

## 牛乳蛋白質의 熱安定성에 關한 研究

### 제 1 보 : 牛乳蛋白質의 加熱에 依한 變化

梁 隆· 朴錫源· 申完澈  
延世大學校 工科學 食品工學科  
(1982月 10月 19日 수리)

## Studies on the Heat Stability of Milk Proteins

### I. Heat Induced Changes in Protein of Skim Milk

Ryung Yang, Suck-Won Park and Wan-Cheol Shin  
Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul 121.

(Received October 19, 1982)

#### Abstract

To get a further information on the heat stability of milk proteins, the heat-induced changes in the viscosities, DEAE Sephadex A-25 chromatograms and polyacrylamide gel electrophoretic patterns of skim milk, casein fraction and whey protein fraction were investigated. The results obtained are as follows;

1. When  $\text{CaCl}_2$  was added to skim milk, the viscosity of skim milk increased rapidly as the heating temperature was risen. The more calcium content of skim milk was increased, the lower the gelling temperature of skim milk was obtained. However, in the presence of EDTA, skim milk was stable on heating at the higher temperature.
2. The viscosity of casein fraction was not changed by heating at  $100^\circ\text{C}$  for 10 minutes, whereas the whey protein fraction was precipitated when heated at  $60^\circ\text{C}$  for 10 minutes. DEAE sephadex chromatography showed that elution profile of skim milk at  $95^\circ\text{C}$  for 10 minutes differed from that of unheated one.
3. Acrylamide gel electrophoretic patterns of skim milk proteins heated at  $95^\circ\text{C}$  showed that lots of changes were occurred in milk proteins during heat treatment.

#### 序 論

牛乳는 대단히 安定한 colloid를 이루고 있으며, 良質의 均質한 蛋白質을 供給해 줄 수 있는 主要 蛋白質食糧 資源의 하나이며, 오랜 기간동안 많은 研究의 對象으로 되어 왔다.

牛乳 蛋白質의 大部分을 차지하고 있는 casein은 micelles 形態로 存在하며, calcium 및 phosphate 등이 結合되어 있는 것으로 믿어지고 있으나 그 micelles의

正確한 構造에 關하여는 아직도 밝혀져 있지 아니하며, 많은 model이 提案되고 있다<sup>(1-7)</sup>.

最近의 研究報文들은 各種의 乳蛋白質 成分들을 순수하게 분리하고 그들의 物理化學의 性質에 對한 檢討, 특히 micelles 構造의 解明<sup>(8-13)</sup> 및 牛乳 蛋白質의 熱安定성에 關한 研究를 활발히 進行하고 있다<sup>(14-27)</sup>. 이는 micelles 構造의 解明 및 乳蛋白質系에 對한 加熱의 影響이, 乳製品의 品質管理面에서 또 營養化學의 側面에서 先行되어야 할 重要한 研究課題中的의 하나인 때문인 것으로 생각된다.

牛乳는 正常的인 加熱殺菌時 또는 그 貯藏 중에 gel 化되는 경우가 있으며, 특히 濃縮乳製品인 경우, 그 貯藏 중에 流動性이 變化하는 경우가 많은 것으로 알려져 있다<sup>(28-32)</sup>.

이와 같은 乳製品의 品質低下 現象은 모두 乳蛋白質系의 熱安定성과 關聯이 있는 것으로 생각되고 있으나, 그 正確한 原因에 對하여는 아직도 不明한 點이 많이 남아 있다<sup>(30)</sup>.

乳蛋白質系의 熱安定성에 對한 mechanism을 解明하고자 하는 시도로써,  $\beta$ -lactoglobulin과  $\alpha$ -casein 간에 heat-induced complex가 形成된다는 것이 McGugan 등에 의하여 提案된 以後<sup>(33)</sup>, 많은 研究者들은 electrophoresis나<sup>(34-37)</sup> light scattering 등을<sup>(38)</sup> 利用하여  $\beta$ -lactoglobulin과  $\kappa$ -casein 간에 complex가 形成될 수 있음을 나타내 보였으며; 그와 같은 complex의 形成이 skim milk의 熱安定성에 影響을 미치게 될 것이라고 報告하고 있다.

Morr 등은<sup>(39)</sup> casein과 whey protein 간에 加熱時 calcium-linked complex가 形成되고, 그러한 complex의 形成이 skim milk의 熱安定성을 增進시키는 것이라고 하였으며 이에는 disulfide aggregates의 形成이 要求되는 것은 아니라고 하여  $\beta$ -lactoglobulin- $\kappa$ -casein complex의 形成과는<sup>(14)</sup> 相異한 主張을 하고 있다.

그러나 어떠한 形態로든지  $\beta$ -lactoglobulin과 casein 간에 complex가 形成된다는 點에 對하여는 一般的으로 見解가 一致되고 있으나, 그와 같은 complex는 isolated system에서 形成된 것이므로 natural skim milk內에서도 同一한 性質의 complex가 形成된다고 主張할 수는 없는 것이며, 더우기 micelles內에서  $\beta$ -lactoglobulin과  $\kappa$ -casein 간에 intermolecular disulfide bond가 形成된다는 證據는 아직도 確實하게 提示되어 있지 않다<sup>(30, 40)</sup>.

따라서 加熱로 인한 乳蛋白質系의 變化를 說明하고 또 乳蛋白質系 自體의 變化로 인한 熱安定성에의 寄与를 充分히 說明하기 위해서는 보다 많은 研究가 必要한 것으로 생각된다.

著者들은 牛乳蛋白質의 熱安定성의 變化를 가져오는 단백질성분을 검출하고, 牛乳蛋白質사이의 加熱時의 相互作用을 해명하기 위한 기초연구로, 加熱處理를 받은 skim milk에 대하여, 粘度의 測定, column chromatography 및 polyacrylamide electrophoresis를 행하여 가열에 의한 變化를 추적하고, skim milk의 熱安定성에 대한 casein, whey protein 및 calcium의 가능한 역할에 관하여 검토하였다.

## 材料 및 方法

### Skim milk의 調製

延世大學校 부속 목장에서 飼育되고 있는 건강한 Holstein으로부터 搾乳한 新鮮한 牛乳를 採取하여 4,000 rpm에서 20分동안 遠心分理하여 (International centrifuge, model HT centrifuge) 脫脂한 다음 使用하였다.

### Acid casein의 調製

脫脂乳를 증류수로써 4倍量으로 희석한 다음 연속적으로 교반하면서 10% 醋酸溶液을 添加하여 pH 4.6에서 casein을 沈澱시켰다 上澄液을 除去하고 증류수로 수회 洗滌한 다음 acetone으로 脫水 乾燥시켰다. 사용시는 pH 7 以上에서 1N NaOH 溶液에 再溶解하였다<sup>(41, 42)</sup>.

### Whey protein의 調製

脫脂乳를 pH 4.6으로 調節하여 casein을 沈澱시킨 後 2,000 rpm에서 30分間 원심분리한 다음 여과하여 그 濾液을 試料로 使用하였다<sup>(41, 42)</sup>.

### 蛋白質 濃度の 測定

Biuret 方法으로 測定하였다. Biuret法의 檢量線은 serum albumin으로 作成하여 micro-kjeldahl法으로 檢定하였다.

### Calcium의 定量

A. O. A. C 分析法에 따라 EDTA로 摘定하는 chelatometry法으로 定量하였다<sup>(43)</sup>.

### 加熱 實驗

시료 용액 約 15ml를 硬質試驗管에 넣고 恒溫槽에서 10分동안 加熱하였다.

### 粘度 測定

20℃의 恒溫水槽에서 증류수를 대조구로 하였을 때 54.5 sec의 outflow time을 나타내는 Ostwald capillary viscometer를 사용하여 加熱한 試料의 粘度를 測定하였으며 그 結果를 다음 식에 따라 相對粘度로 表示하였다<sup>(44)</sup>.

$$\eta_{rel} = \eta / \eta^0 = \theta t / \theta_0 t_0$$

여기에서  $\eta$ 와  $\eta^0$ 는 용액과 용매의 粘度이며,  $\theta$ 와  $\theta_0$ 는 용액과 용매의 밀도,  $t$ 와  $t_0$ 는 용액과 용매의 capillary를 통과하는 시간(sec)을 나타낸다.

### 脫脂乳의 column chromatography

Anion exchange adsorbent인 DEAE Sephadex A-25를 0.01M Tris-Citrate buffer (pH 8.6)로 洗滌하여 pH equilibrium에 이르도록 한 후 column에 充塡하였다. (2.5 cm × 19 cm)

脫脂乳 2ml(約 60mg of protein)를 buffer 2 ml와 混 合시킨 後 위와 같이 준비된 column에 넣고 그 위에

filter paper를 었었다. 溶出은 0.01M Tris-citrate buffer와 0.45M NaCl용액으로 gradient elution 으로 하였다<sup>(45)</sup>.

수지에 吸着되어 溶出되지 않은 蛋白性分の 確認을 위하여 1M-NaCl을 溶解시킨 buffer 100 ml와 0.2N NaOH용액 100ml를 연결시켜 용출을 행하였으며 加熱 試料인 경우는 다시 0.2N-NaOH용액으로 계속 溶出시켰다.

溶出은 60~70ml/hr의 流速으로 一定하게 調節하여 實溫에서 行하였으며 溶出液은 fraction collector (Toyo, SF-160k)로 7 ml씩 分取하였고, 각 fraction의 蛋白質 濃度는 280 nm에서 測定하였다. (Hitachi, model 101 spectrophotometer) NaCl濃度는 Mohr titration 으로 決定하였다<sup>(43)</sup>.

#### Disc polyacrylamide gel electrophoresis<sup>(48-50)</sup>

Ornstein과 Davis 등의 方法에 따라 7.5%의 acrylamide gel(pH 9.4)을 이용하여 電氣泳動을 行하였다. 電極液으로서 pH 8.3의 Tris-glycin buffer를 사용하였고 gel column 하나 당 約 4 mA의 電流가 흐르도록 하여 室溫에서 約 2.5시간 동안 수직泳動시켰다. 泳動後 gel을 分離하여 1%의 Amido schwarz로 染色하고 다시 7% 醋酸溶液으로 脫色시켰다.

## 結果 및 考察

### Skim milk의 熱安定性和 calcium添加의 影響

牛乳 중에는 約 30mM의 calcium이 存在하고 있으며<sup>(51, 52)</sup> 그 중 2/3가 colloidal calcium으로서 micellar casein의 carboxyl group 및 phosphate에 ester linkage로 結合되어 있고<sup>(53, 54)</sup>, 또한 casein micelles이 서로 會合할 때 cementing agent의 役割을 한다고 主張되고 있다<sup>(11, 28, 55)</sup> 나머지 1/3은 溶解性 calcium으로 2~3 mM은 ion상태로 存在하고<sup>(56)</sup> 나머지는 citrate, phosphate, lactose 또는 whey protein과 複合體를 形成하고 있으며, 이러한 溶解性 calcium은 牛乳가 加熱될 때에는 一部가 colloidal phase로 轉移되며<sup>(41)</sup>, 또한 colloidal calcium염들의 形成은 skim milk의 熱安定性에 影響을 주는 것으로 알려지고 있다<sup>(57)</sup>.

Lin 등은 casein micelles에 calcium을 添加하면 casein micelles의 凝集을 促進시키는 것으로 보아 micellar framework는 Ca- $\alpha$ s-caseinate로 이루어져 있고 micelles의 空間에  $\beta$ -casein 및 k-casein이 ca-bridge로 結合되어 있다고 主張하고 있다<sup>(6)</sup>. 즉, calcium은 casein micelles의 安定化에 결정적 役割을 擔當하고 있으며, 乳蛋白質의 系全體의 安定性에도 큰 影

響을 미치게 될 것으로 豫想되었다.

加熱處理를 받은 skim milk의 熱安定性에 對한 calcium 첨가의 影響을 Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다.

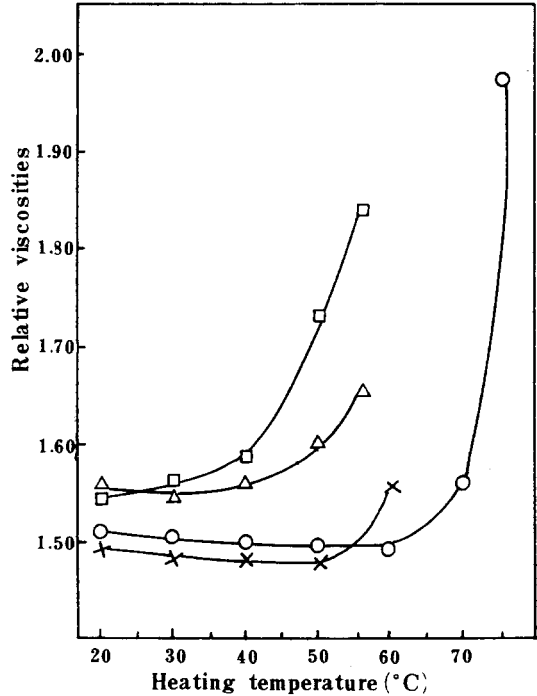


Fig. 1 Effect of calcium chloride content on the viscosity of skim milk. All were heated for 10 min.

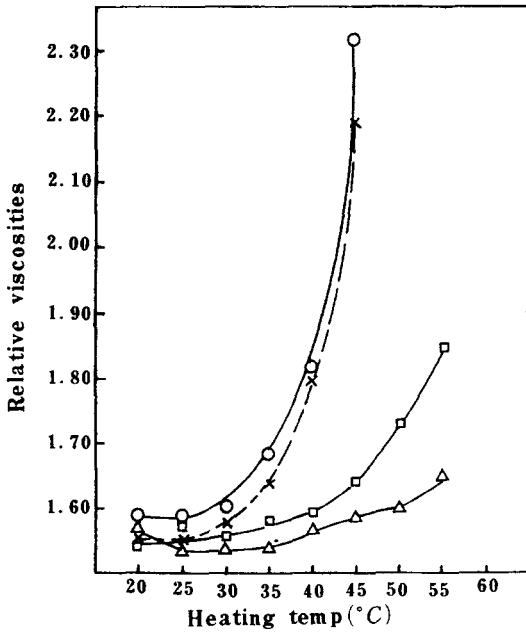
Concentration of calcium added :

○-○ 9mM ; △-△ 22.5mM

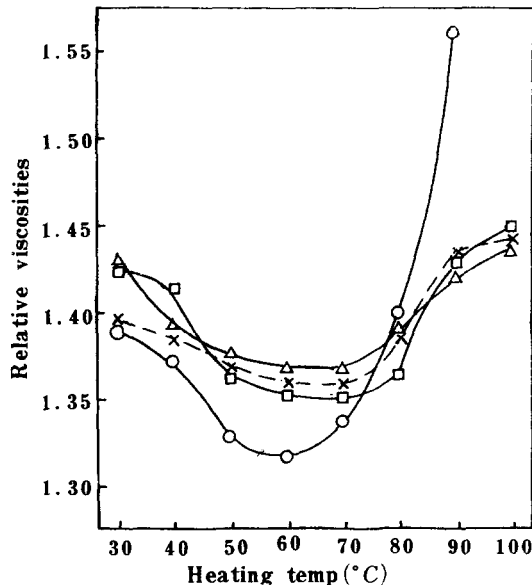
×-× 18mM ; □-□ 27 mM

9 mM의 CaCl<sub>2</sub>를 첨가하였을 때 skim milk의 粘度는 70°C에서 增加되기 始作하였으며, 80°C에서 凝集沈澱되었다. 그러나 22.5mM의 CaCl<sub>2</sub>가 添加 되었을 때에는 30°C에서 粘度增加가 始作되어 45°C에서 凝集沈澱되었다 (Fig. 2)

이상의 結果로부터 calcium ion은 乳蛋白質의 熱安定性에 결정적 影響을 미치며 calcium 存在 下에서 加熱시킬 때에는 牛乳蛋白質들을 均一分散系로부터 不均一會合狀態로 轉移시키는 것으로 解析되었으며, 또한 calcium ion의 增加에 따라 凝集沈澱의 溫度가 낮아지는 것은 牛乳의 calcium 量이 增加함에 따라 casein micelles의 solvation정도가 變하고, calcium이 部分的으로 colloid狀態로 轉移되어 熱安定性이 減少되므로 casein이 不安定하여지기 때문인 것으로 풀이되었다.



**Fig. 2 Effect of calcium chloride content on the viscosity of skim milk**  
 All were heated for 10 min.  
 Concentration of calcium added:  
 △-△ 22.5mM ; ×-× 45mM  
 □-□ 27 mM ; ○-○ 63mM



**Fig. 3 Changes in the relative viscosities of skim milk treated with chelating reagent**  
 ○-○ 3 mM of Ca added ; △-△ skim milk  
 ×-× 3.3 mM ; □-□ 0.3mM of EGTA

Fig. 3은 natural skim milk 중에 存在하는 calcium의 一部를 chelating시킨 後 熱安定性의 關係를 나타낸 것이다. calcium 添加가 skim milk의 凝集沈澱되는 溫度를 低下시킨 데에 비하여 calcium을 減少시킨 경우는 100°C에서도 凝集沈澱을 일으키지 않았다.

위의 結果로 보아 calcium이 calcium chelating agent에 의해 乳蛋白質系로부터 除去되면 micelles은 basic subunit로 解離되고, colloidal calcium이 減少되며, 또한 牛乳의 pH에서 解離가 可能한 carboxyl group 등과 陽 ion인 calcium과의 結合이 可能하여 乳蛋白質成分의 凝集을 促進하는 bridge로 作用하는 것을 막아 줌으로써 熱에 對한 安定性이 커지는 것으로 풀이 되었다.

그림에서 同一한 calcium濃도에 있는 乳蛋白質系의 粘度가 加熱함에 따라 增加하는 것으로 볼 때 calcium ion과 蛋白質과의 結合은 全적으로 靜電引力에 依存하는 것 같지는 않았으며 加熱은 soluble calcium을 活性化시키는 것이라고 解析되었다.

加熱에 依하여 colloid內로 轉移될 수 있는 ionic form의 calcium은 全calcium의 10% 未滿이므로<sup>(58)</sup> native skim milk의 加熱시 그 安定狀態를 크게 崩壞시키리라고는 기대되지 않으나 어떤 特定한 環境, 例로써 濃縮牛乳를 冷凍貯藏하는 경우 監濃度가 增加하게 되어 micelles에 害를 끼치고 凝固를 유지시킬 수 있음을<sup>(28, 57)</sup> 考慮할 때 乳蛋白質系의 安定性에 對한 監濃度の 影響은 매우 重要한 것으로 생각되었다.

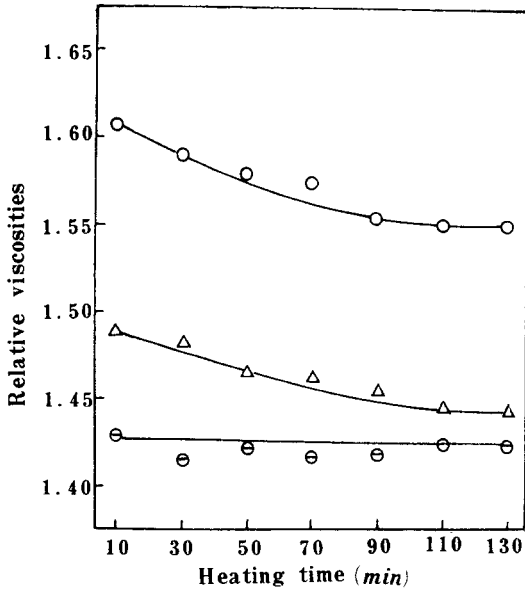
**加熱時間의 延長에 따른 熱累積效果의 檢討**

Fig. 1 및 Fig. 2에서 乳蛋白質系의 熱安定性은 그속에 存在하는 calcium의 濃度 및 加熱溫度와의 組合에 따르는 傾向을 보였으므로 calcium 濃度 및 加熱 溫度를 一定하게 하고 加熱時間을 延長시켰을 때 乳蛋白質系의 安定性에 對한 影響을 조사하였다.

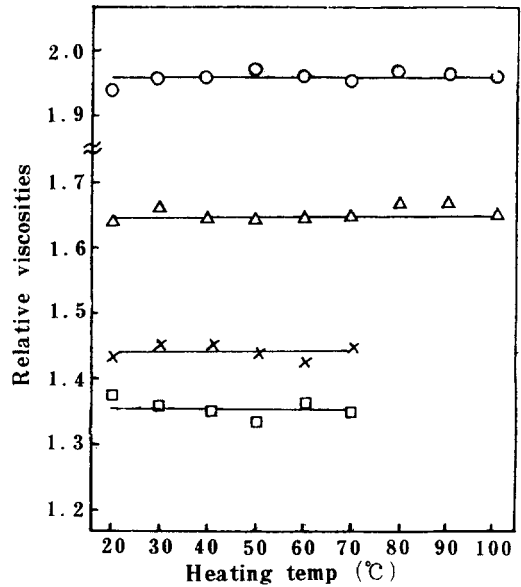
Fig. 4에 나타난 바와 같이 一定한 calcium濃度 및 處理溫度에서는 skim milk의 粘度는 전혀 增加되지 않았다. 이 結果는 加熱溫度가 熱安定性에 큰 影響을 미치고 있는 結果와는 (Fig. 1 & 2) 對照的인 것으로 一定溫度에서 粘度에 對한 熱累積의 效果는 전혀 나타나지 않고 있다.

soluble calcium의 colloidal calcium에로의 轉移는 colloide의 凝集을 促進시킬 것이다. 그러나 實驗結果는 그와 反對로 低下를 나타내는 傾向을 보이고 있다. 그 原因에 對하여는 보다 자세한 研究가 必要할 것으로 생각되었다.

**Casein 및 whey protein의 粘度에 對한 calcium의 影響**



**Fig. 4 Effect of heating time on the viscosity of skim milk**  
**Addition of calcium and heating temp.:**  
 ○-○ 36mM, 40°C  
 △-△ 27mM, 40°C  
 ○-○ 9mM, 50°C



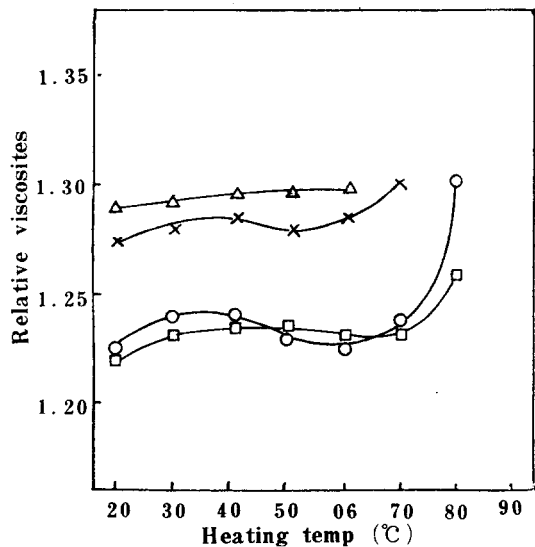
**Fig. 5 Effect of calcium content on the viscosity of the casein fraction**  
 ○-○ redispersed casein  
 △-△ 10mM of Ca added  
 ×-× 27mM of Ca added  
 □-□ 45mM of Ca added

Fig. 1 및 Fig. 2로부터 乳蛋白質의 熱安定性은 calcium에 依하여 크게 影響 받음을 알았으므로, skim milk 내에서 casein micelles와 whey protein중 어느 fraction이 加熱로 因한 不安定性을 더 많이 內包하는 것인가에 對하여 調査하였다.

Fig. 5에 나타난 바와 같이 等電沈澱을 反復하여 制限한 casein은 colloidal calcium 및 phosphate가 相當히 除去된 狀態이므로 (41) calcium을 10mM 정도 添加하여 skim milk 내에서와 거의 같은 calcium 濃度 環境으로 조절할 때 100°C에서의 加熱로도 粘度는 거의 變化하지 않았으며 또 沈澱이 생기지도 않은 것으로 보아 casein fraction은 加熱에 對하여 安定狀態를 維持할 수 있는 것으로 推定되었다.

Calcium을 添加함에 따라 casein溶液은 점차 乳白色으로 變化하였고 高濃度の calcium 存在 下에서 加熱溫度가 상승함에 따라 沈澱이 생겼는데, 이는 calcium에 依하여 micelles가 再形成되고 (61) 이와 같은 micelles간 에 Ca-linked complex가 形成되는 때문인 것으로 생각되었다.

한편 whey protein은 casein을 等電沈澱시켰을 때 上澄液으로 얻은 것으로서 skim milk 內에 存在하고 있을 때보다 더 많은 calcium을 包含하는 狀態로 된다.



**Fig. 6 Effect of calcium content on the viscosity of the whey protein fraction**  
**Addition of EDTA :**  
 △-△ 6.4mM ; ○-○ 20mM  
 ×-× 10 mM ; □-□ 18mM

Fig. 6에 나타난 바와 같이 EDTA 溶液을 加하여 ca-

Icium을 모두 chelating시켰을때 80°C까지는 沈澱이 생기지 않았으나 calcium濃도가 높아질수록 沈澱이 形成되는 溫度는 점점 低下되었다. 따라서 skim milk 내에서 whey protein 중의 calcium 濃도를 約 10mM 정도로 본다면 (Fig. 6의 EDTA 添加量 6.4 mM과 10 mM 사이) calcium이 存在하지 않는 狀況 下에서 또는 skim milk 内の calcium濃度에서 加熱로 因하여 不安定하게 되는 區分은 casein보다 whey protein인 것으로 推定되었다.

이상의 結果로 보아 whey protein은 加熱時 skim milk 内の calcium濃度에서 充分히 沈澱될 수 있을 것이나, 沈澱되지 않는 것은 casein에 依하여 保護를 받는 때문인 것으로 알려졌다<sup>59)</sup>. 이와같은 保護作用의 mechanism에 對하여 Zittle 등은 casein이 whey protein에 結合된 calcium availability를 減少시키기 때문이라고 하였으며<sup>60)</sup>, Morr 등은 熱變性된 whey protein과 casein 간에 Ca-linked complex가 形成됨에 기인한다고 하였다<sup>59)</sup>. 그러나, Morrisey<sup>47)</sup>는 熱安定성과 calcium存在의 相關關係보다도 β-lactoglobulin 과 k-casein 간에 complex形成을 보다 더 重視하고 있어서 一致된 主張이 提示되어 있지 않다. 그러므로 이의 解明을 爲하여는 계속적인 研究가 必要할 것으로 생각되었다.

**Skim milk의 熱安定성에 對한 pH의 影響**

Calcium과 protein結合에 관한 性質 및 이로 因한 熱安定성의 變化를 추적하기 위하여 skim milk의 pH를 變更시키고 加熱했을 때의 粘度 變化를 Fig. 7에 나타내었다.

粘度는 Alkali側으로 移動함에 따라 增加하였으며 skim milk 중의 calcium을 EDTA로 chelating시킨 경우, pH 依存性的 정도는 크지 않았다.

따라서 粘度의 pH 依存성은 Ca ion의 存在에 依하여 나타나는 것으로 pH만에 依한 粘度의 增加는 그幅이 比較的 좁은 것으로 解析되었다.

Alkali 側에서 試料溶液은 高粘度를 보였음에도 不拘하고 凝固는 일어나지 않았다. 이는 Alkali 側에서 蛋白質의 陰電荷가 增加되므로서 Ca과 結合하고도 남아 있는 實效 陰電荷基가 相互 反발을 일으키며 또 蛋白質의 水和를 充分하게 하므로서, 乳蛋白質 成分이 凝集되거나 沈澱으로 分離됨을 抑制하기 때문일 것으로 解析되었다.

pH를 acid 側으로 移動시켰을 경우 高溫에서의 加熱은 熱凝固를 일으켰다. acid 側에서 陰電荷는 減少될 것이며 加熱로 因하여 陽ion인 Ca이 蛋白質의 陰電荷基에 結合하게 되면 實效陰電荷는 더욱 減少될 것이

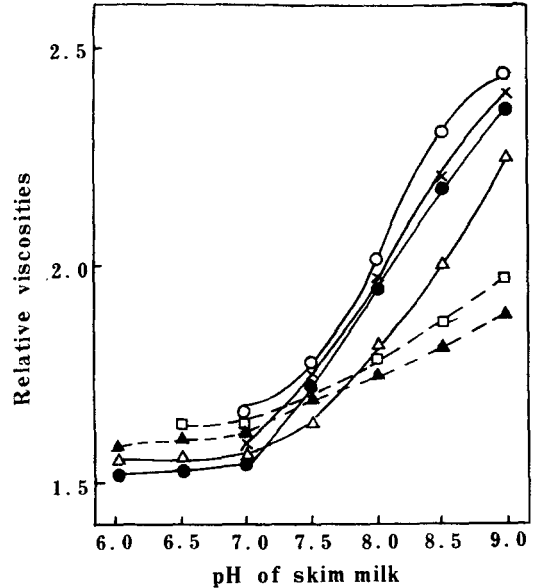


Fig. 7 Effect of pH on the viscosity of skim milk.

Heating temperature :

- △-△ 20°C ; ○-○ 100°C
- 50°C ; ▲-▲ 20°C (20mM of EDTA)
- ×-× 80°C ; □-□ 80°C (20mM of EDTA)

다. 따라서 蛋白質의 電荷는 等電點 側으로 移動되어 不安定하게 되는 것으로 解析되었다.

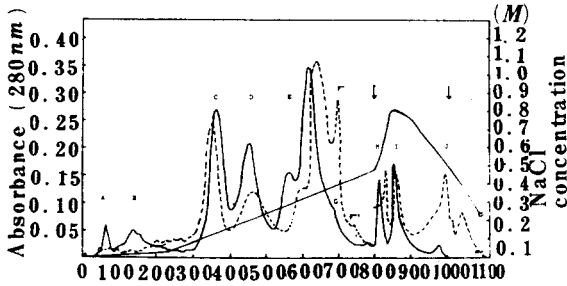
**加熱乳 및 非加熱乳의 column chromatogram과 electrophoretic pattern의 比較**

粘度測定을 통한 實驗結果로부터 乳蛋白質系는 加熱로 因하여 그 安定성에 상당한 變化를 받는 것을 알았다. 따라서 本 實驗에서는 加熱로 因한 變化의 樣狀을 더욱 確實히 파악하고 또 많은 乳蛋白質 成分 가운데 주로 어느 成分이 變化에 민감한가를 좀 더 추적하기 위하여 加熱乳 및 非加熱乳의 column chromatography를 行하였다.

Fig. 8에 나타낸 바와 같이 非加熱의 skim milk는 0.45 M NaCl gradient로서 6個의 fraction으로 分割되었고 stepwise elution에 依하여 3個의 fraction이 더 溶出되었다.

95°C에서 10分동안 熱處理한 skim milk는 control에 比하여 fraction A 및 B가 相當히 消失되었으며 F"의 새로운 fraction을 溶出시켰고 stepwise elution에 依하여 4개의 fraction이 더 溶出되었다.

Casein aggregate는 disperse protein보다 수지에 더욱 強하게 吸着되어 25°C에서는 whey protein이 먼저 溶出될 것이므로<sup>45, 47)</sup> fraction A 및 B에는 whey protein이 많이 分布되어 있을 可能性이 있다. 따라서



Effluent volume, milliliter (7ml was collected)  
**Fig. 8 Comparison of DEAE Sephadex A-25 chromatograms of raw and heated skim milk. The arrow show the point of change of eluting buffer**

—— Raw skim milk  
 - - - - Skim milk heated at 95°C for 10 min.

粘度測定을 통한 實驗結果에 一致하여 skim milk의 加熱時 安定性에 變化를 일으키는 區分은 主로 whey protein 側에 存在하고 있는 것으로 推定되었다.

k-casein은 1M NaCl용액으로도 溶出되지 않으며 0.2N NaOH용액으로서 溶出된다고 하면 (47)Fig. 8에서 k-casein의 溶出位置는 arrow 以後로 될 것이다.

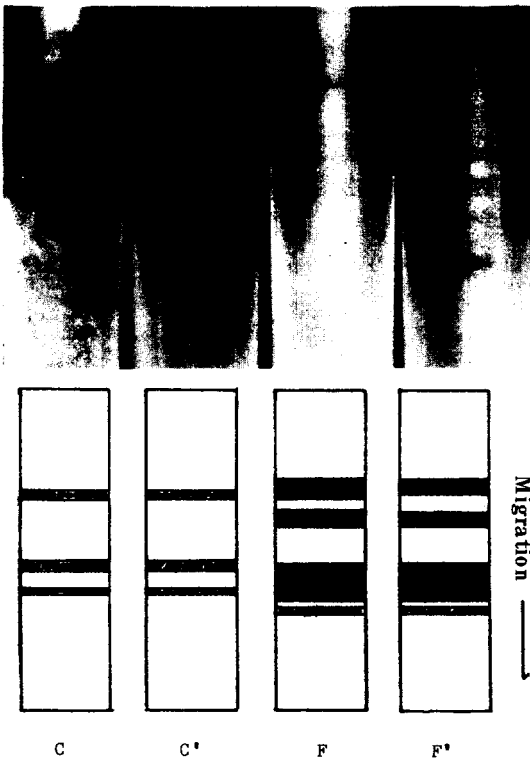
Fraction A 및 B를 除外하면, 0.45M NaCl elution

에서 fraction C, D, E, F 및 그에 대응되는 熱處理乳의 各 fraction의 溶出位置는 거의 비슷하지만 그 面積 分布에는 비교적 많은 變化가 있었음을 알 수 있다. 따라서 各 fraction을 構成하고 있는 蛋白質 組成을 비교하기 위하여 electrophoresis를 行하고 그 結果를 比較하였다.

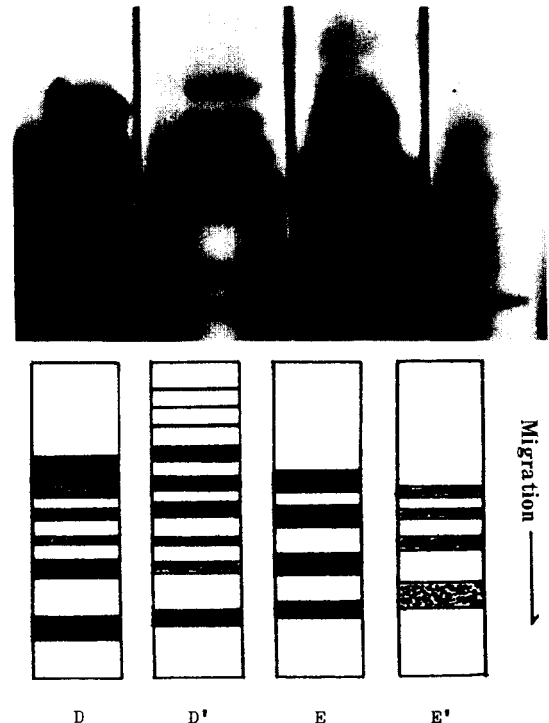
Fig. 9에 나타낸 바와 같이 fraction C 및 C'는 각각 3개의 band를 그리고 F 및 F'는 각각 4개의 band를 나타내었다. 그러나 비교적 面積分布에 많은 차이를 나타낸 fraction D는 6개의 band를 보였고 D'는 그 외에도 착색은 약하지만 느린 移動度를 보이는 3個成分이 더 나타났다.

Fraction E 및 E'는 각기 4개의 band를 나타냈으나 그들의 移動度는 모두 相異하여 對應되지 않았다.

결국 fraction C 및 F는 加熱前後의 溶出位置에는 약간의 移動이 있었으나 그 fraction을 構成하는 蛋白質의 電氣的 性質이 모두 同一한 것으로 보아 加熱 處理로 인한 變化에 比較的 影響을 받지않는 蛋白質成分들 일 것으로 생각되었다. 加熱前後의 column chromatogram 및 electrophoretic pattern에 많은 差異를 보인 fraction A 및 B 그리고 D 및 E에 溶出된 乳蛋白質成分들 가운데에는 加熱로 因하여 變化를 받게되는 白



**Fig. 9 Polyacrylamide gel electrophoretic comparison of fraction C and F**



**Fig. 10. Changes in the polyacrylamide gel electrophoretic patterns of fraction D and E by heating**

質成分이 포함되어 있을 것으로 생각되었다.

그러나 column chromatogram 및 electrophoretic pattern의 差異로부터 明白한 乳蛋白質系의 變化가 어떤 새로운 complex의 形成에 기인하는 것인지 또는 溫度 依存性에 따른 乳蛋白質成分의 會合 및 解離에 기인하는 것인지에 關하여는 더 많은 研究가 必要할 것으로 생각되었다.

따라서 著者들은 DEAE Sephadex A-25 chromatograms와 전기영동상에서 가열전, 후에 變化를 나타내는 이들 단백질성분들을 定量的으로 분석하므로써 牛乳蛋白質의 熱安定性에 대한 情報를 얻을 수 있을 것으로 예상하고 현재 이에 대한 研究를 進行중에 있다.

## 要 約

乳製品의 品質과 密接하게 關聯되어 있는 skim milk protein의 加熱에 依한 狀態變化를 蛋白質 化學的 測定에서 研究하였다.

1. Skim milk 中の calcium濃도가 높아질수록 加熱時 粘度는 急增하였으며 gel化가 일어나는 溫度는 점점 低下되었다. 이러한 事實로 보아 calcium ion은 乳蛋白質의 熱安定性에 結定的 影響을 미치며 calcium存在下에서 加熱시킬 때에는 牛乳蛋白質들을 均一分散系로부터 不均一會合狀態로 轉移시키는 것으로 結論되었다.

2. 一定 溫度에서 skim milk의 安定性에 對한 加熱時間의 效果는 전혀 나타나지 않았다.

3. 等電沈電시킨 casein을 再溶解시킨 後, skim milk 內에서와 同一한 calcium濃度 環境으로 調節하고 加熱하였을 때 skim milk가 不安定性을 보이는 溫度보다도 低溫에서 沈澱으로 分離되었다. 따라서 加熱에 不安정한 區分은 whey protein일 것으로 推定하였으며, 이는 skim milk 內에서 casein에 依하여 保護되는 것으로 解析되었다.

5. pH를 變異시킨 skim milk의 粘度 增加에는 calcium ion에 依한 寄与가 컸으며, calcium은 乳蛋白質의 凝集을 促進할 때 Ca-bridge로 作用하는 것이라고 結論되었다.

6. 非加熱의 skim milk는 6개의 fraction으로 分割되었음에 比하여, 95°C에서 10分 加熱했을 때는 fraction A 및 B가 消失되었고 새로운 fraction F"를 出現시켰다.

7. Electrophoretogram에서 fraction C 및 C'는 모두 3개의 band를, fraction F 및 F'는 모두 4개의 band를 나타냈으며 加熱 前後의 移動度에도 差異가 없었다.

Fraction D는 6개의 band로 D'에는 그 외에도 3개의 band가 더 나타났다. fraction E 및 E'는 모두 4개의 band를 보였으나, 그 成分들의 移動度는 모두 對應되지 않았다.

Fraction A 및 B, 그리고 fraction D 및 E에는 加熱로 因하여 變化를 받게되는 乳蛋白質成分이 포함되어 있을 것으로 推定되었다.

## 문 헌

1. Slattery, G. W. and Evard, R. : *Biochim. Biophys. Acta.*, **317**, 529 (1973)
2. Waugh, D. F., Creamer, L. K., Slattery, C. W. and Dresdner, G. W. : *Biochem.* **9**, 786 (1970)
3. Rose, D. : *J. Dairy Res.*, **31**, 171 (1969)
4. Shimmin, P. D. and Hill, R. D. : *J. Dairy Res.*, **31**, 121 (1964)
5. Garnier, J. and Ribadeau-Dumas, B. : *J. Dairy Res.*, **37**, 493 (1970)
6. Lin, S. H. C., Leong, S. L., Dewan, R. K., Bloomfield, V. A. and Morr, C. V. : *Biochem.*, **11**, 1818 (1972)
7. Morr, C. V. : *J. Dairy Sci.*, **50**, 1744 (1967)
8. Farrell, H. M. : *J. Dairy Sci.*, **56**, 1195 (1973)
9. Ribadeau-Dums, B. and Garnier, J. : *J. Dairy Res.*, **37**, 269 (1970)
10. Ashoor, S. H., Sair, R. A., Olson, N. F. and Richardson, T. : *Biochim. Biophys. Acta.*, **229**, 423 (1971)
11. Bloomfield, V. A. and Mead, R. J. : *J. Dairy Sci.*, **58**, 592 (1975)
12. David, R. W. and Gale, W. R. : *J. Dairy Sci.*, **53**, 1171 (1970)
13. El-Neogumy, A. M. : *J. Dairy Sci.*, **54**, 1567 (1971)
14. McKenzie, G. H., Norton, R. S. and Sawyer, W. H. : *J. Dairy Res.*, **38**, 343 (1971)
15. Lyster, R. L. J. : *J. Dairy Res.*, **37**, 233 (1970)
16. Morr, C. V. and Josephson, R. V. : *J. Dairy Sci.*, **51**, 1349 (1968)
17. Morrissey, P. A. : *J. Dairy Res.*, **36**, 1 (1969)
18. Sawyer, W. H. : *J. Dairy Sci.*, **51**, 323 (1968)
19. Zittle, C. A. : *J. Dairy Sci.*, **52**, 12 (1969)
20. Zittle, C. A. : *J. Dairy Sci.*, **52**, 1356 (1969)
21. Rose, D. J. : *J. Dairy Sci.*, **52**, 1405 (1969)



22. Rose, D. J.: *J. Dairy Sci.*, **45**, 1305 (1962)
23. 吉田繁: 日本農藝化學會誌, **41**, 359 (1967)
24. 中西武雄, 伊藤 敏敏: 日本農藝化學會誌, **44**, 130 (1967)
25. 中西武雄, 伊藤 敏敏: 日本農藝化學會誌, **43**, 306 (1969)
26. 中西武雄, 伊藤 敏敏: 日本農藝化學會誌, **44**, 118 (1970)
27. 宮澤久七: 日本農藝化學會誌, **46**, 541 (1972)
28. Rose, D.: *J. Dairy Sci.*, **48**, 139 (1965)
29. Leviton, H. and Pallansch, M. J.: *J. Dairy Sci.*, **45**, 1045 (1962)
30. Sawyer, W. H.: *J. Dairy Sci.*, **52**, 1347 (1969).
31. Carroll, R. J., Thompson, M. P. and Melnyhn, P.: *J. Dairy Sci.*, **54**, 1245 (1971)
32. Fox, K. K., Holsinger, V. H., Posati, L. P., and Pallansch, M. J.: *J. Dairy Sci.*, **50**, 1032 (1967)
33. McGugan, W. S., Zehren, V. L. and Swanson, A. M.: *Science*, **120**, 435 (1954)
34. Zittle, C. A., Thompson, M. P., Custer, J. H. and Sebelius, J.: *J. Dairy Sci.*, **45**, (1962)
35. Parkayastha, R., Tessier H. and Rose, D.: *J. Dairy Sci.*, **50**, 764 (1967)
36. Hartman, G. H. Jr., and Swanson, A. M.: *J. Dairy Sci.*, **48**, 1161 (1965)
37. Fisch, N. L. and Micklson, R.: *J. Dairy Sci.*, **50**, 1360 (1967)
38. Kresheck, G. C., Van Winkle, Q. and Gould, I. A.: *J. Dairy Sci.*, **47**, 126 (1964)
39. Morr, C. V. and Josephson R. V.: *J. Dairy Sci.*, **51**, 1349 (1968)
40. Tessier, H., Yaguchi, M. and Rose, D.: *J. Dairy Sci.*, **52**, 139 (1969)
41. Jenness, R. and Patton, S.: *Principles of Dairy Chemistry*, Wiley, New York, (1959)
42. McKenzie, H. A.: *Milk Proteins I, Chemistry and Molecular Biology*, Academic Press., N.Y. (1970)
43. Association of Official Analytical Chemists: *Official Methods of Analysis*, 12th ed, p.617, 946 (1975)
44. 渡邊格, 島内武彦: 生物物理化学実験法, 培風館, p. 32 (1962)
45. Yaguchi, M. and Rose, D.: *J. Dairy Sci.*, **54**, 1725 (1971)
46. Yaguchi, M., Tarassuk, N. P. and Nobuaki, A.: *J. Dairy Sci.*, **47**, 1167 (1964)
47. Yaguchi, M., Tarassuk, N. P. and Hunziker, H. G., *J. Dairy Sci.*, **44**, 589 (1961)
48. Ornstein, L.; *Ann. New York Acad. Sci.*, **121**, 321 (1964)
49. Terrance G. Cooper.: *The Tools of Biochemistry*, John Wiley, p. 194 (1977)
50. 林 謙哉: 蛋白質の電氣的 性質, 東京大学出版会, P. 30 (1971)
51. Tessier, H. and Rose, D.: *J. Dairy Sci.*, **41**, 351 (1958)
52. Davies, D.T. and White, J. C.D.: *J. Dairy Res.*, **27**, 171 (1960)
53. Dickson, I. R., and Perkins, D.: *Biochem. J.*, **113**, 7 (1969)
54. Rose, D. and Colvin, J. R.: *J. Dairy Sci.*, **49**, 1091 (1966)
55. Payens, T. A. J.: *J. Dairy Sci.*, **49**, 1317 (1966)
56. Waugh, D. F.: *Milk Proteins*, Vol. II, (H. A. McKenzie, ed.) Academic Press, Inc., New York (1971)
57. Webb, B. H., Johnson, A. H. and Alford, J. A.: *Fundamentals of Dairy Chemistry.*, AVI Publishing Company, Inc., p. 603 (1974)
58. Demott, B. J.: *J. Dairy Sci.*, **51**, 1008 (1968)
59. Sarbarwal, P. K. and Ganguli, N. C.: *J. Dairy Sci.*, **55**, 765 (1972)
60. Zittle, C. A. and Dellamonica, E. S.: *J. Dairy Sci.*, **39**, 514 (1956)