

## 온-라인 FIA시스템에 의한 돈육(豚肉)의 휘발성염기질소의 자동분석

- 연구노트 -

이 형 춘

서원대학교 식품영양학과

### Automatic Analysis of Volatile Basic Nitrogen of Pork with an On-line Flow Injection Analysis System

Hyeong-Choon Lee

Dept. of Food and Nutrition, Seowon University, Cheongju 361-742, Korea

#### Abstract

An on-line FIA system in place of traditional Conway method was used for quicker and simpler analysis of volatile basic nitrogen of pork. The on-line system was developed by connecting an FIA apparatus with an ammonia electrode as a detector to a personal computer. The data from Conway method and from the on-line FIA system were in good agreement and the correlation coefficient was 0.981. One sample could be analyzed in about 4 min.

**Key Words:** volatile basic nitrogen, on-line FIA, pork

#### 서 론

식육, 어패류 등의 단백질함유식품의 경우에는 변질에 의한 신선도저하에 따라 ammonia, trimethylamine 및 미량의 dimethylamine 등 휘발성 염기질소를 생성하므로, 휘발성 염기질소는 이들 식품의 신선도 또는 부패도 판정의 지표가 될 수 있다(1). 우리나라의 경우 가공식품과 관련해서는 식육가공품중 원료육 및 포장육에 대하여 휘발성 염기질소의 성분규격이 설정되어 있으며, 시험방법은 미량확산법(Conway method)으로 되어 있다(2).

미량확산법은 적정법이므로 시험조작이 복잡하고 번거로우며, 확산 및 적정에 시간이 많이 소요된다 따라서 본 연구에서는 ammonia전극을 sensor로 이용하는 자동화 FIA(flow injection analysis)장치를 제작·사용하여 이러한 문제점들을 개선하고자 하였다.

Ammonia전극은 그 원리(3)에 기인하는 특성상 ammonia 뿐만 아니라 휘발성 염기질소에 해당하는 휘발성 amine류에도 반응한다 Ammonia와 휘발성 amine류에만 선택적으로 반응하는 반면 시료에 함유된 다른 물질들의 영향은 전혀 받지 않으므로(3) 휘발성 염기질소의 측정에 아주 적합하다고 생각되었다. 또한 ammonia전극을 사용하면 알칼리 용액외의 다른 시약을 사용할 필요가 없기 때문에 측정이 간단하다.

FIA법은 빠르고, 신뢰성이 크며, 아주 작은 양의 시료로 분석이 가능하고, 자동화하기가 쉽다(4). 이러한 이유로 FIA법이 여러 가지 물질의 분석에 많이 사용되었으

나, 휘발성 염기질소와 관련한 연구는 거의 없다. Capillas와 Horner(5)는 어육의 trimethylamine nitrogen과 휘발성 염기질소의 측정에 FIA법을 사용하였는데, 검출 방법은 비색법이었다 또한 FIA법을 자동화할 경우 자동 조작에 의하여 분석조건을 일정하게 유지할 수 있으므로 재현성을 더욱 높게하며, 시간을 더 단축시킬 수 있고, 간편한 분석이 가능하다.

이러한 관점에서 본 연구에서는 암모니아전극을 검출기로 사용한 FIA장치와 컴퓨터를 연결하여 휘발성 염기질소 측정용 on-line FIA system을 제작하였으며, 돈육으로부터 추출한 시료에 대하여 미량확산법으로 분석한 경우와 on-line FIA system을 사용한 경우의 분석치를 서로 비교하여 on-line FIA system에 의한 분석이 미량확산법을 대체할 수 있는가를 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 시료의 조제

시판 포장돈육(목심부위)을 사용하여 식품공전의 휘발성 염기질소 시험방법(2)에 따라 휘발성 염기질소의 추출시료를 조제하였다 돈육을 실온에 방치하거나 또는 30°C로 조절된 배양기에 상당 기간 넣어 두므로써 다양한 농도의 시료를 얻을 수 있었다

##### 미량확산법에 의한 분석

식품공전의 휘발성 염기질소 시험방법(2)에 의하였다

On-line FIA system에 의한 분석

On-line FIA system의 구성을 Fig. 1에 나타내었으며, Lee(6)의 ammonium자동분석 system에 의거하여 제작하였다. 전체 system중 FIA system은 carrier solution 이송용 tubing pump(pump 1; SMP-23S, Eycla), 용액 선택용 3-channel solenoid valve(H-01367-81, Cole-Parmer), 시료 또는 표준용액 이송용 tubing pump(pump 2, 101 U/R, Watson Marlow), injection valve(5020, Rheodyne), valve actuator(5701, Rheodyne), air solenoid valve(7163-033, Rheodyne), 질소압력통, mixing coil 및 detector로 구성하였다 이 중 detector는 ammonia electrode(95-12, Orion), flow-through cell 및 ammonia meter(SP-701, Suntex)로 구성하였는데, flow-through cell은 Fig 2와 같이 두 개의 아크릴 판을 가공하여 접착한 것을 사용하였으며, ammonia전극막 밑부분의 부피는 약 40  $\mu$ L였다. 튜빙은 내경 0.8 mm의 PTFE튜브를 사용하였으며, injection valve의 loop 용량은 약 50  $\mu$ L였다. Carrier solution은 5 M NaOH용액을 사용하였으며, 유량은 0.8 mL/min였다. Computer system은 486급의 PC, multifunction card(PCL-812PG, Advantech), signal conditioning board(PCLD-770 및 PCLD 7701, Advantech), relay board(PCLD-785, Advantech) 및 SSR board(PD-4, 근흥전자)로 구성하였다.

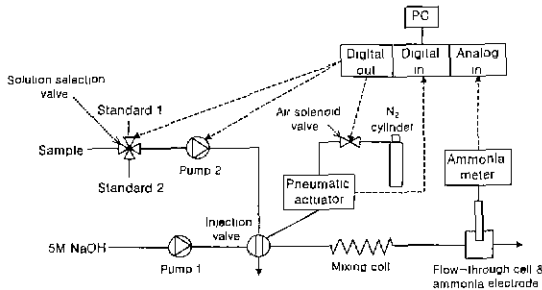


Fig. 1. Schematic diagram of an on-line FIA system for analyzing volatile basic nitrogen.

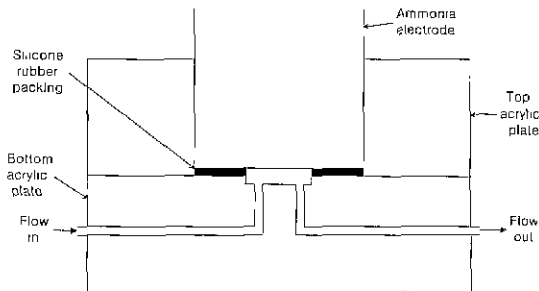


Fig. 2. Schematic diagram of a flow-through cell.

자동분석 program을 QuickBASIC(ver. 4.0)으로 작성하였다 Program의 구성은 Lee(6)의 ammonium 자동분석 program과 같게 하였으며, 전체적인 흐름도를 Fig. 3에 나타내었다. 그림에서와 같이, 제1표준용액(1.0 mM NH<sub>4</sub>Cl)의 전압 peak치, 제2표준용액(10.0 mM NH<sub>4</sub>Cl)의 전압 peak치 및 시료의 전압 peak치를 순서대로 짐출한 다음 이들을 환산식에 대입하여 시료의 농도를 산출하였다. 환산식은 NH<sub>4</sub>Cl농도(mM)의 대수치와 전압 peak치(mV)의 관계가 직선적( $R^2=0.999$ )이며, 음의 상관관계임(Fig. 4)을 이용하여 도출하였다. 환산식은 시료농도(mM) =  $10^{-(A \cdot \text{SMPK} + B)/10}$  (A =  $1.0 / (\text{ST2PK} - \text{ST1PK})$ , B =  $1.0 - A \cdot \text{ST1PK}$ , SMPK- 시료의 전압 peak치, ST1PK- 제1표준용액의 전압peak치, ST2PK- 제2표준용액의 전압peak치)였다.

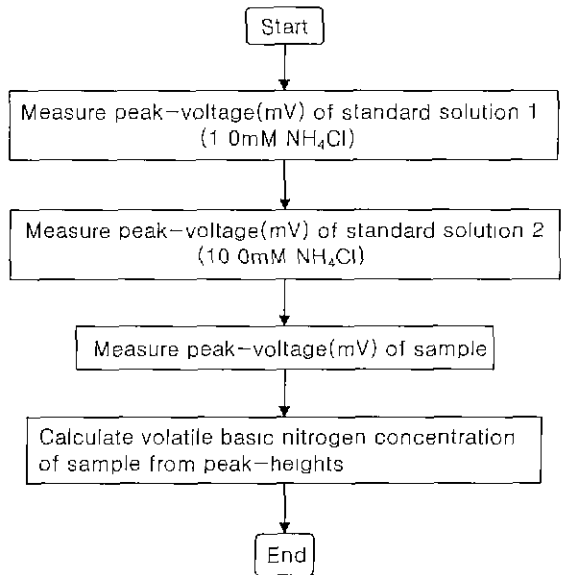


Fig. 3. Flow chart for the automatic analysis of volatile basic nitrogen

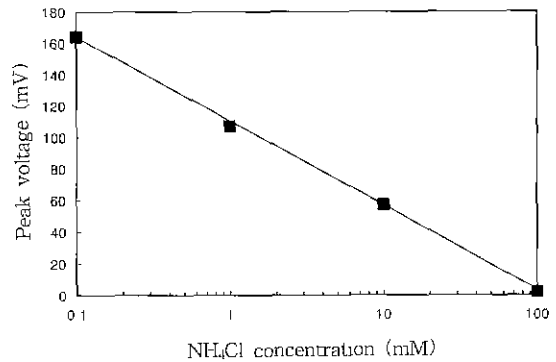


Fig. 4. Relationship between NH<sub>4</sub>Cl concentrations and their peak voltages measured by on-line FIA system.

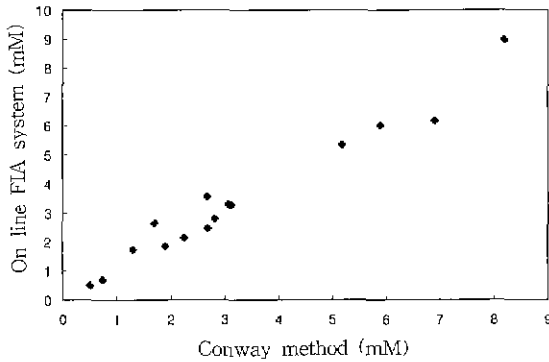


Fig. 5. Correlation of data from Conway method with data from the proposed on-line FIA system in analyzing volatile basic nitrogen of pork. 16 data were plotted.

### 결과 및 고찰

16개의 시료 각각에 대하여 미량확산법으로 분석한 data와 on-line FIA system으로 분석한 data를 서로 비교한 것은 Fig. 5와 같다. 그림에서와 같이 두가지 방법으로 부터의 data가 최저 0.51 mM(7.1 mg%)에서 최고 8.19 mM(114.7 mg%)의 범위에서 잘 일치하는 양상을 보여서 상관성이 우수한 것으로 나타났으며, 상관계수는 0.981이었다. 따라서, 돈육의 휘발성 염기질소의 분석에 미량확산법 대신 본 연구의 on-line FIA system을 사용해도 무리가 없다고 생각되었다. 또한, 더 연구를 진행한다면 다른 식육 및 식육가공품과 어육 및 어육가공품의 휘발성 염기질소의 분석에도 사용할 수 있다고 생각되었다.

On-line FIA system으로 평균 약 4분에 한 개의 peak치를 얻을 수 있었다. 따라서, 매 시료마다 calibration할 경우에는 2가지 표준용액과 시료에 대하여 세 개의 peak치를 얻어야 하므로 약 12분이 소요된다. 그러나, 여러개의 시료를 한꺼번에 처리할 경우 처음에 한번만 calibration하여도 되므로, 일단 calibration이 끝나면 한 시료의 측정에 약 4분이 소요되는 것이 된다. 미량확산법의 경우 최소 1시간 이상이 걸리는 것을 감안할 때, 측정속도가 크게 개선되었다. 이러한 측정속도는 FIA방법으로써는 오히려 느린 편인데, 주요한 이유는 ammonia전극을 검출기로 사용하였으므로 시료의 휘발성 염기질소가 전극막을 투과하는 데 시간이 걸리기 때문이다. 그러나, flow-cell구

조의 개량, loop용량·유량 및 이송용액(carrier solution) 농도의 최적화 등으로 측정 속도를 개선할 수 있다고 생각되었다. 또한, 자동측정시에는 시료만 장치에 설치하면 다음의 작업은 data출력에 이르기까지 자동으로 수행되므로 훨씬 간편하였다.

### 요약

돈육의 휘발성 염기질소를 더 빠르고 간편하게 분석하기 위하여 미량확산법 대신 on-line FIA system을 사용할 수 있는가를 검토하였다. Ammonia전극을 검출기로 채택한 FIA장치와 컴퓨터를 연결하여 on-line FIA system을 제작하였다. 동일한 시료에 대하여 미량확산법과 on-line FIA system으로 분석한 결과는 서로 잘 일치하였으며, 상관계수는 0.981이었다. On-line FIA system으로 한시료의 분석에 약 4분이 소요되었다.

### 감사의 글

본 연구는 2000년도 서원대학교 응용과학연구소 연구비 지원에 의해서 수행된 결과이며 이에 감사드립니다.

### 문헌

1. Pharmaceutical Society of Japan. *Standard Methods of Analysis for Hygienic Chemists -With Commentary-*. Kanehara Shuppan Kabusiki Kaisya, Tokyo, p.284 (1995)
2. Korea Foods Industry Association. *Food Codex*. KFLA, Seoul, p.202-203 (1999)
3. Willard, H.H., Merritt, L.L., Dean, J.A. and Settle, F.A. *Instrumental Methods of Analysis*. 6th ed., D. Van Nostrand, New York, p.647-648 (1981)
4. Nielson, J., Nikolajsen, K. and Villadsen, J. FIA for on-line monitoring of important lactic acid fermentation variables *Biotech. Bioeng.*, **33**, 1127-1134 (1988)
5. Capillas, C.R. and Horner, W.F.A. : Determination of trimethylamine nitrogen and total volatile basic nitrogen in fresh fish by flow injection analysis. *J. Sci. Food & Agric.*, **79**, 1982-1986 (1999)
6. Lee, H.C. : Increase of cell concentration by the automatic addition of glucose and ammonium to an alcohol distillery wastewater reutilized for cultivating a Baker's yeast: automatic analysis and control of ammonium concentration with an on-line flow injection analysis system *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 139-144 (2000)

(2000년 8월 12일 접수)