

## 열처리에 따른 시판우유의 불변성 유청단백질과 유효성 Lysine 함량 변화

박영희 · 홍윤호\*†

동신대학교 식품영양학과  
\*전남대학교 식품영양학과

### Changes of Undenatured Whey Protein and Available Lysine Contents in Heat Treated Market Milks

Young-Hee Park and Youn-Ho Hong\*†

Dept. of Food Science and Nutrition, Dongshin University, Naju 520-714, Korea

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

#### Abstract

Changes of pH, titratable acidity, undenatured whey protein contents and the rates of loss of available lysine in market milks were investigated to find out the effective indicators for identification and classification of different heat treatment. There showed no change of both pH and titratable acidity among the heating methods in market milks. The contents of undenatured whey protein per 100ml serum were determined as 413.7mg(LTLT), 341.3mg(HTST), 6.9mg(UHT pasteurized) and 96.6mg(UHT sterilized), respectively. Distinct differences of undenatured whey protein contents according to the heating methods could be observed. The rates of loss of available lysine in heated milks compared to raw milk showed 1.4%(LTLT), 0.2%(HTST), 6.3%(UHT pasteurized) and 4.9%(UHT sterilized), respectively. The rates of loss of available lysine were not suitable to classify the UHT heating method.

Key words : undenatured whey protein, available lysine, market milks

#### 서 론

우유에서의 유청단백질 열변성 정도는 여러가지 열처리 형태의 온도와 시간과 관계가 있어서 열처리를 전혀 받지 않은 상태에서는 유청단백질은 뚜렷한 형태를 갖게 되며 어느 범위 수준 이상의 열에 노출될 때는 이것이 파괴되어 단백질의 특성이 변화된다고 하였다<sup>1)</sup>. 유청단백질의 변성 정도는 많은 유제품의 기능성에 대한 중요한 결과들을 가지고 있으므로 이

현상을 측정하기 위해 많은 분석방법들이 보고되어 왔으며<sup>2)</sup>, 우유의 유청 용액중에 남아 있는 불변성 유청단백질 함량을 측정함에 따라 우유의 열처리 정도를 유추할 수 있었다<sup>3,4)</sup>. 또한 열처리 결과 유당의 carbonyl기와 lysine의 ε-amino기와의 Maillard 반응으로 우유의 갈변현상과 함께 유효성 lysine 함량의 감소를 초래하므로, 우유중의 lysine의 손실율이 우유가 받은 열처리의 평가에 이용되어져 왔다<sup>5~7)</sup>. 지금까지 우리나라에서 우유 및 유제품에 대한 살균처리방법은 저온살균법에서 고온순간살균법을 거쳐 현재는 거의 초고온처리법을 도입, 이용하고 있는 실정이나 국내

\*To whom all correspondence should be addressed

시판되고 있는 우유들의 열처리 조건이 차이가 많다. 따라서 제품별 살균처리방식 표기상의 혼란이 우려되고 있어서 이에 대한 실용적인 검색 방법을 도입하고 제품별 살균방식 표기를 제정, 법적으로 규제해야 할 필요성이 제기되고 있다. 또한 우유의 열처리 방법에 따른 이화학적 변화들을 신속하고 정확하게 파악하여 가공공정의 명확한 구분과 품질개선을 위해 본 저자들은 열처리 정도의 지표가 될 수 있는 성분 중 시판우유의 HMF 함량<sup>10</sup>, lactulose 함량<sup>11</sup>을 보고한 데 이어 본 연구에서는 시판우유의 pH 및 적정산도, 불변성 유청단백질 함량, 유효성 lysine 함량 등을 중심으로 우유의 열처리를 받은 정도를 비교하여 유가공 공정의 명확한 구분을 하고 국내 유가공 산업 발전을 위한 기초자료를 얻고자 시도하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

원유는 전남대학교 농과대학 부속 동물사육장에서 사육하고 있는 홀스타인종으로부터 착유한 신선한 우유를 사용하였으며, 저온살균유는 63℃에서 30분간, 고온순간살균유는 72℃에서 15초간 살균처리된 시판우유를 사용하였다. 초고온살균유는 130~135℃에서 2~3초간 열처리된 4종의 Cartonpack포장 시유를 사용하였으며, 초고온멸균유는 135~140℃에서 2~4초간으로 처리된 4종의 Tetrapack포장 시유를 1989년 5월에서 1990년 12월까지 광주시에 있는 각 대리점에서 구입하여 시료로 사용하였다. 그리고 초고온살균유와 초고온멸균유의 같은 회사 제품끼리는 같은 기호로(A-a, B-b, C-c, D-d) 묶어 표시하였다.

#### pH 및 적정산도의 측정

pH 및 적정산도는 한국식품공업협회 식품공전의 방법<sup>10</sup>에 따라 실시하였다. pH는 pH Meter CG 836 (Schott Geräte, Germany)를 사용하여 25℃에서 측정하였으며, 적정산도는 우유 10g에 증류수 10ml를 가지고 1% phenolphthalein 지시약 0.5ml를 첨가한 후 0.1N NaOH 용액으로 적정하고 이에 소요된 NaOH 용액을 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{적정산도} (\%) = \frac{a \times F \times 0.009}{\text{시료무게 (g)}} \times 100$$

0.1N NaOH 1ml = 0.009g lactic acid

a : 0.1N NaOH 용액의 소비 ml

F : 0.1N NaOH 용액의 역가

#### 불변성 유청단백질 함량 측정

우유의 불변성 유청단백질 함량은 Lechner의 방법<sup>12</sup>에 따라 측정하였다. 삼각 플라스크에 우유 50ml를 정확히 취한 다음  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  10g을 넣어 잘 훤플어서 녹인 후 Whatman No. 4 여과지로 여과시키고, 여과액 10ml를 취해 pyrex 시험관에 넣어 끓는물(98±1℃)에서 20분간 가열시켰다. 그 후 흐르는 냉각수로 급히 냉각시켜서 생성된 단백질 침전물을 3G4 glass filter에 모은 다음 증류수로 3ml씩 5회, 에탄올로 3ml씩 2회 씻어내고 남은 침전물을 102±1℃에서 건조시켜 얻은 무게를 불변성 유청단백질 함량으로 하였다.

#### 유효성 lysine 함량 측정

표준검량선은  $\epsilon$ -TNP-L-lysine · HCl ·  $\text{H}_2\text{O}$  (Research Plus, Inc., USA)를 2.5mM 농도가 되도록 4%  $\text{NaHCO}_3$  1ml에 녹인 후 증류수 1ml와 진한 염산 3ml를 첨가하고 증류수 5ml를 넣은 것을 stock solution으로 하여 12.5~62.5  $\mu\text{m}/10\text{ml}$  reaction mixture 농도에서 Fig. 1과 같이 얻었는데, 회귀방정식은  $Y=0.0150X+0.0067$ 이었으며 상관계수는  $r=1.0000$ 이었다.

우유의 유효성 lysine 함량은 Kakade와 Liener의 방법<sup>13</sup>에 따라 5배 회석시킨 우유 0.1ml를 취하고 4%

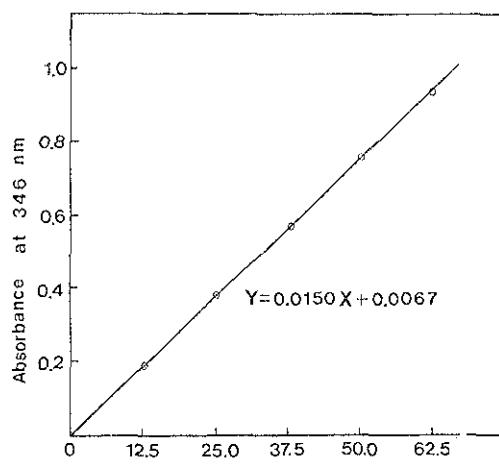


Fig. 1.  $\epsilon$ -TNP-L-lysine standard calibration curve.

$\text{NaHCO}_3$  (pH 8.5) 0.9ml와 0.1% trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) 용액 1ml를 첨가하여 40°C 수조에서 2시간 동안 반응시켰다. 여기에 진한 염산 3ml를 첨가하여 120°C, 1.5psi에서 1시간 동안 고압멸균시키고 냉각시킨 후 중류수 5ml를 가하여 심하게 진탕시키는 조작을 2회 반복하고 잔존 ether는 온탕조에 넣어 증발시킨 후 실온으로 냉각한 다음 분광광도계 (Shimadzu, Japan)를 이용하여 346nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조시험은 시료에 0.1% TNBS용액을 가하기 전에 진한 염산 3ml를 넣고 그 다음 단계들은 시료의 경우와 동일하게 처리하였다.

## 결과 및 고찰

### 우유의 pH 및 적정산도

우유의 열처리법에 따른 pH 및 적정산도는 Table 1과 같다. pH는 시판중인 저온살균유는 6.66, 고온순간살균유는 6.68, 초고온살균유는 6.67, 초고온멸균유는 6.64~6.68로 나타났는데, 저온살균유의 pH는 다소 낮은 편이었으나 초고온처리유에 있어서는 d제품을 제외하고 살균유와 멸균유간에 0.01 단위의 근소한 차이가 있었다. 적정산도는 0.16~0.17%로 열처리법에 따라서 별로 변화가 없게 나타났으며 축산물 가공 처리법<sup>13)</sup>에 규정된 신선한 우유의 값인 pH 6.50~6.70 및 적정산도 0.14~0.18% 범위내이었다. Sherbon<sup>14)</sup>는 대부분의 우유의 pH는 6.60~6.80

(평균 6.70)이며 열처리 온도와 밀접하여 열처리 온도가 올라갈수록 우유의 pH는 낮아진다고 하였는데 본 실험의 시료중 초고온멸균유 d제품(135°C, 4sec)의 pH값이 6.64로 제일 낮았다. 또한 신선한 우유의 산도값이 0.13~0.18%로 열처리를 함에 따라 우유의 산도는 증가한다고 하였으나, 본 실험의 경우 우유의 열처리법에 따라서는 별로 변화가 없었다. 김 등<sup>15)</sup>은 시판우유인 저온살균유, 고온순간살균유 및 초고온살균유에 있어서 연평균 pH와 적정산도값을 각각 6.66과 0.17%로 보고하였는데 pH와 적정산도는 출고된 다음부터 유통과정을 거쳐 최종 소비자에게 도달할 때 까지의 상태에 의해 좌우되며 신선한 시유를 시료로 사용했을 경우 각 제품이나 열처리에 의한 차이는 거의 없다고 하였다.

본 실험 결과에 의하면 우유의 pH 및 적정산도는 열처리법을 구분지을 수 있을 만큼 뚜렷한 지표는 될 수 없으나 그 중 pH 측정법은 열처리 받은 정도를 간단히 시험해보는데 있어서 편리했으며, 신선도를 쉽게 판별할 수 있는 잇점이 있는 것으로 생각된다.

### 우유의 불변성 유청단백질 함량

원유와 시판우유에서 측정된 불변성 유청단백질 함량은 Table 2와 같다. 불변성 유청단백질 함량은 100ml serum당 원유의 경우 평균 428.0mg이었고, 저온살균유는 413.7mg, 고온순간살균유는 341.3mg, 초고온살균유는 2.0~14.8mg, 초고온멸균유는 76.

Table 2. Contents of undenatured whey protein in market milks  
(mg undenatured whey protein/100ml serum)

Heating condition	pH $\pm$ SD	Titratable acidity (%) $\pm$ SD
Raw	6.67 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.02
Pasteurized		
LT LT (63°C, 30min)	6.66 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.03
HT ST (72°C, 15sec)	6.68 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.02
UHT pasteurized		
A (130°C, 2~3sec)	6.67 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.02
B (135°C, 2sec)	6.67 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.03
C (130°C above, 2sec)	6.67 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.02
D (135°C, 2sec)	6.67 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.03
UHT sterilized		
a (140°C, 2~3sec)	6.68 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.02
b (135°C, 2sec)	6.68 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.02
c (140°C, 3sec)	6.68 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.02
d (135°C, 4sec)	6.64 $\pm$ 0.03	0.17 $\pm$ 0.02

Number of samples, n=6  
SD : standard deviation

Number of samples, n=6  
SD : standard deviation

Number of samples, n=6  
SD : standard deviation

8~176.8mg (d제품은 1.3mg)으로 열처리법에 따라 뚜렷한 차이가 있었다. Kempinski<sup>10</sup>가 불변성 유청단백질의 함량을 측정한 결과는 유청 100ml당 원유에서는 425~432mg, 저온살균유는 393~408mg, 고온순간살균유는 304~376mg, 그리고 초고온처리유의 경우 간접식은 0~39mg, 직접식은 69~133mg으로 보고하였는데, 원유와 저온살균유 및 고온순간살균유에 있어서 본 실험의 결과와 유사하였으며 본 실험의 초고온살균유는 간접식의 범위, 초고온멸균유는 직접식의 범위와 유사하였다. 또한 Lechner<sup>11</sup>가 초고온처리유에서 불변성 유청단백질 함량을 측정하여 간접식에서는 137~140°C에서 2~32mg과 135°C에서 59mg으로, 직접식에서는 80~172mg으로 보고한 결과와도 유사했었다.

본 실험에서는 변성된 유청단백질 및 케이신을 침전시키는 과정까지는 Mottar와 Naudts<sup>3</sup>, Pien의 방법<sup>4</sup>과 동일하나 3G4 glass filter 사용함으로서 불필요한 성분들은 셋어내고 유청중에 남아 있는 불변성 유청단백질 함량을 측정할 수 있었다. 그러나 실험을 반복함에 따라 glass filter에 침착되어 있는 성분들로 인해 다소 영향을 받을 것으로 사료되므로 이점을 보완할 수 있는 방법이 요구된다.

#### 우유의 유효성 lysine 함량

우유에서 측정된 유효성 lysine의 농도를 표준검량선을 통해 계산하고 그 결과를 우유 100ml당 mg으로 환산하여 Table 3에 나타내었으며, 원유의 유효성 lysine 함량에 대한 우유의 lysine 감소율(%)을 함께 나타내었다. 원유의 유효성 lysine 함량은 우유 100ml당 240.8mg이었으며, 열처리에 따라서는 저온살균유가 237.4mg, 고온순간살균유가 240.3mg, 그리고 초고온살균유는 225.2~227.6mg, 초고온멸균유는 224.2~232.5mg이었고 원유에 대한 각 열처리 우유들의 유효성 lysine 감소율을 보면 저온살균유는 1.4%, 고온순간살균유는 0.2%, 초고온살균유는 5.9~9.5%, 초고온멸균유는 3.5~6.9%였다.

TNBS법으로 유효성 lysine 함량을 측정한 정<sup>12</sup>은 초고온처리유의 감소율은 6.4~7.4%로, Mottar와 Naudts<sup>3</sup>는 4.3~6.5% 감소율로 보고하였는데 이들의 값은 본 실험의 초고온처리유의 유효성 lysine 감소율과 유사하였다. Renner<sup>13</sup>가 우유의 살균법과 멸균법 처리에 있어 유효성 lysine의 감소율을 여러 보고서의 자료를 통해 요약한 바에 의하면, 저온살균법에 있어

Table 3. Available lysine contents of market milks

Heating condition	Available lysine $\pm$ SD (mg/100ml milk)	Rate of lysine loss compared to raw(%)
Raw	240.8 $\pm$ 20.5	
Pasteurized		
LT LT (63°C, 30min)	237.4 $\pm$ 21.8	1.4
HT ST (72°C, 15sec)	240.3 $\pm$ 17.5	0.2
UHT pasteurized		
A (130°C, 2~3sec)	225.2 $\pm$ 16.2	6.5
B (135°C, 2sec)	225.7 $\pm$ 17.4	6.3
C (130°C above, 2sec)	225.2 $\pm$ 22.3	6.5
D (135°C, 2sec)	226.6 $\pm$ 16.3	5.9
UHT sterilized		
a (140°C, 2~3sec)	232.5 $\pm$ 16.8	3.5
b (135°C, 2sec)	227.1 $\pm$ 17.2	5.7
c (140°C, 3sec)	227.6 $\pm$ 16.6	5.5
d (135°C, 4sec)	224.2 $\pm$ 16.5	6.9

Number of samples, n=6

SD : standard deviation

서는 0.6~2.0%, 초고온 간접법에서는 0.9~6.5%, 초고온 직접법에서는 0~4.3%, 멸균법에서는 3.3~13.0% 등으로 lysine의 감소율의 범위가 열처리에 따라 한계가 명확하지 않고 다양하다고 하였다. 또한 Burton<sup>9</sup>은 열처리 정도에 따른 lysine 감소율의 정도가 검출 가능하나 극히 소량이며, 초고온유에서 검출되는 소량의 감소율 뿐만 아니라 콘테이너내의 멸균유에서 조차 정확하게 측정하기는 어렵다고 하였다. 열처리하지 않은 원유의 유효성 lysine 값을 기준 값으로 간주할 때 우유 가공시의 감소율을 계산하여 사용해왔는데 잠재적인 오차가 비교적 큼을 시사하였다.

본 실험에서 초고온처리유의 유효성 lysine의 감소율은 살균유가 멸균유보다 다소 높게 나타났으나 두 열처리 방식을 구분지을 수 있을 만큼 한계가 분명하지 않았다.

#### 요약

우유의 열처리 정도를 검색할 수 있는 지표 설정을 위한 유효성분을 채택하기 위하여 시판우유의 pH, 적정산도, 불변성 유청단백질 함량과 유효성 lysine의 함량 변화를 비교한 결과, pH 및 적정산도는 열처리에 따른 변화가 없었고, serum 100ml당 불변성 유청단백질 함량은 저온살균유가 413.7mg, 고온순간살균유가 341.3mg, 초고온살균유는 6.9mg, 초고온멸균유는 96.6mg으로 열처리에 따라 뚜렷한 차이가 있었

다. 원유에 대한 각 열처리 우유들의 유효성 lysine 감소율은 저온살균유에서 1.4%, 고온순간살균유에서 0.2%, 초고온살균유에서 6.3%, 초고온멸균유에서 4.9%로 초고온처리에서 명확히 구분되지 않았다.

## 문 헌

1. Renner, E. : *Milk and dairy products in human nutrition*. Volkswirt. Verlag, Munich, p. 283(1983)
2. Manji, B. and Kakuda, Y. : Determination of whey protein denaturation in heat-processed milks : Comparison of three methods. *J. Dairy Sci.*, **70**, 1355(1987)
3. Mottar, J. and Naudts, M. : La qualite du lait chauffe a ultrahaute temperature comparee a celle du lait pasteurise et sterilise dans la bouteille. *Le Lait*, **59**, 476(1976)
4. Pien, J. : Method for distinguishing between UHT milks and conventionally sterilized milks. In "IDF monograph on UHT milk" Bull., part V. Brussels, IDF. (1972)
5. Burton, H. : Review of the progress of dairy science : The bacteriological, chemical, biochemical and physical changes that occur in milk at temperatures of 100~150°C. *J. Dairy Res.*, **51**, 341(1984)
6. Horak, F. P. : Über die Reaktionskinetik der Sporenbortötung und chemischer Veränderungen bei der thermischen Haltbarmachung von Milch. Dissertation, Technical University, Munich(1980)
7. Renner, E. and Dorguth, H. : Study of protein quality of UHT milk (in German) *Deut. Milchwirt.*, **31**, 505(1980)
8. 박영희, 홍윤호 : 국내 시판우유중의 HMF(5-Hydroxymethylfurfural) 함량. *한국낙농학회지*, **11**(4), 265(1989)
9. 박영희, 홍윤호 : 시판 우유중의 lactulose 함량. *한국영양식량학회지*, **19**(4), 330(1990)
10. 한국식품공업협회 : 식품공전, p. 81(1990)
11. Lechner, E. : Influence of ultra high temperature sterilization on denaturation of whey proteins. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **156**, 279(1974)
12. Kakade, M. L. and Liener, I. E. : Determination of available lysine in proteins. *Anal. Biochem.*, **27**, 273(1969)
13. 농수산부 : 축산물 가공 처리법. (1978)
14. Sherbon, J. W. : Physical properties of milk. In "Fundamentals of dairy chemistry" 3rd., Wong, N. P. (eds.), Reinhold Co. Inc., New York, p. 410 (1988)
15. 김기성, 박동준, 임상동, 강통삼, 민병용 : 국산시유의 품질에 관한 연구. *한국낙농학회지*, **12**(3), 261(1990)
16. Kempinski, C. : *Dtsch. Milchwirt.*, 52/53(1971) cited in Lechner, E. (1974)
17. 정충일 : 가열처리에 의한 우유의 생화학적 변화. *유가공연구*, **5**(1), 24(1987)
18. Renner, E. : Effects of differences in technology on the organoleptic and nutritive quality of UHT milk. *Dairy Sci. Abst.*, **41**, 597(1979)

(1991년 7월 12일 접수)