

## WPI의 이화학적 특성과 항산화성에 관한 연구

김찬희\* · 안명수

성신여자대학교 식품영양학과

### A Study on the Physicochemical Properties and Antioxidative Activity of Whey Protein Isolate

Chan-Hee Kim\*, Myung-Soo Ahn

Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University

#### Abstract

In this study, physicochemical properties and the antioxidative activity of whey protein isolate(WPI) for corn germ oil were measured. The pH of WPI was 6.26, and the titrable acidity was 0.18%. The WPI's moisture content was 5.2% and each of the other element content such as lactose, crude protein, crude ash and crude fat was found to be 0.8%, 90.7%, 2.7% and 0.6%, respectively. The amounts of active SH group in WPI was  $9 \mu\text{M/g}$  and total colony counts of bacteria was  $5.9 \times 10^3 \text{ CFU/g}$ .  $\alpha$ -Lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin and bovine serum albumin(BSA) were shown in WPI as major protein by electrophoresis. The antioxidative effect of WPI and other antioxidants on corn germ oil used as substrate was determined by peroxide value(POV) and conjugated dienoic acid value(CDV). By these results, the order of antioxidative effects could be defined as BHT 0.02% > ascorbic acid 0.1% > WPI 0.1% > WPI 0.02% > ascorbic acid 0.02% > control > tocopherol 0.02% > tocopherol 0.1%, respectively. Also the induction period of corn germ oil added with WPI was longer by 1.6 times than that of control(none added any antioxidant). Therefore the fact suggested that WPI could be utilized as a good antioxidative agents.

**Key Words** : whey protein isolate, antioxidative activity, physicochemical properties

### 1. 서 론

유청(milk whey)은 치즈 제조나 카제인 생산시 분리되어 나오는 액상 부산물로서 우유의 약 90%를 차지하며 단백질, 유당, 무기질, 비타민, 미량성분 등을 함유하고 있고 물성향상, 향미증가 등 여러 가지의 영양적 가치와 물리적 기능 특성 때문에 식품첨가물 뿐만 아니라 질병치료제로서도 널리 이용되어 왔고 최근에는 생리적 기능으로 주목을 받게 되어 새로운 연구 및 이용 방법이 각국에서 진행되고 있다(Ha 2001). 특히 유청단백질의 임상학적인 효과로는 해독작용에 관여하는 간의 보호, 위질환의 치료, 통풍의 치료 그리고 혈청 콜레스테롤을 낮추 동맥경화를 간접적으로 치료, 예방하는 등이 보고된 바 있다(Hong 1983). 국내에서의 유청에 관한 연구는 유청제품의 이화학적 및 기능적 특성(Cho & Hong 1995), 유청을 이용한 유산균 발효유의 제조(Lee & Kim 1996), 유청분말을 첨가한 제면의 특성(Lee & Kim 2000), 유청단백질의 생리활성(Lee 2001) 등이 보고되어 있다. 요즘은 유청에서 생산된 다양하고 새로운 기능성 및 생리활성 원료가 상업적 제품으로서도 광범위하게 이용되고 있다(Lagarange 1998). 유청 제품의 유

형은 유청 그대로 건조시킨 유청분말(whey powder), 부분적으로 성분을 분리시켜 건조시킨 저유당유청(reduced-lactose whey)과 탈염유청(demineralized whey) 및 유당(lactose), 유청에서 비단백 성분을 제거하여 양질의 유청 단백질을 농축시켜 건조한 농축유청단백질(whey protein concentration, WPC)과 분리유청단백질(whey protein isolate, WPI)이 있다. 또 WPC에는 순도를 달리하여 단백질 함량을 34-80% 사이로 농축시킨 다양한 제품들이 있고 WPI는 단백질의 함량을 90% 이상 농축시킨 제품을 말한다. Helena(2000)는 우유에 함유되어 있는 superoxide dismutase나 glutathione peroxidase와 같은 효소들, 그리고 lactoferrin, ascorbic acid, tocopherol, carotenoids와 같은 비효소적인 요소들이 항산화작용을 한다고 보고하였다. 또 Youling(2003)은 돼지고기 튀김 시 WPI와 SPI(soy protein isolate)를 2% 농도로 첨가하여 냉장 저장하면서 TBA(thiobarbituric acid value)와 공액이중산가(conjugated dienoic acid value)를 측정할 결과 WPI 및 SPI 첨가군이 control보다 과산화물 생성이 분명하게 억제되었다고 보고하였다. 이처럼 WPI는 우수한 단백질 보충제로서 이용될 수 있을 뿐만 아니라 식품첨가물

\* Corresponding author : Chan-Hee Kim, Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University, 249-1 Dongseon-dong 3-ga Seongbuk-gu, Seoul, 136-742, Korea Tel : 82-2-920-7201 Fax : 82-2-921-4979 E-mail : chkim30@dreamwiz.com

중 항산화제로도 이용한다면 가공식품의 안전성 문제를 해결하는 데에도 도움이 될 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 WPI의 이화학적 특성을 조사하고 유지에 대한 항산화성을 측정하여 WPI의 항산화제로서의 이용 가능성을 알아보고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

WPI(Proliantine, Wisconsin, USA)는 분말 형태로 된 것을 2005년 10월 구입하였다. 그 외 시약은 Sigma사(St. Louis, USA)의 제품을 사용하였고 항산화효과 측정 시 이용한 기질유지는 항산화제가 전혀 들어있지 않은 옥배유(corn germ oil)를 (주)롯데삼강에서 공급받아 시료로 이용하였다.

### 2. pH와 산도 측정

pH 및 적정산도는 한국식품공업협회 식품공전(1990)의 방법에 따라 실시하였다. 즉 pH는 WPI를 10% 용액으로 만들어 pH meter(Orion, model 420A, USA)를 사용하여 25℃에서 측정하였으며 적정산도는 시료 10 g에 증류수 100 mL를 가하고 1% 페놀프탈레인 지시약 0.5 mL를 첨가하여 0.1 N NaOH 용액으로 적정하였고 이에 소요된 NaOH 용액을 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{적정산도} = \frac{A \times F \times 0.009}{\text{Weight of sample}} \times 100$$

A : 0.1 N NaOH 용액의 소비 mL

F : 0.1 N NaOH의 역가

0.1 N NaOH 1 mL = 0.009 g lactic acid

### 3. 일반성분 분석

WPI의 일반성분, 즉 수분, 조지방, 조단백, 조회분의 함량은 각각 AOAC방법(1990)에 설명된 상압가열건조법, Soxhlet 추출법, Kieldahl법, 건식회화법으로 측정하였다.

### 4. 유당 측정

유당 함량은 Calvo 등(1986)의 방법을 수정하여 분석하였다. WPI 2 g에 3차 증류수를 첨가하여 40 mL로 정용한 다음 homogenizer로 균질화하였다. 균질화된 현탁액을 4℃에서 15,000 rpm으로 원심분리시켜 상등액을 filter paper(Whatman No. 2)로 여과시켰다. 여과시킨 추출액을 0.45 µm PDF syringe filter로 다시 여과하여 활성화시킨 Sep-pak C<sub>18</sub> cartridge로 정제한 후 Bio-Liquid Chromatograph(Dionex, DX-2500, USA)를 이용하여 분석하였다. 이때의 분석조건은 <Table 1>과 같았다.

<Table 1> Operating conditions of Bio-LC for lactose analysis

Time (min)	Gradient		
	Flow (mL/min)	% A	% B
Initial	1	100	0
12.5	1	85	15
12.6	1	0	100
18.0	1	0	100
18.1	1	100	0
28.1	1	100	0

### 5. 활성 SH기 group 정량법

활성 sulfhydryl(SH)기 group은 Hardham 등(1986)의 방법에 따라 정량하였다. WPI 2% 수용액을 준비하고 Tris-glycine 완충용액(pH 8, 0.1 M Tris-HCl 10.4 g, glycine 6.9 g, EDTA 1.2 g을 1 L로 조제) 8 mL에 위의 단백질 용액 1 mL를 가한 용액을 Ellman시약(5, 5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid 4 mL를 Tris-glycine 완충용액 1 mL에 혼합 조제) 1 mL로 희석하고 22℃에서 30분간 방치 후 9 mL Tris-glycine 완충용액과 1 mL Ellman시약을 공시험액으로 하여 412 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음 식에 의하여 활성 SH기 group을 정량하였다.

$$\mu\text{M SH/g} = \frac{73.53 \times A_{412} \times D}{C}$$

C : mg solids/mL

D : dilution factor

### 6. WPI의 세균수 측정

WPI 1 g을 멸균된 식염수로 균질화한 후 1 mL를 취한 다음 10배 희석법으로 연속적으로 희석하고 표준평판 한천배지(Plate Count Agar, Difco, USA)를 이용하여 평판도말법에 의해 세균수를 측정하였다. 37℃에서 48시간 배양 후 colony 수를 측정하였고 세균수는 CFU(colony forming unit)/g log값으로 나타내었다.

### 7. 전기영동에 의한 WPI의 양상 분석

전기영동은 Laemmli의 방법(1970)에 따라 slab type(50×80×1mm : Hoefer Scientific사)의 SDS-PAGE(Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis)로 행하였다. 전기영동시 gel의 농도는 15%로 하였으며 40 mA 전압에서 90분간 실온에서 실시하였다. 전기영동 gel은 coomassie brilliant blue로 15분간 염색 후 초산-메탄올-증류수(1:3:6)의 혼합액에서 탈색하였다.

## 8. WPI의 유지에 대한 향산화력 측정

WPI의 향산화효과 측정은 향산화제 무첨가 옥배유를 100 mL 비이커에 각각 50 g씩을 담고 BHT 0.02%,  $\alpha$ -dl-tocopherol(Toc) 0.02% 및 0.1%, ascorbic acid(AsA) 0.02% 및 0.1%, WPI 0.02% 및 0.1%를 각각 첨가하여  $60 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 항온기(Daeyang Scientific Instrument, Korea)에서 30일간 저장하면서 3일 간격으로 각 시료를 채취하여 과산화물가(peroxide value, POV)와 공액이중산가(conjugated dienoic acid value, CDV)를 측정하였다. 과산화물가는 AOCS방법(1990)에 따라 측정하여 유지 1 kg당 밀리당량(milliequivalent weight:meq/kg oil)으로 나타내었다. 유도기간(induction period, IP)은 각 시료의 과산화물가가 100 meq/kg oil에 도달하는 시간을 임의적으로 설정하였고(Ahn 2004) 향산화효과의 상대적 크기를 보여주는 RAE(relative antioxidant effectiveness)는 control의 유도기간에 대한 각 향산화제를 첨가한 시료들의 유도기간의 백분율로 산출하였다. 공액이중산가(conjugated dienoic acid value)는 AOCS방법(1990)에 따라 UV-VIS Spectrophotometer(Pharmacia Biotech Ultraspec. 2000, Cambridge, England)를 사용하여 233 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 WPI와 향산화제들은 microemulsion방법(Yi 등 1990)을 이용하여 옥배유에 첨가하였다. 즉 WPI와 향산화제들은 각각 30% ethanol 용액에 녹인 후 span 20을 용해시킨 옥배유에 서서히 첨가하면서 hot plate magnetic stirrer로 교반하였다. 이때 hot plate의 온도는  $60^\circ\text{C}$ 였으며 용액과 유화제는 각각 1%(w/v)와 0.1%(w/v)씩 옥배유에 첨가하였다. 그리고 옥배유에 30% ethanol 용액과 span 20만을 첨가하여 control로 사용하였다.

## 9. 통계처리

통계처리는 Window용 SAS 6.2 version을 이용하여 분산분석(analysis of variance, ANOVA)을 실시하였으며 Duncan의 다중범위검정법(Duncan's multiple range test)으로 유의성을 검증하였고  $p < 0.05$ 에서 평균값 간의 유의적 차이를 구하였다(Lee 등 1998).

## III. 결과 및 고찰

### 1. WPI의 이화학적 특성

WPI의 이화학적 분석 결과는 <Table 2>에 제시된 바와 같았다.

#### 1) pH와 산도 및 일반성분 함량

WPI의 pH는 6.26, 산도는 0.16%로 우유의 규격 기준(Moon 2003)과 동일하였다. 이는 Cho & Hong(1995)이

<Table 2> Physicochemical characteristics of WPI

Moisture	5.2%
Ash	2.7%
Protein	90.7%
Lipid	0.6%
Lactose	0.8%
pH	6.26
Acidity	0.16%
Active SH group	9 $\mu\text{M/g}$
Total bacterial count	$5.9 \times 10^3$ CFU/g

보고한 유청분말의 pH 5.70-6.58, 적정산도 0.10-0.24%와 유사한 수치였고 Leubenau-Nestle(1986)이 제시한 유청분말의 pH 5.8-6.5와도 유사하였다. 적정산도는 제품 중의 유기산 함량을 측정하여 신선도와 품질 수준을 파악하는 지표로 수치가 높을수록 신선도와 품질이 저하되었음을 의미하는데 Evans & Gorden(1980)이 보고한 유청분말의 산도는 0.1%인 것에 비해 WPI의 산도가 약간의 차이를 보인 것은 우유를 농축 또는 분말화하면 산도가 높아진다는 Moon(2003)의 이론과 관련이 있을 것으로 해석된다. 한편 세균수는  $5.9 \times 10^3$  CFU/g으로 나타나 우유의 규격 기준(Moon 2003)보다 낮은 수치를 보였다. WPI는 단백질 농축제품이므로 수분, 지방, 단백질, 회분, 유당의 함량은 각각 5.2, 0.6, 90.7, 2.7, 0.8%이었다.

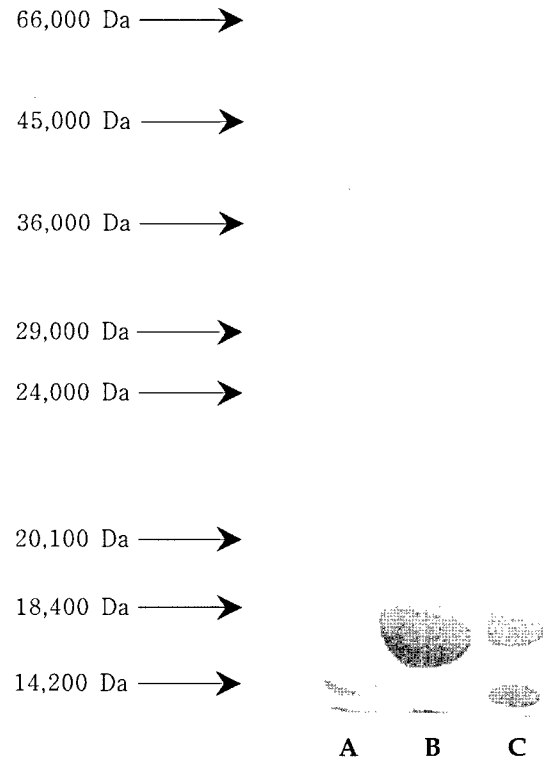
#### 2) 활성 SH기 group 함량

WPI의 활성 SH기 group의 양을 측정한 결과는 9  $\mu\text{M/g}$ 으로 나타났다. 이는 Cho & Hong(1995)이 제시한 유청분말의 활성 SH기 group 함량 0.29-4.83  $\mu\text{M/g}$ , Ha & Jung(1995)이 보고한 WPI의 활성 SH기 group 함량 6.09  $\mu\text{M/g}$ 보다도 높은 양이었다. 유청단백질의 활성 SH기 group의 중요한 출처는  $\beta$ -lactoglobulin으로서 Kella 등(1989)에 의하면 이것은 자연상태에서는 우유 단백질에서 dimer로 존재하는데 열처리 등과 같은 에너지에 의한 변성으로 구조 변화가 일어나 monomer로 분리되고 내부에 있던 SH기 group이 외부로 노출된다고 보고하였고  $\beta$ -lactoglobulin은  $130^\circ\text{C}$ 에서 완전히 변성되는데 이때 함유한 아미노산인 methionine, cysteine, cystine 등이 가열취를 야기시키는 SH기 group을 생성시킨다고 하였다. 본 실험에서 사용한 WPI도  $\beta$ -lactoglobulin의 함량이 전체 단백질 비율의 50%를 차지하고 있기 때문에 활성 SH기 group의 함량이 높은 것으로 생각된다. 식품 산업에 많이 이용되고 있는 gel 형성능에 중요한 역할을 하는 활성 SH기 group의 함량이 높다는 것은 gel 형성능이 높다는 것을 의미한다(Paulsson 1982). 또한 요쿠르트 제조시에 변형 형태의  $\beta$ -lactoglobulin을 첨가하면 요쿠르트의 gel화가 6-10배 정도 빠르게 형성되었고 이 액현상(syneresis)도 83%나 감소하는 효과를 보였다고

알려져 있다(Anon 1994). 따라서 WPI를 콜로이드 식품에 이용한다면 식품의 물성 및 조직감이 향상될 것이라고 사료된다.

3) WPI의 전기영동 양상

전기영동에 의한 WPI의 단백질 양상을 알아본 결과는 <Figure 1>과 같았다. WPI 단백질 분획들의 양은 측정되지 않았지만 α-lactalbumin, β-lactoglobulin, BSA(bovine serum albumin)가 확실하게 나타났으며 그 밖에 WPI에 함유되어 있는 것으로 추정되는 protease, peptone, immunoglobulin, lactoferrin, lactotransferrin 등의 band들은 미량으로 들어있기 때문인지 잘 보이지 않았다. 또 전기영동 결과 β-lactoglobulin의 band가 가장 넓게 분포되어 있는 것으로 봐서 β-lactoglobulin이 전체 WPI의 50%를 차지한다는 보고(Hong & Row 2001)와도 일치함을 보였다. β-Lactoglobulin은 유청단백질의 반을 차지하고 단위체의 분자량은 18,400 Da이나 되는 거대분자로 pH 3.5 이하와 pH 7.5 이상에서는 monomer로 존재하나 pH 3.5-7.5 범위에서는 dimer로 존재한다. 또 일반적으로 식품에 첨가될 때 지용성 용매나 운반체를 필요로 하는 지용성 비타민과의 결합능력이 우수하다고 알려져 있다(Lagarange 1998). 이런 측면에서 WPI를 이용한다면 무지방 식품의 경우에 지용성 비타민을 용이하게 적용시킬 수 있을 것이라고 생각된다. α-Lactalbumin은 분자량이 14,200 Da으로 주로 유아의 소화



<Figure 1> SDS-PAGE patterns of WPI

Lane A : Standard  
Lane B : β-Lactoglobulin  
Lane C : WPI

<Table 3> Peroxide values of corn germ oil with each antioxidant and WPI stored at 60 ± 2°C for 30 days (meq/kg oil)

Antioxi- dants	Storage period (days)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control <sup>1)</sup>	4.91 ±0.07 <sup>5)a6)</sup>	5.91 ±0.01 <sup>d</sup>	18.84 ±1.02 <sup>c</sup>	70.70 ±0.40 <sup>c</sup>	109.38 ±1.85 <sup>c</sup>	158.90 ±0.29 <sup>c</sup>	193.52 ±0.37 <sup>b</sup>	214.26 ±0.18 <sup>c</sup>	243.65 ±0.87 <sup>b</sup>	251.80 ±1.26 <sup>c</sup>	276.37 ±1.06 <sup>c</sup>
BHT 0.02%	1.48 ±0.50 <sup>d</sup>	3.92 ±0.01 <sup>f</sup>	4.92 ±0.06 <sup>f</sup>	5.44 ±0.48 <sup>g</sup>	8.43 ±0.49 <sup>g</sup>	12.84 ±0.01 <sup>g</sup>	18.98 ±0.01 <sup>h</sup>	30.32 ±0.53 <sup>h</sup>	48.34 ±0.39 <sup>h</sup>	78.68 ±0.15 <sup>h</sup>	95.22 ±1.32 <sup>h</sup>
WPI <sup>2)</sup> 0.02%	2.97 ±0.03 <sup>c</sup>	3.44 ±0.48 <sup>g</sup>	3.95 ±0.02 <sup>g</sup>	17.93 ±0.07 <sup>e</sup>	48.34 0.52 <sup>e</sup>	57.79 ±0.85 <sup>e</sup>	102.05 ±0.02 <sup>e</sup>	111.59 0.31 <sup>f</sup>	156.24 ±1.62 <sup>d</sup>	177.29 ±0.50 <sup>d</sup>	186.77 ±0.63 <sup>e</sup>
WPI 0.1%	4.12 ±0.26 <sup>b</sup>	4.77 ±0.27 <sup>e</sup>	7.97 ±0.01 <sup>e</sup>	15.92 ±0.01 <sup>f</sup>	25.37 ±0.41 <sup>f</sup>	55.05 ±0.46 <sup>f</sup>	87.85 ±0.36 <sup>f</sup>	116.22 ±0.83 <sup>e</sup>	135.42 ±1.47 <sup>f</sup>	155.09 ±0.43 <sup>f</sup>	192.92 ±0.27 <sup>d</sup>
AsA <sup>3)</sup> 0.02%	1.48 ±0.49 <sup>d</sup>	6.90 ±0.03 <sup>c</sup>	17.87 ±0.01 <sup>d</sup>	43.80 ±2.90 <sup>d</sup>	69.20 ±0.35 <sup>d</sup>	96.30 ±3.12 <sup>d</sup>	134.39 ±0.33 <sup>d</sup>	145.36 ±0.69 <sup>d</sup>	151.12 ±1.27 <sup>e</sup>	159.34 ±0.53 <sup>e</sup>	181.14 ±0.74 <sup>f</sup>
AsA 0.1%	0.99 ±0.01 <sup>d</sup>	0.99 ±0.01 <sup>h</sup>	1.00 ±0.00 <sup>h</sup>	1.49 ±0.50 <sup>h</sup>	2.50 ±0.51 <sup>h</sup>	7.98 ±1.98 <sup>h</sup>	24.83 ±1.95 <sup>g</sup>	73.25 ±2.38 <sup>g</sup>	81.75 ±0.99 <sup>g</sup>	114.96 ±0.30 <sup>g</sup>	143.79 ±1.12 <sup>g</sup>
Toc <sup>4)</sup> 0.02%	3.46 ±0.48 <sup>c</sup>	7.91 ±0.00 <sup>b</sup>	27.82 ±0.03 <sup>b</sup>	82.10 ±0.55 <sup>b</sup>	122.04 ±1.06 <sup>b</sup>	164.93 ±0.13 <sup>b</sup>	183.67 ±0.10 <sup>c</sup>	233.66 ±0.22 <sup>b</sup>	239.57 ±1.24 <sup>c</sup>	258.07 ±0.31 <sup>b</sup>	290.33 ±0.01 <sup>b</sup>
Toc 0.1%	4.40 ±0.46 <sup>ab</sup>	17.29 ±0.48 <sup>a</sup>	49.66 ±0.89 <sup>a</sup>	98.80 ±0.88 <sup>a</sup>	138.74 ±0.11 <sup>a</sup>	187.76 ±0.34 <sup>a</sup>	217.35 ±0.13 <sup>a</sup>	252.76 ±1.59 <sup>a</sup>	258.89 ±0.25 <sup>a</sup>	279.67 ±0.82 <sup>a</sup>	295.84 ±0.37 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Control : Added none of antioxidant

<sup>2)</sup> WPI : Whey protein isolate

<sup>3)</sup> AsA : Ascorbic acid

<sup>4)</sup> Toc : dl-α-Tocopherol

<sup>5)</sup> Means ± SD(n=3)

<sup>6)</sup> Means with same superscript letters within a row are not significantly different at α=0.05 level as determined by Duncan's multiple range test

<Table 4> Induction period(IP) and relative antioxidant effectiveness(RAE) of the corn germ oils with each antioxidant and WPI stored at 60±2°C for 30 days

Antioxidants (%)	IP <sup>1)</sup> (period)	RAE <sup>2)</sup> (%)
Control	10.9	100
BHT 0.02%	31.5	289
WPI 0.02%	17.6	161
WPI 0.1%	18.1	166
AsA 0.02%	13.4	123
AsA 0.1%	23.5	216
Toc 0.02%	9.8	90
Toc 0.1%	8.6	79

<sup>1)</sup> IP: Period until POV 100 meq/kg oil of oil

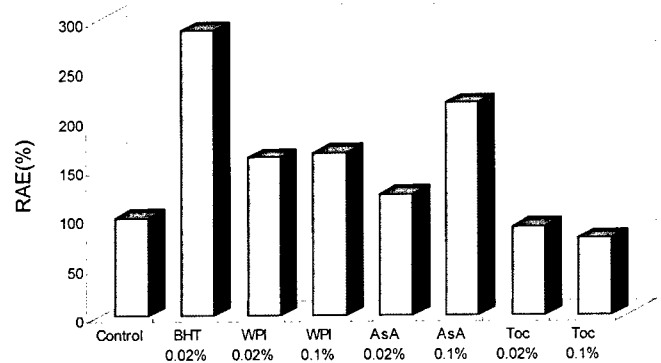
<sup>2)</sup> RAE =  $\frac{\text{IP of antioxidant added substrate}}{\text{IP of the control}} \times 100$

촉진제로 사용되고 있다. Immunoglobulin은 여러 가지 다른 크기의 glycoprotein들로 구성되어 있고 일반적으로 면역력을 갖는 것으로 알려져 있다(Arabelle 등 1999).

2. WPI의 유지에 대한 항산화 효과

1) 과산화물가, 유도기간 및 상대적 항산화 효과

WPI와 기존의 항산화제를 첨가한 옥배유의 과산화물가는 <Table 3>에 나타내었다. 저장 12일 후 항산화제를 첨가하지 않은 control의 POV가 109.38 meq/kg oil 인데 비하여 WPI 0.02, 0.1% 첨가기질의 POV는 각각 48.34, 25.37 meq/kg oil로 나타나 저장 전반기에는 우수한 항산화효과를 보였다. 이때 항산화효과의 크기는 ascorbic acid 0.1%>BHT 0.02%>WPI 0.1%>WPI 0.02%>ascorbic acid 0.02%> control>tocopherol 0.02%>tocopherol 0.1%의 순이었다. 저장 15일 쯤까지 BHT 첨가기질보다 ascorbic acid 0.01% 첨가기질의 항산화효과가 우수한 것은 ascorbic acid를 기질유지에 첨가할 때 microemulsion 방법을 사용하였음에도 불구하고 친수성 항산화제이므로 기질유지에 균일하게 분산되지 않음에 의해 나타난 결과라고 생각된다. WPI와 기존의 항산화제를 첨가한 각 기질의 유도기간도 <Table 4>에 나타내었다. Control의 유도기간이 10.9일로 나타난 것에 비하여 BHT 0.02% 첨가기질의 경우는 31.5일로 가장 긴 유도기간을 나타내었고 WPI 0.02, 0.1% 첨가기질의 경우에는 각각 17.6일, 18.1일로 나타나 산패가 확실히 지연됨을 알 수 있었다. 항산화효과의 상대적인 크기를 RAE(relative antioxidant effectiveness)로 산출한 결과에서는 dl- $\alpha$ -tocopherol이 79로 나타나 오히려 산화촉진의 결과를 보였는데 그 이유 중의 하나는 항산화제의 첨가방법 때문이라고 생각된다. 항산화제로서 dl- $\alpha$ -tocopherol이 불안정한 사실은 이미 논문에 보고된 바 있다(Cillard 등 1980). 한편 WPI 0.02%와 0.1% 첨가기질의 경우 RAE가 각각 161, 166으로 나타나 control

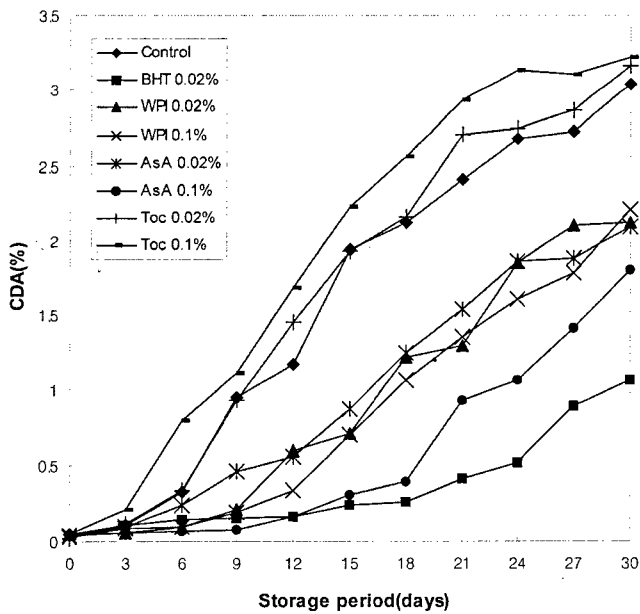


<Figure 2> Relative antioxidant effectiveness of the corn germ oil with each antioxidant and WPI stored at 60±2°C for 30 days

보다도 약 1.6배의 유도기간 연장 효과를 보였다. RAE에 의한 각 항산화물질의 항산화효과 크기는 <Figure 2>에서 보는 것과 같이 BHT 0.02%>ascorbic acid 0.1%>WPI 0.1%>WPI 0.02%>ascorbic acid 0.02%>control>tocopherol 0.02%>tocopherol 0.1%의 순으로 나타나 WPI의 항산화성을 분명히 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 WPI가 천연물질로 고단백질 식품이면서 많은 양을 섭취하여도 문제가 생기지 않으므로 천연 항산화제인 ascorbic acid나 첨가량에 제한을 두는 합성 항산화제 BHT보다는 사용이 훨씬 용이하면서 그 범위가 확대될 것으로 사료된다. Youling(2003)도 WPI와 WPI 가수분해물을 첨가하여 제조한 돼지고기 patty를 튀김 후 저장할 때 첨가하지 않은 control보다 산화가 분명히 지연됨을 나타냈다고 보고하였다. WPI의 항산화력은 WPI 단백질 분획물 중 미량으로 들어있는 lactoferrin에 의한 것으로 추정된다. Lactoferrin이 free radical의 형성을 촉매하는 2가 금속이온과 결합함으로써 금속이온에 의한 산화작용을 억제시킨다고 보고(Gutteridge 1991)된 바 있어 이런 측면에서 항산화 특성이 있다고 생각된다.

2) 공액이중산가 결과

WPI 및 항산화제를 첨가한 옥배유를 60±2°C에서 저장하면서 3일 간격으로 측정된 공액이중산 함량(CDA, %)은 <Figure 3>과 같았다. CDA는 유지의 산화 초기에 산소 흡수량과 비례해서 형성되는 공액형 이중결합의 함량(%)을 측정하는 방법이다. 이것은 독립형 이중결합을 가진 유지가 산화 과정에서 이중결합의 위치가 변하여 공액형 이중결합을 만드는 것으로 산화 초기 단계에서는 증가하고 나중에는 공액 이중결합을 가지는 과산화물이 분해됨에 따라 감소된다. 따라서 산화 정도를 나타내는 경향이 POV와 유사하게 나타난다. 본 실험에서도 저장 중 각 기질의 CDA 변화는 POV와 비슷한 경향을 보였다. 저장 6일 쯤에 control의 0.33과 비교시 WPI 첨가군들의 CDA는 첨가량에 관계없이 0.1을 나타내어 항산화효과를 보였다. 저



<Figure 3> Changes of conjugated dienoic acid values of corn germ oil added with BHT, Toc, AsA, WPI stored at 60 ±2°C for 30 days

장 12일 째의 CDA는 control의 경우 1.94, WPI 0.02%의 경우 0.71, WPI 0.1%의 경우 0.7을 나타내어 저장 초기에는 WPI의 항산화효과가 유의적(p<0.05)으로 큰 것을 알 수 있었다. 즉 WPI는 산화 초기에 형성되는 공액이중산 함량을 감소시키는 능력이 우수하였다. 저장 15일 째 CDA로 본 항산화효과의 순서는 BHT 0.02%>ascorbic acid 0.1%>WPI 0.1%>WPI 0.02%>ascorbic acid 0.02%>tocopherol 0.02%>control>tocopherol 0.1% 이었고 저장 30일 째까지 지속적으로 유사한 경향을 보였다. 이러한 결과는 POV와 일치한 경향을 보여 WPI의 항산화성을 확인할 수 있었다.

#### IV. 요약 및 결론

우유 유청의 성분에서 단백질을 90% 이상 농축 분리시킨 WPI는 단백질 보충제로서 뿐만 아니라 다양한 기능성을 가지고 있어 여러 종류의 식품 원료에 이용할 수 있는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 WPI의 이화학적 특성과 항산화성을 조사하여 항산화제로서의 이용 가능성을 알아보고자 하였다. WPI의 pH는 6.26, 적정산도는 0.18% 이었으며 수분, 지방, 단백질, 회분, 유당의 함량은 각각 5.2, 0.6, 90.7, 2.7, 0.8%, 활성 SH group 함량은 9 μM/g, 세균수는 5.9×10<sup>3</sup> CFU/g이었다. 전기영동에 의한 WPI의 단백질 양상은 α-lactalbumin, β-lactoglobulin, BSA(bovine serum albumin)의 band가 뚜렷하였으며 β-lactoglobulin의 band가 가장 넓게 분포하였다. 옥배유에 WPI와 기존의 항산화제(BHT, dl-α-tocopherol, ascorbic acid)를 첨가하여 60°C에서 저

장하면서 과산화물가(POV)와 공액이중산가(CDV)를 측정 한 결과 tocopherol 첨가군을 제외한 모든 첨가기질이 control보다 높은 항산화력을 나타내었다. 항산화효과의 상대적인 크기를 보여주는 RAE(relative antioxidant effectiveness)도 control을 100%로 정했을 때 WPI는 166%를 나타내어 확실한 항산화효과를 보였다. 따라서 분명한 항산화효과를 나타내는 WPI를 식품 가공시 이용한다면 활용도가 높을 것으로 사료된다.

#### ■ 참고문헌

Ahn MS. 2004. Food chemistry. Sinkwang Press, Seoul, Korea. pp 222-223

AOAC. 1990. Official methods of analysis 15th ed. Assosiation of Official Analytical Chem. Soc. Washington DC. U.S.A.

AOCS. 1990. Official and Tentative Methods cd 8-53 4th ed. American Oil Chem. Soc. Illinois. U.S.A.

AOCS. 1990. Official and Tentative Methods Ti-la-64 4th ed. American Oil Chem. Soc. Illinois. U.S.A.

Anon J. 1994. Cornell scientists engineer milk protein to improve yogurt manufacture. Genetic Engineering News, 15: 32

Arabelle Muller, Georges Daufin, Bernaed Chaufer. 1999. Ultrafiltration modes of operation for the separation of α-lactalbumin from acid casein whey. J. of Membrane Sci., 153: 9-12

Calvo MM, Olano A, Reglero G. 1986. Analysis of free carbohydrates in milk using micropacked columns. Chromatographia, 21: 538

Cho SJ, Hong YH. 1995. Physicochemical and functional properties of commercial whey powders. Korean J. Food Sci. Technol., 27(2): 151-155

Cillard J, Cormier M, Girre E. 1980. α-Tocopherol prooxidant effect in aqueous media increased autoxidant rate of linoleic acid. J. Am. Chem. Soc., 57(8): 252

Evans MAT, Gordon JF. 1980. Whey protein. In applied protein chemistry. Applied Sci. Publisher Ltd. London. p 31

Food Code. 1990. Korea food industry association. pp 81-93

Gutteridge JM. 1991. Inhibition of lipid peroxidation by the iron-binding protein lactoferrin. Biochem. J., 199: 259-261

Ha YW. 2001. Milk, the rich source of bioactive ingredients for functional, nutraceutical and pharmaceutical industry. Dairy Industry and Technol., 1: 93-124

Hardham JF. 1981. The determination of total and reactive sulfhydryl of whey protein concentration. J. Dairy Technol., 35: 153

Ha JU, Jung KI. 1995. Functional and structural properties of hydrolysates from sodium caseinate, whey protein isolate and mackerel protein isolate. The research institute of

- engineering technology Kyungnam University. Theses collection Vol 13. pp 631-701
- Helena Lindmark-Mansson. 2000. Antioxidative factors in milk. *British J. Nutr.*, 84(1): 103-110
- Hong YH. 1983. Nutritional properties and utilization of bovine whey. *Korean J. Nutr. Soc.*, 16(3): 137-145
- Hong SB, Row KH. 2001. Separation characteristics of whey protein by high performance membrane chromatography. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 16(6): 533-537
- Kella NKD, Yang ST, Kinsella JE. 1989. Effect of disulfide bond cleavage on structural and interfacial properties of whey proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 37: 1203
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage. *Nature*, 227: 680-685
- Lee KY, Kim SK. 1996. Manufacture of the fermented product by lactic acid bacteria with sweet whey. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, 16(1): 52-61
- Lee KH, Kim KT. 2000. Properties of wet voodle changed by the addition of whey powder. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 32(5): 1073-1078
- Lee SW. 2001. Biological activity of whey proteins and peptides. *J. Korean Dairy Technol. Sci.*, 19(2): 103-115
- Lee KH, Park HC, Her ES. 1998. *Statistics and Data Analysis Method*. Hyoil Press, Seoul, Korea. pp 253-296
- Mair-Waldburg H, Leubenau-Nestle R. 1986. DLG-Dauermilchpruefungen 1975-1984. *Deutsche MolkreiZtg.* pp 197-446
- Moon JO. 2003. *Milk and dairy product science*. Yuhansa, Seoul, Korea. pp60-62
- Paulsson M. 1982. Thermal denaturation and gelation of whey proteins and their adsorption at the air/water interface. *J. Dairy Sci.*, 65: 211
- Lagrange V. 1998. U.S. Whey proteins and new fractions and innovative nutraceuticals. *J. Korean Dairy Technol. Sci.*, 16(2): 106-118
- Yi OS, Han D, Shin HK. 1990. Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oil via reversed micelles. *J. Food Sci.*, 55(1): 247
- Youling L Xiong. 2003. Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties. *Meat Sci.*, 64: 259-263

---

(2006년 11월 13일 접수, 2007년 1월 26일 채택)