

수용성비타민과 지용성비타민의 가열에 대한 안정성

허정윤 · 황인경
서울대학교 생활과학대학 식품영양학과

The Stability of Water-soluble and Fat-soluble vitamins in milk by Heat treatments

Jung Yun Hur, In Kyeong Hwang
Dept. of Food and Nutrition, Seoul National University

Abstract

This study was conducted to investigate the thermal stability of water-soluble and fat-soluble vitamins dissolved in water and milk by various heat treatments. Vitamin samples were prepared by dissolving them in water and milk at various concentrations, and were heat treated for 30 min at 65°C, 15 sec at 85°C, 5 sec at 100°C, 121°C at 15 min, the levels of residual vitamin were measured by using HPLC. Milk samples were fortified with vitamins before and after UHT treatment. As heating over 100°C, riboflavin in water were destructed more than 92% but fortified in milk showed less than 20% destruction, suggesting that riboflavin was protected by milk components. Also retinol heated over 100°C was more stable in milk than in water. L-Ascorbic acid and cholecalciferol(D₃) showed a similar destruction rate in water and in fortified milk. L-ascorbic acid was easily destructed by UHT treatment. Destruction of thiamin and tocopherol was increased in fortified milk. Among four capsulated water-soluble vitamins, L-ascorbic acid was much more stable compared with powder form. Nicotinic acid and folic acid either in capsule or powder form showed a slight destruction by heat treatment. The results suggested that the fortification of unstable vitamins such as L-ascorbic acid, thiamin, tocopherol and cholecalciferol(D₃) should be made in milk after heat treatment.

Key words : water-soluble vitamin, fat-soluble vitamin, UHT-treated milk, vitamin capsule'

1. 서 론

용액상태에서 비타민의 안정성은 용매의 pH, 산소, 빛, 금속과 그밖에 다른 요소들에 의해 영향을 받는다. 일반적으로 수용성 비타민은 지용성 비타민에 비해 불안정한 것으로 알려져 있다¹⁾. 수용성 비타민은 식품을 씻고 데치고 끓이는 등의 조리과정 중 상당량 감소되며, 식품의 제조 가공 또는 저장 기간 중에도 손실된다. 지용성 비타민은 고온 상태에서 산소에 노출되었을 때 특히 불안정하며 지질 산화물과 신속히 반응한다²⁾. 일반적으로 식품 중 비타민의 함량은 대체로 매우 낮고 대부분의 비타민들이 식품 중 단백질, 인산, 전분 등에 결합되어 있다.

Albala-Hurtado³⁾ 등은 HPLC 방법을 이용하여 유아용 우유에서 수용성 비타민의 검출한계를 분석한 결과 니코틴 아마이드, 피리독신, 피리독살, 피리독사민, 리보플라빈, 폴산의 경우 검출한계가 0.05 µg/ml 이하, 티아민은 0.1 µg/ml 이하, 비타민 B₁₂는 0.3 µg/ml 이하로 나타났다고 보고하였다. 지용성 비타민 분석에 가장 자주 사용되는 방법 또한 HPLC임은 다양한 연구들^{4), 5), 6)}을 통해 보고되고 있어 비타민 분석시 HPLC 방법이 매우 효율적인 분석 방법임을 알 수 있다. 본 연구에서도 비타민 분석 방법으로 HPLC를 사용하였다.

우유 제품 생산시 가장 많이 이용되는 살균방법은 초고온 단시간 살균법(Ultra High Temperature ; UHT)으로 처리공정이 밀폐되어 있고 자동화되어 처리시간이 단축되고 재오염의 기회가 적으며 대량처리에 의하여 생산비가 절감되면서 가열시간이 짧아 신선한 유질을 유지할 수 있는 장점이 있는 것으로 알려져 있다⁷⁾. 이러한 살균 공정은 유해 미생물을 사멸시키기 위한 필수적인 과정이지만, 이 과정 중

Corresponding author: Jung Yun Hur, Seoul National University, San 56-1, Shillim-Dong, Kwanak-Ku, Seoul 151-742, Korea
Tel: 02-880-5708
Fax: 02-884-0305
E-mail: jungyunh@yahoo.co.kr

일부 영양 성분이 손실된다. 우유에는 비타민류와 리신 등 아미노산류가 함유되어 있는데, 이러한 영양소들은 가열이나 산화에 의해 쉽게 파괴되기 때문에 우유 가열시 품질 변화의 지표물질로 활용되고 있다⁸⁾.

국내에서는 가열처리에 따른 유성분의 변화 증 단백질 및 관능적 특성이 관한 연구는 있으나 비타민의 변화에 관한 연구는 부족한 실정이다. 이에 본 연구에서는 우유 제조시의 살균온도와 유사한 정도의 가열조건에 따른 비타민의 안정성을 살펴보았다. 이를 위해 우유의 일반적인 살균방법인 저온살균처리(Long Time Low Temperature ; LTLT), 고온살균처리(High Temperature Short Time ; HTST), UHT의 살균온도를 참고하여 가열온도를 65°C, 85°C, 100°C, 121°C로 나누어 각각의 온도에서 수용액 상태의 수용성 비타민과 유기용매에 용해시킨 지용성 비타민의 파괴율을 측정하였다. 또한 실제로 우유에 비타민을 첨가할 경우 가장 고온의 살균방법인 UHT 살균온도에서의 파괴 정도를 비교하였다. 가장 많이 사용되는 UHT 처리에 따른 비타민 첨가 방법은 크게 세 가지로, 비타민을 강화한 후 UHT 처리하는 방법과 UHT 처리 후 비타민 또는 비타민캡슐을 강화하는 방법이 있다. 따라서 본 연구에서는 이 세 가지 방법으로 비타민을 강화했을 때 비타민 파괴율을 살펴보았다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

분석에 표준물질로 사용된 비타민과 용매들은 모두 Sigma-Aldrich(st. Louis, Mo. USA) 제품이었다. 비타민의 내열성 실험에 사용된 수용성비타민은 L-아스코르브산, 티아민, 리보플라빈, 니코틴산, 폴산이었고 지용성 비타민은 트랜스-레티놀 아세테이트, 콜레칼시페롤(D₃), α-토코페롤 아세테이트이었다. 또한 HPLC 분석에 사용한 이동상과 시료 전처리 및 희석용액은 1-헵탄설폰산 나트륨염(1-Heptanesulfonic acid sodium salt, PIC B7), 메탄올, 아세트니트릴 및 이소프로판올을 사용하였다. 본 실험에서 사용된 원유는 경기도 소재 목장에서 2001년 7월에 구입하였다. 우유에서의 비타민 내열성 실험의 표준물질로는 수용성 비타민은 L-아스코르브산, 티아민, 리보플라빈, 니코틴산, 폴산이었고 지용성 비타민은 트랜스-레티놀, 콜레칼시페롤(D₃), α-토코페롤, γ-토코페롤, δ-토코페롤이었다. 우유에 직접 첨가되는 수용성비

타민(L-아스코르브산, 티아민, 리보플라빈, 폴산, 니코틴산)과 유화처리된 지용성비타민(트랜스-레티놀 아세테이트, 콜레칼시페롤(D₃), α-토코페롤 아세테이트)은 Roche(Vitamins USA Ltd.)제품을 사용하였다.

비타민 캡슐은 유가공 업체로부터 제공받았다. 캡슐의 구성성분은 L-아스코르브산이 4.012%, 티아민 히드로클로라이드가 0.065%, 니코틴산이 1.053%, 폴산이 0.010% 함유되었다. 비타민을 보호하기 위하여 단백질과 유지가 94.86% 함유된 연황색의 원형 건조캡슐로 평균직경은 1.5±0.2mm이었다.

2. 실험방법

1) 증류수에 용해된 수용성비타민의 가열 및 분석조건

L-아스코르브산, 티아민, 리보플라빈, 니코틴산, 폴산을 0.1g씩 각각 100ml 플라스크에 넣어 3차 증류수로 정용한 후, 용해시켜 표준농축용액을 만들었다. 이것을 3차 증류수로 희석하여 적정 농도의 표준용액을 만들어 0.45μm MILLEX-HV13 필터(Millipore)로 여과하여 사용하였다. 수용성비타민 분석시에는 농도 50ppm의 수용성비타민 용액을 우유의 일반적인 살균조건을 참고하여 65°C에서는 30분간, 85°C에서는 15초간, 100°C에서는 5초간, 121°C에서는 15분간 가열하였다. 65°C, 85°C, 100°C로 가열시에는 항온수조에서 각각의 조건으로 가열하였고 121°C로 가열시에는 멸균기를 사용하였다. 가열된 각 비타민 용액은 0.45μm MILLEX-HV13 필터(Millipore)로 여과하였다.

수용성비타민 분석을 위한 조건은 HPLC를 이용한 수용성비타민의 동시분석에 관한 박의 연구⁹⁾를 참고하여 정하였다. 270nm UV 검출기가 부착된 HPLC(HEWLETT PACKARD 1090 Series) 및 칼럼은 가드칼럼(μ-bondapak insert C₁₈)과 Capcell pak C18 column(UG 120, 3.0mm×250mm, SHISEIDO)을 사용하였다. 이동상은 A상과 B상으로 구성하였는데 A상은 PIC B7(1-heptanesulfonic acid sodium salt) 1.25 mM 및 아세트산 1%를 용해한 수용액이며, B상은 PIC B7 1.25mM 및 아세트산 1%를 용해한 60% 메탄올이었다. 이동상 용액은 진공하에서 Millipore 여과기로 여과한 후 헬륨기체로 15분간 탈기체화하였다. 이동상 용액의 유동속도는 0.5ml/min으로 0-1분 사이에는 100% A용액을, 1-25분까지는 순차적으로 100% B용액이 되도록 흘려주었으며, 25-28분 사이에는 100% B용액으로 흘려주었다. 끝으로 10분간

100% A용액을 흘려주었다. 시료용액의 주입량은 20 μ l이었다.

2) 유기용매에 용해된 지용성비타민의 가열 및 분석조건

본 실험에서 분석한 지용성비타민 중 콜레칼시페롤(D₃)과 α -토코페롤 아세테이트는 1.0g씩 각각 100 ml 플라스크에 넣어 이소프로판올 100ml로 정용한 후 용해시켜 표준농축용액을 만들었다. 이것을 다시 이소프로판올로 적정농도로 희석하여 0.45 μ m MILLEX-HV13 필터(Millipore)로 여과하였다. 트랜스-레티놀 아세테이트는 1.0g을 100ml 플라스크에 넣어 0.05M 수산화나트륨(NaOH) 수용액으로 정용한 후 용해시켜 표준농축용액을 만들었다. 이것을 다시 이소프로판올로 적정농도로 희석하여 0.45 μ m MILLEX-HV13 필터(Millipore)로 여과하였다. 지용성비타민 분석시 콜레칼시페롤(D₃)과 α -토코페롤 아세테이트는 50ppm 용액을, HPLC 분석시 다른 지용성비타민에 비해 검출한계 농도가 높은 것으로 나타난 트랜스-레티놀 아세테이트는 100ppm 농도의 용액을 수용성비타민 용액과 같은 가열조건으로 처리하였다.

지용성비타민 분석을 위한 조건은 Iwase¹⁰⁾와 Escriva 등¹¹⁾의 연구를 참고하여 정하였다. 280nm의 UV 검출기가 부착된 HPLC(HEWLETT PACKARD 1090 Series) 및 가드칼럼(μ -bondapak insert C₁₈)과 Capcell pak C18 column(UG 120, 4.6mm \times 250mm, SHISEIDO)을 사용하였다. 이동상은 아세트니트릴-메탄올(60:40)의 혼합용액이었다. 이동상 용액은 진공하에서 Millipore 여과기로 여과한 후 헬륨기체로 15분간 탈기체화하였다. 이동상 용액의 유동속도는 1.0ml/min으로 시료주입량은 20 μ l이었다.

3) 우유의 수용성 비타민 첨가 및 분석방법

(1) 수용성 비타민 첨가 우유시료

실험에 사용된 수용성 비타민 첨가우유로는 원유를 가열하지 않고 비타민을 첨가한 우유(FRM), 비타민을 첨가한 후 UHT처리를 한 우유(FMBT), UHT처리 후 비타민을 첨가한 우유(FMAT) 및 UHT처리 후 비타민 캡슐을 첨가한 우유(CFMAT)의 4종류이었다.

(2) 수용성 비타민 추출 및 분석방법

각각 우유시료 30ml 정도를 50ml 갈색 메스플라스크에 취하고, PIC B7 5mM 및 아세트산 1%를 용

해한 수용액으로 정용한 후 20분간 초음파처리를 하였다. 그 후 원심분리기를 이용해 5000rpm에서 20분간 원심분리 하여 상층액만을 0.45 μ m MILLEX-HV13 필터(Millipore)로 여과하여 HPLC 주입시료로 사용하였다.

270nm의 UV 검출기가 부착된 HPLC(SHISEIDO NANOSPACE SI-1) 및 Capcell pak C18 column(UG 80, 4.6mm \times 150mm, SHISEIDO)을 사용하였다. 이동상은 A상과 B상으로 구성하였는데 A상은 PIC B7 5mM 및 아세트산 1%를 용해한 수용액이며, B상은 PIC B7 5mM 및 아세트산 1%를 용해한 60% 메탄올이었다. 이동상 용액은 진공하에서 Millipore 여과기로 여과한 후 헬륨기체로 15분간 탈기체화하였다. 이동상 용액의 유동속도는 1.0ml/min으로 0-1분 사이에는 100% A용액을 1-25분까지는 순차적으로 100% B용액이 되도록 흘려주었으며, 25-28분 사이에는 100% B용액을 흘려주었다. 끝으로 10분간 100% A용액을 흘려주었다. 시료용액의 주입량은 10 μ l이었다.

4) 우유의 지용성 비타민 첨가 및 분석방법

(1) 지용성 비타민 첨가 우유시료

지용성비타민인 트랜스-레티놀 아세테이트, α -토코페롤 아세테이트, 콜레칼시페롤(D₃) 첨가우유로는 가열하지 않고 비타민을 첨가한 우유(FRM), 비타민을 첨가한 후 UHT처리(135 $^{\circ}$ C 4초)를 한 우유(FMBT), UHT처리 후 비타민을 첨가한 우유(FMAT)의 3종류이었다. 이들 지용성비타민은 비교적 열에 안정한 것으로 밝혀져 있어^{1), 12), 13)} 캡슐 형태로는 첨가하지 않았다.

(2) 지용성 비타민 추출 및 분석방법

① 트랜스-레티놀 아세테이트, α -토코페롤 아세테이트

각각의 우유시료 10ml (비타민 A 20~30 IU.<6-9 μ g> 상당량)를 환저 플라스크에 넣어 에탄올 30ml와 10% 피로갈산(pyrogalllic acid)을 용해한 에탄올 1ml를 가하여 혼합하였다. 수산화칼륨 9g을 증류수로 10ml까지 정용한 용액 3ml를 가하여 혼합한 후 환류냉각기를 부착하여 비등 수욕상에서 30분간 비누화하여 신속히 실온으로 냉각하였다. 그 후 증류수 30ml를 가하여 혼합 후 갈색 분액깔때기로 옮기고 증류수 10ml로 플라스크를 씻어 합쳤다. 여기에 석유에테르(특급)를 30ml 가하고 5~10분 정도 잘 흔든 후 상단의 석유에테르층을 분리하였다. 이 과정

을 2회 반복하였다. 추출한 석유에테르에 페놀프탈레인 지시약을 첨가한 후 증류수로 무색이 될 때까지 세척하였다. 세척한 석유에테르층을 무수황산나트륨으로 탈수하고 40°C에서 감압하여 농축하였다. 농축수기에 남아있는 잔류물에 이소프로판올(HPLC 급)을 가해 녹여서 10ml로 정용한 후 0.45 μ m MILLEX-HV13 필터(Millipore)로 여과하였다.

트랜스-레티놀 아세테이트 분석시에는 325nm UV 검출기가 부착된 HPLC(SHISEIDO NANOSPACE SI-1) 및 Capcell pak C18 column(UG 80 4.6mm \times 250mm, SHISEIDO)을 사용하였다. 이동상은 95% 메탄올이며 유동속도는 0.5 ml/min이었다. 시료주입량은 10 μ l 이었고 오븐온도는 35°C이었다. α -토코페롤 아세테이트 분석시에는 295nm UV 검출기를 사용하였다. 이동상은 100% 메탄올이었고 유동속도는 1.0 ml/min이었다. 시료주입량은 10 μ l 이었고 오븐온도는 35°C이었다.

2. 콜레칼시페롤(D₃)

우유시료 4ml를 20ml 메스플라스크에 넣고 디메틸설피록사이드(dimethyl sulfoxide) 4ml를 가하여 혼합 후 하룻밤 냉암소에 방치하였다. 이를 메탄올로 20ml까지 정용한 후 원심분리기를 이용하여 5,000rpm에서 20분간 원심분리하여 상층액만을 0.45 μ m MILLEX-HV13 필터(Millipore)로 여과하여 HPLC 주입시료로 사용하였다.

265nm UV 검출기가 부착된 HPLC(SHISEIDO NANOSPACE SI-1)는 switching valve system이 설치된 제품으로 칼럼은 분석과정에 따라 3가지가 사용되었다. 분석의 첫 번째 과정인 전처리 단계에서는 Capcell pak MF-ph column(4.6mm \times 150mm, SHISEIDO)이 사용되었고 두 번째 과정인 농축 단계에서는 Capcell pak C18 column(UG 120, 2.0mm \times 35mm, SHISEIDO)이 사용되었으며 마지막 과정인 분석단계에서는 Capcell pak C18 column(UG 80, 1.5mm \times 250mm, SHISEIDO)이 사용되었다. 이동상은 100% 메탄올인 A상과 100% 증류수인 B상으로 구

성되었다. HPLC 분석과정 중 전처리 단계와 농축단계에서는 A용액 및 B용액의 비가 3대 1이 되도록 구성된 이동상을 0.8ml/min의 속도로 흘려주었고 분석 단계에서는 0.1ml/min의 속도로 순차적으로 100% A용액이 되도록 흘려주었다. 시료주입량은 120 μ l 이었으며 오븐온도는 35°C이었다.

III. 실험결과 및 고찰

각각의 수용성비타민은 5 ppm, 20 ppm, 50 ppm, 100 ppm 농도의 표준용액으로 표준검량선을 작성하였으며 지용성비타민은 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm 농도의 표준용액으로 표준검량선을 작성하였다. 회귀분석을 실시하여 계산된 회귀식 및 R²값은 L-아스코르브산은 $y=12.175x-71.197$, R²=0.9697, 티아민은 $y=39.159x-30.308$, R²=0.9979, 리보플라빈은 $y=11.956x+34.19$, R²=0.9613, 니코틴산은 $y=30.111x+42.203$, R²=0.9983, 폴산은 $y=5.8811x+53.432$, R²=0.9942, 트랜스-레티놀 아세테이트는 $y=8.1287x-37.176$, R²=0.947, 콜레칼시페롤(D₃)은 $y=20.766x+33.33$, R²=0.9897, α -토코페롤 아세테이트는 $y=2.4731x+0.6743$, R²=0.9988로 양호한 직선관계를 보였다.

1. 수용성비타민

가열처리 하지 않은 시료용액의 수용성 비타민 농도와 가열처리 한 시료용액의 수용성비타민 농도를 이용하여 가열처리에 따른 수용성비타민의 파괴율을 Table 1으로 나타내었다.

우유의 가열살균방법인 LTLT, HTST 및 UHT의 살균온도와 시간 조건을 참고하여 비타민 용액을 처리한 후 각 수용성비타민의 파괴율을 살펴보면, L-아스코르브산은 온도 조건이 고온으로 될수록 점차 파괴율이 증가하였다. 특히 100°C에서 5초간 가열했을 때 파괴율이 급증하여 70% 이상이 되었고 121°C에서 15분간 고압가열했을 때에는 100% 파괴

Table 1. Degree of destruction(%) in water-soluble vitamins after heat treatment

Vitamin	Treatment			
	65°C 1800sec	85°C 15sec	100°C 5sec	121°C 900sec
L-Ascorbic acid	16.75 ± 3.19	17.13 ± 0.98	75.14 ± 8.22	100.00 ± 0.00
Thiamin	8.98 ± 2.72	3.22 ± 0.47	4.44 ± 0.51	34.83 ± 2.63
Riboflavin	52.42 ± 3.40	62.86 ± 4.01	92.22 ± 2.87	100.00 ± 0.00
Nicotinic acid	3.03 ± 0.87	6.74 ± 0.44	2.95 ± 0.19	1.33 ± 0.13
Folic acid	3.95 ± 0.37	1.98 ± 0.33	5.41 ± 0.39	0.00 ± 0.01

* 분석치는 3반복 실험한 평균값임.

되는 것을 볼 수 있었다. L-아스코르브산은 건조상태나 산성용액에서는 비교적 안정하다고 보고¹⁴⁾되고 있으나 본 실험에서도 볼 수 있듯이 수용액에서는 열에 의해 쉽게 파괴되는 것을 알 수 있었다. 티아민은 일반적인 가열살균시 장시간 가열하면 분자 내에 있는 양쪽 고리구조와 메틸렌기 사이의 화학결합이 쉽게 끊어져 비타민으로서의 기능을 잃게 된다. 티아민은 100°C 정도의 가열에서는 비교적 파괴율이 낮으나 121°C에서 가열시에는 파괴율이 약 35%인 것으로 나타났다. 그러나 식품 내의 티아민은 식품조직에 의해 어느 정도까지는 보호될 수 있으며 단백질과의 결합을 통해 더욱 안정화될 수 있는 것으로 보고되고 있다¹⁴⁾. 결정화시킨 분말 형태의 리보플라빈은 비교적 안정하지만 수용액 상태에서는 자외선조사와 가시광선에 노출되는 것만으로도 일부 파괴되고 특히 온도와 pH가 증가하면 파괴율이 높아지는 것으로 알려져 있다¹⁴⁾. 본 실험에서도 수용액 상태의 리보플라빈은 역시 온도가 높아짐에 따라 급격한 파괴율을 보여 온도에 매우 민감하게 반응하는 것으로 나타났다. 본 실험에서도 니코틴산은 모든 온도-시간 조건에서 거의 파괴되지 않았음을 알 수 있었다. 폴산 또한 거의 파괴되지 않았다.

2. 지용성비타민

가열처리 하지 않은 시료용액의 지용성비타민 농도와 가열처리 한 시료용액의 지용성비타민 농도를 이용하여 가열처리에 따른 지용성 비타민의 파괴율을 나타낸 결과를 Table 2에 나타내었다.

일반적으로 지용성비타민들은 산소, 빛, 극심한 pH에 민감하기 때문에 식품에 강화할 때에는 레티놀 아세테이트, 레티놀 팔미테이트, 토코페롤 아세테이트와 같은 보다 안전한 에스테르 형태를 사용한다¹⁵⁾. 본 실험에서는 일반적으로 식품에 첨가되는 형태의 비타민의 내열성을 알아보기 위해 비타민 A와 비타민 E는 아세테이트형을 사용하였다.

비타민 A는 레티노이드(트랜스-레티놀, 13-시스-레

티놀 등)와 β-카로틴과 같은 카로티노이드를 포함하고 있는 비타민 그룹이다. 보통 비타민 A는 트랜스-레티놀을 일컫는 것으로 이는 가장 활성이 큰 형태이다. 일반적으로 비타민 A는 빛에 의한 파괴가 매우 빠른 것으로 알려져 있고 공기 중 산소에 의해서도 산화된다. Table 2에 따르면 트랜스-레티놀 아세테이트는 65°C에서 100°C까지의 온도-시간 조건에서는 20%~27% 가량의 비슷한 정도의 파괴율을 보였고, 121°C에서 15분간 고압 가열했을 때에는 절반 가량이 파괴되는 것으로 나타났다. 이상의 결과에서 비타민 A는 100°C까지는 비교적 소량이 불활성화 되지만, 고온·고압의 환경조건에서는 절반 이상 파괴되었다. 비타민 D는 주로 식물에서 유래하는 D₂(엘고칼시페롤)와 동물에서 유래하는 D₃(콜레칼시페롤)의 형태로 존재한다. 본 실험에서 살펴본 콜레칼시페롤(D₃)은 저온가열시에는 파괴가 크지 않았으나 100°C와 121°C의 온도조건에서 파괴율이 증가하였다. 그러나 비타민 D는 비타민 A 보다 열에 안정한 것으로 나타났다. 비타민 E 중 활성이 가장 크고 안정한 형태인 α-토코페롤 아세테이트는 65°C에서 100°C까지의 시간-온도 조건에서는 10% 내외의 파괴율을 보이다가 121°C에서 15분간 고압가열했을 때에는 약 24%의 파괴율을 보였으나 비교적 열에 안정한 것으로 생각되었다.

3. 원유와 UHT 처리유의 비타민 함량 비교

원유에 함유된 L-아스코르브산은 0.10-0.90mg/l, 티아민은 0.20-0.8mg/l, 리보플라빈은 0.8-2.6mg/l, 니코틴산은 0.3-2.0mg/l, 폴산은 0.01-0.10mg/l, 레티놀은 0.10-0.90mg/l, 토코페롤은 0.2-2.0mg/l, 콜레칼시페롤은 0.0001-0.0020mg/l로 알려져 있다¹⁶⁾. 본 실험에서 분석한 원유 중 비타민 함량은 L-아스코르브산은 3.45mg/l, 티아민은 0.34mg/l, 리보플라빈은 1.27mg/l, 니코틴산은 1.14mg/l, 폴산은 0mg/l, 레티놀은 0.33mg/l, 토코페롤은 0.55mg/l, 콜레칼시페롤(D₃)은 0.0028mg/l 이었다. 우유는 계절, 목장 등의 변화요인으로 인하여 제조시 마다 영양소의 함량에

Table 2. Degree of destruction(%) in fat-soluble vitamins after heat treatment

Vitamin	Treatment			
	65°C 1800sec	85°C 15sec	100°C 5sec	121°C 900sec
all-trans-Retinol acetate	26.39 ± 0.36	27.27 ± 0.44	21.80 ± 0.92	52.44 ± 1.34
Cholecalciferol(D ₃)	17.16 ± 1.23	11.54 ± 0.38	26.05 ± 0.67	43.38 ± 1.39
α-Tocopherol acetate	7.72 ± 5.09	11.12 ± 2.04	9.08 ± 4.92	24.34 ± 1.69

* 분석치는 3반복 실험한 평균값임.

차이가 있을 수 밖에 없다. 이와 같은 차이를 고려하여 두 분석치를 비교한 결과 L-아스코르브산을 제외하고는 상호간 상당히 유사한 값을 보였다. L-아스코르브산은 계절적 요인에 의해 가장 크게 영향을 받는 비타민이기 때문에 이와 같은 차이를 보인 것으로 사료되는데, 본 연구에서 사용한 원유는 젖소가 섭취하는 목초의 비타민 C 함유량이 최고에 다다른 7월 중 생산되었기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 본 실험에서 사용한 원유는 일반적으로 가공·유통되는 원유임을 알 수 있었다.

Table 3은 원유에 존재하는 수용성비타민 5종(L-아스코르브산, 티아민, 리보플라빈, 니코틴산, 폴산)과 지용성비타민 3종(레티놀, 콜레칼시페롤(D₃), 토코페롤)의 함량 및 UHT 살균후 각 비타민별 파괴율을 측정된 결과이다. 원유 중 비타민들은 대체로 소량 함유되어 있음을 알 수 있는데, 특히 폴산과 콜레칼시페롤(D₃)은 파괴율을 논의하기에 앞서 자체 함량이 워낙 적기 때문에 우유제품 제조시 강화할 필요성이 있는 비타민이라 생각되었다. UHT 살균(135°C 4초 처리)은 고온에서 단시간으로 살균하는 방법으로 영양소의 파괴가 비교적 적은 살균법으로 알려져 있는데¹⁷⁾, L-아스코르브산을 제외하고 다른 비타민들의 파괴율은 그다지 크지 않았다. 대부분의 비타민들은 수용액 상태로 존재할 때에 비하여 우유 내에 존재하면 열에 의한 파괴가 상당히 감소하는 경향을 보였으나 L-아스코르브산은 우유 중에 존재할 때에도 75% 이상의 파괴율을 보여 우유제품 제조시 UHT 처리에 의한 감소가 심각할 것이라 생각되었다. 원유 중에 포함되어 있는 티아민은 열에 의한 파괴가 25%로 나타나 우유에 의한 보호효과가 있다고 여겨졌다. 특히 리보플라빈은 수용액 상태에서와 원유 중 포함되어 있을 때 파괴율은 매우 상반되는 경향을 보였다. 리보플라빈은 수용액 상태에

서는 100°C에서 가열시 92% 이상 파괴되는 반면, 원유 중에 포함되어 있을 때에는 UHT 살균처리를 거친 후에도 10% 미만의 파괴율을 보여 식품조직에 의한 보호 효과가 매우 높은 것으로 생각되었다. 지용성 비타민 중 토코페롤은 UHT 처리에 의한 파괴율이 30%가 넘는 것으로 나타나 지용성 비타민 중 열처리에 의해 가장 불안정한 것을 알 수 있었다.

이상의 결과에 의하면 소장점막에서 칼슘과 인의 능동수송 및 뼈에서의 재흡수 등 칼슘과 인의 체내 대사에 매우 중요한 인자로 알려져 있는 콜레칼시페롤(D₃)은 우유 내에는 매우 낮은 농도로 존재하고 있다. 또한 폴산은 아예 검출되지 않았으며 L-아스코르브산과 토코페롤의 경우에는 상당한 파괴율을 보였다. 그러므로 우유제품 제조시 칼슘흡수를 돕는 콜레칼시페롤(D₃), 에너지 대사에 필수적인 티아민, 리보플라빈, 항산화효과로 잘 알려진 토코페롤과 L-아스코르브산 등의 비타민들을 강화할 필요가 있는 것으로 사료되었다.

우유에 비타민을 강화할 경우 가열에 따른 파괴율을 보기 위해 비타민 강화 원유를 기준시료로 하여 UHT 처리후 비타민을 강화한 우유, 비타민을 강화한 후 UHT 처리를 한 우유 및 UHT 처리후 비타민 캡슐을 첨가한 우유의 비타민 함량 및 파괴율을 분석한 결과는 Table 4와 같았다. 원유에 비타민을 강화한 후 UHT 처리를 한 시료에 비해서 UHT 처리를 한 후 비타민을 강화한 시료의 비타민 파괴율이 대체적으로 적은 것으로 나타났다. 이처럼 비타민 강화 후 UHT 처리를 한 경우 파괴율이 높음에도 불구하고 유가공업체에서는 제조과정 과정에서 미생물 오염 등의 위생상의 문제를 우려하여 이 방식을 고수하고 있는 것으로 알려져 있다. 특히 L-아스코르브산은 원유에 강화한 후 UHT 처리를 하였을 때에는 71.07%의 파괴율을 보

Table 3. Comparison of vitamin content in raw milk and in UHT-treated milk

Vitamin	Contents of vitamins in raw milk (ppm)	Contents of vitamins in UHT-treated milk (ppm)	Degree of destruction (%)
L-Ascorbic acid	3.449 ± 1.738	0.812 ± 0.303	76.52 ± 0.17
Thiamin	0.397 ± 0.069	0.295 ± 0.032	25.00 ± 0.46
Riboflavin	1.265 ± 0.087	1.152 ± 0.127	9.45 ± 1.46
Nicotinic acid	1.135 ± 0.213	1.085 ± 0.170	4.39 ± 0.80
Folic acid	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	-
Retinol	0.327 ± 0.145	0.327 ± 0.159	0.00 ± 1.09
Tocopherol	0.545 ± 0.145	0.373 ± 0.199	32.73 ± 1.38
Cholecalciferol(D ₃)	0.028 ± 0.017	0.024 ± 0.018	11.59 ± 1.08

* 분석치는 3반복 실험한 평균값임.

Table 4. Degree of destruction(%) in vitamin fortified milk before and after UHT treatment

Vitamin	Treatment						
	FRM ^a	FMBT ^a		FMAT ^a		CFMAT ^a	
	Content (ppm)	Content (ppm)	D.R. ^b (%)	Content (ppm)	D.R. (%)	Content ^c (ppm)	D.R. (%)
L-Ascorbic acid	63.540	18.382±8.921	71.07±14.04	37.571±3.851	40.87±6.06	59.721±0.953	6.01±1.49
Thiamin	1.095	0.655±0.293	40.18±7.25	0.854±0.389	21.97±2.36	1.080±0.011	1.37±0.70
Riboflavin	1.569	1.280±0.079	18.42±5.53	1.431±0.052	8.77±3.30	-	-
Nicotinic acid	13.169	11.356±0.664	13.77±5.02	11.485±0.553	12.79±4.16	12.060±0.101	8.42±0.94
Folic acid	0.116	0.110±0.003	5.17±2.54	0.111±0.001	5.17±1.12	0.110±0.001	5.17±0.81
Retinol	0.834	0.785±0.028	5.88±4.12	0.785±0.031	5.82±3.31	-	-
Tocopherol	10.740	5.400±0.313	49.72±5.79	5.937±0.394	44.72±3.07	-	-
Cholecalciferol(D ₃)	0.037	0.025±0.012	32.43±7.24	0.032±0.001	13.62±2.84	-	-

^a FRM : vitamin fortifying raw milk

FMBT : vitamin fortifying milk before UHT treatment

FMAT : vitamin fortifying milk after UHT treatment

CFMAT : capsulated-vitamin fortifying milk after UHT treatment

^b D.R. : Destruction ratio (%) compared with vitamin content of FRM

^c capsule contained L-ascorbic acid, thiamin, nicotinic acid and folic acid only.

여 열처리에 의한 파괴가 매우 큰 것으로 나타났으며, UHT 처리 후에 L-아스코르브산을 강화한 경우에도 40%가 넘게 파괴되는 것으로 보아 다른 요인에 의해서도 상당부분 파괴가 일어남을 알 수 있었다. 티아민의 경우에도 원유에 강화한 후 UHT 처리를 했을 때에는 40.18%의 파괴율을 보였으나 UHT 처리 후 강화했을 시에는 21.97%의 파괴율을 나타내 열처리가 배제되었을 때에는 파괴율이 절반 가량 감소하였다. UHT 처리 후 비타민을 캡슐로 하여 강화한 시료의 비타민 파괴율은 비타민을 직접 첨가한 시료에 비해 상당히 낮은 것으로 나타났다. 이는 유지 및 단백질을 주원료로 한 캡슐이 산소, 빛 등을 차단하고 우유 성분과의 상호반응을 방지해 주었기 때문에 비타민의 파괴율이 낮아진 것으로 생각되었다. 니코틴산과 폴산은 수용액 상태에서의 내열성 실험에서도 확인된 바와 같이 수용성 비타민임에도 열처리에 의한 파괴가 거의 일어나지 않았다. 오히려 토크페롤의 경우 원유에 강화한 후 UHT 처리시 파괴율이 거의 50%인 것으로 나타났다.

IV. 요약 및 결론

비타민의 안정성은 온도, pH, 산소, 빛, 금속 등의 요소들에 의해 영향을 받는다. 일반적으로 식품 중 비타민의 함량은 매우 적은 편이다. 완전식품으로 알려진 우유에도 다양한 비타민이 함유되어 있는데 그 함량은 매우 소량인 것으로 확인되었다. 이에 비

타민 강화 우유의 필요성이 대두되었으며 최근에는 다양한 비타민 강화 우유가 출시되고 있다.

이에 본 연구에서는 우유의 일반적인 가열살균방법의 온도-시간 조건을 참고하여 65°C에서 30분, 85°C에서 15초, 100°C에서 5초, 121°C에서 15분간 가열처리한 비타민 용액의 파괴율과 함께 UHT 처리 전후에 우유에 첨가한 비타민의 파괴율 경향을 비교·분석하였다. 리보플라빈은 100°C 이상에서 가열시 수용액 상태에서는 92.22%~100.00%의 파괴율을 나타냈으나 우유에 첨가한 경우에는 20%가 채 안되는 파괴율을 보여 우유조직에 의한 보호효과가 상당히 큰 것으로 나타났다. 레티놀 또한 100°C 이상의 가열처리 조건에서는 우유에 첨가되었을 때 더 안정한 경향을 보였다. 그러나 L-아스코르브산과 콜레칼시페롤(D₃)은 용액상태로 존재할 때와 우유에 첨가했을 때 비슷한 정도의 파괴율을 보였는데 L-아스코르브산은 가열처리에 의한 파괴율의 정도가 심각한 것으로 나타났다. 티아민과 토크페롤은 오히려 우유에 첨가된 상태에서 파괴율이 증가하였다. 분말상태로 첨가한 비타민에 비해 캡슐화하여 첨가한 수용성비타민인 L-아스코르브산, 티아민은 현저히 감소된 파괴율 양상을 보였다. 반면 니코틴산과 폴산은 캡슐화하지 않고 첨가하였을 때에도 가열에 의한 파괴의 정도가 미미하였다.

따라서 우유에 첨가하였을 때 불안정한 경향을 보인 L-아스코르브산, 티아민, 토크페롤과 같은 비타민을 캡슐화하여 첨가한다면 영양강화 본래의 목적을 달성하는데 보다 효과적일 것이라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2001년도 서울대학교 생활과학연구소 연구비의 일부 지원에 의하여 수행된 것으로 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Jiri Davidek, Jan Velisek and Jan Pokorny : Chemical changes during food processing. Amsterdam-New York-Elsevier 1990, 1990
2. R Gatti, MG Gioia and V Cavrini : Analysis and stability study of retinoids in pharmaceuticals by LC with fluorescence detection. J. Pharm. Biomed. Anal., 23:147, 2000
3. Soledad Albala-Hurtado, M. Teresa Veciana-Nogues, Maria Izquierdo-Pulico and Abel Marine-Font : Determination of water-soluble vitamins in infant milk by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. A, 778:247, 1997
4. P Salo-Vaananen, V Ollilainen, P Mattila, K Lehtikoinen, E Salmela-Molsa and V. Piironen : Simultaneous HPLC analysis of fat-soluble vitamins in selected animal products after small-scale extraction. Food Chemistry, 71(4):535, 2000
5. H Qian and M Sheng : Simultaneous determination of fat-soluble vitamins A, D and E and pro-vitamin D2 in animal feeds by one-step extraction and high-performance liquid chromatography analysis. J. Chromatogr. A, 825:127, 1998
6. MM Delgado Zamarreto, A Sanchez Perez, M Sanchez Rodriguez, MC Gomez Perez and J Hernandez Mendez : Determination of fat-soluble vitamins in yogurt by HPLC with electrochemical detection. Talanta, 43(9):1555, 1996
7. In, YM, Jeong, SG, Ham, JS and Kim, HU : Effect of Heat Treatment on the Milk Quality. RDA. J. Livestock Sci., 40(2):120, 1998
8. Kim, SS : Changes in Chemical Components of Milk during Microwave HTST Pasteurization. Korean J. of Food Science and Technology, 31(6):1518, 1999
9. 박성진, 이희덕, 김소희, 정철원, 권태봉 : HPLC를 이용한 수용성 비타민류의 동시 분석. 한국식품과학회 창립 30주년 기념 심포지움 제 61차 학술발표회 및 정기총회, 401, 1998
10. Hiroshi Iwase : Determination of vitamin D₂ in emulsified nutritional supplements by solid-phase extraction and column-switching high-performance liquid chromatography with UV detection. J. Chromatogr. A, 881:189, 2000
11. A Escriva, MJ Esteve, R Farre, A Frigola : Determination of liposoluble vitamins in cooked meals, milk and milk products by liquid chromatography. J. Chromatogr. A, 947:313, 2002.
12. Shelly A Renken and Joseph J Warthesen : Vitamin D Stability in Milk. J. Food Sci., 58(3), 1993
13. Panfili, G, Manzi, P and Piazzoferrato, L : Influence of thermal and other manufacturing stresses on retinol isomerization in milk and dairy products. The Journal of Dairy Research 65(2), 1998.
14. GFM Ball : Water-soluble vitamin assays in human nutrition. Chapman & Hall, 1994.
15. Charlotta Turner and Lennart Mathiasson : Determination of vitamins A and E in milk powder using supercritical fluid extraction for sample clean-up. J. Chromatogr. A, 874:275, 2000
16. Renner, Edmund : Milk and dairy products in human nutrition. Hyoil Publications, 1998
17. Kim, JW : Experimental Studies on the Optimum Pasteurization Condition of the Cow's Milk Produced in Korea. 1. Chemical Composition and Microbiological Aspects of Raw Milk. Res. Rep. Agri. Sci. Tech. Chungnam Nat'l Univ., 14(2), 1987

(2002년 5월 30일 접수, 2002년 9월 16일 채택)