

통조림 및 獸肉加工品の 検査

(上)

金 容 斗

高麗遠洋(株) 釜山綜合食品工場 実験室



I. 緒言

事實을 調査하여 옳고 그름과 낮고 못함을 判斷함을 検査라고 하며 検査의 目的은 不良과 失格을 미리 判가름하고 좋은 製品을 生産하여 人間의 福祉向上에 寄與하는 社会奉仕에 있는 것이다. 따라서 検査員은 透徹한 使命感과 孤高한 自負心을 가지고 自重自信과 奉仕 精神으로 業務를 遂行하여야 할 것이다.

最近 畜産物 加工処理法에 의거한 自体検査員을 비롯하여 食品衛生法에 의거한 食品衛生管理人, 農水産部 告示에 의거한 輸出入業体の 管理獸醫師등 食品製造業体에서의 獸醫師들의 活躍이 增加一路에 있는데 이를 契機로 企業체에 勤務하는 獸醫師들은 自覺心을 가지고 보다 奮發하여 職務에 忠誠을 다 하고 会社の 利益에 이바지하며 나아가 國家社会의 發展에 献身하는 姿勢를 確立해야 할 것이다.

今般 筆者는 數年間 食品工場의 検査員으로 있으면서 얻은 經驗과 익히고 배운 知識으로 통조림과 獸肉加工品の 検査에 관하여 몇가지 적어 보기로 한다. 淺薄한 知識과 不足함을 寬容으로 덮어 주시고 加護鞭撻을 바라는 바이다.

II. 통조림의 衛生化學的 基準

- 1) 外觀検査 : 適合
- 2) 打檢 및 真空度 検査 : 適合

- 3) 加溫試驗：適合
- 4) 細菌類 및 大腸菌群：陰性
- 5) 有害金屬
朱錫：250ppm以下
砒素(As₂ O₃로서)：1.5ppm以下
重金屬(pb로서)：10ppm以下
- 6) 固形物：內容量의 50%以上의 濾過殘渣量
- 7) 病原性細菌：未檢出
- 8) 營養素：許可된 量의 80%以上
- 9) 人工着色料：許可된 것으로 許可量의 110%以下
- 10) 防腐劑(保存料)：許可된 量의 110%以下
- 11) 香辛料：許可된 量의 110%以下
- 12) 發色劑：亜亜酸根으로서 70ppm以下
- 13) 變敗試驗(新鮮度)：適合
 - ① PH：6.2~6.3이면 腐敗初期 疑心
 - ② Ammonia試驗：陰性
 - ③ 黃化水素檢出試驗：未檢
 - ④ Walkiewicz 反應：陰性
 - ⑤ Trimethylamine試驗：試料 100g中 4mg以下
 - ⑥ Indol：試料 100g中 1.5mg以下
 - ⑦ Histidine：試料 100g中 100mg以下
 - ⑧ 揮發性 塩基窒素：試料 100g中 30mg以下

Ⅲ. 통조림의 檢査

1. 外觀檢査

1) 캔型의 規格 2) 膨脹캔 및 變敗캔 3) 其他 異常캔等.

2. 打檢 및 眞空度 檢査

- 1) 打檢棒(鑄鐵製, 重量30~50g, 길이20~25cm, 폭 1~2cm)으로 2回 打檢(音으로 判別)
- 2) 携帶用 眞空計로 眞空度 檢査(15~25가 正常)

3. 加溫試驗

- 1) 試料：溫度別(37℃, 55℃) 5 개씩
- 2) 加溫時間：37℃에서 14~30日間
55℃에서 7日間
- 3) 檢査：

- ① 每日 異常캔의 有無檢査
- ② 加溫完了後 外觀檢査 및 打檢
- ③ 캔을 열어 內容物의 外觀, 風味, 냄새, 빛갈 및 肉質檢査

4. 細菌類 및 大腸菌群 檢査

(가) 細菌類(生菌數) 檢査法(標準平板菌數法)

1) 原理

生菌數란것은 一定條件下(好氣性培養, 培養溫度, 營養素, 培養時間, 培地PH等)에서 發育한 菌數를 意味한다. 試料中의 細菌은 때로는 菌塊를 形成하거나 連鎖를 形成하는 일이 있는데 이런것도 1個의 集落으로 表現한다.

標準平板菌數(SPC: Standard Plate Count)는 平板에서 자란 全好氣性 中溫菌의 數이며 通常培養은 30~37℃에서 24~48時間 行하여지나 우리나라에서는 35~37℃에서 48±2時間 培養하게끔 되어있다.

2) 試料의 採取 및 調製

① 液体는 原體 그대로 滅菌 pipet로 一定量을 吸引하여 培地에 接種(直接 또는 稀積) 하고 肉과 非包裝肉加工品은 5개부위에서 200g 以上(滅菌大型廣口瓶에)을, 包裝된 製品의 경우는 包裝單位로 3개以上을 취하여 4℃以下에서 얼지않도록 保存한다.

② 採取試料를 滅菌攪拌器나 약절구에서 無菌의으로 갈아 으개어 均質化한다음 50g을 滅菌稀積瓶에 받아 滅菌生理食鹽水를 加하여 全量이 100ml 되게 한후(W/V 2倍희석) 約 30cm 振幅으로 7秒間 25回 以下로 흔들어 浸出하고 遠心分離(2,000 rpm 5~10分)하여 上澄液을 取하여 檢液으로 한다.

3) 培養

① ※ 稀積液 8ml 및 98ml를 稀積瓶에 取하고 121℃에서 15~20分間 高壓滅菌한후 檢液 2ml씩 가하여 均等히 菌을 浮遊시켜 稀積試料로 한다(10~100倍희석)

※ 稀積液(磷酸塩 완충증류수)의 製法
KH₂PO₄ 34g에 DW500ml를 加하여 溶解시킨 다음 1N NaOH溶液으로 PH가 7.2되게 調整하

고 다시 DW를 채워 1,000ml 되게 한 후 이 용액 1.25ml를 DW로 희석하여 1,000ml 되게 한다. 사용시 121°C (5 Lbs)에서 15분간 고압滅菌한다.

② 溶解한 Nutrient agar를 加温(넘치지 않도록 조심하면서) 한 다음 121°C에서 15~20분간 고압滅菌하여 Water bath 안에서 50°C로 保存한다.

③ 稀積試料를 Petridish (1 試料당 2~4 개)에 각각 0.1ml 및 1ml씩 無菌的으로 取하고 여기에 加温된 Nutrient agar 15~20ml를 無菌的으로 注入하여 잘 混和하고 冷却凝固 시킨 다음 그위에 다시 加温 Nutrient agar를 3~4ml씩 分注하여 試料가 中層에 묻히게 한다(擴散集落 發生防止가 目的)

④ 寒天이 굳어지면 35~37°C의 부란기에서 48±2 時間 培養한다. Petridish는 뒤집어 놓으며 포개지 말고 側壁에서 3cm 떨어진 곳에 둔다.

⑤ 培養이 끝나면 集落을 計算하는데 萬若 即時 計算할 수 없을 경우에는 5°C 이하의 冷藏庫에서 얼지않게 保存하였다가 24時間 以內에 計算하도록 한다

4) 集落의 計算

① 擴散集落이 없고 Colony 수가 30~300 개인 平板을 골라 微細한 Colony를 包含한 모든 Colony 수를 세고 여기에 該當되는 稀積度를 곱하여 1ml (g) 중의 Colony 수를 셈한다. 菌塊나 連鎖를 形成한 것도 1 개로 셈한다.

(註)

(1) 數字表示는 3段을 4捨5入하고 그 以下는 0을 붙인다. (例: 35,000)

(2) 두가지 稀積細菌數의 比가 2倍以上인 경우에는 적은 것만을 셈한다.

② 1 平板上의 Colony가 300개前後인 때 그 平板의 一部分을 1cm²의 區劃이 있는 集落計算板 (Colony Counter)을 使用하여 測定하고 거기에서 平板의 全集落數를 算定하는 수도 있다. 이 方法은 平板의 中心을 通過하는 縱橫 各 6개소 (計12개소)의 代表的인 곳의 Colony를 測定하여 (重複은 避한다) 1cm²중의 平均 生菌數를 Petridish (平板) 全面積을 곱하여 算出한다. 但 이 方法은 不正確하다.

③ 全平板이 30개以下의 集落인 때에는 <3,000

로 表示한다.

④ 300개 以上의 集落을 形成한 경우는 >300,000으로 記載報告하거나 300개에 가장 가까운 平板의 Colony를 셈한다.

⑤ 擴散集落이 形成되었을 경우에는 平板의 擴散集落以外의 集落이 잘 分散되어 測定에 支障이 없는 것이나 擴散集落部가 全平板의 1/2以下의 것에 한하여 셈한다.

5) 實驗室內 事故表示

集落이 發生하지 않았을 때에는 NC (No Colony), 擴散集落이 全平板의 1/2以上이면 SC (Spreading Colonies), 汚染이 疑心되면 LA (Laboratory Accident), 其他 不適當하다고 思料된 때에는 GI (Growth Inhibitor)로 表示한다.

(나) 大腸菌群 檢査法

A. 定性試驗 (BGLB 培地法)

1) 試料의 採取 및 調整

生菌數檢査와 同

2) 培養

① BGLB 醱酵管培地 15개를 準備하여 121°C에서 15분간 高壓滅菌하고 試料 10ml, 1.0ml, 0.1ml씩을 각각 5개의 培地에 接種한다 (培地量은 10ml區는 20ml, 1.0과 0.1ml區는 10ml) 이것을 35~37°C의 부란기에서 48±2 時間 培養하였을 때 Gas와 Acid를 形成하면 推定試驗 陽性으로 判定한다.

② 最少量의 試料를 接種한 試驗管中 陽性反應을 나타낸 것으로부터 1白金耳를 取하여 EMB 또는 Mac Conkey agar에 線狀塗抹하여 35~37°C의 부란기에서 24±2 時間 培養한다.

③ 培地上에 E. Coli의 *典型的인 Colony가 形成되었을 때에는 1개 또는 2개 以上 (非典型的인 경우는 가장 가까운 것 2개 以上)을 取菌하여 2種의 培地에 移植培養한다. (普通寒天斜面培地에서 35~37°C 24時間, Lactose broth에서 35~37°C 48時間)

(註)

* 大腸菌群의 典型的 Colony의 特徵 EMB에서는 大型의 深黑綠色의 金屬狀 光沢이 있는 Colony, Macconkey에서는 赤褐色 周邊若干 淡紅色의 Colony

3) 判定

Lactose broth에서 48시간 이내에 Gas를 형성하고 普通寒天 斜面培地에서 24시간 자란菌이 Gram陰性的의 芽胞를 形成하지 않는 簡單한 短桿菌이면 Coliform 陽性으로 判定한다.

(다) Gram染色法

1) 塗抹

① Slide glass를 火焰에 두세번 通過시킨후 여기에 生理食塩水 한방울을 떨어뜨린다. (裏面に 동그라미 標示)

② 白金耳를 연필쥐는 식으로 잡고 火焰에 60° 角度로 넣어 白金線部分이 빨갱게 될때까지 加熱한다.

③ 왼손으로 미리 準備된 菌이 들어있는 Tube를 잡고 白金線을 잡은 오른손의 새끼손가락과 약손가락으로 Tube의 슝마개를 뺀후 Tube入口를 火焰에 구운 다음 白金耳를 Tube속에 넣어 若干의 菌을 묻혀낸다. Tubd入口를 다시 굽고 슝마개를 막는다(無菌의 操作)

④ 白金耳에 묻은 菌을 Slide glass위의 食塩水로 浮遊시켜 可能한 限 얇고 넓게 퍼서 바른다. 白金耳를 다시 굽는다.

2) 乾燥

塗抹된 Slide glass를 空氣中에서 말린다.

3) 固定

乾燥塗抹 Slide glass를 火焰에 두세번 通過시킨다(細菌이 묻은 反對쪽) 이 操作은 살아있는 菌을 죽일뿐 아니라 菌体蛋白質을 응고시켜 Slide에 密着시키고 쉽게 떨어지지 않게하기 위한 操作이다.

4) 染色(Hucker의 變法)

① AOCV(Ammonium Oxalate Crystal Violet)로 30秒間 染色하고 물로 씻어낸다.

② Lugol's (Iodine) Solution으로 30秒間 處理하고 그대로 버린다.

③ Acetone으로 2~3 秒間 빨리 脫色하고 물로 씻는다.

④ 0.5% Safranin solution으로 30秒間 对照 染色한후 물로 씻는다.

(註)

(1) Gram陽性菌은 Lugol's Solution으로 固定되고 Acetone으로 脫色이 안되기 때문에 靑色으로 染色된다.

(2) Gram陰性菌은 Lugol's solution으로 固定이 안되어 Acetone으로 脫色되고 Safranin으로 染色되기 때문에 赤분 靑色이다.

5) 檢鏡

染色된 Slide glass를 濾紙로 물기를 닦고 空氣中에서 말린後 顯微鏡檢査를 한다.

6) 染液의 製法

① Aocv : Crystal Violet 2g을 Ethanol (99.5%) 20ml에 녹여 DW로 200ml 되게하고 Ammonium Oxalate 8g을 DW로 800ml 되게 녹여이 兩者를 混合 1000ml로 한다.

② Lugol's (Iodine) Solution : I : KI : DW를 1 : 2 : 300으로 混合한다.

③ Acetone : Acetone 5 ml와 Ethanol (99.5%) 5 ml를 混合한다.

④ Safranin solution : Safranin 5g을 Ethanol (95%) 100ml에 녹이고 DW를 注加하여 1000 ml 되게 한다.

B. 定量試驗(最確數法)

1) 原理

最確數法이란것은 數段階의 同一稀積度의 試料를 數本씩 BGIB醱酵管培地(Coli form의 경우) 또는 EC醱酵管培地(E. Coli의 경우)에 接種하여 菌의 存否를 試驗하고 이 結果에서 確率的으로 菌의 數値를 算出하여 이것을 最確數(MPN : Most Probable Number)로 表示하는 方法이다.

2) 試料調製

生菌數試驗과 同

3) 培養

(1) Coli form

① 稀積試料(100倍 희석된것) 10ml, 1.0ml, 0.1ml를 각각 5개의 BGLB발효관培地에 接種한다.

② 接種된 발효관培地를 35~37°C에서 48±2 時間 培養한다.

(2) E. Coli

① 試料原液(2倍 희석된것) 2ml, 10배 희석液 및 100배 희석液 1ml씩을 각각 5개의 EC 발

효관培地에 接種한다.

② 接種된 발효관培地를 Water bath 안에서 44.5°C ± 0.2°C, 24 ± 2 時間 培養한다.

4) 菌数計算

Gas를 形成한 발효관数(Number of Possitiv tube)를 試料의 濃度別로 파악하고 試料의 菌数를 最確数表에서 MPN/100mlorg를 찾아 記錄한다(稀積倍数補正要)

5. 有害金屬

(가) 朱錫含量 檢査

1) 器具및 試藥

① 分解Flask

② 黃化水素 : Kipp裝置를 使用하여 黃酸鉄 : HCl을 1 : 1의 比率로 한것(H₂S 發生)을 稀塩酸과 물의 洗瓶을 通過시킨다.

Most probable Numbers Per 100ml of Sample, planting 5 portions in each of 3 Dilutions in Geometric Series

No	POS			MNP	No	POS			MPN	No	POS			MPN	No	POS			MPN					
	10	1.0	0.1			10	1.0	0.1			10	1.0	0.1			10	1.0	0.1		10	1.0	0.1		
	ml	ml	ml		ml	ml	ml			ml	ml	ml		ml	ml	ml			ml	ml	ml			
0	0	0	0	0	1	0	0	2	2	0	0	4.5	3	0	0	7.8	4	0	0	13	5	0	0	23
0	0	1	1.8	1	0	1	4	2	0	1	6.8	3	0	1	11	4	0	1	17	5	0	1	31	
0	0	2	3.6	1	0	2	6	2	0	2	9.1	3	0	2	13	4	0	2	21	5	0	2	43	
0	0	3	5.4	1	0	3	8	2	0	3	12	3	0	3	16	4	0	3	25	5	0	3	58	
0	0	4	7.2	1	0	4	10	2	0	4	14	3	0	4	20	4	0	4	30	5	0	4	76	
0	0	5	9	1	0	5	12	2	0	5	16	3	0	5	23	4	0	5	36	5	0	5	95	
0	1	0	1.8	1	1	0	4	2	1	0	6.8	3	1	0	11	4	1	0	17	5	1	0	33	
0	1	1	3.6	1	1	1	6.1	2	1	1	9.2	3	1	1	14	4	1	1	21	5	1	1	46	
0	1	2	5.5	1	1	2	8.1	2	1	2	12	3	1	2	17	4	1	2	26	5	1	2	64	
0	1	3	7.3	1	1	3	10	2	1	3	14	3	1	3	20	4	1	3	31	5	1	3	84	
0	1	4	9.1	1	1	4	12	2	1	4	17	3	1	4	23	4	1	4	36	5	1	4	110	
0	1	5	11	1	1	5	14	2	1	5	19	3	1	5	27	4	1	5	42	5	1	5	130	
0	2	0	3.7	1	2	0	6.1	2	2	0	9.3	3	2	0	14	4	2	0	22	5	2	0	49	
0	2	1	5.5	1	2	1	8.2	2	2	1	12	3	2	1	17	4	2	1	26	5	2	1	70	
0	2	2	7.4	1	2	2	10	2	2	2	14	3	2	2	20	4	2	2	32	5	2	2	95	
0	2	3	9.2	1	2	3	12	2	2	3	17	3	2	3	24	4	2	3	38	5	2	3	120	
0	2	4	11	1	2	4	15	2	2	4	19	3	2	4	27	4	2	4	44	5	2	4	150	
0	2	5	13	1	2	5	17	2	2	5	22	3	2	5	31	4	2	5	50	5	2	5	180	
0	3	0	5.6	1	3	0	8.3	2	3	0	12	3	3	0	17	4	3	0	27	5	3	0	79	
0	3	1	7.4	1	3	1	10	2	3	1	14	3	3	1	21	4	3	1	33	5	3	1	110	
0	3	2	9.3	1	3	2	13	2	3	2	17	3	3	2	24	4	3	2	39	5	3	2	140	
0	3	3	11	1	3	3	15	2	3	3	20	3	3	3	28	4	3	3	45	5	3	3	180	
0	3	4	13	1	3	4	17	2	3	4	22	3	3	4	31	4	3	4	52	5	3	4	210	
0	3	5	15	1	3	5	19	2	3	5	25	3	3	5	35	4	3	5	59	5	3	5	250	
0	4	0	7.5	1	4	0	11	2	4	0	15	3	4	0	21	4	4	0	34	5	4	0	130	
0	4	1	9.4	1	4	1	13	2	4	1	17	3	4	1	24	4	4	1	40	5	4	1	170	
0	4	2	11	1	4	2	15	2	4	2	20	3	4	2	28	4	4	2	47	5	4	2	220	
0	4	3	13	1	4	3	17	2	4	3	23	3	4	3	32	4	4	3	54	5	4	3	280	
0	4	4	15	1	4	4	19	2	4	4	25	3	4	4	36	4	4	4	62	5	4	4	350	
0	4	5	17	1	4	5	22	2	4	5	28	3	4	5	40	4	4	5	69	5	4	5	430	
0	5	0	9.4	1	5	0	13	2	5	0	17	3	5	0	25	4	5	0	41	5	5	0	240	
0	5	1	11	1	5	1	15	2	5	1	20	3	5	1	29	4	5	1	48	5	5	1	350	
0	5	2	13	1	5	2	17	2	5	2	23	3	5	2	32	4	5	2	56	5	5	2	540	
0	5	3	15	1	5	3	19	2	5	3	26	3	5	3	37	4	5	3	64	5	5	3	920	
0	5	4	17	1	5	4	22	2	5	4	29	3	5	4	41	4	5	4	72	5	5	4	1,600	
0	5	5	19	1	5	5	24	2	5	5	32	3	5	5	45	4	5	5	81	5	5	5	2,400	

- ③ 洗液：飽和醋酸암모늄 100ml }
 水醋酸 50ml } 混合
 물 800ml }

④ 多黃化 암모늄液

(a) 流水 또는 氷水에 담긴 瓶에 암모니아水 200ml 를 넣고

(b) 黃化水素 吸入(最大)

(c) 암모니아水 200ml (H₂S吸入)를 DW로 1000 ml 되게 희석

(d) 昇華硫黃 25g을 加하여 溶解시키고 數時間後 濾過

2) 試驗操作

(1) 試料의 分解

① 試料 100g秤取, 窒酸 50ml 黃酸 20ml 添加

② 처음에는 弱하게 加熱하고 漸次 強熱로 加熱(無色이 될때까지)

(2) 中和

① 分解液冷却

② 물로稀積, Beaker (600ml容)에 옮기고 끓는 물로 洗入(3回)

③ 濃암모니아水로 中和(phenol phthalein 滴加, 紅色이 될때까지)

(3) 黃化錫의 沈澱

① 時計접시로 커버, 95℃에서 1時間 加熱黃化水素 通過 1時間

② 放冷(30分)

③ 濾過(東洋濾紙 No 5 C使用)

④ 殘渣를 濾液과 熱水로 洗滌(3回)

⑤ 殘渣를 Beaker (500ml容)에 옮기고

⑥ 多黃化암모늄液 10~20ml를 加하여

⑦ 加熱(Boiling 될때까지)

⑧ 濾過(Beaker의 內容을 多黃化암모늄液으로 2回 洗入)

⑨ 殘渣를 熱水로 洗滌

⑩ 濾液과 洗液을 Beaker (300ml容)에 넣고

⑪ 醋酸(1+9)으로 酸性化, 1時間加熱

⑫ Over-night

⑬ 濾過(二重東洋濾紙 No5c), 洗液과 熱水로 洗濾(2回)

⑭ 乾燥(乾燥器로)

(4) 沈澱의 灼熱

① 도가니 恒量을 구함.

② 殘渣을 濾紙包入, 濾紙 태움.

③ 弱한 불로 加熱 → 灼熱

④ 秤量(Sno₂)

(5) 計算

$$Sn \text{ ppm} = Sno_2 \text{의 量(mg)} \times \frac{1,000}{\text{試料의 量(g)}}$$

(나) 砒素, 重金屬：獸肉加工品檢査参照

6. 固形物

內容物을 Filtration(濾紙使用, Gelatin 많은 것은 Gaze使用)하여 殘渣의 重量比 算出

7. 病原性 細菌：獸肉加工品檢査 参照

8. 營養素

(가) 蛋白質定量(Kjeldahl法)

1) 原理

含窒素 有機物을 Kjeldahl 分解裝置를 使用하여 觸媒 存在下에 H₂SO₄로 加熱分解하고 窒素를 (NH₄)₂SO₄로 바꾼다.(分解)

이어 NaOH를 加하여 Alkali性으로 하고 遊離 NH₃를 Kjeldahl蒸溜裝置로 水蒸氣蒸溜를 하여 稀H₂SO₄로 捕集한다(蒸溜)

이 捕集液을 NaOH로 滴定하여 NH₃量을 求하여(→ 滴定)粗蛋白(%)을 算出한다.

2) 試驗操作

① 分解[Sample의 N+H₂SO₄→(NH₄)₂SO₄]

(a) Sample適當量(0.5~2.0g)을 秤取하여 Kjeldahl分解 Flask에 넣고 濃H₂SO₄(Sample의 10~20倍)와 分解促進劑(Cuso₄:K₂SO₄ 1:4) 0.5~2.0g(Sample과 同量)을 添加混合하고 管口를 吸引펌프(Aspirator)에 連結

(b) 처음 5~10分은 弱火로 서서히 加熱하고 炭化後 激烈히 加熱(480℃, 1~2時間)하여 液이 無色透明(또는 靑色)하여진뒤 1~2時間(普通 70分) 加熱繼續(泡沫多出時는 Paraffin 添加)

(c) 室溫으로 放冷(注意하여)

② 蒸溜[2NH₃+H₂SO₄→(NH₄)₂SO₄]

(a) 受器(100ml容 Triple Flask)에 0.1N H₂

SO₄ 10ml를 넣고 ※ 指示液(Brunswik's reagent) 3~4滴을 가한후 冷却管 接觸

※ 指示液의 製法

Methyl Red 0.2g Methyl orange 0.1g을 Methanol (90%) 300ml로 녹여 濾過(褐色瓶 保存)

(b) 分解된 試料에 DW注加하여 100ml로 하고 그중 20ml를 檢液(5倍稀釈)으로하여(蛋白質含量이 많은것은 稀釈度を 높여야함) Sample Flask(Kjeldahl Flask)에 넣고 50% NaOH (10~15ml)를 加하여 中和[(NH₄)₂SO₄ + 2NaOH → Na₂SO₄ + 2H₂O + 2NH₃ ↑] 한후 Phenol Phthalein 2~3滴을 添加

(c) Cock를 닫아 水蒸氣를 통하여 蒸溜함과 同時に 還流冷却器에 通水하여 冷却하면서 30~60分間 蒸溜

(d) 受器에 溜液이 90ml정도 되었을때 Cock를 열고 蒸溜中止

③ 滴定[H₂SO₄ + 2NaOH → Na₂SO₄ + 2H₂O] 溜液(蒸溜捕集液)에 過剩으로 殘存하는 0.1N H₂SO₄를 0.1N NaOH로 中和滴定하면 NH₃에 의하여 中和된 0.1N H₂SO₄의 容量을 알수있다.

3) 計算

$$\text{粗蛋白(\%)} = \frac{0.0014 \times (V_2 - V_1) \times F \times D \times 100}{S} \times 6.25$$

S : Sample (g)

0.0014 : 0.1N H₂SO₄ 1ml에 相当하는 N量 (g)

V₁ : 溜液10ml에 대한 0.1N NaOH의 滴定量 (ml)

V₂ : 0.1N H₂SO₄ 10ml에 대한 0.1N NaOH의 滴定量 (ml) (空試驗)

F : 0.1N NaOH의 Factor

D : 稀釈倍数

6.25 : 窒素係數

(L) 脂肪定量(Soxhlet 法)

1) 原理

Soxhlet 脂肪抽出器를 使用하여 食品中の 脂肪을 Ether抽出하고 抽出前後의 重量差로 定量한다.

2) 試驗操作

① 脂肪定量瓶(受器)의 恒量記錄(洗淨乾燥後)

② Sample (完全乾燥粉末) 5~10g 秤取

③ 円筒濾紙(抽出管의 内徑보다 2~4mm작은 것 乾燥器(95℃)에서 2~3時間 乾燥)의 底部에 少量의 脫脂綿을 삽입하고 그 위에 Sample을 넣고 다시 脫脂綿으로 充填

④ Sample入円筒濾紙를 抽出管에 삽입

⑤ 脂肪定量瓶에 無水Ethyl Ether 1/3~1/2容 流入

⑥ 抽出管과 冷却管을 接續하고 冷却管에 流水

⑦ 溫浴(50~60℃)위에 設어 約18時間 脂肪抽出

⑧ 脂肪定量瓶을 벗겨 Ether을 蒸發시키고 乾燥器(99±1℃)에서 約1時間 乾燥시킨후 恒量秤量

3) 計算

$$\text{粗脂肪(\%)} = \frac{W_0 - W_1}{S} \times 100$$

S : 試料의 重量 (g)

W₀ : 抽出前의 脂肪瓶重量 (g)

W₁ : 抽出後의 脂肪瓶重量 (g)

(註)

(1) 使用Ether의 檢査

(a) Ether에 濕潤한 試驗紙삽입, 變化確認

(b) Ether을 自然蒸發시켜 特臭 또는 雜物檢査

(c) Fuchsin Powder의 少量을 Tube에 넣어 여기에 Ether 10ml를 注加하고 振盪할때 液이 着色되면 Water나 Ethanol 存在, 이런 경우에는 Na₂SO₃ (水分脫水劑) 添加 必要

(2) 試料의 前處理

(a) 油分이 많은 試料 : 試料 10g을 秤取하고 少量씩 약질구에 넣어 갈아 으깨고 여기에 Na₂SO₄ 約20g을 加하여 잘 섞어 円筒濾紙에 넣는다. 약질구는 Ethyl Ether or 물은 脫脂綿으로 數回 닦아내어 이 綿으로 円筒濾紙를 充填한다.

(b) 水分, 蛋白質이 많은 試料 : 試料 3~8g을 秤取하여 약질구에 옮기고 Na₂SO₄ 8~10g을 添加, 다시 少量의 精製海砂를 加하여 잘 混和하여 脫水시킨후 乾燥粉碎한다.

(c) 糖類가 많은 試料 : 試料 5~10g을 秤取하여 Beaker에 옮기고 물 200ml를 加하여 휘저어 섞는다. 여기에 CuSO₄ 溶液(69 3g/l) 10ml를 添加 잘 混和한後 NaOH 溶液(10.2g/l)을 注加하여 微酸性으로 하고 充分히 攪拌한뒤 放置하고 沈澱을 傾斜濾過하여 糖分을 除去하고 殘渣를 乾燥하여 濾紙와 함께 円筒濾紙에 넣는다.

(D) 澱粉定量(Lane-Eyone 法)

1) 原理

Starch를 HCl로加水分解하여轉化糖을定量하고 여기에 0.9를 곱하여澱粉量으로換算한다. 換算係數 0.9는 $(C_6H_{10}O_5)_n + 2H_2O = n(C_6H_{12}O_6)$ 의方程式에서求한것인데實驗的 確證은 없다. 食品中에는 Starch外에 糖, Dextrin, Pentosan등이混在하고있으므로 그대로加水分解하게되면 正確한澱粉值를 얻을수 없으므로前處理로 이런混在物을除去할 必要가 있다. 특히 Pentosan이 많은試料는 따로 Pentosan을定量하여 이것을澱粉值에서 빼야한다.

2) 器具 및 試藥

- ① Water bath ② Mess & Triple Plask ③ Phenol phthalein 試液 (0.1%, 90% Ethanol) ④ 4 N-NaOH ⑤ Methylene blue 試液 (1% 溶液) ⑥ 25% HCl ⑦ Buret (50ml 容) ⑧ Electric heater & Asbestos net ⑨ Fehling 溶液A ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 34.639g을 DW에 녹여 500ml) ⑩ Fehling 溶液B (酒石酸칼륨나트륨 173g와 NaOH 50g을 DW에 녹여 500ml)

3) Fehling 溶液의 力價測定

- ① Triple Flask에 Fehling 溶液A 10ml 秤取
- ② DW 40ml, 30% CH_3COOH 4 ml, 50% KI 溶液 6 ml를 上記溶液에 添加
- ③ 0.1N $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ (티오黃酸나트륨 25g, Na_2CO_3 0.2g을 DW에 녹여 1000ml 되게 함) 로 滴定 (指示液: ※ 澱粉試液)

※ 澱粉試液의 製法

- (a) starch 1g을 冷水 10ml에 溶解混和
- (b) 熱水 200ml에 上記液을 저으면서 서서히 混合

(c) 放置後 上清液 使用 (使用時에 調製)

$$④ \text{力價 (F)} = \frac{6,354 \times a}{174.8}$$

a: 滴定所要量 (ml)

6,354: 0.1N $Na_2S_2O_3$ 溶液 1 ml에 相當하는 量 (ml)

174.8: Fehling 溶液A 10ml 中の Cu의 理論量 (mg)

(註)

- (1) 力價는 1 ± 0.005 가 理想的
- (2) 滴定の 原理: $CuSO_4$ 가 Alkali 性으로 糖에 의하여 Cu_2O 로 還元되어 試藥中の KIO_3 가 酸性下에서 KI와 反應하여 生成

殘存하는 I_2 는 $Na_2S_2O_3$ 로 滴定된다.

4) 試驗操作

① 加水分解

(a) Sample (風乾하여 微細하게 粉碎한것) 2.5~3.0g을 精取하여 이것을 Beaker에 옮기고 冷水 50ml를 加하여 1時間 저어 混和한뒤 濾過한다. Sample이 들어있던 Beaker를 물 50ml로 씻고 이 洗液을 濾紙위에 注加하고 濾紙上的 殘留物을 물 200ml로 씻는다. (물에 可溶性의 糖, Dextrin등 除去)

(b) 잘 씻은 殘留物을 Flask (목이 긴 500ml 容)에 옮기고 DW 100ml를 加한후 25% HCl (比重 1.125) 約 20ml를 注加하고 還流冷却器에 附着 (加水分解液은 約 2%의 HCl濃度가 된다)

(c) 끓는 水浴中에서 3時間分解 (→轉化糖)

(d) 冷却: 常溫放置

(e) 中和: 4 N NaOH (Phenol phthalein 滴加)를 둔탁한 赤色이 될때까지 注加

(f) 上記液의 濾液 (濾紙는 東洋濾紙 No.2)을 200 ml 容의 Mess plask에 取하고 DW로 標線까지 채움 (→糖液)

② 滴定

A: 予備滴定

(a) Triple Flask (200ml 容)에 Fehling 溶液A 및 B 各 5 ml와 물 10ml를 混合注入後 Buret (50ml 容)로부터 試料溶液 (糖液) 15ml를 加하고 Asbestos net 위에서 加熱하여 15秒間 Boiling 한다.

(b) Methylene Blue 3~4 滴을 加한다음 1~2 分間 弱하게 Boiling 한다 (이때 만약 靑色이 사라지면 糖液이 지나치게 진하기 때문이므로 糖液의 희석이 必要하게 된다) 계속 溫和하게 Boiling 하면서 Buret의 糖液을 1 ml 加해서 1 分間 끓이고 다시 1 ml를 加해서 끓여주는 操作을 反復하여 靑色이 없어지는데 所要되는 糖液의 量 (ml)을 읽는다.

B: 本滴定

(a) 予備滴定과 同一하게 Triple Flask (200 ml 容)에 Fehling 溶液A 및 B 各 5 ml와 물 10ml를 混合注入後 予備滴定에서 所要된 滴定量보다 約 1 ml 적은 量의 糖液을 加하고 Asbestos net

위에서 加熱시켜 끓어오르면 불을 弱하게 하여 2 分間 조용히 Boiling한다.

(b) Boiling操作을 계속하면서 Methylene Blue 溶液 3~4 滴을 加한다음 Buret에 남아있는 糖液을 靑色이 사라질때까지 滴加해서 滴定한다(→糖液 滴定量)

(注意) 1 ml를 滴定하는데 所要되는 時間이 1 分以内가 되게 滴定해야 하고 全煮沸 時間이 3 分이 넘지 않도록한다.

5) 計算 (Lane-Eynone糖類定量表 对照)

$$\text{澱粉(\%)} = \frac{\text{糖液總量}}{\text{糖液滴定量}} \times F \times \frac{100}{\text{Sample 量}} \times 0.9 \times \frac{1}{1000}$$

F : Pehling 溶液의 Factor

0.9 : 澱粉係數

Lane - Eynone 糖類定量表 (轉化糖)

糖液의 所要量	轉化糖係數	糖液100ml 에 대한mg	糖液의 所要量	轉化糖係數	糖液100ml 에 대한mg
15	50.5	336	35	51.8	147.9
16	50.6	316	36	51.8	143.9
17	50.7	298	37	51.9	140.2
18	50.8	282	38	51.9	136.6
19	50.8	267	39	52.0	133.3
20	50.9	254.5	40	52.0	130.1
21	51.0	242.9	41	52.1	127.1
22	51.0	231.8	42	52.1	124.2
23	51.1	222.2	43	52.2	121.4
24	51.2	213.3	44	52.2	118.7
25	51.2	204.8	45	52.3	116.1
26	51.3	197.4	46	52.3	113.7
27	51.4	190.4	47	52.4	111.4
28	51.4	183.7	48	52.4	109.2
29	51.5	177.6	49	52.5	107.1
30	51.5	171.7	50	52.5	105.1
31	51.6	166.3			
32	51.6	161.2			
33	51.7	156.6			
34	51.7	152.2			

1. 係數는 Fehling 溶液10ml에 相當하는 糖의 mg 數

2. 糖은 無水物

(라) 其他 營養素 : 省略

9. 人工着色料 : 省略

10. 防腐劑 (保存料) : 獸肉加工品檢査 參照

11. 香辛料 : 省略

12. 發色劑 : 獸肉加工品檢査參照

13. 變敗試驗

1) PH試驗

- ① 試料 5g을 약절구에서 磨碎
- ② 물 20ml를 加하여 浸出
- ③ 遠心分離後 上澄液의 PH測定
- ④ PH 6.2~6.3이면 腐敗初期 疑心

2) Ammonia試驗

① 25% HCl, Ether, Ethanol 混合液 (1:1:3)을 試驗管 (dia 2×10cm)에 넣고 (管底로부터 1cm 높이 程度)

② 密栓, 振盪後 甕는 물속에서 加熱

③ 試料 少量을 白金線에 묻히고 곧 試驗管마개를 열어 管壁에 試料가 닿지않도록 試葉面에 約 1cm 높이까지 넣음

④ 흰안개가 管内에 發生하면 陽性으로 判定

3) 黃化水素 檢出試驗

① 試料 10~25g을 잘게 썰어 試驗管에 넣고 試料가 完全히 젖게끔 ※ 붉은 黃酸을 加한다.

※ 묽은黃酸의 製法 : 濃黃酸 5.7ml를 DW 10ml에 조심하여 넣고 冷却後 DW로 100ml 되게 한다.

② 10% 窒酸鉛 또는 醋酸鉛液을 試料가 完全히 잠길정도로 注加한다.

③ 濾紙를 液面이나 試驗管壁에 接觸되지않게 매달은후 共栓한다.

④ 觀察 : 紙片이 엷은黃色이면 H₂S 少量發生
紙片이 엷은黑色이면 H₂S 多量發生

4) Walkiewicz 反應

① 試料 5g (磨碎)을 Beaker (100ml容)에 取하고 물 50ml를 加하여 浸出 (때때로 振盪 30分間) 한후 濾過 (→濾液)

② 試驗管 (I)에 A液 (1% Hgcl₂ 溶液) 2ml, 試驗管 (II)에 B液 (1% Hgcl₂ 溶液을 0.05% 되게 醋酸으로 稀積) 2ml를 取하고 여기에 濾液 0.1ml씩 滴加한후 다음표에 의하여 判定한다.

腐敗의 정도 (鮮度)	A 液	B 液	備 考
初期腐敗直前	+	-	- : 전혀混濁되지 않은것 ± : 약간混濁하나 Tube를 흔들면 다시 투명해지는것
初 期 腐 敗	-	±	+ : 混濁되며 Tube를 흔들 어도 전체가 混濁한것
腐 敗	±	+~++	++ : 混濁이 沈澱되어 가라앉은것

5) Trimethylamine 試驗

① 試料 10~20g을 Beakea (100ml 容) 에 받고 물 50ml 添加, 30分間 攪拌浸出

② 20% TCA (Trichloro Acetic Acid) 液 10~20ml로 蛋白質 沈澱시킨후

물로 100ml 되게하여 濾過(→檢液)

③ 檢液 5 ml (Trimethylamine 으로 20mg 含有) 를 Cylinder型 分液깔대기 (25ml 容) 에 取하고 中性Formalin (1 + 3) 1 ml, Toluene 10ml, 飽和炭酸칼륨溶液 3 ml를 加하고 1分間 振盪後 放置 (5分間)

④ 上層 (Toluene層) 을 無水黃酸나트륨 (約 0.5 g) 이 含有된 共栓試驗管에 옮겨서 脫水(→脫水 Toluene 溶液)

⑤ 0.02% 피크린酸의 乾燥Toluene 5 ml를 加한 다른 共栓試驗管에 脫水Toluene 溶液 5 ml 注加

⑥ 生成된 黃色도를 ※ 標準液의 것과 比色 (波長 420mm, 液層 1 cm)

※ 標準液 : Trimethylamine 水溶液 (mg) 을 위와같이 實施

⑦ 試料 100g中 4 ~ 6 mg면 腐敗初期 認定

6) Indol : 省略

7) Histidine : 省略

8) 揮發性 塩基窒素 (VBN : Volatile Basic Nitrogen)

(擴散法에 의한 定量)

(1) 器具 : Conway unit (擴散器)

(2) 試藥

① 氣密劑 : Glycerine

② 放出試液 (K₂CO₃ 飽和溶液) : K₂CO₃ (特級) 約 60g을 DW 約 50ml에 加熱溶解하여 NH₃ gas 를 除去하고 放冷하여 上澄液使用

③ Brunswik 試液 : Methylred 0.2g 및 Methyleneblue 0.1g을 Ethanol (90%) 300ml에 녹여濾

過後 使用 (褐色瓶 保存)

(3) 試驗溶液의 調製

試料가 固体物質인 경우는 그 一定量을 採取하여 適量의 DW로 浸出하고 그 浸液의 一定量을 받고 液体物質인 경우에는 곧바로 그 一定量을 받아 Flask에 넣고 微酸性이 될때까지 5% H₂SO₄로 中和한후 DW로 全量을 50ml로 하여 試驗溶液으로 한다 (NH₃ & Volatile amine 의 揮發을 防止할 目的으로 5% H₂SO₄로 微酸性으로 한다)

(4) 試驗操作

① 擴散操作 : 擴散器의 片底를 別途의 使用하지 않는 뚜껑위에 올려 한쪽으로 기울여 놓고 外室의 斜面下方에 Hole Pipet를 使用하여 上方에 묻지 않도록 注意하면서 試驗溶液 1 ml를 精密히 注入한다. 다음 內室에 0.01N H₂SO₄ 1 ml를 Bang buret를 使用하여 精密히 注入한후 뚜껑의 接觸部位에 氣密劑 少量을 塗布하고 뚜껑을 닫는다.

다음에 뚜껑을 미끌어지게 열어 駒込Pipet로 外室斜面 上方에 放出試液 1 ml를 빨리 넣고 뚜껑을 密閉한다음 拇指와 他指사이에 擴散器를 잡고 外室內의 液을 조용히 흔들어 放出試液과 試驗溶液을 잘 混和하고 水平臺위에 25°C로 60分間 靜置한다 (20°C면 120分, 16°C면 140分 以上)

② 定量 : 뚜껑을 열고 內室의 0.01N H₂SO₄에 Brunswik 試液 1滴을 加하여 0.01N NaOH으로 滴定하고 測定值의 2回 平均值 (aml) 를 求한다. 空試驗으로 試驗溶液 代身에 DW를 使用하여 똑같이 處理하고 滴定한 2回 平均值 (bml) 를 求한다.

(5) 計算

$$VBN (\%) = 0.14 \times \frac{(b-a) \times 50 \times F}{S} \times 100$$

0.14 : 0.01N H₂SO₄ 1 ml의 VBN (mg)

a : 0.01N H₂SO₄ 1 ml에 對한 0.01N NaOH의 滴定量 (ml)

b : 空試驗의 滴定量 (ml)

F : 0.01N NaOH의 Factor

s : 試料採取量 (mg) 但 固体試料의 경우는 稀積倍數 補正

〈계속〉