

## 시유의 질소분획물 함량과 유청단백질 변성정도

박영희 · 홍윤호\*†

동신대학교 식품영양학과

\*전남대학교 식품영양학과

## Contents of Nitrogen Fractions and the Degree of Whey Protein Denaturation in Market Milks

Young-Hee Park and Youn-Ho Hong\*†

Dept. of Food and Nutrition, Dongshin University, Naju 520-14, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

### Abstract

To find out the effective indicators for identification and classification of different heat treatment, the contents of nitrogen fractions and the degrees of whey protein denaturation in market milks were investigated by Kjeldahl method. The contents of nitrogen fractions per 100ml raw milk were total nitrogen (431.3mg), casein nitrogen (341.0mg) and non-casein nitrogen (90.3mg), in which non-protein nitrogen (31.6mg) and denatured whey protein nitrogen (58.8mg), while those of LTLT, HTST, UHT pasteurized and UHT sterilized showed different values. The degrees of whey protein denaturation were 26.7% (LTLT), 32.9% (HTST), 60.7% (UHT pasteurized) and 38.4% (UHT sterilized), respectively. As the higher temperature was applied for the treatment of milk, the degree of the whey protein denaturation was higher. Remarkable differences in the degree of whey protein denaturation according to the heating methods were observed.

**Key words :** nitrogen fractions, whey protein denaturation, market milks

### 서 론

단백질 분해효소에 의해 분해된 케이신(casein)입자와 분해도를 파악할 수 있는 대표적인 지표로서는 케이신질소의 감소와 비단백질질소의 증가를 들 수 있으며 이들의 화학적 변화는 미세구조적 변화, 침전물 증가, 점도 증가 등과 관련이 있다고 하였다<sup>1)</sup>. 우유에서의 유청단백질 열변성은 유청단백질의 용해도의 변화, H<sub>2</sub>S의 발생, 가열취의 증가, chymosin 작용에 의한 우유의 응고시간 지연, 연질 커드의 형성, κ-케이신과의 상호작용 등에 직접 또는 간접적인 영향을 미친다고 알려져 있다<sup>2,3)</sup>. 우유에서의 유청단백질 변성정도는 여러가지 열처리형태의 온도와 시간과 관계가 있어서 열처리를 전혀 받지 않은 상태에서는 유청단백질은 뚜렷한 형태를 갖게 되며 어느 일정 범위 수준 이상의 열에

노출될 때는 이것이 파괴되어 단백질의 특성이 변화된다고 하였다. 그 이유로서 유청단백질은 케이신에 비해 인을 함유하고 있지 않으며 proline 함량은 낮고 cystine, cystein 및 methionine 함량은 높아 열변성을 받기 쉬운 특징이 있으므로 가열에 의해서 그 구조의 규칙성이 다양하게 변화되는 것으로 설명하고 있다<sup>4-6)</sup>. 또한 유청단백질의 열변성은 가열온도와 가열시간에 따라 다르지만 유청단백질의 열변성에 결정적인 영향을 미치는 것은 가열온도이며 그것도 우유에 가해진 최고 온도의 영향이 가장 큰 것이라고 보고되었다<sup>7,8)</sup>. 그러나 유청단백질은 가열살균에 의해 상당량이 열변성이 되더라도 단백질의 영양가를 저하시키지 않고 오히려 소화 흡수를 용이하게 하는 잇점이 있다고 알려져 있다<sup>9,10)</sup>. 유청단백질의 변성 정도는 많은 유제품의 기능성에 대한 중요한 결과들을 가지고 있으므로 이 현상을 측정하기 위해 많은 분석방법들이 보고되어 왔다<sup>11)</sup>.

\*To whom all correspondence should be addressed

본 연구에서는 Kjeldahl 방법으로 시유의 질소분획물의 함량과 유청단백질 변성정도를 측정함으로써 시유의 열처리를 받은 강도를 비교하고자 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

원유는 광주시에 있는 호남유업(주)에서 착유한 신선한 우유를 사용하였으며, 국내에서 시판되고 있는 열처리 방법 및 시간이 다른 우유(저온살균유, 고온순간살균유, 초고온살균유 및 초고온멸균유)를 일주일간격으로 5주간 수거하여 시료로 사용하였다.

### 시유의 질소분획물의 함량 및 유청단백질 변성정도 측정

시유의 총질소 (total nitrogen : TN), 비케이신질소 (non-casein nitrogen : NCN), 비단백태질소 (non-protein nitrogen : NPN)는 Rowland<sup>12)</sup>, Aschaffenburg와 Drewry<sup>13)</sup>의 분획방법과 micro-Kjeldahl법<sup>14)</sup>에 기초하여 측정하였다. 비케이신질소의 측정은 시료 여과액 10ml의 수분을 일부 증발시킨 다음 분해시켰다. 유청단백질소 (whey protein nitrogen : WPN) %는 비케이신질소 %에서 비단백태질소 %를 뺀 값으로 계산하였고, 열변성 유청단백질소 (heat denatured whey protein nitrogen : DWPN) %는 열처리된 우유의 유청단백질소 함량과 원유의 유청단백질소 함량을 비교하여 다음과 같이 계산하였다.

$$DWPN (\%) = \frac{WPN_{raw} - WPN_{heated}}{WPN_{raw}} \times 100$$

## 결과 및 고찰

열처리법에 따른 시유에서 분획시킨 총질소(TN), 비케이신질소(NCN), 케이신질소(CN), 비단백태질소(NPN), 유청단백질소(WPN) 분획물들의 함량과 각 질소분획물들의 총질소에 대한 분포율 및 유청단백질 변성정도(DWPN %)를 Table 1에 나타내었다.

총질소 함량은 원유에서는 시료 100g당 431.3mg, 저온살균유는 460.5mg, 고온순간살균유는 457.8mg, 그리고 초고온살균유는 440.8~457.9mg, 초고온멸균유는 424.3~458.7mg으로 시료마다 다르게 측정되었는데, 이들의 값은 정<sup>15)</sup>이 원유, 저온살균유, 초고온살균유 및 직접가열 멸균유에서 측정한 489mg보다는 적

은 함량이었으며 모든 시료에서 균일한 값으로 측정된 점이 본 실험의 결과와 달랐다. 이것은 우유제조사 사용되는 원유들의 상이함에서 기인한다고 생각된다. 비케이신질소 함량은 열처리를 함에 따라 감소되는 경향을 보였으나 비단백태질소 함량은 열처리 방법에 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났는데 이것은 정<sup>15)</sup>의 결과와 유사하였다.

각 열처리법에 따른 질소분획물들의 총질소에 대한 분포율을 보면, 원유에서는 케이신질소가 79.1%, 비케이신질소가 20.9%이며, 이 중 비단백태질소가 7.3% 그리고 유청단백질소는 13.6%의 분포를 보인 반면, 시판우유인 저온살균유, 고온순간살균유, 초고온처리유의 질소분획물들의 분포율이 다르게 나타났다. 특히 초고온유의 비케이신질소 분포율은 살균유가 11.5~12.2%, 멸균유 중 d제품을 제외하고 14.6~15.9%를 보임으로써, 초고온살균유의 비케이신질소 분포율은 저온살균유의 15.2%, 고온순간살균유의 14.9%와는 많은 차이를 나타내었다. Mottar 등<sup>16)</sup>이 보고한 원유와 초고온처리유의 질소분획물의 분포율에 따르면 원유의 비케이신질소 분포율은 17.1~25.9%, 초고온처리유의 비케이신질소 분포율은 간접식의 경우 8.5~14.9%, 직접식의 경우 10.7~18.0%를 보였고, 비단백태질소 분포율은 원유에서의 4.6~7.7%와 초고온처리유의 5.4~7.6%간에 차이가 없었으며, 유청단백질소 분포율은 원유의 12.4~17.1%에서 초고온처리유의 간접식은 4.1~5.2%, 직접식은 6.0~8.9%로 열처리에 따라 감소함을 나타내었다. 본 실험의 결과, 초고온처리유의 유청단백질소 분포율은 살균법이 4.6~5.5%, 멸균법이 d제품을 제외하고 7.9~8.2%를 보임으로써 비케이신질소의 분포율 순서와 일치하였다.

본 실험의 유청단백질 변성정도는 저온살균유가 26.7%, 고온순간살균유가 32.9%, 초고온살균유는 57.7~65.5%(평균 60.7%)를, 초고온멸균유는 d제품을 제외하고 35.9~40.7%(평균 38.4%)를 보임으로서 열처리 정도가 높아질수록 변성도 많이 나타났으며 열처리법에 따라 유청단백질의 변성정도가 구분되었다.

Manji와 Kakuda<sup>17)</sup>가 열살균법에 의한 유청단백질의 변성정도를 유청단백질소계수법, Kjeldahl법 및 고속단백액체크로마토그라피법으로 측정하여 비교하였는데, Batch 살균법 (63°C, 30분)에서는 20~30%, 고온순간살균법 (80°C, 30초)에서는 30~40%, 초고온 간접식 (145°C, 3초)은 50~70% 그리고 초고온 직접식 (142°C, 3초)은 40~55%로 본 실험의 Kjeldahl법 결과와 유사함을 나타내었다. 이들은 세가지 방법중에서

Table 1. Contents of nitrogen fractions of raw and market milks

N-fractions	TN	NCN	CN	NPN	WPN	DWPN	(mg/100g, % of TN)
Heating condition			mg/100g (% of TN)				
Raw	431.3	90.3 (20.9)	341.0 (79.1)	31.6 (7.3)	58.8 (13.6)		
LTLT (63°C, 30min)	460.5	69.9 (15.2)	390.6 (84.8)	26.9 (5.8)	43.1 (9.4)	15.7	26.7
HTST (72°C, 15sec)	457.8	68.0 (14.9)	389.8 (85.1)	28.5 (6.2)	39.5 (8.6)	19.3	32.9
UHT pasteurized							
A (130°C, 2~3sec)	450.8	51.9 (11.5)	398.8 (88.5)	28.5 (6.3)	23.5 (5.2)	35.3	60.1
B (135°C, 2sec)	455.1	55.7 (12.2)	399.3 (86.9)	30.9 (6.8)	24.9 (5.5)	33.9	57.7
C (130°C, 2sec)	442.7	51.5 (11.6)	391.1 (88.4)	31.2 (7.1)	20.3 (4.6)	38.5	65.5
D (135°C, 2sec)	446.5	53.1 (11.9)	393.4 (88.1)	29.4 (6.6)	23.7 (5.3)	35.1	59.6
UHT sterilized							
a (140°C, 2~3sec)	444.2	70.7 (15.9)	373.5 (81.8)	34.8 (7.8)	35.8 (8.1)	23.0	39.1
b (135°C, 2sec)	443.5	66.4 (15.0)	377.1 (82.8)	31.5 (7.1)	34.9 (7.9)	23.9	40.7
c (140°C, 3sec)	458.0	66.8 (14.6)	391.2 (85.4)	29.1 (6.3)	37.7 (8.2)	21.1	35.9
d (135°C, 4sec)	458.7	43.6 (9.5)	415.2 (90.5)	31.1 (6.8)	12.5 (2.7)	46.3	78.7

Number of samples, n=5

TN : total nitrogen, NCN : non-casein nitrogen, CN : casein nitrogen, NPN : non-protein nitrogen, WPN : whey protein nitrogen, DWPN : denatured whey protein nitrogen

Kjeldahl법과 고속단백액체크로마토그라피법간에는 전혀 차이가 없었으나 가열처리된 우유의 유청단백질 변성정도를 측정하는데는 고속단백액체크로마토그라피법이 유효한 방법이라고 소개하였다. 또한 Mottar 등<sup>16)</sup>은 초고온유의 평균 유청단백질의 변성정도가 간접식에서 68.1%, 직접식에서 53.3%로 본 실험 결과보다 다소 높았으며, Renner<sup>5)</sup>도 살균유의 유청단백질은 0~20%가 변성되고 간접식의 초고온유는 70~80%, 직접식의 초고온유는 40~60%가 변성된다고 보고함으로서 본 실험 결과보다 다소 높게 나타났으나 열처리법에 따른 경향은 같았다.

한편, 정<sup>15)</sup>이 보고한 유청단백질 변성정도는 고온순간살균유에서 19.5%, 초고온살균유에서 56.1%, 직접 가열 멸균유에서 58.5%로 열처리온도가 높아질수록 변성도 커지나 초고온살균유와 멸균유는 예상했던 것보다 변성정도의 폭이 매우 적게 나타났다고 하였으며, 김 등<sup>17)</sup>이 조사한 유청단백질 변성정도는 75°C에서 15분간 가열된 시료는 42.7%, 85°C에서 15분간 가

열된 시료는 65.6%, 130°C에서 2초간 가열된 시료는 69.7%, 135°C이상에서 2초간 가열된 시료의 경우 73.0%로 보고하였는데, 이들의 값은 본인들의 실험결과보다는 높았다. 본 실험 결과와 국내외에서 보고된 연구결과들을 비교종합하여 보면 유청단백질의 변성정도 측정이 우유의 열처리의 강도를 식별하는 지표로써 이용될 수 있을 것으로 생각되는 바, 시간과 일이 소요되는 Kjeldahl 방법보다 더 신속, 정확하고 안전한 정량법의 고안이 기대된다.

## 요 약

본 연구에서는 Kjeldahl 방법으로 시유의 질소분획물의 함량과 유청단백질 변성정도를 측정함으로써 이들이 시유의 열처리 정도를 비교할 수 있는 검색의 지표로서 타당하는지 알아보았다. 각 열처리법에 따른 질소분획물들의 함량을 보면, 원유에서는 시료 100g 당 총질소가 431.3mg, 케이신질소가 341.0mg, 비케이

신질소가 90.3mg, 이 중에서 비단백질소가 31.6mg 그리고 유청단백질소는 58.8mg을 보인 반면, 시유인 저온살균유, 고온순간살균유, 초고온처리유의 질소분획물들의 함량이 다르게 나타났다. 유청단백질 변성정도는 저온살균유가 26.7%, 고온순간살균유가 32.9%, 초고온살균유가 60.7%, 그리고 초고온멸균유가 38.4%를 보여 열처리 정도가 높아질수록 변성정도도 높게 나타남으로써 열처리법에 따라 유청단백질의 변성 정도의 구분이 뚜렷하였다.

## 문 헌

- Renner, E. : Storage stability and some nutritional aspects of milk powders and ultra high temperature products at high ambient temperatures. *J. Dairy Res.*, **55**, 125(1988)
- Jenness, R. and Patton, S. : *Principles of dairy chemistry*. Wiley and Sons, New York, p.283(1959)
- Sawyer, W. H., Norton, R. S., Nichol, L. W. and McKenzie, G. H. : Thermodenaturation of bovine  $\beta$ -lactoglobulin kinetics and the introduction of  $\beta$ -structure. *Biochem. Biophys. Acta*, **243**, 19(1971)
- Eigel, W. N., Butler, J. E., Ernstrom, C. A., Farrell, H. M. Jr., Harwalkar, V. R., Jenness, R. and Whitney, R. M. : Nomenclature of proteins of cow's milk. 15th revision. *J. Dairy Sci.*, **67**, 1599(1984)
- Renner, E. : *Milk and dairy products in human nutrition*. Volkswirt. Verlag, Munich, p.283 (1983)
- Renner, E. : Nutritional value of UHT milk. *Korean*

*Dairy Technol.*, **6** (2), 87 (1989)

- Hiller, R. M. and Lyster, R. L. J. : Whey protein denaturation in heated milk and cheese whey. *J. Dairy Res.*, **46**, 95 (1979)
- Hong, Y. H. : Nutritional and organoleptical aspects of UHT treated milk. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **14** (3), 276(1982)
- Ito, T. : 우유의 단백질 및 칼슘에 대한 가열의 영향. *유가공연구*, **6** (2), 106(1989)
- Manji, B. and Kakuda, Y. : Determination of whey protein denaturation in heat-processed milks : Comparison of three methods. *J. Dairy Sci.*, **70**, 1355 (1987)
- Rowland, S. J. : The precipitation of the proteins in milk. *J. Dairy Res.*, **9**, 30(1938a)
- Aschaffenburg, R. and Drewry, J. : New procedure for the routine determination of the various non-casein proteins of milk. XV. *Int. Dairy Congr.*, **3**(5), 1631(1959)
- Rowland, S. J. : The determination of the nitrogen distribution in milk. *J. Dairy Res.*, **9**, 42(1938b)
- 정충일 : 가열처리에 의한 우유의 생화학적 변화. *유가공연구*, **5**(1), 24 (1987)
- Mottar, J., Waes, G., Moermans, R. and Naudts, M. : Sensoric changes in UHT milk during uncooled storage. *Milchwiss.*, **34**, 257 (1979)
- 김석환, 박상진, 윤여창 : 열처리에 의한 유단백질 성분 변화에 관한 연구. *한국우수학회지*, **5**(2), 61(1983)

(1993년 2월 12일 접수)