

乳代支弗 體系와 品質管理를 爲한 牛乳 透明化 技術開發

李富雄, 張云基, 許文英, 印英玟*, 金東運*, 鄭碩根*, 咸準相*
전북대학교 농과대학 축산기술연구소*

Abstract

It is very interest to use transparent milk for various determination because milk emulsion or colloidal state bring out opacity. The fat globule can disperse by butanone and casein complex can also disintergrate to monomer by action of Triton with aide of SDS and NaOH in same milk phase at time because it can be possible that butanone have amphiphilic characteristic solvent also miscible. Our formulation of solvent can treat almost all type of milk products except with proportion of Triton/Butanone such as 8:2 and 9:1 . In spite of growth inhibition to contact with solvent it call be use also for microbial counting because this formulation did not attack wall. This is why present technique can be applied to diver determination for the reason of milk payment system, quality control, and national planning or control of national dairy .

I. 서론

우유는 유선세포에서 혈액이 운반하는 각종 전구물질을 이용하여 혈액에는 없는 고분자물질을 새로이 98%정도 합성한다. 우유는 각종 체액 중에서 독특하게 안정한 分散體系를 가지고 있다. 혈액과는 相似性이 있으면서도 그 성질이 물리화학적으로 현저히 다르다.

우유의 지방은 球形으로 표면에 親水性基들이 노출된 脂肪球皮膜을 형성하여 乳화된 상태이고 casein은 α, β 가 중합하여 κ 가 보호 colloid 역할을 하고 표면이 심하게 水和된 거대한 micell이다. (韓國酪農工學研究센터編, 1993년)

이러한 우유에서 각종 정량들을 하려면 여러 분광학적 방법을 적용하는데 濁度の 원인이 되는 casein을 제거하거나 지방을 제거하면 정량을 부정확하게 하거나 복잡하게 한다.

어떤 효소들은 지방구피막에 포함되어 있어 효소가 완전 회수되지 않거나 除蛋白質時에 침전되어 정량 감도를 낮게 하거나 수율이 낮아 정확성이 없고 또 가능해도 시간이 오래 걸리는 단점이 있다. 이러한 목적을 위해 Linden, Kouomegne et al.(1986)는 투명화 시약의 특허를 등록하였다.

본 연구에서는 우리나라 유대지불 체계 관리기술을 위해 이특허를 개량하거나 우리 실정에 맞게 이용성을 증가시키기 위해 이 특허를 기준으로 한 몇가지 실험을 실시 하였다.

II. 재료 및 방법

2.1 재료

(1) 시약

사용된 용매의 시약은 Methyl ethyl ketone인 2-Butanodine(關東化學株式會社), octoxynol(일명 Triton, Minoo

Osaka), Sodium dodecyl sulfate(Sigma), EDTA, NaOH 등을 사용하였다.

(2) 유제품

원유는 전북대학교 농과대학 부속목장에서 건강한 소에서 신선한 원유를 착유하여 사용하였고 각종 유제품 시유(국내S社), 저지방유(국내D社), 액상발효유(국내K社), 호상발효유(국내J社), cream(국내F社), whipped cream(국내L社), Butter(국내T社), Camembert(수입품P社), Mozzarella(국내W社), Tête de Moine(국내Q社), Raclette(국내Q社), Emmental(수입품E社), 가공치즈(M社), 전지방유(N社), 탈지방유(I社), 조제분유(B社)를 시중에서 구입하여 사용하였다.

2.2 방법

(1) 각제품별 용매의 적정비율의 결정

투명화를 위하여 n-Butanodine, Triton X-100을 일정한 비율로 혼합된 액체에 SDS, EDTA, NaOH를 첨가하여 각종비율중에서 가장 빠른 시간안에 최소량으로 투명화 시키는 비율을 찾고 여기에 부가하여 EDTA, NaOH, SDS의 효과를 측정하고 투명화를 용이하게 시키는 각 비율을 검색하였다.SDS는 1%의 용액으로 NaOH는 2N용액으로 사용하였다. 액체 시료는 ml로 하였고 고체 시료 Butter는 중량으로 하였고 cheese 시료들은 2M Na citrate 용액을 사용하여 1%cheese 용액으로 조제하여 시료로 사용하였다. 분유는 증류수에 10% 용액으로 조제하여 시료로 하였다.

(2) 투명화된 각 제품의 혼합체의 Spectrum

투명화된 용액을 Spectrophotometer(Beckman,USA)에서 물을 바탕으로 하여 파장 가시광선 영역 300nm에서 800nm까지 흡광도를 Scanning하였다.

(3) 유산균발효와 총균수정량

유산균발효는 멸균된 탈지유10ml + 시약10ml에 1ml 균액을 접종시켜 37도에서 4시간, 8시간, 12시간 배양을 실시하였다.

총균수 정량은 표준평판배양법(Aerobic Plate Count)으로 실시하였다. 일반 세균수는 시료중에 존재하는 세균중 표준한천배지내에서 발육할수 있는 중온균의 수를 말한다. 표준한천평판배지에 시료를 혼합 응고 시켜 배양후 형성한 세균의 집락수를 계수하여 생균수를 산출하였다.(Serres, 1973년)

(4) 전자현미경

1) 주사전자현미경

발효된 유산균을 PBS로 희석하여 순수 유산균을 수거하여 세척한 후 2.5% glutaldehyde에 하루동안 1차 고정하였다.

PBS 세척 후 2시간 OsO₄로 2차 고정하였으며, PBS로 세척하고 30분씩 50, 70, 80, 90, 95, 100, 100%까지 alcohol로 순차적으로 탈수하였다.

isoamyle acetate과 HMDS로 각각 30분간 완전 탈수한 후 gold coating하여 JEOL JSM-5310LV(Japan)으로 관찰하였다. (Lee, 1981)

유제품	Triton:Butanone	Triton	Butanone	1%SDS	2N NaOH	1%EDTA
원유	2:8	10.53%	42.11%	45.11%	0.75%	1.50%
시유	2:8	10.75%	43.01%	43.01%	1.08%	2.15%
저지방유	2:8	14.8%	34.50%	49.30%	1.40%	-
액상발효유	2:8	0.90%	8.10%	90.00%	1.00%	-
Cream	3:7	6.70%	60.00%	33.3%	-	-
Butter	3:7	27.30%	63.60%	9.10%	-	-
Camembert	1:9	1.00%	9.00%	90.00%	-	-
Mozzarella	1:9	0.89%	8.04%	89.29%	1.78%	-
Tete de Moine	1:9	0.78%	6.92%	92.30%	-	-
Raclette	1:9	0.52%	4.69%	93.75%	1.04%	-
Emmental	1:9	1.31%	11.84%	85.53%	1.32%	-
가공치즈	1:9	1.85%	16.70%	75.90%	1.85%	3.70%
전지분유	3:7	13.91%	32.45%	46.36%	0.66%	6.62%
탈지분유	-	-	-	98.76%	1.24%	-
조제분유	3:7	20.59%	48.04%	29.41%	1.96%	-

2) 투과전자현미경

발효된 유산균을 PBS로 희석하여 순수 유산균을 수거하여 세척한 후 2.5% glutaldehyde에 하루동안 1차 고정하였다.

PBS 세척 후 2시간 OsO₄로 2차 고정하였으며, PBS로 세척하고 30분씩 50, 70, 80, 90, 95, 100, 100%까지 alcohol로 순차적으로 탈수하였다. propylene oxide로 30분간 투명화하고 epoxy resin으로 포매하였다. 이후 초박절편하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 JEOL1010(Japan)으로 관찰하였다.(Lee, 1981)

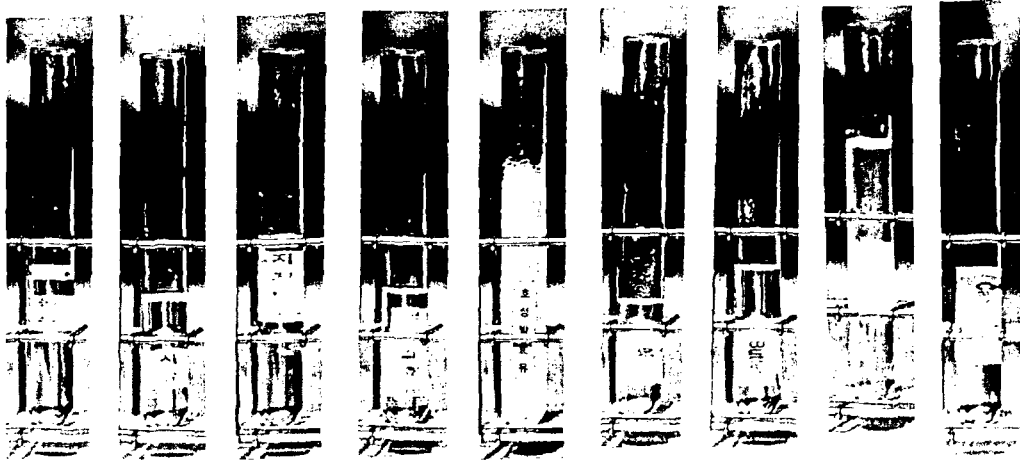
III. 결과 및 고찰

3.1 투명화된 용매의 비율

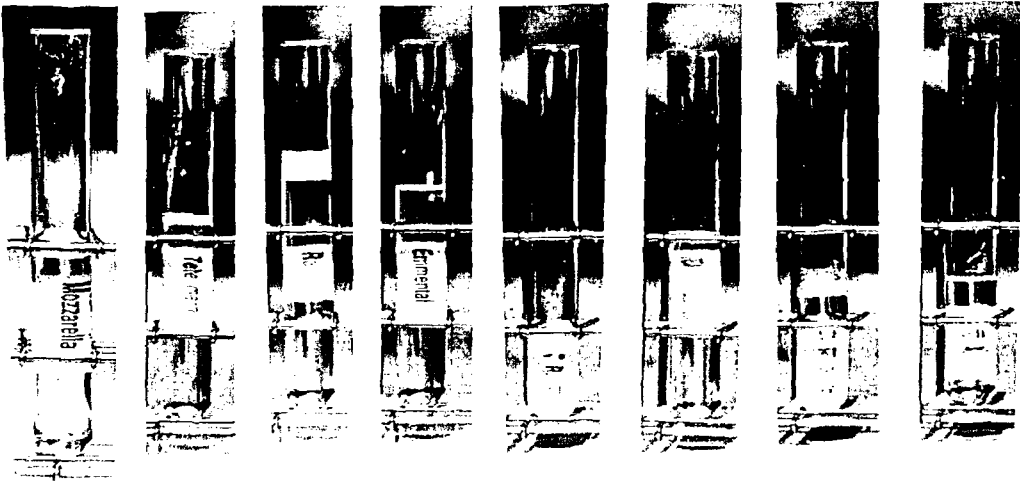
Butanone은 지방을 용해시키고 Triton은 단백질을 분산시키는 작용을 감안한다면 T/B용매비율에서 지방이 높을수록 현저히 Butanone이 높을것으로 예상됨에 불구하고 Cream, Butter, 전지분유, 조제분유에서 3:7로 나타나고 원유, 시유, 저지방유, 액상발효유에서 2:8이고 각 Cheese들이 공히 1:9이고 지방이 없는 탈지분유는 Triton이나 Butanone이 없이 SDS와 NaOH만으로도 투명화가 가능하였다. 특히에서 2:8~8:2범위에서 청구범위를 설정하였으나 5:5이상에서는 투명화가 거의 불가능한 것으로 나타났다. 각 용액 조성비에서 Cream과 Butter가 Butanone이 60%로 나타내고 있다. 한편 1%SDS의 비율은 Cheese들과 탈지분유에서 75-98%로 높게 나타내는데 이것은 탈지분유에서 단백질 비율이 높고 Cheese에서 Ca-para caseinate의 용해된 curd가 해리되는데 많은 양의 SDS가 소요되기 때문인 것으로 보인다. 2N NaOH의 소요량은 효과는 없거나 소량이다. EDTA는 원유, 시유, 전지분유, 가공치즈에서만 소요되었는데 Ca착염이 용해도를 돕는 것으로 보인다.

3.2 투명화

그림1에서 본바와 같이 투명화된 제품의 사진들로는 원유, 저지방유, Butter, 전지분유, 조제분유, Mozzarella, Emmental cheese등이고 투명화가 되지 않은 제품의 사진들로는 호상 발효유, 아이스크림이다. 호상발효유와 아이스크림은 첨가된 첨가제들이 gel를 강하게 형성하고 있어 casein의 분산, 지방의 용해, SDS의 접촉을 방해하기 때문인 것으로 보인다. 시유, 가공치즈, 전지분유, Butter는 탁도가 있으나 20분이내에 만 측정하면 흡광도가 0.1이하이다.



시료	원유	시유	저지방유	액상발효유	호상발효유	Cream	Butter	아이스크림	Camembert
OD	9.82×10^{-2}	0.26	6.51×10^{-2}	6.55×10^{-2}	×	9.39×10^{-2}	0.34	×	9.78×10^{-2}



시료	Mozzarella	Tête Moine	Raclette	Emmental	가공치즈	전지분유	탈지분유	조제분유
OD	8.43×10^{-2}	9.65×10^{-2}	9.72×10^{-2}	7.75×10^{-2}	0.19	0.16	5.18×10^{-2}	6.88×10^{-2}

Fig. 1. Photographs of transpiration.

3.3 Spectrum

그림2는 투명화된 시료의 전형적 spectrum으로 균일한 baseline를 나타낸다. 흡광도들은 그림1에 나타나 있다.

3.4 유산균 생장 곡선

그림3에서 보는바와 같이 Triton, Butanone 등 시약이 존재하면 유산균의 성장에 현저히 저해하는 것으로 나타내고 있다. 특히 Butanone의 함량이 높을수록 저해하고 SDS는 더욱 현저히 저해하는 것으로 나타내고 있다.

Overlaid Spectra:

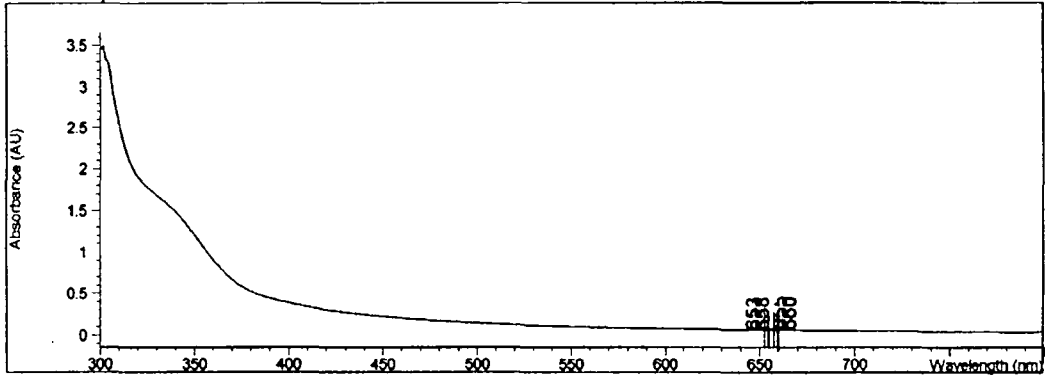


Fig. 2. Typical spectrum of stansparent mixture

3.5 전자 현미경

Plate I에서 보면 사진1(control)과 2는 유산균의 SEM을 전자현미경하에서 관찰한 결과인데 차이가 없는 것으로 나타났다. 다시 TEM으로 15,000배율에서 유산균의 단면을 관찰한 것이 3(control)과 4로서 역시 차이가 없는 것으로 나타났다. 다시 60,000배율로 관찰하였는데(5와 6) 유산균의 세포벽이 손상되지 않은 것으로 나타냄으로 보아 Triton과 Butanone 시약이 유산균의 성장은 억제하나 세포를 파괴하지 않는 것으로 보인다. 때문에 Triton과 Butanone으로 유제품을 투명화 할때 유산균을 파괴 하지 않음으로 투명화가 미생물 정량에 영향을 주지 않는다고 볼수 있다.또 효소가 유리되어 다른 효소 정량을 방해 하지 않을것으로 보인다.

plate I

micrograph 1. SEM of streptococcus lactis culture in absence of solvent. (control)

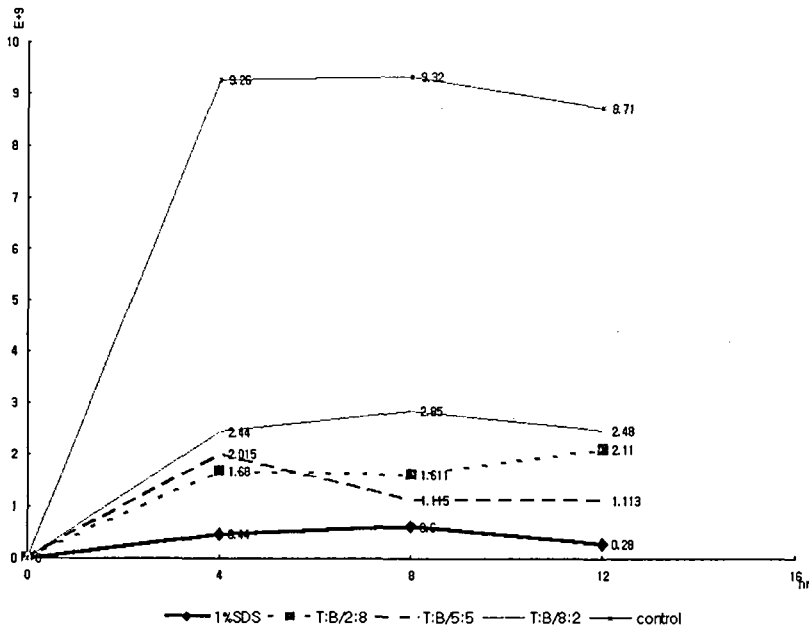


Fig. 3. Growth cure of streptococcus lactis in presence of solvent.

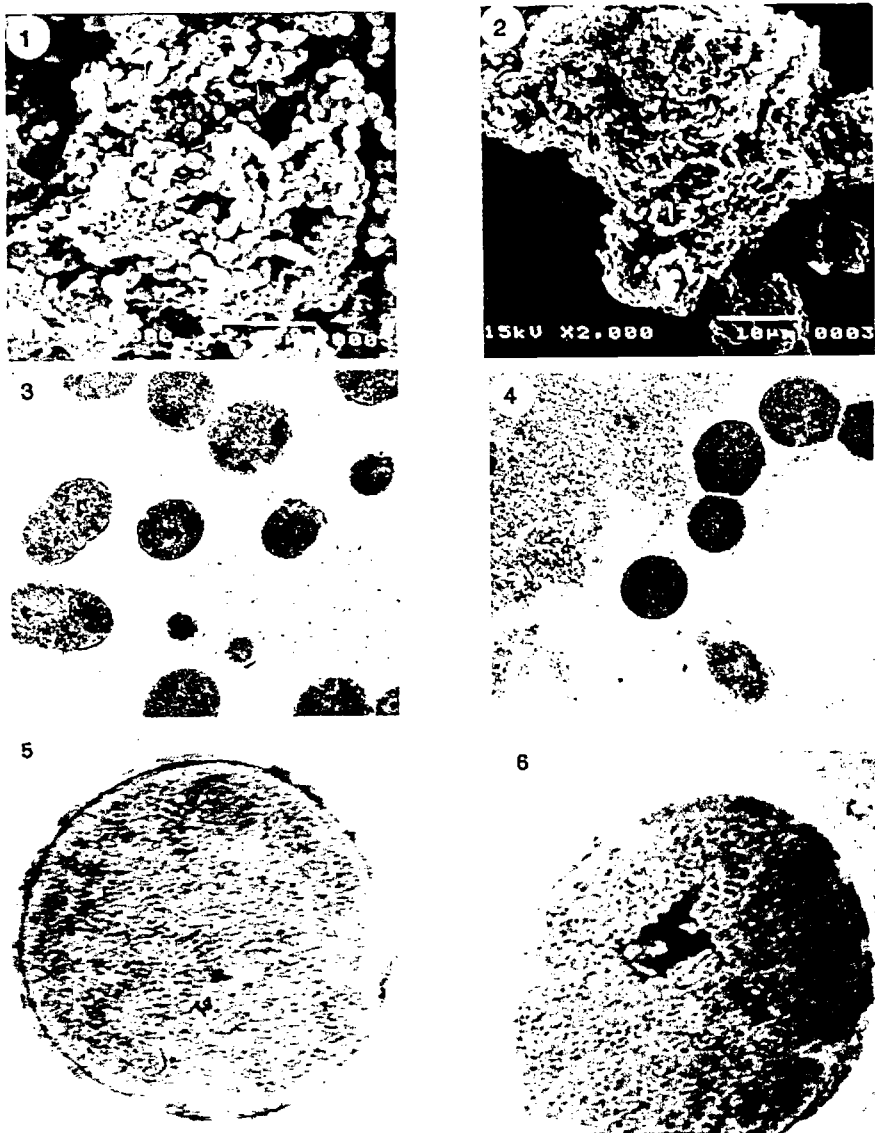


Plate 1

micrograph 2. SEM of streptococcus lactis culture in presence of solvent (Triton : butanole=2:8) during two hours.

micrograph 3. TEM of streptococcus lactis culture in absence of solvent (control) during two hours, magnification $\times 15.000$

micrograph 4. TEM of streptococcus lactis culture in presence of solvent(Triton : butanole=2:8) during two hours,magnification $\times 15.000$

micrograph 5. TEM of streptococcus lactis culture in absence of solvent (control) during two hours, magnification $\times 60.000$

micrograph 6. TEM of streptococcus lactis culture in presence of solvent(Triton : butanole=2:8) during two hours,magnification $\times 60.000$

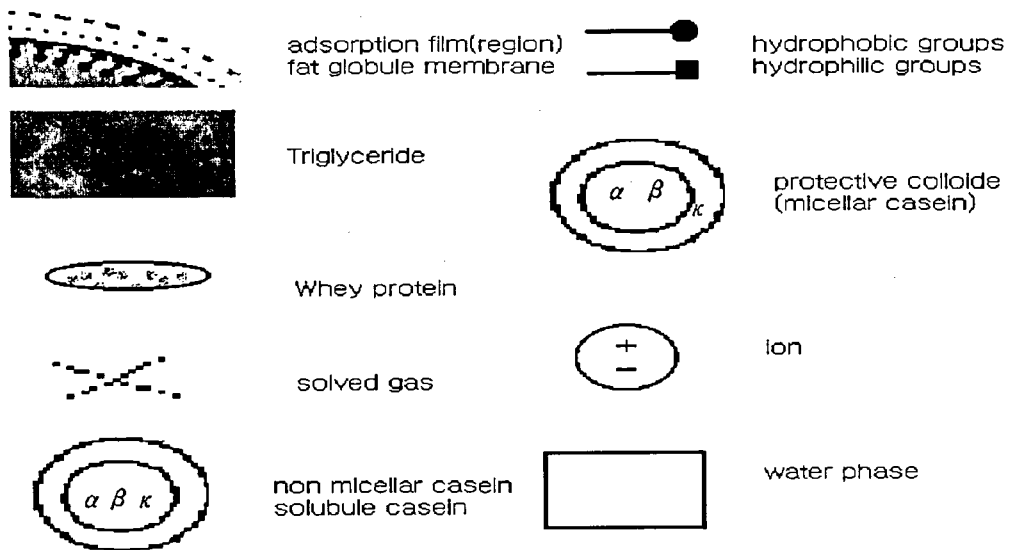
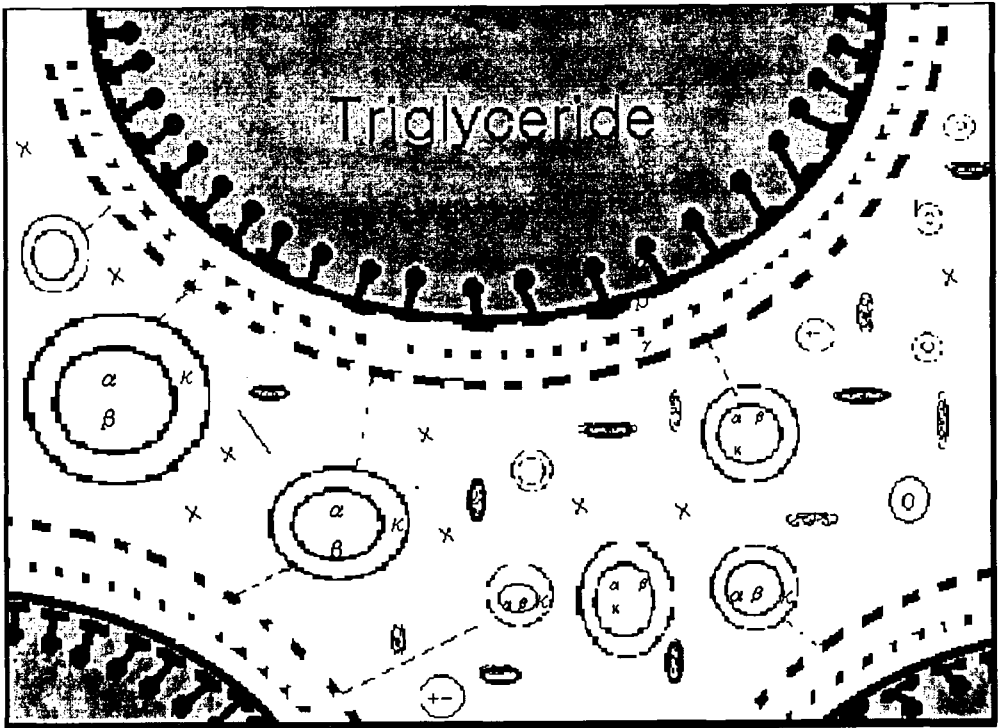


Fig. 4. Suspension of milk.

투명화 이론은 다음과 같다. 지방은 지방구로 되었고 유화제의 소수성부위가 중성지방에 박혀있고 친수성부위가 밖으로 노출되어 유화된 상태로 되었다. (O/W) 지방구의 피막은 인지질과 여러 효소를 함유하고 있다. 이 부위가 시료 전처리시 지방을 제거할때 효소도 제거되어 정량을 어렵게 하는 것이다. 지방구피막과 중성지방이 모두가 분해되어 용액이 됨으로 투명해지는 것이다. 한편 Micellar casein은 표면이 심하게 수화되어 거대한 입자로 물에 κ -casein은 보호 Colloide 역할을 하여 표면이 심하게 수화되어 안정한 분산을 이루고 있다. Triton은 계면활성제로 단백질들의 용해도를 증가 시키고 SDS와 EDTA NaOH와 협조하여 casein 분산 시켜 단량체(monomer)로 나누어지기 때문에 광선이 투과 될수있는 것이다. 기타 유청단백질들은 가시광선의 투과를 방해하지 않는다. (Fig. 4, Fig. 5)

IV. 적 요

우유는 유화나 colloid 상태 때문에 우유의 다양한 정량을 위해서는 투명화 이용이 대단히 유용하다. 지방구 butanone에 의하여 분산될 수 있고 casein 복합체는 우유내에서 동시에 SDS 와 NaOH의 작용의 도움으로 Triton 작용에 의하여 단량체로 분해될수 있는데 왜냐하면 butanone은 양친매성이고 물에 섞일수 있는 용매이기 때문이다. 용매 배합비율 T:B/8:2 와 T:B/9:1을 제외하고 모든 비율들이 각종 유제품을 투명화시킬수 있다.

용매가 세포와 접촉생장이 억제됨에도 불구하고 이배합은 균수 측정에 사용될수있는데 왜냐하면 세포벽을 공격하지 않기 때문이다. 이러한 이유 때문에 이기술은 원유품질관리, 유대지불, 제품관리, 국가적 낙농 계획 조절에 유용하다.

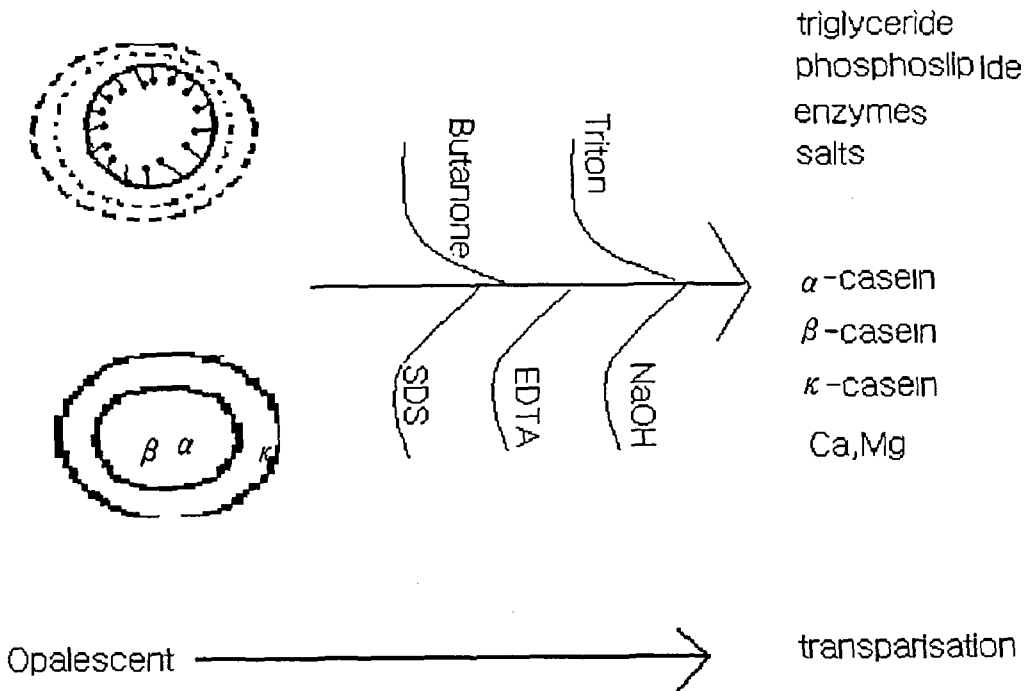


Fig. 5. General view of dissolution for component.

V. 참고문헌

1. 한국낙농공학 연구센터편 (1993년). 낙농식품가공학 선진문화사
2. G. LINDEN, R. KOUOMEGNE, M. F. GUINGAMP ET G. HUMBERT(1986). Reactif pour la transpiration de milieux biologiques et ses application analytiques. l'Europe (n° 87.4011479), Canada(n° 537693), U.S.A.(n° 052390), Nouvelle-Zelande(n° 220398).
3. Lucie Serres(1973). MINISTERE DE L'AGRICULTURE . DIRECTION DES SERVICES VETERINAIRES. CONTROLE DE LA QUALITE DES PRODUITS LAITIERS. TOME 11 ANALYSE MICROBIOLOGIQUE ET ANALYSE SENSORIELLE
4. Lee Bou Oung(1981). ETUDE BIOCHIMIQUE DE LA FONTE DES FROMAGES. DOCTEUR d'ETAT ES SCIENCE, UNIVERSITE DE NANCY-1, NANCY, FRANCE