

육류 신선도 판별을 위한 휴대용 전자코 시스템 설계 및 성능 평가 II

— 돈육의 미생물 총균수 예측을 통한 전자코 시스템 성능 검증

김재곤¹ · 조병관^{1*}

¹충남대학교 농업생명과학대학 바이오시스템기계공학전공

Design and performance evaluation of portable electronic nose systems for freshness evaluation of meats II - Performance analysis of electronic nose systems by prediction of total bacteria count of pork meats

Jae-Gone Kim¹, Byoung-Kwan Cho^{1*}

¹Department of Biosystems Machinery Engineering, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Received on 18 November 2011, revised on 29 November 2011, accepted on 18 December 2011

Abstract : The objective of this study was to predict total bacteria count of pork meats by using the portable electronic nose systems developed throughout two stages of the prototypes. Total bacteria counts were measured for pork meats stored at 4°C for 21 days and compared with the signals of the electronic nose systems. PLS(Partial least square), PCR (Principal component regression), MLR (Multiple linear regression) models were developed for the prediction of total bacteria count of pork meats. The coefficient of determination (R_p^2) and root mean square error of prediction (RMSEP) for the models were 0.789 and 0.784 log CFU/g with the 1st system for the pork loin, 0.796 and 0.597 log CFU/g with the 2nd system for the pork belly, and 0.661 and 0.576 log CFU/g with the 2nd system for the pork loin respectively. The results show that the developed electronic system has potential to predict total bacteria count of pork meats.

Key words : Electronic nose, Total bacteria count, Meat quality, Multivariate analysis, Portable sensor

I. 서론

국내 육류 소비량의 증가와 함께 안전한 육류에 대한 소비자들의 요구가 지속적으로 증가하고 있다. 하지만 소비자들이 현장에서 육류의 변패 여부를 판단하기 위해서는 판매 되고 있는 육류의 육색과 향기, 명시된 유통기한 등에 의존 할 수밖에 없는 실정이다(Lee 등, 2010). 이러한 방법은 주관적인 판단에 영향을 많이 받으며 특히 유통기한을 통한 판단은 저장 및 유통시의 미흡한 관리에 의한 품질저하나 육류를 냉동 및 해동을 반복하며 보관한 경우에는 평가의 기준으로 활용될 수 없다. 육류의 신선도를 판별하는 방법은 물리적 방법, 화학적 방법, 미생물학적 방법 등이 있다(Byun, 2000). 물리적 방법에는 육류의 육색, 보수력

등을 측정하여 신선도를 평가하는 방법이 있고 화학적 방법은 돈육의 pH, VBN(Volatile basic nitrogen), TBARS (Thiobarbituric acid reactive substance) 측정 등이 있다. 미생물학적 방법으로는 육류의 섭취 안전성과 직접적으로 관련이 되는 육류의 미생물 총균수를 측정 하는 방법이 있다. 본 연구에서는 돈육의 미생물학적 측정 방법인 미생물 총균수 예측을 위해 개발된 전자코 시스템을 사용하고 시스템의 성능을 검증하고자 하였다.

육류의 경우 미생물수는 도살, 냉각, 가공, 포장 및 저장 조건과 육가공장의 위생 상태에 따라 달라진다. Lee 등 (2011)은 레드와인을 첨가한 돈육의 저장 중 품질 변화 계측을 위해서 총균수를 활용 하였으며, Choi 등(2002)은 간장과 고추장 양념 돈육의 냉장 중 품질 변화와 저장 수명을 측정 하기위해 미생물 총균수, 유산균, Pseudomonas균 등을 측정하여 분석하였다. 이처럼 육류의 미생물 총균수 측

*Corresponding author: Tel: +82-42-821-6715

E-mail address: chobk@cnu.ac.kr

정은 육류의 신선도와 품질에 중요한 인자로 활용되고 있다.

본 연구에서는 2단계에 걸쳐 개발된 전자코 시스템을 이용하여 돈육의 미생물 총균수를 예측 할 수 있는 모델을 개발 하고자 하였다. 예측 모델 개발에는 MLR(Multiple linear Regression), PCR(Principal component regression), PLS(Partial least square) 방법을 이용하였으며, 예측 모델의 정확도를 판별하기 위해 가식권과 비가식권의 시료를 구분하여 정확도 판별 분석을 실시하므로써 단계적으로 개발된 시스템의 성능을 비교 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료

본 연구에서는 개발된 전자코 시스템을 이용하여 돈육 미생물 총균수를 예측하기 위해 돈육 등심부와 삼겹살 부위를 이용하여 실험하였다. 실험은 총 2년간에 걸쳐 실시하였는데 2009년에는 서로 다른 육돈 8마리에서 추출한 등심을 이용하였으며, 2010년에는 서로 다른 육돈 10마리에서 추출한 등심 및 삼겹살을 이용하였다. 시료는 대전 축산물 유통센터에서 당일 도축한 돈육을 구입하여 사용하였다. 저장기간은 1일에서 21일까지였으며, 2일 또는 3일 간격으로 측정을 실시하였다. 시료 준비는 등심과 삼겹살 부위의 지방과 살코기의 분포를 균일하게 하기 위하여 시료를 믹서로 잘게 분쇄하여 분리한 다음 사용 하였다. 균질화시킨 시료는 정해진 기간동안 지퍼백에 넣어 4°C로 목표기간동안 시료를 저장한 후 차레대로 냉동하였다가 측정 당일 4°C에서 2시간 해동하여 사용하였다.

2. 미생물 총균수 측정

돈육에 존재하는 미생물 총균수의 측정은 식품공전의 측정 방법을 이용하였다(KDFA, 2007). 멸균봉투에 균질화된 시료 5 g과 autoclaved 0.85% NaCl 45 mL를 넣고 3분간 손으로 주물러준 후 200 rpm의 shaking incubator에서 30분 동안 균질화하였다. 균질화된 시료 1 mL와 0.85% NaCl 용액 9 mL를 conical tube에 넣고 10초간 vortex하여 시료를 연속 희석법을 통하여 희석하였다. 각 희석된 sample을 vortex한 후에 pipette으로 500 uL 채취한 후 준비된 TSA(40 g/1 L, tryptic soy agar, TSA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 고체배지의 표면 가운데

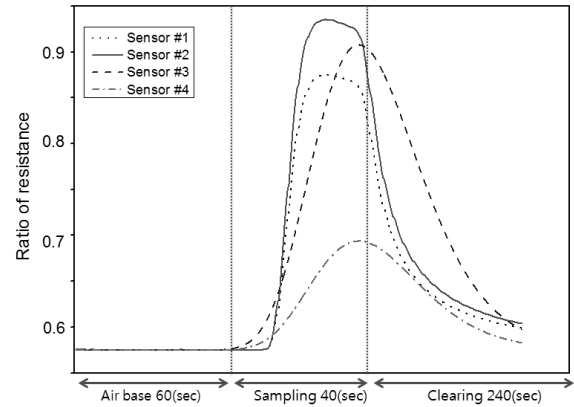


Fig. 1. Resistance changes of MOS sensors in the electronic nose system.

데에 분주하였다. 그 다음 희석액이 배지표면에 완전히 퍼지도록 도말평판법으로 화염 멸균한 spreader를 이용하여 희석액이 배지에 스며들 때까지 문질러 주었다. 37°C의 배양기에서 40시간동안 배양한 후 형성된 colony수를 계수하고 계수된 수를 시료 1 g당 CFU(colony forming unit)으로 나타내었다.

3. 전자코 시스템 측정

실험에 사용된 전자코 시스템은 본 연구실에서 자체적으로 제작한 2개의 시스템을 이용하였다. 1차 전자코 시스템은 시료의 가스 성분을 감지하는 센서부(4개의 metal oxide semiconductor : MOS센서), 시료를 중탕하는 중탕부, 수분을 제거하는 전자 쿨러, 측정된 MOS 센서의 저항값을 PC로 송신하기 위한 RS-232 등으로 구성하였다. 2차 전자코 시스템은 휴대성과 이동성을 높이기 위해 수분을 제거하는 전자 쿨러를 대신 수분필터를 장착하여 시스템의 부피를 최소화하여 제작하였다. 시스템에 대한 자세한 설명은 이전 동학술지에 게재된 논문(Kim 등, 2011)에 자세하게 설명 되어있으므로 생략하였다. 유입된 가스에 의해 발생한 가스센서의 저항변화의 최고값과 최초의 공기 저항값의 비(Ratio)를 계산하여 전자코 인자로 사용 하였다. 가스 Sampling 시간은 40 초였으며 가스 센서를 다시 안정화시키는 시간은 240 초로 설정하여 실험하였다(Fig. 1).

4. 데이터 분석법

가. 돈육의 미생물 총균수 분석

측정된 돈육의 미생물 총균수 분석을 위해 그래프 분석,

다중비교(SNK, Student-Newman-Keuls) 분석을 이용하였다. 그래프 분석에는 Origin Pro(version 8.1, OriginLab, USA), Excel(Microsoft, Redmond, Washington, USA)를 이용하였으며, 다중비교 분석에는 SPSS(version 8, SPSS, USA) 소프트웨어를 사용하였다.

나. 전자코 시스템을 이용한 돈육의 미생물 총균수 예측 분석

전자코 시스템에서 얻은 저항비와 미생물 총균수를 이용하여 돈육의 미생물 총균수를 예측하는 모델을 개발하고자 하였다. 사용된 방법은 MLR(Multiple linear Regression), PCR(Principal component regression), PLS(Partial least square) 모델링 방법이다.

III. 결과 및 고찰

1. 미생물 총균수 측정

Fig. 2는 TSA 고체배지에 직접 형성된 colony수를 나타낸 사진이며, Fig. 3은 돈육의 저장기간에 따른 미생물 총균수의 변화를 그래프로 나타낸 것이다. 사진과 그래프에서 알 수 있듯이 등심과 삼겹살 모두 저장기간이 증가할수록

미생물 총균수 값이 증가하는 경향을 보였다. 2009년 등심의 경우 저장 7일째까지 4.3 log CFU/g이었다가 9일째 5.84 log CFU/g, 12일째 5.99 log CFU/g으로 점차 증가하였다. 2010년 등심의 경우 초기 저장기간 1~5일은 4.78 log CFU/g으로 낮게 나타나다가 9일째 6.34 log CFU/g, 12일째 6.63 log CFU/g으로 가파른 증가를 보였다. 9~12일 사이에 가식 기준치를 초과한 것으로 측정되었다. 삼겹살의 경우 저장 7일차 5.86 log CFU/g, 15일차에는

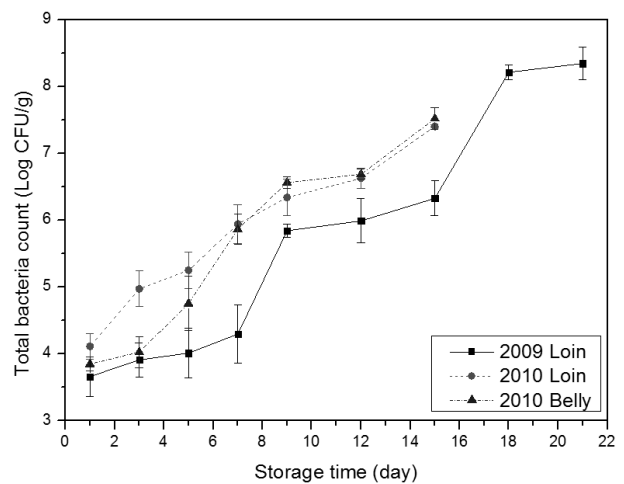


Fig. 3. Change of total bacteria count value of pork meats with storage time.

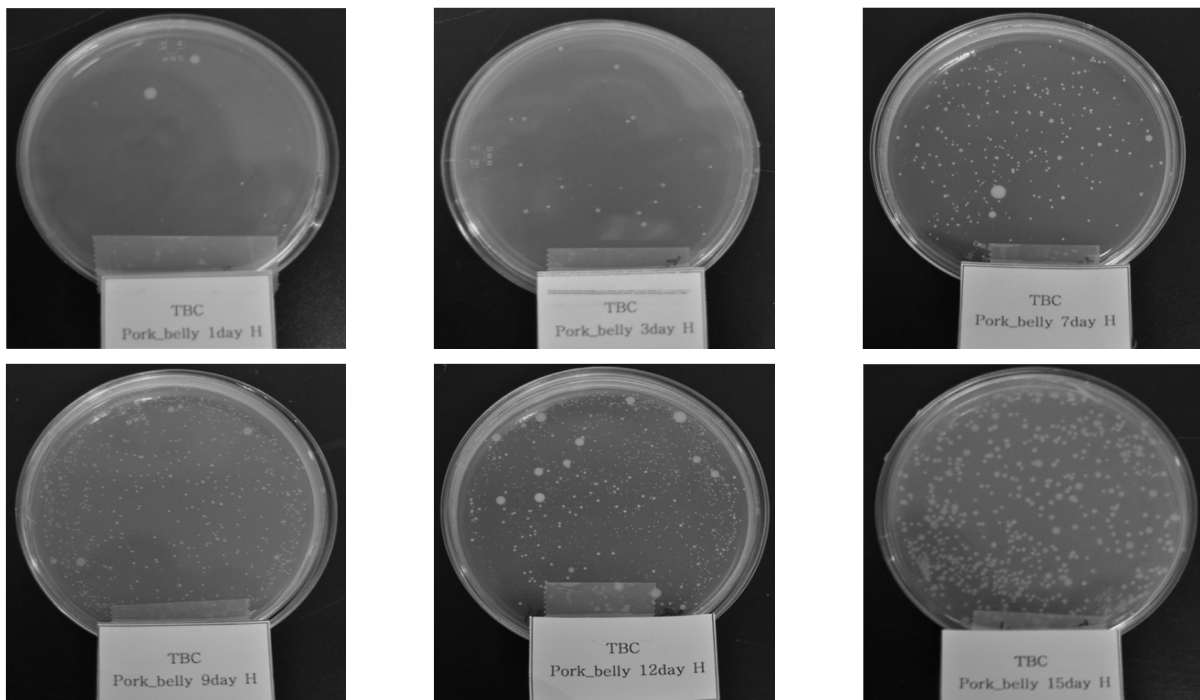


Fig. 2. Representative photos of total bacteria count colony for pork belly.

7.40 log CFU/g으로 증가 하였다. Egan 등(1989)은 저장 육의 경우 미생물수가 8.0 log CFU/g 일때 부패가 시작되며 관능적으로 부패취를 판단할 수 있는 시기임을 보고하였다. 농림수산식품부(농림부 고시 제 2007-57호, 2007)에서는 식육판매장에서 가식 돈육의 일반세균수를 7 log CFU/g 이하로 지정하고 있다.

Table 1은 돈육의 미생물 총균수의 다중비교 분석결과를 나타낸 표이다. 2009년 등심의 경우 6개의 그룹으로 구분이 가능하였으며, 2010년 등심의 경우 7개의 그룹, 2010년 삼겹살의 경우 5개의 그룹으로 구분이 가능하였다. 분석 결과 돈육의 미생물 총균수의 경우 저장기간별로 초기와 부패 후의 값이 뚜렷이 구분됨을 보였다.

Table 1. Changes of TBC (Log CFU/g) of pork meats with storage time.

	Storage (day)									SEM ¹
	1	3	5	7	9	12	15	18	21	
2009 Loin	3.66a	3.91ab	4.01b	4.30c	5.84d	5.99d	6.33e	8.21f	8.34f	.20386
2010 Loin	4.11a	4.97b	5.25c	5.94d	6.33e	6.62f	7.40g	-	-	.12648
2010 Belly	3.85a	4.03a	4.75b	5.86c	6.56d	6.69d	7.52e	-	-	.16021

a-f Different letters within the same row differ significantly (p<0.05).

¹Standard errors of the mean (n=72, 70, 70).

Table 2. Results of calibration, validation and prediction for total bacteria count of loin using the 1st system.

Measurement	Model	N	Factor	Calibration		Validation		N	Prediction	
				R _c ²	RMSEC	R _v ²	RMSEP		R _p ²	RMSEP
TBC	MLR	45	-	0.823	0.726	0.635	1.042	27	0.787	0.786
	PCR	45	2	0.791	0.787	0.753	0.876	27	0.785	0.791
	PLS	45	2	0.793	0.784	0.743	0.894	27	0.789	0.784

Factor : Suggested Number of PCs, R_c² : Result regression's calibration R-square

R_v² : Result regression's validation R-square, R_p² : Result regression's prediction R-square

RMSEC : Root Mean Square Error of Calibration, RMSEP : Root Mean Square Error of Prediction

Table 3. Results of calibration, validation and prediction for total bacteria count of loin using the 2nd system.

Measurement	Model	N	Factor	Calibration		Validation		N	Prediction	
				R _c ²	RMSEC	R _v ²	RMSEP		R _p ²	RMSEP
TBC	MLR	49	-	0.665	0.622	0.537	0.731	21	0.661	0.576
	PCR	49	2	0.659	0.628	0.629	0.668	21	0.625	0.607
	PLS	49	2	0.659	0.628	0.629	0.669	21	0.625	0.607

Factor : Suggested Number of PCs, R_c² : Result regression's calibration R-square

R_v² : Result regression's validation R-square, R_p² : Result regression's prediction R-square

RMSEC : Root Mean Square Error of Calibration, RMSEP : Root Mean Square Error of Prediction

Table 4. Results of calibration, validation and prediction for total bacteria count of belly using the 2nd system.

Measurement	Model	N	Factor	Calibration		Validation		N	Prediction	
				R _c ²	RMSEC	R _v ²	RMSEP		R _p ²	RMSEP
TBC	MLR	49	-	0.742	0.677	0.663	0.775	21	0.726	0.692
	PCR	49	1	0.677	0.759	0.663	0.791	21	0.795	0.597
	PLS	49	1	0.677	0.759	0.662	0.791	21	0.796	0.597

Factor : Suggested Number of PCs, R_c² : Result regression's calibration R-square

R_v² : Result regression's validation R-square, R_p² : Result regression's prediction R-square

RMSEC : Root Mean Square Error of Calibration, RMSEP : Root Mean Square Error of Prediction

2. 미생물 총균수 예측을 위한 모델 개발

단계별 전자코 시스템 측정 결과와 미생물 총균수 측정 결과를 이용하여 돈육의 미생물 총균수 예측에 관한 모델을 개발 하였다(Table 2~4). 결정계수(R_c^2), 검증 결정계수(R_v^2), 모델 개발에 사용되지 않은 미지의 시료가 모델에 적용됐을 경우의 예측율을 나타내는 예측 결정계수(R_p^2) 그리고 각 단계별 RMSE(Root mean square error)를 이용하

여 모델을 비교하였다. 1차 전자코 시스템의 경우 총 72개의 시료 중 45개는 모델 개발과 검증에 사용하였고 27개는 모델의 예측에 이용되었다. 1차 시스템을 사용한 결과 PLS 모델이 가장 높은 $R_p^2=0.789$ 와 $RMSEP=0.784$ 를 보였다.

2차 시스템의 경우 총 70개의 시료 중 49개는 모델 개발과 검증, 21개는 모델의 예측에 이용하였다. 분석결과 등심의 경우, 높은 R_p^2 는 0.661로 MLR 모델 이었으며 이때,

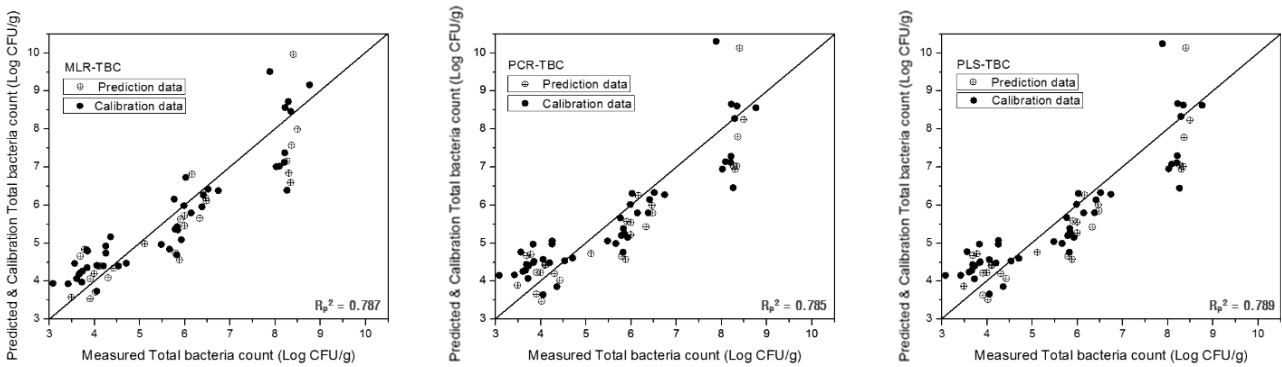


Fig. 4. Comparison of the measured and predicted total bacteria counts of pork loin with the MLR, PCR, and PLS models using the 1st system.

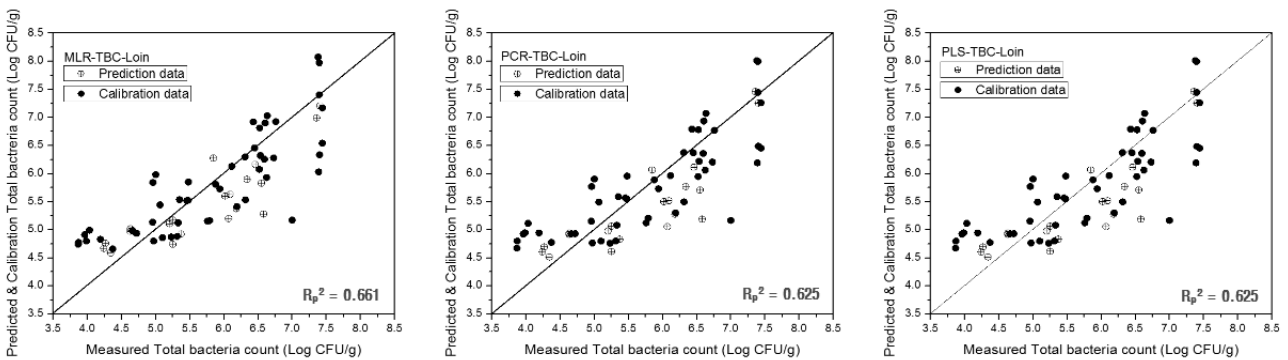


Fig. 5. Comparison of the measured and predicted total bacteria counts of pork loin with the MLR, PCR, and PLS models using the 2nd system.

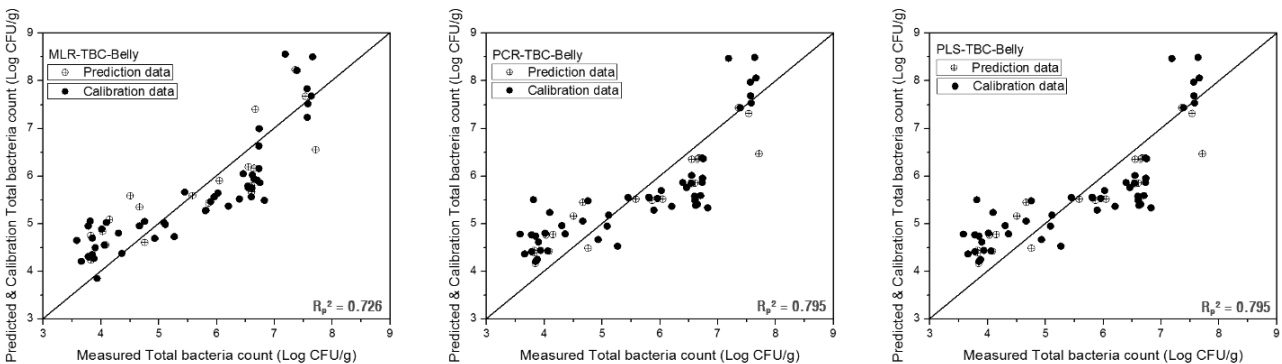


Fig. 6. Comparison of the measured and predicted total bacteria counts of pork belly with the MLR, PCR, and PLS models using the 2nd system.

Table 5. Classification accuracies of MLR, PCR, and PLS models.

	2009 Loin using 1st system			2010 Loin using 2nd system			2010 Belly using 2nd system		
	TBC (10^7 CFU/g)			TBC (10^7 CFU/g)			TBC (10^7 CFU/g)		
	Fresh	Spoiled	Total	Fresh	Spoiled	Total	Fresh	Spoiled	Total
N	21	6	27	18	3	21	18	3	21
MLR	21	4	25	18	2	20	17	2	19
Accuracy %	100.0%	66.7%	92.6%	100%	66.7%	95.2%	94.4%	66.7%	90.5%
PCR	21	5	26	18	2	20	18	2	20
Accuracy %	100.0%	83.3%	96.3%	100%	66.7%	95.2%	100%	66.7%	95.2%
PLS	21	5	26	18	2	20	18	2	20
Accuracy %	100.0%	83.3%	96.3%	100%	66.7%	95.2%	100%	66.7%	95.2%

RMSEP는 0.576 log CFU/g 이었다. 삼겹살은 PLS 모델을 이용하였을 경우 가장 높은 R_p^2 (0.796)와 가장 낮은 RMSEP (0.597 log CFU/g)을 나타내었다.

Fig. 4에서 6은 MLR, PCR, PLS의 검증결과와 예측결과를 그래프로 나타낸 것이다. 1, 2차 시스템의 결과를 보면 MLR, PCR, PLS 모델의 R_p^2 가 비슷한 것을 알 수 있는데 이는 전자코 시스템에 사용된 센서의 개수가 4개로 많지 않아 변수가 적기 때문에 모델별로 뚜렷한 차이를 보이지 않는 것으로 사료된다.

미생물에 의한 돈육의 부패는 미생물에 의하여 분비되는 효소에 때문이다. 이때 단백질이나 지방이 분해되면서 알데하이드(aldehyde), 케톤(ketone), 알코올(alcohol), 암모니아(ammonia), 황산화물(sulfur oxides) 등 휘발성 가스를 발생하게 된다. 발생된 휘발성 가스는 저장기간이 증가함에 따라 계속 증가하며 결국 전자코 시스템의 저항값이 증가하게 된다. 결과적으로 단계별 전자코 시스템의 측정 결과와 미생물 총균수 측정결과를 이용하여 모델을 개발 하였을 때 위와 같은 결정계수가 도출된 이유는 미생물 총균수가 증가함에 따라 돈육의 부패가스가 계속 증가하기 때문으로 사료된다.

Table 5는 개발된 전자코의 성능을 평가하기 위하여 미생물 총균수(10^7 CFU/g)를 기준으로 한 돈육의 가식권과 및 비가식권 판별 정확도를 평가한 것이다. 1차 시스템으로 실시한 등심 실험의 경우 총 27개의 시료 중 21개는 가식영역내의 시료로 구분되었으며, 6개의 시료는 가식권을 벗어난 시료로 구분되었다. 사용된 예측 모델 중에서 PCR과 PLS의 모델이 가장 높은 정확도(96.3%)를 나타내었다. 2차 시스템으로 실시한 등심, 삼겹살의 경우 총 21개의 시료 중 18개의 시료는 가식권의 시료로, 3개의 시료는 비가식권의 시료로 구분되었다. 정확도 측정 결과 PCR과 PLS의 모델이

가장 높은 정확도를 나타내었으며 정확도는 95.2%였다.

앞에서 분석된 모델의 성능계수와 가식권영역의 정확도 결과를 기초로 하여 평가한다면 제작된 2단계 시스템의 예측 성능이 장치가 크고 가격이 비싼 1단계 시스템과 거의 동일하다는 것을 알 수 있으며, 두 단계별 전자코 시스템 모두 돈육의 미생물 총균수 예측이 가능함을 보여주고 있다.

IV. 결론

본 연구에서는 2단계에 거쳐 개발된 전자코 시스템을 이용하여 돈육의 미생물 총균수를 측정하고 단계별 전자코 시스템의 예측 성능을 비교 하였다. 돈육의 미생물 총균수 실험 결과 등심, 삼겹살 모두 저장기간이 증가 할수록 값이 증가하였는데, 9일 이후부터는 급속히 부패가 진행되어 12~15일 이후에는 비가식권으로 분류 되었다. 전자코 시스템을 이용하여 미생물 총균수를 예측할 수 있는 모델을 MLR, PCR, PLS 방법을 이용하여 개발하였다. 1차 시스템을 이용한 미생물 총균수 예측 결정계수(R_p^2)와 RMSEP는 0.789와 0.784 log CFU/g였으며, 2차 시스템을 이용한 미생물 총균수 예측 결정계수(R_p^2)와 RMSEP는 등심의 경우 0.661과 0.576 log CFU/g, 삼겹살의 경우 0.796과 0.692 log CFU/g 이었다.

개발된 모델의 정확도를 평가하기 위해 미생물 총균수 7 log CFU/g를 기준으로 가식권, 비가식권 구분 정확도를 평가하였다. 1차 시스템의 경우 96.3%의 판별 정확도를 보였으며, 2차 시스템의 경우 95.2%의 정확도를 보였다. 최종 개발된 휴대용 전자코 시스템은 현장에서 쉽고 간편하게 돈육의 미생물 총균수를 측정하는데 활용 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 농림수산식품부에서 주관하는 농림기술개발사업의(과제번호 : 108032-03-3-CG000) 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사의 뜻을 표합니다.

참고 문헌

- Byun JS. 2000. Determination of physicochemical freshness indices in fresh meat. Seoul National Univ. Master's thesis. Seoul, Korea. [in Korean]
- Choi WS, Lee KT. 2002. Quality changes and shelf-life of seasoned pork with soy sauce or Kochujang during chilled storage. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 22(3): 240-246. [in Korean]
- Egan AF, Grau FH. 1989. Environmental conditions and the role of *Brochothrix thomosphaeta* in the spoilage of fresh and processed meat. In *Psychrotroph Microorganisms in Spoilage and Pathogenicity*. pp. 211. Academic Press New York, NY.
- Jin SK, Kim IS, Hah KH, Lyou HJ, Park KH, Lee JR. 2005. Quality characteristics of vacuum packaged fermented pork with soy sauce, red pepper and soybean paste seasoning during storage. J. Anim. Sci. & Technol. 47(5): 825-836. [in Korean]
- Kim JG, Cho BK. 2011. Design and performance evaluation of portable electronic nose systems for freshness evaluation of meats. CNU J. Agricultural Sci. 38(3): 525-532. [in Korean]
- Korea Food and Drug Administration. 2007. *Korea Food Code*. pp. 694-734.
- Lee HS, Chung CH, Kim KB, Cho BK. 2010. Evaluation of freshness of chicken meat during cold storage using a portable electronic nose. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 30(2): 313-320. [in Korean]
- Lee KS, Park KS, Park HS, Choi YJ, Park SS, Jung IC, Moon YH. 2011. Changes in quality of pork meat seasoned with red wine during storage. J. East Asian Soc. Dietary Life 21(1): 74-81. [in Korean]