

加熱乳의 檢出法

이부웅 · 허문영 · 장운기 · 김태화
전북대학교 농과대학 축산학과

Detection Method of Heated Milk

Bou-Oung Lee, Wen-Ying Xu, Oun-Ki Chang and Tai-Hua Jin
Department of Animal Science, Chonbuk National University

ABSTRACT

For the detection of heated milk, heated milk is possible to decide by use of various methods for example, rennet coagulation, scanning electron microscope, determination of SH radical, electrophoresis, spectrometry to 340nm. Among the above method, rennet coagulation time is frequently used because of simple and rapid. Heated milk to above 70 degree is possible to detect by use of rennet coagulation time. In future, it should more develop method which can be detect the heated milk on thermization of around 55 degree.

It may be deviate the normal range by one test item in the detection of adulteration. For this case, skimming, water and salts addition can detect but in normal range, analysis of another items also should synthetically be side by side and detect, and it is necessary to detect adulteration.

(Key words : Milk, Heated milk, Detection method, Rennet coagulation)

I. 서론

유대 지분 체계를 위한 원유 품질 평가에서 미생물학적 품질의 평가는 대단히 중요하다. 원유의 미생물학적 품질은 최종 제품의 안정성뿐만 아니라 제품의 품질에서도 주요한 요인이 되므로 총균수와 유대 지분간에 중요한 관계가 있다. 이러한 이유 때문에 낙농가들이 목장에서 총균수를 줄여 등급을 높이 받을 목적으로 가열하는 것을 막기 위한 방법으로 가열한 우유를 차단할 필요가 있다. 본 연구에서는 낙농가의 가열문제를 신속 정확하게 확인하기 위하여 가열 후

rennet 응고성이 감소되는 원리를 이용하여 rennet 응고시간을 측정하여 이를 근거로 가열유 판정 기준치를 얻었다. 그리고 가열유에서 rennet 응고성의 원유의 첨가 효과를 알아 보았고 이외 참고적으로 각종 시판 살균, 멸균유들의 renneting에서 응고성 회복에 소요되는 CaCl_2 량으로서 열처리 정도를 알아보았다.

II. 재료 및 방법

1. Rennet 응고성 이용법

가열유를 검출하기 위하여서는 우유의 성분 중 열에 가장 예민한 micell 狀 casein의 chymosine 감수성을 이용하는 것이다. 이 방법을 위하여서는 표준기질의 제조가 필요하다. 사실상 감수성은 개체마다 차이가 있기 때문에 정상적인 원유 표준 평균 기질 활성도를

Corresponding author : Wen-Ying Xu, Department of Animal Science, Graduate School, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea. Tel:+82-63-270-3984, Fax:+82-63-272-2612, E-mail : xwy_72@hanmail.net.

위해 표준우유가 제조되어야 한다.

1) 표준우유의 제조

30頭 이상의 정상 의 착우유에서 一日 우유를 잘 섞어 탈지한 후 동결건조한다. 10% 탈지 분유 용액을 표준물질로 하였다.

2) 70~100℃ 가열유의 제조

목장에서 착유한 원유를 flask에 넣어 온도계가 달린 고무마개를 막고 가볍게 흔들어 주면서 ±0.5℃ 변화 범위 내에서 가열하였다.

3) Rennet 용액 제조

Alais의 방법(1976)에 의하여 rennet 용액의 역가가 240이 되게 용액을 제조하였다.

4) Rennet 응고시간의 측정방법

원유 9ml에 3에서 제조한 rennet 용액을 1ml 첨가하여 Sommer 방법(1935)으로 35℃의 water bath에서 시험관을 회전하면서 벽에 얇은 응고막의 형성을 눈으로 관찰하여 그 시간을 측정하였다.

5) Ca의 첨가 효과

Ca의 첨가로 응고 회복시간을 측정할 때에는 시료 유 9ml에 0.1M CaCl₂ 용액을 0.1~0.5ml를 넣고 H₂O로 총 9.5ml를 하고 역가 240의 두 배의 농도가 되는 rennet 용액 0.5ml를 넣은 후 Sommer 방법(1935)으로 응고시간을 측정하였다.

6) 신선 정상 원유 첨가의 효과

70~100도 가열유에 신선 정상 원유 100~300ml를 첨가하여 총 1,000 ml가 되게 하고 1M CaCl₂ 용액을 1,000μl를 첨가하여 24시간 정치 후 9ml를 채취하고 거기에 3에서 제조한 rennet 용액 1ml 첨가하여 Sommer 방법(1935)으로 응고시간을 측정하였다.

2. 전자현미경법 (SEM)

시료를 2.5% Glutaldehyde로 前 고정을 한 후 slide glass 위에서 건조한 다음 1% OsO₄으로 後 고정시키고 치환, 탈수 과정을 거쳐 JFC-1100 Eion sputter를 사용하여 20 kV 전압으로 5분 동안 gold coating한 후 주사 전자현미경용 시료로 사용하였다. Gold coating된 시료

는 JEOL 회사제품 JSM-6400과 ISI 130의 주사전자현미경으로 가속전압 20kV 하에서 관찰하였다.

3. 가열유의 전기영동적 관찰법

시료 우유를 pH 4.6 buffer로 casein과 유청을 분리하여 시료로 하였다. 준비된 시료 중 casein은 20mg을 sample buffer 1ml에 녹이고, 유청은 sample buffer과 1:1로 희석하고 이 시료들을 가지고 SDS-PAGE를 실시하였다. Gel은 15% polyacrylamide gel에 loadinghks 후 전기영동장치(Eido, 일본)에서 3시간 전기영동하였다. 염색은 Coomassie blue R-250 용액으로 실시하였으며 탈색은 ethanol과 acetic acid를 용액으로 실시하였다.

4. 투명화 시약을 이용한 340nm 흡광도 측정법

시료 우유를 물과 1:1로 희석하여 1.5ml 채취한 후 투명화 시약 2.5ml 넣어서 잘 혼합되게 흔들어 주고 37℃에서 8분간 방치한 후 A₃₄₀에서 20분 내에 OD를 읽었다.

5. SH기 정량법

시료우유를 물과 1:1로 희석하여 0.5ml 채취하였다. 여기에 8M urea buffered solution (0.03M borate buffer, pH8.5, boric acid) 1ml, 0.4% DTNB 용액(0.2M EDTA pH 6 용액으로 제조) 0.5ml 넣은 후 잘 혼합해 주었다. 그리고 실온에 5min 방치한 후 0.5ml 0.2M EDTA(pH6)를 첨가하여준 후 2ml 투명화 시약을 넣었다. 37℃에서 5분 방치한 후 A₄₁₂에서 20분 내에 OD를 읽었다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. Rennet 응고성 이용법

유대 지분 체계를 위한 원유 품질 평가에서 미생물학적 품질의 평가는 대단히 중요하다. 원유의 미생물학적 품질은 최종 제품의 안정성뿐만 아니라 제품의 품질에서도 주요한 요인이 되므로 총균수와 유대 지분간에 중요한 관계가 있다. 이러한 이유 때문에 낙농가들이 목장에서 총균수를 줄여 등급을 높이 받을 목적으로 가열하는 것을 막기 위한 방법으로 가열한 우

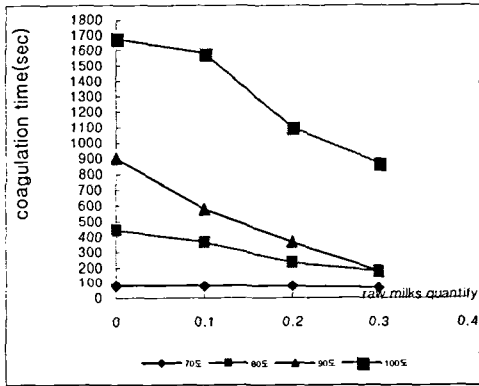


Fig. 1. Changes of rennet coagulation time according to added raw milk in heated milk (CaCl_2 : 0.0009M).

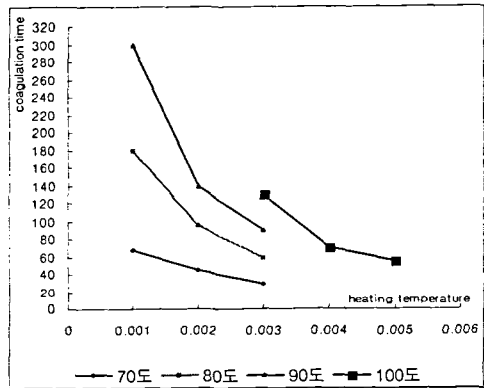


Fig. 4. Changes of rennet coagulation time according to quantity of CaCl_2 in heated milks.

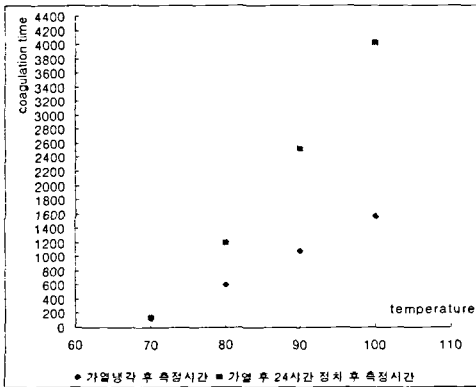


Fig. 2. Rennet coagulation time of heated milk at 70°C, 80°C, 90°C and 100°C.

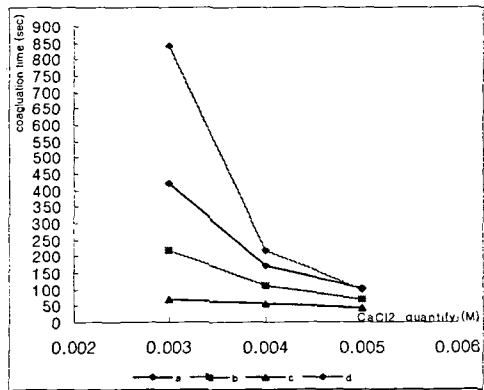


Fig. 5. Changes of rennet coagulation time in market UHT milk.

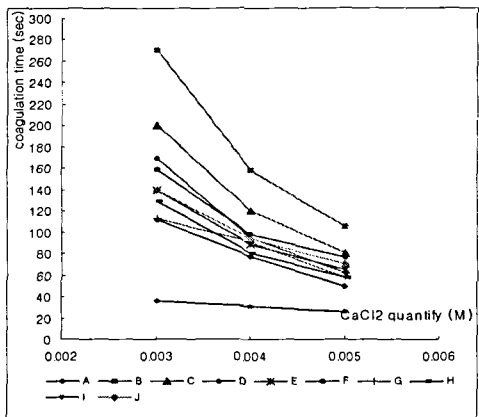


Fig. 3. Changes of rennet coagulation time according in market milk.

유를 차단할 필요가 있다. 본 연구에서는 낙농가의 가열문제를 신속 정확하게 확인하기 위하여 가열 후 rennet 응고성이 감소되는 원리를 이용하여 rennet 응고시간을 측정하여 이를 근거로 가열유 판정 기준치를 얻었다.

70~100°C에서 30분간 가열유의 판정은 가열처리 온도가 상승함에 따라 rennet 응고시간이 길어지고 열처리시간이 길어짐에 따라 응고시간도 길어진다(Fig. 1).

70~100°C 가열유에 0.0009M의 CaCl_2 존재 하에 원유를 첨가하여 rennet 응고성의 회복은 70~90°C에서는 원유 첨가에 의해 회복이 되지만 그 효과는 없다고 할 수 있으며 100°C 가열유에서는 신선원유를 30%까

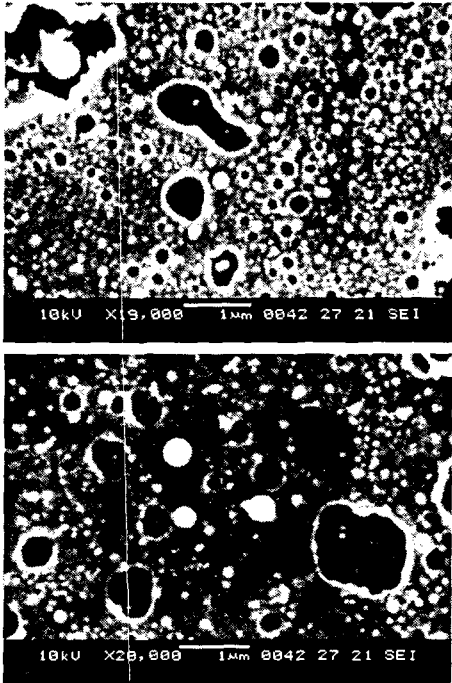


Fig. 6. 원유의 전자현미경사진

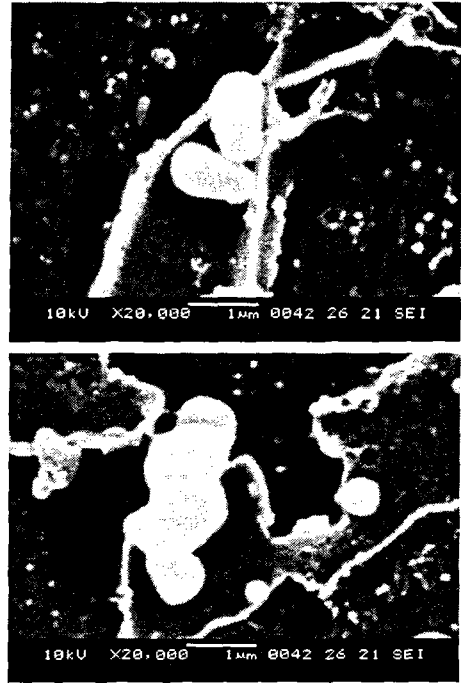


Fig. 8. 100°C/30분 가열유의 전자현미경 사진

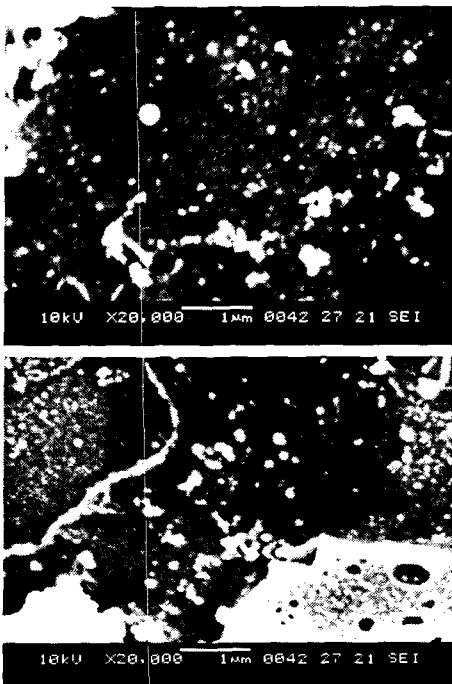


Fig. 7. 80°C/30분 가열유의 전자현미경 사진

지 첨가하면 회복이 나타나기 때문에 신선 원유의 효과가 인정된다(Fig. 2).

시판 우유에 대한 rennet 응고성을 측정하여 보았는데 CaCl_2 를 첨가하면 그 농도의 증가에 따라 rennet 응고성이 회복되는 것을 알 수 있었다(Fig. 4, Fig. 5).

2. 전자현미경법 (SEM)

가열유에서는 여러 입자들이 엉켜 있는 것들을 관찰할 수 있으나(Fig. 7; Fig. 8) 원유의 경우 크고 작은 입자들은 단독으로 있는 상태일 뿐 엉켜있는 것들은 전혀 관찰되지 않았다(Fig. 6). 그러므로 SEM법으로도 가열유를 검출할 수 있다.

3. 가열유의 전기영동적 관찰

가열유의 전기영동적 양상을 보면 가열처리를 90°C 이상을 했을 때 β -Lg이 사라지는 것을 볼 수 있다. 이것은 가열시 κ -casein과 β -Lg이 S-S 결합을 하여 복합체를 형성하기 때문이다. 이런 양상으로 인해 열처리 유무를 판정할 수 있다.

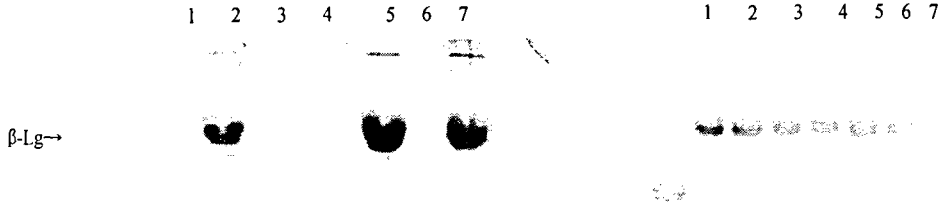


Fig. 9. Sample의 casein의 전기영동

Fig. 10. β -Lg의 전기영동

1; 원유, 2; 70°C/30min, 3; 90°C/30min, 4; 100°C/30min, 5; 70~75°C/15sec, 6; 135°C/2sec, 7; 137°C/3sec

Table 1. 가열유 투명화처리 Sample들의 340nm에서 흡광도

Sample	원유	70°C/30분	80°C/30분	90°C/30분	100°C/30분	A 130~135°C/2s	B 137°C/3s	C 140°C/3s
340nm OD	2.557	2.655	2.566	2.525	2.879	2.93	2.902	2.882

Table 2. 투명화 시약을 이용한 -SH기 정량

Sample	원유	70°C/30분	80°C/30분	90°C/30분	100°C/30분	A 130~135°C/2s	B 137°C/3s	C 140°C/3s
412nm OD	0.192	0.200	0.206	0.187	0.182	0.250	0.234	0.256

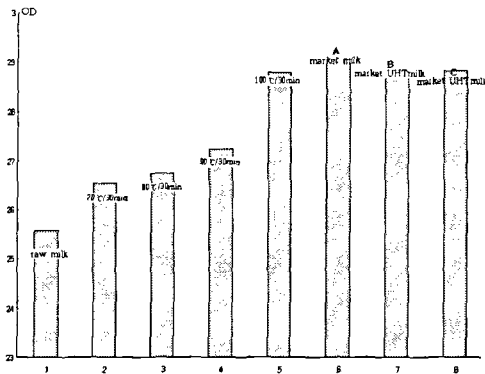


Fig. 11. Absorbance of heated milks at 340nm.

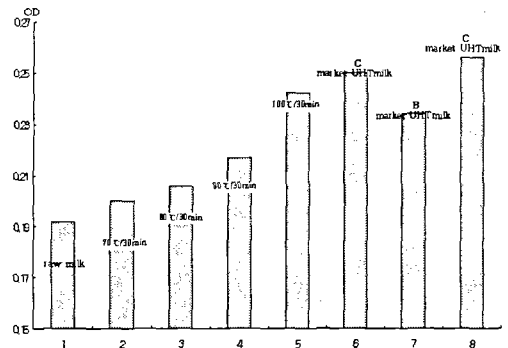


Fig. 12. Determination of sulphydryl residue for raw and heated milks.

4. 투명화 시약을 이용한 340nm에서 가열유 검출
표 1을 보면 원유나 90°C의 가열유의 흡광도 OD값

은 별로 차이가 없으나 100°C 이상의 가열유 경우 흡광도를 원유와 비교하였을 때 현저한 것으로 나타나 비교적 높은 온도에서 가열한 우유들의 검출은 가능

하다. 즉 원유와 100℃ 이상의 높은 온도의 가열유는 감별할 수 있다.

5. SH기 정량

투명화 시약을 이용한 -SH기 정량법으로도 단 원유와 고온 살균/멸균유의 구별이 가능하였다. 부동한 온도 처리유를 투명화 시키는 데의 투명화시약의 구성이 달라야 한다고 생각된다. 앞으로도 더 연구할 가치가 있다.

IV. 요약

가열유는 rennet 응고성, 전자현미경법, -SH기 정량, 전기영동적 관찰법, 340nm에서 흡광도 측정법 등 여러 가지 방법에 의하여 판정이 가능하나 간편성, 신속성으로 보아 rennet 응고성 이용이 가장 돌출하다. 70도 이상의 가열유는 rennet 응고성을 이용하여 판정이 가능하다. 앞으로 55℃ 부근의 예열 수준도 검출할 수 있는 방법이 더 개발되어야 한다.

V. 참고문헌

1. Alais, C. 1976. Science du lait. SEPAIC Ed. Paris.
2. Harding, F. 1995. Milk quality. xiii + 166pp. ISBN 0-7514-0354-7. many ref.
3. Humbert, G. 1976. Effets des traitement thermiques sur les proteines et les equilibres physicochimiques du lait. La sterilisation par friction. These, Universite de Nancy I, France.
4. Laporte, M. F. and Paquin, P. 1998. Near-infrared technology and dairy food products analysis: a review. *Seminars- in-food-Analysis*, 3(2):173-190.
5. Lidong, F. 1992. Food quality control. Adulteration of farm milk in China. *Food-Laboratory-News*, 8(1):39-42.
6. Lipp, M. 1995. Review of methods for the analysis of triglycerides in milk fat: application for studies of milk quality and adulteration. *Food-Chemistry*; 54(2):213-221.
7. Russell, P. 1997. Antibiotic detection reviewed. *Milk-Industry, -International*; 99(4):16-18.
8. Sommer, H. H and Matsen, H. 1935. The relation of mastitis to rennet coagulability and curd strength of milk. *J. of Dairy Science*. 18:741.
9. Wilkins, B. A. 1993. Mastering milk quality basics of dairy sanitation. *Dairy, -food-and-Environmental-Sanitation*: 13(1):11-12.
10. Vogelauer, R. 1992. Quality assurance - requirements and measures relating to milk production and collection. *Milchwirtschaftliche - Berichte-aus-den-Bundesanstalten-Wolfpassing-und-Rotholz*; 112, 164-171.
11. 이부웅. 1993. 낙농식품가공학. 선진문화사.