

## Static headspace, purge & trap 및 solid-phase microextraction을 이용한 시판우유의 휘발성 향기성분 분석

김성환\* · 이홍민 · 이기웅 · 장치훈  
남양유업(주) 중앙연구소

### Volatile Flavor Compounds in Commercial Milk by Static Headspace, Purge and Trap, Solid-Phase Microextraction

Sung-Han Kim\*, Hong-min Lee, Ki-Woong Lee, and Chi-Hoon Chang  
Research and Development Center, Namyang Dairy Products Corporation

**Abstract** Volatile flavor compounds in commercial sterilized milk were analyzed and identified by static headspace, purge-and-trap, and solid-phase microextraction (SPME) methods. About 20 volatile compounds were identified by GC/MS, and aldehydes and ketones were the most distinctive and abundant compounds. Static headspace analysis allowed the identification of only the most abundant compounds, such as acetone. Five ketones (acetone, 2-butanone, 2-pentanone, 2-heptanone, 2-nonanone), four aldehydes (2-methylbutanal, pentanal, hexanal, benzaldehyde) and dimethyl sulfide, all of which were responsible for off-flavor in milk, were found by the purge-and-trap and SPME methods. The two methods differed little in their release of these compounds, but they yielded different amounts in the extraction.

**Key words:** flavor compounds, static headspace, purge and trap, solid-phase microextraction, commercial milk

### 서 론

우유는 그 고유의 영양성분으로 건강유지 및 증진을 위해 널리 섭취되는 식품이다. 최근에는 저지방우유, 강화우유, 가공우유의 다양한 종류의 우유가 개발되어 시판되고 있으며, 소비자가 우유를 선택하는 폭이 다양해지고 있다. 이러한 영양적인 면이 우유선택의 중요한 기준이 되기도 하지만, 우유의 향미 역시 우유선택의 중요한 기준이 된다. 우유에는 수백 가지의 유기화합물들이 존재하며, 이 중 몇 가지는 우유의 전체적인 향미를 특징짓는 향기성분으로 작용한다. 우유의 향기성분은 젖소의 사료 및 신진대사, 화학반응, 열처리 및 보존기간에 따라 달라지며(1), 이 중 주로 열처리에 따른 향기성분의 변화에 대한 연구가 활발하게 이루어져 왔으며(2-7), 사료의 영향에 대한 연구도 찾아볼 수 있다(8). 또한 이취성분을 적절히 제거하면 관능적인 개선이 이루어지게 되는데, 예를 들어 황화합물인 dimethyl sulfide는 우유의 이취성분으로써 가장 활발하게 연구된 것으로, 1956년에 Patton 등이 연구한 이후 지금까지 계속해서 연구되고 있다(9,10). 우유의 관능적 개선에는 우유의 향기성분 분석 및 off flavor의 규명이 선행되어야 하는데, 우유의 향기성분 분석은 용매추출에 의한 증류법 및 headspace 분석법에 의해 주로 이루어지며, headspace 법에는 static headspace, purge & trap(dynamic headspace)법 및

solid-phase microextraction(SPME)법 등이 있다. 향기성분은 대부분 우유 내 극미량으로 존재하기 때문에, 포집과정이 효과적으로 이루어져야 하는데, 최근에는 SPME법이 우유의 향기성분을 분석하는데 널리 활용되고 있다(11-13). Static headspace법은 headspace 중 일부만 분석가능하여, 주요 휘발성물질 이외의 극미량의 물질 검출에 어려움이 있으나, major peak 검출에는 효과적으로 이용될 수 있다. Purge & Trap법은 purge gas가 통과하면서 휘발성 성분을 선택적으로 흡착제 표면에 흡착시킨 후 이를 다시 열로 탈착시키는 방법으로써, 시료자체에 열을 가하지 않기 때문에 향기성분을 성분의 변화나 오염없이 포집할 수 있는 장점이 있어(14), 또한 연구에 널리 활용되고 있다(15). 본 연구에서는 시중에서 널리 판매되고 있는 카톤팩 포장의 살균우유 4종을 실험대상으로 하여, 상기의 3가지 방법으로 휘발성 성분을 분석하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료

본 실험에서는 시중에 널리 유통 중인 카톤팩 포장의 백색 살균우유 4종을 실험대상으로 하였다. 가공우 및 강화우유 등은 실험대상에서 제외하였다.

#### 향기성분의 포집

향기성분을 포집하기 위해서 static headspace, purge & trap, SPME법을 사용하였다. Static headspace에 의한 향기성분의 분석은 시료 5g을 20 mL headspace sampler용 vial(23 × 75 mm)에 취하고, PTFE(polytetrafluoroethylene)/silicone septa를 포함한 aluminium cap으로 sealing한 후 수행하였다. 이를 G1888 network head-

\*Corresponding author: Sung-Han Kim, Research and Development Center, Namyang dairy product Co., Ltd., Bongan-ri, Janggi-myun, Gongju-si, Chungcheongnam-do 314-914, Korea  
Tel: 82-41-856-0381  
Fax: 82-41-857-7933  
E-mail: redist@namyangi.com  
Received September 14, 2006; accepted November 8, 2006

space sampler(Agilent, Palo Alto, CA, USA)를 이용하여, 60°C에서 30분간 equilibration 후, headspace 1 mL을 HP6890 GC (Agilent, Palo Alto, CA, USA) 및 HP5973 MSD(Agilent, Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. SPME법은 static headspace법과 동일하게 처리된 시료에, 75 µm film의 PDMS(polydimethylsiloxane)/Carboxen fiber(Supelco Co., Bellefonte, PA, USA)를 주입하여, 60°C에서 15분간 향기성분을 흡착시킨 후, 5분간 탈착시켜 GC로 주입하였다. Purge and trap법은 Tekmar 3100 sample concentrator(Tekmar-Dohrmann, Cincinnati, OH, USA)를 이용하여 수행되었다. 시료 20 mL을 sparger에 취한 후, 헬륨가스를 분당 60 mL의 유속으로 통과시켜 향기성분을 11분 동안 Tenax A trap (Tekmar-Dohrmann, Cincinnati, OH, USA)에 흡착시킨 후 220°C에서 5분 동안 탈착시켜 GC로 분석하였다.

### 향기성분의 분석

각각의 방법에 의하여 포집된 향기성분은 GC/MSD를 이용하여 분석하였다. Column은 Supel-Q PLOT(30 m × 0.32 mm i.d., 0.25 µm film thickness, Supelco Co., Bellefonte, PA, USA)으로 70°C(2 min)에서 220°C까지 6°C/min으로 승온한 후, 10분간 유지하여 분석하였다. Injector는 250°C에서 split ratio 5:1로 하였으며, 운반기체는 He으로 25 cm/sec의 유속으로 분석하였다. 시료의 이온화는 EI(electron impact ionization) mode로, ionization voltage를 70 eV로 하였고, mass range는 35-270으로 하였다. MS의 온도는 interface 280°C, ion source 230°C, quadrupole 180°C로 하였다. 각 성분은 Wiley 275 library를 사용하여 확인하였다.

### 결과 및 고찰

Static headspace, purge and trap 및 SPME에 의해 검출된 향기 성분 및 peak area percent를 Table 1에 나타내었다. Static headspace법으로는 모든 시료에서 acetone, 2-methylbutanal, 1-butanol

을 검출할 수 있었고, 2-butanone이 검출된 시료도 있었다(Fig. 1). Ethanol 및 1-butanol은 이 방법으로만 검출할 수 있었다. Static headspace법은 headspace의 일부분만을 취하여 분석하므로 비교적 다량이 존재하는 휘발성 성분 이외의 성분은 검출한계 미만이었거나 혹은 검출되지 않았다(16). Sampling중 주사기내 시료의 응축, 재현성 등의 문제를 갖는 직접주사법의 단점을 없애기 위해 headspace sampler를 사용하여, 포집된 향기성분이 채워지는 loop 및 주입경로인 transfer line의 온도를 시료가열온도 이상으로 하여 주입과정 중의 응축으로 인한 휘발성 물질의 소실을 최소화하였으나, 미량의 휘발성물질 분석에는 한계가 있었다. 단지 다량의 향기성분 분석에는 간편하고 효과적일 수 있다고 판단된다.

Purge and trap 및 SPME법으로 Table 1의 대부분의 물질을 검출하였다. 대체적으로 SPME법에 비해 purge and trap법이 비교적 감도가 우수하였는데(Fig. 1-3), 이는 흡착제인 tenax가 수분과 친화력이 거의 없고, 흡착효율이 좋기 때문이며, 또한 휘발성 물질을 추출하기 위한 purging, 즉 dynamic headspace의 흡착이 열처리 및 equilibration에 의한 수동적 흡착보다 효율이 더 좋기 때문인 것으로 사료된다. 그러나 purge and trap법은 시료 purging 및 농축을 위한 복합적 구성의 장비가 필요하고 트래핑 과정에서 열에 의한 성분 손실의 가능성이 있어, 간단한 장비로 신속하게 분석할 수 있는 장점이 있으며 성분조성의 변화 없이 능률적으로 휘발성 성분 포집이 가능한 SPME 역시 향기성분 분석에 효율적인 방법이다. 이 두 가지 방법으로 우유의 이취로 널리 알려져 있는 케톤류, 알데하이드류 및 황화합물을 대부분 검출할 수 있었다. 본 실험에서 검출된 acetone, 2-butanone, 2-pentanone, 2-heptanone, 2-nonanone 등의 케톤류는 주로 우유 살균에 따른 열처리에 의한 산물이다. Acetone과 2-butanone은 젖소의 대사작용에서 형성된 것이며, 2-pentanone과 2-heptanone은 β-ketoacid decarboxylation의 작용으로 열처리에 의한 산물이다(2). 케톤류 보다 더 직접적인 이취의 원인이라고 알려졌이는 2-methylbutanal, pentanal, hexanal, benzaldehyde 등의 알데하이드류 역시 검출되었

Table 1. Area percent of volatile flavor compounds identified in commercial milk by suggested extract methods (%)

Peak No.	Compounds	Static headspace				Purge & Trap				SPME			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1	ethanol	-	2.01	-	1.15	-	-	-	-	-	-	-	-
2	acetone	30.8	6.16	48.5	11.8	27.4	37.0	35.7	26.9	53.1	32.1	33.8	31.1
3	dimethyl sulfide	-	-	-	1.21	0.49	0.72	0.82	4.41	2.17	0.62	2.91	-
4	2-butanone	-	2.52	-	1.30	9.00	4.02	11.7	3.08	10.3	10.2	7.19	9.39
5	tetrahydrofuran	-	1.94	-	1.43	-	-	-	-	-	-	-	-
6	ethylacetate	-	-	-	-	1.53	6.93	-	5.03	0.82	1.13	0.10	1.99
7	2-methylbutanal	36.0	31.9	47.7	24.9	12.92	0.22	0.14	0.61	-	-	-	-
8	1-butanol	5.04	23.8	-	11.0	-	-	-	-	-	-	-	-
9	hexane	-	-	-	-	2.99	26.2	12.1	24.7	0.76	9.39	15.2	10.8
10	2-pentanone	-	-	-	-	1.00	0.84	0.41	1.87	2.05	1.76	0.20	1.88
11	2-pentanal	-	-	-	-	0.90	0.54	0.16	0.67	-	0.94	0.63	0.57
12	dimethyl disulfide	-	-	-	-	0.31	-	-	-	-	0.09	-	-
13	toluene	-	-	-	-	3.27	6.83	0.28	7.28	1.75	5.10	0.50	2.89
14	hexanal	-	-	-	-	0.97	0.60	0.47	2.01	0.41	0.94	2.03	0.89
15	2-heptanone	-	-	-	-	2.07	2.26	0.51	7.08	4.70	3.70	0.30	3.93
16	heptanal	-	-	-	-	0.20	0.18	0.07	0.32	0.15	0.14	0.08	-
17	benzaldehyde	-	-	-	-	0.18	0.08	0.05	0.19	-	-	-	-
18	dodecane	-	-	-	-	2.10	0.10	7.35	0.47	0.58	1.52	5.00	1.65
19	2-nonanone	-	-	-	-	1.20	0.16	0.27	1.36	1.62	2.21	0.84	2.15
20	undecane	-	-	-	-	14.9	2.45	5.62	1.96	6.24	12.7	13.7	10.7

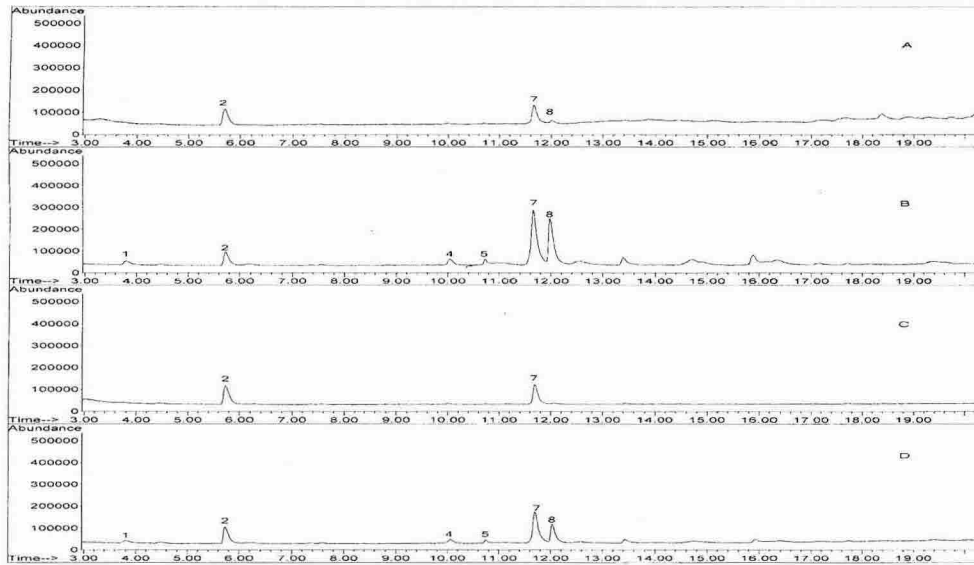


Fig. 1. Chromatograms of volatile flavor compounds in commercial milk by static headspace.

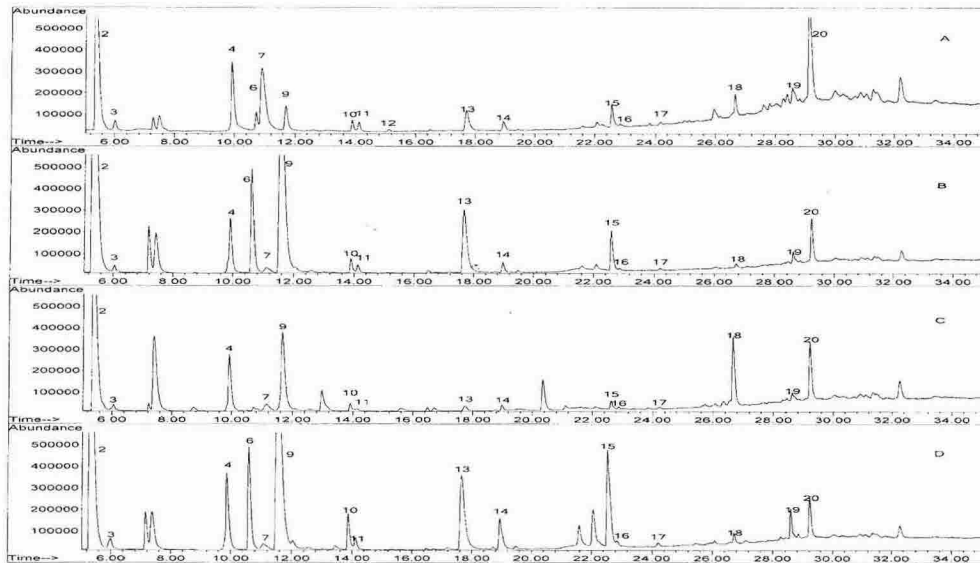


Fig. 2. Chromatograms of volatile flavor compounds in commercial milk by purge and trap.

다(6). 알데하이드류는 유산균의 미생물학적 작용에 의해 생성되는 주요 이취성분이고(17), benzaldehyde는 당의 카라멜화에 의해 생성된다(2). Dimethyl sulfide 및 dimethyl disulfide 등의 황화합물도 모든 시료에서 검출되었는데, 이는 원유 중의 중요한 향기 성분으로써, 풀, 잔디 등의 목초취의 주요원인이며(18), methionine 으로부터 유래된다고 보고되었고(6), 우유에 지속적으로 존재하는 주요 이취성분이다.

제품별 향기성분은 대체적으로 유사하였으나, 어느 정도의 양적인 차이가 나타났으며, 이는 각 제조사의 젖소사료, 열처리 및 제조공정의 차이, 유통과정 등에 기인한다. 이러한 향기성분의 차이가 우유마다의 미묘한 맛의 차이를 만들어낸다. 따라서 향기성분 분석 및 이미 이취성분의 적절한 제거를 이용하면 우유의 맛 개선에 상당한 효과가 있을 것이나, 우유의 향미에 대한 국내의 연구 자료는 거의 찾아볼 수가 없다. Desage 등은, 우유의 향기 성분은 소의 반추위가스 혹은 소화기를 통해서 우유 중으로 이

행될 수 있다고 하였으며(19), 그러므로 사료, 소의 신진대사 혹은 목장환경에 따라 향기성분은 달라질 수 있어, 해외의 연구결과를 국내의 우유에 정확히 적용하기 어려울 것이다. 따라서 해외의 연구결과를 국내의 우유에 획일적으로 적용시키기 보다는, 국내 우유에 대한 체계적인 연구결과를 바탕으로 우유의 향미 개선이 이뤄져야 한다. 해외에서는 오래전부터 빛, 산소, 구리, 살균조건 및 보존온도 등이 우유의 향미에 미치는 영향 대한 연구가 이루어졌으며, 앞으로 이러한 요인에 대한 국내의 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

## 요 약

본 실험에서는 시판중인 우유 4종을 대상으로 static headspace, purge and trap 및 SPME의 세 가지 향기성분 추출방법을 이용하여, GC/MS로 각각의 향기성분을 분석하였다. Purge and trap법을

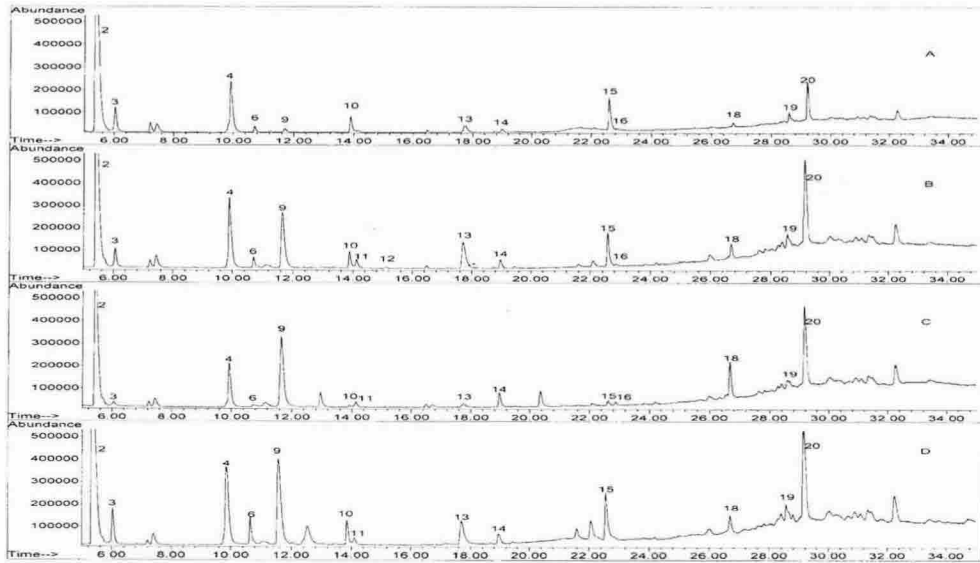


Fig. 3. Chromatograms of volatile flavor compounds in commercial milk by SPME.

이용한 분석법으로 가장 많은 종류의 성분을 분석할 수 있었으며, 향기성분의 추출효율이 가장 좋았다. SPME법은 간단한 장비로 신속하게 향기성분을 포집할 수 있는 장점이 있으며 추출 효율 또한 뛰어나 효율적인 향기성분 분석방법으로 이용이 가능하였다. 4종의 시판우유 중에서 검출된 향기성분은 대체적으로 큰 차이를 나타내지 않았으나, 다소의 양적차이를 나타내었다. 검출된 성분은 주로 acetone, 2-butanone, 2-pentanone, 2-heptanone, 2-nonanone 등의 케톤류, pentanal, 2-methylbutanal, hexanal, benzaldehyde 등의 알데하이드류 및 dimethyl sulfide 등의 황화합물류로써, 우유의 주요 이취성분들이었다.

### 문헌

1. Lorenzo H. Flavour of heated milk. *Int. Dairy J.* 2: 69-81 (1992)
2. Valero E, Villamiel M, Miralles B, Sanz I, Martinez-Castro. Changes in flavour and volatile components during storage of whole and skimmed UHT milk. *Food Chem.* 72: 51-58 (2001)
3. Haytham J, Jhon P, Donald M. Chemical analysis of flavour volatiles in heat-treated milks. *J. Dairy Res.* 45: 391-403 (1978)
4. Joen I, Thomas L, Reineccius A. Production of volatile flavor compounds in ultra-high temperature processed milk during aseptic storage. *J. Agric. Food Chem.* 26: 1183-1188 (1978)
5. Moio L, Etievant P, Langlois D, Dekimpe J, Addeo F. Detection of powerful odorants in heated milk by use of extract dilution sniffing analysis. *J. Dairy Res.* 61: 385-394 (1994)
6. Rerkari S, Jeon J, Bassette R. Effect of various direct ultra-high temperature heat treatments on flavor of commercially prepared milks. *J. Dairy Sci.* 70: 2046-2054 (1987)
7. Scanlan A, Lindsay C, Libbey M, Day A. Heat-induced volatile compounds in milks. *J. Dairy Sci.* 51: 1001-1007 (1968)
8. Urbach G. Effect of feed on flavor in dairy products. *J. Dairy Sci.* 73: 3639-3650 (1990)
9. Patton S, Forss A, Oay A. Methyl sulfide and the flavor of milk. *J. Dairy Sci.* 39: 1469-1470 (1956)
10. Reddy C, Bassette R, Ward G, Dunham R. Relationship of methyl sulfide and flavor score of milk. *J. Dairy Sci.* 50: 147-150 (1966)
11. Aardt M, Duncan S, Bourne D, Marcy E, Long E, Hackney R, Heisey C. Flavor threshold for acetaldehyde in milk, chocolate milk, and spring water using solid phase microextraction gas chromatography for quantification. *J. Agric. Food Chem.* 49: 1377-1381 (2001)
12. Vazquez-Landaverde A, Velazquez G, Torres A, Qian C. Quantitative determination of thermally derived off-flavor compounds in milk using solid-phase microextraction and gas chromatogr. *J. Dairy Sci.* 88: 3764-3772 (2005)
13. Mounchili A, Wichtel J, Bosset O, Dohoo R, Imhof M, Altieri D, Mallia S, Stryhn H. HS-SPME gas chromatographic characterization of volatile compounds in milk tainted with off-flavor. *Intl. Dairy J.* 15: 1203-1215 (2005)
14. Cha YJ. Fat as a source of food flavor and flavor analysis technology. *Food Sci. Ind.* 30: 49-64 (1997)
15. Toso B, Procida G, Stefanson B. Determination of volatile compounds in cows milk using headspace GC-MS. *J. Dairy Res.* 69: 569-577 (2002)
16. Ray M. Flavor, Fragrance and Odor Analysis. Marcel Dekker, Inc. New York, USA pp. 25-29 (2002)
17. Adda J. Flavour of Dairy Products. Elsevier Applied Science. London, UK pp. 151-172 (1986)
18. Morgan E, Pereira L. Volatile constituents of grass and corn silage. II. Gas entrained aroma. *J. Dairy Sci.* 45: 467-471 (1961)
19. Desage M, Schaal B, Soubeyrand J, Orgeur P, Brazier L. Gas chromatographic-mass spectrophotometric method to characterize the transfer of dietary odorous compounds into plasma and milk. *J. Chromatogr B.* 678: 205-210 (1996)