

Polyacrylamide Gel 전기영동법에 의한 생유 및 살균처리유의 Whey 단백질 조성에 관한 비교 연구

남궁석 · 우세홍 · 조종후*
서울보건전문대학, *전북대학교 수의과대학

Comparative Studies on Protein Composition of Whey from Raw and Pasteurized Milk by Polyacrylamide Gel Electrophoresis

Sok Namkung, Se-Hong Woo and Jong-Hoo Cho*

Seoul Health Junior College, Seoul Korea, *Chonbuk National University, Chonju, Korea

Abstract—Whey proteins in milk were analyzed by polyacrylamide gel electrophoresis and compared with respect to electrophoregrams, densitograms and concentrations of whey proteins in raw and market milk classified according to 3 kinds of pasteurization by low temperature long time, high temperature short time and ultra-high temperature short time.

Relative composition of major whey protein constituents such as bovine serum albumin, α -lactalbumin and β -lactoglobulin in raw milk were 3.71:11.44:84.85 and not affected by low temperature long time and high temperature short time pasteurization, even though there were the tendencies of some declining in the actual concentrations.

But by ultra-high temperature short time pasteurization compositions of whey protein were changed to 0: 64.75: 35 in which reflected the disappearance of bovine serum albumin and the extensive decrease of β -lactoglobulin.

Storage of low temperature pasteurized milk at 5°C resulted in a slight decrease of α -lactalbumin and β -lactoglobulin, but storage at 25°C did not make any changes until 3rd days of storage.

Most of whey proteins in high temperature short time pasteurized milk were not affected during storage at 5°C and 25°C, but bovine serum albumin and α -lactalbumin diminished in 2-3 days of storage.

Whey proteins of milk treated with ultra-high temperature were not affected during storage at 5°C and 25°C except a slight decrease of α -lactalbumin in 2nd day of storage at 5°C.

Keywords □ Whey protein, Pasteurization, Polyacrylamide gel electrophoresis

우유의 성분조성은 오염된 세균에 의하여 급속히 부패되고 변성을 초래하기 쉽기 때문에 여러가지 살균처리법이 개발되어 우유를 오랜시간 보존하는데 이용하고 있다.¹⁾

우유중 액상부분인 whey(乳清)중에는 가용성분

으로 단백질, 유당, 비타민류, 무기질 등이 함유되어 있으며 이중 가용성 단백질들은 생화학적으로 중요할뿐 아니라 유가공시에 크게 제품에 영향을 미치므로 각종 살균처리법에 의하여 일어나는 whey 단백질의 열변성에 관한 연구가 많이 보고되고 있다.²⁻⁹⁾

Whey 단백질의 연구를 위한 단백질의 분리정량은 겔여과법^{5,10)}, 크로마토그래피법^{7,11)} 전기영동법^{3,4,6)}

Received for Publication 28 November, 1990

Reprint request: Dr. Sok Namkung at the above address

¹²⁻¹⁷⁾ 등에 의하여 좋은 결과를 얻을 수 있으나 근래에는 polyacrylamide 겔 전기영동법이 폭넓게 이용되고 있다.

특히 Darling과 Butcher¹²⁾, Hillier,⁴⁾ Ng-Kwai-Hang과 Kroeker¹³⁾ 등은 polyacrylamide 겔 전기영동법으로 주요 whey 단백질질을 분리정량하는 방법을 개발하였으며 현재 많이 이용되고 있는 방법들로 생각된다. 그러나 분석 결과는 보고자에 따라 Whey 단백질들의 함량과 상대적비율에서 상당한 차이를 보이고 있으며 이는 우유의 개체차이나 유전적원인, 사육환경에 따른 차이에 기인할 것으로 추정되고 있다.

우유의 살균처리법은 저온살균법(63~65°C에서 30분간 가열), 고온순간살균법(72°C~75°C에서 15초~20초간 가열), 초고온순간살균법(130°C~150°C에서 0.5초~2초간 가열)의 3가지로 규정되어 있으며¹⁸⁾ 우리나라의 대부분의 우유처리장에서는 초고온순간살균법을 가장 많이 이용하고 있고 저온살균법과 고온순간살균법은 매우 드물게 이용되고 있다.

단백질의 열변성을 쉽게 일으키는 성분으로 살균 방법에 따라 whey 단백질성상에서도 영향을 주는 것으로 밝혀지면서 특히 단백질의 분리정량법이 향상되면서 whey 단백질의 열변성에 관한 많은 연구가 이루어지고 있다. Elfmag과 Wheelock⁵⁾은 75°C 이상으로 우유를 처리할 때 α -lactalbumin과 β -lactalbumin이 감소한다고 보고한 바 있으며 Adams 등은³⁾ 초고온순간살균법으로 처리할 때 α -lactalbumin 21%, β -lactoglobulin이 34% 감소한다고 보고하여 고온처리가 whey 단백질의 변성을 초래함을 입증했다. 그러나 그 보고예가 많지 않고 보고된 결과도 일치하지 않으며 특히 시판되고 있는 각종 살균처리우의 whey 단백질조성에 관한 보고는 전혀 없었다. 그러므로 본 연구에서는 우리나라에서 생산되는 생유와 함께 시판되고 있는 각 살균처리우를 처리 방법별로 분류하여 whey 단백질조성에 변화를 주었는지에 관하여 polyacrylamide 겔 전기영동법으로 조사하여 비교하였다. 아울러 살균처리법을 달리한 시유에 대하여 보존기간 중에 whey 단백질조성에 변화를 주는지에 관해서도 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료— 실험우유는 생유, 집유한생유, 저온살균유, 고온순간살균유, 및 초고온순간살균유로 구분하여 실험하였다. 생유는 전북대학교 부속목장에서 사육중인 Holstein종 유우 10두와 전주 근교목장에서 사육중인 Holstein종 유우 10두로부터 채유하여 생유실험유로 하였다. 집유한 생유는 전주 소재 유처리장에서 집유한 생유를 실험유로 하였다. 살균처리유는 오전에 시판을 위하여 전주지역에 배달된 우유를 표기된 살균법에 따라 분류한 각 살균처리유 20예를 발취하여 분석하였다.

Whey 단백질의 polyacrylamide 겔 전기영동— 실험유 5 ml에 0.34% 아세트산 10 ml를 가하여 pH 4.6으로 만든다음 응집된 casein을 여과하여 제거하였다. 분리한 whey의 전기영동을 위한 시료는 whey와 glycerol 및 표지염료로서 0.1% bromphenol blue-alcohol용액을 4 : 1 : 1로 희석하여 사용하였다.

Polyacrylamide 겔 전기영동은 Ng-Kwai-Hang과 Kroeker¹³⁾의 추천에 따라 12% polyacrylamide 농도가 되도록 조제하였으며 이때에 사용한 완충액과 다른 시약들의 농도는 Hillier⁴⁾의 방법에 준하였다. 즉, pH 8.9의 tris buffer(46g tris and 4 ml conc-HCl/l) 20 ml에 2.4 g의 acrylamide와 0.08 g의 N, N'-methylene bis acrylamide를 가하여 혼합하고 여기에 0.02 g의 ammonium persulfate와 0.02 ml의 N, N, N', N'-tetramethyl ethylenediamine을 가하여 혼합한 용액으로 slab겔을 만들었다.

electrode buffer(pH 8.3)는 0.6 g의 tris와 2.9 g의 glycine을 1 l의 증류수에 용해하여 사용하였다.

표준단백질은 Sigma 회사의 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin A 및 β -lactoglobulin B를 각각 0.1 M phosphate buffer에 용해하여 1 μ g/10 μ l로 만들었고 bovine serum albumin은 0.5 μ g/10 μ l로 만들어 사용하였다. 이들 각각의 표준단백질시료 10 μ l를 slab 겔에 가하여 200 V에서 표지염료가 하단에 도달할때까지 전기영동시켰다.

Whey 단백질시료의 전기영동은 먼저 내부 표준단백질로 β -lactoglobulin A을 가하여 200 V에서 10분간 전기영동시킨후 여기에 시료용액 5~10 μ l를 추가하여 200 V에서 표지염료가 하단에 도달할때까지 전기영동시켰다.

전기영동이 완료되면 즉시 겔을 분리하여 12% trichloroacetic acid에 넣어 단백질을 고정시킨후

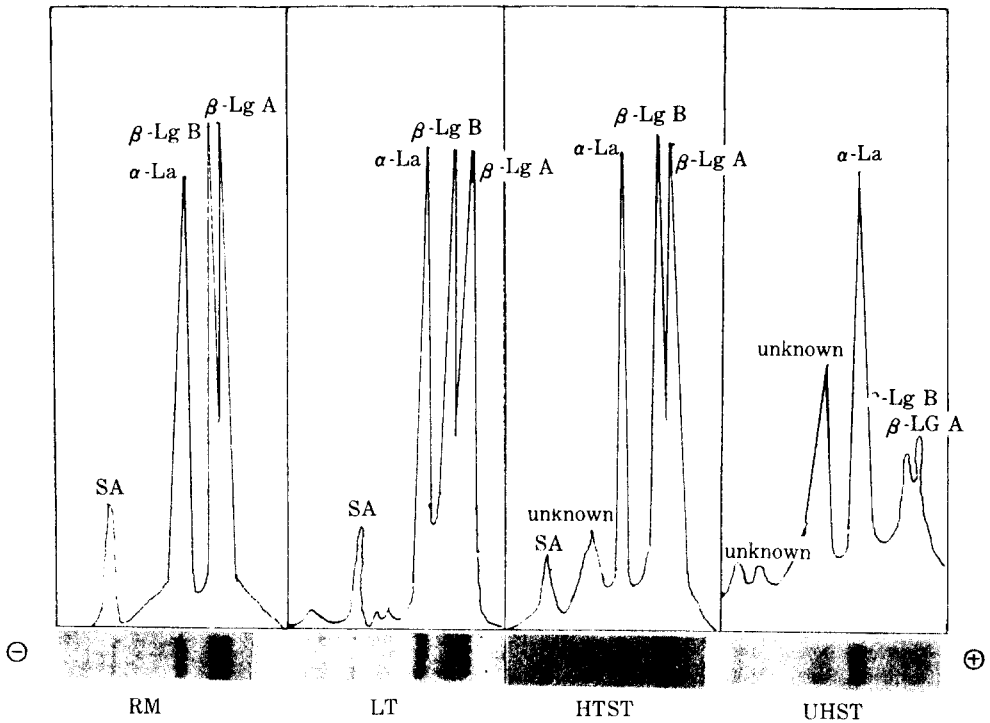


Fig. 1. Electrophorogram and densitograms of whey protein of bovine milk separated by polyacrylamide gel electrophoresis.

RM: raw milk, LT: low-temperature pasteurization, HST: high-temperature short-time pasteurization, UHST: ultra-high temperature short-time pasteurization, SA: serum albumin, α -La; α -lactalbumin, β -LgA; β -lactoglobulin A, β -LgB; β -lactoglobulin B.

염색액(25% methanol 25 ml, 7% CH_3COOH 7 ml 및 증류수 68 ml의 혼합액에 coomassie brilliant blue 0.25 g을 용해함)에 넣어 염색하였고 과량의 색소는 탈색액(methanol 270 ml, CH_3COOH 70 ml 및 증류수 660 ml를 가하여 만듦)에 넣어 탈색시켰다.

본 시험에 사용한 전기영동장치는 수직형전기영동장치(Korea Manhattan Co.)를 사용하였고 모든 시약들은 전기영동용 또는 G.R.급의 시약을 사용하였다.

전기영동상의 scanning과 각 단백질의 함량계산—탈색이 완료된 전기 영동겔은 겔건조기 (Vision Scientific Co)로 건조시킨후 chromatogram densitometer(Desaga CS 930)를 사용하여 scanning 하였다.

각 whey 단백질들의 함량은 각시료의 densitogram 중의 내부표준단백질의 면적으로 부터 환산하

여 각 표준단백질의 면적을 구하고 시료중의 해당 단백질의 densitogram에 나타난 면적과의 상대적비율을 곱하여 상응하는 단백질함량을 산출하였다. whey 단백질들의 조성비는 각 단백질의 함량을 백분율로 환산하여 구하였다.

결과 및 고찰

생유와 살균처리유의 whey 단백질의 전기영동상 및 densitogram—생유와 시중에서 발취한 각 살균처리유에서 whey를 분리하여 polyacrylamide 겔 전기영동법에 의하여 분리한 whey 단백질의 전기영동상과 densitogram은 Fig. 1과 같다. 유우처리장에서 집유한 생유의 분석결과는 유우로부터 직접 채취한 생유와 모든 결과에서 동일하였으므로 Fig. 1에서 생략했다. 생유에서 Fig. 1에서 보여주는 바와 같이 조사한 whey단백질 4종이 명백한 band를 나타내

Table 1. Concentrations of whey protein of raw and pasteurized milk

Methods of Pasteurization	No. of Sample	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)					Total
			bovine serum albumin	α -Lactalbumin	β -Lactoglobulin A	β -Lactoglobulin B	
Raw milk	20	Mean	284.30	876.20	4290.58	2209.65	7660.73
		SD	108.03	369.48	1632.84	980.50	
		%	3.71	11.14	56.01	28.84	100
LT	20	Mean	272.13	886.76	4455.91	2247.39	7862.19
		SD	91.03	323.54	1326.03	879.90	
		%	3.46	11.28	56.68	28.58	100
HTST	20	Mean	225.92*	853.49	3564.57	2128.92	6772.89
		SD	79.77	278.55	944.02	816.53	
		%	3.34	12.60	52.63	31.43	100
UHST	20	Mean	0**	590.08	197.67**	123.53*	911.28*
		SD	0	171.88	58.39	59.56	
		%	0	64.75	21.69	13.56	100

* Significantly different from raw milk ($p < 0.05$).

** Significantly different from raw milk ($p < 0.01$).

었으며 densitogram에서도 전기영동상에서 예측된 대로 4단백질 peak가 뚜렷하였다. 저온살균유의 전기영동상과 densitogram은 생유의 것과 매우 유사하여 변성이 거의 없었음을 추측하게 하는 것이었다.

고온순간살균유의 전기영동상과 densitogram은 생유 및 저온 처리유의 것과 유사하였으나 혈청 albumin과 α -lactalbumin 사이에 새로운 단백질대의 출현을 보여 whey 단백질의 변화가 있음을 암시하였다. Melo와 Hansen⁶⁾은 우유를 143°C에서 8-10 초간 가열했을 때 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin 사이에 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin의 복합체로 보이는 단백질 band의 출현을 보고한 바 있으나 본 시험에서 출현된 band의 위치는 완전히 상이한 것으로 보아 깊은 규명이 있어야 할 것으로 생각된다.

초고온순간살균유의 전기영동상과 densitogram은 생유, 저온살균유 및 고온순간살균유의 것과 뚜렷한 차이를 보여 혈청 albumin의 완전한 소실과 β -lactoglobulin A 및 β -lactoglobulin B의 현격한 감소를 나타내었다. 혈청 albumin band와 α -lactalbumin 사이의 새로운 단백질 band의 출현은 고온순간살균유보다 더욱 확실하고 겹으며 처리온도가 높아짐에 따라 whey 단백질의 변성과 붕괴로 인한 새로운

peptide의 출현을 증대시킨 것으로 생각된다. El-fagm과 Wheelock⁵⁾은 75°C 이상에서 whey 단백질의 변성을 보고한 바 있으며 Adams³⁾은 초고온순간살균유에서 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin의 감소를 보고한 바 있다. 그러나 본 실험에서는 α -lactalbumin은 유의성 있는 감소를 보이지 않았으며 β -lactoglobulin이 더욱 열변성을 많이 받은 것으로 생각되었다.

우유의 전기영동상과 densitogram 자체의 비교는 고온순간살균유에서 새로운 단백질 band의 출현, 초고온순간살균유에서 혈청 albumin band의 소실과 새로운 단백질 band의 뚜렷한 증가, β -lactoglobulin band의 α -lactalbumin band에 대한 상대적 감소 등으로 살균처리방법을 구별할 수 있는 확실한 방법으로 이용될수 있을 것이다.

생유와 살균처리유의 whey 단백질조성과 농도 - 생유 및 각종 살균처리유의 주요 whey 단백질의 조성도와 농도는 Table 1과 같다. 즉, 생유의 whey 단백질중 혈청 albumin, α -lactalbumin 및 β -lactoglobulin의 조성은 3.71 : 11.44 : 84.85로서 Hiller⁴⁾가 보고한 조성비 4.8 : 21.93 : 73.25와 Ng-Kwai-Hang¹³⁾이 보고한 7 : 20 : 60과는 큰 차이를 보였으며

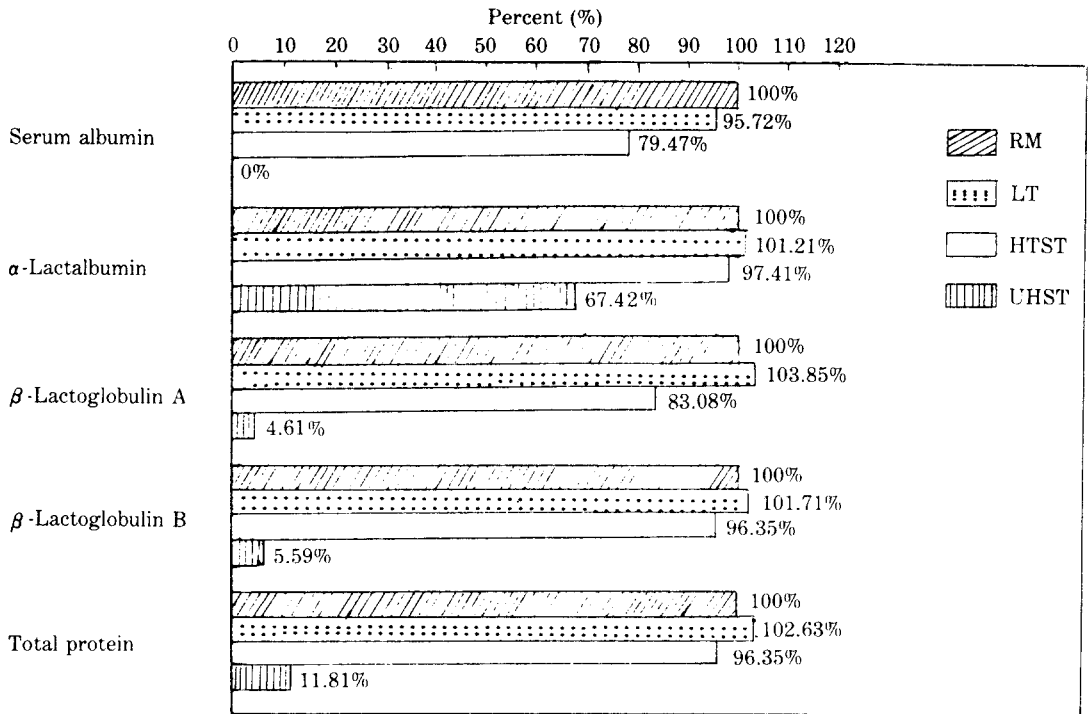


Fig. 2. Retention rate of whey protein by various pasteurization.

RM; raw milk, LT; low-temperature pasteurization, HTST; high-temperature short-time pasteurization, UHST; ultra-high temperature short-time pasteurization.

특히 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin에서 큰 차이를 보였다. β -lactoglobulin은 A형과 B형으로 나누어지는바 본 연구에서 56.01 : 28.84로서 A형이 B형의 2배 정도인데 반하여 Hiller⁴⁾의 보고에서는 25.88 : 47.37로서 상반된 결과를 보였다. 이는 아마도 Jenness¹⁹⁾가 보고한 바 유우의 유전적차이에 따라 whey 단백질 중 β -lactoglobulin A 및 B형의 함유를 달리하는 유우의 분석결과에 기인하는 것이 아닌가 생각된다. 그렇더라도 보고자에 따라 whey 단백질 조성에 많은 차이를 보이고 있는 것은 유우의 사육환경, 유우의 유전적 변이종, 분석방법 및 분석오차 등의 차이에 기인할 것으로 생각되며 일관된 조성비를 결정하기는 어려운 것으로 보인다.

가열처리에 의한 열변성에 관한 연구는 많이 이루어 졌으나 그 결과는 또한 일관성이 없다. 본 연구에서 저온살균은 whey 단백질조성에 영향을 주지 않았으며 고온순간살균유의 조성에도 큰 변화를 주지 않았으나 혈청 albumin과 β -lactoglobulin A의

근소한 감소를 보였다. 박과 김²⁾에 의하면 75°C에서 15분간 가열하였을 때 혈청 albumin과 β -lactoglobulin이 소실된 내용과 관련이 있는 것으로 생각된다. Elfagm과 Wheelock⁵⁾은 75°C 이상으로 열처리할 때 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin이 감소한다고 하였으나 α -lactalbumin은 거의 영향을 받지 않았으며 고온살균에 의해서 다소의 β -lactoglobulin A의 감소를 보였으나 whey 단백질조성에 큰 변화를 주지 않았다.

초고온살균은 모든 whey 단백질의 감소를 일으켰다. 특히 혈청 albumin은 완전히 소실되었으며 β -lactoglobulin의 뚜렷한 감소를 보였고 α -lactalbumin은 근소한 감소를 보여 안정성 있는 whey 단백질로 생각된다. 그러나 박과 김²⁾에 의하면 95°C에서 15분간 가열하였을 때 α -lactalbumin이 소실된다고 하였으며 Adams 등에 의하면 초고온살균으로 21% 감소한다는 보고가 있으며 이와는 달리 Melo와 Hansen⁶⁾에 의하면 143°C에서 8~10초간

Table 2-a. Changes in concentrations of whey proteins during storage of bovine milk treated by low temperature pasteurization

Temp. of storage	Duration of storage (days)	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
		Bovine serum albumin	α -Lactalbumin	β -Lactoglobulin A	β -Lactoglobulin B
	0	272.13	886.76	4455.91	2247.39
5°C	1	279.10	854.05	4023.69	1909.08
	2	270.84	689.95	3325.20	1052.26*
	3	264.40	362.03*	2097.71*	666.35*
25°C	1	279.28	857.66	2466.94	1800.10
	2	286.49	544.14	3106.30	1067.26
	3	313.57*	628.06	3276.15	1316.21

* $p < 0.05$ **Table 2-b. Changes in concentrations of whey proteins during storage of bovine milk treated by high temperature short time pasteurization.**

Temp. of storage	Duration of storage (days)	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
		Bovine serum albumin	α -Lactalbumin	β -Lactoglobulin A	β -Lactoglobulin B
	0	225.92	853.49	3564.57	2128.91
5°C	1	189.19	538.83	4351.14	2023.42
	2	193.68	519.48	3702.40	2103.03
	3	141.42	448.81	3007.28	2161.44
25°C	1	171.17	396.39	4073.81	1531.53
	2	96.68*	412.56	2201.89	1422.87
	3	96.43*	210.34*	2911.88	1341.02

* $p < 0.05$

가열하더라도 α -lactalbumin은 안정성을 유지했다는 상반된 보고가 있으며 본 연구에서도 다소의 감소가 인정되었으나 유의성 있는 감소는 없는 것으로 보인다. 혈청 albumin의 소실은 박과 김,²⁾ Hillier⁴⁾ 등의 보고와 일치하였으며 초고온살균에 의하여 β -lactoglobulin이 감소한다는 박과 김,²⁾ Adams 등,³⁾ Hillier⁴⁾ 등의 보고와 다소의 차이가 있으나 β -lactoglobulin이 열변성을 쉽게 받는 것으로 생각된다.

초고온순간살균유의 혈청 albumin, α -lactalbumin β -lactoglobulin의 조성은 0 : 64.75 : 35.25로 크게 변화되었으며 이러한 조성비는 다른 열처리방법과 확연히 구별할 수 있는 방법을 제공할 수 있을 것

이다. β -lactoglobulin의 A형과 B형간의 조성은 21.69 : 13.56으로 모두 크게 감소하였으나 그 비율은 크게 변화되지 않은 것으로 나타났다.

위에서 설명한바의 각종 살균처리유의 whey 단백질 유지율을 요약하여 Fig. 2에 나타내었다. 100에서 유지율을 감한 감소율을 저온살균으로 모든 whey 단백질이 변화가 없음을 보여주고 있으며 고온순간살균으로 혈청 albumin 20.53%, α -lactalbumin 2.59%, β -lactoglobulin A 16.92%, β -lactoglobulin B 3.65%로서 혈청 albumin과 β -lactoglobulin A에서 유의한 감소를 보였으며 초고온살균으로 혈청 albumin 100%, α -lactalbumin 36.57%, β -lactoglo-

Table 2-c. Changes in concentrations of whey proteins during storage of bovine milk treated by ultra high temperature short time pasteurization.

Temp. of storage	Duration of storage (days)	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
		Bovine serum albumin	α -Lactalbumin	β -Lactoglobulin A	β -Lactoglobulin B
	0	0	590.08	197.67	123.53
5°C	1	0	551.37	213.58	182.67
	2	0	282.90*	126.71	190.66
	3	0	274.90*	113.65	148.39
25°C	1	0	561.89	193.40	163.54
	2	0	368.64	291.12	150.79
	3	0	290.24	263.74	272.03

* $p < 0.05$

bulin A 95.39%, β -lactoglobulin B 94.01%의 감소로서 α -Lactalbumin을 제외한 모든 whey 단백질은 90% 이상의 큰 감소를 나타내었다.

살균처리유의 보존기간에 따른 whey 단백질농도 변화—저온살균유의 보존기간에 따른 whey 단백질의 농도변화는 Table 2-a와 같다. 5°C 냉장보존 2 일째까지 전 whey 단백질의 유의성 있는 감소는 없었다. 그러나 3일째 혈청 albumin을 제외한 whey 단백질들의 유의한 감소를 보였으며 따라서 3일 이상의 냉장보존은 바람직하지 않은 것으로 생각된다. 그렇더라도 혈청 albumin은 영향이 없었던 것으로 보아 활성물질들은 3일 이상 보존이 가능할 것으로 추측된다. 25°C 실온에서의 보존은 혈청 albumin을 제외한 전 whey 단백질들이 3일째까지 유의한 변화가 없었다. 이러한 이유는 추측하기 어려우나 실온에서 casein 존재하에 whey 단백질간의 이동이 이루어져 어떤 평형상태로 재편되는 것인지도 모른다. Elfagm과 Wheelock⁵⁾은 casein 농도가 감소하면 whey 단백질농도가 증가한다고 하였으며 실온에서의 장기보존기간 중 이와 유사한 어떤 변동이 일어나지않나 생각된다.²⁰⁾

고온순간살균유의 보존기간에 따른 whey 단백질

농도의 변화는 Table 2-b와 같다. 5°C 냉장보존 3 일째까지 전 whey 단백질의 유의한 감소는 없었으나 다소 감소되어가는 경향이었다. 25°C 실온에 보존하였을 때 전 whey 단백질들이 감소하는 경향을 보였으며 특히 혈청 albumin은 2일째부터 α -lactalbumin은 3일째에 유의한 감소를 보였다. 이는 저온살균유와 달랐으며 아마도 고온처리로 열변성을 더 받는데 있는 것으로 생각되나 앞으로 연구될 과제로 생각된다.

초고온순간살균유의 보존기간에 따른 농도변화는 Table 2-c와 같다. 혈청 albumin은 보존기간중에도 재생되지 않았으며 검출되지 않았다. 다른 whey 단백질들은 냉장보존과 실온보존시 다같이 다소의 증감이 있었으나 유의성있는 변화는 없었다.

그러나 실온보존시에 α -lactalbumin이 감소하는 경향을 보이는데 비하여 β -lactoglobulin은 오히려 증가하는 경향을 보였다.

감사의글

본 연구는 1989년도 문교부 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

국문요약

생유와 시판되고 있는 저온살균유, 고온순간살균유 및 초고온순간살균유 각 20예에 대하여 polyacrylamide 겔 전기영동법으로 Whey 단백질의 조성을 구하였다.

생유의 Whey 단백질 중 혈청 albumin, α -lactalbumin, β -lactoglobulin의 조성은 3.71 : 11.44 : 84.85 였으며 저온살균과 고온순간살균에 의하여 큰 변화를 주지않았다. 그러나 초고온순간 살균으로 조성비는 0 : 64.75 : 35.5로 변화되어 혈청 albumin의 소실과 β -lactoglobulin의 큰 감소를 보였다.

살균처리유의 냉장보존 3일째에 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin의 감소가 있었으나 25°C 실온보존에서는 변화가 없었다. 고온순간 살균유는 실온보존 2일째에 혈청 albumin, 3일째에 α -Lactalbumin의 감소만 있었고 다른 whey 단백질은 보존온도에 관계없이 3일간 농도변화가 없었다. 초고온순간살균유는 냉장보존 2일째 혈청 albumin의 감소만 인정되었다.

참고문헌

1. Brody, S.: Processing milk and products. In "The science of providing milk for man." Ed. by Campbell, J.R. and Marshall, R.T., New York, McGraw-Hill Inc., p.545 (1975).
2. 박종래, 김영주: 열처리에 의한 우유단백질의 변화에 관한 연구. I. 유청 단백질의 변화. 한국축산학회지, **14**, 214(1972)
3. Adams, D.M., Barach, J.T. and Speck, L.M.: Effect of psychrotrophic bacteria from raw milk on milk proteins and stability of milk proteins to ultrahigh temperature treatment. *J. Dairy Sci.*, **59**(5), 823 (1976).
4. Hillier, R.M.: The quantitative measurement of whey proteins using polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Dairy Sci.*, **43**, 259 (1976).
5. Elfagma, A.A. and Wheelock, J.V.: Heat interaction between α -lactalbumin, β -lactoglobulin and casein in bovine milk. *J. Dairy Sci.*, **61**, 159 (1978).
6. Melo, T.S. and Hansen, A.P.: Effect of ultrahigh temperature steam injection on model systems of α -lactalbumin and β -lactoglobulin. *J. Dairy Sci.*, **61**, 710 (1978).
7. Hunziker, H.G. and Tarassuk, N.P.: Chromatographic evidence for heat induced interaction of α -lactalbumin and β -lactoglobulin. *J. Dairy Sci.*, **48**, 733 (1965).
8. Argawala, S.P. and Reuter, H.: Effects of different temperatures and holding-times on whey protein denaturation in a UHT pilot plant. *Milchwissenschaft*, **34**(12), 735 (1979).
9. Zittle, C.A., Tompson, M.P., Custer, J.H. and Cerbulis, J.: k -Casein- β -lactoglobulin interaction in solution when heated. *J. Dairy Sci.*, **45**, 807 (1962).
10. Jost, R., Mont, J.C. and Hodalga, J.: Natural proteolysis in whey and susceptibility of whey proteins to acidic proteases of rennet. *J. Dairy Sci.*, **59**(9), 1968 (1976).
11. Shimazaki, K. and Sukegawa, K.: Chromatographic profile of bovine milk whey components by gel filtration on Fractogel TSK HW55F column. *J. Dairy Sci.*, **65**, 2055 (1982).
12. Darling, D.F. and Butcher, D.W.: Quantification of polyacrylamide gel electrophoresis for analysis of whey proteins. *J. Dairy Sci.*, **59**(5), 863 (1976).
13. Ng-Kwai-Hang, K.F. and Krecker, E.M.: Rapid separation and quantification of major caseins and whey proteins of bovine milk by polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Dairy Sci.*, **67**, 3052 (1984).
14. 박종래, 김영주: 우유단백질의 전기적 성질에 관한 연구. 한국축산학회지, **13**(3), 225(1971)
15. Ishikawa, H., Shimizu, T., Hirano, H., Saito, N. and Nakano, T.: Protein composition of whey from subclinical mastitis and effect of treatment with levamisole. *J. Dairy Sci.*, **65**, 653 (1982).
16. Hurley, W.L. and Rejman, J.J.: β -lactoglobulin

- bulin and α -lactalbumin in mammary of concentration changes. *J. Dairy Sci.*, **69**, 1642 (1986).
17. Kiddy, A.C., Rollins, R.E. and Zikalis, J.P.: Discontinuous polyacrylamide electrophoresis for β -lactoglobulin typing of cow's milk. *J. Dairy Sci.*, **55**, 1506 (1972).
 18. 申光淳：食品關係法規. 新光出版社. pp217(1979)
 19. Jenness, R.: Protein composition of milk. In "Milk proteins", vol.1, ed by McKenzie, A.H., New York, Academic press, pp.33 (1970).
 20. Trautman, J.C. and Swanson, A.M.: Addition evidence of stable complex between β -lactoglobulin and α -casein. *J. Dairy Sci.*, **41**, 715 (1958).