VIS/NIR 투과 스펙트럼을 이용한 과즙의 당·산도 측정
Measurement of the Soluble Solid and Acid Contents in Fruit juice by VIS/NIR Transmittance

이 희 영* 노 상 하*
정회원
H. Y. Lee S. H. Noh

1. 서론

과실류의 선별 인자는 일반적으로 크기, 무게 등의 계급 인자와 색깔, 형상, 기형 유무, 외부의 흠 유무 등에 따른 외부 품질 인자, 그리고 당도, 산도, 경도 및 내부 부패 등의 내부 품질 인자로 구분할 수 있다. 이와 같은 품질 인자 중에서 내부 품질은 실제 맛과 직접 관련이 있을 뿐만 아니라 외국과의 교역 시에 내부 품질에 대한 선별을 요구하고 있어 그 중요성이 증가되고 있다. 최근 근적외 분광분석법을 응용하여 농산물의 당, 수분, 단백질, 지방, 섬유소 등 내부 구성 성분을 비파괴적으로 측정하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 연구가 온라인 선별에 그 초점을 맞추고 있어 정확한 내부 품질 평가는 이루어지기 어렵다. 또한 당·산도 예측식 개발을 위한 실험에서 기존의 당·산도 측정 방법은 많은 시간이 소요되는 단점이 있다.

따라서 본 연구에서는 순수 당·산 수용액을 이용하여 굴절 당도계와 적정 산도계의 기준 측정 장치로써의 사용 가능 여부를 검증하고, 분광학적 방법을 이용한 과즙의 당·산도 측정 가능성을 확인하고자 한다.

2. 재료 및 방법

가. 공시 재료

우선 과실의 주요 당·산 성분의 분광 스펙트럼을 이용한 당도 및 산도의 예측 가능성을 알아보기 위한 실험을 위해 증류수 20㎖에 과당, 자당 및 구연산의 순수당 및 산 분말 원료를 표 1에 제시된 바와 같이 농도별(4수준)로 혼합한 수용액 시료를 만든다. 혼합 당·산 수용액의 농도별 시료는 과당, 자당 및 구연산을 각각 4수준으로 하고, 이들을 혼합하여 64가지의 수용액 시료를 만들었다. 그리고 과즙을 이용한 당도 및 산도의 측정 실험에 사용된 감귤은 제주산 감귤이며, 수원 농수산물 시장에서 구입하였다. 60개의 시료에서 각각의 과즙을 채취하여 각 시료에 대해 스펙트럼을 측정하고 당·산도를 측정하였다. 스펙트럼을

* 서울대학교 농업생명과학대학 생물자원공학부

측정한 후 바로 당·산도를 측정하였고 온도에 따른 스펙트럼의 변동을 최소화하기 위해 과즙 채취 후 상온에 3시간 정도 방치한 후 실험을 수행하였다.

Table 1 Concentration levels of fructose, sucrose and citric acid used for making liquid samples

	Concentration level			
Fructose	0.8g	0.4g	0.2g	0.1g
Sucrose	4.0g	2.0g	1.0g	0.5g
Citric acid	0.4g	0.2g	0.1g	0.05g

나. 실험 장치

분광광도계 UV-3101PC(SHIMAZU, Japan)를 사용하여 투과 스펙트럼을 측정하였으며, 측정에 사용한 큐벳(cuvette)의 두께는 2mm였다. 본 연구에서는 슬릿폭을 20nm, Scan 속도를 200nm/min로 설정하고 400~2500nm 파장 대역에서 액상 시료의 투과 스펙트럼을 측정하였다.

혼합 수용액 및 과즙의 당도 측정에는 디지털 굴절 당도계(DBX-55, Japan)를 사용하였으며, 산도는 자동적정모듈을 갖춘 적정 산도계(AUT-301L, Japan)로 측정하였다. 산도 측정은 액상 시료 5ml를 취하여 증류수 30ml로 희석하고 교반기로 용액을 저으면서 pH가 8.1이 될 때까지 0.1N NaOH 용액을 투여하면서 적정하였다.

다. 당·산도 예측 모델의 개발 및 평가

본 연구에서는 PLS 회귀 모델을 이용하여 당·산도 예측 모델을 개발하였으며, NIPALS(Nonlinear Iterative Partial Least Square, S. Wold) 알고리즘에 의해 성분과 관련된 인자를 분리하였다. PLS 모델 구현을 위해 PLS_Toolbox (ver 2.0, Eigenvector Research, USA) 및 Matlab(ver 5.3, Mathwork, USA)을 사용하였으며, cross-validation법에 의한 최소 PRESS법을 이용하여 최적 factor 수를 선정하였다.

또한 검량 표준오차(Standard Error of Calibration, SEC)와 상관 계수(r) 및 예측 표준오차(Standard Error of Prediction, SEP)를 통해 개발된 모델의 정밀도와 예측 성능을 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 당도 및 산도의 측정

측정된 굴절 당도값과 실제 총당함량 및 가용성 고형물 함량과의 상관 계수(r)는 그림 1에서 보는 바와 같이 각각 0.9956, 0.9997로 나타났으며, 적정 산도계로 측정된 산도와 구연

산의 실제 농도간의 상관 계수(r)는 0.9992로 그림 2에 나타내었다.

결과에서 보는 바와 같이 실제 당·산 함량과 측정된 굴절 당도 및 적정 산도간의 상관관계가 높으므로 당·산 함량의 측정에 이 두 장치를 사용할 수는 있으나, 당도의 경우 굴절 당도가 총 당함량보다는 가용성 고형물 함량을 측정하는 것임을 알 수 있다. 그러므로 산 및 기타 유기물의 함량이 큰 물질에 대한 굴절 당도계의 값을 당함량으로 사용할 경우 다소 무리가 있는 것으로 판단된다. 굴절 당도계를 이용한 당도 측정 시에 발생하는 이러한 문제점을 보완하기 위하여 측정된 굴절 당도와 적정 산도를 이용하여 회귀 분석을 통해 실제 총당 함량을 예측하였다(그림 3). 그 결과 예측된 총당 함량과 실제 총당 함량과의 상관계수(r)가 0.9999로 나타났다. 이러한 결과로 판단할 때, 측정된 굴절 당도값을 적정 산도값을 이용하여 총당 함량을 예측함으로써 가용성 고형물 함량(Brix%)이 아닌 당 관련 성분만의 측정이 가능할 것으로 판단된다.

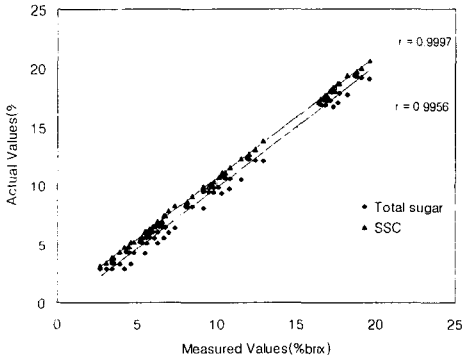

Fig. 1. Correlation between the actual and the measured values of sugar and acid contents of liquid samples.

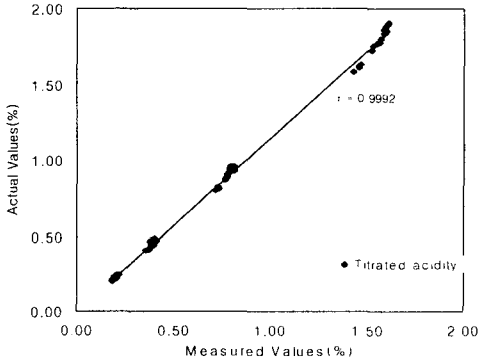

Fig. 2. Correlation between the actual and the measured values of acid contents of liquid samples.

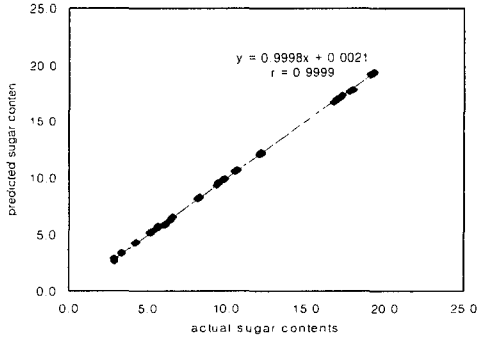

Fig. 3. Correlation between the actual and the predicted sugar contents with SSC minus acid contents.

나. 당 및 산 수용액의 농도 예측

농도가 다른 혼합 당·산 수용액 64개 시료에 대해 32개의 샘플은 검량식 작성에, 나머지 32개는 검증용 시료로 사용하였다. 농도 예측 모델로는 PLS 모델을 사용하였으며, 분석 파장 영역은 400~2500nm의 전 파장 영역과, 400~1100nm, 1200~1900nm의 파장영역에 대해서 분석하였다. 1900nm~2100nm의 영역에서도 상관 계수 값은 크게 나왔으나 물에 의한 흡수로 투과도가 0에 가깝게 나왔으므로 수분에 의한 영향을 배제하기 위해 이 부분은 분석 영역에서 제외하였다.

각각의 파장 영역에 대해서 분석한 결과, 1200~1900nm 영역에서 PLS 모델의 팩터수가 감소하고 예측 표준 오차 또한 감소하여 다른 파장 영역에서의 분석 결과보다 좋은 결과가 나왔다. 이 파장 영역에서 각각의 농도에 대해 예측 성능이 뛰어난 전처리 방법과 그 결과를 표 2에 나타내었다.

Table 2 Optimal preprocessing conditions for solution in 1200~1900nm

	Preprocessing	No. of factor	calibration		validation		
			R^2	SEC	R^2	SEP	bias
SSC	OSC	5	0.9996	0.1130	0.9989	0.1757	0.0237
	1st derivative, MSC	6	0.9994	0.1419	0.9986	0.1947	0.0038
Total sugar contents	OSC	6	0.9999	0.0701	0.9991	0.1641	-0.0184
	1st derivative, OSC	4	0.9997	0.0927	0.9990	0.1701	-0.0092
acidity	SNV + OSC	4	0.9985	0.0210	0.9949	0.0383	0.0096
	SNV	9	0.9990	0.0194	0.9936	0.0436	0.0064
	MSC+OSC	5	0.9989	0.0182	0.9934	0.0446	0.0070

다. 감귤 즙의 당도 및 산도 측정

실제 과즙에서의 당도 및 산도 예측 가능성을 알아보기 위해 감귤 즙의 투과 스펙트럼을 측정, 분석하였다. 믹서를 이용하여 감귤의 즙을 얻고 거즈로 씨꺼기를 걸러내어 과즙 시료를 채취하였다. 실제 과즙에 대한 당·산도 예측 모델을 개발하기 위해 60개의 과즙 시료를 준비하여 30개는 검량식 작성에, 나머지 30개는 검증용 시료로 사용하였다. 당·산 수용액에 대한 실험에서 상관 관계가 크게 나타난 1200~1900nm의 파장 대역에 대해서 여러 전처리 방법을 이용하여 예측 모델을 개발, 분석하였다. 당의 경우(그림 4) MSC와 OSC 전처리를 한 후 분석한 결과, SEP가 0.1137, 결정 계수(R^2)가 0.9806이었으며, 여러 전처리 방법에 대해 모두 좋은 결과가 나왔으며, 산의 경우(그림 5)에는 1차 미분과 MSC, OSC 전처리

를 하였을 때 SEP가 0.0792, 결정 계수가 0.6005로 나타나 과실즙의 정확한 산도 예측은 어려울 것으로 판단된다.

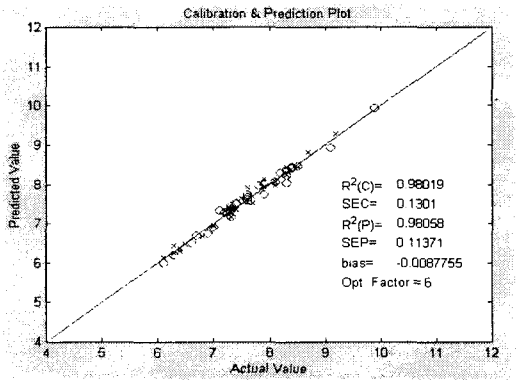

Fig. 4. Plot of calibration and validation results in predicting soluble solid contents in citric juice by PLS model (MSC, OSC(No. of comp.=3)).

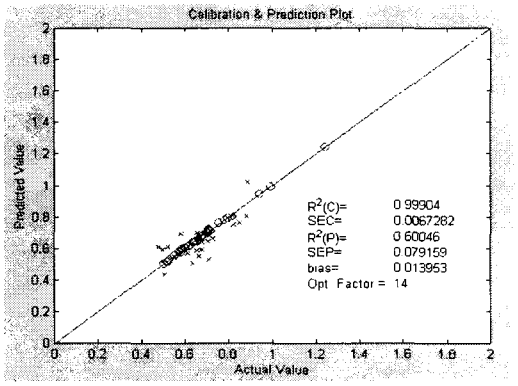

Fig. 5. Plot of calibration and validation results in predicting acid contents in citric juice by PLS model(1st derivative, MSC, OSC(No. of comp.=3)).

4. 요약 및 결론

1. 과당, 자당 및 구연산 분말을 혼합하여 조제한 수용액의 실제 농도값과 굴절 당도 및 적정 산도의 측정값의 상관 관계를 분석한 결과, 총당함량 및 가용성 고형물 함량과 굴절 당도와의 상관 계수(r)는 각각 0.9956, 0.9997이었으며, 구연산 함량과 적정 산도와의 상관 계수(r)는 0.9992였다.

2. 위의 결과로 보아 굴절 당도계와 적정 산도계를 이용한 당도 및 산도의 정확한 측정이 가능하다고 볼 수 있으나, 굴절 당도의 경우 순수 당함량이 아닌 가용성 고형물의 농도를 측정하는 것이라고 판단된다. 이를 보완하기 위하여 측정된 굴절 당도와 적정 산도를 이용하여 선형 회귀 분석을 통해 총당 함량을 예측한 결과 상관 계수(r)가 0.9999로 나타나 순수 당함량의 예측이 가능할 것이라 판단된다.

3. 조제 시료에 대해 1200~1900nm 대역의 투과 스펙트럼을 이용하여 당·산도 예측 모델을 개발하였다. 총 당함량의 경우 OSC 전처리를 하였을 때 결정계수(R^2) 0.9991, 예측 표준 오차(SEP) 0.1641로 가장 좋은 결과를 보였으며, 총 고형물의 경우 OSC 전처리를 한 경우 결정 계수가 0.9989, SEP는 0.1757, 산도의 경우 OSC와 SNV로 전처리를 한 경우에 결정계수가 0.9949, SEP가 0.0387로 나타났다.

4. 1200~1900nm 파장 대역의 투과 스펙트럼을 사용하여 감귤 즙의 당도 및 산도를 예측한 결과 당도는 SEP가 0.1137, 결정 계수(R^2)가 0.9806로 정확한 측정이 가능하였으나 산

도는 1차 미분과 MSC, OSC 전처리를 하였을 때 SEP가 0.0792, 결정 계수가 0.6005로 나와 낮은 측정 정확도를 보여 주었다. 따라서 산도의 측정 방법을 자동 적정법에서 분광학적 방법으로 대체하기 위해서는 과즙의 산함량의 예측 정밀도가 낮은 이유를 규명하기 위한 더 많은 연구가 필요할 것으로 판단된다.

5. 참고 문헌

1. 강인수, 김정숙, 조득문. 1995. 현대 식품화학. 지구 문화사
2. 노상하 외 8인. 생물 자원의 비파괴 물성 측정. 1998. 문운당
3. 손미령, 조래광. 1998. 근적외 분광 분석법을 응용한 사과의 유리산 함량 측정. 한국농화학회지, 41(3) : 234-239.
4. 황인근. 2000. VIS/NIR 분광 분석법에 의한 사과의 온라인 당·산도 선별 시스템 개발. 서울대학교. 박사학위논문.
5. Dan Kimball. 1991. CITRUS PROCESSING Quality Control and Technology. An AVI Book.
6. Giangiacomo, R., and G. G. Dull. 1986. Near Infrared Spectrophotometric determination of individual sugars in aqueous mixtures. J. Food Sci. 51(3) : 679-683.
7. Hulme, A. C. 1970. The Biochemistry of fruits and their products. Academic press, London and New York.
8. Lanza, E. and B. W. Li. 1984. Application for near infrared spectroscopy for predicting the sugar content of fruit juices. J. Food Sci. 49 : 995 - 998.