

성장기용 조제식에 함유된 유지성분의 과산화물가 측정불확도

김성한* · 광병만 · 안장혁 · 공운영
남양유업(주) 중앙연구소

Uncertainty of Peroxide Value Determination in Fat in Follow up Formula

Sung-Han Kim*, Byung-Man Kwack, Jang-Hyuk Ahn, and Un-Young Kong
Research and Development Center, Namyang Dairy Products Corporation

Peroxide values (PV) of fat from follow up formula were determined using redox-potentiometric titration method and standard method, which is based on KI oxidation by hydroperoxides and volumetric titration of liberated iodine, and their uncertainties were compared. Uncertainty sources in measurand, such as sample weight, sodium thiosulfate concentration, and titer, were identified and used as parameters for combined standard uncertainty based on Guide to the expression of uncertainty in measurement and Draft EURACHEM/CITAC Guide. Analytical results and combined standard uncertainties of peroxide values (PV) determined by standard burette and potentiometric titrations were 2.05 ± 0.17 and 1.96 ± 0.07 meq/kg, respectively, suggesting potentiometric titration method is suitable for determining PV of fat with low PV, because uncertainty of PV determination obtained by potentiometric titration was lower than that obtained by burette titration.

Key words: uncertainty, peroxide values, potentiometric titration, follow up formula

서 론

성장기용 조제식(follow up formula)은 분리 대두단백 등 단백질 함유식품을 원료로 생후 6개월 이후 영아, 유아의 정상적인 성장·발육에 필요한 무기질, 비타민 등 영양소를 첨가하여 이 유식의 섭취시 액상으로 사용할 수 있도록 분말상 또는 액상으로 제조·가공한 것을 말하며(1), FAO/WHO의 CODEX규격에는 infant formula(영유아용 조제식품)의 정의를 영아의 정상적인 영양소 요구량을 충족시키기 위하여 필요시에 모유의 대체물로서 사용되는 액상 또는 분말상의 조제식품이라고 하고 있으며, 조제분유 및 성장기용 조제식 등을 총칭하고 있다(2). 유성분 9.0% 이상 60% 이하(고형분으로서)를 함유하는 조제분유 형태의 성장기용 조제식은 일반적으로 20% 이상의 지방을 함유하고 있으며, 필요에 따라 다양한 유지가 첨가되므로 제조공정 및 유통과정에서 발생할 수 있는 지방의 산패는 성장기용 조제식의 품질관리에 있어서 매우 중요한 요소 중의 하나이다.

이러한 유지의 품질을 나타내는 지표로는 산가, 과산화물가, 요오드가, TBA가 등 여러 가지가 있는데, 이 중 과산화물가(peroxide values, PV)는 유지의 산패도를 나타내는 중요한 지

표가 되는 값으로, 시료 kg당 과산화물의 밀리당량으로 정의된다(3). 식품공전법에 의한 과산화물가의 측정원리는 AOAC법과 마찬가지로 시료에 존재하는 과산화물에 의한 KI의 산화 후 유리된 I를 적정하는 것인데(3,4), 과산화물가의 단위가 매우 낮은 특성으로 인해 분석오차가 크게 발생할 가능성이 있으며, 고도로 정제된 유지 시료의 경우에 과산화물가 측정에 어려움이 있다는 단점이 있다.

이러한 단점을 보완하기 위하여 과산화물가의 측정에 있어 Fourier transform infrared spectroscopy(5), Ferrous oxidation-xyleneol orange method(6) 및 산화환원 전위차 측정에 의한 방법(7) 등 적정과정 없이 측정하는 방법들이 연구되어 왔다. 전위차적 정법은 전극간의 전위차(기전력)의 측정을 종말점 지시로 쓰는 적정방법으로서 적당한 전극대(電對)를 써서 기전력의 변화를 점검하여 적정량차 V에 대한 기전력의 변화 E의 비, E/V가 극대로 되는 점으로부터 적정의 종말점을 얻거나 또는 당량점에 상당하는 기전력의 값으로부터 적정의 종말점을 얻는 방법이다. 검체를 넣는 비커, 용량분석용 표준액을 적가하는 뷰렛 또는 적당한 자동적정용 시린지, 지시전극과 참조전극, 두 전극간의 전위차를 측정하는 전위차 측정기, 기록장치 및 비커내의 액을 혼합할 수 있는 교반기로 되어 있다. 전위차 적정기에 의한 적정의 장점은 종말점의 정밀한 감지, 0.001 mL의 해상도를 갖는 뷰렛을 이용한 정확한 적정, 지시약에 의한 오차의 제거 등에 있다. 이러한 전위차 적정법을 사용하여 유지의 과산화물가를 측정할 경우 기존의 뷰렛적정법과 비교하여 차이가 있는 지 여부를 파악하기 위하여 측정불확도 이론을 도입하였다.

*Corresponding author: Sung-Han Kim, Research and Development Center, Namyang Dairy Product Co., Ltd., 160, Bongan-ri, Janggi-myun, Gongju-Si, Chungcheongnam-do 314-914, Korea
Tel: 82-41-857-1551
Fax: 82-41-857-7933
E-mail: biotech_stone4@hanmail.net

측정불확도 이론은 많은 연구자들이 시험기관마다 또는 시험원마다 상이하게 도출되는 결과의 차이를 최소화하기 위하여 반복실험을 통한 합리적인 통계처리에 대한 노력과 함께, 실험결과에 대한 신뢰도를 최대 만들기 위해 1970년대 국제도량형위원회(CIPM)를 중심으로 한 측정결과와 평가를 위한 측정불확도 이론의 접근으로 시작되었다. 1993년에는 국제표준화기구(ISO)에서 시험분석 및 교정결과와 품질에 대한 척도로서 측정불확도 표현지침(GUM: guide to the expression of uncertainty in measurement)(8)이 발간되어 분석오차에 대한 수학적, 통계적 이론이 제시되었으며, NIST(national institute of standards and technology, USA)에서도 guideline이 발간되었고(9), 1995년에는 EURACHEM uncertainty working group에서 CITAC 및 AOAC International과 공동연구를 통해 Draft EURACHEM/CITAC Guide(10)가 발간되어 측정불확도에 대한 수학적, 통계적 이론 및 화학실험에 있어서의 예시가 제시되었다.

국내에서는 한국표준과학연구원에서 1998년도에 측정불확도 표현지침(11)을 발간하였으며, KOLAS(Korea laboratory accreditation scheme) 사무국에서는 2000년도에 측정결과와 불확도 산정 및 표현을 위한 지침(12)을 발간하고 시험·검사기관의 측정불확도 산정 능력을 의무화하고 있다. 또한 유지의 산패도 측정과 관련하여는 국외에서 산화환원 전위차 측정에 의한 산가(13) 및 과산화물가(14) 측정에 대한 불확도를 산출하여 시험방법의 유효화를 하였을 뿐 국내에서는 유지의 산패도 측정을 위한 좋은 지표중의 하나인 과산화물가 측정에 있어서 측정결과와 신뢰성 검증에 위하여 분석오차를 과학적으로 산출하는 시도가 없었다. 그러나 다양한 시험방법들에 있어서 적절한 불확도인자 선정이나 합리적인 측정불확도 합성을 위하여 많은 의견들이 제시되어야 하며 체계적이고 합리적인 정립이 필요한 실정이다.

이에 본 실험에서는 과산화물가의 측정시 발생할 수 있는 분석오차를 파악하기 위하여 측정불확도 이론을 도입하여 측정 불확도에 영향을 미칠 수 있는 인자들을 파악하고자 한다. 뷰렛 적정법과 전위차적정법에 의한 과산화물가의 측정불확도를 비교, 산출하고 각각의 인자들이 최종결과값에 미치는 영향을 파악하여, 전위차적정법에 의한 과산화물가 측정의 가능성을 검토하고, 보다 정확한 유지의 산패도 측정지표로 활용하기 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서는 시중에 유통중인 N사의 성장기용 조제식에서 추출한 지방을 실험 대상으로 하였으며, 적정액의 정확한 농도를 구하기 위한 표준물질로서 인증표준물질(CRM: certified reference material)인 potassium dichromate을 사용하였다. 또한 Sodium thiosulfate는 Merck(Germany)의 titrisol ampule을 사용하였으며, potassium iodide 및 acetic acid는 Sigma Chemical Co.(USA)사 제품을, chloroform 및 pentane은 Fisher Chemical Co.(USA)사의 제품을 각각 사용하였다. 뷰렛은 Brand사의 Burette Digital III을 사용하였으며, 전위차 적정기는 Metrohm (Switzerland)사의 적정 및 용액분주장치(799 GPT Titrino, 685 Dosimat), Pt전극 및 sample changer를 사용하였다.

실험방법

성장기용 조제식로부터의 유지추출은 추출과정 중 유지의 산

화를 거의 일으키지 않는 것으로 보고된 Pentane 법에 따라 수행하였다(15,16). 추출한 유지의 과산화물가 측정은 식품공전법(2004)과 AOAC method를 기준으로 하였으며, 적정 시에는 디지털 뷰렛에 의한 적정 및 전위차 적정기를 이용한 적정을 수행하였다. 추출 직후의 유지 시료 약 5g을 취한 뒤, 초산 클로로포름 혼합액 30 mL 및 쓸 때 만든 포화 KI를 1 mL 가하여 잘 교반한다. 이를 암소에 10분간 방치한 후 물 70 mL를 가한 다음 0.5% 전분용액을 지시약으로 하여 유리된 I_2 를 0.01 N 티오황산나트륨으로 적정한다. 단, 전위차적정기에 의한 적정 시에는 지시약을 첨가하지 않았다.

표준용액의 제조 및 적정액의 표정

적정액의 농도를 구하기 위한 표준용액은 중크롬산칼륨으로써 18.0 M 수준으로 정제된 증류수를 사용하여 0.01 N이 되도록 조제하였다. 적정액은 티오황산나트륨 0.01 N 용액을 사용하였다. 약 0.01 N의 농도인 티오황산나트륨의 표정은 0.01 N 중크롬산칼륨 25 mL를 취하고 물 50 mL과 KI 2 g 및 진한 HCl 5 mL를 가하여 암소에 10분간 방치한 후 물 100 mL를 가하여 전분시액을 지시약으로 해서 유리된 I_2 를 티오황산나트륨용액으로 적정하여 수행하였다.

모델관계식 설정

과산화물가를 구하기 위한 식은 식 (1)과 같이 설정하였으며 측정값의 불확도를 구하기 위하여 식 C_T 와 관계될 수 있는 모든 불확도 요인을 포함하는 식 (2) 및 (3)을 설정하였다. 요인들에 대한 세부내용과 약어는 Table 1에 나타내었으며, Fig. 1에 도식화 하였다.

$$PV_B = \frac{(V_B - V_{B0}) \times C_T}{W_S} \times 10 \quad \text{or} \quad (1)$$

$$PV_P = \frac{(V_P - V_{P0}) \times C_T}{W_S} \times 10$$

$$C_T = \frac{C_D \times V_{D2}}{V_T} \quad (2)$$

$$C_D = \frac{1000 \times W_D \times P_D}{V_D \times F_D} \quad (3)$$

PV: Peroxide values

V_B : Volumes of sodium thiosulfate solution spent for burette titration of the test solution

V_{T0} : Volume of sodium thiosulfate solution spent for burette titration of the blank

V_P : Volumes of sodium thiosulfate solution spent for potentiometric titration of the test solution

V_{P0} : Volume of sodium thiosulfate solution spent for potentiometric titration of the blank

W_S : Weight of the oil test portion

C_T : Concentration of sodium thiosulfate solution

C_D : Concentraion of potassium dichromate solution

V_{D2} : Volumes of potassium dichromate solution

V_T : Volumes of sodiun thiosulfate solution spent for titration of potassium dichromate solution

W_D : Weight of potassium dichromate

Table 1. Uncertainty components for PV measurement

Parameter		Description	Source	
W_s	W_c	Weight of sample	Calibration	
	W_{Rp}		Repeatability	
	W_{Rs}		Resolution	
	P_D	Purity of potassium dichromate	Purity	
	F_D	Formula weight of potassium dichromate	Molecular weight	
	C_D	V_D	V_{DC}	Calibration
V_{DR}			Repeatability	
V_{DT}			Temperature	
	W_D	Weight of potassium dichromate	Calibration	
			W_{Dp}	Repeatability
			W_{Ds}	Resolution
	V_{D2}	Volumes of potassium dichromate solution	Calibration	
			V_{PR}	Repeatability
			V_{PT}	Temperature
C_T	V_T	Volumes of sodium thiosulfate solution spent for potassium dichromate titration	V_{TC}	Calibration
			V_{TP}	Repeatability
			V_{TT}	Temperature
			V_{TS}	Resolution
			V_{TD}	Drop size
$V_B (V_{B0})$	V_{BC}	Volumes of sodium thiosulfate solution spent for sample titration with burette	Calibration	
	V_{BR}		Repeatability	
	V_{BT}		Temperature	
	V_{BD}		Drop size	
$V_P (V_{P0})$	V_{PC}	Volumes of sodium thiosulfate solution spent for potentiometric titration of sample solution	Calibration	
	V_{PR}		Repeatability	
	V_{PT}		Temperature	
	V_{PD}		Divisions	

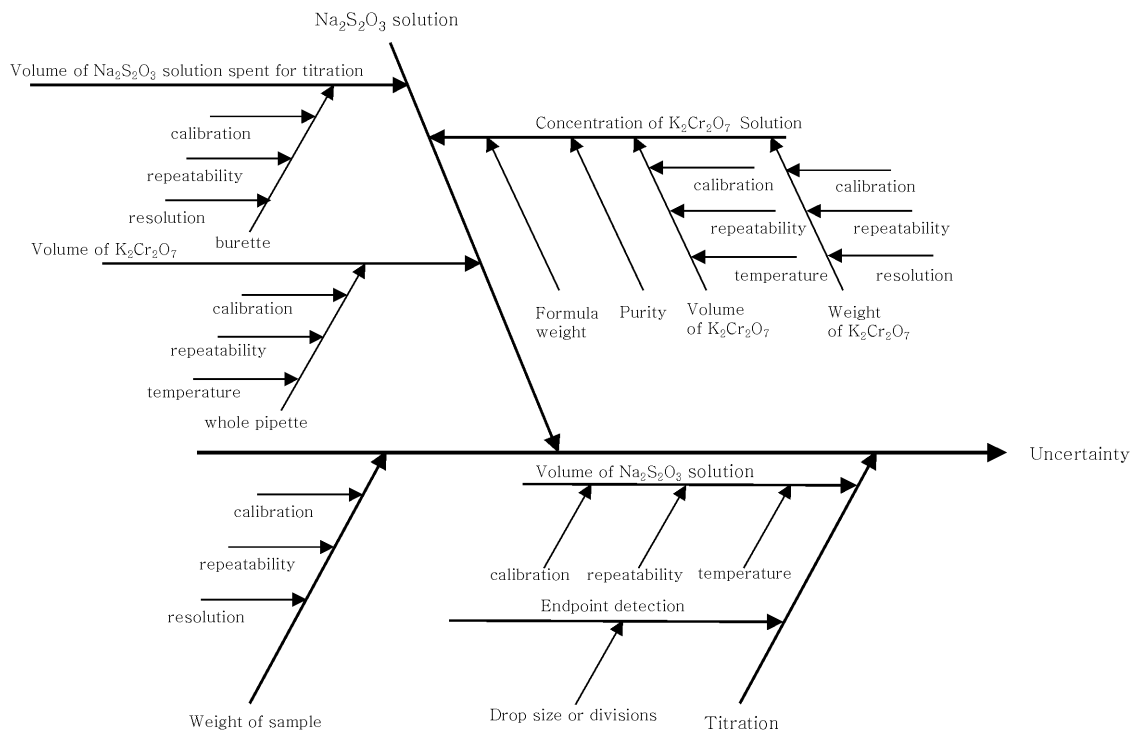


Fig. 1. Fish bone diagram of uncertainty sources in PV determination.

P_D : Purity of potassium dichromate
 V_D : Volume of potassium dichromate
 F_D : Formula weight of potassium dichromate

불확도 요인 및 산출방법

본 실험에서는 무게 측정시 저울의 안정성 등의 반복시험에 대한 불확도는 공통(pooled) 실험표준편차 방법에 따라 식 (5) 와 (6)을 적용하여 A type 불확도를 구하거나 표준편차 혹은 평균표준편차를 A type 불확도로 사용하였다. 교정성적상의 표시된 불확도를 사용하는 경우나 반복 측정을 실시하지 않고 불확도를 산출하는 경우에는 표준불확도를 B type으로 구하였다.

최종결과의 합성표준불확도는 ISO guide에 따라 측정된 각각의 표준불확도를 합성하여 식 (7)을 이용하여 구하였으며, 확장불확도는 포함인자 k와 계산된 합성표준불확도를 곱하여 식 (8)을 이용하여 구하였다. 이 때, 포함인자 k의 값은 식 (9)와 식 (10)을 이용하여 감응계수와 유효자유도를 구한 후 신뢰수준을 고려하여 t 분포도에서 그 값을 찾을 수도 있으나, 본 논문에서는 보다 신속하고 간단한 불확도 산정을 위해 상기 측정결과의 불확도 산정 및 표현을 위한 지침(12) 및 EURACHEM/CITAC Guide(10)의 방법에 따라 95% 신뢰수준에서 포함인자 k값을 2로 기준하여 확장불확도를 계산하였다. 즉, 확장불확도를 계산하는 경우 측정의 유효자유도가 10이상 충분히 크도록 측정 계획을 수립하여 k의 값 2를 채택하여 사용하였으며, 다른 k값은 요구조건이 이미 설정되어 있거나 문서화되어 있는 경우에 한정하여 사용한다는 명시를 기준으로 본 실험에서도 95% 신뢰수준에서 포함인자 k값 2를 기준으로 확장불확도를 계산하였다.

$$u(x_i) = \frac{s}{\sqrt{n}} \tag{4}$$

$$u(x_i) = \frac{s_p}{\sqrt{n}} \tag{5}$$

$$s_p = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^M v_i s_i^2}}{\sqrt{\sum_{i=1}^M v_i}} \tag{6}$$

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i) \tag{7}$$

$$U(y) = k u_c(y) \tag{8}$$

$$C_i = \frac{\partial f}{\partial x_i} \approx \frac{(\Delta x)_i}{\Delta x_i} \tag{9}$$

$$v_{\text{eff}} = \frac{u_c^4(y)}{\sum_{i=1}^N \frac{[c_i u(x_i)]^4}{v_i}} \tag{10}$$

- n: Number of measurements
- s_p : Pooled standard deviation
- U: Expanded uncertainty
- k: Coverage factor
- v_{eff} : Effective degree of freedom
- v_i : Degree of freedom
- C_i : Sensitive coefficient

결과 및 고찰

표준물질 $K_2Cr_2O_7$ 의 농도

Table 2에서 보듯이 0.01 N $K_2Cr_2O_7$ 100 mL를 만드는데 필요한 $K_2Cr_2O_7$ 의 질량 0.5206 g을 정확히 측정하기 위해서 저울의 교정성적서 상의 불확도, 안정성 및 분해능에 의한 불확도를 고려하여야 한다. 교정성적서상의 불확도는 95%신뢰수준에서 ± 0.00033 g의 불확도를 나타내므로, B type 표준불확도는 0.000168 g으로 계산되었다. 분동을 이용하여 10회 반복으로 5 일에 걸쳐 측정된 값들의 평균표준편차인 0.002010 g을 저울안정성에 관한 A type 표준불확도로 사용하였다. 또한 저울의 분해능은 0.0001 g이며, 분해능에 대한 불확도는 0.00003 g이므로 저울의 합성표준불확도 $u(W_D)$ 는 0.003856 g으로 계산되었다.

표준용액 제조 시에는 플라스크 교정성적서 상의 불확도, 눈금맞추기에 따른 변동, 온도에 따른 물의 부피변화 등을 고려하여야 한다. 100 mL 용량의 volumetric flask의 교정성적서 상의 불확도는 95% 신뢰수준에서 0.06 mL의 불확도를 가지고 있으며, 표준불확도는 0.030612 mL 이 된다. 눈금맞추기에 따른 불확도는 100 mL 플라스크에대한 반복시험으로 측정되어 진

Table 2. Uncertainty budget for the determination of Cd

Parameter	Value	Standard uncertainty	Relative standard uncertainty	Type of uncertainty
P_D	0.99984	0.000058	0.000058	B
F_D	310.1846	0.001400	0.000004	B
V_D	V_{DC}	0.030612		B
	V_{DR}	100	0.000565	A
	V_{DT}		0.036300	B
W_D	W_{DC}	0.5000	0.000168	B
	W_{DT}	0.002010	0.003856	A
	W_{DS}	0.000030		B
C_D	0.1006852	0.000392	0.003897	-

Table 3. Uncertainty of potassium dichromate molecular weight

Element	Atomic weight	Quoted uncertainty	Standard uncertainty	Number of atoms	Calculated weight	Uncertainty contributed
K	39.0983	±0.0001	0.00006	2	78.1966	0.00011
Cr	59.9961	±0.0006	0.00034	2	119.9922	0.00069
O	15.9994	±0.0003	0.00017	7	111.9958	0.00121

Table 4. Uncertainty budget for the determination of C_T

Parameter	Value	Standard uncertainty	Relative standard \ uncertainty	Type of uncertainty
V _{D2}	V _{D2C}	0.005100		B
	V _{D2R}	25	0.000428	A
	V _{D2T}		0.009093	B
V _T	V _{TC}	26.03	0.018878	B
	V _{TP}		0.023769	A
	V _{TT}		0.009468	B
	V _{TS}		0.002887	B
	V _{TD}		0.019249	B
C _T	0.10483	0.000431	0.004170	-

다. 10회 반복 질량측정 시 표준편차는 0.0305 mL이고 이를 불확도로 사용하였다. 온도의 영향에 의한 불확도는 물의 부피팽창계수를 고려하여 구할 수 있다. 온도변화는 ±3°C이며, 물의 부피팽창계수는 2.1×10⁻⁴이다. 온도변화에 따른 부피의 불확도는 ±V×3×0.0002이며, 직사각형 분포로써 이에 대한 표준불확도는 0.0363 mL이 된다. 따라서 플라스크의 상대합성표준불확도 u(V_D)/V_p는 0.000565 mL이다.

K₂Cr₂O₇의 분자량에 대한 불확도는 원자량의 불확도로부터 구해진다(17). 각 원자의 불확도는 Table 3에 나타내었고, 그로부터 K₂Cr₂O₇ 원자개수에 따른 불확도 및 분자량의 불확도를 구하면, u(F_D)=0.00140이 되었다. K₂Cr₂O₇의 순도는 99.984±0.010%로 제조사의 규격에서 알 수 있으며, B type 표준불확도를 구하면 0.000058 으로 계산된다. 식 (3)에 의하여 구한 표준용액의 농도는 0.1007 N이다. 각 인자의 상대표준불확도는 Table 2에 나타내었으며, 이로 표준용액의 농도에 대한 상대표준불확도는 다음과 같이 구할 수 있다.

$$\frac{U(C_D)}{C_D} = \sqrt{\left(\frac{U(W_D)}{W_D}\right)^2 + \left(\frac{U(V_D)}{V_D}\right)^2 + \left(\frac{U(F_D)}{F_D}\right)^2 + \left(\frac{U(P_D)}{P_D}\right)^2}$$

$$= 0.003897$$

Na₂SO₃ 용액의 농도

적정에 필요한 0.01 N Na₂SO₃ 용액은 표준용액과 마찬가지로 분자량의 불확도와 함께 순도에 따른 불확도를 고려해야하나 Na₂SO₃ 용액의 농도는 K₂Cr₂O₇로의 표정에 의해서 결정되기 때문에 분자량이나 취한 질량에 관련되는 불확도 정보가 필요하지 않아 질량 측정에 따른 불확도는 다음 단계의 연관된 값과 관계가 없으므로 고려하지 않았다.

적정에 필요한 K₂Cr₂O₇ 용액 25 mL은 25 mL 용량의 흡피펫으로 시료액에 옮겨지며, 피펫사용에서의 불확도는 3가지 요소에 의해 발생한다. 교정성적서 상의 불확도는 95% 신뢰수준에서 0.01 mL의 불확도를 가지고 있으므로 이 값을 1.96로 나누

어줌으로써 표준불확도는 0.0051 mL이 된다(Table 4). 눈금맞추기에 따른 시험원의 불확도는 반복시험으로 측정하였다. 이에 대한 부피측정 시 표준편차 0.00245 mL를 A type 불확도로 사용하였다. 온도변화에 의한 불확도는 0.009093 mL로 산출되었다. 따라서 표준용액의 부피에 대한 상대표준불확도 u(V_{D2})/V_{D2}는 0.000428 mL이었다.

적정은 뷰렛을 사용해서 이루어지는데, 뷰렛의 교정성적서상의 불확도는 95% 신뢰수준에서 0.037 mL이고 B type 표준불확도는 0.018878 mL가 된다. 반복측정시의 표준편차는 0.023769 mL이며 이를 A type 표준불확도로 사용하였고, 온도변화에 의한 불확도는 0.009468 mL이었다. 뷰렛의 분해능은 0.01 mL이며, 그에 따른 불확도는 0.002887 mL이었다. 적정과정에서 중요한 또 하나의 불확도 요소는 종말점의 감지인데, 종말점 감지에는 시험원의 상당한 숙련도가 요구된다. 시험원의 숙련도가 충분하여 종말점을 정확히 감지한다고 가정한다면 적정액의 drop size만이 종말점 감지에 영향을 미치는 불확도 요인이 된다. 적정액의 drop size는 약 0.0333 mL이며 B type 표준불확도는 0.019249 mL이므로 이를 종말점 감지에 대한 측정불확도로 하였다. 따라서 위의 모든 불확도 인자들에 대한 상대표준불확도 u(V_p)/V_p는 0.00143 mL으로 계산되었다.

지금까지 식 (2)에 나타난 인자들의 상대표준불확도를 모두 구하였으며, 이를 합성하여 Na₂SO₃ 용액 농도에 대한 상대표준불확도를 다음과 같이 구할 수 있다.

$$\frac{U(C_T)}{C_T} = \sqrt{\left(\frac{U(C_D)}{C_D}\right)^2 + \left(\frac{U(V_{D2})}{V_{D2}}\right)^2 + \left(\frac{U(V_T)}{V_T}\right)^2} = 0.00417$$

시료의 채취량

앞서 구한 표준물질의 질량의 불확도를 산출하는 방법과 마찬가지로 방법으로 시료 채취량 5.0000 g에 대한 상대표준불확도 u(Ws)/Ws는 0.0004 mg이다. 모든 불확도인자 및 불확도 값을 Table 5에 나타내었다.

Table 5. Uncertainty budget for the determination of W_S

Parameter	Value	Standard uncertainty	Relative standard uncertainty	Type of uncertainty
W_C		0.00017	-	B
W_{RP}	5.0000	0.00201	-	A
W_{RS}		0.00003	-	B
W_S	5.0000	0.00201	0.00040	-

Table 6. Uncertainty budget for the determination of $V_B(V_{B0})$ and $V_P(V_{P0})$

Parameter	Value	Standard uncertainty	Relative standard uncertainty	Type of uncertainty	
V_B	V_{BC}	1.24	0.018878	-	B
	V_{BR}		0.013000	-	A
	V_{BT}		0.000451	-	B
	V_{BD}		0.019249	-	B
V_B	1.24	0.029930	0.024141	-	
$V_B - V_{B0}$	1.03	-	0.041101	-	
V_P	V_{PC}	1.190	0.001732	-	B
	V_{PR}		0.012000	-	A
	V_{PT}		0.000433	-	B
	V_{PD}		0.000289	-	B
V_P	1.190	0.012140	0.010198	-	
$V_P - V_{P0}$	0.976	-	0.017584	-	

뷰렛에 의한 적정

본 실험에서 사용된 뷰렛의 교정성적서 상의 측정불확도는 0.037 mL이고, 표준불확도는 0.018878 mL이다(Table 6). 반복측정실험의 표준편차는 0.013 mL이었으며, 이를 A type 표준불확도로 사용하였다. 온도차이에 의한 표준불확도는 0.000451 mL이다. drop size는 0.0333 mL이며, 이에 의한 B type 표준불확도는 0.019249 mL이다. 따라서 뷰렛에 의한 적정의 합성표준불확도 $u(V_B) = u(V_{B0}) = 0.02993$ mL이다. $V_B = 1.24$ mL, $V_{B0} = 0.21$ mL로 측정되었으므로 적정 과정에서의 상대표준불확도 $u(V_B - V_{B0}) / (V_B - V_{B0})$ 는 다음과 같다.

$$\frac{u(V_B - V_{B0})}{(V_B - V_{B0})} = \sqrt{(u(V_B))^2 + (u(V_{B0}))^2} / (V_B - V_{B0})$$

$$= 0.041101$$

전위차적정기에 의한 적정

제조회사에 의해 주어진 적정기의 규격은 1 mL 용량 시 0.003 이고, B type 표준불확도는 0.001732 mL인 것을 Table 6에 나타내었다. 반복실험에 의한 표준편차는 0.012 mL이었으며, 이를 A type 표준불확도로 사용하였고, 온도차에 의한 불확도는 0.000433 mL이다. 분해능 0.001 mL에 대한 표준불확도는 B type 표준불확도로써 0.000289 mL이며, 따라서 각 인자들의 합성표준불확도 $u(V_P) = u(V_{P0}) = 0.012140$ mL이다. $V_P = 1.190$ mL, $V_{P0} = 0.214$ mL이며, 뷰렛에 의한 적정에서와 마찬가지로 상대표준불확도는 다음과 같이 계산되었다.

$$\frac{u(V_P - V_{P0})}{(V_P - V_{P0})} = \sqrt{(u(V_P))^2 + (u(V_{P0}))^2} / (V_P - V_{P0})$$

$$= 0.017584$$

합성표준불확도 및 최종결과 표현

지금까지 (1)로부터 과산화물가를 구하기 위해 필요한 인자들의 상대표준불확도를 모두 구하였다. 적정액의 농도에 대한 상대표준불확도는 0.004170이며, 뷰렛에 의한 적정량의 상대표준불확도 $u(V_B - V_{B0}) / (V_B - V_{B0})$ 는 0.041101, 전위차적정기에 의한 상대표준불확도 $u(V_P - V_{P0}) / (V_P - V_{P0})$ 는 0.017584이다. 검체의 채취량에 대한 합성표준불확도 $u(W_S) / W_S$ 는 0.000401이고, 따라서 뷰렛 적정 및 전위차적정에 의한 과산화물가의 상대표준불확도, $u(PV_B) / PV_B$ 및 $u(PV_P) / PV_P$ 는 각각 0.041314 및 0.017584 meq/kg이다. 각 상대표준불확도 값에 각 시험결과값 2.05, 1.96을 곱하여 합성표준불확도 $u(PV_B)$ 및 $u(PV_P)$ 를 구하면 각각 0.084694 meq/kg 및 0.068931 meq/kg이 되었다.

각각의 합성표준불확도 값에 포함인자 $k(=2)$ 값을 곱하여 확장불확도를 산출한 결과, 뷰렛에 의한 적정법의 확장불확도 $U(PV_S)$ 는 0.17 meq/kg, 전위차적정기에 의한 적정법의 확장불확도 $U(PV_P)$ 는 0.07 meq/kg이며, 최종결과값은 각각 2.05 ± 0.17 meq/kg, 1.96 ± 0.07 meq/kg 로 표현되었다.

적정방법에 따른 과산화물가의 비교

과산화물가 및 그 측정불확도에 있어서 전위차 적정과 뷰렛에 의한 적정은 큰 차이를 보였다. 시료 5g을 정확히 취하여 각각 5반복 실험한 결과 전위차 적정에 의한 과산화물가가 다소 낮게 나타났으며, 표준편차는 뷰렛 적정에 의한 결과값에 비해 1/2 이상 낮았다(Table 7). 또한 확장불확도도 전위차 적정에 의한 결과가 뷰렛에 의한 적정보다 작게 나타났으며, 이는 전위차 적정으로 과산화물가를 구하는데 있어서 전체적인 불확도를 낮출 수 있는 요인이 되었다.

Fig. 2에 전위차 적정 및 뷰렛 적정에 의한 과산화물가 측정 과정에 관여하는 여러 가지 불확도 인자들의 상대표준불확도를 나타내었다. 분자량 및 순도 등의 불확도는 매우 작았으며,

Table 7. Results of PV determination, meq/kg

Method	PV	Standard deviation	U(PV)	U(PV)/PV × 100 (%)
Burette titration	2.05	0.14	0.17	8.2
Potentiometric titration	1.96	0.06	0.07	3.6

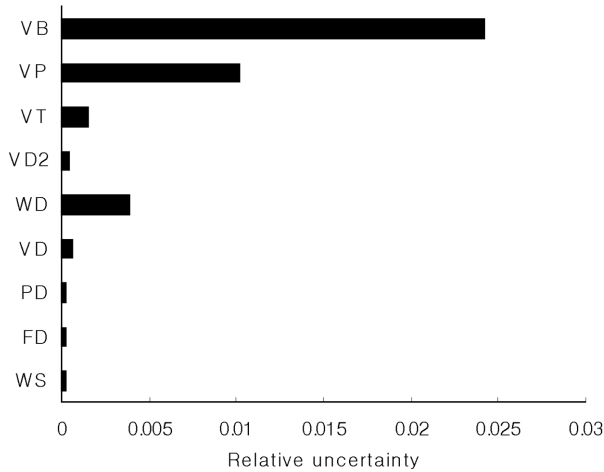


Fig. 2. Relative uncertainties of each uncertainty factors.

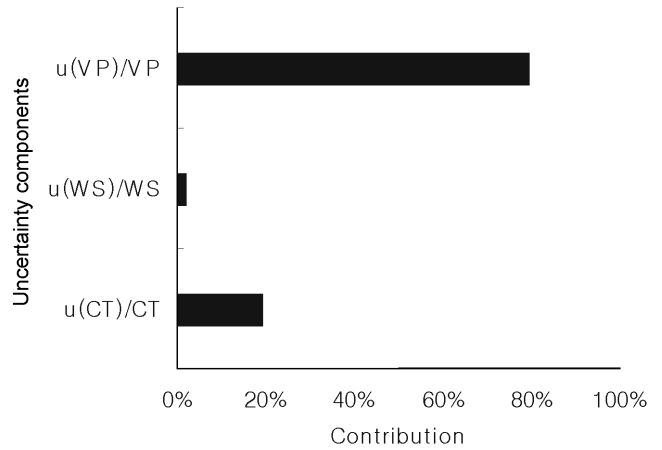


Fig. 4. Contributions of uncertainty sources in the potentiometric titration method.

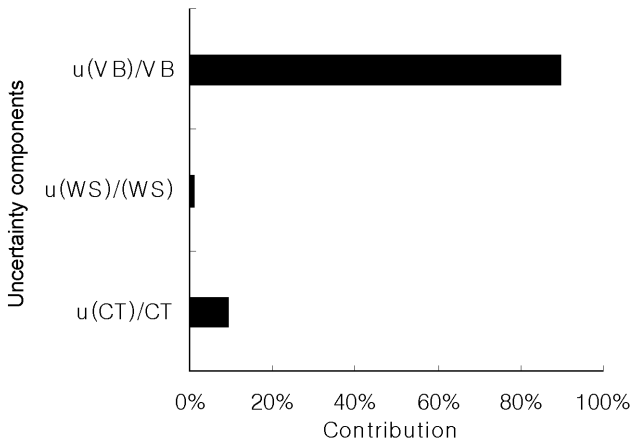


Fig. 3. Contributions of uncertainty sources in the burette titration method.

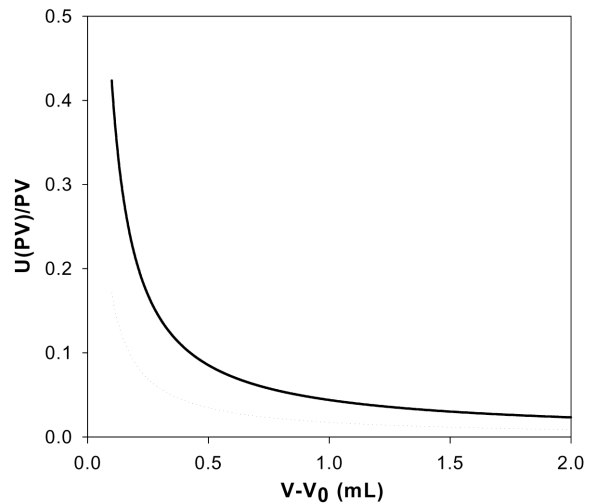


Fig. 5. Dependence of the expanded relative uncertainty $U(PV)/PV$ on the volume spent for titration $V-V_0$. $U(PV_P)/PV_P$ by potentiometric method and $U(PV_B)/PV_B$ by burette method are shown by the solid line and the dotted line, respectively.

적정과정에서의 불확도가 다른 인자들에 비해 상당히 큰 값을 나타내었음을 알 수 있어 적정과정에서의 오차를 줄이는 데에 각별한 주의를 요한다면 측정불확도를 상당히 낮출 수 있을 것으로 사료된다.

한편, Fig. 3 및 Fig. 4에는 measurand 상의 불확도 인자가 전체불확도에 미치는 영향을 %비로 나타내었다. 적정과정의 불확도는 전체불확도의 대부분을 차지하고 있음을 알 수 있으며, 특히 뷰렛에 의한 적정법에서는 적정시의 불확도가 전체 불확도의 90%를 차지하였다. 이러한 적정과정중의 측정불확도는 Fig. 4에서 볼 수 있듯이 전위차 적정법을 수행함으로써 80% 수준으로 낮출 수 있었다.

Fig. 5에서 적정액의 부피변화에 따른 상대표준불확도의 변화를 쉽게 알 수 있다. 적정액의 농도가 같을 때 적정액의 부피의 증가는 곧 과산화물가의 증가를 나타낸다. 즉 적정량이 1 mL 이상인 경우에는 측정불확도가 작아질 뿐 아니라 적정량 증가에 따른 측정불확도의 차이가 거의 없었다. 그러나 적정량

이 1 mL 이하인 경우에는 적정량이 작아질수록 측정불확도의 현저한 증가가 나타났으며, 특히 0.5 mL 이하에서는 불확도의 급격한 증가가 나타났다. 시료 5g을 기준으로 하였을 때 적정량이 0.5 mL이면 과산화물가는 약 1 meq/kg이 되므로 1 meq/kg 이하의 값을 나타내는 유지의 경우 과산화물가 측정에 어려움이 있으며, 많은 측정오차가 발생하게 되는 것을 알 수 있다. 전위차적정기에 의한 적정시에도 같은 변화양상이 나타났지만 그 크기는 전체적으로 낮아짐을 알 수 있다. 결론적으로, 식품 공전법의 과산화물가 측정에 있어 시험의 정확성은 적정과정에 의한 영향이 가장 크므로 적정을 얼마나 정확하게 수행하였는지 여부가 시험의 정확성을 좌우하였다. 그러므로, 1 meq/kg 이하의 과산화물가를 갖는 순수한 정제유지를 실험대상으

로 할 경우에는 적정과정에 있어서의 불확도가 상당히 크다는 것에 유의하여야 하며, 뷰렛에 의한 적정시에는 뷰렛의 소급성 유지를 위하여 반드시 공인교정기관의 교정을 받아서 관리 및 보정을 하고 drop size에 대한 확인실험을 통해 최종실험결과에 미치는 정도를 파악하여 유의하여야 하며, drop size를 최소화 할 수 있는 뷰렛을 선택하여야 한다. 적정에 사용되는 표준 시약도 인증값과 불확도가 알려진 인증표준물질을 사용하여야 할 것이다. 또한, 실험실환경과 관련하여 온도와 습도를 일정하게 유지하여 시험용액의 부피차이로 인한 편차를 최소화하는 등 여러 가지 초차, 시약 및 환경과 관련된 불확도에 영향을 줄 수 있는 요인도 관리하여야 할 것이다. 더욱이, 본 연구 결과에 따라 적정과정에서의 불확도를 현저히 낮추고 실험의 정확성을 높이기 위해서 뷰렛에 의한 적정보다는 정밀성과 재현성이 보장된 전위차적정기를 사용하여 과산화물가를 측정하는 것이 바람직 할 것으로 사료된다.

요 약

본 실험에서는 성장기용 조제식에 함유된 유지를 대상으로 전위차 적정법 및 뷰렛 적정법에 의한 과산화물가를 측정하고 그 측정불확도를 비교하여 산정하였다. GUM(Guide to the expression of uncertainty in measurement) 및 Draft EURACHEM/CITAC Guide의 이론에 기초하여 측정불확도를 구하였으며, 불확도 인자로서 적정액의 농도, 시료량 및 적정량 등이 작용하였다. 뷰렛적정에 의한 과산화물가 측정값과 확장불확도는 $2.05 \pm 0.17 \text{ meq/kg}$ 으로 표현되었으며, 전위차적정에 의한 경우는 $1.96 \pm 0.07 \text{ meq/kg}$ 으로 표현되었다. 적정과정에서의 측정불확도가 전체불확도의 대부분을 차지하였으며, 전위차적정법에 의한 측정불확도는 뷰렛적정법에 의한 경우보다 낮게 나타나 과산화물가가 낮은 시료의 측정시에 바람직한 측정방법으로 사료되었다.

문 헌

1. Korea Food and Drug Administration. Food Standards Codex. Korean Foods Industry Association, Seoul, Korea (2004)

2. CODEX Alimentarius Commission. Official CODEX Standards. FAO/WHO, Geneva, Switzerland (1981)
3. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Ch 41, p. 12. Method 965. 33. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersbrug, MD, USA (2000)
4. Korea Food and Drug Administration. Food Standards Codex. pp. 482-483. Korean Foods Industry Association, Seoul, Korea (2004)
5. Antonio R, Maria C, Bernhard L. A rapid method for peroxide value determination in edible oils based on flow analysis with fourier transform infrared spectroscopic detection. Analyst 126: 242-246 (2001)
6. Kutlay M, Onur B. Improvement of calibration curve for determining peroxide values of food lipids by the modified ferrous oxidation-xylenol orange method. J. AOAC Intl. 79: 995-997 (1996)
7. Kardash-Strochkova E, Tur'yan Y, Kuselman I. Redox-potentiometric determination of peroxide value in edible oils without titration. Talanta 54: 411-416 (2001)
8. Anonymous. Guide to the expression of uncertainty in measurements. International Organization for Standardization (ISO), Switzerland (1993)
9. Anonymous. Guideline for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results. NIST, Seoul, Korea (1993)
10. Anonymous. Quantifying uncertainty in analytical measurements 2nd. EURACHEM, London, UK (1999)
11. Anonymous. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. KRIS, Daejeon, Korea (1998)
12. Anonymous. Guideline for Quantifying and Expressing the Uncertainty in Measurement Results. Korea Laboratory Accreditation Scheme, Seoul, Korea (2000)
13. Shenhar A, Kuselman I. Uncertainty in chemical analysis and validation of the analytical method: acid value determination in oils. Accred. Qual. Assur. 2: 180-185 (1997)
14. Kardash-Strochkova E, Tur'yan Y, Kuselman I. Uncertainty and other parameters of peroxide value determination in vegetable oils. Accred. Qual. Assur. 7: 13-18 (2002)
15. Dieffenbacher A, Luthi B. Die direkte Kolorimetrische Bestimmung der Peroxidzahl (POZ) in Milchprodukten. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 77: 544-553 (1986)
16. Pont G. A de-emulsification technique for use in the peroxide test on the fat of milk, cream, concentrated and dried milk. Aust. J. Dairy Technol. 10: 72-75 (1955)
17. Anonymous. IUPAC commission on atomic weight and isotopic abundances. J. Pure Appl. Chem. 69: 2471-2473 (1997)

(2004년 10월 5일 접수; 2004년 11월 12일 채택)