

Gas Liquid Chromatography에 의한 우유의 지방산 조성에 관한 연구

신종철 · 이정근* · 유영진 · 박계인
국립공업연구소 *진국대학교 공과대학
(1972년 7월 11일 수리)

Analysis of the Fatty Acid Composition of Cow's Milk Fat by Gas Liquid Chromatography with Temperature Programming

by

Jong Choul Shin, Jung Keun Lee, Young Jin Yoo and Ke In Park
National Industrial Research Institute, Ministry of Commerce & Industry, Korea
* College of Engineering, Kon Kuk University

(Received July 11, 1972)

Abstract

This paper chose the methods of methylesterification of the use of methoxide, the mixture solution of methanol-benzen-sulfuric acid in transesterification of the fat in cow's milk and modified powder milk and separated by gas liquid chromatography with F.F.A.P., D.E.G.A. as liquid phase.

Quantitative analysis of the fatty acid of milk fat in cow's milk and modified powder milk was determined by gas liquid chromatography using the method of temperature programming which should be used to obtain satisfactory separation of short chain fatty acid on the chromatogram. It was found that the fatty acid composition of cow's milk and modified powder milk are all the major fatty acid of milk fat obtained by GLC analysis. Main components was found to be from butyric acid to arachidonic acid showing Fig. 3, 4, 5 and Table 4, 5, 6, 7, 8, 9.

1. 서 론

유지로 부터 지방산을 분리, 정량하는 데 사용된 종래의 분석방법들은 정확성이 부족하고 또한 장시간을 요하였으나 근래에는 James^(1,2)와 Martine이 발전시킨 gas liquid chromatography(이하 GLC)방법이 널리 이용되고 있다.

Gas liquid chromatography⁽³⁾ 방법으로 지방산을 분리, 정량하는 데는 탄소수가 같은 포화 및 불포화지방산을 완전히 분리할 수 있는 데는 stationary phase, esterification, detector system, column packing method, carrier gas등이 문제가 된다. 이중 stationary phase는 Orr⁽⁴⁾, Lipsky^(5,6)와 Landowne, Craig⁽⁷⁾등이 new stationary liquid phase인 polyester substrator를 개발하여

일반적인 gas liquid chromatography 분석의 routine matter가 되게 하였고 Henly⁽⁶⁾, Schlenk⁽⁶⁾가 stationary phase에 관하여 총괄적으로 논한 바 있다.

각 ester에 대한 column 충전제의 분리능에 대하여는 Hornstein⁽¹⁰⁾, Craig⁽⁷⁾, 新田⁽¹¹⁾ 등 제책가 보고하였다.

GLC의 detector system에 가장 널리 이용되고 있는 thermal conductivity는 10^{-6} g까지 검출할 수 있으나 flame ionization detector는 10^{-9} g까지 검출할 수 있다 하였고 Golay⁽¹²⁾는 ionization detector와 Golay column을 사용하여 장쇄의 포화 및 불포화지방산 methyl ester를 분석한 결과를 발표하였다.

우유지방산과 그 구성에 관하여는 Jack⁽¹³⁾ Hansen⁽¹⁴⁾ 등의 총괄적인 연구가 있고, 1956년 이후 GLC 방법에 의한 우유지방과 butter fat의 총지방산의 분석에 관한 많은 연구들이⁽¹⁵⁻²⁰⁾ 있다. 특히 James와 Martine⁽²⁾은 양유지방으로 부터 지방산을 GLC 방법으로 분석하였으나 Bovin milk fat의 전지방을 분석하는 데는 널리 이용될 수 없었다. Hawke⁽³¹⁾, Patton, Keeney⁽³²⁾는 비휘발성 지방산의 methyl ester와 steam volatile acid를 분리하였고 Thompson⁽³⁰⁾은 우유지방을 high melting glyceride fraction으로 하여 분석하였다. 한편 Hansen⁽¹⁴⁾의 공동연구자들은 우유중에 있는 C₁₆, C₂₁, C₂₃ 등의 기수 포화지방산의 극미량과 C₂₀~C₂₆의 우수 지방산 존재를 확인하기 위하여 GLC 방법을 시도하였고, Insull⁽³³⁾등도 상이한 두 종류의 stationary phase와 두 column을 이용하여 인유지방의 지방산 39종류를 분리함에 성공하였고, Paul⁽³⁴⁾ 등은 fractionation과 GLC를 조합하는 분리방법을 적용하여 우유 지방에서 60종 이상의 지방산을 분리, 확인 하였다. 또 Patton, ⁽³⁵⁾은 우유지방을 pancreatic lipase로 가수 분해시켜 C₈~C₁₈의 지방산을 분석하였으며 Samuels⁽²⁸⁾은 조제분유와 유지방을 GLC 방법에 의해서 완전히 분석하였다. 이들의도 佐佐木⁽³⁶⁾은 일본산 우유지방의 지방산 구성에 관해서 보고하였고, 中西와 中江⁽³⁷⁾ 등은 우유중의 저급지방산에 관한 발표를 하였다.

이상과 같이 지방에서 지방산을 분석하는 데는 주로 GLC 방법으로 행하고 있으나 우유지방은 저급지방산에서 고급지방산까지의 포화지방산과 불포화지방산을 함유하고 있어 타지방의 지방산 조성보다 복잡하기 때문에 GLC 방법으로 분석하는 데 많은 문제점을 내포하고 있다.

특히 저급지방산인 butyric acid, caproic acid의 methyl ester는 휘발성이 크고, 수용성인 관계로 chromatogram 첫 부분에 short chained ester류의 peak가 집중되어 peak area를 구하기 어렵게 되고 이 휘발성지방산 methyl

ester의 손실이 일어나면 다른 지방산 조성의 정확성에 영향을 미치게 하기 때문에 가능한 한 휘발성 지방산 methyl ester의 손실이 없도록 하는 방법을 강구하여야 될 것 같다.

Gander⁽³⁹⁾의 공동연구자들은 GLC 방법으로 우유지방산을 분석할 때 지방산의 methyl ester는 D.E.G.S. column을 사용하고 butyl ester는 Apiezon column과 temperature programming 방법을 사용하였으며 특히 저급지방산 C₄, C₆, C₈은 butyl ester로 하고 그 나머지 지방산은 methyl ester로 하여 측정된 것은 butyl ester가 methyl ester보다 휘발성이 적은 점을 고려했 것이다.

Smith⁽²⁹⁾는 ethyl chloride 용매를 사용하여 methanolysis procedure로 methyl ester 제법을 표준화하고 methyl butylate의 손실에 대한 correction factor를 구제화하여 chromatogram 첫 부분에 집중된 저급지방산의 methyl ester peak를 분리하기 위하여 chart speed를 변화시키는 방법으로 우유지방의 지방산조성을 정량분석하였다.

종래 GLC 분석방법은 일정한 온도에서 column을 작동하였으나 temperature programming^(38~45) (이하 T.P.) 방법은 분석단계 마다 계속적으로 온도를 상승시키며 구성성분을 분리하는 것을 말한다. 이와같은 방법으로 분석하면 짧은 시간내에 peak도 일정한 모양으로 잘 분리할 수 있으며 정량분석도 할 수 있다.

GLC에 있어서 T.P.방법의 연구개발은 Zhukhovitskii⁽⁴⁶⁾ 등에 의해서 발전되었고 Dal Nogare⁽⁴⁷⁾, Mcfadden⁽⁴⁸⁾, Ryce⁽⁴⁹⁾ 등은 T.P.에 관한 총괄적인 보고를 하였으며 이들 연구자들은 Linear programming temperature gas chromatography에 있어서 일정한 온도변화를 GLC에 응용하는 것을 연구하였다. Habgood⁽⁵⁰⁾은 L.P.T.G.C.에 있어서 retention temperature, Isothermal retention volume의 관계를 수학적인 면에서 연구보고하였고 Dal Nogare⁽⁵¹⁾, Giddings⁽⁵²⁾등도 이와 비슷한 것을 연구한 바 있다. Glueckauf,⁽⁵³⁾ Purnell⁽⁵⁴⁾ 등은 각 성분 peak의 분리문제에 관해서 불순물 함유정도 resolution time ratio 분리에 관여된 제반 요인에 관해서 연구 검토하였고, Fryer, Habgood⁽⁴¹⁾은 P.T.G.C.에 있어서 resolution에 기여하는 인자와 완전 분리를 성취할 수 있도록 하는 최적조건을 얻기위하여 연구한 바가 있다. P.T.G.C. 방법으로 Griffiths는⁽⁵⁵⁾ 유기할로젠화합물을 분리, 정량하였다. 또한 Calvin⁽⁴⁴⁾은 G.C. separation의 최적조건을 검토하였다. Ashtury⁽⁵⁶⁾, Dal Nogare⁽⁵¹⁾, Drew⁽⁵⁷⁾, Greene⁽⁵⁸⁾, Eggertsen⁽⁴²⁾ 등은 분리용 column에 T.P.의 새로운 기법을 도입하여 넓은 범위에 걸친 동족체 및 유사성분을 single stage로 분석이

가능하도록 하는 연구를 하였다. 이와같은 방법으로 Gander⁽³⁹⁾와 Deman⁽⁴⁰⁾은 우유지방의 지방산 조성을 분석하였으며 Deman은 Smith⁽²⁹⁾의 방법으로는 휘발성 지방산의 손실이 항상 동일하지 않기 때문에 그러한 과정에서 얻어지는 결과가 일치하는지의 여부에 대해서 의견을 달리하여 다음과 같은 점을 고려하면 좋은 결과를 얻을 수 있다고 주장하였다.

휘발성 ester의 손실이 없고 한 동작의 분석으로 methyl ester를 완전히 분석하여야 한다. 한 chromatogram에 대해서 저급지방산의 만족할만한 분리를 하기 위해서는 T.P. 방법을 사용하여야 한다.

그러나 상기의 저급지방산 ester는 휘발성이므로 GLC로 분석하기전 용제를 제거할 동안에 손실을 가져오므로 원 지방산 조성을 나타내는 ester의 mixture를 제조하는 데 esterification 방법^(29,39,40,59-68), 추출용제(solvent), 분리 column등도 고려 하여야 한다. 더욱이 short-long chain ester의 분자량은 크게 상이하기 때문에 column 온도, T.P. stationary phase, two separate column fractionation등을 혼용해서 재분리 하지 않고서는 optimum resolution을 얻기 곤란하다.

본 연구에서는 상기와 같은 여러 문제점을 고려하여 0.025 N sodium methylated re methylated 하고 용제는 추출하지 않은 채 그대로 D.E.G.A column과 T.P. 방법을 적용, GLC로 분리 정량 하였든 바 이 분석결과는 Smith의 분석수치와 유사한 결과를 얻었다. 또한 본 연구에서는 Deman method와 Downing^(61,62)의 방법으로 methyl ester를 조제한후 F.F.A.P., D.E.G.A. column을 장치하고 T.P.방법을 이용하여 국산 우유 및 조제분유에 함유된 지방산 조성을 GLC로 분석하였고 국산 조제분유의 지방산 조성과 외산 조제분유의 지방산 조성을 비교 검토한 결과 그 일부를 보고한다.

2. 실험방법

1) 지방정량^(69,70)

AOAC 및 일본유지제품시험법에 준하여 정량하였다.

2) 우유지방의 추출⁽⁷⁰⁾

Crossfeld method로 우유지방을 추출하였다.

3) 산가⁽⁷¹⁾, 김화가^(69,71,72), 옥소가^(69,71)

AOAC 및 일본유지제품시험법에 준하여 분석하였다.

4) GLC에 의한 지방산 분리

A. 지방산 methyl ester 조제용 장치 및 용구

1. Ester용 flask

2. 환류냉각기

3. 300 ml 깔대기

4. 200 ml flask

5. 질소 gas bomb

B. 지방산 methyl ester 조제용 reagents

1. H₂SO₄ (G.R).

2. Benzene (S.P. Merk Co.)

3. Methanol(absolute)

4. Petroleum ether

specific gravity 0.62~0.67

distillating 30°C~70°C

5. Anhydrous sodium sulfate

6. 1% Methyl orange

7. Sulfuric acid-benzene-methanol, Benzen:methanol (무수) (1:3, v/vc%) 혼합액 230 ml에 c-H₂SO₄ 2 ml를 첨가한것

8. Standard fatty acid methyl ester(각종) (Poly Science Co. 제)

C. 분석장치 및 실험조건

1. Instrument

Varian Aerograph 202 with flame ionization detector

2. Column

a) 20'×1/8" stainless steel with 5% F.F. A.P.*1 on chromosorb w 60/80 mesh

b) 4m×1/8" Copper tube with D.E.G.A.*2
*1 Polyethylene glycol+2-nitro terephthalic acid (이하 F.F.A.P.)

*2 Diethylene glycol adipate(이하 D.E.G.A.) (polyester 30%+H₃PO₄ 5%)

3. Temperature

Column temp. 55~225°C at 10°C/min

Injector temp. 220°C

Detector temp. 250°C

4. Gas

Carrier gas 30 ml/min as N₂

30 ml/min as H₂

350 ml/min as air

5. Sensitivity

10⁻¹¹, attenuator×16

6. Chart speed

20"/60 min=1/3in/hr

D. Methyl esterification^(61,62)

D-1: 시료 1 g을 ester화용 flask에 취하고 H₂SO₄-benzene methanol 용액 60 ml를 가하여 녹인다. 이 반응 flask에 환류냉각기를 붙이고 가열하여 2시간 반 비등

시킨 후냉각한다. 이 반응액을 분액 깔대기에 옮기고 petroleum ether 50 ml로 2~3회 추출한다. 추출액은 합하고 매회 증류수 20 ml로 methyl orange 지시약이 산성을 나타내지 않을 때까지 씻고 무수망초로 탈수 한 후 질소기류 하에서 용제 일부를 제거하든지 또는 vaccum oven에서 용제를 제거하고 이것을 다시 petroleum ether로 일정량을 희석하여 GLC 분석용 시료로 한다.

D-2 : 두수 methanol 용액에 sodium metal을 녹여 조제한 0.025 N sodium methylated solution에 시료를 녹인 후 시험관을 봉하고 60°C의 항온조에 약 1시간 정도 두어 용액의 two phase가 변화되어 one phase가 되면 methylation은 거의 완료된 것이다. 지방대 methanol의 사용비는 지방중량 one part에 대해서 methanol 2 volume을 사용한다. 용매로 추출하지 않고 esterrification mixture를 개봉하여 그대로 GLC 분석용 시료로 한다.

E. Retention time^(73~77)

각 지방산 methyl ester의 retention time은 전기 실험 조건에서 Table 1과 같으며 저급지방산과 고급지방산의 log R_t는 Fig. 1과 같다.

Table 1. Retention time of methyl ester of fatty acid

Component	Carbon number	Retention time (min)	Log Rt(min)
Butyric acid	C ₄	2.83	0.4518
Caproic acid	C ₆	3.88	0.5888
Caprylic acid	C ₈	5.17	0.7135
Capric acid	C ₁₀	6.41	0.8062
Lauric acid	C ₁₂	7.60	0.8808
Myristic acid	C ₁₄	8.75	0.9420
Palmitic acid	C ₁₆	10.06	1.0253
Stearic acid	C ₁₈	12.05	1.0809
Oleic acid	C ₁₈ F ₁	12.37	1.0923
Linoleic acid	C ₁₈ F ₂	12.91	1.1109
Linolenic acid	C ₁₈ F ₃	13.45	1.1319
Arachidonic acid	C ₂₀	14.50	1.1614

F. Gas liquid chromatographic analysis

F-1: Gas liquid chromatographic analysis에 있어서 single polyester column을 사용하고 temperature programming 방법을 적용하면 chromatogram base line의 유동이 편류(偏流)되며 이 편류는 column bleeding으로 인하여 생긴다.

GLC 장치 제작자들은 이 편류는 두 평행 column을 사용하면 쉽게 조정된다고 주장한다. 그러나 실제에 있어서 두 column을 통하여 흐르는 gas flow의 regulation 때문에 적선의 base line을 얻기가 어렵다. 상업적

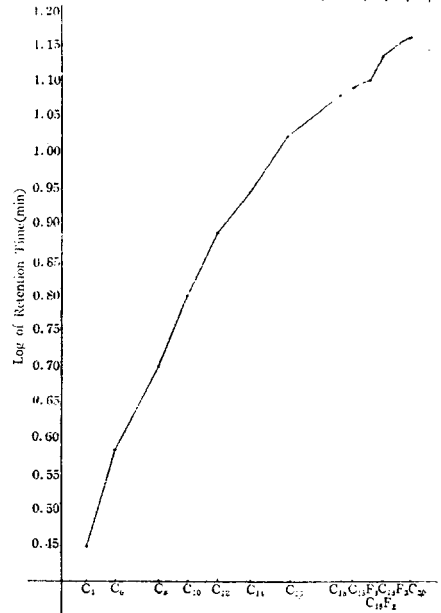


Fig. 1. Relation between Log Rt and carbon number of fatty acid methyl ester

으로 제조된 diethylene glycol, ethylene glycol substrate 등 column은 장기간 주의 깊게 stabilizing 하지 않으면 번덕스러운 결과를 준다.

F-2: Methyl ester는 Deman method와 일본유지 및 유지제품시험법이 제정한 II-D, 19-70 지방산 methyl ester의 조제 방법에 따라 조제하였다. II-D, 19-70 방법으로 methyl ester를 조제할 시 용제 증발과정중 저급지방산인 C₄~C₆의 손실이 있었다. 그러나 Deman method로 methyl ester를 조제하였을 시는 손실이 전연 없었다. 이 두 방법으로 조제한 methyl ester를 stationary phase가 다른 두 column 즉 F.F.A.P.와 D.E.G.A로 실시한 chromatogram의 Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5,

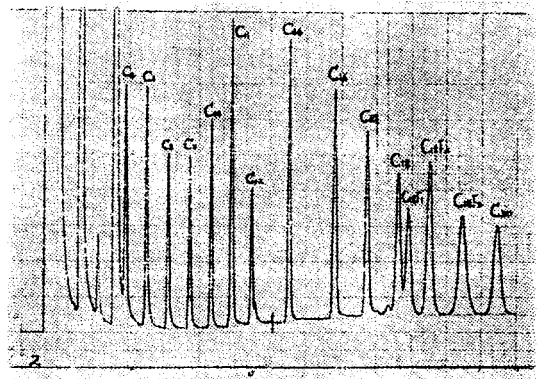


Fig. 2. Gas chromatogram of components of standard fatty acid of methyl ester

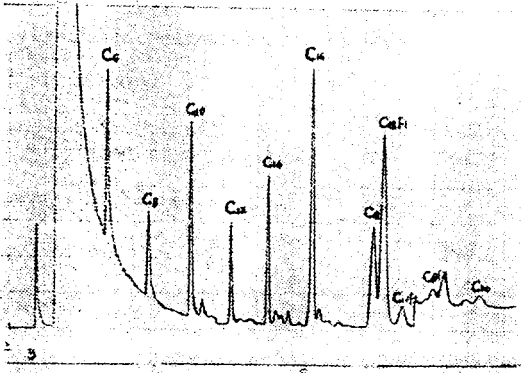


Fig. 3. Gas chromatogram of fatty acid methyl ester from milk fat by GLC on F.F.A.P. column (solvent : methanol)

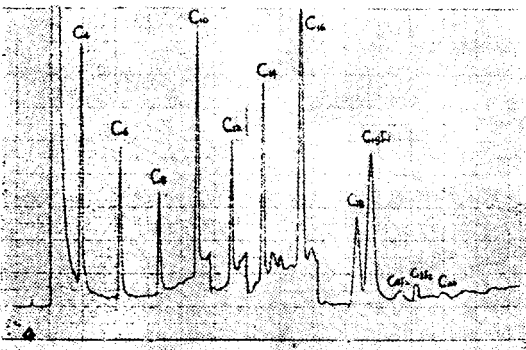


Fig. 4. Gas chromatogram of fatty acid methyl ester from milk fat by GLC on D.E.G.A. A. column (solvent : methanol)

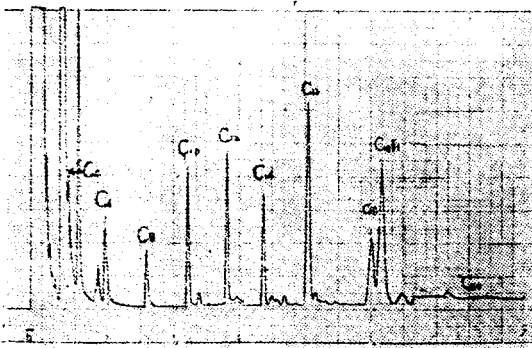


Fig. 5. Gas chromatogram of fatty acid methyl ester from milk fat by GLC on F.F.A.P. column (solvent : petroleum ether)

Fig. 6을 보면 Deman method,에 의한 CH_3ONa 용매의 methyl ester mixture를 F.F.A.P. column (Fig. 3)을 사용하여 GLC로 분리한 결과 C_4 가 용매와 overlapping 되는 것외에는 분리능력은 좋으며 D.E.G.A. column을 사용하였을 때는 C_4 와 용매의 overlapping은 없고 C_{18}F_3 이상의 분리능은 좋지 않고 base line이 번덕스러운 결과를 나타내고 있다. (Fig.3) II-D,19-70의 petroleum ether 용매의 methyl ester를 F.F.A.P. column을 사용하여 GLC로 분리할 때는 앞서 언급한 바와 같이 용매 증발과 정중의 손실로 $\text{C}_4 \sim \text{C}_{20}$ 까지의 분리능과 base line은 직선으로 분리되었다. (Fig.5) 이 결과로 미루어 보아 $\text{C}_4 \sim \text{C}_{20}$ 까지의 포화 및 불포화지방산은 거의 완전하게 분리할 수 있다고 생각된다. 이 결과는 Smith⁽²⁰⁾가 사용한 방법(0.1N methanolic KOH로 methyl ester 화용매로 하고 ethyl chloride로 추출하여 D.E.G.S. column으로 GLC 분석한 결과)으로 얻은 수치와 유사한 결과를 준다.

본 연구에서는 column temperature를 매분당 10°C 씩 온도를 상승시키는 temperature programming을 시도하여 얻은 chromatogram을 고찰한 바 포화 및 불포화 고급지방산은 완전히 분리 정량할 수 있는 결과를 얻었고 base line도 비교적 직선임을 확인할 수 있었다. 따라서 F.F.A.P. column은 D.E.G.A.보다 base line이 안정화되었으며 D.E.G.A.는 저급지방산보다 고급지방산 분리시에 약간 base line이 위쪽으로 올라가는 경향이 있었다.

F-3: Correction factor는 methyl ester의 중량 백분율(%)에 대한 peak area로 산출하였다. 표준 methyl ester 혼합물의 chromatogram은 Fig. 2와 같고 각각의 correction factor는 Table 2와 같다. Smith⁽²⁰⁾는 peak area는 혼합물의 지방산 ester 중량 백분율(weight percent)과 비례관계가 없으며 carbon chain의 길이가 적을수록 correction factor는 감소되며 butyric acid는 이례적이라 하였다. 어떤 연구자들은 peak area가 지방산 ester 중량 분배비와 유사하다고 할지라도 본 연구의 correction factor F.F.A.P. column과 D.E.G.A. column의 것을 보면 Deman⁽⁴⁰⁾의 결과는 탄소수가 적을수록 감소되었으나 본 연구결과의 F.F.A.P. column은 Table 2와 같이 증가되었고, D.E.G.A.는 탄소수의 증가에 따라 증가되고 증가되는 비율은 Gander⁽³⁹⁾의 연구결과와 유사하다.

Correction을 위한 calibration에 있어서 Sheppard⁽⁷⁶⁾, 등은 β -ionization, hydrogen flame ionization detector나 thermal conductivity cell을 사용하든 간에 GLC로 지방산 ester를 정량할 때는 반드시 instrument를 calibration하여야 된다고 하였고, Martin⁽⁷⁷⁾는 titration

Table 2. Correction factors for the conversion of peak areas of chromatograms to weight percentage methyl ester

Carbon No	From Present Study		Smith ⁽³⁾	Deman ⁽⁴⁾	Gander ⁽⁵⁾
	F.F.A.P. ⁽¹⁾	D.E.G.A. ⁽²⁾			
C ₄	1.27	0.87	1.07	0.74	1.65*
C ₆	1.25	0.84	0.84	0.77	1.26*
C ₈	1.26	0.88	0.86	0.81	1.04*
C ₁₀	1.25	0.87	0.87	0.86	0.98°
C ₁₂	1.04	0.91	0.79	0.91	0.98°
C ₁₄	1.03	0.96	0.92	0.96	0.99°
C ₁₆	1.00	1.04	1.02	1.01	0.95
C ₁₈	1.00	1.08	1.08	1.06	0.99°
C ₁₈ ⁼¹	0.77	1.11	1.08	1.10	1.09°
C ₁₈ ⁼²	0.81	1.13	1.10	1.15	1.09°
C ₁₈ ⁼³	0.69	1.18	1.17	1.20	1.09°
C ₂₀	0.55	—	—	—	—

(1) Methyl ester by methanolysis (Sulfuric acid-benzene methanol) on F.F.A.P. column after evaporation P.E.

(2) Methyl ester by CH₃ONa soln. D.E.G.A. column

(3) Methyl ester by methanolysis(0.1N methanolic KOH)on D.E.G.S. column after evaporation of ethyl chloride.

(4) Methyl ester by 0.025 N CH₃ONa soln. on D.E.G.S. column

(5) * Determined as butyl ester on Apiezon column

° Determined as methyl ester on D.E.G.S. column

또는 gas density를 제외하고는 calibration할 수 있는 ideal detector는 없다고 의견을 표시한바 있으며, William⁽⁷⁸⁾는 carbon number가 C₆보다 적은 것을 hydrogen flame ionization detector로 분리할 경우에는 비례적인 결과를 보여준다고 하였다. Ettre와 Kabot⁽⁷⁹⁾는 capillary column과 hydrogen flame ionization detector를 사용하여 지방산 methyl ester의 carbon number의 순서에 따라 relative molar response가 직선적으로 비례한다 하였다. Sternberg⁽⁸⁰⁾도 Ettre,⁽⁷⁹⁾ 등의 연구결과와 유사한 결론을 내렸고 McNair⁽⁸¹⁾도 β -ionization detector로 정량적인 분석을 할 때는 각 성분에 대해서 각각 calibration을 하여야 된다고 하였다. Jamieson⁽⁸²⁾은 동족체에 대해서 response 분자량 사이에는 어떤 상관관계가 성립한다고 했으며, Horning⁽⁸³⁾은 분자량(MW)에 대해서 직선적인 관계가 있다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 Table 2와 같은 correction factor를 구하고 이에 관련된 여러 보문과 비교하였다.

F-4: 문헌에 보고된 internal standard에 대한 연구보문은 Hornstein⁽⁶⁵⁾ 등 공동연구자들이 free fatty acid를 추출하기 전에 meat fat에 internal standard를 첨가하여 분석하였고, Gehrke⁽⁸⁴⁾ 등은 우유지방의 지방산을 측정하기 위하여 internal standard method를 사용하여 우유에 함유된 지방산 조성을 연구하였고, Iden⁽⁸⁵⁾ 등은

tall oil의 지방산을 internal standard 방법을 사용하여 GLC로 분석하였다.

F-5: Recording chart상의 면적측정은 종이를 잘라 무게를 측정하는 방법, planimeter를 써서 측정하는 방법, half-band width에 의한 방법, record에 부착된 자동적분계에 의한 방법등이 있다. 일반적으로 널리 사용되는 half-band width에 의한 각 peak의 면적은 peak 높이의 1/2지점 폭 (width)에 peak height⁽⁸⁶⁾를 곱하여 peak가 sharp하게 분리되지 않을 경우 즉 stearate, oleate의 peak 면적은 거의 triangles⁽⁸⁷⁾ 방법으로 계산한다. 본 연구에서는 GLC에 연결된 자동적분계에서 peak의 면적이 계산되었다. 각 peak area는 모든 성분 조성에 대한 전 peak의 percentage로 표시하였다. Smith⁽²⁹⁾는 각 ester에 대한 area percentage가 mole percent 보다는 weight percent와 더 밀접하게 관련된다는 것을 보여주고 있다. 그러나 어느 경우에도 correction factor는 정량적인 계산에 응용된다고 하며 표준편차 (standard deviation)는 관측된 peak area percent의 data 보다는 더 정확성과 재현성을 나타내준다고 하였다. 또한 Smith는 각 methyl ester의 standard curve에 대한 correction factor를 구하는 것이 좋다고 하였으며 일반적으로 검체의 양에 따라서 최저변동 보정은 internal normalization procedure를 따르게 된다.

3. 결과 및 고찰

3-1 : 시판우유 국산 및 외산 조제분유의 지방함량, 요오드가, 산가, 검화가는 Table 3 과 같으며 시판우유의 요오드가는 32.8~38.9, 국산 조제분유의 요오드가는 최저 34.7, 최고 36.8, 외산 조제분유중 미국산의 요오드가는 77.5, 일본산은 35.1를 나타내고 있다. 이 결과로 미루어 보면 시판우유 국산 조제분유 및 일산 조제분유는 비슷한 수치를 나타내나, 미국산은 특별히 높은 수치를 보여주고 있다. 이 결과는 Jack⁽⁶⁸⁾ (I.V. 32.4),

Hansen⁽⁶⁹⁾ (I.V., 39.6), Samuel⁽²⁸⁾ (I.V., 35.0), Smith⁽²⁰⁾ (I.V., 35.89, 27.4) 등의 연구결과와 佐佐木⁽⁵⁰⁾의 문헌치 human milk (I.V., 44.1~46.9), cow's milk (I.V., 31.9~39.6)와 유사한 결과를 보여주고 있다. 검화가는 시판우유나 조제분유 모두 유사한 결과를 보여준다. 그 범위는 최저 217, 최고 228이다. 시판우유의 지방함량은 3.1~3.3%이고 조제분유는 최저 18.91 최고 26.55이며 국산은 거의 19.58이상이고 미국산은 특히 지방함량이 월등히 많다.

3-2 : 한국산 우유의 지방산 조성은 Table 4, Table 5,

Table 3. The characteristic and physical properties of milk fat from cow's milk and modified powder milk

sample	Modified powder milk					Cow's milk		
	Domestic			Foreign		6	7	8
	1	2	3	4	5			
Fat content(%)	19.72	19.58	19.85	26.55	18.91	3.2	3.1	3.3
Saponification value	224	224	213	217	228	225	226	220
Iodine value	34.7	34.5	36.8	77.7	35.1	38.8	32.8	38.8
Acid value	2.13	1.91	0.47	0.93	2.06	—	—	—

Table 6과 같고 이 결과는 F.F.A.P., D.E.G.A. 등 column 을 선택하여 사용함과 동시 methyl esterification 방법을 달리하고 GLC 로 분리 정량하여 얻은 결과이다. 이 지방산 조성의 chromatogram pattern은 Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5와 같다. Column 과 methyl ester 의 제조방법이 상이함에 따라 얻어진 결과도 상이하었다. Table 4는 II-D, 19-70 방법에 따라 methyl ester를 조제한 것을 F.F.A.P. column 으로 분리한 결과이며 그 대표적인 chromatogram은 Fig. 5이다. 이 방법은 C₄~C₂₀까지의 포화 및 불포화지방산이 잘 분리된 것을 보여주고 Table 4의 data를 보면 methyl ester 조제중 저급지방산의 손실에 기인됨을 Table 5와 비교하므로써 알 수 있다. Fig. 3의 chromatogram data는 Table 6이며 이것은 Demane 방법에 준하여 methyl ester를 조제하고 F.F.A.P. column를 사용하여 얻은 결과인데 C₄가 용매 CH₃ONa와 overlapping되어 분리되지 못하였으나 Table 4와 Table 5의 data를 보면 Table 4의 저급지방산 함량은 Table 5의 1/3정도이다. 이것은 저급지방산은 휘발성이 강하므로 용매 증발시에 손실된 것을 보여주는 것이다. 국산 우유중의 지방산 분석결과 C₄를 제외 한 C₆, C₈, C₁₀까지는 Smith⁽²⁰⁾, Samuel⁽²⁸⁾, Jack⁽⁶⁸⁾ Handerson 의 분석치와 유사한 결과를 얻었고 특히 C₄에 있어 평균치 2.81은 Samuel등의 결과와 일치하고 다른 연구자들의 분석치 6.7~10.5와는 아주 상이한 결

과를 보여주고 있다. C₁₂, C₁₄는 Hansen⁽⁶⁹⁾, Hawke⁽⁵¹⁾의 연구결과와 같고 C₁₈, C₁₈F₁은 Smith의 연구결과보다 높은 수치를 나타내고 있다. 국산 우유지방의 포화 및 불포화지방산 비는 평균 61.74 : 28.26이고, 문헌치^(90,91)는 59.2 : 40.8이다. 그리고 우유지방에 함유된 기수지 지방산에 관해서는 제2보에서 규명할 예정이다.

Table 4. Analysis of milk fatty acid in cow's milk by GLC on F.F.A.P. as methyl ester which was prepared by modified Dowling method

Carbon No.	sample	1	2	3
C ₄	T	0.54	0.81	0.81
C ₆	0.91	1.07	1.77	1.77
C ₈	1.03	0.82	0.82	0.82
C ₁₀	3.44	3.09	3.16	3.16
C ₁₂	2.77	2.69	2.46	2.46
C ₁₄	8.90	9.60	9.81	9.81
C ₁₆	23.90	25.52	25.95	25.95
C ₁₈	16.94	15.60	15.27	15.27
C ₁₈ ⁼¹	37.11	36.92	36.59	36.59
C ₁₈ ⁼²	4.24	3.61	3.37	3.37
C ₁₈ ⁼³	0.45	0.29	—	—
C ₂₀	0.31	0.26	—	—

Table 5. Analysis of milk fatty acid in cow's milk by GLC on D.E.G.A. as methyl ester which was prepared by Deman methods

Carbon No. \ sample	1	2	3
C ₄	2.81	2.78	2.81
C ₆	2.53	2.34	2.48
C ₈	1.64	1.60	1.57
C ₁₀	3.59	3.26	3.28
C ₁₂	2.87	2.49	2.56
C ₁₄	9.80	9.51	9.31
C ₁₆	24.22	25.06	26.07
C ₁₈	15.49	15.20	15.04
C ₁₈ F ₁	34.43	34.50	34.17
C ₁₈ F ₂	3.75	3.48	3.37
C ₁₈ F ₃	T	T	T
C ₂₀	—	—	—

Table 6. Analysis of milk fatty acid in cow's milk on F.F.A.P. as methyl ester which was prepared by Deman methods

Carbon No. \ Sample	1	2	3
C ₄	—	—	—
C ₆	2.62	2.39	2.15
C ₈	1.78	1.68	1.58
C ₁₀	3.45	3.18	3.27
C ₁₂	2.97	2.87	2.53
C ₁₄	10.98	10.47	10.82
C ₁₆	24.54	25.38	26.36
C ₁₈	15.28	15.14	15.13
C ₁₈ F ₁	34.54	34.65	34.73
C ₁₈ F ₂	3.47	3.64	3.56
C ₁₈ F ₃	0.37	0.51	0.49
C ₂₀	0.22	0.13	0.24

3-3 : 조제유(조제분유)는 우유의 단백질, 지방, 당(糖) 기타 필수 영양소를 가공처리하여 유아 영양으로서 모유와 같은지 또는 일층 효과가 높은 모유 대응으로 조제된 우유(조제분유)를 선진국에서는 이미 제조하고 있다. 조제유는 유아 발육에 필요한 영양소를 함유하고 있어야

하며 소화성등도 모유와 근사하여야 한다. 우유는 모유보다 단백질, casein, 광물질(Ca, P, K, Na)등이 풍부하고 농후한 반면 유당(lactose)은 적다. 특히 지방산에 있어서 우유는 모유보다 포화지방산이 많고 불포화지방산이 적으며 그중 필수지방산(linolenic acid, arachidonic acid)은 1/10 정도에 지나지 않는다. 조제분유제조에 있어서 선진국에서는 우유에 whey를 혼합하여 단백질, 유당을 조정하고 우유지방을 아자유, 코코아, 버터, olive유, 특수동물성유, 간유등으로 치환하여 필수지방산등 우유 특성을 모유와 유사하게 하기 상품화 한 것을 humanized milk라 하며 아래와 같은 제품(90)이 판매되고 있다. Alete, Frühalet Humana, Correla, Pelargon(이상 독일), S.M.A., Similac, Reolac, Biolac, Drygo, Lacton, Formulac(이상 미국), Milkotal(스웨덴)등 이와같이 본 연구에서는 도유화 우의 상기 제조소중 지방산 조성에 관해서 국산 조제분유와 외국산 조제분유를 비교 검토하고 국산 조제분유의 지방산 조성을 규명하고자 하였다. 조제분유의 지방산 조성

Table 7. Analysis of milk fatty acid in modified powder milk by GLC on F.F.A.P. as methyl ester which was prepared by modified Dowling method

Carbon No. \ Sample	Domestic			Foreign	
	1	2	3	4	5
C ₄	0.69	0.83	0.72	—	0.39
C ₆	1.63	1.66	1.61	0.35	0.77
C ₈	1.06	0.92	1.03	3.59	0.21
C ₁₀	3.98	3.17	2.93	3.94	3.81
C ₁₂	3.33	2.69	4.45	22.58	12.20
C ₁₄	10.97	10.36	10.38	7.24	9.60
C ₁₆	27.04	26.01	25.40	9.12	21.72
C ₁₈	13.87	14.92	14.42	1.95	9.49
C ₁₈ F ₁	33.76	34.86	35.46	16.88	28.40
C ₁₈ F ₂	3.43	3.78	3.68	32.07	11.18
C ₁₈ F ₃	0.09	0.76	0.45	2.36	0.22
C ₂₀	0.15	T	0.18	0.03	0.24

Table 8. Analysis of milk fatty acid in modified powder milk by GLC on F.F.A.P. as methyl ester which was prepared by Deman method

Carbon No. \ Sample	C ₄	C ₆	C ₈	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈	C ₁₈ F ₁	C ₁₈ F ₂	C ₁₈ F ₃	C ₂₀
1	—	2.53	1.27	4.64	3.65	12.36	26.72	12.84	31.96	3.36	0.52	0.13
2	—	2.44	1.25	4.29	3.01	10.89	25.58	14.37	34.10	3.45	0.44	0.21
3	—	2.14	1.88	4.79	6.70	10.84	24.52	12.72	32.09	3.95	0.27	0.10

Table 9. Analysis of milk fatty acid in modified powder milk by GLC on D.E.G.A. as methyl ester which was prepared by Deman methods

Carbon No. Sample	C ₄	C ₆	C ₈	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈	C ₁₈ F ₁	C ₁₈ F ₂	C ₁₈ F ₃	C ₂₀
1	2.86	1.82	1.18	4.45	3.74	14.2	27.65	12.34	29.10	2.70	T	—
2	1.92	1.27	0.85	3.46	3.04	11.13	26.21	14.20	34.79	3.09	T	—
3	2.58	1.54	1.39	4.05	5.82	10.31	24.13	13.41	32.94	3.81	T	—

분석결과를 Table 7, Table 8, Table 9와 같다. 분석 방법은 국산 시판우유의 경우와 동일한 방법으로 분석하였다.

Table 7, Table 8, Table 9의 분석결과를 고찰하여 보면 국산 조제분유의 지방산 조성은 국산 시판우유와 거의 비슷한 결과를 보여주며, 외국산 조제분유의 지방산 조성은 불포화지방산중 linoleic acid, linolenic acid의 함량이 많고 상대적으로 oleic acid, stearic acid의 함량은 아주 적다. 국산 조제분유의 포화 및 불포화지방산의 비는 평균 61.44 : 38.86이고, 외산중 미국산의 상기 조성비는 48.67 : 51.34로서 모유의 상기 조성비 48.8 : 51.2와 비슷한 결과를 보여주고 있다. 이 결과를 비교하여 보아도 외국산 조제분유는 필수지방산을 강화하여 모유 지방산 특성과 같도록 시도한 것 같으며, 국산 조제분유의 지방산 조성은 시판우유의 지방산 조성과 유사한 결과를 얻은 것으로 보아도 modified 되지 않았음을 유추할 수 있다.

4. 결 론

한국산 우유의 지방산 조성을 GLC 방법으로 분석하였고 동시에 국산 조제분유와 외국산 조제분유의 지방산 조성을 비교 검토하였다.

4-1 : 국산 우유의 지방산 조성은 Table 3, Table 4, Table 5, Table 6과 같으며 국산 우유의 지방산 조성중 oleic acid는 함량이 높고 palmitic acid의 함량은 약간 낮으며 포화지방산 및 불포화지방산의 비는 평균 61.74 : 38.26이다.

4-2 : 국산 조제분유의 지방산 조성비는 거의 시판우유의 조성비와 같고, 외국산 조제분유의 지방에는 linoleic acid, linolenic acid, lauric acid의 함량이 많고 동시에 저급지방산의 함량이 적었다. 국산 조제분유의 포화지방산과 불포화지방산의 평균비는 61.44 : 38.86이고 외국산 조제분유는 48.67 : 51.34이다. 외국산조제분유의 비는모유의 지방산 조성비와 거의 같은 수치를 나타내고 있다.



본 연구에 협조해주신 국립공업연구소 김승환 연구

관과 한국과학기술연구소 김택제 선생님에게 감사를 드린다.

참 고 문 헌

- 1) James, A. T. and Martine, A. J. P. : *Biochem. J.* 50, 679 (1952).
- 2) James, A. T. and Martine, A. J. P. : *Biochem. J.*, 63, 144 (1966).
- 3) Erich Hefitann : *Chromatography*, Second Edition Reinhold Chemistry Text-book Series Reinhold pp.488~509 (1967).
- 4) Orr, C. H. and Callen, J. E. : *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 249 (1958).
- 5) Lipsky, S. R. and Landowne, R. A. : *Biochem and Biophys Acta.*, 27, 666 (1958).
- 6) Lipsky, S. R., Landowne, R. A. and Ann, N. Y. : *Acade. Sci.*, 72, 666 (1959).
- 7) Craig, B. M. and Murthy, N. L. : *J. Am. Oil Chemist Soc.*, 36, 549 (1959).
- 8) Henly, R. S. : *J. Am. Oil Chemist Soc.*, 42, 673 (1965).
- 9) Schlenk, H., Gellerman, J. L. and Sand, D. M. : *Anal. Chem.*, 34, 1529 (1962).
- 10) Irwin Hornstein : *Anal. Chem.*, 32, 540 (1960).
- 11) 森田修吾, 東谷博 : *分析化學(日本)*, 11, 282 (1962).
- 12) Golay, M. J. E. : *Gas Chromatography*, Academic Press, New York, (1958).
- 13) Jack, E. L. and Smith, L. M. : *J. Dairy Sci.*, 39, 1 (1956).
- 14) Shorland, F. B. and Hansen, R. P. : *Dairy Sci, Abst.*, 19, 167 (1957).
- 15) Backderf, R. H. and Brown, J. B. : *Arch Biochem. Biophys.*, 76, 15 (1958).
- 16) Gerson, T., Hawkej, J. C., Sholand, F. B. and Melbush, W. H. : *Biochem. J.*, 74, 366 (1960).
- 17) Hansen, R. P., Sholand, F. B. and Cooke, N. J. :

- J. Dairy Res.*, 26, 190 (1959).
- 18) Hawke, J. C.: *J. Dairy Res.*, 24, 366 (1957).
 - 19) James, A. T., Peeters, G. and Laurysens, M.: *Biochem. J.*, 64, 726 (1956).
 - 20) Scott, W. E., Herb, S. F., Magidman, P., Reiman, R. W. and Schnider.: *J. Agr & Food Chem.*, 7, 125 (1959).
 - 21) Haab, W., Smith, L. M. and Jack, E. L.: *J. Dairy Sci.*, 42, 454 (1959).
 - 22) Hankinson, G. L., Harper, W. J. and Milkolajcik, E.: *J. Dairy Sci.*, 41, 1502 (1958).
 - 23) James, A. T. and Webb, J.: *Biochem J.*, 66, 515 (1957).
 - 24) Carthy, M. C., Potton, R. D. S. and Evans, L.: *J. Dairy Sci.*, 43, 1196 (1960).
 - 25) Patton, S. and Keeney, P. G.: *J. Dairy Sci.*, 41, 12288 (1958).
 - 26) Smith, L. M. and Jack, E. L.: *J. Dairy Sci.*, 42, 767 (1959).
 - 27) Fotton, S. R. D., McCarthy, Evans, L. and Lynn, T. R.: *J. Dairy Sci.*, 43, 1187 (1960).
 - 28) Samuels, E. R., Coffine, A., Juien, J. P. and Baker, B. E.: *J. Dairy Sci.*, 43, 624 (1960).
 - 29) Smith, L. M.: *J. Dairy Sci.*, 44, 607 (1961).
 - 30) Thompson, M. P., Brunner, J. R. and Stine, C. M.: *J. Dairy Sci.*, 42, 1651 (1959).
 - 31) Hawke, J. C.: *J. Dairy Research*, 24, 366 (1957).
 - 32) Patton, S. and Keeney, P. G.: *J. Dairy Sci.*, 41, 1288 (1958).
 - 33) Insull, W. Jr. and Ahrens, E. H. Jr.: *Biochem. J.*, 72, 27 (1959).
 - 34) Paul, M., Herb, S. F., Barford, R. A. and Rie Menscheider, R. W.: *Am. Oil Chem. Soc.*, 39, 137 (1962).
 - 35) Patton, S. E. and Macarthy, R. D.: *J. Dairy Sci.*, 43, 95 (1960).
 - 36) 佐々木林治郎: 日本農藝化學會誌, 7, 916 (1931).
 - 37) 中西武, 右中江利: 孝日本農藝化學會誌, 36, 361 (1962).
 - 38) 한국식품연구문헌총람 p. 310~342 (1917~1968)
 - 39) Gander, C. W., Jensen, R. G. and Sampugna, J.: *J. Dairy Sci.*, 45, 323 (1962).
 - 40) Deman, J. M.: *J. Dairy Sci.*, 47, 546 (1964).
 - 41) Fryer, J. F., Habgood, H. W. and Harries, W. E.: *Anal. Chem.*, 33, 1515 (1961).
 - 42-a) Erdey, L., Takacs, J. and Seaman, E.: *J. Chromat.*, 46, 29 (1970).
 - 42-b) Eggertsen, F. T., Sigurd, G. and Holst, J. J.: *Anal. Chem.*, 32, 904 (1960).
 - 43) Stephen, Dal Nogare, Langlois, W. E.: *Anal. Chem.*, 32, 767 (1960).
 - 44) Calvin, G. J.: *Anal. Chem.*, 32, 1707 (1960).
 - 45) Stephen Dal Nogare, Richard, S. and Juvet Jr.: *Gas liquid Chromatography Theory and Practice* (in programmed Temperature Techniques) pp. 319 ~ 342 Interscience Publisher, John Wiley (1966).
 - 46) Zhukhovistsskii, A. A. and Turkeltau, N. M.: *Doklady Akad., Nauk.*, (S.S.S.R.) 88, 859 (1953).
 - 47) Dal Nogare, Stephen, Bonnet, C. F.: *Anal. Chem.*, 31, 1157 (1958).
 - 48) McFadden, W. H.: *Anal. Chem.*, 30, 379 (1958).
 - 49) Ryce, S. A. and Bryce, W. A.: *Anal. Chem.*, 29, 925 (1957).
 - 50) Habgood, H. W. and Harris, W. E.: *Anal. Chem.*, 32, 450 (1960).
 - 51) Dal Nogra and Langlois, W. E.: *Anal. Chem.*, 32, 767 (1960).
 - 52) Giddings, J. C.: *J. Chromatography*, 4, 11 (1960).
 - 53) Glueckauf, E.: *Trans. Faraday. Soc.*, 51, 34 (1955).
 - 54) Purnell, T. H. (Ann, N. Y.): *Acid. Sci.*, 72, 592 (1952).
 - 55) Griffiths, J., James, D. H. and Phillips, C. S. G.: *Analyst*, 77, 897 (1952).
 - 56) Ashbury, G. K., Davies, A. J. and Drink water, J. W.: *Anal. Chem.*, 29, 918 (1959).
 - 57) Drew, C. M.: *Anal. Chem.*, 28, 979 and (1956).
 - 58) Greene, S. A. and Pust. H.: *Anal. Chem.*, 29, 569 (1957).
 - 59) Stoffel, W. F., Chu, E. M. and Ahrens, Jr.: *Anal. Chem.*, 31, 307 (1959).
 - 60) Luddy, F. E., Barford, R. A. and Reinesschneider, R. W.: *J. Am. Oil Chemist Soc.*, 37, 447 (1960).
 - 61) Downing, D.T.E.H., Krang, K.E. and Murray, A.: *Australian J. Chem.*, 13, 80 (1960).
 - 62) 土屋知太郎: 油脂, 油脂製品試験法部會 II.D. 19-70 脂肪酸 Methyl Ester 調製法 油化學, 19, 337 (1970).
 - 63) Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A. and Peika, J. R.: *Anal. Chem.*, 38, 514 (1966). ASTM. D 1983-64J, *J. Am. Oil Chemist Soc.*, 46, 106 (1968).

- 64) Horslein, I., Elliott, L. E. and Growe, P. E.: *Nature*, **184**, 1710 (1960).
- 65) Horstein, I., Alford, J. A., Elliot, L. E. and Growe, P. F.: *Anal. Chem.*, **32**, 540 (1960).
- 66) Samm, H. G, and Wiggs, S. M.: *Analyst*, **85**, 417 (1960).
- 67) Sohlenk, H., Gellerman, J. L.: *Anal. Chem.*, **32**, 1412 (1960).
- 68) Metcalfe, L. D, and Schmitz, A. A.: *Anal. Chem.*, **33**, 363(1961).
- 69) Official Method of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, Ninth Edition, 160, pp.361~362
- 70) 遠山祐 : 日本食品衛生 *Hand Book*, pp.221~223, 朝倉書店 (1957)
- 71) 油脂化學製品便覽委員會編 油脂化學製品便覽 日刊工業新聞社 pp.182~185 (1964).
- 72) Eugene, W. B.: *J. Am. Oil Chemist., Soc.*, **39**, 122 (1962).
- 73) 成佐慶, 金点植, 崔洪植 : 國立工業研究報告, **12** (.2) 44 (1962).
- 74) 鄭泰明, 申棕銖 : 한국농화학회지, **29** (1968).
- 75) 金点植, 崔洪植 : 國立工業研究所報告, **13**, 148 (1963), **15**, 118 (1965)
- 76) Sheppard, A. J., Meeks, S. A. and Elliot, L. W.: *J. Gas Chromatog.* **6**, 28 (1968).
- 77) Martin, A. J. P.: *Gas Chromatography*, p.139 D.H. Desty, ed, Butter Worths, London (1958).
- 78) McWilliam, I. G. and Dewar, A. A.: *Gas Chromatography*, p.142. (1958).
- 79) Ettore, L. S. and Katot, F. J.: *J. Chromatography*, **11**, 114 (1963).
- 80) Sternberg, J. C., Galoway, W. S. and Jones, D. T. L.: *Gas Chromatography*, p.231, D.H. Desty ed Butter worths, London (1958).
- 81) McNair, H. M., Crames, K.A.M.G. and Keulemans, A. I. M.: *Symposium on Gas Chromatography*, Sponsored by ACS, Div Petral ST. Lovis, No (March 22-25, 1961).
- 82) Jamieson, G. R.: *J. Chromatography*, **3**, 464 (1960).
- 83) Horning, E. C., Ahrens, E. H. Jr and Lipsky, S.R.: *J. Lipid Res.*, **5**, 20 (1964).
- 84) Gehrke, C. W. Goorlitz, D. F., Richardson, C. O. and Johnson, H.,D.: *J. Dairy Sci.*, **43**, 839 (1910).
- 85) Iden, R. B. and Kahler, E. J.: *J. Am Oil Chemist. Soc.*, **39**, 171 (1962).
- 86) Keulemans and A. I. M. and Ueruer, C. G.: *Gas Chromatography*, p.32 Reinhold, New York (1957).
- 87) Pessok, R. C.: *Analytical Methods Principle and practice of Gas Chromatography* (135) John Wiley (1959).
- 88) Jack, E. L. and Henderson, J. C.: *J. Dairy Sci.*, **28**, 65 (1965).
- 89) Hansen, R. P.: *J. Am. Oil Chemists, Soc.*, **28**, 375 (1951).
- 90) 佐佐木林治郎監修 牛乳, 乳製品ハンドブック, 朝倉書店, 東京 431~442 (1967).
- 91) Brink, and M. F. David Kritfhevsky.: *Dairy Lipids and Lipid Metabolism* pp.1~233, West Port Connecticut The Avi Publishing Company, Inc. (1968).
- 92) 祐川金次郎監修: 乳業技術便覽 上巻 實業圖書株式會社版, p.13 (1964).