

NIR을 이용한 쇠고기의 신선도 측정센서 개발

Development of Beef Freshness Measurement Sensor Using NIR Spectroscopy

| | | | |
|---------|---------|----------|-----------|
| 조성인* | 김유용* | 박두산* | 황규영* |
| 정회원 | 정회원 | 정회원 | 정회원 |
| S.I.Cho | Y.Y.Kim | T.S.Park | K.Y.Hwang |

1. 서론

냉장육은 냉동육에 비해 온도관리를 통해 육질이 부드럽고, 맛이 좋다는 이유로 냉장육의 소비가 증가하고 있다. 그러나, 냉장육은 냉동육에 비해 저장온도가 높아 유통 및 저장시 미생물 성장에 적합한 환경이다. 미생물의 일부는 직접적 또는 간접적으로 그들이 생성하는 독소를 통하여 식중독을 일으킬 뿐만 아니라, 이러한 미생물 성장으로 인한 단백질의 분해와 미생물의 대사작용은 육류의 부패 원인이 되고 있다.

이러한 이유로, 신선도는 냉장육 품질 평가에 있어서 중요한 항목이 되고 있지만, 소비자들은 단지 관능적인 방법에 의한 식육을 구입하고 있다. 그러나 이러한 방법은 심히 부패된 식육을 구별할 수 있겠지만 그 외의 경우에는 객관적인 신선도 판단을 못하게 된다.

이러한 육류의 신선도 판단에 대해 많은 연구자들은 일반적으로 미생물의 오염도 평가(총세균), 지방의 산패도평가(TBA), 단백질 부패도평가(VBN)를 통해 식육의 신선도를 측정하고 있다. 근육식품은 초기 미생물수가 저장기간과 신선도에 미치는 영향이 크기 때문에 미생물을 빠르고, 정확하게 검색해야 한다. 그러나 세균학적 방법은 측정에 2~3일이 소요되며, 조작이 복잡하고, 검시자의 숙련도에 따른 상당한 오차가 생기기 쉬워 실용화하기 어려운 점이 있다. 갓 도축된 신선육에는 없거나, 적게 함유되어 있던 성분이 신선도 저하에 따라 생성되어 증가하는 물질이나 단백질의 변성을 지표로 하는 화학적 방법은 조작이 불편하고 많은 시간을 요하며 파괴적인 단점이 있다. 물리적 방법은 신속한 판정을 얻을 수 있으나 개체에 따른 정상차이가 많아 아직 일반화 된 방법은 없다. 이러한 이유로 고기의 품질을 빠르고, 정확하게 비파괴적으로 측정할 수 있는 새로운 방법이 요구되고 있다.

이에 본 연구는 근적외선 분광 분석법을 이용하여 비파괴적이며, 객관적으로 쇠고기의 신선도를 측정할 수 있는 센서를 개발하기 위해 수행되었다.

* 서울대학교 농업생명과학대학 농공학과

† 본 연구는 농림부 기획연구과제 (30000-1033SB010)에 의하여 수행되었음.

2. 재료 및 방법

2.1 기초연구

신선도의 지표로 정립된 방법은 없으나, 우육에서 유기물에 의해 생성된 amine과 세균의 총 수를 검토한 결과 putrescine(Put), cadaverine(Cad), spermidine(Spd)과 총 균수 사이에는 매우 유의적인 상관관계를 보인다고 보고하고 있다(Daher & Simard, 1985). 냉장육을 21 일동안 저장하면서, D-glucose와 L-lactate는 저장기간에 따라 함량변화를 일으키며, histamine은 총균수와 tyramine(Tyn)은 내생성균과 매우 높은 상관관계가 있음을 입증하였다(변준석, 2000). 근적외선 분광분석법을 이용한 신선도의 측정 가능성을 평가하기 위해 L-lactate, D-glucose, Put, Tyn, Cad, histamine의 6가지 시약(SIGMA社)을 표 1에 제시된 농도로 근적외선 분광분석기(NIRS 6500, USA)를 이용하여 투과도를 측정하였으며, 측정된 투과도 값과 물질의 농도사이에 상관분석이 수행되었다.

Table 1. Concentration of Reagents

| Reagent | Purity(%) | Concentration |
|------------|-----------|------------------------------------|
| L-Lactate | 95 | 250, 500, 750, 1000, 1250(mg/100g) |
| D-Glucose | 95 | 20, 40, 60, 80, 100(mg/100g) |
| Putrescine | 98 | 15, 30, 45, 60, 75(mg/kg) |
| Tyramine | 99 | |
| Cadaverine | 97 | |
| Histamine | 90 | |

현재 우리나라에서 사용되는 육류의 단백질 부패 측정의 표준방법으로서 휘발성 염기질소(volatile basic nitrogen, VBN)를 이용한 방법이 사용된다. 그러나 VBN 측정방법은 시험자의 숙련도에 따라 측정된 값에서 많은 차이가 발생하며, 시간이 많이 걸린다. 외국의 육류 신선도와 관련된 연구에서 K식을 도입하고 있으며, 국내에서도 그 가능성을 제시한 바 있다. 따라서, 측정이 편리하고 숙련도에 따라 값의 차이가 작은 K식을 이용하기 위해 50개의 sample에 대해 농촌진흥청 축산기술연구소에 의뢰하여 분석된 표준 방법 VBN 값과 신선도 측정 kit(환경과학 Corp, Japan)로 측정된 K 값과의 상관분석을 하였다.

신선도 측정 kit를 이용한 K 값 측정방법은 다음과 같다.

- ① 0.2~0.5g의 검체 채취한다.
- ② 채취량의 10배 정도의 F-Ⅲ 시약을 첨가한다.
- ③ 검체를 Homogenizer를 이용하거나 손으로 비벼서 으깨서 분쇄한다.
- ④ 분쇄한 용액을 선도시험지-Ⅲ에 적신다.
- ⑤ 선도시험지-Ⅲ를 투명한 랩에 덮어 가볍게 눌러 실온에 10분 정도 둔다.

⑥ 발생한 선도시험지-Ⅲ를 K-value 환산색표로 색을 비교해 다음 식(1)에 대입하여 신선도를 측정한다.

$$K_i = \frac{HxR + Hx}{IMP + HxR + Hx} * 100 \quad \text{식(1)}$$

2.2 NIR을 이용한 신선도 계측 센서의 개발

NIR을 이용한 신선도 계측센서는 그림 1에 나타낸 바와 같이 광원으로 35W의 할로젠 램프를 사용하는 Control Development 사의 NIR Optical Spectrograph, PC와 인터페이스를 위한 DIO(Digital Input Output) 보드, Probe, Probe holder, 그리고 데이터를 저장 및 처리하는 PC로 구성되었다. 사용된 NIR Spectrograph의 사양은 표 2에 나타내었다.

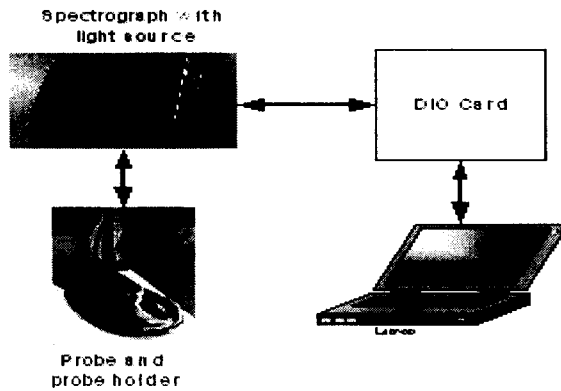


그림 1 Schematic of freshness measurement sensor using NIR spectrograph

Table 2 Specification of NIR spectrograph

| Item | Specification |
|----------------------|--|
| Wavelength Range | 900nm -1700nm (standard InGaAs) |
| Wavelength Stability | less than 0.05nm over 48 hours |
| Spectral Dispersion | 3.125 nm/pixel (standard InGaAs) |
| | 5.0 nm/pixel (extended InGaAs) Custom dispersions available |
| Spectral Bandwidth | 6.0nm. Custom bandwidths available |

DAQ-DIO-24 PCMCIA card를 사용하여 NIR Optical Spectrograph Card로부터 파장별 반사도 값은 PC의 Visual C++ 6.0으로 작성된 프로그램을 이용하여 획득되었다. 일반적으로 획득된 스펙트럼 중 기초 실험을 토대로 신선도와 유의한 파장 영역인 1100~1600nm의

반사도 만이 사용되었으며, 획득된 반사도는 흡광도로 전환되었다.

모델을 개발하기 위해 흡광도로 전환된 데이터들에 대하여 Matlab 6.1의 PCR_Toolbox (ver 2.0, Eigenvector Research)을 이용하여 PLS(partial least square)와 PCR(principle component regression) 분석을 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 기초연구

농도에 따른 시약들의 NIR 파장과의 상관 분석 결과는 표 3에 나타내었다. 대표적으로 NIR 파장과 가장 높은 상관관계를 보인 tyramine의 상관분석 결과는 그림 3에 나타내었다. 많은 파장 영역에서 매우 높은 상관관계를 보였으며 NIR을 통해서 육류에 나타나는 물질들에 대한 검출이 가능함을 보였다.

Table 3. Peak wavelength and correlation coefficients of samples

| 시료명 | Peak wavelength(nm) | Correlation coefficient |
|------------|---------------------|-------------------------|
| Cadaverine | 1800 | 0.8 |
| D-glucose | 600 | 0.9 |
| Histamine | 2400 | 0.6 |
| L-lactate | 1100 | 0.7 |
| Putrescine | 2200 | 0.7 |
| tyramine | 1250 | 1 |

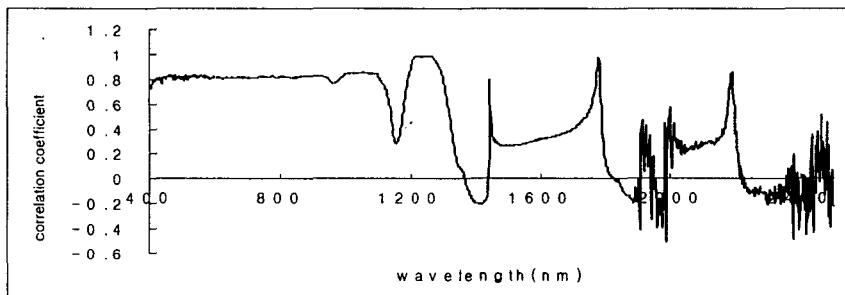


Figure 3. Correlation coefficient graph of tyramine

VBN과 K식의 관계는 그림 4에 나타난 바와 같이 매우 높은 상관관계($R^2=0.901$)를 나타냈다. 따라서 매우 유의성이 있으므로 K식을 이용할 수 있다고 판단하였다.

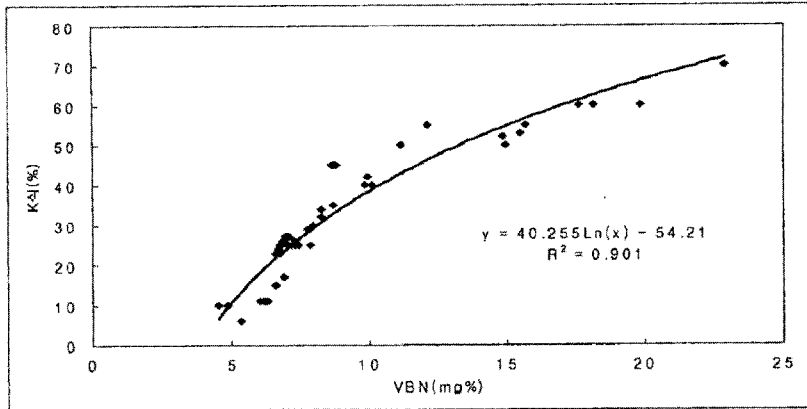


Figure 4. Relation between VBN value and K value

3.2 NIR을 이용한 신선도 측정 센서의 개발

위의 기초연구를 토대로 120개의 시료에 대해 NIR 분광분석기와 신선도 측정 kit을 이용하여 스펙트럼과 기준 값이 획득되었다. 획득된 120개 중 60개는 모델 개발에 사용되었으며, 60개는 검증에 사용되었다. 사용된 파장(1100~1600 nm)에 대한 흡광도와 신선도 값과의 상관관계 분석 결과 1200~1299 nm의 분석결과 가장 유의한 결과를 보였다.

PLS분석을 수행한 결과는 예측 데이터의 $R^2=0.988$, $SEC=1.88$, 이며, 검증 데이터의 $R^2=0.958$, $SEP=2.345$ 이었다. Bias는 0.49758로 나타났다.

PCR분석을 수행한 결과는 그림 6과 같으며, 예측 데이터의 $R^2=0.989$, $SEC=1.78$ 이며, 검증 데이터의 $R^2=0.963$, $SEP=2.285$ 이었다. Bias는 0.313723이었다.

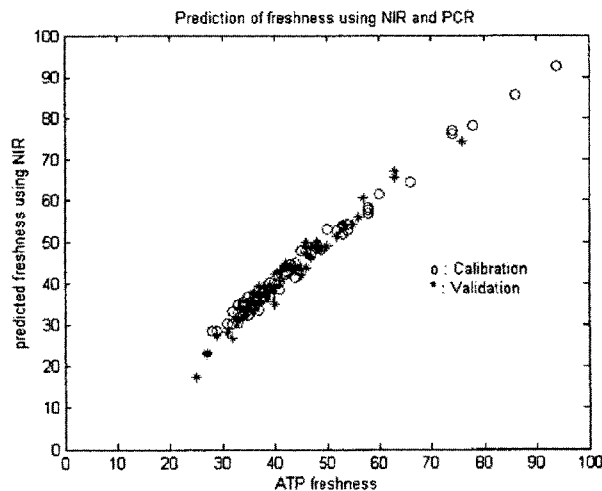


Figure 6. Prediction of freshness using PCR

그림 7은 작성된 프로그램의 실행모습을 나타낸다. 화면 왼쪽의 그래프는 사용된 파장대의 반사도를 그래프로 나타내고 있으며, 그 밑에 알고리즘을 통하여 계산된 신선도 값을 표시하였다.

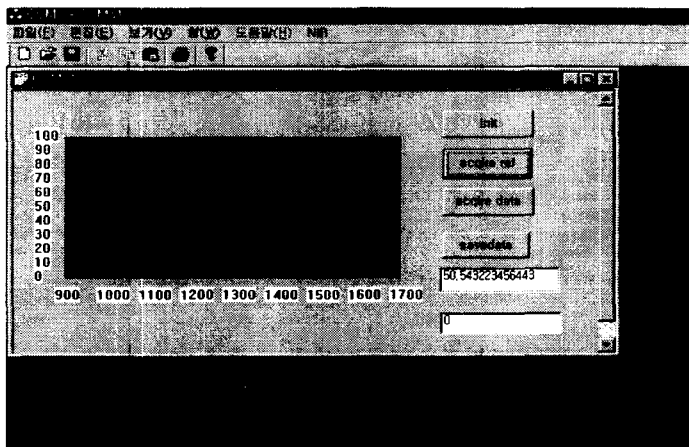


Figure 7. Executed appearance of program for measuring and calculating freshness

4. 요약 및 결론

기존 식육의 신선도 측정은 대부분 전문기관에 의해 복잡하고 세밀한 과정을 통한 세균학적, 화학적 분석방법으로 이루어졌다. 따라서, 일반 소비자들은 단지 관능적 검사에만 의존하여 식육을 구입하고 있다. 이러한 이유로 식육에 대한 안전성을 객관적으로 신속하게 그리고 비파괴적으로 측정할 수 있는 센서를 개발하기 위해 NIR을 이용한 신선도 계측 시스템을 구축하였고, 구축된 시스템과 PCR 분석법을 이용하여 신선도 계측을 위한 모델을 개발하였으며 개발된 모델을 통한 검증에서 예측 데이터의 $R^2=0.989$, $SEC=1.78$ 이며, 검증 데이터의 $R^2=0.963$, $SEP=2.285$ 이었다. Bias는 0.313723이었다. 식육 소비자들은 개발된 신선도 계측시스템을 이용하여 신선하고 안전한 식육을 소비할 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Daher. N. S. & Simard. R. E. 1985. Putrefactive amine changes in relation to microbial counts of ground beef during storage. J. Food Prot.. 48, 54-8.
2. 변준석. 2000. 신선육의 신선도 예측을 위한 물리·화학적 표지 성분 규명. 서울대학교 대학원 석사학위 논문.
3. 민중석, 이정일, 신대근 이상옥, 변준석, 강석남, 김일석, 이무하. 1998. 육류의 안전성 평가기술 연구. Korean Journal of Animal Science. 40(4) 421-430.

4. 김동경, 박인선, 김남수. 1998. 냉장 및 냉동어육의 화학적 선도지표 측정. *Korean Journal of Food Science Technology*. Vol 30, No.5, 993-999.
5. 조성인, 최상현, 김유용. 2002. 실시간 토양 유기물 센서와 DGPS를 이용한 질소 시비량 지도작성 시스템 개발. *한국농업기계학회지* 27권 3호 259-266.
6. J.M. Jay, J.P. Vilai, M.E. Hughes. 2003. Profile and acitvity of the vacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5-7°C. *International Journal of Food Microbiology* 81 105-111.
7. Zeev Karpas, Boris Tilman, Rachel Gdalevsky, Avraham Lorber. 2002. Determination of volatile biogenic amines in muscle food products by ion mobility spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 463 155-163.
8. A. Mulchandani, K.B. Male, and J. H. T. Luong. 1989. Development of a Biosensor for Assaying Postmortem Nucleotide Degradation in Fish Tissues. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 3. 739-745
9. In-Seon Park, Yong-Jin Cho, Namsoo Kim. 2000. Characterization and meat freshness application of a serial three-enzyme reactor system measuring ATP-degradative compounds. *Analytica Chimica Acta* Vol. 404. 75-81