

Development of a Portable Quality Evaluation System for Bee-honeys by Using Near Infrared Spectroscopy

Chang-Hyun Choi¹, Jong-Hun Kim², Ki-Hyun Kwon² and Yong-Joo Kim^{3*}

¹School of Life Science and Biotechnology, Sungkyunkwan University, Suwon, Gyeonggi 440-746, Korea

²Korea Food Research Institute, Sungnam, Gyeonggi 52, Korea

³LS Mtron LTD, Anyang, Gyeonggi 431-080, Korea

근적외 분광법을 응용한 휴대용 벌꿀 품질 평가 장치 개발

최창현¹ · 김종훈² · 권기현² · 김용주^{3*}

¹성균관대학교 생명공학부, ²한국식품연구원, ³(주)LS엠트론

Abstract

This study was conducted to develop a portable quality evaluation system of bee-honey by near infrared spectroscopic technique. Two kinds of bee-honeys from acacia and polyflower sources were tested in this study. The system consists of power supply, tungsten-halogen lamp, detector, and optical fiber probe. Performance of the system was analyzed by comparing the prediction accuracy of the laboratory spectrophotometer. Total of 346 spectra was divided into a calibration set and a prediction set. The PLS (Partial Least Squares) models were developed to predict the quality parameters of bee-honeys. Reflectance spectra, moisture contents, ash, invert sugar, sucrose, F/G ratio, HMF (hydroxy methyl furfural), and C¹²/C¹³ ratio of honeys were measured. The PLS models of the laboratory spectrophotometer showed good relationships between predicted and measured quality parameters of honeys in the wavelength range of 1,100~2,200 nm. The PLS analysis of the portable quality evaluation system showed good relationships between predicted and measured quality parameters of honeys in the wavelength range of 1,100~1,300 nm and 1,400~1,700 nm. The results showed the feasibility of the portable quality evaluation system to determine the quality parameters of bee-honey in the field during harvesting.

Key words : Bee-honey, Near infrared spectroscopy, Portable quality evaluation system

서 론

벌꿀은 다른 당류보다 상대적으로 가격이 비싸기 때문에 설탕, 물엿, 전화당 등을 혼합하는 사례가 빈번하여 오래 전부터 꿀의 진위를 가리는 방법이나 품질평가에 관하여 많은 관심을 가져왔다. 벌꿀의 품질은 원산지, 밀원(蜜源), 채밀 시기 등에 따라 그 성분이 확연한 차이를 가지고 있어 통합된 평가기준을 만들기가 어려운 것으로 보고되고 있으며(1), 국내에서는 식품공전(2)에서 수분(moisture), 회분(ash), 전화당(invert sugar), 자당(sucrose), 과당/포도당비(fructose/glucose ratio), HMF (Hydroxy Methyl Furfural), 탄소동위원소비(C¹²/C¹³ ratio) 등의 수치와 산지, 밀원, 채밀시

기를 고려하여 품질을 평가하는 방법을 채택하고 있다. 최근에는 벌꿀의 조성과 매우 유사한 고과당 옥수수시럽(high fructose corn syrup, HFCS)을 첨가한 꿀이 천연 벌꿀처럼 판매되고 있어 당의 조성을 분석하더라도 진위여부를 판별하기가 어려워 이를 해결하기 위한 다양한 분석 항목이 늘어나고 있는 실정이다(3).

현재 국내에서 수행되고 있는 벌꿀의 품질평가 방법은 공인된 화학적인 분석방법으로 결과의 신뢰성이 높다는 장점은 있으나, 복잡한 분석조작을 거쳐야 하므로 많은 시간이 필요하여 전수조사가 아닌 표본조사에 의존하고 있어 대표성에 대한 의문이 제기되고 있다. 또한 벌꿀의 품질평가 항목이 늘어남에 따라 품질평가를 위해 소요되는 시간이 증가하여 벌꿀의 온도 변화에 따른 품질저하를 초래하고 있어 벌꿀의 신속한 품질평가 방법이 필요한 실정이다.

*Corresponding author. E-mail : babina@lsmtron.com
Phone : 82-31-688-5383, Fax : 82-31-290-7830

근적외선 분광분석법은 시료 내·외부의 상태에 따른 광학적 특성을 비파괴적으로 분석하여 품질을 평가하는 방법으로 하나의 스펙트럼으로 시료의 물리화학적 다양한 정보를 동시에 측정 가능하며, 분석 시 숙련된 기술이 필요 없고 결과의 해석이 간편하여 벌꿀의 품질평가를 위한 수단으로 많은 연구에 이용되고 있다.

벌꿀의 품질평가에 관한 연구는 주로 성능이 우수한 실험실용 근적외선 분광분석기를 이용한 벌꿀의 수분, 당류, HMF, 탄소동위원소비의 예측모델 개발에 대해 수행되었으며(4,5), 최근에는 벌꿀의 생산지(6), 첨가물(7,8), 밀원(9) 등의 검출에 관한 연구가 활발히 수행되고 있으나 현장에서 실시간 측정 가능한 벌꿀의 휴대용 품질평가 시스템은 개발된 사례가 없다.

그러므로 본 연구에서는 근적외선 분광분석법을 이용하여 현장에서 실시간으로 벌꿀의 성분 측정이 가능하도록 휴대용 품질평가 시스템을 개발하였으며, 기존 문헌에서 사용한 실험실용 고성능 근적외선 분광분석기를 이용하여 예측모델의 성능을 평가 하였다.

재료 및 방법

벌꿀의 이화학적 성분측정

벌꿀 시료는 경기도 수원시 농민회관에 위치한 한국양봉협회 한국양봉산물연구소의 협조로 4~6월에 채밀하여 전화시킨 총 346점의 아카시아 꿀(181점)과 잡화 꿀(165점)을 사용하였다. 벌꿀 시료의 이화학적 성분 분석은 수분, 회분, 전화당, 자당, 과당/포도당비, HMF, 탄소동위원소비를 식품공전에 고시된 방법으로 측정하였다.

수분 함량 측정

벌꿀의 발효에 큰 영향을 미치는 수분은 디지털굴절수분계(HHR-2N, Atago Co, Japan)에 향온 circulator (E100, LAUDA, Germany)를 장착하여 20℃에서 굴절률을 측정 한 후, 수분환산표를 이용하여 수분함량을 계산하였다.

회분 함량 측정

벌꿀의 회분 함량은 시료 5 g을 취하여 미리 전기로에서 강하게 가열하여 항량을 구한 회화용기에 정확히 달아 열판 위에서 태운 후 전기로에 넣어 600℃ 전후에서 6시간 회화시킨 것을 데시케이터에 넣고 실온에서 방치 냉각한 후 다음의 계산식에 의하여 측정하였다.

$$\text{회분 (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{S} \times 100$$

W_0 : 항량된 회화용기의 무게(g)

W_1 : 회화 후의 회화용기와 회분의 무게(g)

S : 검체의 채취량(g)

당 함량 측정

벌꿀의 주성분인 당의 함량은 HPLC (2487UV, Waters, USA)를 이용하여 포도당과 과당의 혼합물인 전화당, 품질이 떨어지는 사양(飼養)꿀에서 높은 함량을 보이는 자당, 벌꿀의 결정화에 영향을 미치는 과당/포도당비를 분석하였다. 시료는 벌꿀 약 5 g을 정밀히 달아 50 mL volumetric flask에 완전히 녹여 0.45 μm membrane filter로 여과한 것을 시험용액으로 사용하였다. HPLC 측정 시 RI detector (M410, 40℃)와 carbohydrate column (3.9×300 mm, 10 μm)을 사용하였으며 attenuation은 64, 용매는 acetonitrile : water를 80 : 20 (v/v)으로 혼합하여 1.5 mL/min으로 흘러주었고 시험용액의 주입량은 10 μL 로 하였다.

HMF 함량 측정

벌꿀의 저장 기간 및 상태에 따라 증가하는 HMF의 함량은 HPLC (2487UV, Waters, USA)를 이용하여 분석하였으며 시험용액은 당류 분석 시 조제한 시험용액을 사용하였다. HPLC는 UV detector (M486)와 μ -Bondapak C₁₈ column (3.9×300 mm, 10 μm)을 사용하여 280 nm에서 측정하였으며, 용매는 water : methanol을 90 : 10 (v/v)으로 혼합하여 1.5 mL/min으로 흘러주면서 시험용액 20 μL 을 주입하였다.

탄소동위원소비 측정

벌꿀에 어떠한 물리화학적 처리를 하여도 항상 일정한 비율을 유지하므로 벌꿀의 진위 판정에 유용하게 사용되는 탄소동위원소비는 GC-IR/MS (Isochrom-EA, VG Isotech, UK)를 이용하여 측정하였다. 벌꿀 시료 약 5 mg 정도를 tin capsule에 넣고 밀봉하여 EA (Elemental Analyser, FISON, Italy)에서 회화하고 CO₂로 산화시킨 후, GC로 분리하였으며 HE gas diluter로 희석하여 GC-IR/MS로 ¹²C와 ¹³C를 측정하였다.

휴대용 품질평가 시스템의 개발

휴대용 품질평가 시스템의 제원은 Fig. 1과 같이 크기 310 (L)×235 (W)×100 (H) mm, 무게 5 kg으로 시료에 빛을 조사하기 위한 광원부, 시료에 반사된 빛을 검출기에 전달하기 위한 광섬유 프로브, 벌꿀 시료에 의해 반사된 빛의 흡광도를 측정하기 위한 검출기, 시스템 제어를 위한 마이크로컨트롤러와 전체 시스템의 전원 공급 및 휴대용 측정을 위한 전원 장치로 구성하였다.

광원부는 Table 1과 같이 벌꿀의 주요 품질요인이 근적외선 영역에서 높은 상관관계가 있는 점을 고려하여(10) 360~2,000 nm 영역의 방출이 가능한 텅스텐-할로젠(tungsten-halogen) 램프로 설계하였다. 광섬유 프로브는 'Y'자형으로

양쪽 끝은 각각 광원과 검출기에 연결하였으며, 한쪽 끝은 벌꿀 시료에 직접 넣어 반사 스펙트럼의 측정이 가능하도록 자체적으로 반사판을 가지고 있는 'ㄷ'자형 광섬유 프로브를 설계하였다. 시료를 투과한 후 반사된 빛은 산란되어 시료에 입사되는 빛에 비해 상대적으로 강도가 약해지므로 이를 방지하기 위해 광섬유 프로브의 내부는 광원으로부터의 빛을 시료에 조사하는 입사 광섬유 1개와 시료로부터 반사된 빛을 검출기에 전달하는 반사 광섬유 8개로 구성하였다. 입사 및 반사 광섬유의 직경은 일반적인 광섬유의 직경인 0.3 mm를 사용하였으며, 전체 광섬유 프로브의 직경은 14 mm로 설계하였다. 또한 광섬유 프로브의 광 투과

거리(pathlength)는 0.5 mm에서 0.1 mm단위로 변화하여 벌꿀 시료의 광학적 특성에 따라 변경이 가능하도록 제작하였다. 검출기는 벌꿀 시료에 의해 반사된 근적외선 영역의 검출이 가능하도록 InGaAs 포토다이오드 방식의 검출기를 사용하였으며, 벌꿀 성분의 주요 파장영역인 1,100~2,200 nm의 검출기는 대부분 고가의 장비에 사용되므로 경제성을 고려하여 분광부의 파장 영역은 1,100~1,750 nm로 하여 2 nm 간격으로 측정이 가능하도록 하였다. 전원 장치는 휴대용 품질평가 시스템의 각 부분에 전원공급이 가능하도록 12 V 리튬이온(Li-ion) 방식의 배터리 셀을 사용하였으며, 충전 시간은 약 2.5시간으로 품질평가와 동시에 충전이

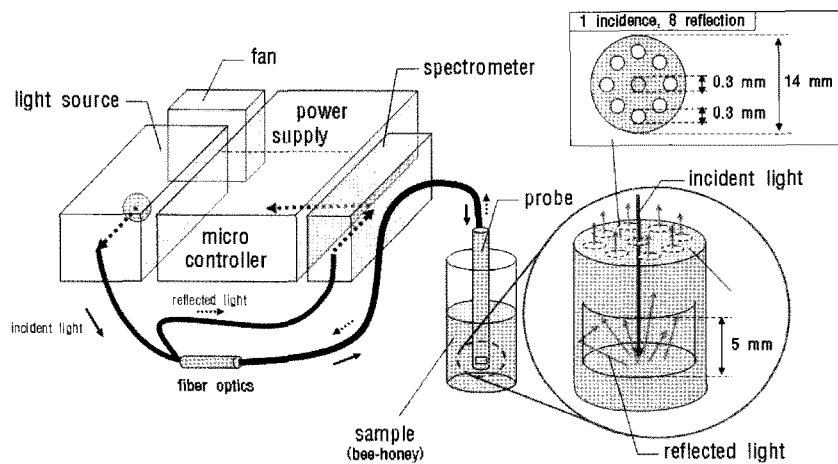


Fig. 1. Schematic component and diagram of portable quality evaluation.

Table 1. Specifications of portable quality evaluation system for bee-honey

Item	Specifications
Physical	Dimension 310 × 235 × 100 (L × W × H) mm
	Weight 5 kg
Light source	Spectral range 360~2,000 nm
	Bulb type Tungsten-halogen lamp
Probe	Fiber type Dip probe
	Diameter 14 mm (fiber optics : 0.3 mm)
	Number of fiber optics 9 (1 : incidence, 8 : reflection)
	Pathlength 0.5 mm, 1.0 mm, 1.5 mm
Detector	Detector InGaAs PDA (128 pixels)
	Wavelength range 1,100~1,750 nm
	Spectral bandwidth < 15 nm
	Data interval 2 nm
External connector USB port	
Power supply	Battery cell Li-ion, DC 12 V
	Recharge time 2.5 hr
	Discharge time 6 hr

가능하고 별도의 전원 없이 휴대용으로 약 6시간동안 품질 평가가 가능하도록 설계하였다.

휴대용 품질평가 시스템의 제어 및 품질평가를 위한 프로그램은 Labview version 8.2 (National Instruments, USA)를 사용하여 벌꿀 시료의 스펙트럼을 측정하며 벌꿀의 주요 품질요인에 따른 예측모델을 이용하여 실시간으로 품질 평가가 가능하도록 개발하였다.

휴대용 품질평가 시스템은 광원부에서 벌꿀 시료에 빛을 조사하여 광섬유 프로브에 반사된 빛이 검출기에 내장된 초소형 오목 회절발(grating)에 의해 2 nm 간격으로 분리되어 포토다이오드 검출기 및 증폭회로에 의해 전기적인 신호로 변환되며, USB 통신으로 PC 및 노트북에 흡광도로 변환·전송되어 개발된 예측모델에 의해 벌꿀의 품질요인을 측정하게 된다.

스펙트럼 측정

개발된 품질평가 시스템의 성능평가를 위해 실험실용 고성능 분광분석기(Foss 6500, NIRSystem, USA)와 휴대용 품질평가 시스템을 이용하여 Fig. 2와 같이 벌꿀 시료의 반사 스펙트럼을 측정하였다. 고성능 분광분석기는 다양한

시료에 대해 가시광선에서 근적외선 영역까지의 스펙트럼 측정이 가능하며 분해능 및 재현성이 우수한 장점이 있으나 시스템의 안정된 사용을 위한 예열 시간이 필요하며 장비의 규모가 커서 휴대가 불가능한 단점이 있다.

실험은 하나의 벌꿀 시료에 대해 고성능 분광분석기와 horizontal 모듈로 400~2,498 nm의 파장영역에서 2 nm 간격으로 스펙트럼을 측정 한 후에 휴대용 품질평가 시스템의 광섬유 프로브를 이용하여 1,100~1,700 nm의 파장영역에서 2 nm 간격으로 스펙트럼을 측정하는 방법으로 346개의 벌꿀 시료에 대한 흡광도($\log(1/R)$)를 수집하였다. 고성능 분광분석기와 휴대용 품질평가 시스템의 벌꿀 시료에 대한 광 투과거리는 전체적인 흡광도의 크기에 영향을 미치며 흡광도가 클수록 많은 정보 획득이 가능하여 예측가능성이 향상되므로(11) 수집한 벌꿀 시료 중 40점에 대해 0.5 mm, 1.0 mm, 1.5 mm의 광 투과거리에 따른 스펙트럼을 측정 한 후 전체 스펙트럼 영역에서 예측모형을 개발하고 교차검증(cross validation)을 수행하여 최적 광 투과거리를 선정하였다. 이때 개발된 예측모형은 최적 광 투과거리의 선정을 위한 것이므로 교차검증부의 결정계수(r^2)만을 이용하여 평가하였으며, 미지의 시료를 이용한 별도의 성능평가는 수행하지 않았다.

고성능 분광분석기를 이용한 스펙트럼 측정은 항상 일정한 흡광도를 나타내는 표준반사체를 이용하여 기준 스펙트럼을 측정하고 벌꿀 시료를 샘플 셀에 부은 후, 반사판을 넣고 벌꿀 시료가 완전히 정지한 후에 반사 스펙트럼을 측정하는 방법으로 수행하였다. 이때 샘플 셀은 광 투과성이 우수한 수정을 이용하여 제작하였으며, 반사판은 평면을 고르게 정밀 가공한 후 반사율을 높이기 위해 금으로 도금하였다(11). 휴대용 품질평가 시스템을 이용한 스펙트럼 측정은 자체적으로 표준반사체를 가지고 있는 광섬유 프로브를 이용하여 기준 스펙트럼을 측정 한 후, 직접 광섬유 프로브를 벌꿀 속에 집어넣고 벌꿀 시료가 완전히 정지한 후에 반사 스펙트럼을 측정하는 방법으로 수행하였다.

예측모형 개발

벌꿀의 주요 품질요인에 대한 예측모형 개발은 상용 프로그램인 Unscrambler (9.6, Camo, Norway)를 이용하였다. 예측모형 개발을 위해 전체 스펙트럼의 50%를 교정부로, 50%를 검증부로 분류하였으며, 교정부와 검증부의 화학성분이 유사한 크기와 범위를 갖도록 조정하였다. 교정부의 스펙트럼은 모형의 개발단계에서 반복 사용하여 최적 모형을 개발하였고 검증부는 예측모형의 최종평가에만 사용하였다.

예측모형 개발에 앞서 스펙트럼의 노이즈 제거를 위한 수학적 전처리(mathematical processing)는 빛의 산란 등과 같이 스펙트럼의 외란 보정에 용이한 1차 및 2차 미분을 사용하였다(12). 그러므로 벌꿀의 주요 품질요인에 대한

예측모형은 휴대용 품질평가 시스템과 고성능 분광분석기의 원시 스펙트럼과 각각의 1차 및 2차 미분 스펙트럼을 이용하여 개발하였다.

예측모형 개발은 독립변수와 상관관계가 가장 높은 파장영역을 선택하기 때문에 외부 환경 변화에도 안정된 품질관정이 가능한 부분최소자승방법(Partial Least Squares, PLS)을 이용하여(13)개발하였다. 부분최소자승법은 주성분 분석으로 독립변수와 종속변수를 주성분 벡터(principle component vector)와 스코어 벡터(score vector)로 각각 분해하여 종속변수의 예측모형을 개발하는 통계적 기법으로 주성분 분석 시 독립변수와 종속변수의 정보를 동시에 이용함으로써 종속변수의 크기에 따라 독립변수에 가중치 부여가 가능한 장점이 있다. 독립변수와 종속변수는 다음의 식과 같이 각각 주성분 벡터와 스코어 벡터의 곱과 잔차로 표현이 가능하며, 이때 각각의 스코어 벡터를 이용하여 예측모형을 개발하게 된다. 본 연구에서는 독립변수 X 를 벌꿀의 스펙트럼, 종속변수 Y 를 벌꿀의 품질요인으로 하여 주성분 분석을 수행하였으며, 각각의 스코어 벡터로 벌꿀의 품질요인에 대한 각각의 예측 모형을 개발하였다.

$$X = TP^T + E$$

$$Y = UQ^T + F$$

$$B = T^{-1}(U - H)$$

X: 벌꿀 스펙트럼

T: X의 스코어 벡터

P: X의 주성분 벡터

B: 예측모형

Y: 벌꿀의 품질요인

U: Y의 스코어 벡터

Q: Y의 주성분 벡터

E, F, H: 잔차

예측 모형은 주성분(Principle Component, PC) 수가 클수록 예측모형의 신뢰성이 떨어지는 점을 고려하여 최대 주성분은 20으로 설정하고(14) 교차검증을 통하여 각각의 주성분과 벌꿀 품질요인 사이의 결정계수, 교정부 오차(Standard Error of Calibration, SEC)를 비교하여 개발하였다. 최적 예측모형은 벌꿀의 품질요인별로 전체 스펙트럼 영역을 100 nm 간격으로 변화시키며, 결정계수가 우수한 파장영역을 우선적으로 선택한 후에 서로를 조합하여 최적 파장영역을 선정하는 방법으로 개발하였다. 이때 최적 파장영역은 부분최소자승법이 넓은 파장영역을 선택할수록 우수한 예측성능을 보이는 점을 고려하여(15) 결정계수가 우수한 파장영역들 사이의 선택되지 않은 영역도 추가하여 가급적 넓고 연속적인 파장영역을 갖도록 한 후에 다시 예측모형의 성능을 평가하는 방법을 반복하여 선정하였다.

개발된 모형의 예측성능은 검증부 결정계수, 검증부 오차(Standard Error of Prediction, SEP), RPD (Ratio of standard Deviation to SEP)를 이용하여 평가하였다. 여기서 검증부 결정계수는 0.66 미만, 0.66~0.81, 0.82~0.90, 0.91 이상의

범위에 대해 각각 상관관계가 낮음(poor), 유의함(approximate), 높음(good), 우수함(excellent)을 의미하며(16), 예측모델의 정밀도를 의미하는 RPD는 일반적으로 2.5~5 이면 높음, 5 이상이면 우수하다고 판단한다(17).

결과 및 고찰

벌꿀의 이화학적 성분측정

벌꿀의 이화학적 성분은 식품공전에 고시된 방법으로 벌꿀 시료 346점에 대한 수분, 회분, 전화당, 자당, 과당/포도당비, HMF, 탄소동위원소비를 측정하였고 그 결과는 Table 2와 같다. 수분의 함량은 16.8~22.2%로 나타났으며, 271점(78.3%)의 시료가 규격기준인 21.0% 이하인 것으로 나타났다. 회분의 함량은 0.06~0.28%로 모든 시료가 규격기준인 0.6%이하인 것으로 나타났다. 전화당의 함량은 62.2~75.5%로 나타났으며, 345점(99.7%)의 시료가 기준인 65.0% 이상인 것으로 나타났다. 자당의 함량은 2.99~8.50%로 344점(99.4%)의 시료가 기준인 7.0% 이하인 것으로 나타났다. 과당/포도당비는 1.13~1.93로, 모든 시료가 기준인 1.0 이상인 것으로 측정되어 결정화가 일어나지 않은 것으로 나타났다. HMF는 11.0~39.0 mg/kg로 모든 시료가 기준인 40 mg/kg 이하인 것으로 나타났다. 탄소동위원소비는 -25.2~-10.7로 나타났으며, 235점(67.9%)이 기준인 -23.0 이하인 것으로 나타나 우수한 품질의 벌꿀이 상대적으로 많은 것으로 나타났다.

Table 2. Chemical properties of bee-honey samples tested for PLS model

	Ave.	Max.	Min.	Std. Dev.
Moisture contents (%)	21.3	22.2	16.8	0.95
Ash (%)	0.09	0.28	0.06	0.03
Invert sugar (%)	72.1	75.5	62.2	2.30
Sucrose (%)	4.48	8.50	2.99	0.92
F/G ratio	1.51	1.93	1.13	0.20
HMF	13.6	39.0	11.0	4.35
C ¹² /C ¹³ ratio	-21.1	-10.7	-25.2	3.70

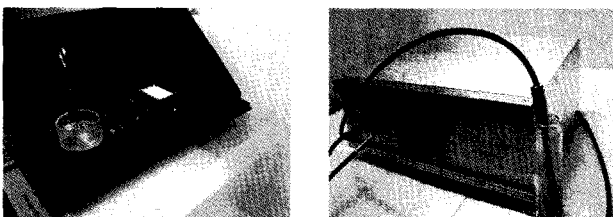


Fig. 2 Laboratory spectrometer (left) and portable quality evaluation system (right).

광 투과거리의 선정

고성능 분광분석기와 휴대용 품질평가 시스템의 광 투과 거리에 따른 벌꿀 시료의 스펙트럼은 광 투과거리가 증가할수록 벌꿀 시료에 흡수되는 빛의 증가로 Fig. 3과 같이 흡광도가 증가함을 알 수 있다.

고성능 분광분석기를 이용한 벌꿀의 스펙트럼은 0.5 mm의 광 투과거리의 경우 800~1,000 nm 영역의 가시광선 영역에서 다른 광 투과거리보다 낮은 흡광도를 보이고 있어 벌꿀의 품질요인에 대한 정보를 상대적으로 적게 포함하고 있음을 알 수 있으며, 1.5 mm를 사용한 경우 전체적으로 높은 흡광도를 보여 많은 정보를 내포하고 있으나 1,900~2,500 nm 영역의 근적외선 영역에서 스펙트럼이 포화(saturation)되어 예측모델 개발에 사용하기 어려움을 알 수 있다. 휴대용 품질평가 시스템의 광 투과거리는 0.5 mm의 경우 1,100~1,300 nm 영역에서 낮은 흡광도를 보여 주었으며, 1,300~1,700 nm 영역에서는 광 투과거리 0.5 mm와 1.0 mm의 스펙트럼은 유사한 경향을 보였으나 1.5 mm의 광 투과거리는 다소 높은 흡광도를 보여 주었다.

최적 광 투과거리의 선정에 대해 벌꿀의 품질요인에 대한 예측모델을 개발하여 교차검증을 수행한 결과는 Table 3과 같이 나타났다. 고성능 분광분석기의 교차검증부 결정계수는 수분의 경우, 광 투과거리 1.0 mm에서 0.93으로 가장 우수하였으나 0.5 mm에서 0.89, 1.5 mm에서 0.82로 낮은 결과를 보여 주었다. 회분, 전화당, 자당, 과당/포도당비, HMF의 교차검증부 결정계수는 광 투과거리 1.0 mm와 1.5 mm에서는 유사한 범위를 보여 주었으나 0.5 mm에서는 다소 낮은 결과를 보여 주었다. 탄소동위원소비의 교차검증부 결정계수는 광 투과거리 1.0 mm에서는 0.92로 우수한 결과를 보여 주었으나 0.5 mm와 1.5 mm에서는 각각 0.88과 0.85로 다소 낮게 나타났다. 고성능 분광분석기의 광 투과거리는 1.0 mm와 1.5 mm를 사용하면 대부분 우수한 결정계수를 얻을 수 있었으나 수분과 탄소동위원소비의 경우 낮은 결정계수를 보여 고성능 분광분석기의 최적 광 투과거리는 1.0 mm로 선정하였다.

휴대용 품질평가 시스템의 교차검증부 결정계수는 수분의 경우, 광 투과거리 1.5 mm에서 0.90으로 가장 우수하였으며, 0.5 mm와 1.0 mm에서 각각 0.86과 0.88로 다소 낮은 결과를 보여 주었다. 회분, 전화당, HMF, 탄소동위원소비의 교차검증부 결정계수는 광 투과거리 1.0 mm와 1.5 mm에서는 유사한 범위를 보여 주었으나 0.5 mm에서는 다소 낮은 결과를 보여 주었다. 또한 자당과 과당/포도당비의 교차검증부 결정계수는 광 투과거리에 상관없이 모두 유사한 범위를 보여 주었다. 휴대용 품질평가 시스템의 광 투과거리는 1.0 mm와 1.5 mm가 유사한 범위의 결정계수를 보여 주어 두 가지 모두 사용 가능하나 가급적 높은 흡광도를 가지면 보다 많은 벌꿀의 품질요인에 대한 정보를 포함하고 있으므로 흡광도가 가장 높은 1.5 mm를 휴대용 품질평가 시스템의 최적 광 투과거리로 선정하였다.

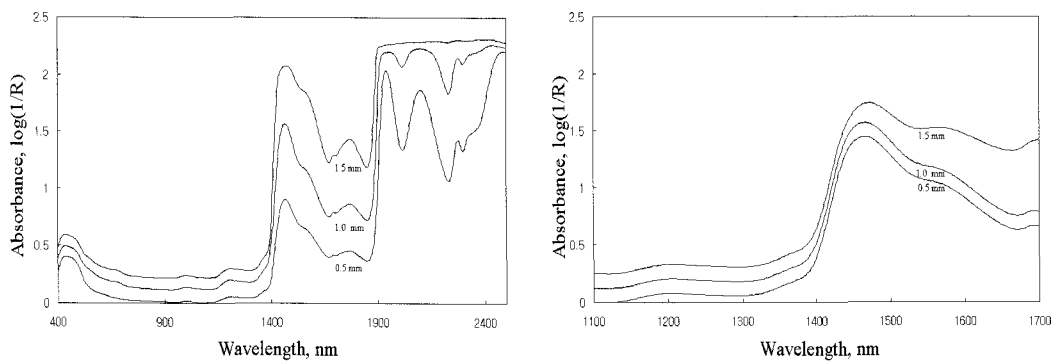


Fig. 3 Reflectance spectra of bee-honey by laboratory spectrometer (left) and portable quality evaluation system (right).

Table 3. PLS results of cross validation at different pathlength (0.5 mm, 1.0 mm, 1.5 mm)

(N: 40)

Pathlength (mm)	Coefficient of determination (r^2)					
	laboratory			portable		
	0.5	1.0	1.5	0.5	1.0	1.5
Moisture contents (%)	0.89	0.93	0.82	0.86	0.88	0.90
Ash (%)	0.59	0.60	0.60	0.55	0.59	0.59
Invert sugar (%)	0.86	0.89	0.89	0.84	0.87	0.87
Sucrose (%)	0.90	0.95	0.94	0.85	0.86	0.85
F/G ratio	0.90	0.94	0.94	0.90	0.90	0.90
HMF (mg/kg)	0.76	0.80	0.79	0.71	0.75	0.76
C^{12}/C^{13} ratio	0.88	0.92	0.85	0.86	0.89	0.89

스펙트럼 측정 결과

휴대용 품질평가 시스템을 이용한 벌꿀 시료의 스펙트럼은 Fig. 4와 같이 고성능 분광분석기를 이용한 스펙트럼과 1,100~1,700 nm 영역에서 유사한 경향을 보이고 있으나 광섬유 프로브의 사용에 따라 광량이 감소하여 전체적으로 낮은 흡광도를 보이고 있다. 또한 벌꿀의 품질요인 중 수분과 전화당 함량의 크기에 따른 스펙트럼의 흡광도는 전체 스펙트럼 영역에서 일정한 경향을 보이지 않고 교차하여 나타나 수분과 전화당의 함량에 따른 흡광도의 차이는 구분할 수 없었으며, 이러한 흡광도의 차이는 벌꿀의 회분, 자당, 과당/포도당비, HMF, 탄소동위원소비의 크기에 대해서도 구별이 어려웠다.

휴대용 품질평가 시스템의 성능평가

벌꿀 성분에 대한 예측모델은 수학적 전처리인 미분 스펙트럼을 사용하면 전체적으로 결정계수가 우수한 모델 개발이 가능하였으나 미분에 따른 잡음 영역의 증가로 예측 오차도 증가하여 전처리를 하지 않은 원시 스펙트럼을 이용하여 고성능 분광분석기와 휴대용 품질평가 시스템의 성능을 평가 하였다.

고성능 분광분석기와 휴대용 품질평가 시스템을 이용한 예측모델의 개발 결과 Table 4와 같이 1,100 nm 이상의 근적외선 영역을 이용하여 벌꿀 성분의 예측모델 개발이 가능하였다. 고성능 분광분석기는 1,100~2,200 nm 영역에서 0.92~0.98의 우수한 교정부 결정계수를 보여 주었으며, 휴대용 품질평가 시스템은 주로 1,100~1,300 nm와 1,400~1,700 nm 영역에서 0.77~0.96의 교정부 결정계수를 보여 고성능 분광분석기 보다는 다소 낮은 상관관계를 보여 주었다.

벌꿀의 수분을 미지의 시료를 이용하여 검증한 결과, 고성능 분광분석기의 결정계수는 0.96, 오차는 0.13%, RPD는 7.15로 Cho 등(4)의 결과인 결정계수 0.97, 오차 0.10%와 유사한 범위를 보여 주었으며, 휴대용 품질평가 시스템은 고성능 분광분석기 보다는 다소 떨어지나 결정계수는 0.95, 오차는 0.18%, RPD는 5.16으로 매우 우수한 예측성능을 보여 주었다.

회분은 고성능 분광분석기를 이용하여 모델을 개발한 경우 교정부 결정계수가 0.98로 우수한 상관관계를 보였으나 검증결과 결정계수는 0.69로 크게 감소하였으며, 검증부 오차는 0.017%로 큰 오차를 보여 RPD는 1.76으로 매우 낮은 정밀도를 나타냈다. 이것은 예측모델 개발 시 사용한 회분의 범위가 0.06~0.28 %로 매우 좁기 때문에 개발된 예측모델이 안정되지 못하고 주성분수 17에서 수렴하여 예측모델의 결정계수는 높으나 검증 시 큰 오차가 발생하는 과적합(overfitting) 현상이 일어났기 때문으로 판단된다. 휴대용 품질평가 시스템을 이용한 예측모델은 주성분수가 15로 교정부 결정계수는 0.77이었으나 검증부 결정계수는 0.64로 감소하였으며, 검증부 오차와 RPD는 각각 0.020%, 1.50으로 고성능 분광분석기와 마찬가지로 정밀도가 매우 낮게 나타났다.

전화당의 예측모델을 검증한 결과는 고성능 분광분석기가 결정계수 0.92, 오차 0.78%, RPD 2.93으로 우수한 상관관계를 보여 주었으며, 휴대용 품질평가 시스템은 각각 0.91, 0.88%, 2.60으로 고성능 분광분석기와 유사한 예측성능을 보여 주었다.

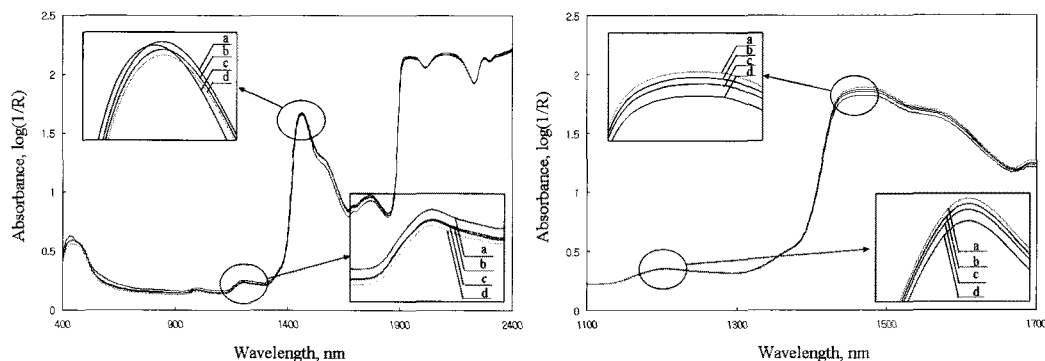


Fig. 4 Reflectance spectra of laboratory spectrometer (left) and portable quality evaluation (right) system for bee-honey at different moisture contents (a: 19.6%, b: 17.3%, c: 20.4%, d: 22.0%) and invert sugar (a: 67.1%, b: 71.2%, c: 69.3%, d: 63.5%).

Table 4. PLS results of laboratory spectrometer and portable quality evaluation system for bee-honey properties

(N: 306)

		Calibration				Prediction		
		Wavelength(nm)	PC	r ²	SEC ¹⁾	r ²	SEP ²⁾	RPD ³⁾
Moisture contents (%)	Laboratory	1,300 ~ 2,200	5	0.98	0.13	0.96	0.13	7.15
	Portable	1,100 ~ 1,300 1,400 ~ 1,700	6	0.96	0.13	0.95	0.18	5.16
Ash (%)	Laboratory	1,400 ~ 1,800	17	0.98	0.011	0.69	0.017	1.76
	Portable	1,100 ~ 1,400	15	0.77	0.018	0.64	0.020	1.50
Invert sugar (%)	Laboratory	1,100 ~ 1,300	7	0.95	0.77	0.92	0.78	2.93
	Portable	1,100 ~ 1,300 1,400 ~ 1,700	8	0.93	0.82	0.91	0.88	2.60
Sucrose (%)	Laboratory	1,100 ~ 1,300 1,600 ~ 1,800	7	0.98	0.15	0.97	0.20	4.65
	Portable	1,100 ~ 1,300 1,400 ~ 1,700	10	0.95	0.42	0.91	0.23	4.04
F/G ratio	Laboratory	1,100 ~ 1,300	8	0.96	0.02	0.96	0.02	9.50
	Portable	1,100 ~ 1,300 1,400 ~ 1,700	7	0.94	0.03	0.93	0.03	6.33
HMF (mg/kg)	Laboratory	1,100 ~ 1,300	11	0.92	2.22	0.85	2.20	1.96
	Portable	1,000 ~ 1,400	11	0.88	2.58	0.82	2.51	1.72
C ¹² /C ¹³ ratio	Laboratory	1,100 ~ 1,300 1,400 ~ 2,200	8	0.97	0.53	0.95	0.51	7.29
	Portable	1,100 ~ 1,700	9	0.95	0.81	0.92	0.78	4.77

¹⁾SEC : standard error of calibration
²⁾SEP : standard error of prediction
³⁾RPD : ratio of standard deviation to SEP

자당의 예측모델은 고성능 분광분석기와 휴대용 품질평가 시스템 모두 Qui 등(5)의 결정계수 0.86, 오차 0.34% 보다 우수한 검증 결과를 보여 주었으며, 고성능 분광분석기는 결정계수 0.97, 오차 0.20%, RPD 4.65, 휴대용 품질평가 시스템은 각각 0.91, 0.23%, 4.04로 고성능 분광분석기의 예측성능 보다는 낮게 나타났다.

과당/포도당비의 예측모델은 고성능 분광분석기와 휴대용 품질평가 시스템이 각각 결정계수 0.96, 0.93, 오차 0.02,

0.03, RPD 9.50, 6.33으로 매우 우수한 검증결과를 보여 주었으며, 이것은 기존 문헌에서는 연구된 사례가 없어 비교가 어려우나 Cho 등(4)의 과당과 포도당의 검증결과인 결정계수 0.92, 0.95와는 유사한 범위를 보여 주었다.

HMF 예측모델에 대한 검증 결과는 고성능 분광분석기가 결정계수 0.85, 오차 2.20 mg/kg, RPD 1.96, 휴대용 품질평가 시스템이 각각 0.82, 2.51 mg/kg, 1.72로 모두 교정 결과 보다는 다소 낮은 검증결과를 보여 주었으나 Qui 등(5)

의 연구결과인 검증부 결정계수 0.66, 오차 3.10 mg/kg 보다는 우수한 예측성능을 보여 주었다.

탄소동위원소비의 예측모델은 고성능 분광분석기가 결정계수 0.95, 오차 0.51, RPD 7.29의 우수한 검증결과를 보여 주었으며, 휴대용 품질평가 시스템이 각각 0.92, 0.78, 4.77로 고성능 분광분석기의 예측성능 보다는 다소 낮으나 우수한 예측성능을 보여 주었다.

휴대용 품질평가 시스템의 벌꿀의 성분에 대한 예측성능은 고성능 분광분석기에 비해 전체적으로 다소 낮은 것으로 나타났으나 회분과 HMF를 제외하고는 결정계수와 RPD가 각각 0.91과 2 이상으로 모두 우수한 예측성능을 보여 현장에서 벌꿀의 실시간 품질판정에 사용이 가능할 것으로 판단된다. HMF는 벌꿀의 다른 성분에 비해 예측성능이 다소 낮게 나타났으나 기존 문헌 결과 보다는 우수한 결과를 보였으며, 예측성능 개선을 위해서는 보다 많은 벌꿀 시료의 확보를 통한 신뢰성 있는 예측모델이 필요할 것으로 판단된다. 그러나 회분의 예측성능은 매우 낮게 나타나 개발된 부분최소자승 모델을 이용하여 벌꿀 회분의 측정이 어려우며, 근적외선 스펙트럼을 이용하여 회분의 함량을 예측하기 위해서는 벌꿀 중 회분을 대표할 수 있는 시료의 확보와 동시에 다양한 수학적 전처리 및 예측모델 개발 방법의 적용이 필요할 것으로 판단된다.

요약 및 결론

본 연구는 현장에서 실시간 벌꿀의 품질요인 측정이 가능한 휴대용 품질평가 시스템을 개발하기 위해 수행되었다. 휴대용 품질판정 시스템은 시료에 빛을 조사하기 위한 광원부, 시료에 반사된 빛의 이동을 위한 광섬유 프로브, 벌꿀 시료에 의해 반사된 빛을 측정하기 위한 검출기와 전체 시스템의 전원 공급을 위한 전원 장치로 구성하였으며, 그 구체적인 결과는 다음과 같다.

(1) 휴대용 품질평가 시스템을 이용한 벌꿀 시료의 스펙트럼은 1,100~1,700 nm 영역에서 고성능 분광분석기와 유사하게 나타났으나 광섬유 프로브의 사용에 따라 광량이 감소하여 전체적으로 낮은 흡광도를 보여 주었다.

(2) 광 투과거리를 0.5 mm, 1.0 mm, 1.5 mm의 3수준을 두어 고성능 분광분석기와 휴대용 품질평가 시스템을 이용하여 벌꿀 시료의 스펙트럼을 측정하여 예측모델을 교차검증한 결과, 고성능 분광분석기와 휴대용 품질평가 시스템의 광 투과거리는 교차검증부 결정계수가 우수한 동시에 스펙트럼이 포화되지 않고 높은 흡광도 보이는 1.0 mm와 1.5 mm로 각각 선정하였다.

(3) 고성능 분광분석기와 휴대용 품질평가 시스템을 이용한 예측모델은 1,100 nm 이상의 근적외선 영역에서 벌꿀의 성분을 예측할 수 있는 것으로 나타났다. 휴대용 품질평

가 시스템을 이용하여 벌꿀 품질요인의 예측모델을 개발하여 검증한 결과, 벌꿀의 수분 함량, 전화당, 자당, 과당/포도당비, 탄소동위원소비에 대한 예측모델의 결정계수는 모두 0.90 이상으로 고성능 분광분석기와 유사한 검증결과를 보이고 있어 현장에서 실시간 벌꿀의 품질평가에 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있다. HMF에 대한 예측모델의 결정계수는 0.82로 기존 문헌 결과보다는 우수하지만 다른 성분에 비해 다소 낮게 나타나 예측성능 개선을 위해 보다 많은 벌꿀 시료 확보가 필요할 것으로 판단된다. 회분의 예측성능은 결정계수 0.64로 낮게 나타나 부분최소자승 모델로 예측이 어려우며, 근적외선 스펙트럼을 이용하여 회분의 함량을 예측하기 위해서는 벌꿀 중 회분을 대표할 수 있는 시료의 확보와 동시에 다양한 수학적 전처리 및 예측모델 개발 방법의 적용이 필요할 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Lee YG, Min BW, Lim SU (1991) Comparative study on some quality - related components of different floral honeys. *J Korean Soc Appl Biol, chem* 34, 102-109
2. KFDA (2000) Food Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea
3. Kim ES, Rhee CO (1996) Comparison of quality attributes of Korean native - bee honey and foreign - bee honey by K/Na ratio. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 25, 672-679
4. Cho HJ, Ha YL (2002) Determination of honey quality by near infra Spectroscopy. *Food Sci Biotechnol*, 34, 356-360
5. Qiu PY, Ding HB, Tang YK, Xu RJ (1999) Determination of chemical composition of commercial honey by near-infrared spectroscopy. *J Agr Food Chem*, 47, 2760-2765
6. Davies AMC, Radovic B, Fearn T, Anklam E (2002) A preliminary study on the characterisation of honey by near infrared spectroscopy. *J Near Infrared Sepc*, 10, 131-145
7. Downey G, Fouratier V, Kelly JD (2003) Detection of honey adulteration by addition of fructose and glucose using near infrared transfectance spectroscopy. *J Near Infrared Sepc*, 11, 447-456
8. Kelly JD, Petisco C, Downey G (2006) Potential of near infrared transfectance spectroscopy to detect adulteration of Irish honey by beet invert syrup and high fructose corn syrup. *J Near Infrared Sepc*, 14, 139-146
9. Corbella E, Cozzolino D (2005) The use of visible and

- near infrared spectroscopy to classify the floral origin of honey samples produced in Uruguay. *J Near Infrared Sepc*, 13, 63-68
10. Kawano S, Fujiwara T, Iwamoto M (1993) Nondestructive determination of sugar content in satsuma mandarin using near infrared (NIR) transmittance. *J Jpn Soc Hortic Sci*, 62, 465-470
 11. Son JR, Lee KJ, Kang SW, Yang GM, Seo YW (2009) Development of Prediction Model for Sugar Content of Strawberry Using NIR Spectroscopy. *Food Eng Pro*, 13, 297-301
 12. Kim KS, Noh HW, Lim SD, Choi CH, Kim YJ (2008) Development of rapid somatic cell counting method by using dye adding NIR spectroscopy. *Korea J Food Sci An*, 28, 63-68
 13. Martens H, Naes T (1987) Multivariate calibration by data compression. In: *Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. Williams P and Norris KH(Editor), American Association of Cereal Chemists, Saint Paul, Minnesota, USA
 14. Choi CH, Kim YJ, Kim KS, Choi TH (2008) Development of measuring technique for somatic cell count in raw milk by spectroscopy. *J of Biosystems Eng*, 33, 210-215
 15. Kim JM (1997) Quality evaluation of rice by optical properties. PhD thesis, Sungkyunkwan University, Suwon, Korea.
 16. Karoui R, Mouazen AM, Dufour E, Pillonel L, Picque D, Bosset JO, De Baerdemaeker J (2006) Mid-infrared spectrometry: A tool for the determination of chemical parameters in emmental cheeses produced during winter. *Lait*, 86, 83-97
 17. Williams PC (1996). Recent advances in near-infrared applications for the agriculture and food industries. Presented at the International Japanese Conference on Near Infrared Spectroscopy, November 20-21, Tsukuba, Japan

(접수 2010년 10월 11일 수정 2011년 2월 15일 채택 2011년 2월 18일)