 重要한 役割을 하지 않는다는 것이다. 즉 bitter나 nonbitter 등 어떤 strain이건 溫度, 種菌濃度, pH, 박테리오파지의 汚染 등 여러 醱酵條件에 의

해 生育이 旺盛하게 되면 蛋白分解가 잘 일어나 그만큼 쓴맛 펩타이드의 生成이 促進된다는 것이다. 이 같은 事實은 몇 가지 實驗結果에서 잘 나타나고 있다.¹¹⁾

이상의 몇 가지 假說을 綜合적으로 살펴보면 쓴맛 펩타이드를 形成하는데 關与하는 모든 條件 즉 모든 蛋白分解酵素, 이들 酵素를 生産하는 乳酸菌 이들 乳酸菌 生育에 영향을 주는 加工條件 등이 쓴맛 펩타이드 形成에 作用한다고 볼 수 있겠다.

Ⅳ. 쓴맛 形成의 影響要素

쓴맛 形成에 影響을 끼치는 여러 要素를 乳酸菌의 strain, 乳酸菌 數를 좌우하는 加工條件, 蛋白分解 酵素로 나누어 살펴보기로 한다.

치즈 製造時 使用되는 Streptococcus cremoris 나 Str. lactis 등의 쓴맛 形成의 傾向에 따라 bitter와 nonbitter strain으로 나뉘어지는 것은 잘 알려진 사실이며 이와 같은 種菌 自体의 特性은 쓴맛 形成에 影響을 끼치는 主要 原因이라고 알려져 있다.⁵⁾ 乳酸菌種은 또한 酸生成 速度에 따라 fast, medium, slow strain으로 나뉘어질 수 있는데 一般的으로 fast strain은 쓴맛을 形成하는 傾向이 많다. 大概의 fast strain이 蛋白分解力이 높으며 그에 따라 初期 生育에 必要한 遊離 아미노산을 많이 生産해 菌 增殖을 빠르게 하고 酸生成 또한 促進함을 생각하면 fast strain이 쓴맛을 쉽게 生成할 수 있음은 잘 알 수 있다. 즉 菌 生育을 促進시키는 蛋白分解力이 쓴맛 펩타이드 또한 많이 生成시키는 것이다.

또한 乳酸種菌의 增殖 또는 菌數에 影響을 미치는 모든 要素가 醱酵液중의 蛋白分解力을 變化시키게 되고 따라서 쓴맛 펩타이드의 形成도 影響받게 됨을 쉽게 짐작할 수 있다. 이렇게 菌數에 影響을 끼치는 條件에는 培養溫度, 接種 菌濃度, 박테리오파지 汚染 與否, 非種菌 微生物 存在 與否, 培養液 中の 鹽濃度 등이 包含되며^{10, 13)} 이들 條件은 實際로 乳製品 醱酵時 쓴맛을 줄이는데 應用되고 있다.

蛋白質을 分解하여 펩타이드를 生成하는 것은 結局 chymosin, 乳酸菌 protease, 기타 蛋白分解 酵素들이다. 이 蛋白分解 酵素에 대한 것은 특히 大豆 등 蛋白 加水分解物의 쓴맛 펩타이드에 關한 實

驗에서 많이 研究되었다. 즉 여러가지 蛋白 加水分解物 製造 時 使用되는 基質 또는 原料, 使用酵素, 分解處理 時의 溫度, pH, 塩 濃度 등에 따라 쓴맛 펩타이드의 量이 크게 달라진다. 乳製品의 境遇에는 레닛의 濃度나 種類, 牛乳 protease의 力価 등이 이에 關与하는 要素가 된다. 一般적으로 醱酵 時間이 길면 쓴맛은 줄어들는데 이는 生成된 쓴맛 펩타이드가 더 分解될 可能性도 많아지고 그와 함께 生成된 여러 風味成分이 쓴맛을 中和하기 때문으로 생각된다.

V. 쓴맛 펩타이드의 減少 方法

쓴맛의 減少는 처음 부터 쓴맛 펩타이드의 形成이 적게 되도록 하거나 일단 生成된 펩타이드를 分解 또는 除去 함으로서 이를 수 있다. 乳酸種菌을 使用할 境遇에는 可能한 한 nonbitter strain을 쓰거나 bitter와 nonbitter strain을 混合해 使用함으로서 쓴맛을 줄일 수 있다.¹²⁾ 또한 培養 또는 醱酵條件을 調節하는 것으로도 쓴맛 形成을 抑制할 수 있다. 一般적인 條件으로는 加工溫度를 약간 올려 菌生育을 억제하거나¹³⁾ pH나 NaCl의 濃度를 약간 높여 protease의 活性을 줄이는 方法, 등이 있다. 또 레닛 使用量을 줄임으로서 쓴맛 펩타이드 形成을 줄일 수도 있다.¹⁰⁾

일단 生成된 쓴맛 펩타이드를 줄이는 方法에 대해서도 몇 가지가 試圖되었다. 쓴맛 펩타이드가 주로 疎水性 아미노산으로 되어 있으므로 疎水 chromatography가 그 除去에 利用될 수 있는데 특히 大豆나 魚蛋白 加水分解物에서의 쓴맛 펩타이드 제거시 hexyl sepharose¹¹⁾나 phenol formaldehyde resin¹⁴⁾이 試圖되었으며 그 應用 展望은 밝다고 할 수 있다. 또한 特異 抗体를 利用한 immunoadsorbent affinity chromatography도 可能性이 檢討되었는데 쓴맛펩타이드를 吸着 除去 後 다시 溶出시키는데 있어서의 어려움이 指摘되었다.²¹⁾

VI. 參考文獻

- Buzov, I.P., Zvyagintsev, V.I. 1973. Trudy Vsesoyuznyi Nauchno. Issle dovatel, skii In stitut masloedel,mpo O Syrodelnoi Promys hlennosti 11:61 (Food Sci. Technol. Abstr. 9:109 1564, 1977)
- Clegg, Kim., Lim, C. L., manson, W. 1974. J. Dairy Sci. 41:283.
- Creamer, L.K., Lawrence, R.C., Gilles, J., Humphries, M.A. 1970. W.Z.J. Dairy Sci. Technol. 5:35.
- Czulak, J. 1959. Aust. J. Dairy Technol 14:177.
- Emmons, D.B., McGuyan, W.A., Elliot, J.A., morse, P.M. 1962. J. Dairy Sci. 45:332.
- Gordon, D.F., Speck, M.L. 1965. Appl. Microbiol. 13:537.
- Guigoz, Y., Solms, J. 1976. Chem. Senses Flavor 2:71.
- Hamilton, J.S., Hill, R.D., Van Leeuwen, H. 1974. Agr. Biol. Chem. 38:375.
- Huber, L., Klostermeyer, H. 1974. Milchwissenschaft 29:449.
- Jagro, G.R. 1974. Austr. J. Dairy Technol. 29:94.
- Lalasisdis, G., Sjosberg, L.B. 1978. J. Agr. Food Chem. 26:742.
- Lawrence, R.C., Pearce, L.E. 1972. Dairy Indus. 37:73.
- Lowrie, R.J., Lawrence, R.C., Pearce, L.E., Richards, E.L. 1972. N.Z.J. Dairy Sci. Technol. 7:44.
- Ney, K.H. 1971. Z. Lebensm. Unters-Forsch. 147:64.
- Ney, K.H. 1972. Z. Lebensm. Unters-Forsch. 149:321.
- Roland, J.F., Matlis, D.L., Kiang, S., Alm, W.L. 1978. J. Food Sci. 43:1491.
- Schalinated, E., Behnke, U. 1975. Nahrung 19:447.
- Sullivan, J.J., Gago, G.R. 1970. Aust. J. Dairy Technol. 25:111.
- Sullivan, J.J., Jago, G.R. 1970. Aust J. Dairy Technol. 25:141.
- Tanford, C. 1962. J. Am. Chem. Soc. 84:4240.
- Van Leeuwen, H.J. 1978. Agr. Biol. Chem. 42:1375.
- Visser, S., Slangen, K.J., Hup, J. 1975. Neth. Milk Dairy. J. 29:319.
- Zhraniya, R.M., Piranishrili, A.V., Zryag intsev, V.I. 1974. Voprosy Pitaniya 4:79 (Food Sci. Technol. Abstr. 7:19 72, 1975).