

돈육의 신선도 변화에 따른 형광 특성 연구

김재곤 · 김문성¹ · 조병관*

충남대학교 바이오시스템기계공학전공, ¹미농무성 농업연구청

Fluorescence Based Spectral Assessment of Pork Meat Freshness

Jaegone Kim, Moon S. Kim¹, and Byoung-Kwan Cho*

Department of Biosystems Machinery Engineering, Chungnam National University

¹Environmental Microbiology and Food Safety Laboratory, Agricultural Research Service, United States

Department of Agriculture

Abstract

Development of sensitive nondestructive measurement methods for meat freshness is necessary to ensure safe distribution of meat products in the continually growing meat market. Fluorescence spectral technology has been shown to be a promising measurement method for quality and safety evaluation of food and biological materials. In this study, fluorescence excitation-emission spectral characteristics of pork meats were measured and used to determine optimal fluorescence spectral factors for freshness evaluation. Chemical and microbial indicators of freshness were correlated with fluorescence emission spectra at optimal excitation wavelengths using linear regression methods. The coefficient of determination (R^2) and root mean square error of validation (RMSEV) for models to predict the TBARS, TBC, VBN, pH of pork loin were 0.694 (0.188), 0.823 (0.417), 0.869 (0.598), and 0.632 (0.131), respectively. The excitation and emission wavebands identified in this study could be used for rapid and nondestructive measurement of pork freshness.

Key words: pork, freshness, fluorescence, nondestructive measurement, food quality, food safety

서 론

돈육 소비의 증가와 함께 신선하고 안전한 돈육의 생산과 유통에 관한 관심이 높아지고 있다. 최근 돈육으로 인한 식중독 발생은 2010년 15건으로 2009년 8건보다 증가한 것으로 보고 되는 등(KFDA, 2010) 안전성과 밀접하게 관련된 돈육의 신선도에 대한 높은 관심에도 불구하고 유통 현장에서의 돈육의 신선도 관리 및 검증은 미흡한 실정이다. 소비자가 돈육을 구입할 때 신선도를 판단할 수 있는 기준은 제품에 명시된 유통기한과 육안 확인 등으로 제한되어있다. 현재 표준화된 육류 신선도 측정 방법으로는 화학적 방법과 미생물학적 방법이 있다. 화학적 방법은 지방산패도 측정, 휘발성 염기태 질소 측정, pH 측정 등이 있으며 미생물학적 방법은 육류에 포함되어 있는 미생물의

수를 측정해서 신선도를 판별하는 방법이다(Byun, 2000). 이러한 기존 측정방법은 시료 파괴적이며 측정과정이 복잡하며 시간이 오래 걸리고, 측정자의 숙련도에 따라 값의 변이가 크다는 단점이 있다. 이러한 화학적, 미생물학적 방법 등은 소비자들이 직접 현장에서 돈육의 신선도를 판단하는데 이용되기 어렵다. 따라서 본 연구에서는 육류의 신선도를 비파괴적이며 간편하고 빠르게 측정할 수 있는 기술을 개발하기 위해 돈육의 형광 특성을 이용하여 신선도를 측정하는 방법을 개발하고자 하였다. 형광분광 기술은 분광학의 한 분야로써, 특정 파장의 광을 시료에 조사한 후 방출되는 형광을 이용하여 시료의 상태를 분석하는 기술이다. 이는 특정 화합물의 분자들 안에 있는 전자들이 자외선, 가시광선 같은 조사된 빛을 흡수하여 들뜬 상태가 되고, 다시 바닥 상태로 되돌아 갈 때, 분자들이 빛을 방출 하는 형광특성을 이용하게 된다(Skoog et al., 2008). 형광 방출 특성을 측정할 수 있는 형광 스펙트로스코피는 높은 감도와 분자 선택성 때문에 식품의 화학적, 물리적 특성을 판단하기에 적합하다(Anderson et al., 2009). Christensen et al.(2003)은 형광 스펙트로스코피 계측과 키모메트릭스(chemometrics) 방법을 이용하여 가공된 치즈의 품질을 판별하는 연구를 진행하였다. Wold & Mielnik(1999)는 우육

*Corresponding author: Byoung-Kwan Cho, Department of Biosystems Machinery Engineering, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Yuseong-gu, Daejeon, 305-764, Korea

Tel: +82-42-821-6715; Fax: +82-42-823-6246

E-mail: chobk@cnu.ac.kr

Received June 22, 2012; revised August 25, 2012; accepted August 25, 2012

의 결합조직(connective tissue)에 관한 연구를 위해 형광 스펙트로스코피를 이용하였으며 320 nm, 380 nm의 조사광으로 우육 지방과 결합조직을 구분 할 수 있다고 보고 하였다. Veberg et al.(2006)은 칠면조와 돈육의 형광 특성을 이용하여 지방산패도 값을 예측할 수 있다고 보고 하였다. 하지만, 돈육 형광 특성을 이용하여 돈육의 화학적 및 미생물학적 신선도 지표 값과 비교하는 연구는 수행되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 돈육의 저장기간에 따른 신선도 측정을 위해 형광분광 신호를 측정하고 화학적 및 미생물학적 측정결과와 비교하여 그 값을 예측하고자 하였다.

재료 및 방법

시료의 준비

시료는 대전 축산물 유통센터에서 당일 도축한 돈육의 삼겹살 부위와 등심부위를 구입하여 사용하였다. 저장기간(1 일, 2 일, 3 일, 5 일, 7 일, 9 일, 12 일, 15 일)에 따른 신선도를 측정하기 위해 가로, 세로, 높이 약 1 cm로 분쇄하여 지퍼백에 넣어 4°C에서 목표기간 동안 시료를 저장한 후 차례대로 냉동 하였다가 실험당일에 상온에서 2 시간 동안 해동하고 필요 시 추가로 전처리를 실시한 후 실험에 사용 하였다.

pH 측정

저장된 삼겹살과 등심 각각 4 g을 36 mL 증류수에 넣어 1분간 vortex 한 후 1 분 동안 분쇄기로 균질화 하였다. 균질화 된 용액은 원심 분리 하여 거름종이(Whatman No. 1, Whatman plc, Maidstone, UK)로 여과하였고 여과액을 pH-meter(3-star pH, Thermo INC., Waltham, MA, USA)를 이용하여 pH 값을 측정하였다.

휘발성 염기태 질소(Volatile Basic Nitrogen, VBN) 측정

저장된 돈육의 단백질 변패 측정은 Conway 미량 확산법(Conway, 1940)에 따라 측정하였다. 시료 4 g과 증류수 36 mL을 50 mL conical tube에 넣어 1분간 vortex 한 후 1 분 동안 분쇄기로 균질화 하였다. Conway unit 내실에는 0.01 N 붕산용액 1 mL과 Conway 지시약(0.066% methyl red + 0.066% bromocresol green in EtOH) 100 uL를 넣었다. 외실에는 50% K₂CO₃ 용액과 여과 액을 넣은 후 37°C에서 120분간 방치한 후 내실에 0.01 N Hcl을 넣어 열은 분홍색이 될 때까지 투입된 HCl 양을 측정하였다.

지방산패도(Thiobarbituric acid reactive substance, TBARS) 측정

TBARS 측정은 532 nm에서 전처리된 용액의 흡광도를 측정하여 시료 1 kg에 대한 malonaldehyde(MDA)의 양을 계산하였다(Brewer et al., 1992). 시료 5 g과 10% trichloroacetic

acid(TCA)용액 20 mL과 7.2% BHT(Butylated Hydroxy Toluene) in ethanol 용액 100 µL을 50 mL conical tube에 넣어 1 분 동안 분쇄기를 이용하여 분쇄시켰다. 분쇄시킨 용액을 원심분리기로 충분히 하여 상등액만을 취하였다. 충분히 된 상등액을 거름종이(Whatman No. 1)로 여과한 2 mL과 20 mM TBA 용액 2 mL를 test tube에 넣어 90°C에서 20분간 반응 시킨 후 분광광도계(UV-1650, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

미생물 총균수(Total bacteria count, TBC) 측정

돈육에 존재하는 미생물 총균수의 측정은 식품공전의 측정 방법을 이용하였다(KFDA, 2007). 멸균봉투에 균질화된 시료 5 g과 autoclaved 0.85% NaCl 45 mL을 넣어 멸균봉투를 봉쇄하였다. 멸균봉투 안의 시료는 균질화 시키기 위하여 200 rpm의 교반 배양기(Shanking incubator, Jeio Tech Co., Korea)에서 30 분 동안 교반 하였다. 균질화된 시료 1 mL과 0.85% NaCl 용액 9 mL을 conical tube에 넣어 연속 희석법을 통하여 희석하였다. 희석법에 의해 희석된 용액을 vortex한 후 500 µL을 채취한 후 준비된 TCA(40 g/L, Tryptic soy agar, TSA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 고체배지의 표면 가운데에 분주하였다. 도말 평판 법으로 화염 멸균한 spreader를 이용하여 배지에 스며들 때까지 문질러 주었다. 문질러준 배지를 37°C의 배양기에서 40 시간 동안 배양한 후 형성된 colony 수를 계수하고 시료 1 g당 집락형성단위(Colony forming unit, Log₁₀CFU/g)를 계산하였다.

돈육의 형광 특성 측정

돈육의 저장기간별 형광 특성의 변화는 형광 스펙트로스코피(FS-2, Scinco Co., Daejeon, Korea)를 이용하여 측정하였다. 형광 스펙트로스코피는 150 W의 제논 램프(Xenon lamp), 조사광 단파장화장기(Excitation monochromator), 방출광 단파장화장기(Emission monochromator), 광자증폭 튜브(Photomultiplier tube, PMT) 검출장치 등으로 구성되어 있다. 제논 램프에서 방출된 빛은 조사광 단파장화장기를 통과하여 시료에 조사된다. 조사된 빛은 90°로 반사되어 방출광 단파장화장기를 통과하여 시료의 형광 특성을 광도 값으로 표현한다. 형광 스펙트로스코피의 측정 가능한 파장영역은 200 nm-900 nm 이다. 돈육의 저장기간별 형광변화 측정을 위해 큐벳에 돈육을 직접 넣어 측정하였다. Precision Cell의 지름은 2 cm 이며 실험에 사용된 시료의 양은 2 g 이었다. 돈육의 저장기간별 형광변화측정을 위해 형광 방출-조사 매트릭스(Emission-Excitation matrix, EmEx matrix) 측정을 실시 하였다. 형광 방출-조사 매트릭스는 조사광 설정을 변화시키며 특정 조사광에 대한 방출파장을 연속적으로 측정 함으로서 돈육의 형광특성을 전체적으로 파악할 수 있으며 형광 변화가 가장 뚜렷이 나타나는 영역

을 찾을 수 있다. 실험에 실시된 조사광의 범위는 단백질 등 신선도와 밀접한 관련이 있는 성분의 형광특성을 잘 나타내주는 영역인 330 nm-450 nm로 설정하였으며, 방출파장의 범위는 350 nm-660 nm이었다.

데이터 분석법

돈육의 화학적 및 미생물학적 분석

측정된 화학적 및 미생물학적 분석을 위해 다중비교 분석(multiple comparison analysis)을 실시하였다. 다중비교 분석을 위해 SNK(Student-Newman-Keuls)분석을 이용하였으며, 사용된 소프트웨어는 SPSS(version 8, SPSS, USA)이다.

형광 분석

돈육의 신선도를 측정할 수 있는 최적 파장을 검출하기 위해 방출-조사 매트릭스 측정을 실시한 후 ANOVA 분석법을 이용하여 분석하였다. 저장기간별로 방출-조사 매트릭스를 측정하여 각 조사파장 및 방출파장의 ANOVA F값을 분석하였다. F값이 클수록 해당 조사광 및 방출파장에서의 형광이 저장기간에 따른 변화가 심하다는 것을 나타내게 된다. 저장기간 동안 형광이 변화하는 범위가 큰 형광 파장을 선정한 후 돈육의 신선도 예측을 위해 각각의 형광방출 강도 값을 이용하여 화학적 및 미생물학적 신선도 측정값을 예측할 수 있는 성형회귀 모델을 개발하였다.

결과 및 고찰

pH 측정

저장기간에 따른 돈육의 pH 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 등심의 경우 pH 변화는 저장일 1-9 일까지는 pH 값이 5.32에서 5.58으로 완만한 증가를 보였다. 하지만 저장기간일 9-15 일에서는 pH가 5.55이상으로 급격히 상승하였다. 삼겹살의 경우 pH 변화는 저장기간이 지남에 따라 전반적인 증가 추세를 보였다. 등심과 달리 저장 7 일까지는 pH 값

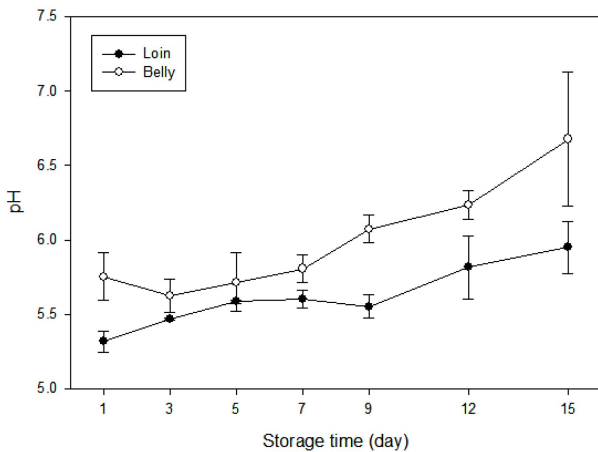


Fig. 1. Change of pH value of pork meats with storage time.

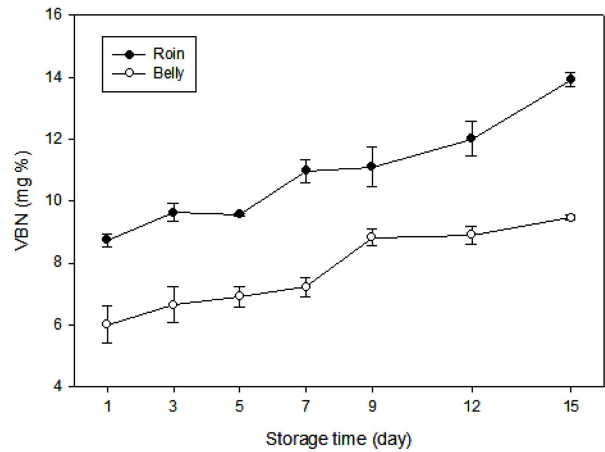


Fig. 2. Change of VBN value pork meat with storage time.

이 5.8로 큰 변화를 보이지 않았지만 9-15 일에서는 pH값이 6.11 이상으로 등심의 경우보다 값이 크게 나타났다.

저장기간이 증가함에 따라 pH가 계속 증가하는 원인은 전해질 해리와 감소, 암모니아의 생성, 단백질 완충물질의 증가 등으로 보고되고 있다(Demeyer et al., 1979). 측정에서 나타난 등심과 삼겹살의 pH 변화 정도가 다른 이유는 두 부위를 이루는 성분의 차이에 의한 전해질 해리, 암모니아 생성 및 단백질 완충물질 생성 속도가 다르기 때문으로 사료된다.

휘발성 염기태 질소(Volatile Basic Nitrogen, VBN) 측정

Fig. 2에 저장기간에 따른 돈육의 VBN 변화를 나타내었다. 등심과 삼겹살 모두 저장일이 증가할수록 계속 증가하는 경향을 보였다. VBN 값은 등심의 경우 저장 5 일 이후 큰 증가폭으로 약 11 mg%까지 상승하였으며 삼겹살의 경우 저장 기간 7 일 이후 큰 증가폭으로 약 9 mg%까지 상승하였다. 저장기간에 따라 VBN 값이 증가하는 원인은 저장 기간 중 근육내의 효소나 미생물이 분비한 효소들에 의해서 주로 단백질이 분해되어 유리아미노산, 핵산관련 물질, 아민류, 암모니아 등의 비단백태 질소 화합물이 생성되기 때문이다. 등심과 삼겹살의 VBN 값의 차이는 단백질 등의 구성 성분 차이 때문으로 사료된다.

지방산패도(Thiobarbituric acid reactive substance, TBARS) 측정

시료의 저장기간에 따른 지방분해산물인 malonaldehyde (MDA) 함량을 보여주는 TBARS 값을 Fig. 3에 나타내었다. 등심의 경우 저장기간 9 일까지 완만한 증가를 보였으며, 저장기간 9 일 이후 TBARS 값의 증가폭이 상대적으로 컸다. 삼겹살의 경우 저장 기간 5 일 이후부터 TBARS 값이 급격히 증가하였다. 등심과 삼겹살의 TBARS 값의 차이는 지방함량 차이에 의한 것으로 사료되며 저장기간이

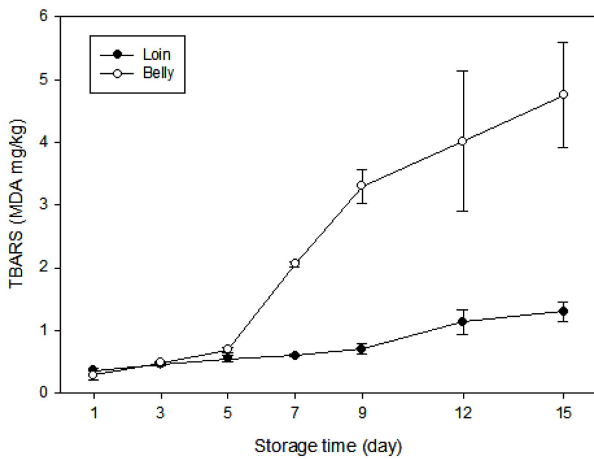


Fig. 3. Change of TBARS value of pork meats with storage time.

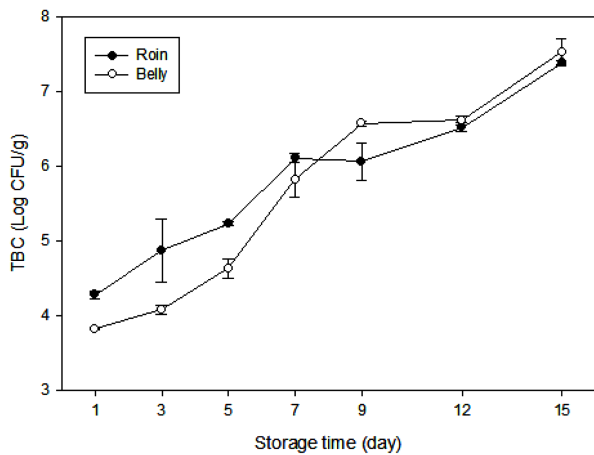


Fig. 4. Change of TBC value of pork meats with storage time.

길어짐에 따라 TBARS 값이 계속 증가하는 이유는 지방이 산화되면서 1차 생성물질인 hydroperoxide가 2차 산화생성물로 분해되며 카보닐 화합물, 알코올(alcohol), 케톤(ketone), 알데히드(aldehyde) 등이 생성되기 때문이다(Brewer et al., 1992; Park & Kim., 2008).

미생물 총균수(Total bacteria count, TBC) 측정

Fig. 4은 돈육의 저장기간에 따른 미생물 총균수를 나타낸 그림이다. 등심과 삼겹살 모두 저장기간이 증가할수록 총균수는 계속 증가하는 경향을 보였다. Egan & Grau (1989)는 8-9 log CFU/g일 때 관능적으로 받아들일 수 없는 부패취가 발생한다고 보고 하였으며, 농림수산식품부(KMAF, 2007)에서는 돈육의 일반 세균수를 7 log CFU/g 이하로 지정하고 있다. 본 실험에서는 등심과 삼겹살 모두 저장기간 12일 이후 그리고 15일 이전에 가식권 영역을 벗어났다. 등심과 삼겹살의 미생물 총균수에 차이가 발생하는 것은 두 부위의 성분 차이로 인해 미생물의 서식 환경

Table 1. Changes of pH, volatile basic nitrogen content (VBN, mg%), Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS, MDA mg/kg), and total bacteria count (TBC, Log CFU/g) of pork loin with storage time.

	Storage time (day)							SEM ¹
	1	3	5	7	9	12	15	
pH	5.32 ^a	5.47 ^{ab}	5.55 ^{ab}	5.59 ^{ab}	5.60 ^{ab}	5.82 ^{bc}	5.95 ^c	0.471
VBN	8.74 ^a	9.58 ^b	9.63 ^b	10.97 ^c	11.11 ^c	12.02 ^d	13.92 ^e	1.302
TBARS	0.36 ^a	0.46 ^{ab}	0.55 ^{ab}	0.60 ^{ab}	0.70 ^b	1.14 ^c	1.30 ^c	0.589
TBC	4.28 ^a	4.88 ^b	5.23 ^c	6.07 ^d	6.11 ^d	6.53 ^e	7.39 ^f	1.007

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

¹ Standard errors of the mean (n=21).

Table 2. Changes of pH, volatile basic nitrogen content (VBN, mg%), Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS, MDA mg/kg), and total bacteria count (TBC, Log CFU/g) of pork belly with storage time.

	Storage time (day)							SEM ¹
	1	3	5	7	9	12	15	
pH	5.62 ^a	5.72 ^{ab}	5.75 ^{ab}	5.81 ^{ab}	6.07 ^{ab}	6.23 ^b	6.68 ^c	0.629
VBN	6.00 ^a	6.66 ^{ab}	6.91 ^b	7.23 ^b	8.82 ^c	8.90 ^c	9.47 ^c	1.143
TBARS	0.29 ^a	0.49 ^a	0.70 ^a	2.05 ^a	3.30 ^c	4.02 ^{cd}	4.75 ^d	1.336
TBC	3.83 ^a	4.08 ^a	4.64 ^b	5.83 ^c	6.58 ^d	6.62 ^d	7.54 ^e	1.164

^{a-c} Different letters within the same row differ significantly ($p < 0.05$).

¹ Standard errors of the mean (n=21).

에서 다소 차이가 발생하기 때문으로 사료된다. 저장기간에 따라 미생물이 분비하는 효소에 의해 단백질이나 지방이 분해되면서 알데히드(aldehyde), 케톤(ketone), 알코올(alcohol), 암모니아(ammonia), 황산화물(sulfur oxides) 등 휘발성 가스가 발생하게 되어 신선도가 떨어지게 된다.

돈육의 화학적 미생물학적 측정의 다중 비교 분석

돈육의 화학적, 미생물학적 변화도 측정의 다중 비교 분석의 결과를 Table 1, 2에 나타내었다. 다중 비교 분석은 SNK분석법을 이용하여 분석 하였다. 등심의 경우 pH, TBARS는 각각 3개의 그룹으로 분리가 되었다. VBN과 TBC의 경우 각각 5개와 6개의 그룹으로 분리되었다. 삼겹살의 경우 pH, VBN은 모두 3개의 그룹으로 TBARS와 TBC의 경우 각각 4개와 5개의 그룹으로 분리되었다.

돈육의 형광 특성 측정

저장기간별 돈육의 형광 특성을 가장 잘 분리 할 수 있는 최적 파장을 검출하기 위하여 방출-조사 매트릭스를 측정 한 결과를 Fig. 5와 6에 나타내었다. 방출-조사 매트릭스 측정의 장점은 지정된 파장의 전 범위에서 시료의 형광 특성을 쉽게 파악할 수 있다는 것이다(Cho & Kim, 2008). 지정된 파장의 범위는 조사광 330 nm-450 nm이며, 방출파장의 범위는 350 nm-660 nm이었다.

등심과 삼겹살 모두 조사광 330 nm, 방출파장 350 nm-

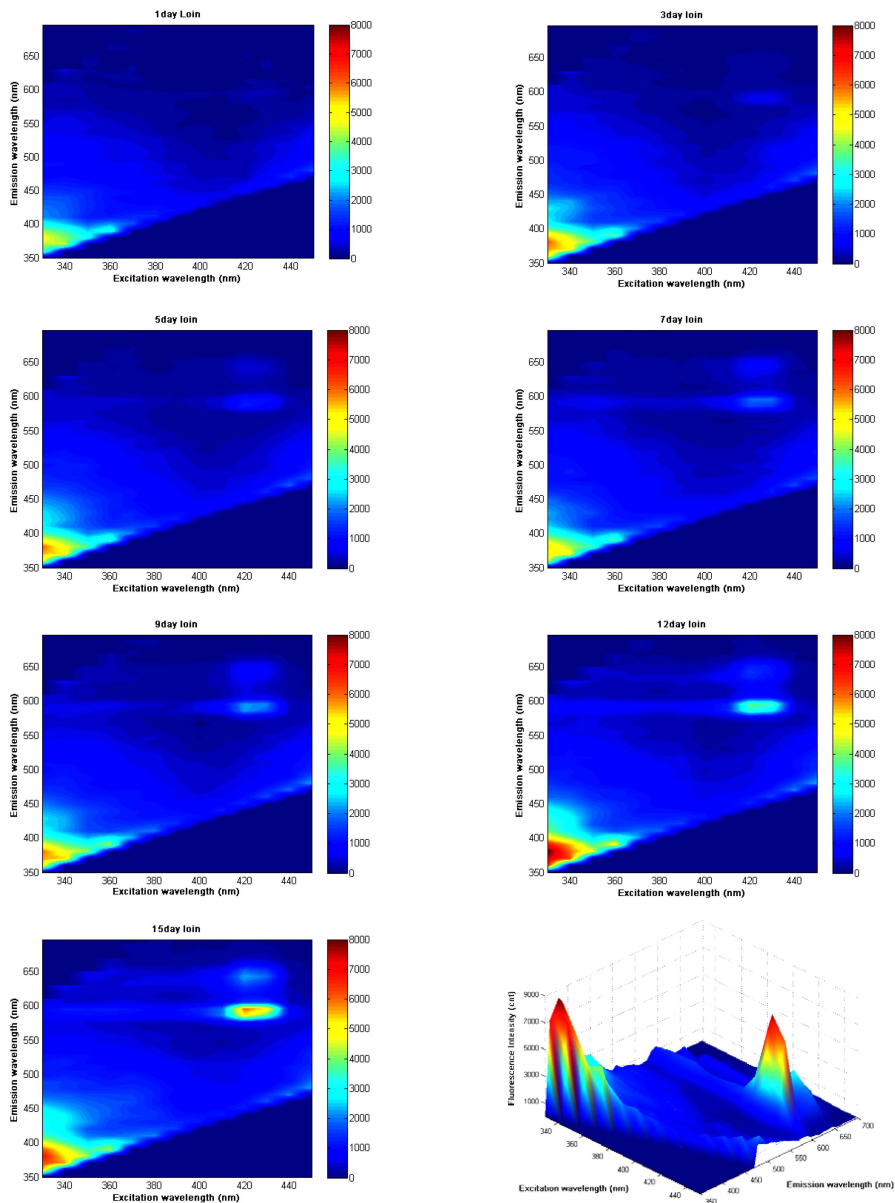


Fig. 5. Fluorescence emission-excitation matrix for pork loin.

450 nm 부분에서 강력한 형광 반응을 볼 수 있었다. 위와 같은 범위에서의 형광반응은 단백질에서 발생하는 형광반응으로 사료된다. 그러나 이 영역대의 형광 변화는 저장기간에 따른 돈육의 형광 변화를 보여주지 못하였다.

저장기간 초기(1-5 일) 조사광 420 nm, 방출파장 570 nm 부분에서의 매우 낮게 발견되었던 형광반응이, 등심과 삼겹살 모두 저장기간 9 일 이후부터는 뚜렷이 증가하는 것으로 나타났다. 등심의 경우 형광광도가 삼겹살의 경우보다 높게 나타났다. 이 파장대에서의 형광이 저장기간에 따라 증가하는 이유는 돈육이 부패되는 과정에서 ZnPP(zinc protoporphyrin)과 PP(protoporphyrin)의 증가 때문으로 사료된다(Durek et al., 2012). Durek et al.(2012)은 porphyrin의

형광 특성은 돈육의 품질과 유통기한을 나타내는 중요한 수단이라고 보고하였으며, Schneider et al.(2008)은 돈육의 PP, ZnPP 증가로 돈육의 저장일수를 구분하는 연구를 실시하였다. 돈육의 저장기간에 따라서 ZnPP, PP가 증가하는 원인은 돈육의 단백질 부패 때문으로 사료된다. 돈육의 단백질은 근형질 단백질, 근원섬유 단백질, 비단백질 질소 화합물 등이 존재하는데, 각각의 단백질에 함유된 헤모글로빈이 부패되면서 ZnPP와 PP가 생성된다. 본 실험결과에서는 삼겹살 보다 등심의 경우에 형광 물질이 더 많이 발생하는데 이는 등심의 경우 전체성분 중 상대적으로 지방성분 비율이 삼겹살의 경우보다 낮고 단백질의 비율이 높아 형광 반응이 더 크게 나타남을 알 수 있었다. 또한 Fig. 5

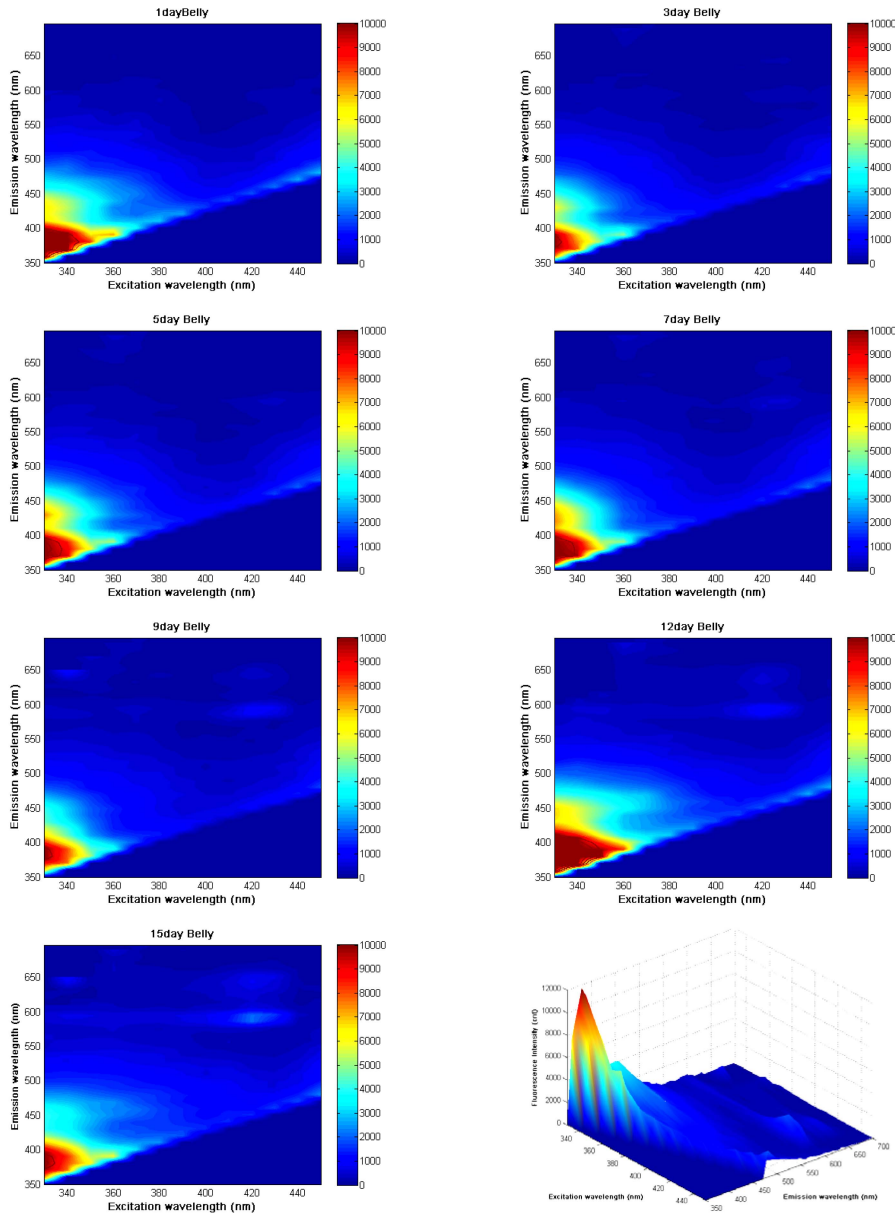


Fig. 6. Fluorescence emission-excitation matrix for pork belly.

와 6의 마지막 그림은 저장기간 15 일이 된 각각의 시료의 형광 반응 그래프를 3D 형태로 나타낸 것이다.

Fig. 7은 저장기간에 따른 방출-조사 매트릭스 분석 결과로 ANOVA 분석을 실시하여 F 값을 도식화한 그림이다. 등심의 경우 조사광 420 nm, 방출파장 569 nm에서, 삼겹살의 경우 조사광 430 nm, 방출파장 636 nm에서 가장 큰 값을 나타내어 이 영역에서 저장기간에 따른 형광 반응 차이가 가장 큰 것으로 나타났다. 이 범위에서 나타나는 형광 반응은 단백질 변패와 관련된 ZnPP와 PP성분의 형광 반응과 일치한다(Durek et al., 2012). 결과적으로 ZnPP와 PP의 형광 특성이 저장기간에 따른 돈육의 신선도와 관련됨

을 확인할 수 있었다.

선형회귀 분석

Fig. 8은 ANOVA F 값에 근거하여 찾은 파장에 대한 돈육의 저장기간별 형광 반응의 변화를 나타낸 그림이다. 등심과 삼겹살 모두 저장기간이 초기에는 낮은 형광 값으로 겹치는 경향이 있으나 저장기간 7 일 이후에는 저장기간별 스펙트럼이 차이가 나는 것을 알 수 있다.

Table 3은 F 값에 근거하여 찾은 저장기간별 가장 변이가 큰 돈육의 형광 값을 이용하여 다중비교분석을 한 결과이다. 등심의 경우 조사광 420 nm, 방출파장 569 nm의 형

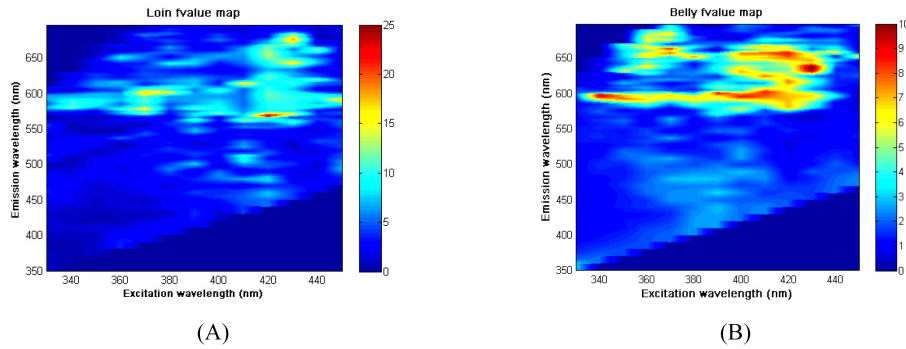


Fig. 7. ANOVA F-value of Em Ex matrices for pork loin(a) and pork belly(b) with storage time.

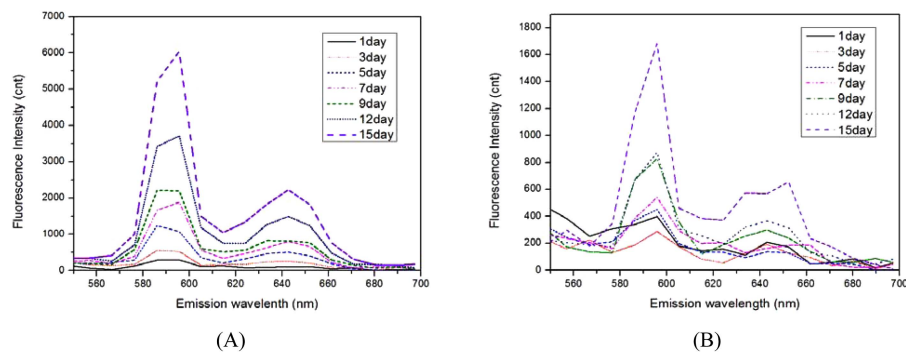


Fig. 8. Changes of fluorescence emission spectra of pork meat with storage time.

Table 3. Changes of pork fluorescence intensity at the optimal excitation and emission wavelengths with storage time.

	Storage time (day)							SEM ¹⁾
	1	3	5	7	9	12	15	
Loin	51.37 ^a	147.70 ^b	217.50 ^{bc}	242.60 ^{bcd}	277.73 ^{cd}	350.40 ^d	546.13 ^e	12.487
Belly	104.47 ^a	111.27 ^a	140.23 ^{ab}	150.20 ^{ab}	270.73 ^{ab}	333.73 ^b	537.00 ^c	12.868

^{a-e} Different letters within the same row differ significantly ($p < 0.05$).

¹⁾Standard errors of the mean (n=21).

Table 4. Results of linear regression analyses between chemical & microbial indicators and pork loin fluorescence intensity measured at excitation of 420 nm and emission of 569 nm.

Measurement	N	Calibration		Validation	
		Rc ^{2 1)}	RMSEC ²⁾	Rv ^{2 3)}	RMSEV ⁴⁾
TBARS	21	0.7482	0.1700	0.6936	0.1875
TBC	21	0.8521	0.3811	0.8229	0.4170
VBN	21	0.8872	0.5558	0.8693	0.5984
pH	21	0.7046	0.1177	0.6325	0.1313

¹⁾Rc²; Result regression's calibration R-square. ²⁾Rv²: Result regression's validation R-square.

³⁾ RMSEC: Root Mean Square Error of calibration. ⁴⁾ RMSEV: Root Mean Square Error of validation.

광 값을 이용하였으며, 삼겹살의 경우 조사광 430 nm 방출 파장 636 nm의 형광 값을 이용하여 분석 하였다. 분석 결과 삼겹살의 경우 3 그룹으로 구분이 가능하였으며, 등심

Table 5. Results of linear regression analyses between chemical & microbial indicators and pork belly fluorescence intensity measured at excitation of 430nm and emission of 636 nm.

Measurement	N	Calibration		Validation	
		Rc ^{2 1)}	RMSEC ²⁾	Rv ^{2 3)}	RMSEV ⁴⁾
TBARS	21	0.6879	0.9737	0.5716	1.1408
TBC	21	0.6478	0.7845	0.5772	0.8596
VBN	21	0.6473	0.7568	0.5520	0.8528
pH	21	0.5509	2.6872	0.4268	0.2925

¹⁾Rc²; Result regression's calibration R-square. ²⁾Rv²: Result regression's validation R-square.

³⁾ RMSEC: Root Mean Square Error of calibration. ⁴⁾ RMSEV: Root Mean Square Error of validation.

의 경우 5 그룹으로 구분이 가능하였다. 이 결과는 특정한 파장 영역의 돈육 형광 값이 저장기간에 따라 유의적인 차이를 보임을 나타낸 것이다.

Table 4와 5는 돈육의 형광 값과 화학적 및 미생물학적 측정값을 이용하여 선형 회귀 분석을 수행한 결과이다. 분석결과 등심의 경우 VBN($R^2=0.869$)과 TBC($R^2=0.823$)가 가장 높은 결정계수를 보였다. VBN값이 가장 높은 결정계수를 나타낸 이유는 ZnPP와 PP물질이 단백질 부패와 직접적으로 연관되기 때문으로 사료된다. 삼겹살의 경우 등심보다 낮은 결정계수를 보였다. 삼겹살을 이용한 선형회귀분석의 경우 전체적으로 등심보다 낮은 결정계수를 보였다. 삼겹살의 선형회귀분석 결정계수가 등심보다 낮은 등심 시료의 90% 이상이 신선도에 가장 큰 영향을 미치는 단백질로 구성된 반면 삼겹살의 경우 살코기 부분과 지방부분이 불균일하게 혼합되어 존재하기 때문에 일관되고 정확한 신선도 측정이 상대적으로 어려운 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 저장기간에 따른 돈육의 신선도 변화측정을 위하여 돈육의 형광 반응을 측정 하였다. 형광 방출-조사 매트릭스를 측정하여 저장기간별 돈육의 부패 정도를 가장 잘 구분 할 수 있는 최적 형광 파장을 찾고자 하였다. 등심의 경우 조사광 420 nm, 방출파장 569 nm, 삼겹살의 경우 조사광 430 nm, 방출파장 636 nm이 저장기간에 따른 신선도 변화 측정을 위해 가장 적합한 파장임을 확인할 수 있었는데 이는 ZnPP와 PP 성분의 형광 반응 영역과 일치하였다. 형광 반응측정에서 얻은 상대 형광강도 값과 돈육의 화학적 및 미생물학적 측정값을 선형회귀법을 이용하여 분석하였다. 선형회귀 분석 결과 등심의 결정계수(R^2)는 TBARS, TBC, VBN, pH가 각각 0.693, 0.822, 0.869, 0.632로 나타났다. 삼겹살의 경우는 TBC값이 0.577로 가장 높은 결정계수를 나타내었다. 본 연구의 결과는 특정 파장 영역의 돈육의 형광 값이 돈육 신선도와 관련된 화학적 및 미생물학적 인자들과 밀접한 관계가 있다는 것을 보여주는 것으로 형광측정기술이 돈육의 신선도를 간편하고 빠르게 그리고 비파괴적으로 예측 할 수 있는 가능성을 보여주었다.

감사의 글

이 연구는 2011년도 충남대학교 학술연구비에 의해 지원되었음.

참고문헌

Anderson C, Wold JP, Engelsen SB. 2009. Auto fluorescence

- spectroscopy in food analysis. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 347-363.
- Brewer MS, Ikins WG, Harbers CA. 1992. TBA values, sensory characteristics and volatiles in ground pork during long-term frozen storage: Effects of packaging. *J. Food Sci.* 57: 558-563.
- Byun JS. 2000. Determination of physicochemical freshness indices in fresh meat. MA. Thesis-Seoul National Univ., Seoul, Korea.
- Cho B, Kim MS. 2008. Study on fluorescence excitation and emission bands for detection of fecal residue on poultry carcasses. *J. Biosystems Eng.* 33: 136-141.
- Christensen J, Povlsen VT, Sørensen J. 2003. Application of Fluorescence Spectroscopy Chemometrics in the Evaluation of Processed Cheese During Storage. *J. Dairy Sci.* 86: 1101-1107.
- Conway EJ. 1940. Microdiffusion analysis and volumetric error. D. Van Nostrand Co., Inc., New York City, NY, USA.
- Demeyer DI, Vandekerckhove P, Moermans R. 1979. Compounds determining pH in dry sausage. *Meat Sci.* 3: 161-164.
- Durek J, Bolling JS, Knorr D, Schwagele F, Schlutera O. 2012. Effects of different storage conditions on quality related porphyrin fluorescence signatures of pork slices. *J. Meat Sci.* 90: 252-258.
- Egan AF, Grau FH. 1989. Environmental conditions and the role of *Brochothrix thermosphacta* in the spoilage of fresh and processed meat. In: *Psychrotroph Microorganisms in spoilage and pathogenicity*. Roberts TA (ed). Elsevier Science & Technology Books, Maryland Heights, MO, USA, pp. 211-221.
- Korean Food and Drug Administration (KFDA). 2007. Food Codes. Moonyoungsa, Seoul, Korea, pp. 694-734.
- Korean Food and Drug Administration (KFDA). 2010. Food and Drug Statistical Yearbook. Seoul, Korea
- Korean Ministry for Agriculture and Forestry (KMAF). 2007. Notification No. 2007-57. Seoul, Korea
- Park CI, Kim YJ. 2008. Effects of dietary mugwort powder on the VBN, TBARS, and fatty acid composition of chicken meat during refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 28: 505-511.
- Schneider J, Wulf J, Surowsky B, Schmidt H, Schwagele F, Schlutera O. 2008. Fluorimetric detection of protoporphyrins as an indicator for quality monitoring of fresh intact pork meat. *J. Meat Sci.* 80: 1320-1325.
- Skoog D, Holler J, Crouch S. 2008. Principles of Instrumental Analysis (6th Edition). Thomson Brooks/Cole, Belmont, CA, USA, pp.365-390.
- Veberg A, Olsen E, Vogt G, Mielnik M, Nilsen AN, Wold, JP. 2006. Front face fluorescence spectroscopy-a rapid method to detect early lipid oxidation in freeze stored minced turkey meat. *J. Food Sci.* 71: 364-370.
- Wold JP, Mielnik M. 1999. Nondestructive assessment of lipid oxidation in minced poultry meat by autofluorescence spectroscopy. *J. Food Sci.* 64: 87-95.