
VIS/NIR 투과 스펙트럼에 의한 과실류의 실시간/비파괴 당·산도 측정장치 개발

노 상 하

서울대학교 생물자원공학부

I. 서언

과일의 품질에는 외부품질(착색, 형상, 크기, 기형 유무 등), 내부품질(당도, 산도, 경도 등) 및 기타 향기, 촉감 등이 있다. 이들 품질 인자는 상품의 가치 척도로서 종합적으로 평가되어야 하나 측정상의 어려움으로 내부품질은 거의 판정을 하지 못하고 있다. 최근 근적외선 분광분석법을 응용하여 과일의 내부성분을 비파괴적으로 측정하기 위한 연구가 이루어지고 있다. 이들 연구에서 과일의 반사 스펙트럼에 의한 당도 혹은 산도의 비파괴 측정이 가능한 것으로 보고되고 있으며^(2,3,8), 온라인 상태에서 사과와 배의 실시간 반사 스펙트럼을 측정하여 당도 등급별로 선별을 수행한 연구사례도 있다⁽⁷⁾. 반사 스펙트럼에 의한 과일 내부 성분 측정은 실험장치의 구성이 간단한 장점이 있으나, 과일 표면의 수 mm 이내의 정보를 이용하여 내부성분을 측정하므로, 과일내부의 성분을 정확하게 측정하는데는 한계가 있을 것으로 판단된다. 반면 과일의 투과 스펙트럼을 측정하여 과일 내부의 성분을 측정하는 경우, 빛이 과일 내부를 통과하는 동안 투과광의 경로가 길기 때문에 내부성분과 보다 더 밀접한 관계가 있는 신호를 획득할 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 근적외선은 투과력이 약하기 때문에 과일의 직경이 큰 경우 투과 거리가 길어지므로 안정적인 신호를 획득하기 위해서는 강도가 높은 조명장치가 요구되며, 투과 신호를 측정하는 센서 또한, 고감도이어야 하므로 장치제작이 복잡한 단점이 있다.

최근 투과 스펙트럼에 의해 과실류의 당도를 측정한 연구사례^(6,6)가 보고되고 있으나, 이러한 연구에서는 강도가 높은 조명을 과일에 조사하고, 조명과 45도 방향에서 센서를 시료에 밀착시켜 투과 스펙트럼을 측정하였다. 이러한 방식으로 투과 스펙트럼을 측정할 경우 이후 선별장치에 장착하여 과일을 내부 성분 에 따라 선별하는데는 한계가 있는 것으로 판단된다. 따라서, 선별장치에 부착이 가능한 온라인 내부품질 측정장치 제작을 고려할 때, 투과 스펙트럼 측정 방법의 변경이 요구된다.

본 연구는 투과 스펙트럼에 의한 과일의 내부 성분 측정 가능성 구명을 위해 수행되었으며, 연구의 구체적인 목적은 다음과 같다.

1. 주요 과실류의 투과 스펙트럼을 측정하기 위한 하드웨어를 구축하고,
2. 과실류의 맛과 관련된 주요 성분인 당도(가용성 고형분)와 산도에 따른 투과 스펙트럼 특성을 구명하며,
3. 이들 결과를 바탕으로 투과 스펙트럼을 분석하여 과실류의 당 및 산도를 비파괴적으로 측정하는 소프트웨어를 개발하는데 있다.

II. 연구 내용 및 방법

1. 과일의 내부성분 측정 원리

전자기 스펙트럼(electromagnetic spectrum)에서 일반적으로 $14300\sim 10\text{cm}^{-1}$ ($700\text{nm}\sim 1000\mu\text{m}$)영역을 적외선(infrared)이라고 한다. 적외선 영역중 분자의 회전 운동(rotational motion)에 의해 흡수가 일어나는 영역을 원적외선(far infrared, $200\sim 10\text{cm}^{-1}$, $50\mu\text{m}\sim 1000\mu\text{m}$), stretching 및 bending의 분자 진동(molecular vibration)에 의한 흡수가 일어나는 영역을 중적외선(mid infrared, $4000\sim 200\text{cm}^{-1}$, $2500\text{nm}\sim 50\mu\text{m}$)이라고 한다. 중적외선 영역에서는 O-H, C-H, N-H 그리고 C=O 등의 작용기가 분자 진동에 의해 흡수된다. 이러한 흡수에 의한 배진동(overtone vibration) 및 결합 진동(combination vibration)에 의해 2차 및 3차 흡수가 일어나는 영역을 근적외선($14300\sim 4000\text{cm}^{-1}$, $700\text{nm}\sim 2500\text{nm}$)이라고 한다.

과실의 종류에 따라 당과 산의 종류와 함량이 각각 다르다. 복숭아는 평균적으로 7.3%의 당을 함유하며 이중 자당(sucrose; $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$)이 5.1%로 대부분을 차지하고, 그 이외에 과당(fructose; $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) 및 포도당(glucose; $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)이 각각 0.9% 및 0.8% 정도 포함되어 있다. 또한, 복숭아에는 구연산(citric acid)과 사과산(malic acid)이 미량 포함되어 있다. 이러한 당 및 산은 그림 1에서와 같이 O-H, C-H 및 C=O기를 포함하고 있으므로 이론적으로 중적외선 영역의 이들 흡수기와 관련이 있는 파장대역에서 분자 진동에 의해 흡수가 일어날 수 있으며, 근적외선 영역에서는 배진동 및 결합진동에 의해 흡수가 일어날 수 있다. 따라서, 복숭아의 당도 혹은 산도의 차이에 따라 가시광 및 근적외선 영역에서의 흡광 스펙트럼에 차이가 발생할 수 있으므로 이를 분석하여 과일 내부의 당도 혹은 산도 등과 같은 내부성분을 측정할 수 있다.

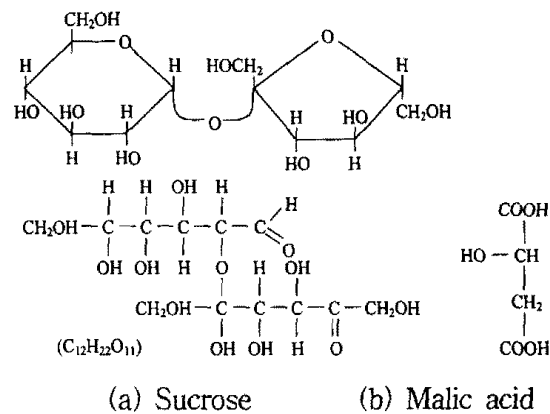


그림 1. Chemical structure of sucrose(a) and malic acid(b).

2. 공시재료

실험에 사용한 과실은 사과, 복숭아, 배 등으로 일차적으로 복숭아를 이용하여 투과스펙트럼에 의한 당·산도 측정가능성을 구명하고, 온라인 장치를 구축하여 사과 및 배를 대상으로 내부품질을 측정하는 실험을 수행하였다. 복숭아는 충남 조치원에서 1999년 7월 23일에 수확한 것이다. 수확후 상온 상태에 하루 정도 보관한 후 착색이 다양한 55개 복숭아에 대해 각 2부위씩 총 110부위의 투과 스펙트럼을 측정하였다. 투과 스펙트럼을 측정한 부위에 대해 굴절당도계 및 적정산도계로 당도 및 적정산도를 측정하였다.

3. 투과 스펙트럼 측정장치

농산물과 같이 여러 가지 성분으로 구성된 시료에 입사되는 광은 일반적으로 그림 2에서와 같이 시료로부터 반사(Reflectance)되거나 흡수(Absorption) 혹은 투과(Transmittance)된다. 시료로부터 입사각과 등각으로 반사되는 광을 정반사(Regular reflection, RR)라 하고 시료의 내부로 침투하여 다시 시료 외부로 반사되는 광을 체반사(Body reflection, RB)라 한다. 또한, 농산물의 경우 시료 표면이 거칠므로 반사되는 상당부분의 광이 일정하지 않은 방향으로 반사되는 것을 확산반사(Diffused Reflection, RD)라 한다. 입사된 전체 에너지(II)에 대한 반사된 에너지의 비율을 반사도(Reflectance)라 한다. 광이 시료의 반대쪽으로 통과하여 나오는 것을 투과(Transmission)라 하며, 입사된 전체 에너지에 대한 투과된 에너지의 비율을 투과도(Transmittance)라 한다. 또한, 시료 내부에서 성분에 의해 흡수되는 것을 흡수(Absorbance)라 하며, Beer-Lambert 법칙에 의하면 시료의 흡광도는 시료의 농도와 투과 경로(pathlength)의 길이에 비례하므로 시료의 흡광도를 측정하면 이론적으로 그 농도를 예측할 수 있다. 일반적으로 과일과 같이 크기가 다양하고, 딱딱한 재질을 가지는 시료의 경우 흡광도를 직접 측정할 수 없고, 반사도 혹은 투과도를 측정하여 식 1에서와 같이 흡광도를 계산한다.

$$\text{Absorbance}(A) = \log(1/R) = \log(1/T) \quad \text{--- (식 1)}$$

식 1에서 A는 흡광도, R은 반사도 그리고 T는 투과도를 나타낸다. 따라서, 과일에 입사된 광에너지와 투과된 광에너지를 측정하면, 과일 시료의 흡광도를 계산할 수 있다. 그림 3은 복숭아의 투과 스펙트럼을 측정하기 위한 장치를 나타낸 것이다. 그림 3의 투과 스펙트럼 측정장치에는 복숭아 시료에 조명을 가하기 위해 시료의 좌·우에 텅스텐 할로겐 램프가 장착되어 있고, 복숭아의 하단에는 광파이버(optical fiber)가 복숭아와 약 10mm 간격을 유지한 상태에서 수직으로 설치되어 있어, 복숭아를 투과한 광에너지가 광섬유로 전달되어 최종적으로 CCD 타입의 분광광도계로 전달되므로 비접촉에 의한 투과 스펙트럼 측정이 가능하다. 본 연구에서 사용하는 분광광도계의 측정 가능한 파장 대역은 약 550~1100nm이다.

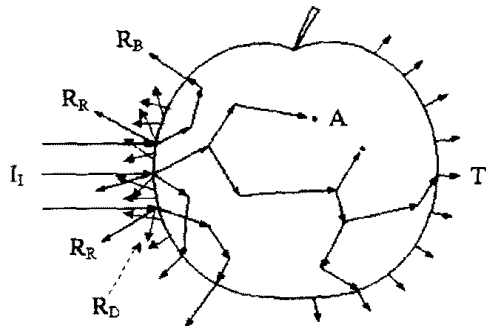


그림 2. Path of incident light in a fruit.

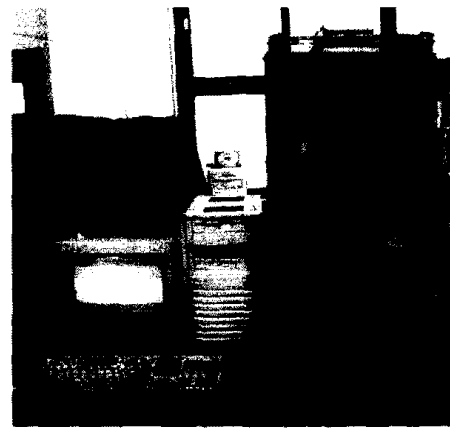


그림 3. Apparatus for measuring transmittance spectra of peach.

4. 시료의 당·산도 측정

일반적으로 과일의 단맛은 개별 당(과당, 포도당, 자당 등)의 구성비에 따라 다르므로 감미도(sweetness score)를 측정하기 위해서는 HPLC로 개별 당의 함량을 측정하여야 하지만, 껍, 감등을 제외한 대부분의 과일의 경우 가용성 고형함량의 대부분이 당이므로 디지털 굴절당도계(DBX-55, ATAGO, Japan)를 사용해서 간접적으로 당도를 측정할 수 있다. 산도의 측정은 자동적정산도측정장치(AUT-301L, Japan)를 이용하였으며, 마늘즙 짜개로 복숭아의 즙을 추출하고, 이 중 10ml를 취하여 3차 증류수 40ml로 희석한 다음 pH가 8.1이 될 때까지 0.1N NaOH 용액을 투여하여 적정하였다. pH가 8.1이 될 때까지 투여된 NaOH 량으로 적정산도를 계산하였다. 추출한 즙의 일부를 이용하여 디지털 굴절당도계로 당도를 측정하였다.

5. 스펙트럼 신호의 전처리

복숭아의 성분 중 약 90%는 수분으로 구성되어 있으며, 이와 같이 대부분이 물이고, 상대적으로 미량인 당 혹은 산은 스펙트럼에서 큰 변이를 일으키지 못하며, 오히려 시료의 크기차이에 따른 경로길이(pathlength)의 변화나, 산란(scattering) 차이 등에 의해 더 큰 변이를 일으킨다. 또한, 본 연구에서와 같이 실시간 분광광도계로 측정한 스펙트럼에는 정밀한 분석용 분광광도계로 측정한 스펙트럼에 비해 노이즈 성분이 많이 포함되어 있으므로 시료의 성분 측정을 위해 스펙트럼을 분석하기 이전에 이들 왜란을 감소시키기 위한 스펙트럼 전처리 과정이 필수적으로 이루어져야 한다. 본 연구에서는 스펙트럼에 존재하는 노이즈 성분을 제거 혹은 감소시키기 위해 우선 Hanning window에 의해 스펙트럼을 평활화하고, SNV(Standard Normal Variate Transform) 및 MSC(Multiplicative Scattering Correction)로 산란보정^(1,4)을 수행하였으며, 이후 1차 혹은 2차 미분하여, 이들 왜란 요소를 최대한 제거한 후, 복숭아의 성분예측 모델 개발을 위한 분석을 수행하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 당도별 스펙트럼 특성

복숭아의 성분 차이에 따른 스펙트럼 특성을 관찰하기 위해 당도가 다른 4개의 복숭아 (8.0, 10.0, 12.0 및 14.1 Brix%)와 산도가 다른 4개의 복숭아(0.296%, 0.432%, 0.568% 및 0.704%)의 흡광도 스펙트럼을 그림 4 및 그림 5에 나타내었다. 그림 4 및 그림 5에서 670nm 부근의 봉우리는 엽록소의 흡수에 의한 것으로 판단되며, 760nm 및 950nm 부근에서의 흡수 봉우리는 물에 의한 것으로 판단된다. 840nm 부근에서도 흡수 봉우리가 관찰되는 데 이것은 추후 해석을 요한다. 당도가 다른 4개의 스펙트럼을 육안으로 관찰하면 570~585nm 파장대역에서 복숭아의 당도별 스펙트럼의 흡광도 값에 차이가 있는 것으로 판단된다.

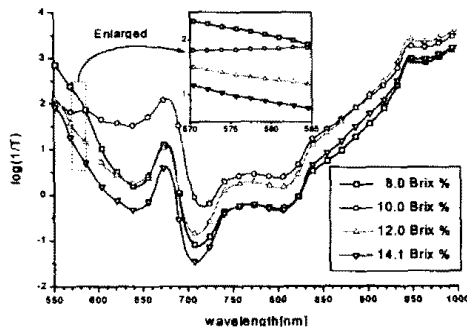


그림 4. Absorbance spectra of peaches with different Brix values(Brix%).

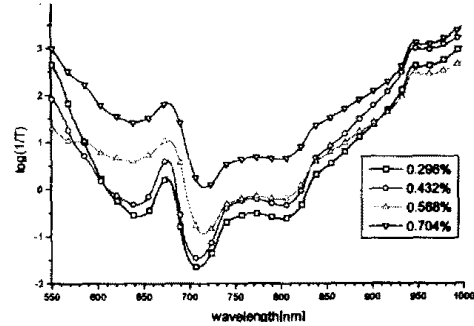


그림 5. Absorbance spectra of peaches with different titratable acidity(%).

이 파장대역은 가시광 영역으로 복숭아의 성숙 정도에 따라 복숭아 외부 및 내부가 동시에 붉어지는 경향이 있으며, 성숙과 더불어 당도도 증가하므로 이러한 스펙트럼 특성이 나타난 것으로 판단된다. 그림 5의 산도가 다른 4개의 스펙트럼에서 600~830nm 범위에서 산도별로 스펙트럼의 흡광도 값에 차이가 있는 것으로 판단된다. 이 파장 범위 중 특히 엽록소의 흡수 파장대역인 670nm 부근에서 차이가 뚜렷하며 이것 또한 과일의 성숙에 따른 엽록소 함량의 변화와 산도의 감소경향과 관련이 있는 것으로 해석된다. 900~938nm 대역은 CH의 배진동에 의한 흡수가 일어나는 파장대역으로 알려져 있다. 그러나, 이 파장대역에서 당도 혹은 산도의 차이에 따른 흡광도 값에는 뚜렷한 차이가 발견되지 않는다. 이것은 투과 스펙트럼의 변이가 이들 성분의 농도차이 보다는 시료의 크기 차이나 산란 차이에 의해 더 크게 발생되기 때문인 것으로 판단된다.

2. 스펙트럼 전처리 효과

스펙트럼의 전처리에 따른 효과를 구명하기 위하여, 평활화 간격을 달리하면서, Hanning

window에 의한 스펙트럼 평활화를 수행한 결과를 그림 6에 나타내었고, 그림 4의 그래프를 SNV 및 MSC에 의해 산란보정한 결과를 그림 7에 나타내었다.

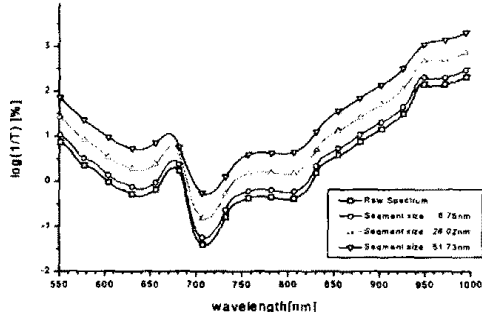


그림 6. Spectrum smoothing with Hanning window.

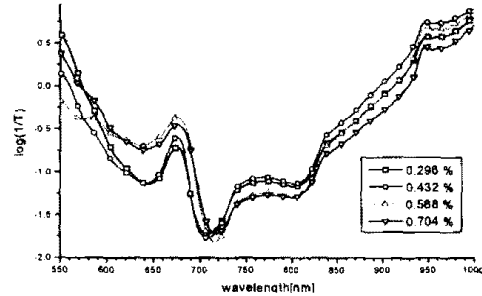


그림 7. Scattering correction with SNV & MSC.

그림 6의 전처리 수준에 따른 평활화에서 평활화 간격이 증가할수록 스펙트럼의 작은 변화들은 평활화되는 것을 알 수 있다. 그림 7의 산란보정이 이루어진 그래프는 그림 5의 산란보정 전의 그래프에 비해 시료간의 스펙트럼 변이가 상당히 감소하였다. 이것은 산란보정에 의해 시료의 크기 및 산란 차이 등에 의한 영향이 산란보정을 통해 어느 정도 제거되었음을 의미한다.

그림 8 및 그림 9는 미분간격을 변화시키면서 스펙트럼을 1차 혹은 2차 미분한 결과를 나타낸 것이다. 이들 그래프에서 미분간격을 증가시키기에 따라, 1차 혹은 2차 미분 스펙트럼의 봉우리의 크기가 줄어들어, 미분 스펙트럼이 평활화되는 것을 알 수 있다.

그림 6~8의 전처리가 수행된 그래프들에서 원시 흡광 스펙트럼을 평활화, 산란보정 혹은 미분함에 따라 원 스펙트럼은 크게 변함을 알 수 있었다. 특히, 원시 흡광 스펙트럼을 미분함에 따라 원시 흡광 스펙트럼에서의 작은 굴곡이 뚜렷하게 부각되는 것을 알 수 있었다.

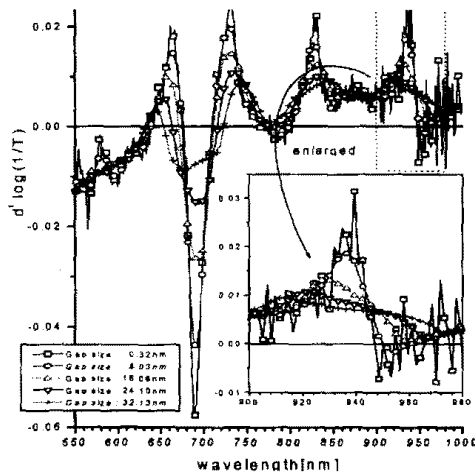


그림 8. 1st derivative spectra.

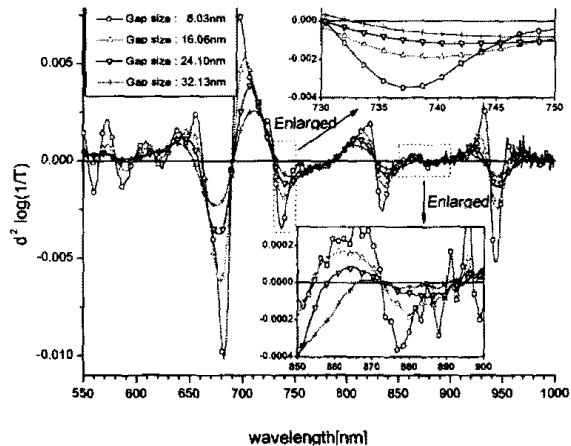


그림 9. 2nd derivative spectra

따라서, 원시 흡광 스펙트럼을 적절히 전처리할 경우 스펙트럼의 해석이 용이해질 수 있고, 성분을 측정할 경우에도 더 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

3. 당도 및 산도 측정 성능

그림 10은 여러 가지 전처리 조건 및 조합에서 당도 측정 성능이 우수한 전처리 조건에서 복숭아 당도예측 모델을 개발하고, 검증 시료로 당도를 측정한 결과를 나타낸 것이다. 최적의 전처리 조건을 찾기 위하여, 평활화 간격 및 미분 간격을 변화시키면서, 각 조건에서 PLS 당도 예측을 위한 PLS 모델을 구한 다음, SEP 및 검증시료의 결정계수 등을 구하여 SEP가 작고, SEP 및 SEC의 차이가 작으며, 결정계수가 큰 전처리 조건을 찾은 결과이다. 그림 11은 같은 방법으로 산도측정을 위한 최적의 전처리 조건에서 산도예측을 위한 PLS 모델을 구하고, 산도를 측정한 결과이다. 당도 및 산도 측정에 적합한 전처리 조건을 검색한 결과 원시 흡광 스펙트럼 혹은 2차 미분 스펙트럼보다는 1차 미분 스펙트럼이 이들 성분을 예측하기 위한 모델의 예측성능이 우수한 것으로 나타났으며, 산란보정을 하지 않은 경우 보다 산란보정을 한 경우가 더욱 우수한 성능을 나타내었다. 투과 스펙트럼에 의해 복숭아의 당도를 측정한 그림 10의 결과에서 검증시료의 표준오차는 0.558 Brix %이었고, 결정계수는 0.819로 나타났다. 산도를 측정한 그림 11의 결과에서 검증시료의 측정오차는 0.0555%이었으며, 결정계수는 0.655로 투과 스펙트럼에 의한 복숭아의 당도 및산도 측정이 가능하였다.

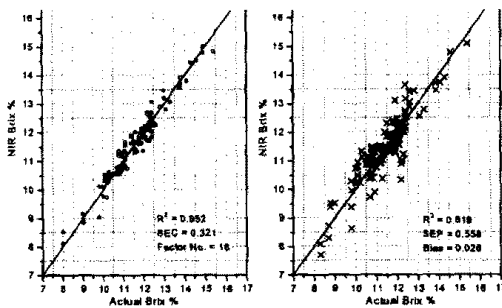


그림 10. Plot of actual Brix% of peach vs. Brix% calculated by PLS model(preprocessing : scattering correction=SNV & MSC, 1st derivative, wavelength range : 550~1000nm).

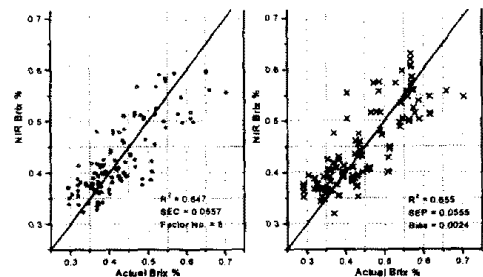


그림 11. Plot of actual titratable acidity of peach vs. titratable acidity calculated by PLS model(preprocessing : scattering correction = SNV&MSC, 1st derivative, wavelength range : 550~1000nm).

IV. 요약 및 결론

본 연구는 가시광 및 근적외선 영역(550~1100nm)의 투과 스펙트럼에 의해 복숭아의 당도 및 산도를 비접촉 및 비파괴적으로 측정하기 위해 수행되었으며, 이를 위해 투과 스펙트럼 측정장치를 제작하고, 스펙트럼을 측정한 후, 스펙트럼 평활화, 산란보정 및 미분에

의해 전처리를 수행한 다음, 각 전처리 조건별로 당도 및 산도 예측을 위한 PLS 모델을 구하고, 이들 성분 측정에 최적인 전처리 조건을 구한 후 이 조건에서 복숭아의 당도 및 산도를 측정하였다. 복숭아의 당도를 측정한 결과 검증시료의 표준오차(SEP)가 0.558 Brix %이었으며, 결정계수는 0.819이었다. 산도를 예측한 결과, 검증시료의 표준오차(SEP)는 0.0555% 이었고, 결정계수는 0.655%이었다. 이들 결과로 볼 때, 투과 스펙트럼에 의한 복숭아의 당도 및 산도의 측정이 가능하였으며, 다른 과일의 내부품질 측정에도 적용이 가능할 것으로 판단된다.

V. 참고문헌

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 최규홍, 이강진. 1998. 근적외선을 이용한 과일의 당도측정 기술. 농산물 비파괴 품질평가 기술개발에 관한 국제세미나 발표자료. 농진청 농업기계화연구소, pp91-123
8. 최창현 외 2인. 1997. 가시광선/근적외선 분광분석법을 이용한 사과와 배의 당도 및 경도 측정, *한국농업기계학회지* 22(2), pp256-265.