

표면 플라즈몬 공명 센서를 이용한 주류의 알코올 함량 측정

조용진 안병학 김철진 김종태

Measurement of Alcohol Contents in Alcoholic Beverages Using a Surface Plasmon Resonance Sensor

Y. J. Cho B. H. Ahn C. J. Kim C. T. Kim

ABSTRACT

A surface plasmon resonance (SPR) sensing system, which belonged to a family of thin film refractometry-based sensors, was fabricated to measure the alcohol contents in alcoholic beverages. In this study, a SPR curve was obtained by a photodiode array with 128 pixels and transformed into a refractive index which was calculated by means of the first moment of values below a baseline of 0.85. When the sensing system was applied to *Soju*, *Cheonju*, *Igwaduju* and *Tacju*, highly linear relationships between the refractive index by SPR and the contents of alcohol were obtained. That is, the coefficients of determination in their linear models were 0.992, 0.933, 0.918 and 0.984, respectively. Meanwhile, the effect of sample preparations on the accuracy of measurement was analyzed. As for *Soju* and *Tacju*, the best calibration equations were obtained when no sample preparation was applied. The best calibration models for measurement of *Cheonju* and *Igwaduju* were obtained through the samples filtered by C₁₈ disks.

Keywords : Surface plasmon resonance, Measurement of alcohol content, Alcoholic beverage, Sample preparation effect.

1. 서 론

주류에 함유되어 있는 알코올 함량을 정량하는 방법은 여러 가지가 있다. 현재 화학적 정량법을 기본으로 하여 전기 전도도를 이용한 전기적 측정법, 광학적 특성치를 이용한 광학적 측정법 등이 사용되고 있다(Pfisterer 등, 1992).

화학적 정량법은 제 1차 정량법(primary assay)으로 사용되고 있으나 측정에 필요한 시간이 길다는 단점을 가지고 있다. 화학적 정량법을 이용하여 알코올을 정량하는 경우, 증류하여 그 유액을 비중이나 굴절계로 측정하거나, 증류 후 유액을 산화 환원 적정법에 따라 정량하는 방법을 사용하고 있다(주 등, 1995)

전기적 측정법 및 광학적 측정법은 신속 정량법으로 활용되고 있으나 측정 시간이나 정밀도 측면에서 개선의 필요성이 요구되고 있다. 전기적 측정법에서는 알코올 함량에 따른 전기 전도도가 이용되고 있으며, 광학적 측정법에는 광음향 분광법(photoacoustic spectroscopy), 근

적외 분광법(near infrared spectroscopy), 가스 센서(gas sensor) 등이 이용되고 있다(Browne 등, 1991; Pfisterer 등, 1992; Schmidt와 Risicato, 2001).

최근, 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance, SPR) 현상을 이용한 센서는 측정 감도가 매우 탁월한 센서로서 주목을 받고 있다. Wood(1902)는 반사 회절 격자를 사용하여 연속 광원의 스펙트럼을 관찰한 결과, 회절광 스펙트럼에서 어둡고 좁은 밴드를 발견하였으며, Fano(1941)는 이 현상이 표면 플라즈마 파동(surface plasma wave)과 관련이 있음을 이론적으로 밝혔다.

즉, 표면 플라즈몬 공명(SPR)은 빛이 금속 표면과의 상호 작용에 의해 발생하는 양자역학적 광전 현상(quantum optical-electrical phenomenon)의 일종으로서 광자가 가진 양자 에너지와 플라즈몬의 양자 에너지 준위가 정확히 일치할 때 나타나는 공명 현상을 말한다. 이러한 현상에 기초하여, 기기의 발달에 따라 특정한 물질의 인지 및 정량을 위한 센서로서 SPR 센서가 제조되었다. 특히, 최근에는 SPR 센서를 이용하여 생체분자를 탐

The article was submitted for publication in June 2004; reviewed and approved for publication by the editorial board of KSAM in July 2004. The authors are Yong-Jin Cho, KSAM member, Principal Researcher, Byung-Hak Ahn, Principal Researcher, Chul-Jin Kim, Principal Researcher, and Chong-Tai Kim, Principal Researcher, Korea Food Research Institute, Songnam, Korea. Corresponding author: Y. J. Cho, Principal Researcher, Biosystems Engineering Team, Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Republic of Korea; Phone : 031-780-9136; Fax : 031-780-9257; E-mail : <yjcho@kfri.re.kr>.

색하거나 정량하기 위한 바이오 센서의 개발에 관한 연구는 매우 활발히 이루어지고 있다(조, 2003; 조와 김, 2003; Homola 등, 1999; Ligler와 Rowe Taitt, 2002).

본 연구에서는 주류의 알코올 함량을 신속하게 측정하는 방법을 강구하고자 SPR 센서를 이용한 알코올 함량 측정법을 개발하고자 하였으며, 먼저 모형 술에 대해서 SPR 측정법을 적용하고, 나아가서 실제 몇 가지 종류의 술에 대해서 SPR 측정법을 적용해 보았다.

2. 재료 및 방법

가. 측정 원리

표면 플라즈몬 공명은 빛이 금속 표면과의 상호 작용에 의해 발생하는 양자역학적 광전 현상(quantum optical-electrical phenomenon)을 말한다. 광자(photon)에 의해 수송되는 에너지는 특정 조건하에서 금속 표면상의 전자 즉, 플라즈몬(plasmon)으로 전달되는데, 에너지의 전달은 빛의 특정한 공명 파장(resonance wavelength)에서만 이

루어진다. 즉, 이때의 광 파장은 광자가 가진 양자 에너지와 플라즈몬의 양자 에너지 준위가 정확히 일치하는 경우이다.

Fig. 1은 SPR의 원리를 나타낸 것이다. 금속 박막에서 자유 전자가 특정한 속성을 가진 입사광에 의해 표면 플라즈마 파(surface plasma wave, SPW)를 형성하며, 이때 입사되는 전자파는 경계 면에서 최대이며 점점 소멸되고, 반사광은 SPW의 공명 조건에서 급격히 감소한다. 이때 식 (1)과 같이 자유 공간에서의 파동수와 표면 플라즈몬의 파동수는 일치한다. 그러므로 SPW의 전파정수(propagation constant)는 식 (2)와 같다(Ligler 등, 2002).

$$k = k_{sp} \tag{1}$$

$$\beta = k \sqrt{\frac{\epsilon_m n_l^2}{\epsilon_m + n_l^2}} \tag{2}$$

여기서, k 는 자유공간에서의 파동수, k_{sp} 는 표면 플라즈몬의 파동수, β 는 SPW의 전파정수, ϵ_m 은 금속의 유전상수이며, n_l 은 유전체 즉, 측정될 액체의 굴절률이다. SPR 시스템에서 금속은 주로 금과 은이 사용된다. 이러한 이론적 바탕에서 유전물질 즉, 측정될 액체의 분자의 특성에 따라 전파정수는 특이한 값을 가지게 되므로 입사광에 대한 반사광의 특성 변화를 측정하여 특정 분자를 인식하거나 그 양을 측정할 수 있게 된다.

나. SPR 시스템의 구성

Kretschmann 기하학(Fig. 1)의 원리가 적용된 SPR 센서를 이용하여 Fig. 2와 같이 알코올 함량 측정을 위한 SPR 센싱 시스템을 구성하였다. SPR 센서(SPR-EVM-BT, Texas Instrument, USA)의 광원은 840 nm의 편광 근적외선 LED이고, 128 화소의 광다이오드 어레이(photodiode array)가 반사광 측정용으로 장착되어 있다. 센서가 시료와 접촉하는 상태를 쉽게 조절할 수 있도록 가변형 위치 및 높이 조절기를 설치하였다. 센서로부터 나오는 신호는 직렬형 통신(RS-232C)을 이용하여 A/D 변환기를 거친 후 노트북 컴퓨터에서 신호처리 되도록 하였다. 마지막으로, 식 (3)에 의해 계측된 SPR 곡선은 기준값을 0.85로 하여 1차 모멘트를 산출하였으며, 순수 물을 기준 물질로 하였을 때 상대 굴절률로 표시하는 방법으로 SPR 측정치를 나타내었다(TI, 2001). 즉, 최종적

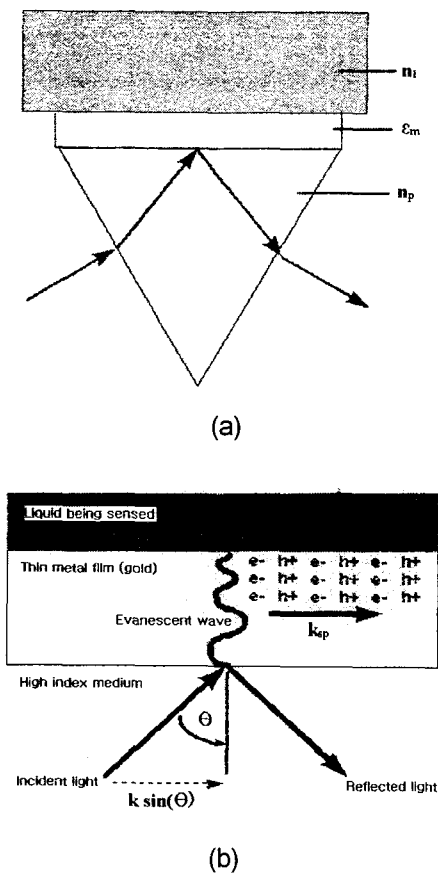


Fig. 1 (a) Kretschmann geometry in surface plasmon resonance and (b) surface plasma wave.

으로 표시는 SPR 측정치는 굴절률(refractive index)로 표시되었다.

$$SPR\ curve = \frac{S_l - B_l}{S_a - B_a} \quad (3)$$

- 여기서, S_l : 액체 속에서의 센서 신호 값
- S_a : 공기 중에서의 센서 신호 값
- B_l : 액체 속에서의 배경 신호 값(조정 후 0)
- B_a : 공기 중에서의 배경 신호 값(조정 후 0)

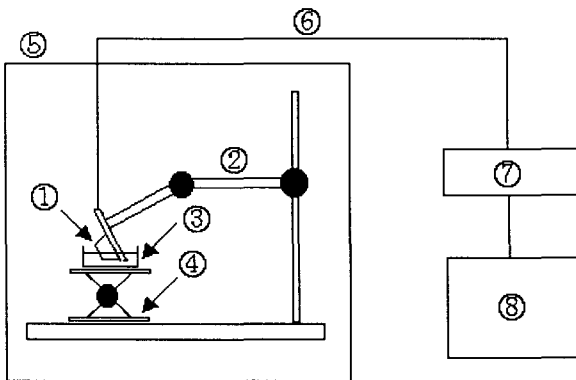


Fig. 2 Schematic diagram of an SPR sensing system for measurement of alcohol content:

- ① SPR sensor; ② height-and-angle-adjustable arm; ③ sample liquid; ④ height-adjustable platform; ⑤ dark room; ⑥ RS-232C; ⑦ A/D converter; ⑧ laptop computer.

다. 실험재료

먼저, 주류의 알코올 함량 측정의 가능성을 평가하기 위하여 증류수와 에탄올을 혼합하여 모형 술을 제조하였다. 모형 술은 알코올 함량을 1% 간격으로 조절하여 20, 21, 22, 23, 24, 25%의 6종으로 제조하였다.

실제 산업적으로 생산되고 있는 술로는 발효주인 탁주와 청주, 그리고 증류주인 소주와 이과두주가 선별되었다. 각 시료의 알코올 함량을 조절하기 위하여 95%의 주정과 증류수를 이용하여 2% 간격으로 알코올 농도를 조절하였다.

라. 시료 전처리

시판용 술인 탁주, 청주, 소주 및 이과두주는 모형 술과는 달리 물과 에탄올 이외의 성분들을 함유할 수 있다. 즉, 술에는 수용성 물질뿐만 아니라 여러 가지

고형물을 함유할 수 있다. 본 연구에서는 SPR 센싱 시스템으로 알코올 함량을 측정하기 전에 막 여과(polytetrafluoroethylene membrane filtering, 0.45 μ m)와 탄소 디스크 여과(C₁₈, Sep-Pak)를 이용하여 시료를 여과한 후, 무처리 시료와 SPR 측정 결과를 비교하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 모형 술의 알코올 함량 측정

Fig. 3은 에탄올 함량이 20~25%의 범위에서 1% 간격의 모형 술에 대해서 SPR 곡선을 나타낸 것이다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 매우 안정된 SPR 반응 특성을 얻을 수 있었다. 이러한 신호 값에 대해서 기준선 0.85 이하에서 1차 모멘트 값을 산출하고, 기준 물질을 순수 물로 하였을 때 SPR 척도를 굴절률로 나타내었으며(Fig. 4), 알코올 함량을 평가하는 선형 모형을 도입하였을 때 모형의 결정계수는 0.998로 나타났다. 이러한 결과를 볼 때, 에탄올의 함량을 실시간으로 측정하기 위한 시스템으로서 SPR 센싱 시스템을 이용할 수 있을 것으로 판단된다.

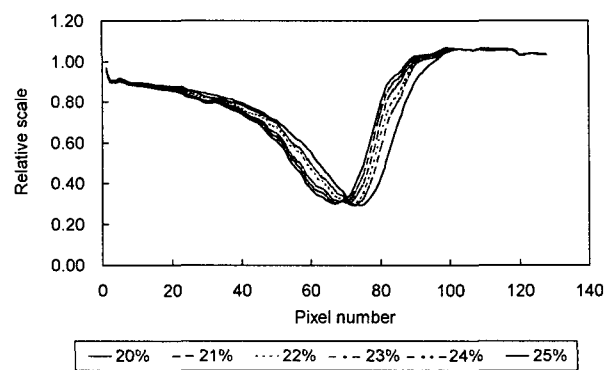


Fig. 3 SPR curves for model alcoholic beverages.

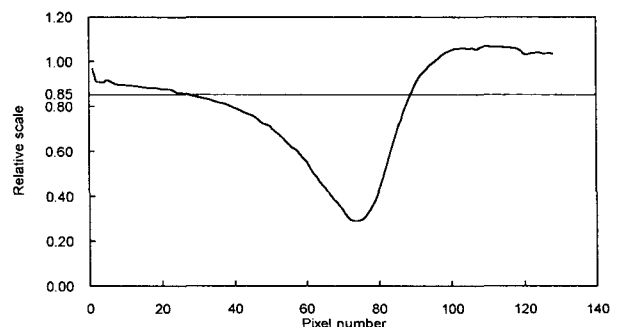


Fig. 4 The 1st moment calculation below a baseline of 0.85.

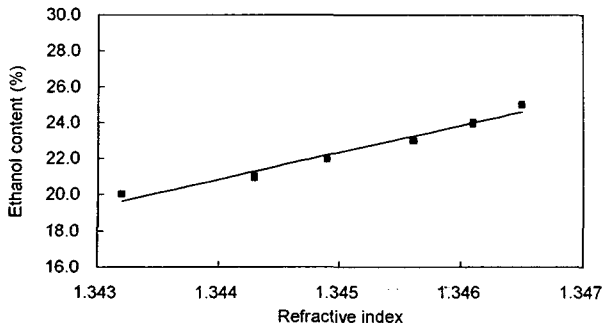


Fig. 5 Comparison of measured and predicted ethanol contents in model alcoholic beverages($R^2 = 0.998$).

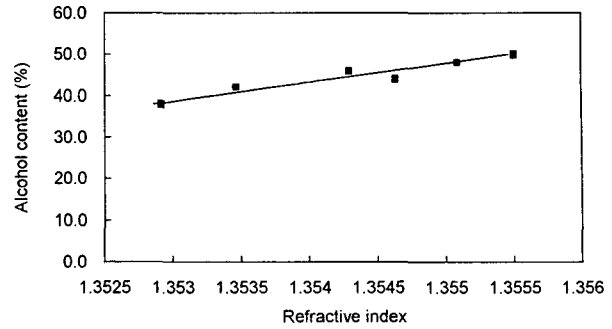


Fig. 8 Comparison of measured and predicted alcohol contents in *Igwadaju*($R^2 = 0.918$).

나. 시판 술의 알코올 함량 측정

Fig. 6에서 9까지는 소주, 청주, 이과두주 및 탁주에 대한 SPR 측정값과 알코올 함량의 관계를 각각 나타낸 것이다. SPR 측정값은 모형 술에 적용한 방법과 마찬가지로 방법으로 산출되었다. 즉, SPR 곡선에서 기준선 0.85 이하에 해당하는 측정치에 대한 1차 모멘트를 산출하여 증류수의 굴절률에 대비한 상대 굴절률로 환산한 SPR 척도를 사용하였다. 이러한 SPR 척도 즉, 상대 굴절률을 실제 알코올 함량과 대비하여 선형 모형으로 만들었음

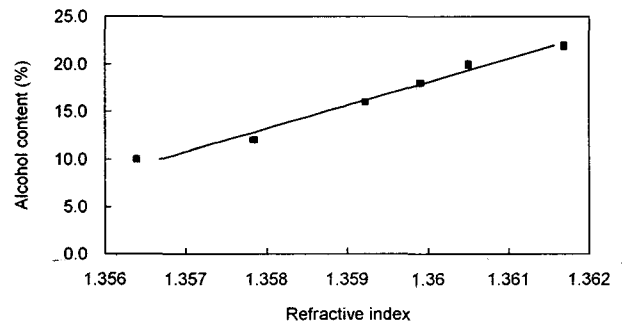


Fig. 9 Comparison of measured and predicted alcohol contents in *Tacju*($R^2 = 0.984$).

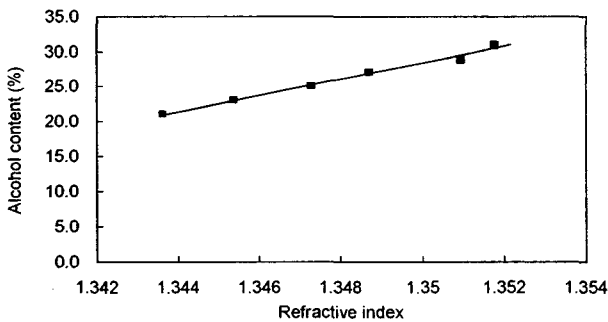


Fig. 6 Comparison of measured and predicted alcohol contents in *Soju*($R^2 = 0.992$).

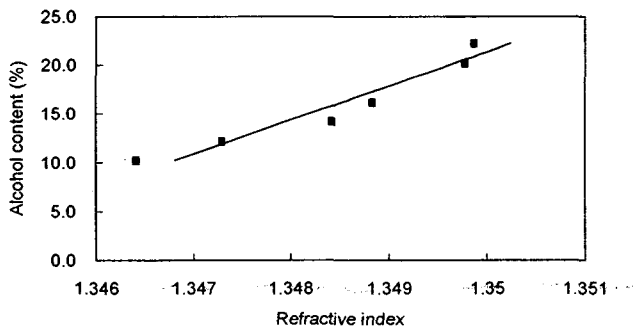


Fig. 7 Comparison of measured and predicted alcohol contents in *Cheongju*($R^2 = 0.933$).

때 소주, 청주, 이과두주 및 탁주에 대한 모형의 결정계수는 각각 0.992, 0.933, 0.918, 0.984로 나타났다. 이러한 결과를 볼 때, 소주, 청주, 이과두주, 탁주 등과 같은 주류의 알코올 함량을 실시간으로 신속하게 측정하기 위하여 SPR 시스템을 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

다. 시료 전처리의 영향

시판 술에 대해서 SPR 센싱 시스템을 적용하여 알코올의 함량을 측정하고자 할 때, 술에는 물과 알코올 이외에 수용성 물질뿐만 아니라 고형 물질과 같은 다른 성분들이 함유되어 있을 수 있다. Table 1은 시료를 처리하지 않고 SPR 센싱 시스템을 적용한 경우와 여과 후 측정된 경우를 비교한 결과를 나타낸 것이다. Table 1에서는 SPR 센싱 시스템을 이용하여 술의 알코올 함량을 측정함에 있어 1차 선형 모형을 SPR 척도에 의한 알코올 함량 산출 모형으로 적용하였을 때 분석된 통계치를 시료 전처리 방법별로 비교하여 나타내었다. 여기서 시료 전처리 방법은 막 여과와 탄소 디스크 여과를 의미한다.

소주의 경우, 시료를 전처리하지 않고 측정하였을 때 측정모형의 결정계수는 0.992, F 값은 470.8, 표준오차는 0.000325로 나타났으나, 막 여과 및 탄소 디스크 여과에

Table 1 Statistical estimates in linear prediction models for measurement of alcohol contents when sample preparations were introduced

Sample preparation	Alcoholic beverage	Coefficient of determination	F value (Significant probability)	Standard error
Not filtered	<i>Soju</i>	0.992	470.8(0.00002)	0.000325
	<i>Cheongju</i>	0.933	55.4(0.00173)	0.000398
	<i>Igwaduju</i>	0.918	44.9(0.00257)	0.000313
	<i>Tacju</i>	0.984	247.8(0.00009)	0.000269
0.45 μm PTFE Membrane-filtered	<i>Soju</i>	0.970	127.9(0.00034)	0.000441
	<i>Cheongju</i>	0.929	51.9(0.00196)	0.000284
	<i>Igwaduju</i>	0.917	44.4(0.00263)	0.000280
	<i>Tacju</i>	0.898	35.1(0.00405)	0.000326
C ₁₈ disk-filtered	<i>Soju</i>	0.981	211.3(0.00013)	0.000336
	<i>Cheongju</i>	0.970	127.7(0.00034)	0.000229
	<i>Igwaduju</i>	0.939	61.8(0.00141)	0.000272
	<i>Tacju</i>	0.947	72.1(0.00105)	0.000315

의해 시료를 전처리한 후 측정하였을 때 측정모형의 결정계수는 각각 0.970 및 0.981, F 값은 127.9 및 211.3, 표준오차는 0.000441 및 0.000336으로 나타났다. 이와 같이 소주의 경우 시료를 전처리한 결과, 오히려 다소 불량한 측정모형을 초래하는 것으로 분석되었다.

청주의 경우에는 탄소 디스크로 시료를 여과한 후 SPR 센싱 시스템으로 알코올 함량을 측정하게 되면 측정모형의 결정계수, F 값 및 표준오차가 시료를 처리하지 않거나 막 여과로 전처리하는 경우보다 개선되는 것으로 나타났다. 즉, 탄소 디스크로 시료를 여과한 후 측정한 경우, 측정모형의 결정계수, F 값 및 표준오차는 각각 0.970, 127.7 및 0.000229로 나타나 무처리나 막 여과시의 0.933, 55.4, 0.000398이나 0.929, 51.9, 0.000284보다 양호한 통계치를 보였다.

이과두주의 경우는 청주의 경우와 유사하게 탄소 디스크로 여과한 후 측정하였을 때 측정모형의 결정계수, F 값 및 표준오차는 가장 양호하여 각각 0.939, 61.8 및 0.000272로 나타났다.

반면에, 탁주의 경우는 소주와 유사하게 시료를 전처리하지 않고 그대로 측정하였을 때 측정모형의 통계치가 가장 양호한 것으로 나타났다. 즉, 모형의 결정계수, F 값 및 표준오차는 각각 0.984, 247.8 및 0.000269로 분석되었다.

전체적으로 살펴 볼 때, 소주와 탁주는 시료를 전처리하지 않고 그대로 SPR 센싱 시스템을 이용하여 알코올 함량을 측정할 때 가장 양호한 측정모형을 얻을 수 있는

반면에 청주와 이과두주는 탄소 디스크로 시료를 여과하는 전처리를 한 후 측정할 때 가장 양호한 측정모형을 얻을 수 있었다. 이와 같이 주류의 종류에 따라 시료를 전처리하였을 때 SPR 측정에 미치는 영향은 다르게 나타난 바, 이러한 현상은 술에 함유되어 있는 고형물의 종류와 양, 알코올 용해성 물질의 종류와 양에 따라 SPR 현상에 미치는 영향이 다르기 때문에 나타나는 것으로 여겨진다.

4. 요약 및 결론

본 연구는 금속 박막의 표면에 흡착되는 분자의 종류와 양에 따라 특이적으로 나타나는 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 현상을 이용하여 주류의 알코올 함량을 신속 측정하기 위하여 시도되었다. 증류수와 에탄올의 혼합에 의해 제조된 모형 술에 대해서 SPR 센싱 시스템으로 측정된 신호를 그림으로 나타내었을 때 전형적인 SPR 곡선을 얻을 수 있었으며, 이러한 곡선은 기준선 아래의 신호에 대해서 1차 모멘트를 취하는 방법으로 기준 물질인 증류수에 대해서 상대적인 굴절률로 표시할 수 있었다. 모형 술의 에탄올 함량에 따른 굴절률은 1차 선형 모형으로 나타낼 수 있었고, 이때 모형의 결정계수는 0.998로 나타나 술의 알코올 함량을 신속하게 측정함에 있어 SPR 센싱 시스템은 매우 유용한 것으로 평가되었다.

이와 같은 시스템을 시판용 술인 소주, 청주, 이과두주, 탁주에 대해서 적용한 결과, SPR 측정치인 굴절률과

알코올 함량의 관계를 고도로 유의한 1차 선형모형으로 나타낼 수 있었고, 모형들의 결정계수는 각각 0.992, 0.933, 0.918 및 0.984로 나타나 SPR 센싱 시스템은 술 생산 현장에서 품질관리용 기기로 활용될 수 있을 것으로 판단되었다.

한편, 실제 술에는 물과 알코올 이외에 다른 성분들이 함유되어 있을 수 있어 여과에 의한 전처리 후 SPR 센싱 시스템을 적용한 결과, 소주와 탁주는 전처리 없이 측정하는 방법이 가장 양호하였으며, 청주와 이과두주는 탄소 디스크로 여과한 후 측정하는 방법이 가장 좋은 것으로 나타나 술의 종류에 따라 전처리 유무 및 종류가 결정되어야 한다는 결론을 얻었다.

참 고 문 헌

1. 조용진. 2003. 표면 플라즈몬 공명 바이오센서의 원리와 응용. 산업식품공학 7(1):54-59.
2. 조용진, 김남수. 2003. 티올화 항체고정형 SPR 바이오센서를 이용한 미생물 인식. 한국농업기계학회지 28(2):167-172.
3. 주현규, 조황연, 박충균, 조규성, 채수규, 마상조. 1995. 식품분석법. 학문사, 서울.
4. Browne, A., G. Buckee, R. Hammond and J. Nye. 1991. Development of a sturdy, portable instrument for the rapid determination of alcohol in beer. J. American Society of Brewing Chemists 49(2):74-77.
5. Fano, U. 1941. Theory of anomalous diffraction gratings and of quasi-stationary waves on metallic surfaces (Sommerfeld's waves). J. of Optical Society of America 31(3):213-222.
6. Homola, J., S. S. Yee and G. Gauglitz. 1999. Surface plasmon resonance sensors: Review. Sensors and Actuators B 54:3-15.
7. Ligler, F. S. and C. A. Rowe Taitt (eds.). 2002. Optical Biosensors: Present and Future. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
8. Pfisterer, E. A., L. C. Krynicky, M. Dadic and G. R. Fobes. 1992. In-line density and alcohol measurement: the latest trends in automated beer analysis. Fermentation 5(2):145-150.
9. Schmidt, G. and S. Risicato. 2001. Alcohol measurement by photoacoustic spectroscopy. Imbottigliamento 24(2):52-55.
10. TI. 2001. Operator's Manual: SPR-EVM-BT. Texas Instrument, Inc., USA.
11. Wood, R. W. 1902. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. Phil. Mag. 4:396-402.