

## 효소수식에 의한 단백질 계면활성제의 개발

김 세 권

부산수산대학교 교수

### 1. 머 리 말

지구상에는 많은 종류의 가식성 단백질이 존재하지만 이중에서 실제로 이용되고 있는 것은 매우 한정되어 있으며, 오히려 미이용 단백질이 더 많다. 그 주된 원인은 이들 단백질이 식품가공특성, 관능특성을 결정하는 중요한 기능이 결여되어 있기 때문이다. 기능특성이 좋지 않은 단백질의 이용도를 확대하기 위해서는 그 단백질의 화학적 구조를 수식하는 변형기술이 필요하다. 영양학적으로 중요한 고품질단백질 조차도 보다 부가가치가 높은 제품으로 수식될 여지가 있고, 수식된 단백질은 보다 더 우수한 기능적 성질을 갖는 식품을 만들기 위한 원료 성분이나 첨가물도 될 수 있다.

근년 식품단백질의 계면특성이 크게 주목을 받고 있다. 단백질의 계면활성은 그 기능특성과 관련된 매우 중요한 매개변수(parameter)에 기인된다. 일반적으로 고도의 계면활성을 갖는 단백질은 몇가지 종류(type)의 특이적인 친수성·소수성 구조를 갖고 있다(그림 1)

카제인 성분은 이같은 단백질의 좋은 예가 될 수 있다.  $\alpha$ s1-카제인은 그 자체가 지방(oil)을 잘 유화시키는 계면활성을 갖고 있다. 그러나 카제인에 C-말단을 절단하는 효소를 작용시켜 수식하면 전형적인 양친매성 구조(그림 1-A)로 되어 더욱 높은 계면활성을 나타낸다.  $\beta$ -카제인은 본래부터 명확한 양친매성구조(그림 1-B)로 되어 있어 그 구조가 유화활성을 나타내는 주된 원인이 되고 있다. 한편  $\kappa$ -카제인의 특징은 원래부터 친수성·소수성 구조(그림 1-C)로 되어 있다.

화학수식의 기술로서 사용되고 있는 것으로는 친수성 단백질에 긴사슬 알킬을 부가 시킴으로써 소수성을 높인다든지 또는 당과 그 유연물질(類緣物質)을 부가시켜 소수성 단백질의 친수성을 높이는 방법이 있다. 이와 같이 수식을 하면 대개 그림 1-A와 그

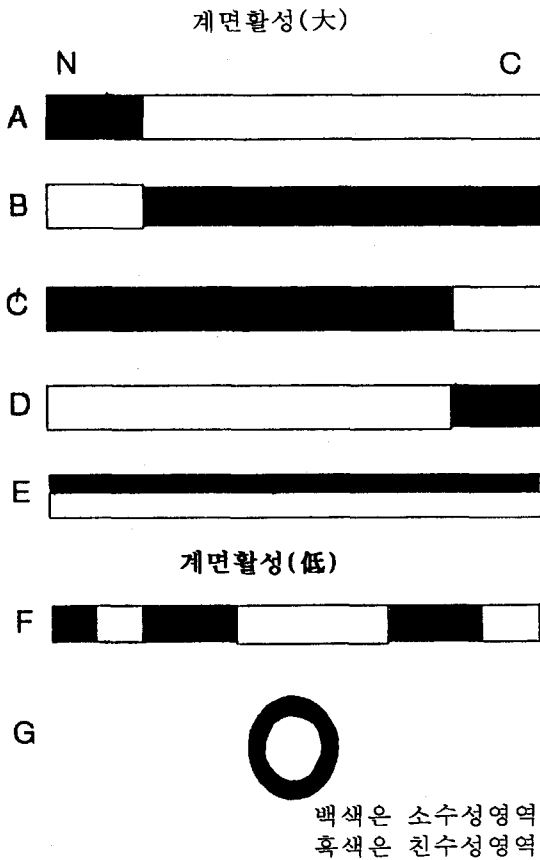


그림 1. 계면활성이 높은 단백질(A~E)과 계면활성이 낮은 단백질(F, G)구조의 모식도

림 1-D와 같은 구조 및 그림 1-B와 그림 1-C와 같은 구조를 형성한다.

생물조직내에서도 이에 관한 흥미있는 예가 있다. 생물세포의 대다수가 세포의 내측표면에 작용하는 preproprotein 또는 preprotein을 함유하고 있다. 화학적으로 보면 이들 단백질은 N말단구조를 구성하는 소수성 신호펩티드(signal peptide)배열을 갖고 있다(그림 1-A). 전형적인 친수성·소수성 구조를 갖는 물질의 예로 statherin을 들 수 있다. Statherin은 인산칼슘염류가 과포화상태로 녹아 있는 사람의 타액중에 존재하는 작은 단백질이며, 인산칼슘결정이 형성될 때 그 결정의 표면에 흡착하

여 과포화상태를 안정하게 유지시키는 기능을 한다. Statherin은 그림 1-C와 같은 구조를 갖는 것으로 추측되지만 그 기능에 대해서는 친수성 부위를 고상으로 흡착시켜 소수성 부위를 액상으로 노출시키는 것으로 생각된다. 더욱 흥미있는 예는 겨울철 극지(極地)의 어류 혈액중에 존재하는 일련의 부동성 당단백질(antifreezing glycoprotein : AFGP)이다. 이들 단백질의 분자량은 서로 다르지만 분자 중에 공통적으로 Ala-Ala-Thr의 반복된 구조를 갖고 있다. 이들 단백질 중 고분자인 AFGP-4는 분자량이 17,000 dalton이며, 용액상(融液狀)의 수상(水相)과 결정상의 빙상과의 계면에 흡착하여 얼음 결정의 성장을 저해한다. 이와 같이 AFGP로 인하여 극지어류는 약 2°C의 해수중에서도 동사하지 않는다. AFGP-4는 특이한 친수성·소수성 구조(그림 1-E)를 갖는 것으로 알려져 있고, 이 구조가 계면 흡착기능을 나타낸다.

대부분의 단백질은 그 분자내에 복수의 친수성 영역과 소수성 영역을 갖고 있다(그림 1-F). 일반적으로 이같은 단백질은 명확한 양친매성 구조(그림 1-A~E)를 갖는 단백질보다 계면활성은 낮다. 또 구상단백질은 친수성 영역이 밖으로 노출되어 있고, 소수성 영역은 안으로 모여 있는 형태의 구조(그림 1-G)를 나타낸다. 이러한 단백질이 변성되면 소수성 영역의 일부가 노출되어 계면활성을 나타내는 경우가 있다. 효소로 구상단백질을 부분 가수분해시켜도 이같은 형태의 입체구조변화가 일어난다.

본고에서는 plastein반응을 이용하여 그림 1-D와 같은 형태의 계면활성 단백질의 제조기술에 대하여 소개하고자 한다.

## 2. Plastein반응기구

1886년 Dalewsky는 펩톤(peptone)의 농축액 및 오브알부민(ovalbumin)의 가수분해액에 pepsin을 소량 가함으로써 불용성 단백질과 같은 물질이 형성됨을 발견하였다. 이불용성 물질을 Sawjalow에 의해 Plastein이라 하였고,



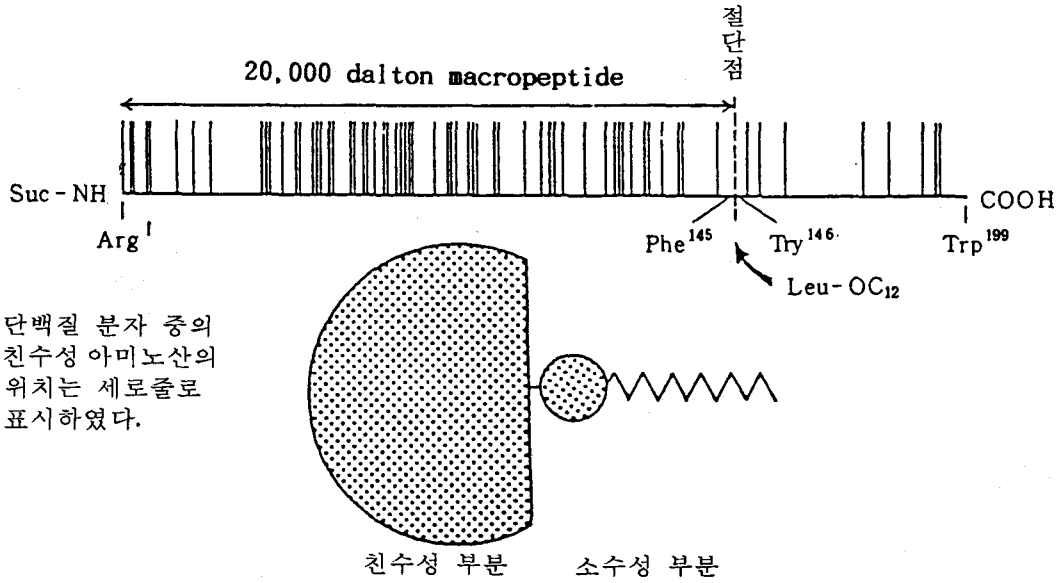


그림 2. 숙시닐화  $\alpha_{S1}$ -카제인의 효소수식에 의한 L-leucine dodecylester의 도입과 양친매성 구조를 가진 20,000dalton macropeptide의 생성

노산인 leucine-n-alkylester를 친수성 단백질에 공유적으로 도입시켜 높은 기능특성을 갖는 효소수식단백질을 조제할 수 있다.

친수성 단백질로서 젤라틴을 사용할 경우 효소수식젤라틴(enzymatically modified gelatin: EMG)조제의 최적조건은 다음과 같다. 젤라틴 농도는 33%(W/W), L-leucine ethylester로부터 L-leucine-n-dodecylester까지의 L-leucine-n-alkylester 농도는 0.1M/100g 젤라틴, papain 농도는 1g/100g 젤라틴, 용매는 leucine ethylester가 도입된 EMG-2에 대해서는 2mM 2-mercaptoethanol함유 1M 탄산완충액(pH 9), EMG-4~12에 대해서는 2mM 2-mercaptoethanol함유 아세톤과 1M 탄산완충액(pH 9)혼합액 (20:80), 반응온도는 37°C 반응시간은 15분, 반응정지는 염산처리, 정제는 유수투석 및 C<sub>10</sub>이상의 에스테르에 대해서는 따뜻한 아세톤 또는 dichloromethane으로 세정한다.

이상의 조건에서 조제한 EMG의 분자량은 2,000~40,000 dalton이며, 평균분자량은 7,500 dalton 정도이다. Alkanol 함량 및 leucine 증가량은 EMG 7,500g에 대하여

각각 1.1~1.2몰 및 1.4~1.5몰 이었다. 즉 친수성 단백질인 젤라틴에 소수성 알킬기가 결합된 단백질상 계면활성제였다.

기능특성은 소수성기가 도입됨으로써 현저히 향상된다(그림 3). Leucine alkylester

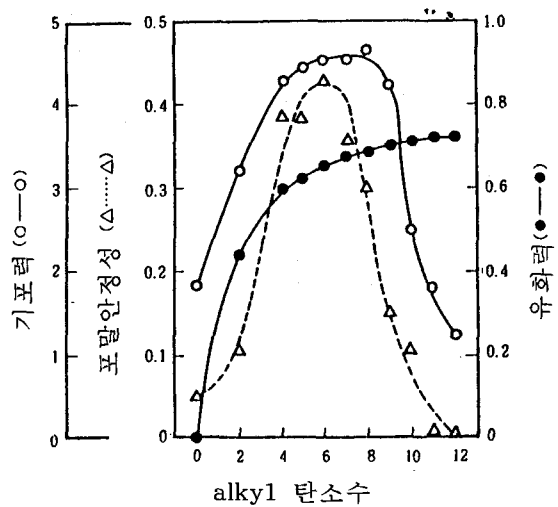
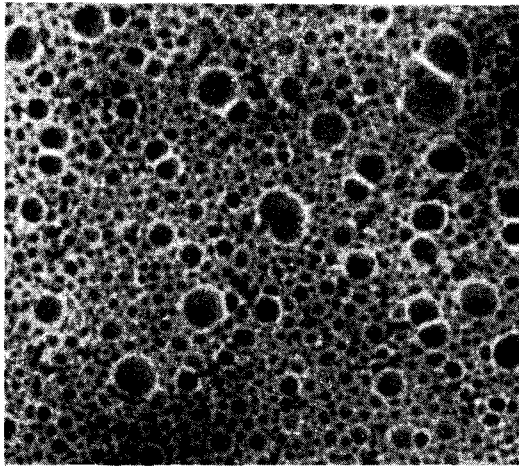


그림 3. 효소수식 단백질의 기능특성

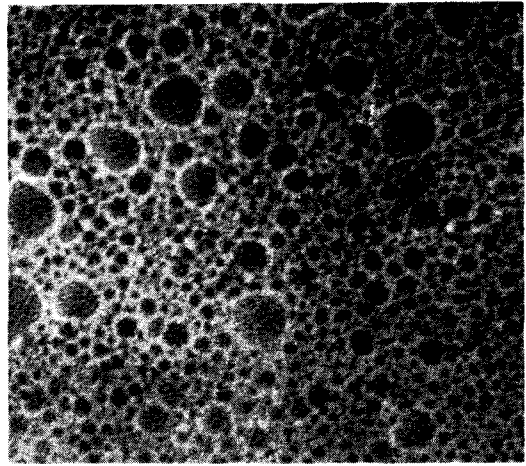
를 사용하지 않고 같은 조건하에서 처리된 젤라틴 가수분해물(gelatin hydrolysate : GH)을 0.01M 인산완충액(pH 7.0)에 분산시킨 1% 분산액의 기포력, 포말안정성 및 유화력은 각각 1.8, 0.05 및 0.00이었지만 leucine alkylester가 도입된 것은 이들의 값이 각각 4.7, 0.45 및 0.75로 크게 향상되었다.

기능특성은 도입된 leucine alkylester의

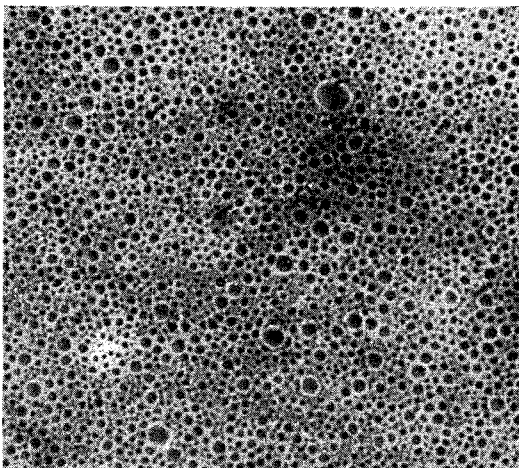
알킬 사슬길이에 크게 의존한다. 기포력 및 포말안정성은 leucine hexyl기의 도입으로 최고가 되었으나 C<sub>10</sub>이상에서는 현저히 감소한다. 현미경으로 관찰된 EMG-6은 두꺼운 기포력을 갖는 안정한 기포를 생성하였지만 EMG-8 및 EMG-10에서는 얇고 불안정한 기포만을 생성하였다. 전체의 EMG는 수중유적형의 에멀전을 형성하였다. 유화력은 알킬 사슬길이가 증가됨에 따



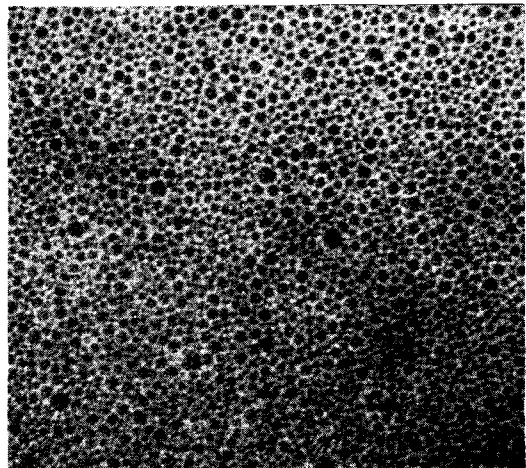
Tween-60



EMFSG-C<sub>4</sub>



EMFSG-C<sub>8</sub>



EMFSG-C<sub>10</sub>

그림 4. 효소적으로 수식된 가자미피 젤라틴(Enzymatically modified flounder skin gelatin : EMFSG) 및 tween-60의 유화현상에 대한 현미경 관찰(1 : 100)

라 점차 증가하여 EMG-12에서 최대가 되었다.(그림 3).

가자미피에서 추출한 어피 젤라틴에 leucine-alkylester를 도입시킨 효소수식단백질도 조제된 유화액의 유적은 그림 4에서 볼 수 있는 바와 같이 Tween-60의 유적보다 작고 조밀하게 분포되어 있었으며 탄소수가 증가할 수록 더욱 더 조밀하였다.

이상으로부터 젤라틴을 출발물질로 하여 leucine alkylester를 도입시킴으로서 기포성 또는 유화력이 우수한 효소수식단백질을 특수한 시약을 사용하지 않고 37°C, 15분간이라는 온화한 조건하에서 조제할 수 있다. 또 젤라틴보다 친수성이 낮은 분리대두단백질, 어육단백질, 카제인 및 오브알부민에 대해서는 미리 숙시닐화한 다음 효소수식법을 적용시킴으로써 젤라틴의 경우와 마찬가지로 기능특성이 높은 효소수식단백질을 제조할 수 있다. 이때 시약 농도는 20%로 할 필요가 있고 반응조건은 37°C, 30분간이 최적이다.

#### 4. 효소수식단백질의 계면특성

##### 1) 효소수식단백질의 수계(水界)에서의 계면특성.

식품공업에 사용되고 있는 계면활성제는 거의 전부가 저분자량의 비이온성 계면활성제이며 빨리 공기-물계면에 배향하여 표면장력을 떨어뜨린다. 또는 용액의 pH에 영향을 받기 어려운 점 등의 특징을 갖고 있다. 한편 단백질은 공기-물계면에서 표면변성하면서 서서히 표면장력을 떨어뜨린다. 또 용액의 pH에 의해 하전상태가 변화하여 유화성도 변화한다.

따라서 본절에서는 효소수식젤라틴의 미셀형성능, 표면장력저하능의 시간의존성 및 물리적 특성의 pH의존성에 대하여 살펴본다. 시료로서 기포력이 높은 EMG-6 및 유화력이 높은 EMG-12를 대조구로서 GH 외에 고차구조가 unfolding하기 어려운 구상단백질인 소의 혈청알부민(bovine serum

albumin : BSA), random coil의 단백질인 카제인, 비이온성의 저분자량 합성계면활성제(Amphitol 20BS)를 사용하였다.

##### ① 표면장력의 시간 의존성

EMG-12 물분산액의 표면장력은 저분자량 합성계면활성제인 Tween-60과 Amphitol 20BS와 마찬가지로 최초 15분 내에 급속히 저하하여 30분 이내에 평형에 도달하였다(그림 6). 한편 대조구 단백질 물분산액의 표면장력은 천천히 저하하였다. 특히 BSA는 15시간 후에도 평형에 도달하지 않았다.

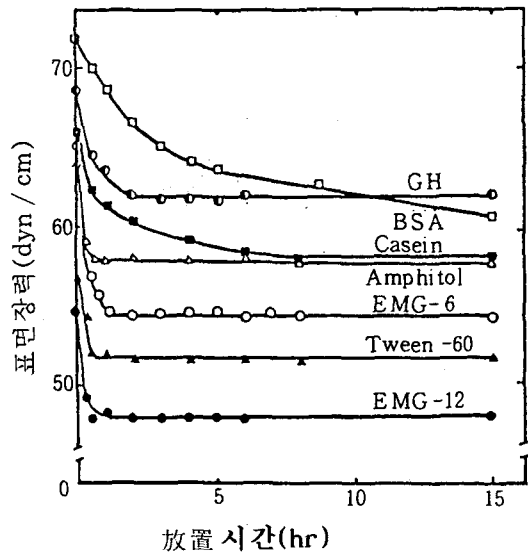


그림 5. 효소수식 젤라틴 및 대조구의 표면장력의 시간의존성

EMG의 표면장력저하능이 빠른 이유는 EMG가 분자량 분포를 지속시키기 때문에 저분자종이 아주 빨리 공기-물계면에 흡착된다는 점과 친수성부가 젤라틴에 유래하는 유연구조를 갖고 있어 표면변성을 하는 것이 아니고 공기-물계면에 흡착하는 점을 들 수 있다. 또 EMG물분산액의 표면장력이 GH 그것보다 빨리 저하하는 점을 고려해 볼 때 소수기도입에 의한 유효소수성도의 증대, 극소수성기가 분자표면에 국재(局在)하고 있는 것도 EMG의 빠른 표면장력저하

능에 기인된다고 생각된다.

② 미셀구조의 형성

계면활성제의 특징의 하나인 미셀형성의 유무를 전기전도도와 표면장력에 대하여 검토한 결과, 농도함수로서 나타낸 EMG-6 및 EMG-12의 전기전도도(그림 6)는 각

각 0.09% 및 0.04%에서 굴곡하였다. 이 농도는 이온성 계면활성제에 있어서 임계미셀농도(cmc)라 한다. Amphitol 20BS에서도 굴곡이 나타났지만 GH, BSA 및 카제인에서는 보이지 않았다.

cmc는 농도의 대수와 표면장력과의 plot

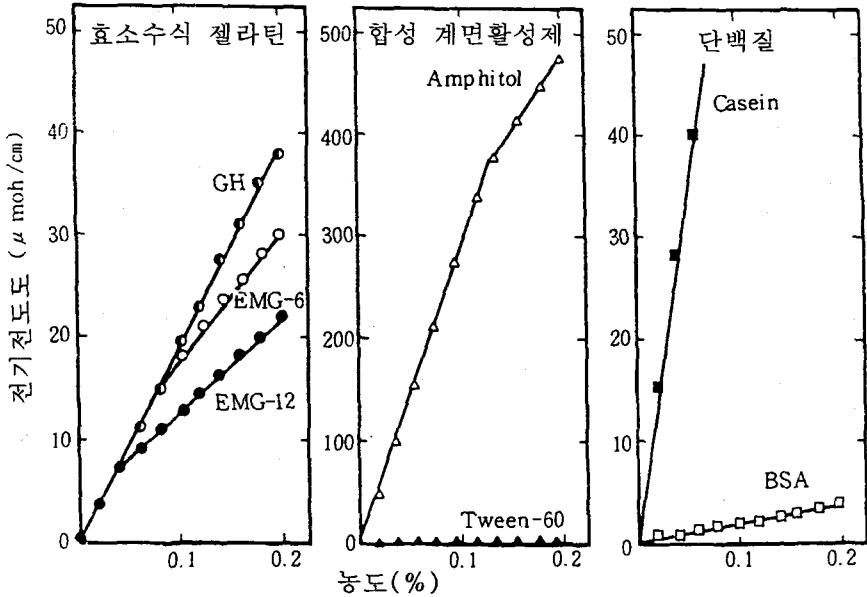


그림 6. 효소수식 젤라틴 및 대조구의 농도에 따른 전기전도도 변화

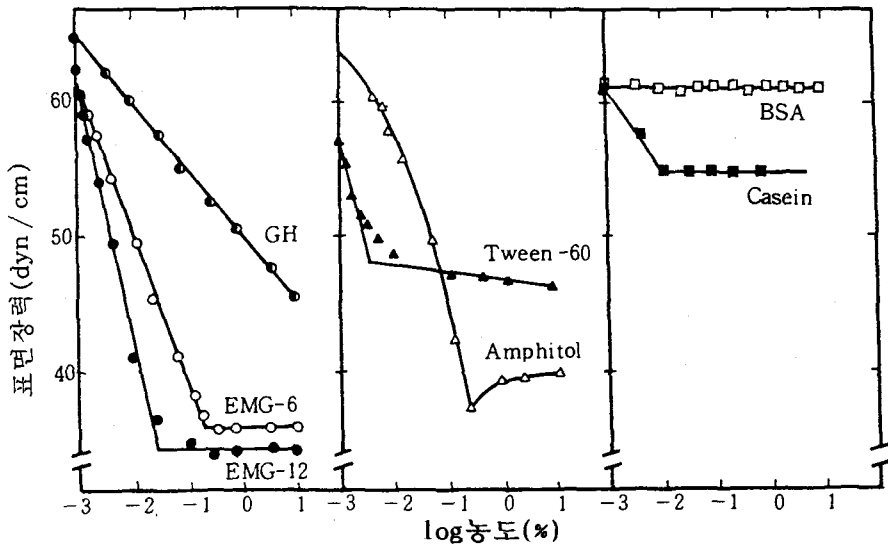


그림 7. 효소수식 젤라틴 및 대조구의 표면장력-log농도 곡선

에 있어서 굴곡점으로서 나타내었다(그림 7). EMG-6 및 EMG-12물분산액의 표면장력은 각각 0.17% 및 0.026%에서 굴곡되어 일정하게 되었다. 그 표면장력은 각각 36.5 및 34.5 dyne/cm로 전시료중 가장 낮은 값이었다. Tween-60, Amphitol 20BS 및 카제인도 굴곡점이 있었지만 GH와 BSA은 굴곡을 나타내지 않았다. 이같은 결과는 EMG가 미셀을 형성한다는 것을 의미한다. cmc 이하의 농도에서 EMG의 표면장력은 Tween-60과 마찬가지로 농도의 대수에 대하여 직선으로 나타났다. 따라서 이 직선부분을 Gibbs의 흡착식에 적용시키면 EMG-6 및 EMG-12와 함께  $100A^{0.2}$ 이하의 분자점유면적을 나타내었다. Graham과 Phillips는 유연구조 단백질에 있어서는 표면장력의 감소와 공기-물계면의 단백질 농

도의 증가와 일치하여 Gibbs의 흡착식을 적용하여 얻은 결과를 보고한 바 있다. EMG의 친수부는 원료 젤라틴에 유래하는 유연구조를 갖는다고 생각하여 EMG의 작은 분자점유면적은 EMG분자가 공기-물계면에 대단히 고르게 배향(配向)하는 것을 시사한 것이다.

③ 물리특성 및 기능특성의 pH 의존성  
EMG는 단백질이기 때문에 화학적으로 는 이온성이 있고 전기전도도 측정에서도 이온성 계면활성제와 같이 거동한다. 그러나 농도함수로서의 표면장력의 거동은 비이온적이었다. 따라서 EMG의 물리적 특성 및 기능특성의 pH의존성을 측정한 결과(표 1), EMG는 pH에 의존하지 않았는데, 이것은 식품공업에서 폭넓은 응용가능성을 나타낸 것이다.

표 1. 효소수식 젤라틴의 물리적 성질

	pH	EMG-6	EMG-12	GH		pH	EMG-6	EMG-16	GH
표면장력 (dyn/cm)	1	57.6	48.4	58.5	유화활성 지수(m <sup>2</sup> /g)	1	20	22	★
	3	56.4	47.8	64.5		3	23	22	★
	5	55.8	47.5	62.3		5	23	26	★
	7	56.3	47.6	56.7		7	25	26	★
	9	57.5	46.4	58.4		9	24	23	★
	11	58.7	46.4	60.3		11	17	21	★
점도 (cP)	1	3.2	1.6	2.3	유화점도 (cP)	1	25.8	31.4	★
	3	3.2	1.5	3.9		3	21.6	28.8	★
	5	3.3	1.5	2.1		5	15.6	33.6	★
	7	3.3	1.5	1.3		7	23.4	29.4	★
	9	3.3	1.5	2.4		9	21.0	30.6	★
	11	3.2	1.5	2.4		11	26.2	30.0	★
포말성	1	3.8	3.6	2.6	유화 안정성 (%)	1	78	100	0
	3	3.9	3.6	2.7		3	80	100	0
	5	4.1	3.6	2.6		5	79	100	0
	7	4.1	3.1	2.5		7	80	100	0
	9	4.1	2.6	2.4		9	79	100	0
	11	3.9	2.6	2.0		11	79	100	0
포말 안정성 (%)	1	46	10	12					
	3	46	10	10					
	5	46	10	10					
	7	47	14	10					
	9	45	16	14					
	11	40	20	8					



2) 효소수식단백질의 농후계(濃厚系)에 있어서의 상거동

계면활성제는 농도 및 온도에 따라 겔상, 액상 및 등방성 액체로 상변화하는 것으로 알려져 있다. 따라서 EMG 및 단백질을 시료로 하여 상거동에 대하여 살펴보고자 한다.

① 동적 점탄성에서 본 상거동

시료 20~70%(W/W)물혼합액을 10% 간격으로 조제하여 rheographzol(東洋精機 Co.)을 사용하여 5~85°C의 가진(加振)주파수 2Hz에 대한 저장탄성율( $G'$ ) 및 손실탄성율( $G''$ )을 측정된 결과 EMG의  $G'$  및  $G''$ 는 GH, BSA 및 카제인의 그것과는 현저히 다른 거동을 나타내었다. 60% 및 70% EMG-12 물혼합액의  $G'$ 는 그림 8에서 볼 수 있는 바와 같이 5~30°C에서는 겔상을 나타내는 높은 값을 나타내어 약 30°C에서 급격히 감소하였으며 그 후 일정하게 되어 80°C 이상에서는 다시 저하하였다. 40% 이하의 농도에서는 이같은 거동을 나타내지 않았다. EMG-6도 거의 같은 거동을 보였다. GH의  $G'$ 는 온도상승에 따라 급격히 감소하였고, BSA는 열변성 온도인 60°C 부근에서 급격히 겔화하였고 카제인의  $G'$ 는 온도에 따라 거의 변화하지 않았다.  $G''$ 의 온도에 따른 변화도  $G'$ 와 같은 경향을 보였다.

계면활성제-물혼합액의 점도가 겔-액정 전이점 또는 액정-액체 전이점에서 급격히 감소하는 것은 저분자량 합성계면활성제나 고분자량의 것에서도 인정되었고, 그림 8의 결과는 EMG가 20~30°C 및 70~80°C 부근에서 상변화하는 것을 시사하고 있다.

② 흡열피크에서 본 상변화

겔로부터 액정에의 상변화를 시차열분석에 의해 확인한 경우 EMG의 50~80% 물혼합액은 전부 흡열피크를 나타내었고, 이온도는  $G'$  및  $G''$ 의 변화점과 거의 일치하였다. 흡열온도는 EMG농도가 높을 수록 고온측에 있었고, 모노팔미트산-물 혼합계에서 나타내는 경향과 일치하였다. 대구조 시료에서는 이같은 피크는 볼 수 없었다.

③ 액정형성에서 본 상거동

60% EMG-12 물혼합액을 시료로 하여 평광현미경으로 관찰한 결과 40°C에서 판상(lamellar)형의 액정을 볼 수 있었다. 10°C 및 80°C에서는 혼입된 기포주위에 복굴절이 있었다. 따라서 액정이 형성된 온도 및 농도를 분명하게 나타내었다(그림 9). EMG-12의 액정형성의 하한온도는 70%와 60%혼합액에서는 30°C, 50%와 40%에서는 20°C였고  $G'$  및  $G''$ 가 급격히 저하하는 온

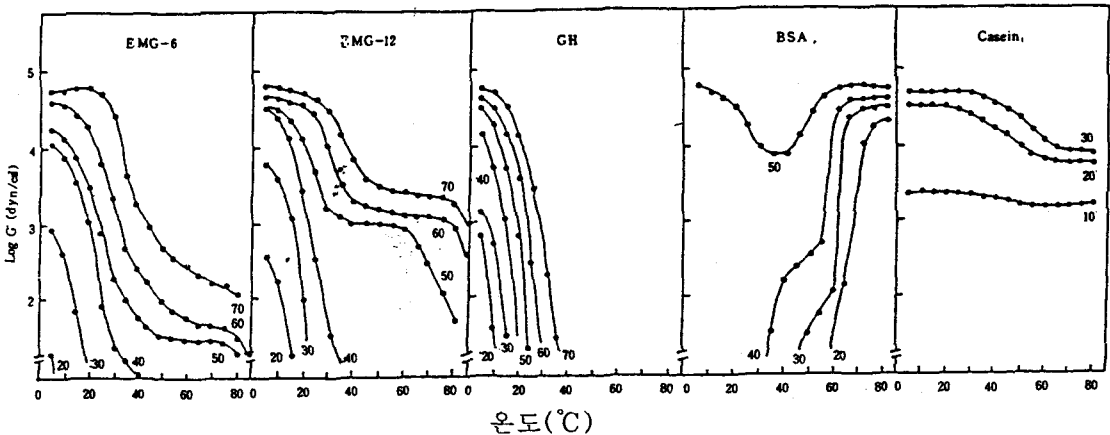


그림 8. 온도와 농도에 따른 효소수식 젤라틴 및 대구조의 저장탄성율( $G'$ )  
 (※ 그림 중의 숫자는 시료의 농도(%))

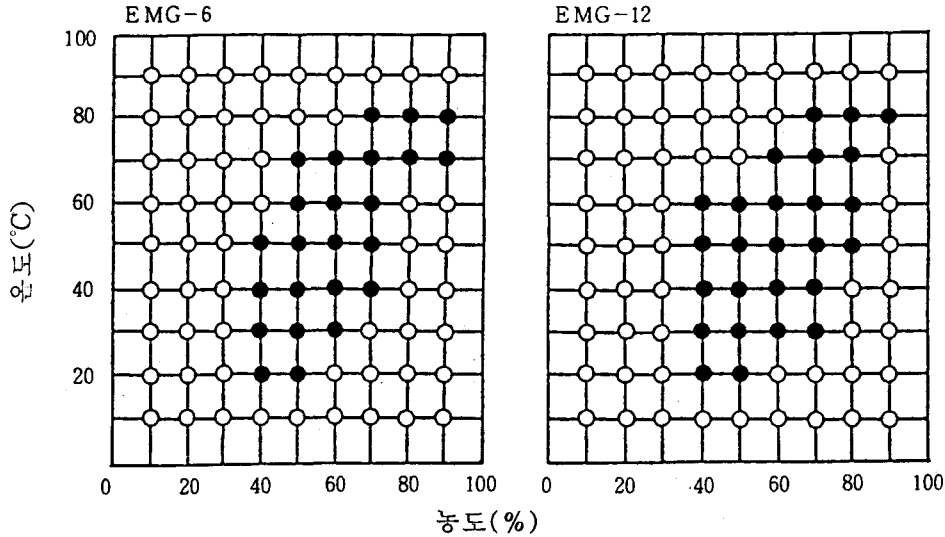


그림 9. 효소수식 젤라틴의 액정이 형성되는 온도 및 농도

도, 또 시차열분석에 의한 흡열온도와 거의 일치하였다. 액정형성의 상한온도는 70%에서 80°C, 60%에서 70°C였고 G' 및 G''의 변화점과 같았다. EMG-6도 비슷한 관계를 보였다. GH, BSA 및 카제인에 대해서는 측정조건에서 액정은 관찰되지 않았다.

세가지 실험결과는 EMG가 대조구단백질에서 볼 수 없는 상변화를 나타내는 것을 알 수 있다. 그러나 EMG의 상변화는 저분자량 합성계면활성제의 상변화와 같이 명확하지 않았다.

이상 기술한 바와 같이 EMG-12의 계면특성은 저분자량 계면활성제의 그것과 유사하였다. 더구나 단백질이므로 이온성인데도 불구하고 물분산액의 표면장력, 점도, 기포성 및 유화성과 더불어 pH의 영향을 받지 않았고, 마치 비이온성의 저분자량 계면활성제와 같이 거동하였다. EMG-12는 지방-물계면에 있어서도 저분자량 계면활성제와 같은 형태로 배향하여 친수성기는 물과 소수성기는 지방(油)과 상호작용을 하는 것으로 알려져 있다.

## 5. 효소수식단백질의 조리가공특성

### 1) 유화특성 및 마요네즈의 에멀전에의 응용.

유화상태가 에멀전물성에도 영향을 주는 유상체적분율( $\psi$ )이 높은 계에서 EMG의 유화특성을 대조구인 Tween-60과 비교해 보면 Tween-60을 사용하여 조제한 에멀전은 어느것이나 졸(sol)상이지만 EMG-12를 사용하여 조제한 에멀전은 조제조건에 따라 sol상에서 단단한 겔상에 이르기까지 여러가지 형태를 보였다.

텍스투어의 특성(표2)을 보면 예를 들면, pH 7.0의 Tween-60에서의 에멀전의 경도 및 부착성은 각각 0.59kg 및 1.10 T.U.였지만 EMG-12의 경우는 각각 2.42kg 및 4.50 T.U.로 높일 수 있었다. 또 pH의 영향도 일부를 제외하고 거의 나타나지 않았다.

겔상 에멀전의 물성에 대하여 직경 26mm, 높이 20mm의 원추형 겔로서 성형 가능한 조건을 검토한 결과,  $\phi=0.85$ 에서 EMG-12의 농도는 15~25%였다. 이들 겔

표 2. 효소수식 젤라틴 및 합성 계면활성제에 의해 제조된 emulsion의 texture 특성

유화제	농도 (%)	유상체 적분율 (φ)	pH 2.0		pH 4.7		pH 7.0		
			경도 (kg)	부착성 (T.u.)	경도 (kg)	부착성 (T.u.)	경도 (kg)	부착성 (T.u.)	
E	5	0.70	0.10±0.01	0.13±0.02	0.12±0.01	0.23±0.01	0.12±0.01	0.21±0.01	
M	10		0.31±0.01	0.53±0.02	0.39±0.01	0.67±0.02	0.44±0.02	0.78±0.03	
G	20		1.02±0.02	1.82±0.06	1.41±0.04	2.42±0.10	1.23±0.02	2.22±0.06	
I	5	0.85	0.97±0.04	1.86±0.11	0.99±0.05	1.83±0.14	0.99±0.01	1.85±0.01	
	12		1.52±0.02	2.73±0.00	1.55±0.01	2.21±0.01	1.88±0.02	2.97±0.20	
	20		1.25±0.01	1.91±0.01	2.37±0.04	4.51±0.21	2.42±0.03	4.50±0.08	
T	5	0.70	0.06±0.04	0.08±0.04	0.06±0.01	0.05±0.00	0.06±0.00	0.06±0.00	
	w		10	0.08±0.00	0.11±0.00	0.07±0.01	0.09±0.01	0.06±0.00	0.04±0.00
	e		20	0.13±0.01	0.18±0.01	0.17±0.00	0.16±0.00	0.12±0.00	0.14±0.02
e	5	0.85	0.37±0.04	0.61±0.03	0.30±0.01	0.61±0.02	0.34±0.00	0.61±0.01	
	n		10	0.44±0.01	0.76±0.03	0.41±0.01	0.87±0.00	0.45±0.00	0.83±0.01
	60		20	0.63±0.01	1.19±0.04	0.60±0.01	1.21±0.05	0.59±0.02	1.10±0.03

에 수직방향으로 5~12.5%의 압력변형을 주어 rheometer로 300초 후의 완화탄성을 측정할 경우, 10%까지 선형성을 나타내었다. 그리고 7.5%의 압력변형 만을 1200초간에 걸쳐서 응력완화를 측정할 결과, EMG-12로부터 조제한 에멀전은 6요소 maxwell모형으로서 근사함이 인정되었다. 얻어진 각 변수 값(표3)은 Kirikou와 Sherman이 친수성이 강한 합성계면활성제와 소수성 계면활성제를 조합시켜 조제한 점탄성 에멀전의 그것보다 컸다. 이 같은 고점성 에멀전의 점탄성 거동은 기름방울표면으로 배향한 계면활성제의 친수성부가 연속상으로 다량 노출되어 물과 상호작용하여 일정한 구조를 만들기 때문에 일어난다고 볼 수 있다. EMG-12는 이미 기술한 바와 같이 공기-물계면에 치밀하게 배향하여 농후한 물혼합액의 액정을 형성하여 높은 점탄성체로 되기 때문에 지방-물계면에서도 이 같은 현상이 일어나 연속상으로 일정한 구조를 만든다고 생각된다.

에멀전의 이 같은 구조는 유동상태에서는 파괴되므로 Cone Plate형 점도계를 사용하여 에멀전의 유동성 거동을 측정할 결과, 에멀전은 어느 것이나 Herschel-Bulkley의

지수방정식에 따랐다.

$$P - Py = Kr^n$$

여기서 P는 전단응력(dyn/cm<sup>2</sup>), Py는 항복값(dyn/cm<sup>2</sup>), K는 점성계수, r는 전단속도(sec<sup>-1</sup>), n은 유동지수이다. 전단속도-전단응력 곡선을 누승회귀하여 각 변수(parameter) 값을 산출한 결과는 표4와 같다. Py는 0~500dyn/cm<sup>2</sup>, K는 8~3208 poise, n는 0.226~0.742로 폭넓은 값을 나타내었다. Tween-60을 사용하면 φ는 0.70에서는 항복값을 갖지 않는 의사유동체의 에멀전만이 얻어졌다.

이와 같이 에멀전물성에 크게 영향을 주는 것은 주로 분산입자의 크기와 연속상 점도이지만 분산입자의 크기는 Tween-60과 EMG-12에서 큰 차이는 없었다. Tween-60의 물분산액의 점도는 20%에서 6.3cp (pH 7.0, 20°C)였지만, 같은 조건에서 EMG-12물분산액의 그것은 53.4cp로 매우 높았다. 이와 같은 차이는 EMG-12로 조제한 에멀전의 물성적 특징을 설명할 수 있는 하나의 요인이 될 수 있다.

단백질 유화성은 등전점 부근에서 좋지 않지만 대부분의 단백질은 약산성측에서 등전점을 나타내므로 단백질의 식품공업에의

표 3. EMG-12에 의해 제조된 emulsion의 Maxwell parameter

	pH4.7	pH7.0
	$\phi 0.85$	$\phi 0.85$
$\tau_{M1}(\text{sec})$	$6.23 \times 10^5$	$5.16 \times 10^5$
$E_{M1}(\text{dyn/cm}^2)$	$5.44 \times 10^4$	$5.82 \times 10^4$
$\eta_{M1}(\text{poise})$	$3.39 \times 10^{10}$	$3.00 \times 10^{10}$
$\tau_{M2}(\text{sec})$	$1.95 \times 10^3$	$1.43 \times 10^3$
$E_{M2}(\text{dyn/cm}^2)$	$7.81 \times 10^3$	$6.15 \times 10^3$
$\eta_{M2}(\text{poise})$	$1.52 \times 10^7$	$8.79 \times 10^6$
$\tau_{M3}(\text{sec})$	$2.08 \times 10^2$	$5.21 \times 10^2$
$E_{M3}(\text{dyn/cm}^2)$	$1.55 \times 10^4$	$1.21 \times 10^4$
$\eta_{M3}(\text{poise})$	$3.22 \times 10^6$	$6.30 \times 10^6$

응용에 있어서 하나의 문제가 되어 있다. 앞서 기술한 EMG-12의 유화성은 pH에 의존하지 않기 때문에 EMG-12를 마요네즈에 응용할 수 있다. 시판 마요네즈의 일반조성에 준하여 대두유, 3.5% 초산수용액, 식염을 6:1:0.1의 중량 혼합비로 하고, EMG-12를 전체량의 0.5% 및 1.0% 가하여 에멀전을 조제한 경우, 마요네즈와 똑같은 에멀전이 얻어졌다. EMG-12를 0.5% 첨가하여도 물성적으로나 관능적으로 마요네즈와 동등하였고, 1%의 경우는 20°C에서 5개월 보존하여도 전혀 분리현상이 나타나지 않았다. 마요네즈의 부재료인 염, 겨자가루, 후추가루, 설탕 및 글루탐산일나트륨(MSG)에 의해서도 유화는 저해되지 않았다.

표 4. EMG-12 및 Tween-60에 의해 조제된 emulsion의 Herschel-Bulkley parameter

	pH	(%)	$\phi 0.70$				$\phi 0.85$			
			Py	K	n	r	Py	K	n	r
			dyn/cm <sup>2</sup>	(poise)			dyn/cm <sup>2</sup>	(poise)		
EMG-12	2.0	5	0	16	0.672	0.999	250	272	0.435	0.995
		10	38	146	0.452	0.997	160	1317	0.286	0.974
		20	190	627	0.398	0.996	1500	—*	—*	—*
	4.7	5	0	8	0.742	0.995	200	316	0.442	0.981
		10	18	146	0.427	0.997	390	635	0.355	0.994
		20	200	534	0.406	0.995	340	2715	0.228	0.998
	7.0	5	4	39	0.536	0.993	240	448	0.382	0.972
		10	50	172	0.424	0.996	460	1400	0.295	0.979
		20	240	655	0.405	0.997	500	3028	0.226	0.983
Tween-60	2.0	5	0	10	0.620	0.996	6	189	0.395	0.992
		10	0	18	0.560	0.998	10	325	0.349	0.993
		20	0	37	0.525	0.995	30	660	0.270	0.998
	4.7	5	0	9	0.660	0.999	6	147	0.420	0.990
		10	0	13	0.626	0.996	80	278	0.328	0.999
		20	0	42	0.518	0.996	110	589	0.280	0.998
	7.0	5	0	9	0.660	0.998	4	156	0.432	0.985
		10	0	11	0.645	0.999	20	290	0.375	0.990
		20	0	38	0.537	0.997	50	755	0.266	0.996

## 2) 제빵에의 응용

EMG-12를 제빵재료에 가하여 품질개량효과를 검토하기 위해 건조효모 1.25 g 에 40°C의 물 15ml를 가하여 38°C에서 15분간 예비발효시킨 다음 야자유 2.5 g 에 EMG-12 0.4 g 을 현탁시키고, 다시 물 15ml를 넣어, 식염 1.0 g, 설탕 2.0 g, 취소산칼륨 0.001 g 을 용해시킨 후 건조효모 물분산액과 혼합시켜 다시 소맥분 50 g 을 가하여 혼합하고, 제 1 차 발효 및 제 2 차 발효를 28°C에서 행하여 20 g 씩 푸딩(pudding)형으로

채워 40°C에서 30분간 건조하여 혼합하고, 200°C에서 18분간 배소시켜 빵을 만들었다. EMG-12 대신에 monostearin을 첨가한 것과 무첨가 시료를 대조구로 하였다.

그결과, EMG-12 첨가빵은 다른 두 시료보다 팽화체적이 컸으며(표5) 내상(內相)의 결도 가늘었다. 빵이 내상부의 부드러움을 Texturerometry에 의해 평가하면 EMG-12 첨가빵은 대조구빵보다 결이 부드러울 뿐만 아니라 보존중에 경화도 억제되었다.

표 5. EMG-12의 빵 품질에 대한 효과

유화제 <sup>b</sup>	팽화체적 <sup>a</sup> (ml)	경도 <sup>a</sup> (kg) 저장기간(日)			
		1	2	3	4
무첨가	72.3±2.6	3.1±0.4	4.4±0.1	5.2±0.3	5.7±0.5
EMG-12	75.9±2.4	2.3±0.2	2.5±0.1	3.1±0.2	3.3±0.2
Monostearin	73.1±1.3	2.6±0.2	3.0±0.2	4.4±0.5	5.0±0.2

a 평균치±표준편차    b 약 0.8%(W/W)첨가

빵에 대한 EMG-12의 품질개량효과는 대두단백질 또는 어육단백질을 강화한 빵에 대해서도 인정되었다. 소맥분 5%를 대두단백질로 대체시키면 빵의 체적은 소맥분 빵의 약 8%였지만 EMG-12를 0.8% 첨가하여 제빵하면 96%로 회복되었다. 어육단백질에서는 82%로 되었지만 EMG-12를 첨가함으로써 89%까지 회복되었다. 빵의 내상은 EMG-12 첨가로 인하여 어느 것이나 부드럽게 되었다. 대두단백질 또는 어육단백질을 소맥분의 10%로 강화시킨 빵에서는 EMG-12 0.8%와 글루텐 5%를 병용함으로써 빵의 팽화체적 및 텍스츄어의 열화를 회복시킬 수 있다.

## 6. 맺음말

이상 기술한 바와 같이 효소수식단백질은 단순히 유화성이 우수할 뿐만 아니라 에멀전의 물성에서도 특징적인 거동을 나타낸다. 물성특징은 효소수식단백질의 친수성부가 단백질상인 것에 유래한다고 생각된다. 그러나 제빵에 대한 EMG-12의 품질개량 효과로는 고분자 펩티드이기 때문에 어떤 특색도 인정되지 않았으며 저분자량 계면활성제와 같은 기능을 한다. 이러한 점에서 효소수식단백질의 작용기작은 다양하고 현상적(現象的)으로는 많은 품질개량효과를 나타낸다고 생각된다. 따라서 효소수식젤라틴은 식품공업분야의 계면활성제로서 이용할 수 있을 뿐만 아니라 화장품 공업에서의 이용도 가능하다고 본다.