

최 종
연구보고서

젖소 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템 개발

Development of Real-Time Portable Quality

Evaluation System of Cow's Milk

연구기관

성균관대학교

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “젖소 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템 개발에 관한 연구”
과제의 최종보고서로 제출합니다.

2008 년 4 월 24 일

주관연구기관명 : 성균관대학교
총괄연구책임자 : 최 창 현
연 구 원 : 김 용 주
연 구 원 : 김 중 혁
연 구 원 : 남 은 혜
연 구 원 : 이 병 열
연 구 원 : 김 중 덕
연 구 원 : 김 태 형
참 여 기 업 명 : 읍토캡(주)
연 구 원 : 김 재 민
연 구 원 : 김 희 주
연 구 원 : 강 현 정
협동연구기관명 : 한국식품연구원
협동연구책임자 : 김 기 성
연 구 원 : 임 상 동
연 구 원 : 신 미 순
연 구 원 : 노 해 원

요 약 문

I. 제 목

젖소 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템 개발

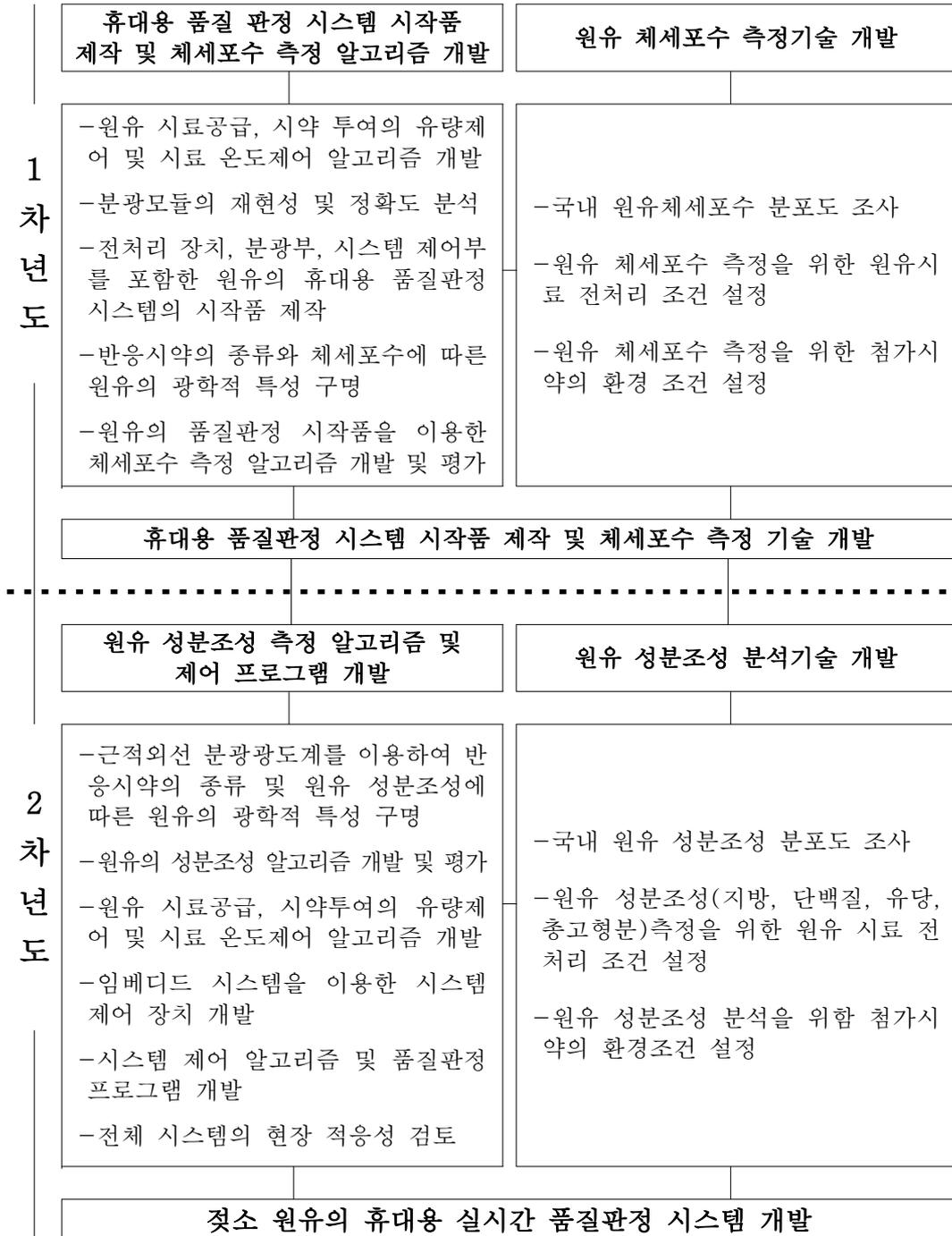
II. 연구개발의 목적 및 필요성

국내의 낙농산업은 타 식품산업에 비해 비교적 짧은 역사 속에서 급속한 성장을 이룩하였다. 국내 경산우의 산유량은 1995년에는 6,427 kg/두, 1999년에는 7,247 kg/두, 2000년에는 7,355 kg/두로 지속적인 생산량의 증가를 보이고 있으며, 연평균 소비량도 2~3 %정도로 지속적인 증가를 보이고 있다(한국낙농육우협회, 2002). 그러나 우유 생산량과 소비량이 지속적인 증가를 보이는 반면, 값싸고 품질이 우수한 수입 우제품의 지속적인 증가로 인해 우유의 자급률은 오히려 하락하여 국내산 우유의 수급 불균형현상을 초래하고 있다(국립수의과학검역원, 2004). 그러므로 국내 우유의 수급률을 조절하고 우유의 국제 경쟁력을 높이기 위해서는 고품질 우유의 생산이 필요한 실정이다.

현재 시행되고 있는 원유의 품질측정은 여러 젖소로부터 수집하여 혼합된 원유의 샘플을 이용하여 전수조사가 아닌 표본조사에 의존하고 있으므로 품질이 낮은 젖소의 원유를 선택적으로 제거하기가 어렵고 다른 원유 시료와 혼합되어 전체적인 품질 저하를 초래하게 된다. 그러므로 고품질 우유 생산을 위해서는 착유 현장에서 실시간 원유의 품질요인을 측정할 수 있는 젖소 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템이 필요한 실정이다.

따라서 본 연구는 자동으로 우유 시료의 공급, 반응 시약투여, 시료 온도제어 및 혼합 등의 시료 전처리와 우유 시료의 광학적 특성을 이용한 체세포수, 지방, 단백질, 유당, 총고형분의 비파괴 품질측정이 가능한 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템을 개발하고자 수행되었다.

III. 연구개발 내용 및 범위



IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

스펙트럼 전처리 및 품질판정 프로그램

본 연구에서는 광원의 산란 현상을 보정하기 위해 스펙트럼을 안정화 시키는 분산 보정(MSC), 표준정규화(SNV & Dtr.)와 1차 미분 및 2차 미분이 가능하도록 전처리 프로그램을 개발하였다. 또한 자체적으로 부분최소자승법(PLS)을 이용한 품질판정 프로그램을 개발하여 원유 시료의 스펙트럼 측정과 동시에 전처리와 품질판정이 가능하도록 스펙트럼 전처리 및 품질판정 프로그램을 개발하였다. 품질판정 프로그램은 사용자가 원하는 크기의 정하여 전체 영역을 대상으로 원하는 성분값과 가장 상관관계가 높은 과장영역을 선정하도록 개발하여 품질분석 및 전문 지식이 없는 사용자도 편하게 사용이 가능하도록 개발하였다. 또한 전처리 및 품질판정 프로그램은 상호 연관되어 작동이 가능하도록 개발하여 원시 스펙트럼 및 사용자가 원하는 전처리 상태를 선택하면 자동으로 품질판정 모델을 개발할 수 있도록 설계하였다. 그러므로 본 연구에서 개발된 스펙트럼 전처리 및 품질판정 프로그램은 현재 사용되는 가시광선/근적외선의 예측모델 개발을 위하여 다양한 분야에서 사용이 가능하며, 또한 다양한 통계의 모델 개발 분야에서도 편리하게 응용이 가능할 것으로 판단된다.

휴대용 분광분석기

본 연구에서 개발된 원유의 품질측정을 위한 휴대용 분광분석기는 광원, 시료측정용 셀, 광프로브, 광검출기를 포함하여 시스템의 인터페이스 장치 및 제어 장치와 시료의 전처리 장치들로 구성하였다. 휴대용 원유의 품질측정을 위한 휴대용 분광분석기의 개발 기술은 현재 근적외선 분광분석법이 사용되는 농업과 식품 등의 다양한 분야에 적용이 가능하며, 특히 FTA에 따른 수입품의 안정성 및 원산지 판별에 유용하게 사용될 것으로 판단된다. 또한 휴대용 분광분석기는 현장에서 실시간 품질평가 및 기초 분석에 사용이 가능하고 장비의 가격이 비교적 저렴한 장점까지 있어 해외에서 수입되는 고가의 장비를 대체할 수 있는 방안이 될 것으로 판단된다.

비례미분적분(PID) 제어를 이용한 온도 제어

본 연구에서 우유 시료의 온도 유지를 위해 개발된 PID 제어는 사용자가 원하는 온도를 설정하면 열전소자와 On/off 제어를 이용하여 열전소자의 전압을 공급하고 끊어주는 방법으로 자동으로 적정온도를 유지하도록 개발하였다. 이러한 온도제어 방법은 크게 인공지능 빌딩 및 자동차의 적정온도 유지를 위하여 적용이 가능하며, 특히 현재 활발한 연구가 진행되고 있는 태양열 에너지를 이용한 난방 분야에 응용이 가능할 것으로 판단된다.

시료의 자동 혼합 장치

현재 이화학적인 분야에서 사용하는 시료의 혼합 방법은 주로 기계식 교반 장치나 마그네틱바를 혼합 시료에 담고 회전하는 방법을 사용하고 있는 이는 사용자가 수동으로 작동해야하며, 관련 장비가 있어야 사용이 가능한 단점이 있다. 그러므로 어떤 경우에는 사용자가 교반을 위하여 손으로 흔드는 방법, 유리막대로 젓는 방법 등을 사용하는데 이러한 혼합 방법은 현장에서 실시간 품질 측정을 위해 사용이 불가능한 단점이 있으며, 시료 처리에 관한 전문 지식이 필요하다. 그러므로 본 연구에서는 실시간 우유와 반응 시약의 혼합을 위해 자동화된 혼합 장치를 개발하였으며, 이는 현장에서 휴대하여 혼합할 수 있는 장점이 있어 휴대용 품질측정 분야 외에 현장에서 시료와 시약을 혼합하는데 적용이 가능할 것으로 판단된다.

착유기 장치에의 응용

현재 해외의 낙농 선진국에서는 고품질 우유의 생산을 위해 젖소의 개체별 관리 및 영양 관리에 주력을 다하고 있는 실정이다. 그러므로 본 연구에서 개발된 휴대용 원유의 품질판정 시스템으로 착유와 동시에 젖소 개체별로 실시간 품질을 측정하여 젖소의 건강 및 우유의 등급을 관리하는 것이 가능하며, 저능력우를 판별 하여 생산된 원유의 고품질화를 달성할 수 있을 것으로 판단된다.

젖소의 개별 맞춤형 영양 관리 시스템 개발

본 연구에서는 우유의 체세포수, 지방, 단백질, 유당 및 총고형분의 측정이 가능한

품질판정 시스템을 개발하였으며, 이는 주로 고품질 우유의 생산기반을 조성하기 위하여 수행되었다. 그러나 국외 낙농 선진국에서는 기존의 우유 품질관리를 위해 우유의 다양한 인자를 추가적으로 측정하고 있으며, 현재 가장 관심을 갖고 있는 인자는 젖소 영양상태의 기준이 되는 요소태질소이다. 요소태질소는 젖소 사료 속의 에너지 균형을 판단하는 지표로 젖소의 사료를 조절하고, 질병을 예방하며, 분뇨로 배출되는 질소의 수준을 조절하여 환경오염을 감소시키는데 큰 역할을 하고 있다. 또한 요소태질소는 근적외선분광법에 의하여 이미 적정과장 영역이 선정된 상태이므로 현재 개발된 시스템에 추가적으로 적용하여 고품질 우유 관리 및 젖소의 영양 관리를 통합적으로 할 수 있는 시스템 개발이 가능할 것으로 판단된다.

□ 반응 시약을 이용한 미생물 측정 분야에 활용

가시광선/근적외선은 높은 에너지 전위를 가지므로 주로 시료를 전처리 하지 않고 측정하거나 시료의 특성상 전처리가 필요한 경우에만 사용하였다. 그러므로 현재 개발된 대부분의 예측모델은 시료의 광학적 특성만을 이용한 것이 대부분이며, 시료 자체가 가시광선/근적외선과의 상관관계가 낮은 경우에는 사용이 불가능하였다. 그러나 현재 개발된 우유의 품질판정 기술은 기존에 연구된 체세포수 예측모델의 상관관계가 낮은 것에 반해 체세포수와 반응하는 반응 시약을 선정하고 첨가하여 좋은 상관관계를 나타내고 있어 이러한 방법을 응용하면, 기존에 예측모델 개발이 어려웠던 미생물 분야 등의 다양한 분야에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

□ 액상 시료를 이용한 제품 제조 공정의 자동화

현재 개발된 원유의 품질판정 시스템은 시료의 자동공급, 온도제어, 혼합 등의 전처리가 가능하며, 동시에 품질판정이 가능한 장점이 있다. 이와 같은 성능은 석유의 정제 공정, 발효공정 등의 제품 제조 공정에서 시료의 공급, 온도 유지, 혼합 등을 통한 전처리와 동시에 품질을 측정하여 부족한 성분을 추가적으로 자동 공급하고 필요에 따라 정제 공정을 계속적으로 반복하는 등의 제조 공정분야에 자동화를 구축하는데 적용이 가능할 것으로 판단된다.

□ 수질 및 토양 오염 등의 환경 모니터링 장비로의 활용

현재 국내 수질 및 토양 오염의 측정 절차는 관련 기관의 전문가가 일정한 시간에 직접 방문하고 대표 시료를 수집한 후, 연구실에서 분석하는 방법으로 수행되고 있다. 그러나 이러한 품질분석 방법은 시간이 오래 걸리고 전수조사가 아니므로 수질 및 토양 오염에 대해 효과적으로 대체할 수 없는 단점이 있다. 그러므로 본 연구에서 개발된 휴대용 품질관정 기술을 응용하여 수질의 실시간 자동 공급을 통한 오염도 측정 및 토양 시료의 오염도 측정에 적용이 가능할 것으로 판단된다. 또한 현재 활발히 진행 중인 전자지도(GIS)와 융합한다면 수질 및 토양 오염의 오염원을 실시간 판단을 통하여 환경오염의 원인에 대해 효과적으로 대처할 수 있을 것이다.

□ 고품질 원유의 등급 유지를 위한 유통 관리 방법 개선

국내의 유가제도는 주로 대기업 및 유제품 생산 기업이 낙농가에서 우유의 수집한 후, 우유 성분분석기의 분석 결과를 토대로 하여 각각의 낙농가 별로 유대지급 기준을 마련하고 있다. 그러나 이러한 유대지급 기준은 객관성 및 투명성이 결여되므로 본 연구에서 개발된 휴대용 원유 품질관정 시스템을 낙농가에 보급하여 낙농가가 스스로 자신이 생산한 원유의 품질을 확인하여 고품질의 원유 생산을 위한 기틀을 마련하는데 활용할 수 있다. 또한 계절별 차등가격제와 용도별 차등가격제 등의 도입을 통한 우유 생산비계산상의 문제점을 해결하는데 응용할 수 있을 것으로 판단된다.

SUMMARY

(영문요약문)

Because the quality of milk has influence on the cost of milk products, measurement of milk properties such as SCC, fat, protein, SNF and lactose is the most important for dairy industry. Especially, the SCC is a recognized indicator of cow`s health and milk quality. Milk from infected cows, associated with mastitis, has the high level SCC. Fast detection of SCC can help to exclude infected milk from dairy production and early treatment can minimize losses of dairy farmers. To improve the quality of milk, frequent measurement of milk composition of every individual cow was needed.

The industries use several types of sophisticated instruments to determine milk constituents in the laboratory. SCC is determined by and integrated flow cytometer. Fat, protein, SNF and lactose are determined by infrared spectroscopy in the range of 3,500~9,600 nm. But reference method was expensive and time-consuming and there are currently no practical on-farm methods to determine milk properties. The NIR spectroscopic technique, which has very high signal to noise ratio, has a very short detector response time, requires minimum to no sample preparation, can simultaneously determine multiple milk properties in the farm.

The final goal of this research is to develop a real-time portable quality evaluation system which can determine milk properties simultaneously in the dairy farm.

The real-time portable quality evaluation system consisted of a flow pump to supply milk sample and reaction reagent at given volume, a fan to mix milk with reaction reagent, a thermoelectric device to maintain sample temperatures of 40°C, tungsten-halogen lamp, spectrometer, optical fiber probe to measure milk spectrum,

and embedded module to control signals. The performance of the real-time portable quality evaluation system was analyzed by comparing the prediction accuracy of the laboratory spectrophotometer.

Total of 200 milk samples were collected from dairy farms in the central areas of Korea. The milk samples were preserved to minimize propagation of bacteria cells during transportation. Milk properties such as SCC, fat, protein, SNF and lactose, were measured by the Combifoss (Foss-Electric, Model 5000, Denmark) and used as reference values. Reagents such as Methyl red, Methylene blue and Resazurin for reduction test, Eosin-Y for dying cell and Amido black for dying protein were added to milk samples. They activated for 5 minutes as optimal reaction time (KFRI, 2006) before spectra measurements.

The transmittance spectra were measured in wavelength ranges of 350~1,700 nm. five repetitive scans were averaged, transformed to $\log(1/\text{Reflectance})$, and then were stored in the embedded module, forming one spectrum.

Spectra of milk samples were divided into a calibration set and a validation set. Samples were ranked by values of SCC, and each set was selected by increasing rank evenly. Half of the total samples were selected for calibration set, and 50% were reserved for validation set. The calibration set was used during model development, and the validation set was used to predict milk properties from unknown spectra.

The method of PLS analysis was used to determine the milk properties. A unique set of PLS loading vectors (factors) was developed. The multiplicative scatter correction(MSC) and the first derivative pretreatments based on Savitzki-Golay polynomial filter were applied to spectra to minimize sample-to-sample light scatter differences. A developed spectrum analysis was used to perform the PLS analyses. For each constituent, up to 20 factors was examined. Cross validation was performed during model development, where one of the calibration samples at a time was removed from the calibration set. The

standard error of calibration (SEC) was considered to determine the optimal number of factors and the range of wavelength during calibration. On completion of the calibration, the model was used to predict milk properties from the validation set. Model performance was reported as the correlation coefficient (r), the standard error of prediction (SEP), and the average difference between measured and predicted values (bias).

The PLS models showed good correlations between predicted and measured SCC with reagents in visible ranges. The PLS analyses for fat, protein, SNF and lactose showed good relationship with reagents in the NIR ranges. The PLS models showed excellent correlation to predict SCC by adding Resazurin, fat, protein and SNF. These PLS models might be good enough to predict SCC, fat, protein and SNF by applying spectroscopic techniques in the dairy farm. The correlation coefficient of lactose was lower than the other constituent models, but the PLS models showed the possibility to determine the variance of lactose. The prediction performance can be enhanced when the noises of reflectance signals are reduced and method for signal processing is improved.

CONTENTS

(영 문 목 차)

Chapter 1	Introduction	5
Section 1	Necessity of this research	5
Section 2	Objective of this research	7
Chapter 2	Present Status of Technologies	23
Section 1	Domestic status of technologies	23
Section 2	Foreign status of technologies	23
Section 3	Domestic and foreign status of patent	27
Chapter 3	Method and Result	29
Section 1	Background of near infrared spectroscopy	33
Section 2	Development of preprocessing technique for somatic cell count	96
Section 3	Development of preprocessing technique for milk properties	78
Section 4	Development of measuring algorithm for somatic cell count	11
Section 5	Development of measuring algorithm for milk properties	14
Section 6	Development of portable quality evaluation system of milk	14
Section 7	Performance analysis of portable quality evaluation system of milk	18
Chapter 4	Achievement of Goal and Contribution	188
Section 1	Objective of this research	188
Section 2	Achievement of goal	189
Section 3	Contribution	190
Chapter 5	Plan of Practical Usage	194

Section 1 Necessity of additional research	14
Section 2 Adaption of other research	17
Section 3 Plan of commercialization	21
Chapter 6 Technical Information Related This Study	27
Section 1 Paper	27
Section 2 Patent	213
Section 3 Web site	215
Chapter 7 References	217

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	15
제 1 절 연구개발 필요성	15
제 2 절 연구개발 목표 및 범위	21
제 2 장 국내외 기술개발 현황	23
제 1 절 국내 기술개발 현황	23
제 2 절 국외 기술개발 현황	25
제 3 절 국내외 특허 현황	27
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과	29
제 1 절 근적외선 분광기술	34
제 2 절 원유의 체세포수 측정을 위한 전처리 기술 개발	69
제 3 절 원유의 성분조성 측정을 위한 전처리 기술 개발	87
제 4 절 원유의 체세포수 측정 알고리즘 개발	121
제 5 절 원유의 성분조성 측정 알고리즘 개발	134
제 6 절 원유의 휴대용 품질판정 시스템 개발	154
제 7 절 전체 시스템의 현장 적응성 검토	178
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	188
제 1 절 연도별 연구목표 및 평가의 착안점	188
제 2 절 목표달성도	189
제 3 절 관련분야 기여도	190
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	194
제 1 절 추가연구의 필요성	194

제 2 절 타 연구에의 응용	197
제 3 절 기업화 추진방안	201
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	207
제 1 절 학술논문	207
제 2 절 관련특허	213
제 3 절 웹사이트	215
제 7 장 참고문헌	217

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발 필요성

1. 경제적·산업적 중요성

우유는 인간에게 가장 이상적인 건강영양 식품으로 우유가 완전한 가까운 식품이라는 말은 사람의 건강을 유지하는 데에 필요한 거의 모든 영양소를 소화하기 쉬운 형태로 갖고 있기 때문이다. 국내의 우유관련 산업은 타 식품산업에 비해 비교적 짧은 역사 속에서 급속한 성장을 이룩하였으며, 현재 경산우의 산유량은 1990년에는 6,148 kg/두, 1995년에는 6,427 kg/두, 1999년에는 7,247 kg/두, 2000년에는 7,355 kg/두로 지속적인 생산량의 증가를 보이고 있다.

이러한 원유 생산량 증가의 주요 원인으로는 낙농진흥회 출범(1999년)에 따라 호당 젖소 사육규모 확대, 개량기술의 개선, 사양방식의 개선, 축사환경의 개선, 특히 비유 촉진제 사용의 확대 등으로 볼 수 있다. 그러나 이러한 원유 생산량과 소비량은 표 1-1과 같이 각각 연평균 0.5 ~ 0.8 %, 2 ~ 3 %정도로 지속적인 증가를 보이는 반면 수입 유제품의 지속적인 증가로 인하여 원유의 자급률은 오히려 지속적으로 하락하여 2011년에는 59.8 %에 머무를 것으로 전망되어 원유 수입이 축산산업에 큰문제로 대두되고 있다.

Table 1-1 우유 수급율

단위 : 천톤

	2000	2001	2002	2004	2011
원유 생산량	2,400	2,403	2,421	2,451	2,568
원유 소비량	2,840	2,934	3,043	3,291	4,296
수입량	540	502	611	855	1,742
자급률(%)	84.5	81.9	79.6	74.5	59.8
1인당 총소비량(kg/1인)	60.1	61.6	63.3	67.5	84.5
재고량	133	88	65	69	81

2002, 한국농촌경제연구원 농업전망

원유의 수입량은 1991년부터 지속적으로 증가하여 1996년과 1997에는 국내 원유 생산량의 1/4정도에 달하는 양이 수입된 바 있으며, 매년 지속적으로 증가하여 국내산 원유의 구조적인 수급불균형현상을 초래하고 있다. 이러한 현상은 유가공업체에서 이윤추구를 위하여 값싸고 품질이 좋은 수입산 원유를 수입하여 피자치즈, 기능성 요구르트, 조제분유 등의 유제품을 생산하기 때문이다. 그러므로 현재 국내에서는 원유의 생산량을 조절하기 위하여 비유촉진제의 사용을 금지하고 국제 경쟁력을 높이기 위하여 고품질 우유 생산에 박차를 가하고 있다.

고품질 우유란 풍미가 좋고 단백질, 지방과 같은 우유성분 함량이 풍부하며 세균수와 체세포수가 적은 신선한 우유를 말한다. 특히 원유 체세포수의 증가는 표 1-2와 같이 유성분 중 지방, 유당, 단백질, 카제인의 감소와 나트륨, 염소의 증가를 가져오는 등의 전체적인 원유 품질에 영향을 미쳐 축산농가의 경제적 손실이 매우 크고, 우유의 경제적 가치가 떨어진다.

Table 1-2 체세포수와 유질과의 관계

구성성분	정상우유 (%)	체세포수가 높은 우유 (%)	체세포수가 높은 우유 / 정상우유 (%)
무지고형분(Solid Not Fat)	8.9	8.8	99
지방(Fat)	3.5	3.2	91
유당(Lactose)	4.9	4.4	90
단백질(Total Protein)	3.61	3.56	99
카제인(Total Casein)	2.8	2.3	82
나트륨(Sodium)	0.057	0.105	184
염소(Chloride)	0.091	0.147	161
칼륨(Potassium)	0.173	0.157	91
칼슘(Calcium)	0.12	0.04	33

2002, 국립수의과학검역원, 원유가 산정체계 기준 변화에 따른 체세포수 관리대책

원유의 체세포수 증가는 표 1-3과 같이 유량 감소 이외에 유방염 진단의 지표로도 사용되는데 일반적으로 건강한 유선으로부터 분비되는 원유에는 체세포수가 ml당 20만개 이하이나, 미생물에 감염되면 면역세포 중에서 호중구의 증가로 인하여 원유 ml당 50만개 이상의 체세포수를 나타낸다. 그러므로 목장별로 체세포수를 측정하여 젖소의 유방염 감염우가 있다는 사실을 확인할 수 있다.

Table 1-3 냉각기 체세포수와 유방염 감염율과의 관계

냉각기 체세포수	감염 분방율(%)	유량감소(%)
200,000	6	0
500,000	16	6
1,000,000	32	18
1,500,000	48	29

2002, 국립수의과학검역원, 원유가 산정체계 기준 변화에 따른 체세포수 관리대책

덴마크는 2001년 원유 ml내에 체세포수 30만개 이하가 약 85%이며, 유질협회에서 우유를 관리하고 있는 일본도 체세포수 30만개 이하가 74%, 50개만 이하가 92%를 기록하고 있으며, 미국에서는 낙농가의 원유의 체세포수를 10만개 이하로 감소시키는 것을 장래의 목표로 삼고 있다.

국내에서도 위생등급제 실시이후 일시적으로 체세포수가 개선되었지만 1997년 이후에는 체세포수 개선정도가 미진하여 체세포수 50만개 이상의 3등급 농가 분포율이 전체의 30% 전후로 나타났다. 이러한 체세포수 증가의 원인은 국내 낙농업이 전업화, 규모화되면서 농가별 평균 사육두수의 증가로 개체별 관리의 한계를 보이고, 제한된 공간에서 농후사료 위주의 열악한 사육환경과 예방적인 차원에서 체세포수 관리 프로그램의 적극적인 도입이 되고 있지 않기 때문이다.

현재 덴마크, 미국, 일본 등에서는 소득증대와 웰빙시대에 발맞추어 기존의 유대지급 기준인 체세포수, 지방, 단백질 이외에 유당, 총고형분, 수분 등을 추가로 하였고 세균수와 체세포수가 일정 한계를 넘을 때에는 집유정지를 가하고 벌과금을 부과하는

등 고품질 우유 생산에 심혈을 기울이고 있다.

국내의 경우 1972년 이전에는 물량위주로 유대지급을 하였고, 1992년까지는 유지방울을 기준으로 유대를 지불하였다. 1993년 6월부터는 유지방울과 유대 차등지불제를 시작하였으며, 1995년 10월부터는 세균수와 체세포수의 등급기준을 위생등급에 따른 우유값의 차등 지급제로 시행하여 위생적인 우유생산에 큰 효과를 거두었으나 체세포수 25만개 이하가 2001년에 약 21%로 다른 선진국에 비하여 매우 낮은 실정이다.

그러므로, 국내 축산산업의 국제 경쟁력 강화와 축산농가의 소득증대를 위해서는 착유 시 축산농가 및 원유 유통현장에서 원유의 체세포수 등을 포함한 유지방, 단백질, 유당 등을 측정할 수 있는 원유의 품질판정 시스템을 도입하여 등급별 체계적인 원유의 관리가 필요하다.

공산물의 품질관리 및 안전성에 대한 연구는 많은 국공립연구기관과 기업체연구소 등에서 다양하게 수행되고 있으나, 농산품의 품질관리를 위한 전문연구소 설치 및 전문 인력양성은 미비한 실정이며 국내 농산품의 이공학적인 특성에 대한 기초자료의 축적이 미진하고, 품질 판정에 대한 연구 역사가 그리 오래되지 않아 관련기술 개발 실적도 미흡하다. 그러므로 원유의 품질판정에 관련된 각종 단위 측정장치 및 설비의 국내 개발이 어려운 실정이므로 대부분의 설비를 수입에 의존하고 있는 실정이다.

2. 연구개발의 필요성

한국 낙농육우 협회의 “2002 우유의 수급 안정대책 방안”에서는 국내 우유의 수급 안정화를 위하여 계획 생산제 도입, 비유축진제 사용금지, 저능력우의 도태추진, 탄력 있는 유가제도 도입, 원유생산비 조사의 기본지침 설정을 권장하고 있다.

계획 생산제 도입은 가급적 합리적인 소비축진을 통해 수요량을 늘리고, 늘어난 수요량 만큼 생산하는 증산지향적 계획생산을 의미하며, 비유축진제 사용은 우유의 생산성을 높이지만 품질이 저하되므로 사용을 제한하고 있다. 또한, 체세포수가 높거나 산유량이 일정 수준 미만인 저능력우에 대하여 도태를 권장하고 있는데, 이는 저능력우의 우유가 다른 고품질의 우유에 혼합되어 전체적인 품질저하를 일으키는 것을 방지하기 위함이다. 그러나 무계획적인 도태는 낙농생산기반을 위축시킬 우려가 있기 때문에 저능력우의 도태보다는 착유 시 원유의 품질관리를 통하여 젖소의 질병을 예

방하고 저능력우의 발생을 방지하는 것이 최선이다.

또한, 탄력있는 유가제도 도입, 원유생산비 조사의 기본지침을 설정하여 계절별 차등가격제와 용도별 차등가격제를 도입하고 우유 생산비계산상의 문제점을 고려하여 낙농가와 유업체가 공동으로 납득 가능한 유대지급기준의 도입을 권장하고 있는데 이를 위해서는 낙농가가 계절과 용도에 따라 원유의 품질을 관리하여 고품질 우유를 유업체에 공급하는 것이 필요하다.

국내에서는 2002년부터 원유가격 산정 체계를 표 1-4와 같이 기존의 체세포수 등급을 3등급에서 5등급으로 세분화하여 유대를 지급하고 있으며, 유지방에 감소에 따른 부과금을 높이는 등 고품질 우유 생산에 박차를 가하고 있다.

Table 1-4 체세포수에 따른 원유가격 산정 체계변화

현행가격체계			개선가격체계		
등급	구간	가격등차	등급	구간	가격등차
1등급	20만 미만	+30	1등급	20만 미만	+50
2등급	20~50만 미만	0	2등급	20~35만 미만	+23
3등급	50만 초과	-30	3등급	35~50만 미만	+3
			4등급	50~75만 미만	-25
			5등급	75만 미만	-40

2002, 국립수의과학검역원, 원유가 산정체계 기준 변화에 따른 체세포수 관리대책

최근 국내에서는 MUN(Milk Urea Nitrogen)에 대한 관심이 집중되고 있는데, 이것은 원유에 포함되어 있는 요소태 질소를 의미하는 것으로 젖소 사료속의 단백질과 당, 전분 등의 에너지 균형을 판단하는 지표로 활용되고 있다. 그러므로 원유 품질에 대한 실시간 측정은 급여사료의 적절한 조절로 사료비를 절감 할 수 있으며 요소와 암모니아 과잉 등의 젖소의 질병을 예방하며 분뇨로 배출되는 질소의 수준을 조절하여 환경오염을 감소시킬 수 있다.

원유의 품질검사법은 주로 임상진단과 화학적 진단 등이 있으나 오랜 시간이 소요되며 위험한 시약을 사용하는 등의 복잡한 전처리 과정을 거쳐야 하며, 전문가를 필

요로 하여 일반 낙농농가에서는 사용하기 어려운 단점이 있다.

현재 국내·외에서 사용되고 있는 자동화된 원유의 품질측정 장치는 크게 체세포수 측정 장치(Fossomatic)와 단백질, 유당, 지방, 총고형분 등을 측정할 수 있는 장치(Milkoscan)가 있다. 또한, 체세포수와 원유의 품질을 동시에 측정 가능한 장치(Combifoss)는 개발되어 있으나 가격이 비싸 일부 유가공 업체에서만 사용이 가능하고 장비의 규모가 크므로 이동 중에 사용하거나 휴대할 수 없어 응급 시 원유 생산현장에서 실시간 품질측정이 불가능하고 수입품이므로 국내 축산농가 환경과는 다소 차이가 있어 축산 농가 및 유통현장에서 실시간 측정이 가능한 휴대용 원유 품질판정 시스템의 개발이 필요한 실정이다.

또한, 현재 시행되고 있는 원유의 품질측정은 여러 젖소로부터 수집하여 혼합된 원유의 샘플을 이용하여 전수조사가 아닌 표본조사에 의존하고 있으므로 품질이 낮은 젖소의 원유를 선택적으로 제거하기가 어렵고 다른 원유 시료와 혼합되어 전체적인 품질 저하를 초래하게 된다. 그러므로 고품질 우유 생산을 위해서는 착유 현장에서 실시간 원유의 품질요인을 측정하는 등의 등급별 원유관리가 필요하다.

최근 농산물의 품질검사를 위하여 사용되고 있는 비파괴 검사법에는 농산물의 물리적, 전자기적, 광학적 특성 등을 주로 사용하고 있다. 근적외선 분광분석법은 시료의 광학적 특성을 이용하는 것으로 시료에 빛을 조사(照射)하여 시료 내부의 화학적 성질을 시료에 영향을 주지 않고 비파괴적으로 분석하는 방법으로 전량분석이 가능하고 하나의 스펙트럼을 가지고 동시에 여러 개의 이화학적 성분 검사가 가능하여 농업, 화학, 제약 산업 등의 현장에서 신속한 선별 및 등급 판정을 위한 온라인 시스템에 적용하기에 적합하다.

국내 유제품의 품질에 대한 소비자의 신뢰도를 높임으로서 소비자의 불신을 해소하고 소비자 기호의 다양화와 고품질의 소비경향에 맞추기 위해서는 착유 시 실시간 원유의 품질을 측정할 수 있는 기술을 개발하여 고품질 우유생산의 기반을 조성해야 한다.

제 2 절 연구개발 목표 및 범위

1. 연구개발 목표

본 연구는 자동으로 우유 시료의 공급, 반응 시약투여, 시료 온도제어 및 혼합 등의 시료 전처리와 우유 시료의 광학적 특성을 이용한 체세포수, 지방, 단백질, 유당, 총고형분의 비파괴 품질측정이 가능한 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템을 개발하고자 수행되었으며, 주요 연구개발 목표는 다음과 같다.

- 원유 품질요인(체세포수, 지방, 단백질, 유당, 총고형분)의 실시간 측정기술 개발
- 근적외선 분광법을 이용한 원유의 품질판정 알고리즘 및 프로그램 개발
- 젖소 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템 개발 및 성능평가

2. 연구개발 범위

가. 원유의 휴대용 품질판정 시스템 시제품 제작

- 원유 시료공급 장치, 시약투여 장치, 온도제어 장치 등을 포함한 전처리 장치 설계 및 제작
- 분광모듈의 재현성 및 정확도 분석
- 인터페이스 모듈을 포함한 시스템 제어부 설계 및 제작
- 전처리 장치, 광원부, 검출부, 광섬유, 샘플홀더, 시스템 제어부를 포함한 원유의 휴대용 품질판정 시스템의 시제품 제작

나. 원유의 체세포수 측정 알고리즘 개발

- 근적외선 분광광도계를 이용하여 반응시약의 종류 및 체세포수에 따른 원유의 광학적 특성 구명
- 분광광도계와 원유의 품질판정 시제품을 이용한 체세포수 측정 알고리즘 개발 및 평가

다. 원유 체세포수 측정기술 개발

- 국내 원유체세포수 분포도 조사
- 원유 체세포수 측정을 위한 원유시료 전처리 조건 설정
- 원유 체세포수 측정을 위한 첨가시약의 환경 조건 설정

라. 원유의 성분조성(수분, 지방, 단백질, 유당, 총고형분) 측정 알고리즘 개발

- 근적외선 분광광도계를 이용하여 반응시약의 종류 및 원유 성분조성에 따른 원유의 광학적 특성 구명
- 분광광도계와 원유의 품질판정 시스템을 이용한 원유의 품질판정 알고리즘 개발 및 평가

마. 실시간 휴대용 품질판정 시스템의 제어 알고리즘 및 품질판정 프로그램 개발

- 원유 시료공급, 시약투여의 유량제어 및 시료 온도제어 알고리즘 개발
- 임베디드 시스템을 이용한 시스템 제어 장치 개발
- 시스템 제어 알고리즘 및 품질판정 프로그램 개발

바. 전체 시스템의 현장 적응성 검토

- 현장 적응 및 측정 환경에 따른 문제점 분석
- 현장운영 평가를 통한 시스템의 정확도 검토 및 사업화 방안 정립

제 2 장 국내외 기술개발 현황

국내외 기술개발 현황은 주로 고품질 우유 생산을 위한 체세포수 감소 방안에 관한 연구와 우유의 실시간 품질 측정에 관한 연구 등이 있으며, 아직까지 휴대용 우유 품질판정 시스템에 관한 연구는 미비한 실정이다. 본 연구에서는 과제의 성공적인 수행을 위해 현재까지 연구된 국내외 기술개발 현황을 조사 및 분석하였으며, 수집한 주요 자료는 다음과 같다.

제 1 절 국내 기술개발 현황

- 국내 축산농가에서는 원유의 품질과는 상관없이 착유된 원유를 하나의 냉각기에 저장하여 원유 유통업체에 보내 품질에 따른 유대를 지급받고 있다. 원유의 품질이 저하되거나 체세포수가 늘어나면 현장에서 이화학적 방법을 이용하여 품질저하 원인을 찾고 있으나, 이미 품질이 저하된 상태이므로 원인을 찾아 해결하기에는 많은 시간과 노력이 소요된다. 또한 축산농가 자체에서 생산되는 원유에 대하여 품질측정이 불가능하므로 원유 유통업체의 등급판정에 의존하는 실정이다.
- 국내의 원유에 대한 연구는 착유 현장에서 착유기의 관리, 젖소의 위생관리, 착유 시간 등의 착유방법에 대한 연구가 주로 수행되고 있으며, 체세포수 증가방지를 위한 이화학적 방법에 대한 연구는 활발히 진행되고 있으나 원유의 품질측정 방법에 대한 연구는 부족한 실정이다.
- 성균관대학교에서는 원유의 품질요인 중 지방, 단백질, 유당, 총고형분에 대한 예측모델을 개발하였으나 실용화를 위해서는 측정방법 및 알고리즘의 수정이 필요하다고 보고하였으며, 체세포수의 경우 개발된 모델이 체세포수의 함량을 정확히 예측하기 어렵다고 보고 하였다.

- 한국식품연구원에서는 근적외선 분광법을 이용한 체세포수 측정의 문제점을 보완하기 위하여 체세포수에 직·간접적으로 반응하는 시약을 원유에 첨가한 후, 체세포수 예측모델을 개발하여 체세포수 측정에 반응시약 사용의 가능성을 제시하였으나 상용화하기 위해서는 시약 반응조건의 최적화 및 다양한 알고리즘을 통한 모델 개발이 필요하다고 하였다.
- 국내에서 근적외선 분광법을 이용하여 원유의 품질요인 측정에 관하여 연구한 논문은 10편 미만에 불과하며, 아직까지 상용화되기에 적합한 예측모델은 개발되지 않았다. 또한, 국내의 원유 품질에 대한 관리는 기존의 체세포수 측정에서 수분, 지방, 단백질, 유당, 총고형분 등의 범위까지 확대되고 있으나 해외의 비싼 측정장비를 그대로 사용하는 등 아직까지 국내에서 개발된 체세포수 측정 장비 및 자동화된 원유의 품질판정 시스템은 개발되지 않았다.
- 국립수의과학검역원에서는 착유기 및 착유환경에 따른 체세포수의 증가 원인에 대한 연구하여 체세포수가 증가하는 것을 방지하기 위한 올바른 착유기 사용 및 착유환경 조성에 관하여 활발히 연구하고 있다.
- 축산기술 연구원에서는 고품질 원유생산을 위한 관리기술 개발에 대한 연구로 체세포수를 높게 만드는 원인을 착유 시 유량으로 분석하여 적절한 유량으로 착유를 하면 체세포수를 감소 할 수 있다는 가능성을 제시하였다.
- 서울우유에서는 원유 중 요소태 질소(MUN)의 활용방안에 대한 연구로 원유의 요소태 질소를 측정하여 젖소의 영양상태 파악 및 적절한 사료 투입에 활용 가능성 제시하였다.

제 2 절 국외 기술개발 현황

- 미국 유방염 관리위원회에서는 효과적인 유방염 진단을 위해 목장의 냉각기 체세포수 측정을 권장하고 있는데, 아직까지 현장에서 실시간 체세포수를 측정할 수 있는 자동화된 장비가 없어 이화학적 방법을 사용하고 있으며 정확한 개수측정이 불가능하고 복잡한 전처리를 필요로 하는 등의 단점이 있어, 신속하고 정확한 체세포수 측정기술 개발이 활발히 진행되고 있다.
- 독일, 덴마크, 노르웨이, 미국 등에서 원유 중 요소태 질소와 젖소 번식능력 및 원유 품질의 상관관계에 대하여 오랫동안 연구해왔으며, 젖소의 영양상태 및 사료량 조절을 위하여 유대값 결정 및 원유의 품질검사와 동시에 요소태 질소의 측정을 권장하고 있다.
- 근적외선 분광법의 단점은 분석방법이 경험적이고, 측정값이 임의의 수치이므로 시료의 알고 있는 성분이나 조건을 이용하여 교정(Calibration)작업이 필요하다. 일반적으로 교정은 많은 시간이 걸리며, 필요에 따라 자료의 전처리가 요구되나, 일단 모델이 개발되면 하나의 스펙트럼으로 여러가지 성분의 실시간 측정이 가능하다. 해외에서는 다중선형회귀(Multiple linear regression, MLR), 부분최소자승(Partial least squares, PLS), 주성분분석(Principle component analysis, PCA), 신경회로망 등을 이용하여 농산물 및 식품의 품질평가를 위한 예측모델을 개발하고 있다.
- 해외에서는 1980년대부터 근적외선 분광법을 이용하여 원유의 품질 예측모델을 개발해 왔으며 원유의 단백질, 지방, 유당, 카제인 등을 측정할 수 있는 품질판정 기술을 개발하고 시작기를 제작하여 상품화하였으나 체세포수 예측모델의 상용화는 한계가 있어 이화학적 전처리를 이용하여 측정하거나 새로운 알고리즘 통한 예측 모델을 개발하고 있다.

- Tsenkova(2001) 등은 근적외선 분광법을 이용하여 우유의 체세포수에 따른 지방, 단백질, 유당의 예측모델을 개발하여 체세포수가 증가함에 따라 모델의 검증력이 낮아지고 오차가 증가한다고 보고하였다. Pravdova(2001) 등은 기존의 체세포수 측정 알고리즘을 수정하여 근적외선 분광법으로 체세포수 예측모델 개발의 가능성을 제시하는 등 원유의 품질측정을 위한 연구가 활발히 수행되고 있으나 현장에 적용 가능한 장치는 개발되지 않았다.

- 이스라엘 우유개량 협회에서는 우유내 생체중과 우유내 요소 농도간의 관계를 분석하기 위해 생체중(Live body weight, BW)과 우유내 요소 농도(MUN)의 관계를 평가하였으며, 생체중의 2차적 성분이 요소농도와 높은 상관도를 보여 생체중의 지수가 젖소내의 요소농도를 예측 가능함을 제시하였다.

- 핀란드 국립 우유 연구소에서는 젖소에서 유방염과 체세포수의 유전적 관계를 분석하기 위해 선천적으로 낮은 체세포수를 가진 젖소가 체세포수가 많은 젖소보다 임상형 유방염(Clinical Mastitis: CM)에 더 민감한지의 여부를 조사하여 유방염과 체세포수와의 상관관계를 연구하여 유방염 진단에 체세포수의 측정이 중요하다고 보고하였다.

제 3 절 국내외 특허 현황

본 연구에서는 과제 수행 중 제품화 방안 및 기술이전을 추진하기 위하여 국내외 관련 특허를 조사하였다. 본 연구에서 조사한 관련 특허는 주로 우유의 신선도, 요소태 질소, 체세포 등의 측정 기술에 관한 특허가 있었으며, 휴대용 시스템으로는 실시간 과일의 품질측정을 위한 과일당도계에 관한 특허가 조사되었다. 그러므로 본 연구는 과제의 창의성 및 독창적인 연구의 기반을 마련하기 위하여 아래와 같은 특허를 기본으로 하여 개발되는 결과물의 상품화를 추진할 것이다.

- 우유의 신선도 판별용 근적외선 분광분석 시스템
 - 특허 번호 및 일자 : 10-2006-0040487, 2006.05.04
 - 특허 내용 : 근적외선 분광분석법을 이용하여 원유의 산도(pH) 예측 모델을 개발하여 신선도 판별을 위한 시스템 개발

- 근적외선 분광분석 시스템을 이용한 우유 중 요소태질소의 분석방법
 - 특허 번호 및 일자 : 10-2007-0107947, 2006.05.04
 - 특허 내용 : 근적외선 분광분석법을 이용하여 젖소의 영양 상태 판별의 기준이 되는 요소태질소의 분석 방법을 개발

- 근적외선 분광 분석 시스템을 이용한 우유 중 체세포수 측정방법
 - 특허 번호 및 일자 : 10-2006-0040511, 2006.05.04
 - 특허 내용 : 근적외선 분광분석법을 이용하여 젖소의 유방염 판별의 기준이 되는 우유의 체세포수 측정 방법을 개발

- 휴대형 과일 품질정보 측정 장치
 - 특허 번호 및 일자 : 20-2005-0027708, 2005.09.27
 - 특허 내용 : 근적외선 분광분석법을 이용하여 과일의 산도 및 당도 측정이 가능한 휴대용 품질정보 장치를 개발

○ Raman instrumentation

- 특허 번호 및 일자 : WO2007143590, 2007.12.13
- 특허 내용 : 라만 분광법으로 다양한 시료의 스펙트럼을 전처리 없이 측정하여 정성 및 정량 분석이 가능한 시스템

○ Method and apparatus for detecting mastitis by using visible light and near infrared light

- 특허 번호 및 일자 : JP2001002017, 2001.03.14
- 특허 내용 : 근적외선 분광분석법을 이용하여 젖소의 체세포수 등급을 정성적으로 측정하여 젖소의 유방염 판별

○ Method and apparatus for determining the constituents of dairy products

- 특허 번호 및 일자 : 19910773921, 1991.10.30
- 특허 내용 : 근적외선 분광분석법을 이용하여 젖소의 체세포수 등급을 정성적으로 측정하여 젖소의 유방염 판별

○ Method and apparatus for determining the constituents of dairy products

- 특허 번호 및 일자 : 19910773921, 1991.10.30
- 특허 내용 : 근적외선 분광분석법을 이용하여 유제품의 정성 및 정량 분석을 통한 품질 분석

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

□ 연구개발 목표

본 연구는 자동으로 우유 시료의 공급, 반응 시약투여, 시료 온도제어 및 혼합 등의 시료 전처리와 우유 시료의 광학적 특성을 이용한 체세포수, 지방, 단백질, 유당, 총고형분의 비파괴 품질측정이 가능한 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템을 개발하고자 수행되었으며, 주요 연구개발 목표는 다음과 같다.

- 원유 품질요인(체세포수, 지방, 단백질, 유당, 총고형분)의 실시간 측정기술 개발
- 근적외선 분광법을 이용한 원유의 품질판정 알고리즘 및 프로그램 개발
- 젖소 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템 개발 및 성능평가

□ 연구개발 범위

1. 원유의 휴대용 품질판정 시스템 시제품 제작 및 체세포수 측정 알고리즘 개발

○ 원유의 휴대용 품질판정 시스템 시제품 제작

- 품질판정 시스템은 일정한 양의 시료를 자동으로 공급하여 반응시약을 투여하고 혼합된 시료와 시약을 적절한 온도로 조절이 가능하도록 시료공급 장치, 시약투여 장치, 온도제어 장치를 설계 및 제작.
- 휴대용 품질판정 시스템 개발에 사용할 분광모듈의 재현성을 측정하여 스펙트럼의 정확도를 분석.
- 품질판정 시스템은 원유 시료공급, 시약투여, 온도제어, 스펙트럼 처리 및 분석이 가능하도록 인터페이스를 구성.
- 스펙트럼의 특성을 고려한 광원부, 검출부, 신호처리부, 제어부 및 샘플홀더 등을 설계하고 전처리 장치가 포함된 휴대용 원유 품질판정 시스템의 시제품을 제작.

○ 원유의 체세포수 측정 알고리즘 개발

- 체세포수 등급을 기준으로 1등급에서 5등급까지 각 등급별로 동일한 수의 원유

- 시료를 선택하여 분해능이 우수한 분광광도계(NIRS 6500)와 원유 품질판정 시스템의 시작품을 이용하여 투과 스펙트럼을 측정.
- 투과 스펙트럼은 시료에 광선을 여러 번 주사(Scan)하여 측정한 스펙트럼을 평균 내어 하나의 흡광도로 파일로 저장.
- 반응시약의 종류에 따라 스펙트럼과 원유 체세포수의 상관관계를 분석하고 적정 파장대를 선정한 후, 스펙트럼의 수치리 기법 및 전처리 방법을 구명.
- 다중회귀분석(MLR), 부분최소자승법(PLS), 인공지능기법(Neural network) 등의 모델개발 방법으로 원유 체세포수의 측정 알고리즘을 개발하고 미지의 시료를 이용하여 정확도를 분석.
- 현재 통상법으로 사용되고 있는 체세포수 측정기와 유사한 정확도 범위를 갖도록 알고리즘을 보완 및 수정.

2. 원유의 체세포수 측정기술 개발

- 우유 생산농가에서 우유시료를 수집하여 원유의 체세포수 분포도를 조사
- 원유 체세포수 측정방법 개발
 - 원유 체세포수측정에 영향을 미치는 시료온도, 첨가시약의 반응시간, 농도, 측정 온도 등 의 최적 측정조건을 실험적으로 구명.

3. 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템의 원유 성분조성 측정 알고리즘 및 제어 프로그램 개발

- 원유의 성분조성(지방, 단백질, 유당, 총고형분) 측정 알고리즘 개발
 - 분해능이 우수한 분광광도계(NIRS 6500)와 원유 품질판정 시스템의 시작품으로 원유 시료에 광선을 여러 번 주사하여 측정한 스펙트럼과 반응시약의 종류에 따른 상관관계를 분석하고 적정 파장대를 선정한 후, 스펙트럼의 수치리 기법 및 전처리 방법을 구명.
 - 다중회귀분석, 부분최소자승법, 인공지능기법 등의 모델개발 방법으로 원유 품질의 예측모델을 개발하고 미지의 시료를 이용하여 정확도를 분석.

- 현재 통상법으로 사용되고 있는 원유 품질 측정기와 유사한 정확도 범위를 갖도록 알고리즘을 보완 및 수정.

○ 실시간 휴대용 품질판정 시스템의 제어 알고리즘 및 측정 프로그램 개발

- 원유 시료의 공급, 시약의 투여를 위한 유량제어 및 시료의 온도제어 알고리즘 개발.
- 고속 마이크로프로세서, 메모리, TCP/IP 통신이 가능한 임베디드 시스템 (Embedded System)을 이용하여 시스템 제어 장치를 설계 및 제작.
- 시료 및 시약의 유량제어, 온도제어는 물론 품질판정이 가능하도록 인터페이스 모듈 및 임베디드 장치의 제어 알고리즘 개발.
- 휴대용 품질판정 시스템의 시료공급, 시약투여 및 온도제어를 통한 실시간 품질판정 프로그램 개발. 품질판정 시스템의 프로그램은 참여기업인 옵토캠(주)과 협력하여 최종 사용자로 예상되는 단위 농협의 원유 수집 담당자 및 축산 농민이 편리하게 사용할 수 있도록 User interface 프로그램을 개발할 계획임.

○ 전체 시스템의 현장 적응성 검토

- 축산농가 등의 현장 환경에 따른 문제점 보완 및 분석.
- 현장적응을 통한 사용자의 편리성과 정확도를 점검하여 문제점을 보완하고, 단위 장치 및 프로그램을 개선.
- 원유의 휴대용 실시간 품질판정 시스템의 현장 적응성, 효율성 검토를 통한 산업화 방안 정립.

4. 원유 성분조성 분석기술 개발

○ 우유 생산농가에서 우유시료를 수집하여 원유의 원유성분조성 분포도를 조사

○ 원유 성분조성 분석기법 개발

- 원유 성분조성(수분, 지방, 단백질, 유당, 총고형분)에 영향을 미치는 시료온도 첨가시약의 반응시간, 농도, 측정온도 등 의 최적 측정조건을 실험적으로 구명.

□ 주요 연구개발 결과

- 1차년도 : 우유 시료에 Methyl red, Methylene blue, Bromocresol purple, Phenol red, Resazurin, Eosin-Y, Amido black의 반응 시약을 첨가한 후, 고성능 분광광도계(NIRS 6500)를 이용하여 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템 개발을 위한 전처리 조건 및 적정 파장 영역을 분석한 결과는 다음과 같다.
- 우유 시료의 온도는 유성분의 온도에 따른 영향을 최소화하기 위해 40 °C로 유지하였다.
 - 체세포수 측정을 위한 환경조건은 Resazurin 시약을 사용하여 반응 시간을 5분으로 사용한 경우가 400 ~ 600 nm 영역에서 가장 좋은 상관관계를 보였다.
 - 지방, 단백질, 유당, 총고형분 측정을 위한 환경조건은 반응 시약의 첨가 유무 및 반응 시간과 상관없이 1,400 ~ 1,600 nm 영역대에서 가장 좋은 상관관계를 보였다.
 - 그러므로 원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템 개발을 위한 전처리 조건은 체세포수와 지방, 단백질, 유당, 총고형분의 동시 측정을 위해 Resazurin 시약과 5분간 반응하는 것을 전처리 조건으로 설정하였고 적정 파장 영역은 체세포수의 경우 가시광선 영역으로, 지방, 단백질, 유당, 총고형분의 유성분은 근적외선 영역으로 선정하였다.
- 2차년도 : 고성능 분광광도계(NIRS 6500)를 이용하여 전처리 조건 및 적정 파장 영역을 분석한 결과를 기본으로 전처리 장치(시료공급 장치, 시약투여 장치, 온도 제어 장치, 시료혼합 장치), 분광장치(광원부, 검출부, 광섬유, 샘플홀더), 우유의 스펙트럼 데이터 수집을 위한 인터페이스 모듈과 전체 시스템 제어를 위한 고성능 임베디드 장치를 포함한 원유의 휴대용 실시간 품질판정 시스템을 개발하였다. 또한 실시간 품질판정을 위해 시스템 구동 프로그램과 품질판정 알고리즘 및 분석 프로그램을 개발하여 원유의 휴대용 실시간 품질판정 시스템의 예측 성능을 평가한 결과는 다음과 같다.

- 체세포수는 400 ~ 700 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수는 0.85, 오차는 13,111 개로 나타났다.
- 지방은 1,200 ~ 1,500 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수는 0.95, 오차는 0.45 %로 나타났다.
- 단백질은 1,400 ~ 1,600 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수는 0.92, 오차는 0.23 %로 나타났다.
- 유당은 1,300 ~ 1,600 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수는 0.86, 오차는 0.33 %로 나타났다.
- 총고형분은 1,300 ~ 1,500 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수는 0.92, 오차는 0.38 %로 나타났다.

원유의 휴대용 실시간 품질관정 시스템의 원유 품질요인 측정에 대한 정확도는 상용화된 우유 품질분석장치에 비해 다소 낮은 예측력을 보여주고 있으나, 현장에서 실시간 품질관정을 위한 휴대성과 고가의 우유 품질분석장치 보다 경제성이 우수하여 축산 농가 및 낙농 현장에서 유용하게 사용될 것으로 판단된다.

제 1 절 근적외선 분광기술

1. 전자기파의 개요

빛이란 “파동성과 입자성을 가진 전자기 복사선(Electromagnetic radiation)의 넓은 영역중의 가시(可視)부이다.” 전자기 복사선은 대단히 빠르게 공간에 전파하는 에너지의 일종으로 전자기 복사선이 공간을 전파하는 성질을 나타내는 데는 파동(Wave)으로써 설명하면 그 파동을 속도, 진동수, 파장 및 진폭(Amplitude)과 같은 파라미터로써 표시할 수 있다. 그러나 복사 에너지의 흡수(Absorption)나 방출(Emission)에 관한 현상은 이러한 파동 모형으로 잘 설명하기가 어려워 이러한 경우에는 전자기 복사선을 광자(Photon)라고 부르는 일정한 에너지를 가진 입자로 볼 수 있다. 전자기 복사선은 공간에 번갈아 나타나는 전기장(Electric field)이며, 이 전기장에 직각으로 자기장(Magnetic field)이 나타나게 된다. 복사선이 물질에 부딪치면 물질 속에 있는 전자(Electron)와 전기장이 서로 작용하므로 보통의 경우에 복사선은 전기장의 벡터만을 생각해도 충분하다. 그림 1-1은 전파되는 빛의 전기적 성분만을 보여주는 것이다. 이 파의 x , y , p 및 q 는 전기장에서의 최대 진동을 나타낸 것이고 x 와 y 사이의 거리(또는 p 와 q 사이의 거리)는 파장(Wavelength, λ)으로 나타낼 수 있으며, 이 파장의 길이에 따라 그림 1-2와 같이 전자기파를 구분할 수 있다. 또한 각각의 파장에 따라 물질이 대응되는 형태가 다르며 이중 분광학적으로 이용되어지는 영역은 표 1-1과 같다.

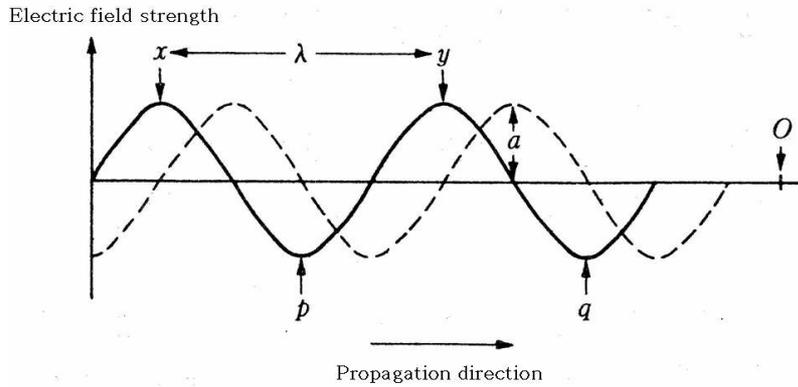


Fig. 1-1 Electric properties of propagating light.

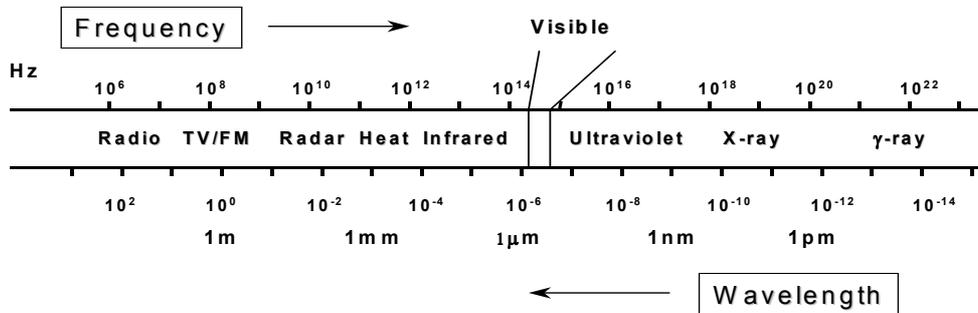


Fig. 1-2 Classification of electromagnetic wave.

Table 1-1 Electromagnetic spectrum

Electromagnetic wave	Wavelength	Molecular level	Spectroscopy
Radio wave	$10^3 \sim 10^{-1}$ m	Spin	NMR
Micro wave	$10^{-1} \sim 10^{-3}$ m	Rotation	Microwave
Infrared rays	$10^{-3} \sim 10^{-6}$ m	Vibration	IR
Visible rays	$10^{-6} \sim 10^{-7}$ m	Outer electron	VIS
Ultraviolet rays	$10^{-7} \sim 10^{-9}$ m	Outer electron	UV
X-ray	$10^{-9} \sim 10^{-10}$ m	Inner electron	X-RAY

적외선은 파장영역에 따라 근적외선(Near InfraRed, NIR), 중적외선(Mid InfraRed, MIR) 및 원적외선(Far InfraRed, FIR)으로 분류되며 근적외선은 가시광선과 중적외선 사이에 존재하는 빛으로 700 nm에서 2,500 nm($14,000 \sim 4,000 \text{ cm}^{-1}$) 사이에 존재하고 있다. 광원으로부터 근적외선이 시료에 조사되면 시료는 분자 내 결합의 진동에 관련된 파장의 빛을 흡수하여 해당 파장의 빛의 세기(Intensity)가 감소하게 된다. 이러한 세기의 변화는 시료내의 특정 물질의 농도와 관련이 있으며 그 변이는 검출기에 의해 검출되고 측정된 연속된 신호(Spectrum)는 정량, 정성분석에 사용된다.

2. 근적외선(NIR)의 응용분야

근적외선 분석법은 1960년대 초 미국 농무성의 Karl Norris에 의해 농산물에 처음 적용된 이래 그 응용범위가 확대되어 농업, 식품 및 사료분야 뿐만 아니라 현재에는 화학, 생화학, 화장품, 의학, 석유화학, 제약, 고분자, 제지 및 섬유분야까지 널리 보급되어 있다.

가. 과실 및 과채류의 당도

사과 배 등 과실류와 수박, 토마토, 오이 등 과채류의 경우 수분이 80 % ~ 90 % 정도이고, 그 외는 당분, 섬유질 등 가용성 고형분이 포함되어 있다. 이들 과채류의 경우 당분의 함량은 맛을 결정하는 중요한 인자이기 때문에 당함량을 선별라인에서 비파괴적으로 실시간으로 측정하는 기술을 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 또한 일본의 경우는 5대 과일(사과, 배, 복숭아, 단감, 감귤)의 당산도를 판정하는 장치를 개발하여 보급하고 있다.

나. 곡류의 함수율 및 주요 성분

곡류 원료 또는 분쇄된 곡물의 함수율, 지방, 단백질, 아미노산 등 주요 성분의 비파괴 측정기술은 원료의 품질 판정과 건조 또는 가공 공정제어를 위해 대단히 중요하다. Norris 등이 근적외선 분광분석법을 이용하여 밀과 콩의 함수율 측정하기 위한 연구를 처음으로 수행한 이후 함수율뿐만 아니라 곡류의 주요성분 측정에 관한 연구가 다수 수행되었다. 그 결과 산물상태의 시료를 대상으로 주요 성분의 흡수파장을 근거

로 선정된 다수의 광학필터를 이용한 성분측정 장치가 개발되어 보급되고 있다. 최근에는 곡류 단립을 대상으로 근적외선 스펙트럼 분석법을 이용하여 단립의 수분, 단백질 등을 측정하는 방법에 관한 연구가 수행되고 있으며, 일부 상용화되고 있다. 또한 함수율 이외에 단백질, 지방, 아미노산 등 주요 성분을 측정할 수 있는 필터 방식의 비파괴 분석 장치가 상용화 되고 있다.

다. 쌀의 식미 판정

근적외선 분광분석법을 이용한 성분분석 결과와 식미와의 상관관계를 이용하여 식미판정기가 개발보급되고 있다. 일본에서는 사타케 식미계, 니레꼬 식미계, 시즈오카 세기 식미분석계, 야마모토 식미분석계 등이 있다.

라. 우유 및 유제품의 주요 성분

치즈에 함유된 지방, 단백질 및 전체 고형분 함량을 근적외선 분광분석법에 의해 예측한 연구가 수행되었으며 염소젖을 치즈로 변환시키는데 중요한 Casein의 함량을 측정하는데도 사용되었다. 근적외선을 이용하여 우유의 이물질이나 첨가제의 검출도 가능하다. 실제 낙농산업에서 근적외선을 이용한 대표적인 온라인 측정 장치는 미국에서 상용화된 것으로 우유, 분유, 버터 및 치즈에 함유된 지방, 단백질, 수분 및 염분의 함량 측정이 가능하다.

마. 원산지 판별

화학적 조성의 패턴에 기초하여 재료의 산지를 알아내는 방법과 외관과 방향성분에 근거해 시료의 산지를 추적하는 연구가 시도되고 있는데 근적외선과 계량분석화학에 의해 나타난 패턴에 맞추어 봄으로써 어떤 시료의 기원을 밝히는 방법이 연구되고 있다. 외국의 경우 오렌지 주스의 화학적 조성을 근적외선을 이용하여 측정하고 이를 분석하여 생산지역을 밝히는 연구사례가 있으며, 국내에서는 생약(황기, 인삼, 복령)에 근적외선 분광분석법을 적용하여 그 성분을 구분하고 생약의 원산지를 구별하는 연구가 수행되었다.

3. 흡수분광법에 의한 성분측정 원리

가. 근적외선의 흡수원리

시료에 적외선을 조사하면 전자기 복사선의 양자(Photon)들은 분자를 여기시켜 즉각적으로 진동하도록 만든다. 분자에 진동을 유발시킨 복사선은 물체에 흡수되며, 이러한 흡수에 의해 스펙트럼에 흡수 과장대역(Absorption band)이 발생하게 된다. 대부분의 유기화합물의 분자들은 매우 복잡하게 구성되어 있으므로 빛의 흡수에 따라 생기는 진동 스펙트럼 또한 매우 복잡하다. 유기 화합물의 스펙트럼에 대한 이해를 위해서는 구조가 간단한 이 원자 분자의 진동에 대한 이해가 필요하다. 이 원자 분자의 진동을 고전역학을 적용하여 그림 1-3과 같이 가정할 수 있다.

- a) 두 원자의 질량은 각각의 원자 중심에 집중되어 있다(Point mass).
- b) 두 원자는 탄성계수가 k이고, 질량이 0인 용수철로 연결되어 있다.

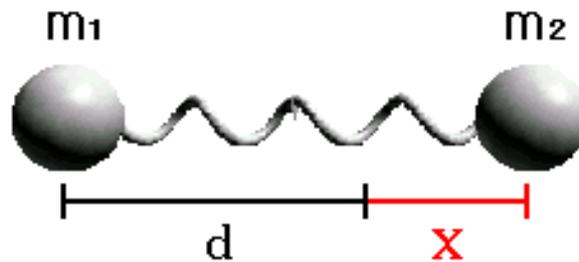


Fig. 1-3 Vibration model of atom.

질량이 각각 m_1 및 m_2 이고, 탄성계수가 k 인 이 원자 분자의 거리(x)에 따른 포텐셜 에너지는 식 (1-1)과 나타낼 수 있으며, 진동 주파수(ν)는 Hook의 법칙에 따라 식 (1-2)과 같이 나타낼 수 있다.

$$E_x = \frac{1}{2} k x^2 \dots\dots\dots \text{식 (1-1)}$$

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{k \frac{m_1 + m_2}{m_1 m_2}} \dots \dots \dots \text{식 (1-2)}$$

식 (1-1)에서 진동 주파수는 탄성계수 k의 제곱근에 비례하며, 원자의 질량이 적으면 적을수록 진동수는 높아진다. 이러한 관계는 스펙트럼의 해석에 응용될 수 있는데, 예를 들어 탄소원자의 결합에서 결합강도는 3중 결합이 2중 결합보다 크고, 2중 결합이 단일 결합보다 크다.

이와 같이 적외선 스펙트럼의 흡수 진동수를 관찰함으로써 대상 시료의 성분에 대한 정성적인 추론이 가능하다. 두 개의 질량이 용수철로 연결되어 있는 조화 진동자 (Harmonic oscillator)에서는 질량 사이의 거리에 대한 위치 에너지의 모양은 그림 1-4와 같다.

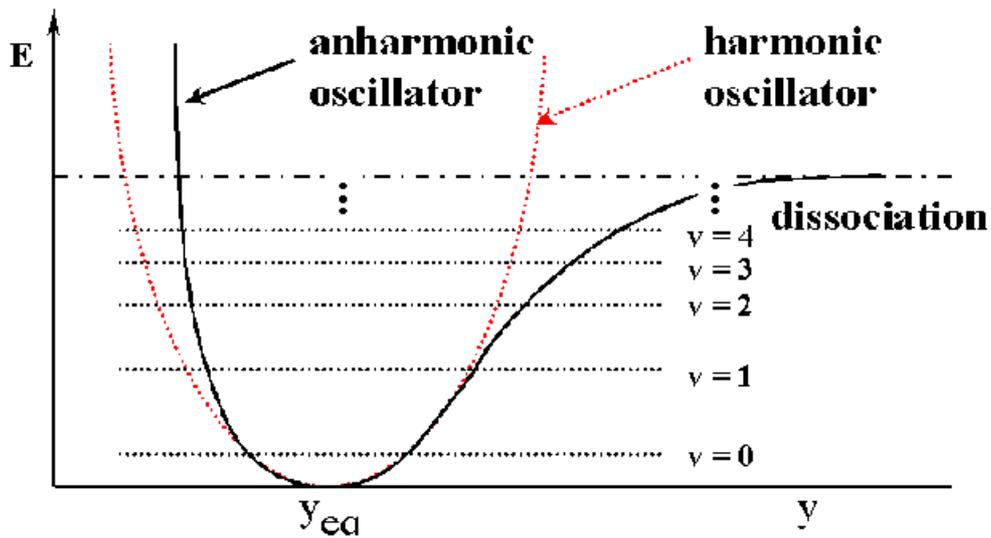


Fig. 1-4 Anharmonic and harmonic oscillation of molecule.

이러한 고전적인 이 원자 분자의 진동 모델(조화 진동 모델)은 실제 분자와 잘 일치하지 않는 면이 있다. 왜냐하면, 분자계는 에너지가 연속적이지 않고 불연속적이고 양자화된 상태를 나타내기 때문이다. 분자 운동을 단순 조화 진동자의 운동이라고 가

정할 때, 양자 역학적인 취급방법을 써서 허용되는 에너지를 계산하면 식 (1-3)과 같이 나타낼 수 있다.

$$E_v = h \nu \left(v + \frac{1}{2} \right) \dots\dots\dots \text{식 (1-3)}$$

v : 진동 양자수(Vibrational quantum number)

E_v : v 번째 진동 양자수에 대한 상태 에너지

h : 플랑크 상수(Plank's constant, 6.626×10^{-27} erg/s)

실제 분자의 위치에너지 곡선은 쌍곡선이 아니며 진동 에너지 준위가 식 (1-3)에서와 같이 균일한 거리로 배열되어 있지 않다. 따라서 위치에너지 곡선은 수렴하게 되는데, 수렴의 정도는 조화 진동(Harmonic vibration)에서 비조화 진동(Anharmonic vibration)으로 옮겨갈수록 증가한다. 이와 같은 비 조화 진동을 설명하기 위한 두 원자의 거리에 따른 포텐셜 에너지에 대한 Morse의 실험식은 식 (1-4)과 같다.

$$E = E_D (1 - e^{-\alpha x})^2 \dots\dots\dots \text{식 (1-4)}$$

α : 분자의 종류에 따른 상수

E_D : 해리 에너지(Dissociation energy)

또한 식 (1-4)와 같은 포텐셜 에너지 곡선을 가지는 비 조화 진동자에 대한 양자화된 포텐셜 에너지는 식 (1-5)로 표현할 수 있다(Osborne, 1993).

$$E_v = (v + 1/2) h\nu - (v + 1/2)^2 h\nu x_1 - (v + 1/2)^3 h\nu x_2 - \dots \dots\dots \text{식 (1-5)}$$

x_1, x_2, \dots : 비조화 상수(Anharmonicity constants)

근적외선은 700 nm ~ 2,500 nm($14,300 \sim 4,000 \text{ cm}^{-1}$)의 파장영역을 가지며, 이 파장대역에서 유기물의 경우 분자의 진동에 의해 광 흡수가 일어난다. 즉, 어떤 분자 결합에 근적외선이 조사되면 그 분자 결합이 가지고 있는 고유 진동에너지에 해당하는

복사선이 흡수된다. 분자가 적외선을 흡수하기 위해서는 그 분자는 진동하면서 이중극자 능률(Dipole moment)의 변화가 일어나야만 한다. 이런 결과 때문에 균일한 핵을 가진 이 원자 분자(Homonuclear diatomic molecule)는 적외선을 흡수하지 않는다. 이 원리에 의하면 진동하는 동안에 이중극자 모멘트(Dipole moment)의 방향이나 크기가 조금이라도 변하면 복사선의 전기적 성분과 적외선이 작용하여 흡수를 일으키게 된다. 이러한 흡수는 다 원자 분자보다는 이 원자 분자에서 더 잘 일어난다. 근적외선은 2,500 nm 이상의 중적외선 영역에서 일어나는 O-H, C-H, N-H 및 C=O 등과 같은 작용기의 기본흡수(Fundamental absorptions)에 의한 진동(Fundamental vibration)을 일으키며, 이것에 의해 배진동(Overtone vibration)과 결합진동(Combinational vibration)이 나타나는 과장대역이다. 기본진동은 그림 1-4 및 식 (1-5)에서 진동 양자수 ν 가 0에서 1로 증가할 때, 포텐셜 에너지가 증가하면서, 진동수가 ν 인 특정 과장의 빛을 흡수함으로써 발생된다. 진동 양자수 ν 가 0에서 2, 3, 4로 증가할 때, 발생되는 진동을 1차 배진동(First overtone), 2차 배진동(Second overtone) 및 3차 배진동(Third overtone)이라 한다.

나. NIR의 특성

근적외선 영역은 중적외선 영역의 기본 흡수에 의한 결합음 및 배진동에 의한 흡수가 일어나는 영역이다. 일반적으로 배진동에 의한 흡수의 세기는 표 1-2와 같이 중적외선 영역의 기본 흡수보다 10 ~ 10,000배 작다. 따라서 중적외선을 이용할 경우 높은 흡수도로 인해 시료를 희석해야 하지만 근적외선을 이용하면 이와 같은 시료의 전처리가 필요 없기 때문에 신속하게 분광 스펙트럼을 측정할 수 있다.

Table 1-2 Absorption strength for overtone vibration level

Transition (ν_0 to ν_n)	Overtone vibration level	Relative absorbance
n = 0	Default	100
n = 1	1	9
n = 2	2	0.3
n = 3	3	0.01

일반적으로 근적외선의 특징은 물질을 투과할 때 파장이 커질수록 흡광도는 증가하고 대역폭(Bandwidth)과 경로길이(Path length)는 감소한다. 파장이 짧아질수록 경로길이 및 대역폭은 증가하고 흡광도가 감소하므로 시료의 전처리를 필요로 하지 않는 장점이 있다. 또한 산란율이 작아 물리적인 영향을 적게 받고 흡광도가 작기 때문에 다량의 주성분만의 분석이 가능해진다. 그러나 근적외선에서 중적외선으로 갈수록 흡광도 및 산란율이 증가하고 시료의 경로길이와 대역폭은 감소하므로 미량의 성분을 포함한 시료도 분석이 가능하지만 물리적인 영향을 크게 받는다. 스펙트럼에 나타나는 흡수대역(Absorption band)은 그 물질에 포함된 특정 성분의 작용기가 그 파장에서 진동한다는 것을 의미하며, 이는 물질의 화학적 성분의 조성에 따라 다르다. 따라서 적절한 파장의 근적외선을 이용할 경우 여러 가지 화학 성분을 선택적으로 측정할 수 있으며, 중적외선 영역과 비교할 때 표 1-3과 같은 장단점이 있다.

Table 1-3 Characteristic of NIR spectrum

장 점	단 점
<ul style="list-style-type: none"> ·중적외선에 비해 침투 깊이가 크다. ·대역폭이 크므로 해당 주파수의 이동으로 인한 측정 오차가 적다. ·추출, 템퍼링, 박편 등의 시료 전처리가 필요 없다. 광학 장비의 가격이 비교적 싸다. ·On-line 비파괴 품질판정 기술로 이용이 가능. 	<ul style="list-style-type: none"> ·흡광 스펙트럼의 해석이 어렵다. ·같은 분자 결합을 갖는 유사한 화합물의 스펙트럼 대역이 중첩된다. ·검량모델 작성을 위해서 많은 시료를 대상으로 한 측정이 요구된다.

다. Beer-Lambert 법칙

Beer-Lambert 법칙에 의하면 시료의 흡광도는 일반적으로 농도에 비례하므로 흡광도를 측정함으로써 액상 시료의 농도를 측정할 수 있다. 그러나 액상 시료의 흡광도를 직접적으로 측정하기는 실질적으로 어려우므로, 투과도를 측정하여 흡광도로 변환하는 방법이 일반적으로 이용되고 있다.

투명한 액상 시료의 경우 정반사는 무시할 정도 작으므로 그림 1-5에서와 같이 농도가 c 이고, 두께(dx)가 얇은 시료에 대해 입사된 광에너지를 I , 투과된 광에너지를 I_x 라 할 때 식 (1-6)이 성립하게 된다.

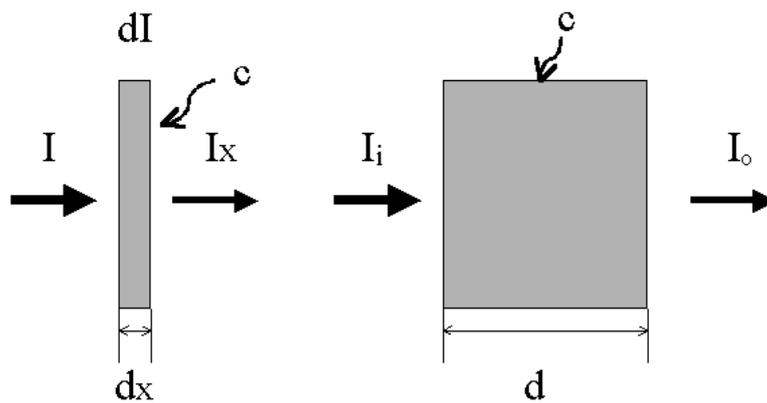


Fig. 1-5 Reduction of intensity by material concentration.

$$dI = I_x - I = -\epsilon c I dx \dots\dots\dots \text{식 (1-6)}$$

$$dI/I = -\epsilon c dx$$

식 (1-6)에서 비례상수 ϵ 는 일반적으로 흡광계수(Absorptivity)라 부르고, 특히 농도(c)의 단위가 몰(Mol)인 경우 몰 흡광계수(Molar absorptivity)라고 한다(Osborne, 1993), 이것은 분자의 종류 및 파장 등에 따라 다른 값을 갖게 된다. 또한 두께가 d인 시료에 입사한 광에너지 및 투과된 광에너지를 각각 I_i 및 I_o 라 할 때 식 (1-6)을 적분하면, 식 (1-7)이 성립하게 된다.

$$\int_{I_i}^{I_o} dI/I = -\epsilon c \int_0^d dx \dots\dots\dots \text{식 (1-7)}$$

$$\log(I_o) - \log(I_i) = -\epsilon c d$$

$$\log(I_o/I_i) = -\epsilon c d$$

식 (1-7)에서 I_o/I_i 는 투과도(Transmittance, T)이므로, 식 (1-7)은 식 (1-8)로 나타낼 수 있다.

$$\log(1/T) = \epsilon c d \dots\dots\dots \text{식 (1-8)}$$

흡광도(Absorbance)는 $\log(1/T)$ 와 같이 나타낼 수 있으며 이때 광투과길이(Pass-length)는 빛이 시료를 통과한 두께(d)를 의미하게 된다.

농산물과 같이 여러 가지 성분으로 구성된 시료에 입사되는 빛은 일반적으로 그림 1-6에서와 같이 시료로부터 반사(Reflection)되거나 흡수(Absorption) 혹은 투과(Transmission)하게 되며, 이때 측정하는 빛의 종류에 따라 반사 스펙트럼, 흡수 스펙트럼 혹은 투과 스펙트럼을 사용할 수 있다.

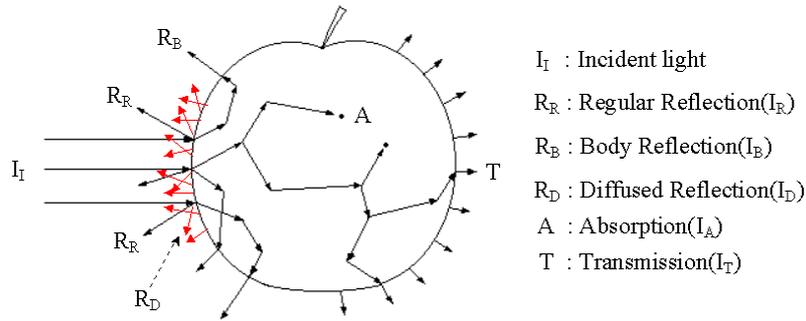


Fig. 1-6 Various type of incident light.

시료로부터 입사각과 등각으로 반사되는 빛을 정반사(Regular reflection, RR)라 하고 시료의 내부로 침투하여 다시 시료 외부로 반사되는 빛을 체반사(Body reflection, RB)라 한다. 또한, 농산물의 경우 시료 표면이 균일하지 않으므로 반사되는 상당부분의 광이 일정하지 않은 방향으로 반사되는 경우가 많다. 이것을 확산반사(Diffused reflection, DR)라 한다. 입사된 전체 에너지(I_i)에 대한 반사된 에너지의 비율을 반사도(Reflectance)라 한다.

직반사의 경우 내부품질과 직접적으로 관련이 없으므로 반사도를 측정할 때 직반사는 제외하는 것이 바람직하다. 일반적으로 성분측정과 관련하여 반사도라 함은 식 (1-9)와 같이 조사된 총 에너지에 대한 체반사 에너지의 비를 의미한다. 빛이 시료의 반대쪽으로 통과하여 나오는 것을 투과(Transmission)라 하며, 식 (1-10)과 같이 입사된 전체 에너지에 대한 투과된 에너지의 비율을 투과도(Transmittance)라 한다. 또한, 물체 내부에서 흡수되는 것을 흡수(Absorption)라 하며, 입사된 전체 에너지에 대한 흡수된 에너지의 비율을 흡수율(Absorptance)이라 한다. 반사도(R)를 이용하여 흡광도(A)를 계산하는 방법은 식 (1-11)과 같다.

체반사율 (R_B) = I_B/I_I 식 (1-9)

투과율 (T) = I_T/I_I 식 (1-10)

흡광도 (A) = $\log(1/R)$ 식 (1-11)

라. 흡수 분광법 및 회귀분석에 사용되는 용어

흡수 분광법 및 회귀분석에 사용되는 용어는 표 1-4와 같다.

Table 1-4 Technical terms about near infrared spectroscopy

Symbols	Meanings
A	Absorbance(흡광도), $\log(1/T)$, $\log(1/R)$
c	Concentration(농도, %)
C.V.	Coefficient of Variation(변이계수)
CCD	Charge Coupled Device
FIR	Far Infrared(원적외선)
MIR	Mid Infrared(중적외선)
MLR	Multi-Linear Regression(다중선형회귀법)
MSC	Multiplicative Scatter Correction(다중산란보정)
NIPALS	Nonlinear Iterative Partial Least Squares
NIR	Near Infrared(근적외선)
NMR	Nuclear Magnetic Resonance(핵자기공명)
PCR	Principal Component Regression
PDA	Photo Diode Array
PLS(=PLSR)	Partial Least Squared Regression(부분최소자승회귀법)
PRESS	Prediction Residual Error Sum of Squares(예측오차제곱합)
R	Reflectance, Correlation Coefficient(상관계수)
R^2	Determination Coefficient(결정계수)
SDR	Standard Deviation Ratio
SEC	Standard Error of Calibration(검량표준오차)
SEP	Standard Error of Prediction(검증표준오차)
SNV	Standard Normal Variate Transform
SSC	Soluble Solid Content(고형분 함량)
T	Transmittance(투과도)
VIS	Visual Light(가시광선)

4. 분광광도계 개요 및 특성

가. 분광광도계의 구성 및 종류

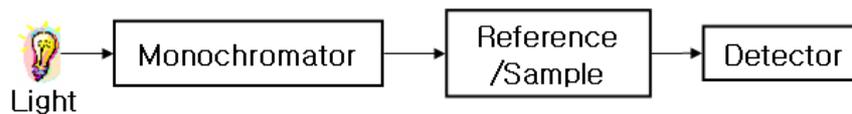
분광광도계는 일반적으로 빛을 내는 광원부와 그 백색광을 필요한 파장으로 분리시키는 단색화장치, 단색화된 빛을 측정시료에 조사시키도록 시료를 담은 용기와 시료에서 나오는 광량을 측정하기 위한 검출기로 구성되어 있으며, 빛을 시료에 조사시키는 방법에 따라 크게 투과법과 반사법으로 나눈다.

1) 투과 측정 장치

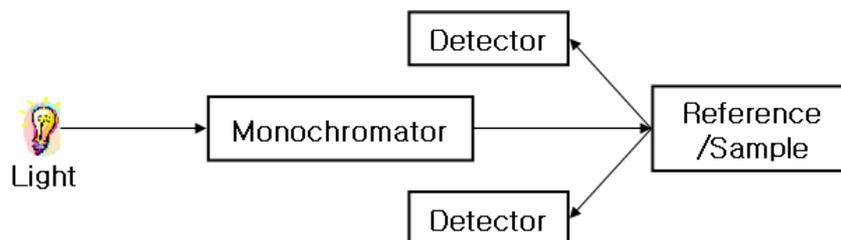
투과법은 그림 1-7(a)과 같이 광원으로부터 오는 빛이 시료에 투과하여 검출기에 도달한 빛을 측정하는 것이다. 주로 투명한 액상 시료나 빛이 충분히 투과할 수 있는 형태의 시료를 측정할 때 사용한다.

2) 반사 측정 장치

반사법은 그림 1-7(b)과 같이 빛을 시료면에 수직으로 입사시키고 시료에서 반사된 빛을 45° 각도에서 검출하는 방식이다. 보통 고체상태의 시료나 미세하게 분쇄한 시료를 측정할 때 많이 사용된다.



(a) Transmission measurement



(b) Reflection measurement

Fig. 1-7 Schematic diagram of transmission and reflection measurements.

3) Single beam

가장 간단한 형태의 분광광도계로서 그림 1-8(a)에 나타난 것과 같이 하나의 빛을 사용하여 기준광원 측정과 시료측정을 순차적으로 수행하는 것이다. 먼저 기준 용매를 용기에 넣은 후 투과 광량을 측정하고 다시 시료 용액을 넣고 투과 광량을 측정하는 형태이다. 구조가 간단하나 측정하는 동안 광원의 세기에 변화에 따라 오차가 발생할 수 있다.

4) Double beam

그림 1-8(b)과 같이 필터나 단색화장치로부터 나오는 빛 모두를 교대로 기준용기와 시료용기에 번갈아 가며 조사시키고 통과된 빛을 다시 그리드거울에 의해 검출기로 보내는 형태이다. 이 경우는 광원의 변화를 계속해서 반영하기 때문에 보다 안정된 신호를 얻을 수 있다.

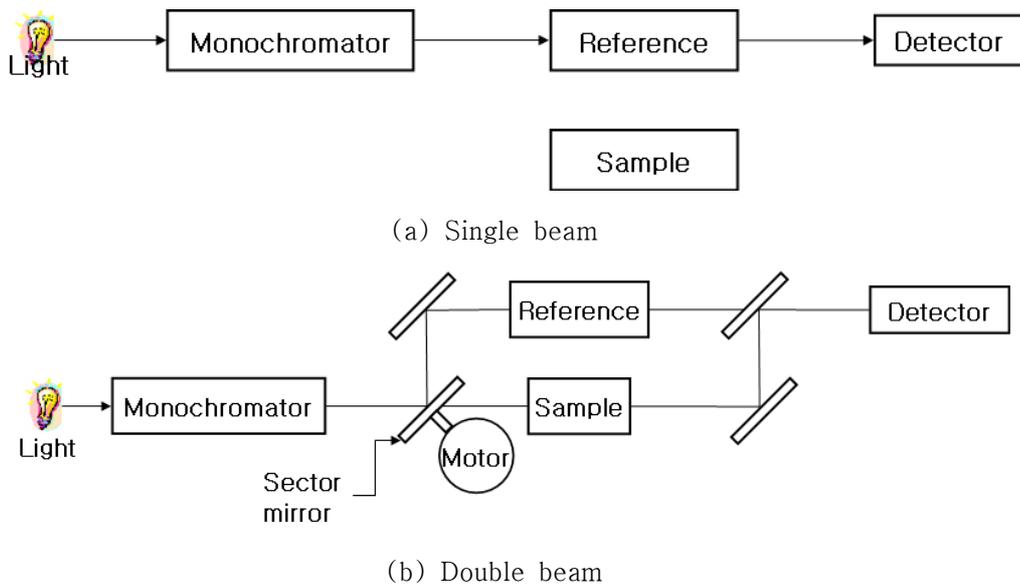


Fig. 1-8 Schematic diagram of single and double beam spectrophotometers.

5) 실시간(Real time) 분광광도계

실시간 분광광도계의 구조는 그림 1-9와 같이 광원과 단색화 장치 사이에 시료가

위치하게 되며 시료를 통과한 빛이 단색화 장치에 의해 분해되고 동시에 검출되는 형태이다. 실시간 분광광도계는 움직이는 구동부분이 없기 때문에 실시간으로 신호를 얻을 수 있으며 주사를 반복할 때 얻는 파장의 재현성은 극히 높다. 실시간 분광광도계는 신호 평균화를 통해 신호-대-잡음비(Signal-to-noise ratio)를 높일 수 있어 현장에서 실시간 품질측정을 위한 휴대용 품질측정 장치에 주로 사용되며, 그림 1-10에 도시하였다.

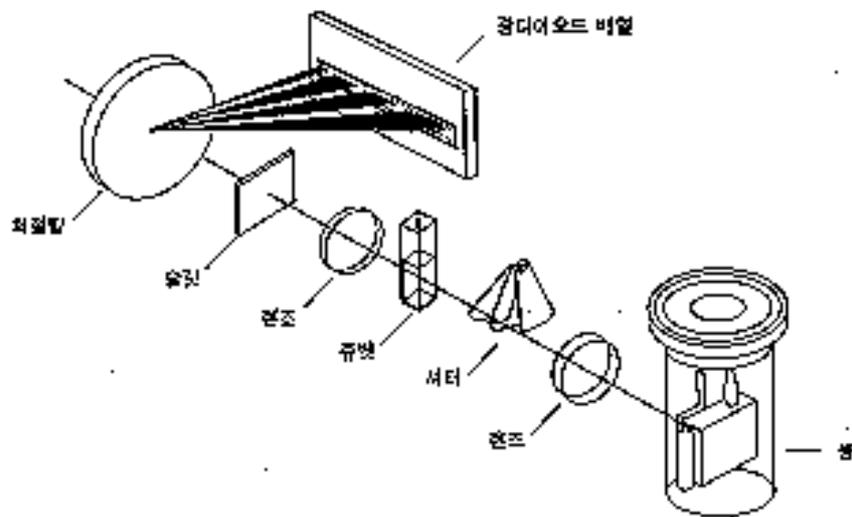


Fig. 1-9 Schematic diagram of real time spectrometer.



Fig. 1-10 Real time spectrometer(Ocean Optics, USA).

나. 광원의 종류

분자흡수 측정의 목적을 위한 연속광원은 상당히 넓은 파장범위에 걸쳐 그 세기가 크게 변하지 않는 것을 필요하며, 필요에 따라 원하는 파장에 해당하는 광원을 선택해야 한다.

1) 중수소와 수소 램프(Deuterium lamp)

자외선 영역에서 연속적인 스펙트럼을 얻고자할 때 사용되며 160 nm ~ 410 nm 정도까지의 연속 광을 얻을 수 있다.

2) 텅스텐 할로겐 램프

가장 일반적인 가시광 및 근적외복사선의 광원으로 350 nm ~ 2,500 nm 정도까지의 연속 광을 얻을 수 있으나, 가시/근적외선 영역의 분광기에 가장 많이 사용되고 있다.

3) 크세논 아아크 램프

이 등은 크세논 기체에 전류를 통하여 강한 복사선을 발생시키고 대략 500 nm에서 피크를 나타내며 250 nm ~ 600 nm 사이의 연속 스펙트럼을 얻을 수 있다.

다. 단색화 장치의 종류

자외선, 가시선 및 적외선 단색화 장치는 빛이 들어오는 입구슬릿, 렌즈, 거울, 복사선을 각각의 성분파장으로 분산시키는 프리즘이나 회절발(Grating), 출구슬릿 등으로 구성되어 있다. 회절발 단색화장치는 그림 1-11과 같이 반사표면에서 회절이 일어나 각 파장으로 분산이 일어나게 되며, 프리즘의 경우는 두 표면에서 굴절이 일어나 각 파장으로 분산이 이루어지는 형태이다. 같은 회절발을 이용한 단색화장치는 크기의 분산장치일 경우 파장분리가 용의하고 복사선을 선형으로 분산시킬 수 있는 장점에 가장 많이 사용되고 있다.

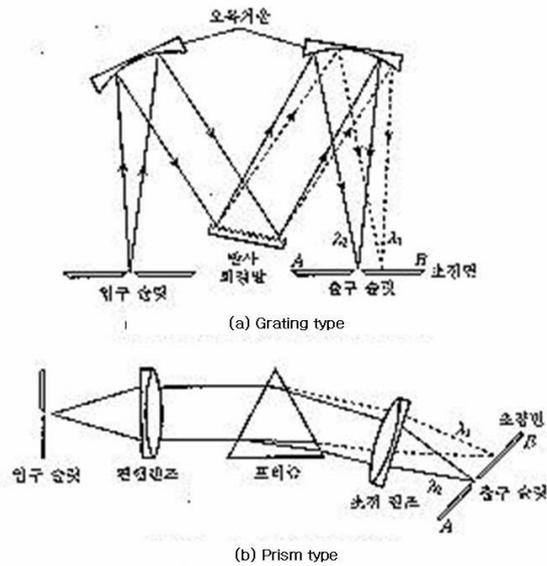


Fig. 1-11 Grating(a) and prism(b) monochromator.

반사 회절발은 매끈하게 연마된 금속 표면 위에 적당한 모양의 다이아몬드기구를 가지고 많은 수의 평행하고 조밀한 간격의 홈(Groove)을 파서 만든 것이다. 자외선과 가시선 영역에서 사용되는 회절발은 300 ~ 2,000 홈/mm을 가지고 있고 적외선 영역에 사용하는 것은 10 ~ 200 홈/mm의 홈을 가지고 있다. 이때 회절발에 그어지는 홈들은 모두 크기가 같고, 평행하며 등간격이어야 하므로 매우 정교한 제작 과정이 요구된다.

라. 시료 용기

시료를 담은 용기(Cell) 또는 큐벳(Cuvette)은 이용하는 스펙트럼 영역의 복사선을 흡수하지 않는 재료로 만들어야 한다. 석영이나 용융실리카는 자외선 영역(350 nm 이하)의 복사선뿐 아니라 3 μm까지도 통과시키므로 자외선, 가시선 및 적외선에 연구에 모두 이용할 수 있으며, 규산염유리는 350 ~ 2,000 nm의 영역에 이용할 수 있다.

마. 검출기

- 1) 광전자증배관(Photomultiplier tube)

자외선과 가시광선 영역에서는 주로 사용되며 열에 의해 암전류 발생이 커지기 때문에 암전류를 최소화하기 위해서 검출기를 냉각시키는 장치가 부착되어 있다. -30°C 정도까지 냉각시키면 암전류를 거의 제거할 수 있다.

2) 광전도 검출기(Photoconductive detector)

근적외선 영역($750 \sim 3,000 \text{ nm}$)에서는 사용되며 근적외선 영역의 복사선이 흡수되면 전기저항이 감소하는 반도체를 이용한다. 가장 널리 사용되는 광전도 물질은 황화납(PbS)으로서 실온에서도 사용할 수 있는 장점을 가지고 있다. 황화납 검출기는 $800 \sim 2,000 \text{ nm}$ 사이의 영역에서 감도가 좋다.

3) 실리콘 다이오드(Silicon diode) 검출기

복사선이 다이오드에 들어오면 복사선의 세기에 비례하는 전류가 흐르게 되고 이를 검출하는 방식이다. 약 $190 \sim 1,100 \text{ nm}$ 까지의 스펙트럼을 측정할 수 있는 감응 범위를 가지고 있다.

4) 다중채널 광자검출기

회절발에 의해 분산된 복사빛을 동시에 측정할 수 있도록 배열로 이루어져 있고, 규소 다이오드(Silicon diode) 검출기를 1024개 또는 2048개를 배열로 만들어 사용하며 실시간 분광광도계는 다중채널 광자검출기를 채택하고 있다.

가) Linear CCD array type

CCD array type의 검출기는 감도(Sensitivity)가 좋은 반면 신호 대 잡음비(보통 250:1)가 낮아 측정하는 신호자체가 매우 미약할 경우에는 고감도의 CCD array type을 사용해야한다. 신호-대-잡음비를 높이려면 신호의 세기를 높여 주어야하는데 CCD type의 경우 신호가 포화(Saturated)되어 측정이 불가능하기 때문에 신호 대 잡음비를 높이는데 한계가 있다.

나) Linear PDA type

PDA type의 감도는 CCD type에 비해 약하지만 신호의 세기를 높여 줄 수 있기 때문에 높은 신호-대-잡음비(보통 2500:1 ~ 8000:1)를 얻을 수 있다. 보통 CCD type에 비해 가시선 영역에서는 30배정도, 적외선 영역에서는 70 배정도 덜 민감하여 신호의 세기가 충분하다면 PDA type을 사용하는 것이 유리하다고 할 수 있다.

바. 광섬유 장치

광섬유(Optical fiber)는 상당한 거리(수백 미터 정도 그 이상)까지 복사선을 통과시킬 수 있는 유리, 용융실리카 또는 플라스틱의 선 다발로 되어 있다. 광섬유의 지름은 0.05 μm 부터 0.6 cm까지의 것들이 쓰이고 있으며 신축성을 이용하여 광 경로가 구부러진 경우에도 측정이 가능하고 일정한 거리에 떨어져 있는 시료를 측정할 수 있다. 따라서 공정 내에 분광광도계를 설치하여 온라인 시스템 구성이 가능하게 된다. 광섬유의 재질에 따라 유리 또는 플라스틱의 경우는 가시/근적외선 영역의 복사선 측정에 사용되며, 용융실리카의 경우는 자외선영역부터 사용할 수 있다. 용도에 따라 여러 가지 종류의 광섬유가 쓰이며 원하는 형태로 주문 제작도 가능하다. 반사를 측정하기 위한 광섬유 프로브는 하나의 프로브내에 광원에서부터 오는 복사선을 통과시키는 광섬유와 반사되어 나오는 복사선 신호를 받아들이는 광섬유를 동시에 넣어 제작한 것으로 반사측정 시 매우 편리하게 사용할 수 있다. 액체시료의 투과도를 용기를 사용하지 않고 직접 측정할 수 있는 Dip 프로브 형태도 있으며 투과 거리도 다양하게 제작되고 있다.

5. 스펙트럼의 측정 및 분석법

스펙트럼의 측정은 측정방식에 의해 반사 및 투과 스펙트럼 측정으로 나눌 수 있다. 반사 스펙트럼은 주로 시료 표면 및 일부 표면이하의 성분 측정에 주로 이용되며, 고체 시료의 성분분석에 유리하다.

투과 스펙트럼은 시료내부를 통과한 투과광을 측정한 것으로, 내부성분과 관련된 정보를 많이 포함하고 있어 원유와 같은 액체 시료 분석에 유리한 점이 있으나, 측정장치가 반사에 비해 좀 더 복잡해지게 되고, 투과광의 강도가 반사에 비해 미약하기 때문에 감도가 높은 센서를 요구한다. 또한 1100 nm이상의 파장에서는 대부분의 스펙

트럼이 시료에 흡수되기 때문에 이를 측정하는 것이 쉽지 않다.

따라서 분석하고자 하는 시료의 형태나 분석성분의 정보가 들어 있는 파장영역, 분석 목적에 부합하는 측정방식을 선택하여야 한다. 반사 혹은 투과 스펙트럼 측정장치를 이용하여 측정된 스펙트럼의 분석 순서는 그림 1-12와 같다.

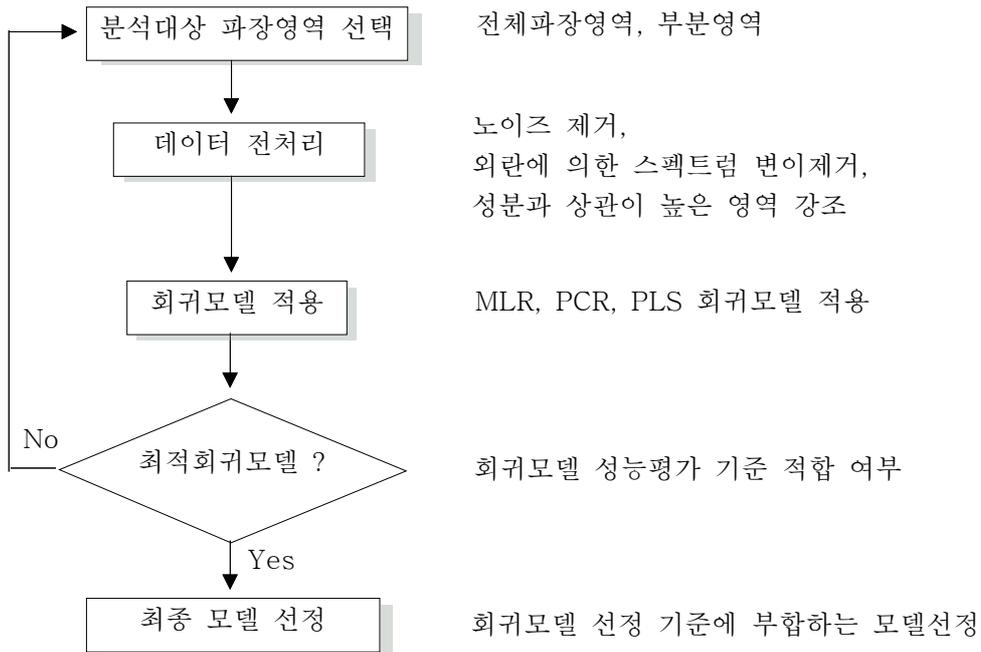


Fig. 1-12 Process of spectrum analysis.

가. 스펙트럼의 특성 및 외란

가시광선/근적외선은 외란의 영향을 많이 받게 되며, 실시간 측정 장치의 경우, 분석용 분광광도계로 측정하는 것보다 더 많은 외란 요인이 작용한다. 스펙트럼 전처리는 다중 모델의 개발에 있어서 가장 기초적인 단계이며, 스펙트럼에 포함된 외란을 제거하여 보다 안정적인 예측 모델을 만들기 위해 이용된다.

스펙트럼 측정시 구조적인 외란으로는 특히 과일과 같은 고형물체의 경우, 표면에 서의 광산란이나 측정방식에 기인한 광경로의 차이, 측정센서에서의 노이즈, 주변 측정환경의 변화(온도 등)가 있으며, 이러한 외란은 측정된 스펙트럼의 변이에 주요한

영향을 미치게 된다. 따라서 예측하고자 하는 내부 품질의 농도 정보가 포함된 스펙트럼 영역에 이러한 변이가 나타나게 되면, 성분의 농도와 상관이 없는 스펙트럼의 변이는 회귀 모델을 만들 때 방해가 되며, 모델의 예측성능을 저하시키는 주요한 원인이 된다.

나. 스펙트럼 전처리

전처리의 목적은 다중회귀모델 개발의 기초단계로서, 외란 요인에 의한 스펙트럼의 변이를 제거하고, 성분과 관련된 스펙트럼 정보를 강조하는데 있다.

스펙트럼의 주요 전처리 방법은 평활화(Smoothing), 1·2차 미분, MC, SNV, MSC 등이 있으며, 스펙트럼 측정장치 자체의 노이즈를 제거하는데 평활화를, 1·2차 미분은 광경로의 차이나 측정환경의 변화 등에 기인한 baseline의 이동을 제거하거나 변이가 큰 파장영역의 강조에 이용되고 있으며, MSC나 SNV는 스펙트럼의 측정시 광산란의 영향을 제거하는데 이용되고 있다.

1) 평활화(Smoothing)

Smoothing은 주로 외란 요인 중, 측정센서 자체의 노이즈를 제거하는데 이용한다. Smoothing의 종류는 Savitzky-Golay smoothing, Hanning window, Moving average, Foulrier transform, Wavelet transform 등이 있으며, Smoothing의 종류에 따라 평활화 성능에 차이가 있다.

그림 1-13은 7개의 농도별(8.4 ~ 14.9 brix)로 원시 스펙트럼(파장범위 550 ~ 1,050 nm)을 보여주고 있다. 그림에서 보는 바와 같이 각 농도별 스펙트럼은 각 파장에서 스펙트럼 에너지가 선형적인 관계에 있지 않아 기준선의 이동이 발생했으며, 센서 자체의 노이즈 성분도 포함되어 있음을 알 수 있다.

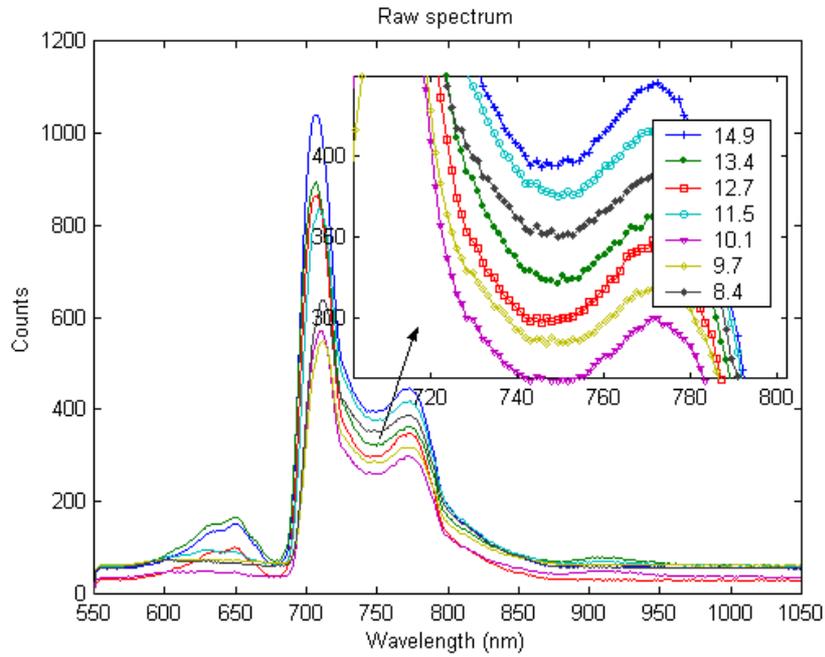


Fig. 1-13 Raw spectrum for concentration.

그림 1-14는 Savitzky-Golay smoothing을 이용하여 그림 1-13의 원 스펙트럼 데이터를 평활화한 경우의 예이다. 그림에서 보는 바와 같이 스무딩 포인트를 증가시킬수록 평활화된 원래 데이터에 포함된 노이즈는 잘 제거가 되나, 피크의 이동(773 nm → 770 nm)이 발생하므로, 스펙트럼이 가지고 있던 성분 에 대한 피크 정보의 변형이 생긴다. 따라서 원 스펙트럼 정보를 변형시키지 않고 측정 센서 자체의 노이즈만을 제거할 수 있는 평활화 방법 및 각 방법의 평활화 조건을 찾아야 한다.

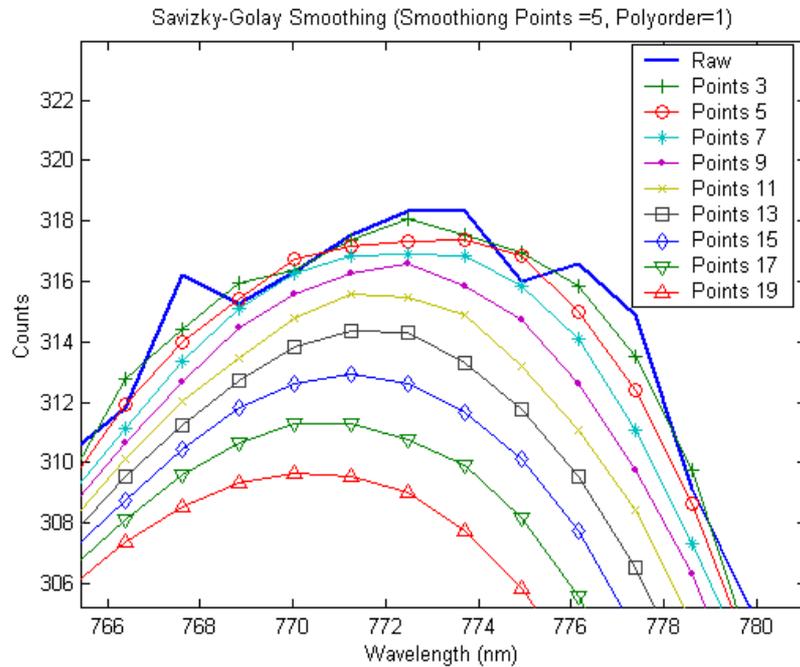


Fig. 1-14 Example of smoothing.

(Savitzky-Golay Smoothing, Smoothing points = 5, polynomial order = 1)

2) 미분(Differential)

스펙트럼 미분의 목적은 측정시의 환경변화나, 측정장치의 변화 등에 의해 야기된 기준선의 이동을 제거하고, 분석 대상 성분의 스펙트럼 정보가 다른 주성분의 스펙트럼 정보에 가려져 잘 보이지 않을 경우, 이를 강조하기 위해 사용된다. 스펙트럼 미분은 1차, 2차, 3차, ... 등 여러 가지 차수에서 행할 수 있으나, 대개의 경우 2차 미분정도만으로도 충분한 경우가 많다. 과도한 미분을 행할 경우, 스펙트럼의 모든 변이에 대해 미분효과가 나타나, 스펙트럼을 이해하기가 어렵다. 미분방법은 여러 가지가 있으나 그림 1-15와 같은 예에서는 Savitzky-Golay derivative를 이용하였으며, 사과의 투과에너지 스펙트럼에 대해 2차 미분을 행한 결과이다. 그림에서 원 스펙트럼에서는 보이지 않던 특정파장에서의 피크가 보이며, 다른 성분의 피크에 묻혀있던 작은 스펙트럼 정보를 강조하는 효과가 있음을 알 수 있다.

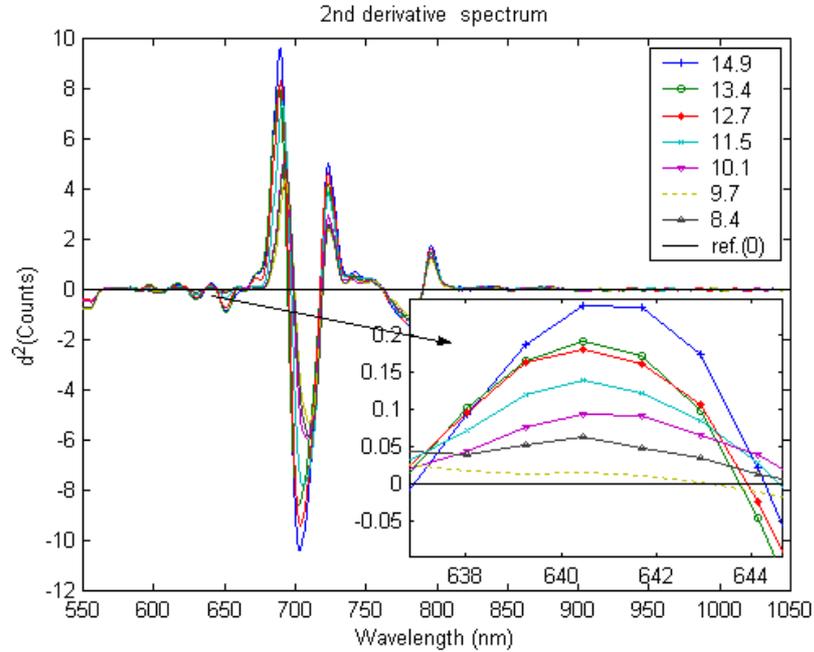


Fig. 1-15 2nd derivated spectrum.

3) 다분산보정(Multiplicative scattering correction, MSC)

MSC는 시료 표면 혹은 시료내부의 불균일성 때문에, 동일 시료에 대한 반복 측정에 대해서도 얻어진 스펙트럼은 차이를 보일 수 있으며, 이는 스펙트럼 데이터 변이의 가장 큰 원인이 된다. 또한 산란정도는 사용된 광원의 종류나 시료표면의 상태, 그리고 시료의 반사지수 등에 영향을 받으며, 이것은 주로 베이스라인의 이동이나 기울기 및 곡률의 변화로 나타난다. 이러한 광산란의 영향은 특히 측정된 스펙트럼의 장파장 영역에서 주로 나타난다. MSC의 기본개념은 모든 스펙트럼을 이상적인 스펙트럼에 의해 보정하는 것이다. 실제로는 이상적인 스펙트럼을 얻을 수 없으므로, 전체 스펙트럼의 평균을 이상 스펙트럼으로 하며, 이상적인 스펙트럼은 식 (1-12)를 이용하여 계산되어진다.

$$\bar{x}_j = \frac{\sum_{i=1}^m X_{i,j}}{m} \dots\dots\dots \text{식 (1-12)}$$

x : 스펙트럼 ($m \times n$),

\bar{x}_j : j번째 과장의 평균 스펙트럼($1 \times n$)

식 (1-12)와 같은 평균 스펙트럼을 이용하여 각 과장에서의 흡광도 데이터에 대해 선형회귀를 취하면, 식 (1-13)과 같이 선형모델을 계산할 수 있다.

$$x_j = a_i \bar{x} + b_j \dots\dots\dots \text{식 (1-13)}$$

x_j : 평균에 대한 회귀스펙트럼($1 \times n$),

a_i : 기울기, b_j : 절편

그러므로 선형모델에 대한 a_i 및 b_j 값을 이용하여 식 (1-14)와 같이 다분산보정을 수행하게 된다.

$$x_{i_MSC} = \frac{(x_i - b_j)}{a_i} \dots\dots\dots \text{식 (1-14)}$$

x_{i_MSC} : MSC 보정된 스펙트럼($1 \times n$)

그림 1-16은 그림 1-13의 7개 농도별 원데이터에 대해 다분산보정을 수행한 결과이며, 산란에 의한 변이가 상당히 감소했음을 알 수 있다.

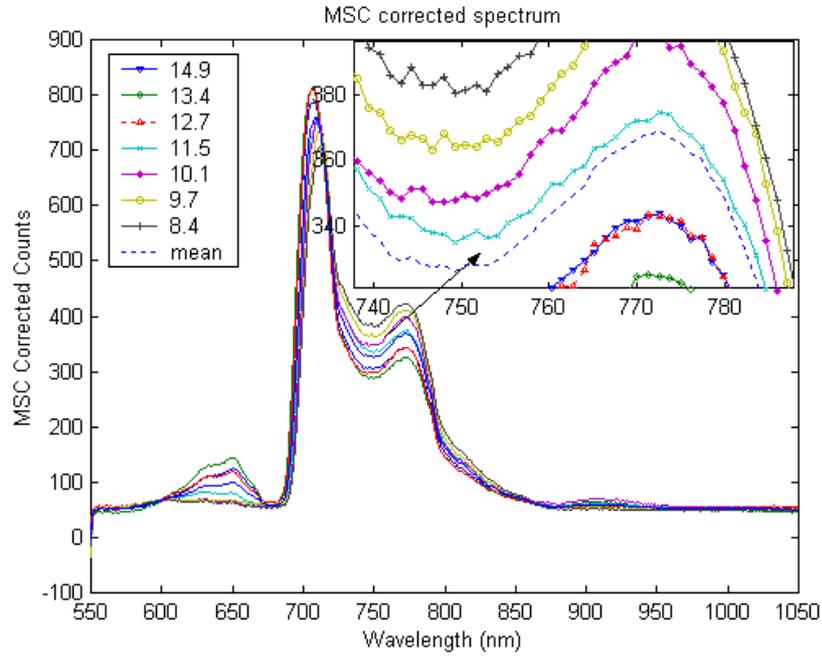


Fig. 1-16 Corrected spectrum by MSC.

4) SNV(Standard normal variate)

SNV는 다분산보정과 마찬가지로 광산란 보정을 위한 방법으로 전처리의 목적은 동일하지만 SNV는 이상적인 스펙트럼이 필요하지 않으며, 대신에 각 스펙트럼을 전체 스펙트럼의 표준편차로 정규화하여 광산란의 영향을 제거하는 방법이다. 광경로나 광원의 변동에 따른 스펙트럼의 변이등이 SNV에 의해 보정될 수 있으며, SNV보정된 스펙트럼은 식 (1-15)를 이용하여 식 (1-16)과 같은 무차원이 된다.

$$\bar{a}_i = \frac{\sum_{j=1}^n x_{i,j}}{n} \dots\dots\dots \text{식 (1-15)}$$

$$x_{i,SNV} = \frac{(x_i - \bar{a}_i)}{\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (x_{i,j} - \bar{a}_i)^2}{(n-1)}}} \dots\dots\dots \text{식 (1-16)}$$

\bar{a}_i : i번째 스펙트럼의 모든 파장에 대한 평균 ($n \times 1$)

$x_{i_{SNV}}$: SNV 보정된 스펙트럼 ($1 \times n$)

그림 1-17은 원시 스펙트럼에 대해 SNV 전처리를 적용한 것으로, MSC와 거의 유사한 효과를 보임을 알 수 있다.

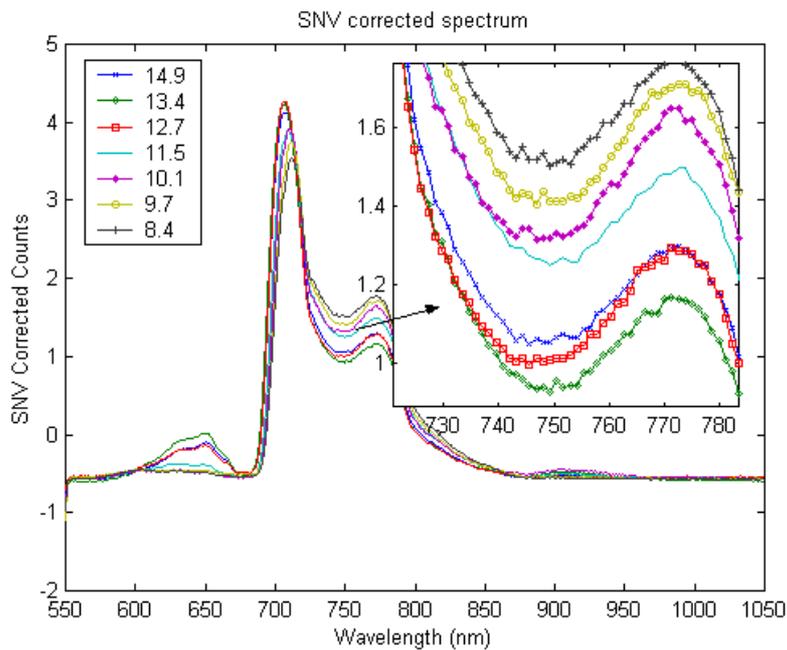


Fig. 1-17 Corrected spectrum by SNV.

다. 상관계수 곡선(Corelation curve)

상관계수 곡선을 그리는 것은 분석 대상 파장영역 각 파장에서의 스펙트럼 측정값과 성분과의 상관계수를 구하여 이를 전체 파장에 대해 도시한 것으로, 회귀 모델 개발 전에 모델의 정확성을 어느 정도 예측할 수 있다. 상관계수곡선에서 상관관계가 높은 영역이 많을수록 분석대상 성분의 스펙트럼 정보가 많이 포함되어 있음을 알 수 있다. 그림 1-18은 전술한 각 전처리별 상관계수 곡선을 제시한 것으로 전처리에 따라 상관계수가 변하는 것을 알 수 있다.

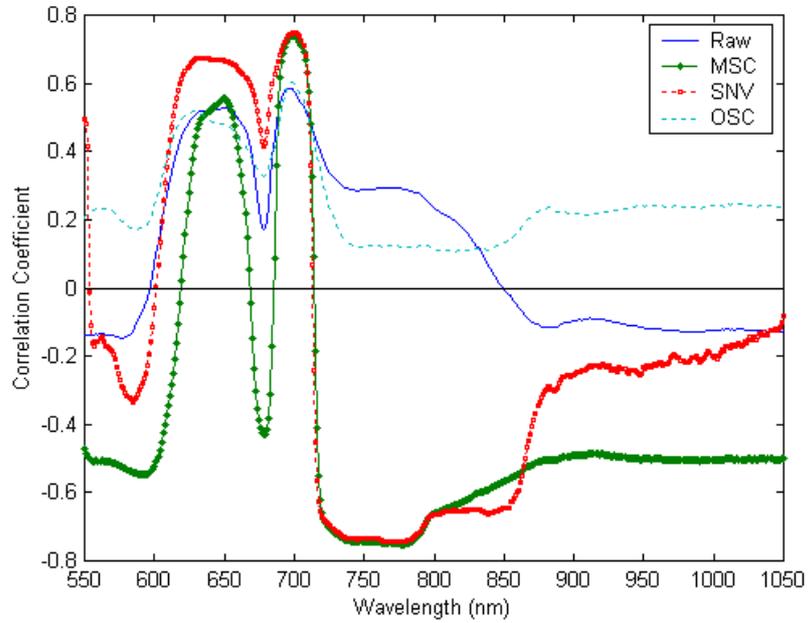


Fig. 1-18 Change of correlation curve for preprocesses.

라. 회귀분석모델(Regression model)

스펙트럼을 이용하여 정성분석 혹은 정량분석을 하는데 사용되는 통계적인 분석방법에는 주성분분석(PCA), 다중회귀법(MLR), 주성분회귀분석(PCR), 부분최소자승법(PLS)등이 있는데, 미지의 성분의 분석에 있어서는 주로 주성분분석을 이용한 정성분석을 하여 특정 과장영역을 선정한 후, 표 1-5와 같은 회귀분석을 통하여 정량분석을 하는 방법이 주로 이용된다.

Table 1-5 Various type of regression model

회귀모델	사용 변수	장점	단점
MLR	과장	정밀도 높음	과장선택이 어려움 변수수는 샘플수에 제한 받음 모델 안정성이 낮음 변수간 다중공선성문제가 있음
PCR PLS	주성분	정밀도 높음 모델 안정성이 높음	모델 해석이 어려움

1) 주성분분석(Principal component analysis, PCA)

주성분분석이란 자료가 가지고 있는 정보를 발견하기 위해서 자료에 포함된 사례들의 펼쳐져 있는 방향 또는 경향을 발견하기 위한 고전적 통계 기법이라고 할 수 있다. 자료가 펼쳐진 방향 또는 경향을 발견함으로써 자료가 내포하고 있는 정보를 발견할 수 있다. 발견된 정보에 근거해서 자료를 압축하여 저장할 수 있고 또 차후에 자료를 재구성 하더라도 손실을 최소화할 수 있다.

주성분분석(PCA)의 구체적 목적에는 변수들의 선형 결합을 결정하는 것, 가장 유용한 변수들을 선택하는 것, 변수의 수를 줄이는 것, 의미있는 새로운 잠재적 변수를 발견하는 것, 자료세트를 행렬의 차원으로 축소하는 것, 또는 대상들의 집단을 파악하는 것 등이 포함될 수 있다.

인자 분석을 실시할 것인가 주성분 분석을 실시할 것인가는 연구 목적에 따라 다르다. 인자 분석은 관찰되지 않은 잠재적 변수들을 발견하는데 유용하다. 자료를 요약하고 선형관계를 파악하기 위해서는 인자 분석보다는 주성분분석을 시행하는 것이 좋다. 또 회귀분석, 군집분석에 있어서 변수들의 수를 줄이기 위해서 주성분 분석에서 도출된 주성분을 사용할 수 있다. 또한, 주성분분석은 다수의 양적 변수들의 관계를 파악하기 위한 다변량 기법으로, 다수의 상관 변수들을 비상관 변수들인 주성분으로 전환한다.

주성분분석은 평방대칭행렬의 고유값(Eigenvalues)과 고유벡터(Eigenvectors)에 기반을 둔 고유분석(Eigen analysis) 기법이다. 고유벡터들은 직각이기 때문에 주성분은

최소 변수들의 공간을 통해서 수직 방향을 표시한다. 상관행렬, 공분산행렬, 또는 제곱 및 교차곱 합계행렬 등이 사용될 수 있다. 상관행렬은 표준화된 자료로부터 제곱과 교차곱의 합계행렬이다. 공분산행렬은 제곱과 교차곱의 계산(概算)된 합계이다. 제곱 및 교차곱 합계행렬은 순수 제곱 및 교차곱 합계의 행렬이다.

그러므로 주성분(Principal component)을 찾기 위한 일반적 기법은 자료 상관행렬의 고유벡터를 계산하는 것이다. 이 고유벡터는 자료가 펼쳐진 방향을 제공하며, 고유벡터상의 자료의 투영(Projections)이 주성분이다. 각 주성분은 처음 변수들의 선형결합이며 상관관계행렬 또는 공분산행렬의 고유벡터의 계수를 갖고 있다. 제 1 주성분은 자료에서 관찰된 변수들의 선형 결합의 최대 변량 즉 최대 분산을 가지고 있다. 제 2 주성분은 그 다음 변량을 설명한다.

2) 다중회귀분석모델(Multi-linear regression, MLR)

다중회귀분석모델을 일반화하며 식 (1-17)과 같이 나타낼 수 있으며, 계수 벡터 β 의 추정치인 추정회귀계수 b 는 식 (1-18)과 같이 구할 수 있다.

$$Y = X\beta + \epsilon \dots\dots\dots \text{식 (1-17)}$$

X : 시료의 농도

Y : 시료의 흡광도

ϵ : 오차

$$b = (X^T X)^{-1} X^T Y \dots\dots\dots \text{식 (1-18)}$$

그러므로 X와 Y사이의 선형관계를 이용하여 미지 시료의 성분값 Y를 예측해야하며, 이를 위해서는 변수선택법을 이용하여 모델과 가장 부합되는 변수의 조합을 찾아내야 한다. 이때 변수를 많이 고려할수록 만들어진 모델의 정확도는 향상되나, 기기장치의 변동이나 측정된 스펙트럼에 변이가 생기게 되면, 예측 성능이 저하되어 모델이 안정적이지 못한 단점이 있다. 또한 NIR 데이터에 이 모델을 적용할 때는 변수사이의 다중공산성문제를 고려하여 적용해야 하므로 선택된 변수들 간의 상관관계 분석이 필

요하다.

3) 주성분 회귀분석모델(Principal component regression, PCR)

스펙트럼 데이터와 같이 여러 개의 반응변수(Response variable)에 대하여 얻어진 다변량 데이터(Multivariate data)를 분석의 대상으로 하는 주성분회귀 모델은 식 (1-19)와 같이 다차원적인 변수들을 축소 및 요약하여 차원을 단순화시키며 서로 상관되어 있는 반응변수들 상호간의 복잡한 구조를 서로 독립적인 주성분(Principal component)이라고 불리는 새로운 변수를 유도한다. 주성분분석 모델은 높은 상관관계를 갖는 많은 스펙트럼 데이터를 고유벡터 집합과 스코어로 분해하여 주성분이라는 소수의 상호 독립적인 새로운 변량으로 변환함으로써 다중선형회귀모델(MLR)의 다중공산성을 제거하며, 소수의 주성분으로 스펙트럼 데이터의 변이를 최대한 수용하려는 통계기법이다. 다중선형회귀모델에서처럼 스펙트럼 데이터에서 소수의 특정 파장의 데이터만을 이용하는 것이 아니라 모든 파장의 스펙트럼 데이터를 종합적으로 파악하려는 방법으로 많은 수의 스펙트럼 데이터를 소수의 주성분으로 축소하며, 이 주성분의 분석을 통해 스펙트럼 데이터의 변이를 해석한다. 그러나 주성분분석 모델은 변수 X를 새로운 변수 세트 T로 바꾸어 차원축소를 행한 후, 이의 선형관계를 이용하여 Y 값을 예측하는 반면에, X차원에서의 분산만이 고려된다는 단점이 있다.

$$T = XP \dots\dots\dots \text{식 (1-19)}$$

T : Score

P : Loading 혹은 Factor

X : 시료의 흡광도

4) 부분최소자승 회귀모델(Partial least square, PLS)

부분최소자승 모델은 주성분분석 모델에서와 같이 스펙트럼 데이터 행렬을 고유벡터 집합(Eigen vector)과 스코어(Score)로 분해하는데, 이때 주성분분석 모델과는 달리 농도 정보를 이용함으로써 고농도의 스펙트럼은 저 농도의 스펙트럼보다 큰 가중치를 가지게 하는 기법이다. 즉, 스펙트럼 데이터 행렬을 고유벡터 집합과 스코어로

분해하고 회귀시키기 전의 분해과정에서 농도정보를 사용함으로써 높은 농도를 가지는 성분의 스펙트럼은 낮은 농도의 것보다 큰 가중치를 가진다. 부분최소자승 회귀법은 기존에 존재하는 스펙트럼 데이터를 주성분분석으로 분해하여 각각의 주성분과 농도 사이의 상호관계를 이용하는 것으로 식 (1-20)과 같은 모델식을 이용하게 된다.

$$\begin{aligned}
 X &= TP^T + E \\
 Y &= UQ^T + F \\
 U &= TB + H \quad u_a = b_a t_a + h \quad \dots\dots\dots\text{식 (1-20)}
 \end{aligned}$$

- X : 스펙트럼 데이터 행렬
- Y : 농도 데이터
- T : 독립변수 X를 설명하는 Score 행렬
- W : X와 U(Y)사이의 상관관계를 나타내는 Weight 행렬
- U : 종속변수 Y를 설명하는 Score 행렬
- Q : Y와 T(X)사이의 상관관계를 나타내는 Weight 행렬
- E, F, H : 잔차 행렬

주성분분석 모델은 스펙트럼을 분해하는 과정에서 농도 데이터가 포함되지 않으나, 부분최소자승 모델의 경우 스펙트럼 분해 과정에 농도 데이터가 포함되므로 일반적으로 더욱 우수한 성능을 발휘하는 것으로 보고되고 있다.

5) 모델 성능 평가

회귀모델의 성능평가를 위해 식 (1-21)과 같은 값을 계산하며, 이는 모델의 예측 표준오차인 SEC(Standard error of calibration)와 미지시료의 예측 표준오차 SEP(Standard error of validation)이다. 이는 모델의 예측 성능을 파악하기 위한 지표로 사용된다.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (y_i - \hat{y}_i)^2}{m - f - 1}}$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m ((y_i - \hat{y}_i) - bias)^2}{m - 1}} \dots\dots\dots \text{식 (1-21)}$$

y_i : 시료 성분의 실제값

\hat{y}_i : 모델에 의한 성분 예측값

f : 자유도, 여기서는 부분최소자승 Factor의 수

m : 시료의 수

※ 본 연구에서는 휴대용 원유 품질판정 시스템 개발을 위해 텅스텐 할로겐 램프를 광원으로 선정하였으며, 가시광선과 근적외선 영역의 측정을 위해 각각 CCD array type과 PDA type의 실시간 분광광도계를 사용하였다. 원유시료가 액체 시료임을 고려하여 투과 스펙트럼 방식으로 측정하였다. 또한 기기장치의 변동이나 측정된 스펙트럼에 변이가 생기게 되면, 예측 성능이 저하되어 모델이 안정적이지 못하며, 모델 적용 시 변수사이의 다중공산성문제를 고려해야하는 다중회귀분석 모델과 다중회귀분석 모델의 단점은 보완했으나 모델이 X차원에서의 분산만 고려되는 단점이 있는 주성분분석 모델을 제외하였다. 모델 해석이 어렵지만 다중회귀분석 모델의 단점을 보완하고 X와 Y사이의 상관관계를 고려한 모델 개발이 가능한 부분최소자승 회귀모델을 이용하여 유성분의 모델을 개발하였다.

제 2 절 원유의 체세포수 측정을 위한 전처리 기술 개발

1. 국내 원유 체세포수 분포도 조사

가. 체세포

체세포는 몸을 구성하고 있는 각 기관, 조직의 가장 작은 단위세포를 말하는 것으로 사람이나 가축의 체세포는 여러 가지 종류로 나누어지며 일반적으로 상피세포, 중성구, 임파구 및 단핵구 등의 세포들로 혈액에서 유래한 백혈구가 75 %, 유방분비 세포인 상피세포가 25 % 정도로 구성되어 있다(Aroshi 등, 1989). 체세포의 소장세포는 1.5일, 창자의 벽에 붙어 있는 섬모세포는 3 ~ 5일의 수명을 가지고 있으며 원유를 생성하는 유방의 유선세포도 일정한 수명을 가지고 있어 오래된 세포는 표면에서 탈락되어 떨어져 나가고 새로운 세포가 생성되어 원유의 합성과 분비가 계속적으로 가능하다. 또한 외부의 병원균의 침입으로 유선이 탈락되어 원유와 함께 섞여 나오는데 이러한 상피세포는 원유 중에 일정한 양이 혼입되며 이것은 유방 내에 염증상태를 측정할 수 있는 중요한 역할을 한다. 유방염에 걸린 젖소의 원유 중 70 %는 판매가 불가능하고 산유량이 30 % 감소하며 유성분 중 유지방, 총단백질, 카제인, 무지고형분 등이 감소하여 막대한 경제적 손실을 초래하고 있어 체세포수의 정확한 측정을 통한 유방염 진단이 필요한 실정이다. 선진 낙농국가에서는 오래전부터 체세포수에 의한 유방염 진단 및 등급제를 실시하여 원유의 위생적인 측면에 높은 관심을 기울이고 있으며 국가별 평균 체세포수는 표 2-1과 같이 오스트리아, 스위스, 핀란드, 노르웨이가 평균 20만개 정도를 보이고 있다. 국내에서는 위생등급제 실시이후 체세포수 개선 정도는 미진하였으나 2001년도에 체세포수 등급 간의 기준범위 격차를 현행 3등급에서 5등급으로 세분화하여 1등급 원유의 비율은 표 2-2와 같이 2002년 25.6 %에서 2005년 42.9 %로 높은 증가율을 보이고 있다.

Table 2-1 A ratio of somatic cell count in other countries

Country	Somatic cell count (×1,000/mL)	Health ratio by somatic cell count			
		< 300,000	< 400,000	< 500,000	≥500,000
Austria	160	84.9 %	7.1 %	4.3 %	3.7 %
Swiss	273	93.1 %	3.6 %	1.5 %	1.8 %
Finland	280	88.5 %	7.6 %	2.5 %	1.5 %
Norway	231	93.1 %	4.8 %	1.4 %	0.7 %

2001, 낙농진흥회

Table 2-2 A change of somatic cell count ratio for each year

Grade	1 Grade (< 200,000)	2 Grade (< 350,000)	3 Grade (< 500,000)	4 Grade (< 750,000)	5 Grade (≥ 750,000)
2002	25.6	41.9	21.8	6.5	4.2
2003	31.7	32.2	17.4	11.5	7.2
2004	37.2	34.5	15.6	8.5	4.2
2005	42.9	36.1	13.6	6.0	1.4

2007, 낙농진흥회

나. 현행 체세포수 검사법

1) 표준법(직접 현미경법)

직접현미경 검사법은 슬라이드 글라스의 1 cm²내에 샘플우유 0.01 mL를 도말, 건조시켜 염색 후 현미경하에서 체세포수를 직접 검사하고 현미경 계수를 곱하여 원유 1 mL 중 체세포수를 산정하는 것으로 이 검사법이 현재 체세포수 검사법의 표준법으로 널리 이용되고 있다. 하지만 이 방법은 많은 시간과 노력이 들어서 다수의 샘플을 처리하기에는 부적합하다.

가) 원유채취 및 보존

원유 채취 시에는 충분히 혼합한 후 채취하고 저장 온도가 6 °C를 초과해서는 안되며 6시간 이내에 검사를 수행하여야 한다. Orthoboric acid(0.6%이내)를 보존제로 첨가 시에는 6 °C에서 24시간 보존할 수 있다. 체세포수는 최초 2~3일 정도는 증가한 뒤 시간이 길어질수록 감소하므로 정확한 검사를 얻기 위해서는 신속한 검사가 필요하다.

나) 염색액(Newman-Lampert stain solution)

Methylene blue	0.6 g
Ethyl alcohol 95%	54 mL
Tetrachlorethane	40 mL
Glacial acetic acid	6 mL

Ethyl alcohol과 Tetrachlorethane을 혼합하여 60~70 °C 항온수조에서 처리한 후 Methylene blue를 주의 깊게 가한다. 4 °C로 식힌 후 Glacial acetic acid를 가하여 10 ~ 12 micron 이하의 구멍 사이즈(Pore size)의 필터(Filter)를 이용하여 여과 후 사용한다.

다) 염색방법

슬라이드 글라스는 사전에 깨끗이 닦고, 알코올로 재처리 후 건조시켜 사용하며, 슬라이드 글라스 위의 1 cm²격자는 매니큐어 등으로 정확히 표시한다. 원유를 30 ~ 40 °C로 열처리한 수 슬라이드 위(1 cm²)에 고르게 도말하여 고정시키고, 10분간 염색을 실시하고 증류수로 3회 수세 후 건조시켜 현미경으로 관찰한다.

라) 체세포수 산정

체세포수 측정 시 핵을 가진 모든 세포를 계산하고 핵이 없는 원형질(Cytoplasmic) 덩어리 및 작은 핵을 가진 작은 세포의 분해물(Small cell fragment)은 계산하지 않는다. 체세포수의 산정은 식 (2-1)과 같이 Working factor를 곱하여 산정한다.

$$MF = \frac{100(\text{우유회석배수}) \times 100(\text{mm을 } cm^2\text{로 환산)}}{r^2(\text{반지름}) \times 3.1416} \dots\dots\dots \text{식 (2-1)}$$

$$= \frac{10,000}{0.08^2 \times 3.1416}$$

$$= 500,000$$

MF : 현미경계수(Microscopic factor)

예를 들면 표 2-3과 같이 50시야를 임의로 측정했을 때 체세포수가 30이었다면 우유 1mL 중의 체세포수는 Working factor(10,000) × 측정수(30) = 300,000이 된다.

Table 2-3 Relation of visual number and working factor

visual number	Working factor
1	500,000
10	50,000
25	20,000
50	10,000
100	5,000
200	2,500

2) Rolling ball viscometer(RBV)법

계면활성제의 작용으로 체세포 중 길게 얽힌 DNA 분자가 풀려 나와 우유 중의 단백질과 결합함으로써 섬유성 기질을 형성시켜 점도를 나타내며, 점도 정도를 세포수로 환산하여 측정하는 방법이다. Glycerol 28 %(W/W)로서 점도를 고정시킨 후 시험코자하는 우유 시료와 계면활성제(Viscol 610)를 섞어 이로 인한 점도를 구슬(Ball)이 움직이면서 체세포수를 가리키는 점도측정 장치이다.

라. 자동화 검사장비

우유 중의 체세포를 형광물질인 Ethidium bromide로 코팅시켜 일정량을 디스크에 도포시켜 순간적으로 통과되는 체세포를 할로겐램프 또는 레이저 빔으로 측정하는 검사법으로 포소매틱(Fossomatic), 소마카운터(Somacount), 소마스콥프(Somascope)등이

있다. 가장 신속하게 우유 중의 체세포수를 측정할 수 있는 방법으로서 시간당 200개 이상의 시료를 측정할 수 있다. 세계 각국의 유방염 진단연구소나 유업체에서는 이미 오래전부터 이 장치를 설치 운영하고 있어 목장의 집합유(Bulk milk)와 젖소 개체별 우유에 대한 검사를 실시하고 있으나 경제적인 면에서 매우 제한적이다.

가) 포소매틱(Fossomatic)

(1) 원리

우유 중 체세포에 형광물질인 Ethidium bromide로 염색시켜 일정량을 디스크(Disk)에 도포시켜 순간적으로 통과되는 체세포를 할로겐램프로 측정하는 자동형광현미경법이다. 최근에는 일정한 속도로 흐르는 관에 빛을 비추어 염색된 세포의 수를 측정하는 Flow cytometry method를 이용한다.

(2) 시약 및 재료

(가) 우유 약 10 mL

(나) 시약준비

① Dye buffer basic solution (14,500 샘플 측정용)

㉞ 40~50 °C로 가열된 증류수 1 L에 Ethidium bromide 2.5g를 완전히 녹인다.

㉟ Triton X-100 50 mL과 Fossomatic buffer powder 415 g를 4 L 증류수로 완전히 녹인 후 총 5 L이 되게 한다(햇빛과 공기가 통하지 않게 보존하면 유효기간은 90일 정도이다).

② 1% Triton X-100 Solution

㉞ Triton X-100 10 mL를 1 L 증류수에 넣은 후 60 °C에 가온하여 녹인다(햇빛과 공기가 통하지 않게 보관하면 유효기간은 60일 정도이다).

③ Working solution(유효기간 2-3주)

㉞ Dye buffer Basic solution을 증류수로 10배 희석하여 사용한다.

㉟ Cleaning solution : 1 % Triton X-100 10 mL과 암모니아수 5 mL를 10 L 증류수에 넣어 사용한다.

㉔ Zero solution : NaCl 4 g를 증류수 1 L에 녹인 후 Triton X-100 1 mL을
가하여 사용한다(밀봉하여 건조한 곳에서 보관).

(3) 방법

(가) Fossomatic을 15분간 Stand by 한 다음 Zero solution으로 영점을 잡아준다.

(나) Prog 및 Enter key를 사용하여 Batch 및 Sample number 값을 정해준다.

(다) Sample의 체세포수 측정은 Auto measure를 사용하여 자동으로 측정한다.

(라) 원유가 혼합된 다음 2.6 mL이 주입되고 Ethidium bromide dye solution에 의해 체세포가 염색되어 디스크(Disk)에 도포 되어서 할로젠램프를 이용 측정하게 된다.

(4) 특징

포소매틱 검사법은 표 2-4와 같은 특징들을 가지고 있다.

Table 2-4 Specifications of Fossomatic system

항 목	성 능
분석 속도	300 sample/1시간 (Fossomatic 300)
측정범위	> 10,000,000 cell/mL
정확도	< 10 %
직접현미경법과 상관성	0.96 ~ 0.99
오차(반복성)	4 ~ 7 %
우유소비량	2.6 mL
샘플온도	30 ~ 40 °C
염색액 소비량	2,700 sample/10L
세척액 소비량	500 sample/10L

나) 소마카운터(Somacount)

(1) 원리

우유 중의 세포를 형광물질인 Ethidium bromide로 염색시켜 일정량을 레이저 빔으로 체세포를 측정하는 Flow cytometric method를 이요한 장치이며, Foss Electric의 FM 500/SAYS 6000 등이 이 방법을 이용한다.

(2) 시약 및 재료

(가) 우유

(나) Dye stock solution

50 ℃로 데운 증류수 100 mL에 Ethidium bromide 2.5 g를 완전히 녹여 사용한다 (햇빛과 공기가 통하지 않게 냉장고에 보관하면 유효기간은 60일이다).

(다) Buffer stock solution

50 ℃로 데운 증류수 950 mL에 완충분말 1팩을 완전히 용해시킨 후 Triton X-100 10 mL를 첨가하여 햇빛이 차단된 진공용기에 냉장고에서 60일 정도 보관하다.

(라) Working solution

증류수 8,900 mL에 Dye stock solution 100 mL를 첨가하고 여기에 Buffer stock solution 1 L을 섞어서 완전히 용해시킨다.

(마) Carrier fluid (RBS 2 % solution)

* 상기 시약은 상온에서 제조일로부터 약 3주를 넘지 않도록 해야 한다.

(3) 방법

가검 우유 약 4 mL이 형광 염색액 4 mL과 자동으로 기계에 의하여 혼합 염색된다. 염색된 체세포는 레이저빔에 의해 자동으로 판독된다.

(4) 특징

소마카운터 검사법의 표 2-5와 같은 특징들을 가지고 있다.

Table 2-5 Specifications of Somacount system

항 목	성 능
분석 속도	300 sample / 1시간 (Somacount 300)
측정범위	0~20,000,000 cell / mL
정확도	< 10 %
직접현미경법과 상관성	> 0.96
오차(반복성)	< 5 %
우유소비량	4 mL
샘플온도	실온
염색액 소비량	3 mL / 1 sample
세척액 소비량	200 mL / 1 sample

다. 국내 원유 체세포수 분포도 조사

원유 시료는 한국식품연구원과 협조하여 대부분 2006년 6월 ~ 12월경에 낙농 농가에서 수집한 시료를 중심으로 체세포수의 범위가 1등급 ~ 5등급까지 각 등급별의 시료를 포함하도록 수집하였다.

본 연구에서는 서울우유 지도소에 의뢰하여 표준화된 체세포수 검사장비인 체세포수시험기(Somacount, Bently Instrument, USA)를 이용하여 체세포수를 측정하였다. 측정된 원유는 표 2-6과 같이 전체 시료 550점 중 272점(49.5 %)이 1등급, 115점(20.9 %)이 2등급, 66점(12 %)이 3등급, 44점(8 %)이 4등급, 53점(9.6 %)으로 나타나 고품질의 원유가 생산되고 있음을 알 수 있다.

Table 2-6 Grade of somatic cell count tested

Grade	Somatic cell count	Number of samples	Rate (%)
1 grade	< 200,000	272	49.5
2 grade	< 350,000	115	20.9
3 grade	< 500,000	66	12
4 grade	< 750,000	44	8
5 grade	≥ 750,000	53	9.6
Total		550	100

2. 원유 체세포수 측정을 위한 원유시료 전처리 조건 설정

수집된 원유 시료는 서울우유 지도소에서 체세포수시험기로 체세포수를 측정한 후 성균관대학교에서 1일 이내 스펙트럼을 측정하였다. 저장환경의 변화는 미생물, 효소 등의 번식을 유발하여 체세포수 예측 성능에 영향을 미친다. 그러므로 본 연구에서는 미생물의 번식을 억제하는 보존제의 광학적 특성을 구명하기 위하여 표 2-7과 같이 보존제 처리한 원유와 처리하지 않은 원유 시료를 임의로 수집하였다.

Table 2-7 Somatic cell count for milk condition tested

Somatic cell count		Number	Ave.	Max.	Min.	Std.
Raw	Fresh	73	228,705	1,305,000	15,000	247,132
	Preserved	50	228,705	2,789,000	21,000	554,868
Methyl red	Fresh	49	292,522	298,000	35,000	466,598
	Preserved	50	292,522	2,789,000	21,000	554,868
Methylene blue	Fresh	49	292,522	298,000	35,000	466,598
	Preserved	50	292,522	2,789,000	21,000	554,868
Bromcresol purple	Fresh	49	292,522	298,000	35,000	466,598
	Preserved	50	292,522	2,789,000	21,000	554,868
Phenol red	Fresh	49	253,475	954,000	12,000	266,066
	Preserved	45	253,475	1,105,000	9,000	224,085
Resazurin	Fresh	49	253,475	954,000	12,000	266,066
	Preserved	45	253,475	1,105,000	9,000	224,085
Eosin-Y	Fresh	49	292,522	298,000	35,000	466,598
	Preserved	50	292,522	2,789,000	21,000	554,868
Amido black	Fresh	49	253,475	954,000	12,000	266,066
	Preserved	45	253,475	1,105,000	9,000	224,085

미생물, 효소 등의 번식을 억제하기 위한 보존제(Broad spectrum micro tabs II)는 1정제당 8 mg 의 Myacide pharma BP 및 0.3 mg Natamycin 이 함유되어 있으며 원유 40 mL당 1정제를 넣어 처리하였다. 보존제 처리한 원유와 처리하지 않은 원유에 대한 첨가시약의 사용 가능성을 알아보기 위하여 그림 2-1과 같이 염료환원 시험법에 사용되는 Methyl red, Methylene blue, Bromcresol purple, Phenol red, Resazurin의 시약, 조직표본염색에 사용되는 Eosin-Y 시약, 전기영동 시 단백질염색에 주로 이용되는 Amido black 시약을 원유에 첨가하여 가시광선/근적외선 영역의 고성능 분광광

도계(NIRS 6500, FOSS, Denmark)로 400 ~ 2500 nm 영역에서 2 nm 간격으로 반사 스펙트럼을 측정하였다. 스펙트럼 측정은 원유 시료의 온도에 의한 영향을 최소화하기 위하여 시료의 온도를 40 ℃로 유지하였고(김재민, 2004) 원유와 반응 시약이 충분히 반응하도록 반응시간을 5분으로 하였다. 측정된 스펙트럼의 50 %를 교정부로 분류하여 체세포수와 상관계(R)를 구하였으며 나머지 50 %의 데이터를 이용하여 예측 성능을 검증하였다. 상관계는 상용 프로그램인 Unscrambler(CAMO, Norway)의 PLS(Partial least square)를 이용하여 분석하였다.

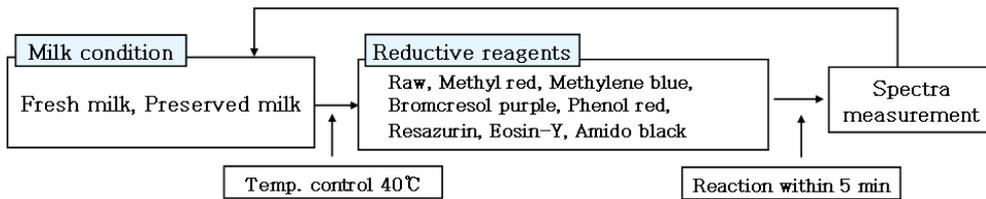


Fig. 2-1 Flow chart of experiment method for milk condition.

그림 2-2는 보존제 처리한 원유 시료에 시약을 첨가하여 측정된 반사스펙트럼으로 첨가시약에 따라 400 ~ 800 nm의 가시광선 영역에서 차이를 보이고 있으며, 이는 첨가시약의 원래 색이 시약의 첨가에 의해 원유 시료의 색을 변하게 했음을 알 수 있다. 시약 첨가가 원유 시료의 체세포수 예측 성능에 미치는 광학적 특성을 구명 시 가시광선 영역의 특성 변화를 확인하는 것이 다른 파장 영역에 비해 비교적 중요할 것으로 판단된다.

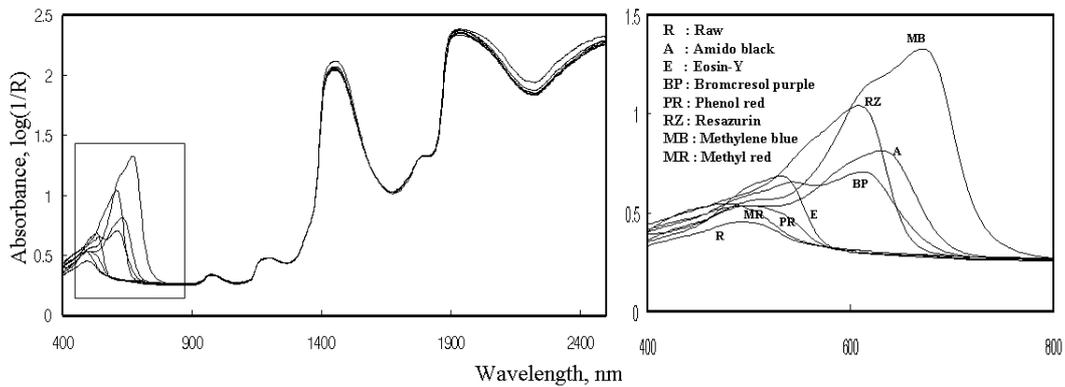


Fig. 2-2 Reflectance spectra of visible/near-infrared spectrum for milk with reductive reagents.

원유의 처리 조건을 선정하기 위하여 표 2-8과 같이 보존제 처리한 원유와 처리하지 않은 원유에 대하여 예측 모델을 개발하였다. PLS 모델을 개발한 결과 전체적으로 보존제 처리한 원유 시료의 상관계수가 높게 나타났는데, 이것은 체세포수 측정 시 환경조건과 스펙트럼 측정 시의 환경이 다소 차이가 있기 때문이며 보존제를 첨가한 경우 체세포수 측정환경이 유지되어 환경변화에 대한 오차를 최소화하였기 때문으로 판단된다. 또한 시약을 첨가하지 않은 원유 시료보다 시약을 첨가한 시료의 상관관계가 상대적으로 높게 나와 스펙트럼을 이용한 예측 모델 개발 시 첨가시약의 사용 가능성을 제시하였다. 보존제 처리한 원유 시료에 Methyl red를 첨가하여 400 ~ 600 nm영역에서 모델을 개발한 결과 교정부 상관계수는 0.90, 교정부 오차는 35,088개, Methylene blue의 경우 500 ~ 800 nm영역에서 교정부 상관계수 0.89, 38,382개, Resazurin의 경우 400 ~ 700 nm영역에서 교정부 상관계수 0.98, 교정부 오차 25,314개, Amido black의 경우 400 ~ 700 nm에서 교정부 상관계수 0.94, 교정부 오차 26,322개로 높은 교정 결과를 보이고 있다.

Table 2-8 PLS results of calibration for each milk condition

Somatic cell count		Calibration				
		Wavelength	N	Factor	R	SEC
Raw	Fresh	400~700	45	5	0.51	123,037
	Preserved	400~700	30	3	0.79	334,994
Methyl red	Fresh	400~800	29	11	0.56	110,636
	Preserved	400~600	30	16	0.90	35,088
Methylene blue	Fresh	700~900	29	2	0.50	84,847
	Preserved	500~800	30	13	0.89	38,382
Bromcresol purple	Fresh	600~800	29	3	0.52	87,771
	Preserved	400~800	30	12	0.82	301,449
Phenol red	Fresh	800~1200	29	4	0.55	78,993
	Preserved	400~900	25	13	0.84	29,399
Resazurin	Fresh	900~1200	29	3	0.58	79,311
	Preserved	400~700	25	15	0.98	25,314
Eosin-Y	Fresh	500~700	29	7	0.53	92,368
	Preserved	400~600	30	14	0.76	56,502
Amido black	Fresh	900~1100	29	5	0.59	103,861
	Preserved	400~700	25	11	0.94	26,322

전체적인 체세포수의 예측 모델은 첨가시약에 따른 색상변화를 고려하여 400 ~ 800 nm의 가시광선 영역에서 개발하였으며 미지의 시료를 이용하여 검증한 결과 표 2-9와 같이 보존제 처리한 원유 시료에 Methyl red를 첨가하여 검증한 결과 검증부 상관계수는 0.79, 검증부 오차는 122,978개, Methylene blue의 경우 검증부 상관계수는 0.80, 검증부 오차는 99,732개, Bromcresol purple의 경우 검증부 상관계수는 0.60, 검증부 오차는 221,438개, Phenol red의 경우 검증부 상관계수는 0.62, 검증부 오차는 213,140개, Resazurin의 경우 검증부 상관계수는 0.80, 검증부 오차는 100,111개,

Eosin-Y의 경우 검증부 상관계수는 0.68, 검증부 오차는 157,617개, Amido black을 첨가하였을 경우 검증부 상관계수는 0.81, 검증부 오차는 98,786개로 예측되어 전체적으로 낮은 검증결과를 보이고 있는데, 이것은 모델개발 시 사용된 시료의 수가 적어 예측 모델이 미지의 시료를 검증하기에는 어려운 것으로 판단된다. 본 연구에서는 상대적으로 상관관계가 낮은 Bromcresol purple, Phenol red, Eosin-Y 시약은 향후 실험에서 제외하였으며, 스펙트럼을 이용한 체세포수 예측 모델의 성능을 높이기 위하여 수집된 원유 시료에 보존제를 첨가하였다.

Table 2-9 PLS results of prediction for each milk condition

Somatic cell count		Prediction		
		N	R	SEP
Raw	Fresh	28	0.30	150,010
	Preserved	20	0.36	422,623
Methyl red	Fresh	20	0.59	91,602
	Preserved	20	0.79	122,978
Methylene blue	Fresh	20	0.34	115,837
	Preserved	20	0.80	99,732
Bromcresol purple	Fresh	20	0.38	135,761
	Preserved	20	0.60	221,438
Phenol red	Fresh	20	0.37	213,451
	Preserved	20	0.62	213,140
Resazurin	Fresh	20	0.41	100,317
	Preserved	20	0.80	100,111
Eosin-Y	Fresh	20	0.35	152,753
	Preserved	20	0.68	157,617
Amido black	Fresh	20	0.43	105,165
	Preserved	20	0.81	98,786

3. 원유 체세포수 측정을 위한 첨가시약의 환경 조건 설정

원유 시료에 혼합되는 첨가시약은 체세포 염색을 목적으로 하는 시약으로 염색 시 반응 시간은 중요한 요인이다. 염색이 시간이 길면 효과가 뚜렷하지만 너무 길게 되면 지나치게 염색되어 분석 결과에 안 좋은 영향을 미치게 된다. 그러므로 본 연구에서는 첨가시약과 보존제 처리한 원유의 반응시간에 따른 광학적 특성을 구명하기 위하여 그림 2-3과 같이 0분, 5분, 10분의 반응시간을 두어 Methyl red, Methylene blue, Resazurin, Amido black의 시약과 반응한 후 400 ~ 2500 nm의 반사 스펙트럼을 측정하여 체세포수 예측 성능을 평가하였다.

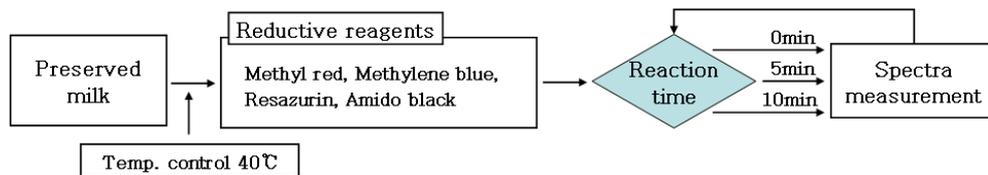


Fig. 2-3 Flow chart of experiment condition for reaction time with reductive reagents.

첨가시약의 반응 시간을 구명하기 위하여 표 2-10과 같이 방부제 처리한 원유 시료를 수집하였고 평균 체세포수는 0분, 5분, 10분의 반응 시간에 대하여 각각 75,658개, 743,725개, 185,216개로 나타났으며 반응 시간이 0분인 경우는 시약을 원유와 첨가하는 동시에 스펙트럼을 측정하였다.

Table 2-10 Somatic cell count for each reaction time

Reaction reagent	Reaction time	Number	Ave.	Max.	Min.	Std.
Methyl red,	0 Min.	60	75,658	487,000	10,000	92,765
Methylene blue, Resazurin	5 Min.	140	743,725	1,749,000	8,000	554,868
Amido black	10 Min.	140	185,216	861,000	18,000	209,629

반응시간에 따른 가시광선/근적외선 영역의 스펙트럼은 그림 2-4와 같이 0, 5, 10분

으로 시간이 지남에 따라 특히 400 ~ 800 nm 가시광선 영역에서 흡광도가 증가하는 것을 알 수 있다. 시간이 지남에 따라 원유 시료와 첨가시약의 혼합 시료의 색이 점점 얼어지는 것으로, 체세포와 시약의 반응이 진행되고 있음을 알 수 있다.

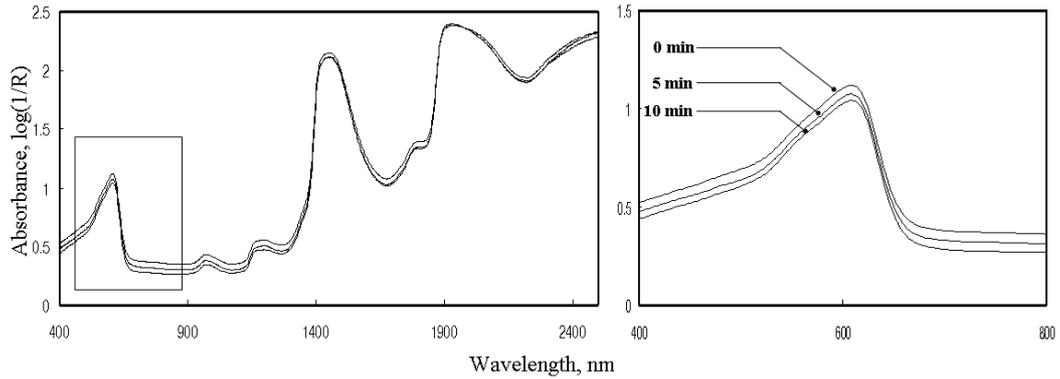


Fig. 2-4 Reflectance spectra of visible/near-infrared spectrum for milk with resazurin.

첨가시약의 반응 시간에 따른 체세포수 예측 성능을 구명하기 위하여 표 2-11과 같이 PLS 방법을 이용하여 체세포수와 상관계수를 구하였으며 미지의 시료를 이용하여 검증 결과 반응 시간이 5분인 경우가 가장 좋은 검증력을 보여주고 있다. 반응 시간을 5분으로 하여 예측 모델을 개발한 결과 Methyl red의 경우 500 ~ 800 nm영역에서 교정부 상관계수 0.88, 교정부 오차 138,887개, Methylene blue의 경우 400 ~ 800 nm영역에서 교정부 상관계수 0.90, 교정부 오차 129,978개, Resazurin의 경우 500 ~ 800 nm영역에서 교정부 상관계수 0.93, 교정부 오차 90,304개, Amido black의 경우 400 ~ 700 nm영역에서 교정부 상관계수 0.92, 교정부 오차 89,611개로 좋은 상관계수를 보여주고 있다.

Table 2-11 PLS results of calibration for each reaction time

Somatic cell count		Calibration				
		Wavelength	N	Factor	R	SEC
0 Min.	Methyl red.	400~800	35	8	0.51	225,685
	Methylene blue	500~800	35	9	0.55	122,535
	Resazurin	700~1100	35	8	0.68	122,588
	Amido black	500~800	35	7	0.76	118,758
5 Min.	Methyl red.	500~800	80	11	0.88	138,887
	Methylene blue	400~800	80	14	0.90	129,978
	Resazurin	500~800	80	10	0.93	90,304
	Amido black	400~700	80	11	0.92	89,611
10 Min.	Methyl red.	400~700	90	13	0.61	252,557
	Methylene blue	500~900	90	15	0.64	276,352
	Resazurin	400~800	90	11	0.67	233,453
	Amido black	400~900	90	14	0.70	244,658

전체적인 검증 결과는 표 2-12와 같이 Methyl red의 경우 검증부 상관계수 0.72, 검증부 오차 170,112개, Methylene blue의 경우 검증부 상관계수 0.72, 검증부 오차 167,040개, Resazurin의 경우 검증부 상관계수 0.82, 검증부 오차 147,191개, Amido black의 경우 검증부 상관계수 0.80, 검증부 오차 135,603개로 개발된 모델의 성능에 비하여 다소 낮은 검증 결과를 보여주고 있다. 본 연구에서는 보존제를 첨가한 원유 시료와 첨가시약의 반응 시간을 5분으로 설정하였으며 모델의 체세포수 예측 성능을 높이기 위해서는 반응 시약의 선정 및 수학적 전처리를 통한 예측 모델이 필요할 것으로 판단된다.

Table 2-12 PLS results of prediction for each reaction time

Somatic cell count		Prediction		
		N	R	SEP
0 Min.	Methyl red.	35	0.50	285,255
	Methylene blue	35	0.52	144,255
	Resazurin	35	0.65	135,254
	Amido black	35	0.59	157,341
5 Min.	Methyl red.	80	0.72	170,112
	Methylene blue	80	0.72	167,040
	Resazurin	80	0.82	147,191
	Amido black	80	0.80	135,603
10 Min.	Methyl red.	90	0.55	378,422
	Methylene blue	90	0.59	344,312
	Resazurin	90	0.64	203,334
	Amido black	90	0.54	390,181

제 3 절 원유 성분조성 측정을 위한 전처리 기술 개발

1. 국내 원유 성분조성 분포도 조사

가. 원유의 성분조성

고품질 우유란 풍미가 좋고 단백질, 지방과 같은 우유성분 함량이 풍부하고 세균수와 체세포 수가 적은 신선한 우유를 말하며 우유의 품질에 영향을 미치는 유성분으로는 체세포수와 더불어 성분조성이 수분, 지방(Fat), 단백질(Protein), 총고형분(Total solids, TS), 유당(Lactose) 등이 있으며, 정상 원유에 표 3-1과 같이 지방은 3.5 %, 단백질은 3.6 %, 유당은 4.9 %, 총고형분은 12.4 % 정도가 포함되어있다.

Table 3-1 Properties ratio of milk

Property	Ratio(%)
Fat	3.5
Protein	3.6
Lactose	4.9
Total solids	12.4

원유에 함유된 수분은 정확하게 말하면 수분활성도라 하여 원유의 식품기술적인 측면에서 중요한 요소이다. 원유에서 수분은 가장 중요한 희석제이며, 원유의 물리적, 화학적 및 미생물학적 변화에 큰 영향을 미친다. 원유의 지방은 리놀레산(Linoleic acid)과 같이 인체에서 합성되지 않는 필수 지방산과 지용성 비타민(A, D, E, K)의 공급원이며 원유의 풍미와 물성학적 특성에 있어 큰 영향을 미친다. 산유량과 함께 젖소의 개체능력을 나타내는 지표로 유가를 산출하는데 기준이 되며, 규격상 적부의 확인에 이용되어 부정우유(Adulteration milk) 등의 판정한다. 또한 젖소의 건강상태와 질병의 진단에 이용되고 있다. 원유의 단백질은 칼슘공급원 일뿐만 아니라 식품단백질 중에서 가장 우수한 것 중에 하나이다. 비타민을 운반하며 차원 높은 생리 작용으

로 골다공증 예방을 한다. 또한 숙면에 도움이 되고 혈압을 낮춰주는 요소도 포함하고 있다. 현재에는 원유의 유대지급 기준으로 지방과 함께 원유 성분조성의 대표적인 성분이다. 유당은 사료의 종류, 유방감염 그리고 특히 비유기에 따라 변화한다. 발효 유제품의 제조에 필수적인 구성분이며, 영양을 제공한다. 그러나 성인기에 있는 비유립인은 유당을 일부, 또는 전혀 소화시키지 못하여 유당불내증이 되기도 한다. 총고형분은 원유에서 수분을 제외한 나머지 성분으로 수분을 측정하여 총고형분의 함유량을 측정하게 된다.

나. 현행 성분조성 검사법

1) 지방 측정 방법

가) Babcock법

미국의 Babcock에 의해 고안된 유지방 측정법으로 시료에 진한 황산을 가한 후 원심력에 의하여 지방을 분리하는 것으로 진한 황산은 지방 이외의 원유 중의 성분을 용해하고 그 때 발생하는 고열로 지방을 액상화하여 다른 액체와 비중 차이를 크게 한다. 분리된 지방층을 일정 온도에서 유지시키면 지방층의 부피가 바로 무게 백분율(%)로 표시하게 된다고 한다.

(1) 시약 및 재료

(가) 원유시료용 17.6 mL 피펫

(나) 황산용기 자동부렛 또는 시료채취용 17.5 mL의 Dipper나 17.5 mL의 피펫

(다) 항온수조(Water bath)

(라) 디바이더(Divider)

(마) 원심분리기(Centrifuge)

(바) 시 약 : 황산(20 °C에서 비중 1.82~1.83이고, 황산함량 90.05 ~ 92.10 %)

(사) 기 타 : 연수를 사용한 증류수, 기구세척용 알칼리 세제

(2) 방법

(가) 원유용 피펫으로 잘 혼합된 원유시료 17.6 mL를 취하여 시험관에 넣는다.

이때 피펫에 남아있는 것도 불어서 떨어뜨린다.

(나) 시료가 들어 있는 시험관을 약간 기울이고 황산 17.5 mL를 조용히 벽을 따라 흘러들어가도록 혼입한다.

(다) 회전운동(Rotary motion)이 되도록 시험관을 흔들어서 원유와 황산을 잘 혼합하고 일시적으로 생긴 Curd를 완전히 용해시킨다.(이때 황산의 농도가 적당하면 처음에는 갈색으로 되었다가 서서히 흑갈색으로 변화된다. 처음부터 흑색으로 변화되는 것은 황산이 너무 강하거나 시료 등의 온도가 너무 높았기 때문이다.)

(라) 시료와 황산이 잘 혼합된 시험관을 약 55 °C 이상으로 보온된 원심분리기(Centrifuge)에 대칭으로 놓는다.

(마) 원심분리(Centrifuging)는 5분, 2분, 1분의 3차례 실시하되, 첫 5분 회전 후 60 °C의 온수를 시험관의 목(Neck) 눈금 아래까지 첨가하고 다시 2분 회전한 후 지방층이 눈금 범위까지 떠오르도록 온수를 첨가하고 다시 1분간 원심분리를 한다.

(바) 시험관을 꺼내서 55 ~ 60 °C의 온수조에 2 ~ 3분간 두었다가 Divider로 지방층의 최하단에서 Meniscus의 최상단까지 읽으면 지방율을 알 수 있다.

나) Gerber법

우유의 지방은 타 유성분보다 비중이 낮아 (15 °C, 0.93) 황산으로 단백질을 분해시킨 후 이소아밀알콜로 지방의 분리를 촉진시켜 원심분리하여 그 용량으로 지방량을 표시하는 방법이다.

Gerber 법은 시료를 11 mL 취하는데 이때 0.1 mL는 피펫의 내벽에 묻고, 10.9 mL가 유지계에 담긴다. 이를 우유의 평균 비중 1.032로 환산하면 11.25 g (10.9 mL × 1.032 g / mL) 이 되고, 60 °C 부근에서의 지방의 비중은 0.9 g이 되므로 1 mL는 0.9 g에 해당된다.

$$0.9 \text{ g} \times 100 / 11.25 \text{ g} = 8 \%$$

즉, 지방 0.125 mL는 우유의 유지방 1 %에 상당한다.

(1) 방법

- (가) Gerber 유지계에 황산(비중 1.82 ~ 1.825, 순도 90 ~ 91 %)을 분주한다.
- (나) 11 mL를 피펫으로 시료를 취한 후, 유지계 내벽을 따라 황산과 직접 섞이지 않도록 넣는다.
- (다) 이소아밀알콜 (비중 0.815, 비점 128 ~ 130 °C) 1 mL를 가한 후 소량의 증류수로 유지계 입구를 세척한다. 이때 증류수를 가함은 원심분리 시 유지계의 눈금부위에 지방층이 오도록 하기 위함이니 적당량을 가한다.
- (라) 보안경 및 장갑을 착용하고 유지계 마개를 막고, 손으로 쥐어 시료가 황산에 완전히 분해 되도록 흔들어준다.
- (마) 50 ~ 60 °C 수욕조에 15분간 담근 후 1100 rpm 에서 원심분리한다.
- (바) 유지계 눈금의 지방량(%)을 읽어준다.

(2) 주의 사항

- (가) 황산 및 시료의 온도는 15 ~ 20 °C 로 하며, 시료는 시험 직전 잘 혼합시킨다.
- (나) 유지계를 흔들 때 마개가 빠지지 않게 유의한다.
- (다) 유지계 마개의 고무 속에는 유리구슬 1개가 있으므로 유지계 손잡이를 너무 세게 누르지 않는다.
- (라) 유지계 및 마개는 세척과 건조를 잘하여 사용한다.

다) Rose-Gottlieb법 (마조니아법)

물을 가하면 액상 또는 유상을 나타내는 식품에 적용하여 지질 함량을 측정하는 방법인데 생우유, 가공 우유, 연유류, 탈지유, 분유류, 크림류 등의 유제품 이외에도 두유 같은 유상식품이 있다. 지방구를 보호하고 있는 지방구막을 암모니아로 분산시켜 유리하는 지방을 암모니아성 알코올 용액으로부터 에틸에테르 또는 석유 에테르로 추출하는 방법이다.

(1) 시약 및 재료

- (가) 피펫 : 10 mL, 2 mL
- (나) 항온건조기 : 99 ± 1 °C로 조절할 것
- (다) 화학천칭 : 감도 0.1 mg의 것
- (라) 항온수조
- (마) 데시케이터
- (바) Rohrig 관 : Reiter 관 또는 Mojonier 관
- (사) 28 % 암모니아수
- (아) 석유 에테르
- (자) 에틸에테르
- (차) 95 % 에틸알코올
- (카) 세척 건조한 250 mL 코니칼 비커

(2) 방법

- (가) 시료 검체 2 ~ 5 g 을 정밀하게 단다. (소수 네자리까지)
- (나) 증류수를 가하여 시료와 증류수의 양이 11 mL 내외가 되게 하고 40 ~ 50 °C로 가온시켜 시료를 증류수와 혼화시킨다.
- (다) 암모니아수 1.5 mL(시료가 산성인 경우 2 mL)를 가한 후 혼화시킨다.
- (라) 에틸알코올 10 mL를 가한 후 섞는다.
- (마) 에틸에테르 25 mL를 가한 후, 주입구를 막고 가볍게 흔든 후, 조심하여 에테르 증기를 날려 보낸다.
- (바) 다시 입구를 막고 약 1 ~ 2분 정도 강하게 흔들어 준다.
- (사) 석유에테르 25 mL를 가하고 1 ~ 2분 세게 흔들어 준다.
- (아) 코니칼 비커 위에 여과기, 여과지를 넣고 무수 황산나트륨(수분탈취용) 약 2 ~ 3 g 을 넣고 마조니아관 상등액을 (에테르 추출물) 붓는다.
- (자) 다시 에틸에테르, 석유 에테르 각 15 L 씩을 가하여 강하게 진탕 후 위의 조작을 3 ~ 5회 반복한다.
- (차) 다음 에틸에테르 및 석유 에테르 동량 혼합 액체로 주입관의 주입구, 여과

지등의 지방 잔량을 깨끗이 씻어 코니칼 비커에 합친다.

(카) 수욕 중에서 용매{(에틸에테르) + (석유 에테르)}를 날려 보낸다. (이때 여액을 받는 용기의 주입구가 작으면 시간 및, 화재의 염려에 주의하면서, 용기 바닥에 끓는 방울이 생기기 시작하면 즉시 불꽃을 작게 조절하면서 날려보낸다.

(타) 코니칼 비커를 건조기에 넣고 항량이 될 때까지 건조한 후 식 (3-1)과 같이 조지방을 산출한다.

$$\text{조지방(\%)} = \frac{W_2 - W_1}{S} \times 100 \dots\dots\dots \text{식 (3-1)}$$

S : 검체의 채취량(g)

W1 : 빈 코니칼 비커 무게(g)

W2 : 조지방 추출 후 건조시킨 코니칼 비커 무게(g)

2) 단백질 분석법

총질소를 정량할 때에는 Kjeldahl법을 이용하는 것이 보통이며, Kjeldahl법에는 Macro법, Semi-micro법, Micro법 등이 있으나 이 중에서 정량방법이 간편한 semi-micro법이 널리 이용되고 있다.

가) Semi-micro Kjeldahl법

(1) 시약 및 재료

(가) Kjeldahl 분해관

(나) Kjeldahl 분해장치

(다) 버너

(라) 피펫

(마) 뷰렛 : 25 ~ 50 mL용

(바) 농황산

(사) N/10 HCl 또는 N/20 H₂SO₄

- (아) 40 ~ 50 % NaOH액
- (자) 4% 붕산액(boric acid)
- (차) 분해촉매 : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1 g에 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 9 g을 섞은 것
- (카) 혼합지시약(Brunswick's reagents) methyl red 0.1 g 및 methylene blue 0.1 g을 200 mL의 에탄올에 녹여서 갈색병에 보관한다.

(2) 시험방법

시료 0.5 ~ 2 g(단백질로서 0.05 ~ 0.2 g 상당량), 농황산 5 ~ 7 mL, 분해촉매 약 2 ~ 3 g 및 작은 유리알을 Kjeldahl 분해관에 취하고 처음 5 ~ 10분간 약한 불로 서서히 가열한다. 다음 수시간 동안 격렬히 가열하여 청색 또는 무색투명하게 되면 실온에서 냉각시킨다. 4 % 붕산액 10 mL를 15 mL 삼각플라스크에 취하고 혼합지시약 3 ~ 4방울 떨어뜨린 다음 냉각관의 끝이 붕산액 속에 잠기게 고정한다. 분해시료를 증류장치 내에 주입하고 소량의 증류수로 3 ~ 4회 분해관을 씻어서 넣어 50 % NaOH액 10 ~ 15 mL를 가하고 신속히 입구를 막고 증류한다. 증류액이 80 ~ 100 mL 정도 되면 냉각관 끝을 소량의 증류수로 씻어 놓고 잠시 동안 증류액 수 mL를 더 받은 다음 N/10 HCl액 또는 N/20 H_2SO_4 액으로 적정하여 본래의 색깔인 적자색이 될 때까지의 소요량을 구하여 식 (3-2)에 의해 단백질량을 산출한다.

$$\text{단백질}(\%) = a \times 1.4\text{mg}(\text{또는 } 0.7005) \times 6.38 \times F \times 100 \times 1/W \dots \text{식 (3-2)}$$

a : N/10 HCl 또는 N/20 H_2SO_4 의 소비(mL)

F : N/10 HCl 또는 N/20 H_2SO_4 의 역가

W : 시료채취량(mg)

3) 유당 분석법

가) Lane-Eynone법

(1) 시약 및 재료

(가) Buret : 50 mL용

(나) 전기 히터

(다) Fehling 용액 A : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 34.639을 용해시켜 총량이 500 mL이 되게 한다.

(라) Fehling 용액 B : Sodium potassium tartrate(Rochelle 염색) 173 g 및 NaOH 50 g를 증류수에 용해시켜 500 mL이 되게 한다.

(마) Methylene blue 용액

(2) Fehling 용액 A의 역가검정

삼각플라스크에 Fehling 용액 A 10 mL를 정확히 취하고 증류수 40 mL를 가한 후 30 % 초산(Acetic acid) 4 mL 및 50 % KI 용액 6 mL를 가하여 유리되는 옥도를 1 % 전분시액을 지시약으로 하여 N/10 Sodium thiosulfate액으로 적정한다. N/10 sodium thiosulfate 1 mL은 6.354 mg의 동에 해당되며, 이에 의하여 A 액 100 mL 중에 함유된 동의 양을 산출한다. 이 동의 양을 174.8 mg로 나눈 값은 Fehling 용액 A의 역가로 한다.

$$\text{역가} = 6.354 \times N/10 \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ 소비 (mL)} \times 10 \times 1/174.8$$

(3) 시험방법

시료 일정량(유당 약 0.5 g 상당량)을 200 mL용 메스플라스크에 취하고, 증류수로 200 mL되게 희석한다. 별도로 200 mL용 삼각플라스크에 Fehling용액 A 및 B 각 5 mL, Fehling용액이 담긴 플라스크를 놓고 가열하여 끓기 시작하면 뷰렛의 시료를 적하하여 적정 예정량의 대부분을 가하고, 이 용액의 청색이 거의 손실될 때까지 가열한 후 Methylene blue 지시약 4방울을 가하고 청색이 완전히 손실될 때까지 계속 적정한다. 이때의 적정은 3분 이내에 끝나도록 한다.

적정예정량을 정하기 위해 예비실험을 실시하여, 이 예비실험에 의해 시료의 희석 정도를 결정 한다. 즉, 소요적정액이 25 ~ 35 mL 되도록 희석정도를 조절한다. 유당량은 Lane-Eynone 유당 정량표에 의하여 희석시료 100 mL 중의 유당량을 구해 Fehling용액 A의 역가를 곱해 보정하고 식 (3-3)과 같이 시료 100 g 당의 유당량을 구하여 유당 %로 한다.

$$\text{유당 (\%)} = \frac{a \times F \times n}{W} \dots\dots\dots \text{식 (3-3)}$$

a : 시료 100mL 중의 유당량

F : Fehling용액의 A의 역가

n : 회석배수

W : 시료 채취량(g)

나) Bertrand법

(1) 시약 및 재료

(가) Wit 여과장치 및 Glass filter(15G₃) : Glass filter의 여과판상에 Gooch 여과기용 석면을 흡입시킨다.

(나) 뷰렛 : 25 ~ 50 mL용

(다) CuSO₄·5H₂O용액(A액) : CuSO₄·5H₂O 40 g을 증류수에 녹여 전량을 1 L로 한다.

(라) 알칼리성 Rochelle 염액(B액) : Potassium sodium tartrate(Rochelle 염, C₄H₆O₆KNa·4H₂O) 200 g과 NaOH 150 g을 증류수에 녹여 1 L가 되게 한다(NaOH를 먼저 녹인다).

(마) Fe₂(SO₄)₃ 용액(C액) : Fe(SO₄)₃·nH₂O(n<1) 50 g과 농황산 200 g을 물에 녹여 전량이 1 L 되게 한다.

(바) KMnO₄용액(D액) : KMnO₄ 5 g을 증류수에 녹여 전량을 1 L로 하며, 2일간 실온에서 방치하고 Glass filter(3G₃)로 여과하여 착색병에 보존한다.

(2) KMnO₄액의 역가

C₂O₄(NH₄)₂ H₂O 0.25 g을 증류수 100 ml에 용해시키고 농황산 2 mL를 가한 후 60 ~ 70 °C로 가온하고 뷰렛으로부터 MnO₄액을 적정하여 미홍색이 되게 한다. 여기에

소비된 KMnO_4 액의 양을 a mL라 하면, 그 1 mL는 동 0.2238 g/a에 해당한다.

(3) 시험방법

150 ~ 200 mL 삼각플라스크에 시료 20 mL(예비실험에 의하여 20 ~ 80 mg의 환원당에 상당하게 시료를 희석한다.)를 취하고, 여기에 CuSO_4 액과 Rochelle염액을 각각 20 mL씩 흔들면서 가하고 가열하여 3분간 끓이고 방냉한다. 이 때 상등액이 청색을 나타내지 않으면 환원당의 양이 많으니 더욱 희석하여야 한다. 삼각플라스크 중의 상등액을 경사하여 서서히 여과하고, 더운물 50 mL를 플라스크 내벽을 따라 붓고 플라스크를 흔들어 침전을 현탁시키고, 잠시 방치한 후 침전이 완전히 되면 상등액을 전과 같이 여과한다. 이 조작을 수회 반복하여 영액에 알칼리반응이 일어나지 않을 때까지 계속한다.

이 때 침전물(Cu_2O)이 공기와 접촉되지 않게 주의하면서 경사여과 하여야 한다. 다음 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_2$ 용액 약 20 mL를 삼각플라스크에 가하고, 침전물을 녹여 새로운 수기에 그 여과액을 받고 증류수로 삼각플라스크 및 여과기를 수회 반복하여 세척하여 그 세액을 여과액과 합친 다음에 KMnO_2 액으로 적정하여 미적색이 30초간 지속하게 한다. 이 적정량으로부터 시료 일정량 중의 Cu_2O 의 양(mg)을 구하여 Bertrand 당류 정량표에 의하여 식 (3-4)와 같이 당량(mg)을 산출한다.

$$Cu(mg) = V \times F \dots\dots\dots \text{식 (3-4)}$$

V : KMnO_4 적정량

F : KMnO_4 액의 역가[KMnO_4 1 mL에 해당되는 Cu량(mg)]

다) Chloramin T법

(1) 시약

(가) Na_2WO_4 용액 : $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 7 g을 증류수 870 mL에 녹이고 H_2PO_4 (88%) 0.1 mL, 1N- H_2SO_4 70 mL를 가한다.

(나) Chloramin T 용액 : 0.04N(5.7 g/L)

(다) 0.04N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액

(라) 10 % KI용액

(마) 1 % 전분지시액

(2) 시험방법

시료 10 mL를 100 mL 메스플라스크에 취하고 증류수 25 ml 및 $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 용액 40 mL를 가하고 혼합한 다음 증류수를 가하여 전량을 100 mL로 한다. 잘 혼합하여 여과하고 여액 10 mL를 삼각플라스크에 취하고, 10 % KI 용액 5 mL 및 chloramin T 용액 20 mL를 혼합한 다음 마개를 막아 냉암소에서 90분간 방치한다. 다시 2N 염산액 5 mL를 가하고 전분시액을 지시약으로 0.04N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 액으로 적정한다.

별도로 시료를 넣지 않고 동일한 방법으로 바탕시험을 행하고 유당은 식 (3-5)를 이용하여 구할 수 있다.

$$\text{유당}(\%) = 0.0072 \times (V_o - V) \times 0.992 \times 10 \times 100 \times 1/W \dots\dots \text{식 (3-5)}$$

V_o : 바탕시험 소비량(mL)

V : 본시험 소비량(mL)

W : 시료 채취량(g)

라) HPLC법

(1) 표준용액의 조제

과당, 포도당, 설탕, 유당 등의 표준품을 각각 100 mL 메스플라스크에 정밀하게 칭량하여 물 50 mL로 용해한 다음 Acetonitrile로 100 mL로 조절한다.

(2) 시험용액의 조제

시료 약 5 g을 50 mL 메스플라스크에 정밀히 칭량하여 물 2.5 mL를 가하여 용해한 다음 Acetonitrile로 50 mL로 조절한다. 이 시험용액을 45 μm 의 Membrane filter로 여과한 것을 시험용액으로 한다.

(3) 시험방법

(가) HPLC의 운전조건

① Column : 길이 30 mm, 내경 4 mm, μ -Bondpak/carbohydrate 혹은 그와 상

당하는 column

- ② 검출기 : RI detector
- ③ 이동상 : 물 - Acetonitrile(17 : 83, V/V)
- ④ 유속 : 1.0 mL/min
- ⑤ Column 온도 : 실온

(나) 정량시험

시험용액 및 표준용액 각각 10 μL씩 주입하여 얻은 피크의 넓이 혹은 높이를 구하여 검량선 작성한 후 시험용액의 당 농도(μg/mL)를 구하고 식 (3-6)에 의해 시료 중 당의 함량(mg/100 g)을 산출한다.

$$\text{당 함량 (mg/100g)} = S \times \frac{a \times b}{\text{시료의 양 (g)}} \times \frac{100}{1000} \dots\dots\dots \text{식 (3-6)}$$

- S : 시험용액 중 당의 농도(μg/mL)
- a : 시험용액의 전량(mL)
- b : 회석배수

4) 수분 측정법

가) 상압건열법

(1) 실험 재료

- (가) 칭량병 : 직경 5 cm 내외의 공전 칭량병으로서 유리제품 또는 알루미늄 제품
- (나) 항온건조기 : 정밀전기 정온식으로 102±2 °C로 조절 가능한 것과 135±2 °C로 조절 가능한 것
- (다) 데시케이터(Desiccator) : 새로이 작열하여 냉각시킨 무수 CaCl₂ 또는 황산을 건조제로 사용한 것
- (라) 화학천칭 : 감도 0.1 mg의 것

(2) 시험방법

정제해사 15~20 g 및 작은 유리봉을 칭량병에 넣고 건조기에서 항량이 될 때까지

건조시키고 이 칭량병에 시료 2~5 g을 취하고 102±2 또는 135±2 °C의 항온건조기에
서 3~5시간 또는 1시간 건조시킨 후 데시케이터에서 방냉시킨 다음 신속히 칭량하여
항량이 될 때까지 반복 건조한다. 액체시료의 경우에는 수욕상에서 때때로 유리봉으
로 교반하면서 예비 건조한 다음 항온건조기에 옮기고, 식 (3-7)에 의해 수분을 산출
한다.

$$\text{수분 (\%)} = \frac{a - b}{\text{시료 채취량 (g)}} \times 100 \dots\dots\dots \text{식 (3-7)}$$

a : 시료와 칭량병의 무게

b : 건조후 시료와 칭량병 무게

나) 간이법

(1) 실험재료

(가) 건조기 : Ultra-X를 사용한다.

(나) 알루미늄 은박지

(2) 시험방법

시료 5 g을 취하고(눈금 “0”에 맞춘다) 건조판을 일정한 높이로 고정시킨 후 규정
된 온도와 시간(자체시험에 의해 보정함)에서 건조시키고 가온된 상태에서 눈금의 수
치를 수분 %로 한다.

다) 속성법

(1) 실험재료

(가) 알루미늄 은박지

(나) 항온건조기(102±2 °C로 조절 가능한 것)

(2) 시험방법

은박지 여지를 102±2 °C의 건조기에서 10분간 건조시킨 후 공기 중의 수분 혼입이

없도록 신속히 은박지를 접은 후 여지와 은박지의 무게(F_1)을 재고 시료 약 3 g을 여지에 도포하여 신속히 무게(F_2)를 재고 102 ± 2 °C의 항온건조기에서 30분간 건조시킨 후 잠시 방냉시킨 후 다시 무게(F_3)를 잰다. 수분은 식 (3-8)에 의해 산출한다.

$$\text{수분 (\%)} = \frac{F_2 - F_3}{F_2 - F_1} \times 100 \dots\dots\dots \text{식 (3-8)}$$

5) 유성분 자동측정기(Milkoscan)

적외선 파장범위 내에서 지방, 단백질, 유당 및 총고형분이 각각 고유의 특정한 파장에서 진동하면서 적외선 방사에너지를 흡수하는 현상을 이용한 자동화된 측정기이다.

가) 성능

유성분 자동측정기의 성능은 표 3-2와 같다.

Table 3-2 Specifications of Milkoscan system

항 목	성 능
측정속도	200, 300, 400 or 500 sample/hr
측정범위	지방 : 0 - 15 % 단백질 : 0 - 10 % 총고형분 : 0 - 20 % 요소태 : 10 - 100 mg/dl 구연산 : 0.1-0.5 %
재현성	지방, 단백질, 유당 : 0.5 % 총고형분, 무지고형분 : 1.0 % 요소 : 1.5 mg/dl 구연산 : 0.005 %
정확도	지방 : 1.0 % (Bulk milk) 단백질, 유당: 1.0 % (Bulk milk) 총고형분, 무지고형분 : 1.0 % (Bulk milk) 요소 : 3.5 mg/dl (Single cow's milk) 구연산 : 0.015 % (Single cow's milk)
세척률	> 99 %
샘플 온도	37 - 42 °C

다. 국내 원유 성분조성(수분, 지방, 단백질, 유당, 총고형분) 분포도 조사

원유의 성분조성 분포 조사를 위한 원유 시료는 한국식품연구원과 협조하여 대부분 2007년 6월~12월경에 낙농 농가에서 수집한 시료를 사용하였다.

본 연구에서는 서울우유 지도소에 의뢰하여 표준화된 성분조성 검사장비인 원유성분시험기(Milkoscan, FOSS FT6000, Denmark)를 이용하여 성분조성을 측정하였다. 측정된 원유의 성분조성은 표 3-3과 같이 수분 84.01 ~ 89.71 %, 지방 2.44 ~ 6.42 %, 단백질 2.44 ~ 4.28 %, 유당 3.93 ~ 5.24 %, 총고형분 10.29 ~ 15.99 %를 포함한 것으로 나타났다.

Table 3-3 Chemical properties of milk tested (N = 200)

	Avg.	Max.	Min.	Std.
Moisture(%)	87.19	89.71	84.01	0.36
Fat(%)	4.05	6.42	2.44	0.82
Protein(%)	3.35	4.28	2.44	0.41
Lactose(%)	4.74	5.24	3.93	0.24
TS(%)	12.81	15.99	10.29	0.79

라. 원유 성분조성 측정을 위한 원유 시료 전처리 조건 설정

수집된 원유 시료는 서울우유 지도소에서 원유성분시험기(Milkoscan, FOSS FT6000, Denmark)로 성분조성을 측정한 후 성균관대학교에서 1일 이내 스펙트럼을 측정하였다. 저장환경의 변화에 의한 체세포수의 증가는 지방, 단백질, 유당, 총고형분에 영향 미치게 되므로 본 연구에서는 보존제에 의한 미생물의 번식 억제가 성분조성 예측에 미치는 광학적 특성을 구명하기 위해 원유시료를 보존제 처리한 경우와 처리하지 않은 경우로 나누어 실험하였으며, 수집된 원유시료의 각 성분조성은 표 3-4와 같이 지방 2.57 ~ 6.22 %, 단백질 2.56 ~ 4.32 %, 유당 3.81 ~ 5.08 %, 총고형분 10.56 ~ 15.84 %의 범위를 보이고 있다.

Table 3-4 Chemical properties of milk tested (N = 100)

	Avg.	Max.	Min.	Std.
Fat(%)	4.12	6.22	2.57	0.80
Protein(%)	3.46	4.32	2.56	0.45
Lactose(%)	4.83	5.08	3.81	0.27
TS(%)	12.71	15.84	10.56	0.74

원유시료 보존제 처리는 체세포수 측정 실험과 동일한 방법으로 수행하였다. 보존제 처리한 원유와 처리하지 않은 원유에 대한 첨가시약의 사용 가능성을 알아보기 위하여 그림 3-1과 같이 체세포수 예측 성능이 높았던 Methyl red, Methylene blue, Resazurin, Amido black의 시약을 사용하였으며, 체세포수 측정을 위한 환경설정 실험과 동일한 방법으로 가시광선/근적외선 영역의 고성능 분광광도계를 이용하여 400 ~ 2,500 nm 영역에서 2 nm 간격으로 반사 스펙트럼을 측정하였다. 이때 원유시료의 온도는 40 °C로 유지하였고, 상관관계는 상용 프로그램인 Unscrambler의 PLS를 이용하여 각각의 성분조성의 예측성능을 분석하였다.

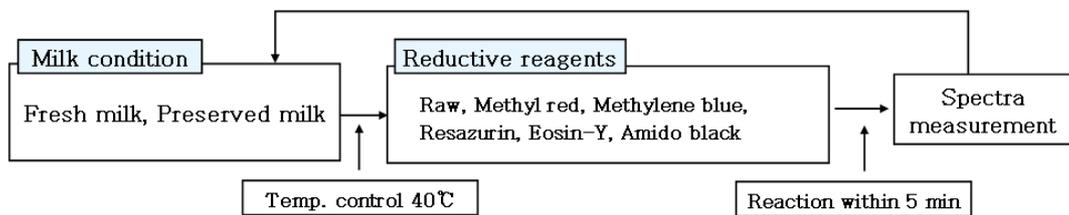


Fig. 3-1 Flow chart of experiment method for milk condition.

원유의 처리 조건을 선정하기 위해 보존제 처리한 원유와 처리하지 않은 원유에 대하여 각 성분조성의 예측 모델을 개발하였다. 지방의 경우 표 3-5와 같이 보존제 처리를 하지 않은 시료와 보존제 처리한 시료에 Methyl red를 첨가한 경우 모두 1,700 ~ 1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.95와 0.94로 나타났다. Methylene blue의 경우 1,700 ~ 1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.95와 0.96로 나타났다. Resazurin의 경우 각각 1,700 ~ 1,800 nm와 1,600 ~ 1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.96과 0.97로 나타났다. Amido black을 첨가했을 경우 각각 1,700 ~ 1,900 nm와 1,700 ~ 1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.97과 0.96으로 나타나 지방의 예측 성능은 보존제 처리의 영향을 받지 않음을 알 수 있다. 또한 시약을 첨가하지 않은 원유시료의 상관계수와 유사하여 지방의 예측 성능은 첨가시약의 영향을 받지 않음을 알 수 있다.

Table 3-5 PLS results of calibration for each milk condition

Fat	Calibration					
		Wavelength	N	Factor	R	SEC
Raw	Fresh	1600~1900	50	5	0.96	0.18
	Preserved	1600~1800	50	5	0.96	0.19
Methyl red	Fresh	1700~1800	50	3	0.95	0.14
	Preserved	1700~1800	50	3	0.94	0.20
Methylene blue	Fresh	1700~1800	50	3	0.95	0.18
	Preserved	1700~1800	50	3	0.96	0.17
Resazurin	Fresh	1700~1800	50	3	0.96	0.16
	Preserved	1600~1800	50	4	0.97	0.14
Amido black	Fresh	1700~1900	50	4	0.97	0.16
	Preserved	1700~1800	50	3	0.96	0.15

단백질의 경우 표 3-6과 같이 보존제 처리를 하지 않은 시료와 보존제 처리한 시료에 Methyl red를 첨가한 경우 각각 1,500~1,800 nm와 1,600~1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.96과 0.97로 나타났다. Methylene blue의 경우 각각 1,700~1,800 nm와 1,600~1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 모두 0.98로 나타났다. Resazurin의 경우 모두 1,600~1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.97과 0.98로 나타났다. Amido black의 경우 모두 1,600~1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.97과 0.96으로 나타나 단백질의 예측 성능은 보존제 처리의 영향을 받지 않음을 알 수 있다. 또한 시약을 첨가하지 않은 시료의 상관계수와 유사하여 단백질의 예측 성능은 첨가시약의 영향을 받지 않음을 알 수 있다.

Table 3-6 PLS results of calibration for each milk condition

Protein		Calibration				
		Wavelength	N	Factor	R	SEC
Raw	Fresh	1600~1700	50	8	0.98	0.07
	Preserved	1600~1800	50	7	0.97	0.09
Methyl red	Fresh	1500~1800	50	6	0.96	0.04
	Preserved	1600~1800	50	6	0.97	0.04
Methylene blue	Fresh	1700~1800	50	7	0.98	0.05
	Preserved	1600~1800	50	9	0.98	0.04
Resazurin	Fresh	1600~1800	50	10	0.97	0.06
	Preserved	1600~1800	50	9	0.98	0.05
Amido black	Fresh	1600~1800	50	6	0.97	0.07
	Preserved	1600~1800	50	8	0.96	0.08

유당의 경우 표 3-7과 같이 보존제 처리를 하지 않은 시료와 보존제 처리한 시료에 Methyl red를 첨가한 경우 각각 1,600 ~ 1,900 nm와 1,600 ~ 1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.84와 0.85로 나타났다. Methylene blue의 경우 각각 1,600 ~ 1,700 nm와 1,600 ~ 1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 모두 0.86으로 나타났다. Resazurin의 경우 모두 1,600 ~ 1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.85와 0.86로 나타났다. Amido black의 경우 모두 1,600 ~ 1,800 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.87과 0.86으로 나타나 유당의 예측 성능은 보존제 처리의 영향을 받지 않음을 알 수 있다. 또한 시약을 첨가하지 않은 시료의 상관계수와 유사하여 유당의 예측 성능은 첨가시약의 영향을 받지 않음을 알 수 있다.

Table 3-7 PLS results of calibration for each milk condition

Lactose		Calibration				
		Wavelength	N	Factor	R	SEC
Raw	Fresh	1700~1800	50	11	0.86	0.08
	Preserved	1600~1800	50	13	0.85	0.10
Methyl red	Fresh	1600~1900	50	14	0.84	0.10
	Preserved	1600~1800	50	10	0.85	0.09
Methylene blue	Fresh	1600~1700	50	9	0.86	0.09
	Preserved	1600~1800	50	10	0.86	0.09
Resazurin	Fresh	1600~1800	50	11	0.85	0.09
	Preserved	1600~1800	50	12	0.86	0.08
Amido black	Fresh	1600~1800	50	8	0.87	0.08
	Preserved	1600~1800	50	9	0.86	0.08

총고형분의 경우 표 3-8과 같이 보존제 처리를 하지 않은 시료와 보존제 처리한 시료에 Methyl red를 첨가한 경우 모두 900 ~ 1,300 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.96과 0.94로 나타났다. Methylene blue의 경우 각각 800 ~ 1,400 nm와 800 ~ 1,500 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 모두 0.95로 나타났다. Resazurin의 경우 각각 800 ~ 1,300 nm와 900 ~ 1,500 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.94와 0.93으로 나타났다. Amido black의 경우 각각 900 ~ 1,300 nm와 800 ~ 1,400 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며 교정부 상관계수는 각각 0.95와 0.96으로 나타나 총고형분의 예측 성능은 보존제 처리의 영향을 받지 않음을 알 수 있다. 또한 시약을 첨가하지 않은 시료의 상관계수와 유사하여 총고형분의 예측 성능은 첨가시약의 영향을 받지 않음을 알 수 있다.

Table 3-8 PLS results of calibration for each milk condition

Total solids		Calibration				
		Wavelength	N	Factor	R	SEC
Raw	Fresh	800~1300	50	18	0.95	0.09
	Preserved	800~1400	50	11	0.93	0.08
Methyl red	Fresh	900~1300	50	10	0.96	0.09
	Preserved	900~1300	50	11	0.94	0.09
Methylene blue	Fresh	800~1400	50	12	0.95	0.09
	Preserved	800~1500	50	13	0.95	0.09
Resazurin	Fresh	800~1300	50	13	0.94	0.10
	Preserved	900~1500	50	15	0.93	0.09
Amido black	Fresh	900~1300	50	14	0.95	0.09
	Preserved	800~1400	50	12	0.96	0.09

개발된 모델의 검증을 한 결과, 지방의 경우 표 3-9와 같이 보존제 처리를 하지 않은 시료와 보존제 처리한 시료의 검증부 상관계수는 Methyl red의 경우 0.90과 0.91, Methylene blue의 경우 0.93과 0.92, Resazurin의 경우 모두 0.94, Amido black의 경우 0.95와 0.94로 나타나 교정결과와 유사한 수준을 보이고 있다.

Table 3-9 PLS results of prediction for each milk condition

Fat		Prediction		
		N	R	SEP
Raw	Fresh	50	0.95	0.20
	Preserved	50	0.94	0.21
Methyl red	Fresh	50	0.90	0.29
	Preserved	50	0.91	0.31
Methylene blue	Fresh	50	0.93	0.23
	Preserved	50	0.92	0.23
Resazurin	Fresh	50	0.94	0.21
	Preserved	50	0.94	0.20
Amido black	Fresh	50	0.95	0.19
	Preserved	50	0.94	0.20

단백질의 경우 표 3-10과 같이 보존제 처리를 하지 않은 시료와 보존제 처리한 시료의 검증부 상관계수는 Methyl red의 경우 0.91과 0.90, Methylene blue의 경우 모두 0.96, Resazurin의 경우 0.97과 0.96, Amido black의 경우 모두 0.95로 나타나 교정결과와 유사한 수준을 보이고 있다.

Table 3-10 PLS results of prediction for each milk condition

Protein		Prediction		
		N	R	SEP
Raw	Fresh	50	0.96	0.11
	Preserved	50	0.97	0.09
Methyl red	Fresh	50	0.91	0.10
	Preserved	50	0.90	0.12
Methylene blue	Fresh	50	0.96	0.06
	Preserved	50	0.96	0.05
Resazurin	Fresh	50	0.97	0.08
	Preserved	50	0.96	0.09
Amido black	Fresh	50	0.95	0.09
	Preserved	50	0.95	0.09

유당의 경우 표 3-11과 같이 보존제 처리를 하지 않은 시료와 보존제 처리한 시료의 검증부 상관계수는 Methyl red의 경우 0.76과 0.77, Methylene blue의 경우 0.71과 0.69, Resazurin의 경우 0.80과 0.81, Amido black의 경우 모두 0.81로 나타나 교정결과보다 낮은 수준을 보이고 있어 예측모델의 보완이 필요함을 알 수 있다.

Table 3-11 PLS results of prediction for each milk condition

Lactose		Prediction		
		N	R	SEP
Raw	Fresh	50	0.73	0.10
	Preserved	50	0.71	0.12
Methyl red	Fresh	50	0.76	0.13
	Preserved	50	0.77	0.11
Methylene blue	Fresh	50	0.71	0.10
	Preserved	50	0.69	0.13
Resazurin	Fresh	50	0.80	0.10
	Preserved	50	0.81	0.10
Amido black	Fresh	50	0.81	0.09
	Preserved	50	0.81	0.08

총고형분의 경우 표 3-12와 같이 보존제 처리를 하지 않은 시료와 보존제 처리한 시료의 검증부 상관계수는 Methyl red의 경우 0.86과 0.87, Methylene blue의 경우 모두 0.89, Resazurin의 경우 0.91과 0.92, Amido black의 경우 0.92와 0.90으로 나타나 교정결과보다 낮은 수준을 보이고 있어 예측모델의 보완이 필요함을 알 수 있다.

Table 3-12 PLS results of prediction for each milk condition

Total solids		Prediction		
		N	R	SEP
Raw	Fresh	50	0.93	0.12
	Preserved	50	0.91	0.14
Methyl red	Fresh	50	0.86	0.17
	Preserved	50	0.87	0.16
Methylene blue	Fresh	50	0.89	0.15
	Preserved	50	0.89	0.15
Resazurin	Fresh	50	0.91	0.14
	Preserved	50	0.92	0.13
Amido black	Fresh	50	0.92	0.13
	Preserved	50	0.90	0.14

보존제 처리가 성분조성에 미치는 광학적 특성을 구명하기 위해 PLS 모델을 개발한 결과 보존제 처리와 관계없이 상관계수가 유사하게 나타나 성분조성의 예측모델의 예측 성능은 보존제 처리의 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 또한 첨가시약의 첨가여부와 관계없이 유사한 수준을 보여 성분조성의 예측 성능은 첨가시약의 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며, 이것은 성분조성에 대한 예측모델이 근적외선 영역에서 상관계수가 높게 나왔기 때문으로 판단된다. 그러나 유당과 총고형분의 검증결과는 교정결과보다 비교적 낮게 나타나 향후 예측모델 개발 시 다양한 수처리 방법 및 예측 알고리즘의 개발로 보완이 필요함을 알 수 있다.

마) 원유 성분조성 측정을 위한 첨가시약의 환경 조건 설정

원유 시료에 혼합되는 첨가시약이 반응시간 5분에서 성분조성의 예측모델의 성능에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으나 반응시간이 변화함에 따라 영향을 줄 가능성이 있다. 그러므로 본 연구에서는 첨가시약과 보존제 처리한 원유의 반응시간에

따른 광학적 특성을 구명하기 위해 그림 3-2와 같이 반응시간을 0분, 5분, 10분의 3수준으로 두어 반응시간에 따른 예측성능을 평가하였으며, 이때 반응시약으로는 Methyl red, Methylene blue, Resazurin, Amido black의 시약을 사용하였다.

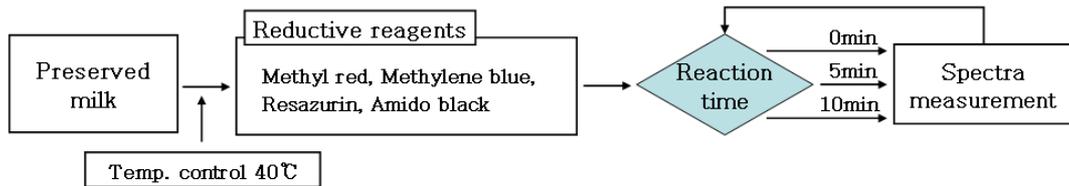


Fig. 3-2 Flow chart of experiment condition for reaction time with reductive reagents.

첨가시약의 반응 시간을 구명하기 위하여 표 3-13과 같이 방부제 처리한 원유 시료를 수집하였으며, 상용화된 유성분분석기로 분석한 결과, 지방은 2.72 ~ 6.37 %, 단백질은 2.62 ~ 4.33 %, 유당은 3.88 ~ 5.27 %, 총고형분은 10.13 ~ 15.81 %의 범위를 보이고 있다. 수집된 원유 시료에 시약을 첨가하는 동시의 측정하는 스펙트럼을 0분인 경우로 하여 5분, 10분에 각각 스펙트럼을 측정하여 각각의 유성분과의 상관관계를 분석하였다.

Table 3-13 Chemical properties of milk tested (N = 100)

	Avg.	Max.	Min.	Std.
Fat(%)	4.17	6.37	2.72	0.71
Protein(%)	3.58	4.33	2.62	0.52
Lactose(%)	4.94	5.27	3.88	0.31
TS(%)	12.90	15.81	10.13	0.83

첨가시약의 반응 시간에 따른 각 성분조성의 예측 성능을 구명하기 위하여 PLS 방법을 이용하여 각 성분조성의 예측모델을 개발한 결과, 지방의 교정부 상관계수는 표 3-14와 같이 대부분 근적외선 영역의 1,600 ~ 1,800 nm에서 상관관계가 높게 나타났

으며, 원유시료에 첨가한 시약에 관계없이 반응시간이 0분인 경우 0.93 ~ 0.95, 5분인 경우 0.93 ~ 0.97, 10분인 경우 0.91 ~ 0.94로 유사하게 나타나 시약 첨가 시 지방의 예측성능은 반응시간의 영향을 받지 않는 것을 알 수 있다.

Table 3-14 PLS results of calibration for each reaction time

Fat	Calibration					
	Wavelength	N	Factor	R	SEC	
0 Min.	Methyl red	1700~1800	50	8	0.93	0.17
	Methylene blue	1700~1800	50	8	0.94	0.16
	Resazurin	1600~1800	50	7	0.95	0.15
	Amido black	1700~1800	50	8	0.94	0.19
5 Min.	Methyl red	1700~1800	50	7	0.94	0.18
	Methylene blue	1700~1800	50	11	0.93	0.17
	Resazurin	1600~1800	50	10	0.97	0.16
	Amido black	1700~1800	50	8	0.95	0.19
10 Min.	Methyl red	1700~1800	50	8	0.93	0.12
	Methylene blue	1700~1800	50	9	0.91	0.17
	Resazurin	1600~1800	50	10	0.96	0.16
	Amido black	1700~1800	50	8	0.94	0.19

단백질의 교정부 상관계수는 표 3-15와 같이 대부분 근적외선 영역의 1,600 ~ 1,900 nm에서 상관관계가 높게 나타났으며, 원유시료에 첨가한 시약에 관계없이 반응시간이 0분인 경우 0.95 ~ 0.97, 5분인 경우 0.95 ~ 0.98, 10분인 경우 0.95 ~ 0.96으로 유사하게 나타나 시약 첨가 시 단백질의 예측성능은 반응시간의 영향을 받지 않는 것을 알 수 있다.

Table 3-15 PLS results of calibration for each reaction time

	Protein	Calibration				
		Wavelength	N	Factor	R	SEC
0 Min.	Methyl red	1600~1800	50	11	0.97	0.09
	Methylene blue	1600~1800	50	7	0.95	0.09
	Resazurin	1600~1800	50	8	0.96	0.07
	Amido black	1600~1800	50	9	0.95	0.07
5 Min.	Methyl red	1700~1900	50	10	0.95	0.06
	Methylene blue	1600~1800	50	8	0.96	0.06
	Resazurin	1700~1900	50	8	0.98	0.04
	Amido black	1600~1800	50	8	0.97	0.06
10 Min.	Methyl red	1600~1800	50	9	0.96	0.07
	Methylene blue	1700~1900	50	11	0.96	0.09
	Resazurin	1700~1900	50	12	0.95	0.08
	Amido black	1600~1800	50	10	0.95	0.06

유당의 교정부 상관계수는 표 3-16과 같이 대부분 근적외선 영역의 1,600 ~ 1,900 nm에서 상관관계가 높게 나타났으며, 원유시료에 첨가한 시약에 관계없이 반응시간이 0분인 경우 0.85 ~ 0.88, 5분인 경우 0.85 ~ 0.89, 10분인 경우 0.86 ~ 0.88로 유사하게 나타나 시약 첨가 시 유당의 예측성능은 반응시간의 영향을 받지 않는 것을 알 수 있다.

Table 3-16 PLS results of calibration for each reaction time

	Lactose	Calibration				
		Wavelength	N	Factor	R	SEC
0 Min.	Methyl red	1700~1800	50	10	0.86	0.08
	Methylene blue	1700~1800	50	8	0.85	0.10
	Resazurin	1700~1800	50	9	0.88	0.10
	Amido black	1700~1900	50	11	0.86	0.09
5 Min.	Methyl red	1700~1900	50	12	0.88	0.09
	Methylene blue	1600~1900	50	10	0.85	0.08
	Resazurin	1600~1900	50	8	0.89	0.08
	Amido black	1600~1800	50	9	0.85	0.07
10 Min.	Methyl red	1700~1800	50	10	0.86	0.07
	Methylene blue	1700~1800	50	12	0.86	0.09
	Resazurin	1700~1900	50	7	0.87	0.08
	Amido black	1600~1900	50	7	0.88	0.09

총고형분의 교정부 상관계수는 표 3-17과 같이 대부분 근적외선 영역의 800 ~ 1,500 nm에서 상관관계가 높게 나타났으며, 원유시료에 첨가한 시약에 관계없이 반응 시간이 0분인 경우 0.93 ~ 0.96, 5분인 경우 0.93 ~ 0.95, 10분인 경우 0.92 ~ 0.94로 유사하게 나타나 시약 첨가 시 총고형분의 예측성능은 반응시간의 영향을 받지 않는 것을 알 수 있다.

Table 3-17 PLS results of calibration for each reaction time

	Total Solid	Calibration				
		Wavelength	N	Factor	R	SEC
0 Min.	Methyl red	900~1400	50	11	0.94	0.09
	Methylene blue	800~1500	50	15	0.93	0.08
	Resazurin	800~1400	50	18	0.96	0.09
	Amido black	900~1300	50	17	0.95	0.09
5 Min.	Methyl red	900~1300	50	10	0.95	0.08
	Methylene blue	800~1400	50	10	0.95	0.08
	Resazurin	800~1300	50	18	0.94	0.08
	Amido black	900~1300	50	17	0.93	0.09
10 Min.	Methyl red	800~1300	50	16	0.93	0.09
	Methylene blue	900~1400	50	15	0.94	0.09
	Resazurin	900~1300	50	15	0.92	0.10
	Amido black	1000~1300	50	17	0.92	0.09

시약 첨가 시 반응시간이 성분조성에 미치는 광학적 특성을 구명하기 위해 PLS 모델을 개발한 결과 반응시간에 관계없이 예측성능이 유사하게 나타나, 시약 첨가 시 반응시간은 성분조성 예측에 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있다. 또한 첨가시약에 관계없이 유사한 예측성능을 보였으나, 유당의 경우 다른 성분조성에 비해 예측성능이 낮게 나타났다.

반응시간에 따른 개발된 각 성분조성의 예측모델을 검증한 결과, 지방의 검증부 상관계수는 표 3-18과 같이 원유시료에 첨가한 시약에 관계없이 반응시간이 0분인 경우 0.91 ~ 0.95, 5분인 경우 0.92 ~ 0.96, 10분인 경우 0.91 ~ 0.96으로 나타나 교정결과와 유사한 수준을 보이고 있음을 알 수 있다.

Table 3-18 PLS results of prediction for each reaction time

	Fat	Prediction		
		N	R	SEP
0 Min.	Methyl red	50	0.95	0.21
	Methylene blue	50	0.91	0.33
	Resazurin	50	0.95	0.20
	Amido black	50	0.94	0.19
5 Min.	Methyl red	50	0.94	0.21
	Methylene blue	50	0.92	0.31
	Resazurin	50	0.96	0.19
	Amido black	50	0.93	0.18
10 Min.	Methyl red	50	0.95	0.22
	Methylene blue	50	0.94	0.32
	Resazurin	50	0.96	0.22
	Amido black	50	0.91	0.19

단백질의 검증부 상관계수는 표 3-19와 같이 원유시료에 첨가한 시약에 관계없이 반응시간이 0분인 경우 0.94 ~ 0.96, 5분인 경우 0.94 ~ 0.98, 10분인 경우 0.92 ~ 0.93으로 나타나 교정결과와 유사한 수준을 보이고 있음을 알 수 있다.

Table 3-19 PLS results of prediction for each reaction time

	Protein	Prediction		
		N	R	SEP
0 Min.	Methyl red	50	0.94	0.11
	Methylene blue	50	0.95	0.10
	Resazurin	50	0.96	0.08
	Amido black	50	0.95	0.11
5 Min.	Methyl red	50	0.96	0.13
	Methylene blue	50	0.95	0.12
	Resazurin	50	0.98	0.06
	Amido black	50	0.94	0.10
10 Min.	Methyl red	50	0.93	0.19
	Methylene blue	50	0.92	0.12
	Resazurin	50	0.93	0.10
	Amido black	50	0.92	0.18

유당의 검증부 상관계수는 표 3-20과 같이 원유시료에 첨가한 시약에 관계없이 반응시간이 0분인 경우 0.74 ~ 0.76, 5분인 경우 0.75 ~ 0.78, 10분인 경우 0.74 ~ 0.76으로 나타나 교정결과보다 예측성능이 낮음을 알 수 있다.

Table 3-20 PLS results of prediction for each reaction time

Lactose		Prediction		
		N	R	SEP
0 Min.	Methyl red	50	0.74	0.11
	Methylene blue	50	0.74	0.12
	Resazurin	50	0.76	0.06
	Amido black	50	0.76	0.09
5 Min.	Methyl red	50	0.75	0.15
	Methylene blue	50	0.77	0.17
	Resazurin	50	0.78	0.09
	Amido black	50	0.76	0.10
10 Min.	Methyl red	50	0.74	0.12
	Methylene blue	50	0.75	0.14
	Resazurin	50	0.75	0.07
	Amido black	50	0.76	0.10

총고형분의 검증부 상관계수는 표 3-21과 같이 원유시료에 첨가한 시약에 관계없이 반응시간이 0분인 경우 0.91 ~ 0.96, 5분인 경우 0.95 ~ 0.98, 10분인 경우 0.93 ~ 0.95로 나타나 교정결과와 유사한 수준을 보이고 있음을 알 수 있다.

Table 3-21 PLS results of prediction for each reaction time

Total Soild		Prediction		
		N	R	SEP
0 Min.	Methyl red	50	0.91	0.13
	Methylene blue	50	0.94	0.17
	Resazurin	50	0.94	0.15
	Amido black	50	0.96	0.13
5 Min.	Methyl red	50	0.95	0.14
	Methylene blue	50	0.96	0.17
	Resazurin	50	0.98	0.13
	Amido black	50	0.96	0.20
10 Min.	Methyl red	50	0.94	0.13
	Methylene blue	50	0.93	0.18
	Resazurin	50	0.94	0.13
	Amido black	50	0.95	0.15

시약 첨가 시 반응시간에 관계없이 각 성분조성은 유사한 예측성능을 보여 성분조성의 예측성능은 반응시간의 영향을 받지 않음을 알 수 있으나, 유당의 경우 교정부의 예측성능이 다른 성분조성에 비해 낮으며, 검증부 예측성능도 교정부의 예측성능보다 낮게 나타나 향후 예측모델 개발 시 다양한 수처리 방법 및 예측 알고리즘의 보완이 필요함을 알 수 있다. 원유의 성분조성은 보존제 처리, 첨가시약, 반응시간의 영향을 받지 않기 때문에 체세포수 예측 성능이 비교적 좋았던 조건. 즉, 보존제 처리, 시약 첨가, 반응시간 5분의 조건에서 체세포수와 성분조성의 동시 측정 기술 개발이 가능함을 알 수 있다.

제 4 절 원유의 체세포수 측정 알고리즘 개발

1. 반응시약의 종류 및 체세포수에 따른 원유의 광학적 특성 구명

반응 시약 선정을 위한 첨가 시약의 종류 및 체세포수에 따른 원유의 광학적 특성 구명하기 위하여 한국식품연구원과 협조하여 대부분 2006년 12월 ~ 2007년 1월경에 낙농 농가에서 수집한 시료를 중심으로 체세포수의 범위가 1등급 ~ 5등급까지 각 등급별의 시료가 균일하게 포함하여 총 200개의 원유를 수집하였다. 체세포수는 서울우유 지도소에 의뢰하여 표준화된 체세포수 검사장비인 원유성분시험기(Combifoss, FOSS FT6000, Denmark)를 이용하여 측정하였으며 검사시료는 보존제 처리한 후 즉시 아이스 팩이 등 냉매로 채워진 아이스박스에 넣어 냉장상태(5 °C 이하)로 보관하여 성균관대학교로 이동한 후 1일 이내에 스펙트럼 측정을 완료하여 우유의 성분 변화를 최소화하였다. 보존제 처리된 원유 시료는 그림 4-1과 같이 온도를 40 °C로 유지한 후 시약을 첨가하지 않은 원유 시료와 미생물 측정을 위한 염료 환원 시험법에 사용되는 Methyl red, Methylene blue, Resazurin과 전기영동 시 단백질염색에 주로 이용되는 Amido black의 4가지 시약을 첨가한 시료로 구분하였으며 첨가한 시약의 농도는 원유 5 mL에 대하여 0.01 %의 농도를 갖도록 하였다.

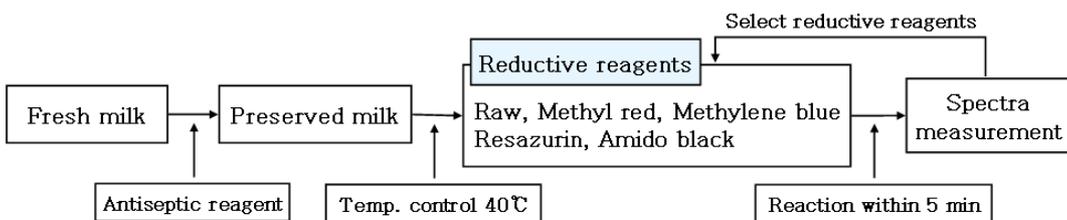


Fig. 4-1 Flow chart of experiment condition for reductive reagents.

성분 분석이 완료된 원유 시료는 고성능 분광광도계와 Horizontal 모듈을 이용하여 가시광선/근적외선 영역에서 반사 스펙트럼을 측정하였다. 고성능 분광광도계는 표 4-1과 같이 회절격자형으로 400 ~ 2500 nm 파장 범위에서 2 nm 간격으로 시료의 반사 및 투과 스펙트럼을 측정할 수 있으며 파장의 정밀도는 ± 0.3 nm 이다. 원유 시

료의 반사 스펙트럼의 측정을 위하여 분광분석기의 Horizontal 모듈에 적합하게 샘플 셀을 제작하였다. 샘플 셀은 지름 50 mm, 높이 30 mm의 크기로 바닥은 두께 3 mm의 수정으로 제작되었으며, 반사판은 지름 35 mm의 알루미늄으로 제작되었다. 반사판의 바닥은 평면을 고르게 정밀 가공한 후 반사율을 높이기 위하여 금으로 도금하였다. 반사판의 높이에 따른 원유 시료의 흡광도가 변화되므로 시료의 투과 거리를 고려하여 반사판의 높이를 1 mm로 제작하였다.

Table 4-1 Specifications of VIS/NIR spectrometer

Items	Specifications
Wavelength range	400 ~ 2500 nm
Wavelength accuracy	± 0.3 nm
Wavelength repeatability	± 0.015 nm standard deviation
Data interval	± 2 nm

원유 시료의 스펙트럼은 분광분석기의 구동을 위하여 전용 프로그램인 WinISI(NIRSystems, USA)를 이용하여 400 ~ 2500 nm에서 2 nm 간격으로 반사 스펙트럼을 측정하였다. 분광분석기를 30 ~ 40분 이상 예열 시킨 후 기준(Reference) 스펙트럼을 측정하고 각각의 샘플 용기에 담겨진 원유 시료를 샘플 셀에 부은 후 높이 1 mm의 반사판을 넣고 약 5분간 대기하여 시료가 완전히 정지한 후 시료의 반사 스펙트럼을 측정하고 다시 기준 스펙트럼을 측정하는 방법으로 반복하여 총 200점의 반사 스펙트럼을 측정하였다. 기준 스펙트럼은 항상 일정한 흡광도를 나타내는 세라믹판(Ceramic plate)을 이용하였으며, 시료에 광선을 32회 주사(Scan)하여 측정된 스펙트럼을 평균하여 흡광도($\log(1/R)$)로 변환한 스펙트럼을 컴퓨터의 파일로 저장하였다. 스펙트럼을 측정 시 실내 온도를 27 °C로 유지했으며 이때 습도는 54 %로 측정되었다.

가시광선/근적외선 영역의 스펙트럼은 그림 4-2와 같이 400 ~ 600 nm의 가시광선 영역과 1400 ~ 1600 nm, 1900 ~ 2100 nm의 근적외선 영역에서 차이를 보이고 있다.

며 검출부의 특성에 따른 노이즈에 의한 영향을 2100 ~ 2500 nm 영역의 볼 수 있다. 특히 가시광선 영역에서는 첨가 시약의 색상과 체세포수에 따른 첨가 시약의 색상이 변화하여 스펙트럼간의 큰 차이를 보이고 있으며 근적외선 영역에서도 미세한 차이를 보여주고 있다.

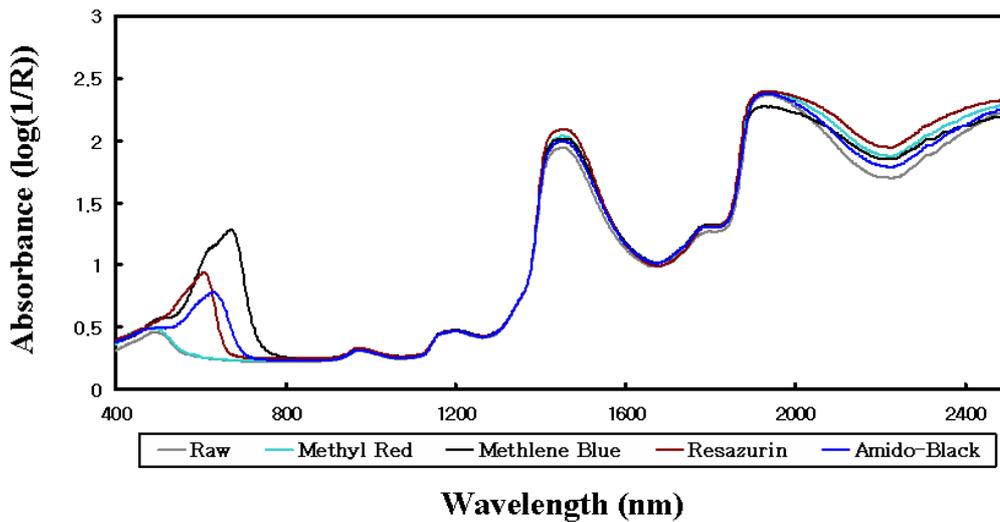


Fig. 4-2 Reflectance spectra of visible/near-infrared spectrum for milk with reductive reagents.

2. 체세포수 측정 알고리즘 개발 및 평가

스펙트럼을 이용한 예측 모델을 개발하기 위하여 그림 4-3과 같이 전처리된 원유 시료의 50%를 교정부로, 50%를 검증부로 분류하였다. 원유 시료를 체세포수의 크기로 정렬한 후 순차적으로 교정부와 검증부로 분류하였으며, 교정부와 검증부의 유사한 체세포수의 분포를 갖도록 조정하였다. 교정부의 스펙트럼은 모델의 개발단계에서 반복하여 사용되었으며, 검증부는 예측 모델의 최종평가에 1회 사용되었다.

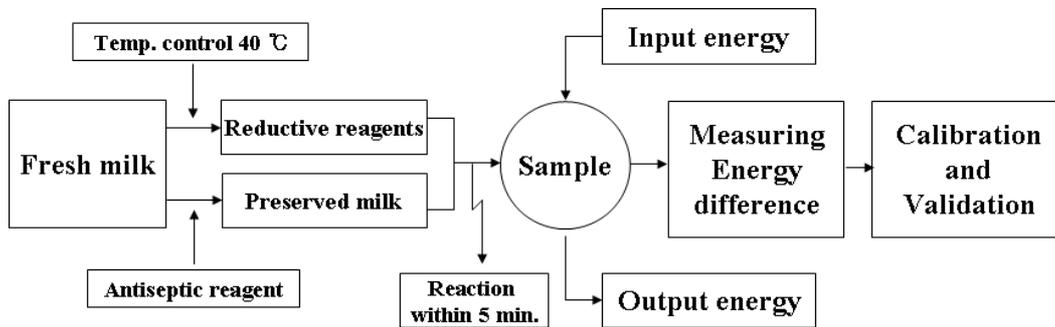


Fig. 4-3 Flow chart of experiment condition for development of SCC model.

체세포수 예측 모델은 반응 시약의 종류에 따라 차이를 보이는 400 ~ 600 nm의 가시광선 영역과 1400 ~ 1600 nm, 1900 ~ 2100 nm 영역의 기준으로 하여 부분최소자승(PLS)으로 원유의 체세포수와 반사 스펙트럼의 상관관계를 분석하였다. PLS 분석은 상용 프로그램인 Unscrambler를 사용하였으며 각 성분의 예측 모델을 개발하기 위하여 측정된 스펙트럼을 사용하였다. PLS 모델은 교차검증(Cross validation)을 이용하여 개발하였으며, 팩터의 수와 PRESS(Prediction residual error sum of squares) 값을 참조하고 상관계수(R)와 교정부 오차(Standard error of calibration, SEC)를 비교하여 선정하였다. 팩터의 수가 증가하면 PRESS값은 감소하나 팩터의 수가 너무 많으면 검증 시 예측능력이 떨어지므로, F-검증을 수행하고 F-검증의 확률이 0.75미만이 되는 팩터의 수를 모델의 최적 팩터의 수로 결정하였다. 최적의 PLS 모델은 상관계수, 교정부 오차, 팩터의 수를 고려하여 선정하였다. 각 모델의 예측 성능은 검증부 오차(Standard error of prediction, SEP)를 이용하여 분석하였다.

전체 200개의 원유 시료에 대하여 체세포수를 측정한 결과 15,000 ~ 3,328,000개의 범위에서 평균 376,886개로 체세포수가 다소 높게 나타났는데 이것은 시료 수집 과정에서 가능한 전체 등급별로 균일한 시료를 수집하기 하였기 때문이다. 또한 체세포수는 넓은 범위를 가지고 있어 200개의 시료를 이용하여 3,000,000개 이상의 체세포수를 대표할 수 있는 모델을 개발하는 것은 쉽지 않기 때문에 본 연구에서는 시료의 예측 값을 줄이기 위하여 표 4-2와 같이 체세포수에 상용로그(Log)를 취한 것을 예측 값으로 하여 모델을 개발하였다. 로그 계산이 된 체세포수의 범위는 4.17 ~ 5.62의 범위에서 평균 5.58을 보이고 있으며 모델 개발 시 오차의 계산을 위해서는 로그 값에 대

한 환산이 필요하다. 오차의 환산은 체세포수 로그 값의 평균(5.58)에 대한 오차의 백분율로 계산하였다. 예를 들어 모델 개발 시 0.1의 평균 오차는 5.58에 대한 0.1의 비율인 1.8 %로 계산 할 수 있어 평균 376,886개에 대한 1.8 %, 즉 6,754개의 오차를 의미한다.

Table 4-2 Somatic cell count for development of SCC model

Somatic cell count		Number	Avg.	Max.	Min.	Std.
Raw, Methyl red	Original	200	376,886	3,328,000	15,000	362,919
Methylene blue						
Resazurin,	Log scale	200	5.58	6.52	4.17	0.43
Amido black						

400 ~ 600 nm의 가시광선 영역과 1400 ~ 1600 nm, 1900 ~ 2100 nm 영역에서 각각의 첨가 시약에 대하여 예측 모델을 개발한 결과 표 4-3과 같이 시약 처리를 하지 않은 원유(Raw)는 400 ~ 600 nm에서 상관계수가 0.78, 교정부 오차가 0.27로 나타났다. Methyl red를 첨가한 원유는 400 ~ 2100 nm의 영역에서 상관계수가 0.63, 오차가 0.31로 나타났으며 Methylene blue를 첨가한 경우 400 ~ 2100 nm의 영역에서 상관계수가 0.65, 오차가 0.30으로 두 가지 시약에 대해 모두 낮은 상관도를 보여주고 있다. Resazurin을 첨가하면 400 ~ 2100 nm에서 상관계수가 0.98, 오차가 0.08로 가장 우수한 상관관계를 보여주며 가시광선 영역인 400 ~ 600 nm와 근적외선 영역인 1900 ~ 2100 nm 에서도 높은 상관관계를 보여주고 있다. Amido black 시약을 첨가한 경우 전체 영역인 400 ~ 2100 nm에서 상관계수가 0.99, 오차가 0.04로 우수한 상관관계를 보이며 400 ~ 600 nm의 가시광선 영역 보다는 1400 ~ 1600 nm, 1900 ~ 2100 nm의 근적외선 영역에서 더욱 우수한 상관관계를 보이고 있다.

Table 4-3 PLS results of calibration for development of SCC model

Somatic cell count	Calibration					
	Wavelength	N	Factor	R	SEC(Log)	SEC(Original)
Raw	400~2100	100	4	0.55	0.36	24,315
	400~600		8	0.78	0.27	18,236
	1400~1600		1	0.10	0.43	29,043
	1900~2100		1	0.11	0.43	29,043
Methyl red	400~2100	100	2	0.63	0.31	20,938
	400~600		1	0.44	0.36	24,315
	1400~1600		2	0.51	0.34	22,964
	1900~2100		1	0.54	0.33	22,289
Methylene blue	400~2100	100	2	0.65	0.30	20,263
	400~600		1	0.45	0.35	23,640
	1400~1600		2	0.47	0.35	23,640
	1900~2100		1	0.52	0.31	20,938
Resazurin	400~2100	100	7	0.98	0.08	5,403
	400~600		8	0.92	0.17	11,482
	1400~1600		4	0.85	0.21	14,184
	1900~2100		7	0.95	0.13	8,780
Amido black	400~2100	100	9	0.99	0.04	2,701
	400~600		4	0.87	0.19	12,833
	1400~1600		9	0.91	0.16	10,807
	1900~2100		7	0.94	0.13	8,780

미지의 시료를 이용하여 개발된 모델을 검증한 결과 표 4-4와 같이 Resazurin과 Amido black 시약을 첨가한 경우가 좋은 예측 결과를 보여주고 있으며, 시약을 첨가

하지 않은 원유의 검증부 상관계수는 0.23, 검증부 오차는 0.45로 나타나 체세포수의 예측을 위해서는 적절한 반응 시약의 첨가가 필요함을 보여주고 있다. 시약을 첨가하지 않은 원유의 모델 검증 결과 400 ~ 600 nm에서 상관계수는 0.23, 검증부 오차는 0.45로 낮은 검증 결과를 보여주고 있다. Methyl red와 Methylene blue를 각각 첨가한 결과 전체 영역에서 상관계수는 0.36, 0.47로 나타났으며 검증부 오차는 0.39, 0.37로 모델이 체세포수 예측이 어려움을 보여주고 있다. Resazurin을 첨가한 경우 그림 4-4와 같이 전체 영역에서 상관계수가 0.95, 검증부 오차는 0.13으로 우수한 검증력을 보이고 있으며, 그림 4-5, 4-6, 4-7과 같이 400 ~ 600 nm와 1400 ~ 1600 nm, 1900 ~ 2100 nm의 근적외선 영역에서 검증 결과 상관계수는 각각 0.86, 0.83, 0.91, 검증부 오차는 0.21, 0.23, 0.17로 근적외선 영역에서 더 좋은 검증 결과를 보여주고 있다. Amido black을 첨가하여 모델 검증 결과 그림 4-8과 같이 전체 영역에서 상관계수는 0.98, 검증부 오차는 0.09로 우수한 상관관계를 보이며 가시광선과 근적외선 영역에서 그림 4-9, 4-10, 4-11과 같이 상관계수는 각각 0.86, 0.89, 0.86, 검증부 오차는 0.21, 0.18, 0.21로 유사한 검증력을 보여주고 있다.

Table 4-4 PLS results of prediction for milk condition tested

Somatic cell count	Prediction			
	N	R	SEP(Log)	SEP(Original)
Raw	98	0.23	0.45	30,394
		0.49	0.42	28,368
		0.10	0.44	29,719
		0.15	0.43	29,043
Methyl red	98	0.36	0.39	26,341
		0.24	0.40	27,017
		0.27	0.40	27,017
		0.21	0.42	28,368
Methylene blue	98	0.47	0.37	24,991
		0.36	0.39	26,341
		0.34	0.40	27,017
		0.34	0.40	27,017
Resazurin	98	0.95	0.13	8,780
		0.86	0.21	14,184
		0.83	0.23	15,535
		0.91	0.17	11,482
Amido black	98	0.98	0.09	6,079
		0.85	0.21	14,184
		0.89	0.18	12,158
		0.86	0.21	14,184

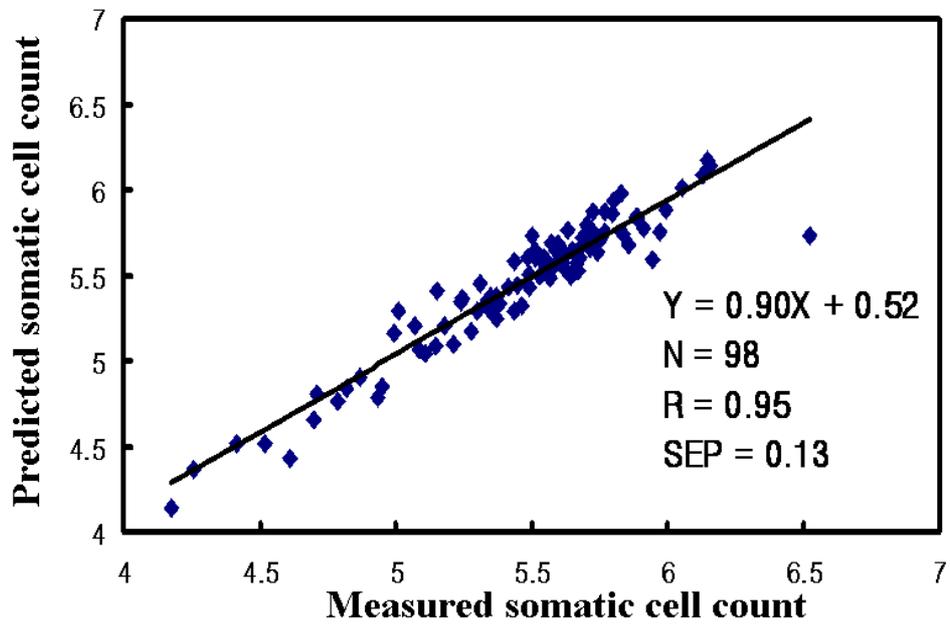


Fig. 4-4 Prediction of SCC by milk with Resazurin using 400 ~ 2100 nm.

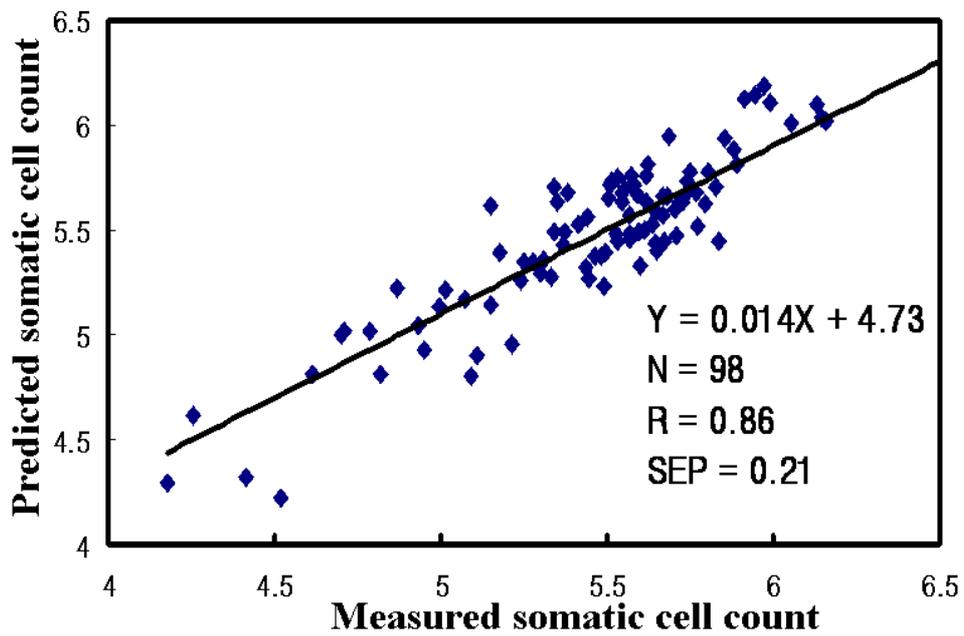


Fig. 4-5 Prediction of SCC by milk with Resazurin using 400 ~ 600 nm.

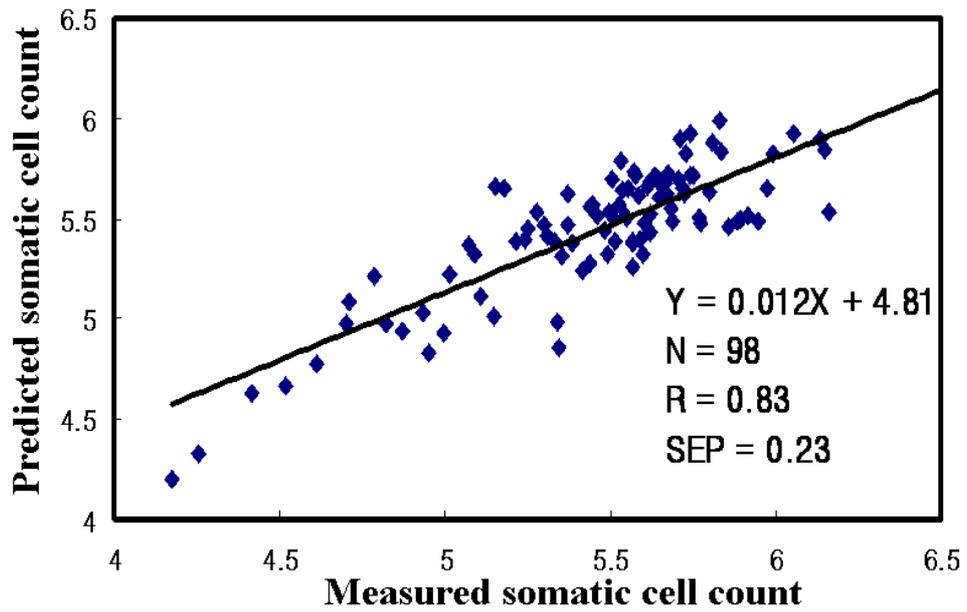


Fig. 4-6 Prediction of SCC by milk with Resazurin using 1400 ~ 1600 nm.

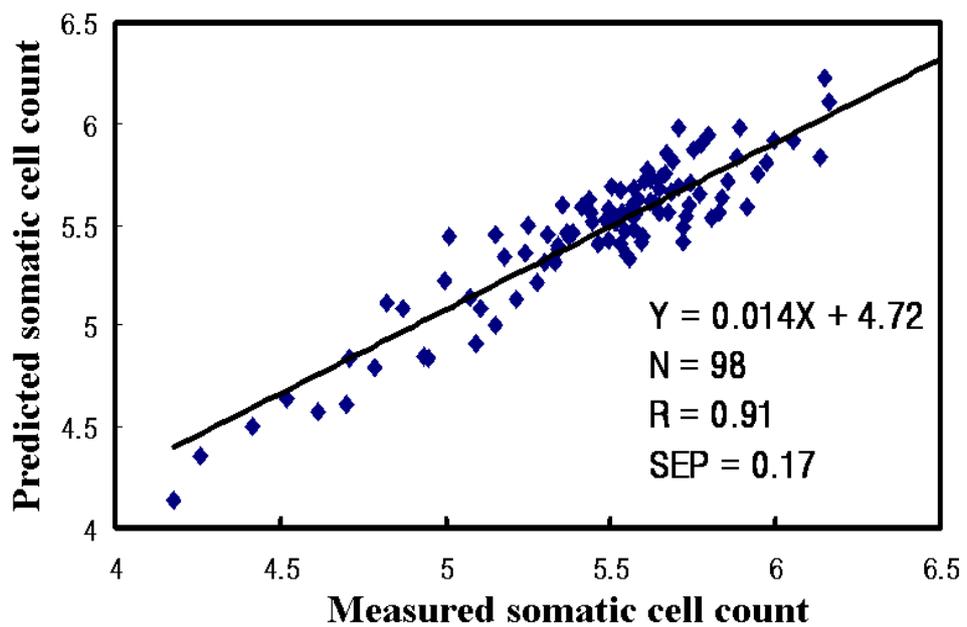


Fig. 4-7 Prediction of SCC by milk with Resazurin using 1900 ~ 2100 nm.

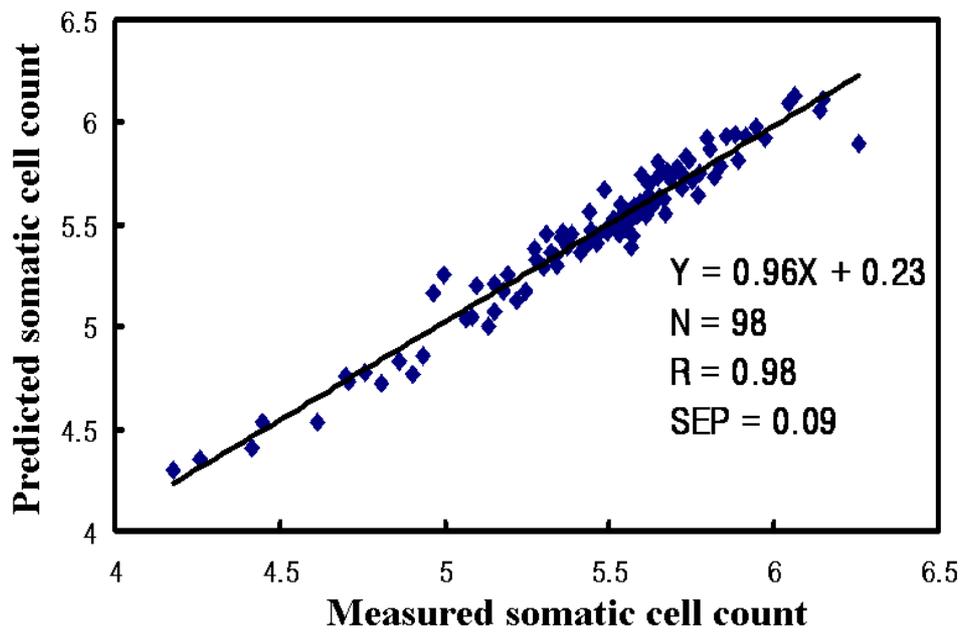


Fig. 4-8 Prediction of SCC by milk with Amido black using 400 ~ 2100 nm.

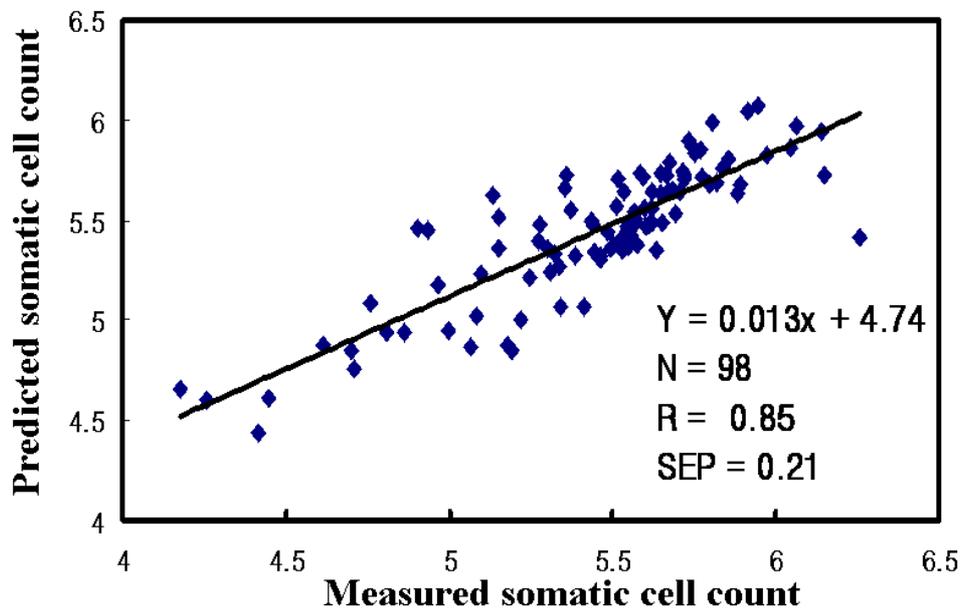


Fig. 4-9 Prediction of SCC by milk with Amido black using 400 ~ 600 nm.

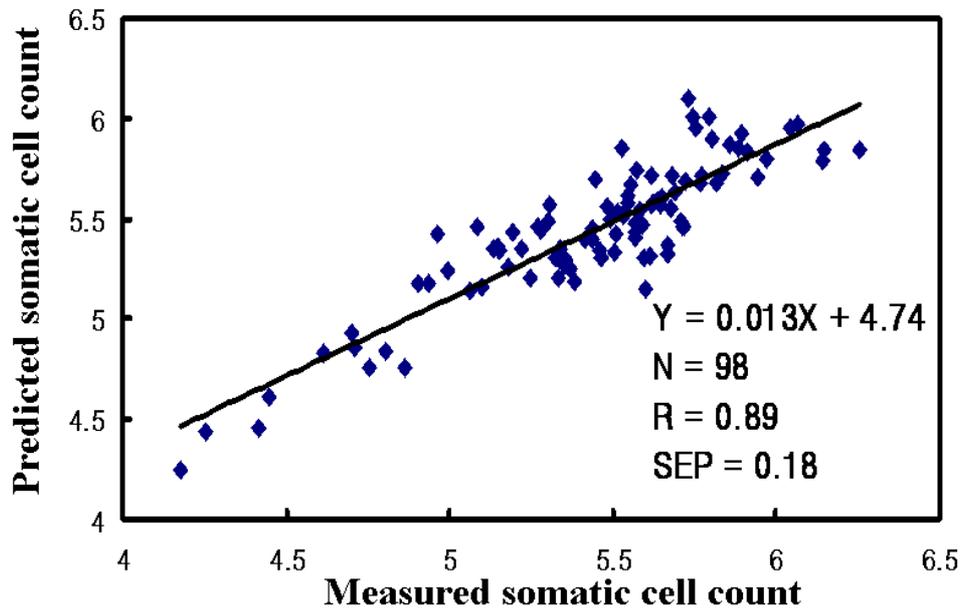


Fig. 4-10 Prediction of SCC by milk with Amido black using 1400 ~ 1600 nm.

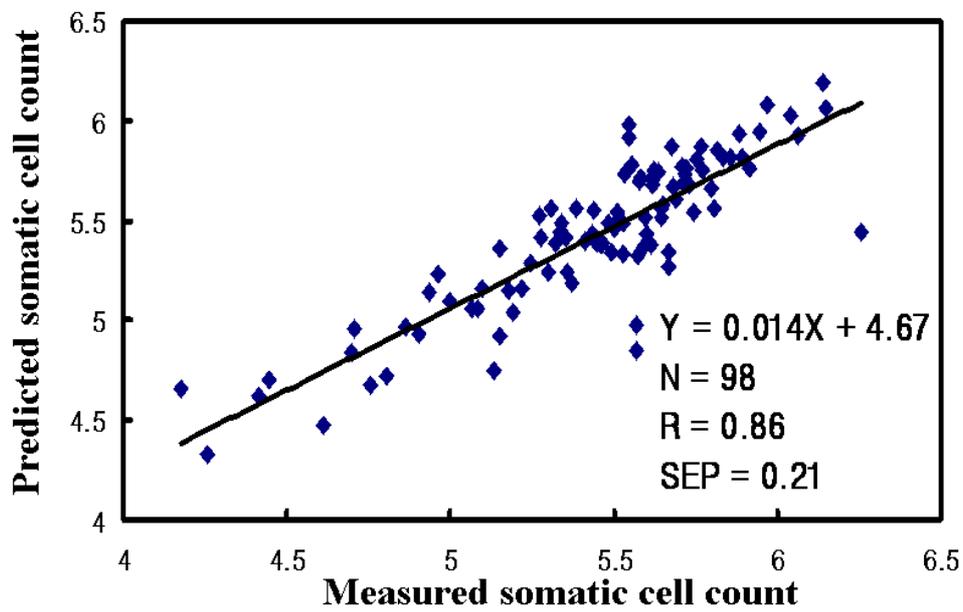


Fig. 4-11 Prediction of SCC by milk with Amido black using 1900 ~ 2100 nm.

가시광선/근적외선 스펙트럼을 이용하여 첨가시약에 대한 원유의 체세포 측정 알고리즘을 개발한 결과, Resazurin, Amido black 시약을 반응시약으로 사용한 경우가 가장 좋은 상관관계를 보였으며, 특히 전체 스펙트럼 영역을 사용한 결과가 가장 좋은 상관관계를 보이고 있으나 휴대용 시스템에 적용하기 위해서는 고가인 광검출 장치가 필요하므로 경제적 측면을 고려하여 가시광선 영역을 체세포수 예측을 위한 적정 파장으로 선정하였다. 또한 가시광선 영역을 이용한 체세포수 예측모델 검증력은 다소 낮아 품질관정 시스템의 신뢰성을 높이기 위해서는 다양한 신호처리 방법 및 알고리즘의 적용이 필요할 것으로 판단된다.

제 5 절 원유의 성분조성 측정 알고리즘 개발

1. 반응시약의 종류 및 성분조성에 따른 원유의 광학적 특성 구명

반응 시약 선정을 위한 첨가 시약의 종류 및 성분조성에 따른 원유의 광학적 특성 구명하기 위하여 한국식품연구원과 협조하여 대부분 2007년 6월 ~ 2007년 12월경에 낙농 농가에서 총 200개의 원유를 수집하였다. 성분조성은 서울우유 지도소에 의뢰하여 낙농농가에서 총 200개의 원유시료를 수집하였으며 체세포수 예측모델 시와 동일한 방법으로 실험을 수행하여 지방, 단백질, 유당, 총고형분의 예측모델을 개발하였다.

전체 200개의 원유 시료에 대해 상용화된 원유성분시험기(Combifoss)를 이용하여 성분조성을 측정한 결과 표 5-1과 같이 지방은 2.08 ~ 6.38 %, 단백질은 2.35 ~ 4.37 %, 유당은 3.38 ~ 5.21 %, 총고형분은 9.83 ~ 14.29 %의 범위를 보였다.

Table 5-1 Properties ratio for development of fat, protein, lactose and TS model

		Number	Avg.	Max.	Min.	Std.
Raw, Methyl red	Fat(%)	200	4.04	6.38	2.08	0.82
Methylene blue	Protein(%)	200	3.33	4.37	2.35	0.41
Resazurin,	Lactose(%)	200	4.68	5.21	3.38	0.24
Amido black	TS(%)	200	12.76	14.29	9.83	0.75

400 ~ 600 nm의 가시광선 영역과 1400 ~ 1600 nm, 1900 ~ 2100 nm 영역에서 각각의 첨가 시약에 대하여 예측 모델을 개발한 결과 지방의 경우 표 5-2와 같이 시약 처리를 하지 않은 원유(Raw)는 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수가 0.97, 교정부 오차가 0.12로 비교적 가장 우수한 상관관계를 보여주고 있다. 원유에 Methyl red를 첨가하면 400 ~ 2100 nm에서 교정부 상관계수가 0.95, 교정부 오차가 0.14로 나타났다. Methylene blue의 경우 400 ~ 2100 nm에서 교정부 상관계수와 교정부 오차가 각각 0.95, 0.15로 나타났다. Resazurin 첨가 시에는 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수가 0.96, 교정부 오차가 0.13으로 나타났다. Amido black을 원유에 첨가했

을 경우에는 400 ~ 2100 nm와 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수가 모두 0.80, 교정부 오차가 모두 0.23으로 나타났다. 가시광선 영역보다는 전체 영역인 400 ~ 2100 nm과 근적외선 영역의 1400 ~ 1600 nm에서 비교적 높은 상관관계를 보여주고 있다.

Table 5-2 PLS results of calibration for development of fat model

Fat	Calibration				
	Wavelength	N	Factor	R	SEC
Raw	400~2100	100	8	0.94	0.14
	400~600		1	0.41	0.39
	1400~1600		7	0.97	0.12
	1900~2100		2	0.65	0.31
Methyl red	400~2100	100	9	0.95	0.14
	400~600		2	0.74	0.26
	1400~1600		8	0.93	0.15
	1900~2100		3	0.81	0.22
Methylene blue	400~2100	100	8	0.95	0.15
	400~600		2	0.65	0.31
	1400~1600		8	0.94	0.14
	1900~2100		3	0.72	0.27
Resazurin	400~2100	100	7	0.92	0.16
	400~600		2	0.68	0.29
	1400~1600		9	0.96	0.13
	1900~2100		1	0.83	0.21
Amido black	400~2100	100	7	0.80	0.23
	400~600		1	0.25	0.42
	1400~1600		6	0.80	0.23
	1900~2100		2	0.54	0.35

단백질의 경우 표 5-3과 같이 시약 처리를 하지 않은 원유는 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수가 0.99, 교정부 오차가 0.11로 비교적 가장 우수한 상관관계를 보여주고 있다. Methyl red를 원유에 첨가한 경우 400 ~ 2100 nm에서 교정부 상관계수가 0.95, 교정부 오차가 0.14로 나타났다. 원유에 Methylene blue를 첨가한 경우 400 ~ 2100 nm에서 교정부 상관계수가 0.95, 교정부 오차가 0.13으로 나타났다. Resazurin의 경우 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수와 교정부 오차가 각각 0.98, 0.11로 나타났다. Amido black을 첨가했을 경우에는 400 ~ 2100 nm에서 교정부 상관계수가 0.95, 교정부 오차가 0.14로 나타났다. 전체 영역인 400 ~ 2100 nm과 근적외선 영역의 1400 ~ 1600 nm에서 다른 영역에 비해 비교적 좋은 상관관계를 보이고 있다.

Table 5-3 PLS results of calibration for development of protein model

Protein	Calibration				
	Wavelength	N	Factor	R	SEC
Raw	400~2100	100	8	0.95	0.14
	400~600		1	0.65	0.31
	1400~1600		6	0.99	0.11
	1900~2100		2	0.79	0.24
Methyl red	400~2100	100	9	0.95	0.14
	400~600		1	0.66	0.30
	1400~1600		7	0.94	0.14
	1900~2100		3	0.73	0.27
Methylene blue	400~2100	100	8	0.95	0.13
	400~600		2	0.80	0.23
	1400~1600		7	0.93	0.15
	1900~2100		1	0.81	0.22
Resazurin	400~2100	100	9	0.96	0.13
	400~600		2	0.80	0.23
	1400~1600		8	0.98	0.11
	1900~2100		2	0.84	0.21
Amido black	400~2100	100	7	0.95	0.14
	400~600		1	0.66	0.30
	1400~1600		8	0.93	0.15
	1900~2100		2	0.78	0.24

유당의 경우 표 5-4와 같이 시약을 첨가하지 않은 원유의 경우 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수와 교정부 오차가 각각 0.88, 0.18로 나타났으며, Resazurin을 원유에 첨가한 경우 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수가 0.88, 교정부 오차가 0.17로 나타나 두 가지 경우가 다른 시약을 첨가했을 경우보다 비교적 높은 상관관계를 보임을 알 수 있다. 원유에 Methyl red를 첨가한 경우 400 ~ 2100 nm에서 교정부 상관

계수가 0.86, 교정부 오차가 0.19로 나타났다. Methylene blue의 경우 400 ~ 2100nm에서 교정부 상관계수가 400 ~ 2100 nm에서 교정부 상관계수와 교정부 오차가 각각 0.86, 0.20로 나타났다. Amido black을 첨가했을 경우 400 ~ 2100 nm와 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수가 모두 0.85, 교정부 오차가 0.20, 0.21로 나타났다. 가시광선 영역의 400 ~ 600 nm과 1900 ~ 2100 nm영역보다 전체 영역인 400 ~ 2100 nm과 근적외선 영역의 1400 ~ 1600 nm에서 비교적 높은 상관관계를 보이고 있으며, 다른 성분조성에 비해 전체적으로 상관도가 낮게 나와 신호처리방법 및 품질판정 알고리즘 등의 보완이 필요한 것으로 판단된다.

Table 5-4 PLS results of calibration for development of lactose model

Lactose	Calibration				
	Wavelength	N	Factor	R	SEC
Raw	400~2100	100	8	0.81	0.22
	400~600		1	0.26	0.42
	1400~1600		10	0.88	0.18
	1900~2100		1	0.45	0.38
Methyl red	400~2100	100	9	0.86	0.19
	400~600		1	0.23	0.42
	1400~1600		7	0.83	0.21
	1900~2100		2	0.52	0.36
Methylene blue	400~2100	100	10	0.86	0.20
	400~600		1	0.38	0.39
	1400~1600		9	0.85	0.20
	1900~2100		1	0.57	0.34
Resazurin	400~2100	100	8	0.86	0.19
	400~600		1	0.44	0.38
	1400~1600		8	0.88	0.17
	1900~2100		2	0.55	0.35
Amido black	400~2100	100	7	0.85	0.20
	400~600		1	0.31	0.41
	1400~1600		9	0.85	0.21
	1900~2100		1	0.49	0.37

총고형분의 예측 모델을 개발하여 분석한 결과 표 5-5와 같이 시약을 첨가하지 않은 원유는 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수가 0.98, 교정부 오차가 0.11로 나타났다. Resazurin의 경우 1400 ~ 1600 nm에서 교정부 상관계수가 0.98, 교정부 오차가 0.12로 나타나 두 가지 경우가 다른 경우보다 비교적 높은 상관관계를 보임을 알 수 있다. Methyl red를 원유에 첨가한 경우 400 ~ 2100 nm와 1400 ~ 1600 nm에서

교정부 상관계수가 모두 0.97, 교정부 오차가 각각 0.12, 0.13으로 나타났다. 원유에 Methylene blue를 첨가한 경우 400 ~ 2100 nm에서 교정부 상관계수가 0.94, 교정부 오차가 0.15로 나타났다. Amido black을 첨가했을 경우에는 400 ~ 2100 nm에서 교정부 상관계수가 0.94, 교정부 오차가 0.14로 나타났다. 다른 성분 조성 과 마찬가지로 전체 영역인 400 ~ 2100 nm과 근적외선 영역의 1400 ~ 1600 nm에서 비교적 좋은 상관관계를 보이고 있다.

Table 5-5 PLS results of calibration for development of TS model

Total solids	Calibration				
	Wavelength	N	Factor	R	SEC
Raw	400~2100	100	13	0.92	0.16
	400~600		2	0.68	0.29
	1400~1600		11	0.98	0.11
	1900~2100		2	0.74	0.26
Methyl red	400~2100	100	10	0.97	0.12
	400~600		1	0.69	0.29
	1400~1600		12	0.97	0.13
	1900~2100		2	0.76	0.25
Methylene blue	400~2100	100	12	0.94	0.15
	400~600		1	0.81	0.22
	1400~1600		11	0.91	0.16
	1900~2100		1	0.82	0.22
Resazurin	400~2100	100	13	0.96	0.13
	400~600		2	0.71	0.28
	1400~1600		12	0.98	0.12
	1900~2100		2	0.78	0.24
Amido black	400~2100	100	13	0.94	0.14
	400~600		1	0.65	0.31
	1400~1600		10	0.92	0.16
	1900~2100		2	0.76	0.25

미지의 시료를 이용하여 개발된 모델을 검증한 결과 지방의 경우 표 5-6과 같이 Methyl red와 Methylene blue를 각각 첨가한 결과 전체 영역에서 검증부 상관계수는 0.90, 0.91, 검증부 오차는 0.17, 0.16으로 나타났으며, 원유에 Amido black을 첨가한 경우 전체 영역과 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수가 모두 0.76, 검증부 오차가 각각 0.25, 0.26로 나타났다. 시약 처리를 하지 않은 경우 그림 5-1과 같이 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수가 0.93, 검증부 오차가 0.15로 나타났으며, Resazurin을 첨가했을 경우 그림 5-2와 같이 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수와 검증부 오차가 각각 0.94, 0.14로 나타나 비교적 우수한 검증력을 보이고 있다.

Table 5-6 PLS results of prediction for fat model

Fat	Prediction		
	N	R	SEP
Raw	100	0.91	0.16
		0.28	0.41
		0.93	0.15
		0.53	0.35
Methyl red	100	0.90	0.17
		0.68	0.29
		0.89	0.18
		0.72	0.27
Methylene blue	100	0.91	0.16
		0.43	0.38
		0.89	0.18
		0.66	0.30
Resazurin	100	0.88	0.18
		0.49	0.37
		0.94	0.14
		0.79	0.24
Amido black	100	0.76	0.25
		0.22	0.42
		0.76	0.26
		0.21	0.42

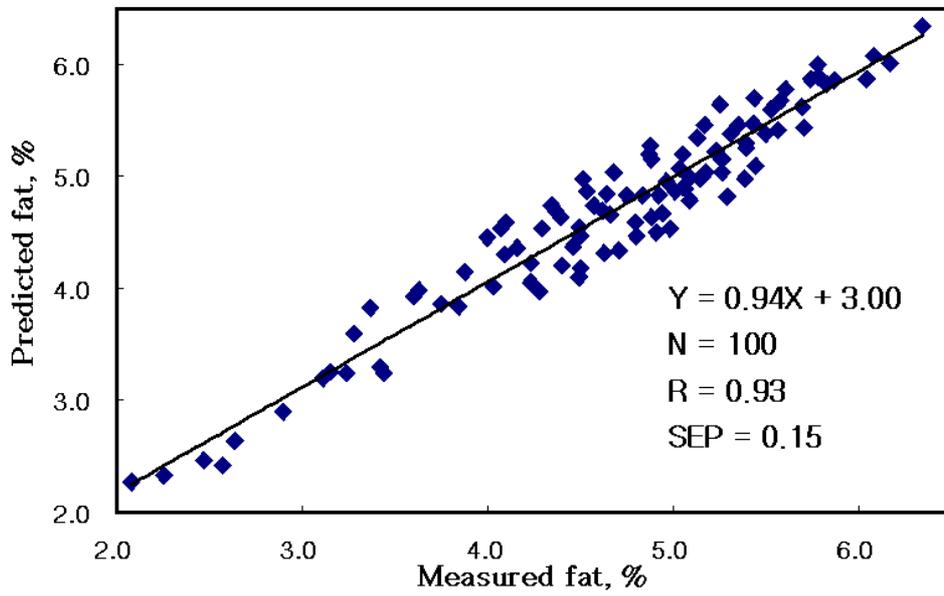


Fig. 5-1 Prediction of fat by raw milk using 1400 ~ 1600 nm.

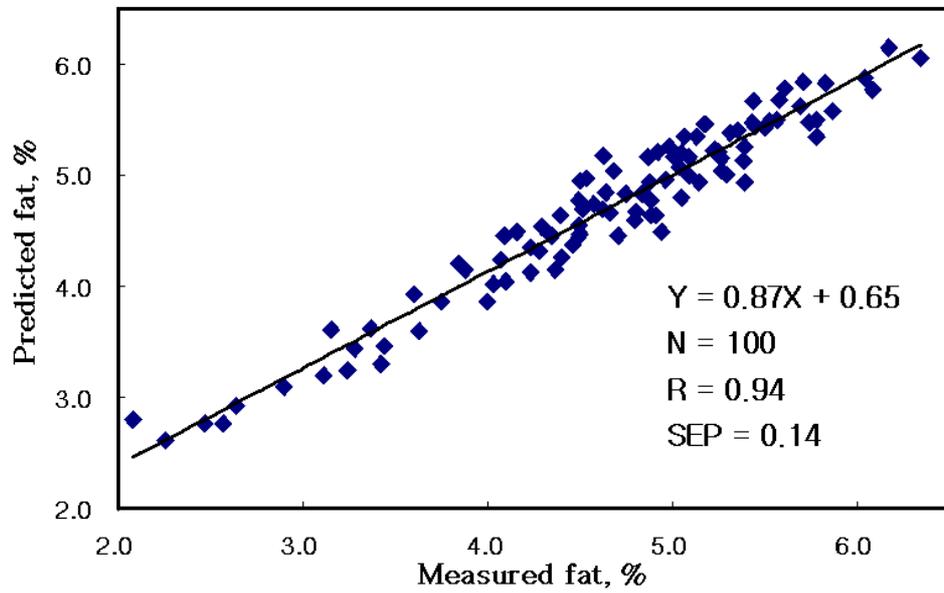


Fig. 5-2 Prediction of fat by milk with Resazurin using 1400 ~ 1600 nm.

개발된 모델을 검증한 결과 단백질의 경우 표 5-7과 같이 Methyl red를 첨가한 경우 400 ~ 2100 nm에서 검증부 상관계수가 0.90, 검증부 오차가 0.17로 나타났다. Methylene blue의 경우 전체 영역에서 검증부 상관계수와 검증부 오차가 각각 0.89, 0.18로 나타났다. Amido black을 원유에 첨가한 경우 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수가 0.88, 검증부 오차가 0.18로 나타났다. 시약 처리를 하지 않은 경우 그림 5-3과 같이 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수가 0.93, 검증부 오차가 0.15로 나타났으며, Resazurin을 첨가했을 경우 그림 5-4와 같이 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수와 검증부 오차가 각각 0.94, 0.14로 나타나 비교적 좋은 검증 결과를 보이고 있다.

Table 5-7 PLS results of prediction for protein model

Protein	Prediction		
	N	R	SEP
Raw	100	0.91	0.16
		0.60	0.33
		0.93	0.15
		0.73	0.27
Methyl red	100	0.90	0.17
		0.50	0.36
		0.88	0.18
		0.67	0.30
Methylene blue	100	0.89	0.18
		0.69	0.29
		0.84	0.21
		0.75	0.26
Resazurin	100	0.92	0.16
		0.75	0.26
		0.94	0.14
		0.79	0.24
Amido black	100	0.87	0.19
		0.54	0.35
		0.88	0.18
		0.61	0.32

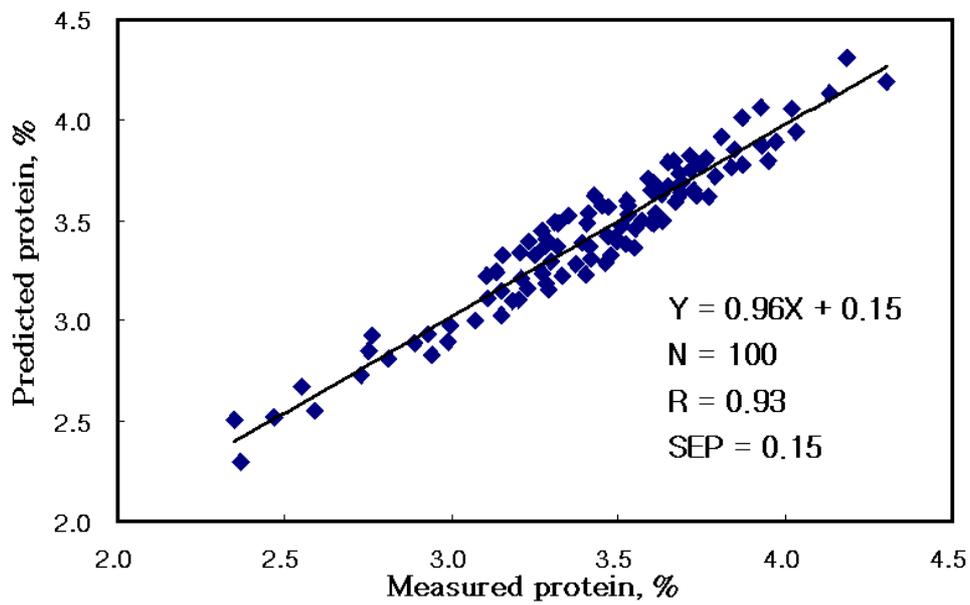


Fig. 5-3 Prediction of protein by raw milk using 1400 ~ 1600 nm.

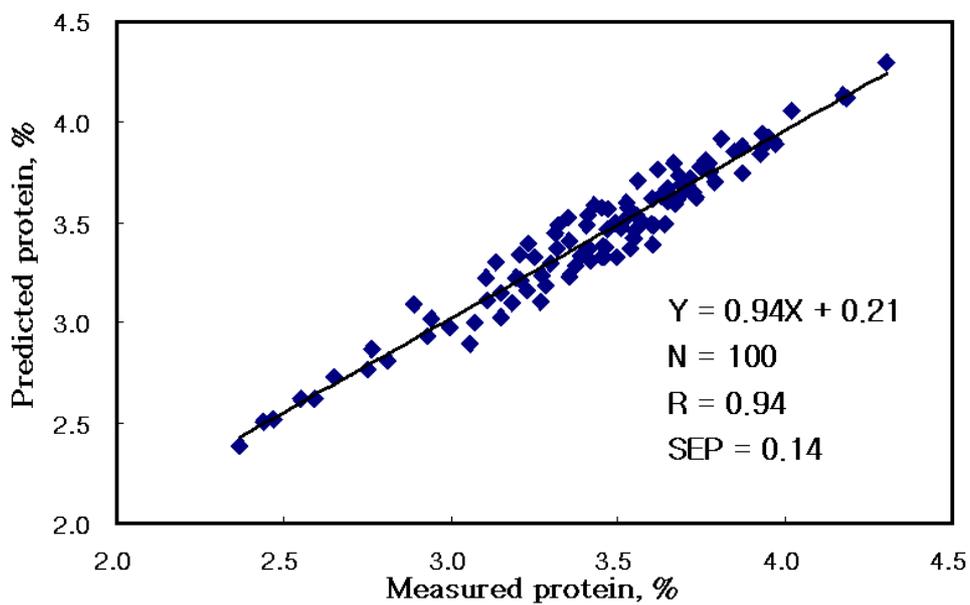


Fig. 5-4 Prediction of protein by milk with Resazurin using 1400 ~ 1600 nm.

개발된 유당 모델의 검증 결과는 표 5-8과 같이 원유에 Methyl red와 Methylene blue를 각각 첨가한 경우 400 ~ 2100 nm에서 검증부 상관계수가 각각 0.79, 0.81, 검증부 오차가 각각 0.24, 0.22로 나타났다. Amido black의 경우 전체 영역과 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수가 모두 0.67, 검증부 오차가 각각 0.30, 0.32로 나타나 개발된 모델의 성능에 비하여 다소 낮은 검증결과를 보였다. 원유에 시약을 첨가하지 않은 경우 그림 5-5와 같이 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수가 0.85, 검증부 오차가 0.20으로 나타났으며, Resazurin의 경우 그림 5-6과 같이 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수와 검증부 오차가 각각 0.86, 0.19로 나타나 비교적 우수한 검증력을 보이고 있으나 다른 성분조성에 비해 낮은 검증 결과를 보이고 있다.

Table 5-8 PLS results of prediction for lactose model

Lactose	Prediction		
	N	R	SEP
Raw	100	0.78	0.24
		0.11	0.42
		0.85	0.20
		0.31	0.41
Methyl red	100	0.79	0.24
		0.12	0.42
		0.77	0.25
		0.36	0.40
Methylene blue	100	0.81	0.22
		0.29	0.41
		0.68	0.29
		0.34	0.40
Resazurin	100	0.57	0.34
		0.21	0.42
		0.86	0.19
		0.23	0.42
Amido black	100	0.67	0.30
		0.12	0.42
		0.67	0.32
		0.32	0.41

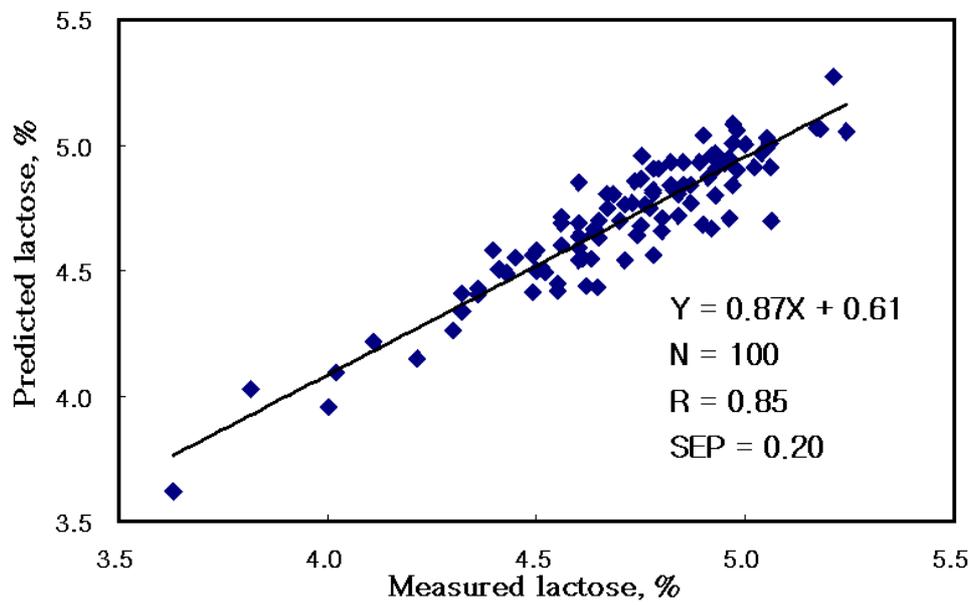


Fig. 5-5 Prediction of lactose by raw milk using 1400 ~ 1600 nm.

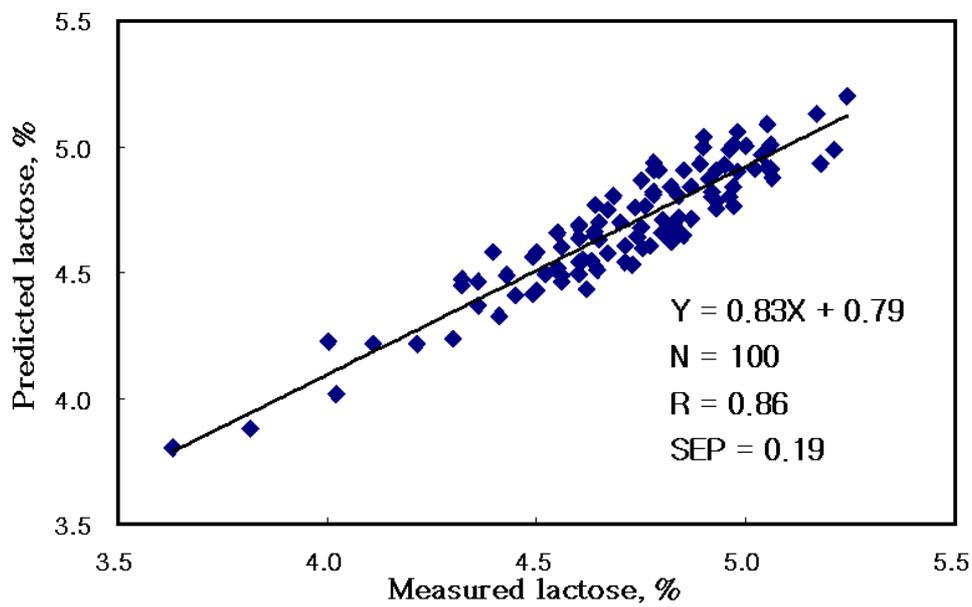


Fig. 5-6 Prediction of lactose by milk with Resazurin using 1400 ~ 1600 nm.

총고형분의 경우 검증 결과는 표 5-9와 같이 Methyl red를 원유에 첨가한 경우 400 ~ 2100 nm와 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수가 모두 0.92, 검증부 오차가 각각 0.16, 0.18로 나타났다. Methylene blue와 Amido black을 각각 첨가한 경우 전체 영역에서 검증부 상관계수가 각각 0.91, 0.90, 검증부 오차가 0.16, 0.17로 나타났다. 원유에 시약 처리를 하지 않은 경우 그림 5-7과 같이 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수와 검증부 오차가 각각 0.95, 0.14로 나타났으며, Resazurin의 경우 그림 5-8과 같이 1400 ~ 1600 nm에서 검증부 상관계수가 0.95, 검증부 오차가 0.13으로 나타나 비교적 좋은 검증력을 보이고 있다.

Table 5-9 PLS results of prediction for TS model

Total solids	Prediction		
	N	R	SEP
Raw	100	0.89	0.18
		0.62	0.32
		0.95	0.14
		0.67	0.30
Methyl red	100	0.92	0.16
		0.53	0.35
		0.92	0.18
		0.57	0.34
Methylene blue	100	0.91	0.16
		0.72	0.27
		0.86	0.19
		0.69	0.29
Resazurin	100	0.94	0.14
		0.62	0.32
		0.95	0.13
		0.75	0.26
Amido black	100	0.90	0.17
		0.55	0.35
		0.84	0.21
		0.68	0.29

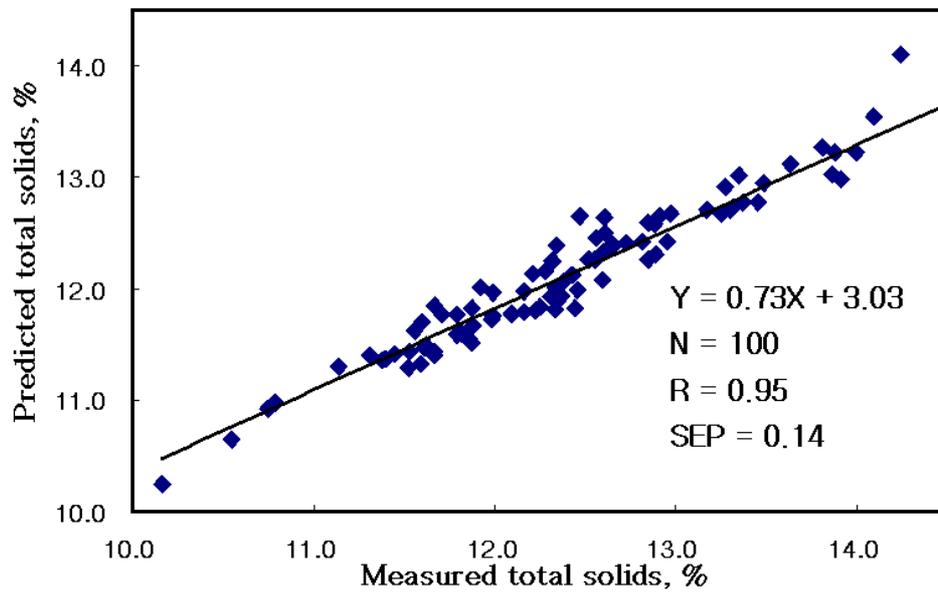


Fig. 5-7 Prediction of TS by raw milk using 1400 ~ 1600 nm.

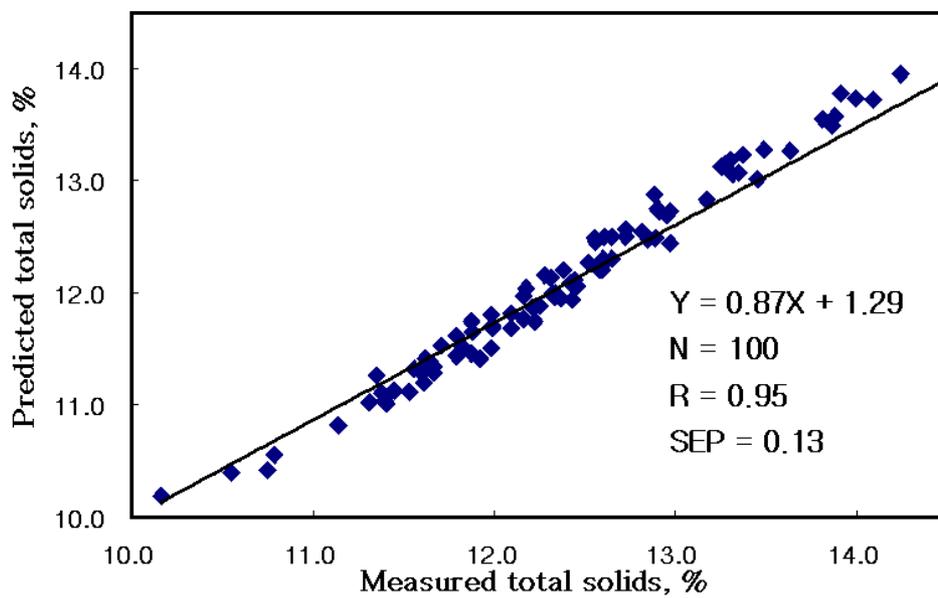


Fig. 5-8 Prediction of TS by milk with Resazurin using 1400 ~ 1600 nm.

가시광선/근적외선 스펙트럼을 이용하여 첨가시약에 대한 원유의 성분조성 측정 알고리즘을 개발한 결과, 시약을 첨가하지 않는 경우와 Resazurin 시약을 반응시약으로 사용한 경우가 가장 좋은 상관관계를 보였으며, 특히 근적외선 영역의 1,400 ~ 1,600 nm에서 가장 좋은 상관관계를 보이고 있어 근적외선 영역을 원유의 성분조성 예측을 위한 적정 파장으로 선정하였다. 또한 유당 예측모델 검증력이 다소 낮아 품질판정 시스템의 신뢰성을 높이기 위해 다양한 신호처리 방법 및 알고리즘의 적용이 필요할 것으로 판단된다.

원유의 체세포수와 성분조성 측정을 위한 전처리 기술과 측정 알고리즘을 개발한 결과, 체세포수의 경우 Resazurin과 Amido black을 첨가했을 때, 성분조성의 경우 시약을 첨가하지 않았을 때와 Resazurin을 첨가했을 때 가장 좋은 상관관계를 보였다. 체세포수의 경우 Resazurin의 검증력이 Amido black보다는 다소 낮게 나타났으나 성분조성과의 연계성과 알고리즘의 최적화를 위해 본 연구에서는 휴대용 원유의 품질판정 시스템 개발 시 원유시료에 첨가하는 반응 시약으로 Resazurin을 선정하였다.

제 6 절 원유의 휴대용 품질판정 시스템 개발

1. 원유의 휴대용 품질판정 시스템 시작품 제작

원유의 휴대용 품질판정 시스템은 그림 6-1과 같이 현장에서 실시간 원유의 품질측정을 위해 가로 42 cm, 세로 25 cm, 높이 30 cm의 케이스를 이용하여 운반 및 이동이 용이하도록 제작하였다. 사용자가 시스템의 전원 버튼을 작동시키게 되면 윈도우 시작과 함께 LCD 화면에 휴대용 품질판정 시스템의 작동을 위한 프로그램이 실행되며, 사용자는 LCD 화면을 직접 터치하여 현장에서 실시간 우유의 품질을 측정할 수 있다.

또한 현장에서 실시간 원유의 품질측정을 위해 휴대가 가능하도록 리튬-이온 방식의 배터리 셀을 사용하였으며, 90 ~ 250 V의 교류를 이용하여 충전이 가능하며 연속적으로 현장에서 약 6시간 정도의 품질측정이 가능하도록 설계하였다.



Fig. 6-1 Real time portable quality evaluation system of cow's milk.

휴대용 품질관정 시스템의 전체적인 개략도는 그림 6-2와 같이 현장에서 휴대용 측정을 위한 전원장치, 원유와 반응 시약의 공급, 혼합, 온도 제어를 위한 전처리 장치, 품질측정을 위한 광원, 샘플홀더, 검출장치와 전체 시스템 제어를 위한 임베디드 장치로 구성하였다.

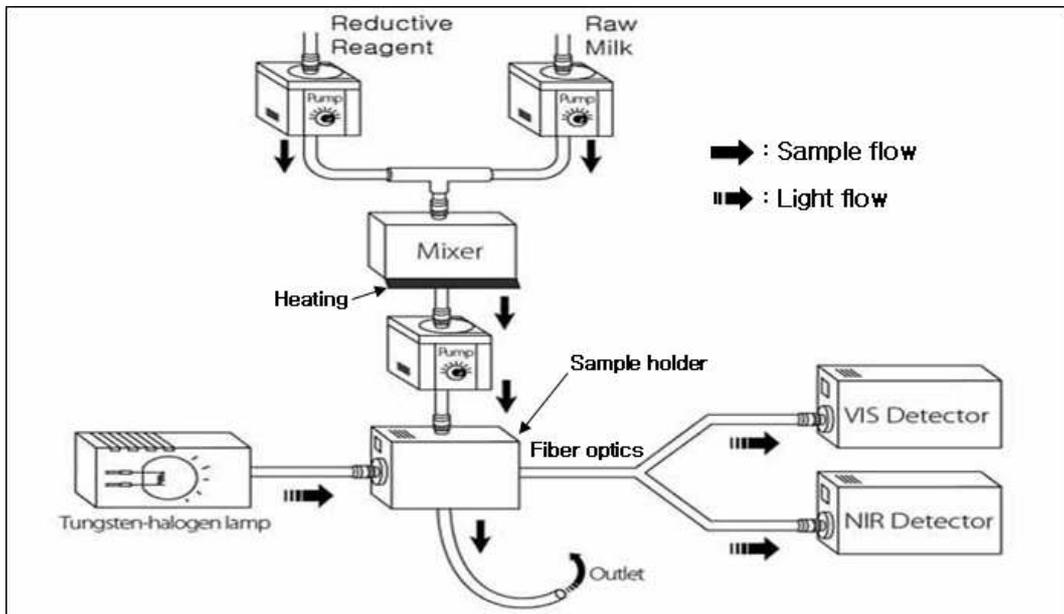


Fig. 6-2 Schematic diagram of portable quality evaluation system of cow's milk.

가. 전처리 장치

원유의 휴대용 품질판정 시스템의 전처리 장치는 일정한 양의 원유와 반응 시약을 자동으로 공급하는 시료공급 장치, 원유와 반응 시약을 균일하게 혼합하는 시료 혼합 장치, 혼합된 시료의 온도를 일정하게 유지하는 온도제어 장치로 구성하였다.

1) 시료공급 장치

스펙트럼 측정으로 원유 체세포수의 효과적인 분석을 위해 원유에 시약을 첨가해주어 일정비율을 유지해야하며, 원유와 시약의 일정량을 자동으로 공급하기 위해 그림 6-3과 같이 유량 조절이 가능한 유량펌프(RP-M50, Furue, Japan)를 사용하였다. 유량 펌프의 사양은 표 6-1과 같이 공급전원(6 ~ 12 V)에 따라 공급 속도(mL/min)의 조절이 가능하고 디지털 신호의 입력에 따라 공급 및 정지가 가능하며, 우유와 시약은 내경 2 mm의 실리콘 튜브를 통과하여 유량펌프에 의해 자동으로 혼합용기에 공급된다.

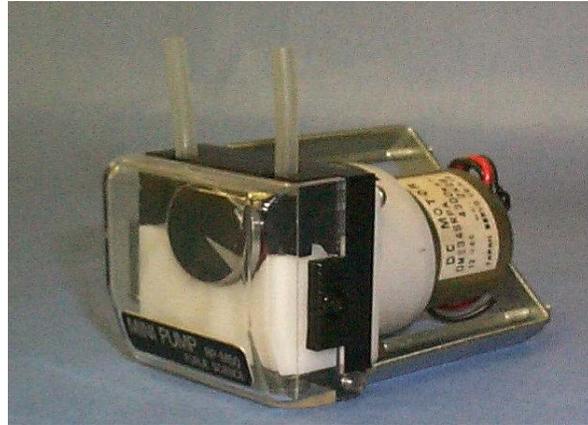


Fig. 6-3 Flow pump for sample supply.

Table 6-1 Specifications of flow pump for sample supply

Items	Specification	
Flow pump	Supplied voltage	DC 6 ~ 12 V
	Decelerate ratio	1/100
	Flow rate	0.7 ~ 7 mL/min
Tube	ID×OD	φ2.0 × φ4.0 mm

2) 시료 혼합 장치

공급된 원유와 시약의 반응을 위해서는 원유와 시약을 균일하게 혼합해 주어야 하며, 본 연구에서는 원유와 시약의 혼합 시료의 양이 적은 것을 고려하여 그림 6-4와 같이 직경 50 mm 팬을 혼합용기 위에 장착하고 팬의 회전력을 이용하여 원유와 시약을 혼합하였다. 이때 팬의 회전속도는 표 6-2와 같이 공급전원(6 ~ 12 V)을 이용하여 조절하였다.



Fig. 6-4 Fan motor for sample mixing.

Table 6-2 Specifications of fan motor for sample mixing

Items	Specification	
Fan motor	Diameter	50 mm
	Speed	1,200 ~ 6,500 rpm

3) 온도제어 장치

원유의 성분은 온도에 따라 민감하게 반응하므로 스펙트럼 측정 시 혼합된 원유와 시약의 온도에 따른 오차를 줄이기 위해서는 일정한 온도를 유지하는 것이 필요하다. 본 연구에서는 시료의 온도제어를 위해 혼합용기에 그림 6-5와 같은 열전소자 (Thermoelectric)와 측온저항체(Resistance temperature detector, RTD)를 장착하였으며, 온도제어 장치는 착유된 원유의 온도범위(30 ~ 40 °C)를 고려하여 혼합 시료가 40 °C로 유지되도록 측온저항체 온도를 입력으로 하는 비례적분미분(PID) 제어를 이용하여 열전소자의 작동을 제어하였다. 온도제어에 사용된 열전소자와 측온저항체는 표 6-3과 같다.



Fig. 6-5 Thermoelectric(left) and Pt-100 RTD(right).

Table 6-3 Specifications of Thermoelectric and Pt-100 RTD for sample temperature control

Items	Specification
Thermoelectric	$V_{\max}, I_{\max}, \Delta T_{\max}$ 5.6 V, 5 A, 67 °C
	Resistance 0.83 ~ 0.91 Ω
RTD(Pt-100)	Operating temperature 0 ~ 300 °C
	Resistance at 0 °C 100±0.12 Ω

4) PID 제어

제어 변수와 기준 입력 사이의 오차에 근거하여 계통의 출력이 기준 전압을 유지하도록 하는 피드백 제어의 일종으로, 비례(Proportional) 제어와 비례 적분(Proportional-integral) 제어, 비례 미분(Proportional-derivative) 제어를 조합한 것이다. 비례 제어(P)는 기준 신호와 현재 신호 사이의 오차 신호에 적당한 비례 상수 이득을 곱해서 제어 신호를 만든다. 비례 적분 제어(I)는 오차 신호를 적분하여 제어 신호를 만드는 적분 제어를 비례 제어에 병렬로 연결해 사용한다. 비례 미분 제어(D)는 오차 신호를 미분하여 제어 신호를 만드는 미분 제어를 비례 제어에 병렬로 연결하여 사용한다. 자동화 시스템의 반응을 측정할 뿐 아니라 반응을 제어할 때도 사용되는 제어 방법이며, 온도, 압력, 유량, 회전 속도 등을 제어하기 위해 쓰이며, 과도 상태의 특성 등 PI나 PD 제어의 문제점들을 개선할 수 있다.

가) PID 제어기의 Ziegler-Nichols 튜닝규칙

Ziegler와 Nichols는 주어진 플랜트의 과도응답특성에 근거하여 비례이득 K_p , 적분 시간 T_i , 그리고 미분시간 T_d 의 값을 결정하는 규칙을 제안하였다. 이러한 PID 제어기의 파라미터 결정, 즉 PID 제어기의 튜닝은 현장 엔지니어들에 의해 플랜트에 대한 실험을 통하여 이루어진다. Ziegler-Nichols 튜닝규칙에는 제1방법과 제2방법의 두 가지가 있다.

① 제 1방법

제 1방법에서는 그림 6-6에서와 같이 단위 계단입력에 대한 플랜트의 응답을 실험에 의하여 얻는다. 플랜트가 적분기나 주요 폐루프 극점을 갖고 있지 않다면 단위계단응답 곡선은 그림 6-7과 같은 S형 곡선이 된다. 이 방법은 계단응답이 S형 곡선이 될 때만 사용할 수 있다. 이러한 계단응답 곡선은 실험이나 플랜트에 대한 동적 시뮬레이션을 통하여 얻을 수 있다.

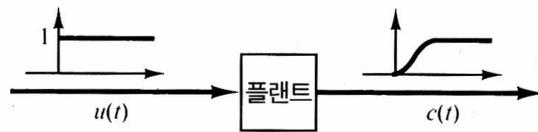


Fig. 6-6 Step stair response of plant.

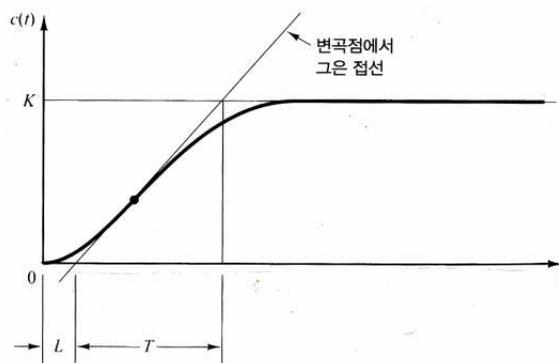


Fig. 6-7 Response curve of S-type.

S형 곡선의 특성은 지연시간 L과 시정수 T로 표현될 수 있다. 지연시간과 시정수는 그림 6-7에 표시한 것처럼 S형 곡선의 변곡점에서 그은 접선과 시간축 및 $c(t) = K$ 인 선과의 교점을 구함으로써 결정된다. 그러면 전달함수 $C(s)/U(s)$ 를 식 (6-1)과 같은 운반지연을 갖는 1차 시스템으로 근사화할 수 있다.

$$\frac{C(s)}{U(s)} = \frac{Ke^{-Ls}}{Ts+1} \dots\dots\dots \text{식 (6-1)}$$

Ziegler와 Nichols는 표 6-4의 공식에 따라 K_p , T_i , T_d 값을 결정하는 규칙을 제안하였다.

Table 6-4 Ziegler-Nichols's tuning first rule

제어기의 형태	K_p	T_i	T_d
P	$\frac{T}{L}$	∞	0
PI	$0.9\frac{T}{L}$	$\frac{L}{0.3}$	0
PID	$1.2\frac{T}{L}$	$0.2L$	$0.5L$

Ziegler-Nichols 제 1방법의 규칙에 의하여 튜닝된 PID 제어기는 식 (6-2)와 같다.

$$\begin{aligned} G_c(s) &= K_p \left(1 + \frac{1}{T_i s} + T_d s \right) \\ &= 1.2 \frac{T}{L} \left(1 + \frac{1}{2Ls} + 0.5Ls \right) \\ &= 0.6T \frac{\left(s + \frac{1}{L} \right)^2}{s} \dots\dots\dots \text{식 (6-2)} \end{aligned}$$

따라서 이 PID 제어기는 원점에 극점을, $s = -1/L$ 에 2중 영점을 갖는다.

② 제 2방법

제 2방법에서는 먼저 $T_i = \infty$, $T_d = 0$ 으로 설정한다. 그림 6-8과 같이 비례제어 동작만을 사용하여, K_p 값을 0에서부터 증가시키면서 출력이 최초로 지속적인 진동을 하게 되는 임계값 K_{cr} 을 찾는다. 이렇게 임계이득 K_{cr} 과 이에 해당하는 주기 P_{cr} 을 그림 6-9와 같이 실험적으로 구할 수 있다. Ziegler와 Nichols는 표 6-5의 공식에 따라 K_p , T_i , T_d 값을 결정하는 규칙을 제안하였다.

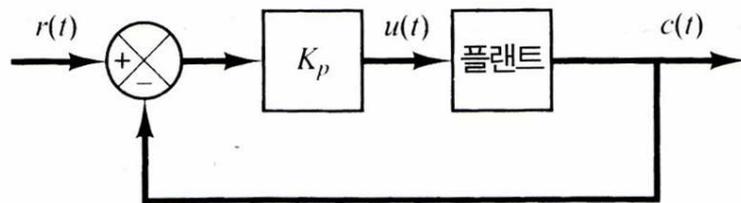


Fig. 6-8 Closed-loop system with proportional controller.

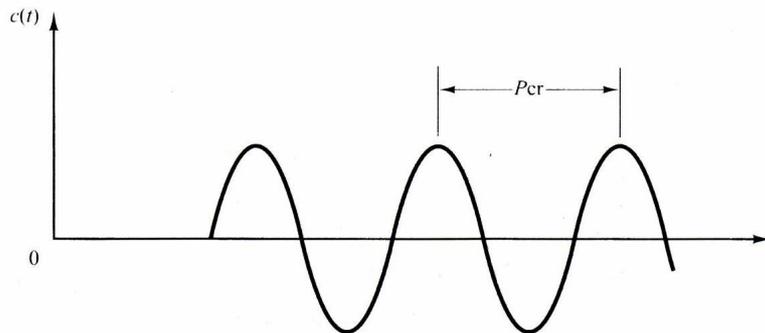


Fig. 6-9 Continuous vibration with P_{cr} cycle.

Table 6-5 Ziegler-Nichols's tuning second rule

제어기의 형태	K_p	T_i	T_d
P	$0.5K_{cr}$	∞	0
PI	$0.45K_{cr}$	$\frac{1}{1.2}P_{cr}$	0
PID	$0.6K_{cr}$	$0.5P_{cr}$	$0.125P_{cr}$

Ziegler-Nichols 제 2방법의 규칙에 의하여 튜닝된 PID 제어기는 식 (6-3)과 같다.

$$\begin{aligned}
 G_c(s) &= K_p \left(1 + \frac{1}{T_i s} + T_d s \right) \\
 &= 0.6K_{cr} \left(1 + \frac{1}{0.5P_{cr}s} + 0.125P_{cr}s \right) \\
 &= 0.075K_{cr}P_{cr} \frac{\left(s + \frac{4}{P_{cr}} \right)^2}{s} \dots\dots\dots \text{식 (6-3)}
 \end{aligned}$$

따라서 PID 제어기는 원점에 극점을, $s = 14/P_{cr}$ 에 2중 영점을 갖는다.

시스템의 전달함수와 같은 수학적 모델이 주어져 있다면, 근궤적법을 이용하여 임계이득 K_{cr} 과 임계주파수 ω_{cr} ($2\pi/\omega_{cr} = P_{cr}$)을 찾을 수도 있다. 즉, 이 값들은 근궤적가지와 $j\omega$ 축의 교점으로부터 얻을 수도 있다.

나. 분광모듈의 재현성 및 정확도 분석

원유 휴대용 품질판정 시스템의 분광모듈은 고성능 분광광도계를 이용한 실험결과를 기본으로 체세포수 예측을 위한 가시광선 영역의 분광모듈과 성분조성 예측을 위한 근적외선 영역의 분광모듈을 각각 선정하였다. 또한 그림 6-10과 같이 각각의 분광모듈의 재현성 및 정확도를 고성능 분광광도계와 비교·분석하였다. 광섬유 프로브

를 이용한 가시광선 분광모듈과 고성능 분광광도계를 이용하여 원유의 반사 스펙트럼을 측정된 결과 그림 6-11과 같이 350 ~ 1000 nm 영역과 850 ~ 1700 nm 영역에서 고성능 분광광도계와 유사한 패턴을 보이고 있으나 전체적인 흡광도가 낮아지는 현상을 보이는데 이것은 광섬유 프로브 사용에 따라 광량이 감소되었기 때문으로 판단된다.



Fig. 6-10 Portable VIS spectrometer(left), NIR spectrometer(middle), and laboratory VIS/NIR spectrometer(right).

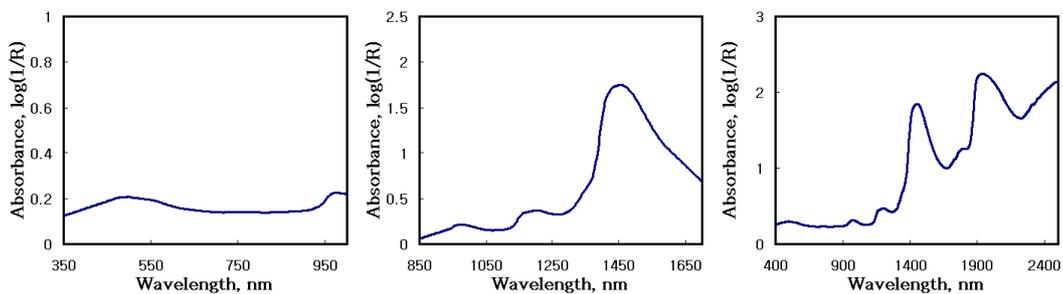


Fig. 6-11 A typical reflectance spectra of milk sample using portable VIS spectrometer(left), portable NIR spectrometer(middle), and laboratory VIS/NIR spectrometer(right).

분광모듈의 재현성 분석은 동일한 원유 시료에 대하여 가시광선 분광모듈, 근적외선 분광모듈과 고성능 분광광도계를 이용하여 각각 30회 씩 반사 스펙트럼을 반복 측정하여 표 6-6과 같이 각 파장영역에 대한 표준편차를 분석하였다. 표준편차는 가시광선 분광모듈, 근적외선 모듈을 고성능 분광광도계와 동일한 검출영역인 350 ~ 1000 nm, 850 ~ 1700 nm에 대하여 분석하였다. 각 파장영역에 대한 표준편차의 평

균은 가시광선 분광모듈이 0.0095, 고성능 분광광도계는 0.0071로 나타났으며, 근적외선 분광모듈과 고성능 분광광도계는 각각 0.0094와 0.0072로 나타나 가시광선 분광모듈과 근적외선 분광모듈의 재현성이 다소 낮게 측정되었으나 큰 차이는 없어 착유현장에서 사용하기에는 무리가 없음을 알 수 있다.

Table 6-6 Performance of portable and laboratory spectrometer

Wavelength	Items	Std. (Number = 30)		
		Max.	Avg.	Min.
350 ~ 1,000 nm	Portable	0.0151	0.0095	0.0054
	Laboratory	0.0099	0.0071	0.0046
850 ~ 1,700 nm	Portable	0.0151	0.0094	0.0054
	Laboratory	0.0098	0.0072	0.0045

다. 인터페이스 모듈을 포함한 시스템 제어부 설계 및 제작

원유 휴대용 품질관정 시스템의 제어부는 그림 6-12와 같이 시료공급 장치, 온도 제어 장치 등의 전처리부 및 분광모듈의 제어를 위한 I/O 인터페이스(USB-6009, National Instrument, USA)와 측정된 시료의 스펙트럼을 이용하여 실시간 원유의 품질측정이 가능한 임베디드 모듈(Nano-ITX, VIA, Taiwan)로 설계하였다.

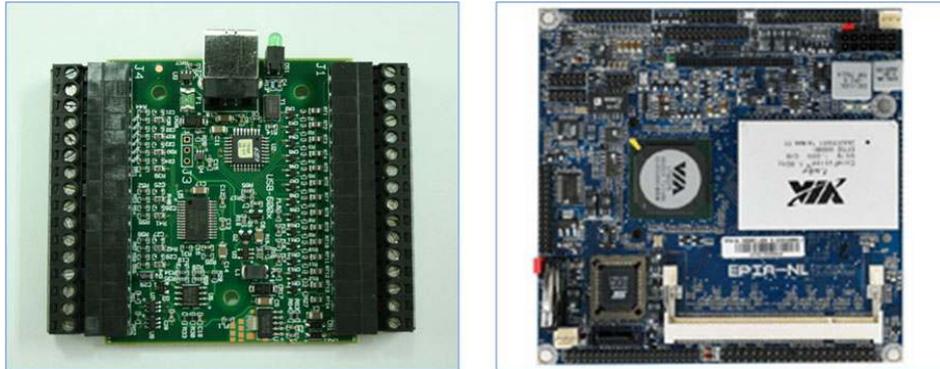


Fig. 6-12 I/O interface module(left) and embedded module(right).

I/O 인터페이스는 임베디드 모듈과 USB로 연결되어 고속의 통신이 가능하며 최대 8 채널의 아날로그 입력, 12 채널의 디지털 입/출력, 1 채널의 카운터와 아날로그 출력을 가지고 있으며, 14 bit의 분해능으로 48 k의 샘플링이 가능하다. 임베디드 모듈은 윈도우 기반의 마이크로컨트롤러를 사용하였으며, 자체적으로 USB, TCP/IP, Serial 포트를 내장하고 있어 외부와의 통신이 용이한 장점이 있다. 원유와 시약의 일정량을 제어하는 시료공급 장치의 유량펌프는 I/O 인터페이스의 디지털출력(ON/OFF)에 의하여 혼합용기에 원유와 시약을 공급하며, 혼합시료의 온도를 제어하는 온도제어 장치의 열전소자는 측온저항체의 온도를 입력 받은 I/O 인터페이스의 디지털 출력에 의해 혼합시료의 온도를 일정하게 유지한다. 또한 측정된 시료의 스펙트럼은 흡광도($\log(1/R)$)로 변환되어 RS-232C 통신으로 임베디드 모듈에 저장되며, 그 전체적인 사양은 표 6-7과 같다.

Table 6-7 Specifications of I/O interface and embedded module

Items	Specifications	
I/O interface module	Function	Analog in/out, Digital in/out, Counter-timer
	Resolution	14 bit(48 kS/s)
	Input range	-10 ~ +10
Embedded controller	Microprocessor	VIA Luke CoreFusion TM processor
	I/O Connectors	USB, RS-232C, TCP/IP
	OS	Microsoft windows xp

라. 분광장치의 설계 및 제작

품질 측정을 위한 분광 장치는 광원, 샘플 셀, 검출 장치 및 광 프로브로 구성하였으며, 전체적인 사양은 표 6-8과 같이 구성하였다.

Table 6-8 Specifications of portable quality evaluation system

Items	Specifications	
Light source	Lamp	Tungsten-halogen
	Spectral range	360 ~ 2000 nm
	Power	12 VDC / 6.5 watts
Fiber-optics	Fiber type	Singe fiber, 300 μ m diameter
Sample cell & holder	Flow cell	1.5 mm pass length
VIS Detector	Wavelength	350 ~ 1000 nm
	Data interval	0.18 nm
	Detector	Linear CCD array 3648 pixels
NIR Detector	Wavelength	850 ~ 1700 nm
	Data interval	1.7 nm
	Detector	InGaAs linear array 512 pixels

광원 장치는 그림 6-13과 같이 가시광선/근적외선 영역에서 안정적인 광 특성을 갖는 6.5 watts의 텅스텐-할로겐 램프를 사용하였으며, 자체적으로 필터를 교환하여 광량의 조절이 가능하도록 설계하였다. 시료의 스펙트럼 측정을 위한 샘플 셀은 원유의 투과 스펙트럼 측정을 위하여 상·하로 원유 시료의 이동이 가능한 Flow 셀로 구성하였으며, 좌·우 부분은 시료의 광투과성을 높이기 위해 석영으로 제작하였다.

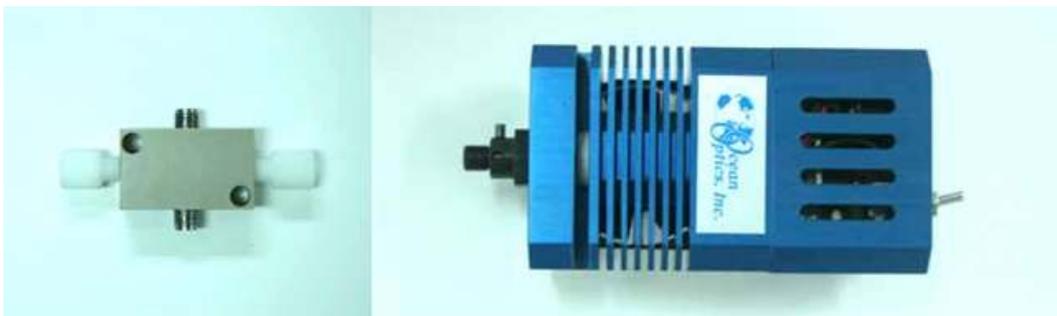


Fig. 6-13 Sample holder(left) and light source(right) for spectra measurements.

광원에서 조사된 빛과 원유 시료를 투과한 빛의 이동 경로인 광프로브는 직경이 300 μm 인 것을 사용하여 빛의 이동이 용이하도록 하였으며, 원유 시료를 투과된 빛은 Y형 광프로브를 이용하여 가시광선 영역과 근적외선 영역의 검출기에 각각 전달하도록 설계하였다.

검출장치는 원유의 체세포수 측정을 위한 가시광선 영역의 검출장치와 성분조성 측정을 위한 근적외선의 검출장치를 각각 사용하였다. 가시광선 영역의 검출장치는 CCD 어레이 타입으로 350 ~ 1,000 nm 영역을 0.18 nm 간격으로 측정이 가능한 스펙트로미터(USB4000-VIS-NIR, Ocean Optics, USA)를 사용하였다. 근적외선 영역의 검출장치는 InGaAs 어레이 타입으로 850 ~ 1,700 nm 영역을 1.7 nm 간격으로 측정이 가능한 스펙트로미터(NIR512, Ocean Optics, USA)를 사용하였다. 광원부에서 나와 시료와 광섬유 프로브를 통과한 빛(투과 또는 반사)은 그림 6-14와 같이 각 분광기에 내장된 초소형 오목 회절발(Grating)에 의해 파장대별로 분리되어 다중채널 CCD, InGaAs 검출기 및 증폭회로에 의해 전기적인 신호로 변환되며 각각의 스펙트

로미터는 USB 인터페이스를 통하여 가시광선 영역과 근적외선 영역의 원유 스펙트럼을 시스템 제어 장치에 전달하게 된다.

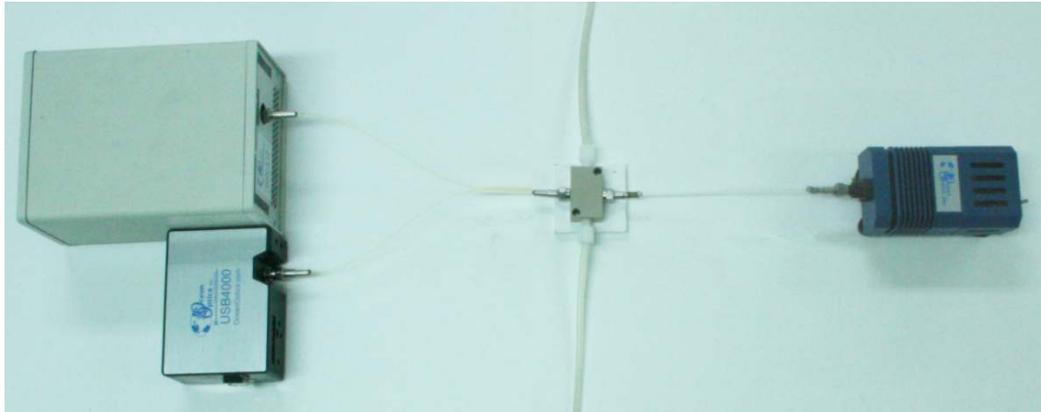


Fig. 6-14 VIS detector and NIR detector with light source and sample holder.

전원공급부는 현장에서 실시간 원유의 품질측정을 위해 휴대가 가능하도록 리튬-이온 방식의 배터리 셀을 사용하였으며, 90 ~ 250 V의 교류를 이용하여 충전이 가능하며 연속적으로 현장에서 약 6시간 정도의 품질측정이 가능하도록 설계하였다.

2. 원유의 휴대용 품질판정 시스템의 제어 알고리즘 및 품질판정 프로그램 개발

가. 시료공급, 시료 혼합, 온도제어 알고리즘 개발

1) 시료의 공급량 제어

제작된 원유의 휴대용 품질판정 시스템의 시료공급 성능을 평가하기 위해 증류수를 사용하여 공급 속도를 변화시키면서 각각의 펌프를 통해 토출된 증류수의 체적을 5회 반복 측정하였다. 이때, 각각의 공급량은 원유와 시약의 혼합비(20:1)와 샘플홀더의 체적을 고려하여 5 mL과 0.25 mL로 선정하였다(최 등, 2006). 증류수의 공급량은 유량 펌프의 공급 전압을 6 V에서 12 V까지 1 V 단위로 변화시켜 유량 2.1 ~ 6.1 mL/min의 범위에서 각각의 토출된 증류수의 무게를 측정하였고, 증류수의 밀도(0.998 g/mL)를 이용하여 환산하는 방법으로 증류수의 체적을 계산하였다. 측정된 증류수의 체적은 선정된 공급량과 통계분석 프로그램인 SAS(9.1, SAS Institute, USA)를 이용

하여 유의수준 1 %에서 t-검정을 수행하였다.

2) 시료의 혼합 상태 제어

원유의 휴대용 품질관정 시스템의 시료 혼합 성능의 평가를 위해 원유 5 mL과 시약 0.25 mL를 사용하여 혼합용기에 공급한 후, 수동으로 흔들여 섞는 방법, 팬을 사용하지 않은 방법, 전처리장치의 팬을 2,150 rpm(6 V), 2,870 rpm(8 V), 3,580 rpm(10 V), 4,300 rpm(12 V), 5,020 rpm(14 V)로 회전 시키는 방법에 대하여 각각 5 분간 시료를 혼합하였다. 이때, 원유와 시약의 온도는 40 °C로 유지하였으며, 외기 온도는 22 °C로 측정되었다. 첨가된 시약은 원유의 체세포수와 성분조성 예측모델 개발에 사용된 시약 중 Reasazurin 시약을 사용하였으며, 원유와 시약을 혼합한 후에 혼합된 시료의 5개 지점에 대해 동일한 양을 마이크로 피펫으로 수집하여 액체 색차계(JS555, Color techno system, Japan)로 Lab값을 5회 반복 측정하였다. 또한 현재 상용화되어 사용되고 있는 교반 장치와의 혼합 성능을 비교·평가하기 위해 전자식 교반 장치의 Lab값을 기준(Reference)으로 하여 혼합 방법에 따른 각각의 Lab값 차이를 비교하였다. 혼합 성능 평가는 식 (6-4)와 같이 색차값(Color difference)을 이용하였으며, 통계 분석 프로그램인 SAS로 유의수준 1%에서 일원분산분석(One-way ANOVA)과 최소 유의차(Least Significant Difference, LSD) 검정을 수행하였다.

$$\Delta E = \sqrt{((L - L')^2 + (a - a')^2 + (b - b')^2)} \dots\dots\dots \text{식 (6-4)}$$

ΔE : 전자식 교반장치로 혼합한 방법과의 색차값

L, a, b : 혼합 방법에 따른 Lab값

L', a', b' : 기준 방법의 Lab값

3) 온도제어

제작된 시스템의 온도제어 성능은 외기 온도와 혼합된 시료 5.25 mL의 온도를 변화시키면서 설정 온도 40 °C에 도달하는데 필요한 정착시간(Setting time)과 시료의 초기 온도를 측정하여 분석하였다. 시료의 초기 온도와 외기 온도를 변화하며 시료의 온도가 0.5 °C의 오차범위를 유지하는 상태를 정착시간으로 측정하였으며, 시료가 설

정 온도(40 °C)에 도달한 후 30 초 간격으로 5 분간 시료의 온도를 측정하여 설정 온도 40 °C와의 온도차이(RMSE)를 비교·분석하였다. 시료의 초기 온도는 우유의 저장 조건을 고려하여 냉장보관(4 °C), 상온(25 °C), 착유 직후(35 °C)의 3수준으로 설정하였으며, 외기 온도는 17 °C(외부 온도), 22 °C(실내 온도), 31 °C(난방 상태의 온도)로 변화하며 각각 실험을 수행하였다.

나. 임베디드 시스템을 이용한 시스템 제어 장치

제작된 원유의 휴대용 품질판정 시스템의 임베디드 모듈을 통해 원유의 시료공급, 시료 혼합, 온도제어를 하여 그 성능을 평가하였다. 시료공급의 경우 표 6-9와 같이 유량펌프 속도를 2.1 ~ 6.1 mL/min로 변화하며 시료 셀에 우유용 펌프로 공급한 결과 펌프의 속도에 관계없이 4.995 ~ 5.005 mL를 공급하여 유의수준 1 %이내에서 5 mL의 공급량이 정확하게 제어되고 있음을 알 수 있다. 또한 시약용 펌프도 공급 속도에 관계없이 0.249 ~ 0.253 mL가 공급하였으며, 혼합비도 19.8 ~ 20.1 : 1로 유지되어 시료의 공급이 설정된 수준으로 제어되고 있음을 알 수 있다.

Table 6-9 Results of volume control

Flow rate (mL/min)	5 mL (milk)		0.25 mL (reaction reagent)		Mixed ratio (20 : 1)
	Avg.(mL)	Std.(mL)	Avg.(mL)	Std.(mL)	
2.1	4.997	0.0062	0.250	0.0034	20.0 : 1
2.6	4.998	0.0079	0.250	0.0039	20.0 : 1
3.2	4.999	0.0066	0.250	0.0035	20.0 : 1
4.2	4.997	0.0078	0.249	0.0030	20.1 : 1
4.7	5.003	0.0063	0.253	0.0036	19.8 : 1
5.4	4.995	0.0071	0.250	0.0047	20.0 : 1
6.1	5.005	0.0059	0.249	0.0039	20.1 : 1

표 6-10은 제작된 시스템의 시료 혼합 성능을 평가하여 기준 방법과 비교하기 위해 시료 셀에 공급된 우유 5 mL과 시약 0.25 mL를 수동으로 흔들어서 섞는 방법, 팬을 사

용하지 않는 경우, 시스템의 팬속도를 각각 2,150, 2,870, 3,580, 4,300, 5,020 rpm로 5분간 작동하는 방법으로 혼합한 후 Lab값을 측정하여 기준 방법인 전자식 교반장치와의 색차값을 인자로 최소유의차 검정을 수행한 결과를 보여주고 있다.

일반적인 수동으로 흔들어 섞는 경우, 상용화된 장치를 이용한 방법과의 색차는 평균 0.20로 측정되어 동일 시료 내에서도 혼합 상태가 차이가 있음을 알 수 있다. 팬을 사용하지 않은 경우의 색차는 평균 8.77, 팬의 속도를 2,150, 2,870, 3,580, 4,300, 5,020 rpm으로 작동하여 혼합한 경우의 색차는 각각 평균 14.11, 10.60, 7.93, 0.75, 0.41로 나타났다. 유의수준 1 %에서 수동으로 흔들어 섞는 방법, 4300 rpm으로 혼합하는 방법, 5,020 rpm으로 혼합하는 방법의 색차는 차이가 없으며, 기준 방법과 유사함을 보여주고 있다. 팬속도를 4,300 rpm 이상으로 작동하면 시료가 균일하게 혼합됨을 알 수 있다. 2,150, 2,870, 3,580 rpm으로 혼합한 경우의 색차는 기준 방법과 분명한 차이를 보이고 있으며, 이것은 팬의 회전 속도가 충분하지 못하여 시료가 균일하게 혼합되고 있지 못한 것으로 판단된다.

Table 6-10 Results of color differences with different mixing methods

Mixing method	Color difference(ΔE)			F-value (Pr>F)
	Avg.	Std.	LSD	
With manual	0.20	0.13	a	12.16 (<.0001)
Without fan control	8.77	5.40	b	
With fan speed of 2,150 rpm	14.11	4.93	c	
With fan speed of 2,870 rpm	10.60	3.72	c	
With fan speed of 3,580 rpm	7.93	2.85	b	
With fan speed of 4,300 rpm	0.75	0.15	a	
With fan speed of 5,020 rpm	0.74	0.14	a	

시스템의 온도제어 성능을 평가하기 위해 외기 온도(17, 22, 31 °C)와 시료의 초기 온도(4, 25, 35 °C)를 변화하며 설정온도에 도달하는데 필요한 정착시간과 설정온도

40 °C와 온도차이(RMSE)를 비교한 결과는 표 6-11과 같다. 외기 온도가 17 °C인 경우의 시료의 초기 온도에 따른 정착시간은 각각 11.5, 11.0, 9.56 분으로 측정되었으며, RMSE는 각각 0.24, 0.06, 0.08 °C로 측정되어 외기 온도 17 °C에서 설정온도에 도달하는 시간은 크게 나타났으나, 설정온도를 유지하고 있음을 알 수 있다. 외기 온도가 22 °C인 경우의 시료의 초기 온도에 따른 정착시간은 각각 10.5, 9.0, 7.5 분으로 측정되었으며, RMSE는 각각 0.31, 0.10, 0.01 °C로 측정되었으며, 외기 온도가 31 °C인 경우의 시료의 초기 온도에 따른 정착시간은 각각 6.5, 5.5, 5.0 분으로 측정되었으며, RMSE는 각각 0.28, 0.15, 0.06 °C로 측정되었다.

시스템의 온도 제어 성능은 외기 온도와 시료의 초기 온도가 낮을수록 정착시간이 길어져 시료의 측정을 위하여 대기하는 시간이 증가하고 있다. 그림 6-15와 같이 외기 온도 17 °C에서 정착시간이 11.5 분으로 가장 많은 시간이 소요 되었으나, 이는 근적외선 광원이 안정화되는데 걸리는 시간인 30 ~ 40 분(Choi 등, 2001)보다 짧은 시간이며, 실험 시 광원을 켜지 않았기 때문에 향후 휴대용 우유 품질판정 시스템의 온도 제어는 무리가 없을 것으로 생각된다.

Table 6-11 Results of temperature control tests of preprocessor

Ambient temperature	Factor	Mixture temperature		
		4 °C	25 °C	35 °C
17 °C	Setting time(min)	11.5	11.0	9.5
	RMSE(°C)	0.24	0.06	0.08
22 °C	Setting time(min)	10.5	9.0	7.5
	RMSE(°C)	0.31	0.10	0.01
31 °C	Setting time(min)	6.5	5.5	5.0
	RMSE(°C)	0.28	0.15	0.06

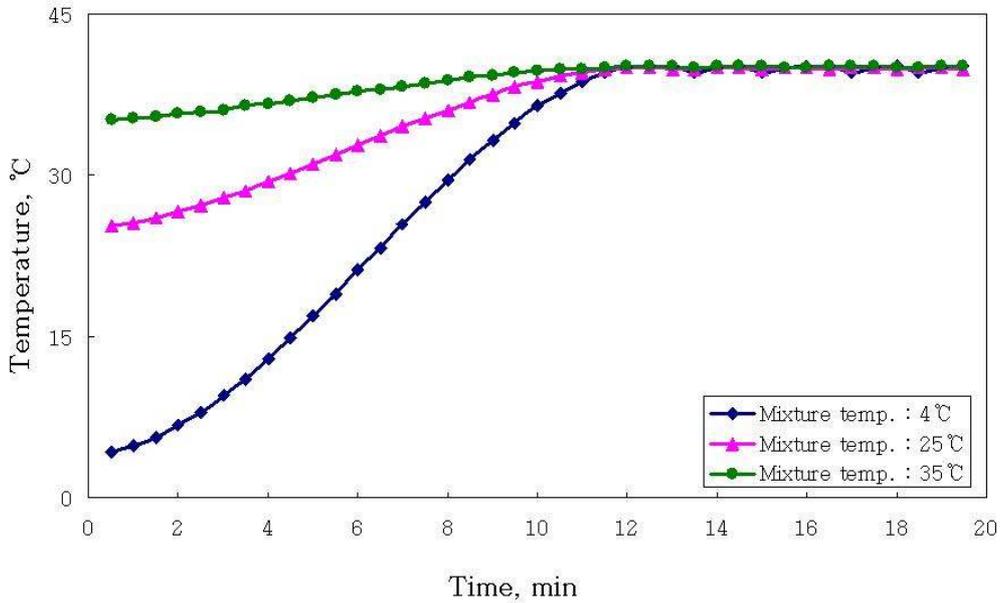


Fig. 6-15 Results of temperature control tests at ambient temperature of 17 °C.

본 연구에서는 개발된 원유의 휴대용 품질판정 시스템의 시료공급, 시료 혼합, 온도 제어의 성능을 평가하였으며, 향후 이 결과는 시스템의 제어 프로그램 개발에 이용하였다. 시료공급은 유량펌프의 속도에 관계없이 일정량이 제어되어 측정 시간과 시스템 전원부의 공급 전압을 고려하여 6.1 mL/min으로 선정하였다. 시료 혼합의 경우 4,300 rpm 이상에서 기준방법과 동일한 혼합 성능을 보여 전원부의 전압을 고려하여 5,020 rpm으로 선정하였으며, 온도제어는 외기 온도의 영향을 받지만 시스템 운영에 큰 무리가 없을 것으로 판단된다.

다. 시스템 제어 알고리즘 및 품질판정 프로그램

1) 시스템 제어 알고리즘

시스템 제어 알고리즘은 시료공급 장치, 혼합장치, 온도제어 장치, 스펙트럼 측정 장치를 포함한 전체 시스템을 제어하도록 개발하였으며, 그림 6-16과 같은 제어 프로그램을 계측 및 제어 프로그램의 개발에 용이한 Labview version 8.2(National Instrument, USA)를 이용하여 개발하였다.

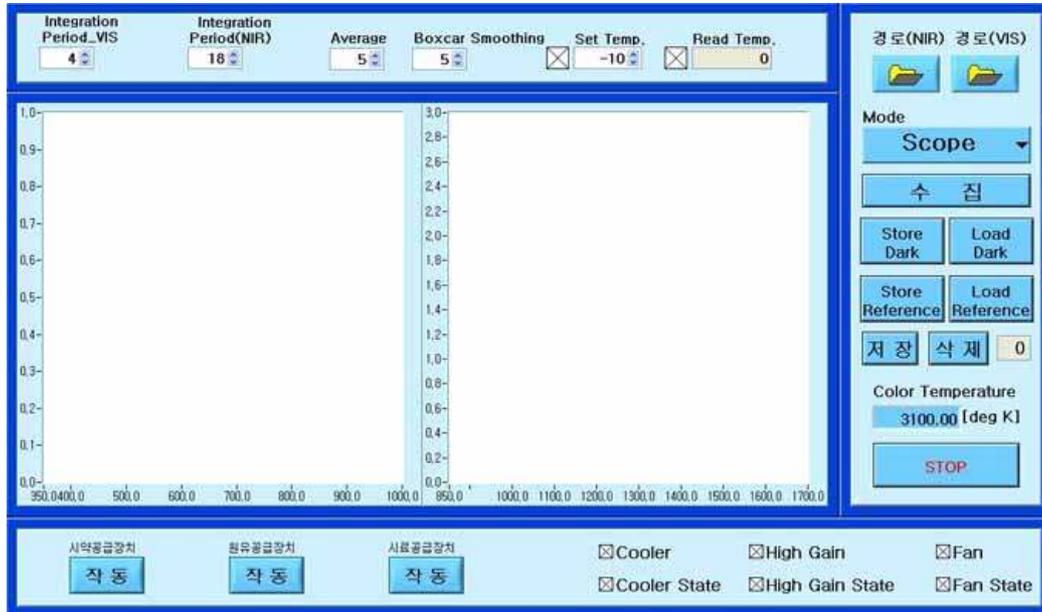


Fig. 6-16 Control program of real time portable quality evaluation system of cow's milk.

원유의 실시간 휴대용 품질판정 시스템은 사용자가 시스템의 전원을 켜면 전원장치에 의해 시스템의 각 부위에 전원이 공급되며, 화면 표시 장치에 Initializing이라는 메시지와 함께 광원 및 온도제어 장치의 예열을 위해 10 분이 필요하다는 메시지가 출력된다. 시스템의 예열 후, 제어 프로그램의 원유 공급 버튼과 시약 공급 버튼을 선택하여 각 유량펌프에 의해 6.1 mL/min 속도로 원유와 반응 시약을 혼합 셀에 공급하게 된다. 혼합 셀에 공급된 원유와 시약은 팬에 의해 5,020 rpm의 속도로 5 분간 혼합되어 진다. 이때 온도제어 장치는 혼합 셀에 부착된 측온저항체의 온도를 입력으로 하는 PID 제어 알고리즘에 의해 열전소자를 On/off하여 적정 반응온도인 40 °C를 유지하도록 개발하였다. 혼합 시료는 반응시간 5분 동안 반응한 후 사용자는 시료공급 버튼을 이용하여 혼합된 시료를 Flow 셀에 공급할 수 있으며, 시료의 공급 후에는 스펙트럼 측정을 위해 시료 공급 펌프가 정지되고 시료의 스펙트럼을 측정하게 된다. 시료의 스펙트럼 측정은 제어 프로그램의 데이터 수집 버튼을 이용하여 측정할 수 있

으며, 가시광선/근적외선 스펙트로미터에 의해 검출된 광학적 특성 신호는 스펙트로미터의 자체적인 인터페이스 모듈을 통해 전기적 신호로 변환되어 시스템 제어 장치인 임베디드 장치에서 흡광도로 변환되어 저장된다. 스펙트럼 측정이 끝난 시료는 시료 공급버튼으로 시료 공급 튜브의 시료공급 펌프를 작동하여 배출되며, 하나의 시료가 측정되면 원유 공급라인에 물을 공급하여 실리콘 튜브, 혼합 셀, 샘플 홀더를 세척한 후 다음 시료도 동일한 방법으로 측정이 가능하다. 또한 측정된 스펙트럼 데이터는 임베디드 장치의 TCP/IP, 시리얼 및 USB 포트를 통해 프린터와 연결하여 인쇄가 가능하도록 구성하였다.

2) 품질판정 프로그램

스펙트럼 측정 시 빛의 산란으로 발생하는 오차를 줄이고 유성분의 예측성능을 높이기 위해 그림 6-17과 같은 전처리 프로그램을 개발하였으며, 그림 6-18과 같은 품질판정 프로그램을 개발하여 원유의 품질을 실시간 평가하였다.

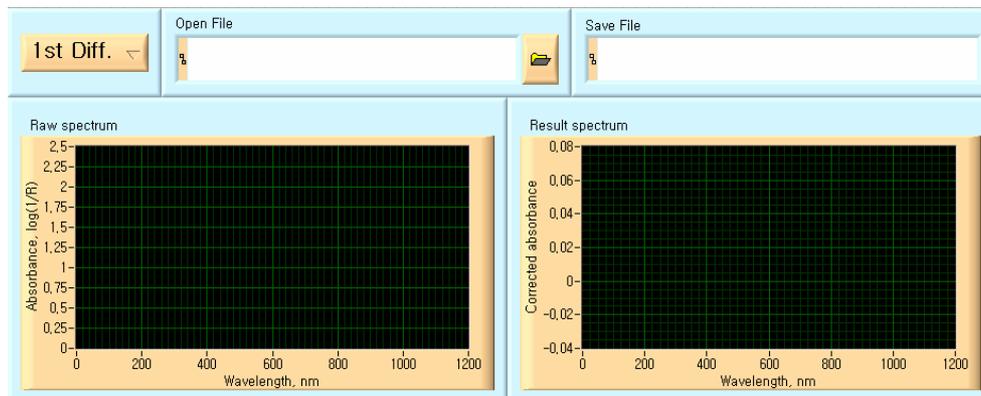


Fig. 6-17 Preprocess program of spectrum.

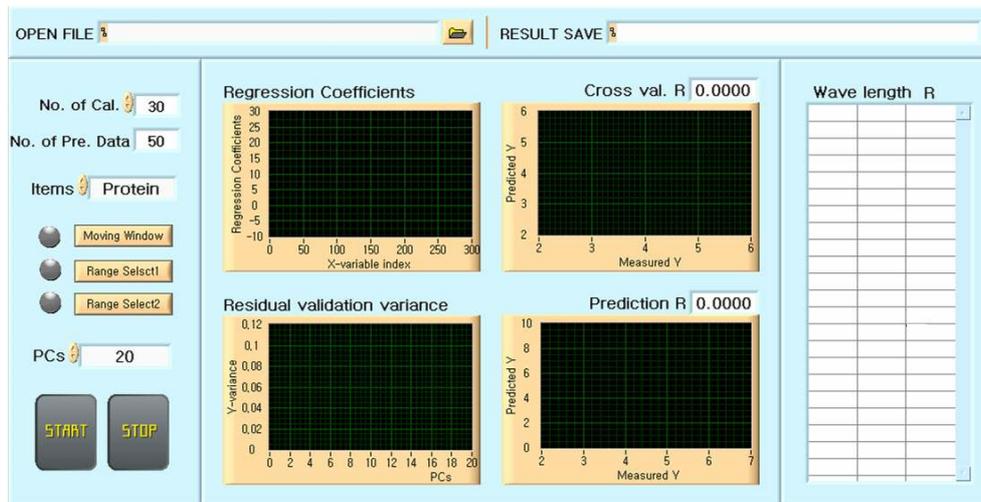


Fig. 6-18 Quality evaluation program of cow's milk.

예측모델 개발을 위해서는 최적의 스펙트럼이 필요하며, 본 연구에서는 원유의 원시 스펙트럼이 빛의 산란에 따라 발생하는 측정 오차를 보정하기 위해 1차 및 2차 미분 스펙트럼과 다분산보정(MSC) 및 표준정규화(SNV & Dtr.) 등이 가능하도록 스펙트럼의 전처리 프로그램을 개발하였다. 스펙트럼 전처리 프로그램은 측정된 스펙트럼 데이터를 사용자가 원하는 형태로 실시간 변형이 가능하며, 변형된 스펙트럼은 사용자에게 표시된 후에 유성분의 모델 개발에 사용되어 진다.

품질판정 프로그램은 측정된 스펙트럼과 유성분의 기준값을 이용하여 PLS 분석 알고리즘으로 체세포수, 지방, 단백질, 유당, 총고형분의 기준값과의 상관관계를 예측하게 된다. 모델 개발은 사용자가 지정한 일정 크기 단위로 반복적으로 모델을 개발하여 가장 상관관계가 좋은 파장영역을 자동으로 선정하는 Moving windows 방법을 이용하여 최적의 파장 영역을 선정하였으며, 이때 사용자는 선정된 파장영역을 기본으로 하여 각각의 유성분 예측을 위한 최적 파장 영역을 선정할 수 있다. 또한 개발된 각각의 유성분 예측 모델을 이용하여 스펙트럼 측정 시 실시간 원유 체세포수, 지방, 단백질, 유당, 총고형분을 평가하게 된다.

제 7 절 전체 시스템의 현장 적응성 검토

1. 현장운영 평가를 통한 시스템의 정확도 검토

휴대용 원유 품질판정 시스템의 현장운영 평가를 위해 2008년 2월 ~ 3월 경기, 강원, 전남 지역의 원유 시료 200여점을 수집하여 주변 환경에 따른 원유성분의 변화를 최소화하도록 방부제 처리한 후, 안산의 서울우유 지도소에서 표준화된 원유성분분석기(Combifoss)를 이용하여 체세포수와 성분조성을 측정하였다. 선행된 연구에서 조사된 분포범위에서 벗어나는 시료를 제외하였으며, 체세포수가 1 ~ 5등급까지 균일하게 포함되도록 200개의 시료를 선정하였다. 표 7-1과 같이 체세포수는 15,000 ~ 1,322,000개, 지방은 2.47 ~ 6.40 %, 단백질은 2.50 ~ 4.25 %, 유당은 3.91 ~ 5.23 %, 총고형분은 10.59 ~ 15.81 %의 범위를 보이고 있다. 스펙트럼 측정은 지도소에서 휴대용 품질판정 시스템으로 측정하였으며, 개발된 휴대용 시스템의 성능 평가를 위해 성균관대학교로 시료를 운반하여 1일 이내에 고성능 분광광도계(NIRS 6500, Foss, Denmark)를 이용하여 반사 스펙트럼을 측정하였다.

Table 7-1 Chemical properties of milk tested (N = 200)

		Avg.	Max.	Min.	Std.
SCC	Original	344,954	1,322,000	15,000	282,775
	Log scale	5.54	6.12	4.18	4.54
Fat(%)		4.02	6.40	2.47	0.81
Protein(%)		3.31	4.25	2.50	0.44
Lactose(%)		4.71	5.23	3.91	0.42
TS(%)		12.71	15.81	10.59	0.71

실험은 그림 7-1과 같이 성분 분석이 완료된 원유 시료를 방부제 처리하여 사용하였으며, 온도에 따른 유성분의 영향을 줄이기 위해 원유의 온도를 40 °C로 유지한 후에 Resazurin 시약을 첨가하여 5분간 반응 후에 개발된 휴대용 시스템과 고성능 분광

광도계를 이용하여 스펙트럼을 측정하였다.

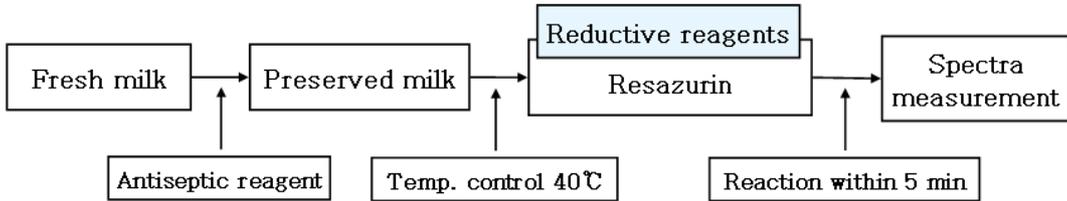


Fig. 7-1 Schematic of experiment condition for spectra measurements.

원유 성분의 예측 모델을 개발하기 위해서 휴대용 시스템과 고성능 분광광도계로 측정된 각각의 전체 스펙트럼의 50 %를 교정부로, 50 %를 검증부로 분류하였다. 각 성분을 크기 순서로 정렬한 후 순차적으로 교정부와 검증부로 분류하여 교정부와 검증부가 유사한 크기와 범위를 갖도록 조정하였다. 예측 모델은 다양한 화학적 성분조성을 갖는 시료 분석에 적합한 부분최소자승법(PLS)을 이용하여 원유시료의 스펙트럼과 각 성분과의 상관관계를 분석하였다. PLS 분석은 개발한 품질관정 프로그램을 사용하였으며, 예측 모델을 개발하기 위해 원시 스펙트럼(Raw spectrum)과 빛의 산란을 보정하기 위한 수처리 방법(Mathematical treatment)인 다분산보정(Multiplicative scatter correction, MSC)을 사용하였다. 또한 PLS 모델은 개발된 모델의 신뢰성을 높이기 위해 교차검증(Cross validation)을 이용하였으며, 최대 팩터 수(Factor)를 20으로 설정하고 각각의 팩터에 대한 상관계수(R)와 교정부 오차(Standard error of calibration, SEC)를 비교하여 최적 모델을 개발하였다. 또한 개발된 모델의 예측성능은 검증부 상관계수(R)와 검증부 오차(Standard error of prediction, SEP)를 이용하여 평가하였다.

휴대용 원유 품질관정 시스템의 성능 평가를 위해 표 7-2와 같이 고성능 분광광도계로 측정된 스펙트럼과 품질관정 시스템으로 측정된 스펙트럼을 이용하여 원유의 각 성분에 대한 예측 모델을 개발하였다. 표 7-2와 같이 고성능 분광광도계로 측정하여 예측모델을 개발한 경우, 체세포수는 400 ~ 600 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며, 검증 결과 상관계수는 0.90, 오차는 10,863 개로 나타났다. 지방은 1,300 ~ 1,500 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며, 검증 결과 상관계수는 0.96, 오차

는 0.38로 나타났다. 단백질은 1,400 ~ 1,700 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며, 검증 결과 상관계수는 0.96, 오차는 0.16으로 나타났다. 유당은 1,200 ~ 1,700 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며, 검증 결과 상관계수는 0.91, 오차는 0.19로 나타났다. 총고형분은 1,300 ~ 1,500 nm에서 상관관계가 있는 것으로 나타났으며, 검증 결과 상관계수는 0.97, 오차는 0.27로 나타났다.

휴대용 원유 품질판정 시스템으로 측정하여 예측모델을 개발한 결과 체세포수는 그림 7-2와 같이 400 ~ 700 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수와 오차는 각각 0.85와 13,111 개로 나타났다. 지방은 그림 7-3과 같이 1,200 ~ 1,500 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수는 0.95, 오차는 0.45로 나타났다. 단백질은 그림 7-4와 같이 1,400 ~ 1,600 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수는 0.92, 오차는 0.23으로 나타났다. 유당은 그림 7-5와 같이 1,300 ~ 1,600 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수는 0.86, 오차는 0.33으로 나타났다. 총고형분은 그림 7-6과 같이 1,300 ~ 1,500 nm에서 상관관계를 보였으며, 검증한 결과 상관계수는 0.92, 오차는 0.38로 나타났다.

Table 7-2 PLS result of calibration for each spectrum measurement

		Wavelength	Calibration			Prediction	
			Factor	R	SEC	R	SEP
SCC	Laboratory	400~600	8	0.93	0.13 (8,375)	0.90	0.17 (10,863)
	Portable	400~700	8	0.91	0.18 (10,961)	0.85	0.21 (13,111)
Fat(%)	Laboratory	1,300~1,500	7	0.99	0.08	0.96	0.38
	Portable	1,200~1,500	8	0.98	0.11	0.95	0.45
Protein(%)	Laboratory	1,400~1,700	8	0.98	0.10	0.96	0.16
	Portable	1,400~1,600	7	0.95	0.19	0.92	0.23
Lactose(%)	Laboratory	1,200~1,700	9	0.93	0.16	0.91	0.19
	Portable	1,300~1,600	10	0.90	0.18	0.86	0.33
TS(%)	Laboratory	1,300~1,500	11	0.99	0.09	0.97	0.27
	Portable	1,300~1,500	10	0.96	0.23	0.92	0.38

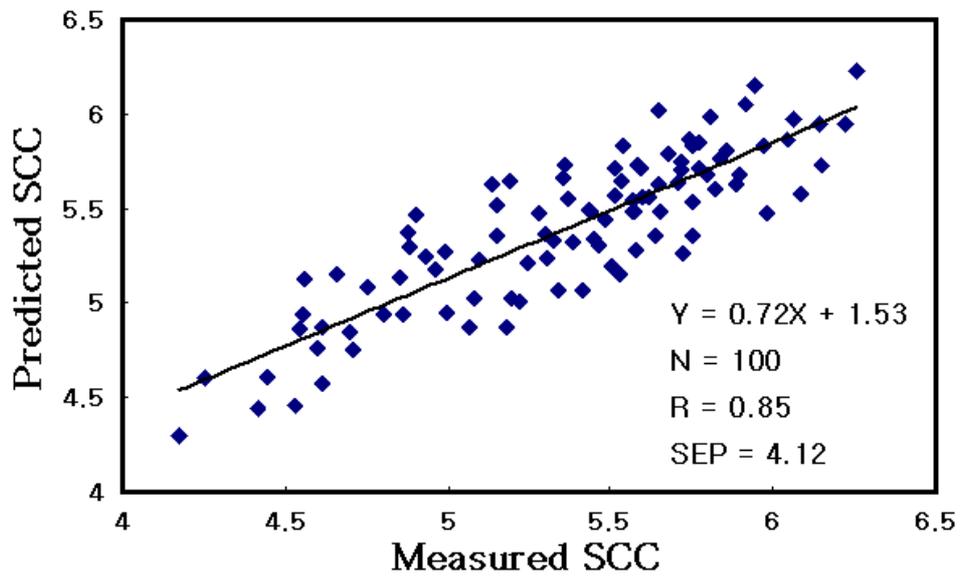


Fig. 7-2 Prediction of SCC by milk with Resazurin using 400 ~ 700 nm.

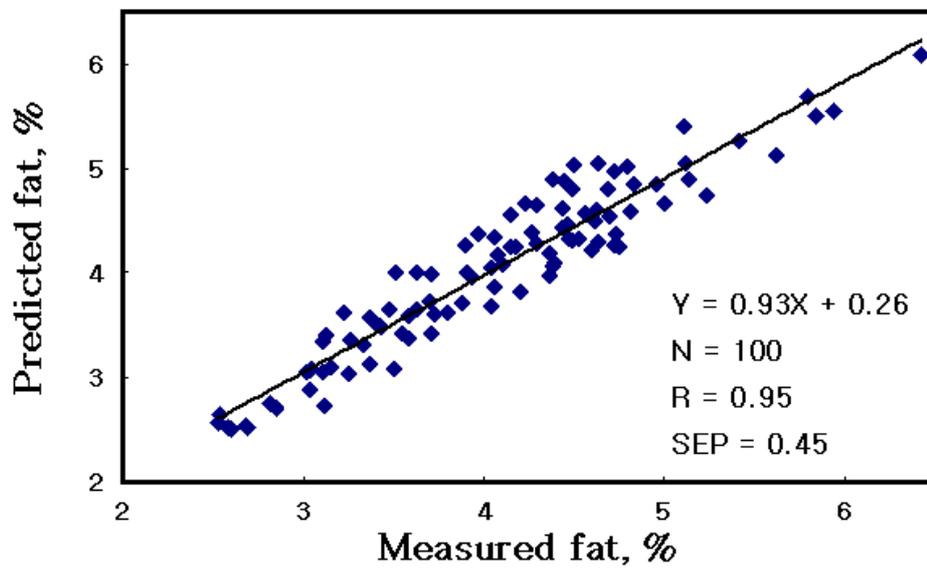


Fig. 7-3 Prediction of fat by milk with Resazurin using 1200 ~ 1500 nm.

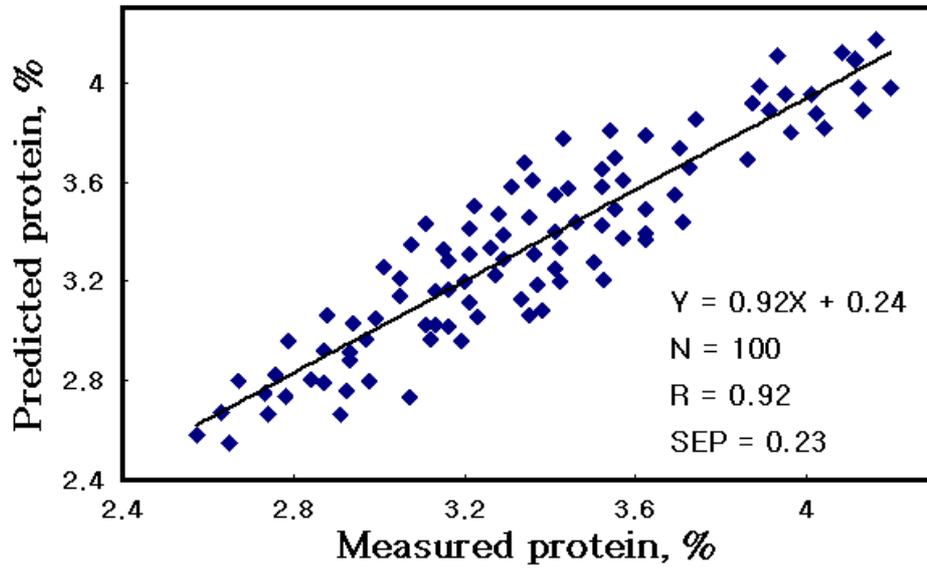


Fig. 7-4 Prediction of protein by milk with Resazurin using 1400 ~ 1600 nm.

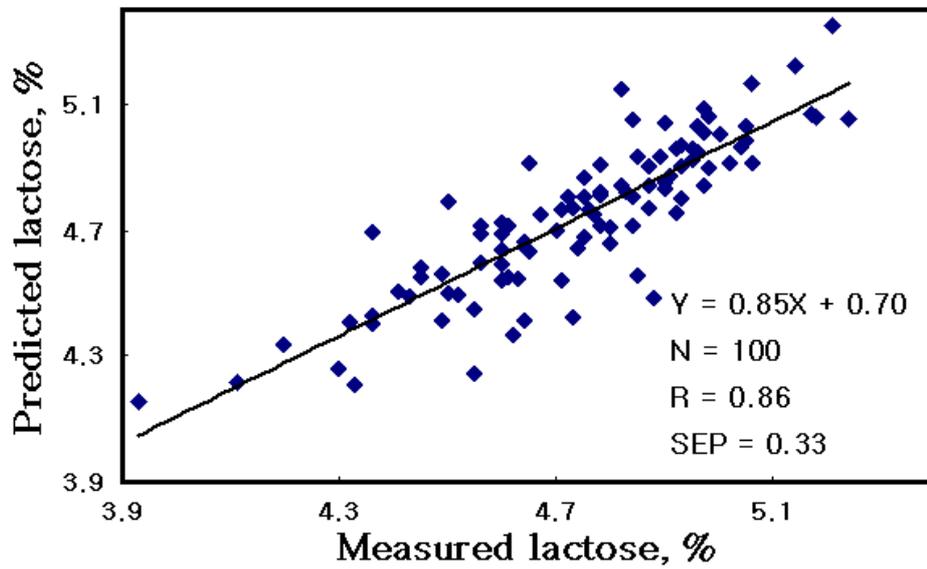


Fig. 7-5 Prediction of lactose by milk with Resazurin using 1300 ~ 1600 nm.

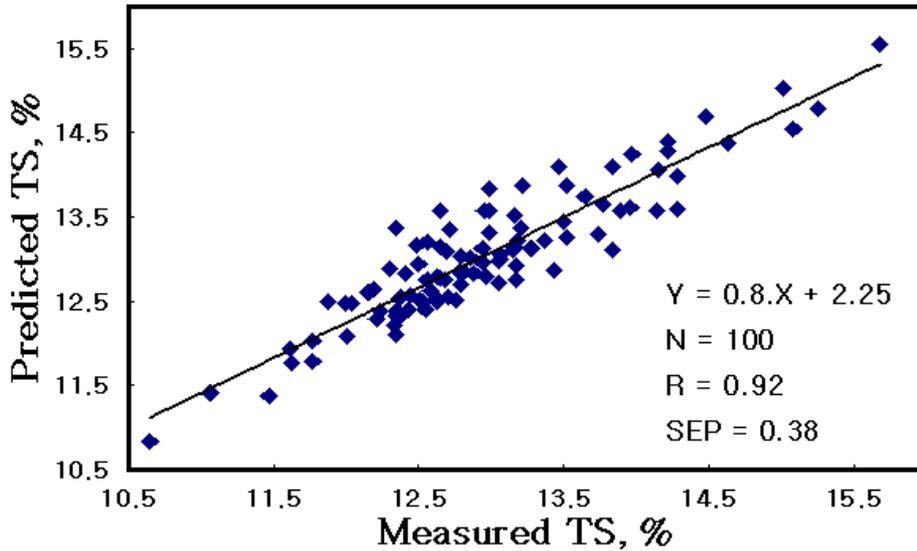


Fig. 7-6 Prediction of TS by milk with Resazurin using 1300 ~ 1500 nm.

휴대용 원유의 품질판정 시스템의 각 원유 성분에 대한 예측 성능은 고성능 분광광도계의 성능보다 다소 낮은 것으로 나타났으나 착유 현장에서 실시간 우유의 품질을 평가하여 저능력우를 판별하고 고품질 우유에 대한 관리를 하는데 무리가 없을 것으로 판단된다. 또한 휴대용 시스템과 고성능 분광광도계에서 각 원유 성분의 예측모델이 개발된 파장영역이 다소 차이가 나는 것으로 나타났으며, 이는 품질판정 시스템은 스펙트럼 측정 방식, 광원 및 검출기의 차이 때문으로 판단된다.

2. 현장 적용 및 측정 환경에 따른 문제점 분석

휴대용 원유의 품질판정 시스템의 현장평가 결과는 표 7-3과 같다. 예열 시간은 고성능 분광광도계는 30 ~ 40분, 휴대용 품질판정 시스템은 10분으로 예열을 위한 시간이 적게 필요하여 현장에서의 측정이 용이함을 알 수 있다.

휴대성은 고성능 분광광도계의 경우 현장에서 휴대하여 사용이 불가능하여 주로 연구실에서 안정된 상태에서만 사용할 수 있으며, 휴대용 품질판정 시스템은 휴대성 및 이동성이 용의하여 현장에서 실시간 유성분의 품질평가가 가능함을 알 수 있다.

우유 및 반응 시료를 위한 전처리는 고성능 분광광도계의 경우 사용자가 향은 수

조, 마이크로 피펫 등을 이용하여 직접 우유의 예열하고 정량으로 혼합 및 공급해야 하는 불편함이 있으며, 휴대용 시스템의 경우 사용자가 우유 시료 및 반응 시약만 있으면, 자동으로 시료공급, 온도제어, 혼합이 가능하도록 개발하였다.

Table 7-3 Comparison of portable quality evaluation system and laboratory system

	휴대용 원유 품질관정 시스템	고성능 분광광도계
예열 시간	10 분	30~40 분
휴대성	휴대 가능	휴대 불가능
전처리	자동	수동
부대 장비	우유 시료, 반응 시약 용기	우유 시료, 반응 시약 용기 항온주조, 마이크로 피펫, PC
측정방식	투과 스펙트럼	반사 스펙트럼
정확도	체세포수 : 90 %	체세포수 : 90 %
	지 방 : 95 %	지 방 : 96 %
	단 백 질 : 92 %	단 백 질 : 96 %
	유 당 : 86 %	유 당 : 91 %
	총고형분 : 92 %	총고형분 : 97 %
측정 오차	체세포수 : 13,111 개	체세포수 : 10,863 개
	지 방 : 0.45 %	지 방 : 0.38 %
	단 백 질 : 0.23 %	단 백 질 : 0.16 %
	유 당 : 0.33 %	유 당 : 0.19 %
	총고형분 : 0.38 %	총고형분 : 0.27 %
측정시간	6분/점	10분/점
측정방식	투과 스펙트럼	반사 스펙트럼
장비 가격	약 4천만원	약 1억 3천만원

유성분 예측 성능의 경우 고성능 분광광도계의 정확도는 체세포 90 %, 지방 96 %,

단백질, 96 %, 유당, 91 %, 총고형분 97 %로 측정되었으며, 휴대용 품질판정 시스템의 정확도는 체세포 90 %, 지방 96 %, 단백질, 96 %, 유당, 91 %, 총고형분 97 %로 다소 낮은 검증 결과를 보여주고 있다. 또한 측정 오차는 고성능 분광광도계의 경우 체세포수 10,863 개, 지방 0.38 %, 단백질 0.16 %, 유당 0.19 %, 총고형분 0.27 %로 측정되었으며, 휴대용 품질판정 시스템의 경우 체세포수 13,111 개, 지방 0.45 %, 단백질 0.23 %, 유당 0.33 %, 총고형분 0.38 %로 다소 높은 검증 오차를 보여주고 있다.

측정 시간은 고성능 분광광도계가 시료 1점에 대하여 10분이 소요되었으며, 휴대용 품질판정 시스템의 경우 6분이 소요되어 1일(8시간)에 각각 48점과 80점의 측정이 가능하여 휴대용 품질판정 시스템을 이용하면 우유 시료의 신속한 품질판정이 가능함을 알 수 있다.

그러므로 원유의 휴대용 실시간 품질판정 시스템의 원유 품질요인 측정에 대한 정확도는 상용화된 원유 품질분석 장치에 비해 다소 낮은 예측력을 보여주고 있으나, 현장에서 실시간 품질판정을 위한 휴대성과 고가의 우유 품질분석 장치보다 경제성이 우수하여 축산 농가 및 낙농 현장에서 유용하게 사용될 것으로 판단된다.

원유의 품질판정 시스템은 착유 시 축산농가 및 원유 유통현장에서 원유의 체세포수 등을 포함한 유지방, 단백질, 유당 등을 측정하여 젖소의 개체별 관리를 통한 고품질 우유의 생산을 도모할 수 있으며, 고품질 원유의 생산 및 공급, 젖소의 개체별 관리, 분석 장비의 국산화 등을 고려할 때 본 연구에서 개발된 휴대용 원유 품질판정 시스템의 적용은 낙농가의 고품질 우유 생산에 기틀을 마련할 것으로 판단된다. 본 연구에서 개발한 휴대용 원유 품질판정 시스템은 착유 시 축산농가 및 원유 유통현장에서 원유의 체세포수 등을 포함한 유지방, 단백질, 유당 등을 측정할 수 있으며, 이러한 원유의 실시간 품질측정은 젖소의 발육과 영양 상태를 파악하여 적절한 급여사료의 단백질 수준을 조절할 수 있으므로 사료비 절감과 혈중 요소 및 암모니아 과잉 등의 질병 예방이 가능하고 나아가 고품질 우유생산 및 공급이 가능하므로 축산농가의 소득증대 및 국민 건강 향상에 기여할 수 있다. 또한 축산농가와 유통업체간의 우유 생산비계산상의 문제를 해결하여 효율적인 유대지급기준의 기틀을 확립할 수 있을 것으로 판단된다.

이를 위해서는 기업, 낙농협회, 낙농가의 적극적인 협동시스템의 구축이 필요하다.

기업은 고품질, 편의성의 저렴한 원유 품질 평가 시스템을 개발 및 판매해야하고 낙농협회는 유대지급기준 개선과 함께 낙농가의 교육 관리 등에 힘써야하며, 무엇보다 낙농가의 착유우 관리 개선 및 원유 품질 향상에 대한 의지가 바탕이 되어야 할 것이다. 이에 개발된 휴대용 원유의 품질판정 시스템은 원유의 실시간 품질판정으로 국내 원유의 품질 향상에 지대한 영향을 미치며, 해외에서 수입된 원유 분석 장비를 이동성과 가격의 저렴함을 경쟁력으로 하여 국내 원유의 품질 향상에 일조할 것으로 판단된다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연도별 연구목표 및 평가의 착안점

구 분	세부연구개발 목표	평가의 착안점 및 기준	가중치
1차년도 (2006)	원유의 휴대용 품질판정 시스템 시작품 제작	시스템의 적합성 평가	50 %
	원유의 체세포수 측정 알고리즘 개발	알고리즘의 정확성 평가	20 %
	원유의 체세포수 측정기술 개발	측정기술의 정확성 평가	30 %
2차년도 (2007)	원유의 성분조성 측정 알고리즘 개발	알고리즘의 정확성 평가	30 %
	휴대용 품질판정 시스템의 제어 알고리즘 및 품질판정 프로그램 개발	시스템의 동작성능 평가	20 %
	시스템의 성능분석 및 현장 적응 성 검토	효율성 및 적합성 평가	20 %
	원유의 성분조성 분석기술 개발	분석기술의 정확성 평가	30 %
최종평가	원유의 성분(품질요인) 실시간 측 정기술 개발	개발된 기술의 적합성 평가	25 %
	근적외선 분광법을 이용한 원유 의 품질판정 알고리즘 개발	개발된 모델의 예측능력 평가	25 %
	젯소 원유의 실시간 휴대용 품질 판정 시스템 개발	휴대용 품질판정 시스템 의 성능 및 현장 적응능 력 평가	50 %
합계			100 %

제 2 절 목표달성도

구 분	세부연구개발 목표	평가의 착안점 및 기준	달성도
1차년도 (2006)	원유의 휴대용 품질판정 시스템 시작품 제작	시스템의 적합성 평가	100 %
	원유의 체세포수 측정 알고리즘 개발	알고리즘의 정확성 평가	100 %
	원유의 체세포수 측정기술 개발	측정기술의 정확성 평가	100 %
2차년도 (2007)	원유의 성분조성 측정 알고리즘 개발	알고리즘의 정확성 평가	100 %
	휴대용 품질판정 시스템의 제어 알고리즘 및 품질판정 프로그램 개발	시스템의 동작성능 평가	100 %
	시스템의 성능분석 및 현장 적응 성 검토	효율성 및 적합성 평가	100 %
	원유의 성분조성 분석기술 개발	분석기술의 정확성 평가	100 %
최종 평가	원유의 성분(품질요인) 실시간 측 정기술 개발	개발된 기술의 적합성 평가	100 %
	근적외선 분광법을 이용한 원유 의 품질판정 알고리즘 개발	개발된 모델의 예측능력 평가	100 %
	젯소 원유의 실시간 휴대용 품질 판정 시스템 개발	휴대용 품질판정 시스템 의 성능 및 현장 적응능 력 평가	100 %

제 3 절 관련분야 기여도

1. 시료의 자동 혼합 장치

현재 이화학적인 분야에서 사용하는 시료의 혼합 방법은 주로 기계식 교반 장치나 마그네틱바를 혼합 시료에 담그고 회전하는 방법을 사용하고 있으나 이는 사용자가 수동으로 작동해야하며, 관련 장비가 있어야 사용이 가능한 단점이 있다. 그러므로 어떤 경우에는 사용자가 교반을 위하여 손으로 흔드는 방법, 유리막대로 젓는 방법 등을 사용하는데 이러한 혼합 방법은 현장에서 실시간 품질 측정에는 사용이 불가능한 단점이 있으며, 시료 처리에 관한 전문 지식이 필요하다. 그러므로 본 연구에서 개발된 실시간 우유와 반응 시약의 혼합이 자동으로 되는 혼합 장치는 현장에서 휴대하여 혼합할 수 있는 장점이 있어 휴대용 품질측정 분야뿐만 아니라 현장에서 시료와 시약을 혼합하는데 적용이 가능하다.

2. 반응 시약을 이용한 미생물 측정 분야에 활용

가시광선/근적외선은 높은 에너지 전위를 가지므로 주로 시료를 전처리하지 않고 측정하거나 시료의 특성상 전처리가 필요한 경우에만 사용하였다. 그러므로 현재 개발된 대부분의 예측모델은 시료의 광학적 특성만을 이용한 것이 대부분이며, 시료 자체가 가시광선/근적외선과의 상관관계가 낮은 경우에는 사용이 불가능하였다. 그러나 현재 개발된 우유의 품질판정 기술은 기존에 연구된 체세포수 예측모델의 상관관계가 낮은 것에 반해 체세포수와 반응하는 반응 시약을 선정하고 첨가하여 좋은 상관관계를 나타내고 있어 이러한 방법을 응용하면, 미생물 분야 등 다양한 분야에서 가시광선/근적외선 분광분석법을 활용하기 위한 연구가 활발히 진행될 것으로 판단된다.

3. 비례미분적분(PID) 제어를 이용한 온도 제어

본 연구에서 우유 시료의 온도 유지를 위해 개발된 PID 제어는 사용자가 원하는 온도를 설정하면 열전소자와 On/off 제어를 이용하여 열전소자의 전압을 공급하고 끊어주는 방법으로 자동으로 적정온도를 유지하도록 개발하였다. 이러한 온도제어 방법은 크게 인공지능 빌딩 및 자동차의 적정온도 유지에 적용이 가능하며, 특히 현재 활

발한 연구가 진행되고 있는 태양열 에너지를 이용한 난방 분야에 적용이 가능하다.

4. 액상 시료를 이용한 제품 제조 공정의 자동화

현재 개발된 원유의 품질판정 시스템은 시료의 자동공급, 온도제어, 혼합 등의 전처리가 가능하며, 동시에 품질판정이 가능한 장점이 있다. 이와 같은 성능은 석유의 정제 공정, 발효공정 등의 제품 제조 공정에서 시료의 공급, 온도 유지, 혼합 등을 통한 전처리와 동시에 품질을 측정하여 부족한 성분을 추가적으로 자동 공급하고 필요에 따라 정제 공정을 계속적으로 반복하는 등의 공정을 자동화하는데 활용될 수 있다.

5. 휴대용 분광분석기

본 연구에서 개발된 원유의 품질측정을 위한 휴대용 분광분석기는 광원, 시료측정용 셀, 광프로브, 광검출기를 포함하여 시스템의 인터페이스 장치 및 제어 장치와 시료의 전처리 장치들로 구성하였다. 휴대용 원유의 품질측정을 위한 휴대용 분광분석기의 개발 기술은 현재 근적외선 분광분석법이 사용되는 농업과 식품 등의 다양한 분야에 적용이 가능하며, 특히 FTA에 따른 수입품의 안정성 및 원산지 판별에 활용될 것이다. 또한 휴대용 분광분석기는 현장에서 실시간 품질평가 및 기초 분석에 사용이 가능하고 장비의 가격이 비교적 저렴한 장점까지 있어 해외에서 수입되는 고가의 장비를 대체하는 효과가 있다.

6. 스펙트럼 전처리 및 품질판정 프로그램

본 연구에서는 광원의 산란 현상을 보정하기 위해 스펙트럼을 안정화 시키는 분산보정(MSC), 표준정규화(SNV & Dtr.)와 1차 미분 및 2차 미분이 가능하도록 전처리 프로그램을 개발하였다. 또한 자체적으로 부분최소자승법(PLS)을 이용한 품질판정 프로그램을 개발하여 원유 시료의 스펙트럼 측정과 동시에 전처리 후에 품질판정이 가능하도록 스펙트럼 전처리 및 품질판정 프로그램을 개발하였다. 품질판정 프로그램은 사용자가 원하는 크기의 정하여 전체 영역을 대상으로 원하는 성분값과 가장 상관관계가 높은 파장영역을 선정하도록 개발하여 품질분석 및 전문 지식이 없는 사용자도 편하게 사용이 가능하도록 개발하였다. 또한 전처리 및 품질판정 프로그램은 상호 연

관되어 작동이 가능하도록 개발하여 원시 스펙트럼 및 사용자가 원하는 전처리 상태를 선택하면 자동으로 품질판정 모델을 개발할 수 있도록 설계하였다. 본 연구에서 개발된 스펙트럼 전처리 및 품질판정 프로그램은 가시광선/근적외선 분광법을 이용하여 예측모델을 개발하는 다양한 분야에서 사용이 가능하며, 또한 다양한 통계 모델 개발 분야에서도 활용될 수 있다.

7. 착유기 장치에의 응용

현재 해외의 낙농 선진국에서는 고품질 우유의 생산을 위해 젖소의 개체별 관리 및 영양 관리에 주력을 다하고 있는 실정이다. 그러므로 본 연구에서 개발된 휴대용 원유의 품질판정 시스템으로 착유와 동시에 젖소 개체별로 실시간 품질을 측정하여 젖소의 건강 및 우유의 등급 관리를 가능하게 하며, 저능력우의 판별을 하여 생산된 원유의 고품질화에 일조할 것이다.

8. 젖소의 개별 맞춤형 영양 관리 시스템 개발

본 연구에서는 우유의 체세포수, 지방, 단백질, 유당 및 총고형분의 측정이 가능한 품질판정 시스템을 개발하였으며, 이는 주로 고품질 우유의 생산기반을 조성하기 위하여 수행되었다. 그러나 국외 낙농 선진국에서는 기존의 우유 품질관리를 위해 우유의 다양한 인자를 추가적으로 측정하고 있으며, 현재 가장 관심을 갖고 있는 인자는 젖소 영양상태의 기준이 되는 요소태질소이다. 요소태질소는 젖소 사료 속의 에너지 균형을 판단하는 지표로 젖소의 사료를 조절하고, 질병을 예방하며, 분뇨로 배출되는 질소의 수준을 조절하여 환경오염을 감소시키는데 큰 역할을 하고 있다. 또한 요소태질소는 근적외선분광법에 의하여 이미 적정과장 영역이 선정된 상태이므로 현재 개발된 시스템에 추가적으로 적용하여 고품질 우유 관리 및 젖소의 영양 관리를 통합적으로 할 수 있을 것으로 판단된다.

9. 고품질 원유의 등급 유지를 위한 유통 관리 방법 개선

국내의 유가제도는 주로 대기업 및 유제품 생산 기업이 낙농가에서 우유의 수집한 후, 우유 성분분석기의 분석 결과를 토대로 하여 각각의 낙농가 별로 유대지급 기준

을 마련하고 있다. 그러나 이러한 유대지급 기준은 객관성 및 투명성이 결여되므로 본 연구에서 개발된 휴대용 원유 품질판정 시스템을 낙농가에 보급하여 낙농가가 스스로 자신이 생산한 원유의 품질을 확인하여 고품질의 원유 생산을 위한 기틀을 마련하여 소비자의 신뢰도를 높일 수 있다. 또한 계절별 차등가격제와 용도별 차등가격제 등의 도입을 통한 우유 생산비계산상의 문제점을 해결하는데 활용될 것이다.

10. 수질 및 토양 오염 등의 환경 모니터링 장비로의 활용

현재 국내 수질 및 토양 오염의 측정 절차는 관련 기관의 전문가가 일정한 시간에 직접 방문하고 대표 시료를 수집한 후, 연구실에서 분석하는 방법으로 수행되고 있다. 그러나 이러한 품질분석 방법은 시간이 오래 걸리고 전수조사가 아니므로 수질 및 토양 오염에 대해 효과적으로 대체할 수 없는 단점이 있다. 본 연구에서 개발된 휴대용 품질판정 기술을 응용하면 수질의 실시간 자동 공급을 통한 오염도 측정 및 토양 시료의 실시간 오염도 측정이 가능할 것으로 판단된다. 또한 현재 활발히 진행 중인 전자지도(GIS)와 융합한다면 수질 및 토양 오염의 오염원을 실시간으로 진단하는 등 환경 분야에서 중요한 역할을 할 것이다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1 절 추가연구의 필요성

1. 스펙트럼 전처리 기술

본 연구에서는 우유의 스펙트럼 전처리를 위해 자체적 사용자 기반의 스펙트럼 전처리 프로그램을 개발하였다. 본 연구에서 개발된 스펙트럼 전처리 프로그램은 빛의 산란을 보정하기 위한 1차 및 2차 미분과 분산보정(Multiplicative scatter correction, MSC)과 표준정규화(Standard normal variate and detrending, SNV & Dtr.) 등의 스펙트럼 보정이 가능하며, 추가적으로 다양한 신호처리 알고리즘을 추가적으로 적용이 가능하도록 하였다. 또한 사용자가 동시에 여러 가지 신호처리 방법을 사용할 수 있도록 개발하여 사용자의 편의성을 증대하였다. 그러나 가시광선/근적외선 스펙트럼의 신호는 높은 에너지 전위에 의하여 주요 성분이 중첩되어 나타나므로 전체적인 신호 보정을 위한 신호처리 알고리즘 외에 중첩된 신호의 해석 또는 분해가 가능한 다양한 신호처리 방법에 관한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

2. 우유의 품질판정 알고리즘

본 연구에서는 우유의 실시간 품질판정을 위해 자체적 사용자 기반의 품질판정 프로그램을 개발하였다. 본 연구에서 개발된 품질판정 프로그램은 주로 우유 체세포수, 지방, 단백질, 유당, 총고형분의 부분최소자승(Partial least square, PLS)을 기반으로 하는 예측모델을 개발하여 예측성능을 평가하였다. 현재 국내외 문헌 및 자료에서는 가시광선/근적외선 분광법의 예측모델 개발은 예측성능이 우수한 부분최소자승법을 사용하고 있는 실정이나 여러 가지 분야의 다양한 알고리즘이 적용된 사례는 많지 않다. 그러나 부분최소자승법은 스펙트럼과 성분 간의 관계가 주로 선형적인 관계에 있는 경우에 가장 좋은 예측력을 보이고 있으므로 스펙트럼과 성분이 서로 비선형적인 경우의 예측성능은 다소 떨어지는 경향이 있어 인공지능 알고리즘을 기반으로 하는 퍼지(Fuzzy), 뉴럴네트워크(Neural network) 등의 비선형 예측이 가능한 다양한 알고

리즘의 적용이 필요할 것으로 판단된다.

3. 반응 시약 및 반응 시간 등의 환경조건

본 연구에서는 우유의 체세포수 예측 성능을 높이기 위해 반응 시약으로 Methyl red, Methylene blue, Bromocresol purple, Phenol red, Resazurin, Eosin-Y, Amido black을 사용하였다. 본 연구에서 사용한 반응 시약의 선정 기준은 주로 문헌 및 자료 조사를 통하여 이뤄졌으며, 본 연구에서는 Resazurin 시약을 사용한 경우의 예측 성능이 가장 우수하게 나타났다. 그러나 본 연구에서 사용한 반응 시약 외에 유사한 종류의 많은 시약이 있어 다양한 시약의 적용에 따른 체세포수 예측모델의 성능평가 및 체세포수와 반응 시약간의 반응에 관한 정확한 구명이 필요할 것으로 판단된다.

또한 본 연구에서 사용한 반응 시간은 주로 현장에서 실시간 우유 품질평가가 가능하도록 반응 시간을 0분, 5분, 10분으로 3수준으로만 두어 예측 성능을 분석하여 가장 좋은 예측 성능을 보이는 5분을 반응 시간으로 선정하였다. 그러나 반응 시간은 모든 반응 시약에 대하여 동일하게 적용하였기 때문에 각각의 반응 시약에 대한 다양한 반응 시간의 적용 및 반응 시간에 따른 우유 체세포의 반응 조건 구명이 필요할 것으로 판단된다.

4. 원유 수집의 지역적 다양성

본 연구에서는 원유의 체세포수와 성분조성의 측정 기술 개발과 휴대용 품질판정 시스템의 성능 평가를 위해 경기, 강원, 전남 지역에서 수집한 원유를 이용하였다. 그러나 원유는 계절별, 지역별로 성분 조성이 변할 수 있으므로 향후 사업화 및 상품화를 위해서는 국내의 다양한 지역의 우유 시료 수집 및 계절별 시료 수집을 통한 다양한 시료의 분석이 필요할 것으로 판단된다. 또한 향후 해외 시장에 진출하기 위해서는 국외 우유 시료에 대한 수집 및 분석을 통해 국내 우유의 성분 조성과의 공통점 및 차이점을 분석하는 것도 필요할 것으로 판단된다.

5. 휴대용 전원부

본 연구에서 개발한 휴대용 원유의 품질판정 시스템은 주로 착유 현장에서 실시간

원유의 품질을 분석하여 개체별 젖소 관리를 통한 고품질 우유의 생산할 수 있는 기반을 마련하기 위해 수행되었다. 착유 시 우유의 실시간 품질관정을 위해서는 밧데리 및 전원부의 개발이 요구되며, 본 연구에서 사용된 리튬-이온 방식의 배터리 셀은 외부 콘센트를 이용하여 지속적인 충전이 가능하지만, 한번 충전에 최대 연속 가능 사용 시간이 6시간인 단점이 있어 장시간 안정된 전원 공급을 위한 배터리의 개발이 필요하다고 판단된다.

제 2 절 타연구에의 응용

1. 스펙트럼 전처리 및 품질판정 프로그램

본 연구에서는 광원의 산란 현상을 보정하기 위해 스펙트럼을 안정화 시키는 분산 보정(MSC), 표준정규화(SNV & Dtr.)와 1차 미분 및 2차 미분이 가능하도록 전처리 프로그램을 개발하였다. 또한 자체적으로 부분최소자승법(PLS)을 이용한 품질판정 프로그램을 개발하여 원유 시료의 스펙트럼 측정과 동시에 전처리와 품질판정이 가능하도록 스펙트럼 전처리 및 품질판정 프로그램을 개발하였다. 품질판정 프로그램은 사용자가 원하는 크기의 정하여 전체 영역을 대상으로 원하는 성분값과 가장 상관관계가 높은 파장영역을 선정하도록 개발하여 품질분석 및 전문 지식이 없는 사용자도 편하게 사용이 가능하도록 개발하였다. 또한 전처리 및 품질판정 프로그램은 상호 연관되어 작동이 가능하도록 개발하여 원시 스펙트럼 및 사용자가 원하는 전처리 상태를 선택하면 자동으로 품질판정 모델을 개발할 수 있도록 설계하였다. 그러므로 본 연구에서 개발된 스펙트럼 전처리 및 품질판정 프로그램은 현재 사용되는 가시광선/근적외선의 예측모델 개발을 위하여 다양한 분야에서 사용이 가능하며, 또한 다양한 통계의 모델 개발 분야에서도 편리하게 응용이 가능할 것으로 판단된다.

2. 휴대용 분광분석기

본 연구에서 개발된 원유의 품질측정을 위한 휴대용 분광분석기는 광원, 시료측정용 셀, 광프로브, 광검출기를 포함하여 시스템의 인터페이스 장치 및 제어 장치와 시료의 전처리 장치들로 구성하였다. 휴대용 원유의 품질측정을 위한 휴대용 분광분석기의 개발 기술은 현재 근적외선 분광분석법이 사용되는 농업과 식품 등의 다양한 분야에 적용이 가능하며, 특히 FTA에 따른 수입품의 안정성 및 원산지 판별에 유용하게 사용될 것으로 판단된다. 또한 휴대용 분광분석기는 현장에서 실시간 품질평가 및 기초 분석에 사용이 가능하고 장비의 가격이 비교적 저렴한 장점까지 있어 해외에서 수입되는 고가의 장비를 대체할 수 있는 방안이 될 것으로 판단된다.

3. 비례미분적분(PID) 제어를 이용한 온도 제어

본 연구에서 우유 시료의 온도 유지를 위해 개발된 PID 제어는 사용자가 원하는 온도를 설정하면 열전소자와 On/off 제어를 이용하여 열전소자의 전압을 공급하고 끊어주는 방법으로 자동으로 적정온도를 유지하도록 개발하였다. 이러한 온도제어 방법은 크게 인공지능 빌딩 및 자동차의 적정온도 유지를 위하여 적용이 가능하며, 특히 현재 활발한 연구가 진행되고 있는 태양열 에너지를 이용한 난방 분야에 응용이 가능할 것으로 판단된다.

4. 시료의 자동 혼합 장치

현재 이화학적인 분야에서 사용하는 시료의 혼합 방법은 주로 기계식 교반 장치나 마그네틱바를 혼합 시료에 담고 회전하는 방법을 사용하고 있는 이는 사용자가 수동으로 작동해야하며, 관련 장비가 있어야 사용이 가능한 단점이 있다. 그러므로 어떤 경우에는 사용자가 교반을 위하여 손으로 흔드는 방법, 유리막대로 젓는 방법 등을 사용하는데 이러한 혼합 방법은 현장에서 실시간 품질 측정을 위해 사용이 불가능한 단점이 있으며, 시료 처리에 관한 전문 지식이 필요하다. 그러므로 본 연구에서는 실시간 우유와 반응 시약의 혼합을 위해 자동화된 혼합 장치를 개발하였으며, 이는 현장에서 휴대하여 혼합할 수 있는 장점이 있어 휴대용 품질측정 분야 외에 현장에서 시료와 시약을 혼합하는데 적용이 가능할 것으로 판단된다.

5. 착유기 장치에의 응용

현재 해외의 낙농 선진국에서는 고품질 우유의 생산을 위해 젖소의 개체별 관리 및 영양 관리에 주력을 다하고 있는 실정이다. 그러므로 본 연구에서 개발된 휴대용 원유의 품질판정 시스템으로 착유와 동시에 젖소 개체별로 실시간 품질을 측정하여 젖소의 건강 및 우유의 등급을 관리하는 것이 가능하며, 저능력우를 판별 하여 생산된 원유의 고품질화를 달성할 수 있을 것으로 판단된다.

6. 젖소의 개별 맞춤형 영양 관리 시스템 개발

본 연구에서는 우유의 체세포수, 지방, 단백질, 유당 및 총고형분의 측정이 가능한

품질판정 시스템을 개발하였으며, 이는 주로 고품질 우유의 생산기반을 조성하기 위하여 수행되었다. 그러나 국외 낙농 선진국에서는 기존의 우유 품질관리를 위해 우유의 다양한 인자를 추가적으로 측정하고 있으며, 현재 가장 관심을 갖고 있는 인자는 젖소 영양상태의 기준이 되는 요소태질소이다. 요소태질소는 젖소 사료 속의 에너지 균형을 판단하는 지표로 젖소의 사료를 조절하고, 질병을 예방하며, 분뇨로 배출되는 질소의 수준을 조절하여 환경오염을 감소시키는데 큰 역할을 하고 있다. 또한 요소태질소는 근적외선분광법에 의하여 이미 적정과장 영역이 선정된 상태이므로 현재 개발된 시스템에 추가적으로 적용하여 고품질 우유 관리 및 젖소의 영양 관리를 통합적으로 할 수 있는 시스템 개발이 가능할 것으로 판단된다.

7. 반응 시약을 이용한 미생물 측정 분야에 활용

가시광선/근적외선은 높은 에너지 전위를 가지므로 주로 시료를 전처리 하지 않고 측정하거나 시료의 특성상 전처리가 필요한 경우에만 사용하였다. 그러므로 현재 개발된 대부분의 예측모델은 시료의 광학적 특성만을 이용한 것이 대부분이며, 시료 자체가 가시광선/근적외선과의 상관관계가 낮은 경우에는 사용이 불가능하였다. 그러나 현재 개발된 우유의 품질판정 기술은 기존에 연구된 체세포수 예측모델의 상관관계가 낮은 것에 반해 체세포수와 반응하는 반응 시약을 선정하고 첨가하여 좋은 상관관계를 나타내고 있어 이러한 방법을 응용하면, 기존에 예측모델 개발이 어려웠던 미생물 분야 등의 다양한 분야에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

8. 액상 시료를 이용한 제품 제조 공정의 자동화

현재 개발된 원유의 품질판정 시스템은 시료의 자동공급, 온도제어, 혼합 등의 전처리가 가능하며, 동시에 품질판정이 가능한 장점이 있다. 이와 같은 성능은 석유의 정제 공정, 발효공정 등의 제품 제조 공정에서 시료의 공급, 온도 유지, 혼합 등을 통한 전처리와 동시에 품질을 측정하여 부족한 성분을 추가적으로 자동 공급하고 필요에 따라 정제 공정을 계속적으로 반복하는 등의 제조 공정분야에 자동화를 구축하는데 적용이 가능할 것으로 판단된다.

9. 수질 및 토양 오염 등의 환경 모니터링 장비로의 활용

현재 국내 수질 및 토양 오염의 측정 절차는 관련 기관의 전문가가 일정한 시간에 직접 방문하고 대표 시료를 수집한 후, 연구실에서 분석하는 방법으로 수행되고 있다. 그러나 이러한 품질분석 방법은 시간이 오래 걸리고 전수조사가 아니므로 수질 및 토양 오염에 대해 효과적으로 대체할 수 없는 단점이 있다. 그러므로 본 연구에서 개발된 휴대용 품질관정 기술을 응용하여 수질의 실시간 자동 공급을 통한 오염도 측정 및 토양 시료의 오염도 측정에 적용이 가능할 것으로 판단된다. 또한 현재 활발히 진행 중인 전자지도(GIS)와 융합한다면 수질 및 토양 오염의 오염원을 실시간 판단을 통하여 환경오염의 원인에 대해 효과적으로 대처할 수 있을 것이다.

10. 고품질 원유의 등급 유지를 위한 유통 관리 방법 개선

국내의 유가제도는 주로 대기업 및 유제품 생산 기업이 낙농가에서 우유의 수집한 후, 우유 성분분석기의 분석 결과를 토대로 하여 각각의 낙농가 별로 유대지급 기준을 마련하고 있다. 그러나 이러한 유대지급 기준은 객관성 및 투명성이 결여되므로 본 연구에서 개발된 휴대용 원유 품질관정 시스템을 낙농가에 보급하여 낙농가가 스스로 자신이 생산한 원유의 품질을 확인하여 고품질의 원유 생산을 위한 기틀을 마련하는데 활용할 수 있다. 또한 계절별 차등가격제와 용도별 차등가격제 등의 도입을 통한 우유 생산비계산상의 문제점을 해결하는데 응용할 수 있을 것으로 판단된다.

제 3 절 기업화 추진방향

1. 유제품 수출입 현황

세계적으로 자유무역협정(FTA) 체결이 가속화되는 추세 속에서 우리나라는 공산품의 수출 경쟁력 강화를 위해 FTA를 동시다발적으로 추진하고 있다. 우리나라는 2004년 4월 처음으로 칠레와 FTA를 발효시킨 바 있으며, 2004년 11월에는 싱가포르와, 2005년 7월에는 유럽자유무역연합(EFTA) 4개국과 각각 FTA 협상을 타결하였다. 현재는 협상이 중단된 상태이지만 2003년 12월에 시작된 한일 FTA는 2004년 11월까지 6차례의 협상이 진행되었고, 중국, 인도, 남미공동시장(MERCOSUR), 멕시코 등과는 FTA 본협상 이전 단계인 공동연구 등을 추진 중에 있다. 또한 우리나라는 미국과 FTA를 추진하기 위해 2005년에 3차례의 사전 실무점검협의를 마치고 2006년 본 협상에 들어가 가급적 조기에 FTA 협상을 마무리 짓기 위해 노력하고 있다. 그러나 세계 1위의 농축산물 수출대국인 미국과의 FTA는 여타 FTA보다도 국내 농업에 심각한 피해를 줄 것으로 예상된다. 선진 각국의 농산물 및 공산품은 낮은 관세로 진출하여 자국 상품과 품질 및 가격에서 치열한 경쟁을 할 것으로 보이고 우리나라의 경우도 많은 농수축산물이 점차로 시장개방 되고 있으며 우유를 비롯한 많은 유제품이 이미 개방되어 품질 및 가격에서 외국 제품과 경쟁하고 있다.

이런 산업 현황 속에서 선진국에 비해 짧은 역사를 가지고 있는 국내 낙농업 및 유가공 산업은 물량에서는 비약적인 발전을 이룩하여 유제품 수출액이 그림 3-1과 같이 조금씩 증가하는 추세에 있으나 국내 유제품 소비량의 증가에 따라 유제품 수입액이 크게 증가하여 국내 유제품의 수급 불균형 현상을 초래하고 있다. 우유 및 유제품의 국제 경쟁력을 향상시키기 위해서는 좋은 품질의 원유를 저렴한 가격으로 생산해야 하나 국내에서 생산되는 원유는 품질과 가격 면에서 선진국과 많은 차이를 보이고 있어 그림 3-2와 같이 유제품 무역수지적자가 해마다 증가하여 국제 경쟁력에서 불리한 실정이다.

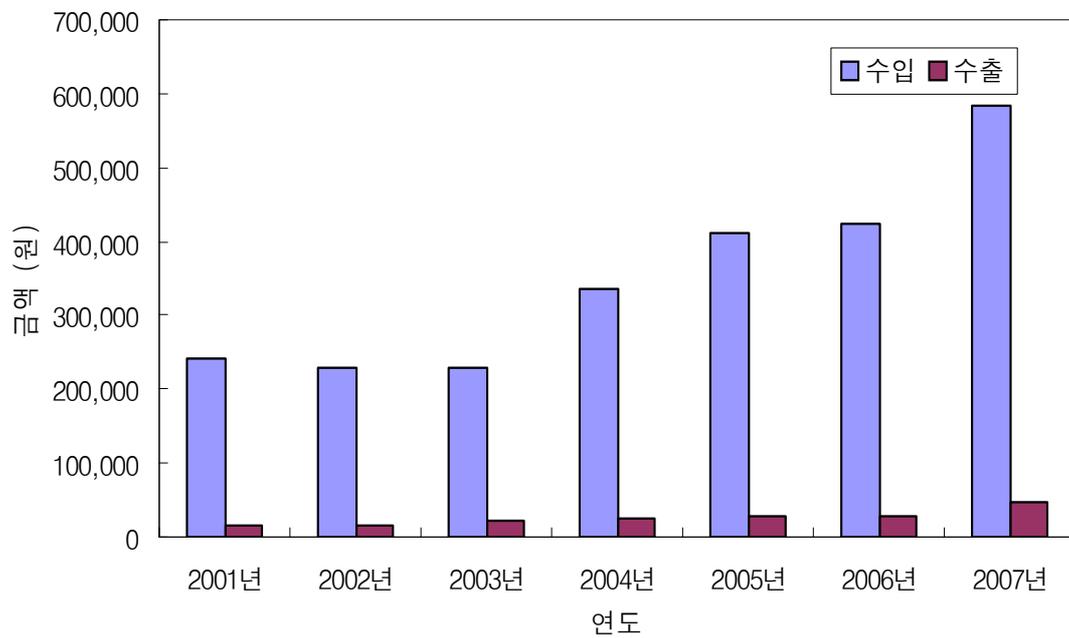


Fig. 3-1 연도별 유제품 수출입 금액 현황.

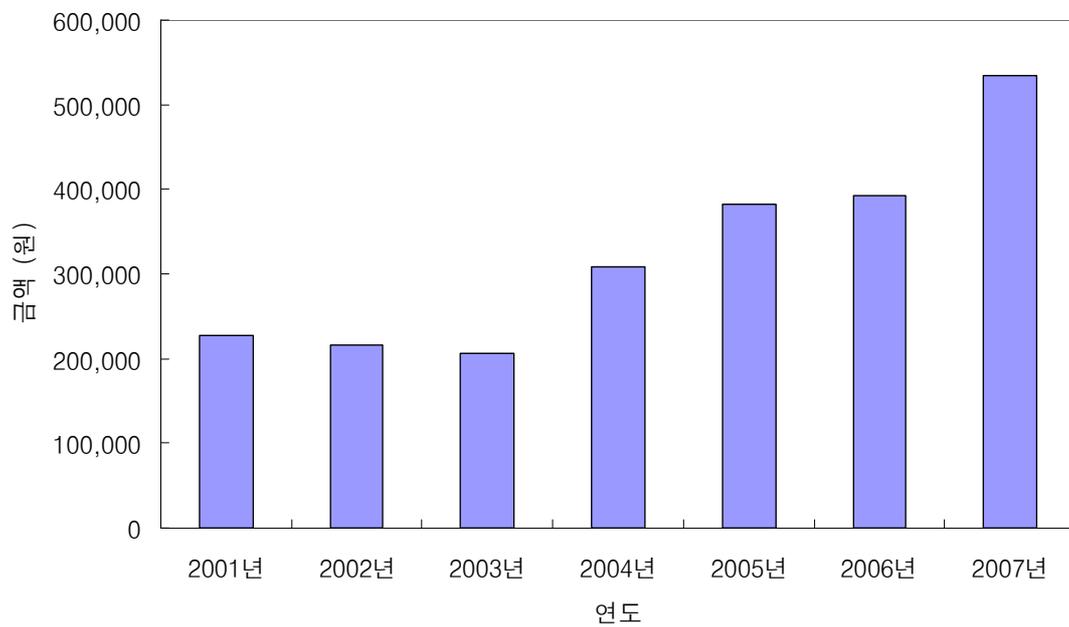


Fig. 3-2 연도별 유제품 무역수지적자 현황.

2. 경쟁국의 기술수준 비교

우리나라의 낙농업이 국제 경쟁에서 불리한 손꼽히는 원인 중 하나로 국내 낙농기술 수준의 낙후를 들 수 있다. 국내 낙농기술과 주요 경쟁대상국과의 기술수준을 비교하면, 국내 우유 kg당 생산비는 446 원/kg(2001년)에서 483 원/kg(2005년)으로 증가하고 있으며, 미국의 우유 생산비가 340 원/kg이며 일본이 830 원/kg이고 호주 190 원/kg(2004, 일본농림수산성)으로 일본에 비해 낮지만 한국도 주요 낙농 생산국에 비해 높은 수준을 유지하고 있다. 또한 국별 두당 산유량은 미국 9,086 kg, 일본 7,759 kg, 한국 7,506 kg, 중국 5,243 kg으로 산유능력에는 경쟁력이 있으나 표 3-1에서 보여주는 바와 같이 개량기반이 선진국에 비해 취약한 실정이다.

Table 3-1 젖소 개량기반 비교

구 분	기술수준 비교			
	미국	네덜란드	일본	한국
경산우 사육두수(천두)	9,227	1,486	1,124	305
우군 검정 두수(천두)	4,287	1,248	523	132
검정참여비율(%)	46.5	84	46.5	43.2
후대검정 두수(두/년)	1,258	390	185	15
선발강도	1/8	1/10	1/6	1/8
후보우당 검정딸소수(두)	83	60	36	20
경산우 중 후대 검정딸소 비율(%)	6.9	15.0	3.5	2.0

한국종축개량협회

덴마크는 2001년 원유 ml내에 체세포수 30만개 이하가 약 85 %이며, 유질협회에서 우유를 관리하고 있는 일본도 체세포수 30만개 이하가 74 %, 50개만 이하가 92 %를 기록하고 있으며, 미국에서는 낙농가의 원유의 체세포수를 10만개 이하로 감소시키는 것을 장래의 목표로 삼고 있다. 국내에서도 위생등급제 실시이후 일시적으로 체세포수가 개선되었지만 1997년 이후에는 체세포수 개선정도가 미진하여 체세포수 50만개

이상의 3등급 농가 분포율이 전체의 30 % 전후로 나타났다. 이러한 체세포수 증가의 원인은 국내 낙농업이 전업화, 규모화되면서 농가별 평균 사육두수의 증가로 개체별 관리의 한계를 보이고, 제한된 공간에서 농후사료 위주의 열악한 사육환경과 예방적인 차원에서 체세포수 관리 프로그램의 적극적인 도입이 되고 있지 않기 때문이다.

3. 경쟁력 확보 방안

2007년 12월 국내의 낙농가 수는 7,657호로 전 분기 대비 2.0 % 감소하였다. 국내의 낙농가 수는 그림 3-3과 같이 매분기 1 ~ 2 %씩 감소세를 보이며 50두이상의 사육두수를 가진 낙농가는 그림 3-4와 같이 57 %로 2007년 3월 이후 50 % 대 진입 후 지속적인 증가를 보이고 있어 낙농가의 규모가 점차 커지고 있음을 알 수 있다.

국내 낙농가의 규모가 점차 커짐에 따라 사육두수의 규모도 커지고 있어 효과적인 우유 품질 관리 방법이 필요한 실정이다. 현재 시행되고 있는 원유의 품질관리는 여러 젖소로부터 수집하여 혼합된 원유의 샘플을 이용하여 전수조사가 아닌 표본조사에 의존하고 있으므로 품질이 낮은 젖소의 원유를 선택적으로 제거하기가 어렵고 다른 원유 시료와 혼합되어 전체적인 품질 저하를 초래하게 된다. 그러므로 고품질 우유 생산을 위해서는 착유 현장에서 실시간 원유의 품질요인을 측정하는 등의 등급별 원유관리가 필요하다. 현재 덴마크, 미국, 일본 등에서는 소득증대와 웰빙시대에 발맞추어 기존의 유대지급 기준인 체세포수, 지방, 단백질 이외에 유당, 총고형분, 수분 등을 추가로 하였으며 세균수와 체세포수가 일정 한계를 넘을 때에는 집유정지를 가하고 벌과금을 부과하는 등 고품질 우유 생산에 심혈을 기울이고 있다. 국내의 경우 1972년 이전에는 물량위주로 유대지급을 하였으며, 1992년 까지는 유지방율을 기준으로 유대를 지불하였다. 1993년 6월부터는 유지방율과 유대 차등지불제를 시작하였으며, 1995년 10월부터는 세균수와 체세포수의 등급기준을 위생등급에 따른 우유값의 차등지급제로 시행하여 위생적인 우유생산에 큰 효과를 거두었으나 고품질 원유의 관리에는 미비한 실정이다. 유대 기준을 높이는 것은 낙농가로 하여금 고품질 우유 생산을 위해 노력하도록 하는 방편은 되지만, 현재 고품질 우유 생산을 위한 우유 품질관리가 가능한 시스템은 없는 실정이다.

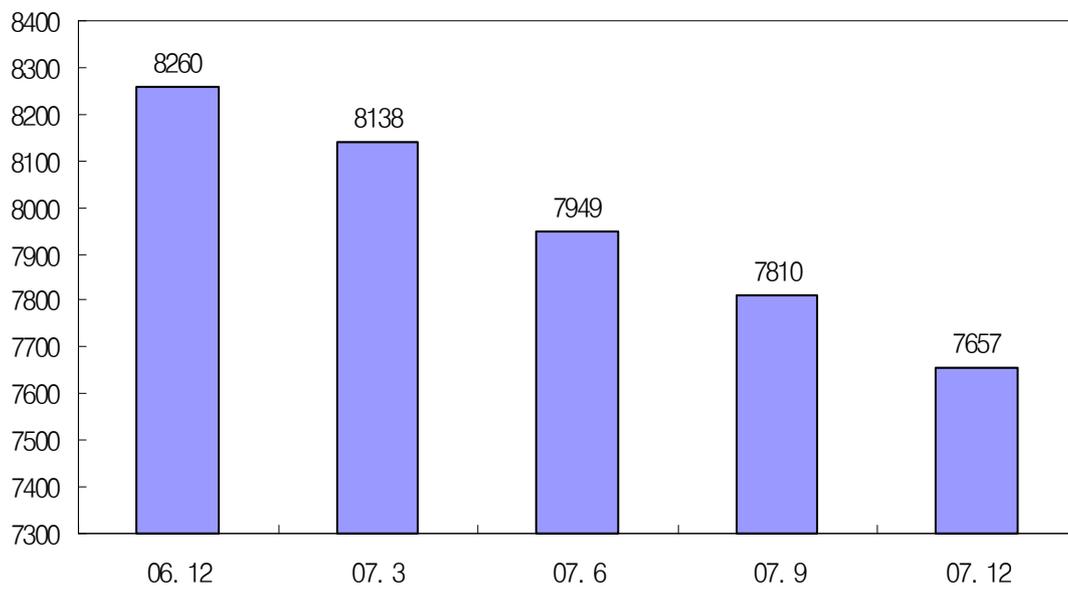


Fig. 3-3 국내 낙농가수(호).

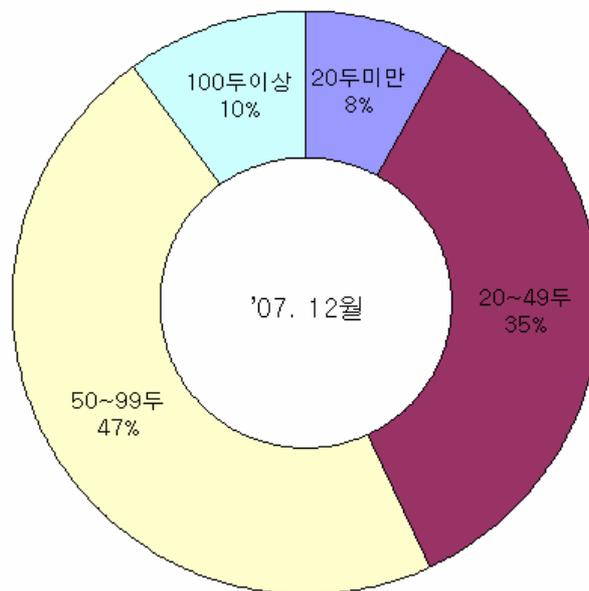


Fig. 3-4 사육규모별 낙농가 비율.

그러므로 고품질 우유의 생산을 위해서는 젖소의 개체별 우유 관리가 요구하며, 착유 시 축산농가 및 원유 유통현장에서 원유의 체세포수 등을 포함한 유지방, 단백질, 유당 등을 측정할 수 있는 원유의 품질판정 시스템을 도입하여 등급별 체계적인 원유의 관리가 필요한 실정이다. 현재 국내·외에서 사용되고 있는 자동화된 원유의 품질 측정 장치는 크게 체세포수 측정 장치(Fossomatic)와 단백질, 유당, 지방, 총고형분 등을 측정할 수 있는 장치(Milkoscan)가 있다. 또한, 체세포수와 원유의 품질을 동시에 측정 가능한 장치(Combifoss)는 개발되어 있으나 가격이 비싸 일부 유가공 업체에서만 사용이 가능하며 장비의 규모가 크므로 이동 중에 사용하거나 휴대할 수 없어 응급 시 원유 생산현장에서 실시간 품질측정이 불가능하고 수입품이므로 국내 축산농가 환경과는 다소 차이가 있다.

따라서 고품질 원유의 생산 및 공급, 젖소의 개체별 관리, 분석 장비의 국산화 등을 고려할 때 본 연구에서 개발된 휴대용 원유 품질판정 시스템의 적용은 낙농가의 고품질 우유 생산에 기틀을 마련할 것으로 판단된다. 본 연구에서 개발한 휴대용 원유 품질판정 시스템은 착유 시 축산농가 및 원유 유통현장에서 원유의 체세포수 등을 포함한 유지방, 단백질, 유당 등을 측정할 수 있으며, 이러한 원유의 실시간 품질측정은 젖소의 발육과 영양 상태를 파악하여 적절한 급여사료의 단백질 수준을 조절할 수 있으므로 사료비 절감과 혈중 요소 및 암모니아 과잉 등의 질병 예방이 가능하고 나아가 고품질 우유생산 및 공급이 가능하므로 축산농가의 소득증대 및 국민 건강 향상에 기여할 수 있다. 또한 축산농가와 유통업체간의 우유 생산비계산상의 문제를 해결하여 효율적인 유대지급기준의 기틀을 확립할 수 있을 것으로 판단된다.

이를 위해서는 기업, 낙농협회, 낙농가의 적극적인 협동시스템의 구축이 필요하다. 기업은 고품질, 편의성의 저렴한 원유 품질 평가 시스템을 개발 및 판매해야하고 낙농협회는 유대지급기준 개선과 함께 낙농가의 교육 관리 등에 힘써야하며, 무엇보다 낙농가의 착유우 관리 개선 및 원유 품질 향상에 대한 의지가 바탕이 되어야 할 것이다. 이에 개발된 휴대용 원유의 품질판정 시스템은 원유의 실시간 품질판정으로 국내 원유의 품질 향상에 지대한 영향을 미치며, 해외에서 수입된 원유 분석장비를 이동성과 가격의 저렴함으로 밀어내어 국내 원유의 품질 향상에 일조할 것으로 판단된다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1 절 학술논문

- Ahmad, I. and V. K. Jindal. 2006. An automatic procedure for rapid online estimation of raw milk quality. LWT 39:431-435.
 - 우유의 세포수 측정을 위해 오랜 시간이 걸리고 측정이 어려워 전문가가 필요하며, 정확한 계수가 어려운 Methylene blue 환원법을 전압 출력이 되는 광센서 (Light sensing probe, LSP)이용하여 정량적으로 우유 내 세포수를 측정하는 방법을 개발하였다.

- Baer, R. J., J. F. Frank, and M. Loewenstein. 1983. Compositional analysis of nonfat dry milk by using near infrared diffuse reflectance spectroscopy. Anal. chem. 66(4):858-863.
 - 근적외선 분광법으로 탈지분유의 수분, 지방, 단백질 예측 모델을 개발에 관련된 연구로 19개의 필터 영역을 회귀모델을 이용하여 최적 파장 영역을 선정하였으며, 각각의 예측 모델은 0.90 이상의 높은 검증 결과를 보여 근적외선 분광법을 이용하여 탈지분유의 성분 예측이 가능함을 알 수 있었다.

- Brennan, D., J. Alderman, L. Sattler, B. O'Connor, and C. O'Mathuna. 2003. Issues in development of NIR micro spectrometer system for on-line process monitoring of milk product. Measurement 33(1):67-74.
 - 우유 공정 중에 지방을 온라인으로 모니터링하기 위해 근적외선 분광분석 시스템을 개발하였다. 검출기는 실리콘에 고성능 구조를 제조하기 위한 초소형 전자기술인 LIGA 기술을 이용하여 개발하였으며 우유 공정 중 지방을 실시간 모니터링하는데 사용하고 평가하였다. 우유 공정에 대한 적용을 한 결과, 개발된 검출기를 이용하여 800 ~ 1,100 nm에서 높은 상관관계를 얻을 수 있어 본 연구에서 개발

된 검출기를 이용하여 근적외선 영역에서 운영되는 다양한 분야에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

- Castillo, M., F. A. Payne, C. L. Hicks, J. Laencina, and M. B. Lopez. 2002. Effect of calcium and enzyme in cutting time prediction of coagulating goats' milk using a light scattering sensor. *International dairy journal* 12:1019-1023.
 - 800 nm에서 후방 산란을 온라인으로 측정하는 광센서를 이용하여 염소 원유의 절단 시간을 예측하는데 사용하였다. 절단 시간 예측모델에 사용되는 반사율 T_{max} 로 절단 시간을 예측한 결과 오차는 0.55분으로 측정되었다. T_{max} 와 절단 시간은 염화칼슘의 혼입을 많이 할수록 감소되었으며, kid rennet의 응고는 빨라졌다. 광센서는 원유의 응고 효소의 영향의 변화를 구명하는데 유용했다.

- Cattaneo, T. M. P., C. Giardina, N. Sinelli, M. Riva, and R. Giangiacomo. 2004. Application of FT-NIR and FT-IR spectroscopy to study the shelf-life of Crescenza cheese. *International dairy journal* 15:693-700.
 - Crescenza는 산도가 낮고, 단백질 분해가 제한되며, 쓴맛이 없을 때 신선도가 유지된다. 본 연구에서는 FT-NIR과 FT-IR 분광분석법을 이용하여 신선도 유지의 저장 수명을 평가하였다. 치즈 시료는 20일 간 다른 시간에 분석하였다. 스펙트럼 데이터는 12000 ~ 4000 cm^{-1} 영역에서는 광섬유를 이용하여 FT-NIR 스펙트로미터로 측정하였으며, 4000 ~ 700 cm^{-1} 영역에서는 ATR 셀을 이용하여 FT-IR 스펙트로미터로 측정하였다. 주성분분석으로 Crescenza의 신선도 감소를 예측할 수 있으며, 저장 기간의 한계를 정할 수 있다. 이 결과는 선행 연구와 물리화학, 화학적 실험 결과와 일치했다. 유성분과 관련된 주요 흡수 영역을 선정하였으며, IR 스펙트로미터를 아용하면 전체 품질에 대한 프로필이 신속하게 나오는 이점이 있다.

- Chen, J. Y., C. Iyo, and S. Kawano. 1999. Development of calibration with sample cell compensation for determining the fat content of unhomogenised

raw milk by a simple near infrared transmittance method. J. near infrared spectrosc 7:265-273.

- 시료 셀 역할을 하는 테스트 튜브와 시료의 온도조절이 가능한 샘플홀더를 이용한 비균질 원유의 근적외선 간편 측정법을 개발하여 비교하였다. 영양상태가 다른 8마리의 젖소에서 154개의 비균질 원유 시료를 수집하여 40 °C에서 700 ~ 1,100 nm영역의 스펙트럼을 측정하였다. 테스트 튜브와 시료의 온도조절이 가능한 샘플홀더의 두 가지 방법에 대해 각각 부분최소자승법으로 예측모델을 개발하고 유효성 검증을 한 결과 독립된 시료 셀로서의 테스트 튜브를 이용한 경우가 교차 검증 상관계수 0.99와 검증부 오차 0.19의 뛰어난 지방 예측 성능을 나타냈다.

○ Laporte, M. F. and P. Paquin. 1999. Near-infrared analysis of fat, protein, and casein in cow's milk. Food chem. 47:2600-2605.

- 근적외선 분광법으로 원유의 지방, 조단백질, 순단백질, 카제인 함량을 예측하였다. 96개의 균질 시료와 비균질 시료로 예측모델을 개발한 결과 교정부 오차는 지방이 0.12, 조단백질이 0.06, 순단백질이 0.04, 카제인이 0.05로 나타났으며, 모델의 예측성능을 검증한 결과 검증부 오차가 지방은 0.07, 조단백질과 카제인은 0.06, 순단백질은 0.05로 나타나 전체적인 시료로 개발한 모델의 예측성능이 비균질 시료만으로 개발한 모델보다 성능이 뛰어남을 알 수 있다. 근적외선 분광법은 적은 수의 데이터로도 원유의 지방과 질소성분의 예측이 가능하다고 보고하였다.

○ Laporte, M. F., R. Martel, and P. Paquin. 1998. The near-infrared optic probe for monitoring rennet coagulation in cow's milk. Int. dairy journal 8(7):659-666.

- 근적외선 광섬유를 이용하여 수집된 원유의 응고를 모니터링 하여 코어굴로미터와 비교하였다. 2분 간격으로 1,100 ~ 2,500 nm영역의 스펙트럼을 응고가 난 후 50분까지 측정하였다. 측정된 스펙트럼을 2차 미분하여 부분최소자승법(PLS)으로 예측모델을 개발한 결과 교정부 오차와 교정부 상관계수는 각각 0.20, 0.94로 나타났으며, 모델의 예측성능을 검증한 결과 검증부 오차와 검증부 상관계수는 각

각 0.36과 0.87로 나타났다. 근적외선 분광분석법으로 원유의 응고를 모니터링하는 것이 가능하였으며, 코어글로미터보다 더 좋은 성능을 나타냄을 알 수 있다.

○ Otero, J. L. R. and M. hermida. 1996. Analysis of fermented milk products by near-infrared reflectance spectroscopy. Journal of AOAC international 79(3):817-821.

- 근적외선 분광법으로 가공된 우유의 지방, 단백질, 총고형분 함량을 예측하였다. 원유, 탈지유, 풍미를 가미한 우유, 풍미가 추가된 우유, 풍미가 추가되지 않은 우유 등 다양한 상태의 우유시료 107개를 수집하여 수정 부분최소자승법으로 유성분의 예측모델을 개발하였다. 모든 종류의 시료를 사용하여 예측모델을 개발한 결과, 일정 부분을 사용한 경우보다 좋은 예측 결과를 보였다. 지방의 경우 교정부 오차가 0.071, 단백질은 0.075, 총고형분은 0.083으로 나타났으며, 결정계수는 각각 0.997, 0.981, 1.000으로 나타났다. 개발된 예측 모델 유사한 종류의 34개 시료로 유효성 검증을 한 결과 검증부 오차가 지방은 0.08, 단백질은 0.14, 총고형분은 0.25로 나타났으며, 검증부 결정계수는 지방과 총고형분은 1, 단백질은 0.94로 나타나 국제 낙농협회의 128항에 의해 상용화된 장비와 근적외선 분광법을 비교했을 때, 큰 차이가 없다고 보고하였다.

○ Pravdova, V., B. Walczak, D.L. Massart, S. Kawano, K. Toyoda, R. Tsenkova. 2001. Calibration of somatic cell count in milk based on near-infrared spectroscopy. Analytica chimica acta 450(1-2):131-141.

- 원유시료를 수집하여 400 ~ 1,100 nm 영역의 스펙트럼을 측정하여 체세포수를 예측하였다. 수집된 원유시료의 체세포수는 상용화된 체세포수 측정기(Somacount)를 이용하여 측정하여 측정된 스펙트럼과의 상관관계를 구명하였다. 이때 기존의 부분최소자승(PLS)의 예측성능을 높이기 위해 자동으로 불필요한 시료의 삭제가 가능한 변형된 UVE-PLS 방법을 사용하여 개발된 모델의 예측성능을 향상 시켰다.

- Purnomoadi, A., K. K. Batajoo, K. Ueda, and F. Terada. 1999. Influence of feed source on determination of fat and protein in milk by near-infrared spectroscopy. *International dairy journal* 9(7):447-452.
 - 우유 시료 506개를 수집하고여 교정부와 검증부로 나누어 근적외선 분광법으로 시료의 스펙트럼을 측정하여 사료에 의해 공급되는 단백질 양이 우유의 지방, 단백질의 함량에 미치는 영향에 대해 분석하였다. 예측모델을 만들어 검증한 결과 지방 함량은 사료의 영향을 받지 않는 반면에 단백질 함량은 사료에 의한 단백질 공급량에 따라 높은 상관관계를 나타냈다.

- Richmond, J. C. 1995. On-line milk analysis by NIR. *Trends in food science & technology* 6:419.
 - 실시간 우유 분석을 위한 근적외선 분광법에 대한 방법론을 제시한 연구로 수집된 우유에서 시료를 채취하여 시료에 포함된 지방, 단백질, 백혈구의 양을 선형회귀식으로 예측하기 위해 반사 스펙트럼으로 측정하는 방법론을 제시하고 있다.

- Robert, P., D. Bertrand, and M. F. Devaux. 2005. Multivariate analysis applied to near-infrared spectra of milk. *Anal. chem.* 59:2187-2191.
 - 물의 흡수가 지방, 단백질, 유당의 흡수에 비해 매우 크고, 불수용 지방에 의한 스펙트럼의 왜곡 때문에 근적외선 분광법으로 우유를 분석하기에는 어려움이 있어 이를 해결하기 위해서는 1차 및 2차 미분 등의 다양한 수처리 방법 및 알고리즘의 개발이 필요하다고 보고하였다.

- Schmilovitch, Z., I. Shmulevich, A. Notea, and E. Maltz. 2000. Near infrared spectrometry of milk in its heterogeneous state. *Computers and electronics in agriculture* 29(3):195-207.
 - 다양한 상태의 원유 시료를 이용하여 스펙트럼을 측정하였으며 각각의 지방 예측 모델을 개발함으로써 시뮬레이션 모델에서만 평가되고 설명될 수 있었던 다양한 액체의 평가 기술에 대한 기초를 제시하였다.

- Tsenkova, R., S. Atanassova, K. Toyoda, Y. Ozaki, K. Itoh, and T. Fearn. 1999. Near-infrared spectroscopy for dairy management: Measurement of unhomogenized milk Composition. *J. dairy sci.* 82:2344-2351.
 - 착유과정 중 온라인 우유의 지방, 총 단백질, 유당의 함량 측정에 근적외선 분광 분석법을 적용하기 위해 스펙트럼 영역과 투과길이, 스펙트럼 데이터 처리법에 대한 연구를 수행하였다. 착유과정의 각 단계에서 258개의 시료를 수집하여 400 ~ 2,500 nm 영역에서 투과길이를 변화하며 투과도를 측정하여 다양한 수처리 방법으로 분석한 결과 유당을 제외한 지방과 총 단백질은 투과길이 1 mm로 측정한 데이터를 1차미분하여 1,100 ~ 2,400 nm에서 분석했을 때 결과가 가장 좋았으며, 700 ~ 1,100 nm 영역에서 지방은 10 mm일 때, 총 단백질은 1 mm 일 때도 유사한 결과를 보여 값싼 700 ~ 1,100 nm 영역의 스펙트럼 측정이 가능한 검출기를 사용할 수 있을 것이라고 보고했다.

- Tsenkova, R., S. Atanassova, Y. Ozaki, K. Toyoda, and K. Itoh. 2001. Near-infrared spectroscopy for biomonitoring: influence of somatic cell count on cow's milk composition analysis. *International dairy journal* 11(10):779-783.
 - 체세포수의 함량에 따른 근적외선 분광분석의 지방, 단백질, 유당 함유량의 예측 성능에 미치는 영향에 대하여 연구를 수행하였다. 모두 258개의 우유 샘플을 700 ~ 1,100 nm 영역에서 투과도를 측정하여 상용화된 유성분 분석 장비 (Milkoscan)와 비교하였다. 모델 개발과 검증에 체세포수가 적은 시료의 데이터를 사용했을 경우 지방, 단백질, 유당의 예측결과가 좋았으나 체세포수가 많은 우유 시료는 지방, 단백질, 유당의 모델 개발과 검증에 있어 좋지 않은 결과를 보인다고 보고했다.

제 2 절 관련특허

- Law, W. T. and R. D. Harper. 2006. Colorimetric determination of somatic cell count in milk. US 2006-512498.
 - 간단한 염색법을 이용하여 우유시료 내의 백혈구의 정량 분석 시험에 대한 발명으로 새로운 시약 시스템, 분석 방법, 색도 분석이 가능한 장치를 포함

- Bohach, G. I. 2005. Methods for reducing somatic cell count in milk. US 2005-585554.
 - 젖소에 독소를 효과적으로 투여하여 우유의 체세포수를 감량하는 방법으로 아미노산 잔여물을 제거하는 변형된 이황화물인 독소를 투여하여 젖소에 면역능력을 갖게 하여 고품질의 우유를 생산하게 한다고 보고함

- Delwiche, M. J. and J. Wu. 2004. Detection of somatic cells in milk. US 2004-566077.
 - 수집된 우유의 핵산을 검출하여 단순하고 빠르며, 정확하게 체세포수의 등급을 결정하고 유방염을 진단하는 방법

- Holmertz, N. E. and E. Bosma. 2004. Method and apparatus for counting somatic cells or fat droplets in milk. US 2004-540478.
 - 착유기로 착유하는 동안에 착유된 우유를 측정홀더에서 빛을 조사하여 2차원 영상을 획득하여 영상처리를 통해 온라인으로 우유에 포함된 체세포수나 유지 덩어리를 측정하는 방법

- Claycomb, R. W. and D. S. Whyte. 2004. Mastitis detection. US 2004-920408.
 - 우유시료에 세제를 첨가하여 시료의 점성이 증가하는 것으로 유방염을 진단하는 우유 분석방법과 장치로 혼합 시료의 점성이 증가하면 체세포에 따라 점성이 증가하는 특성을 이용한 방법으로 젖소의 유방염 유무를 진단

- Eckersall, P. D., J. L. Fitzpatrick, A. M. Nolan, and C. McComb. 2000. Assays for mastitis detecting haptoglobin in milk. US 2000-110556.
 - Haptoglobin 항체를 이용하여 우유의 Hp를 검출하는 평가방법으로 우유의 품질을 평가하거나 젖소의 유방염을 진단

- Davis, S., C. G. Prosser, G. D. Nicholas, J. Lee, A. L. Hart, and V. C. Farr. 2000. Mastitis detection method. US 2000-979981.
 - 동물의 젖을 수집하여 비호기성 환경에서 생성되는 물질을 분석하는 우유 시험법으로 생성되는 물질의 수준에 따라 동물의 유방염을 진단하는 방법에 관한 발명

- Oliveira, A. F. A. 2000. Tube with special scale intended for tests which analyze somatic cell count in milk. US 2000-617084.
 - 우유의 체세포수 측정을 위해 제작된 튜브에 관한 발명으로 이 튜브는 폴리에틸렌 합성수지로 제작되었으며 우유 1 mL 당 최소 14만 개 단위로 측정이 가능

- Mangan, S. L. 1999. Somatic cell analyser. EP 99904662.
 - 온라인 체세포 분석기와 체세포수 측정 방법에 대한 발명으로 우유 튜브를 통해 샘플홀더에 일정량의 시료를 공급하여 샘플홀더 내에 두 개의 전극으로 나트륨이온 수에 의한 전기적 신호를 측정하는 방법으로 우유의 체세포 등급 판정 및 젖소의 유방염을 진단이 가능

- Corby, M. P. 1991. Somatic cell counts. EP 91307752.
 - 우유에 과산화수소를 첨가한 후, 모세관 튜브에 의해 측정되는 특성이 있는 방출기체를 측정하여 우유 내 체세포의 함유량 결정하는 방법

제 3 절 웹사이트

1. 해외 논문 검색 사이트

<http://ddod.riss4u.net/ddodservice/index.jsp>
<http://apps.isiknowledge.com/>
<http://newfirstsearch.oclc.org/>
http://www.elsevier.com/wps/find/homepage.cws_home
<http://www.ndsl.or.kr/eng/newindex.html>
<http://www.sciencedirect.com/>
<http://highwire.stanford.edu/>
<http://www.sciam.com/>
<http://www.cs.wisc.edu/dbworld/>
<http://www.il.proquest.com/>
<http://www.informatik.uni-trier.de/~ley/db/>

2. 해외 특허 검색 사이트

<http://search.wips.co.kr/>
<http://www.invention-iffia.ch/>
<http://www.dagostini.it/patclass/patclass>
<http://www.uspto.gov/>
<http://www.library.ubc.ca/patscan/>
<http://www.epo.org/>
<http://www.dialogweb.com/>
<http://www.derwent.co.uk/>
http://www.nal.usda.gov/bic/biotech_patents/
<http://www.japio.or.jp/english/index.html>

3. 기타 참고 사이트

<http://www.dairy.or.kr/> (낙농진흥회)
<http://www.naknong.or.kr/> (한국낙농육우협회)
<http://www.kosfa.or.kr/> (한국축산식품학회)
<http://www.kicfeed.com/> (고려산업주식회사)
<http://www.chuksannews.co.kr/> (축산뉴스)
<http://www.chukkyung.co.kr/> (축산경제신문)
<http://www.nongmin.com/> (농민신문)
<http://agrinet.co.kr/> (디지털농어민)
<http://www.kslhe.org/> (한국축산시설환경학회)
<http://www.kalm.or.kr/> (한국축산경영학회)
<http://www.ikpnews.net/> (한국농정신문)
<http://www.palnews.co.kr/> (전업농신문)
<http://www.nongupin.co.kr/> (농업인신문)
<http://www.foss.co.kr/> (포스코리아)
<http://www.fil-idf.org/> (국제낙농연맹)
<http://www.usda.gov/> (미농무부)
<http://www.usdec.org/korea/> (미국유제품품협의회)
<http://www.dairy.co.jp/> (일본중앙낙농회의)
<http://www.maf.govt.nz/> (뉴질랜드농림부)
<http://www.mmm.fi/> (핀란드 농림부)
<http://agis.nlri.go.kr/> (축산과학원)
<http://www.niab.go.kr/> (농업생명공학연구원)
<http://www.niae.go.kr/> (농업공학연구소)
<http://icnirs.cra.wallonie.be/> (ICNIRS)

제 7 장 참고문헌

1. Ahmad, I. and V. K. Jindal. 2006. An automatic procedure for rapid online estimation of raw milk quality. *LWT* 39:431-435.
2. Ampuero, S. and J. O. Bosset. 2003. The electronic nose applied to dairy products: a review. *Sensors and actuators B: chemical* 94(1):1-12.
3. Atroshi, F. A., R. Kangasniemi, S. Sankari, T. Tyopponen, T. Osterman, and J. Parantainen. 1989. Role of plasma fatty acid, prostaglandins and antioxidant balance in bovine mastitis. *J. vet. med.* 36:702.
4. Baer, R. J., J. F. Frank, and M. Loewenstein. 1983. Compositional analysis of nonfat dry milk by using near infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Anal. chem.* 66(4):858-863.
5. Barabassy, S. 2001. The application of near infrared spectroscopy (NIR) technique for non-destructive investigation of mixed milk powder products. *Mljekarstvo* 51(3):263-272.
6. Bartle, C. M. 1994. Measurement of the composition of dairy products using the neutron/gamma transmission (NEUGAT) method. *Applied Radiation and Isotopes* 45(10):1039-1045.
7. Beaudeau, F., C. Fourichon, A. Robert, A. Joly, and H. Seegers. 2005. Bulk milk somatic cell counts and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in 7252 dairy herds in Brittany (western France). *Preventive veterinary*

medicine 72:163–167.

8. Berglund, I., G. Pettersson, and K. Svennersten-Sjaunja. 2002. Automatic milking: effects on somatic cell count and teat end-quality. *Livestock production science* 78:115–124.
9. Boguslawski C. M., K. Murayama, R. O., and Y. Tsenkova. 1999. Analysis of near-infrared spectra of complicated biological fluids by two-dimensional correlation spectroscopy: Protein and fat concentration-dependent spectral changes of milk. *Applied spectroscopy* 53(12):13
10. Børsting, C. F., T. Kristensen, L. Misciattelli, T. Hvelplund, and M. R. Weisbjerg. 2003. Reducing nitrogen surplus from dairy farms. Effects of feeding and management. *Livestock production science* 83(2–3):165–178.
11. Brennan, D., J. Alderman, L. Sattler, B. O'Connor, and C. O'Mathuna. 2003. Issues in development of NIR micro spectrometer system for on-line process monitoring of milk product. *Measurement* 33(1):67–74.
12. Bruno-Soares, A. M., I. Murray, R. M. Paterson, and J. M. F. Abreu. 1998. Use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the prediction of the chemical composition and nutritional attributes of green crop cereals. *Animal feed science and technology* 75(1):15–25.
13. Castillo, M., F. A. Payne, C. L. Hicks, J. Laencina, and M. B. Lopez. 2002. Effect of calcium and enzyme in cutting time prediction of coagulating goats' milk using a light scattering sensor. *International dairy journal* 12:1019–1023.

14. Cattaneo, T. M. P., C. Giardina, N. Sinelli, M. Riva, and R. Giangiacomo. 2004. Application of FT-NIR and FT-IR spectroscopy to study the shelf-life of Crescenza cheese. *International dairy journal* 15:693-700.
15. Chen, J. Y., C. Iyo, and S. Kawano. 1999. Development of calibration with sample cell compensation for determining the fat content of unhomogenised raw milk by a simple near infrared transmittance method. *J. near infrared spectrosc* 7:265-273.
16. Contreras, A., R. E. Miranda, A. Sanchez, C. de la Fea, D. Sierra, C. Luengo, and J. C. Corrales. 2008. Presence of *Mycoplasma* species and somatic cell counts in bulk-tank goat milk. *Small ruminant research* 75:247-251.
17. Craven, N. and M. R. Williams. 1985. Defenses of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancements. *Vet. Immunopath* 2:71.
18. Crittenden, R. G. and M. J. Playne. 1996. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in food science & technology* 71:353-361.
19. Eknaes, M., K. Kolstad, H. Volden, and K. Hove. 2006. Changes in body reserves and milk quality throughout lactation in dairy goats. *Small Ruminant Research* 63:1-11.
20. Erskine, R. J., R. J. Eberhart, P. J. Grasso, and R. W. Scholz. 1989. Induction of *Escherichia coli* mastitis in cows fed selenium-deficient or

selenium-supplemented diets. *Am. J. Vet* 50:2093.

21. Friggens, N. C. and M. D. Rasmussen. 2001. Milk quality assessment in automatic milking systems: accounting for the effects of variable intervals between milkings on milk composition. *Livestock production science* 73:45-54.
22. Gargouri, A., H. Hamed, and A. E. Feki. 2008. Total and differential bulk cow milk somatic cell counts and their relation with lipolysis. *Livestock science* 113:274-279.
23. Gary, H. R. 1985. *Standard methods for the examination of dairy products*. APHA.
24. Giangiacomo, R., R. Lizzano, S. Barzaghi, T. M. P. Cattaneo, and A. S. Barros. 1998. NIR and other luminometric methods to monitor the primary clotting phase of milk. *Journal of near infrared spectroscopy*. 6(1):205.
25. Green, L. E., Y. H. Schukken, and M. J. Green, 2006. On distinguishing cause and consequence: Do high somatic cell counts lead to lower milk yield or does high milk yield lead to lower somatic cell count?. *Preventive veterinary medicine* 76:74-89.
26. Green, M. J., P. R. Burton, L. E. Green, Y. H. Schukken, A. J. Bradley, E. J. Peeler, and G. F. Medley. 2004. The use of Markov chain Monte Carlo for analysis of correlated binary data: patterns of somatic cells in milk and the risk of clinical mastitis in dairy cows. *Preventive veterinary medicine* 64:157-174.

27. Haenlein, G. F. W. 2002. Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity. *Small ruminant research* 45:163-178.
28. Hamed, H., A. E. Feki, and A. Gargouri. 2008. Total and differential bulk cow milk somatic cell counts and their relation with antioxidant factors. *C. R. Biologies* 331:144-151.
29. Hejazi, M. A. and R. H. Wijffels. 2004. Milking of microalgae. *Trends in biotechnology* 22(4):189-194.
30. Huang, J., D. Brennan, L. Sattler, J. Alderman, B. Lane, and C. O'Mathuna. 2002. A comparison of calibration methods based on calibration data size and robustness, *Chemometrics and intelligent laboratory systems* 62(1):25-35.
31. Jose, L. and R. Otero. 1996. Analysis of fermented milk products by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of AOAC International* 79(3).
32. Kao, C. H., J. Mengaud, J. C. Gripon, L. Benbadis, and M. P. Chapot-Chartier. 1999. The autolysis of streptococcus thermophilus DN-001065 is triggered by several food-grade environmental signals. *International dairy journal* 9:715-723.
33. Laporte, M F. and P. Paquin. 1999. Near-infrared analysis of fat, protein, and casein in cow's milk. *Food chem.* 47:2600-2605.

34. Laporte, M. F., R. Martel, and P. Paquin. 1998. The near-infrared optic probe for monitoring rennet coagulation in cow's milk. *International dairy journal* 8(7):659-666.
35. Lein, C. C. and Y. N. Wan. 2000. The nondestructive detection of dairy cow mastitis by electrical conductivity. ASAE Paper No. 006114.
36. Leitner, G., M. Chaffer, Y. Caraso, E. Ezra, D. Kababea, M. Winkler, A. Glickman, and A. Saran. 2003. Udder infection and milk somatic cell count, NAGase activity and milk composition—fat, protein and lactose—in Israeli-Assaf and Awassi sheep. *Small ruminant research* 49:157-164.
37. Leitner, G., N. Silanikove, and U. Merin. 2008. Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small ruminant research* 74:221-225.
38. Mansson, H. L., C. Branning, G. Alden, and M. Paulsson. Relationship between somatic cell count, individual leukocyte populations and milk components in bovine udder quarter milk. *International dairy journal* 16:717-727.
39. Maraboli, A., T. M. Cattaneo, and R. P. Giangiacomo. 2002. Detection of vegetable proteins from soy, pea and wheat isolates in milk powder by near infrared spectroscopy. *Journal of near infrared spectroscopy* 10(1):63-70.
40. O'Callaghan, D. J., C. P. O'Donnell, and F. A. Payne. 2000. On-line sensing techniques for coagulum setting in renneted milks. *Journal of food*

engineering 43:155-165.

41. Otero, J. L. R. and M. hermida. 1996. Analysis of fermented milk products by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of AOAC international* 79(3):817-821.
42. Paape, M. J., G. R. Wiggans, D. D. Bannerman, D. L. Thomas, A. H. Sanders, A. Contreras, P. Moroni, and R. H. Miller. 2007. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small ruminant research* 68:114-125.
43. Paradkar, M. and J. M. Irudayaraj. 2002. Determination of cholesterol in dairy products by infrared techniques. II. FT-NIR method. *International journal of dairy technology* 55(3):133-138.
44. Pravdova, V., B. Walczak, D. L. Massart, S. Kawano, K. Toyoda, and R. Tsenkova. 2001. Calibration of somatic cell in milk based on near-infrared spectroscopy. *Analytica chimica acta* 450(1-2):131-141.
45. Pulina, G., A. Nudda, G. Battacone, and A. Cannas. 2006. Effects of nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, aromatic compounds, and undesirable substances in sheep milk. *Animal feed science and technology* 131:255-291.
46. Purnomoadi, A., K. K. Batajoo, K. Ueda, and F. Terada. 1999. Influence of feed source on determination of fat and protein in milk by near-infrared spectroscopy. *International dairy journal* 9(7):447-452.
47. Quintanaa, A. M. V., E. B. Mano, and I. Revilla. 2006. Relationship

between somatic cell counts and the properties of yoghurt made from ewes' milk. *International dairy journal* 16:262–267.

48. Richmond, J. C. 1995. On-line milk analysis by NIR. *Trends in food science & technology* 6:419.
49. Robert, P., D. Bertrand, and M. F. Devaux. 2005. Multivariate analysis applied to near-infrared spectra of milk. *Anal. chem.* 59:2187–2191.
50. Saputra, D., C. L. Hicks, and F. A. Payne. 1994. Analysis of enzymatic hydrolysis of Kappa-casein in milk using diffuse reflectance of near-infrared radiation. *Transactions of the ASAE* 37(66):1947–1955.
51. Sasic, S. and Y. Ozaki. 2000. Band assignment of near-infrared spectra of milk by use of partial least-squares regression. *Applied spectroscopy* 54(9):1327–1338.
52. Sasic, S. and Y. Ozaki. 2001. Comparison of principal component analysis and generalized two-dimensional correlation spectroscopy: Spectral analysis of synthetic model system and near-infrared spectra of milk. *Applied spectroscopy* 55(1): 29–38.
53. Schaik, G., L. E. Green, D. Guzman, H. Esparzab, and N. Tadich. 2002. Risk factors for bulk milk somatic cell counts and total bacterial counts in smallholder dairy farms in the 10th region of Chile. *Small ruminant research* 45:163–178.
54. Schmilovitch, Z., I. Shmulevich, A. Notea, and E. Maltz. 2000. Near

infrared spectrometry of milk in its heterogeneous state. *Computers and electronics in agriculture* 29(3):195-207.

55. Schukken, Y. H., K. E. Leslie, T. J. Lam, and J. Sol. 1993. *Staphylococcus aureus*; incidence, prevalence and risk factors for intramammary infection. *Proc. national mastitis council ann. Mtg.* 19.
56. Serrano, M., M. D. Perez-Guzman, V. Montoro, and J. J. Jurado. 2003. Genetic analysis of somatic cell count and milk traits in Manchega ewes mean lactation and test-day approaches. *Livestock production science* 84:1-10.
57. Sinapis, E., K. Diamantopoulos, Z. Abas, and I. Vlachos. 2006. Effect of vacuum level on milking efficiency, somatic cell counts (SCC) and teat end wall thickness in ewes of Greek mountain Boutsiko breed. *Livestock science* 104:128-134.
58. Sivakesava, S. and J. Irudayaraj. 2002. Rapid determination of tetracycline in milk by FT-MIR and FT-NIR Spectroscopy. *Journal of dairy science* 85(3):487-493.
59. Sjaunja, K. S., L. O. Sjaunja, J. Bertilsson, H. Wiktorsson. 1997. Use of regular milking records versus daily records for nutrition and other kinds of management. *Livestock production science* 48:167-174.
60. Soaresa, A. M. B., I. Murrayb, R. M. Patersonb, and J. M. F. Abreu. 1998. Use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the prediction of the chemical composition and nutritional attributes of green crop cereals.

Animal feed science and technology 75:15–25.

61. Spencer, S. B. 2000. New developments for use of data acquisition for milking system analysis. ASAE paper No. 003013.
62. Suriyasathaporn, W., U. Vinitketkumnuen, T. Chewonarin, S. Boonyayatra, K. Kreausukon, and Y. H. Schukken. 2006. Higher somatic cell counts resulted in higher malondialdehyde concentrations in raw cows' milk. *International dairy journal* 16:1088–1091.
63. Tsenkova, R., S. Atanassova, K. Toyoda, Y. Ozaki, K. Itoh, and T. Fearn. 1999. Near-infrared spectroscopy for dairy management: Measurement of unhomogenized milk Composition. *J. dairy sci.* 82:2344–2351.
64. Tsenkova, R., S. Atanassova, S. Kawano, and K. Toyoda. 2001. Somatic cell count determination in cow's milk by near-infrared spectroscopy; A new diagnostic tool. *Journal of animal science* 79(10):2550–2557.
65. Tsenkova, R., S. Atanassova, Y. Ozaki, K. Toyoda, and K. Itoh. 2001. Near-infrared spectroscopy for biomonitoring: influence of somatic cell count on cow's milk composition analysis. *International dairy journal* 11(10):779–783.
66. Wicks, H. C. F. and J. D. Leaver. 2006. Influence of genetic merit and environment on somatic cell counts of Holstein-Friesian cows. *The veterinary journal* 172:52–57.
67. Wilson, R. H., P. K. Madsen, M. Defernez, and H. S. Tapp. 2000. A

preliminary study of optothermal spectroscopy: A potential near infrared sample presentation method for the analysis of milk. *Journal of near infrared spectroscopy* 8(4):267-272.

68. Windig, J. J., M. P. L. Calus, G. de Jong, and R. F. Veerkamp. 2005. The association between somatic cell count patterns and milk production prior to mastitis. *Livestock production science* 96:291-299.
69. Wu, J. Y., M. J. Delwiche, J. Cullor, and W. Smith. 2005. Deoxyribonucleic acid sensor for the detection of somatic cells in bovine milk. *Biosystems engineering* 90(2):143-151.
70. Ying, C., H. T. Wang, and J. T. Hsu. 2002. Relationship of somatic cell count, physical, chemical and enzymatic properties to the bacterial standard plate count in dairy goat milk. *Livestock production science* 74:63-77.
71. 강국희, 정충일. 1994. 원유의 세균수 등급제 실시 이후의 품질 변화. *한국축산식품학회지* 14(2):258-261.
72. 강국희. 1988. 우유의 품질과 위생에 대한 문제점과 대책. *한국식품위생학회 제2회 학술심포지엄*.
73. 강국희. 1993. 우유의 신속한 세균수 측정법. *유가공연구* 11(1):1-16.
74. 강현미, 정충일, 정동관. 1994. Bactometer를 이용한 원유의 총균수 및 저온성균수 측정. *한국낙농학회지* 16(4):361-368.
75. 김대중, 정충일. 1993. 국산 원유의 미생물학적 품질개선에 관한 연구. *한국낙농*

학회지 15(2):95-102.

76. 김영봉, 이무하. 1997. 축산물 및 가공: 신선육의 성분 분석을 위한 근적외분광 (NIR) 분석법의 이용. 한국동물자원과학회지 39(1):77-92.
77. 김종욱, 김내수. 1980. 원유의 유질개선에 관한 연구-청주근교의 유질을 중심으로-. 한국축산학회지 22(6):477-486.
78. 김현욱. 1999. 유가공학. 선진문화사.
79. 남은숙. 1995. 원유 미생물의 분포 및 원유 품질에 관한 연구-. Malthus를 이용한 원유 세균수 측정. 성균관대학교 대학원 낙농공학과 유가공 및 식품학 전공.
80. 노상호. 1999. 체세포수 30만 미만을 유지하기 위한 목장 사양관리 방안. 한국유질. 유방염 연구회 심포지움 프로시딩 pp. 75-125.
81. 보건복지부. 2001. NIR을 이용한 휴대용 다용도 약품분석기 개발.
82. 생유검사협회. 1993. 북해도의 생유. 일본 북해도 생유검사협회.
83. 손봉환. 1991. 원유의 질과 유방염관계. 한국유가공 연구 8(2):66-87.
84. 이재구. 1990. 우유 및 유제품 검사. 선진문화사.
85. 이종택, 박승용, 권일경, 김현욱. 1983. 한국산 납유 원유의 품질에 관한 연구. 한국축산학회지 5(1):22-28.
86. 이현종, 양승주, 박희석, 윤영빈. 1987. 제주산 원유의 유질 개선에 관한 연구(1). 1) 원유의 화학적, 미생물학적 품질. 한국축산학회지 9(2):65-72.

87. 임상동, 김기성, 박우문. 1992. 국내 원유의 미생물 품질 실태와 RRT법을 응용한 신속 미생물 검사에 관한 연구. 식품기술학회지 5(4):29-35.
88. 장영호, 김희소, 이돈성, 김현욱. 1985. 축산물 및 가공: 한국산 holstein 우유의 성분에 관한 연구. 한국낙농학회지 7:194-200.
89. 정충일, 강국희. 1999. 우유 유제품 미생물학. 유한문화사.
90. 최현식, 남은숙, 강현미, 정충일. 1998. 낙농지도가 원유의 위생적 품질에 미치는 영향. 한국낙농학회지 20(1):45-52.
91. 한국유가공기술과학회. 1997. 우유 유제품 시험법. 선진문화사.

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.