

원유의 주성분 측정을 위한 AC Impedance 및 VIS/NIR 분광 특성 구명

Identification of AC Impedance and VIS/NIR Spectrum Characteristics to Measure the Principle Components of Raw Milk

신동헌*	노상하*	김기복*
정희원		정희원
D. H. Shin	S. H. Noh	K. B. Kim

1. 서론

1902년에 프랑스인이 국내에 홀스타인 젖소를 들여와 우유 소비가 일반화되기 시작한 이래 그 소비량이 급격히 늘어 1994년에는 국민 1인당 우유 소비량이 연간 46.8kg에 이르면 해마다 증가하고 있다. 원유의 품질을 결정하는 주요 인자는 지방, 단백질, 락토스, 체세포수 그리고 세균수 등이다. 그 중 체세포수는 산유량을 감소시켜 축산 농가에 막대한 피해를 주고 있는 젖소의 유방염과 관련된 인자로서 많은 연구가 수행되어왔다. 지방의 경우에는 축산 농가에서 생산하는 원유의 가치를 판정하는 유대 지급의 기준으로 이용되고 있다.

본 연구는 원유의 주성분(지방, 단백질, 락토스, 총고형분)중 지방 함량 및 체세포수와 원유의 교류 임피던스와 상관관계를 구명하고 원유의 주성분(지방, 단백질, 락토스, 총고형분)과 VIS/NIR 흡광스펙트럼과의 상관관계를 구명하여 축산 농가에서 사용할 수 있는 간이 측정장치 개발에 대한 기초자료를 제시하고자 수행되었다.

2. 재료 및 방법

가. 공시 재료

일반적으로 원유의 경우 착유시 시간에 따라 성분의 변화가 나타나는 것으로 보고되고 있는데(Fernando et al, 1982) 본 연구에서는 축산 농가에서 임의적으로 총 75개의 원유를 수집해 공시재료로 사용하였다. 사용된 총 75개의 시료 중 20개는 성환의 종축시험장에서 착유초기에 채취하였고, 18개는 서울원유에서 수집유에서 채취하였으며 17개의 시료는 농생대부속 실험목장에서 착유초기에 채취하여 모델 개발에 사용하였고 나머지 20개의 시료는 서울 원유에서 수집유에서 채취해 검증용으로 사용하였다. 공시 재료의 원유의 주성분(지방, 단백질, 락토스, 총고형분) 그리고 체세포수를 측정하였고 100kHz ~ 2MHz 주파수대역에서의 교류임피던스와 400nm ~ 2500nm 파장대역에서의 VIS/NIR 흡광스펙트럼을 CMT 시약을 처리한 경우와 처리하지 않은 경우 각각에 대해서 측정했다. 일반적으로 축산농가에서는 현장에서 유방염 유무를 진단하기 위해 CMT 처리방법을 이용하고 있는데 이 방법은 CMT 시약이 원유 내의 체세포(백혈구)와 반응해 응고하는 성질을 이용한 것이다. 본 연구에서는 CMT 시약과 체세포(백혈구)와의 반응 정도를 전기적·광학적으로 검출할 수 있는지를 검

* 서울대학교 농업생명과학대학 생물자원공학부

토하기 위해 원유시료에 CMT 시약을 처리한 후에 교류 임피던스 및 VIS/NIR 흡광스펙트럼을 측정하였다.

나. 실험 방법

(1) 교류 임피던스 측정

그림 2-1에서 보는바와 같은 회로망 분석기(HP 4395A, Japan)를 이용하여 100kHz ~ 2MHz 사이의 주파수 대역에서 원유의 교류 임피던스를 측정하였다. 예비 실험 결과 그림 2-2의 (a)와 같은 형태의 전극이 알맞다고 판단되어 그림 2-2의 (b)와 같이 샘플홀더를 제작하여 사용하였다. 제작된 샘플홀더의 전기적 안정도를 검토하기 위해 증류수의 교류 임피던스를 12회 반복측정한 결과 주파수에 따라 변이계수(coefficient of variation)가 2% 미만으로 나타나 전기적으로 안정한 것으로 판단되었다. 또한 0.1% ~ 0.4% 염화나트륨 수용액을 0.1%씩 증가시키면서 조제해 샘플홀더의 교류 임피던스를 측정해 본 결과 기존의 염화나트륨 수용액의 전기적 특성과 거의 유사한 것으로 분석되었다.

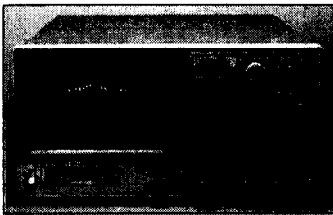


Fig 2-1 Network Analyzer

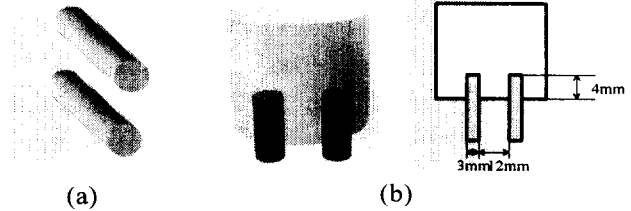


Fig 2-2 Parallel cylinder type electrode (a) and sample holder (b)

(2) VIS/NIR 흡광스펙트럼 측정

분광광도계(Model HON6500, NIRSystems, Inc., USA)를 이용하여 400nm ~ 2500nm 범위에서 2nm 간격으로 트랜스포트 모듈을 이용하여 원유의 흡광스펙트럼을 측정하였다. 측정에 사용된 트랜스포트 모듈은 액상시료의 투과도를 측정하는 데에 이용되는데 본 실험에서는 측정 셀이 두꺼워 원유의 투과도를 측정할 수 없기 때문에 반사스펙트럼을 측정하여 흡광스펙트럼으로 변환하였다.

(3) 원유 주성분(지방, 단백질, 락토, 총고형분) 및 체세포수 측정

원유의 주성분(지방, 단백질, 락토스, 총고형분)을 측정하기 위해 Milkoscan 133B (Fosoelectric, Denmark)를 사용하여 측정하였고 체세포수를 측정하기 위해 Fossomatic 215를 사용하여 측정하였다. 표 2-1과 표 2-2는 본 연구에 사용된 75개 시료의 주성분(지방, 단백질, 락토스, 총고형분)과 체세포수의 범위, 평균, 표준 편차를 나타낸 것이다. 모델 개발에 사용된 시료에 비해 검증에 사용된 시료의 성분 범위가 너무 작으나 모델 개발에 사용된 시료와 검증에 사용된 시료는 측정일이 달라 혼합해 사용할 수가 없었

Table 2-1 Range of chemical compositions and standard deviation (S.D.) of raw milk samples used for the calibration and validation tests

Component	Calibration set			Validation set		
	Range %	Mean	S.D.	Range %	Mean	S.D.
Fat	1.1~7.05	3.46	1.313	3.56~4.28	3.81	0.187
Protein	2.78~6.07	3.52	0.631	2.93~3.46	3.12	0.148
Lactose	3.79~4.94	4.56	0.250	4.22~4.6	4.43	0.122
Total solids	9.81~17.01	12.45	1.590	11.5~12.7	12.27	0.301

Table 2-2 Range of somatic cell count(SCC) and standard deviation (S.D.) of raw milk samples used for the calibration and validation tests

Component	Calibration set			Validation set		
	Range × 10 ³	Mean × 10 ³	S.D. × 10 ³	Range × 10 ³	Mean × 10 ³	S.D. × 10 ³
SCC	9 ~ 5270	605.3	985.8	108 ~ 943	434.6	254.9

다. 분석 방법

1) 지방 함량 및 체세포수와 교류 임피던스와의 유의성 검증

기존의 연구에 의하면 착유하는 동안에도 시간에 따라 전기전도도값이 변화가 있는데 유방염유가 정상유보다 변화정도가 더 크고 착유초기의 원유보다는 착유말기의 원유를 사용하여 유방염 유무를 진단하는 것이 좋은 결과를 보였다고 보고되고 있다.(Frenando et al, 1982) 하지만 본 연구에서는 유방염 유무 진단보다는 체세포수 측정 가능성을 구명하기 위해 어떤 특정한 조건하에서가 아니라 임의의 여러 축산 농가에서 원유를 수집하여 공시재료로 사용하였다. 이러한 공시재료의 교류 임피던스 측정과정에서 기존 연구결과와는 다르게 각 시료 집단간의 체세포수와 교류 임피던스사이에 유의성이 미약한 것으로 판단되어 데이터를 체세포수 및 지방 함량에 따라 <표 2-3>과 같이 두 그룹으로 분류하여 두 그룹간의 평균 차이가 있는지를 먼저 알아보기 위해 통계패키지(SAS ver 6.12, SAS Institute Inc)를 이용하여 t 검정을 수행했다.

Table 2-3 Data sets for t-Test

Component \ Group	A	B
Fat	FAT ≥ 3.6	FAT < 3.6
SCC	SCC < 500,000	SCC ≥ 500,000

2) 원유의 주성분 및 체세포수와 VIS/NIR 흡광스펙트럼과의 상관 분석

통계패키지 (Matlab ver 5.2, the Math works Inc.)를 이용하여 원유의 주성분, 체세포수와 단파장에서의 흡광도 및 두파장에서의 흡광도비와의 상관 분석을 수행하였다. 두파장에서의 흡광도비를 이용할 경우 장치구현이 용이하도록 파장간의 거리가 60nm이상인 두파장에서의 흡광도비를 이용하여 분석하였다.

3) 선형 회귀모델 개발 및 검증

엑셀(Exel ver 7.0, Microsoft Inc.)의 데이터 분석도구를 이용하여 흡광스펙트럼과 원유의 주성분 및 체세포수와 높은 상관성을 갖는 두파장에서의 흡광도비를 독립변수로 하여 1차 선형회귀모델을 작성하였다. 회귀모델에 대한 정밀도는 표준오차(SEC)와 결정계수(R^2)로 나타내었고 회귀 모델 검증은 예측값의 표준오차(SEP), 평균오차(bias), 결정계수(R^2)로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

가. 지방 함량 및 체세포수와 교류 임피던스와의 유의성 검증

그림 3-1에서 단일 주파수에서의 교류 저항과 체세포수와는 일정한 경향이 나타나지 않았

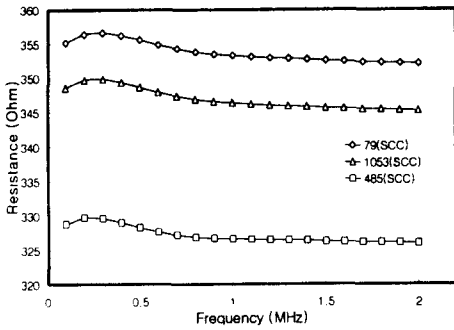


Fig 3-1 SCC versus AC Resistance of raw milk

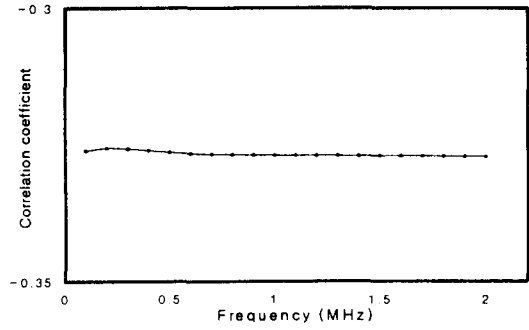


Fig 3-2 Correlation coefficients between fat and reactance of raw milk

으며 t 검정 결과 두 그룹간의 평균차이가 없는 것으로 나타났다. 리액턴스와 체세포수와도 상관성이 없는 것으로 나타났다. 지방의 경우에는 교류 임피던스 중 리액턴스에 대해 두 그룹간의 평균 차이가 나타났으나 상관 분석을 수행한 결과 그림 3-2에서 보는 바와 같이 상관계수가 아주 낮게 나타났다. CMT처리를 한 경우에도 마찬가지로 지방 함량 및 체세포수와 교류 임피던스와의 상관성이 없는 것으로 분석되었다.

나. 원유의 주성분 및 체세포수와 VIS/NIR 흡광스펙트럼과의 상관 분석

장치 구현의 용이성을 고려해 단파장에서의 흡광도 및 두파장에서의 흡광도비를 이용하여 원유의 주성분 및 체세포수와 VIS/NIR 흡광스펙트럼과의 상관 분석을 수행하여 표 3-1과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 표 3-1에서 보는 바와 같이 지방과 총고형분의 경우 상관계수가 아주 높게 나타났고 다른 성분들은 낮게 나타났으며 체세포의 경우는 상관성이 거의 없는 것으로 분석되었다. CMT시약을 처리한 경우에도 체세포수와 단파장 흡광도 및 두파장에서의 흡광도비와는 상관성이 없는 것으로 분석되었다.

Table 3-1 Result of correlation analysis to estimate the principle component in raw milk using absorption ratios

Component	Ratio	r	No. of Samples
Fat	A_{1666nm}/A_{1726nm}^*	0.981	55
Protein	A_{1642nm}/A_{1706nm}	0.733	55
Lactose	A_{1638nm}/A_{1716nm}	0.733	55
Total solids	A_{1658nm}/A_{1718nm}	0.947	55
SCC	A_{640nm}/A_{1402nm}	0.346	55

* Absorption ratio at 1660nm and 1726nm

다. 선형 회귀모델 개발 및 검증

상기의 상관 분석결과를 토대로 하여 두파장에서의 흡광도비를 독립변수로 하여 원유의 주성분에 대한 예측모델을 개발하였다. 표 3-2과 표 3-3는 원유의 주성분 예측 모델 개발 결과 및 모델 검증 결과를 나타낸 것으로 지방의 경우 결정계수(R^2)가 0.741, SEP가 0.100,

bias는 0.040으로 나타나 두파장의 흡광도비만으로 어느정도 지방 함량 예측이 가능하나 다른 성분들은 예측이 어려운 것으로 판단되었다. 상기의 표 2-1과 표 2-2는 본 연구에 사용된 시료의 주성분 및 체세포수의 범위를 나타내는데 지방의 경우, 개발에 사용된 시료에 비해 예측에 사용된 시료의 주성분 범위가 너무 좁아 예측성이 떨어졌고, 단백질과 락토스의 경우에는 시료의 범위가 너무 좁아 모델 개발 및 검증이 용이하지 않은 것으로 생각되었다.

지방에 비해 단백질과 락토스의 예측성이 떨어진 것은 지방구와 케이션 마이셀에 의한 산란 효과에 의한 것으로 정확한 단백질 및 락토스 예측을 위해서는 지방 함량을 정량화해 산란 보정을 해야 한다고 보고되고 있다.(Kamishikiryo et al, 1991)

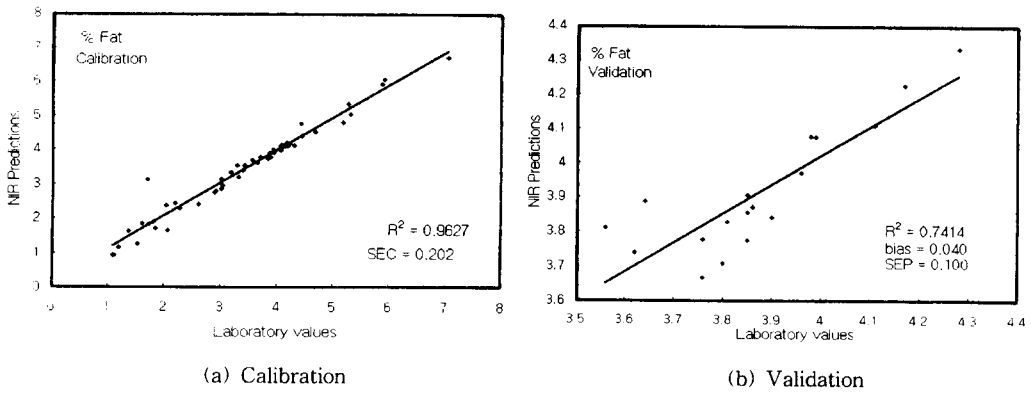


Fig 3-3 Comparison between the measured fat content and the predicted; (a) calibration (b) validation

Table 3-2 Statistical data for calibration set

Component	Ratio	SEC	R ²	No. of Samples
Fat	A_{1666nm}/A_{1726nm}^*	0.202	0.963	55
	A_{1638nm}/A_{1716nm}	0.514	0.780	
	A_{1642nm}/A_{1706nm}	0.576	0.577	
	A_{1658nm}/A_{1718nm}	0.298	0.952	
Protein	A_{1666nm}/A_{1726nm}	0.184	0.336	55
	A_{1638nm}/A_{1716nm}	0.255	0.498	
	A_{1642nm}/A_{1706nm}^*	0.230	0.535	
	A_{1658nm}/A_{1718nm}	0.197	0.393	
Lactose	A_{1666nm}/A_{1726nm}	0.110	0.442	55
	A_{1638nm}/A_{1716nm}^*	0.116	0.538	
	A_{1642nm}/A_{1706nm}	0.122	0.507	
	A_{1658nm}/A_{1718nm}	0.107	0.481	
Total solids	A_{1666nm}/A_{1726nm}	0.330	0.875	55
	A_{1638nm}/A_{1716nm}	0.674	0.800	
	A_{1642nm}/A_{1706nm}	0.768	0.650	
	A_{1658nm}/A_{1718nm}^*	0.430	0.894	

Table 3-3 Statistical data for validation set

Component	Ratio	SEP	R ²	No. of samples
Fat	A_{1666nm}/A_{1726nm}^*	0.100	0.741	18
	A_{1638nm}/A_{1716nm}	0.163	0.476	
	A_{1642nm}/A_{1706nm}	0.218	0.218	
	A_{1658nm}/A_{1718nm}	0.130	0.591	
Protein	A_{1666nm}/A_{1726nm}	0.187	0.036	19
	A_{1638nm}/A_{1716nm}	0.202	0.022	
	A_{1642nm}/A_{1706nm}^*	0.211	0.022	
	A_{1658nm}/A_{1718nm}	0.193	0.039	
Lactose	A_{1666nm}/A_{1726nm}	0.110	0.191	20
	A_{1638nm}/A_{1716nm}^*	0.116	0.181	
	A_{1642nm}/A_{1706nm}	0.122	0.174	
	A_{1658nm}/A_{1718nm}	0.107	0.237	
Total solids	A_{1666nm}/A_{1726nm}	0.260	0.514	19
	A_{1638nm}/A_{1716nm}	0.301	0.378	
	A_{1642nm}/A_{1706nm}	0.350	0.204	
	A_{1658nm}/A_{1718nm}^*	0.290	0.424	

* indicates the component has the highest R² using the absorbance ratio at the two wavelengths for calibration and validation

4. 요약 및 결론

본 연구는 원유의 주성분(지방, 단백질, 락토스, 총고형분)중 지방 함량 및 체세포수와 원유의 교류 임피던스와의 상관관계를 구명하고 원유의 주성분(지방, 단백질, 락토스, 총고형분)과 VIS/NIR 흡광스펙트럼과의 상관관계를 구명하여 축산 농가에서 사용할 수 있는 간이 측정장치 개발에 대한 기초자료를 제시하고자 수행되었다.

1) 단일 주파수에서의 교류 임피던스로는 체세포수 및 지방 함량 예측이 어려운 것으로 판단되었다. CMT 시약을 처리한 경우에도 마찬가지로 상관성이 없는 것으로 판단되었다.

2) 축산 농가에서 사용할 수 있는 간이 측정장치 개발에 대한 기초자료를 제시하고자 장치 구현이 용이한 단파장에서의 흡광도와 두파장에서의 흡광도비를 이용해 VIS/NIR 흡광스펙트럼과 원유의 주성분(지방, 단백질, 락토스, 총고형분, 체세포수)과의 상관분석을 수행한 결과 지방의 경우 예측 결정계수(R^2)가 0.741, 예측시 오차의 표준편차(SEP)가 0.100으로 어느 정도 예측이 되고 다른 성분들은 두파장에서의 흡광도비만으로는 예측이 어려운 것으로 판단되었다. CMT 시약을 처리한 경우에도 두파장에서의 흡광도비만으로는 체세포수의 예측이 어려운 것으로 판단되었다.

5. 참고 문헌

1. Datta, A. K., and H. B. Puckett, 1984. Realtime Acquisition and Analysis of Milk Conductivity Data. Trans. of the ASAE. 27(11):1204-1210.
2. Fernando, R. S., R. B. Rindsig and S. L. Spahr 1982 Electrical Conductivity of Milk for Detection of Mastitis. J Dairy Sci. 65:659-664.
3. Milner, P., K. L. Page, A. W. Walton and J. E. Hillerton 1996. Detection of Clinical Mastitis by Changes in Electrical Conductivity of Foremilk Before Visible Changes in Milk. J. Dairy Sci. 79:83-86.
4. Hiromi Kamishikiryo-Yamashita. Protein Content in Milk by Near-infrared Spectroscopy 1994 Journal of Food Sci. Vol 59:2
5. Prentice J. H. 1962. The conductivity of milk—the effect of the volume and degree of disperion of the fat. J. Dairy Res. 29:131
6. Jose Louis Rodriguez-Otero 1994. Determination of Fat, Protein, and Total Solids in Cheese by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy J. AOAC Internatioal Vol 78, No. 3, 1995
7. Kamishikiryo, H., Hasegawa, K., and Matoba, T. 1991. Stability of 2170nm as a key wavelength for protein analysis by near-infrared spectroscopy. J. Jpn. Food Sci. Technol. 38:850-857