

노상하

서울대학교 생물자원공학부

서론

곡물, 청과물, 육류 등 농축산물을 구성하는 유기물의 원자단이 적외선영역의 파장을 선택적으로 흡수하는 특성을 이용하여 적외선 특히, 중적외선 영역의 흡광특성을 이용한 성분분석법이 사용되어 왔다. 이와 같은 분석법은 유기물에 의한 중적외선 영역의 흡광도가 높고 산란특성이 상대적으로 강하기 때문에 유용한 스펙트럼 정보를 얻기 위해 시료의 투과거리, 투명성 및 농도에 제한을 받는다. 따라서 중적외선을 이용하는 기존의 분석법은 정밀도는 높지만 시료의 전처리가 요구되며, 분석시간이 오래 걸리는 단점이 있다.

농산물 및 식품 가공기술의 발전과 더불어 가공품의 품질을 향상시키기 위해 현장에서 원료 및 가공품의 품질을 신속하게 측정하는 기술이 요구되어 왔다. 또한 최근에는 수확된 농산물의 상품가치 향상을 위해 산지에 설치된 청과물 선별·포장센터에서 농산물의 당도, 산도, 내부결함 등 내부품질을 비파괴적으로 신속하게 판별하는 선별기술이 요구되고 있다. 이와 같은 요구에 부응하기 위해 시료의 전처리가 요구되지 않는 근적외 분광분석법이 개발 보급되기 시작하였다.

본 주제에서는 근적외 분광분석기술의 특징 및 응용분야, 농산물을 대상으로 한 분광스펙트럼 측정 및 분석방법에 대해 살펴보고, 과실의 내부품질 판별을 목적으로 개발된 선별장치의 연구결과를 소개하고자 한다.

근적외선 분광법의 특징 및 응용

유기물을 구성하는 -OH, -CH, -NH 및 C=O 등과 같은 작용기가 흡수하는 기본 흡수파장은 주로 중적외선 영역에 존재하며, 이들 작용기의 배음대 및 결합대에 해당하는 흡수 파장은 근적외선 대역에 존재한다. 따라서 어떤 유기물을 대상으로 측정할 근적외선 대역의 반사 또는 투과스펙트럼을 이용하여 그 물질의 성분을 분석할 수 있다.

일반적으로 적외 복사선이 물질을 투과할 때 파장이 짧을수록 흡광도는 감소하고 흡수 띠나비(absorption bandwith)와 투과거리(pathlength)는 증가한다. 결합대와 배음대가 나타나는 근적외선 영역의 흡광도는 기본 흡수에 기인하는 중적외선 영역의 흡광도의 1/10 ~ 1/10000 정도에 불과하며, 유기물 분자의 흡수파장이 분자구조가 복잡할수록 흡수 밴드가 많이 나타난다. 또한 흡수 띠나비가 넓게 나타나기 때문에 흡수밴드끼리 심하게 중첩되는 현상이 발생되기도 한다. 따라서 근적외 분광분석의 단점은

- ① 특정 성분에 기인하는 흡수대역의 분리와 정성적 분석이 어려우며,
- ② 주 흡수파장 대역에서 흡광도가 낮거나 분석대상 성분의 양이 미량일 경우 정량적인 분석이 불가능하며,
- ③ 예측회귀모델(검량식) 작성을 위해 다수의 시료가 요구된다.

한편 장점으로는

- ① 투과거리 즉 침투 깊이가 증적외선(수 μm)에 비해 길고(수 mm),
- ② 흡수 떠나비가 넓기 때문에 측정시 주파수 대역의 이동으로 인한 오차가 작고,
- ③ 투과거리가 길고 흡광도가 낮기 때문에 증적외선을 이용할 때와 같이 추출, 템퍼링, 박편 등의 특별한 시료준비가 요구되지 않으며,
- ④ 광학장비의 가격이 싸다.

근적외 분광분석법은 1960년대 초 미국 농무성의 Karl Norris에 의해 밀의 함수율 측정을 위해 처음으로 적용되었으나 위에서 열거한 단점 때문에 1980년대 이전까지는 미국과 캐나다를 중심으로 곡류의 수분, 단백질 분석 등을 위한 연구에 국한되었다. 그러나 1980년대 이후 계량화학(Chemometrics)에 의한 스펙트럼 분석법 즉 검량기법이 개발되면서 근적외 분광분석법은 새로운 분석방법으로 각광을 받기 시작하였다. 계량화학은 통계적 다변량 회귀 분석법(multivariate regression method)으로 입력 변수가 많고, 흡수 떠나비가 넓고, 층첩이 심한 특성을 갖는 근적외선 스펙트럼을 이용하여 원하는 성분의 분석을 가능하게 한다.

또한, 최근 컴퓨터산업의 발전 및 광통신 기술의 발달과 함께 농산물, 축산물, 식품, 사료 등의 주요 성분을 비파괴적으로 신속하게 측정하는 기술개발에 이용되고 있을 뿐만 아니라 화공, 제약, 화장품, 환경, 의료 및 정보통신분야에 이르기까지 응용범위가 급속히 확대되고 있다. 농업분야의 대표적인 예는 다음과 같다.

① 과실 및 과채류의 주요 성분 : 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. 일본의 경우는 최근 5대 과일(사과, 배, 복숭아, 단감, 감귤)의 당도, 산도, 숙도, 내부 결함 등을 판정하는 장치를 개발하여 보급하고 있다.

② 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. Norris등이 근적외선 분광분석법을 이용하여 밀과 콩의 함수율 측정하기 위한 연구를 처음으로 수행한 이후 함수율 뿐만 아니라 곡류의 주요성분 측정에 관한 연구가 다수 수행되었다. 그동안 산물상태의 시료를 대상으로 주요 성분의 흡수파장을 근거로 선정된 다수의 광학필터를 이용한 성분측정 장치가 개발되어 보급되고 있으며, 최근에는 곡류 단립을 대상으로 근적외 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 분석장치가 상용화되고 있다.

③ 쌀의 식미 판정: 근적외 분광스펙트럼의 패턴과 식미와의 상관관계를 이용하는 식미판정기가 개발 보급되고 있다. 일본에서는 사타케 식미계, 니레꼬 식미계, 시즈오까세기 식미분석계, 야마모도 식미분석계 등이 있으며, 국내에서는 한성공업(주)에서 개발한 Infratec이 있다.

④ 우유 및 유제품의 주요 성분: 치즈에 함유된 지방, 단백질 및 전체 고형분 함량을 근적외 분광분석법에 의해 예측하는 연구가 수행되었으며 염소젖을 치즈로 변환시키는데 중요한 casein의 함량을 측정하는데도 사용되었다. 근적외선을 이용하여 우유의 이물질이나 첨가제의 검출도 가능하다. 실제 낙농산업에서 근적외선을 이용한 대표적인 온라인 측정장치는 미국에서 상용화된 것으로 우유, 분유, 버터 및 치즈에 함유된 지방, 단백질, 수분 및

염분의 함량 측정이 가능하다.

⑤ 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 생약원료(황기, 인삼, 복령 등)에 근적외선 분광분석법을 적용하여 그 성분을 구분하고 생약의 원산지를 구별하는 연구가 수행되었다.

근적외선 분광법은 스펙트럼의 분석과 해석상의 어려움이 있지만 시료의 전처리 없이 신속하고 비파괴적으로 대상 시료의 성분을 통계적인 방법에 의해 정량적으로 분석할 수 있으므로 특히, 비파괴 품질판정 기술에 활발히 이용되고 있다.

농산물(과실)의 스펙트럼 측정

1. 농산물내의 광의 경로

농산물은 곡류, 분말류, 과실류, 채소류 등과 같이 형상, 크기, 색상, 내부조직 등이 매우 다양하다. 대상농산물의 물성에 따라 광의 반사 및 투과 경로에 차이가 있지만, 시료에 입사되는 광은 일반적으로 그림 1에서와 같이 시료로부터 반사(Reflection)되거나 흡수(Absorption) 혹은 투과(Transmission)된다. 시료로부터 입사각과 등각으로 반사되는 광을 정반사(Regular reflection, RR)라 하고 시료의 표면을 침투하여 입사광 쪽으로 다시 반사되는 광을 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, RD)라 한다. 입사된 전체 에너지(I_i)에 대한 반사된 에너지의 비율을 반사도(Reflectance)라 한다.

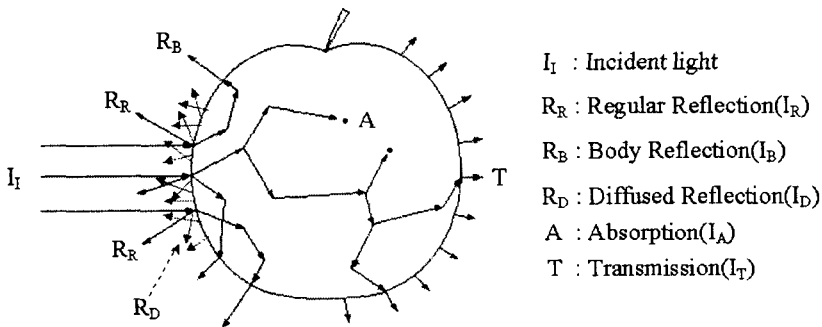


그림 1. 과실에 입사된 광의 경로

직반사의 경우 내부품질과 직접적으로 관련이 없으므로 반사도를 측정할 때 직반사를 제외시켜야 한다. 일반적으로 성분측정과 관련되는 반사도는 조사된 총 에너지에 대한 체반사(body reflection) 에너지의 비를 말하며, 이는 입사에너지의 1~80%정도 되는 것으로 보고되고 있다. 입사광이 시료의 반대쪽으로 통과하여 나오는 것을 투과라 하며, 입사된 전체 에너지에 대한 투과된 에너지의 비율은 약 $10^{-6} \sim 10^{-1}$ %에 불과하다. 또한 광이 물체 내부를

통과하면서 산란이 일어나고 성분에 의해 선택적으로 흡수된다. 흡수율은 성분의 농도, 투과 거리, 산란 등의 영향을 받는다. 농산물내의 광의 투과 메카니즘은 학술적으로 구명된 바 없다.

2. 반사 및 투과 스펙트럼 측정

1) 반사 스펙트럼 측정

스펙트럼의 측정은 측정방식에 의해 반사 및 투과 스펙트럼 측정으로 나눌 수 있다. 반사 스펙트럼은 주로 시료 표면부위의 성분 측정에 이용되며, 본체의 성분분석에 유리하다. 투과 스펙트럼 측정에 비해 상대적으로 측정 장치 및 방법이 간단하다.

그림 2는 광섬유 프로브를 이용하여 농산물의 반사스펙트럼을 측정하는 대표적인 방법이다. 이 장치에서 프로브의 설계가 안정적인 스펙트럼을 얻기위해 매우 중요하다. 프로브의 설계 원칙은 반사되는 광 중에서 체반사 만을 집광하고, 물체와 프로브와의 거리차이에 따른 스펙트럼의 강도변화를 최소화하는 것이다.

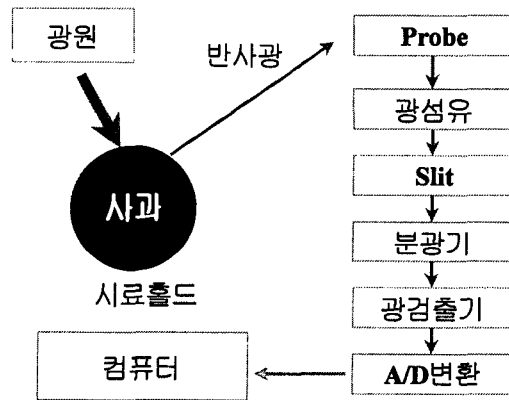


그림 2. 광섬유 프로브를 이용한 반사스펙트럼 측정

그림 3은 반사광 측정용 프로브의 일 예이다. 이 프로브는 중심부에 8개의 광섬유 묶음으로 구성되는 조명용 광섬유, 외곽에 9개의 광섬유 묶음으로 구성되는 집광용 광섬유, 집광용 광섬유로 입력된 광을 모아서 분광광도계의 슬릿으로 전달하는 집광렌즈 및 전달용 광섬유 등등으로 구성된다. 물체와 프로브와의 거리에 따른 집광량의 변화를 줄이기 위해 집광용 광섬유의 집광 면적이 조명용 광섬유의 조광 면적 내에 포함되도록 조명용 광섬유의 중심선과 입광용 광섬유와의 사이각을 약 14도로 설정되어 있다. 사과를 대상으로 스펙트럼을 측정한 결과, 이 프로브는 물체와 프로브와의 거리에 따른 스펙트럼의 강도나 형태에 큰 변화가 없는 것으로 나타났다.

2) 투과 스펙트럼 측정

투과스펙트럼은 반사스펙트럼에 비해 내부성분과 관련된 정보를 더 많이 포함하고 있어 과일과 같은 반고형체의 분석에 유리한 점이 있으나, 측정장치가 반사스펙트럼 측정장치에 비해 복잡하고, 투과광의 강도가 반사에 비해 미약하기 때문에 고감도의 센서가 요구된다. 또한 농산물의 경우 1100 nm 이상의 파장은 대부분 수분에 의해 흡수되기 때문에 현재 시점에서 판매되고 있는 검출기로는 측정이 불가능하다. 투과스펙트럼 측정의 경우 투과광 이외의 주변 광이 프로브로 전달되지 않도록 장치를 구성해야 한다.

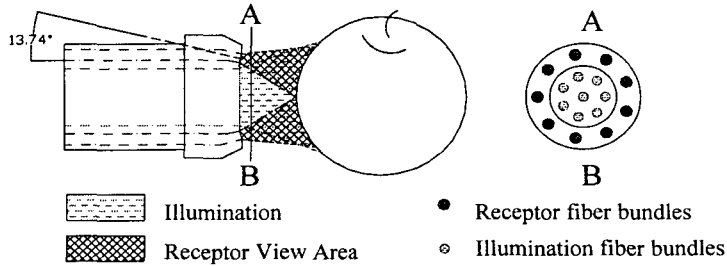


그림 3. 반사스펙트럼 측정용 광섬유 프로브

일반적으로 NIR은 농산물을 수 mm 정도 투과할 수 있는 것으로 알려져 있다, 그러나 일본에서는 과일(사과, 배, 복숭아 등)의 투과 스펙트럼을 측정하여 당도, 산도 등의 내부품질을 측정할 수 있는 선별 시스템이 이미 개발되어 현장에 보급되고 있는 실정이며, 투과 스펙트럼을 이용하여 과일의 내부품질을 측정하는 것이 반사 스펙트럼을 이용하는 것보다 정확하고 안정적인 방법으로 인식되고 있다.

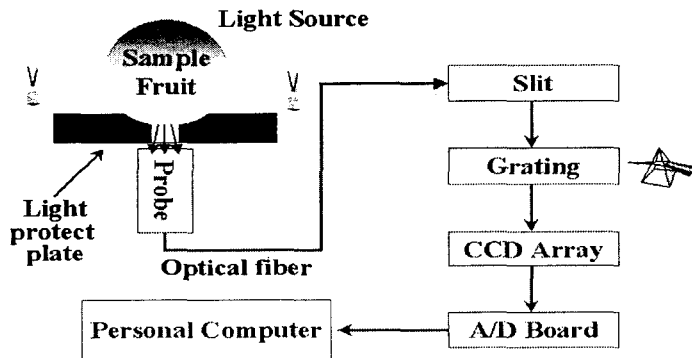


그림 4. 광섬유 프로브를 이용한 투과스펙트럼 측정

3) 온라인 품질판별시스템의 구성 요건

청과물의 선별 또는 품질평가를 위한 온라인 시스템은 비접촉 상태에서 원하는 품질인자가 거의 실시간에 측정되도록 설계되어야 한다. 청과물용 온라인 품질판별장치를 개발하기 위해서는 다음과 같은 조건이 충족되어야 한다.

- ① 비파괴 비접촉
- ② 센서가 감지할 수 있는 충분한 반사 또는 투과 광량
- ③ 대상체의 크기의 차이로 인한 프루브와 대상체 사이의 거리에 따른 영향 배제(과채류)
- ④ 대상물의 온도변화에 의한 영향 보정
- ⑤ 신속 및 정확성(초당 최소 2개 이상)

스펙트럼의 분석

반사 혹은 투과 스펙트럼 측정장치를 이용하여 측정된 스펙트럼의 일반적인 분석 순서는 그림 5와 같다.

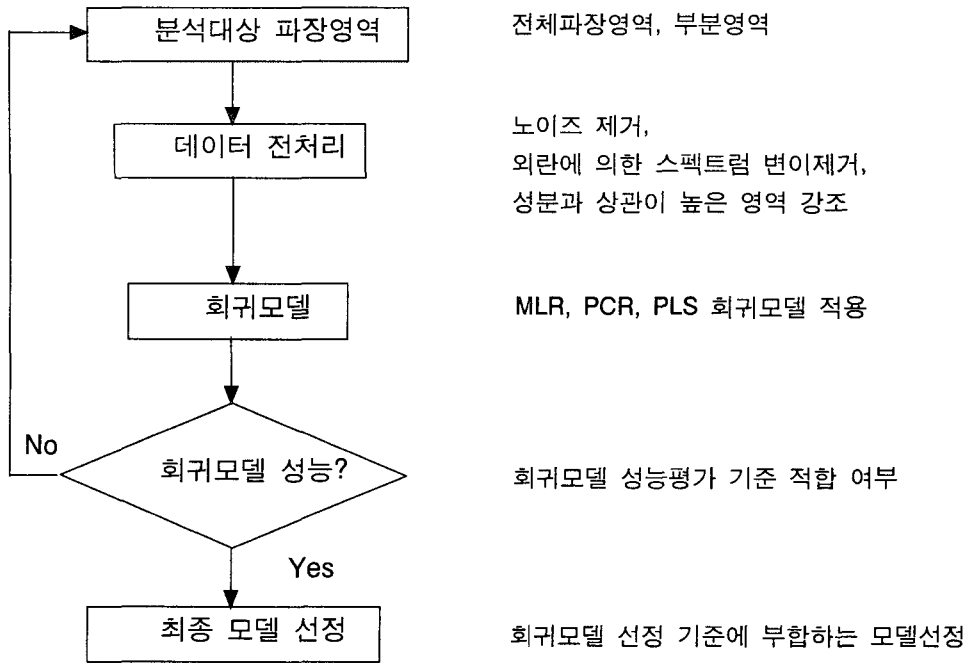


그림 5. 성분 예측 회귀모델(검량식)의 개발 과정

1. 스펙트럼 전처리

전처리의 목적은 다변량 회귀모델 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, OSC 등 여러 가지가 있다.

1) 평활화(Smoothing)

평활화는 주로 외란 요인 중에서 측정센서 자체의 노이즈를 제거하기 위한 것이다. 평활화 방법은 Savitzky-Golay Smoothing, Hanning Window, Moving Average, Fourier Transform, Wavelet Transform 등이 있다.

2) 미분

스펙트럼을 미분하는 목적은 측정시의 광원의 변화 등 측정장치의 변화에 의해 야기된 베이스라인의 이동을 제거하고, 분석 대상 성분의 스펙트럼 정보가 다른 주성분의 스펙트럼 정보에 파묻혀 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 노이즈 성분에 의한 미분효과가 나타나, 스펙트럼을 이해하기가 어렵다.

3) MSC(Multiplicative Scattering Correction)

시료의 표면 혹은 내부의 불균일성 때문에, 동일 시료를 대상으로 스펙트럼을 반복 측정할 경우 이들 스펙트럼간에 차이가 발생한다. 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 한다.

4) SNV(Standard Normal Variate)

이것은 MSC와 마찬가지로 광산란 보정을 위한 방법으로, 목적은 동일하지만 수학적 방법은 다르다. SNV는 이상적인 스펙트럼을 사용하는 대신에 각 스펙트럼을 전체 스펙트럼의 표준편차로 정규화하여 광산란의 영향을 제거하는 방법이다. 광경로나 광원의 변동에 따른 스펙트럼의 변이 등이 SNV에 의해 보정될 수 있으며, SNV보정된 스펙트럼은 무차원이 된다.

5) OSC(Orthogonal Signal Correction)

전처리를 하는 이유는 농도 정보와 상관이 없는 구조적인 변이를 제거하기 위한 것이다. 하지만 이러한 전처리는 수학적으로 일종의 필터링의 개념이며, 성분 y 는 고려하지 않고 있다. 따라서 스펙트럼에서 구조적인 노이즈를 제거할 뿐만 아니라, PCR, PLS 등을 이용하여 예측식을 만들 경우, 스펙트럼의 분산이 큰 부분만 강조하게 되어 성분과 관련된 정보도 동시에 제거되는 경향이 있다. Wold(1998)등이 스펙트럼(x)에서 성분(y)과 상관이 없는 변이만 제거하면 성분과 상관이 높은 스펙트럼 성분만 남는다는 개념을 제안하고, PLS에서 계산되는 스코어(t)를 성분 y 와 직교시켜 성분에 직교하는 스펙트럼 성분을 계산하여, 이를 원래의 스펙트럼에서 제거하면 성분과 상관이 매우 높은 스펙트럼 성분만을 찾을 수 있다고 보고하였다.

일반적으로 OSC를 행할수록 각 농도별 스펙트럼이 각 파장에서 선형화가 이루어지게 되나, 과도한 OSC를 할 경우, MLR과 같은 경향을 보이므로, 대개 OSC Factor=2정도가 적당한 것으로 알려져 있다.

2. 회귀모델(Regression Model)의 평가

분광분석법에서 주로 사용하는 회귀모델의 종류와 장단점을 표 1에 소개하였다. 이밖에도 RR(Ridge Regression), NN-PLS(Neural Network with PLS)등이 있다.

개발된 예측회귀모델(검량식 이라고도 함)의 성능을 평가하기 위해 다음 식으로 표시되는 모델의 예측 표준오차, SEC (Standard error of Calibration), 미지시료의 검증 표준오차, SEP(Standard error of Validation), bias 등을 이용한다.

표 1. 주요 회귀분석모델의 장단점

회귀모델	사용 변수	장점	단점
MLR	파장	정밀도 높음.	- 파장선택이 어려움. - 변수수는 샘플수에 제한 받음. - 모델 안정성이 낮음. - 변수간 다중공선성문제가 있음.
PCR PLS	주성분	정밀도 높음. 모델 안정성이 높음.	- 모델 해석이 어려움.

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

$$bias = \frac{\sum_{i=1}^m (y_i - \hat{y}_i)}{m}$$

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

여기서 y_i : 시료 성분의 실제값

\hat{y}_i : 모델에 의한 성분 예측값

f : 자유도, 여기서는 PLS Factor의 수

m : 시료의 수

서로 다른 전처리방법 및 회귀모델을 사용하여 개발된 예측 회귀모델(검량식)의 성능을 비교 평가하기 위해 적용되는 일반적인 기준은 다음과 같다.

- ① SEC 및 SEP가 작고 이들간의 값의 차이가 작을 것
- ② 예측모델의 bias가 작을 것
- ③ 개발된 측도설정(calibration)모델의 R^2 와 모델 검정 결과의 R^2 가 클 것
- ④ 모델에 포함된 PLS factor의 수가 작을 것

투과스펙트럼을 이용한 과실의 당도 예측 모델 개발

1. 실험장치 및 공시재료

본 연구자는 사과, 배, 복숭아 등 과실류의 당도, 산도, 숙도, 내부결함(갈변, 부패, 밀병, 바람들이 등)을 온라인으로 판별할 목적으로 그림 6과 같은 자율이동 접시형 과실이송시스템을 이용하여 이송되는 과실의 투과 및 반사 스펙트럼을 측정하기 위한 장치를 개발하였다.



그림 6. 자율이동접시형 과실류 온라인 내부 품질판별장치

개발된 선별장치의 성능을 검증하기 위해 일차적으로 후지사과를 사용하여 실험을 수행하였다.

후지사과는 김천과 예산에서 구입된 것으로 당도측정 모델을 개발하기 위해 calibration 목적으로 80개, 검증용으로 40개의 시료를 사용하였다. 시료의 당도 범위는 8.0~15.5 %Brix, 이송속도는 초당 2개였으며, 온도는 상온으로 유지되었다.

여기서는 투과스펙트럼에 의한 당도 예측성능 실험결과를 제시하고자 한다.

2. 측정 조건에 따른 투과스펙트럼의 변화

대상 과실의 물성 이외에 투과스펙트럼의 강도와 형상에 영향을 미치는 인자를 살펴보기 위해 과실의 이송속도, 광원의 강도, 과실의 온도 등을 변화시키면서 투과 에너지 스펙트럼을 측정하였다(그림 7, 8 및 9). 과실의 이송속도가 빠를수록, 광원의 복사강도가 감소할수록 투과에너지 스펙트럼의 강도는 급격히 감소한다. 전자의 경우 이송속도가 증가할수록 스펙트럼 측정시에 integration time이 감소하기 때문이다.

문헌에 의하면 시료의 온도가 1°C 증가함에 따라 당도예측결과가 0.5 %Brix정도 감소하는 것으로 보고되고 있다. 그림 9에 의하면 시료의 온도변화에 따른 스펙트럼의 차이는 크지 않지만 일부 대역에서 에너지 스펙트럼의 피크가 이동하는 것으로 관찰되었다.

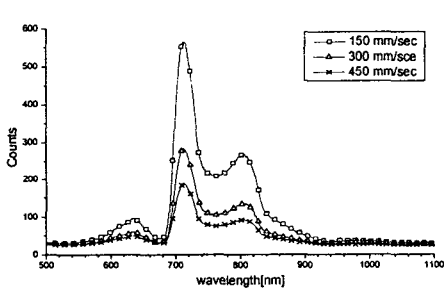


그림 7. 시료의 이송속에 따른 스펙트럼의 변화

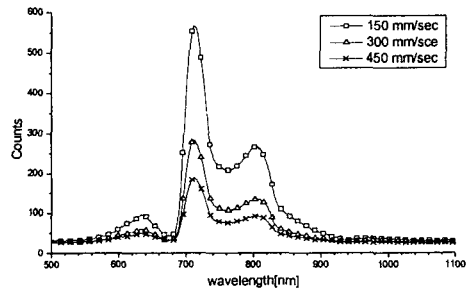


그림 8. 광원의 복사강도에 따른 투과스펙트럼의 변화

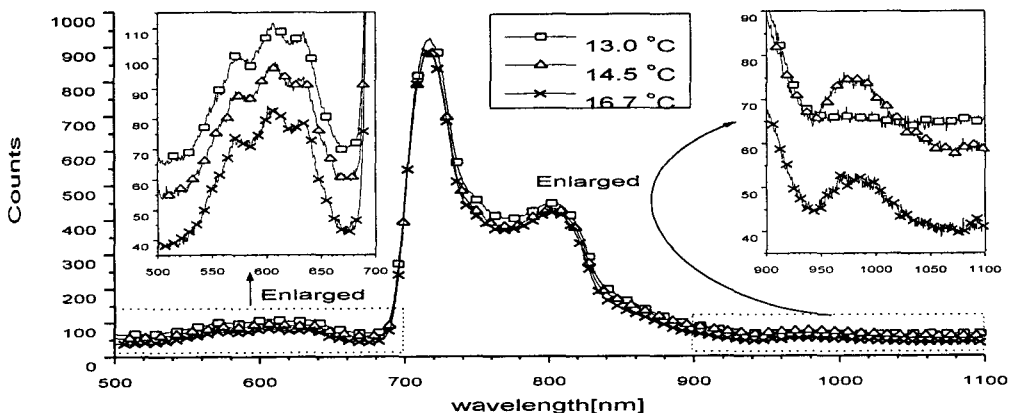


그림 9. 시료의 온도에 따른 투과스펙트럼의 변화

3. 각 전처리별 투과스펙트럼의 형상 변화

실시간 투과스펙트럼은 측정조건에 따른 스펙트럼의 변화 이외에도 과실의 크기에 따른 투과거리의 차이, 센서의 잡음, 기계의 진동 등에 따른 여러 가지 노이즈 성분을 포함한다. 측정된 스펙트럼을 대상으로 전처리 방법에서 제시된 몇몇 전처리를 수행한 결과 원 스펙트럼(그림 10)이 변화됨을 알 수 있다. 그림 11은 스펙트럼의 평활화 결과로서 평활화에 사용되는 파장의 수가 증가할수록 피크가 둔화되고 피크의 이동이 일어남을 알 수 있다. 그림 12는 MSC 전처리 결과로서 스펙트럼간의 간격이 현저히 감소됨을 알 수 있다. 이 결과는 MSC 전처리에 의해 베이스라인의 이동 및 투과경로의 차이에 따른 산란의 영향이 보정되는 것으로 판단된다. 그림 13은 SNV 전처리 결과로서 MSC와 유사한 결과를 초래함을 알 수 있다. OSC 전처리는 스펙트럼을 당도순으로 변화시키는 특성이 있음을 알 수 있으며(그림 14), 2차미분은 특정파장 대역에 포함되어 있는 정보를 강조시킴을 알 수 있다(그림 15).

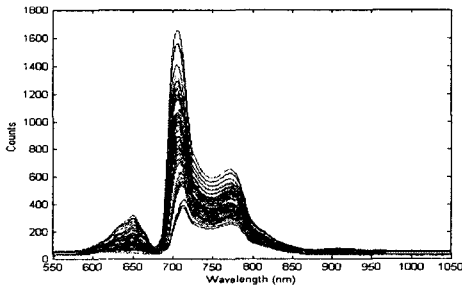


그림 10. 후지사과의 투과에너지 스펙트럼

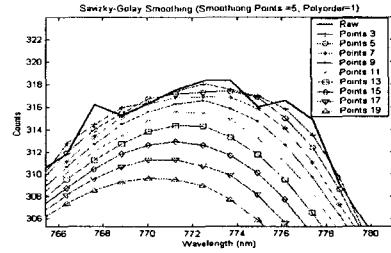


그림 11. 평활화 간격에 따른 스펙트럼의 평활화 결과(Savitzky-Golay, Smoothing points=5, polynomial order=1)

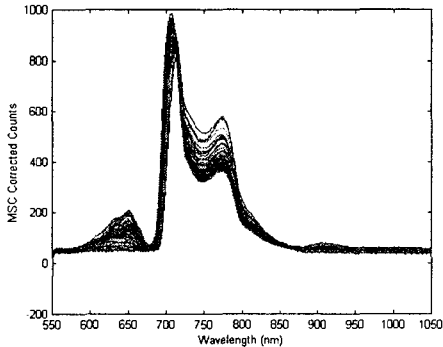


그림 12. MSC 전처리 후의 투과스펙트럼

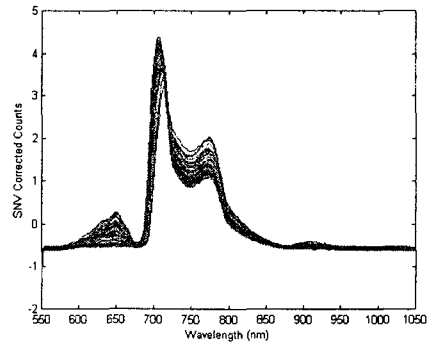


그림 13. SNV 전처리후의 투과스펙트럼

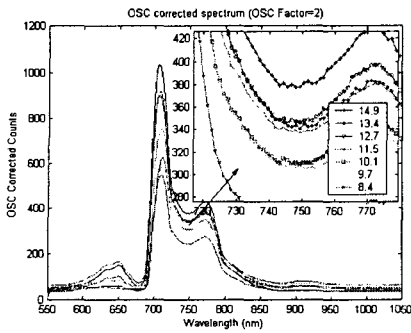


그림 14. OSC 보정후의 투과스펙트럼(OSC Factor No.=2)

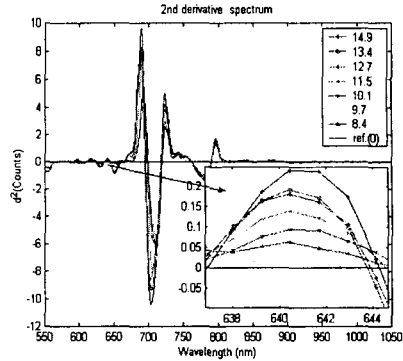


그림 15. 2차미분된 투과스펙트럼

4. 각 전처리별 당도예측 모델 개발

온라인용 투과광 스펙트럼 측정장치에서 획득한 스펙트럼 데이터를 이용하여 표 2에 제시된 바와 같은 전처리를 수행한 후에 각 전처리별 당도 예측모델을 만들고, 이의 전처리 효과를 분석하였다. 모든 경우에 평활하는 공통적으로 수행하였다. 표 2와 그림 16은 각 전처리별 모델의 측도설정(calibration) 및 검증(validation) 결과이다.

전처리를 하지 않을 경우 모델의 검증 결과 R^2 및 SEP는 각각 0.6272 및 0.9484 %Brix 였으나 전처리를 수행함으로써 R^2 는 0.8823으로 증가되고, SEP는 0.5071 %Brix로 감소하는 효과를 가져왔다. 전처리 방법에 따른 효과를 살펴보면 1차미분을 수행하지 않은 경우가 수행한 경우 보다 전반적으로 PLS factor의 수, R^2 , 및 SEC 측면에서 우수하지만 개발된 모델의 검증결과는 반대로 나타나고 있다. 이와 같은 결과는 스펙트럼 측정시에 발생하는 파장대역의 이동으로 인한 미분값의 이동으로 추정된다.

표 2. 각 전처리별 후지사과의 당도 예측 모델 개발 및 검증 결과

전처리별 기호	전처리 내용	PLS factor	Calibration		Validation		
			R^2	SEC	R^2	SEP	Bias
N	No preprocessing	15	0.7678	0.7832	0.6272	0.9482	0.099
S	SNV	12	0.8933	0.4946	0.8789	0.5145	-0.023
S1	1st derivative + SNV	10	0.9571	0.3195	0.8142	0.6407	-0.051
M	MSC	12	0.9086	0.4690	0.8823	0.5071	-0.032
M1	1st derivative + MSC	7	0.9089	0.4621	0.8194	0.6282	-0.043
O	OSC	10	0.7839	0.7082	0.7063	0.8058	-0.016
O1	1st derivative + OSC	7	0.8219	0.6582	0.4073	1.2649	0.113
MS	MSC + SNV	12	0.8983	0.4946	0.8789	0.5145	-0.023
MS1	1st derivative + MSC + SNV	10	0.9751	0.3195	0.8142	0.6407	-0.051
MO	MSC + OSC	11	0.9086	0.4678	0.8823	0.5071	-0.033
MO1	1st derivative + MSC + SNV	2	0.9119	0.4486	0.8200	0.6269	-0.042
SO	SNV + OSC	10	0.8963	0.4969	0.8727	0.5271	-0.045
SO1	1st derivative + SNV + OSC	3	0.9223	0.4196	0.8236	0.6205	-0.059

SNV, MSC 또는 SNV+MSC 전처리를 한 결과가 상대적으로 우수한 결과를 나타내며, 이들 전처리와 더불어 OSC전처리를 수행할 경우 PLS 모델에 포함되는 factor 수가 1~2개 정도 감소함을 알 수 있다. 이와 같은 결과는 과실의 물리적 특성의 차이에 기인하는 산란의 영향을 보정하기 위해 SNV 또는 MSC 전처리가 요구되며, 보다 신뢰성이 있는 모델을 개발하기 위해 OSC전처리가 필요한 것으로 판단된다.

전처리 MO1 및 SO1의 경우 R^2 나 SEP 값은 다른 전처리에 비해 약간 불리하지만 PLS 모델에 포함되는 factor의 수가 2~3로 크게 감소하고 있다. 일반적으로 모델에 포함되는 factor의 수가 작을수록 모델의 안정성 및 재현성은 증가하는 것으로 보고되고 있음을 감안할 때 OSC전처리 효과에 대한 추가적인 분석이 필요할 것으로 판단된다.

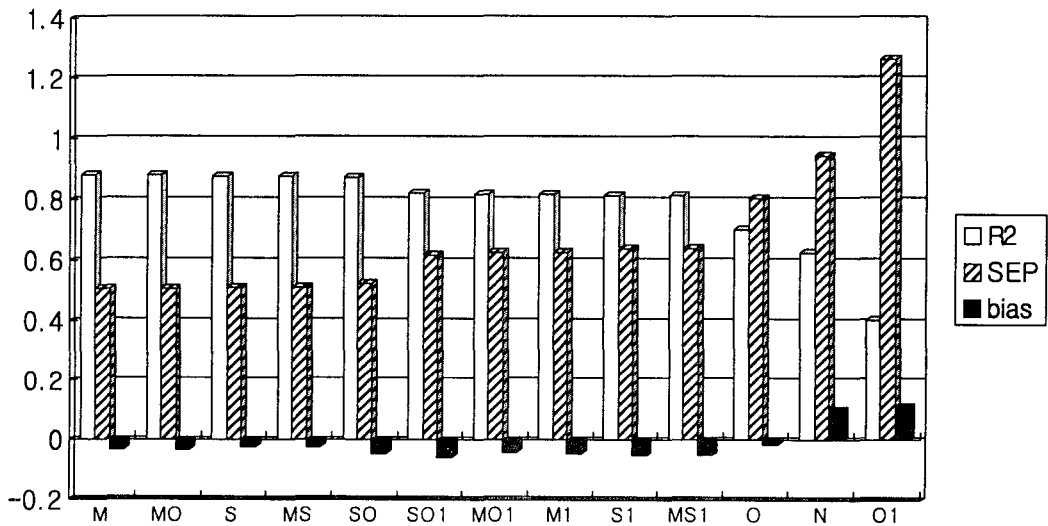


그림 16. 전처리별 후지사과 당도예측 회귀모델의 성능 비교

결 론

광학기술, 전자기술 및 스펙트럼의 분석기술의 발달과 함께 근적외 분광분석법이 농산물, 축산물, 식품, 사료 등의 주요 성분을 비파괴적으로 신속하게 측정하는 기술개발에 이용되고 있을 뿐만 아니라 제지, 섬유, 화장품, 환경, 의료 및 정보통신분야에 이르기까지 응용범위가 급속히 확대되고 있다.

근적외 분광분석법은 스펙트럼 측정방법에 따라 반사식과 투과식으로 구분된다. 유기물에 의한 근적외선 대역의 흡광도가 낮고 반사율이 크기 때문에 반사식은 대상시료의 형상이나 크기에 관계없이 근적외 전 대역(700 nm ~2500 nm)에서 반사스펙트럼의 측정이 가능하지만 투과식의 경우 액상시료를 제외한 고형농산물은 산란 및 수분의 강한 흡수 때문에 현재 보급되고 있는 광검출 센서로는 투과스펙트럼의 측정범위가 1100 nm 정도까지만 가능하다.

오프라인(수십초 이내) 특히, 온라인(1초 이내) 측정이 요구되는 경우 스펙트럼 측정 시간의 제약, 외란, 대상체의 물리적 특성의 차이(크기, 형상, 경도 등), 시료의 온도, 검출 센서의 노이즈 등에 의해 측정된 스펙트럼에 노이즈뿐만 아니라 분석대상 성분 이외의 정보가 다수 포함된다. 예측 모델의 성능을 향상시키기 위해 원 스펙트럼을 대상으로 평활화, 산란보정(SNV, MSC), 유용한 정보의 강조(미분), 분석대상 성분에 직교하는 스펙트럼 성분의 제

거(OSC) 등 여러 가지 전처리방법이 제시되고 있지만 시행착오과정을 거쳐 적절한 기법을 찾아야하는 어려움이 있다.

과실을 대상으로 온라인 투과스펙트럼을 측정할 수 있는 장치를 개발하여 초당 2개의 속도로 사과를 이송시키면서 550 nm~1100 nm 사이의 투과스펙트럼을 측정하고, 각종 전처리를 수행한 후 PLS 당도예측 모델을 개발한 결과 R^2 , SEP 및 bias가 각각 0.88, 0.507 및 -0.032로서 개발된 장치는 당도선별장치로 사용가능한 것으로 판명되었다. 본 발표내용에는 포함되어 있지 않지만 배의 경우도 당도뿐만 아니라 내부결함(부패, 바람들이 등)을 판별할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. 김재민, 최창현, 민봉기, 김종훈. 1998. 분광분석법을 이용한 쌀의 함수율 및 단백질 함량 예측모델 개발, 한국농업기계학회지23(1) : 49-56
2. 김효진. 1998. 근적외선 분광분석법을 이용한 생약의 분석, 근적외선 분광분석법의 응용에 관한 제3회 종합약학연구소 학술 심포지움, 동덕여자대학교
3. 노상하 등. 1999. 수출용 배의 부가가치향상을 위한 선별·포장시스템 개발에 관한 연구 (1년차 연차보고서). 농림부
4. 노상하, 김우기, 이종환. 1997. 주요 과실의 가시광 및 NIR 특성을 이용한 비파괴 당·산도 측정 방법. 한국농업기계학회지, 22(2) : 247-255
5. 노정래. 1998. NIR Application in Pharm. Industry, 적외선 분광분석법의 응용에 관한 제3회 종합약학연구소 학술 심포지움, 동덕여자대학교
6. 손미령, 조래광. 1999. 후지사과의 사과산 함량 측정을 위한 근적외선 분광분석법의 응용. 한국원예학회지, 40(1) : 45-50
7. 조래광. 2000. 근적외 분광분석법을 이용한 농업환경 및 농산물의 품질평가 기술. 한국근적외분광분석학회 창립총회 및 학술발표회: 17-29
8. 조래광, 손미령, 권영길, 이경희, 박우철. 1998. 근적외 분광분석법을 응용한 사과의 비파괴 품질측정 가능성 조사. 한국농화학회지, 41(2) : 153-159
9. 최규홍, 이강진. 1998. 근적외선을 이용한 과일의 당도측정 기술. 농산물 비파괴 품질평가 기술개발에 관한 국제세미나 발표자료. 농진청 농업기계화연구소, pp91-123
10. 최창현 외 2인. 1997. 가시광선/근적외선 분광분석법을 이용한 사과의 당도 및 경도 측정, 한국농업기계학회지 22(2), pp256-265.
11. Barnes, R. J., M. S. Dhanoa, and S. J. Lister. 1989. Standard Normal Variate Transformation and De-trending of Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra. Applied Spectroscopy 43 : 772-777.
12. Bellon, V., J. L. Vigneau, and M. Leclercq. 1993. Feasibility and performance of a new, multiplexed, fast and low cost fiber-optic NIR spectrometer for the on-line measurement of sugar in fruits. Applied Spectroscopy 47 : 1079-1083.
13. Hwang, I. G. and S. H. Noh. 1999. Preliminary Study for Development of an Algorithm for On-Line Sugar Content Measurement of Intact Fruits using NIR Spectroscopy. Abstract book of 9th International Conference on Near-Infrared Spectroscopy, Towards the Third Millennium, p3-26.

14. Isaksson, T. and B. Kowalski. 1993. Piece-Wise Multiplicative Scatter Correction Applied to Near-Infrared Diffuse Transmittance Data from Meat Products. *Applied Spectroscopy* 47 : 702-709.
15. Lovasz, T., P. Meresz and A. Salgo. 1994. Application of near infrared transmission spectroscopy for the determination of some quality parameters of apples. *Near Infrared Spectroscopy*, 2 : 213-221.
16. Peiris, K. H. S., G. G. Dull, R. G. Leffler and S. J. Kays. 1998. Near-infrared Spectrometric Method for Nondestructive Determination of Soluble Solids Content of Peaches. *A.S.H.S.* 123(5):898-905.