KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 24, No. 5, pp. 404~407(1992)

근적외선 반사분광분석법에 의한 정육 및 그 구성성분의 반사 spectra에 관한 연구

오은경* · Dieter Grossklaus
독일 연방보건연구원, *건국대학교 동물자원연구센터

Studies on the Near Infrared Diffuse Reflection Spectroscopy for Meat Components

Eun-Kyong Oh*, Dieter Grossklaus
Bundesgesundheitsamt in Berlin, Germany
**Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University*

Abstract

This study was conducted to determine the effect of the physical and chemical factors on the absorbance when the chemical component of food was rapidly and effectively analyzed with near infrared reflection spectrophotometer. The absorbance was measured within the wavelength range of 1100 and 2500m and at the various sample temperatures. The absorbance was greatly increased with the rising sample temperature. When the grinding time of samples prolonged, the absorbance was decreased. The absorption peaks occurring in the near infrared spectra of meat, meat protein, pork fat and water were attributed to the overtone and combination vibration of C-H, N-H, O-H or C=O bond within the macromolecules of each sample. The absorbance was lower for meat protein than other meat components. Pork fat was characterized by the $\cdot CH_2\cdot$ absorption peak at the wavelength of 1700 and 2300 nm and water by the relatively high absorption peak at the wavelength of 1450 and 1930 nm. As a result, the absorbance of near infrared reflection spectrum of meat was affected mainly by fat and water in meat.

Key words: near infrared reflection, meat component

서 론

컴퓨터의 개발로 인해 많은 분석기기가 날로 간편하게 이용할 수 있도록 개발되고 있다. 그 중의 한 예가 spectrophotometer의 이용률의 증가추세이다. 과거에는 주로 시약을 이용한 화학분석에 의해서만 식품의 구성성분을 측정하여 왔다. 이 방법은 시간이 걸리고 위험한 시약을 다루는 전문요원이 필요하며 또한 실험 후에 화학물질이 특별 폐기물로서 처리되어야만 했다. 이러한 어려운 점을 보충하기 위해 간편하고 신속한 측정법들이 개발되어 왔다. 새로운 분석방법이 각광받기 위해서는 그 분석의 간편함과 함께 결과의 정확성이 인정되어야 한다. 1960년초 Norris와 Ben-Gera에 의해서 개발되어 주로 북미주에서 곡류 성분검사에[1] 이용되고 있는 spectrophotometer를 이용한 식품의 구성성분 측정법인 근적외선 반사분광분석, 즉, Near Infrared Reflectance Spectroscopic Analysis(NIRA)는 비교적 정확한 간편법으로서 그 조작이 간단하여 산업현장에서의 이용율이 증가하고 있다[2-4]. 파장 800~2500 nm 범위인 근적외선은 2500 nm 이상의 중적외선영역에서 흡수되는 O-H, C-H, N-H 그리고 C=O 진동의 overtone, combination 진동이 나타나는 곳으로[5] 그 흡수도는 적외선의 기본 진동보다 약 10배 이상 약하다. 그러나 이러한 단점은 오히려 시료를 희석하지 않고 그냥 고농도로 측정할 수 있게 되었으며 시료의 측정준비 과정이 간편하여 신속한 측정법으로 이용될 수 있었다.

또한 반사 spectroscopy의 개발의 동기는 분석대상인 식품이 spectrophotometer를 이용한 성분 측정에서 빛의 투과율이 낮아 잘 이용되지 못하던 것을 그러한 물질의 분석을 위하여 고안된 빛의 확산반사율(Diffuse-Reflection) 측정에 있다. 즉, 빛을 통과시키지 않고 또한 거울과 같이 100% 반사시키지 않는 물질에 일정 파장 범위의 빛을 조사시키면 그 일부는 물질속에 흡수되고 또한 일부는 표면에서 반사되거나 물질속에서 굴절되어 다시 반사된다[6]. 그때 반사되는 光에너지의 변화는 물질을 구성하는 화학물질의 농도나 구조에 의존하게 된다. 반

Corresponding author: Eun-Kyong Oh, Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University, 93-1 Mojin-Dong, Seongdong-Ku, Seoul 133-701, Korea

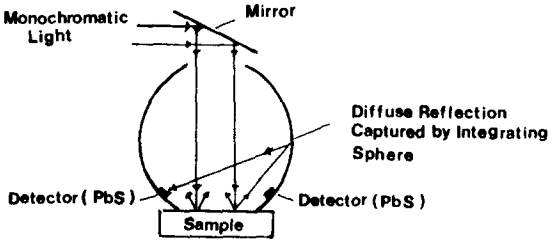

Fig. 1. Scheme of diffuse reflection spectrophotometer used in this experiment

사스펙트럼에 영향을 미치는 인자로서는 시료의 물리적 특성 즉, 균질의 정도[7], 온도[8] 및 화학적 성분 등을 들 수 있다.

본 실험에서는 근적외선 반사 스펙트럼을 이용한 정육의 성분측정에 있어서 시료의 균질도 및 온도의 변화가 흡광도에 미치는 영향을 조사하고 구성성분별로 나타난 흡수띠를 분석하였다.

재료 및 방법

시료

독일의 시중에서 판매되는 쇠고기 정육시료를 냉장시킨 후 직경 1.5 mm의 plate를 장착한 chopper로 갈은 다음 세절기(Moulinette, Moulinex Co., France)에 넣고 50초간 균질한 뒤 품온을 조정하여 흡광도 측정에 사용하였다. 균질도를 달리하기 위한 시료는 Moulinette에서의 세절과정을 10초 간격으로 60초까지 갈은 후 다음 15초를 최대균질시간으로 하였다. 육단백질은 세절한 정육을 동결건조시킨 후 petroleum-ether(석유에테르)을 용매로 하여 7시간 동안 지방을 추출하여 제거한 다음 건조 후 분쇄한 육단백질과 시판되는 정제 豚脂와 증류수를 각각 단백질, 지방 및 수분의 흡수띠 측정을 의한 시료로 사용하였다.

스펙트럼측정

InfraAlyzer 500 Scanning Spectrophotometer(Bran +Luebbe, Germany)를 사용하여 측정한 1100~2500 nm 범위의 흡광도를 log 1/R 값으로 나타내었다. Band pass는 10 nm이고 광원은 할로겐-텅스텐 램프의 단색광으로서 시료로부터 분산반사된 빛을 4개의 PbS 검출기로 감지하였다. 정육과 지방 등의 고형시료는 검은플라스틱으로 된 고형시료용기(open cup)에 담고 표면조직을 판판하게 하기 위하여 쇠로된 얇은판으로 표면을 누르면서 훑어준 후 반사스펙트럼을 측정하였으며 액체형태의 수분측정은 따로 마련된 투과반사스펙트럼 측정용기에 시료의 온도를 일정하게 하여, 주입시켜 흡광도를 측정하였다. 근적외 확산반사스펙트럼이 얻어지는 측정장치의 개요를 Fig. 1에 나타내었다.

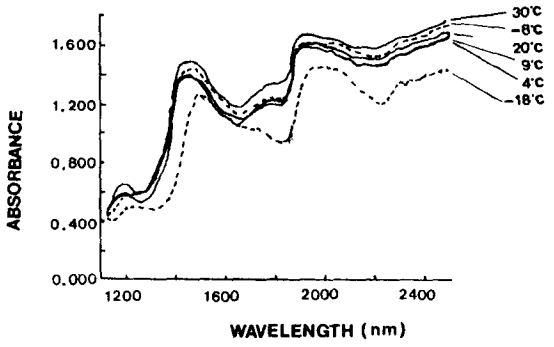

Fig. 2. NIR-absorbance curve of beef samples at various temperatures

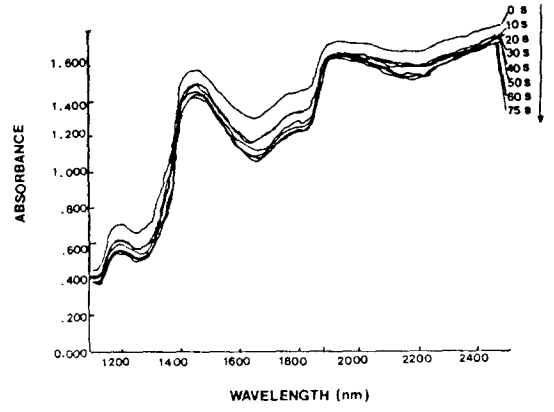

Fig. 3. Near infrared reflectance spectra of beef sample homogenized at different grinding time (0~75 sec)

결과 및 고찰

근적외선은 일종의 열선이므로 측정 중에 시료의 표면온도를 높임으로써 흡광도에 영향을 미칠 수 있는데 시료의 온도와 흡광도와의 관계를 Fig. 2에 나타내었다.

온도가 상승함에 따라 흡광도가 대체로 증가하였다. 특히 −18℃에서의 결과가 특징적이며 최대흡광도의 자리옮김이라든가 1600~1850 nm 사이의 peak 형태의 변화도 주목된다. 극저온에서의 이러한 특징적인 변화의 원인으로서 시료의 동결상태를 제시할 수 있겠으나 실질적으로 상용되는 측정온도 범위에서 온도의 상승은 흡광도의 증가를 나타내었으나 그 증가율이 규칙적이거나 일정하지는 않았다.

일반적으로 흡광도가 높지 않은 물질에 있어서는 그 반사율이 물질의 입자가 작을수록 증가하며 거꾸로 흡광도로 나타내면 그 값이 감소하는데 이러한 현상은 입자가 작을수록 빛의 산란율이 증가하여 분말속에 빛이 침투되는 깊이가 감소하는 것에 기인된다. 시료속에 광선이 침투되는 두께의 평균값이 작아짐에 따라 흡광도도 작아지는데 Fig. 3에서도 세절시간이 길면 길수록 빛의 침투두께가 작아져 흡광도가 감소하였으며 그 정도는

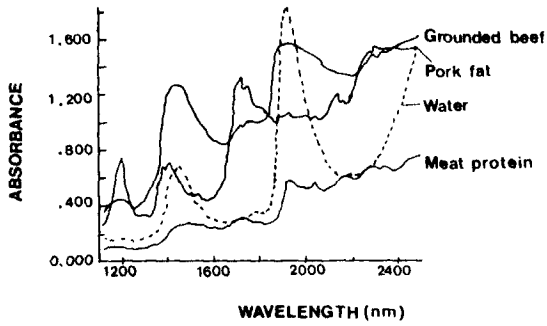

Fig. 4. Near infrared reflectance spectra of meat components

Table 1. Contributing groups and assignments of near infrared bands of meat protein

Wavelength (nm)	Contributing groups	Assignment	References
1186	·CH·$_2$	C-H 2nd Overtone	(10)
1512	·NH·	N-H 1st Ovetone	(12)
1708, 1740	·CH·$_2$	C-H 1st Overtone	(10, 12)
1942	C=O	C=O 2nd Overtone	(9, 12, 14)
2054, 2174	·NH·	N-H Combination	(13, 14)
2294, 2346, 2474	·CH·$_2$	C-H Combination	(12, 13)

파장범위에 따라 달랐다.

입자의 크기가 흡광도에 미치는 영향은 정반사와 확산반사가 서로 겹치는 것에도 기인될 수 있는데 이러한 사실은 다양한 입자크기의 분말을 편광을 통하여 흡광도를 측정한 Kortuem에 의하여 증명된 바 있다[6].

정육, 육단백질, 지방 및 물의 근적외선 스펙트럼을 Fig. 4에 나타내었다. 이 파장범위에서의 흡수띠는 C-H, N-H, O-H 및 C=O 결합에 의한 여러가지 overtone과 combination 진동이 겹쳐진 결과이다.

그림에서 보는 바와 같이 육단백질의 흡광도는 매우 낮았으며 지방의 흡수띠에서는 C-H 결합에 의한 뚜렷한 peak를 볼 수 있으며, 일반 정육시료의 스펙트럼은 물분자의 두개의 흡수띠의 영향을 받아 구름모양으로 나타났다. 육단백질의 근적외선 스펙트럼은 동시에 측정한 gelatin 분말과 Law와 Tkachuk[9] 등이 측정한 건조 gluten의 흡수띠와 거의 비슷하였다. 육단백질의 각 파장에 따른 흡수띠와 그 작용기를 Table 1에 정리하였다. 스펙트럼은 약 10개의 peak로 나타났는데 그 중 1512 nm, 2054 nm 및 2174 nm는 N-H 진동에 의한 것이고 1186 nm, 1708 nm, 1740 nm, 2294 nm, 2346 nm 및 2474 nm는 C-H, 그리고 1942 nm는 C=O 결합에 의한 것으로 사료된다[10-15].

1942 nm에서의 흡수띠는 C=O기의 2차 overtone으로 추정하였으며 이것은 견섬유단백질의 흡수띠를 해석한 Bath와 Ellis[12]의 결과와도 일치한다.

Table 2. Contributing groups and assignments of near infrared bands of pork fat

Wavelength (nm)	Contributing groups	Assignment	References
1210	·CH·$_2$	C-H 2nd Overtone	(16)
1392	·CH·$_2$	C-H Combination	(11)
1414, 1740	·OH·	O-H 1st Overtone	(16)
1726, 1762	·CH·$_2$	C-O 1st Overtone	(16)
2142	·CH:CH·	C-H Combination cis unsaturation	(9, 16)
2306	·CH·$_2$	C-H Combination	(16)

Table 3. Contributing groups and assignments of near infrared bands of grounded beef

Wavelength (nm)	Contributing groups	Assignment	References
1200	C-H	C-H 2nd Overtone	(16)
1456	O-H	O-H Combination	(17)
1730, 1794	C-H	C-H 1st Overtone	(10, 12, 16)
1936	O-H	O-H Combination	(17)
2310, 2352	C-H	C-H Combination	(12, 13, 16)

豚지방의 스펙트럼은 C-H 및 O-H 결합의 overtone과 combination 진동을 보여주고 있다. Table 2에서 보는 바와 같이 1700 nm 범위에서 C-H valence 진동에 의한 1차 overtone이 나타나고 2300 nm 부근에서는 valence 진동과 다른 진동과의 combination된 흡수띠가 나타났다. 불포화도의 증가에 따라 2190 nm와 2150 nm 부근에서 흡수가 나타나게 되는데 그것은 3300 nm에서 흡수되는 cis 이중결합의 기본진동과 그 외의 다른 C-H 진동의 combination 흡수에 기인된다. 지방산의 cis 이중결합은 1차 overtone으로 1680 nm 및 2차 overtone으로 1180 nm에 나타난다[16]. 밀에서 추출된 지질로부터의 탄소간 이중결합에 의한 흡수가 1170 nm, 2170 nm 및 2140 nm에 나타나는 것과 대조적으로 豚지방에서는 2140 nm에서만이 그 흡수띠가 나타났다.

1410 nm에서의 흡수는 알코올의 OH기의 1차 overtone으로 추정된다. 물의 투사반사스펙트럼은 1450 nm 및 1930 nm에서 강한 흡수띠를 나타내는데 그 기본진동은 2860 nm, 3050 nm, 4710 nm 및 6080 nm에서 일어난다[17].

정육의 근적외선스펙트럼을 나타낸 Fig. 4에서는 약 6~8개의 흡수띠가 보여지는데 그것은 주로 C-H와 O-H진동에 의한 것으로서 나타난 흡수띠는 Table 3에 나열하였다. 그중 C-H 흡수는 단백질과 지방에 그리고 O-H 진동은 물분자에 의한 것으로서 정육의 개개의 구성성분에 의한 각 파장범위에서의 빛의 흡수는 서로 겹치고 간섭되며 물분자에 의한 강한 흡수로 인하여 덮어지는 결과로 나타났다.

요 약

이 연구의 목적은 식품성분의 분석을 위한 신속간편법으로 근적외선 반사 분광분석을 이용함에 있어 흡광도에 영향을 미치는 시료의 물리적, 화학적요인을 규명하고자 한다. 온도를 달리한 정육시료를 근적외선 파장범위인 1100~2500 nm에서 흡광도를 측정한 결과 온도가 상승함에 따라 흡광도가 대체로 증가하였다. 시료의 세절시간이 길어질수록 흡광도는 감소하였다. 정육, 육단백질, 지방 및 수분의 근적외선 스펙트럼에서 나타난 흡수띠는 분자내의 C-H, N-H, O-H 및 C=O 결합의 overtone과 combination 진동에 의한 것으로 확인되었다. 정육 구성성분중 육단백질의 흡광도가 가장 낮았으며 지방은 1700 nm와 2300 nm 부근에서 특징적인 $\cdot CH_2\cdot$ 흡수띠를 보였고 1450 nm와 1930 nm에서 물분자에 의한 강한 흡수띠가 나타났다. 결과적으로 정육의 근적외선 스펙트럼의 흡광도는 함유된 수분과 지방에 의한 영향을 많이 받는 것으로 사료된다.

문 헌

1. Massi, D.R. and Norris, K.H.: Spectral reflectance and transmittance properties of grain in the visible and near infrared. *Trance ASAE,* **8**, 598(1965)
2. Ben-Gera, I. and Norris, K.H.: Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat products. *J. Food Sci.,* **33**, 64(1968)
3. Dillier-Zulauf, A. und Egli, H.R.: Quantitative schnellbestimmung der Fett-, Stickstoff- und Trokensubstanz an Molkereiprodukten mit dem InfraAnalyzer. *DMZ Deutsche Molkerei-Zeitung,* Jahrgang 1(5), 103(1982)
4. Bolling, H. und Zwinggelberg, H.: IR-Spektroskopie-Einsatz bie der Getreideerfassung und Endproduktkontrolle bei Mahlerzeugnissen. Sonderdruck aus "*Getreide, Mehl und Brot*", **33**, 264(1979)
5. Day, M.S. and Fearn, F.R.B.: NIR as an analytical technique; Part 2. Design and development. *Lab. Pract.,* **31**, 328(1982)
6. Kortuem, G.: Reflexionsspektroskopie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, p.25(1969)
7. Nadai, B.T.: Preliminary experiments for measuring meat composition by near infrared reflection technique. *Acta Alimentaria,* **12**, 119(1983)
8. Williams, P.C., Norris, K.H. and Zarowski, W.S.: Influence of temperature on estimation of protein and moisture in wheat by NIR. *Cereal Chem.,* **59**, 473 (1982)
9. Law, D.P. and Tkachuk, R.: Near infrared diffuse reflectance spectra of wheat and wheat components. *Cereal Chem.* **54**, 256(1977)
10. Kaye, W.: Near-Infrared Spectroscopy; A Review 1, Spectral identification and analytical applications. *Spectrochim. Acta* **6**, 257(1954)
11. Goddu, R.F. and Delker, D.A.: Spectra-structure correlations for the near-infrared region. *Anal. Chem.* **32**, 140(1960)
12. Bath, J.D. and Ellis, J.W.: Some features and implications of the NIR absorptionspectra of various proteins: gelatin, silk fibroin and zinc insulinate. *J. Phys. Chem.* **45**, 204(1941)
13. Fraser, R.D.B.: Interpretation of infrared dichroism in fibrous proteins; the 2 μm region. *J. Chem. Phys.* **24**, 89(1956)
14. Krikorian, S.E. and Mahpour, M.: The identification and origin of N-H overtone and combination bands in the near-infrared spectra of simple primary and secondary amides. *Spectrochim. Acta* **29A**, 1233(1973)
15. Sutherland, G.B.B.M., Tanner, K.N. and Wood, D.L.: Infrared evidence for collagen structure. *J. Chem. Phys.* **22**, 1621(1954)
16. Holman, R.T. and Edmondson, P.R.: Near-infrared spectra of fatty acids and some related substances. *Anal. Chem.* **28**, 1533(1956)
17. Bayly, J.G., Kattha, V.B. and Stevens, W.H.: The absorption spectra of liquid phase H_2O, HDO and D_2O form 0.7 μm to 10 μm. *Infrared Physics* **3**, 211(1963)

(1992년 2월 13일 접수)