

## 미량화산법에 의한 휘발성염기질소 분석에서 PC카메라를 이용한 자동적정 - 연구노트 -

이 형 춘

서원대학교 식품영양학과

### Automatic Titration Using PC Camera in Volatile Basic Nitrogen Analysis by Microdiffusion Method

Hyeong-Choon Lee

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

#### Abstract

A PC-based automatic system was developed for automatic titration in volatile basic nitrogen analysis by the microdiffusion method. The system used a CCD-type PC camera for the automatic detection of the titration end point. The camera checked whether the green value of a pixel on the red image of titrated solution became greater than the red value. The data from the automatic titration using the system were not significantly different ( $p>0.05$ ) from those taken by manual titration. The agreement between means of data from manual titration and those from automatic titration was good.

**Key words:** VBN, microdiffusion method, PC camera, automatic titration

#### 서 론

식육류와 어패류 등의 부패도를 판정하는 방법의 일환으로 휘발성 염기질소를 측정하는데(1), 그 측정방법은 Conway unit을 이용한 미량화산법으로 규정되어 있으며(2,3), 일반적으로 사용되고 있다(4,5).

미량화산법은 중화적정법이지만 반응액량이 미량이므로 자동적정에 흔히 사용되는 pH전극을 이용한 전위차적정법(6)으로 자동화할 수가 없기 때문에 자동적정방법이 연구되어 있지 않다. 그러나, 적정종말점에서 지시약의 색이 짙은 포도적색에서 짙은 녹색으로 선명하게 변화하므로 PC카메라를 사용하여 적정종말점에서의 색변화를 추적함으로써 적정종말점을 자동검출함과 동시에 적정액의 공급을 자동 제어하면 간단하게 자동적정할 수가 있다고 생각되었다. 현재 보급된 PC카메라는 이미지 센서의 구조에 따라 CMOS카메라와 CCD카메라로 나눌 수 있는데 예비실험결과 CCD카메라가 사용가능하였다.

따라서 본 연구에서는 미량화산법에 의한 휘발성염기질소 분석의 적정을 자동화하기 위하여 PC카메라를 이용한 자동적정 시스템을 구성하고, 자동적정 프로그램을 작성하였으며, 이 시스템으로 자동적정을 수행하여 자동적정의 가능성을 알아 보았다.

#### 재료 및 방법

##### 자동적정시스템

실험에 사용한 자동적정시스템을 Fig. 1에 나타내었다. 그림에서와 같이 PC카메라(LPC-U30, LG, Korea), PC(M2700, Samsung, Korea), D/A변환기(PCL812PG, Advantech, Taiwan), tubing pump(SMP-23S, Eylea, Japan), PTFE tub-

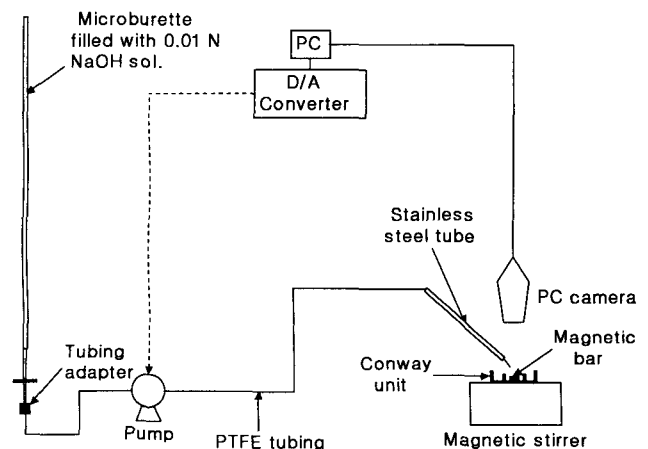


Fig. 1. Schematic diagram of PC camera system for the automatic titration of volatile basic nitrogen.

ing(내경 0.8 mm), tubing adapter(Upchurch scientific, USA), stainless steel tube(내경 2 mm), 미량확산기(Sibata, Japan), microburette(Iwaki Glass, Japan), magnetic stirrer(ECM5, GmbH, Germany) 및 magnetic bar(길이 15 mm, 직경 3 mm)를 사용하여 구성하였다. 이 중 PC카메라는 이미지 센서의 타입이 CCD타입이고, 센서크기는 1/3인치이며, 화소수는 27만화소였다. Microburette의 최소눈금은 0.01 mL이었다. PC카메라는 미량확산기로부터 10 cm 높이에 설치하였으며, 미량확산기 바로 위 수평면의 조도는 200 Lux ~ 300 Lux였다. 적정의 정밀도를 높이기 위하여 PTFE 튜빙의 끝을 비스듬히 절단하여 적정액 한방울의 크기가 약 0.01 mL가 되도록 하였다.

**자동적정 프로그램**

자동적정 프로그램을 Microsoft Visual Basic 6.0으로 작성하였으며, 그 흐름도를 Fig. 2에 나타내었다. 그림에서와 같이 먼저 mouse pointer가 지정하는 pixel의 Green값과 Red값을 읽어들이고 그 차이를 계산한 후 차이가 -10보다 작을 경우 적정액의 유량을 0.27 mL/min으로 유지하면서 계속 공급하며 -10보다 크거나 같고 10보다 작거나 같을 경우에는 적정 종말점에 거의 도달한 것이므로 적정액의 유량을 0.12 mL/min으로 낮추어 공급하다가 차이가 10보다 더 커질 경우 적정액 공급용 tubing pump를 정지시키고 프로그램을 종결시키는 것으로 하였다.

**분석방법**

시약제조, 돈육시료 시험용액의 조제 및 확산방법 등은 식품공전(2)에 의하였다.

자동적정에서는 먼저 미량확산기 내실의 황산용액에 지시약을 첨가하여 피적정액인 황산용액을 적색으로 변화시키고 magnetic stirrer로 황산용액을 충분히 교반하였다. 다음으로 적색인 내실이 확산 중심부에 오도록 하고 내실에서 가

장 길은 적색을 띠는 부분에 mouse pointer가 위치하도록 한 후 자동적정 프로그램을 실행하였다. 수동적정에서는 다른 실험조건은 자동적정과 동일하게 하고 tubing pump를 수동으로 조작하면서 적정 종말점을 육안으로 검출하였다.

먼저 확산 등 적정외의 다른 과정에서 유발할 수 있는 오차를 배제한 상태에서 수동적정과 자동적정을 서로 비교하기 위하여 몇가지 농도의 황산 용액을 피적정액으로 하여 실험을 실시하였다. 즉, Conway unit의 내실에 0.001, 0.0025, 0.005, 0.0075 및 0.01 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>용액 1 mL씩을 각각 넣고 지시약을 첨가하여 적색으로 만든 후 0.01 N NaOH용액으로 수동적정과 자동적정을 실시하여 비교하였다.

다음으로 실제 시료에 대한 실험을 실시하였다. 시료는 시판 돈육을 사용하였으며, 실온에 적당한 시간을 방치함으로써 부패도가 서로 다른 5가지의 시료를 만들어 사용하였다. 역시 수동적정과 자동적정을 실시하여 비교하였다.

**통계처리**

평균과 표준편차로 나타낸 수동적정과 자동적정의 실험 결과에 대하여 t-test를 실시하여 두가지 방법간에 유의차가 있는지를 검정하였으며, 수동적정과 자동적정의 평균들에 대하여 상관분석과  $\chi^2$ -test를 실시하여 관련성을 알아보았다. t-test와 상관분석은 Microsoft Excel 5.0에 의하였으며,  $\chi^2$ -test는 Sokal과 Rohlf(7)에 의하였다.

**결과 및 고찰**

먼저 몇가지 농도의 황산 용액을 피적정액으로 하여 수동적정과 자동적정을 수행한 후 적정액 소요량으로서 나타낸 결과는 Table 1과 같다. 즉, 0.001 N 황산용액 1 mL을 피적정액으로 사용한 경우 적정액인 0.01 N NaOH 적정소요량이 수동적정에서는 0.102±0.0019 mL이었고 자동적정에서는 0.103±0.0015 mL이었으며, 0.0025 N의 경우 각각 0.240±0.00180 mL와 0.240±0.0028 mL, 0.005 N의 경우 각각 0.501±0.0047 mL와 0.505±0.0058 mL, 0.0075 N의 경우 각각 0.746±0.0035 mL와 0.745±0.0040 mL, 0.01 N의 경우 각각 1.001±0.0093 mL와 1.006±0.0038 mL이었다. 이 실험자료에 대하여 t-test를 수행한 결과 황산용액의 모든 농도에서 수동

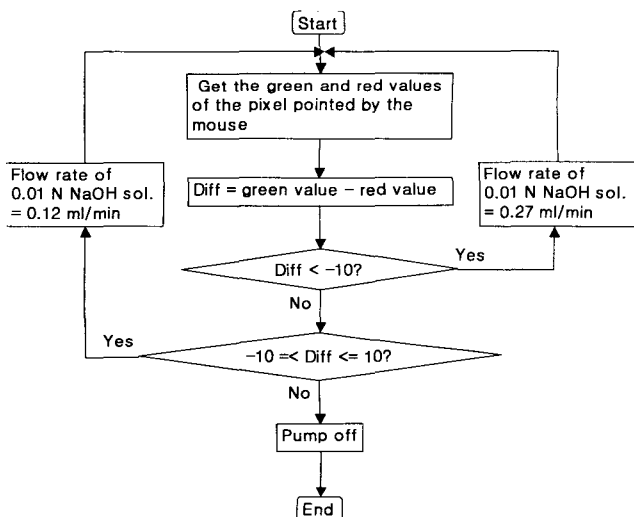


Fig. 2. Flowchart for the automatic titration.

Table 1. The amount of 0.01 N NaOH added into the inner well of Conway unit containing different concentrations of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in manual and automatic titration

Conc. of H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> sol.	Manual titration	Automatic titration	Significance
0.0010 N	0.102±0.0019 <sup>1)</sup>	0.103±0.0015	NS <sup>2)</sup>
0.0025 N	0.240±0.0018	0.240±0.0028	NS
0.0050 N	0.501±0.0047	0.505±0.0058	NS
0.0075 N	0.746±0.0035	0.745±0.0040	NS
0.0100 N	1.001±0.0093	1.006±0.0038	NS

<sup>1)</sup>Mean ± standard deviation for 5 replicates.

<sup>2)</sup>Not significantly different at  $\alpha=0.05$  level.

적정과 자동적정 사이에 유의차를 보이지 않았다( $p>0.05$ ). 다음으로 수동적정 평균들과 자동적정 평균들에 대하여 상관분석과  $\chi^2$ -test를 수행하였다. 그 결과 상관계수가 1.0000으로 상호간에 아주 높은 상관성이 인정되었으며,  $\chi^2$  치는  $6.81 \times 10^{-5}$ 로 아주 낮아( $p>0.999$ ) 자동적정의 결과가 수동적정의 결과와 잘 일치하였다. 따라서, 시료의 부패정도에 관계없이 모든 시료에 대하여 본 실험의 자동적정방법을 사용할 수 있다고 생각되었다.

다음으로 실제 돈육시료에 대하여 재확인하는 실험을 수행하였다. 즉, 부패도가 서로 다른 돈육시료 5가지에 대하여 미량확산법을 완전히 적용하여 수동적정과 자동적정을 수행하고 적정액인 0.01 N NaOH 소요량으로서 나타낸 결과는 Table 2와 같다. 즉, 제1시료의 경우 적정소요량이 수동적정에서는  $0.908 \pm 0.0070$  mL이었고 자동적정에서는  $0.919 \pm 0.0132$  mL이었으며, 제2시료의 경우 각각  $0.751 \pm 0.0034$  mL와  $0.753 \pm 0.0013$  mL, 제3시료의 경우 각각  $0.737 \pm 0.0029$  mL와  $0.739 \pm 0.0018$  mL, 제4시료의 경우 각각  $0.421 \pm 0.0026$  mL와  $0.417 \pm 0.0083$  mL이었으며, 제5시료의 경우에는 각각  $0.307 \pm 0.0042$  mL와  $0.312 \pm 0.0031$  mL이었다. 이 실험자료에 대하여 t-test를 수행한 결과 5개 시료 모두에서 수동적정과 자동적정 사이에 유의차를 보이지 않았다( $p>0.05$ ). 다음으로 5개 돈육시료의 수동적정 평균들과 자동적정 평균들에 대하여 상관분석과  $\chi^2$ -test를 수행하였다. 그 결과 상관계수가 1.000이고  $\chi^2$  치는  $2.63 \times 10^{-4}$ 으로 황산용액을 피적정액으로 사용한 경우에 비해서는 약간 열등하였으나, 역시 아주 높은 상관성이 인정되었으며, 자동적정의 결과가 수동적정의 결과와 잘 일치하였다.

이상의 결과로 본 실험의 자동적정방법이 수동적정을 대

체할 수 있다고 생각되었으며, 더 실험을 수행하여 하드웨어 및 소프트웨어적으로 개선할 경우 더 좋은 결과를 얻을 수 있다고 본다. 하드웨어적인 개선은 색분해능이 더 큰 PC 카메라를 사용하는 것이며, 소프트웨어적인 개선은 Green값과 Red값의 차이를 여러 가지로 변화시켜 가면서 실험하여 얻은 최적치를 이용하여 제어하는 것이다.

본 실험의 자동적정방법은 휘발성염기질소의 적정뿐만 아니라 색변화에 의해 적정종말점을 검출하는 다른 적정에도 약간의 변형을 통해 적용가능하리라고 생각된다.

## 요 약

미량확산법에 의한 휘발성염기질소 분석에서 PC카메라를 이용하여 자동적정하기 위하여 자동적정시스템을 구성하였으며, 자동적정프로그램을 작성하였다. 자동적정방법은 피적정액 화상 중 마우스 포인터에 의하여 지정된 화소의 Green값과 Red값이 적정종말점에서 서로 반전되는 것을 이용하였다. 돈육시료를 사용하여 실험한 결과 부패도가 다른 모든 시료에서 자동적정과 수동적정간에 유의차가 인정되지 않았으며, 서로간에 높은 상관성이 있었고 잘 일치하였다.

## 문 헌

1. Pharmaceutical Society of Japan. 1995. *Standard methods of analysis for hygienic chemists -with commentary-*. Kanehara Shuppan Kabusiki Kaisya, Tokyo. p 284.
2. KFIA. 1999. *Food Codex*. Korea Foods Industry Association, Seoul. p 202-203.
3. National Fisheries Products Quality Inspection Service. 1997. *Fisheries Products Inspection Regulation*. p 165-188.
4. Ko MS, Yang JB. 2001. Effects of wrap and vacuum packaging on shelf life of chilled pork. *Korean J Food & Nutr* 14: 255-262.
5. Ha JH, Kim PH, Heu MS, Cho ML, Sim HD, Kim JS, Kim IS. 2001. Comparison of regional variation in food component of top shell *Omphalius pfeifferi capenteri*. *J Korean Fish Soc* 34: 384-388.
6. Cho JH, Jin KC, You BH, Koo SM, Kim MN, Lee JH, Lee HL. 1994. Design of an automatic titration system for caustic soda treatment system using the equivalent point estimation algorithm. *Korean Sen Soc* 3: 28-35.
7. Sokal RR, Rholf FJ. 1981. *Biometry*. 2nd ed. W. H. Freeman and Company, New York.

Table 2. The amount of 0.01 N NaOH added to analyze the volatile basic nitrogen of pork samples in manual and automatic titration

Sample No.	Manual titration	Automatic titration	Significance
1	$0.908 \pm 0.0070$ <sup>1)</sup>	$0.919 \pm 0.0132$	NS <sup>2)</sup>
2	$0.751 \pm 0.0034$	$0.753 \pm 0.0013$	NS
3	$0.737 \pm 0.0029$	$0.739 \pm 0.0018$	NS
4	$0.421 \pm 0.0026$	$0.417 \pm 0.0083$	NS
5	$0.307 \pm 0.0042$	$0.312 \pm 0.0031$	NS

<sup>1)</sup>Mean  $\pm$  standard deviation for 4 replicates.

<sup>2)</sup>Not significantly different at  $\alpha=0.05$  level.

(2004년 10월 25일 접수; 2004년 12월 30일 채택)