

분광 반사 특성을 이용한 주요 과실의 비파괴 당·산도 측정*

Nondestructive Measurement of Sugar · Acid Contents in Fruits Using Spectral Reflectance

노 상 하*	김 우 기*	이 종 환*
정회원		정회원
S. H. Noh	W. G. Kim	J. W. Lee

ABSTRACT

This study was conducted to develop regression models predicting sugar and acid contents in intact fruits nondestructively by using the second derivative of absorbance spectrum measured with a spectrophotometer wavelength range of 400nm to 2,400nm.

The correlation analysis was made in the wavelength range of 600nm to 1,100nm and 600nm to 2,400nm respectively, in order to examine the feasibility of using a real time spectrophotometer, which covers the former range, in predicting sugar and acid contents.

The second derivative data of the spectrum were obtained by varying smoothing size and derivative size of the original absorbance spectrum. SAS statistical package program was used for the regression analysis.

The sugar contents of Fuji apple, Shingo pear and Yumyung peach could be predicted with SEPs of 0.40, 1.17 and 0.77 respectively, in the spectrum range of 600 to 1,100nm. The highest correlation coefficient of the titratable acidity of apple was -0.45 at 2,346nm and regression models indicated determination coefficient less than 0.47.

주요용어 (Key Words): 당도(sugar content), 산도(acid content), 사과(apple), 배(pear), 복숭아(peach), 분광반사(spectral reflectance), 2차미분스펙트럼(2nd derivative spectrum)

1. 서 론

과실류의 선별인자는 농산물의 종류 및 소비형태에 따라 여러 가지가 있지만 기본항목은 ① 크기, 무게 등의 계급 인자, ② 색깔, 표면상태, 외관 등의 외부품질 인자, ③ 당도, 산도, 내부부패 등의 내부품질 인자로 구분할 수 있다. 단순히 외관에 의한 판정이 불가능한 내부품질은 부분적으로 화학적인 측정

법이 이용되고 있으나, 비파괴적인 검사법의 이용은 연구 초기단계라고 할 수 있다.

1960년대 초 Norris 등에 의해 개발된 근적외선 분광분석법(Near Infrared Spectroscopic Analysis)은 비교적 정확하고 간편한 방법으로, 외국의 경우 곡물이나 사료 등의 농산물에서부터 사과, 복숭아, 멜론 등 과실의 내부품질의 측정과 식품가공공정에서의 품질계측과 제어에까지 비파괴검사법으로 널리 이

* 이 연구는 한국 학술진흥재단에서 지원한 “농산물의 광학적 특성 구명 및 선별센서 개발을 위한 기초연구”를 위한 연구비로 수행된 것임.

* 서울대학교 농업생명과학대학 농공학과

용되고 있으며 일부 실용화단계에 있다.

Dull 등(1992)은 비파괴적으로 멜론의 가용성 고형분 함량(% SS)을 측정하기 위해 근적외선 분광분석법을 이용한 장치를 개발하였다. Kawano 등(1992)은 복숭아용 비파괴 당도측정기의 개발을 위해 접촉식 광파이버를 이용한 근적외선 분광분석법의 적용가능성에 대해서 검토하였다. 복숭아의 스펙트럼을 2차 미분한 결과 자당의 흡수 파장인 906nm 근방에서 당도에 따라 큰 차이가 있음을 관찰하였으며, 2차 미분 스펙트럼의 906, 878, 870 및 889nm에서의 흡광도를 이용한 회귀식을 개발하였다. 吉川 등(1990)은 미니 토마토에 대해 600~2,500nm에서 흡수 스펙트럼을 측정하여 이 스펙트럼의 1, 2차 미분값과 당·산 함량에 대해 통계적으로 상관성이 있는 파장을 구하였다. 선택한 파장의 수가 적고 상관성이 높은 파장을 선택해야 하며, 성분 측정시에 근적외선 파장영역은 온도에 의해 영향을 받기 쉽다고 보고하였다. Upchurch 등(1990)은 400~1,000nm 범위에서 흡광도의 비, 차 및 미분을 이용해 명든 사과와 감출을 시도하였다. 실험 결과 773nm와 836nm의 비를 이용할 경우 결정계수는 0.79이고, 718nm와 434nm의 차이를 이용할 경우 결정계수는 0.66이었으며, 830nm에서 미분을 이용했을 때 결정계수는 0.81로 가장 높게 나타났다. 노 등(1996)은 650~1,050nm 범위에서 후지 사과의 흡광 스펙트럼 2차 미분값과 당도와외의 상관관계를 분석한 결과, 분석한 파장범위만으로도 당도 판정이 가능하다고 보고하였다.

본 연구는 국내산 사과, 복숭아, 배에 대한 흡광

스펙트럼의 2차 미분값을 이용하여 과실의 당·산도를 예측할 수 있는 회귀모델을 개발할 목적으로 수행되었다. 특히, 현재는 600~1,100nm의 파장대역에서 실시간 스펙트럼 측정이 가능한 센서가 판매되고 있고, 600~2,400nm의 파장대역에서도 실시간 측정 센서가 곧 개발될 것으로 예상하여, 두 파장대역으로 나누어서 당·산도 예측모델을 개발함으로써, 이들 스펙트럼 센서를 이용한 실시간 판정 장치 개발 가능성을 구명하고자 한다.

2. 재료 및 실험방법

가. 시료의 수집

본 연구에서 사용한 과실은 사과, 배, 복숭아로서 사과는 경기도 안성에서 11월 초에, 복숭아는 경기도 장호원에서 8월 중순에 구입하였으며, 배는 경북 김천에서 10월 중순에 생산된 것을 실험재료로 사용하였다. 넓은 범위의 당도와 산도를 얻기 위해서 시료를 속도별로 구입하였다. 각 시료에 대해 3~7개 부위에서 분광스펙트럼을 측정하고, 동일 부위를 대상으로 당·산도를 측정된 후에 이들 각 부위의 데이터를 회귀분석에 이용하였다.

온도에 따른 스펙트럼의 변동을 줄이기 위해 시료를 상온에서 하루 이상 보관하여 시료의 품온이 상온에 이르도록 한 후 시료의 스펙트럼과 당·산도를 측정하였다. 모델 작성 및 검증에 사용한 시료의 개수와 당·산도 범위는 표 1과 같다.

Table 1 Calibration and prediction sample sets of fruits selected for multilinear regression analysis

Items	Sugar content (Brix value)				Acidity (% malic acid)			
	No. of data		Sugar content range(%)		No. of data		Acid content range(%)	
	Calibration set	Prediction set	Calibration set	Prediction set	Calibration set	Prediction set	Calibration set	Prediction set
Apple	84	84	10.4~18.2	10.6~18.7	42	42	0.29 ~0.50	0.30~0.53
Pear	42	42	9.4~16.5	10 ~16.6	39	39	0.045~0.061	0.06~0.064
Peach	52	52	8.7~15.8	9.0~16.2	-	-	-	-

나. 측정항목

(1) 근적외선 스펙트럼

본 실험에서는 NIRSystems사의 분광광도계 (Model HON6500)와 반사스펙트럼 측정용 모듈을 이용하여 400~2,500nm 영역에서 시료의 각 부위를 대상으로 2nm 간격으로 스펙트럼을 32회 반복스캔한 것을 평균하여 사용하였으며, 스펙트럼데이터는 흡광도로 출력하였다.

(2) 당 도

스펙트럼을 측정한 과실은 디지털 굴절 당도계 (Model DBX-55, ATAGO사, Japan)를 사용하여 당도를 측정하였다. 굴절당도계는 굴절정도를 이용하여 가용성 고체함량(%)을 측정하는 것으로 감귤류와 같이 산 함량이 많은 것과 tannin의 함량이 많은 감동을 제외한 과실에서는 가용성 고체함량의 대부분이 당이기 때문에, 디지털 굴절 당도계의 값을 당도값으로 하였다.

(3) 산 도

산도 측정을 위해 실험에 사용된 과실은 사과와 배로서 표 2에서와 같이 전체 산 함유량 중 malic산이 대부분을 차지하기 때문에 산도는 % malic acid로 환산하여 나타내었다. 스펙트럼 측정 부위에 대해 당도를 측정한 다음 산도를 측정하였다. 산도는 먼저 시료의 과피를 제거한 내부 과육을 1~2cm 절단한 다음 과즙을 추출한 후에 적정산도법으로 측정하였다.

Table 2 Acid content of fruits

		(mg/100g)			
acid		Malic	Tartaric	Fumalic	Citric
fruits					
Apple		289.6	6.8	1.1	9.9
Peach		137.0	3.6	5.8	116.6

다. 분 석

(1) 시료 집단의 선정

회귀모델은 수집된 시료에 따라 상당히 다른 결과로 나타날 수 있다. 일반적으로 시료 집단을 선정하는 방법에 따라 두 가지 검량법이 있다. 즉, 닫힌 시료집단(closed sample population)에서 검정을 하는 계수검량법(Enumerative calibration)과 열린 시료집단(opened sample population)에서 검정을 하는 분석검량법(Analytical calibration)이 있다. 닫힌 시료집단에서 무작위로 시료를 수집하는 계수검량법을 사용하면 시료의 편중된 부분을 중심으로 회귀식이 결정되므로 양 끝부분에서는 오차가 발생할 확률이 커지게 되어 회귀식을 시료의 변동에 따라 보정해야 한다. 그러나 본 연구에서는 편의상 계수검량법을 적용하여 회귀식을 작성하였다.

(2) 흡광도 데이터의 변환

HON6500 분광광도계는 반사율 데이터를 흡광도(log(1/R))의 값으로 변환하여 출력한다. 회귀분석에 앞서 흡광도 데이터의 전처리로 흡광스펙트럼의 평활화와 2차 미분을 실시하였다. 2차 미분법은 분광데이터의 기준값(reference)의 이동에 의한 오차를 제거할 수 있고, 중첩된 흡수대역을 분리해 낼 수 있다는 장점이 있는 반면에 노이즈에 민감한 단점이 있다.

본 연구에서는 노이즈의 영향을 감소시키기 위해 파장범위 400~2,500nm의 흡광도 데이터를 평활화 간격(smoothing size: n)을 1~7(2~14nm)로, 각각에 대한 미분 간격(gap size: g)을 1~5(4~20nm)로 변화시키면서 전처리를 수행하였다. 평활화와 미분은 다음과 같이 정의하였다.

$$\text{평활화: } \log(1/R)_n = \frac{1}{2m+1} \sum_{i=(n-m)}^{n+m} \log(1/R)_i \dots\dots (1)$$

여기서, m = smoothing size (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7)
n = m+1, m+2, …….

$$\text{2차 미분: } d^2 \log(1/R)_n = \log(1/R)_{n+2g} - 2\log(1/R)_n + \log(1/R)_{n-2g} \dots\dots (2)$$

여기서, g = gap size

(3) 파장의 선택을 위한 기초분석

근적외선의 흡광 스펙트럼은 분자 진동의 각종 배음과 결합음이 중첩되어 나타나기 때문에 특성 성분과 상관이 높은 흡수 파장을 이론적으로 구하는 것은 어렵다. 따라서 본 연구에서는 회귀모형을 작성하는 데 필요한 당과 산의 주요 흡수파장을 선택하기 위한 기초자료로 사용하기 위해 분말 상태의 당·산의 스펙트럼과 액상의 당·산의 스펙트럼을 분석하였으며, 또한 실제 과실에서는 당과 산이 분말 상태가 아니라 많은 물을 함유한 상태이기 때문에 증류수와 10, 20, 40%의 농도를 갖는 액상 시료를 대상으로 스펙트럼을 측정 분석하였다.

(4) 다중회귀 모델 개발

기초분석 결과 구해진 흡수 파장을 근거로 회귀모델에 포함되는 중심파장 하나를 선정하고, 통계패키지(SAS ver 6.11, SAS Institute Inc.)를 이용하여 흡광 스펙트럼의 2차 미분값과 당·산도 사이에 높은 상관관계를 갖는 몇 개의 파장을 추가로 선택하여 다중 회귀모형을 작성하였다. 회귀모델에 대한 정밀도는 표준오차(SEC: Standard Error of Calibration)와 결정계수(R²: Coefficient of determination)로 나타내었다. 회귀모델의 검정은 예측값의 표준오차(SEP: Standard Error of Prediction)로 나타내었다. SEC와 SEP는 다음 식과 같다.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - k - 1}} \dots\dots\dots (3)$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum \{(y_i - \hat{y}_i) - \bar{d}\}^2}{n - 1}} \dots\dots\dots (4)$$

$$\bar{d} \text{ (bias)} = \sum (y_i - \hat{y}_i) / n \dots\dots\dots (5)$$

여기서, y_i = 실험에 의한 측정값
 \hat{y}_i = 회귀식에 의한 예측값
 n = 시료의 수
 k = 회귀 모델에 사용한 변수의 수

3. 결과 및 고찰

가. 당과 산의 흡수 파장

사과와 배의 주요 당인 분말상태의 과당(crystalline fructose)은 920, 990, 1,462, 1,682nm 등이 유의한 파장으로 나타났으며(그림 1), 복숭아의 주요 당인 자당(crystalline sucrose)은 916, 980, 1,436, 1,688nm 등이 유의한 파장으로 나타났다(그림 2). 사과산(crystalline malic acid)은 898, 1,008, 1,498, 1,682nm 등의 파장에서 흡수 피이크를 나타내었다(그림 3). 그리고 2,000nm 이상의 파장대역에서는 공통적으로 좁고 높은 피이크가 많이 나타나기 때문에 유의한 파장으로 선정하기에는 부적당하였다.

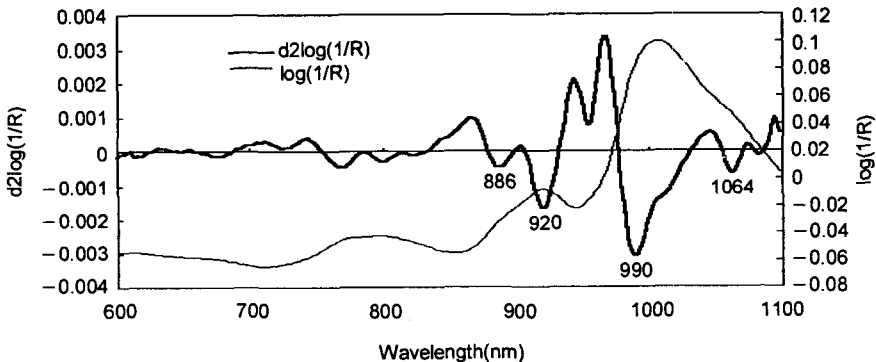


Fig. 1 D²log(1/R) and log(1/R) spectra of crystalline fructose in the spectrum range of 600~1,100nm.

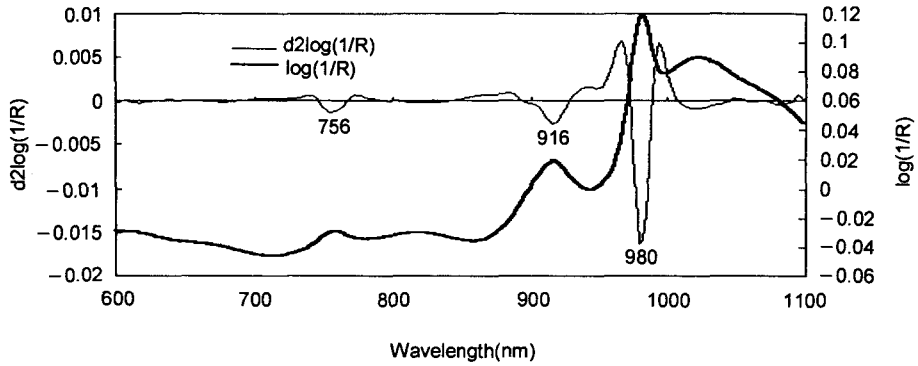


Fig. 2 $D^2\log(1/R)$ and $\log(1/R)$ spectra of crystalline sucrose in the spectrum range of 600~1,100nm.

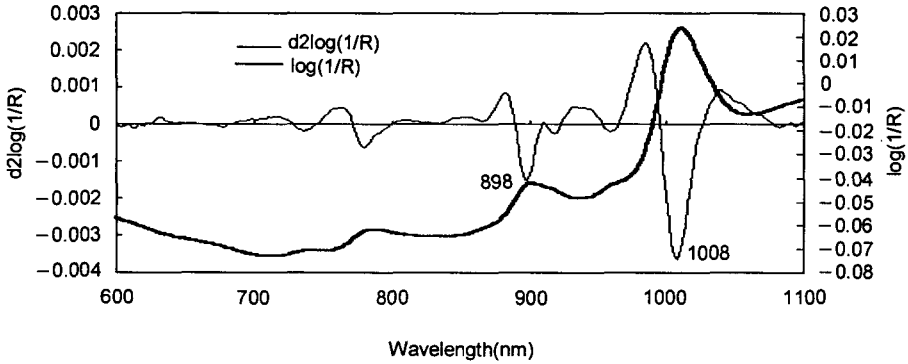


Fig. 3 $D^2\log(1/R)$ and $\log(1/R)$ spectra of crystalline malic acid in the spectrum range of 600~1,100nm.

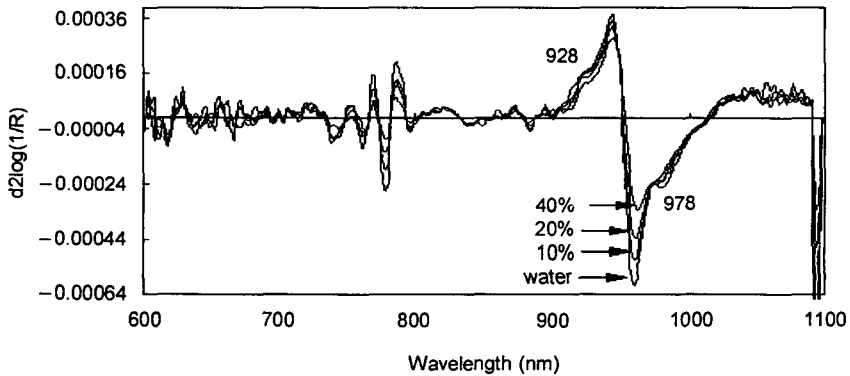


Fig. 4 Second derivative spectra of three samples having different concentration of fructose in the spectrum range of 600~1,100nm.

액상의 시료를 대상으로 구한 2차미분 흡광스펙트럼은 공통적으로 당·산의 농도가 낮을수록 기존에 알려진 물의 흡수 파장(770, 960, 1,410, 1,910 nm 등)부근에서 높은 흡광도를 나타내었으나(그림 4** 추가 요), 분말상태의 당과 산의 흡수파장에서 농도에 따른 흡광도의 차이는 표면적으로 관찰되지 않았다. 그 이유는 당과 산에 의한 흡수가 물에 의한 흡수에 의해 가리워진 것으로 판단된다.

나. 평활화와 미분 간격 결정 및 중심파장의 선정

각 과실에 평활화 간격은 2nm, 미분 간격은 4nm를 단위간격으로 하여 변화시키면서 각 파장에서 흡광스펙트럼의 2차 미분값과 당·산과의 상관분석을 하였다. 일반적으로 수분함량과 당도는 반비례 관계에 있기 때문에 수분의 흡수대역에서 스펙트럼의 2차 미분값과 당도는 양(+)의 상관관계를 갖는다. 하지만 수분의 함량과 당도는 직접적인 관계가 있다고 볼 수 없기 때문에 중심 파장을 선정할 때는 수분 흡수파장 대역을 제외시켰다. 마찬가지로 800nm 이하의 파장대역은 과실의 표면색과 관계되는 가시광 대역이므로 역시 제외하였다. 당·산의 흡수파장에서 2차 미분 스펙트럼과 당·산의 함량은 음(-)의 상관관계를 갖는다.

회귀분석법에서 상관관계가 높은 파장을 독립변

수로 선택하여 회귀식을 개발하는 것이 일반적이다. 그러나 제한된 시료를 사용할 경우 회귀식의 결정계수는 높지만 미지의 시료집단에 대한 예측결과는 좋지 않게 나타날 수도 있다. 따라서, 통계적으로 상관관계가 가장 높지 않더라도 물리적인 의미를 가지는 당·산의 흡수 파장을 찾아서 회귀모형을 구성하는 것이 논리적으로 더욱 타당할 것으로 판단된다.

사과와 배의 주요 당은 과당이므로 분말상태의 과당의 2차 미분 스펙트럼에서 나타난 흡수 파장을 중심으로 평활화 간격과 2차 미분 간격을 변화시키면서 각 시료의 흡광스펙트럼의 2차 미분값과 당·산도와의 상관관계를 조사하고, 복숭아의 주요 당은 자당이므로 분말상태의 자당의 흡수 파장대역을 중심으로 상관관계를 분석한 다음 상관계수가 가장 큰 파장을 선정하였다. 산의 경우도 결정 사과산의 흡수 파장대역을 중심으로 파장을 선정하였으나 과실에서 산의 함량은 대단히 적기 때문에 산의 흡수 파장대역을 찾기는 쉽지 않았다. 표 3은 각 시료의 파장대역별 분석결과이다.

다. 과실의 당·산도 예측 다중회귀 모델 개발

회귀분석에서 모델의 독립변수가 증가할수록 결정계수는 일반적으로 증가하지만 선택된 독립변수가 물리적인 의미를 갖지 않을 경우 미지의 시료에

Table 3 Absorbance wavelength, smoothing size and gap size indicating the highest correlation coefficient between the second derivative data of the spectrum of sample fruits and sugar or acid contents

		Fuji apple		Shingo pear		Yumyung peach	
		600~1,100	600~2,400	600~1,100	600~2,400	600~2,400	600~2,400
sugar	smoothing size	2nm	6nm	4nm	2nm	2nm	4nm
	gap size	12nm	12nm	4nm	4nm	4nm	8nm
	wavelength	902nm	2,270nm	1,210nm	1,182nm	986nm	1,354nm
acid	smoothing size	-	14nm	-	-	-	-
	gap size	-	20nm	-	-	-	-
	wavelength	-	2,346nm	-	-	-	-

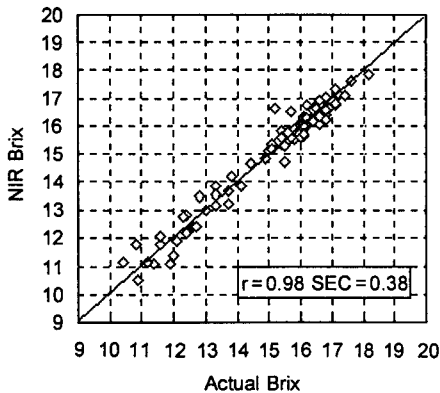
대한 예측 결과는 오히려 떨어지는 경향이 있다. 따라서 본 연구에서는 상기 표 3에 제시된 파장을 주 파장으로 하고, 이 파장을 포함한 4개 이내의 파장을 SAS 회귀분석법을 이용하여 선택하였다. 각 시료의 당을 예측하기 위한 최종적인 회귀식은 결정계

수가 높고 SEP가 가장 작은 것으로 선정하였다. 당도에 대해서 개발된 다중회귀 모델과 검증 결과는 표 4와 같으며 그림 5와 그림 6은 각각의 파장대역에서 후지사과의 당도 예측 회귀분포를 나타낸다.

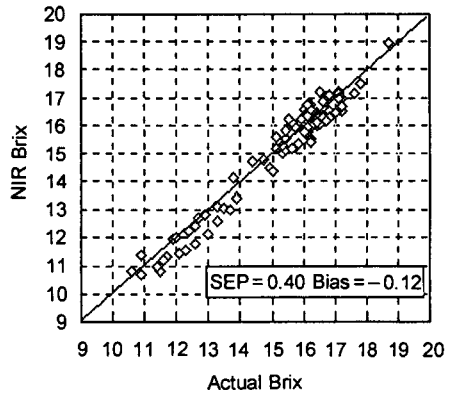
Table 4 The multilinear regression models for the sugar content of fruits

Fruits	Wave. Range(nm)	Regression Equation	SEC	SEP
Fuji apple	600~1,000	Brix % = 14.858 - 0.083L(902)* + 1.053L(872) + 0.179L(952)	0.38	0.40
	600~2,400	Brix % = 16.101 - 0.046L(2270) + 0.178L(952) + 0.929L(874) - 0.087L(2194)	0.40	0.35
Shingo pear	600~1,100	Brix % = 8.381 - 3.926L(904) + 7.733L(878) + 0.255L(666)	0.65	1.17
	600~2,400	Brix % = 10.828 - 3.759L(1210) - 2.174L(1738) - 1.027L(2278) - 1.666L(1110)	0.49	0.81
Yumyung peach	600~1,100	Brix % = 5.777 - 2.061L(986) + 5.465L(882) + 3.646L(876) - 0.748L(958)	0.62	0.77
	600~2,400	Brix % = 4.210 - 0.578L(1354) + 0.716L(1676) + 0.685L(1758) - 0.125L(1676)	0.60	0.83

* $L(\lambda) = d^2 \log\{1/R(\lambda)\}$



(a) Calibration



(b) Prediction

Fig. 5 The regression model for the sugar content of Fuji apple in the range of 600~1,100nm.

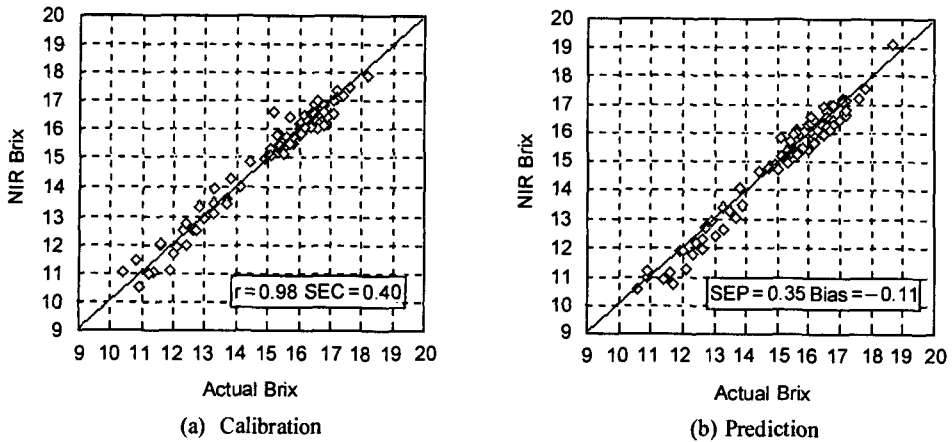


Fig. 6 The regression model for the sugar content of Fuji apple in the range of 600~2,400nm.

배에 대한 산도 측정 결과 산함량 범위가 0.045 ~0.064g/100ml로 나타났다. 따라서 다량의 주성분 분석법인 근적외선 분광분석법으로는 배의 산도 측정은 불가능한 것으로 판단되어 분석에서 제외시켰다. 산도에 대해서는 후지사과에 한해서 회귀모델을 개발하였다. 그러나 독립변수를 4개로 하였을 때 결정계수는 0.47로 매우 낮았다. 이러한 결과의 원인은 다음 두 가지를 생각할 수 있다. 첫째, 기초실험 결과에 의하면 근적외선은 사과 표면에서 대략 4mm 정도 투과하는데, 산도 측정 실험에서는 적정 산도분석에 필요한 다량의 과즙을 추출하기 위해 이보다 훨씬 두꺼운 2cm 정도를 절단하여 사용하였기 때문에 측정된 산도는 흡광 스펙트럼 측정 부위의 산도와는 다를 수 있다. 둘째, 사과에 함유된 산은 대략 0.3% 정도로 매우 미미한 양이기 때문에 산도에 따른 흡광도의 차이가 미미한 것으로 생각된다.

재배지역이 다른 사과에 대해 개발된 회귀모델의 적용 가능성을 알아보기 위해 충북에서 생산된 사과 시료 10개를 이용해 평균 4개소를 대상으로 검정하였다. 당도 데이터 개수는 39개이고 당함량 범위는 12.9~19.3 Brix %이었다. 검정 결과 SEP가 600~1,100nm, 600~2,400nm에서 각각 0.91, 0.84로 생산지가 다른 시료의 집단에 대해서도 좋은 예측 결과를 보여 주었다.

4. 결 론

본 연구는 흡광 스펙트럼의 2차 미분값을 이용하여 과실의 당·산을 비파괴적으로 측정할 수 있는 회귀모델을 개발하기 위해 수행되었다. 600~1,100nm와 600~2,400nm의 두 파장대역으로 나누고 각 대역에서 평활화 간격과 미분 간격을 변화시키면서 최적의 모델을 찾자 하였다. 이상의 결과를 요약하면 다음과 같다.

(1) 평활화 간격과 미분 간격이 커질수록 당도와 2차 미분값과의 상관관계는 감소하는 경향을 보였으며 최적 간격은 각 과실의 종류와 분석 파장대역에 따라 다르게 나타났다.

(2) 600~1,100nm의 파장대역에서 당도에 대한 가장 좋은 예측 결과는 사과(후지)가 $R^2=0.96$, $SEP=0.4$ Brix %, 배(신고)가 $R^2=0.88$, $SEP=1.17$ Brix %, 복숭아(유명)가 $R^2=0.84$, $SEP=0.77$ Brix %이었다.

(3) 600~2,400nm의 파장대역에서 당도에 대한 가장 좋은 예측 결과는 사과(후지)가 $R^2=0.97$, $SEP=0.35$ Brix %, 배(신고)가 $R^2=0.93$, $SEP=0.81$ Brix %, 복숭아(유명)가 $R^2=0.85$, $SEP=0.83$ Brix %이었다.

(4) 사과의 적정산도와 흡광스펙트럼의 2차 미분값과의 가장 높은 상관계수는 2,346nm에서 -0.45 정도로 매우 낮았으며, 개발된 회귀식의 결정계수

는 0.47로서 산도 측정은 불가능한 것으로 판단되었다.

참 고 문 헌

1. 노상하 등. 1996. 국내산 주요 과실류의 CA 장기 저장기술 및 비파괴 품질 검사법 개발. 과학기술처 국책연구개발사업보고서.
2. 조래광 외 2인. 1994. 한국산 쌀의 품질측정에 있어서 근적외 분광분석법의 응용, 한국식품과학회지 26(6).
3. 吉川年彦ら. 1990. 近赤外線による品質評評價. 青果物の貯藏・流通の新技術.
4. Dull, G. G., R. G. Leffler, G. S. Birth and D. A. Smittle. 1992. Instrument for nondestructive measurement of soluble solids in honeydew melons. *Trans. Amer. Soc. Agr. Eng.* 35(2):735-737.
5. Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto. 1992. Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 61(2):445-451.
6. Upchurch, B. L., H. A. Affeldt, W. R. Hruschka, K. H. Norris, J. A. Throop. 1990. Spectrophotometric study of bruised on whole, 'RED DELICIOUS' apples. *Transactions of the ASAE* 33(2):585-589.