

NIR을 이용한 쇠고기의 신선도 센서 개발

조성인 김유용 박두산 황규영

Development of Beef Freshness Sensor Using NIR Spectroscopy

S. I. Cho Y. Y. Kim T. S. Park K. Y. Hwang

Abstract

The purpose of this study was to develop a real-time sensor for beef freshness. Contents of biogenic amines (BA), saccharides and proteins were highly related with freshness on the beef meats. Relations of those chemical contents and NIR spectra were studied. Tyramine showed the best correlation coefficient at 1250nm. Correlation between VBN (volatile basic nitrogen) and K value, which were both freshness measurement method, was determined by the PCR (principle component regression). The correlation model had the values of $R^2=0.989$ and $SEC=1.78$, respectively. The model was validated at $R^2=0.963$ and $SEP=2.285$, respectively.

Keyword : Freshness, Sensor, VBN, K value, NIRS

1. 서론

식품은 기초 산물의 수확에서부터 가공, 저장 그리고 유통에 있어서 그 품질을 유지하고, 위생을 유지하는 것이 중요하다. 육류의 신선도와 관련된 요소들은 사후(死後) 숙성, 도축 이전의 상태, 성적 성숙도, 저장 온도 그리고 처리 및 저장 과정에서 조작과 관련된 부분 등 이다(Kim et al, 2000). 특히, 식육은 생산 단계에서부터 여러 가지 오염의 기회가 많고, 세균오염의 경우 균 성장에 필요한 거의 모든 조건을 갖추고 있어 온도만 적절하면 부패균과 병원균의 활발한 성장으로 저장성 저하 및 식중독 문제를 야기할 가능성이 상존한다(민 등, 1998). 육류에 서식하는 미생물의 일부가 직·간접적으로 생성하는 물질은 식품에 영향을 주고, 식중독과 같은 신체에 영향을 준다. 그 중에서 미생물에 의해 생성되는 아민류(BA; biogenic amines)의 위험성에 대한 연구가 진행된 바 있었으며, 혈관 질환에 작용을 하거나 정신에 영향을 미치는 연구가 진행된 바 있다(Rice et al., 1976).

식품의 신선도를 평가하고자 하는 연구가 많이 진행 중이며, 육류의 신선도 평가 방법으로는 세균성 부패를 측정하는 미생물에 의한 방법, 총 휘발성 아민, pH의 변화를 측정하는 화학적 방법, 물리적인 방법이 있다. 예로서, 총 세균의 수를 측정하거나 지방의 산패도(TBA), 단백질의 부패도(VBN; 휘발성염기질소)를 평가하여 식육의 신선도를 측정하고 있다(변준석, 2000).

미생물에 의해 생성되는 아민(BA)과 세균의 총 수를 검토한 결과 putrescine(Put), cadaverine(Cad), spermidine(Spd)은 총 균수와 매우 유의적인 상관관계를 보인다고 보고하고 있다(Daher & Simard, 1985). 또 육류, 육가공류에서 Put와 Cad, histamine, tyramine(Tyn)은 품질과 신선도에 유의적인 관계가 있다(Wortberg & Woller, 1982)고 보고하고 있어 이를 뒷받침한다. 21일 의 저장기간 동안 냉장육은 D-glucose와 L-lactate의 함량변화를 일으키며, histamine은 총 균수와 tyramine (Tyn)은 내냉성균과 매우 높은 상관관계가 있음이 입증되었다(변준석, 2000).

This study was conducted by the research fund supported by Agricultural R&D Promotion Center (ARPC). The article was submitted for publication on July, reviewed in September, and approved for publication by the editorial board of KSAM in October 2004.

The authors are Y. Y. Kim, T. S. Park and K. Y. Hwang, KSAM member, Seoul National University. The corresponding authors is S. I. Cho, KSAM member, Professor, School of Bioresources and Material Engineering Seoul National University, Seoul 151-742, Korea; Tel : +82-2-880-4606; E-mail : <sicho@snu.ac.kr>.

근육식품은 초기 미생물수가 저장기간과 신선도에 미치는 영향이 크기 때문에 미생물을 빠르고, 정확하게 검출해야 한다. 그러나 세균학적 측정 방법이나 화학적 방법은 신선도 값을 얻는데 오랜 시간이 소요되며, 조작이 복잡하고, 검시자의 숙련도에 따라 상당한 오차가 생기기 쉽고, 물리적인 방법은 정형화된 방법이 없기 때문에 실용화하기 어려운 단점이 있다.

NIR을 이용한 분석은 일반적으로 시료가 측정이 이루어지는 장비와 접촉이 일어나고 나서 바로 그 결과를 볼 수 있을 정도로 빠르고, 사용이 편리하고, 다양한 물질을 동시에 측정이 가능하며, 화학적인 방법을 사용하지 않고, 측정이 이루어지기 전에 시료에 대한 처리가 필요하지 않으며, 비파괴적인 방법이라는 장점을 갖는다(Raghavachari, 2001).

본 연구에서는 육류의 신선도를 평가할 수 있는 광학 센서를 개발하고자 한다. 근적외선 분광분석을 통해 신선도와 유의한 파장 대역을 찾고, 파장과 신선도와의 관계를 갖는 인자를 찾아내어 신선도를 측정하고자 하였다.

2: 재료 및 방법

가. 신선도 관련물질과 NIR과의 관계

근적외선 분광분석법과 앞의 여러 논문에서 언급한 신선도 관련 물질을 이용하여 신선도의 측정 가능성을 평가하기 위해 L-lactate, D-glucose, Put, Tyn, Cad 그리고 histamine의 6가지 시약을 표 1에 제시된 농도로 조제한 후 근적외선 분광분석기(NIRS 6500, USA)를 이용하여 투과도를 측정하고, 측정된 투과도 값과 물질의 농도 사이의 상관분석을 수행하였다. 이는 실험의 반복성을 위해 3회 시행되었다.

나. 휘발성염기질소(VBN)법과 K식의 상관관계 규명

우리나라에서 육류의 단백질 부패 측정의 표준방법으로 휘발성염기질소(VBN)법이 사용된다. 그러나 휘발성염기질소(VBN)법은 시험자의 숙련도에 따라 측정된 값에 많은 차이가 발생하며, 시간 소모가 많다. 따라서 측정이 편리하고 숙련도에

따라 값의 차이가 작은 K식을 이용하기 위해 56개의 시료에 대해 농촌진흥청 축산기술연구소에 의뢰하여 분석된 표준 방법인 VBN 값과 신선도 측정 kit(환경과학 Corp, Japan)로 측정된 K식 의한 값을 상관분석 하였다. 시료는 2개체의 다른 쇠고기 도체의 4부위(등심, 양지, 사태, 우둔)를 4℃ 조건에 저장 기간을 달리하면서 실험하였다.

신선도 측정 kit를 이용한 신선도 측정방법은 다음과 같다.

- ① 0.2~0.5 g의 검체 채취.
- ② 채취량 10배의 F-III 시약을 첨가.
- ③ 검체를 Homogenizer를 이용하거나 손으로 으개서 분쇄.
- ④ 분쇄한 용액을 선도시험지 F-III에 적심.
- ⑤ 선도시험지 F-III를 투명한 랩에 덮어 가볍게 눌러 실온에 10분 발색시킴.
- ⑥ 색이 발생한 선도시험지 F-III를 K-value 환산 색표로 색을 비교해 다음 식 (1)에 대입하여 신선도를 판정.

$$K_i = \frac{H_xR + H_x}{IMP + H_xR + H_x} * 100 \quad (1)$$

여기서, K_i 를 결정짓는 요소들은 다음과 같다.

H_x : hypoxanthine

H_xR : inosine

IMP : inosine 5'-monophosphate

이 물질들은 육류 및 어류의 신선도를 판정할 때, 측정되는 요소들이다.

다. NIR을 이용한 신선도 계측 센서의 개발

4 개체의 쇠고기에서 4부위의 고기를 4℃조건에서 저장기간을 표 2와 같이 달리하여 총 120개를 시료로 사용하였다. NIR을 이용한 신선도 계측센서의 구성은 그림 1과 같다. 광원으로 35W의 할로젠램프를 사용하는 Control Development사의 NIR Optical Spectrograph, PC와 인터페이스를 위한 DIO(Digital Input Output) 보드, 프루브, 프루브 홀더 그리고 데이터를 저장 및 처리하는 PC로 구성하였다. 사용된 NIR Spectrograph의 특성은 표 3에 나타내었다.

DAQ-DIO-24 PCMCIA card를 사용하여 NIR Optical

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	

Table 2 Parts of beef used as sample and storage days.

Parts of beef	Storage days
Loin	1, 3, 5, 7, 12, 14, 16 days
Shank	
Flank	
Round	

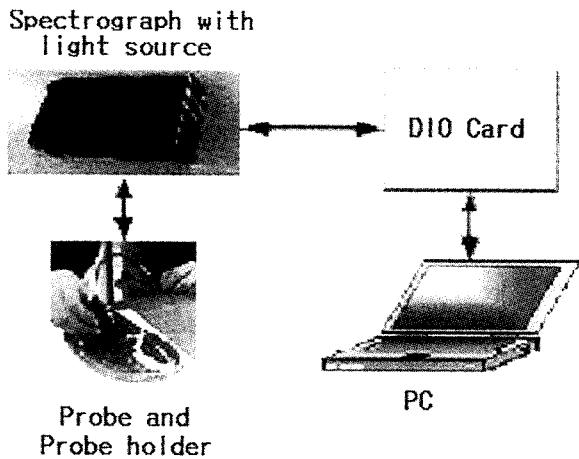


Fig. 1 Schematic diagram of freshness measurement using NIR spectrograph.

Table 3 Specification of NIR spectrograph.

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

Spectrograph Card로부터 파장별 반사도 값은 Visual C++ 6.0으로 작성된 프로그램을 이용하여 획득되었다.

일반적으로 획득된 스펙트럼 중 기초 실험을 토대로 신선도와 유의한 파장 영역인 1100~1600nm의 반사도 만이 사용되었다. 이는 NIR의 측정주파수 영역 내에서 잡음을 나타내는 주파수를 제외한 영역이며, 획득된 반사도는 Beer-Lambert 법칙에 의해 흡광도로 전환되었다.

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

예측모델의 정밀도는 결정계수(R^2)와 표준오차(SEC)로 나타내고 예측 값의 검증은 결정계수(R^2)와 표준오차(SEP)로 나타낸다. 예측모델에 의한 예측 값의 평균과 분석 값의 평균과의 차이를 bias로 표시한다.

3. 결과 및 고찰

가. 신선도 관련물질과 NIR과의 관계

농도에 따른 시약들의 NIR 파장과의 상관 분석 결과는 표

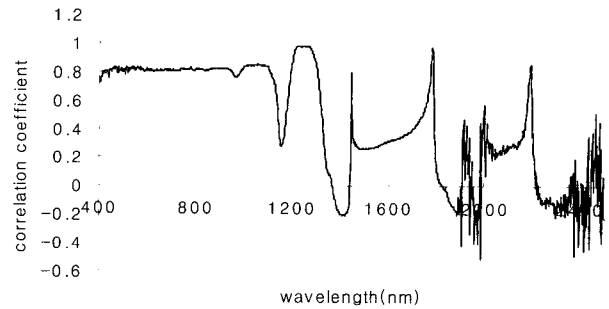


Fig. 2 Correlation coefficient graph of tyramine.

Table 4 Peak wavelength and correlation coefficients of samples.

Reagent	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

4에 나타낸 바와 같다. 대표적으로 NIR 파장과 가장 높은 상관관계를 보인 Tyramine의 상관분석 결과는 그림 2와 같이 1250nm 영역에서 1.0의 상관관계를 보였다. 이는 Yano et al.(1994)가 수행한 연구에서 명시했던 육류 신선도의 가장 좋은 지표는 tyramine임을 명시한 바와 같은 결과이다.

시료로 선택된 아민류(cadaverine, putrescine), 아미노산의 분해물질(histamine, tyramine) 그리고 당류(D-glucose)와 산(L-lactate)은 표 4에서 보는 바와 같이 각각의 다양한 파장 영역에서 매우 높은 상관관계를 보였으며 NIR을 통해서 육류에 나타나는 물질들에 대한 검출이 가능함을 보였다.

나. 휘발성염기질소(VBN)법과 K식의 상관관계 규명

최고기 부위별의 저장기간에 따른 신선도의 변화는 표 5와 같고, 휘발성염기질소(VBN)법과 K식의 관계는 그림 3에 나타난 바와 같이 매우 높은 상관관계($R^2=0.901$)를 나타냈다. 따라서 매우 유의성이 있으므로 K식을 이용할 수 있다고 판단하였다. 휘발성염기질소법(VBN)과 K식의 관계는 다음 식(2)와 같다.

$$y = 40.255 \ln(x) - 54.21 \quad (2)$$

여기서, x = VBN에 대한 값 (%)

y = K식에 관한 값 (mg%)

Table 5 VBN value by storage days on parts of beef.

Days	Loin	Shank	Flank	Round
1	4.69	4.4	5.46	6.02
3	6.61	4.06	4.94	7.05
5	8.92	7.41	7.9	8.42
7	9.25	7.74	7.88	8.47
12	13.5	14.02	10.92	13.12
14	14.43	14.87	13.94	13.69
16	16.61	16.78	16.63	15.67

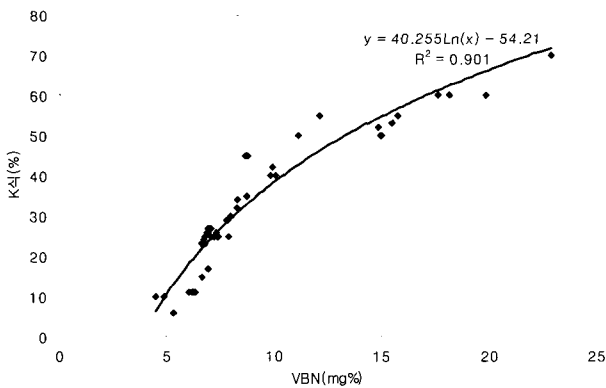


Fig. 3 Relation between VBN value and K value.

다. NIR을 이용한 신선도 계측 센서의 개발

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 파장 대역에서 가장 유의한 결과를 보였으며, 미분 혹은 2차 미분과 같은 데이터의 전 처리를 적용한 결과와 비교했을 때보다 높은 상관관계를 갖는 것으로 나타났다.

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 4와 같으며, 예측 데이터의 $R^2=0.989$, $SEC=1.78$ 이며, 검증 데이터의 $R^2=0.963$, $SEP=2.285$ 이었다. bias는 0.313723이었다. PLS 모델 보다 우수한 성능을 가진 PCR 모델을 신선도 계측 센서에 적용하였다. 이 과 같이 높은 상관관계를 나타낸 결과는 신선도와 밀접한 관계를 갖는 tyramine이 1의 상관관계를 갖는 파장영역과 PCR 분석을 수행한 파장이 일치하였기 때문이다.

그림 5는 제작된 프로그램의 실행 모습이다. 화면 왼쪽의 그래프는 사용된 파장대의 반사도를 그래프로 나타내어 기준

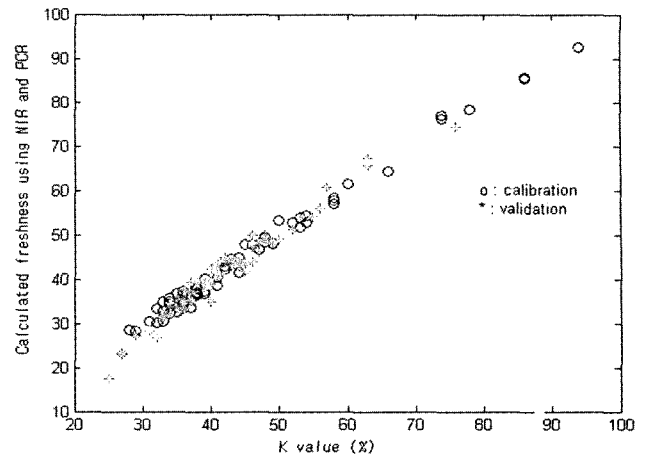


Fig. 4 Prediction of freshness using PCR.

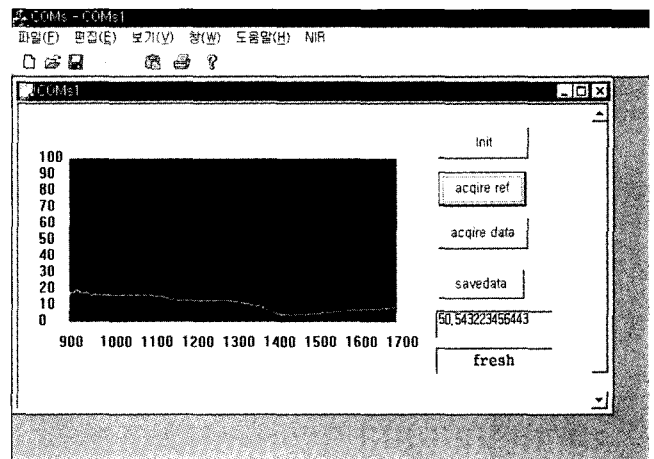


Fig. 5 Executed appearance of program for measuring and calculating freshness.

(reference)를 적용할 때, 활용한다. 알고리즘을 통하여 계산된 신선도 값을 'very fresh', 'fresh', 'spoiled'의 3단계의 수준으로 표시하였다. 이 기준은 '식품의약품 안전청의 식육제품 식품공전'에서 제시한 기준과 같이 휘발성염기질소(VBN) 값을 기준으로 10 mg%이하, 10~20 mg%, 20 mg% 이상으로 구분하고 이에 해당되는 K식의 값으로 표시하도록 하였다 (Malle and Poumeyrol, 1989).

NIR 장비와 제작된 프로그램이 운영되고 있을 때 NIR 프루브를 식육에 접촉시켜 프로그램에 출력되는 3단계의 표시를 통해 쇠고기의 신선도를 알 수 있다.

4. 요약 및 결론

기존 식육의 신선도 측정은 전문기관에서 복잡하고 세밀한 과정을 통한 세균학적, 화학적 분석방법으로 이루어졌다. 식

육에 대한 안전성을 객관적으로 신속하고, 비파괴적으로 측정할 수 있는 센서를 개발하기 위해 NIR을 이용한 신선도 측정 시스템을 구축하였고, PCR 분석법을 이용하여 신선도 측정을 위한 모델을 개발하였다. 개발된 모델의 예측 데이터는 $R^2=0.989$, $SEC=1.78$ 이며, 검증 데이터는 $R^2=0.963$, $SEP=2.285$ 이었고, bias는 0.313723이었다.

REFERENCES

1. Byun, J. S. 2000. Determination of Physicochemical Freshness Indices in Fresh meat. Seoul national Uni. master's thesis.
2. Daher, N. S. and Simard. R. E. 1985. Putrefactive amine changes in relation to microbial counts of ground beef during storage. J. Food Prot. 48. 54-8.
3. Kim, D.K., I.S. Park and N. Kim. 1998. Determination of Chemical Freshness Indices for Chilled and Frozen Fish. Korean Journal of Food Science Technology. Vol.30. No.5, 993-999.
4. Malle, P. and Poumeyrol, M. 1989. A new chemical criterion for the quality control of fish. Trimethylamine/total volatile basic nitrogen. J. Food Protect, 52(6), 419-42.
5. Min, J.S., J.I. Lee, D.K. Shin, S.O. Lee, J.S. Byun, S.N. Kang, I.S. Kim and M. Lee. 1998. Studies on the Safety Assessment Technology of Pork and Beef. Korean Journal of Animal Science. 40(4), 421-430.
6. Park, I.S., Y.J. Cho and N. Kim. 2000. Characterization and meat freshness application of a serial three-enzyme reactor system measuring ATP- degradative compounds. Analytica Chimica Acta. 404. 75-81.
7. Raghavachari, R. 2001. Near-Infrared Applications in Biotechnology. Marcel Dekker, Inc. New York. USA.
8. Rice, S.L., R.R. Eitenmiller and P.E. Koehler. 1976. Biologically active amines in food: a review. J. Milk Food Technol. 39. 353-358.
9. Wortberg, B. and R. Woller. 1982. Zer Qualitat and Frishe von Fleisch und Fleischwaren im Hinbrick auf ihren Gehalt an Biogenen Aminen. Fleischwirtsch., 62, 1457-63.
10. Yano, Y., N. Kataho, M. Watanabe and T. Nakamura. 1994. Changes in the concentration of biogenic amines and application of tyramine sensor during storate of beef. Food Chemistry. 54. 155-159.