



ARTICLE

우유의 열처리가 우유품질과 영양가에 미치는 영향:
V. 열처리가 우유효소에 미치는 영향

신한섭 · 오세종*

전남대학교 농업생명과학대학 동물자원학부

Effects of Heat Treatment on the Nutritional Quality of Milk:
V. The Effect of Heat Treatment on Milk Enzymes

Hanseob Shin, and Sejong Oh*

Division of Animal Science, Chonnam National University, Gwangju, Korea



Received: March 25, 2018
Revised: March 29, 2018
Accepted: March 29, 2018

*Corresponding author :
Sejong Oh
Division of Animal Science, Chonnam
National University, Gwangju, Korea
Tel : +82-62-530-2116
Fax : +82-62-530-2129
E-mail : soh@chonnam.ac.kr

Copyright © 2018 Korean Society of Milk
Science and Biotechnology.
This is an Open Access article distributed
under the terms of the Creative Commons
Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>)
which permits unrestricted non-commercial
use, distribution, and reproduction in any
medium, provided the original work is
properly cited.

ORCID
Hanseob Shin
0000-0003-3144-2234
Sejong Oh
0000-0002-5870-3038

Abstract

Heat treatment is the most popular processing technique in the dairy industry. Its main purpose is to destroy the pathogenic and spoilage bacteria in order to ensure that the milk is safe throughout its shelf life. The protease and lipase that are present in raw milk might reduce the quality of milk. Plasmin and protease, which are produced by psychrotrophic bacteria, are recognized as the main causes of the deterioration in milk flavor and taste during storage. The enzymes in raw milk can be inactivated by heat treatment. However, the temperature of inactivation varies according to the type of enzyme. For example, some *Pseudomonas* spp. produce heat-resistant proteolytic and lipolytic enzymes that may not be fully inactivated by the low temperature and long time (LTLT) treatment. These types of enzymes are inhibited only by the high temperature and short time (HTST) or ultra-high temperature (UHT) treatment of milk.

Keywords

milk enzyme, protease, lipase, psychrotropic bacteria, UHT

서론

열처리의 주요한 목적 중 하나는 원유에 미생물의 수를 줄이는 것이지만, 원유의 열처리 과정 중에 원유 중에 존재하는 효소 역시 불활성화 된다. 우유의 열처리 공정 중에서 가장 낮은 수준의 열처리는 thermisation(가온: 57~68℃, 15초)로 우유의 품질을 유지하기 위하여 사용되는데, 주로 내열성 단백질분해효소와 지방분해 효소 등을 생산하는 저온성 미생물의 생육억제가 목적이다. 그러나 이들 효소들은 살균만으로는 완벽하게 불활성화 시킬 수 없어 이취가 발생되어 분유 생산시에는 보다 더 높은 열처리 조건이 사용되기도 한다.

원유에 존재하는 phosphatase는 HTST(72~75℃, 15~20초) 수준의 열처리에 대부분 불활성화 된다. Peroxidase는 크림과 같이 지방함량이 높은 유제품에서 종종 문제를 일으키는데, 80℃, 5초 정도의 열처리에 대부분 불활성화 된다.

우유의 유통기간은 열처리 조건에 따라 차이가 있는데, 일반적으로 저온 살균 제품의 경우 2~16일 정도이지만 UHT 살균은 30~40일 정도까지 가능하다. 우유를 125~130℃로 2~4초간 UHT 살균한 후 7℃ 미만으로 냉각한 다음 포장 공정중에 2차 오염을 최소화 시키는 공정을 ESL(extended shelf-life) 공정이라고 하며 미국과 캐나다에서 처음 적용되어 유럽과 우리나라에서도 많이 사용하고 있다. ESL 공정으로 생산된 제품은 유통과정과 소매점에서 냉장 상태를 유지해야 하지만, 유통기간이 기존 제품보다 훨씬 긴 것이 장점이다.

이번 논문에서 소개할 내용은 “우유의 열처리가 우유품질과 영양가에 미치는 영향”의 4번째 장에 기재된 “열처리가 우유 효소에 미치는 영향”으로 한국방송통신대학교에 재직하였던 안종건 교수가 작성한 것이다. 본문의 구성은 우유의 효소, 효소의 가열에 의한 영향, 우유의 효소와 유제품 품질로 되어 있는데, 원유에 존재하는 효소와 우유에 미치는 영향 등이 자세하게 기술되어 있다. 사실 원유미생물이 생산하는 효소를 포함해서 우유에 존재하는 효소가 우유의 품질에 미치는 영향에 대한 연구에 대한 자료는 다른 우유 성분에 비하여 많지 않은 것이 사실이다. 따라서 본 자료는 우유에 존재하는 효소에 대하여 젖소, 유방염과 원유미생물 등과 같이 여러 요인들을 포함하여 체계적으로 작성되어 있기 때문에 우유의 효소에 관심이 있는 후학들에게 좋은 자료가 될 것으로 생각된다.

본 론

1. 우유의 효소

우유는 체액의 일종이기 때문에 소의 몸체에 존재하는 효소가 이행되어 우유에는 ligase를 제외한 대부분의 효소가 존재하며, 이들은 대부분 유선세포에서 우유와 함께 분비되나, 혈액, 백혈구에서 유래하는 것도 있다(Walstra와 Jenness, 1984). 우유의 효소는 alkaline phosphatase(Morton, 1985), lactoperoxidase(Polis와 Shmuckler, 1953) 등의 효소자체에 대한 연구, 단백질분해효소(Warner와 Polis, 1945), 지방분해효소(Herrington, 1954), xanthine oxidase(Ball, 1939) 등의 우유의 품질에 관련된 연구, lactose synthase(Ebner와 Schanbacher, 1974)의 유성분 생합성에 관한 연구, catalase, arylesterase, glycosidase 등의 유방질병에 관련된 연구(Kitchen, 1976, 1981) 등의 다양한 분야로부터 연구되어 그 특성이 밝혀졌다. 이와 같은 효소들은 그들이 세포에서 가지는 적극적인 기능을 우유에서 갖지 않으나 우유가 존재하는 조건에 따라 품질에 영향을 미치며, 효소에 따라 품질관리에 능동적으로 이용될 수도 있다.

우유에는 소의 몸체에서 유래하는 것 외에 오염된 미생물에 의해 생산되는 효소도 존재하며, 이들의 종류와 특성은 오염 미생물의 양태에 따라 다르다. 이들 효소 중에서 단백질 분해효소와 지방분해효소가 유제품 품질에 영향하는 바가 커 관심의 대상이 되고 있다(Bassette 등, 1986).

우유가 가공과정 중에 거치는 열처리는 우유에 존재하는 효소의 생물학적 기능을 소실케 하는 주요 원인이며, 각 효소의 열에 의한 변화는 종류, 생산원에 따라 다르기 때문에 열처리후 우유에 존재하는 효소의 양태는 원유와 매우 상이하다. 열처리에 의한 효소의 불활성화는 우유가 가지는 생물학적 가치의 변화를 시사하기는 하나, 우유살균의 적정성에 대한 지표(Kitchen, 1985; Phillips와 Griffiths, 1987), 살균후 저장 중의 품질변화(Driessen, 1976; Mottar 등, 1979), 오염된 저온성 미생물량의 추정(Griffiths 등, 1984; Kroll과 Rodrigues, 1986) 등이 관심의 대상이 되고 있다.

1) 분비효소

(1) 특성

유방으로 우유와 함께 분비되는 효소는 60여종에 발견된 바 있으며, 주요 효소의 특성은 Table 1과 같다. 우유의 효소는 효소에 따라 monomer, dimer, polymer 등의 형태로 존재하고, 탄수화물, 광물질을 함유하기도 한다. Lipoprotein lipase(Egelud와 olivercrona, 1972), alkaline phosphatase(Peereboom, 1968), α -glutamyl transpeptidase(Marther와 Keenan, 1975), Lactoperoxidase(Walstra와 Jenness, 1984) 등은 glycoprotein이다.

Xanthine oxidase는 Mo와 Fe를 함유하고(Walstra와 Jenness, 1984), Superoxide dismutase는 Cu^{2+} 와 Zn^{2+} 을 함유하며(Hicks, 1980; Korycka-Dahl 등, 1979), lactoperoxidase(Walstra와 Jenness, 1984)는 heme iron을 가지는 metalloprotein이다. Lactoperoxidase(Sievers, 1981), Acid

phosphatase(Andrews와 Pallavicini, 1973) acid protease(Kaminogawa와 Yamauchi, 1972b), plasmin(Kaminogawa 등, 1972), Catalase(Walstra와 Jenness, 1984), lysozyme(Eitenmiller 등, 1971), galactosyl transesase(Walstra와 Jenness, 1984)는 monomer이며, lipoprotein lipase(Kitchen, 1985), alkaline phosphatase(Linden과 Alas, 1976), α -glutamyl transpeptidase(Baumrucker, 1980), superoxide dismutase(Walstra와 Jenness, 1984), xanthine oxidase(Marther 등, 1980)는 dimer이고, sulfhydryl oxidase(Janolino와 Swaisgood, 1975)는 polymer이다. 효소들의 적정온도는 sulfhydryl oxidase, lactoperoxidase, α -glutamyltrans peptidase를 제외하고는 대부분 37°C 내외로 일정하거나 적정 pH는 효소에 따라 다르다. 효소들의 반응특이성은 Table 1과 같다.

2) 분포

우유에 존재하는 효소의 양은 품종, 개체, 비유기, 사육조건에 따라 매우 다르며, 우유에 분비된 효소

Table 1. Characteristics of indigenous milk enzymes (Kitchen, 1985)

Enzyme	Distribution in milk	Specificity	Opt. pH	Opt. temp (°C)	Activity in bovine milk	Use or function	Mw		
Hydro-lase	Plasmin	Casein	Hydrolysis of peptide bonds on C-terminal sides of lysyl and arginyl residue β -casein > α_s -casein > κ -casein		8.0	37	UHT milk gelling	48,000	
	Acid protease		Hydrolysis of peptide bonds optimally at acid pH α_s -casein > β - and κ -casein		4.0		Cheese ripening	36,000	
	Lipase	Casein (80%)	Orthophosphoric monoester		8.5~9.0	37	2 μ mole/min.mL FFA	Hydrolytic rancidity	10,000
	Alkaline phosphatase	Membrane structure	Hydrolysis of phosphomonoester		9.8	37	500 μ mole/min.mL	Pasteurization test	160,000~190,000
	Acid phosphatase	Serum membrane structure	Hydrolysis of mucopolypeptide		4.9			UHT milk gelling	42,000
	Lysozyme	Serum	Oxidation of sulfhydryl group		7.9	37	130 μ g/L	Bactericide	14,600
Oxi-dase	Sulfhydryl oxidase	Serum	Dismutation of superoxide ion to H_2O_2 and O_2		7.0~8.0	45~50	3 mg/L	Removal of burnt, cooked flavor	1,000,000
	Superoxidase dismutase	Skim milk	Oxidation of xanthine, hypoxanthine, aldehyde producing H_2O_2 and superoxide				0.1~0.25 μ mole/min.L	Oxidation deterrent	32,000
	Xanthine oxidase	Fat globule membrane	Transfer of oxygen from H_2O_2 to other substrate(such as thiocyanate)		6.0~9.0	37	175 μ mole/min.L	Oxidation catalyst	275,000~300,000
	Lacto-peroxidase	Serum	Transfer of oxygen from H_2O_2 to other substrate (such as thiocyanate)		6.0~7.0	20	22,000 μ mole/min.L	Bacterial destruction	77,500
	Catalase	Membrane structure	Decomposition of H_2O_2 to O_2 and H_2O		7.0		300 μ mole/min.L	Mastitis diagnosis	210,000
Transfe-raise	γ -Glutamyl transpeptidase	Membrane structure	Transfer of γ -glutamyl residues from substrate such as glutathione to an acceptor such another glutamyl residue, hydroxylamine, glycyglycine or water		9.0	45		Amino acid up take into mammary gland	80,000
	Galactosyl-transferase	Serum	Transfer of galactosyl residue from UDP-galactose to an N-acetylglucosamine either free or in a protein bound oligomer		7.2	37	50 μ mole/min.L	Lactose biosynthesis in mamary aland	42,000

도 조건에 따라 활성에 차이가 있다. Lactoperoxidase는 비유 40일경에, acid phosphate (Walstra와 Jenness, 1984), arylesterase(Marouardt와 Forster, 1965)는 초유에 함량이 높으며, catalase(Kitchen 등 1970)와 xanthine oxidase는 비유말기에, N-acetyl- β -D-glucosaminidase(Kitchen, 1976)와 argylesterase(Forster등, 1961)는 유방염유에 많이 포함되어 있다. Superoxide dismutase는 체세포의 숫자가 1,000만/mL 정도로 높을 때 그 함량이 증가한다고 보고된 바 있다(Holbrook와 Hicks, 1978). Lipoprotein lipase는 우유의 저장온도, pH, 기질과의 접촉, 우유에 존재하는 저해제 및 촉진제의 영향 때문에 실제가능한 활성의 1/1,000의 활성을 우유에서 가지며(Anderson, 1983), apolipoprotein CII가 최대활성에 요구되는 촉진제로 보고되었다. (Bengtsson과 Olivecrona, 1980). Plasmin은 활성이 없는 전구체인 plasminogen의 형태로 우유로 이행되어 서서히 plasmin으로 전환되어 활성을 갖게 되는데(Walstra와 Jenness, 1984), 우유에는 일반적으로 plasmin과 plasminogen이 1:5의 비율로 존재하며(Korycka-Dahl 등, 1979), *Pseudomonas*나 coliform 세균이 생산하는 단백질 분해효소(Leytas 등, 1981), 그리고 urokinase (Astrup와 Sterndorff, 1953)가 plasminogen을 plasmin으로 전환시키는 기능이 있으나, urokinase는 우유에서 발견, 보고된 바가 없다.

우유의 효소는 백혈구로부터 유래하는 catalase, 혈액으로부터 이행된 plasmin을 제외하고는 대부분 유신세포에서 유성분과 함께 분비되었으며, 이들은 우유내에서 serum, casein micelle, 지방구막, 세포막 물질 등에 분포되어 있다(Kitchen, 1985). 이와 같은 효소의 분포는 가공처리 과정 중에서 변화할 수 있는데, 지방구막에 존재하는 xanthine oxidase는 4 $^{\circ}$ C 저장, 70 $^{\circ}$ C에서 5분 가열, 균질, 단백질분해효소, 혹은 지방분해효소에 의한 분해 등에 의해 탈지유로 이행하며(Walstra와 Jenness, 1984), 지방구막에 존재하는 alkaline phosphatase는 교반에 의해 탈지유로 이행한다(Stannard, 1975).

3) 미생물 효소

우유는 착유후 각종 미생물에 의해 오염되거나 가공되기까지 저온저장과정에서 주로 저온성 세균이 증가하며(Witter, 1961), 이들이 원유와 살균유 품질저하에 큰 영향을 미친다(Hartley 등, 1969). 이들 저온성 세균 중에서 내열성그람 양성세균도 있긴 하나(Bhadsavle 등, 1972), 저온성 세균의 대부분은 살균처리에 사멸되며(Witter, 1961), 살균 후 품질에 영향을 미치는 것은 이들이 생산한 효소이다(Juffs 등, 1968; Pinheiro 등, 1965). 저온성 세균들이 생산하는 효소 중에서 단백질분해 효소와 지방분해효소가 유제품 품질에 많은 영향을 미치며, 이들은 미생물에서 생산된 후 세포외로 분비되어 casein과 지방구를 분해하여 우유의 향과 조직 등의 품질을 저하시킨다(Bassette 등, 1986).

(1) 단백질분해효소

UHT 처리유의 단백질분해효소의 양은 총세균수보다는 저온성 세균수와 관계가 높고, 이보다는 단백질분해효소를 생산하는 저온성 세균의 숫자가 영향을 많이 미치어 상관계수가 0.7~0.8로서 매우 높다고 보고되었다(Mottar, 1981). *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas putrefaceins*가 냉장온도에서 유청단백질을 분해하는 것이 1960년에 보고되었으며(Skean과 Overcast, 1960), *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*(Christen 등, 1986), *Flavobacterium*, *Cytophaga*(Guamis 등, 1987)등 저온성 세균이 원유를 저온에서 저장하는 과정에서 번식하면서 단백질분해효소를 생산하며, *Pseudomonas*가 미생물 단백질분해효소 생산의 주원인으로 인정되고 있다(Cousin, 1982). 이들 모두는 단백질 분해효소를 생산하여 세포외로 분비하며(Christen 등, 1986; Guamis 등, 1987), *Pseudomonas*는 세포내 단백질분해효소도 생산한다(Guamis 등, 1987). 이들 저온성 미생물이 생산하는 단백질분해효소의 양은 이들 미생물 숫자와 관계가 깊은 하나(Mottar, 1981), *Pseudomonas fluorescens*의 경우 대수기 말기에 단백질 분해

효소 생산이 시작되어 정제기에 최대에 이른다고 보고된 바 있어(Driessin, 1981), 원유에서의 저온성 세균의 숫자만으로 단백질분해효소에 의한 품질변화를 정확히 예측할 수 없다.

*Pseudomonas*는 번식하여 10^4 CFU/mL에 이르렀을 때 κ -casein의 분해가 나타나기 시작했고, α_s -casein과 β -casein은 번식이 더 진행되었을 때 분해되었는데 β -casein의 분해가 더 심했으며, 유청단백질은 strain에 따라 분해양상이 상이했다(Adams 등, 1976). *Pseudomonas*에 의해 gel화한 UHT 우유에 있어서 β -casein과 κ -casein의 분해는 현저했으나 유청단백질은 변화되지 않았다고 보고된 바 있다(Low 등, 1977).

일반적으로 단백질분해효소를 생산하여 우유의 품질에 영향을 미치는 미생물은 저온성 미생물로 인정되고 있으나, coliform 세균도 저온에서 저장된 우유의 품질에 영향을 미치며 coliform 세균이 존재하는 우유에 저온성 세균이 더 많이 함유되어 있었다(Ledford 등, 1983).

(2) 지방분해효소

유지방분해에 의한 품질저하는 우유 원래의 지방분해효소에 기인하는 것으로 인정되었으나, 1959년에 원유를 4°C에서 저장할 때 지방분해효소를 생산하는 미생물의 존재가 보고된 바 있으며(Overcast와 Skean, 1959), Patel과 Blankenagel(1972)은 5×10^6 CFU/mL의 미생물을 함유한 원유로 제조한 살균유의 향이 나빴음을 보고했고, Muir 등(1978)은 저온성 미생물이 많이 증식한 원유에 유리지방산 함량이 증가했음을 발표했으며, Low 등(1976)은 *Pseudomonas fluorescens* 지방분해효소가 치즈 품질저하의 원인이라는 것을 발표하였다.

이와 같은 보고들은 미생물 지방분해효소에 의한 유지방분해도 유제품 품질저하의 원인이라는 것을 시사하는 사실들이다. *Pseudomonas*외에도 *Maraxella*, *Acinetobacter* 등 저온성 미생물도 지방분해효소를 생산하는 것이 보고되었는데, 이들 미생물들은 지방분해효소를 생산하여 세포제 밖으로 분비하며(Christen 등, 1986), 대수기에서는 지방분해효소가 거의 생산되지 않고 정제기에서 생산된다(Christen 등, 1986; Jonsson과 Snygg, 1974).

지방분해효소의 적정 pH는 알칼리로서 *Acinetobacter* 지방분해효소의 경우 8.8이었으며(Christen 등, 1986), *Pseudomonas fluorescens* 지방분해효소는 pH 8.0~7.5(1974), pH 8.0(Fox와 Stepaniak, 1983)으로 보고된 바 있다. 이들 미생물이 생산하는 지방분해효소의 적정온도는 35~37°C로서 유사하며(Driessen과 Stadhorders, 1974; Fox와 Stepaniak, 1983; Christen 등, 1986), *Pseudomonas fluorescens* 지방분해효소는 이 온도외에 50°C에서도 최대활성을 나타내었다(Driessen과 Stadhorders, 1970).

지방분해효소의 활성은 유성분의 영향을 받는다. κ -casein, lactalbumin, pseudoglobulin, euglobulin은 활성을 촉진했고, Hammarsten casein(탄수화물과 지질 성분이 전혀 없는 시약용으로 사용하는 casein), acid casein, α_s -casein, β -casein, α_s -casein, α -lactalbumin, β -lactoglobulin은 지방분해효소의 활성을 저해하였는데, 활성의 저해는 단백질이 효소와 복합체를 형성하기 때문인 것으로 추측되었다(Shahani와 Chandan, 1965).

(3) 기타

우유에 오염, 번식하는 세균 중에서 *Streptococcus*와 *Lactobacillus*를 제외하고는 대부분 catalase를 생산하며, 특히 저온저장시 번식하여 품질에 많은 영향을 미치는 *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*가 catalase를 생산한다(Phillips와 Griffiths, 1987). 또한 대부분의 Gram 양성세균과 비저온성 Gram 음성세균은 cytochrome C oxidase를 생산하지 않으나 저온성 Gram 음성세균은 이 효소를 생산한다(Kroll, 1985). Catalase와 cytochrome C oxidase의 이와 같은 미생물별 생산특성을 유제품의 저온성 미생물함량 추정에도 이용할 수 있다.

2. 효소의 가열에 의한 영향

1) 분비 효소

우유로 분비되는 효소들의 열에 의한 불활성화 양상은 Table 2와 같다.

우유의 가열정도는 살균방법, 농축 등 가공목적에 따라 다르며, 가열 후 잔존하는 효소의 활성도 다르다. 가열처리 후 유제품의 품질과 관계를 가질 수 있어 관심의 대상이 되고 있는 것은 단백질분해효소, 지방분해효소, phosphatase, xanthine oxidase, sulfhydryl oxidase, lactoperoxidase 등이다.

(1) 단백질분해효소

우유와 함께 분비되는 단백질분해효소의 대부분이 plasmin이고, 살균 후에도 활성이 많이 남아있어 품질에 많은 영향을 미친다.

Plasmin이 Acid protease보다 내열성이 강하다고 보고된 바 있으며(Kaminogawa와 Yamauchi, 1972ab), HTST에서 활성이 유지되었으며(Noomen, 1975; Richardson, 1983), 80°C에서 완전히 불활성화하기 위해서는 10분간 열처리해야 했다(Whitney, 1958). Driessen과 Van der Waals (1978)는 plasmin의 100~150°C에서의 Q₁₀-value는 2~5, Z-value는 25°C였으며, UHT 처리온도 범위에서의 Decimal reduction time이 10~15초라고 보고하였는데, 이는 UHT 처리에서도 이 효소는 활성을 일부 유지할 수 있음을 시사하는 것이다. 이후 Snoeren 등(1979) 및 Snoeren과 Both(1981)도 plasmin이 UHT 처리유에 활성을 일부 유지하는 것을 보고하였고, 잔존하는 plasmin이 UHT 처리유 gel 화의 원인일 것으로 추정되었다(Snoeren 등, 1979).

열처리에 의한 plasmin의 불활성화는 그 원인이 구조의 변화외에 가열에 의해 변성된 β-lactoglobulin이 plasmin의 저해제로서 작용하는데 기인하기도 한다(Snoeren 등, 1980). 이는 β-lactoglobulin의 sulfhydryl가 plasmin과 복합체를 이루기 때문이며(Grufferty와 Fox, 1986), KIO₃를 첨가하여 sulfhydryl기를 산화시켰을 때 plasmin의 활성이 매우 증가하였다(Skudder 등, 1981). 변성되지 않은 β-lactoglobulin은 plasmin 활성에 영향이 없었다(Snoeren 등, 1980).

가열처리에 의해 plasminogen과 plasmin이 모두 감소하는데, 142°C에서 2초, 16초 가열했을 때 탈지원유에 존재하던 plasminogen 80 unit이 각각 45 unit과 21 unit으로 감소했고, plasmin은 94 unit에서 각각 6 unit과 5 unit 감소하였으며, 이들 열처리한 탈지유를 20°C에서 10~70일간 저장했을 때 plasminogen과 plasmin 활성이 모두 감소하는 현상을 나타내었다(Dekonig 등, 1985).

Table 2. Inactivation of indigenous milk enzymes by heat treatment (Kitchen, 1985)

Enzyme	Temp.	Heating time	Inactivation (%)
Plasmin	80°C	10 min.	100
	142°C	16 sec.	95
Acid proteinase	60°C	10 min.	30
	78°C	10 min.	>90
Acid phosphatase	100°C	1 min.	100
	UHT		<100
Lipoprotein lipase	HTST		100
γ-Glutamy transpeptidase	Pasteurization		Partially destroyed
Sulfhydryl oxidase	HTST		40
Superoxide dismutase	Pasteurization		0
	76°C	10 min.	100
Xanthine oxidase	72°C	15 sec.	0
	77°C	15 min.	100
Catalase	above 70°C	15 sec.	100

이는 탈지원유에 존재하는 저해제가 가열에 의해 불활성화 하는데 기인하기도 하나(Korycka-Dahl 등, 1983), 이외에 다른 원인이 있을 것으로 추측된다(Deknoig 등, 1985). 탈지유를 115℃에서 3분간 예비가열하여 농축한 후에 143℃에서 5초간 가열하여 제조한 농축탈지유에는 plasmin과 plasminogen의 활성이 없었다(Dekonig 등, 1985).

이와 같이 고온에서 처리하면 plasmin의 활성은 감소하는데 HTST와 LTLT의 열처리에서는 활성이 증가한 바 있는데(Noomen, 1975), 이는 우유에 존재하는 저해제가 plasmin보다 더 빨리 불활성화하거나 기질과의 접촉이 더 용이해지는 때문인 것으로 추측되었다.

(2) Phosphatase

Alkaline phosphate는 우유균의 사멸에 요구되는 열처리와 유사한 정도의 열처리에 불활성화하여 HTST(Walstra와 Jenness, 1984), LTLT(Hening과 Dahlberg, 1943), UHT(Alais와 Ged, 1978; Hansen, 1985) 등 가열처리에 완전히 불활성화하나, 살균후 저장과정에서 활성의 일부가 회복되며, 특히 크림의 경우는 alkaline phosphatase 함량이 많아 재활정도가 크기 때문에 살균후 시간이 많이 경과한 경우 살균처리 적정성을 정확하게 판단할 수 없다(Walstra와 Jenness, 1984).

Alais와 Ged(1978)는 UHT 처리후 72시간 저장했을 때 활성의 7%가 활성은 회복했다고 보고했으며, Hansen(1985)은 30℃에서 저장하는 것이 20℃와 40℃에서 저장할 때보다 재활정도가 높아 저장온도가 alkaline phosphatase 활성의 회복과 관계가 있음을 보고하였다. Alkaline phosphate가 활성을 회복하는 것은 우유에는 열에 불안정한 저해제와 열에 안정한 활성촉진제가 있으며, 저장과정 중에 이온화 한 후 불활성화한 alkaline phosphate와 결합하여 활성을 회복시키며, 우유의 아연, 구리, 칼슘 등이 열처리에 의해 노출된 sulfhydryl기에 결합하여 이 효소를 불활성화시키나 열처리후 적당한 조건에서 다른 단백질의 sulfhydryl group과의 결합에 의해 이들 광물질이 분리되어 alkaline phosphatase의 3차 혹은 4차 구조가 회복되는 등의 원인에 기인하는 것으로 인정되었다(Groves, 1971).

Acid phosphatase는 우유의 다른 효소보다 내열성이 강하며(Jenness와 Patton, 1959), HTST 열처리에는 44%의 활성이 보존되며(Wuthrich 등, 1964), 이 효소를 완전히 불활성화하기 위해서는 88℃에서 30분, 100℃에서 1분 가열해야 한다(Mullen, 1950; Brinham 등, 1961). 이 효소는 UHT 처리에서도 활성이 유지될 수 있어(Andrews와 Pallavicini, 1973) UHT처리후 장기간 저장과정에서 품질에 영향을 미칠 수 있다.

(3) Lactoperoxidase

Lactoperoxidase는 HTST 가열처리에 24%의 활성이 유지되며(Wuthrich 등, 1964), UHT 처리에서는 불가역적으로 불활성화 한다(Alais Ged, 1978). 이 효소는 HTST 처리후 불활성화된 효소의 일부가 매우 빨리 활성화하는데 활성이 회복된 효소의 내열성은 원래 효소보다 매우 낮다(Walstra와 Jenness, 1984).

(4) Xanthin oxidase

Xanthin oxidase는 80~82℃에서 15초간 처리했을 때 90%가 불활성화하며, 76℃에서 15초간 가열하면 30%가 불활성화 하였고(Bandyopadhyay 등, 1979), 74℃에서 15초 열처리했을 때 17%가 불활성화 했다는 보고도 있다(Wuthrich 등, 1964). 그러나 균질유에서는 HTST 처리에 의하여 69~82%가 불활성화하는데 (Cerbulis와 Farrell, 1977; Zikakis와 Woosters, 1980), 이는 지방구막에 존재하는 이 효소가 지방구막이 변화됨에 따라 내열성이 감소했기 때문이다(Zikakis와 Woosters, 1980). 이 효소를 완전히 불활성화하기 위해서는 77℃에서 15분 열처리해야 한다(Kitchen, 1985).

(5) 기타

우유의 지방분해효소는 HTST(Kitchen, 1985)와 UHT(Alais와 Ged, 1978)에서 완전히 불활성화하며, catalase는 70°C 이상의 온도에서 15초 열처리했을 때 완전히 불활성화 한다(Phillips와 Griffiths, 1987).

Ribonuclease는 열에 매우 강하여 HTST와 UHT 살균 열처리에 활성이 잔존하며, 완전히 불활성화하기 위해서는 100°C에서 5분 혹은 90°C에서 10분간 열처리해야 한다(Kiermeir와 Hundt, 1969). 한편, Alais와 Ged(1978)는 UHT 처리후에는 원유보다 활성이 증가했다고 보고했는데, 이는 우유의 열처리 과정에 활성을 증진시키는 요인이 있는 것으로 추측하였다.

2) 미생물 효소

(1) 단백질분해효소

살균우유의 세균수가 매우 적고 살균후에 오염이 되지 않았음에도 불구하고 저장과정에서 향이 저하하였는데(Patel과 Blankernagel, 1972), 이는 미생물이 생산한 단백질분해효소가 살균처리에 활성을 유지하는 것이 원인의 하나라고 보고하였다(Patel과 Blankernagel, 1972; Driessen, 1976; Driessen과 Stahhouders, 1978).

내열성 단백질분해효소의 불활성화는 UHT 처리우의 효과적인 제조의 중요한 요인이라고 지적되어(Malik와 Swanson, 1974; Adams 등, 1975; Biryukova 등, 1975), 미생물 단백질분해효소의 내열성에 관한 연구가 많이 수행되었다.

원유가 저온에서 저장되는 과정에서 저온성 세균이 증식하며(Witter, 1961; Malik와 Swanson, 1974), 이들중 Gram 음성세균이 내열성 단백질분해효소를 생산하고(Driessen, 1976), 특히 *Pseudomonas*가 내열성 단백질분해효소 생산의 주요인이라고 인정되고 있다(Marshall과 Marsteller, 1981; Christen과 Marshall, 1984; Malik와 Mathur, 1984).

우유에 오염가능한 각종 세균들이 생산하는 단백질분해효소의 열에 의한 불활성화 정도는 Table 3에 있는 바와 같다. Kishonti와 Sjostrom(1970)은 *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aerobacter* 등에 속하는 60 여종 strain의 저온성세균이 생산한 단백질분해효소를 90°C에서 2분간 가열했을 때, 25% 이상의 활성을 유지하는 단백질분해효소를 생산하는 strain이 30%에 달했고, 활성을 1% 이하로 감소하기 위해서는 130°C에서 5~10분 열처리해야 하는 strain도 다수 있어, 100°C 이하의 일반적인 살균방법으로는 저온성 미생물이 생산하는 단백질분해효소를 완전히 불활성화 시킬수 없으며, UHT 처리는 150°C에서 실시하는 것이 좋다고 권고하였다.

*Pseudomonas*가 생산한 단백질분해효소의 UHT 온도범위에서의 불활성화를 위한 Z-value가 32.5~55.2°C이었고(Singh와 Patil, 1987), *Pseudomonas fluorescens* 22F 단백질분해효소의 130°C에서의 D-value는 11분이라고(Driessen, 1976) 보고되었는데, 이와 같은 결과들도 UHT 처리에서 이들 단백질분해효소의 불활성화가 완전하지 않음을 나타내고 있다. *Pseudomonas fluorescens* 단백질분해효소의 90°C에서의 D-value는 110분이었고, 80~140°C에서의 activation energy는 100 KJ/mol이었으며(Diermayr 등, 1987), 내열성이 *Clostridium sporogenes* NCA 3679 포자와 *Bacillus stearothermophilus* 포자보다 400배 강했다고 보고되었다(Adams 등, 1975). 내열성 단백질분해효소의 열에 의한 불활성화는 직접가열보다 간접가열에서 더 빠르다(Mottar 등, 1979; Mottar, 1981).

이와 같이 *Pseudomonas*가 생산하는 단백질분해효소는 고온에서 내열성이 매우 높으나, 50~60°C에서는 예상보다 불활성화가 매우 빠른 특이한 현상이 있는데(Barach 등, 1976; Barach 등, 1978; Stepaniak과 Fox, 1983; Kroll과 Klostermeyer, 1984), 이를 Barach 등(1976)은 Low Tem-

Table 3. Inactivation of protease from microorganisms by heat treatment (Christophersen, 1980)

Source of protease	Heat treatment	Residual activity
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	60°C / 30min	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63°C / 30min	94%
	72°C / 15sec	64%
<i>Pseudomonas</i> P 26	100°C / 2min	0
	62.8°C / 15h	0
	71.4°C / 8h	0
	121°C / 9min	0
	149°C / 90sec	10%
<i>Pseudomonas</i> MC 60	55°C / 60min	3%
	70°C / 60min	33%
	75°C / 60min	26%
	149°C / 30sec	0
<i>Pseudomonas</i> Nr.12	50°C / 20min	0
	60°C / 20min	42%
	70°C / 20min	65%
	100°C / 20min	32%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	150°C / 1min	+
	142°C / 2sec	1%
<i>Streptococcus lactic</i>	98°C / 60min	28%
<i>Bacillus subtilis</i>	60°C / 15min	40%
<i>Bacillus thermoproteolyticus</i>	85°C / 15min	40%

perature Inactivation (LTI)라고 하였다. *Pseudomonas* 내열성 단백질분해효소를 55°C에서 가열했을 때 1시간에 99%가 불활성화했으며(Barach 등, 1978), *Pseudomonas fluorescens* 단백질분해효소의 55°C에서의 D-value는 22초이었고(Diermayr 등, 1987), 탈지원유를 55°C에서 1시간 가열했을 때 내열성 단백질분해효소의 87~90%가 불활성화 했다.

*Pseudomonas fluorescens*의 내열성 단백질분해효소를 40°C에서 1시간 처리했을 때 자가분해가 발견되지 않았으나(Marshall과 Marsteller, 1981), *Pseudomonas*의 내열성 단백질분해효소를 55°C에서 가열할 때는 자가분해가 일어나 분자량이 적은 물질로 전환되었다(Barach 등, 1978). Stepaniak과 Fox(1983)는 이와같은 자가분해현상을 *Pseudomonas fluorscens*의 정제된 단백질분해효소를 이용하여 LTI 원리를 설명하고자 시도했다. Diermayr 등(1987)은 자가분해에 의한 LTI 현상을 상세히 연구하였는데, 90°C에서 가열할 때 단백질분해효소 분자의 전기영동상의 양태에 변화가 없었으나, 55°C에서는 자가분해에 의해 저분자로 분해되어 전기영동상에서 Band가 나타나지 않음을 발견했다. 그는 이와같은 자가분해를 55°C에서 unfolded되어 변성된 분자가 활성을 유지하는 다른 효소에 의해 분해되는 intermolecular autolysis라고 설명했다. LTI는 자가분해외에 casein과의 복합물의 형성도 한 요인이라고 지적되었다(Singh와 Patil, 1987). Barach 등(1978)은 LTI는 효소의 변성 후 자가분해, 구조가 변화된 효소의 casein과의 불가역적인 복합물형성 등 2가지 형상으로 보고하였고, 변성된 효소에 있어 내부의 노출된 소수성 부분이 소수성 결합이 용이한 60°C에서 casein 소수성 부분과 잘 결합함으로써 용매와 접촉하는 소수성 부위가 감소하여 안정한 불가역적 복합물을 형성한다고 설명했다.

이와같은 LTI 효과에 근거하여 UHT 우유제조시 UHT 처리전 55°C에서 60분 처리하거나(Singh와 Patil, 1987), UHT 처리후 55°C로 냉각하여 1시간 유지하는 것(West 등, 1978)이 제시되고 있으며, Adams 등(1979)은 50~65°C에서 수 분~1시간 처리할 것을 권고했다.

일반적으로 열처리에 의해 단백질분해효소의 활성은 감소하나, 활성이 증가한 보고도 있다. 미확인된 세균의 단백질분해효소는 138°C에서 15초 처리후 활성이 2배로 증가했으며, *Pseudomonas* strain

중에는 이러한 열처리에 활성에 변화가 없는 단백질분해효소를 생산하는 것도 있고(Christen 등, 1986), 원유를 73°C에서 15초 열처리했을 때 단백질분해효소 활성이 원유보다 19.5% 증가한 예도 있다(Mottar, 1981). Mottar(1981)는 원유를 열처리한 후 단백질분해효소의 활성이 증가하는 것은 원유에 존재하는 저해제의 불활성화에 기인한다고 추측하였다.

(2) 지방분해효소

Pseudomonas, *Alcaligenes*, *Aerobacter* 등 저온성 세균 중에서 UHT 처리에도 활성을 유지하는 지방분해효소를 생산하는 것이 있음이 보고되었고(Kishonti와 Sjostrow, 1970), 저온성 세균이 존재하는 원유를 HTST 처리했을 때 원유의 지방분해효소 활성이 24.7%로 감소하였으며, UHT 처리했을 때에는 8.4%로 감소하였다(Mottar, 1981). 탈지유에 존재하는 *Pseudomonas fluorescens* 지방분해효소를 140°C에서 2분 가열했을 때 90%가 불활성화 했으며(Anderson 등, 1979), *Alcaligenes viscolactis*와 *Lactobacillus brevis* 지방분해효소를 완전히 불활성화하기 위해서는 90~92°C에서 10초 가열해야 하며(Driessen과 Stabhouders, 1971), *Achromobacter lipolyticum*의 지방분해효소는 99°C에서 40분 열처리하여 완전히 불활성화할 수 있었다(Kahn 등, 1967). 이들 중 원유의 저온저장과정에서 번식하여 지방분해효소를 생산함으로써 살균유 품질에 제일 많은 영향을 미치는 것은 *Pseudomonas*라고 인정되고 있다(Griffiths 등, 1981; Fox와 Stepaniak, 1983). Pinheiro 등(1965)은 *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas mucidolens*, *Pseudomonas fragi*의 지방분해효소 내열성을 63~74°C에서 조사했는데 *Pseudomonas fragi* 지방분해효소가 제일 강했고, *Pseudomonas fluorescens* 지방분해효소가 제일 약했다.

Pseudomonas fluorescens 지방분해효소가 탈지유에서 가열될 때 불활성화의 초기속도는 매우 빠르나 일정시간후에는 매우 느렸는데, 이는 효소가 처음에는 탈지유의 단백질과 결합하여 불활성화하고 다음 단계로 구조가 변화하여 불활성화 하는 것으로 추측되었으며, 127°C, 92°C, 76°C에서 2~10초간 가열했을 때 *Pseudomonas fluorescens* 지방분해효소 활성은 증가했는데, 이는 효소가 저해제와 복합체를 이루고 있다가 가열에 의해 분리되기 때문인 것으로 보고되었다(Anderson 등, 1979). 탈지유에 존재하는 *Pseudomonas fluorescens* 지방분해효소를 72°C에서 15초 가열후 분무건조했을 때 활성이 12~21% 감소했고, 110°C에서 2분 가열후 분무건조했을 때에는 활성이 55~59% 감소하였다(Shamsuzzaman 등, 1987).

*Pseudomonas*의 지방분해효소를 50~60°C에서 열처리함으로써 불활성화를 촉진할 수 있다. *Pseudomonas*의 지방분해효소를 UHT 처리후 60°C에서 5분 가열했을 때 UHT 단독처리의 경우보다 지방분해효소의 불활성화를 50% 증진하였고, *Pseudomonas*가 2×10^7 /mL, 2×10^8 /mL 존재하는 원유를 UHT 처리후 60°C에서 5분간 가열하여 20°C에서 저장할 때 유지방산 증가량이 UHT 단독처리 후 20°C에서 저장할 때의 10%에 불과하였다(Bucky와 Hayes, 1987). Griffiths 등(1981)은 저온성 미생물들이 생산한 지단백질분해효소와 지방분해효소를 77°C에서 17초 열처리, 77°C에서 17초 열처리 후 140°C에서 5초 복합 열처리 그리고 55°C에서 1시간 열처리 후 140°C에서 5초 복합 열처리구에 따라 효소들의 잔존활성을 조사하였는데, 77°C-17초/140°C-5초 복합 열처리에서도 약하지만 단백질 분해효소와 지방분해효소들의 활성이 존재한다고 보고하였다. 그러나 산업적으로 사용되는 열처리 조건은 아니지만 55°C-1시간/140°C-5초 복합 열처리의 경우에는 전부 불활성화한다고 보고하였다.

3. 우유의 효소와 유제품 품질

1) 분비 효소

(1) 단백질분해효소

우유 단백질분해효소의 대부분을 차지하는 plasmin은 살균 열처리에 활성을 유지하며, UHT 우유와 같이 장기간 보존하는 과정에서 우유를 gel화하는 원인이 된다(Snoeren 등, 1979). UHT 처리 우유를 장기간 저장하는 과정에서 저장기간이 경과함에 따라 단백질 분해가 증가하며(Andrews, 1975), 전자현미경 관찰의 결과(Dekonig 등, 1985), 단백질분해효소가 gel화의 원인인 것으로 인정되었다. 열처리외에 균질, 우유의 조성 등도 gel화에 영향을 미치는 요인이다(Harwalker, 1982). Plasmin은 β -casein, α_{s1} -casein, α_{s2} -casein 등을 잘 분해하고 특히 β -casein 분해율이 높으며(Noomen, 1975; De Rhan과 Andrews, 1982; Andrews, 1983; Andrews와 Alichanidis, 1983), κ -casein은 잘 분해하지 않는다(Eigel, 1977). 이와같은 casein에 대한 분해특성은 우유에 일반적으로 오염되는 미생물이 생산한 단백질분해효소와 달리 미생물단백질분해효소보다 부드러운 gel을 형성한다(Snoeren 등, 1979). 또한 유단백질의 α_s -casein은 α_{s1} -casein의 plasmin에 의한 분해물인 것으로 인정되고 있다(Aimutis와 Eigel, 1982).

Acid proteinase는 함량이 적고 열에 약하긴 하나, 치즈에서 활성이 일부 보존되어 숙성에 영향을 미친다(Kaminogawa와 Yamauchi, 1972ab).

(2) 지방분해효소

우유에 존재하는 지방분해효소에 의한 유지방분해현상은 spontaneous lipolysis와 induced lipolysis로 구분하여 설명된다.

일반적으로 정상유는 지방구막에 변화를 주는 요인이 없을 때에는 지방분해효소에 의해 잘 분해되지 않으나(Birch 등, 1981), spontaneous milk의 지방구는 분해에 대한 저항성이 없어 지방구막 변화의 요인이 없어도 지방분해효소가 원인이 되는 rancidity를 유발한다(Downey, 1980). Spontaneous milk의 원인은 지방분해효소의 양과 지방구막 특성(Nelson과 Trout, 1965), 지방분해효소 촉진제의 존재(Sundhein 등, 1983) 등으로 알려지고 있으며, 영양급여의 불량(Deeth와 Fitzgerald, 1976), 유방염(Downey, 1980) 등이 spontaneous lipolysis를 증가시킨다. 영양급여가 불량하면 지방구막이 약하게 형성되고, 유방염유에는 지방분해효소 촉진제가 혈액으로부터 다량 유입되며, 백혈구에 지방분해효소가 많기 때문일 것으로 추측된다. 착유직후 원유의 온도를 15°C 이하로 냉장시키면 온도가 낮을수록 spontaneous lipolysis가 증가하기 때문에 착유후 냉각을 1시간 늦추면 spontaneous lipolysis를 방지할 수 있으며 정상유와 혼합하는 것도 한 방법이다(Bassette 등, 1986).

정상유도 취급과정에서 심한 교반 및 거품의 형성(Birch 등, 1981), 균질(Jellema와 Schipper, 1975), 냉동 및 해동의 반복(Bassette, 1986) 등 지방구막에 변화를 주는 요인이 있으면 지방이 분해되며, 냉각과 가온의 반복도 원인이 된다(Deeth와 Fitzgerlad, 1976). 이를 induced lipolysis라 하며, 우유의 지방분해효소는 살균처리에 모두 불활성화하기 때문에(Alais와 Ged, 1978; Walstra와 Jenness, 1984). 살균유제품의 품질에 영향을 미치지 않는다.

Esterase는 우유의 품질에 거의 영향을 미치지 않으나, 혈청에 존재하는 high density lipoprotein fraction이 lipoprotein lipase를 활성화하는데 arylesterase가 이의 구성성분으로서 lipoprotein lipase의 활성화에 기여하는 것으로 추측된다(Vainio 등, 1982).

(3) Phosphatase

Alkaline phosphatase는 살균과 유사한 열처리에서 모두 불활성화하기 때문에 살균 직후에 열처리 적절성의 지표로 사용되나, 열처리후 냉장온도에서 장시간 저장할 경우 활성이 다소 회복되어(Kitchen, 1985) 살균적절성의 지표로 사용할 수 없다.

Alkaline phosphatase는 무기인산, 유당, β -lactoglobulin 등이 저해제로 작용하기 때문에 casein micelle의 인산을 유리시키지 못한다(Lorrient와 Linden, 1976), UHT 우유의 gel화(Andrews와 Pallavicini, 1973)를 촉진하며, rennet에 의한 응고특성을 변화시킨다(Knoop와 Peters, 1975).

(4) Sulfhydryl oxidase

Sulfhydryl oxidase는 UHT 처리에 활성을 유지하여 가열취의 원인인 thiol을 산화시킴으로서 UHT milk의 장기 저장과정에서 가열취를 감소시킬 수 있다(Swaisgood, 1980). 이 효소에 의한 산화과정에서는 hydroxy radical이나 superoxide와 같은 중간물질이 생성되지 않아 지방산화의 염려가 없다(Swaisgood와 Abraham, 1980).

이 효소는 xanthine dehydrogenase를 xanthine oxidase로 전환하며(Clare 등, 1981), 환원상태의 ribonuclease를 산화하기도 한다(Janolino와 Swaisgood, 1975).

(5) Superoxide dismutase

우유에는 xanthine oxidase와 lactoperoxidase에 의한 산화 혹은 riboflavin 촉매하의 광반응 등에 의하여 Superoxide anion(O_2^-)이 생성된다(Walstra와 Jenness, 1984). Superoxide anion은 지방을 산화시킬 수 있는데(Aurand 등, 1977), Superoxide dismutase가 superoxide anion을 O_2 와 H_2O 로 전환시킬 수 있기 때문에(Walstra와 Jenness, 1984), 이 효소를 첨가하거나 살균처리의 조절로 양을 적절히 해주면 지방산화를 감소시켜 품질을 개선할 수 있다(Kitchen, 1985).

(6) Xanthine oxidase

이 효소는 superoxide와 H_2O_2 를 생산하는데, Superoxide는 직접 그리고 H_2O_2 는 우유에 존재하는 lactoperoxidase에 의해 이용되면서 미생물 억제기능을 가진다(Bjorck와 Claesson, 1979). 또한 xanthine oxidase는 우유에 소량 존재하는 nitrate (NO_3^-)을 nitrite(NO_2^-)로 환원하는데 nitrite는 일부세균의 억제제로서의 기능을 가지고 있어 치즈제조시 nitrate를 소량 첨가하면 clostridia에 의한 품질악화를 방지할 수 있다(Walstra와 Jenness, 1984). 특히 우유의 xanthine oxidase 함량이 높은 편이기 때문에 우유의 미생물학적 품질개선의 가능성이 있다. Superoxide는 지방을 산화시킬 염려가 있으나, 이 효소와 기질인 hypoxanthine 함량이 높은 편이기 때문에 우유의 미생물학적 품질개선의 가능성이 있다. Superoxide는 지방을 산화시킬 염려가 있으나, 이 효소와 기질인 hypoxanthine 함량이 높아도 지방 산화는 일어나지 않았다(Bruder 등, 1982)는 보고가 있어 지방산화의 염려는 없는 것으로 판단된다.

균질의 xanthine oxidase는 장벽을 통과하여 임파관으로 직접 흡수되어 동맥혈관에 존재하는 aldehyde형의 plasmalogen을 산화하여 동맥경화증을 촉진할 것이라는 가설이 있어(Oster, 1971), 관심의 대상이 되어왔다. Xanthine oxidase는 위의 산성환경에서 불활성화하고(Mangino와 Brunner, 1976), 분자량이 매우 커 장벽통과가 어려우며(Mangino와 Brunner, 1977), 혈액의 xanthine oxidase량과 우유 섭취량간에 상관관계가 없었다(Mccarthy와 Long, 1976)고 보고된 바 있으나 성인은 소화가 되지 않은 유단백질(Korenblat 등, 1968)과 분자량이 큰 단백질(Walker와 Isselbacher, 1974)이 장벽을 통과할 수 있다는 보고가 있고, 쥐의 위에서 활성의 감소가 매우 빠르긴 했으나 6시간후에 15%의 활성이 유지되어 xanthine oxidase가 소화과정에서 활성을 유지하면서 혈액으로 흡수될 가능성을 시사하기도 했다(Bandyopadhyay 등, 1979). 그러나 Deeth(1983)는 xanthine oxidase가 동맥경화증을 촉진하리라는 가설의 근거가 확실치 않으며 더 많은 연구가 필요하다고 결론지었다.

(7) Lactoperoxidase

H_2O_2 존재하에 thiocyanate(SCN^-)가 lactoperoxidase에 의하여 산화되어 생성되는 중간물질인 hypothiocyanite($OSCN^-$)는 세균을 사멸시키는 물질이다. 우유의 lactoperoxidase 함량은 매우 높은 편이며, xanthine oxidase, superoxide dismutase 등 H_2O_2 생성체계가 있고 H_2O_2 를 생산하는 미생물도 존재하나, H_2O_2 와 thiocyanate 함량이 충분치 않기 때문에 H_2O_2 와 thiocyanate를 첨가하여 적당량을 유지하면 lactoperoxidase를 우유품질개선에 이용할 수 있다(Walstra와 Jenness, 1984). 냉각시설이 부족한 경우, 우유의 미생물학적 개선을 위하여 thiocyanate 0.25 mM(Walstra와 Jenness, 1984), H_2O_2 0.01~0.02 M을 첨가하여(Reiter, 1985), lactoperoxidase를 우유품질개선에 이용한 바 있다(Harnulv와 Kandasamy, 1981)

Lactoperoxidase는 heme - iron prosthetic group을 가지고 있기 때문에 비효소적 산화기능을 가지고 있어 불포화지방산을 산화시킬 수 있다(Eriksson, 1969).

(8) Lysozyme

Lysozyme은 세균의 세포벽을 분해함으로 항세균기능이 있고 세균포자의 발아를 억제하며, 장내의 Bifidobacteria의 양을 증가한다(Reiter, 1985).

이와같은 Bifidobacteria 증가현상에 의한 건강증진 효과는 세균세포벽 분해물인 N-acetylglucosamine과 N-acetylmuramic acid가 Bifidobacteria의 세포벽 물질인 peptidoglycan 합성을 가능케 하는 것에 기인하는 것으로 추측되며, lysozyme을 cheese에 첨가하여 Clostridia에 의한 품질악화를 방지한 예도 있다(Reiter, 1985).

(9) 기타

Catalase량은 우유내 체세포 숫자와 관계가 깊으며(Kitchen 등, 1970), N-acetyl- β -D-glucosaminidase는 백혈구와 손상된 유선세포로부터 유래하기 때문에(Kitchen, 1976), 유방염유검사의 지표에 이용될 수 있다. 살균후 α -amylase의 잔존활성이 살균효율의 기준으로 추천되기도 했다(Gould, 1932).

2) 미생물 효소

(1) 단백질분해효소

원유에 존재하는 저온성 세균으로부터 생산되는 내열성 단백질분해효소는 UHT 우유의 장기간 저장 과정 중의 쓴맛과 gel화의 주요 원인이 된다(Malik와 Swanson, 1974; Biryukova 등, 1975). *Pseudomonas fluorescens*가 5×10^9 /mL 존재하는 탈지유를 UHT 처리후 20°C에서 7주간 저장했을 때 쓴맛이 발생하였으며(Driessen, 1976), 총세균수가 10만이상/mL의 원유를 62.3°C에서 30분 가열 후 7°C에서 2주일 저장했을 때 향(香)의 저하는 가끔 나타났으나, 1,000만/mL 이상의 경우는 거의 모든 시료의 향이 악화하였으며(Patel와 Blankenagel, 1972), UHT 우유를 20°C에서 4개월간 저장하는 동안 향의 변화와 단백질분해효소의 상관관계는 0.89로서 매우 높았다(Mottar 등, 1979). 원유에 존재하는 *Pseudomonas*의 단백질분해효소에 의해 UHT 우유가 3~4개월만에 gel화 하였고 보고되었다(Mckellar, 1981). 이와같은 gel화의 속도는 단백질분해효소의 양과 밀접한 관계를 가지기 때문에 *Pseudomonas*가 5×10^7 /mL인 원유가 UHT 처리되어 20°C에서 저장되면 10~14일 후에, 8×10^6 /mL의 경우는 8~10주 후에 gel화 현상이 나타나지 않았다(Low 등, 1977). *Pseudomonas fluorescens*를 5×10^9 /mL 함유하는 탈지유를 UHT 처리하여 20°C에서 7주 저장했을 때 gel이 형성되었다고 보고된 바 있다(Driessen, 1976).

단백질분해효소에 의한 품질저하는 향미와 조직의 악화외에 rennet에 의한 응고가 지연되기도 한다. Cousin과 Marth(1977)는 *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Micrococcus* 등을 함유하는 우유가 저온저장후에 rennet에 의한 응고가 지연됨을 발견하였다.

이와같은 단백질분해효소에 의한 품질저하는 살균 및 UHT 처리에 견디는 내열성 효소에 기인하는데, UHT 우유에 있어서 50~60°C에서의 열처리에 의해 단백질분해효소의 불활성화를 증진시킴으로써 UHT 처리유 저장성은 매우 증진되었다.

탈지원유를 149°C에서 4.5초간 가열후 55°C에서 1시간 처리했을때 실온에서 3개월 저장후 UHT 단독처리유와는 달리 gel화 현상이 없었고, 시료에 따라 11개월까지도 조직의 변화가 없었으며, UHT 단독처리유에서는 10~50일에 쓴맛이 형성되었는데 UHT 가열후 저온처리를 했을 때에는 실온에서 100~500일 저장후에 쓴맛이 생겼다(West 등, 1978). 또한 원유를 55°C에서 1시간 가열후 UHT 처리하여 저장성을 3배 증가했다는 보고도 있다(Singh와 Patil, 1987).

단백질분해효소는 살균처리된 장기간의 저온저장과정에서 저온성 미생물에 의해 생산되기 때문에 저장초기에 가열하여 저온성 세균의 숫자를 감소시킴으로써 UHT 우유의 저장성을 증진시킬 수 있다. Guamis 등(1987)은 낙농가로부터 유가공장으로 운반된 원유 중에서 저온성 세균수가 $10^5 \sim 10^6$ /mL로 적은 것은 85°C에서 45초 가열하고 수송기간이 길어 $10^7 \sim 10^8$ /mL로 많은 것은 65°C에서 1.5분 가열후 78°C에서 15초 가열하여 저장후 UHT 처리했을 때 저장기간을 3개월에서 7개월로 증가시킬 수 있었다.

(2) 기타

UHT 처리유의 지방분해효소의 양은 원유의 저온성 지방분해 미생물의 양과 0.6~0.7의 상관관계를 가지며, UHT 처리후의 향미가 나쁜 정도는 내열성 지방분해 효소의 양과 0.6~0.7의 상관관계를 가지고, 20°C에서 4개월 저장된 UHT 처리유의 향미와 내열성 지방분해효소의 양은 0.7의 상관관계가 있었다(Mottar 등, 1979). 이는 저온성 미생물이 생산한 지방분해효소는 UHT 우유 향미에 큰 영향을 미치는 것을 보여주는 사실이다. *Pseudomonas*를 함유하는 원유로 버터를 생산할 때에 원유에 존재하는 미생물 지방분해효소의 80%가 크림으로 이행하며, 크림지방 분해효소의 80%가 버터로 이행하기 때문에 크림을 90°C에서 2분간 가열하여 제조한 버터를 5°C에서 2일 저장했을 때 지방분해취가 생겼다(Kishonti와 Sjostrom, 1970). *Pseudomonas fluorescens*의 지방분해효소가 치즈의 품질을 저하한 예가 있으며, 이 경우 putyric acid와 $C_6 \sim C_{10}$ 의 지방산이 향 저하의 원인이었다(Low 등, 1976).

(3) 지방분해효소

Catalase(Phillips와 Griffiths, 1987)와 cytochrome oxidase(Kroll, 1985)는 저온저장 유제품에서 오염, 번식하는 미생물로부터 생산되기 때문에 유제품 품질의 지표로 이용될 수 있다. Catalase는 우유와 함께 분비되는 것과 유방에 질병에 있을 때 백혈구에서 유래하는 것이 있으나, 이들은 살균처리에 모두 불활성화 하기 때문에(Roberts, 1943), 살균후에 존재하는 catalase의 양으로 살균후 존재하는 미생물 양태를 간접적으로 조사하여 유제품의 저온저장성을 예측할 수 있다. 살균에 생존하는 저온성 Gram 음성 세균이나 살균후에 오염되는 저온성 Gram 음성 세균의 양은 많지 않기 때문에 이들 효소의 활성을 측정하기 전에 예비배양을 해야 하며, 저온에서 유제품 품질에 영향을 미치는 저온성 Gram 음성 세균외에 대량으로 존재하는 Gram 양성세균의 성장을 억제하는 조치가 필요하다. Kroll과 Rodrigues(1986)는 Gram 양성세균 성장억제제인 benzalkonium chloride를 배지에 첨가하고 살균유 시료를 이 배지에서 18시간 배양한 후 NNN'N'-tetramethyl-P-phenylenediamine (TMPD)을 이용하여 cytochrome C oxidase 활성을 측정하였는데, 5°C에서의 저장성과

의 상관계수는 -0.89 , 10°C 에서의 저장성과의 상관계수는 -0.84 로서 상관계수가 매우 높았다. Griffiths 등(1984)은 crystalviolet, penicillin, nisin을 첨가하여 Gram 양성세균의 성장을 억제하는 배지에 살균유를 첨가하여 25.5시간 예비배양후 catalase meter로 catalase 활성을 측정하여 제품의 저온저장 가능성을 예측했으며, Phillips와 Griffiths(1987)는 catalase활성과 저장성의 상관계수가 -0.74 라고 보고하였다.

결론

우유는 체액의 일종이기 때문에 각종 효소가 포함되어 있으며, 이들은 착유후 우유에 존재하면서 우유의 성분과 접촉하면서 유제품에 영향을 미친다. 우유에 존재하는 효소의 양은 소의 생리적 상태 품종, 계절, 사료 등에 따라 상이하며, 특히 우유에 오염되어 번식하는 미생물의 종류와 양은 우유내 효소분포의 예기치 않는 요인이 될 수 있다. 우유는 가공과정에서 열처리를 받기 때문에 가공제품의 효소의 양은 원유의 효소량보다 훨씬 적으나 효소에 따라 열처리에 활성을 일부 유지하여 가공제품의 품질과 관계를 가진다.

단백질분해효소와 지방분해효소는 원유에 존재하면서 원유의 품질을 저하할 뿐만 아니라, Plasmin, 저온성 세균이 생산하는 단백질분해효소와 지방분해효소는 UHT 처리에 활성을 유지하여 실온에서 장기간 저장하는 과정에서 향과 조직을 저하하는 주 요인으로 인정되고 있다. 우유의 효소는 이와 같은 품질저하 기능외에 효소에 따라 품질향상의 가능성도 가지고 있다. Sulfhydryl oxidase는 가열취를 제거하며, superoxide는 지방산화를 방지할 수 있고, lactoperoxidase에 의해 생성되는 hypothiocyanite는 미생물번식 억제기능을 가지고 있다. Xanthine oxidase와 superoxide dismutase는 hypothiocyanite 생산에 필요한 H_2O_2 를 생산한다. 또한 catalase는 유방염유 검사의 지표로, alkaline phosphatase와 α -amylase는 살균효율의 기준으로서의 가능성도 가지고 있다. 우유의 효소가 이와 같이 유제품 품질향상에 기여할 수 있기는 하나, 원유의 질 개선, 효과적인 살균, 오염방지, 정확 신속한 품질검사 등이 품질향상의 기본이 되므로 유가공에서 큰 중요성을 갖지 못하고 있다. 그러나 단백질분해효소와 지방분해효소에 의한 UHT 우유의 품질저하는 UHT 우유가 가지는 주요 기능인 저장성과 관계가 크기 때문에 이들 효소의 불활성화에 의한 저장성 증진이 관심의 대상이 되고 있으며, 저온처리에 의해 이들의 불활성화를 증진시킬 수 있어 UHT 처리와 병행하여 $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 열처리하는 UHT 우유 제조체계가 권장되고 있다. 또한 저온성 Gram 음성세균이 일반적으로 생산하는 cytochrome C oxidase와 *Pseudomonas*와 *Enterobacteriaceae*가 생산하는 catalase의 활성을 측정하여 유제품에 존재하면서 품질저하의 원인이 될 수 있는 저온성 세균의 양을 간접적으로 추정함으로써 유제품의 저장성을 비교적 짧은 시간내에 검사할 수 있어 품질관리에 기여하는 바가 매우 클 것으로 예상된다.

References

- Adams Jr., D. M., Barach, J. T. and Speck, M. L. 1979. Inactivation of heat resistant bacterial proteases in UHT treated milk. U.S. Patent, Nov. 20, 4, 175, 141.
- Adams, D. M., Barach, J. T. and Speck, M. L. 1975. Heat resistant proteases produced in milk by psychotrophic bacteria of dairy origin. J. Dairy Sci. 58:828-835.
- Adams, D. M., Barach, J. T. and Speck, M. L. 1976. Effect of psychotrophic bacteria from raw milk on milk proteins and ability of milk proteins to ultrahigh temperature treatment. J. Dairy Sci. 59:823-827.
- Aimutis, W. R. and Eigel, W. N. 1982. Identification of γ -casein as plasmin-derived

- fragments of bovine α_{s1} -casein. J. Dairy Res. 65:175-181.
- Alais, c. and Ged, J. 1978. Effects of sterilization by friction on the milk enzymes. Int. Dairy Congr. E:612.
- Anderson, R. E., Hedlund, C. B. and Jonsson, U. 1979. Thermal inactivation of a heat resistant lipase produced by the psychotrophic bacterium *Pseudonanas fluorescens*. J. Dairy Sci. 62:361-367.
- Anderson, M. 1983. Milk lipase and off-flavour development. J. Soc. Dairy Technol. 36:3-7.
- Andrews, A. 1975. Properties of aseptically packed ultra high-temperature milk, 111. Formation of polymerized proteins during storage at various temperatures. J. Dairy Sci. 42:89-99.
- Andrews, A. T. 1983. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. J. Dairy Sci. 50:45-55.
- Andrews, A. T. and Pallavicini, C. 1973. Bovine milk acid phosphatase. I. Some kinetics studies and other properties using a partially purified preparation. Biochim, Biophys. Acta. 321:197-209.
- Andrews, A. T. and Alichanidis, E. 1983. Proteolysis of caseins and the proteose-peptone fraction of bovine milk. J. Dairy Res. 50:275-290.
- Astrup, T. and Sterndorff, I. 1953. A fibrinolytic system in human milk. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 84:605-609.
- Aurand, L. W., Boone, N. H. and Giddings, G. G. 1977. Superoxide and singlet oxygen in milk lipid peroxidation. J. Dairy Sci. 60:363-369.
- Ball, E. G. 1939. Xanthine oxidase: Purification and properties. J. Biol. Chem. 128:51-67.
- Bandyopadhyay, A. K., Janeja, H. K. and Ganguli, N. C. 1979. Extent of inactivation of xanthine oxidase in milk during processing and gastric digestion. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 12(1):19-22.
- Barach, J. T., Adams, D. M. and Speck, M. L. 1976. Low temperature inactivation in milk of heat-resistant protease from psychotrophic bacteria. J. Dairy Sci. 59:391-395.
- Barach, J. T., Adams, D. M. and Speck, M. L. 1978. Mechanism of low temperature inactivation of a heat resistant bacterial protease in milk. J. Dairy Sci. 61:523-528.
- Bassette, R., Fung, D. Y. C. and Mantha, V. R. 1986. Off- flavors in milk. CRC Critical Review in Food Sci. Nutr. 24(1):1-52.
- Baumrucker, C. R. 1980. Purification and identification of γ -glutamyl transpeptidase of milk membranes. J. Dairy Sci. 63: 49-54.
- Bengtsson, G. and Olivecrona, T. 1980. Lipoprotein lipase: Some effects of activator proteins. Eur. J. Biochem. 106:549-555.
- Bhadsalve, C. H., Shehata, T. E. and Collins, E. B. 1972. Isolation and identification of psychophilic species of *Clostridium* from milk. Appl. Microbiol. 24:699-706.
- Brinham, E. W., Jasewicz, L. and Eittle, C. A. 1961. Acid phosphatase in cream and in skimmilk. J. Dairy Sci. 44:1247-1256.
- Birch, G. G., Bakebrough, N. and Parker, K. J. 1981. Enzymes and food processing.

- Applied Science Publisher, New York.
- Biryukova, Z. A., Selvenznev, V., Dombrovskaya, E. and Makarova, A. 1975. Changes in sterile milk during storage. Food Sci. Technol. Abstr. 6:163.
- Bjorck, L. and Claesson, C. 1979. Xanthine oxidase as a source of hydrogen peroxide for the lactoperoxidase system in milk. J. Dairy Sci. 62:1211-1215.
- Bruder, G., Heid, H., Jarasch, E. D., Keenan, T. W. and Mather, H. 1982. Characteristics of membrane-bound and soluble forms of xanthine oxidase from milk and endothelial cells of capillaries. Biochim, Biophys. Acta. 701:357-369.
- Bucky, A. R. and Hayes, P. R. 1987. A modified ultra high temperature treatment for reducing microbial lipolysis in stored milk. J. Dairy Res. 54:275-282.
- Cerbulis, J. and Farrell, H. M. 1977. Xanthine oxidase activity in dairy products. J. Dairy Sci. 60:170-176.
- Christen, G. L. and Marshall, R. T. 1984. Thermostability of lipase and protease of *Pseudomonas fluorescens* 27 produced in various broths. J. Dairy Sci. 67:1688-1693.
- Christen, G. L., Wang, W. c. and Ren, T. J. 1986. Comparison of the heat resistance of bacterial lipase and protease and the effect on ultra-high temperature milk quality. J. Dairy Sci. 69:2769-2778.
- Christophersen, J. 1980. Über den einfluß them scher behand lung auf proteasen in lebensmittein. Zeitschrift für Lebensmittel Technologie und Verfahrenstechnik. 3(2): 43-46.
- Clare, D. A., Blackstone, B. A. Swaisgood, H. E. and Horton. H. R. 1981. Sulfhydryl oxidase-catalyzed conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. Arch. Biochem. Biophys. 211:44-47.
- Cousin, M. A. 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy prodcts: a review. J. Food Protec. 45:172-207.
- Cousin, M. A. and Marth, E. H. 1977. Psychotrophic bacteria cause changes in stability of milk to coagulation by rennet or heat. J. Dairy Sci. 60:1042-1047.
- De Konig, P. J., Kaper, J., Rollema, H. S. and Driessen, F. M. 1985. Age thinning and gelation in unconcentrated and concentrated UHT-sterilized skim milk. Effect of native milk protease. Neth. Milk Dairy J. 39:71-85.
- Deeth, H. C. 1983. Homogenized milk and atherosclerotic disease: a review. J. Dairy Sci. 66:1419-1435.
- Deeth, H. C. and Fitzgerald, C. H. 1976. Lipolysis in dairy products: a review. Aust. J. Dairy Technol. 31:53-64.
- De Rhan, O. and Andrews, A. T. 1982. The roles of native milk proteinase and its zymogen during proteolysis in normal bovine milk. J. Dairy Res. 49:577-585.
- Diermayr, P., Kroll, S. and Klostermeyer, H. 1987. Mechanisms of heat inactivation of a proteinase from *Pseudomonas fluorescens* biotype. I. J. Dairy Res. 54:51-60.
- Downey, W. K. 1980. Review of the progress of the dairy science: flavor impairment from pre-and post manufacture lipolysis in milk and dairy products. J. Dairy Res. 47: 237-252.
- Driessen, F. M. 1976. Eivitaafbraak in stromend gesteriliscerde meik en melk produkten.

- Zuivelzicht. 68(22):1314-1515.
- Driessen, F. M. 1981. Enzymatische eivitaafbraak in Kort/hoog gesteriliseerde melk producten. I. Produkte van proteinasen door bacterien tijdens hun groei in melk. Voedingsmiddle-lentechnologie 23 Juli, Jaargang 14, nr 15:18-20.
- Driessen, F. M. and Van Der Waals, C. B. 1978. Inactivation of native milk protenase by heat treatment. Neth. Milk. Dairy J. 32:245-254.
- Driessen, F. M. and Stadhouders, J. 1971. Heat stability of lipase of *Alcaligenes viscolactis* 23 al, Neth. Milk Dairy J. 25:141-144.
- Driessen, F. M. and Stadhouders, J. 1974. Thermal activation and inactivation of exocellular lipa ses of some gram negative bacteria common on milk. Neth. Milk Dairy J. 28:10-14.
- Driessen, F. M., and Stadhouders, J. 1978. Enzymatisch bederf in gepasteuriseerde en gesteriliseerde melk en zuivelprodukten. I. Eivitaafbraak. Zuivelzich. 70(44):994-996.
- Ebner, K. E. and Schanbacher, F. L. 1974. A comprehensive treatise. In lactation. Vol. 11, Larson, B. L. and V. R. Smith ed, Academic Press.
- Egelud, T. and Olivecrona, T. 1972. The purification of a lipoprotein lipase from bovine skim milk. J. Biol. Chem. 247:6212-6217.
- Eigel, W. N. 1977. Effect of bovine plasmin on α_{s1} -B and κ -A casein. J. Dairy Sci. 60: 1399-1403.
- Eikakis, J. P. and Woosters, S. C. 1980. Activity of xanthine oxidase in dairy products. J. Dairy Sci. 63:893-904.
- Eitenmiller, R. R. Friend, B. A. and Shahani, K. H. 1971. Comparison of bovine and human milk lysozymes. J. Dairy Sci. 54:762.
- Eriksson, C. E. 1969. Nonensymatic lipid oxidation by lacto-peroxidase. Effect of heat treatment. J. Dairy Sci. 53:1649-1653.
- Forster, F. L., Montgomery, M. N. and Montoure, J. E. 1961. Some factors influencing the activity of the A-, B-, and C- esterases of bovine milk. J. Dairy Sci. 44:1420-1430.
- Fox, P. F. and Stepaniak, L. 1983. Isolation and some properties of extra-cellular heat-stable lipases from *Pseudomonas fluorescens* AFT36. J. Dairy Res. 50:77-89.
- Gould, B. S. 1932. The detection of inefficiently pasteurized milk based on a modification of the new Rothen-Fusser test. J. Dairy Sci. 15:230-241.
- Griffiths, H. M., Phillips, J. D. and Muir, D. D. 1981. Thermo- stability of protease and lipase from a number of species of psychotrophic bacteria of dairy origin. J. Appl. Bacterol. 50:289-303.
- Griffiths, M. M., Phillips, J. D. and Muir, D. D. 1984. Methods for rapid detection of post-pasteurization contamination in cream. J. Soc. Dairy Tech. 37:22-26.
- Groves, M. L. 1971. Minor milk proteins and enzymes. In milk proteins, Vol. II, Mckenzie, M. A. ed, Academic press, New York.
- Grufferty, M. B. and Fox, P. F. 1986. Potassium indate induced proteolysis in ultra he treated milk cluring storage: the role of β -lactoglobulin and plasmin. I. Dairy Res. 53:601-613.
- Guamis, B., Huerta, T. and Garay, E. 1987. Heat inactivation of bacterial proteases in

- milk before UHT-treatment. *Michi-Wissenschaft*. 42(10):651-653.
- Hansen, A. P. 1985. The effect of different UHT processing parameters on the chemical and physical properties of aseptic milk and creams. In aseptic processing and packaging of foods of an IUFOST symposium. Step. 19-12.
- Harnulv, B. C. and Kandasamy. C. 1981. IDT-symposium on bacteriological quality of raw milk. Part II. P. 47 (cited from Kitchen, B. J. 1985. Elsevier Applied Science Publishers, London).
- Hartley, J. C., Vedamuthu, E. R. and Reinbold, G. M. 1969. Bacteriological methods for evaluation of raw milk quality. A review. II. Bacterial tests used to measure milk quality. *J. Milk Food Technol.* 32:4-15.
- Harwalker, V. R. 1982. Age gelation of sterilized milks in developments in dairy chemistry- I. D. F. Fox, ed. Applied Science Publishers, London.
- Hening, J. C. and Dahlberg, A. C. 1943. Effect of pasteurization times and temperatures on certain properties and constituents of cream. *Tech. Bull. N.Y. Agric. Exp. sta.* No269:3-23.
- Herrington, B. L. 1954. Lipase: A review. *J. Dairy Sci.* 38:775-789.
- Hicks, C. L. 1980. Occurrence and consequence of superoxide dimutase in milk products: A review. *J. Dairy Sci.* 63:1199-1204.
- Holbrook, J. and Hicks, C. L. 1978. Variation of superoxide dismutase in bovine milk. *J. Dairy Sci.* 61:1072-1077.
- Janolino, V. G. and Swaisgood, H. E. 1975. Isolation and characterization of sulfhydryl oxidase from bovine milk. *J. Biol. Chem.* 250:2532-2538.
- Jellma, A., and Schipper, C. J. 1975. Influence of physiological factors on the lipolytic susceptibility of milk. *Annu. Bull. Int. Dairy Fed. Doc. No. 86.* 2.
- Jenness, R. and Patton, S. 1959. Principles of dairy chemistry. John Wiley & Sons Inc. New York.
- Jonsson, U. and Snygg, B. G. 1974. Lipase production and activity as a function of incubation time, pH and temperature of four lipolytic microorganism. *J. Appl. Bacteriol.* 37:571-581.
- Juffs, H. S., Hayward, A. C. and Doelle, H. W. 1968. Growth and proteinase production in *Pseudomonas* species cultivated under various conditions of temperature and nutrition. *J. Dairy Res.* 35:385-393.
- Kahn, I. M., Dill, C. W., Chandon, R. C. and Shahani, K. M. 1967. Production and properties of the extracellular lipase of *Achromobacter lipolyticum*. *Biochem. Biophys. Acta.* 132:68-77.
- Kaminogawa, S., Mizobuchi, H. and Yamauchi, K. 1972. Comparison of bovine milk protease with plasmin. *Agric. Biol. Chem.* 36:2163-2167.
- Kaminogawa, S. and Yamauchi, K. 1972a. Decomposition of β -casein by milk protease. Similarity of decomposed products to temperature-sensitive and κ -caseins. *Agric. Biol. Chem.* 36:255-260.
- Kaminogawa, S. and Yamauchi, K. 1972b. Acid protease of bovine milk. *Agric. Biol. Chem.* 36: 2351-2356.



- Kiermeir, F. and Hundt, D. 1969. Uber die ribonuclease der milch, Z. Lebensmittelanters, U-Forsch, 141(2):76-84.
- Kishonti, E. and Sjostrow, G. 1970. Influence of heat resistant lipases and proteases in psychrotrophic bacteria on product quality. XV III Int. Dairy Congr. IE:501.
- Kitchen, B. J. 1976. Enzymatic methods for estimation of the somatic cell count in bovine milk. 1. Development of assay techniques and a study of their usefulness in evaluating the somatic cell content of milk. J. Dairy Res. 43:251-258.
- Kitchen, B. J. 1981. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis milk compositional changes and related diagnostic tests. J. Dairy Res. 48:167-188.
- Kitchen, B. J. 1985. Indigenous milk enzymes. In development in dairy chemistry-3. P. T. Fox, ed. Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Kitchen, B. J., Taylor, G. C. and White, I. C. 1970. Milk enzymes—their distribution and activity. J. Dairy Res. 37:279-288.
- Klockers, M. and Roberts, P. 1976. Stimulation of phagocytosis human lysozyme. Acta Haemat. 55:289-295.
- Knoop, A. M. and Peters. R. H. 1975. Phosphataseaktivitat in sauermilch. Milchwissenschaft 30:674-680.
- Korenblat, P. E., Rothbreg, R. M., Minden, P. and Farr, Res. 1968. Immune responses of human adults after oral and parenteral exposure to bovine serum albumin. J. Allergy. 41:226-235.
- Korycka-Dahl, M., Dumas, B. R., Chene, N. and Martal, J. 1983. Plasmin activity in milk. J. Dairy Sci. 66:704-711.
- Korycka-Dahl, M., Richardson, T. and Hicks, C. L. 1979. Superoxide dimutase activity in bovine milk serum. J. Food Prot. 42:867-871.
- Kroll, R. G. 1985. The cytochrome C. oxidase test for the rapid detection of psychrotrophic bacteria in milk. J. Appl. Bacteriol. 59:137-141.
- Kroll, S. and Klostermeyer, H. 1984. Heat inactivation of exogenous proteinase from *Pseudomonas fluorescens*. 1. Possibility of inactivation in milk, Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung. 179:288-295.
- Kroll, R. G. and Rodrigues, U. M. 1986. Prediction of the keeping quality of pasteurized milk by the detection of cytochrome C oxidase. J. Appl. Bacteriol. 60:21-27.
- Low, B. A., Andrews, A. T. and Sharpe, M. E. 1977. Gelation of UHT sterilized milk by proteinase from a strain of *Pseudomonas fluorescens* isolated from raw milk. J. Dairy Res. 44:145-148.
- Low, B. A., Sharp, M. E. and Champman, H. R. 1976. The effect of lipolytic gram-negative psychrotrophs in stored milk on the development of rancidity in Cheddar cheese, J. Dairy Res. 43:459-468.
- Ledford, R. A., Senyk, G. F., Shape, W. F., Kostides, E. and Wolf, E. T. 1983. Influence of growth of uniforms on flavor acceptability of commercially processed milk samples. J. Dairy Sci. 66:1611-1615.
- Leytas, S. P., Bowles, L. K., Komisky, J. and Mangel, W. F. 1981. Activation of plasminogen to plasmin by a protease associated with the outer membrane of *Escherichia*

- coli*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 78:1485-1489.
- Linden, G. and Alas, C. 1976. Phosphatase alcaline du lait de vache. II. Structure sous-unitaire, nature metalloproteique. Biochim. Biophys. Acta. 429:205-213.
- Lodirova, R. and Jouja, V. 1977. Influence of oral lysozyme administration on serum immunoglobulin and intestinal secretory IgA levels in infants. Acta Paediatr. Scand. 66:709-712.
- Lorriert, D. and Linden, G. 1976. Moving boundary electro-phoresis of native and rennet-treated casein micelles. J. Dairy Res. 43:27-36.
- Malik, A. C. and Swanson, A. M. 1974. Heat stable proteases from psychrotrophic bacteria in milk. J. Dairy Sci. 57:591.
- Malik, R. K. and Mathur, D. K. 1984. Purification and characterization of heat-stable protease from *Pseudomonas* sp. B-25. J. Dairy Sci. 67:522-530.
- Mangino, M. E. and Brunner, J. R. 1976. Two rapid and improved techniques for chromatographic fraction of casein. J. Dairy Sci. 59:153-160.
- Mangino, M. E. and Brunner, J. R. 1977. Isolation and partial characterization of xanthine oxidase associated with milk fat globule membrane of cow's milk. J. Dairy Sci. 60:841-850.
- Marouardt, R. R. and Forster, T. L. 1965. Milk α -esterase levels as influenced by stage of lactation. J. Dairy Sci. 48:1526-1531.
- Marshall, R. T. and Marstiller, J. K. 1981. Unique response to heat of extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* M5. J. Dairy Sci. 64:1545-1550.
- Marther, I. H. and Keenan, T. W. 1975. Studies on the structure of milk fat globule membrane. J. Membr. Biol. 21:65-85.
- Marther, I. H., Tamplin, C. B. and Irving, M. G. 1980. Separation of the proteins of bovine milk-fat-globule membrane by electrofocusing with retention of enzymatic and immunological activity. Eur. J. Biochem. 110:327-336.
- McCarthy, R. D. and Long, C. A. 1976. Bovine milk intake and xanthine oxidase activity in blood serum. J. Dairy Sci. 59:1059-1062.
- Mckellar, R. C. 1981. Development of off-flavors in ultrahigh-temperature and pasteurized milk as a function of proteolysis. J. Dairy Sci. 64:2138-2145.
- Morton, R. K. 1985. Alkaline phosphatase of milk. 2. Purification of the enzyme. Biochem. J. 55:795-800.
- Mottar, J. 1981. Heat resistant enzymes in UHT milk and their influence on sensoric changes during uncooled storage. Milchwissenschaft. 36(2):87-91.
- Mottar, J. G., Waes, R., Moermons, M. and Naudts, M. 1979. Sensoric changes in UHT milk during uncooled storage. Michi-Wissenschaft 34(5):257-262.
- Muir, D. D., Kelly, M. E., Phillips, J. D. and Wilson, A. G. 1978. The quality of blended raw milk in creameries in south west scotland. J. Soc. Dairy Technol. 31:137 (cited from Bassette, R., Fung, D. Y. C. and Mantha, V. R. 1986. CRC critical reviews in Food Sci. Nutr. 24(1):1-52).
- Mullen, J. E. C. 1950. The acid phosphatase of cows' milk. I. Some properties of the enzyme. J. Dairy Res. 17:288-305.

- Nelson, J. A. and Trout, M. G. 1965. Judging dairy products. 4th ed, Olsen publishing, Milwaukee Wis.
- Noomen, A. 1975. Proteolytic activity of milk protease in raw and pasteurized cow's milk. *Neth. Milk and Dairy J.* 29:153-161.
- Oster, K. A. 1971. Plasmalogen diseases: a new concept of the etiology of the atherosclerotic process. *Am. J. Clin. Res.* 2:30-35.
- Overcast, W. W., and Skean, J. D. 1959. Growth of certain lipolytic microorganisms at 4°C, and their influence on free fat acidity and flavor of pasteurized milk. *J. Dairy Sci.* 2:1479-1485.
- Patel, G. B. and Blankernagel, G. 1972. Bacterial counts of raw milk and flavor of the milk after pasteurization and storage. *J. Milk Food Technol.* 35(4):203-206.
- Peerboom, J. W. C. 1968. Studies on alkaline milk phosphatase. II. Occurrence of various phosphatase isozymes in dairy. *Neth Milk Dairy J.* 22:137-152.
- Phillips, J. D. and Griffiths, M. W. 1987. A note on the use of the catalasemetre in assessing the quality of milk. *J. Appl. Bacteriol.* 62: 223-226.
- Pinheiro, A, J. R., Liska, B. J. and Parmelee, C. E. 1965. Heat stability of lipases of selected psychrotrophic bacteria in milk and purdue swiss-type cheese. *J. Dairy Sci.* 48(7):983-984.
- Polis, B. D. and Shmukler, H. W. 1953. Crystalline lactoperoxidases. Isolation by displacement chromatography, physicochemical and enzymatic properties. *J. Biol. Chem.* 201:475-500.
- Rambauts, W. A., Scharoeder, W. A. and Morrison, M. 1967. Bovine lactoperoxidase. Partial characterization of the further purified protein. *Biochemistry.* 6:2965-2977.
- Reiter, B. 1985, The biological significance of the nonimmunoglobulin protective proteins in milk: lysozyme, lactoferrin, lactoperoxidase. In *Development in dairy Chem.*-3. Fox. ed, Elsevier Applied Science Publisher, London.
- Richardson, B. C. 1983. The proteinase of bovine milk and the effect of pasteurization on their activity. *New Zealand Dairy Sci. and Technol.* 18:233-245.
- Roberts, W. M. 1943. Some factors influencing the spontaneous development of oxidized flavor in milk. Ph. D. thesis, Univ of Minnesota, U.S.A.
- Shahani, K. M. and Chandan, R. C. 1965. Activity of purified lipase in the presence of milk constituents. *Arch. Biochem. Biophys.* 111:257-263.
- Shamsuzzaman, K., Molder, W. and Mckellar, R. C. 1987. Survival of lipase during manufacture of non fat dry milk. *J. Dairy Sci.* 70:746-751.
- Sievers, G. 1981. Structure of milk lactoperoxidase. Evidence for a single polypeptide chain. *FEBS Lett.* 127:253-256.
- Singh, R. R. B. and Patil, G. R. 1987. Physico-chemical and sensory changes during processing and storage of UHT milk. *Indian Dairyman.* 39(5):209-214.
- Skean, J. D. and Overcast, W. W. 1960. Changes in the paper electrophoretic protein patterns of refrigerated skimmilk accompanying growth of three *Pseudomonas* species. *Appl. Microbiol.* 8:335. (Cited from Bassette, R., Fung, D. Y. C. and Mantha, V. R. 1986. *CRC Critical Reviews in Food Sci. Nutrition.* 24(1):1-52).

- Skudder, D. J., Thomas, E. L., Pavey, S. A. and Perkin, A. G. 1981. Effects of adding potassium iodate to milk before UHT treatment. I. Reduction in the amount of deposit on the heated surfaces. *J. Dairy Res.* 48:99-113.
- Snoeren, T. H. M., Van der Spek, C. A., Decker, R. and Both, P. 1979. Proteolysis during the storage of UHT sterilized whole milk. 1. Experiments with milk heated by the direct system for 4 seconds at 142°C. *Neth. Milk Dairy J.* 33:31-39.
- Snoeren, T. H. M., Van Riel, J. A. and Both, P. 1980. Some properties of milk proteinase isolated from UHT milk. *Zuivelzicht.* 72:42-43.
- Snoeren, T. H. M. and Both, P. 1981. Proteolysis during the storage of UHT-sterilized whole milk. 2. Experiments with milk heated by indirect system 4 sec. at 142°C. *Neth. Milk Dairy J.* 35:113-120.
- Stannard, D. J. 1975. The use of marker enzymes to assay the churning of milk. *J. Dairy Res.* 42:241-246.
- Stepaniak, L. and Fox, P. F. 1983. Thermal stability of an extracellular proteinase from *Pseudomonas fluorescens* AFT36 *J. Dairy Res.* 50:171-184.
- Sundhein, G., Zimmer, T. L. and Astrup, H. N. 1983. Induction of milk lipolysis by lipoprotein components of bovine blood serum. *J. Dairy Sci.* 66:400-406.
- Swaigood, H. E. 1980. Sulphydryl oxidase: Properties and applications. *Enzyme Microbiol. Technol.* 2:265-272.
- Swaigood, H. E. and Abraham, P. 1980. Oxygen activation by sulphhydryl oxidases and the enzyme's interaction with peroxidase. *J. Dairy Sci.* 63:1205-1210.
- Vainio, O. P., Virtanen, J. A. and Kinnunen, P. K. 1982. Inhibition of lipoprotein lipase by benzene boronic acid: Effect of apolipoprotein C-II. *Biochim. Biophys. Acta.* 711:386-390.
- Walker, W. A., and Isselbacher, K. J. 1974. Uptake and transport of macromolecules by the intestine. Possible role in clinical disorders. *Gastroenterology.* 67:531-550.
- Walstra, P. and Jenness, R. 1984. *Dairy chemistry and physics.* John Wiley & Sons, New York.
- Warner, R. C. and Polis, E. 1945. On the presence of a proteolytic enzyme in casein. *J. Am. Chem. Soc.* 67:529-522.
- West, F. B., Adams, D. M. and Speck, M. L. 1978. Inactivation of heat resistant protease in normal ultra-high temperature sterilized skim milk by a low temperature treatment. *J. Dairy Sci.* 61:1078-1084.
- Whitney, R. M. 1958. The minor proteins of bovine milk. *J. Dairy Sci.* 41:1303-1323.
- Witter, L. D. 1961. Heat stability of lipases of selected psychrophilic bacteria in milk and purdue-swiss type cheese. *J. Dairy Sci.* 44:983-987.
- Wuthrich, S., Richterich, R. and Hostettler, H. 1964. Untersuchungen über Milchenzyme. II. Mitteilung. Enzyme in zentrifugierter und hitzebehandelter Kuhmilch. *Z. Lebensmittuntersuch.* 124(5):345-348.
- Zikakis, J. P. and Woosters, S. C. 1980. Activity of xanthine oxidase in dairy products. *J. Dairy Sci.* 63:893-804.