

工學碩士 學位論文

水產加工品の 品質評價를 위한 近赤外線
分光分析法의 利用에 관한 研究

指導教授 李 根 泰

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함.



釜慶大學校 産業大學院

食品産業工學科

申 盛 惠

이 論文을 申盛惠의 工學碩士
學位論文으로 認准함

2002年 6月

主 審 工 學 博 士 全 炳 秀



委 員 農 學 博 士 金 善 奉



委 員 工 學 博 士 李 根 泰



목 차

Abstract	1
서 론	3
재료 및 방법	7
1. 실험재료	7
1-1. 마른멸치	7
1-2. 오징어 연골	7
1-3. 첨가물 분석용 연육	7
2. 실험방법	8
2-1. 오징어 연골 chitin의 제조	8
2-2. 일반성분의 측정	8
2-3. 전분함량의 측정	8
2-4. 연육중의 sorbitol 함량 측정	10
2-5. 근적외선 분광분석	11
2-6. 통계처리	11
결과 및 고찰	13
1. 근적외선 분광분석법을 이용한 마른멸치의 원산지 판별 가능성	13
1-1. 마른멸치의 근적외선 분광분석	13
1-2. 한국산 마른멸치와 베트남산 마른 멸치의 원산지 판별가능성	16
2. 오징어연골과 오징어 연골 chitin의 근적외선 분광분석	24

2-1. 오징어연골의 탈단백 조건에 따른 근적외선 분광분석	27
1) 가열시간의 영향	27
2) 가열온도 및 시간의 영향	30
3) 탈단백 과정에서 가열온도 및 가열시간의 최적 조건의 확인	30
3. 근적외선 분광분석법을 이용한 전분의 측정	34
3-1. 전분의 정성분석	34
3-2. 근적외선 분광분석법을 이용한 Surimi 및 전분첨가 Surimi 의 측정	40
3-3. 전분의 정량분석	43
4. 근적외선 분광법을 이용한 연육중의 sorbitol의 분석	45
4-1. Sorbitol의 정성분석	45
4-2. Sorbitol의 정량분석	47
결론 및 요약	52
참고문헌	54

Utilization of Near Infrared Spectroscopy for Quality Evaluation of Fisheries Products

Sung-Hye SHIN

*Department of Food Industrial Engineering, Graduate
School of Industrial, Pukyong National University*

Abstract

In the quality evaluation of fisheries products, to investigate utilization of near infrared spectroscopy(NIR), the most recent being interested by many researcher of food and drug as a new available method of instrumental analysis is a representative method of non-destructive and highly reproducible analysis, a series of experiments as the possibility on distinction of the place of origin in dried anchovies and establishment of optimum condition on exclusion of protein in manufacturing chitin from squid pen and analysis of additives, starch and sorbitol, in frozen *Alaska pollack* surimi were carried out and the results were summarized as follows.

In NIR spectrum of korean dried anchovies and vietnamese dried

anchovies, absorbance at 1440nm of vietnamese dried anchovies was higher than korean dried anchovies due to difference of moisture content between vietnamese and korean. Peak area of most of korean dried anchovies at 1440nm were below 250 but above 350 in vietnamese dried anchovies. These results exhibited the possibility on distinction of the place of origin in dried anchovies by NIR.

The effects of alkaline treatment temperature and time on exclusion of protein in squid pen were investigated as measuring protein content by NIR. Two unique peak at 1500nm and 2050nm by N-H groups in NIR spectrum of squid pen chitin, changing in peak area as protein contents of chitin, were showed. The effect of deproteinization increased as alkaline treatment time from 1hr to 3hrs in room temperature but decreased in 10 0°C.

Major peaks for analysis of starch, included in frozen surimi, were checked out at 1450nm and 1950nm in NIR spectrum. And peaks at 1580nm, 2100nm, 2300nm in NIR spectrum of surimi were originated in sorbitol. The area of these peak were broaden as increment of starch and sorbitol content in surimi. So analysis of starch and sorbitol in surimi by NIR were practicable.

서 론

식품은 인간의 생명과 밀접한 관련을 가지고 있으므로 이를 다루는 모든 과정에서 적정 품질유지는 최우선 과제이며 이를 위해 많은 과학적 방법들이 동원되고 있다. 특히 수산식품은 원료의 특성상 변질되기 쉬운 까닭에 어획후 저장 또는 가공 및 유통과정에서의 품질관리가 철저히 이행되어야 한다. 이러한 품질관리에 있어서 가장 기본적으로 행해지는 것이 품질검사이며 여기에는 구성성분의 함량을 정확히 측정하는 것이 무엇보다 우선한다고 할 수 있다.

수산식품의 품질검사를 위한 기존의 분석법들은 대부분 각종 무기 및 유기 시약을 이용한 화학적 분석에 의존하고 있다. 이와 같은 화학적 분석 방법들은 시료의 전처리부터 최종 결과를 도출하기까지 상당한 시간이 소요되며, 숙련된 분석자가 아닐 경우 분석과정에 항상 위험성을 내포하고 있으며 결과의 재현성도 낮은 단점들을 지니고 있다. 그러므로 식품의 품질검사를 위해서는 숙련된 분석자가 필요하고 시간의 소요 및 이에 따른 경비의 소비를 감수해야 하는 경제적 부담이 항상 내재되어 있다고 할 수 있다. 이와 같은 문제점들을 해결하고자 많은 연구자들이 새로운 분석기술들을 개발하여 왔고 특히 기기를 이용한 식품성분들의 분석방법이 개발되면서 식품의 품질검사 분야에 많은 발전이 있어왔다.

최근 식품성분의 분석을 위한 각종 기기 분석 방법들 중에서 근적외선을 이용한 분석방법이 소개되기 시작하면서 식품은 물론이고 의약품의 특정성분 정

성 및 정량분석, 식품원료의 원산지 판별, 시료 중에 함유된 여러 가지 성분의 정량 등에 이용하기 위한 시도가 활발히 전개되고 있다.

근적외선을 이용한 식품분석 방법은 식품의 비파괴 평가법의 일종이며 식품의 비파괴 평가법에 대하여 Dull(1978)은 “식품의 품질 측정이 끝난 후에도 대상을 식용으로 제공할 수 있는 평가법” 이라고 정의하고 있다. 식품의 비파괴 분석법은 시료의 외부로부터 가해지는 에너지와 방출되는 에너지의 차이를 이용하여 시료의 이화학적 특성에 관계되는 정보를 얻는 방법으로 사용되는 에너지의 종류에 따라 광학적인 방법, 방사선적 방법, 역학적 방법 및 전자기학적 방법 등이 있다.

전자기학적 방법중의 하나인 근적외선(Near-Infrared) 분광분석법은 식품의 구성성분을 분석하는 비파괴 측정법 중에서 가장 발전된 방법이라 할 수 있다. 이 방법은 식품 구성성분들의 분자구조 내에 가지고 있는 O-H(수분, 당질), N-H 또는 S-H(단백질), C-H(지질)등의 관능기가 나타내는 신축진동과 일치하는 파장($0.8\mu\text{m} \sim 2.5\mu\text{m}$, 근적외선 영역)의 전자기복사전 흡수를 스펙트럼으로 나타내는 측정방법으로서 대상물을 파괴하지 않고 측정하는 비파괴 측정법이며, 다성분을 동시에 분석할 수 있는 장점도 가지고 있다.(Lanza, 1983)

1960년초 Norris와 Ben-Gera에 의해 개발되어 주로 북미 지역에서 곡류의 성분검사에 이용되고 있는 근적외선 반사분광분석, 즉 Near Infrared Reflectance Spectroscopy(NIR)는 비교적 정확한 간편법으로서 그 조작이 간단하여 이용율이 증가하는 추세에 있다. 근적외선 분광분석법의 원리로 이용되는 각 관능기들의 진동 에너지는 중적외선 영역에 비해 10배정도 약하므로

신호를 감지하기 어려운 단점이 있지만 이것은 오히려 식품시료를 회석하지 않고 전처리없이 고농도 상태인 자연상태로 측정할 수 있다는 간편성을 지니고 있어 신속한 결과 도출의 장점이 더 크게 부각되고 있다.

이러한 근적외선(NIR)을 이용한 분석법은 육제품의 수분, 단백질, 지방등의 분석에 많이 이용되어지고 있는데 이것은 각 성분의 관능기가 근적외선 영역에서 각기 다른 흡수 파장대를 나타내기 때문이다. 이를 이용하여 수산식품의 구성성분 분석시 짧은 시간내에 다성분의 분석에 이용되어 질 수 있을것으로 보이며, NIR을 이용한 성분분석에는 수분 정도의 측정시간 만으로도 충분하므로 기존의 화학분석법에 비해 매우 신속하게 결과를 얻을수 있을것으로 생각된다. 또한 근적외선 분광분석법의 재현성에 대하여 등유(Kerosine)를 30분간격으로 총 20회 측정한 스펙트럼의 파장별 흡광도 평균, 표준편차, 상대표준편차를 계산한 결과 20개 스펙트럼이 거의 일치하는 결과를 나타내었다는 보고도 있다. 이와 같이 근적외선 분광분석법은 반복 및 재현성이 매우 우수하고 안정적이므로 특정 모델계에 대한 예비측정을 거쳐 검량식이 만들어 지면 장기간 사용이 가능하다.

수산식품의 가공시 원료어의 구성성분은 최종제품의 품질에 매우 큰 영향을 미치게 된다. 그러므로 어획직후부터 가공직전까지 원료어의 성분변화를 검사하는 작업은 지속적으로 행해져야 하며 이를 위해서는 매우 신속한 분석방법이 확립되어야 할 것이다. 그러나 기존의 화학적 분석법으로는 이를 충족시키지 못하며 대부분 경험적 결과를 이용하여 현장에 적용하고 있는 실정이다. 게다가 화학적 분석법의 사용시 모든 시료를 대상으로 한 검사가 불가능하

로 표본검사에 의존할 수 밖에 없는 반면에 근적외선 분광분석법을 이용한 검사는 시료를 파괴하지 않는 비파괴 분석법이므로 현장에서 직접 전체 시료를 대상으로 검사가 가능하다는 장점을 지니고 있다.

근적외선 분광분석법을 이용한 식품성분의 분석에 관한 연구는 현재까지 주로 농축산물과 의약품에 대해서만 이루어져 왔으나 수산식품의 품질관리에 있어서도 근적외선 분광분석법이 매우 효과적인 결과를 도출할 수 있을 뿐만 아니라 연구의 필요성도 긴요할 것으로 사료되어 본 연구에서는 근적외선분광 분석법을 이용한 멸치의 원산지 판별 가능성과 chitin 제조시 탈단백 공정중에서의 최적조건 확인 및 연육 중에 함유된 첨가물의 분석 가능성 등 수산가공품의 품질평가를 위한 근적외선 분광분석법의 이용 가능성을 일련의 실험을 통하여 검토 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1-1. 마른멸치

베트남산 마른 멸치는 수산물검사소 부산지소에서 수거한 중멸 및 자멸을 사용하였고 국내산 마른 멸치는 시중에서 시판되고 있는 중멸 및 자멸을 구입하여 사용하였다. 베트남산의 경우 수입일자에 따라서 수거한 35종을 분석용 시료로 사용하였으며 한국산의 경우 베트남산과 크기가 비슷한 35종의 멸치를 구입하여 분석용 시료로 사용하였다.

1-2. 오징어 연골

강원도 강릉 지역의 수산 가공 공장에서 폐기되는 오징어(*Ommastrephes bartrami*)연골을 수집하여 이물질 제거하고 수세한후 40℃에서 12시간 열풍 건조시켜 50mesh 정도로 분쇄한 다음 chitin 제조용 시료로 사용하였다.

1-3. 첨가물 분석용 연육

첨가물의 정성 및 정량분석 가능성을 알아보기 위해 FA, A, RA등급의 냉동명태연육에 전분 및 Sorbitol을 일정량 첨가한후 다시 고기갈이한 후 동결건조하여 첨가물 분석용 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

2-1. 오징어 연골 chitin의 제조

50mesh 정도로 분쇄한 오징어 연골을 탈단백 조건을 1N NaOH 용액(시료 중량의 15배)을 가하여 가열온도를 25℃ 1시간과 3시간으로 제조한 chitin과 100℃에서 1시간과 3시간으로 교반하여 탈단백한 다음 이를 증류수로 중성이 될 때까지 수세한후 40℃에서 열풍건조하여 실험용 chitin을 제조하였다 (Fig.1).

2-2. 일반성분의 측정

AOAC(1990)에 수록된 방법에 따라 수분은 상압가열건조법으로 조단백질은 Semi-micro Kjeldahl, 회분은 직접회화법으로 측정하였다. 그리고 조지방은 Soxhlet법을 이용한 용매추출법으로 측정하였다.

2-3. 전분함량의 측정

전분함량의 측정을 위해서는 전분을 구성하는 amylose와 amylopectin의 함량을 측정함으로써 전분의 함량을 구하였다. 먼저 amylose 함량의 측정을 위하여 시료 10~15g을 취한 후 95% ethanol 10ml로 분산시킨 다음 1N NaOH 용액 90ml를 가하여 끓는 물에서 10분간 중탕하여 완전히 호화시켰다. 호화용액 중의 불용성 물질을 제거하기 위해 여과시키고 상온에서 방냉한 후 100ml 플라스크에 옮겨 증류수를 가하고 잘 섞어주었다. 시료용액을 5ml 취하여 1000ml 플라스크에 넣고 1N acetic acid 1ml와 요오드 용액(0.2g iodine 과 2g

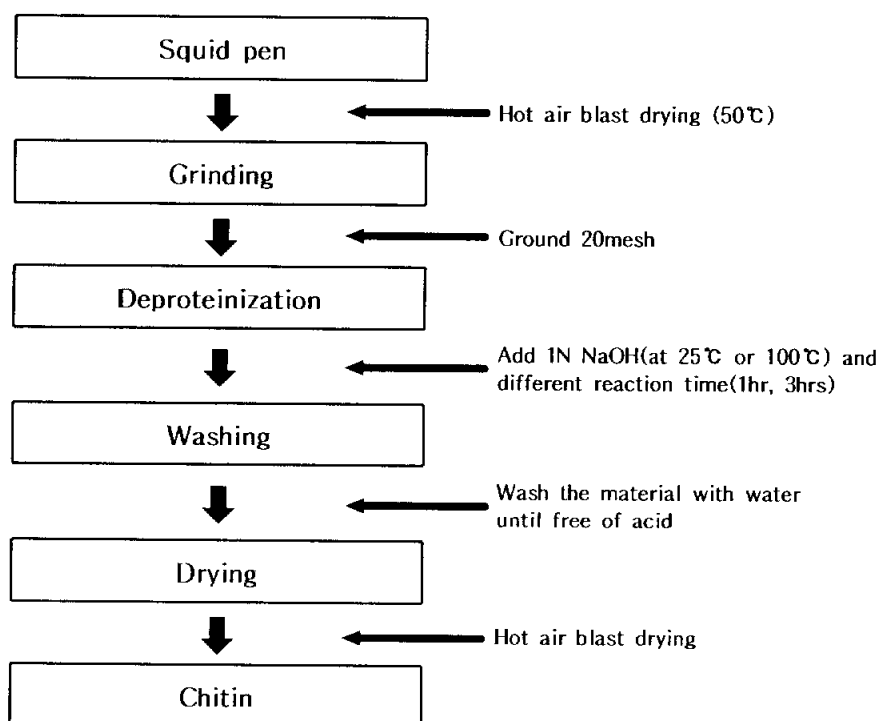


Fig. 1. Preparation procedure of chitin and chitosan from squid pen.

potassium iodine를 100ml 증류수로 녹인 용액) 2ml를 가한 후 증류수를 가하여 잘 섞어준 다음 20분간 방치하였다. 요오드와 반응한 시료용액의 흡광도는 620nm에서 측정한 다음 amylose의 검량곡선(Juliano, 1971)을 이용하여 정량하였다.

한편 amylopectin의 정량을 위해서는 시료 10~15g을 취하여 dimethyl sulfoxide(DMSO) 10ml를 넣고 증류수 90ml를 넣어 분산시킨 것을 시료용액으로 하였다. 별도로 초산완충용액(pH4.8, 50ml)에 β -amylase 60units/ml를 가하여 준비한 용액 10ml와 시료용액 10ml를 혼합하여 37℃ 항온수조에서 14시간 가수분해시켰다. 가수분해 후 끓는 물에 넣어 반응을 중지시키고 전당량과 환원당량을 정량하여 β -amylolysis limit(%)를 계산하였다. Amylose와 amylopectin의 end group analysis는 periodate 산화법으로 측정하였다.

2-4. 연육중의 sorbitol 함량 측정

시료를 TFA(Trifluoroacetic acid), HCL, H₂SO₄ 등으로 가수분해한 후 그 용액 0.2ml를 시험관에 넣고 myoinositol과 0.26M NaBH₄/1M ammonium 용액을 각각 0.1ml씩 가하여 1시간 동안 실온에서 환원시켰다. 이후 과잉의 NaBH₄에 acetic acid를 가하여 분해시킨 후 기체 N₂를 주입하여 건조하였다. 다시 methanol을 가하여 교반후 기체 N₂로 건조하는 조작을 2회 반복하여 잔류 boric acid를 제거한다. 잔사에 초산부수물과 pyridine을 0.2ml씩 첨가하여 120℃에서 20분간 아세틸화시킨후 N₂ gas로 휘발시키고 dichloromethane 1ml를 가한 후 증류수로 2회 세척하고 dichloromethane 층만 회수하여 -20℃에

저장하면서 gas chromatography로 분석하였다(AOAC, 1990).

2-5. 근적외선 분광분석

멸치의 원산지 판별 및 chitin의 탈단백 조건에 따른 변화 그리고 연육의 첨가물의 분석을 위해 근적외선 분광분석법으로 분석하기 위해 전처리한 시료를 분쇄한후 분석용 시료관에 담아 퓨리에변환 근적외선 분광분석기(Spectrum GX, Perkin Elmer, USA)를 사용하여 분석하였으며(Table.1), 성분 함량이 다른 각 시료의 spectrum은 1100~2400nm 영역에서 absorbance mode로 측정하였다.

2-6. 통계처리

근적외선 분광분석으로 얻어진 스펙트럼의 결과들의 통계적 분석은 near infrared spectral analysis software(QUANT C plus, Perkin Elmer, USA)를 사용하여 Principal Component Regression(PCR)법으로 행하였다. 통계처리를 위한 측정 시료는 검량식 작성용 시료와, 검증용 시료를 각각 제조하여 분석하였다.

Table 1. Conditions of instrument for near infrared spectroscopy

Instrument	Spectrum GX FT-NIR, PerkinElmer, USA
Source	Tungsten halogen lamp
Beam splitter	Quartz beam splitter
Detector	Lead sulfide detector in integrating sphere
Scan spectral range	1100 – 2400nm
Resolution	16cm ⁻¹
Number of scans	32
Scan mode	Absorbance

결과 및 고찰

1. 근적외선 분광분석법을 이용한 마른멸치의 원산지 판별 가능성

1-1. 마른멸치의 근적외선 분광분석

최근 국내산 멸치 어획량의 감소와 가격상승에 따라 마른 멸치의 수입이 증가 추세에 있는데 이들 수입 마른 멸치의 품질은 원산지에 따라 그 차이가 많아 원산지 판별의 필요성이 부각되고 있다. 따라서 원산지 판별을 위한 근적외선 분석법의 적용 가능성을 알아보기 위해 먼저 기존의 화학적 분석방법을 이용하여 마른 멸치의 원산지에 따른 일반성분의 차이를 알아보았다.

한국산 마른 멸치와 베트남산 마른 멸치를 시료로 하여 측정한 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분 함량은 Table 2와 같다. 분석결과를 살펴보면 베트남산 마른 멸치의 경우 수분함량에 있어서 국내산에 비해 약 8%정도 수분함량이 높은 것으로 나타났으며 조단백질과 조지방 및 회분의 경우에는 약 2-4%내의 차이를 나타내었다.

먼저 동일한 원산지에 따른 차이를 알아보기 위해 근적외선 분광분석법을 이용하여 한국산 마른 멸치를 측정한 결과를 Fig.2에 나타내었다. 35종의 한국산 마른 멸치를 측정한 결과를 살펴보면 시료들의 측정결과가 동일한 스펙트럼의 형태를 나타내고 있다. 이러한 결과는 한국산 마른 멸치의 일반성분 결과와도 일치하는 결과를 나타내었다.

원산지에 따른 차이를 알아보기 위해 한국산 마른 멸치와 베트남산 마른멸

Table 2. General component contents of korean anchovies and vietnamese anchovies

	KOREA	VIETNAM
Moisture(%)	24.6	32.6
Crude Protein(%)	54.3	51.4
Crude Lipid(%)	6.8	4.6
Crude Ash(%)	14.8	12.9

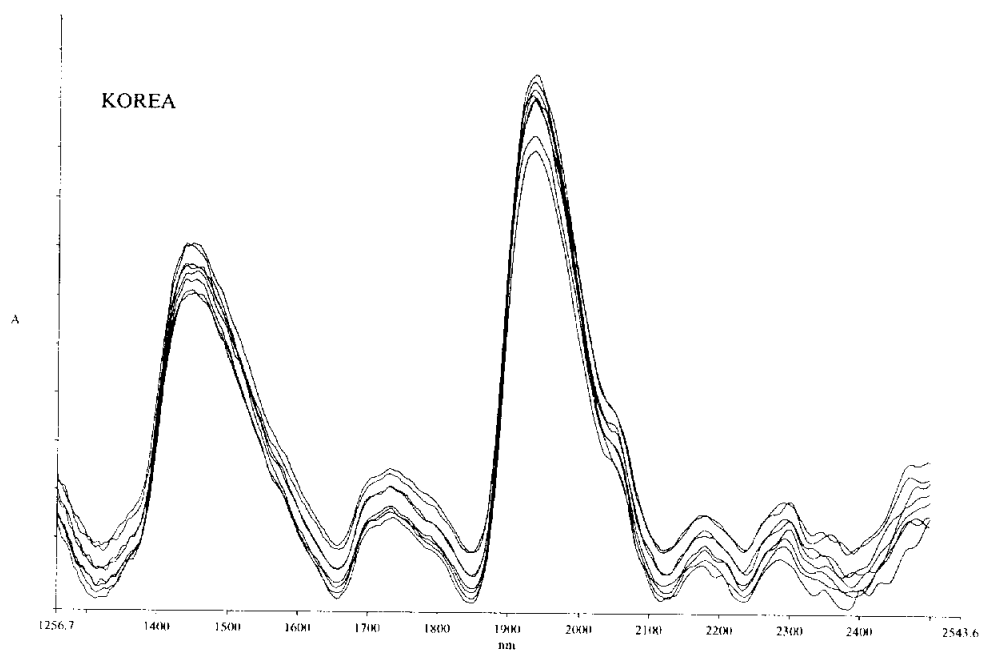


Fig. 2. Near infrared spectra of korean anchovies.

치를 근적외선 분광분석법으로 측정한 결과를 Fig.3에 나타내었다. 측정한 결과 1440nm 부근에서 가장 큰 차이를 나타내고 있는데 이 영역은 주로 O-H 기에 의한 수분이 측정되어지는 주요흡수 영역으로써 베트남산 마른 멸치의 경우 한국산 마른 멸치에 비해 수분함량이 높은 것으로 보여지고 있다. 원산지에 따른 마른 멸치의 측정스펙트럼을 좀더 자세히 비교하기 위해 1차 미분한 스펙트럼을 Fig.4에 나타내었다. 1차 미분한 결과 다른 영역에서는 서로 비슷한 흡광도의 차이를 나타내고 있으나 1440nm 즉 수분의 흡수영역에서는 베트남산이 한국산에 비해 수분의 함량이 좀더 높은 것으로 1차 미분한 스펙트럼에서도 나타났다.

Fig.5 은 한국산 마른 멸치와 베트남산 마른 멸치를 70번 측정한 결과 중 무작위로 한국산 2종과 베트남산 2종의 측정결과를 비교한 그림이다. 역시 베트남산이 한국산에 비해 수분함량이 높은 것으로 나타나고 있는데 이는 한국산에 비해 베트남산의 경우 가공 및 수입과정에 있어서 장기간 저장에 따른 수분의 흡수가 증가하여 나타난 결과로 생각되어진다.

이에 본 실험에서는 마른 멸치의 원산지 판별에 사용한 마른 멸치의 경우 수분의 함량이 가장 중요한 원산지 판별 요소로 생각되어진다. 이에 본 실험에서는 수분의 주요 흡수영역인 1440nm 영역의 흡광도를 이용하여 원산지 판별의 중요한 인자로써 사용하였다.

1-2. 한국산 마른멸치와 베트남산 마른 멸치의 원산지 판별가능성

원산지 판별 가능성을 알아보기 위해 기존의 화학적 분석법에 의한 수분 측

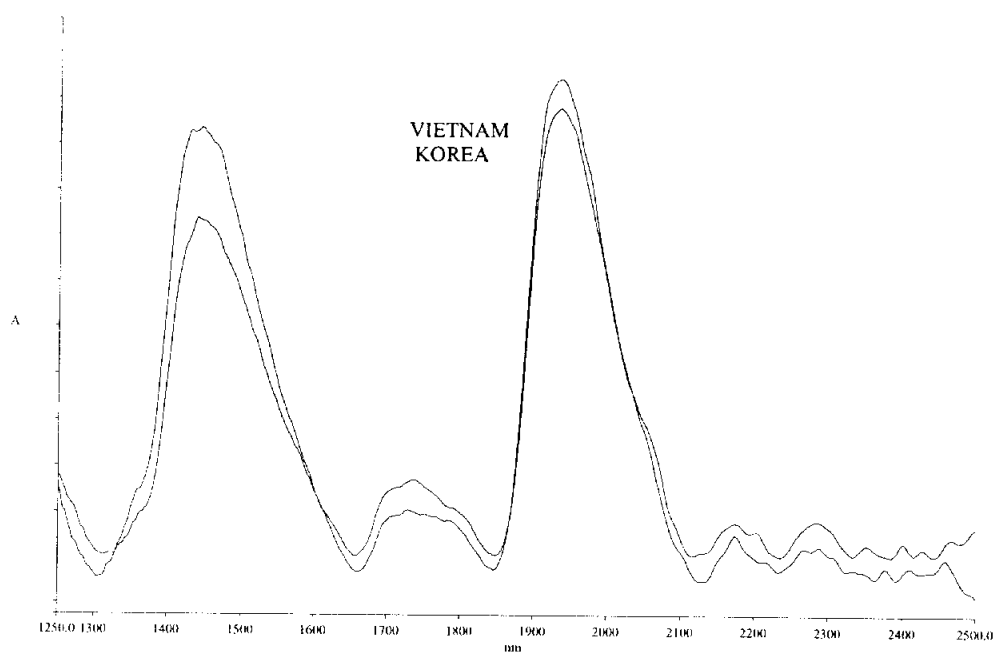


Fig. 3. Near infrared spectra of korean and vietnamese anchovies.

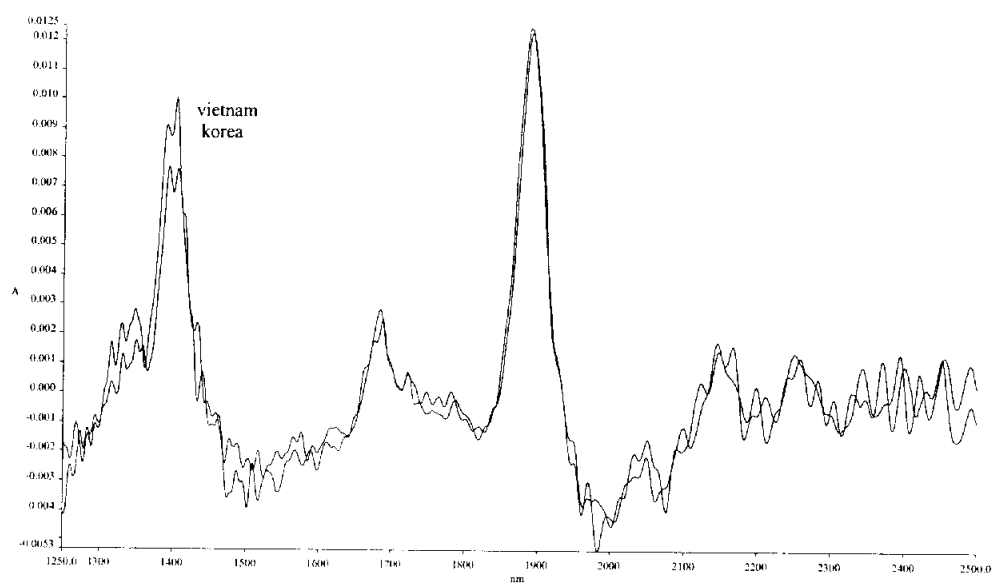


Fig. 4. First derivative near-infrared spectra of anchovies.

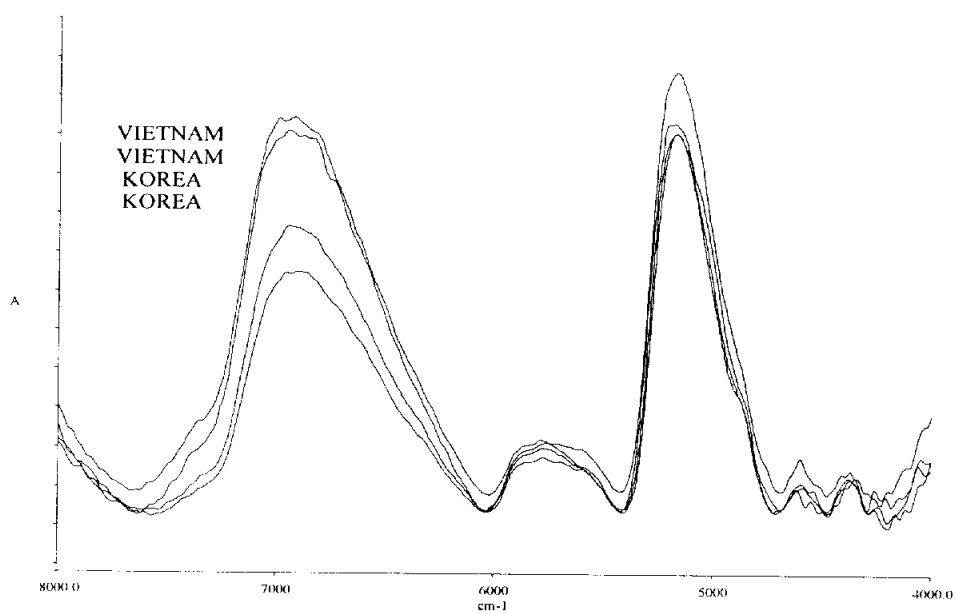


Fig. 5. Near infrared spectra of korean and vietnamese anchovies.

정법을 사용하지 않고 근적외선 측정 스펙트럼상에서 수분의 주요 흡수파장인 1440nm 영역에서의 peak 변화에 따른 면적을 계산한 후 한국산과 베트남산의 측정 면적을 비교하였다.

Fig.6은 한국산과 베트남산의 근적외선 영역인 1440nm에서의 스펙트럼 면적을 근적외선 분광분석용 소프트웨어를 사용하여 계산한 결과를 나타내었다. 이 표를 살펴보았을 때 한국산 마른 멸치의 경우 최대 스펙트럼 면적이 250 이하였으나 베트남산의 경우 최대 스펙트럼 면적이 350 이상의 결과를 나타내었다.

본 실험에 사용한 한국산과 베트남산의 마른 멸치의 경우 화학적 분석결과와 근적외선 분석결과를 종합하여 볼 때 1440nm 영역 즉 수분의 함량이 원산지 판별에 있어서 가장 중요한 인자라고 생각되어 1440nm 영역의 peak 면적을 계산한 후 검량식 작성에 사용하였다.

본 실험에서는 통계처리를 위해 Principal Component Regression(PCR)법을 사용하였다. PCR 법은 원래의 스펙트럼을 그대로 사용하여 통계처리 하는 것이 아니라 스펙트럼을 어떤 기준 스펙트럼과 Scaling Factor로 재설정하여 검량하는 방법이다. 이러한 측정방법을 이용하여 검량식을 작성한 결과(Fig.7) 이때의 상관계수 R이 0.989으로 높은 상관성을 보였으며 이때의 검량식 표준오차(SEE)는 5.463, 표준예측오차(SEP)는 6.067으로 나타났다.

검량식을 작성한 후 원산지에 따른 군집형태를 나타낸 결과를 Fig.8에 나타내었다. 군집형태를 살펴볼 때 한국산과 베트남산의 마른 멸치의 경우 군집형태에 있어서 일정한 경계를 나타내고 있다.

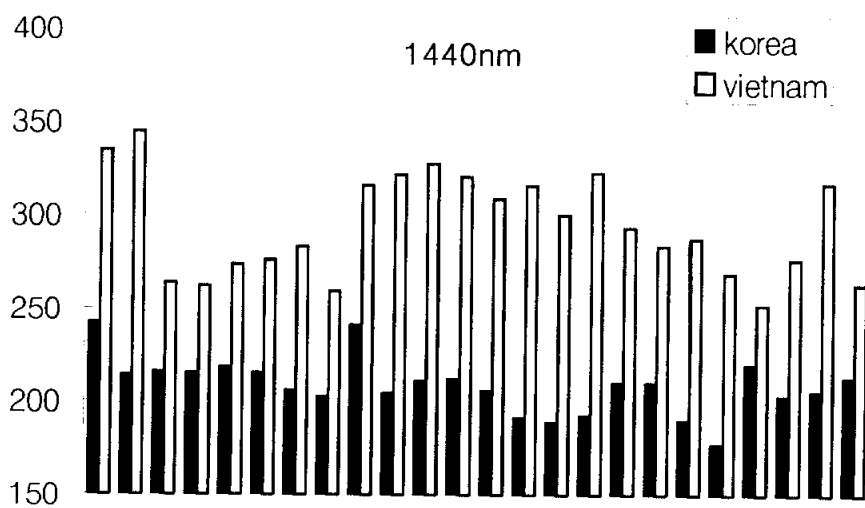


Fig. 6. Difference of peak area between korean anchovies and vietnamese anchovies at 1440nm

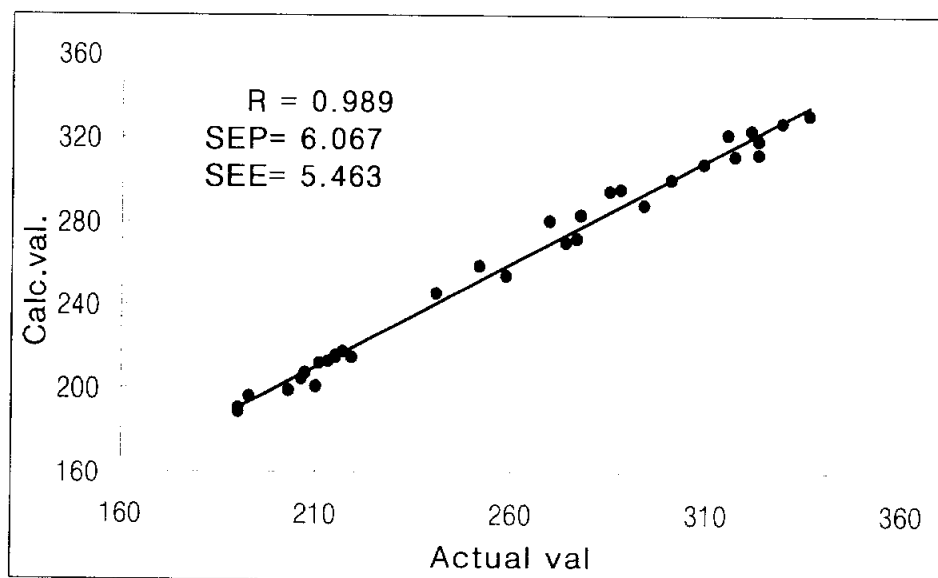


Fig. 7. Principal component regression curves of korean and vietnamese dried anchovies

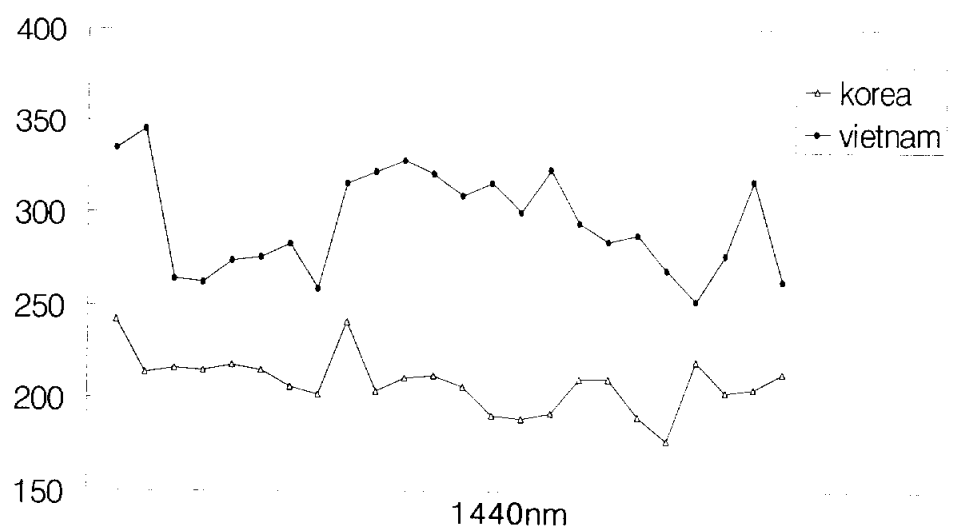


Fig. 8. Result of discriminant analysis between korean and vietnamese anchovies by near infrared spectral absorbance.

이상의 결과를 종합해 볼 때 한국산 마른 멸치와 베트남산 마른 멸치의 원산지 판별 가능성을 살펴본 결과 본 실험에 사용한 마른 멸치에 있어서는 수분의 함량에 따른 peak의 면적 차이를 이용하여 원산지 판별이 가능한 것으로 보여진다.

2. 오징어연골과 오징어 연골 chitin의 근적외선 분광분석

Chitin의 원료가 되는 오징어연골과 chitin의 일반성분 분석결과를 Table.3에 나타내었다. 오징어연골의 경우 단백질 함량이 12.1%로 나타났고 오징어연골을 이용하여 제조한 chitin의 단백질 함량은 8.1%로써 chitin 제조시 탈단백 과정에 의해 단백질의 감소가 나타난 것으로 보여지고 있다.

오징어 연골과 오징어연골 chitin을 분말형태로 분쇄한 다음 근적외선 분광분석기로 1100nm~2500nm의 측정범위에서 매 2nm 간격으로 총 64회 scan하여 근적외선 스펙트럼을 측정한 결과를 Fig.9에 나타내었다. 측정한 스펙트럼을 살펴보면 2050nm, 2180nm 영역에서 오징어 연골의 peak가 오징어연골 chitin에 비해 다소 높게 나타났다. 이 두 파장영역은 근적외선 영역에서 단백질 중의 N-H 결합에 의한 흡수 파장대로서 오징어 연골의 경우 오징어 연골 chitin에 비해 단백질 함량이 높아 해당 peak가 높게 나타난 것으로 생각되어진다.

Table 3. Ingredients and yield of squid pen and chitin from squid pen(dry basis)

Composition	Squid pen	Chitin
Yield(%)	100	36.1
Moisture(%)	5.6	3.7
Nitrogen(%)	12.1	8.1
Crude ash(%)	0.8	0.4

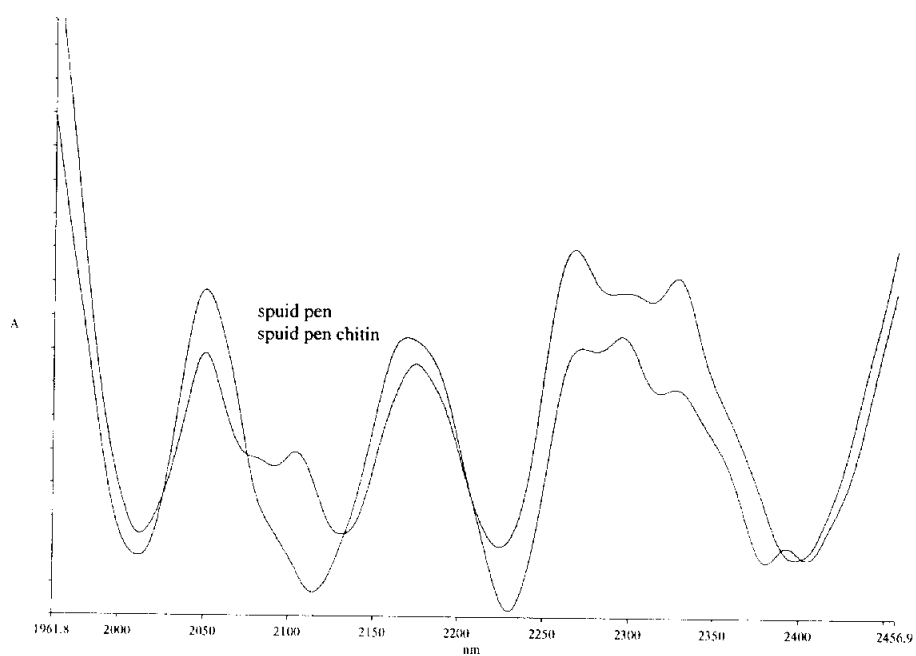


Fig. 9. Near infrared spectra of squid pen and squid pen chitin

2-1. 오징어 연골의 탈단백 조건에 따른 근적외선 분광분석

1) 가열시간의 영향

상대적으로 단백질 함량이 높은 오징어 연골을 이용한 chitin의 제조에 있어서 단백질의 제거를 위해 탈단백 과정을 거치게 되는데 본 실험에서는 탈단백 조건을 가열온도에 따른 변화와 가열시간에 따른 변화를 근적외선 분광분석법으로 확인하기 위해 가열온도를 25℃와 100℃로 하여 제조한 chitin과 가열시간을 1시간과 3시간으로 제조한 4가지 종류의 chitin을 사용하여 근적외선 분석용 시료로 사용하였다.

25℃에서 가열시간을 1시간과 3시간으로 제조한 chitin의 측정 스펙트럼을 Fig.10에 나타내었다. 두 측정 스펙트럼을 살펴보면 일정한 영역에서 동일한 흡수 peak를 나타내고 있다. 1500nm 영역과 2180nm 영역의 peak를 살펴보면 두 영역은 N-H 기에 의한 주요 흡수 영역으로써 단백질에 기인한 파장이다. 두 영역의 가열시간에 따른 단백질 제거를 살펴보면 25℃ 실온에서 1시간 탈단백 처리한 것 보다 3시간 처리한 경우가 스펙트럼상에서 피크가 다소 감소한 것을 나타내고 있다.

이러한 결과를 토대로 동일한 조건을 이용하여 제조한 chitin을 여러번 측정한 결과에서도 25℃ 실온에서 3시간 탈단백 처리한 chitin이 좀더 높은 단백질의 감소를 나타내었다. 좀더 자세한 변화를 살펴보기 위해 Fig.11과 같이 1차 미분한 경우를 살펴보면 역시 3시간 처리한 것이 좀 더 좋은 단백질 제거효과를 나타내었다.

이상의 결과로 미루어 보아 25℃ 실온으로 탈단백 처리하는 경우에는 탈단

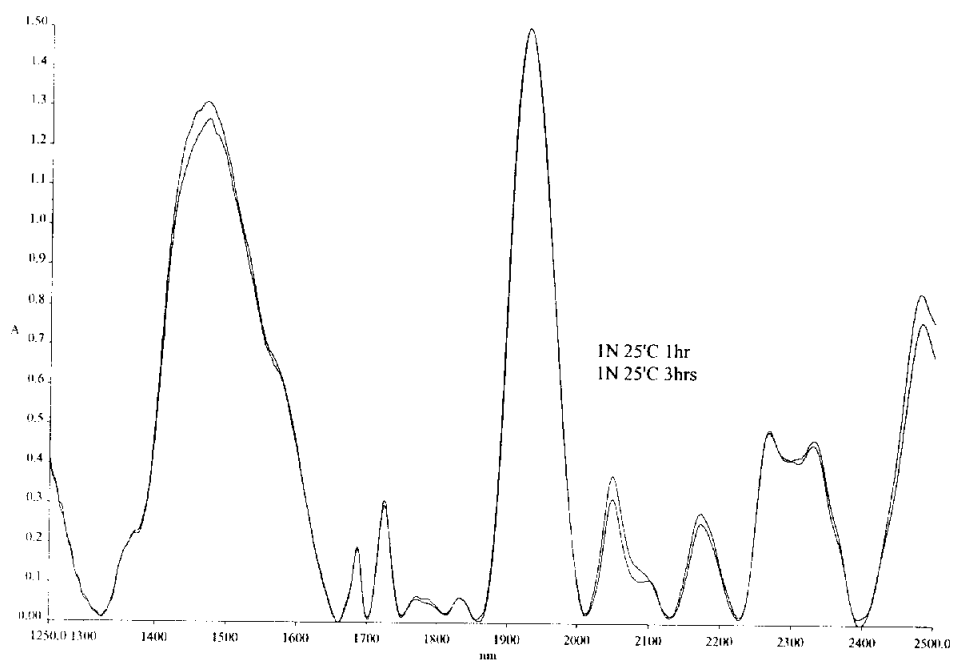


Fig. 10. Near infrared spectra of squid pen chitin in deprotein processing*

*** Deprotein processing condition ; 1N NaOH soln., 25°C**

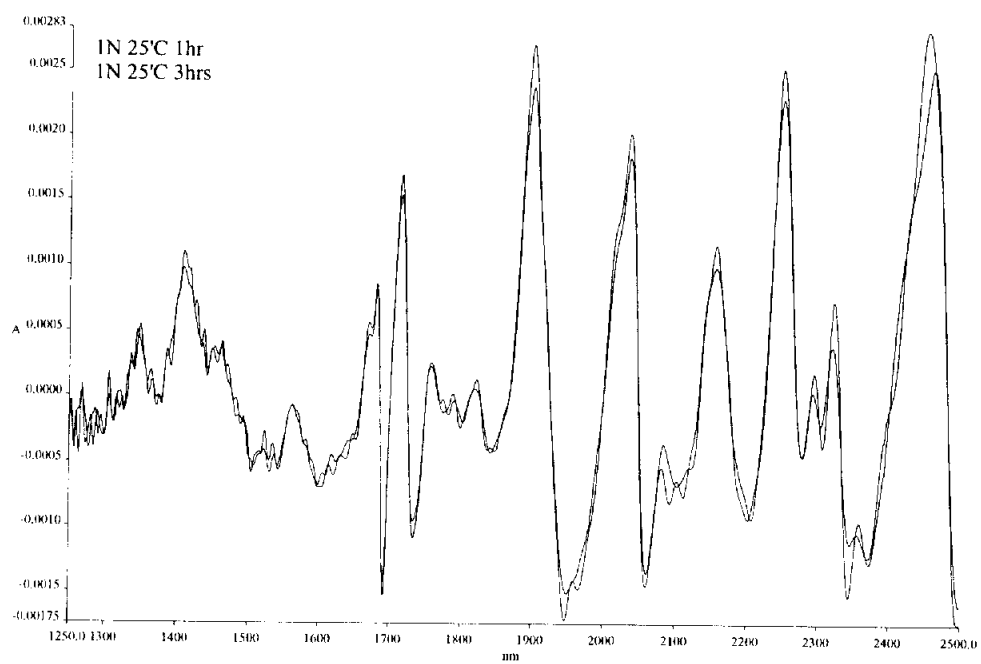


Fig. 11. First derivative near infrared spectra of chitin.

백 시간을 3시간으로 처리하였을 때 좀 더 좋은 탈단백 효과를 얻을 수 있는 것으로 나타났다.

2) 가열온도 및 시간의 영향

가열온도에 따른 변화를 살펴보기 위해 100℃에서 1시간과 3시간으로 제조한 chitin을 측정된 결과를 Fig.12에 나타내었다. 측정결과를 살펴보면 N-H 기의 주요 흡수영역인 1500nm, 2050nm 영역을 살펴보면 100℃ 1시간으로 탈단백 처리한 chitin이 좀더 좋은 탈단백 효과를 나타내었다. 좀 더 자세한 변화를 알아보기 위해 Fig.13과 같이 1차미분한 경우 역시 100℃로 가열하여 1시간 탈단백 처리한 chitin이 좀더 좋은 탈단백 효과를 얻을수 있는 것으로 나타났다.

3) 탈단백 과정중 가열온도 및 가열시간의 최적 조건의 확인

탈단백 과정에 있어서 실온으로 탈단백 처리한 chitin과 100℃로 탈단백 처리한 chitin을 이용하여 가장 좋은 조건을 확인하기 위해 측정된 결과를 Fig.14에 나타내었다. 측정 결과를 살펴보면 전체적으로 100℃로 가열처리한 chitin에 비해 25℃로 실온에서 탈단백 처리한 chitin이 N-H 주요흡수 영역에서 흡광도의 크기가 작게 나타나고 있는데 이는 탈단백 과정에 의해 단백질의 제거의 영향으로 인해 N-H 흡수영역의 peak가 작게 나타나는 것으로 보여진다.

위의 결과에서 더 자세한 차이를 알아보기 위해 1차 미분한 결과와 2차 미

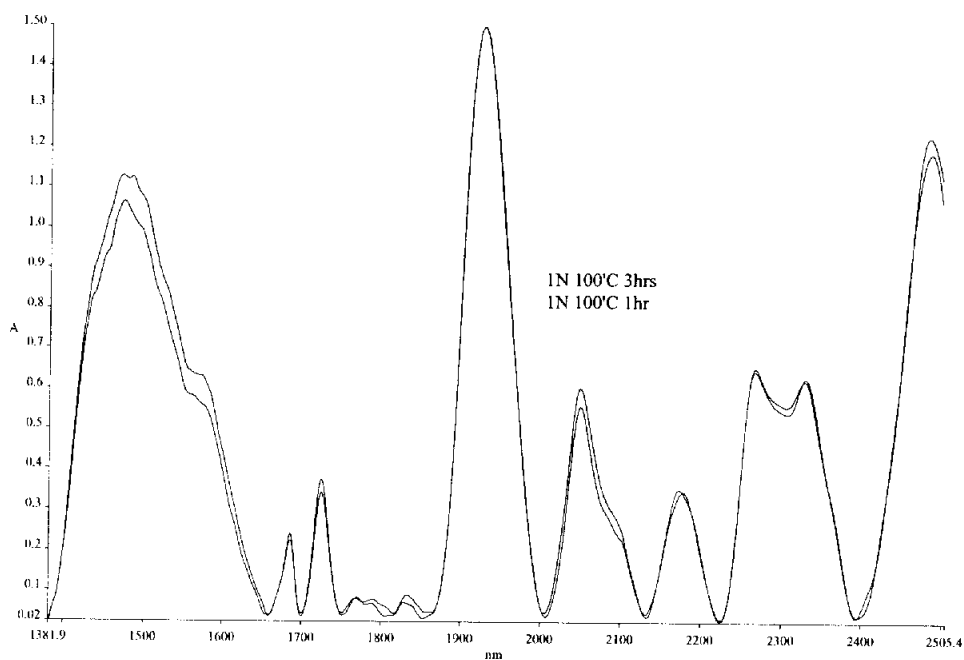


Fig. 12. Near-infrared spectra of squid pen chitin in deprotein processing*

***Deprotein processing condition ; 1N NaOH soln., 100°C**

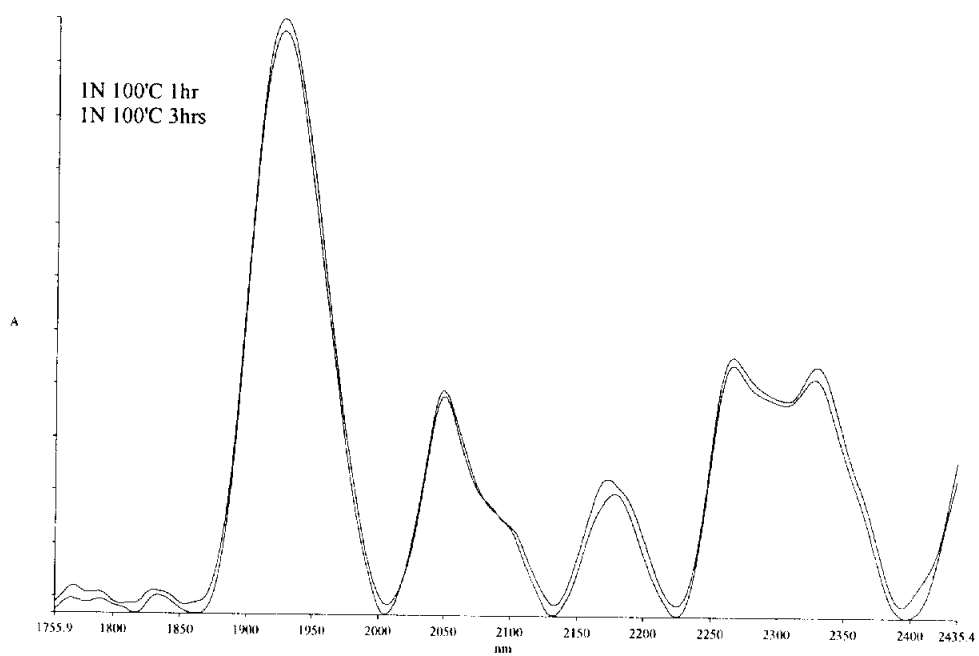


Fig. 13. First derivative near infrared spectra of chitin

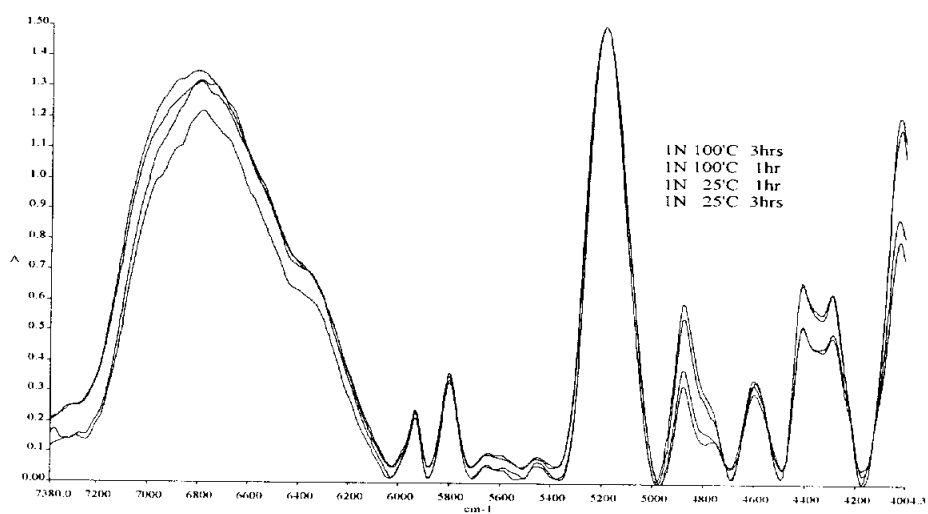


Fig. 14. Near infrared spectra of squid pen chitin from various conditions.

분한 결과를 Fig.15 와 Fig.16에 나타내었다. 1 , 2차 미분한 결과를 살펴보면 있을 때 단백질의 주요 흡수 영역에서 25℃에서 3시간 탈단백 처리한 chitin이 가장높은 단백질의 감소를 나타내었다.

Table.4와 같이 이상의 실험결과를 종합하여 보면 탈단백 과정에서 가열온도의 경우에는 25℃에서 실온 처리한 것이 100℃에서 가열처리한 경우보다 높은 단백질의 제거를 나타내었으며 동일한 온도내에서도 25℃ 1시간 처리한 경우 보다는 3시간 처리한 것이 더 좋은 효과를 나타내었다. 100℃로 가열 처리할 경우에는 3시간 처리한 것보다는 1시간 처리한 것이 더 낮은 단백질 제거 효과를 나타내는 것으로 근적외선 분광분석법을 이용하여 확인할 수 있었다.

3. 근적외선 분광분석법을 이용한 전분의 측정

3-1. 전분의 정성분석

근적외선 분광법을 이용한 연육의 첨가물의 실험을 위해 연육의 등급에 따른 일반성분 분석 결과를 Table.5에 나타내었다. 감자전분을 근적외선 분광분석기로 측정한 결과 1400nm대역과 1780nm대역 그리고 2100nm, 2300nm 대역에서 특징적인 peak를 나타내었다. Czuehajowska등(1992)과 Sxxzodrak 등(1992)은 보리, 전분 및 β -D-Glucans에서 amylose 함량분석을 행한 결과 전분과 단백질 사이 상호 관계된 파장은 2060nm, 2096nm, 2132nm, 2282nm, 2335nm 였다고 보고하였다.

전분의 종류에 따른 근적외선 분광분석 결과를 알아보기 위해 Fig.17 와 같이 밀가루와 감자전분을 측정한 결과 두 시료의 측정스펙트럼을 살펴보면 전

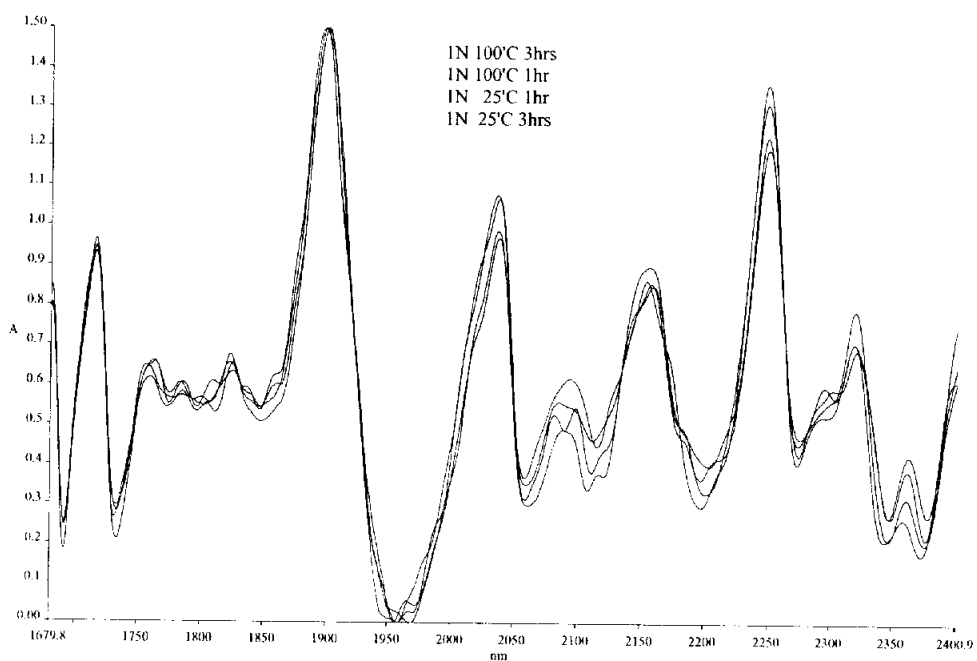


Fig. 15. First derivative near infrared spectra of squid pen chitin from various conditions.

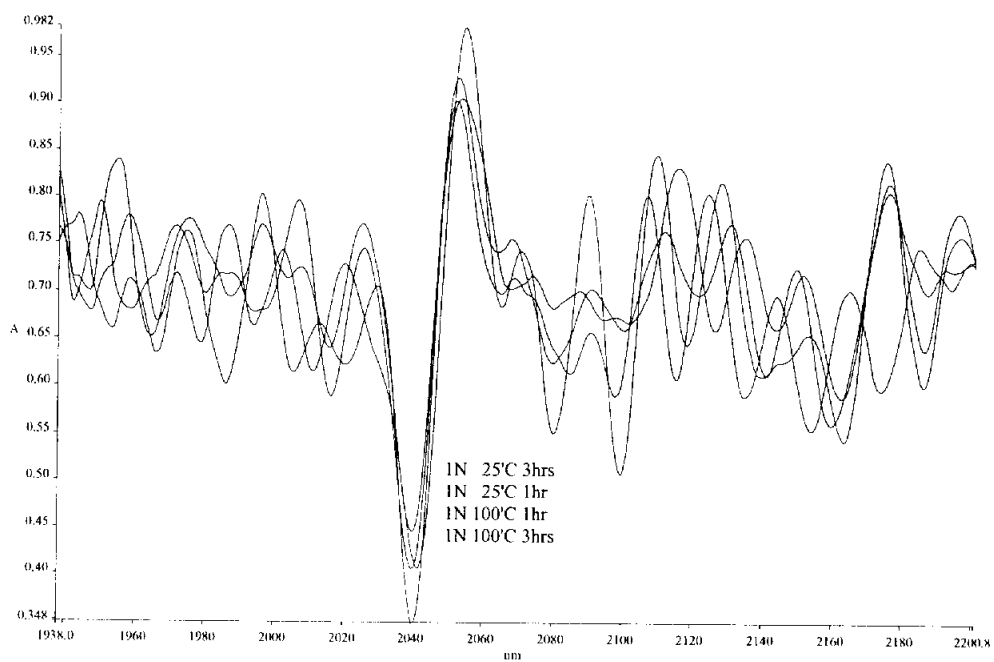


Fig.16. Second derivative Near-infrared spectra of squid pen chitin were prepared various conditions

Table 4. Compared near-infrared spectra peak area of squid pen chitin

Deprotein processing condition	Corredted area by NIR analysis
1N 25℃ 1hr	16.6049
1N 25℃ 3hrs	13.7845
1N 100℃ 1hr	28.1331
1N 100℃ 3hrs	30.5895

Table 5. Chemical composition of Lyophilized Alaska pollack(%)

	Grades		
	FA	A	RA
Crude Protein	62.71	60.64	62.51
Crude Lipid	1.34	1.67	1.71

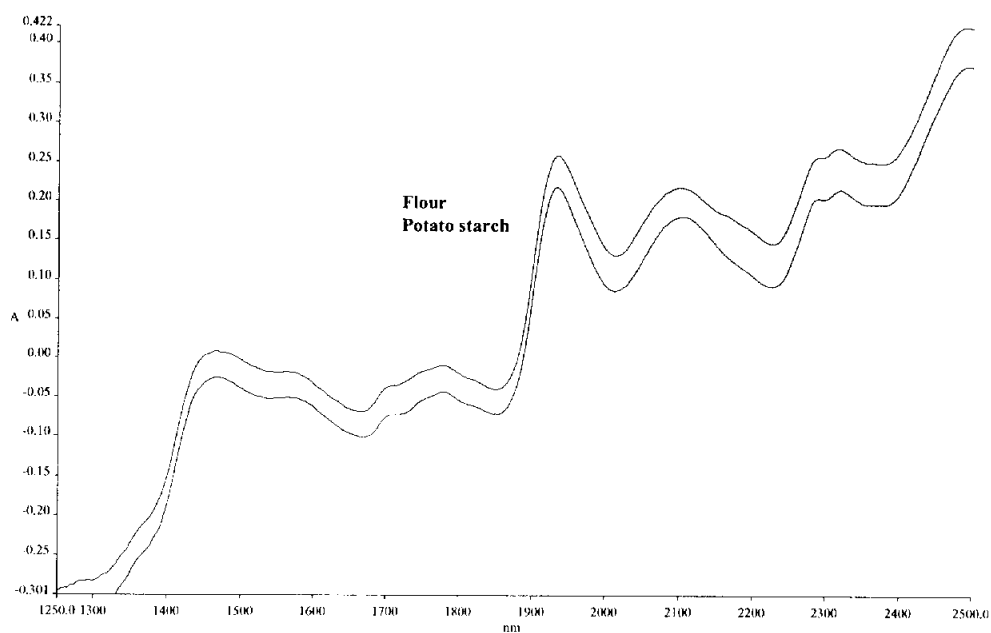


Fig.17. Near-infrared(NIR) spectra of Flour and Potato starch

분의 측정 스펙트럼과 밀가루의 측정 스펙트럼이 동일한 형태의 측정 결과를 나타냄을 알 수 있었다. 두 측정 스펙트럼에서 공통적으로 나타난 2100nm 영역에서의 peak는 2+O-H def. +C-H def의 결합에 의한 관능기의 흡수과장으로써 전분의 고유 흡수과장대와 일치하고 있으며 2300nm 영역 또한 C-H str.+C-H str.의 흡수영역으로써 전분의 고유 흡수과장대와 일치하는 결과를 나타내고 있다. 이러한 전분의 종류에 따른 차이를 좀더 알아보기 위해 2차 미분한 결과를 Fig.18 에 나타내었다. 두 시료의 스펙트럼상의 차이를 좀더 자세히 알아보기 위해 2차 미분한 결과에서도 두시료간의 차이가 없는 것으로 나타났으며 전분의 고유 흡수영역이외에는 특이적인 peak가 나타나지 않는 것으로 보여진다. 이러한 결과를 살펴볼 때 전분의 종류에 따른 근적외선 분광 분석법상의 차이가 나타나지 않음을 알 수 있었다.

3-2. 근적외선 분광분석법을 이용한 surimi 및 전분첨가 surimi의 측정

전분은 어묵의 탄력성보강 및 증량재로써 가장 광범위하게 사용하는 부원료이며 탄력의 증강, 증량의 효과가 있기 때문에 대부분의 시판어묵에 전분이 사용되어지고 있다.

근적외선 분광분석법을 이용하여 어묵의 전분함량의 측정과 분석 가능성을 알아보기 위해 Fig.19 와 같이 전분을 첨가하지 않은 연육과 전분을 첨가한 연육을 측정한 결과를 살펴보면 두 시료간에 특별한 스펙트럼의 차이가 나타나지 않는 것으로 나타났다. 1450nm, 1950nm 대역에서 큰 peak가 공통적으로 나타나고 있는데 이 흡수 영역은 O-H 기를 갖는 결합기들이 나타나는 흡수



Fig.18. Second derivative Near-infrared spectra of Flour and Potato starch

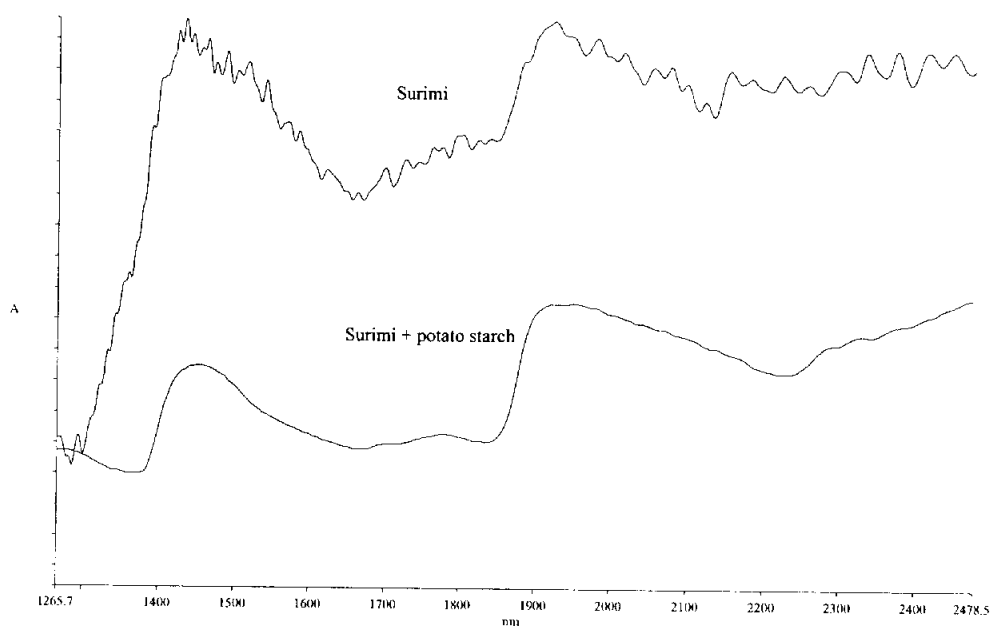


Fig.19. Near-infrared(NIR) spectra of Alaska pollack and Potato starch mixed Alaska pollack

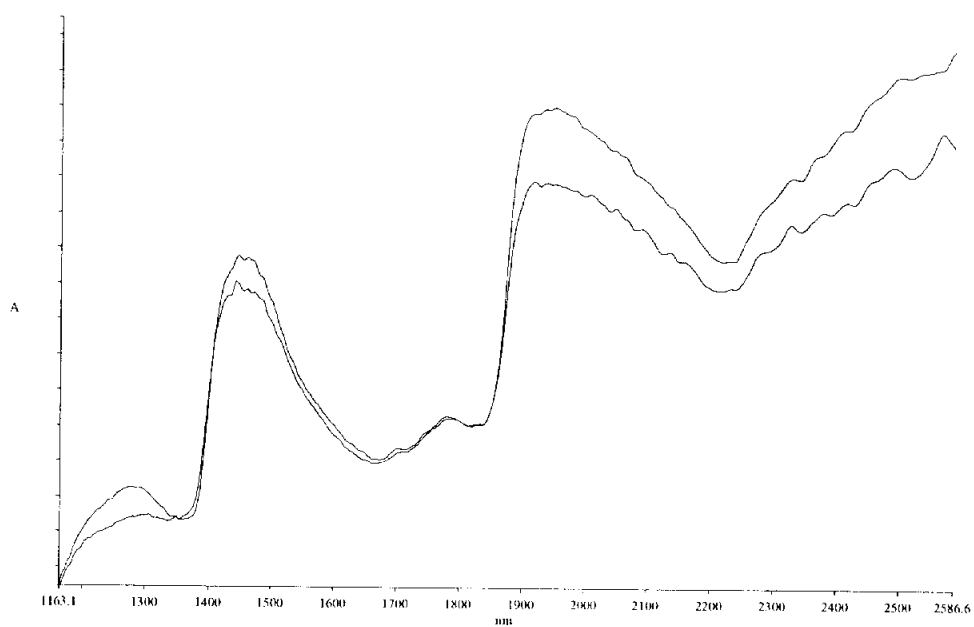
과장영역으로써 연육의 경우 수분의 영향에 따른 O-H기로 보여지며 전분을 첨가한 연육의 경우 수분과 전분이 서로 O-H 결합을 가지므로 스펙트럼상에서 구별이 어려워 보인다.

수분의 영향을 최소화하고자 연육을 동결건조기(Vacuum Freezer Dryer, SFDSM12, Samwon Freezing Engineering Co.)로 동결건조한 후 측정용 시료로 사용하였다. 전분 함량 차이에 따른 측정 가능성을 알아보기 위해 연육에 전분의 함량을 일정량씩 증가한 시료를 측정한 결과는 Fig.20에 나타내었다.

이 스펙트럼에서 1450nm 부근과 2000nm 부근에서 특징적인 스펙트럼상의 차이가 나타나고 있다. 이 스펙트럼은 연육의 고유 흡수 과장대를 제거하고 전분 혼합물내의 전분함량 변화만을 스펙트럼상으로 나타낸 것으로 1450nm의 peak는 O-H Str. first overtone에 의한 흡수과장대로써 전분의 peak로 보여지고 있으며 2000nm 부근에서 나타난 peak 역시 2+O-H def. +C-H def.에 의한 흡수영역으로써 역시 전분의 peak로 보여지고 있다. 이 두영역은 Fig.17에 나타난 감자전분의 고유 흡수영역과도 일치하는 결과를 나타내고 있다. 두 시료모두 동일한 영역에서 흡수의 peak가 나타나고 있으나 1450nm, 2000nm 영역에서 흡광도의 차이를 나타내고 있는데 이는 전분함량의 차이에 의해 나타나는 것으로 보여진다. 두 시료를 측정한 결과 전분의 함량변화에 따른 근적외선 분석상에서의 정량가능성을 확인할 수 있었다.

3-3 전분의 정량분석

근적외선 분광분석법을 이용한 연육의 함량차이에 따른 정량 가능성을 알아



**Fig. 20. Near-infrared(NIR) spectra of different starch
contented Lyophilized Alaska pollack**

보기 위해 전분의 함량을 5-8%로 제조한 시료를 근적외선 분광분석법을 이용하여 측정한 후 전분의 함량변화에 따른 스펙트럼상의 상관성을 알아보기 위해 한 결과를 Table 6에 나타내었다.

1450nm, 1950nm영역에서의 peak면적을 근적외선 분광분석 소프트웨어를 사용하여 계산한 결과 1440nm 영역에서 전분함량이 5-8% 증가할 때 스펙트럼의 면적도 17.7831에서 20.6015로 함량에 따라 증가하였으며 1940nm 영역에서도 역시 전분의 함량변화에 따라 스펙트럼 면적도 24.6665에서 34.2210으로 증가하는 결과를 나타내었다.

이를 살펴볼 때 전분의 함량 차이에 의해 일정하게 스펙트럼의 면적이 증가하는 결과를 나타내었다. 근적외선에서의 흡수는 결합대와 배음대이기 때문에 띠나비가 증가되어 흡수대 끼리 심하게 중첩되는 현상이 나타나게 되는데 기존의 흡수대 면적이나 흡광도를 이용한 단순한 회귀분석으로는 단순한 화학 조성일 경우를 제외하고 검량이 불가능하다. 따라서 연육의 첨가물의 정량 분석에 있어서는 다변량(Multivariate)회귀분석법을 사용하였을 경우 전분의 정량이 가능할 것으로 보여진다.

4. 근적외선 분광법을 이용한 연육중의 sorbitol의 분석

4-1. Sorbitol의 정성 분석

동결 연육에는 단백질의 동결변성을 방지하기 위해 설탕 또는 sorbitol을 5~8% 정도 첨가하고 있다. 포도당, 설탕, sorbitol 등 당류는 O-H기를 가지고 있다. 이러한 sorbitol의 구조적 특징은 연육의 수분의 O-H기와와의 구분을

Table 6. NIR spectrum area in different starch contented
(1450nm, 1950nm)

	starch contents	corrected area
A 1450nm	5%	17.7831
	6%	18.1056
	7%	19.3564
	8%	20.6015
A1950nm	5%	24.6665
	6%	25.5783
	7%	32.5681
	8%	34.2210

위해 수분의 영향을 최소화 하여 sorbitol을 첨가하지 않은 연육과 sorbitol을 측정된 결과를 Fig.21에 2차 미분하여 나타내었다.

고기갈이만한 연육의 경우에는 2050nm, 2170nm, 2180nm 영역에서 특이적인 peak가 나타나고 있는데 이는 N-H결합에 기인한 흡수영역으로써 단백질에 관련된 파장으로 생각된다. Robertson등(1989)의 연구에 의하면 1200nm, 1510nm, 2050nm, 2180nm 영역에서 전형적인 단백질 peak가 나타난다고 보고되었다.

Sorbitol의 측정스펙트럼을 살펴보면 2100nm 영역에서 두 시료간의 차이가 나타나고 있는데 이 영역은 O-H str.+O-H def의 진동 영역으로써 주로 FOH와 Sucrose의 흡수파장대로써 sorbitol의 분석에 있어서 주요한 특정 peak로 생각되어진다.

4-2. Sorbitol의 정량분석

근적외선 분광분석법을 이용한 sorbitol의 정량분석 가능성을 알아보기 위해 sorbitol의 함량을 고기갈이한 연육 100g 기준으로 6~9%로 첨가하여 제조한 연육을 이용하여 근적외선 분광분석법으로 측정된 결과를 Fig.22에 나타내었다.

분석결과를 살펴보면 1580nm, 2100nm 그리고 2300nm영역에서 특징적인 peak가 나타나고 있다. 이 영역은 sorbitol의 고유 측정스펙트럼과 동일한 형태를 나타나고 있다. sorbitol의 함량이 증가할수록 즉 2100nm 영역에서 농도가 증가할수록 2100nm 영역의 흡광도도 증가하는 결과를 나타내었다. 이를

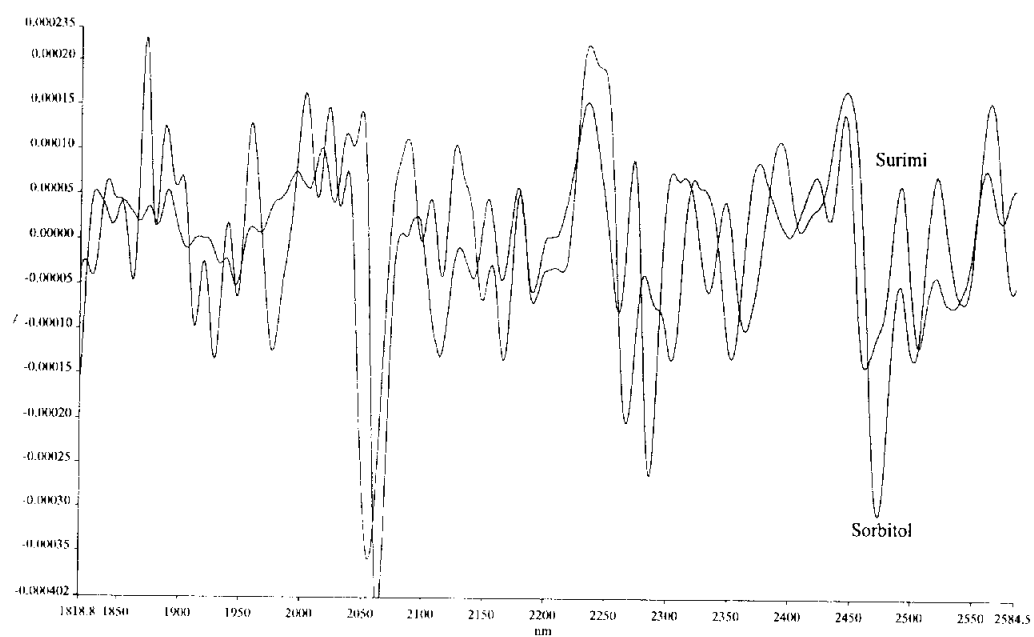


Fig. 21. Second derivative Near-infrared spectra of Surimi and Sorbitol

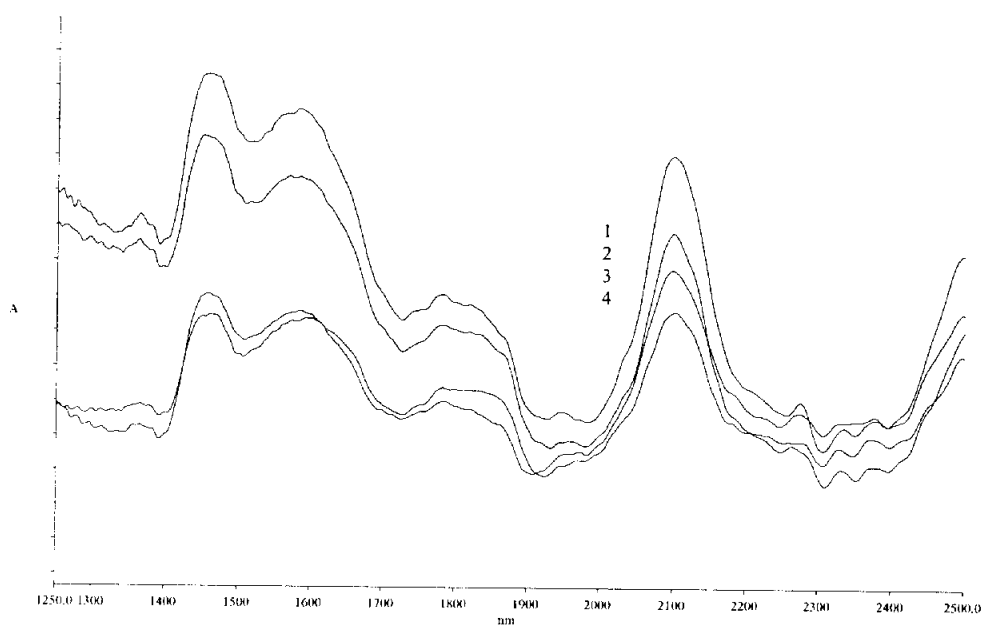


Fig. 22. Near-infrared(NIR) spectra of different sorbitol contented Lyophilized Surimi

살펴 볼 때 함량의 증가에 따라서 sorbitol의 흡수 영역도 상대적으로 증가하는 결과를 나타내었다.

좀 더 자세한 정량 가능성을 알아보기 위해 근적외선 소프트웨어를 사용하여 함량이 조절된 시료를 측정된 결과를 이용하여 2100nm 영역의 peak 면적을 계산한 결과(Table. 7) sorbitol 함량이 6~9%로 증가할수록 2100nm 영역의 peak 면적도 7.0833~10.6417로 증가함을 보였다. 이를 살펴볼 때 근적외선 분광분석법을 이용한 sorbitol의 정량 분석에 있어서 주요 측정 영역의 확인과 정량가능성을 확인할 수 있었다. 이상의 결과를 살펴볼 때 정확한 검량식 작성용 시료와 검증용 시료를 이용하여 통계적 분석처리를 이용할 경우 연육의 sorbitol의 정량이 가능한 것으로 보여진다.

Table 7 . NIR spectrum area in different sorbitol contented
(2100nm)

A2100nm	sorbitol contents	corrected area
	6 %	7.0833
	7 %	8.5382
	8 %	9.5078
	9 %	10.6417

결론 및 요약

근적외선 분광분석법을 이용한 수산가공품의 품질평가 가능성을 검토 조사하고자 마른 멸치의 원산지 판별 가능성, chitin 제조시의 탈단백 공정 최적조건 결정 및 동결 연육 중의 함유 침가물 분석 가능성 등에 대한 일련의 실험을 행한 결과를 요약하면 다음과 같다.

한국산 마른 멸치와 베트남산 마른 멸치의 근적외선 스펙트럼을 측정하여 비교한 결과 1440nm 부근에서의 차이가 가장 크게 나타났으며 이는 두 시료간의 수분함량 차이에 의한 것으로 생각된다. 1440nm에서 나타난 peak의 면적을 PCR법으로 통계처리하여 검량식을 작성한 결과 한국산은 250 이하에서 군집을 이루었고 베트남산은 350 이상에서 군집을 이루는 것으로 나타나 멸치에 함유된 특정성분의 함량차이가 있을 경우 원산지 판별도 가능할 것으로 판단되었다.

Chitin 제조시 탈단백 과정의 최적조건 설정을 위하여 가열시간 및 가열온도의 효과를 시료중의 잔류된 단백질 함량을 근적외선 분광분석법으로 측정하여 알아본 결과 단백질의 N-H에 의해 나타난 1500nm, 2050nm에서의 peak 변화가 뚜렷하게 확인되었으며 탈단백 효과가 클수록 peak의 흡광도도 낮아지는 것으로 나타났다. 오징어 연골로부터 chitin을 제조할 시에는 실온에서는 처리시간 1시간 보다는 3시간이, 100℃에서는 처리시간 3시간보다는 1시간이 더 나은 탈단백 효과를 보이는 것으로 나타났다.

연육중의 전분 분석을 위하여 측정한 연육의 근적외선 스펙트럼에서는 1450nm와 1950nm의 peak가 주요 분석인자로 확인되었으며 전분의 함량에 따라 peak 면적도 일정한 비율로 변화하는 것으로 나타나 이를 통하여 전분의 정량 가능성이 확인되었다. 그리고 sorbitol의 경우는 1580nm, 2100nm, 2300nm에서 특정 흡수 peak가 나타났으며 특히 2100nm peak의 경우 sorbitol 함량이 증가함에 peak의 면적도 함께 증가하여 이것으로 sorbitol 정량에 이용할 수 있을 것으로 생각되었다.

이상의 결과에서 수산가공품 품질평가를 위한 근적외선 분광분석법의 이용은 상당히 효과적인 방법이 될 것으로 예상되며 기기의 성능 개선이나 분석목적에 맞는 시료의 준비 및 측정을 위한 기술적 자료 등이 지속적 연구를 통하여 축적된다면 기존의 화학적 분석방법을 충분히 대체할 수 있으며 이에 따른 분석시간의 절약으로부터 파생되는 경제적 효과도 매우 클 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

- Albanell, E. and G. Caja. 1993. Determination of chemical composition of carob pods by near infrared reflectance spectroscopy. J. Sci. Food Agric., 63, 309-312.
- Bae, Y.M. and I.C. Seong. 1996. Measurement of fat content in potatochips by near infrared spectroscopy. Korean J. Food sci. tech., 28, 916-921.
- Burks, C.S. and F.E. Dowell. 2000. Measuring fig quality using near infrared spectroscopy. J. Stored Products Research., 36, 289-296.
- Bruce, A. and A. Schumann. 1991. Comparison of near infrared spectroscopy calibration methods for the prediction of protein, oil and starch in maize grain. J. Agric. Food Chem., 39, 883-886
- Baer, R.J. and J.F. Frank. 1983. Composition analysis of whey powders using near infrared diffuse reflectance spectroscopy. J. Food Sci., 48, 959-961.
- Begley, T.H. and E.L. Begley. 1984. Determination of sodium chloride in meat by near infrared diffuse reflectance spectroscopy. J. Agric. Food Chem., 32, 984-987.
- Chung, H.I. and H.J. Kim. 2000. Near infrared spectroscopy principles. Anal. Sci, & Tech., 13, 1A-14A.

- Chen, H. and B.P. Marks. 1997. Evaluating previous thermal treatment of chicken patties by visible/near infrared spectroscopy. *J. Food Sci.*, 61, 753-756.
- Clurzak, E.W. and R.P. Torlini. 1986. Determination of particle size of pharmaceutical raw materials using NIR spectroscopy. *Spectroscopy.*, 1, 7-16.
- Czuchajowska, Z., J. Szczodrak and Y. Pomeranz. 1992. Characterization and estimation of barley polysaccharides by near infrared spectroscopy, I. Barleys, Starches and β -D-Glucans. *Cereal Chem.*, 69, 413.
- Dull, G.G. 1978. Nondestructive quality evaluation of agricultural products. *J. Food Prot.*, 4, 50-58.
- Harloff, J. and G. Arnold. 2001. Near infrared reflectance spectroscopy of bulk analog materials for planetary crust. *Planetary and Space Science*, 49, 191-211.
- Huxsoll, C.C. and H.R. Bolin. 1995. Near infrared analysis potential for grading raisin quality and moisture. *J. Food Sci.*, 60, 176-180.
- Isaksson, T. and T. Naes. 1992. Nondestructive NIR and NIT determination of protein, fat, water in plastic wrapped homogenized meat. *Applied Spectroscopy*, 46, 1685-1697.
- Kwon, H.S. 1999. Discrimination of oil seeds according to geographical origin using near infrared reflectance spectroscopy. *J. Korean Oil*

Chem. Soc., 16, 21-24.

- Lanza, E. 1983. Determination of moisture, protein, fat and calories in raw pork and beef by near infrared spectroscopy. *J. Food Sci.*, 48, 471-474.
- Liu, Y. and Y.R. Chen. 2001. Two dimensional visible/near infrared correlation spectroscopy study of thawing behavior of frozen chicken meats without exposure to air. *Meat Sci.*, 57, 299-310.
- Michel, P. and Q. Paul. 1997. Whey changes during processing determined by near infrared spectroscopy. *J. Food Sci.*, 62, 475-479.
- Robert, C.A., and K. Graffis. 1987. Quantification of mold in hay by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Dairy Sci.*, 70, 2560.
- Robert, P. and B. Dominique. 1987. Multivariate analysis applied to near infrared spectra of milk. *Anal. Chem.*, 59, 2187-2191.
- Ripoche, A. and A.S. Guillard. 2001. Determination of fatty acid composition of pork fat by fourier transform infrared spectroscopy. *Meat Sci.*, 58, 299-304.
- Sarah, C. and E. Onno. 1998. Characterization of the sources of variation affecting near infrared spectroscopy using chemometrics methods. *Anal. Chem.*, 70, 3198-3201.
- Sanchez, M.S. and E. Bertan. 2000. Quality control decisions with near infrared data. *Chem. Intel. Lab.*, 53, 69-80.

- Thorsten, H.K. 2001. One hundred percent online identify check of pharmaceutical products by near infrared spectroscopy on the packaging line. *Euro. J. Pharm. Biopharm.*, 51, 9-16.
- Urban, W. and S. Christina. 2001. NIR measurements of moisture changes in foods. *J. Food Eng.*, 47, 303-312.
- Williams, P.C. and K.H. Norris. 1985. Determination of protein and moisture in wheat and barley by near infrared transmission. *J. Agric. Food Chem.*, 33, 239-244.
- Zeng, W.Z. and H.Z. Zhang. 1996. Direct determination of the starch content in gravy by near infrared spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1460-1463.