

A comparison study of crude protein contents obtained utilizing the Kjeldahl method and Dumas combustion method in foods

Sun Hye Hwang, Minseon Koo, Saerom Jo, and Yong Sun Cho[★]

Food Analysis Center, Korea Food Research Institute, 245 Nongsaeangmyeong-ro, Iseo-myeon,
Wanju-gun, Jeollabuk-do 55365, Korea

(Received January 31, 2020; Revised March 16, 2020; Accepted March 16, 2020)

식품 중 조단백질 정량을 위한 켈달법과 듀마스법 비교 연구

황선혜 · 구민선 · 조새롬 · 조용선[★]

식품분석센터, 한국식품연구원

(2020. 1. 31. 접수, 2020. 3. 16. 수정, 2020. 3. 16. 승인)

Abstract: In this study, crude protein was analyzed and compared using the Kjeldahl and Dumas method for cereals, meat, sea food, chemical samples and vegetable. The nine kinds of cereal, including white rice, were analyzed. In the result, the correlation coefficient of the Kjeldahl and the Dumas method indicated that there was no significant difference between them, showing 0.994 of it and 0.956 of p -value. Also, for the nine kinds of meat, five kinds of sea food, three kinds of chemical samples, four kinds of vegetable, there was little difference about the correlation coefficient of the Kjeldahl and the Dumas method, showing 0.9725, 0.9879, 0.9985 and 0.9873 of it and 0.947, 0.761, 0.997 and 0.727 of p -value, respectively. For the samples of meat, they were not fully homogenized, so the reproducibility of them was not good in the Dumas method, which is required to be analyzed in small size. However, when vegetables, which contain a lot of nitrates, are analyzed using Kjeldahl, they showed the lower reproducibility compared to the result of using Dumas because they are not completely decomposed in the Kjeldahl method. In the Dumas method, the samples should be homogenized because only 0.1 g sample is used. In short, neither of the Kjeldahl and Dumas methods are an accurate quantitative test because both of them do not directly analyze pure protein but measure the amount of protein based on analysis of nitrogen. Therefore, it is important of selecting the appropriate analysis method considering the characteristics of samples.

요 약: 본 연구에서는 곡물, 육류, 해산물, 채소류등에 대하여 식품공전에 등재되어 있는 켈달법(Kjeldahl method)과 AOAC에 등재되어 있는 듀마스법(Dumas method)을 이용하여 조단백질을 비교 분석하였다. 두 시험법에 대해 총 31종의 시료를 3회 반복 시험한 결과 대부분 비슷한 결과를 나타내었다. 곡물류의 경우 백미를 포함 총 9 종을 분석하였고, 켈달법과 듀마스법 결과간의 상관관계를 비교한 결과 correlation

[★] Corresponding author

Phone : +82-(0)63-219-9242 Fax : +82-(0)63-219-9280

E-mail : yscho@kfri.re.kr

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

coefficient가 0.994, p -value는 0.956로 두 결과값간의 유의적 차이는 없는 것으로 나타났다. 육류 9 종에 대해서는 correlation coefficient이 0.9725, p -value는 0.947, 해산물 5 종에 대해서는 correlation coefficient 값이 0.9879, p -value는 0.761, chemical시료 3종에 대해서는 correlation coefficient 값이 0.9985, p -value는 0.997, 채소류 4 종에 대해서는 correlation coefficient 값이 0.9873, p -value는 0.727로 시료간 약간의 차이는 있으나 켈달법과 듀마스법간에는 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 육류의 경우 시료의 균질성이 좋지 않아 소량을 칭취하여 분석해야 하는 듀마스법에서 재현성이 좋지 않았다. 다만 시료 중 질산염을 많이 함유하고 있는 채소류의 경우 켈달법을 이용하여 분석시 완전한 분해가 이루어지지 않아 듀마스의 결과보다는 낮은 함량값을 나타내었다. 또한 듀마스 법의 경우 약 0.1 g의 적은 시료를 사용하여 분석하기 때문에 분석시 시료의 균질성이 보장되어야 한다. 두 시험법 모두 순단백질을 직접 정량하는 것이 아닌 질소 분석을 바탕으로 단백질 함량을 구하는 것이기 때문에 정확성이 높다고 할 수 없지만, 샘플의 특성에 따라 적절한 분석방법을 선택하여 분석하는 것이 중요하다.

Key words: crude protein, kjeldahl, dumas combustion, quantitative analysis, correlation coefficient

1. 서 론

단백질이란 20여종의 아미노산으로 결합된 고분자이며 구성원소의 조성은 수소, 산소, 질소, 탄소, 황으로 이루어져있다.¹ 일반식품에는 단백질 이외 질소화합물이 존재하고, 단백질 종류에 따라 질소의 함량이 다르다. 질소화합물은 단백질 외 핵산, purine 및 pyrimidine 염기의 유도체, amide 화합물, 요소(urea), creatin 등에 포함되어 있고, 이것을 식품성분표에서는 총칭하여 조단백질이라고 표기하고 있다.^{2,3} 식품 중 조단백질을 정확히 측정하여 식품의 정보를 아는 것은 매우 중요하다. 일반적으로 단백질을 구성하고 있는 화학원소들의 비율은 탄소 2%, 수소 7%, 질소 16%, 황 2%, 산소 23%이다. 이와 같은 비율은 단백질의 종류에 따라 조금씩 다르지만 질소의 비율은 거의 일정하다. 따라서 일반적인 단백질 계수는 단백질이 16%의 질소를 가지고 있고, 샘플내의 질소가 모두 아미노산에서 유래되었다고 가정하면 $100/16 = 6.25$ 로 사용하고 있다.^{4,5} 하지만 식품의 종류에 따라 아미노산의 조성이 달라 각기 다른 단백질 환산 계수를 정량한 질소 수치에 곱하여 단백질 함량을 계산하며 계산식 옆에 환산 계수를 표시해 주어야 한다.⁶

식품 중 조단백질 분석은 일반적으로 식품공전에 등재되어 있는 켈달법(Kjeldahl method)을 많이 사용하고 있다. 켈달법은 분해 단계에서 촉매의 존재하여 고온에서 진한 황산을 가지고 분해한다.⁷ 그 결과 유기태 질소가 황산 암모늄으로 분해되고 이것을 수산화나트륨으로 중화하면 암모니아 기체가 나오며 이 암모니아 기체를 보릭산으로 포집하고 염산으로 적정

해서 질소를 정량한다. 켈달법은 회수율이 좋고, 표준 분석방법(reference method)이라는 장점을 가지고 있고, 국내 식품공전에 등재되어 있어서 많이 사용되지만, 분석시간이 길고 황산 이용에 따른 안전성 문제 등을 가지고 있다.^{8,9}

이에 켈달법을 대체 할 수 있는 분석법으로 AOAC (AOAC official method 968.06)에 등재되어 있는 듀마스법(combustion method)을 비교 분석해 보았다.¹⁰ 듀마스법은 기존의 켈달법에 비해 환경 오염물질이 적게 발생하고 자동화 할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 분석단계가 시료당 5분이 걸리지 않으며, 산이나 유독한 화학물질을 사용하지 않아 안전하고 환경 친화적인 분석 방법이다. 그러나 높은 초기 비용, 시료량을 적게 사용하는 등의 문제로 인해서 대표성이 떨어진다는 문제점이 있다.

따라서 본 연구는 국내 유통되는 곡물, 육류, 해산물, 채소류 등 다양한 원물부터 가공 식품까지 켈달법과 듀마스시험법으로 단백질 분석 방법을 비교 분석하여, 분석 대상에 따른 적합한 단백질 분석방법 선택에 기초자료를 확보하는데 목적이 있다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 재료

EDTA 표준품은 Leco (Leco corporation, USA)에서 구입하여 사용하였고, Glycine은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서, Ammonium sulfate와 Boric acid는 JUNSEI (Junsei chemical, Japan)에서 Sodium Hydroxide Solution 32%, 0.1N Hydrochloric acid standard solution

은 DAEJUNG (Daejung Chemicals & Metals Co. Ltd.)으로부터 구입하였다. 분해 촉진제로 사용하는 Kjeldahl tablet은 BUCHI (BUCHI Labortechnik AG, Switzerland)로부터 구입하여 사용하였다. 듀마스법에 사용하는 TIN FOIL CUP은 (Leco corporation, USA)에서 구입하였다. 샘플은 곡물 9종, 육류 9종, 해산물 5종, 채소류 4종, chemical 시료 3종, 기타 1종을 분석하였다. Chemical 시료를 제외한 시료들은 균질화 한 후 4°C에 보관하여 사용하였다.

2.2. 실험방법

켈달법(Kjeldahl method)은 크게 분해, 중화, 증류, 적정으로 나누어진다. 약 0.5 g의 시료를 유산지에 칭량한 후 잘 싸서 300 mL의 유리 튜브에 넣고, 가수분해를 촉진 시킬 촉매제인 Kjeldahl Tablet (4.98 g K_2SO_4 + 0.02 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 2알과 진한 황산 20 mL를 넣었다. 시료와 분해촉진제, 진한 황산이 담긴 시료 튜브는 430 °C로 예열된 히팅블럭 KjelDigester K-446에 넣고 약 2시간 동안 분해를 시켰다. 이때 분해를 통해 발생하는 황산가스는 유해가스 중화장비 Scrubber K-415를 통해 배출시켰다. 분해가 완료된 시료는 황산에 의해 탈수 분해와 산화환원 반응이 일어나 단백질 중의 질소는 황산암모늄($(NH_4)_2SO_4$)의 형태로 변하게 된다. 이때 사용된 촉매제 중 K_2SO_4 는 황산의 끓는점을 높여줘 SO_3 를 생성하고, 산화반응을 촉진시키는 역할을 하며, $CuSO_4$ 는 아미노산으로부터 암모니아 생성을

촉진시키는 역할을 하였다.^{11,12} 분해 후 상온에서 식힌 시료는 단백질 자동 증류장치에 연결해 중화, 증류, 적정과정을 거쳤다. 진한 황산을 통해 생성된 황산암모늄($(NH_4)_2SO_4$)에 H_2O 50 mL을 넣어 희석하고, 여기에 과잉의 32% NaOH 80 mL를 넣고 중화시킨 후 300초간 가열하면 암모니아가 발생하여 증류하게 된다. 증류반응에서 생성된 암모니아는 70 mL의 boric acid에 흡수시켜 150초간 0.1N 염산으로 적정하였다.

듀마스법은 크게 연소, 환원, 정량으로 나누어 졌다. 시료 약 0.1 g을 칭량하고 시료가 유출되지 않도록 FOIL을 오므려 준비하였다. 준비한 시료는 950 °C로 예열된 furnace에 주입되면서 초 고순도 산소와 만나 급격하게 산화되었다. 시료 중에 있던 탄소, 수소, 질소는 dioxide (CO), H_2O , NO으로 산화되고, 산화된 물

Table 1. Kjeldahl operating conditions for the determination of crude protein

Instrument	Conditions
H_2O	50 mL
NaOH	80 mL
H_3BO_3	70 mL
Reaction time	5 s
Steam power	100 %
Distillation Time	300 s
Titration start	150 s
Stirrer speed distillation	5
Stirrer speed titration	8

Table 2. Dumas operating conditions for the determination of crude protein

	Instrument	Conditions
Furnace	Temperature	950 °C
	Afterburner temperature	850 °C
	Thermo electric cooler temperature	5 °C
Burn profile	Furnace flow High	30 s
	Furnace flow Medium	30 s
	Furnace flow High	30 s
Ballast	Equilibrate time	30 s
	Not filed timeout	300 s
Aliquot Loop	Fill pressure drop	200 mmHg
	Equilibrate pressure time	8 s
Element parameters	Baseline delay	5 s
	Minimum analy	40 s
	Comparator	100.0 %
	Endline Time	2 s
	Conversion Factor	1.00
	Significant Digi	5

질은 산소이동상을 통해 두번째 furnace에 도달 하면서 산화가 촉진되고, 미립자는 제거 되었다.^{13,14} 연소를 통해 발생된 산화질소는 구리를 통해 질소가스로 환원되고 열전도도 검출기(TCD, Thermal Conductivity Detector)를 통해 질소를 탐지하고 정량하였다.

곡물 9종, 육류 9종, 해산물 5종, 채소류 4종, 기타 의약품 1종, chemical 3종 등 총 31개의 샘플을 켈달법과 듀마스법을 이용하여 조단백질을 구하였다. 31개의 샘플 중 chemicals에 해당하는 EDTA (59.9 g/100 g), Ammonium sulfate (132.5 g/100 g), Glycine (116.3 g/100 g)에 대한 각 장비별 회수율을 측정해 보았다.

2.3. 기기분석

켈달법(Kjeldahl method)을 이용하여 분석할때는 KjelFlex K-360 (BUCHI Labor Technik AG, Switzerland)

을 이용하여 증류를 하였고, 해당장비의 기기조건은 Table 1과 같다. 듀마스법을 이용하여 분석을 할 때는 원소분석기 FP628 (Leco corporation, USA)을 이용하였고, 기기조건은 Table 2와 같다.

2.4. 통계 분석

시료 중 단백질 함량시험을 켈달법과 듀마스법으로 나누어 3회 반복 시험하여 상대표준편차를 구했고, 두 시험결과간의 상관관계를 선형회귀분석 그래프로 나타내었다. 회귀직선으로부터 얻은 상관계수(r^2), 기울기(slope), 절편(intercept)으로부터 실험 군 간의 상관관계를 분석하였고 상관계수(r^2)의 절대 값이 0.9 이상이면 두 방법으로 측정된 값들 사이에 상관관계가 있는 것으로 인정하였다. SPSS version12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 의 paired T-test를 통해 p -value를

Table 3. Crude protein Contents (g/100 g, %) Obtained by the Kjeldahl and Dumas methods

Category	Sample name and description	Nitrogen conversion factor	Mean Kjeldahl	Mean Dumas	Kjeldahl:Dumas ratio
곡물	명이씨	6.25	18.6 ± 0.07	18.4 ± 0.26	1.0117
	백미1	5.95	5.3 ± 0.10	7.1 ± 0.16	0.7549
	백미2	5.95	5.7 ± 0.24	6.6 ± 0.19	0.8625
	백미3	5.95	5.2 ± 0.15	6.3 ± 0.10	0.8322
	백미4	5.95	5.1 ± 0.04	5.1 ± 0.01	1.0123
	백미5	5.95	4.1 ± 0.08	4.4 ± 0.04	0.9274
	백미6	5.95	3.8 ± 0.11	3.8 ± 0.05	1.0032
	참깨박	5.30	32.7 ± 0.17	30.0 ± 0.08	1.0899
	카카오허스크	6.25	15.6 ± 0.08	15.7 ± 0.03	0.9925
육류	sausage 1	6.25	18.1 ± 0.05	19.8 ± 2.21	0.9125
	sausage 2	6.25	19.3 ± 0.54	18.5 ± 0.03	1.0442
	sausage 3	6.25	21.1 ± 0.51	16.0 ± 0.46	1.3201
	조미닭근위	6.25	24.0 ± 0.02	28.1 ± 2.21	0.8554
	조미육포	6.25	31.7 ± 0.46	32.3 ± 0.73	0.9808
	굽벙이추출분말1	6.25	56.8 ± 0.16	56.9 ± 0.71	0.9977
	굽벙이추출분말2	6.25	61.1 ± 0.70	58.9 ± 0.41	1.0370
	탈지 갈색겨저리 발효 추출 분말	6.25	36.4 ± 0.11	36.4 ± 0.06	1.0010
	동충하초 동결건조 분말	6.25	18.9 ± 0.37	17.9 ± 0.24	1.0564
해산물	조미진미채 1	6.25	23.1 ± 0.27	23.7 ± 0.83	0.9764
	조미진미채 2	6.25	34.6 ± 0.53	35.4 ± 0.71	0.9757
	조미취치포 1	6.25	13.1 ± 0.24	14.9 ± 0.28	0.8764
	조미취치포 2	6.25	14.1 ± 0.30	14.1 ± 0.34	0.9969
	새우추출분말	6.25	20.5 ± 0.42	21.7 ± 0.14	0.9463
채소류	보리새싹	6.25	3.4 ± 0.06	3.3 ± 0.06	1.0012
	깻잎	6.25	3.6 ± 0.05	3.8 ± 0.08	0.9398
	양배추	6.25	2.1 ± 0.04	2.2 ± 0.05	0.9548
	풋고추	6.25	1.0 ± 0.06	1.3 ± 0.14	0.7878
기타	칼슘의약품	6.25	19.1 ± 0.06	19.2 ± 0.26	0.9948

구하고 $p < 0.05$ 신뢰도 구간으로 설정, 통계학적 유의 여부를 판단하였다. 두 시험결과 간의 차이는 켈달법 결과값에서 듀마스법 결과값을 나눈 비율(ratio)로 비교 하였다.

물의 단백질 함량은 켈달법은 3.8~32.7 g/100 g, 표준편차는 0.07~0.24, 듀마스법은 3.8~30.0 g/100 g 표준편차는 0.01~0.26이다. 켈달법과 듀마스법을 이용한 시험결과의 ratio는 0.7307~1.0899으로 곡물을

3. 결과 및 토의

곡물 9종, 육류 9종, 해산물 5종, 채소류 4종, 기타 의약품 1종, chemical 3종 등 총 31 개의 샘플을 식품 공전에 등재되어 있는 켈달법과 AOAC에 등재되어 있는 듀마스법을 이용하여 3번 반복 분석한 결과는 Table 3과 같다. 곡물 중 백미는 총 6종이고 나머지 3종은 명이씨와 참깨박, 카카오허스크를 분석하였다. 계산에 사용된 백미의 단백질 계수는 5.95, 참깨박은 5.30, 나머지 두종의 단백질 계수는 6.25이다. 곡

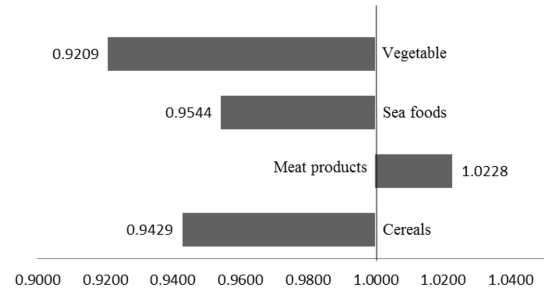


Fig. 2. Difference in the Kjeldahl:Dumas ratio of experiment.

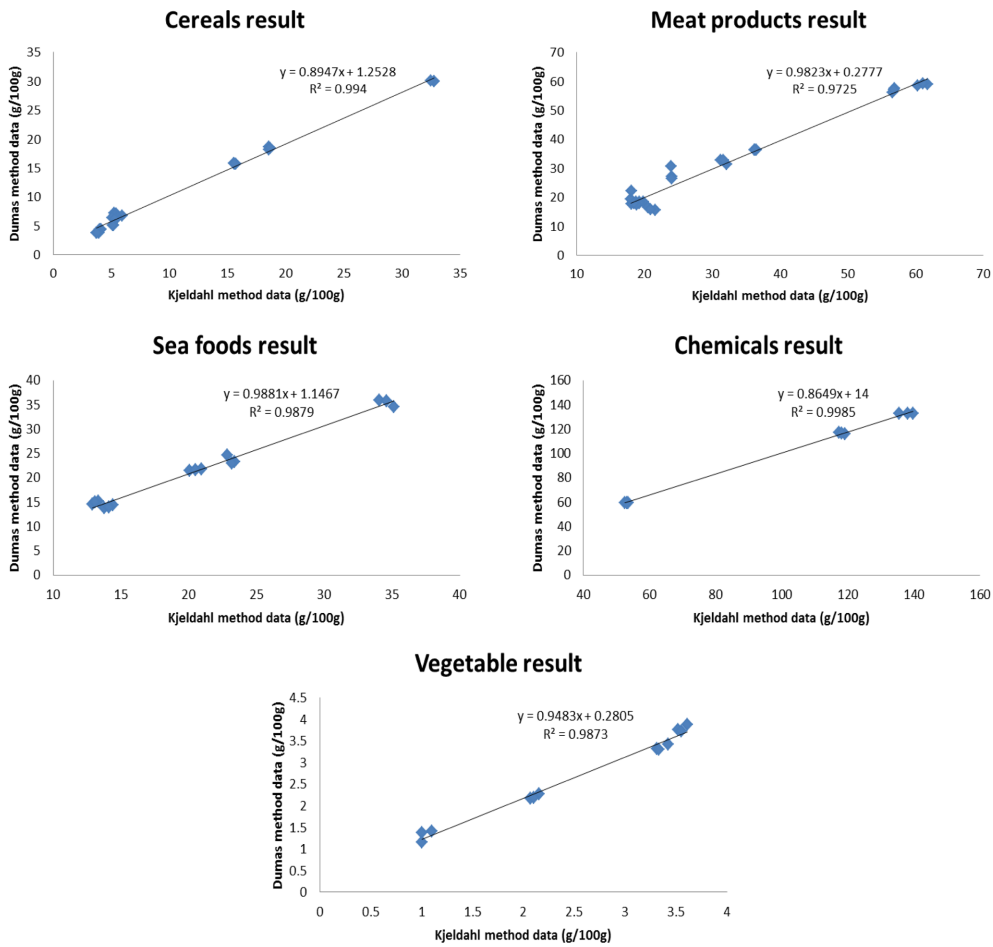


Fig. 1. Relationship between crude protein values (g/100 g) obtained by the Kjeldahl and Dumas methods.

이용한 두 실험법간의 차이는 크지 않았다(Fig. 2). 곡물 시료 6 종을 3반복 시험하고 전환식을 작성하여 두 분석결과의 유의성을 살펴 보았다. 그 결과 전환식은 $y = 0.8947x + 1.2528$, 상관계수는 0.994으로 두 결과간의 유의성이 크다는 것을 확인할 수 있었다. 이 식에 켈달법 결과를 대입하였을 때 나오는 계산값은 4.6~30.6 g/100 g이고, 듀마스법 결과와 비교 하였을 때 ratio는 0.8285~1.2686로 본 실험결과를 통해 도출한 계산식을 켈달법, 듀마스법 환산식으로 사용 가능함을 확인할 수 있었다. 육류 단백질 실험에 사용된 단백질 계수는 6.25이고, 켈달법을 이용한 함량은 18.1~61.8 g/100 g 표준편차는 0.02~0.70, 듀마스법은 15.6~59.3 g/100 g 표준편차는 0.03~2.21이다. 켈달법과 듀마스법을 이용한 시험결과의 ratio는 0.8554~1.3201으로 육류를 이용한 두 시험법간의 차이는 크지 않았다(Fig. 2). 하지만 소시지 시료의 균질화가 잘 되지 않아 켈달법과 듀마스법의 결과값 ratio가 1.3201로 크게 나타났다. 켈달법은 약 0.5 g의 시료를 칭취하여 분석을 진행하였고, 듀마스법은 장비의 특성상 약 0.1 g의 소량의 시료만 취할 수 있었다. 이러한 칭취량의 차이와 시료의 균질성의 문제가 결과의 차이로 나타난 듯 하다. 육류 시료 9종을 3반복 실험하고 전환식을 작성하여 두 분석결과의 유의성을 살펴 보았다. 그 결과 전환식은 $y = 0.9823x + 0.2777$, 상관계수는 0.9725로 두 결과간의 유의성이 크다는 것을 확인할 수 있었다. 이 식에 켈달법 결과를 대입하였을 때 나오는 계산값은 18.0~61.0 g/100 g이고, 듀마스법 결과와 비교 하였을 때 ratio는 0.7794~1.3763로 본 시험결과를 통해 도출한 계산식을 켈달법, 듀마스법 환산식으로 사용 가능함을 확인할 수 있었다.

해산물 단백질 실험에 사용된 단백질 계수는 6.25이고, 켈달법을 이용한 함량은 13.1~34.6 g/100 g 표준편차는 0.24~0.53, 듀마스법은 14.1~35.4 g/100 g 표준편차는 0.14~0.83이다. 켈달법과 듀마스법을 이용한 시험결과의 ratio는 0.8764~0.9969으로 해산물을 이용한 두 시험법간의 차이는 크지 않았다(Fig. 2). 해산

물 시료 5 종을 3반복 실험하고 전환식을 작성하여 두 분석결과의 유의성을 살펴 보았다. 그 결과 전환식은 $y = 0.9881x + 1.1467$, 상관계수는 0.9879로 두 결과간의 유의성이 크다는 것을 확인할 수 있었다. 이 식에 켈달법 결과를 대입하였을 때 나오는 계산값은 13.9~35.8 g/100 g이고, 듀마스법 결과와 비교 하였을 때 ratio는 0.9347~1.0809로 본 시험결과를 통해 도출한 계산식을 켈달법, 듀마스법 환산식으로 사용 가능함을 확인할 수 있었다. 칼슘 의약품에도 두 시험법 비교를 해 보았을 때 켈달법 19.1 g/100 g \pm 0.06, 듀마스법 19.2 g/100 g \pm 0.26으로 두 시험법간 결과가 유의성 있음을 확인할 수 있었다.

채소류 단백질 실험에 사용된 단백질 계수는 6.25이고, 켈달법을 이용한 함량은 1.0~3.6 g/100 g 표준편차는 0.04~0.06, 듀마스법은 1.3~3.8 g/100 g 표준편차는 0.05~0.14이다. 켈달법과 듀마스법을 이용한 시험결과의 ratio는 0.7878~1.0012로 두시험법 결과가 비슷한 것도 있었지만, 두 결과값의 ratio가 0.7878로 크게 벌어지기도 하였다(Fig. 2). 채소 시료 4 종을 3 반복 실험하고 전환식을 작성하여 두 분석결과의 유의성을 살펴 보았다. 그 결과 전환식은 $y = 0.9483x + 0.2805$, 상관계수는 0.9873로 두 결과간의 유의성이 크다는 것을 확인할 수 있었다. 이 식에 켈달법 결과를 대입하였을 때 나오는 계산값은 1.2~3.7 g/100 g이고, 듀마스법 결과와 비교 하였을 때 ratio는 0.8953~1.0691로 본 시험결과를 통해 도출한 계산식을 켈달법, 듀마스법 환산식으로 사용 가능함을 확인할 수 있었다. 다만 채소류의 경우 질산염과 같은 무기태 질소의 비율이 높아 켈달법으로 분석시 완전한 분해가 이루어지지 않아 듀마스법 보다 단백질 함량이 낮게 측정된 것으로 판단된다.¹⁵

곡물, 육류, 해산물등 총 5 종류의 샘플의 켈달법과 듀마스법 간의 결과를 SPSS의 paired T-test를 이용하여 검증한 결과는 Table 4와 같다. 곡물류의 *p*-value는 0.959, 육류는 0.947, 해산물은 0.761, 채소류는 0.727, chemicals는 0.997로 나타났다. 모든 종류의 식품에서

Table 4. Precision of chemical samples crude protein analysis

Category	Sample name	Nitrogen conversion factor	Concentration	Kjeldahl		Dumas		Kjeldahl: Dumas ratio	<i>p</i> -value
				g/100 g	Recovery (%)	g/100 g	Recovery (%)		
Chemical	EDTA	6.25	59.9	53.1	88.6	60.2	100.5	0.9	0.000
	Ammonium sulfate	6.25	132.5	137.9	104.1	132.9	100.3	1.0	0.016
	Glycine	6.25	116.3	118.3	101.7	116.9	100.5	1.0	0.086

p -value가 0.05이상으로 모두 유의적 차이가 있지 않았지만, 채소류와 해산물에서는 다른 식품군에 비해 p -value가 높음을 확인할 수 있었다.

EDTA, Ammonium sulfate, Glycine을 이용하여 켈달법과 듀마스법에서 회수율 시험을 한 결과는 Table 4와 같다. EDTA는 켈달법에서 88.6%, 듀마스법에서 100.5%의 회수율을 나타내었고, Ammonium sulfate의 회수율은 켈달법에서 104.1%, 듀마스법에서 100.3%, Glycine의 회수율은 켈달법에서 116.9%, 듀마스법에서 100.5%로 나타났다. 세가지 성분을 이용하여 회수율을 구한 결과 두 시험법 모두 만족할만한 회수율을 나타내었다.

4. 결 론

본 연구에서는 식품공전에 등재되어 있는 켈달법과 AOAC에 등재되어 있는 듀마스법을 이용하여 식품 중 조단백질 함량을 구하는 실험을 통해 두 시험법간 유의성에 대해 알아 보고자 하였다. 두 시험법 모두 오랫동안 사용되었고, 모두 표준분석방법으로 등재되어 있지만, 순단백질을 직접 정량하는 것이 아닌 질소 분석을 바탕으로 단백질 함량을 구하는 것이기에 때문에 정확성이 높다고 할 수 없다. 본 연구에서는 곡물 9종, 육류 9종, 해산물 5종, 채소류 4종, 기타 의약품 1종, chemical 3종을 두 가지 분석방법을 이용하여 3회씩 반복 실험하였다. 그 결과 채소류를 제외한 곡물, 육류, 해산물, 의약품, chemical의 단백질 함량 결과는 켈달법, 듀마스법 두 분석방법에 크게 차이가 없는 것으로 확인 되었다. 하지만 두 분석결과 간 유의해야 할 점은 일반적으로 듀마스법 결과가 켈달법 결과보다 조금씩 높게 나온다는 사실이다. 이론적으로 산분해를 통해 증류하고, 적정하는 켈달법의 경우 산분해 저항성을 가진 헤테로 고리화합물을 100% 분해하기 어렵고,^{16,17} 질산염과 같은 구조가 단순한 질소화합물의 경우 분해가 어렵기 때문에 800~1000 °C에서 연소하고, 환원 정량하는 듀마스 실험법 보다 단백질 함량이 적게 측정된 것으로 판단된다.^{18,19} 켈달법의 경우 분해, 중화, 증류, 적정의 4단계로 진행을 하며, 진한 황산을 이용하여 고온에서 분해를 하기 때문에 유독화합물이 많이 발생되어 인체에 악영향을 미칠 수 있다는 단점과 듀마스법에 비해 분석시간이 길고, 분석단계가 많아 시료의 손실이 있을 수 있다는 단점을 가지고 있다.²⁰ 하지만 거의 모든 매트릭스에 적용이 가능하다는 범용성을 가지고 있어 식품공전에 등

재되어 사용되고 있다. 듀마스법의 경우 분석시간이 짧고, 환경친화적인 분석방법이지만, 적은 시료를 사용해야 하기 때문에 시료의 균질성이 보장되는 경우에만 사용할 수 있다는 단점을 가지고 있다. 따라서 시료의 종류와 상태에 따라 적절한 단백질 분석방법을 선택하여 분석하여야만 한다.

감사의 글

이 논문은 2020년도 과학기술정보통신부 재원으로 한국식품연구원의 지원(IS200400-01)을 받아 수행된 연구 성과입니다.

References

1. A. Simonne, E. Simonne, R. Eitenmiller, H. Mills and C. Cresman III, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **73**(1), 39-45 (1997).
2. R. Etheridge, G. Pesti and E. Foster, *Animal Feed Science and Technology*, **73**(1-2), 21-28 (1998).
3. S. Jung, D. Rickert, N. Deak, E. Aldin, J. Recknor, L. Johnson and P. Murphy, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **80**(12), 1169 (2003).
4. L. Krotz, F. Leone and G. Giazzi, 'Application note (AN42262)', Themro Fisher, 2016.
5. M. Thompson, L. Owen, K. Wilkinson, R. Wood and A. Damant, *Analyst*, **127**(12), 1666-1668 (2002).
6. S. O. Lourenço, E. Barbarino, J. C. De-Paula, L. O. d. S. Pereira and U. M. L. Marquez, *Phycological Research*, **50**(3), 233-241 (2002).
7. P. Yanu and J. Jakmunee, *Food Chemistry*, **230**, 572-577 (2017).
8. K. M. I. Association, *the MEAT Journal*, **2**, 66-71 (1988).
9. P. M. Wong, Determination of Total Protein Content in Milk Powders: a Comparative Study of the Kjeldahl, Lowry and Bradford Method. Tunku Abdul Rahman University College, 2017.
10. AOAC. Association of Official Analytical Chemists Washington, DC, 1984.
11. G. Buckee, *Journal of the Institute of Brewing*, **100**(2), 57-64 (1994).
12. J. Martín, L. Fernández Sarria and A. G. Asuero, 'Advances in Titration Techniques', Intech, 2017.

13. J. Müller, 'Comparison and considerations for nitrogen protein analysis of food and feed', Foss publication, 2017.
14. X.-l. Zhang, H. Zhao, F. Wang, Z.-J. Chang, H. Li, and J.-M. Xiao, *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, **1**, 40-42 (2015).
15. U. G. Bak, C. W. Nielsen, G. S. Marinho, Ó. Gregersen, R. Jónsdóttir and S. L. Holdt, *Algal Research*, **42**, 1-10 (2019).
16. D. Dev and E. Quensel, *Journal of Food Science*, **53**(6), 1834-1837(1988).
17. R. Jain and S. Goomer, *International Journal of Food and Nutritional Science*, **6**(1), 68-74 (2019).
18. M. Mádlíková, I. Krausová, J. Mizera, J. Táborický, O. Faměra and D. Chvátil, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **317**(1), 479-486 (2018).
19. I. D. Nwachukwu and R. E. Aluko, *Food Chemistry*, **270**, 25-31 (2019).
20. T. E. Silva, E. Detmann, M. O. Franco, M. N. N. Palma and G. C. Rocha, *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, **38**(1), 45-51 (2016).

Authors' Position

Sun Hye Hwang : Researcher
Minseon Koo : Principal Researcher
Saerom Jo : Researcher
Yong Sun Cho : Principal Researcher