

마이크로 pH 전극을 이용한 휘발성염기질소의 자동적정 - 연구노트 -

이 형 춘

서원대학교 식품영양학과

Automatic Titration Using Micro pH Electrode in Volatile Basic Nitrogen Analysis

Hyeong-Choon Lee

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

Abstract

An automatic titration was performed by a home-made automatic control system adopting a micro pH electrode as its sensing part in microdiffusion-based volatile basic nitrogen (VBN) analysis. The micro electrode was considered to be adequate for automatic VBN analysis because of its small sensor size, low immersion depth and unbreakable body. Six pork samples in different degree of freshness were analyzed both manually and automatically. The data from automatic titration were not significantly different from those taken by manual titration even at 15% significance level. The correlation coefficient was 1.000.

Key words: automatic titration, micro pH electrode, volatile basic nitrogen

서 론

휘발성 염기질소의 측정은 돼지고기(1-6), 소고기(7), 닭고기(8)와 같은 식육류와 어패류(9-11) 등의 부패한 정도를 알아보기 위하여 사용되며, 대부분의 실험에서 측정방법으로 Conway unit을 이용한 미량확산법(12)을 이용하고 있다. 미량확산법은 시료중의 휘발성염기질소에 의하여 소모되고 남은 산성용액(피적정액)과 알칼리용액(적정액) 사이의 중화반응을 이용하는 중화적정법이다. 근년, 휘발성염기질소 측정의 효율성을 개선하기 위하여 자동화를 시도한 연구로는 FIA(flow injection analysis)장치에 의한 연구(13)와 PC 카메라를 이용한 연구(14)가 있다. 이들 휘발성염기질소의 자동화 방법들 중 FIA법의 주요한 특징은 확산 및 적정과정 이 없어지므로 시험 조작이 많이 단순해지고 측정시간이 많이 단축되는 반면 장치구성에 비용이 많이 들어간다. PC카메라의 경우는 미량확산법을 그대로 유지하면서 적정만 자동화하는 것이므로 측정시간의 단축은 크지 않으나, 경제적으로 장치를 구성할 수 있다. 한편, 휘발성염기질소 측정 중 미량확산법은 중화적정법이므로 pH전극을 이용할 경우 상당히 편리성과 정확성을 유지할 수 있다. 그러나 Conway unit 내실의 반응액량이 1~2 mL 정도의 미량이므로 일반적인 pH전극을 사용할 수 없다. 하지만 현재 실용화되어 있는 마이크로 pH전극을 이용하면 미량의 반응액에 담그어 적정

을 자동화할 수 있으리라 생각된다. 마이크로 pH전극 중 유리재질인 것은 반응액의 혼합을 위하여 사용하는 magnetic bar에 의하여 파손될 우려가 있으므로 비유리재질의 마이크로 pH전극을 사용하여야 한다. 이러한 관점에서 센서가 고체소자(solid state sensor)이고 센서가 부착된 관부분(tube)의 재질이 불소수지(fluoropolymer)로 이루어져 있는 비유리재질의 마이크로 pH전극으로 하는 경우, 10 µL 정도로 작은 시료의 pH를 측정할 수 있으며 전극끝 부분이 시료에 1 mm정도만 담그어져도 측정이 가능하다는 장점이 있을 뿐만 아니라 실험과정에서 파손될 우려가 없다는 장점이 있어 실용화가 가능하리라 판단된다.

본 연구에서는 미량확산법에 의한 휘발성염기질소 분석에서 비유리소재로 구성되어 있는 마이크로 pH전극을 이용한 자동적정시스템을 구성하고 자동적정 프로그램을 작성하였으며, 이 시스템으로 자동적정을 수행하여 얻은 결과와 수동적정 결과를 서로 비교하여 마이크로 pH전극을 이용한 자동적정의 가능성에 대하여 살펴보았다.

재료 및 방법

자동적정시스템

실험에 사용한 자동적정시스템은 Fig. 1과 같다. 마이크로 pH전극(Lazar, PHR-146B), 신호증폭기(MR-ISO, 미래 E&I),

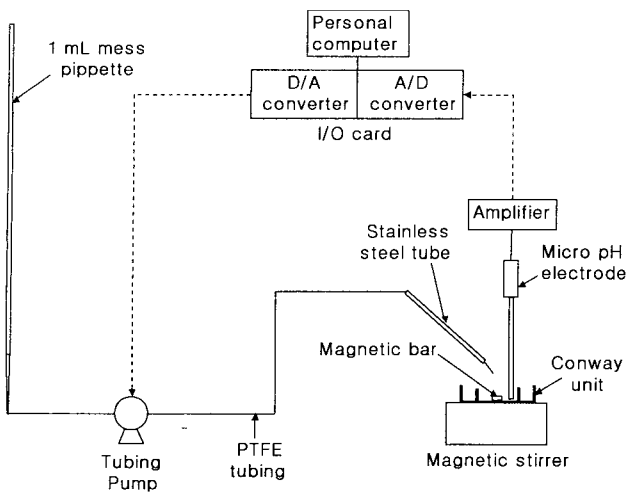


Fig. 1. Schematic diagram of a micro pH electrode-based automatic titration system for the volatile basic nitrogen analysis of pork samples.

A/D변환기와 D/A변환기가 포함된 I/O card(PCL812PG, Advantech), PC(M2700, 삼성전자), tubing pump(SMP-23S, Eyela), PTFE tubing(내경 0.5 mm), stainless steel tube(내경 2 mm), 미량확산기(Sibata), mess pippette(용량 1 mL, 최소눈금 0.01 mL), magnetic stirrer(ECM5, GmbH) 및 magnetic bar(길이 16 mm, 직경 2 mm)를 사용하여 구성하였다.

마이크로 pH전극의 신호를 신호증폭기로 16.7배 증폭하여 I/O card에 입력하였다. 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 흐름도는 Fig. 2와 같다. 먼저 피적정액(0.01 N H₂SO₄)에 대한 전압치를 읽어 들여서 그 값이 7.8 V보다

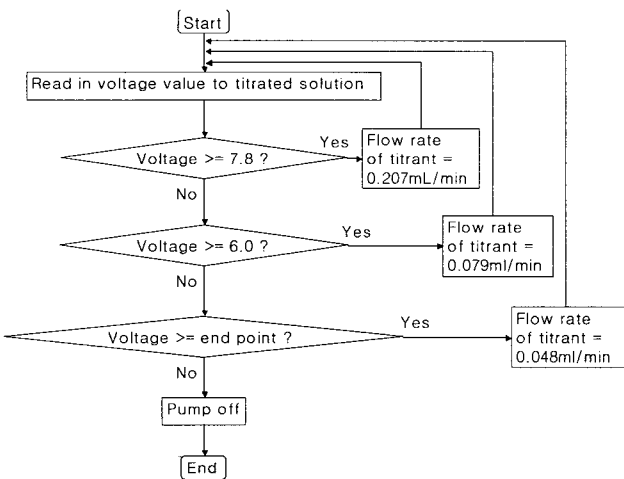


Fig. 2. Flowchart for automatic titration program.

크거나 같을 경우에는 적정액(0.01 N NaOH)의 유량을 0.207 mL/min로 설정하였고, 7.8 V보다 작고 6.0 V보다 크거나 같을 경우에는 유량을 0.079 mL/min로 설정하였으며, 6.0 V보다 작고 종말점에 대한 교정전압치보다 크거나 같을 경우에는 유량을 0.048 mL/min로 설정하였고, 종말점에 대한 교정전압치보다도 작아질 경우에는 적정액의 공급을 중지하는 것으로 하였다. 종말점에 대한 교정전압치는 0.005 N H₂SO₄용액 1 mL를 피적정액으로 하여 수동으로 적정하는 중지시점이 변색될 때의 전압치를 측정하여 구하였다. 종말점에 대한 교정전압치는 한번 교정함으로써 최소 2일 이상 오차 없는 적정이 이루어졌으나, 실험의 정확도를 높이기 위하여 매일 시료를 분석하기 전에 한번씩 교정하였다. 종말점에 대한 교정전압치는 4.62 V~5.01 V로 얻어졌다.

분석방법

시료는 시판 돈육을 사용하였으며, 실온에 적당한 시간 방치함으로써 부패도가 서로 다른 6가지의 시료를 만들어 사용하였다. 시약제조, 돈육시료 시험용액의 조제 및 확산방법 등은 식품공전(13)에 의하였다.

통계처리

평균과 표준편차로 나타낸 수동적정과 자동적정의 실험 결과 각각에 대하여 t-test를 실시하여 두가지 방법 간에 유의차가 있는지를 검정하였으며, 수동적정과 자동적정의 평균들에 대하여 상관분석을 실시하여 관련성을 알아보았는데 분석도구로는 Microsoft Excel 5.0을 사용하였다.

결과 및 고찰

부패도가 서로 다른 돈육시료 6가지에 대하여 미량확산법으로 수동적정과 자동적정을 수행하고 적정액인 0.01 N NaOH 소요량으로서 나타낸 결과는 Table 1과 같다. 수동적정과 자동적정의 적정소요량은 제1시료의 경우 각각 0.893 ± 0.0043 mL 및 0.894 ± 0.0059 mL이었고, 제2시료의 경우 각각 0.750 ± 0.0015 mL와 0.748 ± 0.0043 mL, 제3시료의 경우 각각 0.697 ± 0.0098 mL와 0.689 ± 0.0064 mL, 제4시료의 경우 각각 0.385 ± 0.0059 mL와 0.387 ± 0.0067 mL, 제5시료의 경우 각각 0.279 ± 0.0050 mL와 0.278 ± 0.0084 mL이었고, 제6시료의 경우에는 각각 0.134 ± 0.0025 mL와 0.278 ± 0.0084 mL이었다. 이 데이터들에 대하여 t-test를 수행한 결과 제1시료의 경우 유의확률이 0.86(t=0.18)이었으며, 제2시료의 경우 0.21(t=-1.36), 제3시료의 경우 0.15(t=-1.57), 제4시료의 경우 0.60(t=0.55), 제5시료의 경우 0.86(t=-0.18), 제6시료의 경우 0.35(t=1.00)로서 가장 낮은 값이 0.15이었다. 즉, 유의수준 5%에서 수동적정과 자동적정의 평균치들 사이에 유의차가 인정되지 않았으며, 유의수준을 15%로 설정하더라도 유의차가 인정되지 않았다. 다음으로 5개 돈육시료의

Table 1. 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	0.893±0.0043 ¹⁾	0.894±0.0059	NS ²⁾
2	0.750±0.0015	0.748±0.0043	NS
3	0.697±0.0098	0.689±0.0064	NS
4	0.385±0.0059	0.387±0.0067	NS
5	0.279±0.0050	0.278±0.0084	NS
6	0.134±0.0025	0.136±0.0032	NS

¹⁾Mean±standard deviation for 5 replicates.

²⁾Not significantly different at $\alpha=0.05$ level.

수동적정 평균들과 자동적정 평균들에 대하여 상관분석을 수행하였다. 그 결과 상관계수가 0.99993으로 얻어져서 상호 간에 높은 상관성이 인정되었다. 이상의 결과로 본 실험의 자동적정방법이 수동적정을 대체할 수 있다고 생각되었다.

요 약

미량확산법에 의한 휘발성염기질소 분석에서 고체소자센서가 부착된 마이크로 pH 전극을 사용하여 적정과정을 자동화하기 위하여 자동적정시스템을 구성하고 자동적정 프로그램을 작성하였다. 자동적정시스템으로 돈육시료의 휘발성염기질소 분석을 수행한 결과 부패도가 서로 다른 모든 시료에서 자동적정과 수동적정의 평균들 간에 유의수준 15%에서도 유의차가 인정되지 않았으며, 두방법의 평균치들 사이에 높은 상관성이 확인되었다.

문 헌

- Kim IS, Jin SK, Song YM, Hah KH, Kim HY, Nam KY, Lyou HJ, Ha JH. 2004. The quality properties of pork meat by feeding mugwort powder during chilling storage. *Korean J Intl Agric* 16: 319-324.
- Jin SK, Kim IS, Hur SJ, Lyou HJ, Hah KH, Joo ST, Lee JI. 2004. Physico-chemical changes of pork prepared by Korean traditional sauces during chilled aging. *J Anim Sci & Technol (Kor)* 46: 859-870.
- Jin SK, Kim CW, Lee SW, Song YM, Kim IS, Park SK, Hah KH, Bae DS. 2004. Quality characteristics of fermented pork with Korean traditional seasonings. *J Anim Sci & Technol (Kor)* 46: 217-226.
- Lee JR, Jung JD, Lee JI, Song YM, Jin SK, Kim IS, Kim HY, Lee JH. 2003. The effects of emulsion-type sausages containing mulberry leaf and persimmon leaf powder on lipid oxidation, nitrite, VBN and fatty acid composition. *Korean J Food Sci Ani Resour* 23: 1-8.
- Jin SK, Kim IS, Song YM, Hah KH. 2003. Effects of dietary oils and tocopherol supplementation on fatty acid, amino acid, TBARS, VBN and sensory characteristics of pork meat. *J Anim Sci & Technol (Kor)* 45: 297-308.
- Jin SK, Kim IS, Song YM, Hah KH. 2002. Effects of feeding tocopherol on the shelf-life and sensory characteristics of pork. *Korean J Intl Agric* 14: 241-251.
- Choi SI, Kim YY, Park TS, Hwang KY. 2004. Development of beef freshness sensor using NIR spectroscopy. *J Biosystems Eng* 29: 539-543.
- Park CI, Kim YJ. 2004. Effect of mugwort and fish oil addition on the meat quality of chicken. *Korean J Food Sci Ani Resour* 24: 225-231.
- Han JS, Cho HR, Cho HS. 2005. Study for the establishment of the quality index of low-salted *Myungran-jeot*. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 440-446.
- Song HN, Lee DG, Han SW, Yoon HK, Hwang IK. 2005. Quality changes of salted and semi-dried mackerel fillets by UV treatment during refrigerated storage. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 662-668.
- Kim JH, Lee HJ, Kim TJ, Yoo HD, Kim PH, Park JH. 2002. Effect of *Cochlodinium polykrikoides* Bloom on the quality changes of fish during storage in seawater. *J Food Hyg Safety* 17: 193-200.
- KFIA. 1999. *Food Codex*. Korea Foods Industry Association, Seoul. p 202-203.
- Lee HC. 2000. Automatic analysis of volatile basic nitrogen of pork with an on-line flow injection analysis system. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 965-967.
- Lee HC. 2005. Automatic titration using PC camera in volatile basic nitrogen analysis by microdiffusion method. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 135-137.

(2006년 1월 25일 접수; 2006년 3월 31일 채택)