

## 히드록삼산 變法에 의한 牛乳脂肪定量

朴 官和 · 吳 太廣 · 盧 奉洙\*

서울대학교 食品工學科, \*東西食品株式會社

(1981년 3월 31일 수리)

## Determination of Fat Content in Milk by Modified Hydroxamate Method

Kwan Hwa Park, Tae Kwang Oh and Bong Soo Noh\*

Department of Food Science and Technology, Seoul National University, Suwon 170

\*Dongsuh Foods Co\*, Incheon 160-04

(Received March 31, 1981)

### Abstract

A modified hydroxamate method was developed for determination of fat content in milk. Fat globules in milk were destroyed by adding ethanol and diethyl ether, and a homogeneous reaction system was obtained. The homogenate was reacted with hydroxylamine, milk fat formed ferric hydroxamate chelates which had red-purple color, and the ferric hydroxamate chelates was analyzed colorimetrically. This method was simpler than original hydroxamate method and comparable with the Babcock method in accuracy.

### 序 論

牛乳, 動物의 母乳등의 脂肪定量法으로는 Gerber法<sup>(1)</sup>, Babcock法<sup>(2)</sup>, Roese Gottlieb法<sup>(2)</sup>이 使用되어 왔고 最近에는 自動化된 方法<sup>(3)</sup>과 赤外線을 利用하는 方法<sup>(4)</sup>이 開發되어 있다. 이 方法들은 精密한 方法이 아니고 小量의 試料나 微量의 脂肪定量에는 不適合하다. Goddu<sup>(5)</sup>등은 히드록실아민(hydroxylamine)을 에스테르定量에 使用했고 Nijs등<sup>(4)</sup>은 히드록실아민을 이 용해서 牛乳脂肪을 定量했는데, 牛乳脂肪은 脂肪球의 형태로 존재하며 그 주위를 지방막형성단백질이 둘러싸고 있으므로<sup>(5)</sup> 히도록실 아민과 지방질과의 충분한 반응여부가 문제가 되고 있다고 예상된다.

Park등<sup>(6)</sup>은 히드록삼산(hydroxamate)變法으로 기지의 양을 첨가한 트리-올레인(triolein) 溶液중에서 트리-올레인을 定량하고 이를 리파아제(lipase)力價測定方法으로 利用하였다.

本實驗에서는 相分離가 없는 狀態에서 유기용매 添加로 脂肪球를 開裂시켜서 히드록실아민과 脂肪의 反應을 容易하게 하였을뿐만 아니라 小量의 試料와 微量의 脂肪을 定量할 수 있는 간편한 方法을 開發하였다.

### 方 法

#### 히드록실 아민 溶液<sup>(6)</sup>

히드록실아민·염산(NH<sub>2</sub>OH·HCl) 20 g을 메탄올 220 ml에 녹인 溶液과 3.5 N NaOH를 5:3의 비율로 희석한 溶液

#### FeCl<sub>3</sub> 溶液<sup>(6)</sup>

FeCl<sub>3</sub> 100 g을 1.2 N 염산 100 ml에 녹인 溶液과 에탄올을 1:4로 희석한 溶液

#### 測定原理

알칼리 存在下에서 히드록실 아민이 脂肪酸에스테르를 加水分解해서 히도록삼산(I)(hydroxamic acid (I))을 生成하고 酸의 存在下에서 철 이온(ferric ion)



牛乳중의 非脂肪性物質(non-fat substance (N.F.S.))과 수크로오스의 영향

히드록실아민은 에스테르, 안히드리드(anhydrides), 카르복산(carboxylic acid)의 加水分解 가능한 유도체와 反應해서 히드록삼산을 生成하므로 牛乳중의 N.F.S 및 수크로오스가 本實驗方法에 미치는 영향을 調査한 結果 Table 3과 같다.

Table 3. Absorbance of non fat solids-ferric hydroxamate chelates

Non-fat solids	Absorbance (525 nm)
5% Lactose	0.041
1% Casein	0.024
15% Sucrose	0.018

Table 2. Comparison of modified hydroxamate Method and Babcock Method for determination of fat content in several foods

Sample (12 Replecates)	Modified hydroxamate method		Babcock method
	Average fat content (%)	t**	Average fat content (%)
Olive oil	4.21	0.955	—
Market milk	3.068	0.465	3.30
Yagurt	0.281	—	not applicable

\*\*t<sub>0.0511</sub> = 2.201

Table 3에서 보는바와 같이 1% 카제인(casein)과 5% 락토오스(lactose)의 경우는 吸光度가 微細하게 영향을 미치지만 牛乳를 물로 희석시 N.F.S의 濃도가 減少되고, 또한 對照區를 N.F.S가 添加된것을 使用하므로 本實驗에서 그리 問題視되지 않음을 알 수 있었다.

실탕은 야구르트나 加糖한 牛乳의 脂肪定量을 爲해 測定하였는데 Table 3에서와 같이 영향을 별로 미치지 않았다.

市乳의 脂肪定量

脫脂肪乳로 市乳의 組成과 같게 만든 調製乳에 기지의 올리브油를 넣고 市乳를 증류수로 희석했을 때의 脂肪量을 百分率로 表示한 標準曲線은 Fig. 3과 같이

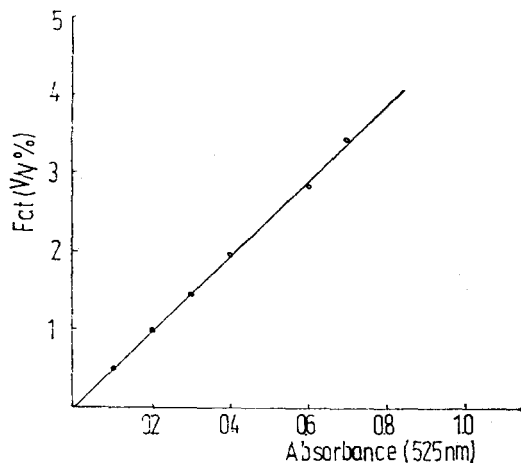


Fig. 3. Calibration curve for determination of fat content in milk

나타난다. 이때 부피 百分率로 나타내기 위해서 희석 후, 牛乳密度를 補正한 數置로 標準曲線을 作成했다. 이를 利用해서 市乳 및 요구르트를 定量한 結果 Table 2에서와 같이 牛乳의 경우는 Babcock法과 야구르트의 경우는 Babcock法으로 눈금을 읽기 어려운 정도로 減少해서 測定하기 곤란했지만 강등(7)이 보고한 數值와는 잘 일치한다. 또한 자기 다른 製品의 市乳를 利用해서 Babcock法과 比較한 結果는 Table 4와 같다.

Table 4. Comparison of modified hydroxamate method and Babcock method for determination of fat content in market milks (v/v %)

Sample	Method	Modified hydroxamate	Babcock
A		3.03	3.07
B		3.14	3.10
C		3.20	3.18

히드록삼산의 脂肪定量은 에스테르基가 일정할수록 精確한 定量方法인데 本實驗에서 牛乳는 97%(8)가 트리-글리세리드(triglyceride)로 되어 있고 0.5%미만의 모노-글리세리드 및 디-글리세리드로 되어 있어서 큰 오차를 가져오지 않지만, 標準曲線 作成時에는 트리-글리세리드量을 補正해 주었다. 또한, 트리-글리세리드에 結合된 지방산의 炭素數와 發色程度는 약간의 差異(9)가 있어 本實驗方法의 부정확함에 原因이되나 4

乳중 炭素數가 14이상 18까지가 80%<sup>(5)</sup>를 차지해서 큰 오차를 가져오지 않는다.

### 要 約

牛乳의 脂肪含量을 測定할수 있는 간단한 比色定量法을 開發하였다. 牛乳에 에탄올, 디-에틸 에테르를 加하여 反應系를 單一狀으로 하고 脂肪球가 개열되어 히드록실 아민과 反應이 충분히 일어나게 하였다. 여기서 生成된 적자색의 히드록삼산 킬레이트를 비색계로 測定하였다. 本方法은 원래의 히드록삼산法보다 操作이 간편하며 Babcock法과 比較해 본 결과 고도의 精確도를 보였다.

### 文 獻

1. Bakalor, S.: *Dairy Sci. Abstr.*, **28**, 1 (1966)
2. Horwitz, W.: *A.O.A.C.*, 13th ed., p.245 (1980)
3. Goddu, R. F., Leblanc, N. F. and Wright, C. M.: *Anal. Chem.*, **26**, 1251 (1955)
4. Nijs, J. and Verheyden, J.: *Milchwissenschaft*, **15**, 462 (1960)
5. Harper, W. J. and Hall, C. W.: *Dairy Technology and Engineering*, AVI, p.18 (1976)
6. Park, K. H., Duden, R. and Fricker, A.: *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.*, **157**, 327 (1975)
7. 강영개, 윤영호, 김현옥: *한축지*, **21**, 543 (1979)