J. Milk Sci. Biotechnol.
Vol. 33. No. 2, pp. 153~157(2015)

농축 탈지유 한외여과액으로부터 우유미네럴의 회수

임광세[1] · 오세종[2] · 박동준[3] · 임지영[4*]

[1](주)매일유업, [2]전남대학교 동물자원학부
[3]한국식품연구원, [4]국민대학교 식품영양학과

Recovery of Milk Mineral from Concentrated Skim Milk Ultrafiltration Permeate

Kwangsei Lim[1], Sejong Oh[2], Dong June Park[3] and Jee-Young Imm[1*]

[1]*Maeil Dairies, Co. Ltd., Seoul 110-150, Korea*
[2]*Division of Animal Science, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea*
[3]*Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea*
[4]*Dept. of Foods and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea*

Abstract

Milk mineral, which is also called milk calcium, was recovered from concentrated skim milk ultrafiltration permeate (CUFP). Lactose, the major constituent of CUFP, was crystallized by the addition of ethanol; lactose precipitation was observed to increase as the ratio of CUFP to ethanol increased. The calcium content of CUFP remained constant at a CUFP to ethanol ratio of 1:2, while it significantly decreased at a CUFP to ethanol ratio of 1:4. When ethanol (95%, v/v) was reused to precipitate lactose out of CUFP, 85% of the initial lactose precipitated out, while 82% of calcium remained soluble in the CUFP after storage for 24 h.

Keywords: concentrated skim milk ultrafiltration filtrate, milk mineral, lactose, calcium, ethanol

서 론

우유 및 유제품이 제공하는 다양한 영양소 중 칼슘의 공급은 가장 중요한 역할 중의 하나이다. 2011년 국민건강 영양조사 결과에 따르면 남녀 및 소득수준과 관계없이 우리나라 국민의 칼슘섭취량은 권장섭취량의 80% 미만이며, 12~18세의 청소년층과 65세 이상 노인의 경우, 그 부족량은 더 심각한 수준으로 보고되었다(보건복지부, 2012).

충분한 칼슘의 섭취가 뼈의 건강(Cashman, 2006)뿐만 아니라, 고혈압(Wang *et al.*, 2008) 및 대장암(Mirjam *et al.*, 1994)의 위험성을 낮추는데 도움을 줄 수 있음이 보고됨에 따라 칼슘은 다양한 식품에 강화되고 있다. 또한, 아직 최종적인 결론이 내려지지는 않았으나, 칼슘의 섭취가 비만을 억제하거나, 체중 조절에 긍정적 효과를 나타낸다는 주장이 수 편의 연구 논문과 함께 제시되었다(Zemel *et al.*, 2000; Zemel *et al.*, 2004). 식품첨가물로 사용되는 칼슘의 형태는 크게 유기염과 무기염의 형태로 구분되며, 무기염에는 주로 탄산칼슘과 인산칼슘이, 유기염에는 젖산칼슘, tricalcium citrate, calcium lactate gluconate 등이 있다. 칼슘제품에 존재하는 다른 무기질의 존재량은 칼슘의 흡수율에 영향을 미칠 수 있으며, Kansal(2002)은 칼슘 : 인의 비율이 1 이상 경우가 생체이용성이 높다고 보고하였다.

Milk calcium 또는 milk mineral로 불리우는 우유 유래 무기질은 주로 농축 유청 단백질(whey protein concentrate) 생산의 부산물로써 얻어질 수 있다. 입자 크기는 7 μM 이하의 백색분말로써 칼슘과 인을 주성분으로 하고 있으며, 유당, 단백질과 매우 소량의 지방을 포함하고 있다(Allen and Cornforth,

* Corresponding author: Jee-Young Imm, Dept. of Foods and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea. Tel: +82-2-910-4772, +82-2-910-5249, E-mail: jyimm@kookmin.ac.kr

2007). Milk mineral은 영양학적인 기능 이외에 항산화 활성을 가지고 있음이 보고된 바 있으며, 약 1.5% 수준의 milk mineral을 조리한 미트볼 제품에 첨가한 경우, 냉장 저장 중 지방의 산화를 효과적으로 억제할 수 있음이 보고되었다(Vasavada and Cornforth, 2005).

우유 무기질의 대부분을 차지하는 칼슘과 인의 존재형태는 매우 복잡하며 아직 명확히 밝혀지지 않았는데, 그 이유는 서로 다른 칼슘과 인의 비율을 가진 다양한 형태의 인산칼슘염이 존재하기 때문이며, 그 열역학적인 동적평형도 천천히 이루어지는 것으로 보고되어 있다. 또한, 케이신 마이셀과 결합되어 존재하는 통상 micellar calcium이라 지칭되는 칼슘의 경우에도 엄밀히 구분하면 무기형태의 인산칼슘(calcium phosphate)과 직접 케이신과 결합되어 있는 유기인산(calcium caseinate)으로 구분되지만, 실험적으로는 두 가지 형태를 분리하여 동태를 파악하는 것은 불가능하다. 우유의 pH가 감소하면 pH에 의하여 변화를 나타내는 작용기(예를 들어 인산칼슘, 카르복실기)들은 수소와 결합한 형태로 전환되며, 결과적으로 케이신 마이셀에 존재하는 인산칼슘의 가용화가 일어난다. 칼슘의 존재 형태에 따라 가용화의 정도에는 차이가 존재하지만, 무기태의 인산칼슘(inotganic calcium phosphate)은 pH 5.2에서 완전히 용해되는 것으로 알려져 있다(Gaucheron, 2005).

한외여과(ultrafiltration)는 우유의 화학적 성분조성을 변화시킬 수 있는 유효한 방법으로써 한외여과막을 통과하여 얻어진 탈지우유의 여과액에는 상당량의 유당과 우유미네랄을 함유하고 있으나, 유당과 milk mineral을 선별적으로 분리하는 방법에 대한 효율적인 방법에 대한 연구는 충분치 않은 실정이다. 본 연구는 탈지유를 한외여과하여 얻어진 농축한외여과액(concentrated ultrafiltrate permeate; CUFP)을 활용하여 유당과 우유미네랄을 선별적으로 분리하기 위한 방법을 모색하고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 농축 탈지유 한외여과액(CUFP)의 제조

신선한 탈지유를 75℃에서 15초간 예열한 후 10,000 Da의 여과막이 장착된 한외여과 장치를 이용하여 제조한 한외여과액을 nanofiltration을 이용하여 약 4배 농축하였으며, 80℃에서 15초간 살균하고 5℃로 냉각하여 제조한 농축 탈지유 한외여과액을 매일유업으로부터 제공 받아 시료로 사용하였다.

2. CUFP로부터 우유미네럴의 회수

CUFP는 고형분 함량을 기준으로 약 93%의 유당과 4.5%의 미네럴을 포함하였으므로 우유미네럴의 순도를 높이기 위하여 유당을 선별적으로 분리할 수 방법으로써 에탄올 첨가에 의한 유당의 침전 분리를 시도하였다. 에탄올 침전법의 적용 시 공정 변수로써 에탄올의 첨가 수준(에탄올과 시료의 혼합비율), 방치시간, 에탄올의 농도, 에탄올의 재활용 가능성을 조사하였으며, 에탄올 침전을 실시한 후 용해상의 우유 칼슘의 함량을 측정하였다.

3. 각 분리 조건에서 CUFP의 성분 분석

1) 수분 및 고형분 함량

시료의 수분 함량은 상압가열 건조법을 이용하여 105℃에서 12시간 건조한 후 측정하였으며, 시료의 총 고형분 함량(%)은 100－수분 함량(%)으로 계산하였다.

2) 유당 함량

시료 내 유당의 함량은 Kwak과 Jeon(1988)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 시료에 isopropanol을 첨가하고 원심분리하여 얻어진 상징액을 0.45 μm syringe filter(National Scientific, Rockwood, USA)로 여과한 후 Rezex RCM-monosaccharide column이 장착된 HPLC system(Jasco, Tokyo, Japan)에 주입하였다. 이동상으로는 증류수(HPLC grade)를 이용하였으며, 0.5 mL/min의 속도로 이동시켜 ELSD detector(Softa Co., US)를 사용하여 분석하였다. 유당 정량은 유당용액을 이용하여 표준곡선을 작성한 후 유당의 함량을 산출하였다.

3) 칼슘 함량

시료에 존재하는 칼슘의 정량법으로 유도결합 플라즈마 방출분광기(Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer, ICP-AES)를 사용하였다. 시료는 분석 전 여과지(Whatman No. 5)를 통과시켰으며, 분석 장치의 제원 및 측정조건은 Table 1과 같다.

4) 단백질 함량

시료의 단백질 함량은 Folin-Lowry의 방법(Lowry *et al.*, 1951)

Table 1. Experimental conditions for ICP-AES

Description	Condition
R.F generator	27.12 MHz
R.F. power	1.15 Kw
Plasma torch	Quartz
Nebulizing system	Concentric Nebulizer
Flow rate of argon gas	Carrier 0.5 L/min
	Coolant 16 L/min
Analytical line	Calcium 317.933 nm

을 이용하여 측정하였다.

4. 통계분석

모든 분석 실험은 3회 이상 반복 측정하였으며, 결과의 통계분석은 Minitab Ver. 13.1(Minitab inc., USA)을 이용하였다. 처리구 간의 유의적 차이($p<0.05$)는 일원분산분석(one-way ANOVA)과 Tukey의 다중비교 검정법을 이용하였다.

결과 및 고찰

1. 농축 탈지유 한외여과액(CUFP)의 화학적 조성

치즈 생산의 부산물로 생산되는 유청을 이용하는 대표적 형태는 한외여과(ultrafiltration)를 이용하여 단백질을 농축함으로써 농축 유청 단백질(whey protein concentrate, WPC)을 생산하는 과정이다. 이 과정에서 단백질을 제외한 물, 유당 및 칼슘을 포함한 가용성 미네랄이 여과액(permeate)으로 이동한다. 본 연구에서는 우유미네럴을 제조하기 위한 원천으로써 탈지유의 한외여과액(UFP)으로부터 농축 한외여과액(CUFP)을 제조하고, 그 화학적 조성을 분석하였다.

UFP의 성분 조성은 사용되는 UF system이나 사용 시 가해지는 압력, membrane의 재질에 따라 차이를 나타내는데, 본 연구에 사용한 UFP의 총고형분 함량은 5.08%로 탈지유의 Carbosep UF systm 여과액의 고형분 함량(5.1%)과 유사하였다(Rattray and Jelen, 1996). 시료 내 존재하는 칼슘의 농도는 24.87 mg/dL로서 27 mg/dL 정도의 칼슘이 Carbosep UF permeate에 존재한다고 보고한 위의 논문과 매우 유사한 수준으로 나타났다. UFP를 약 4배 농축하여 제조한 CUFP에는 약 84.94 mg/dL의 칼슘이 존재하였다. CUFP의 성분 분석 결과를 근거로 할 때 칼슘을 분리하기 위하여서는 전체 고형분의 96%를 차지하는 유당의 제거가 필수적인 것으로 확인되었다.

2. CUFP로부터 에탄올 침전을 이용한 유당의 분리

일반적으로 alcohol은 유당의 용해도를 감소시키는데 효과적이므로 alcohol을 이용한 유당의 결정화 방법이 시도되었다. Hoff 등(1987)에 의하면 methanol은 ethanol에 비하여 lactose의 분리 효율이 우수하나, 잔류 독성의 문제가 있어서 식품 가공에 사용하기에는 적합하지 않으므로, 본 연구에서는 ethanol을 추출 용매로 사용하였다. 에탄올의 첨가가 CUFP에 존재하는 유당의 침전에 미치는 효과를 측정하기 위하여 1:1~1:4 (CUFP:ethanol)의 비율로 ethanol을 첨가한 후 일정시간 동안 상온에서 유지하였다. 본 연구에서는 에탄올의 첨가 후 방치 온도에 따른 차이는 변수에서 제외하였는데 그 이유는 본 연구와 유사한 유당 결정화 조건에서 온도(10℃ vs. 22℃)는 결정화에 영향을 미치지 않는다는 보고에 근거하였다(Singh *et al.*, 1991a).

Fig. 1에 나타낸 바와 같이 에탄올의 첨가 수준이 증가함에 따라 CUFP의 유당포화점은 감소하였으며, 유당 결정화 속도는 증가하였다. CUFP와 동일한 부피의 에탄올을 첨가한 경우, 96시간 방치 후에도 초기 유당 농도의 약 34%가 시료 내에 잔존하는 것으로 나타났다. CUFP:ethanol의 비율을 1:4로 증가시킨 경우, 시료 내 존재하는 유당의 농도는 초기 유당 농도의 18% 수준으로 감소하였다. 따라서 CUFP의 농축 정도 및 CUFP:ethanol의 비율은 유당의 결정화 속도에 유의적인 영향을 주는 것으로 확인되었다.

CUFP:ethanol의 비율은 유당의 결정화뿐만 아니라, 시료 내에 존재하는 무기질의 안정성에도 영향을 미칠 수 있다. 위와 동일한 조건에서 에탄올 침전 후 시료 내 존재하는 칼슘의 안정성을 측정한 결과, CUFP:ethanol의 비율이 1:1, 1:2인 조건에서는 칼슘의 침전 정도는 크지 않았으며, 약 96시간의 방치 후에도 초기 칼슘농도의 약 90%가 용해된 상태로 존재하였다(Fig. 2). 그러나, 1:4인 조건에서는 24시간 방치 후 칼슘 함량이 23% 수준으로 감소하는 것으로 나타나, 칼슘의 안정성을 크게 감소시키지 않는 범위 내에서 유당을 결정화를 가속화할 수 있는 세부 조건의 설정이 필요한 것으로 나타났다.

유청단백질의 일부는 ethanol에 의하여 변성되는 것으로 알려져 있으며, 변성 정도는 단백질의 종류와 pH, 이온강도, 온도, ethanol의 농도와 같은 환경 요인에 따라 차이를 나타낸다(Tumerman and Webb, 1976). 에탄올 침전 후 시료 내 용해상으로 존재하는 단백질 함량은 CUFP:ethanol의 비율이 1:4인 경우 가장 낮은 경향을 보였다. 그러나, 시료 내에 존재하는 초기 단백질의 함량이 1.2 mg/mL 수준으로, 190 mg/mL의 수준으로 존재하는 유당의 함량과 비교할 때 시료에 존재하는 단백질 함량은 회수되는 칼슘의 순도에 크게 영향을 미치지 않을 것으로 판단되며, milk mineral의 순도 측면에서 볼 때 시료로부터 단백질의 제거는 칼슘의 순도를 상승시키게 된다.

Table 2. Proximate analysis and pH of fresh ultrafiltration permeate (UFP) and concentrated ultrafiltration permeate (CUFP)

	Total solid (%)	Protein (%)	Lactose (%)	Lipid (%)	pH	Calcium (mg/dL)
UFP	5.08	0.02	3.325	-	6.47	24.87
CUFP	19.85	0.12	19.091	-	6.16	84.94

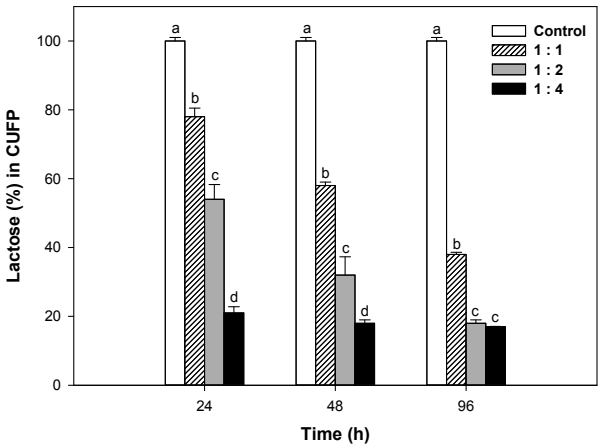

Fig. 1. Effect of ethanol addition on lactose crystallization of CUFP at pH 2.75. Ethanol (95%, v/v) was added to CUFP at designated ratio (CUFP:ethanol).

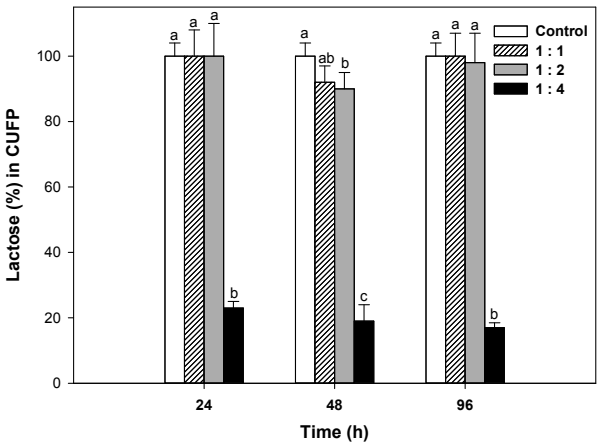

Fig. 2. Effect of ethanol addition on calcium content in CUFP at pH 2.75. Ethanol (95%, v/v) was added to CUFP at designated ratio (CUFP:ethanol).

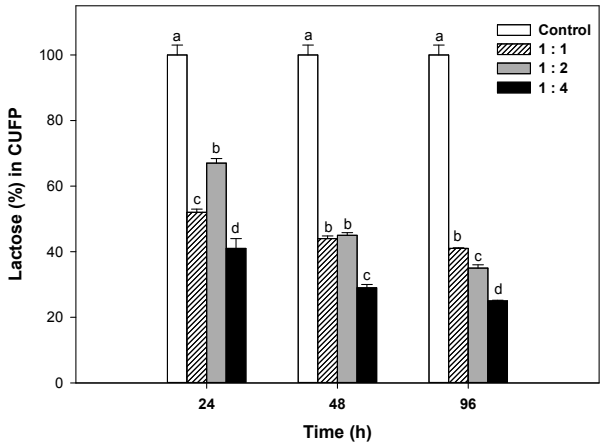

Fig. 3. Effect of ethanol addition on protein content in CUFP at pH 2.75. Ethanol (95%, v/v) was added to CUFP at designated ratio (CUFP:ethanol).

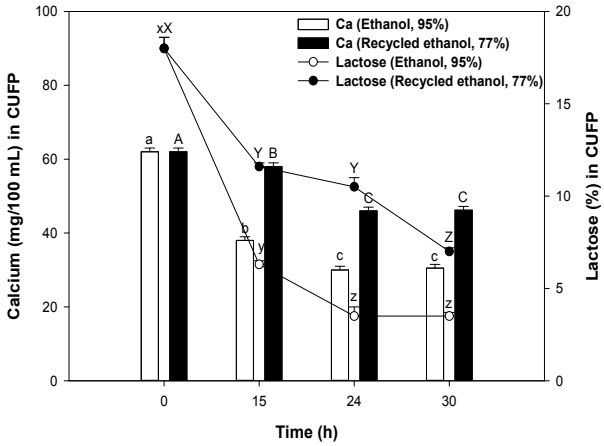

Fig. 4. Effect of reused ethanol addition on calcium and lactose content in CUFP at pH 2.75. Ethanol (95%, v/v) was added to CUFP at the ratio of 1:4 (CUFP :ethanol).

CUFP로부터 유당을 더 낮은 농도로 감소시키기 위한 현실적 방법은 첨가되는 ethanol의 비율을 증가시키거나, 본 실험에서와 같이 유당의 농도를 일정 수준 이하로 감소시키고, 가열하여 칼슘을 침전시키는 방법을 고려할 수 있다. 첨가되는 ethanol의 비율을 증가시키는 방법에 대하여 Singh 등(1991b)은 ethanol(86%, v/v)의 비율을 CUFP의 29배까지 증가시킨 경우, 유당의 결정화는 전체 유당 농도의 90% 수준으로 상승시킬 수 있다고 하였으나, 이와 같은 경우는 유당의 회수가 목적인 경우로 제반 처리비용의 증가가 예상되므로 보다 경제적인 방법의 검토가 필요할 것으로 판단된다.

유당의 분리를 위하여 사용된 에탄올을 재사용할 경우, 칼슘과 유당의 함량 변화를 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 초기 95% 에탄올을 사용하여 유당의 침전을 유도하고, 회수한 에탄올의 농도는 77%로 측정되었으며, 이 에탄올을 이용하여 동일한 조건에서 처리 시간을 24시간 또는 30시간으로 연장한 경우에도 잔존하는 유당의 함량은 10% 정도로 처리 시간의 연장이 유당의 침전 분리에 미치는 영향은 미미한 것으로 확인된 반면, 칼슘의 함량은 상대적으로 높은 수준으로 유지되었다. 본 연구에서는 유당의 회수가 궁극적인 목적이 아니었으므로 높은 순도의 에탄올을 이용하였으나, 회수된 유당의 용해도 및 안정성의 측면에서는 첨가되는 에탄올 농도의 변화가 기능 특성의 변화를 초래할 수 있을 것으로 판단된다. 실제적으로 Singh 등(1991b)은 약 80%의 에탄올이 회수된 유당의 기능성 측면에서 가장 적합하였다고 보고하였다.

CUFP로부터 milk mineral을 회수하는 방법과 처리 비용의 경제적 적합성 판정을 위해서는 위의 연구결과에서 나타낸

바와 같이 세심한 고려가 필요하다. 본 연구를 통하여 제안할 수 있는 가공 공정은 첫째로 유당을 결정화하여 침전 회수하는 공정과 둘째로 수용액층의 칼슘을 건조하여 milk mineral을 생산하는 두 가지 공정을 함께 진행하는 것으로, 두 가지 식품소재의 수요처를 확보할 수 있다면 충분한 타당성이 있을 것으로 예측된다.

참고문헌

1. Allen, K. and Cornforth D. 2007. Antioxidant mechanism of milk mineral-high affinity iron binding. J. Food Sci. 72: C78-C83.
2. Cashman, K. D. 2006. Milk minerals (including trace elements) and bone health. Int. Dairy J. 16:1389-1398.
3. Gaucheron, F. The minerals of milk. 2005. Repro. Nutr. Dev. 45:473-483.
4. Govers, M. J. A. P., Termont, S. S. M. L. and Ven der Meer, R. 1994. Mechanism of the antiproliferative effect of mink mineral and other calcium supplement on colonic epithelium. Cancer Res. 54:95-100.
5. Hoff, J. E., Nielsen, S. S., Peng, I. C. and Chambers, V. C. 1987. Ethanol extraction of lactose from nonfat dry milk: Production of protein raffinate. J. Dairy Sci. 70: 1785-1796.
6. Kansal, V. K. and Chaudhary, S. 1982. Biological availability of calcium, phosphorus and magnesium from dairy products. Milchwissenschaft 37:261-263.
7. Kwak, H. S. and Jeon, I. J. 1988. Comparison of high performance liquid chromatography and enzymatic method for the measurement of lactose in milk. J. Food Sci. 53:975-976.
8. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275.
9. Rattray, W. and Jelen, P. 1996. Thermal stability of skim milk with protein content standardized by the addition of ultrafiltration permeate. Int. Dairy J. 6:157-170.
10. Singh, R. K., Nielsen, S. S. and Chambers, J. V. 1991a. Lactose crystallization from whey permeate in an ethanol-water mixture. J. Food Sci. 56:935-937.
11. Singh, R. K., Shah, B. B., Nielsen, S. S. and Chambers, J. V. 1991b. α-Lactose monohydrate from ultrafiltered whey permeate in one-step crystallization using ethanol-water mixture. J. Food Sci. 56: 777-781, 788.
12. Tumerman, L. and Webb, B. H. 1976. Coagulation of milk and protein denaturation. Pages 506-509 in Fundamentals of Dairy Chemistry. B. H. Webb, A. H Johnson eds. AVI Publ. Co., Inc. Westport, CT. USA.
13. Vasavada, M. H. and Cornforth, D. P. 2005. Evaluation of milk mineral antioxidant activity in beef meatballs and nitrate-cured sausage. J. Food Sci. 70:C250-C253.
14. Wang, L., Manson, J. E., Buring, J. E., Lee, I.-M. and Sesso, H. D. 2008. Dietary intake of dairy products, calcium, and vitamin D and the risk of hypertension in middle-aged and older women. Hypertension 51:1073-1079.
15. Zemel, M. B. 2004. Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight management. Am J. Clin. Nutr. 79(suppl.):907S-912S.
16. Zemel, M. B., Shi, H., Greer, B., Dirienzo, D. and Zemel P. C. 2000. Regulation of adiposity by dietary calcium. FASEB J. 14:1132-1138.
17. 보건복지부 질병관리본부. 2012. 2011 국민건강통계.

Received 1 June, 2015
Revised 10 June, 2015
Accepted 15 June, 2015