



우유의 열처리 및 저장 조건에 따른 Lactulose의 함량 변화

김철현 · 백승천 · 정운현

서울우유기술연구소

Changes of Lactulose Content during Heat Treatment of Milk

Cherl-Hyun Kim, Seung-Chun Baick and Woon-Hyun Chung

Institute of Dairy Foods Research, Seoul Dairy Co-operative

Abstract

The aim of this work to determine the formation of lactulose during heat treatment process as a contribution to the establishment of limits of chemical indicators for different types of heat processed milk and analyze of lactulose for the reconstituted milk added samples. The HTST(75°C/15s) and UHT(130°C/2~3s) treatment realized with a pilot plant and heat-treated samples were stroed at 4, 10, 30°C for 4 weeks. Changes in lactulose was evaluated at 7 days intervals. The other heat treatment was sealed in glass tube and heated at 75°C for 10 to 120s and heated at 130°C for 2 to 60s in a thermostatically controlled constant temperature bath of glycerol. The reconstituted milk was made with full fat dry milk that reconstituted with deionized water to 10% total solid, and was added to milk at 10, 20, 30% respectively. The samples processed with a HTST pilot plant showed that lactulose was contained at 1.47~1.52mg/100ml and 8.19~8.32mg/100ml for UHT-treated samples. Changes in the lactulose content of heat-treated samples during storage at 4 and 10°C for 4 weeks caused a slight increase, however a noticeable increase was observed at 30°C for 4 week. The glass tube samples showed that high correlations between relative increase in content of lactulose and increasing processing times(75°C: r = 0.986, 130°C: r = 0.987, respectively). Added with reconstituted milk would cause a increase of the lactulose content linear with increasing addition amount(r = 0.982). This results observed for lactulose in commercial milk samples would applied to the detection of chemical changes during heat treatment and illegal use of reconstituted milk.

Key words : lactulose, chemical indicator, heat treatment, HPLC method

서 론

우유의 열처리온도가 상승하면 열에 의한 화학적 변화보다 미생물의 사멸효과가 더욱 빨리 증가하게 되며 이로 인해 시유의 품질관리 기준은 주로 미생물학적 측면에서 이루어져 왔다. 그러나 이러한 미생물학적 방법은 과도한 열처리온도나 시간에 따른 우유의 화학적 품질변화를 판단할 수 없게 된다. 따라서 선진국에서는 이러한 열처리에 따른 우유의 품질변화를 좀 더 과학적으로 규명하고 이를 지표로 설정하기 위해 여러 방법들이 연구되어 왔다(Geier와 Klostermeyer,

1983; Schaafsma, 1989; IDF, 1991; Pellegrino 등, 1995). 우유의 열처리 정도에 따라 유당의 일부가 유기산으로 전환되는 양이 다르게 나타나며 alkaline phosphatase와 lactoperoxidase 등과 같은 효소의 불활성화정도(Pellegrino 등, 1995), 비타민의 소실(Hewedy 등, 1994), HMF(Hydroxymethylfurfural) 생성량 및 β-lactoglobulin의 변성정도(Akalin과 Gonc, 1997) 등이 우유의 열처리 정도를 반영할 수 있는 지표물질들로 보고되어 왔다. 그러나 비타민이나 다른 유성분의 경우 기존의 함량에서 손실되는 양으로 평가하여야 하기 때문에 외부변수가 많아져 재현성이 떨어지게 된다. Lactulose(4-O-β-D-galactopyranosyl-D-fructofuranose)는 열처리된 우유에 유리 lactulose와 유단백질의 amino group이 공유결합된 ε-N-deoxylactulosesyl-L-lysine 등의 두 가지 형태로 나타난다(Andrews, 1989). 일반적인 UHT살균우유에서는 lactulose의 함

Corresponding author : S. C. Baick, Institute of Dairy Foods Research, Seoul Dairy Co-operative, 1059, Shingil-dong, Ansan city, Kyunggi-do, Korea. Tel: 82-31-491-3867, Fax: 82-31-491-9179. E-mail: baicksc@seoulmilk.co.kr

량이 극히 미량 생성되며 열처리 온도와 시간이 상승함에 따라 생성되는 lactulose의 함량이 다르게 나타나 이를 구별하는데 적절히 이용할 수 있는 열처리 지표로서의 가능성이 매우 높은 것으로 보고되고 있다(Pellegrino 등, 1995; De Rafael 등, 1997; Akalin과 Gonc, 1997).

따라서 이 연구는 열처리온도와 시간에 따른 시유의 품질 변화를 최소화하기 위한 적정 품질관리지표를 설정하는데 필요한 기초 자료를 제공하기 위해 열처리방법 및 시간에 따른 lactulose의 생성에 관해 실험하였다.

재료 및 방법

시료의 제조

시료는 서울우유협동조합에서 수유한 silo 탱크내 원유를 채취하여 사용하였으며, 열처리는 살균기(APV, Denmark)를 이용하여 UHT(130°C/2~3초)와 HTST(75°C/15초)로 처리하였고, UHT처리시 예열은 85~90°C/30초간 실시하였다. 여기서 얻어진 시료는 각각 4, 10, 30°C에서 저장하며 1주일 간격으로 4주간 저장하면서 lactulose의 생성량을 측정하였다. 그리고 열처리온도 및 시간에 따른 생성량 변화를 측정하기 위하여 oil bath를 이용하여 glass tube(Pyrex, U.S.A., 10×150 mm)에 원유를 각각 5ml씩 넣은 후 Table 1에 제시된 바와 같이 열처리하고 냉각수를 이용하여 신속히 냉각한 후 lactulose의 생성량을 측정하였다. 또한 전지분유를 이용해 총 고형분 함량이 10%인 환원유를 제조하여 원유에 각각 10, 20, 30%의 농도로 첨가한 후 glycerol bath를 이용하여 130°C/2~3초간 열처리하고 환원유의 첨가량에 따른 lactulose 생성량을 측정하였다.

HPLC에 의한 lactulose 정량분석

1) 표준농도곡선 작성

표준시료는 lactulose(Sigma Chem. Co., U.S.A.)를 각각 1,

Table 1. Processing conditions of heat-treated milk samples in oil bath

Temperature(°C)	Holding time(s)
75	10
	30
	60
	120
130	2
	10
	30
	60

Table 2. Instrument and operating conditions of HPLC for the analysis of lactulose

· Detector	R.I.
· Column	Benson carbohydrate BC-100, 300×7.8mm, sulphonic ion exchanger in the lead form (Benson Polymeric, INC., U.S.A.)
· Mobile phase	water
· Flow rate	0.4ml/min.
· Temp.	90°C
· Injection Vol.	20 µl

10, 100mg/100ml의 농도로 조제하여 얻어진 면적값에 의한 RI를 통해 표준곡선의 기울기 값을 검정하여 표준농도로 하였으며 HPLC의 분석조건은 Table 2에 제시된 바와 같다.

2) 시료의 전처리

시료의 전처리는 IDF(1991)에 제시된 방법에 따라 다음과 같이 실시하였다. 전처리 시료는 zinc acetate dihydrate(Sigma Chem. Co., U.S.A.) 91g과 phosphotungstic acid 24 hydrate 54.6g 및 glacial acetic acid(Sigma Chem. Co., U.S.A.) 58.1ml를 첨가하고 증류수를 이용하여 1ℓ로 정용하여 사용하였다. 전처리는 우유 15ml에 증류수 20ml를 첨가하고 전처리 시료 5.5ml를 첨가한 후 다시 증류수를 첨가하여 50ml로 정용한 후 충분히 혼합하였다. 이것을 1시간 실온에서 방치한 후 4,000rpm/10분간 원심분리(J2-21 M/E, Beckman Co., U.S.A.)하여 얻어진 단백질과 지방이 제거된 상정액을 0.45 µm syringe filter로 여과한 후 HPLC에 주입하였다.

결과 및 고찰

살균기를 이용한 UHT 및 HTST 처리시 저장 중 lactulose의 생성

살균기를 이용한 UHT 및 HTST 처리시 저장 중 lactulose의 생성량의 차이는 Fig. 1과 2에 나타난 바와 같다. 최초 열처리시 생성되는 lactulose의 함량이 HTST는 1.5mg/100ml, UHT는 8.3mg/100ml로 각각 나타났으며, 저장기간 중의 변화는 두 처리구 모두에서 증가하는 것으로 나타났으나 4와 10°C 저장시에는 매우 완만한 증가를 보였고, 30°C에서 저장 기간에 따른 lactulose의 생성량이 더욱 높게 나타났다. Pellegrino 등(1995)은 UHT 처리된 멸균시유의 경우 유당의 카보닐기(carbonyl residues)와 유단백질의 아미노기 간의 amino-carbonyl반응에 의한 Maillard 반응은 저온에서 60일간 저장하였을 때에도 일어나지만, 유당의 이성체화(isome-

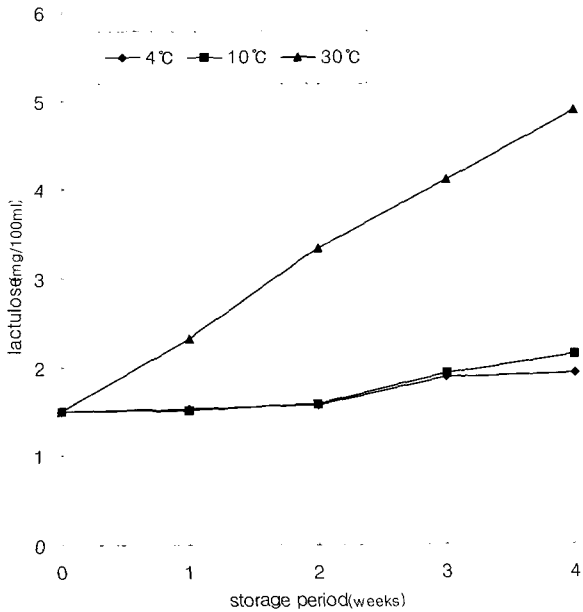


Fig. 1. Changes of lactulose content in HTST treated milk during storage at various temperature.

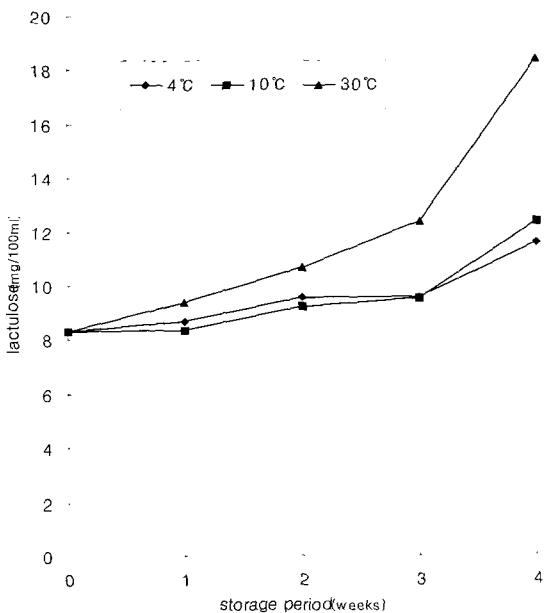


Fig. 2. Changes of lactulose content in UHT treated milk during storage at various temperature.

ization)는 저온에서는 극히 적게 나타나고 주로 30~35°C에서 나타난다고 하였으며 Akalin과 Gonc(1997)도 유사한 결과를 보고하였다. 이에 따라 이 실험에서도 30°C 저장시 생성량이 높게 나타난 것은 Maillard 반응에 의한 생성보다는 저장온도에 따른 유리 lactulose의 생성에 기인한 것으로 사료된다.

열처리시간에 따른 Lactulose의 생성

Glycerol bath를 이용하여 HTST 및 UHT온도에서 시간을 각각 달리하여 열처리 하였으며 결과는 Table 3과 4에 나타난 바와 같다. 열처리 후 최초 함량이 소형살균기 처리구보다 약 0.1~1.0mg/100ml 높게 나타났으며, HTST 및 UHT의 경우 각각의 처리구에서 열처리시간에 따른 lactulose의 생성량 간에 각각 $r=0.986(P<0.001)$, $r=0.987(P<0.001)$ 으로 고도의 정의 상관관계를 보이며 지속적으로 증가하는 것으로 나타났다. Hewedy 등(1994)은 lactulose와 furosine의 생성량이 열처리 온도와 가장 높은 상관관계($r=0.986$)를 갖는 것으로 보고하였으며, Montilla 등(1996)도 이 결과와 마찬가지로 시유의 열처리시 생성되는 lactulose와 furosine 생성량간에는 매우 높은 상관관계($r=0.910\sim0.993$)를 가지므로 이들간의 상관관계를 이용하여 시유의 품질관리 지표로 설정하여야 한다고 보고하였다. 이러한 높은 재현성으로 인해 IDF(1991)에서는 UHT처리된 병장우유의 열처리 정도를 판별하는데 있어 lactulose의 생성율과 β -lactoglobulin의 손실을 지표로 할 것과 이에 따른 UHT시유의 lactulose함량을 60mg/100ml 이하로 제한할 것을 권고하였다. 또한 살균기 처리구보다 glass tube에서 열처리된 시료의 lactulose함량이 약 0.1~

Table 3. Lactulose formation during heat treatment at 75 °C

Temperature(°C)	Time(s)	Lactulose(mg/100ml)	
		Mean	SD ¹⁾
130	2	9.290 ^{d2)}	±0.062
	10	11.433 ^c	±0.344
	30	18.450 ^b	±1.067
	60	26.603 ^a	±1.495

¹⁾ Standard deviation(n=3).

²⁾ Means with the same letter are not significantly different (P<0.001).

Table 4. Lactulose formation during heat treatment at 130 °C

Temperature(°C)	Time(s)	Lactulose(mg/100ml)	
		Mean	SD ¹⁾
75	10	1.613 ^{d2)}	±0.031
	30	1.917 ^c	±0.025
	60	2.237 ^b	±0.125
	120	2.960 ^a	±0.066

¹⁾ Standard deviation(n=3)

²⁾ Means with the same letter are not significantly different (P<0.001)

1.0mg/100ml 높은 것으로 나타났으나 이러한 결과는 열처리 방식에 따른 것으로 생각된다.

Andrew(1984)에 의하면 살균기와 capillary tubing을 이용한 UHT처리시 열처리방법에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 capillary tubing을 이용하였을 경우 lactulose의 생성량이 일부 높게 나타난 것으로 보고하였다. 또한 이러한 열처리방식 이외에도 다른 여러 조건들에 의해 lactulose의 생성량은 영향을 받게 되며, Montilla와 Olano(1997)는 단백질 함량이 높을수록 유당과의 maillard 반응성이 높아져 lactulose의 생성량이 증가하며, Pellegrino(1994)는 지방함량이 낮을수록 lactulose 생성량이 증가하였고 이는 지방에 의한 열전도율의 차이에서 기인한 것으로 보고하였으며, Olano와 Calvo(1989)는 열처리온도가 상승할수록 galactose의 생성량이 증가한 것으로 보고하였다.

환원유 첨가에 따른 Lactulose의 생성

원유에 환원유 첨가량을 달리하여 UHT처리 후 lactulose의 함량을 측정하였으며 결과는 Table 5에 나타난 바와 같다. 환원유의 함량이 증가함에 따라 lactulose의 함량은 지속적으로 증가하며 매우 높은 상관관계($r=0.982$, $P<0.001$)를 나타내었다.

Corzo 등(1994)은 탈지유로 제조된 환원유가 UHT처리된 시유에서보다 lactulose의 함량이 정량적으로 높게 나타났으며, 이때 분유제조 공정에 따라 환원유내 함량도 차이가 나는 것으로 보고하였다. 또한 김(1992)은 환원유를 검출하기 위한 여러 지표에 대한 방법에 관한 실험을 하였으나 높은 상관관계를 가진 방법은 얻지 못한 것으로 보고하였다. Montilla 등(1996)은 환원유의 비정상적인 첨가를 제한하는데 있어 lactulose와 furosine의 생성비를 확인하는 방법이 유효한 것으로 보고하였다. 이 실험결과 환원유를 첨가한 처리구에서도 첨가수준에 따른 lactulose의 함량이 정량적으로 명확히 검출되었으므로 향후 모조시유 또는 환원유 첨가 시유

등의 검출에 유효할 것으로 사료된다.

요 약

시유의 적정품질관리 지표를 설정하기 위하여 열처리에 따른 lactulose의 생성에 관해 실험하였으며 결과는 다음과 같다. 살균기를 이용하여 HTST 및 UHT로 처리하여 4, 10, 30℃에서 각각 4주간 저장하며 lactulose의 함량변화를 측정 한 결과 모든 처리구에서 저장기간에 따라 지속적으로 증가 하였으나, 4, 10℃에서는 최초 1.5mg/100ml에서 저장 4주째 1.93mg/100ml 및 2.14mg/100ml으로 미량 증가하였으며 30℃에서는 저장 4주째 4.88mg/100ml으로 생성량이 높게 나타났다. 또한 glycerol bath를 이용하여 75℃에서 10~120초, 130℃에서 2~60초간 열처리하고 시간에 따른 함량변화를 측정 한 결과 각 처리구에서 열처리시간과 lactulose의 증가량간에는 매우 높은 상관관계를 나타내며(75℃: $r=0.986$, $P<0.001$; 130℃: $r=0.987$, $P<0.001$) 지속적으로 증가하였다. 또한 전지환원유의 첨가량을 달리하여 UHT처리 후 lactulose 함량을 측정 한 결과 환원유 첨가량과 함량의 증가간에는 높은 상관관계($r=0.982$, $P<0.001$)를 나타내었다. 따라서 현재 미생물학적 방법에 의존하고 있는 시유의 품질관리를 좀더 효율적으로 명확히 하기 위해서는 열처리 방법 및 시간과 매우 높은 상관관계를 가지는 화학적 품질관리 지표의 도입이 필요한 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Akalin, A. S. and Gonc, S. (1997) Lactulose and 5-HMF contents in market milks. *Milchwissenschaft*, **52**(7), 377-380.
2. Andrews, G. (1984) Distinguishing pasteurized, UHT and sterilized milks by their lactulose content. *J. Society of Dairy Tech.*, **37**, 92-95.
3. Andrews, G. (1989) Lactulose in heated milk. *International Dairy Federation, Bulletin* **238**, 45-49.
4. Corzo, N., Delgado, T., Troyano, E. and Olano, A. (1994) Ratio of lactulose to furosine as indicator of quality of commercial milk. *J. Food Prot.*, **57**(8), 737-739.
5. De Rafael, D., Villamiel, M. and Olano, A. (1997) Formation of lactulose and furosine during heat treatment of milk at temperatures of 100~120℃. *Milchwissenschaft*, **52**(2), 76-78.
6. Geier, H. and Klostermeyer, H. (1983) Formation of lactulose during heat treatment of milk. *Milchwissenschaft*, **38**(8), 475-477.
7. Hewedy, M. M., Kiesner, C. Meissner, K. Hartkopf, J. and Erbersdobler, H. F. (1994) Effects of UHT heating of milk in an experimental plant on several indicators of heat treatment. *J. Dairy. Res.*, **61**, 305-308.
8. International Dairy Federation (1991) Heat treated milk-Determination of lactulose content. High performance liquid chromatography (reference method). *International IDF standard*, **147**, 621-623.

Table 5. Effect of reconstituted milk content on the lactulose formation

Temperature(℃)	Added amount(%)	Lactulose(mg/100ml)	
		Mean	SD ¹⁾
130	0	9.290 ^{d2)}	±0.062
	10	10.101 ^c	±0.327
	20	12.340 ^b	±0.392
	30	13.693 ^a	±0.287

¹⁾ Standard deviation(n=3).

²⁾ Means with the same letter are not significantly different ($P<0.001$).

9. Montilla, A., Calvo, M. M., Santa-Maria, G., Corzo, N. and Olano, A. (1996) Correlation between lactulose and furosine in UHT-heated milk. *J. Food Prot.*, **59**(10), 1061-1064.
 10. Montilla, A., and Olano, A. (1997) Effect of the protein content and dilution on the lactulose/furosine ratio in heat treated milk. *Milchwissenschaft*, **52**(9), 506-507.
 11. Olano, A. and Calvo, M. M. (1989) Kinetics of lactulose, galactose and epilactose formation during heat treatment of milk. *Food Chem.*, **34**, 239-248.
 12. Parris, N., White, A. E. and Farrel Jr., H. M. (1990) Identification of altered proteins in nonfat dry milk powder prepared from heat treated skim milk. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 824-829.
 13. Pellegrino, L. (1994) Influence of fat content on some heat-induced changes in milk and cream. *Neth. Milk & Dairy J.*, **48**, 71.
 14. Pellegrino, L., De Noni, I. and Resmini, P. (1995) Coupling of lactulose and furosine indices for quality evaluation of sterilized milk. *Int. Dairy J.*, **5**, 647-659.
 15. Schaafsma, G. (1989) Effects of heat treatment on the nutritional value of milk. *International Dairy Federation, Bulletin* **238**, 68-70.
 16. 김용기 (1992) 환원유가 첨가된 모조시유 검출에 관한 연구. 서울대학교 석사학위 논문.
-

(2001년 8월 30일)