

## 牛乳蛋白質의 乳化特性

韓國야쿠르트研究所  
李 守 遠

### I. 緒 論

단백질을 食品素材로서 여러가지 食品에 응용하려고 할 때 제일 먼저 문제되는 것이 營養價이지만, 동시에 機能性도 食品素材로서의 적합성을 결정하는데 중요한 要因이다. 즉, 단백질이 가지고 있는 乳化性, gel 形成能, 氣泡性 등을 고려하지 않으면 안된다. 이러한 機能性中에서도 乳化性, 즉「脂質을 小口徑의 脂肪球의 形態로 분산시켜 emulsion 상태로 하는 性質」은 脂質을 함유한 食品을 제조할 경우 극히 중요하며 어떻게 하여 단백질의 乳化性을 향상시킬 것인가에 대하여 지금까지 많은 연구가 되어 왔다. 이와 같은 단백질의 乳化特性이 단백질의 化學的, 構造的 性質과 어떤 關係를 가지고 있는가에 대하여 지금까지 많은 研究結果, 단백질의 乳化性은 그 溶解性<sup>1)</sup>, 表面疎水性<sup>2-7)</sup>, 分子形態<sup>8)</sup>, 界面에서의 變性<sup>9)</sup> 등 여러가지 構造的 因子와 相關되어 있는 것으로 보고되고 있다. 한편, 단백질의 고차 구조나 안정성도 乳化性의 큰 要因으로서 지적되어 왔으나, 이러한 구조적 인자들이 정말로 중요한 것인지, 어느 정도 乳化性 發現에 기여하는지 아직 불명확한 점이 많이 남아 있다.

本稿에서는 그 構造가 비교적 잘 究明되어 있는 牛乳 casein을 이용한 연구를 예로 들어「蛋白質의 構造와 乳化特性과의 關係」에 대하여 생각해 보고자 한다.

### II. 乳脂肪球皮膜의 特性

牛乳는 대표적인 天然의 乳化食品이다. 유방에

서 分泌된 直後の 牛乳중의 脂肪은 직경 0.1 ~ 10  $\mu$  정도의 脂肪球로서 분산되어 있다.<sup>10)</sup> 이러한 分散狀態는 乳腺細胞內에서 만들어진 지방이 細胞 밖으로 방출될 때 細胞膜에 의해 둘러싸여 짐으로써 이루어지며<sup>11)</sup> 이 膜成分(Milk Fat Globule Membrane; MFGM)이 천연의 乳化劑로서 牛乳중에서의 脂肪球의 安定化에 기여하고 있는 것으로 생각된다. 脂肪球皮膜의 構造에 대해서는 지금까지 여러학자에 의해 많은 모델이 제시되어 왔지만 현재는 대부분 Fig. 1과 같은 構造를 가지고 있는 것으로 추정하고 있다.<sup>12)</sup> 즉 乳腺細胞內에서 지방의 주위에 磷脂質이나 세포질 유래의 단백질이 흡착되고 이것이 분비될 때 細胞膜(outer membrane)에 의해 둘러싸여진다. 細胞膜에는 磷脂質, 糖脂質 외에 여러가지 단백질, 또는 당단백질이 存在하고 있다. 이러한 물질들이 脂肪球의 凝集을 방해하고 있는 것으로 생각된다. 天然의 脂肪球는 여러가지 物理的, 化學的 特性을 보여준다. 예를 들면, 냉각시키면 脂

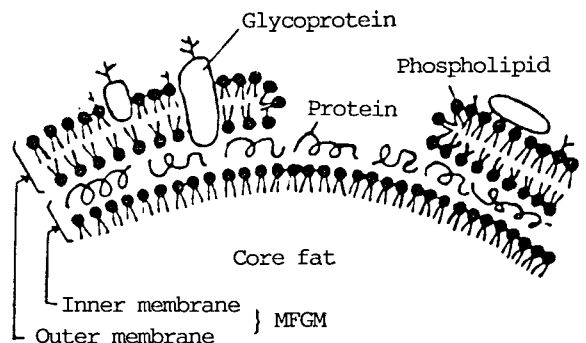


Fig. 1. A model of MFGM structure

肪球가 凝集하여 creaming 현상을 나타내기도 하고,<sup>13)</sup> churning 조작에 의해 相이 轉換되어 버터粒을 형성하는 性質, 또 MFGM 상태로는 lipase의 작용을 받기 어려운 성질<sup>14)</sup> 등은 MF GM의 이와 같은 構造 및 구성성분과 밀접하게 關係하고 있다.

### III. 乳製品의 乳化狀態

天然의 牛乳에 比較해서 加工처리된 牛乳中에서의 脂肪球의 安定化는 脂肪球皮膜에만 의존하는 것이 아니다. 均質化處理를 받은 시유(market milk)의 脂肪球는 細分化되어 그 주위에는 MFGM 이외에 casein(micelle)이나 웨이 단백질(whey protein)이 다량 흡착하여 새로운 乳化狀態를 만들어 脂肪球를 安定화시키게 된다. 脫脂粉乳와 버터오일을 섞어 만들어진 還元牛乳의 경우, 脂肪球는 牛乳中의 단백질에 의해 둘러싸여 乳化狀態를 이룬다. 이와 같이 均質화된 牛乳

의 脂肪球가 대단히 安定하다는 것은 우유중의 casein이나 whey protein이 매우 우수한 乳化機能을 가지고 있다는 것을 말해준다. 또, 요쿠르트와 같은 釀酵乳 중에서도 casein이 等電沈澱物과 같은 형태로 脂肪球表面에 吸着하여<sup>15)</sup> 제품의 특성에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

Process cheese 제조에 있어서도 casein 또는 그 加水分解物이 乳化安定作用을 하고 있다는 보고도 있다(Mulder).

Mulder와 Walstra<sup>16)</sup>는 天然牛乳中의 脂肪球皮膜, 均質化乳皮膜, 合成脂肪球皮膜의 乳化에 기여하는 인자를 제품별로 圖式化하였다(Fig. 2). 즉, 이러한 脂肪球의 安定化에는 casein(micelle 또는 submicelle), unfolding한 protein, MFGM, Lipoprotein 등 여러 乳蛋白質이 여러 가지 형태로 기여하고 있다고 생각된다. 이상과 같이 乳蛋白質은 乳化라고 하는 現象과 밀접하게 關係되어 있을 뿐만 아니라, 食品素材로서 실제로 널리 이용되고 있기 때문에 단백질의 乳化特

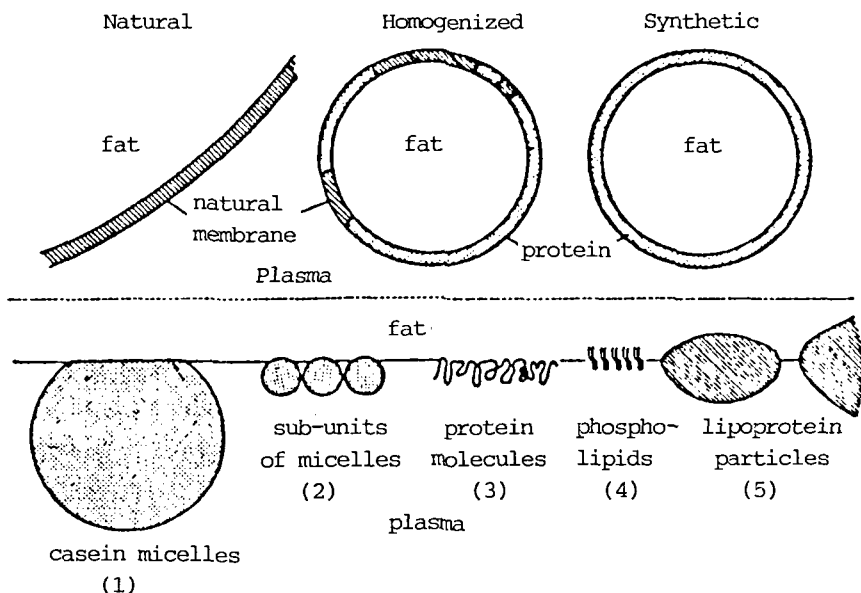


Fig. 2. Surface layers of natural, homogenized and synthetic fat globules. The upper row shows the main differences between the three types, highly schematic and not to scale. The lower row illustrates possible structural elements of a surface layer. Surface layers may involve: other materials; intermediate configurations, e. g. between (1) and (2) or (3); mixed layers; and overlaying, e. g. (3) over (4)

성을 연구하는데 좋은 對象이라고 말할 수 있다.

#### IV. Casein의 構造와 乳化性

乳蛋白質은 casein과 whey protein으로 크게 나눌 수 있다. 總乳蛋白質 중에서 casein은 약 80~85%를 차지하며 19세기 전반에 비교적 純粹하게 分離된 단백질의 하나이다. casein의 主要成分으로는  $\alpha_{s1}$ -,  $\beta$ -,  $k$ -,  $\gamma$ -casein이 알려져 있고 總아미노산 配列은 이미 決定되어 있다.<sup>17-20)</sup> 모두 磷蛋白質이며,  $k$ -casein만은 분자중에 약 5%의 糖을 함유하고 있다.<sup>21)</sup>  $\alpha_{s1}$ -casein은 그 濃度, 이온강도 등에 따라 解離·會合하며,  $\beta$ -casein은 溫度에 따라 解離·會合하는 성질을 갖고 있다.  $k$ -casein은 -s-s-結合間의 會合성을 가지고 있다. 또한,  $\alpha_{s1}$ -,  $\beta$ -casein은  $Ca^{++}$  이온에 대하여 感受성을 갖고 있다. 우유 중에서 casein은 각각 單位分子로 存在하는 것이 아니고 casein間, casein과 Ca等 무기염 등과의 相互作用에 의해 平均 約 100 nm의 球狀의 casein micelle이라고 불리우는 粒子를 形成하고 있다.

##### 1. $\alpha_{s1}$ -casein의 乳化性

$\alpha_{s1}$ -casein은 量의 으로 가장 많이 함유되어 있는 casein으로 우유 casein의 약 40%를 차지하고 있다.  $\alpha_{s1}$ -casein은 5개(A, B, C, D, E)의 유전적 변이체가 확인되어 있지만,<sup>22)</sup> Ho-Istein乳에서는 B-variant가 가장 많은 것으로 報告되고 있다.<sup>23)</sup>  $\alpha_{s1}$ -casein의 1次構造는 이미 결정되어 있으며,<sup>17)</sup> s-s結合을 가지고 있지 않고, rigid한 高次構造를 갖고 있지 않는

flexible한 단백질이라는 것이 알려져 있다.

$\alpha_{s1}$ -casein은 199개의 아미노산으로 구성된 分子量 약 23,000의 단백질로 하나의 興味있는 特色은 1次構造狀에 현저한 兩親媒性構造를 보여주고 있는 것이다(Fig. 3).  $\alpha_{s1}$ -casein의 N-terminal側과 C-terminal側의 2개소에 疎水性殘基가 현저하게 편재되어 있으며, 그 중간부분에 親水性殘基가 集中되어 있다. 특히 이 N-terminal側의 疎小性領域은 Kaminogawa 등<sup>24)</sup>의 연구에 의하면  $\alpha_{s1}$ -casein의  $Ca^{++}$  침전성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.  $\alpha_{s1}$ -casein이 가지고 있는 이와 같은 兩親媒性構造가 乳化特性에 어떤 意味를 가지고 있는가는 매우 흥미있는 일이다.  $\alpha_{s1}$ -casein은 pH 6.4에서 pepsin을 작용시키면 23番과 24番 殘基 사이가 특이적으로 절단되어,  $\alpha_{s1}$ -CN(f1~23) peptide와  $\alpha_{s1}$ -CN(f24~199) peptide가 생성된다.<sup>25)</sup> 또, pH 9.0에서 papain으로 短時間 처리하면 145番과 146番 殘基 사이가 특이적으로 절단되어,  $\alpha_{s1}$ -CN(f1~145) peptide가 생성된다. 이러한 方法으로 얻어진 N-terminal 또는 C-terminal部分을 잃어버린  $\alpha_{s1}$ -casein과 원래의  $\alpha_{s1}$ -casein의 乳化성과 脂肪球表面에의 吸着性等을 비교함으로써 兩 terminal部分의 重要性에 대하여 몇 가지 事實이 밝혀졌다.<sup>26)</sup>

$\alpha_{s1}$ -casein과  $\alpha_{s1}$ -CN(f24~199)peptide를 1:1(w/w)의 比率로 혼합하여 乳化시킨 후 emulsion중의 脂肪球表面에 吸着한 成分을 조사한 결과,  $\alpha_{s1}$ -CN(f24~199)는  $\alpha_{s1}$ -casein에 비해 吸着성이 低下하였다. 반면, C-terminal部分을 결손한  $\alpha_{s1}$ -CN(f1~145)는 지방구 표면의 흡착성이 상승하는 경향을 보였다.<sup>26)</sup>

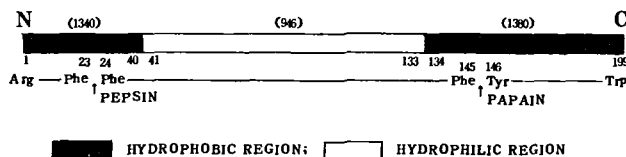


Fig. 3. Amphiphilic structure of  $\alpha_{s1}$ -casein. Values in parentheses are the average hydrophobicities of the polypeptide regions. The arrows indicate the positions hydrolyzed by pepsin and papain

이러한 결과로부터  $\alpha_{s1}$ -casein의 脂肪球表面에의 吸着에는 N-terminal 疎水性領域이 重要한 역할을 하는 것으로 생각된다. 다음에는  $\alpha_{s1}$ -casein의 N-terminal 領域의 乳化機能에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 精製한  $\alpha_{s1}$ -casein과  $\alpha_{s1}$ -CN(f24~199)의 乳化性を 乳化活性(Emulsifying Activity), 乳化容量(Emulsion Capacity), Creaming Stability 등의 指標를 이용하여 調査한 결과, Table 1에서 보는 바와 같이 N-terminal 領域의 제조에 의해 모든 指標

가 低下하였다. 이상과 같은 결과로부터  $\alpha_{s1}$ -casein의 N-terminal 疎水性 領域이 乳化性이나 脂質結給性에 매우 重要한 部位(site)하는 것이 인정되었다.  $Ca^{++}$  이온 存在下에서  $\alpha_{s1}$ -casein의 凝集이나 치즈 속성중의 body 형성에  $\alpha_{s1}$ -casein의 N-terminal 領域이 重要한 역할을 하고 있다는<sup>20)</sup> 것을 생각하면  $\alpha_{s1}$ -casein의 兩親媒性 構造는 여러가지 機能 特性과 밀접하게 關係하고 있는 것으로 생각된다.

Table 1. Emulsifying Properties of  $\alpha_{s1}$ -Casein and  $\alpha_{s1}$ -CN(f24~199) Peptide

	emulsifying activity, m <sup>2</sup> /g	emulsion capacity, mL of oil / mg of protein	creaming stability, %
$\alpha_{s1}$ -casein	32.8 ± 2.1	0.76 ± 0.06	100
$\alpha_{s1}$ -CN(f24-199)	26.6 ± 0.3	0.70 ± 0.01	39.4 ± 1.4

## 2. $\beta$ -casein의 乳化性

$\beta$ -casein은  $\alpha_{s1}$ -casein 다음으로 牛乳중에서 다량 含有되어 있는 casein이다. 지금까지 7개의 유전적 변이체 존재가 확인되어 있으나,<sup>20)</sup> Holstein 乳의 경우에는 A' variant가 가장 많다. 1次構造上에  $\alpha_{s1}$ -casein보다 더 현저한 兩親媒性 構造를 가지고 있으며, 疎水性 領域과 親水性 領域의 구분이 확실하다(Fig. 4).

$\beta$ -casein은 209개의 아미노산으로 구성된 分子量 約 24,000의 단백질로 構造上의 특징은 Fig. 4와 같이 N-terminal 側の 1~43 殘基 사이에 (-) 荷電을 띠는 아미노산이 集中되어 있는 반면 C-terminal 側の 136~209 殘基 사이에 疎水性 殘基가 集中되어 있는 兩親媒性 단백질이다.  $\beta$ -casein은 chymosin으로 加水分解하면 疎水性 部分인 C-terminal 側の 190~209, 166~209, 140~209 殘基가 떨어져 나간

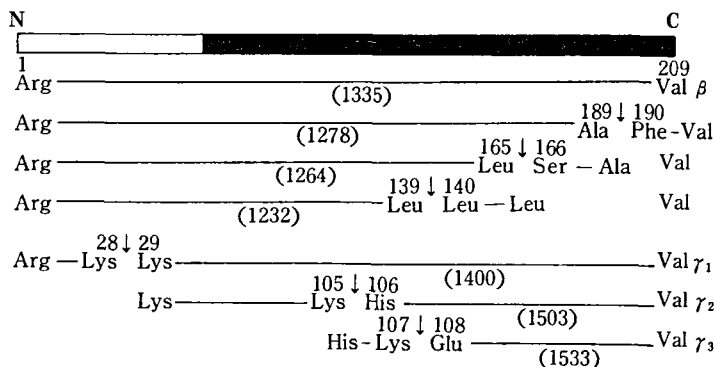


Fig. 4. Amphiphilic structure of  $\beta$ -casein and its degradation products.

$\beta$ -CNA' (f1~189),  $\beta$ -CNA' (f1~165),  $\beta$ -CNA' (f1~139) peptide가 된다(이들을 이전에는  $\beta$ -I, II, III casein이라고 불렀다). 또 milk protease (plasmin)로加水分解하면 親水性部分인 N-terminal 側の 1~28, 1~105, 1~107 殘基를 잃은  $\gamma_1$ -,  $\gamma_2$ -,  $\gamma_3$ -casein(편의상舊名稱을 사용)이 된다. 이러한 N- 또는 C-terminal 領域을 잃어버린 peptide를 分離하여 調査하므로써  $\beta$ -casein의 乳化性, 脂質吸着性에 관한 정보를 얻을 수 있을 것이다.

Takahashi<sup>28)</sup>는  $\alpha_{s1}$ -casein의 경우와 같은 실험을  $\beta$ -casein을 이용하여 행한 결과,  $\beta$ -casein의 脂肪球表面에의 吸着성은 C-terminal 側을 제거하면 저하하지만, N-terminal 側을 제거하여도 저하하지 않았다. Ito와 Nakanishi<sup>29)</sup>도  $\gamma$ -casein이 脂肪球表面에 吸着하기 쉽다는 사실을 報告하였다. 이와 같은 결과로부터  $\beta$ -casein의 脂肪球表面에의 吸着에는 C-terminal의 疎水性 領域이 중요한 역할을 하고 있는 것으로 추정되며,  $\alpha_{s1}$ -casein의 경우와 같이  $\beta$ -casein의 기능 특성도 그 兩親媒性 構造와 밀접하게 관계하고 있는 것으로 생각된다. 그러나,  $\beta$ -casein의 表面疎水性이나 乳化特性에 미치는 C-terminal 疎水性 領域의 영향은  $\alpha_{s1}$ -casein에서와 같이 명확한 결과는 얻어지지 않았다.<sup>28)</sup> 한편, Watanabe等<sup>29-31)</sup>은 여러가지 단백질의 研究를 통해 親水性 蛋白質에 人工적으로 합성한 疎水基를 plastein 反應을 이용하여 導入한 결과, 단백질의 乳化性이 현저히 개선된다는 것을 보고하였다. 또, Hauque等<sup>32)</sup>은 大豆蛋白質에 acyl化 反應으로 팔미틴酸을 共有

結合시켜 얻어진 親油性 蛋白質이 좋은 機能特性을 나타내는 것을 보고하였다. 이러한 修飾蛋白質에서는 導入된 疎水基가 emulsion의 脂質結合 등에 關여한다고 생각되지만 casein과 같은 天然의 兩親媒性 蛋白質은 天然 그대로도 oil/water 界面에서 위와 類似한 거동을 나타낸다.

## V. 結 論

이상에서 살펴본 바와 같이 casein의 여러가지 機能特性은 여러 構造의 要因에 의존하고 있는 것 같다. 그러나, 단백질의 構造는 전부 각각 다르므로 그 構造的 性質을 일률적으로 표현하는 것은 거의 불가능하다고 생각된다. 그러므로 단백질의 구조와 機能特性의 相關關係를 간단한 圖式으로 표현하는 것은 아직까지 불가능할지 모른다. 그렇지만 여기에서 말씀드린 바와 같이 casein의 경우에는 一部の 疎水性 領域이 乳化特性 發現에 매우 중요한 역할을 하고 있다는 몇 가지 Dada가 얻어졌다. 이 現象은 疎水性 領域이 어찌다가 casein 分子의 表面에 存在하였기 때문에 나타난 것인지, 그렇지 않으면 1次構造上에 疎水性 아미노산이 偏在하여 疎水性 領域을 만들 때에는 어떠한 단백질에서도 普遍的으로 관찰되는 現象인가? 또는 casein이 rigid한 고차구조를 가지고 있지 않은 特殊한 단백질이기 때문인가등 지금부터 해결하지 않으면 안될 문제점이 많이 남아 있다. 그러나, 앞으로의 계속적인 研究에 의해 많은 문제점이 해결됨과 동시에 새로운 type의 機能性 食品의 開發도 기대할 수 있다고 생각한다.

## VI. 引用文獻

1. Crenwelge, D.D., C.W. Dill, P.T. Tybor and W.A. Landmann. 1974. J. Food Sci. 39:175.
2. Li-Chan, E., S. Nakai and D.F. Wood. 1984. J. Food Sci. 49:345.
3. Nakai, H. 1983. J. Agric. Food Chem. 31;676.
4. Keshavarz, E. and S. Nakai. 1979. Biochim. Biophys. Acta. 576;269.
5. Kato, A. and S. Nakai. 1980. Biochim. Biophys. Acta. 624;13.
6. Nakai, S. 1983. J. Agric. Food Sci. 31;676.
7. Kato, A., N. Tsutsui, N. Matsudomi, K. Kobayashi and S. Nakai. 1981. Agric. Biol. Chem. 45;2755.
8. Carpenter, J.A. and R.L. Saffle. 1965. Food Technol. 19;1567.
9. Phillips, M.C. 1977. Chem. Ind. 5;170.

10. Walstra, P. 1969. *Neth. Milk Dairy J.* 23;111.
11. Patton, S. and T.W. Keenan. 1975. *Biochim. Biophys. Acta.* 415;273.
12. Kanno, C., 1980. *Jap. Ani. Sci.* 51;75.
13. Brunner, J.R., 1974. "Fundamentals of Dairy chemistry" 2nd ed. by Webb, B.H. et al. The AVI Pub. Co., p.486.
14. International Dairy Federation, A-Document No.43, Montreux. 1979. p.486.
14. International Dairy Federation, A-Document No.43, Montreux, 1979. p.1.
15. Mulder, H. and P. Walstra, 1974. "The Milk Fat Globule" CAB, Farnham Royal, p.163.
16. Mulder, H. and P. Walstra. 1974. "The Milk Fat Globule" CAB, Farnham Royal, p.282.
17. Mercier, J.C., F. Grosclaude and B. Ribadeau-Dumas. 1971. *Eur. J. Biochem.*, 40:323.
18. Grosclaude, F., M.F. Mahè and B. Ribadeau-Dumas. 1973. *Eur. J. Biochem.* 40;323.
19. Ribadeau-Dumas et al. 1972. *Eur. J. Biochem.* 25;505.
20. Mercier, J.-C., G. Brignon and B. Ribadeau-Dumas. 1973. *Eur. J. Biochem.* 35;222.
21. Whitney, R.M. et al., 1976. *J. Dairy Sci.* 59;795.
22. Eigel, et al., 1984. *J. Dairy Sci.*, 67; 1599.
23. Grosclaude, F., P. Joudrier, and M.-F. 1974. *Mahe, Ann. Genet. Sel. Anim.*, 6; 305.
24. Kaminogawa et al. S., K. Wamauchi and C.H. Yoon. 1980. *J. Dairy Sci.* 63:223.
25. Shimizu, M. et al. 1983. *J. Agric. Food Chem.* 31;1214.
26. Takahashi, T., 1982. Master Thesis, Tokyo Univ. p.21.
27. Creamer, L.K. and N.F. Olson. 1982. *J. Food Sci.* 47;631.
28. Ito, S. and T. Nakanishi. 1974. *Nippon Nôgeikagaku Kaishi.* 48;239.
29. Watanabe, M., A. Shimada and S. Arai. 1981. *Agric. Biol. Chem.* 45;1621.
30. Watanabe, M. et al., 1981. *J. Food Sci.* 46;1467.
31. Watanabe, M., N. Fujii and S. Arai. 1982. *Agric. Biol. Chem.* 46;1587.
32. Hauque, Z., T. Matoba and M. Kito. 1982. *J. Agric. Food Chem.* 30;481.