



저온 냉각이 원유의 품질에 끼치는 영향에 관한 연구

정아람 · 한송이 · 김명희 · 김송희 · 박은주¹ · 윤여창*

건국대학교 축산식품생물공학과, ¹경남대학교 식품영양학과

Effect of Cold Storage on Quality Characteristics of Raw Milk

A-Ram Jeong, Song Ee Han, Myeong Hee Kim, Song Hee Kim,
Eunju Park¹ and Yoh Chang Yoon*

Dept. of Food Science and Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

¹Dept. of Food and Nutrition, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the change of components which raw milk has during cold storage. General component content of raw milk (fat, protein, lactose, total solids) was decreased in proportion to the length of cold storage. The pH of raw milk was decreased in according to the length of cold storage. In electrophoresis images, β -casein which was one of the composition of raw milk was decreased as the period of cold storage extended on the other hand, the content of Ca and P in the serum casein was increased in accordance with the length of cold storage.

Keywords : raw milk, cold storage, β -casein, electrophoresis, serum casein

서 론

농가에서 생산된 원유는 우유 처리 가공장까지 저온 냉각 상태를 유지하게 된다. 저온 냉각이란 착유 직후 적어도 7°C에서의 원유의 냉각을 의미하는데, 우유의 저온 냉각은 우유의 품질을 보존하기 위해 실시하나, 우유의 조성성분에 불리한 영향을 끼칠 수도 있다(Aylmard *et al.*, 1980). Ali 등(1980)은 우유의 온도가 감소하면 β -casein의 해리로 monomer 상태로 전환되어 serum casein이 증가하며, 이는 β -casein의 증가의 원인이 된다고 보고하였다. Alice와 Gerard(1981)는 원유의 4°C 저온 냉각에 따라 micelle로부터 제거된 colloidal Ca의 양은 β -casein의 해리에 영향을 미치며, 현탁물질에서 무기질의 이동은 약 200~400 mg/kg의 β -casein의 해리를 야기시킨다고 하였다. 이는 전체 casein에 있어 약 1~2%를 차지

하는 양이다. 또한 원유의 저온 냉각 동안에 Ca phosphate의 가용화는 β -casein과 micelle 사이에 다리 역할을 하는 Ca phosphate의 파손시켜 결국 β -casein과 micelle 사이에는 수소결합만이 남는 원인이 된다고 보고하였다. Qvist(1979)는 저온 저장된 원유는 그렇지 않은 원유와 비교한 결과, casein micelle로부터 Ca, P, casein의 해리가 발생하여 결국 응고시간(RCT, coagulation time with rennet)이 길어지게 된다고 하였다. Pyne과 Mcgrann(1962)는 casein micelle로부터 RTC가 길어짐에 따라 colloidal calcium phosphate가 감소되는 것을 연구하였다.

내냉성 미생물의 성장과 이들이 생산한 효소의 활성에 의한 유단백질의 변화는 냉장온도하의 우유와 유제품의 품질 유지에 있어 매우 중요한 요인이 되는데(Law, 1979), 내냉성 미생물은 원유 내 총 세균수의 약 8~20% 정도로 약 80%가 내열성 protease 및 lipase를 생산하며, 그 중 30~40% 이상이 *Pseudomonas*로 보고되고 있으며, *Pseudomonas*는 열에 약한 gram negative nonsporeformer로 이에 의해 생성된 내열성 protease 및 lipase는 미생물에서 생산된 후 세포 외로 분비되어 casein과 지방구를 분해하여 우유의 향과 조직 등의 품

* Corresponding author: Yoh Chang Yoon, Dept. of Food Science and Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: +82-2-450-3692, Fax: +82-2-458-7305, E-mail: ychoon@konkuk.ac.kr

질을 저하시키게 된다(Barach *et al.*, 1976). Overcast와 Atmaram (1974)은 우유에 *P. fluorescens*를 접종하고 3~5°C에서 저장 42일째 β -casein이 완전히 peptide로 분해되었다고 보고하였으며, 우유를 냉장 저장할 때 내냉성미생물에 의한 유단백질의 변화는 케이신태질소화합물이 감소하고, 반면에 비케이신태질소화합물과 비단백질소화합물(NPN)이 증가하는 형태로 나타난다고 하였다.

본 연구는 원유의 저온 저장 기간 동안 일어나는 일반성분 변화와 casein의 변화를 조사하기 위하여 원유를 4°C에서 3일간 저장하여 일반성분분석과 전기영동상의 분석, β -casein 및 무기질 함량의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 원료유(Raw Milk)

원유는 각종 원유검사에서 합격한 양질의 원유를 건국유업에서 공급받아 사용하였으며, 원유의 공급 직후 5°C에서 대조구, 1일, 2일, 3일로 저온 저장하여 비교 실험하였다.

2. 원유(Raw Milk)의 일반성분 분석

공시 원유와 casein 제조 후 생성된 유청의 일반성분은 Milkoscan (Milkoscan Minor 78110, Foss Co., Denmark)을 이용하여 단백질, 지방, 유당, 총고형분을 분석하였다.

3. 원유(Raw Milk)의 pH 측정

pH는 유리전극 pH meter(Mettler-Toledo GmbH 8603, Seven Easy, Schwerzenbach Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

4. Casein Micelle의 전기영동

시료의 전처리에는 원유를 3,000 rpm에서 30분(5°C) 동안 원심 분리하여 지방을 제거하고, 동량의 증류수로 희석하여 0.1N HCl로 pH 4.6으로 조정 후 응고물을 다시 0.1N-NaOH로 pH 6.7로 조정하여 살균 후 동결 건조하여 1%(10 mg/mL)로 증류수에 용해시켜 동결건조용 시료로 사용하였다(Davis와 Law, 1977). SDS polyacrylamide gel 전기영동은 Laemmli(1970)의 방법에 따라 14%의 separating gel을 사용하였다. 시료는 1% SDS를 포함한 stop solution[1.25M-Tris · HCl(pH 6.8), glycerol, 10% SDS, 0.1% bromo-phenol blue, DTT(Dithiothreitol)]으로 가용화하여 95~100°C에서 2분간 가열 변성시킨 후 전기영동 장치(PowerPac Basic, BIO-RAD, U.S.A)에서 30 mA로 약 30분간 loading하였다. 전기영동이 끝난 gel은 staining solution [0.1%(w/v) Coomassie brilliant blue R250, methanol/DW/acetic acid(45/45/10, v/v/v)]에서 염색 후, destaining solution [methanol/acetic acid/DW(10/20/70, v/v/v)]에서 탈색 후 band를 관찰하였다.

5. Crude β -casein의 측정

Crude β -casein은 Salam(1974)이 사용한 방법을 응용하여 원유를 3,000 rpm에서 30분간 원심분리 후 4°C에서 2시간 정체시켜 지방층을 제거하였다. 침전된 casein은 원심 분리하여 증류수로 3회 이상 수세하고, 이때 0.1N-HCl을 이용하여 pH 4.6을 유지하였다. 수세된 casein을 증류수에 1시간 동안 정지한 후 0.1N-NaOH로 pH 7.0까지 조정하여 생성된 casein solution을 4°C의 증류수로 희석하여 4°C에서 overnight 시켰다. Casein solution의 상청액을 제거하고 38°C로 가열하여 casein solution의 응집을 돕기 위하여 15 g의 NaCl을 첨가하였다.

6. Serum Casein 중 무기질(Ca, P, Mg) 분석

Ultracentrifugation을 적용하는 Lonergan(1983)의 방법에 따라 20°C에서 20,000 rpm으로 Fig. 1과 같이 실행되어 채취된 serum casein은 Ca, P과 Mg를 측정하는데 이용하였다.

무기질의 측정은 자재도가니에 1.5 g의 sample을 취하여 600°C에서 2시간 이상 회화한 후에 방냉시켜, HCl(1:1)을 넣고 산이 절반 이상 증발할 때까지 50°C로 가열 분해하여 여과시킨 후 여과액을 희석하여 icp-OES(JY 38 PLUS, Jobin Yvon, France)로 측정하였다. 이때 Ca과 P의 경우에는 50×50배 희석하여 측정하였으며, Mg의 경우에는 50배 희석하여 측정하였다.

7. 통계분석

통계분석은 SAS program(Statistics Analytical System, USA, 1999)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 다중범위 검정(Duncan's multiple range test)을 통하여 유의성 검정($p < 0.05$)을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 원료유(Raw Milk)의 일반조성

원유의 일반조성은 Table 1과 같다. 공급 받은 직후의 원유의 일반 성분 함량은 지방 3.97%, 단백질 3.07%, 유당 4.68%,

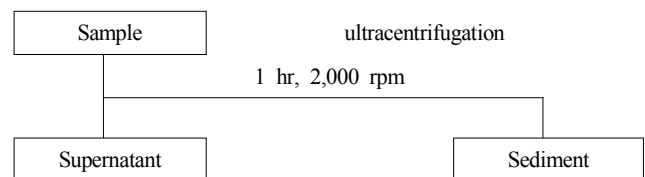


Fig. 1. Pre-treatment of milk for analysis of mineral.

Table 1. General components of raw milk during storage period

Components	Days of 5°C storage			
	0	1	2	3
Fat	3.97 ^a	3.91 ^b	3.91 ^b	3.63 ^c
Protein	3.07 ^a	3.06 ^a	3.07 ^a	2.91 ^b
Lactose	4.68 ^a	4.68 ^b	4.67 ^b	4.46 ^c
TS ¹⁾	12.58 ^c	12.51 ^b	12.51 ^b	11.89 ^a

¹⁾ TS: Total solid

^{a-c} Mean values with different letters on the same bars are significantly different ($p < 0.05$).

총고형분 12.58%이었다. 이 결과를 저온 저장된 모든 원유와 비교하면, 단백질은 저온 저장 2일 후까지 유의적 차이가 없었으며, 3일 후에 유의적 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 또한 지방, 유당 함량은 저온 저장 기간이 2일까지는 소폭 감소하다가 저온 저장 3일 후에는 크게(지방 3.63%, 단백질 2.91%, 유당 4.46%, 총고형분 11.89%) 감소하는 것으로 나타났다.

Aylmard 등(1980)의 연구에서는 5°C 저온 저장 시 casein nitrogen 함량은 저장 기간이 증가함에 따라 감소하였고, whey nitrogen 함량은 4일 저온 저장 시 29%(whey nitrogen/total nitrogen)에서 30%로 증가하였으며, 10일 저온 저장 시에는 31.8%까지 증가하였다고 보고하였다.

본 실험에서도 이와 마찬가지로 저장 기간이 길어짐에 따라 지방, 단백질, 유당이 증가되는 결과는 나타내었다. 이는 치즈 제조 시 수율을 저하시키는 분리한 영향을 끼친다고 사료된다.

2. 원유의 저온 저장 중 pH의 변화

Table 2는 원유의 저온 저장 기간에 따른 pH의 변화를 나타낸 것이다. 원유의 저온 저장 기간이 지남에 따라 모두 유의적 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 공급받은 직후의 원유의 pH는 6.5였으며, 2일, 3일 저온 저장된 원유의 pH는 각각 6.43, 6.4로 저장 기간 2일까지는 소폭 감소하였고, 저온 저장 3일 후에는 6.18로 급격히 감소하였다. Aylward(1980)는 5°C에서 2일 저장 시 pH 6.84에서 pH 6.81로 소폭 감소하였지만 cheese 수율은 8%가 감소한 결과를 나타내었다고 보고

Table 2. Effect of storage of raw milk on pH

	Days of 5°C storage			
	0	1	2	3
pH	6.5 ^a	6.43 ^b	6.4 ^c	6.18 ^d

^{a-d} Mean values with different letters on the same bars are significantly different ($p < 0.05$).

하였다. 따라서 pH는 원유의 미생물학적 품질을 나타내어 주기에는 다소 불완전하다고 사료된다.

3. Casein Micelle의 전기영동

동결 건조된 sodium caseinate를 14% SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동한 결과는 Fig. 2와 같았다. 정상유의 casein은 casein micelle이라고 불리는 복합체(50~300 nm)를 형성하여 유즙 중에 분산하고 있으며, 이 복합체는 α_s -, β -, κ -casein과 칼슘, 인산 등에 의해서 구성되어 있다(Addeo *et al.*, 1977; Rose, 1968; Talbot *et al.*, 1970). Lee 등(1991)은 SDS-PAGE와 등전점 전기영동(IEF)을 이용하여 주요 우유 단백질을 분석하여 casein 중 3개의 주요 casein을 명확히 분리시켜 α_s -, β -, κ -casein의 분자량이 각각 32 KD, 30 KD 및 27 KD가 됨을 보여주었다. Fox(1981)는 우유 내에 존재하는 casein 성분 중 약 50% 정도 존재하는 α_s -casein의 분자량은 22~25 KD 정도라 하였다.

Fig. 2와 같이 원유의 casein은 22 KD과 36 KD 사이에 존재하는 α_s -, β -, κ -casein band를 나타내었다. 원유의 저온 저장 기간이 지남에 따라 전기영동상 β -casein의 변화가 나타났다. 원유의 공급 직후 제조된 sodium caseinate에는 전기영동상에 그 band가 명료히 나타났으나, 저온 저장 기간이 지남에 따라서 감소 현상을 나타냈다. 이와 같은 전기영동상의 결과는 casein의 함량은 원유의 저온 저장 기간이 지남에 따라 상대적으로 더 적게 함유되어 있는 것으로 해석할 수 있을 것이다.

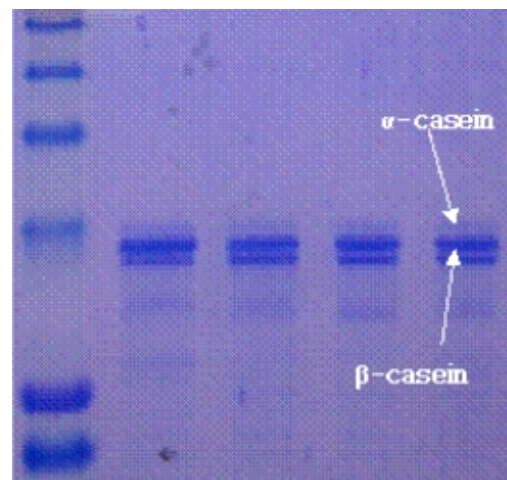


Fig. 2. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis patterns of sodium caseinate. Gel was electrophoresed on 14% SDS polyacrylamide under an identical condition. Molecular weight standard (a); 0 days of 5°C storage (b); 1 day of 5°C storage(c); 2 day of 5°C storage (d); 3 day of 5°C storage (e).

4. Crude β -Casein 함량의 변화

Fig. 3은 원유의 저온 저장 기간에 따른 crude β -casein 함량의 변화를 나타낸 것이다. 공급받은 직후 원유 10 mL에서 추출한 crude β -casein의 함량은 0.38 g이었으며, 1일 저온 저장된 원유는 0.32 g으로 감소하여 2일, 3일 저온 저장 기간이 지남에 따라 0.31 g, 0.30 g으로 유의적 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

원유 중의 casein micelle은 주로 Ca의 영향을 받으며(Brunner, 1981), Ca의 존재 하에 α_s , β , κ -casein의 상호작용에 의해서 직경 50~300 nm(500~3000 Å)의 입자가 형성되는데, casein micelle의 형성과정 중 온도의 영향을 받는다(Slattery, 1976; Webb *et al.*, 1974). 특히 β -casein은 8°C 이하에서는 micelle로부터 해리되어 serum casein으로 전이되며, 4°C에서는 분자량이 가장 작은 monomer 상태로 존재한다(Downey *et al.*, 1970; McGann *et al.*, 1979). Rose(1968) 또한 원유를 저온 저장했을 경우 단백질은 micelle로부터 casein의 일부가 해리되어 분산 상태로 남아 있으며, 한 분자 또는 약간의 응집된 형태로 존재한다고 하였다. 이 수용성 단백질의 대부분은 β -casein이다(Downey와 Murphy, 1970). Lenoir 등(1974)과 Ichilczyk-Leone 등(1981)은 24~48시간 저온 저장했을 경우에 soluble casein은 약 4배 정도가 증가한다고 보고하였으며, Ali 등(1980)은 100%가 증가한다고 보고하였다. 이는 micelle의 소수성기가 느슨해짐에 따라 casein의 해리에 의해서 발생된다고 볼 수 있다.

Alichanidis와 Andrw(1977)는 내생성 미생물이 생산하는 protease에 의해 casein이 분해되면서 α -casein 및 β -casein 양이 현저히 감소하는 것으로 보고하였으며, Barcah 등(1978)은 내생성 미생물에 의해서 β -casein이 α -casein보다 더욱

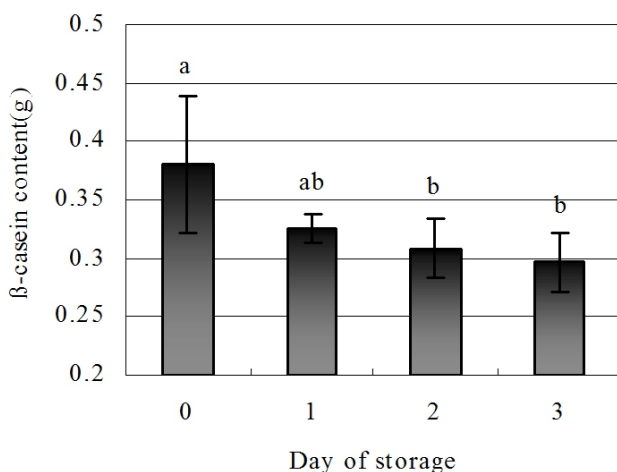


Fig. 3. Effect of storage of raw milk on crude β -casein content. ^{a-b} Mean values with different letters on the same bars are significantly different ($p < 0.05$).

쉽게 분해된다고 하였다. Kim(2006)은 원유에서 분리한 *P. fluorescens* SDC 109에서 저온 저장 중 유래된 protease은 β -casein의 분해가 가장 잘 이루어지는 기질 특이성을 가졌으며, whole casein, α -casein 및 κ -casein 순으로 나타났다고 하였다.

Chen과 Yamauchi(1969), Lonergan(1983)은 우유를 -7°C에서 -10°C인 소위 subfreezing에서 장기 저장한 결과 calcium caseinate 침전물을 관찰하였으며, 이러한 온도에서 장기 저장된 원료유는 시유로 직접 적용하기는 부적합하다고 하였다.

따라서 본 실험에서 원유의 저온 저장 시 crude β -casein은 serum casein으로 해리되어 저장 기간이 지남에 따라 감소하는 경향을 나타내었다고 사료된다.

5. Serum Casein 중 무기질(Ca, P, Mg) 함량의 변화

Table 3은 원유의 저온 저장 기간에 따른 무기질(Ca, P, Mg)의 함량의 변화를 나타낸 것이다. 공급받은 직후의 원유의 Ca 함량은 0.08%였으며, 저온 저장 기간이 지남에 따라 1일 후에는 0.09%로 증가하여 2, 3일 동안에는 일정한 값을 유지하였다. 공급받은 직후의 원유의 P 함량은 2.13%였으며, Ca와 마찬가지로 저온 저장 기간이 지남에 따라 1일, 2일, 3일 후에는 각각 2.14%, 2.18%, 2.26%로 증가하는 경향을 나타냈다. Mg의 함량은 모든 처리구에서 0.09%로 일정한 값을 나타내었다.

Qvist(1979)은 5°C에서 원유를 저장함에 따라 Ca와 P은 micelle 내에서 해리되어 농도가 증가하는 결과로 본 실험과 일치하였다. Alice와 Gerard(1981) 또한 단백질 현탁물질을 4°C에서 24시간 저장 시 Ca와 P이 증가된다고 하였다. Davies와 White(1960)은 co-lloidal phase와 soluble phase 사이를 구성하는 무기질 부분은 온도에 의존되는데, Ca phosphate가 분산상(disperse phase)으로부터 가용화 됨에 따라 수용성 Ca와 P은 저온 상태에서 증가한다고 하였다. Jenness와 Patton(1959)은 Ca phosphate의 가용성을 가지고 있어 colloidal phase와 수상(aqueous phase)의 사이에서 교환되어질 때 Ca와 P은 온도에 의존되는 성질을 가지게 한다고 하였다.

Table 3. Effect of storage of serum casein on mineral content (Unit: %)

	Days of 5°C storage			
	0	1	2	3
Ca	0.08	0.09	0.09	0.09
P	2.13	2.14	2.18	2.26
Mg	0.09	0.09	0.09	0.09

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림수산식품기술기획평가원의 연구비 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. A.O.A.C. 1990. Official Method of Analysis. Association of Official Analytic Chemists. Washington D.C., U.S.A.
2. Ali, A. E., Andrews, A. T. and Cheeseman, G. C. 1980. Influence of storage of milk on casein distribution between the micelle and soluble phases and its relationship to cheese-making parameters. *J. Dairy Res.* 47:372-382.
3. Aylward, E. B., O'leary, J. and Langlois, B. E. 1980. Effect of milk storage on Cottage cheese yield. *J. Dairy Sci.* 63: 1819-1825.
4. Barach, J. T., Adams, D. M. and Specck, M. L. 1978. Mechanism of low temperature inactivation of a heat-resistant bacterial protease in milk. *J. Dairy Sci.* 67:523-527.
5. Barach, J., Adams, D. M. and Specck, M. L. 1976. Stabilization of psychrotrophic temperature pseudomonas protease by calcium against thermal inactivation in milk at ultra high temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 31:875-879.
6. Chen, C. and Yamauchi, K. 1969. Properties of acid casein and casein micelle from milk destabilized by frozen storage. *Agr. Biol. Chem.* 33:1751-1757.
7. Davis, F. C. and Law, B. A. 1984. *Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk Food.* Elsevier Applied Science Publisher, England.
8. Downey, W. K. and Murphy, R. F. 1970. The temperature-dependent dissociation of β -casein from bovine casein micelles and complexes. *J. Dairy Res.* 37:361-372.
9. Hong, Y. P. and Yoon, Y. C. 1984. Change on bacteriological parameter in raw milk during cooling under low temperature. *Korean J. Dairy. Sci.* 6:120-125.
10. Ichilczyk-Leone, J., Amram, Y., Shneid, N. and Lenoir, J. 1981. Refrigeration of milk and its implications in cheese making. I. Effects of refrigeration on the physicochemical and coagulation properties of milk. *Revue Laitie re Française.* 401:7-14.
11. Jenness, R. and Patton, S. 1959. *Principles of Dairy Chemistry.* New York. Wiley.
12. Kim, C. H. 2006. Characteristics of protease originated from *Pseudomonas fluorescens* SDC 109 isolated from raw milk. *J. Dairy food Research.* 18:128-132.
13. Laemmli, U. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227:680.
14. Law, B. A. 1979. Review of the progress of dairy science: Enzymes of psychrotrophic bacteria and their effects on milk and milk products. *J. Dairy Res.* 46:363-371.
15. Lenoir, J., Veisseyre, R. and Choisy, C. 1974. Cold stored milk, raw material of modern cheese making. *Revue Laitie re Française.* 322:1-7.
16. Lonergan, D. A. 1983. Isolation of casein by ultrafiltration and crude-stabilization. *J. Food Sci.* 48:1817-1825.
17. Overcast, W. W. and Atmaram, K. 1974. The role of *Bacillus cereus* in sweet curdling of fluid milk. *J. Milk Food Technol.* 37:232-238.
18. Pyne, G. Y. and Mcgann, T. C. A. 1962. *Proc. XVI. Int. Dairy Congr.* B:611.
19. Qvist, K. B. 1979. Reestablishment of the original rennetability of milk after cooling. 1. The effect of cooling and LTLT pasteurization of milk and renneting. *Milchwissenschaft.* 34:467-469.
20. Rose, D. 1986. Relation between micellar and serum casein in bovine milk. *J. Dairy Sci.* 51:1987-1902.
21. Slattery, C. W. 1976. Casein micelle structure: An examination of models (Review). *J. Dairy Sci.* 59:1547-1556.
22. Talbot, B. and Waugh, D. F. 1970. Micelle-forming characteristics of monomeric and covalent polymeric κ -casein. *Biochemistry.* 9:2807.
23. Webb, B. H., Johnson, A. H. and Alford, J. A. 1974. *Fundamentals of Dairy Chemistry.* avi. Westport Connecticut.
24. White, C. H. and Ray, B. W. 1977. Influence of heat treatment and method of acidification of milk on manufacture and properties of Cottage cheese. *J. Dairy Sci.* 60:1236-1244.

(Received 2011.6.14/Revised 2011.6.24/Accepted 2011.6.27)