

감마선 조사 처리에 의한 우유의 화학적·세균학적 및 항원성 변화

함준상*·노영배·김승일·김현수·정석근·채현석·안중남·조철훈¹·이완규²
농촌진흥청 축산연구소, ¹한국원자력연구소 방사선이용연구부, ²충북대학교 수의학과

Changes of Chemical, Bacteriological, and Allergenicity of Raw Milk by Gamma Irradiation

J. S. Ham, Y. B. Noh, S. I. Kim, H. S. Kim, S. G. Jeong, H. S. Chae, J. N. Ahn, Cheorun Jo¹
and W. K. Lee²

National Livestock Research Institute RDA, ¹Advanced Radiation Technology Institute
²College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University

ABSTRACT

Effects of heat and gamma irradiation on chemical, microbiological, and immunological changes of raw milk were compared. Free fatty acid content of milk showed increasing tendency according to the increase of heating temperature and irradiation dose, and showed similarity in UHT (ultra high temperature) and 5 kGy irradiation. Total bacterial counts and coliforms were not detected after treatment of LTLT (low temperature long time), HTST (high temperature short time), UHT, and irradiation from 1 to 10 kGy in the milk with initial microbial load at 10^3 CFU/mL initially, but after 7 day storage, were not detected in UHT milk and that irradiated at 3 kGy or above. Heat treatment decreased ($p < 0.05$) arginine, aspartate, iso-leucine, lysine, and methionine content compared to raw milk while irradiation decreased ($p < 0.05$) aspartate, histidine, iso-leucine, leucine, and lysine content, which means irradiation could change primary structure of milk proteins. It was concluded that 5 kGy gamma irradiation treatment of raw milk could give a similar effect to UHT treatment in chemical and microbiological viewpoint, and may reduce allergenicity of raw milk.

(Key words : Gamma irradiation, Milk, Allergenicity)

I. 서 론

1980년대에 방사선 조사에 대해 뉴욕타임즈가 '효과적이고 때로는 저렴하며(다른 처리보다), 저장기간을 수 일에서 수 주간 연장하고, 신선 식품을 운송할 수 있는 거리를 크게 증가시킬 뿐만 아니라 가정에서의 저장 기간을 연장할 수 있다. 가장 중요한 것은 방사선 조사는 세계적으로 해마다 연간 식품 공급의 25~30%로 평가되는 부패

에 의한 손실을 줄일 수 있다'고 보도된 바 있으나(Toby et al., 2004), 시유 및 유제품 생산과 관련된 연구는 1970년대 이후 거의 찾아보기 힘들다. Schweigert(1959)는 우유는 방사선 조사시 풍미 변화에 민감하고 이는 과도한 열처리에서와 유사하다고 표현할 수 있으며, 이를 제거할 수 있는 방법이 메사추세츠 공대에서 개발되었다고 소개한 바 있다. 그럼에도 불구하고 시유 및 유제품 생산에 방사선 조사가 성공적으로 이용되지 못하고 있는 이유는 방사선에 대한 막연한 두려움 때문으로 생각된다. 이런 문제는 경제성만으로는 극복되기 힘들 것으로 생각되며, 다른 장점이 동반

Corresponding author : Jun-Sang Ham, National Livestock Research Institute RDA, 560 Omokchundong Kwonsungu Suwon, Korea, 441-350.

되어야 상업적 이용이 가능할 것으로 여겨진다. 골수 이식 환자를 위한 무균 유제품 디저트(Dong et al., 1992), 식용 및 생물학적 분해가능 포장재(Ciesla et al., 2004) 등은 좋은 예라고 할 수 있다. Lee 등(2001)과 Cho 등(2001)은 우유의 대표적 단백질인 케이션, 락토글로블린, 알부민 등 각각의 단백질 용액에 감마선을 조사하여 유단백질의 항원성이 저감됨을 보여 감마선 조사에 의한 알리지 저감 유제품 제조 가능성을 제시하였으나 우유에 직접 조사는 이루어지지 않았다.

본 연구는 감마선 조사에 의한 알리지 저감 유제품 개발을 위하여 원유의 열처리시와 감마선 조사처리시의 화학적, 미생물적 및 면역적 변화를 비교하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료

본 실험에 사용된 원유는 축산연구소에서 착유된 원유를 사용하였다. 크림분리기(Westfalia, Denmark)로 탈지한 후 Falcon tube(50 mL)에 분주하여 각각 LTLT(63°C, 30분)와 HTST(72°C, 15초)는 수조(비전과학, Korea)에서 처리하였고, UHT(135°C, 4초)는 축산연구소 시험유가공장에 설치된 살균장비(APV, Denmark)를 이용하여 처리하였다. 감마선 조사는 한국원자력연구소(Daejeon, Korea) 내 선원 10만 Ci, Co-60 감마선 조사시설(point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온(14±1°C)에서 시간당 10 kGy의 선량율로 각각 0, 1, 2, 3, 5, 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량의 확인은 alanine dosimeter(지름 5 mm, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구(IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다.

2. 일반성분 분석

우유의 지방, 단백질, 유당, 무지고형분, 유리지방산 함량은 밀코스캔(FT120, FOSS Electric, Denmark)를 이용하여 측정하였다.

3. 미생물 검사

우유의 일반세균수는 페트리필름 배양지법(Aerobic Count Plate Petrifilm, 3M Health Care, USA)을 이용하여 희석액(0.2% 펩톤)으로 희석한 다음, 비올별로 1 mL씩 일반세균용페트리필름 배양지에 접종하여 32°C에서 48시간 배양한 수 붉은색의 콜로니를 계수하였다. 대장균군은 대장균군 측정용 페트리필름(Coliforms Petrifilm, 3M Health Care, USA)을 사용하여 37°C에서 24시간 배양후 가스형성이 있는 붉은색 콜로니를 계수하였다.

4. 아미노산 조성

우유시료 1g을 취하여 6 N HCL 40 mL을 가하고 110°C에서 24시간 가수분해하였다. HCl을 제거하기 위해 rotary evaporator(Eyela, Japan)로 농축후 잔류물을 증류수로 3회 세척후 농축한 후에 여과지로(Toyo, No. 5B) 여과하였다. 여과액을 증류수로 50 mL로 만든 후 아미노산 분석기(HITACHI L-8500A, Japan)로 분석하였다. Cysteine과 methionine은 HCl 첨가전에 안정액(85% formic acid 45 mL + 30% H₂O₂ 5 mL) 20 mL을 가하여 cysteic acid와 methionine sulfone으로 변환시켰다.

5. Competitive Indirect ELISA

우유의 처리에 따른 항원성을 실험하기 위하여 탈지원유를 0.1 M sodium bicarbonate buffer(pH 9.5)에 0.5%의 농도로 용해하여 microplate의 각 well당 200 µl씩 분주하여 4°C에서 24시간 이상 coating한 후 well당 200 µl의 0.05% Tween-20을 함유하는 PBS(PBS-Tween)로 3회 세척하였다. PBS-Tween으로 1/7,000로 희석한 항혈청(Sigma W3501, USA)과 PBS-Tween에 용해한 100 ng protein/mL농도로 희석된 우유시료를 등량 혼합하여 well당 100 µl씩 첨가하고, 37°C에서 한 시간 배양한 다음 Tween-20으로 앞에서와 같이 세척하였다. anti-rabbit IgG-alkaline phosphatase conjugate(Sigma A8025)를 Tween-20에 1/1,000로 희석하여 well당 100 µl씩 주입하고 37°C에서 1시간 반응시켰다. 그 다음 1 M diethanolamine buffer(pH 9.8)에 0.1% 농도로 용해시킨 p-nitrophenylphosphate 용액을 well당 100 µl씩 주입하고 37°C에서 30분간 배양한 후,

5 N NaOH를 well당 20 μ 씩 첨가하여 효소 반응을 중지시키고 ELISA reader로 흡광도(405 nm)를 측정하였다. 상대적 흡광도는 탈지원유를 시료로 얻은 흡광도를 기준으로 백분율로 표시하였다.

6. 통계 분석

얻어진 결과는 SAS 프로그램(2001)을 이용하여 통계분석하였고, Duncan's multiple range test로 5% 수준에서 유의성을 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 일반조성

실험에 사용된 원유의 탈지 후 조성은 표 1에서 보는 바와 같이 단백질 3.15%, 지방 1.69%, 유당 4.96%, 그리고 총고형분 함량은 10.46%였다. 열처리와 감마선 조사에 의해 성분상의 차이는 관찰되지 않았으나, UHT 처리에 의해 단백질과 유당 함량에서 약간 감소를 나타내었다. 유리지방산 함량은 표준편차가 커서 통계적 유의성은 나타나지 않았으나 열처리와 감마선 조사 처리에 의해 증가하는 경향을 나타내었다.

2. 미생물

실험에 사용된 원유의 미생물 수는 표 2에서 보는바와 같이 3.33 log CFU/ml이었으나 열처리 및 감마선 조사 처리후 일반세균 및 대장균군이 검출되지 않았다. 그런데, 4℃에서 1주 경과 후

저온장시간(63℃, 30분) 및 고온단시간(72℃, 15초) 처리유의 일반세균수는 각각 6.38과 6.54 log CFU/ml로 증가하였으며 대장균군수도 각각 6.38 및 6.27 log CFU/ml로 증가하였다. 반면, UHT 처리유는 일주일 후에도 일반세균과 대장균이 검출되지 않았다. 감마선 조사 처리 후에 모두 일반세균 및 대장균군이 검출되지 않았으나, 4℃에서 1주 경과 후 1kGy로 조사시에는 일반세균과 대장균군이 각각 4.11 log와 2.06 log CFU/ml, 2kGy로 조사시에는 일반세균이 1.45 log CFU/ml 검출되었으나 대장균군은 검출되지 않았고, 3kGy 이상 조사시에는 1주후에도 일반세균 및 대장균군이 검출되지 않았다. 따라서, 3kGy 이상의 조사시 UHT와 대등한 살균효과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

3. 아미노산 조성

열처리 또는 감마선 조사에 의한 아미노산 조성을 표 3에 표시하였다. alanine, glycine, phenylalanine, serine, threonine, 및 tyrosine은 열처리 또는 감마선 조사에 의해 조성에 영향 받지 않았다. Arginine, aspartate, iso-leucine, leucine, lysine, methionine은 열처리에 의해 감소되었으나 glutamate와 proline은 증가되었다. 한편 감마선 조사에 의해서는 aspartate, histidine, iso-leucine, leucine, lysine이 감소되었으나 cystein, glutamate, proline이 증가되어 열처리와 조사처리가 아미노산 조성에 영향을 미칠 수 있는 것으로 나타났고, 조성에서 증가의 의미는 상대적으로 변화가 적었음을 의미하며 glutamate와 proline은 열처리와 조사처리에

Table 1. General composition of milk (%)

Treatment	Protein	Fat	Lactose	Total solid	Free Fatty Acid	pH	
Raw milk	3.15	1.69	4.96	10.46	0.25±0.092	6.78	
Heat	LTLT	3.16	1.67	4.98	10.47	0.27±0.002	6.75
	HTST	3.15	1.63	4.98	10.42	0.31±0.023	6.74
	UHT	3.12	1.66	4.86	10.35	0.33±0.001	6.69
Irradiation	1kGy	3.15	1.66	4.97	10.46	0.26±0.047	6.70
	2kGy	3.16	1.66	4.97	10.45	0.30±0.018	6.69
	3kGy	3.16	1.66	4.96	10.45	0.28±0.162	6.67
	5kGy	3.16	1.65	4.95	10.44	0.34±0.048	6.66
	10kGy	3.16	1.65	4.93	10.47	0.38±0.001	6.65

Table 2. Effect of heat and irradiation on standard plate counts and coliforms

Treatment	Same day		After one week	
	SPC	Coliforms	SPC	Coliforms
Raw milk	3.33±0.01	2.92±0.03	7.13±0.05	6.84±0.02
Heat	LTLT	ND ¹⁾	ND	6.38±0.02
	HTST	ND	ND	6.54±0.02
	UHT	ND	ND	ND
Irradiation	1kGy	ND	ND	4.11±0.07
	2kGy	ND	ND	1.45±0.07
	3kGy	ND	ND	ND
	5kGy	ND	ND	ND
	10kGy	ND	ND	ND

¹⁾ Viable colonies were not detected at detection limit < 10¹ CFU/mL

Table 3. Amino acid composition of heat treated and gamma irradiated milk

Treatment	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	HIS	ILE	LEU
Raw milk	3.11	3.93 ^a	7.63 ^a	0.90 ^b	21.76 ^b	1.93	2.64 ^a	4.36 ^a	9.41 ^a
Heat	LTLT	3.15	3.41	7.52	0.89	22.41	1.93	2.58	4.29
	HTST	3.16	3.38	7.57	0.90	22.41	1.95	2.64	4.29
	UHT	3.12	3.77	7.52	0.90	22.46	1.91	2.56	4.33
	Ave	3.14	3.52 ^b	7.54 ^b	0.90 ^b	22.42 ^a	1.93	2.60 ^{ab}	4.30 ^b
Irradiation	1kGy	3.14	3.85	7.52	0.93	22.24	1.90	2.55	4.30
	2kGy	3.13	3.81	7.53	0.97	22.43	1.92	2.56	4.30
	3kGy	3.12	3.54	7.53	0.95	22.42	1.91	2.58	4.28
	5kGy	3.12	3.55	7.50	0.95	22.31	1.92	2.58	4.32
	10kGy	3.15	3.73	7.51	0.98	22.20	1.92	2.58	4.29
	Ave	3.13	3.70 ^{ab}	7.52 ^b	0.96 ^a	22.32 ^a	1.91	2.57 ^b	4.30 ^b
Treatment	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	TYR	VAL	
Raw milk	7.94 ^a	2.18 ^a	4.21	10.49 ^b	5.52	4.34	4.36	5.30 ^a	
Heat	LTLT	7.83	2.15	4.29	10.63	5.54	4.34	4.45	
	HTST	7.80	2.11	4.23	10.61	5.57	4.36	4.47	
	UHT	7.65	2.07	4.19	10.79	5.52	4.33	4.36	
	Ave	7.76 ^b	2.11 ^b	4.23	10.67 ^a	5.54	4.34	4.43	
Irradiation	1kGy	7.79	2.14	4.17	10.76	5.48	4.32	4.35	
	2kGy	7.69	2.18	4.09	10.79	5.53	4.32	4.28	
	3kGy	7.71	2.17	4.18	10.79	5.54	4.34	4.44	
	5kGy	7.71	2.15	4.25	10.75	5.51	4.29	4.47	
	10kGy	7.73	2.19	4.30	10.75	5.49	4.29	4.42	
	Ave	7.72 ^b	2.17 ^a	4.20	10.77 ^a	5.51	4.31	4.39	

모두 안정적임을 나타낸다고 생각된다.

4. cELISA

cELISA로 측정된 각 시료의 흡광도를 원유에 대한 비율로 그림 1에 표시하였다. 우유를 감마선 조사처리시 흡광도가 증가하고 열처리시 감소하는 경향을 나타내었으며, 5 kGy 이상의 조사에서 유의적인 차이를 나타내었다(p<0.05). 기질의 발색 감소는 항원이 많이 존재함을 의미하며, 감마선 조사처리하는 항원을 감소시킴을 알 수 있다. 본 실험에 사용된 antiserum은 whey protein 검출에 사용되는 항혈청으로 유청단백질의 항원성만을 반영한 결과로 생각되나, Cho 등(2001)의 케이신 단백질과 bovine serum albumin보다 α-lactalbumin과 β-lactoglobulin이 감마선 조사로 쉽게 표면 항원 결정기가 파괴되어 항체가 인식할 수 없게 되어 우유 알러지 감소를 위한 감마선 조사기술의 이용이 가능하다는 보고와 Veledo 등(2005)의 유청 단백질중 β-lactoglobulin은 우유내 주요 항원이며 가수분해된 유단백을 원료로 제조된 hypoallergenic formula에 낮은 농도로 존재시에도 알러지 반응을 유발할 수 있다는 보고를 고려할 때 감마선 조사에 의한 우유 내 β-lactoglobulin의 구조적 변화에 대한 심층적인 연구가 필요하며 감마선 조사에 의한 저알러젠 우유 및 유제품 개발이 가능할 것으로 생각된다.

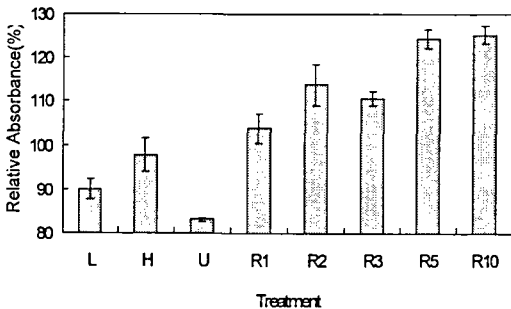


Fig. 1. Relative absorbance of heat and irradiated milk by cELISA.
 L : LTLT H : HTST U : UHT
 R1-R10: From 1 kGy to 10 kGy irradiation

IV. 요약

본 연구는 항원성을 저감한 우유 및 유제품 개

발을 위한 기초자료 도출을 위해 열처리와 감마선 조사 처리시 우유의 화학적, 미생물학적 및 면역적 변화를 비교하였다. 열처리와 감마선 조사처리시 열처리 온도와 조사량이 높을수록 유리지방산 함량이 증가하는 경향을 나타내었으며 UHT 처리시와 5 kGy 조사시 유리지방산 함량은 유사하였다. 10³ CFU/mL 수준의 원유를 저온, 고온, 초고온으로 열처리시와 1~10 kGy로 감마선 조사처리 시 모두 일반세균과 대장균군이 검출되지 않았으나, 일주일 지난 후에도 UHT 처리유와 3 kGy 이상 조사 처리유에서 일반세균과 대장균군이 검출되지 않았다. 원유를 열처리시 arginine, aspartate, iso-leucine, leucine, lysine, methionine이 감소된 반면 조사처리에 의해 aspartate, histidine, iso-leucine, leucine, lysine이 감소되어 열처리와 조사처리가 단백질의 일차구조에도 영향을 미칠 수 있는 것(p<0.05)으로 나타났다. 또한, 우유의 항원성은 감마선 조사처리시 5 kGy 이상에서 유의적(p<0.05)으로 감소하였다. 이상의 결과로 볼 때 5 kGy 정도의 감마선 조사처리로 UHT 처리시와 유사한 화학적, 미생물학적 효과와 우유의 항원성 감소효과를 기대할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 농림부의 농림기술개발연구사업의 지원(2005~2007)으로 수행된 연구 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

V. 인용 문헌

1. Cho, K. H., Yook, H. S., Lee, J. W., Lee, S. Y. and Byun, M. W. 2001. Changes of binding ability of milk-hypersensitive patients' IgE to gamma-irradiated milk proteins. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.* 30, 505-509.
2. Ciesla, K., Salmieri, S., Lacroix, M. and Le Tien, C. 2004. Gamma irradiation influence on physical properties of milk proteins. *Radiat. Phys. Chem.* 71, 93-97.
3. Dong, F. M., Hashisaka, A. E., Rasco, B. A., Einstein, M. A., Mar, D. R. and Aker, S. N. 1992. Irradiated or aseptically prepared frozen dairy desserts: acceptability to bone marrow

- transplant recipients. *J. Am. Diet Assoc.* 92, 719-723.
4. Lee, J. W., Kim, J. E., Yook, H. S., Kang, K. O., Lee, S. Y., Hwang H. J. and Byun, M. W. 2001. Effects of gamma radiation on the allergenic and antigenic properties of milk proteins. *J. Food Prot.* 64, 272-276.
 5. SAS. 2001. SAS/STAT Software for PC. Release 8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.
 6. Schweigert, B. S. 1959. The present status of irradiation of foods in the U.S.A. - Milk and milk products. *Int. J. Appl. Radiat. and Isot.* 6, 164-165.
 7. Toby, A. Ten, E. and Melissa, W. 2004. The more things change...: milk pasteurization, food irradiation, and biotechnology in the *New York Times. The Social Sci. J.* 41, 29-41.